



2. lékařská fakulta UNIVERZITY KARLOVY

vědecká konference 2011

13. - 14.4.

po oba dny
od 10:30 do 16:30
ve velké
posluchárně 2.lf uk

výuka zrušena po oba dny od 10:00
zveme všechny studenty, pedagogy a přátele 2.lf uk!

hlavní hosté:

ivan martin HAVEL
stanislav KMOCH

vyzvaní řečníci:

aleš JANDA	jiří ŠNAJDAUF
oleg REICH	petr MARUSIČ
vojtěch HAVLAS	michal ŠNOREK

vědecký program:

přednášky a postery pre- a postgraduálních studentů 2.lf

ceny:
za nejlepší přednášku (40 tisíc Kč)
proděkana pro vědu & výzkum (30 tisíc Kč)
za nejlepší poster (10 tisíc Kč)
za nejlepší práci pregraduálního studenta (10 tisíc Kč)
pro nejpozornější posluchače (hte gratia)



EKG o lásce a pitvání: motolský speciál
jaroslav RUDIŠ, igor MALIJEVSKÝ,
tomáš PASTRŇÁK, jan SOUKUP

tradiční doprovodné akce:
motolská míle
& veselý večírek

vědecký výbor:
jan zuna (předseda)
barbora fišárková
jakub hort
michal rygl
raдек špísek
zdeněk šumník
josef zámečník
marie žaloudíková

organizační výbor:
jan trka (předseda)
gabriela hlaváčová
martin illichman
aleš lukš
zdeněk procházka
ivana tinková
helena ulovcová

Vědecký program středa 13. 4. 2011

10.30

ZAHÁJENÍ

Ondřej Hrušák, děkan 2. LF UK

Sekce 1

Předsedající: O. Hrušák, V. Komárek

10.40–12.30

PŘEKONÁ UMĚLÁ INTELIGENCE LIDSKOU INTELIGENCI?

45'

Ivan M. Havel, Centrum pro teoretická studia UK a AV ČR

1 GENOVÁ TERAPIE NÁDORŮ VYVOLÁVANÝCH VIRY

Jinoch P.¹, Rittich Š.¹, Lakatošová M.¹, Šmahel M.¹, Vonka V.¹ a Goetz P.²

¹Experimentální virologie, ÚHK Praha; ²ÚBLG 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Petr Goetz, CSc.

2 ANTRACYKLINY INDUKUJÍ IMUNOGENNÍ BUNĚČNOU SMRT U ŠIROKÉHO SPEKTRA LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH BUNĚK.

Fučíková J.¹, Králíková P.¹, Fialová A.¹, Budinský V.¹, Brtnický T.², Rob L.², Bartůňková J.¹, Špíšek R.¹

¹Ústav Imunologie, UK 2. LF a FN Motol; ²Gynekologicko-porodnická klinika, UK 2. LF a FN Motol

Školitel: Doc. MUDr. Radek Špíšek, Ph.D.

3 VYUŽITÍ IMUNOHISTOCHEMICKÝCH ONKOMARKERŮ K URČENÍ RIZIKA GERMINÁLNÍHO NÁDORU GONÁD U PACIENTŮ S PORUCHOU POHLAVNÍHO VÝVOJE (DSD)

Pleskačová J.¹, Stoop H.², Oosterhuis J. W.², Cools M.³, Drop S. L. S.⁴, Šnajderová M.¹, Lebl J. ¹, Looijenga L. H. J.²

¹Pediatrická klinika UK 2. LF a FNM, Praha, ²Department of Pathology, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands, ³Department of Pediatrics, Division of Pediatric Endocrinology, University Hospital Ghent, Belgium,

⁴Department of Pediatric Endocrinology, Erasmus MC – Sophia Children's Hospital, Rotterdam, The Netherlands

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

4 STANOVENÍ KONCENTRACE A RETINÁLNÍ TOXICITY TOPOTECANU PO TRANSKONJUNKTIVÁLNÍ INTRAVITREÁLNÍ APLIKACI U ZDRAVÝCH NOVOZÉLANDSKÝCH BÍLÝCH KRÁLÍKŮ

Darsová D.¹, Pochop P.¹, Klapková E.², Kodetová D.³, Mališ J.⁴, Uhlík J.⁵, Vajner L.⁵

¹Oční klinika dětí a dospělých; ²Ústav klinické biochemie a patobiochemie;

³Ústav patologie a molekulární medicíny; ⁴Klinika dětské hematologie a onkologie; ⁵Ústav histologie a embryologie

Školitel: Prof. MUDr. Dagmar Dotřelová, CSc.

POSTEROVÁ SEKCE 1 (E. Mejstříková, O. Cinek)

12.30–13.30

Postery – příspěvky č. P01–P20

POSTEROVÁ SEKCE 2 (M. Kalinová, P. Kršek)

Postery – příspěvky č. P21–P40

Sekce 2

13.30–14.50

Předsedající: P. Hubáček, M. Žaloudíková

REKONSTITUCE IMUNITNÍHO SYSTÉMU U PACIENTŮ S KOMPLETNÍ FORMOU DIGEORGEOVA SYNDROMU
Aleš Janda, Universitätsklinikum Freiburg/KDHO

15^h

5 BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS CHANGE DISEASE PROGNOSIS IN A RAT MODEL OF FAMILIAL AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Forostyak S.^{1,2}, Jendelova P.^{1,2}, Kapcalova M.^{1,2}, Sykova E.^{1,2}

¹Institute of Experimental Medicine, Academy of Science of the Czech Republic, Prague; ²Department of Neuroscience and Centre for Cell Therapy and Tissue Repair, 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague

Supervisor: professor Eva Sykova, M.D., Ph.D., DrSc.

6 ATYPICKÝ HUS – FUNKČNĚ RELEVANTNÍ MUTACE V CENTRÁLNÍ SLOŽCE KOMPLEMENTU C3 A NOVÝ PATOMECHANISMUS VZNIKU ONEMOCNĚNÍ.

Malina M¹, Roumenina L², Schmitt C. P.⁸, Jankauskiene A.⁴, Majid M. A.³, Zimmerhackl L. B.⁵, Halbwachs-Mecarelli L.⁶, Seeman T.¹, Fremeaux-Bacchi V.⁷, Schaefer F.⁸

¹2.LF Univerzity Karlovy a FN Motol, ²Cordeliers Research Center, INSERM UMRS 872, Paris, France, ³Department of Pediatrics, Pediatric Nephrology Unit, Dubai Hospital, Dubai. United Arab Emirates, ⁴Vilnius University Children's Hospital, Lithuanian, ⁵Pediatrics I, Medical University, Innsbruck, Innsbruck, Austria, ⁶INSERM U845, Hôpital Necker, Paris France, ⁷Assistance Publique-Hopitaux de Paris, Hopital Europeen Georges-Pompidou, Service d'Immunologie Biologique, Paris. France, ⁸Center for Pediatrics and Adolescent Medicine, University Hospital Heidelberg, Germany

Školitel: Prof. MUDr. Tomáš Seeman, CSc.

7 VZTAHY MEZI POHYBOVÝM SYSTÉMEM A GASTROEZOFAGEÁLNÍM REFLEXEM

Bitnar P.¹, Smejkal M.², Dolina J.³, Šulc J.¹, Hep A.³, Kolář P.¹

¹Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství FM Motol; ²III Chirurgická klinika 1. LF a FN Motol; ³Interní gastroenterologická klinika a Endoskopické centrum FN Brno-Bohunice

Školitel: Doc. PaedDr Pavel Kolář, Ph.D.

8 ROLE KYSLÍKOVÝCH RADIKÁLŮ PŘI VZNIKU PLICNÍ HYPERTENZE PO AKUTNÍ PLICNÍ EMBOLII

Mizera R.^{1,2,3}, Hodyc D.^{1,2}, Herget J.^{1,2}

¹Ústav fyziologie UK 2. LF, ²Centrum pro výzkum chorob srdce a cév,

³Traumatologicko-ortopedické centrum KNL a. s.

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget DrSc.

9 POLYFUNKČNÍ CMV-SPECIFICKÉ T-LYMFOCYTY JSOU ZNAKEM ÚSPĚŠNÉ OBRANY PROTI REAKTIVACI CMV U DĚTÍ PO TRANSPLANTACI KMENOVÝCH BUNĚK KRVETVORBY (HSCT)

Král L.^{1,2}, Stuchlý J.^{1,2}, Thürmer D.^{1,2}, Hubáček P.¹, Keslová P.¹, Starý J.¹, Hrušák O.^{1,2}, Sedláček P.¹ a Kalina T.^{1,2}

¹Klinika dětské hematologie a onkologie, UK 2. LF a FN Motol, Praha,

²CLIP (Childhood leukemia investigation Prague)

Školitel: MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D. a doc. MUDr. Petr Sedláček, CSc.

**KATETRIZAČNÍ LÉČBA VROZENÝCH OBSTRUKČNÍCH
VAD AORTY**
Oleg Reich, Kardiocentrum FN Motol

15'

**10 ALTERACE GENU IKAROS (IKZF1) A JEJICH VLIV NA PROGNÓZU
DĚTÍ S AKUTNÍ LYMFOLASTICKOU LEUKÉMIÍ (ALL)**

Volejníková J., Mejstřířková E., Švojgr K., Starý J., Trka J. a Froňková E.
Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. Lékařská fakulta a FN Motol
Školitel: Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

**11 ADAPTOROVÝ PROTEIN NTAL ZVYŠUJE ÚČINEK KORTIKOIDŮ
U T-ALL CESTOU POSÍLENÍ SIGNALIZACE PŘES T-BUNĚČNÝ
RECEPTOR**

Švojgr K.^{1,2}, Kalina T.^{1,2}, Brdička T.³, Kanderová V.^{1,2}, Kačerová T.³, Starý J.²,
Zuna J.^{1,2}

¹CLIP, Childhood Leukaemia Investigation Prague; ²Klinika dětské
hematologie a onkologie, UK 2. LF a FN Motol, Praha; ³Ústav molekulární
genetiky, Akademie věd, Praha

Školitel: Doc. MUDr. Jan Zuna, Ph.D.

**12 ODLIŠNÉ HLADINY ASPARAGIN SYNTETÁZY NEJSOU ZODPOVĚDNÉ
ZA ROZDÍLNOU SENZITIVITU LEUKEMICKÝCH BLASTŮ
K L-ASPARAGINÁZE**

Heřmanová I., Trka J. a Starková J.

CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské
hematologie a onkologie, UK 2. Lékařská fakulta, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

13 Hladina genu WT1 při diagnóze dětské AML nemá prognostický význam, ale úzce souvisí s biologickými vlastnostmi leukemických buněk

Kramarzová K.¹, Willasch A.², Gruhn B.³, Boubliková L.¹, Kreyenberg H.², Rettinger E.², Zimmermann M.⁴, Starý J.¹, Reinhardt D.⁴, Creutzig U.⁵, Pession A.⁶, Cazzaniga G.⁷, Coliva T.⁷, Bader P.², Trka J.¹

¹CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Česká republika; ²Department of Pediatric Hematology, Oncology and Hemostaseology, Goethe University Frankfurt, Hospital for Children and Adolescents III, Frankfurt am Main, Germany; ³Department of Pediatric Hematology and Oncology, Schiller University Jena, University Children's Hospital, Jena, Germany; ⁴Department of Pediatric Hematology /Oncology, Medical School of Hannover, Hannover, Germany; ⁵Hematology/Oncology, University Children's Hospital Muenster, Muenster, Germany; ⁶Oncologia ed Ematologia Pediatrica 'Lalla Seragnoli', Università di Bologna, Bologna, Italy; ⁷Centro Ricerca Tettamanti, Pediatric Clinic, Univ. Milan Bicocca, Monza, Italy
Školitel: Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

CHIRURGEM VE VELKÉ BRITÁNII

Vojtěch Havlas, Ortopedická klinika 2. LF UK a FN Motol

154

POZNÁMKY

POSTERY

Středa 13. 4.

P01. ROZDIELY V BIOCHEMICKÝCH A HEMATOLOGICKÝCH PARAMETROCH (VRÁTANE TROMBOELASTOGRAFIE) MEDZI NEINFEKČNÝM SIRS A SEPSOU U PACIENTOV PO EZOFAGEKTOMII

Durila M.¹, Bronský J.², Haruštiak T.³, Pazdro A.³, Pechová M.⁴, Cvachovec K.¹

¹Klinika anesteziologie a resuscitace, 2. LF UK a FN Motol; ²Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; ³III. chirurgická klinika 1. LF UK a FN Motol;

⁴Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MAB

P02. VYPUZOVÁNÍ AMPLIFIKOVANÝCH KOPIÍ ONKOGENU MYCN Z NEUROBLASTOMOVÝCH BUNĚK VYVOLANÉ KULTIVACÍ S CISPLATINOU, DOXORUBICINEM, HYDROXYUREOU A VINKRISTINEM

Procházka P., Hraběta J., Vícha A. a Eckschlager T.

Klinika dětské hematologie a onkologie UK, 2. LF a FN Motol, Praha

Školitel: Tomáš Eckschlager

P03. ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA: KVANTITATIVNÍ HODNOCENÍ FRAKČNÍ ANIZOTROPIE A PRŮMĚRNÉ DIFUZIVITY V CORPUS CALLOSUM PŘED A PO FYZIOTERAPII

Ibrahim I.^{1,2}, Řasová K.³, Škoch A.^{1,2}, Jirů F.¹, Martinková P.⁴, Tintěra J.^{1,2}

¹Pracoviště radiodiagnostiky a intervenční radiologie ZRRR – Oddělení magnetické rezonance, ²Centrum neuropsychiatrických studií, Praha,

³Klinika rehabilitačního lékařství 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha, ⁴EuroMISE Centrum UK v Praze a AV ČR, Ústav informatiky AV ČR, Praha

Školitel: Ing. Milan Hájek, DrSc., Konzultant: Ing. Jaroslav Tintěra, CSc.

P04. MOŽNOSTI VYUŽITÍ KADAVEROZNÍCH ALLOŠTĚPŮ PATELÁRNÍHO LIGAMENTA PŘI ŘEŠENÍ NESTABILITY KOLENNÍHO KLOUBU

Sadovský P., Musil D.

Ortopedické oddělení Nemocnice České Budějovice, a. s.

Školitel: Doc. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA

P05. HPLC SEPARATION OF FLUORESCENT PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION IN ERYTHROCYTES AND MITOCHONDRIA

Ivica J.¹, Skoumalová A.¹, Topinková E.², Wilhelm J.¹

¹Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2nd Medical Faculty,

²Department of Geriatrics, 1st Medical Faculty, Charles University in Prague

Supervisor: Prof. RNDr. Jiří Wilhelm, Ph.D.

P06. GENETICKÉ VYŠETŘENÍ ČESKÝCH PACIENTŮ S HEREDITÁRNÍ A „IDIOPATICKOU“ CHRONICKOU PANKREATITIDOU

Koudová M.^{1,2}, Macek Jr. M.¹, Anguelová I.¹, Kotalová R.³, Nevorál J.³, Špičák J.⁴

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol; ²GHC

Genetics, s. r. o. – NZZ; ³Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; ⁴Klinika hepatogastroenterologie, IKEM, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Milan Macek Jr., DrSc.

P07. SOLUBILNÍ FORMA KARBOANHYDRÁZY IX (CAIX) U NEMOCNÝCH S UROTELIÁLNÍM KARCINOMEM MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

Hyršl L.¹, Závada J.², Závadová Z.², Kawaciuk I.³, Veselý Š.³, Škapa P.⁴, Babjuk M.³

¹Urologické odd. ON Kladno; ²Ústav organické chemie a biochemie AVČR;

³Urologická klinika UK 2. LF a FNM; ⁴Klinika patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FNM

Školitel: Prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

P08. ANGIOTENZIN II SNIŽUJE PRODUKCI NO PŘI HYPOXICKÉM POŠKOZENÍ PLICNÍCH CÉV

Havlenová T. a Novák V.

Ústav fyziologie 2. LF Univerzity Karlovy

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

P09. VÝSKYT DNA VIRU HERPES SIMPLEX 1 V MOZKOMÍŠNÍM MOKU PŘI HERPES LABIALIS U PACIENTŮ S PURULENTNÍ MENINGITIDOU

Labská K.¹, Džupová O.³, Roubalová K.¹, Marešová V.²

¹Státní zdravotní ústav; ²I.infekční klinika, FN Na Bulovce; ³II. Infekční klinika FN Na Bulovce

Školitel: Doc. MUDr. Marešová Vilma, CSc.

P10. VARIABILITA EXHALOVANÉHO MNOŽSTVÍ NO U POTKANA

Málková M., Herget J.

Ústav fyziologie 2. LF UK

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

P11. ROBOTICKY ASISTOVANÁ CHIRURGICKÁ LÉČBA JATERNÍCH CYST

Langer D.¹, Ryska M.¹, Pudil J.¹, Lásziková E.²

¹Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha; ²Anesteziologicko-resuscitační oddělení ÚVN Praha

Školitel: Prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc.,

Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

P12. SLEDOVÁNÍ A HODNOCENÍ VÝVOJE EXCITABILITY MOZKOVÉ KŮRY U PACIENTŮ PO PORANĚNÍ MÍCHY

Kříž J.¹, Zedka M.², Kolář P.¹, Komárek V.³

¹Klinika RHB a TVL; ²Univ. of Lausanne, CH; ³Klinika dětské neurologie

Školitel: Doc. PaedDr. Pavel Kolář, Ph.D.

P13. ČTYŘKANÁLOVÁ PROFILOMETRE PELVIURETERÁLNÍHO PŘECHODU (PUP) U SKUPINY PACIENTŮ SE STENÓZOU PUP PŘED A PO ENDOPYELOTOMII

Drlík P.¹, Jarolím L.², Kawaciuk I.², Kohler O.²

¹Urologické oddělení ÚVN Praha; ²Urologická klinika FNM

Školitel: Doc. MUDr. L. Jarolím, CSc.

P14. EFFECT OF THE HISTONE DEACETYLASE INHIBITOR VALPROATE ON THE EXPRESSION OF CD133 IN NEUROBLASTOMA CELL LINE

Ashraf M., Hrabeta J., Cipro S., Vicha A., Eckschlager T.

Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Medical School

Supervisor: Prof. Tomas Eckschlager

P15. VZTAH ŠÍŘE KOMPLEXU INTIMA-MEDIA A VYBRANÝCH PARAMETRŮ VULNERABILITY KAROTICKÝCH PLÁTŮ

Fiedler J., Veselka J.

Kardiologická klinika Kardiovaskulárního centra, 2. LF UK a FNM, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Josef Veselka, CSc.

**P16. FUNKCE SYSTÉMOVÉ PRAVÉ KOMORY U TRANSPOZICE VELKÝCH
TEPEN POMOCÍ MAGNETICKÉ REZONANCE METODOU STANOVENÍ
PRAHU INTENZITY SIGNÁLU: PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY**

Adla T.¹, Lisý J.¹, Antonová P.², Roček M.¹

¹Klinika zobrazovacích metod; ²Kardiologická klinika

Školitel: Doc. MUDr. Miloslav Roček, CSc.

**P17. CHRONICKÁ HYPOXIE ZVYŠUJE PERIFERNÍ CÉVNÍ ODPOR
PLACENTY PŘI PERFUZI KRVÍ**

Kafka P.^{1,3}, Vajnerová O.^{1,2}, Hampl V.^{1,2} a Herget J.^{1,2}

¹Ústav fyziologie 2. LF UK; ²Centrum výzkumu chorob srdce a cév;

³Klinika anesteziologie a resuscitace 3. LF UK a FNKV

Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

**P18. MOLEKULÁRNÍ TYPIZACE IZOLÁTŮ CLOSTRIDIUM DIFFICILE
A JEJÍ VÝZNAM**

Dahmen R. A., Matějková J., Nyč O.

Ústav lékařské mikrobiologie UK 2. LF a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Jana Matějková

**P19. IMPACT OF FETAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING ON
PRENATAL DIAGNOSIS OF FETAL CRANIOFACIAL ANOMALIES**

Frisova V.¹, Kyncl M.¹, Borsky J.², Prosova B.¹, Roček M.¹

¹Clinic of Imaging methods; ²Clinic of plastic surgery

Supervisor: Doc. MUDr. Miloslav Roček, CSc.

P20. MR VOLUMETRIE TEMPORÁLNÍHO LALOKU U ZDRAVÝCH OSOB

Martinkovič L.^{1,2}, Hořínek D.⁴, Belšan T.³, Marusič P.^{1,4}

¹Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol; ²Neurologické oddělení UVN

Praha; ³Radiodiagnostické oddělení UVN Praha; ⁴Neurochirurgická klinika
UVN Praha a 1. LF UK

Školitel: Doc. Petr Marusič, Ph.D.

**P21. ELECTROPHYSIOLOGICAL DIVERSITY OF LAYER V PYRAMIDAL
NEURONS IN THE PRIMARY AUDITORY CORTEX AND BELT AREA
OF THE RAT**

Pysanenko K.¹, Profant O.^{1,2}, Syka J.¹, Turecek R.¹

¹Department of Auditory Neuroscience, IEM AS CR, v. v. i, Prague;

²Department of ENT, 1st Medical Faculty, Charles University, Motol
Hospital, Prague

Supervisor: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

P22. DVĚ MUTACE ZPŮSOBUJÍCÍ GLUKOKINÁZOVÝ DIABETES VZNIKLY U SPOLEČNÝCH PŘEDKŮ PŘED NĚKOLIKA STALETÍMI

Dušátková P., Průhová Š., Lebl J., Cinek O.
Pediatrická klinika, FN v Motole a 2. LF UK v Praze
Školitel: MUDr. Ondřej Cinek, Ph.D.

P23. FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF CA2+ SIGNALING PATHWAYS IN HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS-DERIVED NEURAL PRECURSORS

Forostyak O.¹, Kozubenko N.^{1,2}, Syková E.^{1,2} and Dayanithi G.¹
¹Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Videnska 1083, Prague 14220, Czech Republic; ²Department of Neuroscience and Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University, Second Medical Faculty, Prague, Czech Republic
Supervisor: Prof. Eva Syková MD, DrSc.

P24. ASTROCYTIC CYTOSKELETAL ATROPHY AND GLUTAMINE SYNTHETASE DECREASE IN THE MEDIAL PREFRONTAL CORTEX DURING THE PROGRESSION OF ALZHEIMER

Kulijewicz-Nawrot M.¹, Syková E.^{1,2}, Verkhatsky A.^{1,3}, Rodríguez J.J.^{1,4,5}
¹Institute of Experimental Medicine, AVCR, Prague, Czech Republic;
²Department of Neuroscience and Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University, 2nd Medical Faculty, Prague, Czech Republic;
³Faculty of Life Sciences, The University of Manchester, Manchester, UK; ⁴IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain;
⁵Department of Neurosciences, University of the Basque Country, Leioa, Spain
Supervisor: Prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.

P25. KOAGULOPATIA V ŤAŽKOM SIRS/SEPSE ZISTENÁ POMOCOU TROMBOELASTOGRAFIE (TEG) MŮŽE BYŤ KORIGOVANÁ PODANÍM PROTAMÍNU

Durila M., Bureš J., Pelichovská M., Cvachovec K.
Klinika anesteziologie a resuscitace, 2. LF UK a FN Motol
Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

P26. ASOCIACE MEZI PŘÍZNAKY CHRONICKÉHO ŽILNÍHO ONEMOCNĚNÍ DOLNÍCH KONČETIN A KARDIOVASKULÁRNÍMI RIZIKOVÝMI FAKTORY U ŽEN STŘEDNÍHO VĚKU

Auzký O.¹, Lánská V.², Piřha J.¹, Roztočil K.¹
¹Centrum výzkumu chorob srdce a cév, Praha, ²Oddělení lékařské statistiky, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha
Školitel: MUDr. Jan Piřha, CSc.

P27. INHIBICE SOLUBILNÍ EPOXID HYDROLÁZY ZMÍRŇUJE ROZVOJ HYPERTENZE A ZLEPŠUJE RENÁLNÍ HEMODYNAMIKU U CYP1A1-REN-2 TRANSGENNÍCH POTKANŮ

Honetschlägerová Z.^{1,2}, Sporková A.^{1,2}, Kopkan L.^{1,2}, Husková Z.^{1,2}, Červenka L.^{1,3}

¹Oddělení experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, ²Centrum výzkumu chorob srdce a cév, Praha, ³Ústav fyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha
Školitel: Prof. MUDr. Luděk Červenka, CSc. MBA

P28. MATRIXOVÉ METALOPROTEINÁZY A HOJENÍ PO OPERACI ROZŠTĚPU RTU

Bláha K.¹, Borský J.², Kotaška K.¹, Průša R.¹, Štekláčová A.¹, Otoupalová E.¹, Pechová M.¹, Matějová R.¹, a Dostálová T.³

¹Ústav klinické biochemie a patobiochemie, Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Praha; ²Klinika plastické chirurgie, FN Královské Vinohrady, Praha; ³Dětská stomatologická klinika, Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Praha
Školitel: Ing. Karel Kotaška, Ph.D.

P29. VZTAH FIBRINOGENU A RIZIKOVÝCH FAKTORŮ ATEROSKLERÓZY U MUŽŮ A ŽEN

Pagáčová L., Lánská V., Škodová Z., Kovář. J., Piřha J.
IKEM Praha

Školitel: MUDr. Jan Piřha, CSc.

P30. POLYDENDROCYTES DIFFERENTIATE INTO ASTROCYTES AND NEURONS AFTER FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA IN THE MOUSE CORTEX

Honsa P.^{1,2}, Pivonkova H.^{1,2}, Anderova M.^{1,2}

¹Laboratory of Neurobiology, Institute of Experimental Medicine AS CR, v. v. i.; ²2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague
Supervisor: Miroslava Anderova

P31. PROTILÁTKOVÉ ARRAYS A PROTEINOVÝ PROFIL DĚTSKÝCH AKUTNÍCH LEUKEMIÍ

Kanderová V.¹, Stuchlý J.¹, Černá D.¹, Fišer K.¹, Hrušák O.¹, Wu W.², Holm A.², Lund-Johansen F.², Kalina T.¹

¹Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, CLIP – Cytometrie, Praha, ČR; ²Dept of Immunology, Rikshospitalet Medical Center and the University of Oslo, Norway
Školitel: MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.

P32. VAZBA CA2+-KALMODULINU NA C-KONCOVÉ DOMÉNY IONTOVÝCH KANÁLŮ TRPV2 A TRPV5

Holakovská B., Gryčová L. a Teisinger J.

Fyziologický ústav, Akademie věd ČR

Školitel: Ing. Jan Teisinger, CSc.

P33. AN ADP-RIBOSYLTRANSFERASE 3 (ART3) POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH REDUCED SPERM COUNT IN CZECH MEN

Norambuena P., Krenkova P., Stambergova A., Macek M Sr. and Macek M Jr.

Department of Biology and Medical Genetics, Charles University 2nd

Medical School and University Hospital Motol, Praha, Czech Republic

Supervisor: Prof. MUDr. Milan Macek jr., DrSc.

P34. HYALURONIC ACID DECREASES UVB-INDUCED CHANGES IN CORNEAL HYDRATION EQUIVALENT TO 5 HRS OF UVB RADIATION REACHING THE HUMAN CORNEA FROM SUNLIGHT

Čejka Č.^{1,3,4}, Ardan T.¹, Širc J.², Michálek J.², Brůnová B.³ and Rosina J.⁴

¹Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, ²Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, ³Eye Clinic for Children and Adults, ²nd Faculty of Medicine, ⁴Department of Medical Biophysics and Informatics, ³rd Faculty of Medicine, Prague

Supervisor: Prof. MUDr J. Rosina, Ph.D.; Prof.MUDr. B. Brůnová, DrSc.

P35. ANOPHTHALMIA, PITUITARY HYPOPLASIA AND CRANIOFACIAL ABNORMALITIES AS A CONSEQUENCE OF INTERSTITIAL DELETION 14(Q22.2Q23.2) – A CASE REPORT

Zmitkova Z., Simandlova M., Drabova J., Hancarova M., Novotna D., Sedlacek Z.

Department of Biology and Medical Genetics, Charles University 2nd

Faculty of Medicine and University Hospital Motol

Supervisor: Prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

P36. NOVOROZENECKÝ SCREENING CYSTICKÉ FIBRÓZY V ČECHÁCH – SROVNÁNÍ PROTOKOLŮ IRT/DNA/IRT A IRT/PAP/PT+DNA

Krulišová V.¹, Balašáková M.¹, Skalická V.², Piskáčková T.¹, Holubová A.¹, Štambergová A.¹, Dvořáková L.¹, Křenková P.¹, Zemková D.², Kračmar P.³, Vávrová V.², Macek M. Jr.¹, Votava F.³

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FNM, Praha; ²Pediatrická

klinika 2. LF UK a FNM, Praha; ³Pediatrická klinika 3. LF UK a FN

Královské Vinohrady, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Milan Macek Jr., DrSc.

P37. DVĚ RODINY S FAMILIÁRNÍM VÝSKYTEM DIABETU MELLITU A NOVOU MUTACÍ H241Q V GENU NEUROD1

Gonsorčíková L.1, Průhová Š.1, Cinek O.1, Ek J. 2, Pelikánová T.3, Jørgensen T.4, Eiberg H. 5, Pedersen O.2, Hansen T.2 a Lebl J.1
1Pediatrická klinika, UK 2. LF a FN Motol; 2Steno Diabetes Center and Hagedorn Research Institute, Gentofte, Denmark; 3Centrum diabetologie, IKEM; 4Research Centre for Prevention and Health, Glostrup University Hospital, Glostrup, Denmark; 5Department of Cellular and Molecular Medicine, University of Copenhagen, Denmark
Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

P38. LYMFOPROLIFERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ MLÉČNÉ ŽLÁZY V BIOPTICKÉ PRAXI

Kamarádová K.1, Veselá E.1, Steyerová P.2, Campr V.1, Axmannová E.1, Kodet R.1
1Ústav patologie a molekulární medicíny; 2Radiodiagnostická klinika VFN a 1. LF UK
Školitel: prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

P39. DIABETES V TĚHOTENSTVÍ SE ZAMĚŘENÍM NA DIABETES 1. TYPU – JAK SE VZÁJEMNĚ OVLIVŇUJÍ MATKA A JEJÍ DÍTĚ?

Ulmannová T.1, Norková J.2, Bartášková D.3, Špálová I.4, Včeláková J.1, Štechová K.1
1Pediatrická klinika 2.LF UK a FN v Motole; 2PřF UK; 3Interní klinika 2.LF UK a FN v Motole; 4Gynekologicko–porodnická klinika 2.LF UK a FN v Motole
Školitel: Doc. MUDr. Kateřina Štechová Ph.D.

P40. THE SUBCELLULAR DISTRIBUTION OF PRESYNAPTIC GLYCINE RECEPTORS CORRELATES WITH THE OCCURRENCE OF ENDOGENOUS SOURCES OF THEIR AGONISTS

Trojanova J.1, Kulik A.2, Janacek J.3 and Turecek R.1
1Department of Auditory Neuroscience, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic; 2Department of Anatomy and Cell Biology, Institute of Anatomy I and Cellular Biology, University of Freiburg, Germany; 3Department of biomathematics, Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic
Supervisor: RNDr. Rostislav Turecek, Ph.D.

**VYUŽITÍ GENOMICKÝCH TECHNIK VE VÝZKUMU
A DIAGNOSTICE DĚDIČNĚ PODMÍNĚNÝCH ONEMOCNĚNÍ** 30'
Stanislav Kmoch, Centrum aplikované genomiky, Ústav dědičných
metabolických poruch, 1. LF UK

**14 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOMPLEXNÍCH CHROMOZOMOVÝCH
PŘESTAVEB**

Drábová J.¹, Zmítková Z.¹, Novotná D.¹, Hančárová M.¹, Maříková T.¹,
Simandlová M.¹, Puchmajerová A.¹, Baxová A.², Vičková M.¹, Vičková Z.¹,
Kočárek E.¹, Zemanová Z.³, Sedláček Z.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol; ²Ústav biologie a
lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN; ³Ústav klinické biochemie a laboratorní
diagnostiky 1. LF UK a VFN

Školitel: Prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

**15 PACIENTI S MUTACEMI SHOX GENU A PACIENTI S TURNEROVÝM
SYNDROMEM MAJÍ PODOBNOU GEOMETRII RADIA**

Souček O.¹, Lebl J.¹, Zemková D.¹, Roček M.², Šumník Z.¹

¹Pediatrická klinika UK 2. LF a FN v Motole, Praha; ²Klinika zobrazovacích
metod UK 2. LF a FN v Motole, Praha

Školitel: Doc. MUDr. Zdeněk Šumník, Ph.D.

**16 MUTATIONAL ANALYSIS OF DNAI1 AND DNAH5 HOT-SPOT
EXONS AS A FIRST-STEP GENETIC TESTING IN PRIMARY CILIARY
DYSKINESIA**

Djakow J.¹, Svobodova T.¹, Uhlík J.², Cinek O.¹ and Pohunek P.¹

¹Department of Paediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Teaching Hospital in
Motol, Prague; ²Department of Histology and Embryology, 2nd Faculty of
Medicine, Prague

Supervisor: Ondrej Cinek

17 „SUPERMUTAČNÝ“ FENOTYP V DŮSLEDKU STRATY EXPRESIE TDG PROTEÍNU U PACIENTA S CMMR-D SYNDRÓMOM A BIALELICKOU ZÁRODOČNOU MUTÁCIOU PMS2 GÉNU

Vasovčák P.¹, Wimmer K.², Puchmajerová A.¹, Škapa P.³, Marra G.⁴
a Křepelová A.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky, UK 2. LF a FN Motol, Praha; ²Division of Human Genetics, Medical University Innsbruck, Innsbruck, Austria;

³Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol, Praha;

⁴Institute of Molecular Cancer Research University of Zurich, Zurich, Switzerland

Školitel: MUDr. Anna Křepelová, CSc.

POSTEROVÁ SEKCE 3 (M. Žaliová, D. Groh)

12.00–12.35

Postery – příspěvky č. P41–P60

POSTEROVÁ SEKCE 4 (R. Špíšek, J. Zámečník)

Postery – příspěvky č. P61–P79

LITERÁRNÍ REVUE

12.35–13.20

EKG o lásce a pitvání: motolský speciál

J. Rudiš, I. Malijevský, T. Pastrňák, J. Soukup

Sekce 5

13.30–14.25

Předsedající: M. Rygl, B. Fišárková

**PORANĚNÍ PARENCHYMATÓZNÍCH ORGÁNŮ
V DĚTSKÉM VĚKU**

15⁴

Jiří Šnajdauf, Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol

18 SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ LÉČBY ZLOMENIN DISTÁLNÍHO RADIA OŠETŘENÝCH ÚHLOVĚ STABILNÍMI DLAHAMÍ S RIGIDNÍM A VOLITELNÝM SMĚREM ZAVEDENÍ ŠROUBŮ

Vlček M., Landor I.

1. ortopedická klinika 1. LF UK Praha a FN v Motole

Školitel: Doc. MUDr. Ivan Landor., CSc.

19 FUNKČNÍ VYŠETŘENÍ PLIC U NESPOLUPRACUJÍCÍCH DĚTÍ PO OPERACI VROZENÉ BRÁNIČNÍ KÝLY

Kuklová P.¹, Šulc J.², Pýcha K.¹, Straňák Z.³, Svobodová T.², Šnajdauf J.¹, Rygl M.¹

¹Klinika dětské chirurgie FN Motol; ²Pediatrická klinika FN Motol; ³Ústav pro matku a dítě v Praze 5 – Podolí

Školitel: doc. MUDr. Michal Rygl, Ph.D.

20 VLIV PRIMÁRNÍ SUTURY RTU U NOVOROZENCŮ S ROZŠTĚPEM NA HOJENÍ OPERAČNÍ RÁNY A RŮST A VÝVOJ MAXILY

Borský J.¹, Bláha K.², Průša R.², Štekláčová A.², Velemínská J.³, Cagáňová V.³, Peterka M.³

¹KPCH FNKV 3. Lékařská fakulta UK Praha; ²Ústav klinické biochemie a patobiochemie, 2. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha;

³Přírodovědecká fakulta UK Praha

Školitel: Prof. MUDr. Tatjana Dostálová DrSc., MBA

Sekce 6

14.30–15.50

Předsedající: P. Marusič, J. Uhlík

EPILEPTICKÉ ZÁCHVATY A FUNKČNÍ USPOŘÁDÁNÍ MOZKU 15'
Petr Marusič, Neurologická klinika dospělých 2. LF UK a FN Motol

21 BIOPSIE NULTÉ HODINY DÁRCOVSKÉ LEDVINY

Jonáš D.¹, Háček J.², Chadimová M.², Špatenka J.¹, Burkert J.^{1,3}, Seeman T.⁴, Matoušovic K.¹

¹Transplantační centrum; ²Ústav patologie a molekulární medicíny;

³Kardiochirurgická klinika; ⁴Pediatrická klinika

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.

22 FLUORESCENČNÍ ANALÝZA PRODUKTŮ RADIKÁLOVÝCH REAKCÍ V MEMBRÁNÁCH ERYTCYTŮ U PACIENTŮ S ALZHEIMEROVOU CHOROBOU

Kozáková A., Johnová K.

Ústav lékařské chemie a biochemie 2.LF

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Alice Skoumalová Ph.D., Ústav lékařské chemie a biochemie 2. LF

**23 DTI JAKO MOŽNÝ DIAGNOSTICKÝ MARKER POŠKOZENÍ
PERIVENTRIKULÁRNÍ BÍLÉ HMOTY U NORMOTENZNÍHO
HYDROCEFALU**

Šulc V.^{1,2}, Hořínek D.^{1,3}, Vrána J.², Keller J.⁴, Mohapl M.³, Saur K.³,
Rejchrt P.², Belšán T.², Beneš V.³, Charvát F.²

¹Laboratoř pro neurozobrazení Ústav patofyziologie 2. LF UK;

²Radiodiagnostické oddělení ÚVN Praha; ³Neurochirurgická klinika 1. LF
UK a ÚVN Praha; ⁴Radiodiagnostické oddělení Nemocnice na Homolce

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Daniel Hořínek, Ph.D.

24 HYPERMOTORICKÉ ZÁCHVATY U TEMPORÁLNÍ EPILEPSIE

Elišák M.¹, Marusič P.^{1,2}

¹Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol; ²Neurochirurgická klinika 1. LF
UK a ÚVN Praha

Pregraduální student

Školitel: Doc. MUDr. Petr Marusič, Ph.D.

KARDIOLOGEM V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Michal Šnorek, Kardiocentrum, Nemocnice České Budějovice

15'

POSTERY

Čtvrtek 14. 4.

P41. IgA NEFROPATIE DĚTSKÉHO VĚKU

Štekkláčová A.¹, Dušek J.², Vondrák K.², Háček J.³, Stejskal J.³,
Matoušovic K.⁴

¹UK 2. LF; ²Pediatrická klinika UK 2. LF; ³Ústav patologie a molekulární
medicíny UK 2. LF; ⁴Interní klinika UK 2. LF

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic DrSc.

P42. CYTOGENETIC AND ARRAYCGH ANALYSIS OF WILMS'AND OTHER CHILDHOOD RENAL TUMORS IN CORRELATION WITH HISTOLOGICAL AND CLINICAL FEATURES

Stejskalová E.¹, Jarošová M.², Urbánková H.², Mališ J.¹, Kodet R.³

¹Department of Pediatric Hematology and Oncology, University Hospital
Motol-Prague, Czech Republic; ²Department of Hemato-oncology, Palacky
University Hospital Olomouc, Czech Republic; ³Department of Pathology
and Molecular Medicine, University Hospital Motol-Prague, Czech
Republic

Supervisor: Prof. RNDr. Marie Jarošová, Ph.D.

P43. VLIV KROMOGLYKÁTU SODNÉHO NA ZMĚNU ZASTOUPENÍ PLICNÍCH PERIFERNÍCH ARTÉRIÍ SE ZTLUŠTĚLOU T. MEDIA PŘI AKUTNÍ A CHRONICKÉ HYPOXII

Novotný T.^{1,2}, Krejčí J.¹, Švehlík V.¹, Wasserbauer R.¹, Malíková J.^{1,3},
Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská
fakulta; ²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice; ³Pediatrická klinika,
Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

P44. VLIV KROMOGLYKÁTU SODNÉHO NA ZASTOUPENÍ PLICNÍCH PERIFERNÍCH ARTÉRIÍ SE ZTLUŠTĚLOU T. MEDIA PŘI KRÁTKODOBÉM A DLOUHODOBÉM ZOTAVENÍ Z CHRONICKÉ HYPOXIE

Švehlík V.¹, Novotný T.^{1,2}, Krejčí J.¹, Wasserbauer R.¹, Malíková J.^{1,3},
Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská
fakulta; ²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice; ³Pediatrická klinika,
Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta

Pregraduální student

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

**P45. MORFOLOGICKÉ ZMĚNY PLICNÍCH VODIVÝCH ARTÉRIÍ
PŮSOBENÍM HYPOXIE**

Krejčí J.¹, Novotný T.^{1,2}, Humlová D.¹, Švehlík V.¹, Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta; ²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice

Pregraduální student

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

**P46. MORFOLOGICKÉ ZMĚNY PLICNÍCH VODIVÝCH ARTÉRIÍ PŘI
ZOTAVENÍ Z DLOUHODOBÉ HYPOXIE**

Humlová D.¹, Novotný T.^{1,2}, Krejčí J.¹, Švehlík V.¹, Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta; ²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice

Pregraduální student

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

**P47. KORELACE DYNAMICKÉHO BIOMECHANICKÉHO
TESTOVÁNÍ, HISTOPATOLOGICKÝCH NÁLEZŮ A VIZUÁLNÍHO
MAKROSKOPICKÉHO VYŠETŘENÍ U LIDSKÉ HYALINNÍ CHRUPAVKY**

Kos P.¹, Varga F.², Handl M.¹, Kautzner J.¹, Chudáček V.³, Držík M.⁴,
Povýšil C.⁵, Trč T.¹, Amler E.²

¹II. ortopedická klinika FN Motol; ²Ústav biofyziky 2. LF UK; ³Fakulta elektrotechnická, ČVUT; ⁴International Laser Center, Bratislava; ⁵Ústav patologické anatomie 1. LF UK

Školitel: Doc. MUDr. Milan Handl, Ph.D.

**P48. ENHANCEMENT OF THE EFFICACY OF DOCETAXEL WITH
CONJUGATED LINOLEIC ACID IN LNCAP PROSTATE CANCER
CELLS**

Kakawand S.

University of Aberdeen; Charles University Prague

Supervisor: Dr. Andy Schofield

**P49. VPLYV HYPOXIE NA CHEMOREZISTENCIU A ZMENY BUNKOVÉHO
CYKLU NEUROBLASTÓMOVÝCH BUNKOVÝCH LÍNIÍ**

Figová K., Hraběta J., Poljaková J., Cipro S., Eckschlager T.

Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha.

Školitel: Prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

**P50. RELIABILITA ASPEKČNÍCH TESTŮ POSTURÁLNÍ STABILIZACE
– PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY**

Voráčová H., Slabý K.

Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Kryštof Slabý

**P51. STANDARDNÍ KEFALOMETRICKÉ HODNOTY VZORKU ČESKÉ
POPULACE – POROVNÁNÍ SE STŘEDNÍMI HODNOTAMI
POUŽÍVANÝCH ANALÝZ**

Hofmanová P.^{1,2}, Řeháček A.², Michalík P.¹, Dostálová T.¹

¹Dětská stomatologická klinika FN MOTOL, 2. LF UK Praha; ²Privátní
praxe

Školitel: Prof. MUDr. Taťjana Dostálová DrSc., MBA

**P52. VYUŽITÍ TESTŮ POSTURÁLNÍ STABILITY PŘI DIFERENCIÁLNÍ
DIAGNOSTICE HEREDITÁRNÍCH ATAXIÍ**

Schwabová J.¹, Zahálka F.³, Komárek V.², Malý T.³, Hráský P.³, Gryc T.³
a Zumrová A.²

¹Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol, Praha; ²Klinika dětské
neurologie UK 2. LF a FN Motol, Praha; ³Laboratoř sportovní motoriky UK
FTVS, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

P53. ESID REGISTR PACIENTŮ S CVID

Milota T., Zimanová V.

Ústav imunologie 2. LF UK

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. Anna Šedivá, CSc.

**P54. AKUTNÍ KALORICKÁ RESTRIKCE OMEZÍ ROZSAH INFARKTU
MYOKARDU U POTKANA**

Šnorek M.^{1,3,4}, Neckář J.^{4,5}, Skoumalová A.^{2,4}, Hodyc D.^{1,4}, Šedivý V.^{1,4},
Wilhelm J.^{2,4}, Kolář F.^{4,5} a Herget J.^{1,4}

¹Ústav fyziologie; ²Ústav lékařské chemie a biochemie; ³Kardiocentrum
Nemocnice České Budějovice, a. s.; ⁴Centrum výzkumu chorob srdce
a cév; ⁵Fyziologický ústav AV ČR

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

P55. ROLE HIPOKAMPU PŘI ROZEZNÁVÁNÍ POZICE VZDÁLENÉHO OBJEKTU

Levčík D., Nekovářová T. a Klement D.

Fyziologický ústav AV ČR

Školitel: MUDr. Jan Bureš, DrSc.

P56. PROGNOSTICKÝ VÝZNAM IMUNOLOGICKÝCH FAKTORŮ U T AKUTNÍ LYMFOLASTICKÉ LEUKÉMIE

Zdráhalová K.¹, Froňková E.², Mejstříková E.²

¹Klinika dětské hematologie a onkologie; ²Laboratoř molekulární genetiky, FN Motol, Praha

Školitel: Eva Froňková

P57. GLYCINOVÉ RECEPTORY V MNTB KONTROLNÍCH A KOCHLEOTOMIZOVANÝCH POTKANŮ

Hrušková B., Trojanová J. a Tureček R.

Ústav experimentální medicíny AVČR, Praha

Školitel: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

P58. PRM1 AND PRM2 GENE POLYMORPHISMS IN CZECH MEN WITH IDIOPATHIC OLIGOZOOSPERMIA, NORMOZOOSPERMIC MEN AND MEN WITH PROVEN FERTILITY

Křenková P.¹, Tuettelmann F.², Paulasová P.¹, Diblík J.¹, Macek M. jr.¹, Macek M. sr.¹

¹Department of Biology and Medical Genetics, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic; ²Institute of Human Genetics, University of Münster, Münster, Germany

Supervisor: Doc. MUDr. Milan Macek sr., CSc.

P59. POSITIVE ALLOSTERIC MODULATOR OF METABOTROPIC GLUTAMATE RECEPTORS SUBTYPE 4, PHCCC IN THREE MODELS OF EPILEPTIC SEIZURES ELICITED IN IMMATURE RATS

Szczurowska E., Mareš P.

Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: Prof. Pavel Mareš

P60. VARIABILITA MĚŘENÍ A JEJÍ VLIV NA VÝSLEDEK ANTENATÁLNÍHO SCREENINGU VROZENÝCH VAD

Loucký J.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol; IMALAB s. r. o. Zlín

Školitel: Prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

**P61. ZKUŠENOSTI S ČASNOU KOREKČÍ JEDNOSTRANNÝCH
A OBOUSTRANNÝCH ROZŠTĚPŮ RTU U NOVOROZENCŮ**

Černý M.¹, Borský J.²

¹Novorozenecké oddělení s JIRP; ²Klinika plastické chirurgie FNKV, Praha
Školitel: Prof. MUDr. Martin Vízek, DrSc.

**P62. NANOFIBERS WITH ADHERED LIPOSOMES AS A NOVEL DRUG
DELIVERY SYSTEM FOR TISSUE ENGINEERING**

Míčková A.¹, Rampichová M.¹, Jakubová R.¹, Martinová L.², Košťáková E.²,
Lukáš D.², Amler E.¹

¹2nd Faculty of Medicine, Department of Biophysics; ²Technical University
of Liberec, Department of Nonwovens
Supervisor: RNDr.Doc. Evžen Amler, CSc.

**P63. FUNCIONALIZOVANÁ POLYPROPYLENOVÁ SÍTKA PRO
OPERATIVNÍ ŘEŠENÍ INCIZIONÁLNÍ KÝLY**

East B.¹, Plecner M.^{2,3}, Krejčí T.¹, Rampichová M.^{2,3}, Prosecká E.^{2,3},
Otáhal M.⁵, Lytvynets A.⁴, Amler E.^{2,3}, Hoch J.¹

¹Chirurgická klinika 2.LF UK; ²Ústav biofyziky 2. LF UK; ³1 Laboratoř
tkáňového inženýrství, Ústav experimentální medicíny AVČR, v. v. i.;
⁴Ústav experimentální medicíny AVČR, v. v. i.; ⁵Laboratoř aplikovaných
výpočtů, laboratoř biomechaniky člověka, ČVUT
Školitel: Prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.

**P64. STRUKTURÁLNÍ ZMĚNY V PRŮDUŠKOVÉ SLIZNICI U MALÝCH DĚTÍ
S VYSOKÝM RIZIKEM PRO ROZVOJ ASTMATU**

Urbanová K.¹, Pohunek P.¹, Uhlík J.²

¹Pediatrická klinika 2. LF UK a FNM; ²Ústav histologie a embryologie
2. LF UK
Školitel: Prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

**P65. THE EFFECT OF IRON OXIDE NANOPARTICLE LABELING ON
HUMAN MESENCHYMAL STROMAL CELL PROLIFERATION AND
MIGRATION**

Kapcalová M.^{1,2}, Mareková D.^{1,2}, Babič M.^{2,3}, Syková E.^{1,2}
and Jendelová P.^{1,2}

¹Institute of Experimental Medicine AS CR; ²Center for Cell Therapy and
Tissue Repair, Charles University; ³Institute of Macromolecular Chemistry
AS CR
Supervisor: RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

**P66. POHLAVNÍ A VĚKOVÉ ROZDÍLY V GABAERGNÍ TRANSMISI
V SUBSTANTIA NIGRA PARS RETICULATA U KRYS**

Chudomel O.¹, Bojar M.¹, Moshé S. L.², Syková E.³, Galanopoulou A. S.²

¹Neurologická klinika FN Motol; ²Department of Neurology Albert Einstein College of Medicine, USA; ³Ústav Neurověd 2. LF UK

Školitel: Doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

**P67. VYUŽITÍ ČIPOVÉ TECHNOLOGIE KE STUDIU EXPRESNÍHO PROFILU
CHRONICKÝCH MYELOPROLIFERATIVNÍCH NEOPLAZEM**

Otáhalová E.¹, Strnad H.², Prchal J. T.³

¹Ústav hematologie a krevní transfuze; ²Ústav molekulární genomiky AV ČR; ³University of Utah

Školitel: Josef T. Prchal

**P68. DENDRITICKÉ BUŇKY U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS
1. TYPU (T1D) A JEJICH PŘÍBUZNÝCH S GENETICKY DEFINOVANÝM
STUPNĚM RIZIKA ROZVOJE T1D**

Kayserová J.¹, Štechová K.², Ulmannová T.², Šumník Z.², Koloušková S.², Šedivá A.¹, Špišek R.¹

¹Ústav imunologie, UK 2. LF a FN Motol, Praha;

²Pediatrická klinika, UK 2. LF a FN Motol, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Anna Šedivá, DrSc.

**P69. VLIV HEPARINU NA HLADINU PLAZMATICKÉHO PROTEINU
A SPOJENÉHO S TĚHOTENSTVÍM U NEMOCNÝCH S AKUTNÍM
KORONÁRNÍM SYNDROMEM**

Hájek P.¹, Macek Sr. M.², Lashkevich A.², Klučková H.², Hladíková M.², Hansenclová E.¹, Malý M.¹, Veselka J.¹, Krebsová A.³

¹Kardiologická klinika UK 2. LF a FN Motol;

²Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN Motol;

³Department of Internal Medicine/Cardiology, Virchow Klinikum, Humboldt University, Berlin, Germany

Školitel: Doc. MUDr. Milan Macek Sr., Ph.D.

**P70. PARVALBUMIN AND CALRETININ IMMUNOREACTIVITY
OF THE PRELIMBIC AND INFRALIMBIC CORTEX IN THE RAT**

Salaj M.¹, Cerman J.¹, Druga R.^{1,2}

¹Department of Anatomy 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague;

²Institute of Anatomy, 1st Medical Faculty, Charles University, Prague

Supervisor: Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.

P71. PROGNOŠTICKÝ A DIAGNOŠTICKÝ VÝZNAM DETEKCE EXPRESE PROTEINU INI1 U EMBRYONÁLNÍCH NÁDORŮ CNS

Kuncová K.¹, Vícha A.², Churáčková M.², Gajdoš P.³, Kodet R.¹, Zámečník J.¹

¹Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol; ²Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol; ³Centrum laboratorních činností, Státní zdravotní ústav
Školitel: Doc. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.

P72. HEREDITARY NON-SYNDROMIC DEAFNESS DFNB49 IN CZECH GYPSY FAMILIES - USEFULNESS OF HOMOZYGOSITY MAPPING ON SNP CHIPS

Brožková D.¹, Laštůvková J.², Štěpánková H.³, Seeman P.¹

¹DNA laboratory, Department of Child Neurology, Charles University 2nd Medical School, Prague; ²Department of Medical Genetics, Masaryk Hospital, Ústí nad Labem; ³Department of Clinical Genetics, Hospital České Budějovice
Supervisor: Pavel Seeman

P73. ADIPOSE TISSUE PLASTICITY IS COUPLED WITH SEX-DEPENDENT EFFECTS OF DIFFERENT DIETS ON GLUCOSE HOMEOSTASIS

Janovska P., Medrikova D., Macek Jilkova Z., Bardova K., Rossmeisl M. and Kopecky J.

Department of Adipose Tissue Biology, Institute of Physiology of the Academy of Sciences of the Czech Republic v. v. i., Prague, Czech Republic
Supervisor: MUDr. Jan Kopecky, DrSc.

P74. p16 IMMUNOPROFILING OF SQUAMOUS LESIONS OF THE UTERINE CERVIX WITH LIMITED DIAGNOSTIC REPRODUCIBILITY

Škapa P.¹, Robová H.², Rob L.² a Zámečník J.¹

¹Department of Pathology and Molecular Medicine; ²Department of Obstetrics and Gynaecology, Charles University, 2nd Medical School, University Hospital Motol, Prague
Supervisor: Doc. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.

P75. KRYOPREZERVACE NEOVLIVŇUJE MECHANICKÉ VLASTNOSTI MITRÁLNÍCH ALLOGRAFTŮ

Hlubocký J.¹, Nováček V.², Klepáček J.³, Kochová P.², Špatenka J.⁴

¹II. chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie VFN Praha; ²Katedra nových technologií ZČU Plzeň; ³katedra mechaniky ZČU Plzeň; ⁴TC FN Motol Praha
Školitel: prim. MUDr. Jaroslav Špatenka, CSc.

P76. VYŠETŘENÍ NGAL U KARDIOCHIRURGICKÝCH PACIENTŮ ZA ÚČELEM PREDIKCE RENÁLNÍCH KOMPLIKACÍ

Lejsek J.^{1,2}, Průša R.², Pechová M.²

¹Klinika anesteziologie a resuscitace UK 2. LF a FN Motol; ²Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

P77. NEUROFIBROMATÓZA TYPU 1- cDNA ANALÝZA GENU NF1

Bendová Š.¹, Vasovčák P.¹, Maříková T.¹, Petrák B.², Kalužová M.², Křepelová A.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN Motol; ²Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol

Školitel: MUDr. Anna Křepelová, CSc.

P78. FRAKCIONOVANÁ PLAZMATICKÁ SEPARACE A ADSORBCE NEOLIVŇUJE HEMODYNAMICKÉ PARAMETRY U EXPERIMENTÁLNÍHO AKUTNÍHO SELHÁNÍ JATER

Lászková E.^{1,5}, Pražák J.², Pantoflíček T.^{3,5}, Ryska O.⁴, Koblihová E.^{3,5}, Jurenka B.¹, Ryska M.^{3,5}

¹Oddělení anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče ÚVN Praha;

²Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče 2. LF UK;

³Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha; ⁴Chirurgická klinika 1. LF UK, Nemocnice na Bulovce Praha; ⁵Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad, 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec CSc., MBA, Prof. MUDr. Miroslav Ryska CSc.

P79. PORUCHY SLUCHOVÉ FUNKCE U DĚTÍ A DOSPÍVAJÍCÍCH LÉČENÝCH CISPLATINOU

Pelánová J.¹, Šuta D.¹, Sumerauer D.³, Zápotocký M.³, Groh D.^{1,2}, Kabelka Z.², Starý J.³, Syka J.¹

¹Ústav experimentální medicíny AV ČR, ²Klinika dětské ORL a ³Klinika dětské hematologické 2. LF UK a FN, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.

ABSTRAKTA

PŘEDNÁŠKY

01. GENOVÁ TERAPIE NÁDORŮ VYVOLÁVANÝCH VIRY

Jinoch P.¹, Rittich Š.¹, Lakatošová M.:¹, Šmahel M.¹, Vonka V.¹ a Goetz P.²
¹Experimentální virologie, ÚHK Praha; ²ÚBLG 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Petr Goetz, CSc.

Úvod: Lidské papillomaviry tvoří početnou skupinu virů z niž některé typy vyvolávají kožní bradavice a jiné jsou spojovány se vznikem karcinomu děložního čípku. Jako pomocná metoda při léčbě karcinomu čípku může sloužit indukce specifické imunitní odpovědi. Experimentálně jsou pro tyto účely používány zvířecí nádory geneticky pozměněné tak, aby exprimovaly papillomavirové proteiny jako nádorově specifické antigeny. Metodami genové terapie jsme se pokusili u zvířat vyvolat imunitní odpověď chránící zvířata před vznikem nádorů z podkožně implantovaných onkogenních buněk.

Cíl: Vytvoření geneticky modifikované buněčné vakcíny a její charakterizace. Připravení DNA vakcíny, která po vnesení do epidermálních vrstev napomáhá prezentaci antigenu na antigen prezentujících buňkách. Imunizací buňkami anebo pomocí genové pistole vyvolat protinádorovou imunitní odpověď.

Materiál a metody: Do onkogenní buněčné linie MK16, myši epiteliální linie transformované in vitro papillomavirovými onkogeny, jsme vnesli geny pro membránově ukotvené (B7.1) a pro solubilní (GM-CSF, IL-2, MCP-1) imunostimulační molekuly. Pro vnášení jsme používali buď virové vektory odvozené od adeno-asociovaných virů typu 2 nebo plazmidovou DNA. Při selekci geneticky modifikovaných buněk jsme využili současně vnášený gen pro herpetickou thymidin kinázu a uměle vyvolaný enzymatický defekt buněk. Vyselektované klony jsme použili jako imunogen v experimentech in vivo. Imunizaci buňkami jsme kombinovali s imunizací plazmidovou DNA.

Výsledky: Preventivní imunizace byla vždy úspěšnější než pokusy o odhojení onkogenních buněk v terapeutickém režimu. Opakované podávání vakcíny vyvolávalo účinnější protinádorovou odpověď a větší zastoupení specifických cytotoxických lymfocytů v slezinných buňkách imunizovaných zvířat než jednorázové podání buněčné vakcíny. Kombinování imunizace buňkami a plazmidovou DNA potencovalo účinek imunizace a byla pozorovaná i závislost na pořadí imunizací.

Závěr: Při srovnávání účinku použitých imunostimulačních molekul se jevily jako nejúčinnější cytokiny GM-CSF a IL-2, dále membránově vázaná molekula B7-1. Účinek MCP-1 byl malý. Výsledek nelze brát obecně, protože byly porovnávány vyselektované buněčné klony. Kombinování imunizace buňkami a plazmidové DNA kromě zvýšení účinku imunizace poukázalo i na důležitost režimu v jakém jsou imunizace prováděny.

Podpora projektu: Grant č. NR/9075-3 IGA MZ ČR

02. ANTRACYKLINY INDUKUJÍ IMUNOGENNÍ BUNĚČNOU SMRT U ŠIROKÉHO SPEKTRA LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH BUNĚK

Fučíková J.¹, Králíková P.¹, Fialová A.¹, Budinský V.¹, Brtnický T.², Rob L.², Bartůňková J.¹, Špíšek R.¹

¹Ústav Imunologie, UK 2. LF a FN Motol; ²Gynekologicko-porodnická klinika, UK 2. LF a FN Motol

Školitel: Doc. MUDr. Radek Špíšek, Ph.D.

Úvod: Z imunologického hlediska lze buněčnou smrt rozlišit na imunogenní, kdy zabitá buňka je schopna indukovat specifickou imunitní odpověď a tolerogenní, při které je naopak výsledkem tolerance k zabité buňce. Experimenty na zvířecích modelech odhalily, že imunogenní buněčná smrt je charakterizována translokací chaperonových proteinů jako je calreticulin a heat shock proteiny 70 a 90 z endoplazmatického retikula na povrch buňky. Expres těchto molekul na povrchu nádorových buněk indukuje maturaci dendritických buněk a usnadňuje prezentaci nádorových antigenů dendritickými buňkami dalším buňkám imunitního systému. Mezi imunogenní molekuly patří i pozdně apoptotický marker High mobility group box1. Dosud nejsou známa data o expresi markerů imunogenní buněčné smrti na lidských nádorových buňkách.

Cíl: Cílem naší práce je sledovat schopnost klinicky užívaných chemoterapeutik indukovat imunogenní buněčnou smrt u lidských nádorových buněk a nádorových linií karcinomu ovaria, prostaty a akutní lymfoblastické leukémie.

Materiál a metody: U nádorových buněk kultivovaných se spektrem klinicky používaných cytostatik byla stanovena kinetika apoptózy pomocí AnnV/DAPI. Expres imunogenních molekul byla stanovena pomocí průtokové cytometrie. Produkce HMGB1 v supernatantu nádorových buněk byla detekována pomocí metody ELISA. Nezralé dendritické buňky byly pulzovány zabitými nádorovými buňkami a následně stanoven jejich fenotyp a schopnost indukovat specifickou protinádorovou imunitní odpověď a regulační T lymfocyty.

Výsledky: V naší práci ukazujeme, že ze všech testovaných cytostatik pouze antracykliny indukují imunogenní buněčnou smrt studovaných nádorových buněk. Antracykliny indukují rychlou translokaci calreticulinu, hsp70 a 90 na buněčný povrch nádorové buňky a uvolnění HMGB1 během 12hod po expozici chemoterapeutiku. Nádorové buňky zabitě antracykliny jsou významně více fagocytovány dendritickými buňkami a jejich pohlčení vede k aktivaci dendritických buněk. Dendritické buňky, které prezentují nádorové buňky zabitě antracykliny jsou schopny aktivovat nádorové specifické T lymfocyty produkující IFN- γ a indukují signifikantně nižší počty regulačních T lymfocytů, než nádorové buňky zabitě jinými modalitami.

Závěr: Identifikovali jsme, že antracykliny jsou schopny indukovat imunogenní buněčnou smrt u širokého spektra lidských nádorových buněk. Nádorové buňky zabitě antracykliny jsou schopny aktivovat antigen prezentující buňky a indukovat specifickou protinádorovou imunitní odpověď.

Podpora projektu: GAUK200091
VZMSM0021620812

03. VYUŽITÍ IMUNOHISTOCHEMICKÝCH ONKOMARKERŮ K URČENÍ RIZIKA GERMINÁLNÍHO NÁDORU GONÁD U PACIENTŮ S PORUCHOU POHLAVNÍHO VÝVOJE (DSD)

Pleskačová J.¹, Stoop H.², Oosterhuis J. W.², Cools M.³, Drop S. L. S.⁴, Šnajderová M.¹, Lebl J.¹, Looijenga L. H. J.²

¹Pediatriká klinika UK 2. LF a FNM, Praha, ²Department of Pathology, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands, ³Department of Pediatrics, Division of Pediatric Endocrinology, University Hospital Ghent, Belgium, ⁴Department of Pediatric Endocrinology, Erasmus MC – Sophia Children's Hospital, Rotterdam, The Netherlands

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Úvod: Pacienti s poruchami pohlavního vývoje (DSD) a Y chromozomem v karyotypu mají větší riziko vzniku gonadálních germinálních nádorů. Proto většina pacientů podstupuje preventivní gonadektomii, čímž mnozí z nich přicházejí o přirozený zdroj pohlavních hormonů.

Cíl: Cílem práce bylo ověřit efektivitu imunohistochemické detekce germinálních buněk s rizikem maligního zvratu v porovnání s prostým přehledovým barvením v gonádách pacientů s DSD. Druhým cílem bylo blíže charakterizovat rizikové buňky a určit jejich vztah k nádorovým prekurzorům.

Materiál a metody: Zpracovali jsme 75 vzorků gonadální tkáně od 42 pacientů s DSD (věk: 6týdnů až 46 let; karyotyp: 46,XY, 46XX/46,XY, 45,X/46,XY a varianty). V žádném vzorku nebyly při původním vyšetření popsány neoplastické nebo dysplastické změny. Jako pozitivní kontrola byly použity testikulární vzorky s carcinoma in situ (CIS). Všechny vzorky byly barveny pomocí hematoxylinu a eozinu (HE) a pomocí imunohistochemické analýzy v nich byla hodnocena exprese OCT3/4. Pozitivní vzorky byly dále testovány na expresi SCF a koexpresi OCT3/4 a TSPY. Výsledky byly statisticky zpracovány pomocí testu Mann-Whitney.

Výsledky: 16 (21%) gonád obsahovalo OCT3/4 pozitivní buňky, tedy buňky s nezralými rysy a rizikem maligní transformace. Podle lokalizace buněk v gonádě a podle histologického typu gonády byly pozitivní vzorky rozděleny do dvou skupin: s buňkami s prostou nezralostí (6 gonád) a s tzv. pre-carcinoma in situ (pre-CIS)/pre-gonadoblastoma (pre-GB) buňkami (10 gonád). OCT3/4 pozitivní vzorky jsme následně barvili na přítomnost SCF a koexpresi OCT3/4 a TSPY. V obou barveních se skupiny významně lišily ($p=0,008$, respektive $p=0,00012$), přičemž skupina pre-CIS/pre-GB jeví shodné vlastnosti jako kontrolní vzorky (CIS), tzn. pozitivitu SCF a přítomnost zárodečných buněk s dvojitou pozitivitou.

Závěr: Barvení na OCT3/4 je v porovnání s prostým HE barvením schopno identifikovat buňky s rizikem maligní transformace ve významném množství vzorků, proto by bylo vhodné tento nebo jiný zavedený germinální onkomarker využívat při vyšetření gonadální tkáně u indikovaných pacientů (zejména u biopsií gonád, kde se uvažuje o ponechání gonády in situ). Další pomocná barvení potvrdila podobnost pre-CIS/pre-GB buněk s nádorovým prekurzorem (CIS), což nabízí teorii, že riziko vývoje nádoru z těchto buněk je větší než u buněk s prostou nezralostí. Skutečnou míru rizika ovšem dosud zbývá objasnit.

Podpora projektu: Projekt probíhal za podpory ESPE Research Fellowship, sponzorovaného Novo Nordisk/AS.

04. STANOVENÍ KONCENTRACE A RETINÁLNÍ TOXICITY TOPOTECANU PO TRANSKONJUNKTIVÁLNÍ INTRAVITREÁLNÍ APLIKACI U ZDRAVÝCH NOVOZÉLANDSKÝCH BÍLÝCH KRÁLÍKŮ

Darsová D.¹, Pochop P.¹, Klappková E.², Kodetová D.³, Mališ J.⁴, Uhlík J.⁵, Vajner L.⁵
¹Oční klinika dětí a dospělých; ²Ústav klinické biochemie a patobiochemie; ³Ústav patologie a molekulární medicíny; ⁴Klinika dětské hematologie a onkologie; ⁵Ústav histologie a embryologie

Školitel: Prof. MUDr. Dagmar Dotřelová, CSc.

Úvod: Topotecan, nový kandidát na léčbu pokročilého stupně retinoblastomu, je v současné době experimentálně testován s cílem minimalizování vedlejších účinků chemoterapeutik na co nejnižší možnou úroveň.

Cíl: Stanovit bezpečnost intravitreální aplikace topotecanu v závislosti na použité koncentraci u králíčích bulbů.

Materiál a metody: Experiment proběhl na pravých králíčích bulbech. Transkonjunktiválně intravitreálně byl aplikován skupině A o 6 králíčích 1 µg topotecanu, skupině B o 6 králíčích 2 µg topotecanu. V intervalech 1., 2., 6., 24., 48. hodině a 7.a 14. den po aplikaci topotecanu byl odebrán sklivce ke stanovení koncentrace vysoko-účinnou kapalinovou chromatografií a oči byly oftalmoskopicky vyšetřeny. Po 14 dnech byly králíci skupiny A usmrceni a enukleované oči byly vyšetřeny histologicky. Skupině B byl proveden elektroretinogram a dávka 2 µg topotecanu byla aplikována intravitreálně dvakrát ve 14 denních intervalech. Po 6 týdnech byl zopakován elektroretinogram. Králíci byli usmrceni a enukleované oči vyšetřeny histologicky.

Výsledek: Maximální intravitreální koncentrace topotecanu v pravých bulbech i v plazmě byly pozorovány 2 hod po aplikaci a byly měřitelné do 6 hod po aplikaci. Dosažené maximální koncentrace topotecanu ve sklivci u skupiny A se pohybovaly mezi 0,24–0,46 µg/l (median 0,295 µg/l), u skupiny B 0,66–1,35 µg/l (0,835 µg/l). U kontrolních levých očí byla koncentrace cytostatika ve sklivci u skupiny A pod hladinou detekce, u skupiny B byly měřeny koncentrace do 6 hod po aplikaci. Byly zaznamenány následující změny ve strukturách králíčích bulbů: vaskularizace rohovky v místě vpichu, katarakta, hemoftalmus, amoce, ložisková atrofie retiny a edém choroidei. U obou skupin jsme klinicky pozorovali od 7. dne po aplikaci automutilaci dolní končetiny. Elektroretinogram byl subnormální.

Závěr: Po intravitreální aplikaci topotecanu v dávce 1 µg a 2 µg bylo dosaženo dostatečné terapeutické koncentrace (LC50 >0,03 µg/l) po dobu 6 hod. Po aplikaci vyšší intravitreální dávky již nedošlo k prodloužení času expozice. Z hlediska zaznamenaných vedlejších účinků je zřejmé, že koncentrace 1 µg a 2 µg topotecanu je pro králíčí oko relativně bezpečná. Opakovaná intravitreální aplikace 2 µg topotecanu způsobila pokles elektrické aktivity sítnicových buněk králíčího oka, přesto byla elektrická aktivita sítnicových buněk výbavná. Výsledky této studie by mohly být využitelné v léčbě retinoblastomu u dětských pacientů.

Podpora projektu: Grant GAUK č. 63008

05. BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS CHANGE DISEASE PROGNOSIS IN A RAT MODEL OF FAMILIAL AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Forostyak S.^{1,2}, Jendelova P.^{1,2}, Kapcalova M.^{1,2}, Sykova E.^{1,2}

¹Institute of Experimental Medicine, Academy of Science of the Czech Republic, Prague;

²Department of Neuroscience and Centre for Cell Therapy and Tissue Repair, 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague

Supervisor: professor Eva Sykova, M.D., Ph.D., D.Sc.

Introduction: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease that mainly affects the lower motor neurons (MNs) in the brainstem and ventral horn of the spinal cord and the upper motor neurons in the cortex that give rise to the corticospinal tract. This results in muscle atrophy and weakness, fasciculations and spasticity.

Aims: In order to alleviate the disease course and prolong the animals' lifespan, the combined (intravenous and intraspinal) grafting of bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) was used in symptomatic rats.

Materials and Methods: In the current study we used transgenic rats overexpressing human superoxide dismutase 1 (SOD1) as a model of familial ALS. After the disease onset (about 16 weeks of age), rats received a graft of 105 cells intraspinally at the Th10 level and an injection of 2x10⁶ of MSCs intravenously (v. femoralis) on the same day. Sham-treated animals were injected with the same volume of phosphate buffered saline (PBS). Before and after transplantation of the cells, the rats' motor activity, grip strength and body weight were tested, followed by immunohistochemical analysis.

Results: The results suggest that the combined grafting of MSCs intraspinally and intravenously has a significant influence on the motor activity and grip strength of animals starting 4 weeks after transplantation (20-week-old animals) and also results in a tendency towards slowing the decline in body weight. The lifespan of animals treated with MSCs was also significantly longer comparing to sham-treated animals, 190±3.33 and 179±3.6 days, respectively (p<0.05). Rats treated with cells had a significantly larger number of spinal cord MNs at the thoracic (p<0.01) and lumbar (p<0.01) levels; these MNs had a larger mean soma surface area at the thoracic (p<0.05) and lumbar (p<0.05) levels as well as a larger mean soma circumference measured from the MN bodies at the same levels (p<0.01 and p<0.05, respectively), while the intensity of TUNEL staining in the somas of apoptotic MNs at the thoracic level was much lower than in sham-treated animals (p<0.05). Transplanted cells survived until the end stage of the disease and were migrating in the white matter of the spinal cord both rostrally and caudally from the injection site.

Conclusions: Our findings shows that MSCs have a positive influence on the motor activity and lifespan of ALS rats as well as on the MNs number and are able to survive in the host tissue until the end stage of the disease.

Support: AV0Z50390703, LC554, 1M0538, GACR 309/08/H079, 304/11/0189

06. ATYPICKÝ HUS – FUNKČNĚ RELEVANTNÍ MUTACE V CENTRÁLNÍ SLOŽCE KOMPLEMENTU C3 A NOVÝ PATOMECHANISMUS VZNIKU ONEMOCNĚNÍ

Malina M.¹, Roumenina L.², Schmitt C. P.⁸, Jankauskiene A.⁴, Majid M. A.³, Zimmerhackl L. B.⁵, Halb wachs-Mecarelli L.⁶, Seeman T.¹, Fremeaux-Bacchi V.⁷, Schaefer F.⁸

¹2. LF Univerzity Karlovy a FN Motol, ²Cordeliers Research Center, INSERM UMRS 872, Paris, France, ³Department of Pediatrics, Pediatric Nephrology Unit, Dubai Hospital, Dubai, United Arab Emirates, ⁴Vilnius University Children's Hospital, Lithuanian, ⁵Pediatrics I, Medical University, Innsbruck, Innsbruck, Austria, ⁶INSERM U845, Hôpital Necker, Paris France, ⁷Assistance Publique-Hopitaux de Paris, Hopital Europeen Georges-Pompidou, Service d'Immunologie Biologique, Paris. France, ⁸Center for Pediatrics and Adolescent Medicine, University Hospital Heidelberg, Germany

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Seeman, CSc.

Úvod: Hemolyticko-uremický syndrom (HUS) je závažnou chorobou ze skupiny trombotických mikroangiopatií. Projevuje se triádou anémie, trombocytopenie a akutního renálního selhání. Pro klasickou formu HUS, je charakteristické infekční průjemové předchorobí, kdy zhruba v 75 % případů jde o infekci kmeny *Escherichia coli* produkujícími shiga-like toxin. V 90 % případů se jedná o reverzibilní stav, kdy po odeznění iniciálních obtíží dochází ke kompletní úzdavě a nemoc nemá relabující charakter. Existuje cca 10 % pacientů, u nichž dochází k relapsům onemocnění nebo k remisi ani nedojde. Projevy a reakce na léčbu bývají u těchto atypických forem (aHUS) značně odlišné a mají většinou i velmi těžký až fatální průběh. V poslední době byla prokázána spojitost mezi mutacemi v genech pro proteiny regulující komplementovou kaskádu a rozvojem aHUS. Do současné doby se podařilo prokázat 6 genů, jejichž mutace jsou spojené s rozvojem aHUS a vysvětlují cca 60 % těchto onemocnění. Mezi ně se řadí i mutace v genu kódujícím centrální složku komplementu – protein C3.

Cíl: V mezinárodní kohortě 69 dětí s atypickým HUS jsme analyzovali gen kódující C3 složku komplementu pro zjištění frekvence výskytu mutací. V případě nalezení mutace byla naplánována funkční studie pomocí trojice různých metod.

Materiál a metody: 69 dětí s atypickým HUS jsme vyšetřili přímou sekvenací genu C3 ve všech 41 exonech pomocí dye-terminator metody. Pro funkční analýzu jsme exprimovali mutované proteiny v CHO buňkách. Rekombinantní proteiny poté byly testovány pomocí protein-interakčních vazebných esejí s regulátory komplementu (faktor H, faktor B, MCP, properdin) na základě modifikované ELISA a interakčním testem na povrchové plasmonové resonanci. Druhým testem byla analýza séra pacientů s mutacemi při interakci s in-vitro pěstovaným endotelem a měření depozice aktivované složky C3 komplementu.

Výsledky: V kohortě jsme našli 3 nové heterozygotní mutace v C3 genu. První dvě mutace dle výsledků funkční analýzy vykazují již publikovaný funkční defekt, kdy dochází k vzniku rezistence k inhibici faktorem H a neregulované aktivaci komplementu. Třetí mutace vyazuje nový funkční patogenní mechanismus. C3 protein se silněji váže s faktorem B a vytváří výrazně potentní C3 konvertázu. Tato C3 "superkonvertáza" poté neregulovatelně stimuluje komplement.

Závěr: C3 mutace jsou třetí nejčastější genetickou příčinou vzniku atypického HUS. V naší kohortě jsme našli tři nové heterozygotní mutace, které jsou všechny funkčně významné.

Podpora projektu: grant IGA MZ ČR č. NT11457-5

07. VZTAHY MEZI POHYBOVÝM SYSTÉMEM A GASTROEZOFAGEÁLNÍM REFLEXEM

Bitnar P.¹, Smejkal M.², Dolina J.³, Šulc J.¹, Hep A.³, Kolář P.¹

¹Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství FM Motol; ²III Chirurgická klinika 1. LF a FN Motol; ³Interní gastroenterologická klinika a Endoskopické centrum FN Brno-Bohunice

Školitel: Doc. PaedDr. Pavel Kolář, Ph.D.

Úvod: Mezi pohybovým a interním systémem existují funkčně reciproční vztahy. Tyto vztahy jsou biomechanické i neurofyzilogické. Gastroesofageální refluxní nemoc (GERD) má stoupající incidence a množství esofageálních (např. esofagitida) i extraesofageálních komplikací (asthma atd.). Etiopatogeneze GERD je složitá a multifaktoriální, jedním z hlavních faktorů vzniku choroby je dysfunkce dolního jícnového svěrače, resp. vysokotlaké zóny dolního jícnu (HPZ-high pressure zone). Tato zóna je tvořena hladkou svalovinou jícnu a také bráničními crurami. Porucha bránice se jeví jako významný faktor v etiologii GERD.

Cíl: Cílem je ověřit funkci bránice u pacientů s GERD. Dále ověřit další reflexní vztahy mezi pohybovým aparátem a oblastí jícnu. Dlouhodobým cílem je vytvoření léčebně rehabilitační konceptu pro pacienty s GERD.

Materiál a metody: Pacienti: Celkem 40 pacientů s verifikovaným GERD (gastroskopicky, Ph-manometricky). Průměrný věk 46 let. 25 mužů, 15 žen. a) U 36 pacientů provedeno spirometrické měření maximálních okluzních tlaků. b) U 26 pacientů byla provedena manometrie jícnu za současného spirometrického testování. c) U 16 pacientů byla provedena manometrie za současné posturální zátěže. d) U 35 pacientů bylo navozeno facilitované brániční dýchání za současné manometrické sondáže HPZ oblasti.
Metody: 1) Spirometrie-specifické vyšetření síly inspiračních i expiračních svalů u GERD pacientů- Maximální respirační manévry (PI max a PE max seu Müller, Valsalv). 2) Jícnová manometrie klasická i high resolution.

Výsledky: a) U 34 pacientů bylo shledáno významné snížení síly inspiračního svalstva (PI_{max}) - $p=2,77455 \times 10^{-9}$ a také expir. svalstva (PE_{max}) - $p=0,01721567$. vše statisticky významné. b) Průměrný klidový tlak v HPZ u 26 GERD pacientů byl. Při PI_{max} stoupl tlak v HPZ v průměru na 62 mm/Hg ($p=0,000003$) a při PE_{max} 55,42 mm/Hg ($p=0,00001$). c) Při posturálním zatížení nárůst z průměrných 8 mm/hg na 28 mm/Hg. d) Facilitované abdominální dýchání: vzrostl tlak v HPZ z klidových 7 mm/Hg na 42.32 mm/Hg.

Závěr: U pacientů s GERD je signifikantně porušená funkce dechového svalstva. Zejména inspiračního kde je hlavním svalem bránice. Během PI_{max} a PE_{max} respiračních manévru došlo k nárůstu tlaku v HPZ. Zaznamenali jsme však i paradoxní reakce bránice u 8 pac. s GERD. Bránice má i posturální funkci- to jsme objektivizovali při posturálním manévru, kdy se zvýšil tonus jejich crur (změna tlaku v HPZ). Facilit. brániční dýchání zvyšuje tlak v HPZ jícnu. Bránice je součástí antirefluxní bariéry. Trénink funkce bránice je vhodný u GERD pacientů.

08. ROLE KYSLÍKOVÝCH RADIKÁLŮ PŘI VZNIKU PLICNÍ HYPERTENZE PO AKUTNÍ PLICNÍ EMBOLII

Mizera R.^{1,2,3}, Hodyc D.^{1,2}, Herget J.^{1,2}

¹Ústav fyziologie UK 2. LF, ²Centrum pro výzkum chorob srdce a cév, ³Traumatologicko-ortopedické centrum KNL a. s.

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget DrSc.

Úvod: Zvýšení tlaku v plicním cévním řečišti po akutní plicní embolii (PE) je způsobeno jednak mechanickou obstrukcí embolem a také reaktivní vazokonstrikcí plicních cév. Přestože se dnešní terapeutické postupy zaměřují pouze na obstrukční složku PE (trombolýza, antikoagulační terapie, embolektomie) jeví se ovlivnění vazokonstrikce jako perspektivní koadjuvantní přístup.

Hypotéza: Hyperperfuse v neembolizované části plic zvýší střížné napětí, které působí na stěnu plicních cév a to zvyšuje produkci kyslíkových radikálů (ROS) a NO.

Cíl: Cílem experimentu je zjistit, zda preventivní podání scavengeru ROS Tempolu ovlivní plicní hypertenzi po PE a objasnit úlohu NO při akutní PE.

Materiál a metody: V experimentu byl použit model PE s použitím i.v. podané dávky mikrosfér Sephadex (320 mg/kg rozpuštěno v 0,2 ml FR). Poté jsme na preparátu izolovaných ventilovaných plic perfundovaných solným roztokem s albuminem měřili změny perfuzního tlaku (P) u 6 skupin potkanů:

NN: kontrolní skupina + nitroprusid sodný (n=5), EN: embolie + nitroprusid sodný (n=5), TN: Tempol + embolie + nitroprusid sodný (n=5), NL: kontrolní skupina + L-Name (n=5), EL: embolie + L-Name (n=5), TL: Tempol + embolie + L-name (n=5). Tempol byl aplikován před plicní embolií intraperitoneálně v dávce 100 mg/kg. Dále jsme měřili hladinu oxidačních produktů NO před a po embolii.

Výsledky: Zjistili jsme, že zvýšení tlaku v plicnici po akutní plicní embolii je zčásti způsobeno vazokonstrikcí plicních cév. Ve skupinách, kterým byl preventivně podán Tempol (TN, TL), byl změřen signifikantně nižší perfusní tlak po PE než ve skupinách bez Tempolu (EN, EL). Zároveň byl po podání Tempolu zaznamenán nižší pokles perfuzního tlaku po podání nitroprusidu sodného. Po podání L-Name ve skupině s PE (EL) došlo k vyššímu vzestupu perfuzního tlaku proti kontrolní skupině (NL). Po PE jsme naměřili vyšší hladiny oxidačních produktů NO v plazmě.

Závěr: Preventivní podání Tempolu snižuje vazokonstrikci plicních cév po akutní embolii a významně snižuje tlak v plicnici po akutní plicní embolii. Při PE se zvyšuje aktivita NO syntázy, zároveň roste hladina oxidačních produktů NO.

09. POLYFUNKČNÍ CMV-SPECIFICKÉ T-LYMFOCYTY JSOU ZNAKEM ÚSPĚŠNÉ OBRANY PROTI REAKTIVACI CMV U DĚTÍ PO TRANSPLANTACI KMENOVÝCH BUNĚK KRVETVORBY (HSCT)

Král L.^{1,2}, Stuchlý J.^{1, 2}, Thürner D.^{1,2}, Hubáček P.¹, Keslová P.¹, Starý J.¹, Hrušák O.^{1,2}, Sedláček P.¹ a Kalina T.^{1,2}

¹Klinika dětské hematologie a onkologie, UK 2. LF a FN Motol, Praha, ²CLIP (Childhood leukemia investigation Prague)

Školitel: MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D. a Doc. MUDr. Petr Sedláček, CSc.

Úvod: Cytomegalovirus (CMV) způsobuje závažné infekční komplikace u pacientů po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby (HSCT). Reaktivace CMV po HSCT jsou velmi časté, protože přípravné režimy vedou k depleci T-buněčné imunity. U těchto pacientů se může CMV rozvinout až do CMV nemoci (pneumonie, encefalitida) s vysokou morbiditou a mortalitou. Pro kontrolu infekce má zásadní význam rekonstituce CMV-specifických T-lymfocytů.

Cíl: Cílem naší studie bylo vyšetřit četnost a funkční profil CMV-specifických T-lymfocytů u zdravých dobrovolníků a dětských pacientů po HSCT a zjistit, které parametry jsou známkou účinné kontroly CMV infekce.

Materiál a metody: CMV-specifické T-lymfocyty jsme studovali pomocí mnohobarevné průtokové cytometrie metodou intracelulární stanovení cytokinů (ICS). Produkci interferonu gama (IFN γ), interleukinu 2 (IL2), expresi aktivační molekuly CD40L a degranulaci pomocí CD107a jsme stanovili po krátkodobé in vitro stimulaci mononukleárních buněk periferní krve. Takto jsme vyšetřili 191 vzorků od 118 pacientů a dobrovolníků. Pacienty po HSCT jsme dle virové nálože rozdělili na kontrolory a non-kontrolory, dobrovolníky dle sérologie na CMV pozitivní a negativní.

Výsledky: Zjistili jsme, že u pacientů, kteří kontrolují CMV reaktivace byly detekovatelné CD8+ T-lymfocyty současně produkující IFN γ a IL2. Tento typ lymfocytů zcela chyběl u pacientů nekontrolujících CMV. Nejvíce zastoupenou subpopulací CMV-specifických CD8+ T-lymfocytů u obou skupin pacientů byly buňky produkující pouze IFN γ , které však neměly vztah ke kontrole CMV reaktivace a považujeme je spíše za paměťové T-lymfocyty, protože byly přítomny i u CMV pozitivních dobrovolníků. Navíc analýza vztahů mezi všemi typy funkční odpovědi metodou hierarchického klastrování ukázala, že tyto IFN γ produkující T-lymfocyty nejsou v souhře s ostatními polyfunkčními T-lymfocyty.

Závěr: Identifikovali jsme funkční parametry T-lymfocytů, jež jsou nezbytné pro rekonstituci úspěšné imunitní odpovědi proti CMV u dětí po HSCT. Sledování těchto parametrů umožňuje monitorování obnovy CMV specifické imunity a umožní změnu léčebného protokolu pro pacienty s dobrou rekonstitucí. Tito pacienti již nebudou léčeni virostatiky a budou tak chráněni před nežádoucími účinky těchto léků. Vysoce rizikovým pacientům, kteří nemají dostatečnou rekonstituci CMV-specifické imunity, chceme výhledově nabídnout buněčnou terapii CMV-specifickými T-lymfocyty.

Podpora projektu: Podpořeno granty GAUK 47807, IGA-NS/9996-4 a MZOFNM2005

10. ALTERACE GENU IKAROS (IKZF1) A JEJICH VLIV NA PROGNÓZU DĚTÍ S AKUTNÍ LYMFBLASTICKOU LEUKÉMIÍ (ALL)

Volejníková J., Mejstříková E., Švojr K., Starý J., Trka J. a Froňková E.
Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. Lékařská fakulta a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

Úvod: Ikaros je transkripční faktor exprimovaný ve více izoformách, který je klíčový pro vývoj lymfoidní linie. Nedávné studie prokázaly špatnou prognózu pacientů s ALL s delecemi v tomto genu. Dosud ale není jasný vliv IKZF1 na zařazení do léčebných rizikových skupin v současných protokolech ani optimální způsob jeho vyšetření.

Cíl: Vyšetřit IKZF1 u dětí s BCR/ABL-negativní ALL léčených protokolem ALL IC-BFM 2002: 1) na úrovni DNA, 2) na úrovni genové exprese

Materiál a metody: Diagnostické vzorky kostní dřeně (KD) 182 dětí s ALL (viz výše). Ad 1: MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification); ad 2: RT-PCR a čipová elektroforéza (Agilent)

Výsledky: Na základě analýzy krve zdravých dárců, remisních vzorků KD a sortovaných vývojových stádií lymfocytů jsme stanovili fyziologické rozmezí exprese izoform IKZF1. Podíl exprese krátkých nefunkčních izoform (Ik4, Ik4del, Ik4A, Ik6, Ik6del, Ik8) z celkové exprese všech izoform (včetně funkčních Ik1, Ik2) byl signifikantně zvýšen (nad 0,8) u 13/182 (7%) pacientů. Tito měli horší 5-leté přežití bez relapsu (RFS; 69±13% vs. 90±2%; p=0,02). Mnohem významnějším prognostickým faktorem v rámci expresních dat však byla zvýšená exprese (>50%) samotné izoformy Ik6 (relaps u 5/10 pacientů; RFS 50±16% vs. 91±2%; p<0,0001). Metodou MLPA jsme detekovali delece IKZF1 u 12/182 (7%) pacientů, kteří měli rovněž významně horší prognózu (RFS 46±15% vs. 91±2%; p<0,0001) a vyšší leukemické postižení KD ve 33. dni léčby (p=0,008). Výsledky obou metod spolu překvapivě zcela nekorelovaly: pouze u 5/12 pacientů s genovou delecí byla změněná exprese IKZF1 a naopak, 6/10 pacientů se zvýšenou expresí Ik6 nemělo delecí, což svědčí pro odlišnou příčinu změněné exprese. Spojené kritérium delece a/nebo zvýšená exprese Ik6 odhalilo oproti samotné MLPA další 2 pacienty, kteří následně zrelabovali a celkem identifikovalo 8/20 všech relapsů.

Závěr: Oproti předchozím studiím jsme prokázali, že delece v genu IKZF1 nemusí vést ke změně genové exprese. Na druhou stranu, změna genové exprese nemusí být nutně způsobena delecí genu. Oba typy alterací definují zčásti odlišné skupiny pacientů a oba měly negativní prognostický význam u dětí s BCR/ABL-negativní ALL léčených protokolem ALL IC-BFM 2002. Nejvic ohrožených pacientů by pravděpodobně bylo možné odhalit kombinací obou metod. Pokud není současná aplikace obou metod možná, analýza DNA zřejmě identifikuje více rizikových pacientů než vyšetření genové exprese.

Podpora projektu: MSM 0021620813, IGA NS/10472-3

11. ADAPTOROVÝ PROTEIN NTAL ZVYŠUJE ÚČINEK KORTIKOIDŮ U T-ALL CESTOU POSÍLENÍ SIGNALIZACE PŘES T-BUNĚČNÝ RECEPTOR

Švojr K.^{1,2}, Kalina T.^{1,2}, Brdička T.³, Kanderová V.^{1,2}, Kačerová T.³, Starý J.², Zuna J.^{1,2}

¹CLIP, Childhood Leukaemia Investigation Prague; ²Klinika dětské hematologie a onkologie, UK 2. LF a FN Motol, Praha; ³Ústav molekulární genetiky, Akademie věd, Praha

Školitel: Doc. MUDr. Jan Zuna, Ph.D.

Úvod: U T-lymfocytární leukémie (T-ALL) je signalizace přes T-buněčný receptor (TCR) důležitým leukemogenním mechanismem. Adaptorové proteiny (NTAL a LAT) jsou neenzymatické signalizační molekuly zajišťující přenos signálu z TCR do jádra. V minulé práci jsme popsali vyšší hladinu NTAL m-RNA u dětských T-ALL, které dobře odpověděly na iniciační léčbu prednisonem.

Cíl: V naší práci jsme jako první in-vitro analyzovali vliv molekuly NTAL na biologii T-ALL.

Materiál a metody: K in-vitro experimentům jsme použili linii T-buněčné leukémie Jurkat (Jurkat/wt) a Jurkat linii, do které byl stabilně vnesen NTAL konstrukt (Jurkat/NTAL+). K in-vitro experimentům byl použit 1mM methylprednisolon, TCR byl stimulován protilátkou C305, kináza ERK byla inhibována 10mM UO126. Apoptózu, stav fosforylace a expresi klíčových signalizačních molekul jsme stanovili průtokovou cytometrií a metodou qRT-PCR.

Výsledek: V předchozí práci jsme na patientských vzorcích prokázali, že blasty pacientů s T-ALL příznivě odpovídající na iniciační léčbu prednisonem mají vyšší expresi NTAL než blasty pacientů, kteří odpoví špatně ($p=0,028$). Toto pozorování jsme potvrdili v in-vitro experimentu - po 48hod inkubaci buněčných linií s methylprednisolonom přežívá více Jurkat/wt buněk (31%) než Jurkat/NTAL+ (11%) ($p<0,05$). Obdobně, po stimulaci TCR protilátkou C305 po 24hod přežívá 63% Jurkat/wt a pouze 27% Jurkat/NTAL+ buněk ($p<0,05$). Pět minut po stimulaci TCR mají Jurkat/NTAL+ buňky signifikantně vyšší hladinu fosforylovaného ERK než Jurkat/wt ($p<0,05$), zatímco hladina fosforylovaného JNK a p38 se nemění. Dále Jurkat/NTAL+ buňky exprimují po 24hod více aktivačního markeru CD69 (90,5% vs. 77,4%; ($p<0,05$)). Při použití ERK inhibitoru OU126 dochází k téměř kompletní zástavě C305 indukované apoptózy - po 24hod inkubaci linií s C305 a UO126 zároveň přežívá 95% Jurkat/wt a 87% Jurkat/NTAL+ buněk. Obdobně je při společné kultivaci linií s methylprednisolonom a UO126 po 48hod přežívá v liniích Jurkat/wt a Jurkat/NTAL+ identické procento buněk (29,9% vs. 29,3% ($p=0,49$)).

Závěr: V T-ALL NTAL působí pravděpodobně jako tumor-supresor, kdy zvyšuje proximální signalizaci maligního lymfocytu. Klíčovou molekulou zodpovědnou za tento proces je intracelulární signalizační molekula ERK. Vyšší fosforylace ERK vede k vyšší buněčné smrti po stimulaci TCR a zároveň zvyšuje citlivost T-ALL buněk na podání methylprednisolonu.

Podpora projektu: MSMT NPV 2B06064 a MSMT VZ MSM0021620813.

12. ODLIŠNÉ HLADINY ASPARAGIN SYNTETÁZY NEJSOU ZODPOVĚDNÉ ZA ROZDÍLNOU SENZITIVITU LEUKEMICKÝCH BLASTŮ K L-ASPARAGINÁZE

Heřmanová I., Trka J. a Starková J.

CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie, UK 2. Lékařská fakulta, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

Úvod: Akutní lymfoblastická leukémie (ALL), nejčastější maligní onemocnění u dětí, je léčena kombinovanou chemoterapií zahrnující enzym L-Asparaginázu (L-Asp). L-Asp depletuje extracelulární asparagin a glutamin. Cytotoxický efekt L-Asp je vysvětlován sníženou aktivitou asparagin syntetázy (ASNS) leukemických buněk v porovnání s buňkami zdravými. Rezistence na L-Asp je spojována se zvýšením hladiny ASNS. Přesný vztah mezi expresí tohoto genu a odpovědí na L-Asp však nebyl dosud objasněn.

Cíl: V naší práci jsme se zaměřili na expresi ASNS v primárních ALL blastech a ALL buněčných liniích s cílem potvrdit nebo vyvrátit význam ASNS v buněčné odpovědi na podání L-Asp.

Materiál a metody: V této studii byly použity čtyři B-prekursorové leukemické buněčné linie: REH, UOCB6, RS4;11 a Nalm6. Expresie genů byla stanovena pomocí qRT-PCR, hladina proteinů byla detekována metodou WesternBlot. Citlivost linií k L-Asp byla určena MTS cytotoxickým testem. Gen ASNS byl umlčen elektroporací specifické siRNA.

Výsledky: Množství ASNS na mRNA úrovni korelovalo s hladinou proteinu, která negativně korelovala s citlivostí k L-Asp. Nejvíce rezistentní linie UOCB6 (IC50=0.04U/ml) měla nejvyšší expresi ASNS (normalizovaná exprese ASNS, nASNS=4.946). Následovaly linie Nalm6 (IC50=0.01U/ml; nASNS=1.8), REH (IC50=0.6.10⁻⁴; nASNS=1.176) a RS4;11 (IC50=0.3.10⁻⁴; nASNS=0.024). Detekce proteinu v patientských vzorcích nebyla možná v důsledku signifikantně nižší exprese (o 2 řády) studovaného genu ve srovnání s buňkami leukemických linií. Inkubace buněčných linií REH, Nalm6 a UOCB6 s L-Asp vedla ke zvýšení exprese ASNS, zatímco linie RS4;11 měla schopnost zvyšovat expresi ASNS omezenou. Gradientové snížení exprese ASNS pomocí RNA interference u linie s vysokou bazální expresí ASNS (UOCB6) vedlo ke gradientovému zvýšení senzitivity k L-Asp. Linie se střední bazální hladinou ASNS (REH) zareagovala zvýšením citlivosti k L-Asp pouze u snížení exprese ASNS pod 60 %. U této linie další snižování již nemělo na citlivost vliv. U linie s velmi nízkou bazální expresí ASNS (RS4;11) ke zvýšení citlivosti k L-Asp po umlčení exprese tohoto genu nedošlo vůbec.

Závěr: Zvýšená hladina ASNS byla dlouhodobě považována za příčinu vzniku rezistence na terapii L-Asp. Z našich výsledků však vyplývá, že v případech s nízkou bazální hladinou ASNS, která byla potvrzena u patientských vzorků, je role ASNS minimální. Rozdíly v expresi tedy nejsou relevantní pro určení vyšší či nižší senzitivity leukemických buněk k L-Asp.

Podpora projektu: GAUK92710, MSM0021620813

13. HLADINA GENU WT1 PŘI DIAGNÓZE DĚTSKÉ AML NEMÁ PROGNOSTICKÝ VÝZNAM, ALE ÚZCE SOUVISÍ S BIOLOGICKÝMI VLASTNOSTMI LEUKEMICKÝCH BUNĚK

Kramaržová K.¹, Willasch A.², Gruhn B.³, Boubliková L.¹, Kreyenberg H.², Rettinger E.², Zimmermann M.⁴, Starý J.¹, Reinhardt D.⁴, Creutzig U.⁵, Pession A.⁶, Cazzaniga G.⁷, Coliva T.⁷, Bader P.², Trka J.¹

¹CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Česká republika; ²Department of Pediatric Hematology, Oncology and Hemostaseology, Goethe University Frankfurt, Hospital for Children and Adolescents III, Frankfurt am Main, Germany; ³Department of Pediatric Hematology and Oncology, Schiller University Jena, University Children's Hospital, Jena, Germany; ⁴Department of Pediatric Hematology /Oncology, Medical School of Hannover, Hannover, Germany; ⁵Hematology/Oncology, University Children's Hospital Muenster, Muenster, Germany; ⁶Oncologia ed Ematologia Pediatrica 'Lalla Seragnoli', Università di Bologna, Bologna, Italy; ⁷Centro Ricerca Tettamanti, Pediatric Clinic, Univ. Milan Bicocca, Monza, Italy

Školitel: Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

Úvod: Vysokou expresi genu WT1 (Wilm's tumour gene 1) nacházíme u části akutních leukémií a dalších hematologických malignit. WT1 je proto považován za potenciální univerzální marker minimální reziduální nemoci (MRN), zejména u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML). Jiné studie však tyto výsledky nepotvrdily a role genu WT1 ve sledování MRN stejně jako jeho prognostická signifikance tak zůstávají stále nejasné.

Cíl: Cílem studie bylo stanovení prognostického významu hladiny exprese WT1 při diagnóze dětské AML.

Materiál a metody: Analyzovali jsme vzorky kostní dřeně 211 pacientů léčených dle protokolu AML-BFM-04. Hladinu genu WT1 jsme detekovali pomocí námi vyvinuté univerzální a standardizované metody qPCR. Analýza byla provedena ve 3 nezávislých centrech – Frankfurtu, Jeně a Praze.

Výsledky: Medián exprese WT1 při diagnóze byl 2014 WT1/ABLx10e4 NCN (normalised copy number). Prokázali jsme signifikantně nižší hladinu exprese u pacientů zařazených podle protokolárních kritérií do skupiny vysokého rizika ve srovnání se standardním rizikem ($p < 0,0001$). Nejvyšší expresi WT1 jsme detekovali u pacientů s AML M3 ($n=16$; 7959 WT1/ABLx10e4 NCN) a nejnižší hladina WT1 byla nalezena u AML M5 ($n=44$; 10 WT1/ABLx10e4 NCN). Přítomnost t(8;21), t(15;17) a inv16 byla spojena s vysokou expresí WT1, zatímco pacienti s MLL přestavbami exprimovali WT1 na nejnižší hladině ($p < 0,0001$). Vyšší exprese WT1 byla detekována u FLT3/ITD+ pacientů ($n=23$) ve srovnání s FLT3/ITD- ($p=0,0001$). Separátní analýza skupiny vysokého rizika prokázala nesignifikantní trend pacientů s >5% blastů v kostní dřeni v D15 k vyšší hladině WT1 při Dg ($p > 0,05$). Neprokázali jsme jakoukoli souvislost hladiny WT1 s pohlavím, iniciačním počtem leukocytů či celkovým přežitím. Analýza souboru pacientů bez AML M3 ($N=195$) ukázala výsledky velmi podobné analýze celkového souboru.

Závěr: První mezinárodní studie kvantifikace hladin exprese WT1 u dětské AML, založená na univerzální a standardizované metodě, nepotvrdila prognostický význam exprese tohoto genu. Expresní vzorce morfologicky resp. geneticky definovaných podskupin naproti tomu napovídají, že hladina WT1 úzce souvisí s biologickými vlastnostmi leukemických buněk.

Podpora projektu: MSM0021620813, GAUK 81709, IGA NS10488-3/2009

14. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOMPLEXNÍCH CHROMOZOMOVÝCH PŘESTAVEB

Drábová J.¹, Zmitková Z.¹, Novotná D.¹, Hančárová M.¹, Maříková T.¹, Simandlová M.¹, Puchmajerová A.¹, Baxová A.², Vlčková M.¹, Vlčková Z.¹, Kočárek E.¹, Zemanová Z.³, Sedláček Z.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol; ²Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN; ³Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

Školitel: Prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

Úvod: Komplexní chromozomové přestavby (CCR) jsou vzácné strukturální aberace, které vznikají třemi a více zlomy na dvou a více chromozomech. U nosičů balancovaných CCR je vyšší riziko infertility, spontánních potratů a narození potomků s nebalancovaným karyotypem. Přibližně u poloviny pacientů s abnormálním fenotypem a zdánlivě balancovanou přestavbou chromozomů lze nalézt kryptickou delecí či duplikaci, která může, ale nemusí souviset s CCR. Nebalancované formy CCR mohou mít za následek psychomotorickou retardaci a vrozené vývojové vady. Zděděné přestavby bývají spíše maternálního původu, zatímco přestavby de novo se zpravidla objevují na paternálních chromozomech.

Cíl: Cílem projektu bylo vyšetřit členy rodin s CCR, zpřesnit rozsah a povahu těchto přestaveb u vybraných jedinců a na základě získaných výsledků objasnit mechanismus vzniku aberace a její kauzalitu pro daný fenotyp.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme celkem 21 příslušníků ze 3 rodin s CCR. Ve všech rodinách byla CCR zachycena klasickou cytogenetickou analýzou u fenotypicky abnormálního jedince. Pacienti byli kromě karyotypování vyšetřeni i metodami molekulární cytogenetiky - FISH, mFISH, mBAND, array CGH a SNP array.

Výsledky: Z celkem 21 vyšetřovaných jedinců jsme CCR našli u 13. V 6 případech se jednalo o nepostížené nosiče balancovaných CCR. U 5 pacientů s atypickým fenotypem podmíněným větší ztrátou nebo ziskem chromozomového materiálu jsme zpřesnili rozsah aberace. V jednom případě postiženého dítěte s balancovanou CCR zděděnou od zdravé matky zůstává kauzalita nejasná. U poslední zdánlivě balancované de novo CCR našli dvě submikroskopické delece ve zlomových místech. Některé deletované geny by mohly vysvětlit fenotyp pacienta: defekt genu DNMT3 by mohl způsobovat mentální retardaci, a defekt PLAGL1 růstovou retardaci. U tohoto pacienta jsme pomocí SNP array zjistili paternální původ obou delecí. V jedné rodině jsme také zaznamenali zjednodušení přestavby meiotickou rekombinací při mezigeneračním přenosu.

Závěr: Přesný popis aberací u nosičů CCR pomohl lépe porozumět patogenitě vyšetřovaných aberací. Určení přesného rozsahu nebalancovaných oblastí umožnilo korelovat fenotyp pacienta s nevyváženým genovým obsahem. Odhalení kryptických přestaveb u pacienta se zdánlivě balancovaným karyotypem vysvětlilo jednotlivé symptomy v jeho fenotypu, a proto doporučujeme dovyšetření podobných pacientů citlivějšími metodami molekulární cytogenetiky.

Podpora projektu: CHERISH (EC FP7 223692), MZOFNM2005, MZOVFN2005

15. PACIENTI S MUTACEMI SHOX GENU A PACIENTI S TURNEROVÝM SYNDROMEM MAJÍ PODOBNOU GEOMETRII RADIA

Souček O.¹, Lebl J.¹, Zemková D.¹, Roček M.², Šumník Z.¹

¹Pediatrická klinika UK 2.LF a FN v Motole, Praha; ²Klinika zobrazovacích metod UK 2. LF a FN v Motole, Praha

Školitel: Doc. MUDr. Zdeněk Šumník, Ph.D.

Úvod: Dívky s Turnerovým syndromem (TS) mají změněnou densitu a geometrii radia, což může být příčinou zvýšeného rizika fraktur v pozdějším věku. Etiologie snížené pevnosti kosti není zcela objasněna, předpokládá se vliv hypergonadotropního hypogonadizmu a haploinsuficience některého z genů lokalizovaných na X chromozomu. Vzhledem k zásadnímu vlivu SHOX genu (short stature homeobox) na vývoj a růst dlouhých kostí končetin, a vzhledem k některým společným skeletálním symptomům u Turnerova syndromu a u pacientů s izolovanou mutací SHOX genu se v literatuře nejčastěji uvádí jako kauzální tento gen.

Cíl: Pomocí periferního kvantitativního CT (pQCT) stanovit kostní densitu a geometrii radia u pacientů s mutací SHOX genu a porovnat jejich výsledky s dívkami s Turnerovým syndromem.

Materiál a metody: Patnáct pacientů s geneticky prokázanou mutací v SHOX genu (medián 11,8 let, rozmezí 6,9– 6,8 let, 10 dětí a 5 dospělých) bylo vyšetřeno pomocí pQCT na nedominantním radiu. Výsledky byly porovnány s publikovanými referenčními daty a vyjádřeny pomocí pohlavně, věkově a výškově specifických směrodatných odchylek (Z-skóre). Tato data byla porovnána se 67 dívkami s TS (průměrný věk 13,9 let, rozmezí 6,0-19,4 let). Jednovýběrový t test byl použit pro stanovení signifikantních odchylek denzitometrických dat pacientů od normy, rozdíly mezi pacienty s izolovanou mutací SHOX genu a dívkami s TS byly analyzovány pomocí dvouvýběrového t testu.

Výsledky: Trabekulární densita byla snižena u dívek s TS (Z-skóre $-0,7 \pm 1,3$, $p < 0,001$), u pacientů s SHOX deficitem se nelišila od normy (Z-skóre $0,3 \pm 1,3$, n.s., rozdíl mezi skupinami $p < 0,01$). Kortikální densita byla významně snižena u obou skupin pacientů (Z-skóre $-1,6 \pm 1,5$, $p < 0,001$, resp. $-1,9 \pm 2,3$, $p < 0,01$) bez rozdílu mezi skupinami. Změny v geometrii radia na průřezu byly u obou skupin pacientů podobné. Plocha radia byla celkově větší (celková plocha $0,7 \pm 1,7$, $p < 0,01$, resp. $2,1 \pm 1,5$, $p < 0,001$, skupinový rozdíl $p < 0,001$), plocha kortikální kosti se nelišila od normy ani mezi skupinami ($0,0 \pm 1,0$, n.s., resp. $-0,7 \pm 2,3$, n.s.). Kortikalis tak byla u obou skupin pacientů výrazně ztenčená v porovnání se zdravými jedinci ($-0,8 \pm 0,6$, $p < 0,001$, resp. $-1,4 \pm 1,4$, $p < 0,01$, skupinový rozdíl $p < 0,01$).

Závěr: Geometrické parametry radia jsou podobné u dívek s TS a u pacientů s izolovanou mutací SHOX genu. Tyto výsledky podporují význam SHOX genu v etiologii kostních abnormalit u dívek s TS. Snižená trabekulární densita u dívek s TS může být způsobena hypogonadizmem při ovariální insuficienci.

Podpora projektu: GAUK 47609, VZMZ 64203

16. MUTATIONAL ANALYSIS OF DNAI1 AND DNAH5 HOT-SPOT EXONS AS A FIRST-STEP GENETIC TESTING IN PRIMARY CILIARY DYSKINESIA

Djakow J.¹, Svobodova T.¹, Uhlík J.², Cinek O.¹ and Pohunek P.¹

¹Department of Paediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Teaching Hospital in Motol, Prague;

²Department of Histology and Embryology, 2nd Faculty of Medicine, Prague

Supervisor: Ondrej Cinek

Introduction: Primary ciliary dyskinesia (PCD) is a genetic disease characterised by a congenital dysfunction of ciliary motility. The clinical presentations include chronic or recurrent upper and lower respiratory infections, chronic wet cough, secretory otitis media, fertility disorders and situs viscerum inversus in about a half of the patients. High-speed videomicroscopy and electron microscopy are the main diagnostic tools. Different parts of cilia can be affected based on the underlying genetic defect. Mutations in DNAH5 or DNAI1 gene can be found in about one third of all the patients with PCD.

Aims: The aim of this study was to test for mutations in regions with high occurrence of mutations in DNAH5 and DNAI1 genes and to analyse the overall effectiveness of this diagnostic approach.

Materials and Methods: Pediatric patients with PCD whose diagnosis was based on typical clinical findings and either electron microscopy or repeated high-speed videomicroscopy were included in the study. Selected hot-spot exons and their flanking regions were sequenced in DNAH5 (exons 33, 34, 36, 50, 63, 76 & 77) and in DNAI1 (exons 1, 16, 17, 18 & 19).

Results: Out of 24 tested patients, 3 carried a heterozygous mutation in DNAH5 gene; one patient was a compound heterozygote carrying mutations in DNAH5 and a heterozygous mutation in DNAI1 was found in 1 patient. Two mutations found in DNAH5 gene are novel missense mutations affecting highly conserved sites (not found in healthy controls). All the patients with mutations in DNAH5 gene had immotile cilia and outer dynein arms defects. Previously described splice-site mutation in DNAI1 intron 1 was found.

Conclusions: Sequencing of hot-spot exons has been proposed as the first-step of genetic testing in the diagnostic protocol, as it should be capable of identifying at least one mutated allele in most patients with DNAH5 or DNAI1 mutations. However, our data show that the locations of the mutations may be population-specific, as the selection of hot-spot exons based on published data performs suboptimally in our dataset being able to identify 1 mutation in 4 individuals, and 2 mutations only in 1 individual out of 24 patients. Based on recent data, the effectiveness of the genetic testing can be improved if the phenotype detected is taken into consideration.

Support: Supported by the Charles University Grant Agency, Project No. 48409, and by the Internal Grant Agency of Czech Ministry of Health, Project NT 11 469.

17. „SUPERMUTAČNÝ“ FENOTYP V DÔSLEDKU STRATY EXPRESIE TDG PROTEÍNU U PACIENTA S CMMR-D SYNDRÓMOM A BIALELICKOU ZÁRODOČNOU MUTÁCIOU PMS2 GÉNU

Vasovčák P.¹, Wimmer K.², Puchmajerová A.¹, Škapa P.³, Marra G.⁴ a Křepelová A.¹
¹Ústav biologie a lékařské genetiky, UK 2. LF a FN Motol, Praha; ²Division of Human Genetics, Medical University Innsbruck, Innsbruck, Austria; ³Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol, Praha; ⁴Institute of Molecular Cancer Research University of Zurich, Zurich, Switzerland

Školitel: MUDr. Anna Křepelová, CSc.

Úvod: Poruchy v DNA reparačných mechanizmoch sa podieľajú pri vzniku rôznych genetických ochorení predovšetkým pri vzniku kolorektálnych karcinómov (KRK). Absencia alebo nesprávna funkcia reparačných proteínov býva často sprevádzaná špecifickým mutačným fenotypom v génoch dôležitých pre vznik karcinómu. Typickým príkladom sú hereditárny nepolypózny kolorektálny karcinóm (HNPCC) a konštitučná mismatch reparačná nedostatočnosť (CMMR-D), nádorové predispozície so zárodočnými mutáciami v mismatch reparačných (MMR) génoch. Charakteristickou črtou týchto karcinómov je mikrosatelitová nestabilita (MSI), manifestujúca akumuláciou somatických posunových mutácií v repetitívnych sekvenciách (mikrosatelitoch).

Ciel: U pacienta, ktorý spomedzi ďalších 102 sporadických pacientov s KRK manifestoval so „supermutačným“ fenotypom, uskutočniť mutačnú analýzu vybraných génov, ktoré by mohli zodpovedať za daný fenotyp.

Materiál a metódy: DNA bola izolovaná z krvi, kolorektálneho karcinómu a príľahlej mukózy. RNA bola izolovaná z periférnej krvi a následne prepísaná do cDNA. Mutačná analýza bola uskutočnená prostredníctvom metód DGGE, HRM a sekvenovaním špecifickými primermi. Expresia proteínov, ktorých gény niesli variantu neznámeho významu bola overená imunohistochemickou (IHC) analýzou.

Výsledky: V rámci štúdie, kde 103 kolorektálnych karcinómov bolo podrobených mutačnej analýze vybraných génov podieľajúcich sa pri vzniku KRK, sme narazili na karcinóm pacientky, ktorý okrem MSI obsahoval mnoho bodových somatických mutácií (8 v APC a 1 v CTNNB1). Pacientka bola paralelne vyšetrená pre podozrenie na HNPCC kde imunohistochemická analýza MMR proteínov odhalila absenciu expresie PMS2 proteínu. Následná analýza gDNA potvrdila bialelickú zárodočnú mutáciu PMS2 génu a umožnila stanovenie diagnózy CMMR-D syndrómu. Hoci primárna príčina vzniku KRK sa zdala byť odhalená, „supermutačný“ fenotyp doposiaľ nezaznamenaný u žiadneho pacienta s KRK, viedol k detailnejšej analýze, ktorá odhalila somatické mutácie v ďalších génoch (4 v NF1, 2 v MLH1 a 1 v MSH6), s prevahou C:G>T:A transzícii. Proti tomuto typu mutácií sa uplatňujú štyri bázovo excízne reparačné proteíny. Analýzou príslušných génov (UNG2, SMUG1, MBD4 a TDG), sme našli heterozygotnú somatickú mutáciu TDG génu. Strata expresie daného proteínu v KRK bola potvrdená IHC analýzou.

Záver: Podarilo sa nám nájsť pravdepodobnú príčinu „supermutačného“ fenotypu, ktorý nebol doposiaľ popísaný a zároveň odhaliť prvého pacienta s CMMR-D syndrómom v Českej republike.

Podpora projektu: VZ MZOFNM2005

18. SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ LÉČBY ZLOMENIN DISTÁLNÍHO RADIA OŠETŘENÝCH ÚHLOVĚ STABILNÍMI DLAHAMÍ S RIGIDNÍM A VOLITELNÝM SMĚREM ZAVEDENÍ ŠROUBŮ

Vlček M., Landor I.

1. ortopedická klinika 1. LF UK Praha a FN v Motole

Školitel: Doc. MUDr. Ivan Landor., CSc.

Úvod: V souvislosti se zavedením nových implantátů v traumatologii se zvýšil trend operačního léčení zlomenin distálního radia. Tato tendence se týká zejména komplikovaných nitrokloubních zlomenin (typ C), kde je operační řešení metodou volby. Dominantní metodou je otevřená repozice a vnitřní fixace zamykatelnou dlahou.

Cíl: Cílem studie je vyhodnotit v odstupu jednoho roku výsledky operační léčby tříštvých nitrokloubních zlomenin distálního radia při užití různých typů zamykatelných dlah.

Materiál a metody: První skupina zahrnuje pacienty (n = 37), kteří byli ošetřeni úhlově stabilní dlahou s rigidním směrem zavedení šroubů (označena „LCP“). Druhá obsahuje nemocné (n = 41), kde byla užitá úhlově stabilní dlahá s volitelným směrem zavedení šroubů (označena „APTUS“). Nemocní v obou skupinách byli zhodnoceni identickým způsobem po stránce funkční i rentgenologické v relaci k druhostranné končetině. Přímé porovnání výsledků obou metod bylo provedeno pomocí mezinárodně uznávaných skóre. Zjištěná data byla statisticky zpracována.

Výsledky: Ve skupině LCP byl průměrný rozsah hybnosti 90,1 % a síla stisku 90,8% ve srovnání se zdravou končetinou. Ve skupině APTUS byl ve srovnání se zdravou končetinou průměrný rozsah hybnosti 94,2 % a síla stisku 85,2%. Rentgenologicky se tvar operovaného distálního radia ve sledovaných parametrech nepodařilo ideálně obnovit ani v jedné skupině nemocných. Rentgenologická kritéria stanovená Jupiterem však byla splněna ve 100% v obou skupinách. Při porovnání skóre nebyl zjištěn významný rozdíl ($p > 0,05$ ve všech případech).

Závěr: Operační stabilizace nitrokloubních zlomenin distálního radia úhlově stabilními dlahami s rigidním i úhlově volitelným zavedením šroubu umožňuje odpovídající rekonstrukci distálního radia a vede k dobrým funkčním výsledkům při malém počtu komplikací. Mezi oběma skupinami pacientů jsme nezjistili významné rozdíly v rentgenových a funkčních výsledcích.

19. FUNKČNÍ VYŠETŘENÍ PLIC U NESPOLUPRACUJÍCÍCH DĚTÍ PO OPERACI VROZENÉ BRÁNIČNÍ KÝLY

Kuklová P.¹, Šulc J.², Pýcha K.¹, Straňák Z.³, Svobodová T.², Šnajdauf J.¹, Rygl M.¹

¹Klinika dětské chirurgie FN Motol; ²Pediatrická klinika FN Motol; ³Ústav pro matku a dítě v Praze 5–Podolí

Školitel: Doc. MUDr. Michal Rygl, Ph.D.

Úvod: Vrozená brániční kýla (congenital diaphragmatic hernia, CDH) je spojená s hypoplazií plic.

Cíl: Cílem studie byla analýza vývoje plic po operaci CDH s využitím nové techniky funkčních testů plic u nespolutracujících dětí do 3 let.

Materiál a metody: Vyšetření funkce plic se provádělo nově zavedenými technikami celotělové pletysmografie (bodyplethysmography, BP), analýzy klidového dechového vzoru (tidal breathing analysis, TBA) a rychlé torakální komprese (rapid thoracic compression, RTC), které umožňují stanovení plicních objemů a ukazatelů průchodnosti dýchacích cest již u nespolutracujících dětí s hmotností do 13 kg. Vyšetření se prováděla v sedaci perorálním chloralhydrátem (80ml/kg) a event. intranasálně midazolamem (0,15mg/kg). Změřené spirometrické parametry: funkční reziduální kapacita (FRC), odpor dýchacích cest (sReff), maximální výdechová rychlost během FRC ($V'_{max}FRC$), čas k dosažení maximálního výdechového průtoku v procentech děleno celkovým časem trvání výdechu (tPEF%tE) se analyzovaly u 21 dětí po operaci CDH s průměrným věkem 17,5 měsíce (rozmezí 11–33) a s průměrnou tělesnou hmotností 10,0 kg (rozmezí 7,6–13). Nález se porovnal s perinatálními daty a klinickým stavem. Statistická analýza se provedla Fisherovým přesným testem.

Výsledek: Funkční vyšetření plic metodou BP se úspěšně provedlo u všech dětí (21/21), metodou TBA u 95% (20/21) a pomocí RTC u 90% (19/21). Testy prokázaly obstrukci horních nitrohručních dýchacích cest u 52% dětí (11/21), obstrukci dolních dýchacích cest u 71% (15/21) a hyperinflaci plic u 52% (11/21). U 1 (4,8%) pacienta se zjistil restriktivní nález. Všechny měřené ukazatele byly normální u 4 dětí (19%). Výsledky spirometrických parametrů (průměr ± SD) byly: FRC [% předpokl.hodnoty]: 137,2 ± 35,2, sReff [% předpokl.hodnoty]: 114,5 ± 78,3, tPEF%tE [%]: 21,6 ± 7,7 a $V'_{max}FRC$ [ml*s⁻¹]: 117,5 ± 49,1. Prokázali jsme statisticky významně vyšší plicní morbiditu u dětí s postnatální plicní hypertenzí (p = 0,0275). Během vyšetření se neobjevily žádné komplikace.

Závěr: Nová metodika funkčních testů plic je proveditelnou a bezpečnou diagnostickou metodou pro stanovení funkce plic v raném dětství. Výsledky pilotní studie prokazují vyšší výskyt obstrukce dýchacích cest u malých dětí po operaci CDH ve srovnání s populační normou. Detekce poruchy plicních funkcí v raném dětství umožňuje včasné zahájení cílené a účinné léčby.

Podpora projektu: Podpora grantu GAUK 62809 a NS10572-3/2009

20. VLIV PRIMÁRNÍ SUTURY RTU U NOVOROZENCŮ S ROZŠTĚPEM NA HOJENÍ OPERAČNÍ RÁNY A RŮST A VÝVOJ MAXILY

Borský J.¹, Bláha K.², Průša R.², Štekláčová A.², Velemínská J.³, Cagánová V.³, Peterka M.³
¹KPCH FNKV 3. Lékařská fakulta UK Praha; ²Ústav klinické biochemie a patobiochemie, 2. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha; ³Přírodovědecká fakulta UK Praha

Školitel: Prof MUDr Tatjana Dostálová DrSc, MBA

Úvod: Nesyndromové orofaciální rozštěpy mají v České republice incidenci 1,8 na 1000 zdravě narozených dětí a patří k nejčastějším vývojovým vadám. Ztěžují socializaci pacientů, kteří jsou stigmatizováni pooperačními jizvami s typickou deformitou obličeje, méně srozumitelnou řečí i určitým stupněm nedoslýchavosti. Mnoho klinických a experimentálních pracovišť se zabývá tzv.fetálním hojením a jeho využitím pro humánní medicínu. Většina těchto výzkumů je však experimentálních a netýkají se rozštěpové problematiky

Cíl: Sledování vlivu časné sutury rtu novým-modifikovaným operačním postupem na hojení operační rány. Zkoumání přetrvávání tzv. fetálního hojení, tj. hojení s minimální jizvou. Provedli jsme analýzu složek ECM (matrixových metalloproteináz-MMP 1–3) ve vzorcích tkáně získaných chirurgickou excisi rozštěpových okrajů, které jsou normálně odstraňovány jako nadbytečné u 30ti pacientů. Zkoumání vlivu na růst a vývoj čelisti bylo provedeno srovnáním 3D sádrových modelů patra získaných před primární suturou rtu po narození, ve 3 měsících věku a před operací patra pomocí FESA analýzy

Materiál a metody: 1. Modifikovaný operační postup primární sutury rtu doplněné korekcí nosu.

(fotodokumentace)

2. U 30ti pacientů bylo provedeno sledování koncentrace MMP 1–3 metodou Elisa, pomocí kitů Amersham Biotrak Aktivita Assay(GE Healthcare UK). Naměřené koncentrace byly následně vztaženy na koncentraci celkové bílkoviny.(viz. abstrakt Bláha a spol.)

3. U 60ti pacientů byl proveden 3D scan sádrového modelu rozštěpené čelisti laserovým skenerem Roland LPX 250 a metodou FESA byl zhodnocen jejich růst.

Výsledky: 1. Zkonstatovali jsme lepší vzhled jizev i tvaru rtu a nosu.

2. Nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v koncentraci MMP 1–3 u novorozenců a 3 měsíčních dětí

3. Nebyl prokázán významný negativní vliv operace na růst maxily

Závěr: Předběžné výsledky modifikovaného operačního postupu u novorozenců na vzhled jizvy a růst a vývoj maxily jsou povzbudivé. V biochemické části, ačkoliv nepřinesla očekávané výsledky, má význam stanovení celkových koncentrací MMP u kterých se předpokládá, že mají vliv na hojení rány s minimální jizvou. Hodnocení růstu a vývoje čelisti pomocí 3D modelů rozštěpených pater metodou FESA na zmíněném souboru pacientů potvrdily operační hypotézu. Domníváme se, že tyto studie jsou originální

Podpora projektu: Grant NS 10012-4/2008

21. BIOPSIE NULTÉ HODINY DÁRCOVSKÉ LEDVINY

Jonáš D.¹, Háček J.², Chadimová M.², Špatenka J.¹, Burkert J.^{1,3}, Seeman T.⁴, Matoušovic K.¹

¹Transplantační centrum; ²Ústav patologie a molekulární medicíny; ³Kardiologická klinika;

⁴Pediatrická klinika

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.

Úvod: Kritéria dárcovství pro transplantaci (TPL) dítěte vyžadují tzv. ideálního dárce středního věku. Je známo, že s věkem postupně ubývá funkčních nefronů a narůstají regresivní změny ledvinového parenchymu, zejména u osob starších než 60 let. Méně je známo o morfologickém poškození ledvin u osob středního věku.

Cíl: Zhodnotit stupeň regresivních změn ledvinového parenchymu v biopsiích nulté hodiny u dárců ledviny pro TPL dětí ve FNM.

Materiál a metody: V retrospektivní studii jsme zhodnotili morfologické nálezy biopsií nulté hodiny dárců ledviny pro transplantaci dětí v období let 2004–2009. Do studie bylo zařazeno 42 dárců ve věku 9–52 roků (průměr 31 ± 12 , průměr \pm SD; medián 31), 25 mužů a 17 žen. Všechny biopsie byly provedeny klínovitou excizí po vyjmutí ledviny z těla dárce těsně před transplantací do těla příjemce. Vzorky byly semikvantitativně hodnoceny světelnou mikroskopií z hlediska regresivních změn na glomerulech, tubulech, intersticiu a cévách. Nepřítomnost tubulární atrofie a tubulární sklerózy (TIS) byla hodnocena skórem 0, postižení do 1/3 vzorku 1+, 1/3-2/3 2+, nad 2/3 3+. Arterioly glomerulárního hilu bez insudátů byly hodnoceny skórem 0, granulární insudáty 1+, cirkulární insudáty bez stenózy 2+, se stenózou 3+. Arteriálními větvím bez fibrózy intimy jsme přiřadili skóre 0, s mírnou fibrózou 1+, s fibrózou a mírnou stenózou 2+, a fibrózou s výraznou stenózou 3+. Ke statistickému zhodnocení jsme použili korelační analýzu.

Výsledky: Počet glomerulů v bioptickém vzorku s globální sklerózou byl 13–163 ($66,0 \pm 37,1$; medián 59,5), sklerotizovaných glomerulů ve vzorku bylo 0–51,2% ($3,6 \pm 8,2$; medián 51,2). Tubuly a intersticiu byly bez fibrózy u 25/42 (59,5%), stupeň 1+ u 17/42 (40,5%). Vyšší stupeň TIF (2+, 3+) nebyl zaznamenán. Arterioly glomerulárního hilu bez insudátů byly u 21/42 (50%), 1+ u 13/42 (30,9%), 2+ u 6/42 (14,3%), 3+ u 2/42 (4,7%). Arteriální větve bez fibrózy intimy jsme našli u 31/42 (73,8%), 1+ u 8/42 (19,0%), 2+ u 2/42 (4,8%), 3+ u 1/42 (2,4%). Procento sklerotizovaných glomerulů pozitivně korelovalo s věkem dárce ($r = 0,33749$, $P < 0,05$).

Závěr: Biopsie nulté hodiny umožňuje posoudit stav dárcovské ledviny. Regresivní změny se vyskytují již u dárců středního věku, proporce afunkčních nefronů se zvyšuje s věkem. Mírný stupeň TIS byl přítomen u 1/3 pacientů, pokročilá arterioloskleróza však byla nalezena ojediněle.

Podpora projektu: Podpořeno výzkumným záměrem MSM 0021620819

22. FLUORESCENČNÍ ANALÝZA PRODUKTŮ RADIKÁLOVÝCH REAKCÍ V MEMBRÁNÁCH ERYTHROCYTŮ U PACIENTŮ S ALZHEIMEROVOU CHOROBOU

Kozáková A., Johnová K.

Ústav lékařské chemie a biochemie 2. LF

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Alice Skoumalová Ph.D., Ústav lékařské chemie a biochemie 2. LF

Úvod: Oxidační stres v mozku doprovází patogenezi Alzheimerovy choroby (AD). Toxické produkty radikálových reakcí mohou difundovat z místa primárního vzniku, atakovat erythrocyty v krevním oběhu a spustit peroxidaci membránových lipidů. Koncové produkty těchto reakcí, nazývané lipofuscinoidní pigmenty (LFP), se dají analyzovat pomocí fluorescenční spektroskopie. Membrány erythrocytů u pacientů s AD mohou být v důsledku oxidačního stresu v organismu více náchylné k radikálovému poškození in vitro. Specifické změny ve složení LFP u AD by mohly být využity pro hledání diagnostického biomarkeru v krvi.

Cíl: Naším cílem bylo analyzovat fluorescenční produkty peroxidace membrán erythrocytů pacientů s AD vystavených oxidačnímu stresu in vitro a hledat specifické změny související s AD.

Materiál a metody: Izolované membrány erythrocytů pacientů s AD (n=10) a kontrol (n=6) byly vystaveny in vitro oxidačnímu stresu. Pomocí fluorescenční spektroskopie byly provedeny trojrozměrné fluorescenční analýzy. Dále byly LFP charakterizovány pomocí synchronních spekter. Tato metoda umožňuje rozložit fluorescenční spektra LFP na desítky peaků a hledat změny ve složení.

Výsledky: Trojrozměrná fluorescenční spektra LFP v membránách erythrocytů pacientů s AD se liší od kontrol během in vitro peroxidace. Dochází jednak k nárůstu hladiny LFP, ale také ke vzniku nových peaků u AD, což ukazuje na rozdílný průběh peroxidace lipidů v membránách pacientů v porovnání s kontrolami. Analýza pomocí synchronních spekter ukazuje na rozdílné složení LFP během in vitro peroxidace membrán erythrocytů u pacientů s AD a kontrol.

Závěr: Vystavení membrán erythrocytů oxidačnímu stresu in vitro vede k tvorbě rozdílných fluorescenčních produktů u pacientů s AD v porovnání s kontrolami.

Podpora projektu: Tato práce byla finančně podporována z grantu GAČR 220 032.

23. DTI JAKO MOŽNÝ DIAGNOSTICKÝ MARKER POŠKOZENÍ PERIVENTRIKULÁRNÍ BÍLÉ HMOTY U NORMOTENZNÍHO HYDROCEFALU

Šulc V.^{1,2}, Hořínek D.^{1,3}, Vrána J.², Keller J.⁴, Mohapl M.³, Saur K.³, Rejchrt P.², Belšán T.², Beneš V.³, Charvát F.²

¹Laboratoř pro neurozobrazení Ústav patofyziologie 2. LF UK; ²Radiodiagnostické oddělení ÚVN Praha; ³Neurochirurgická klinika 1. LF UK a ÚVN Praha; ⁴Radiodiagnostické oddělení Nemocnice na Homolce

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Daniel Hořínek, Ph.D.

Úvod: Normotenzní hydrocefalus (NPH) je syndromové onemocnění, jehož etiologie zůstává neznáma. Jedná se o jednu z mála léčitelných forem demence, která je spojená s poruchou chůze a kontinence. Pravděpodobnost diagnózy a dobrého terapeutického efektu drenážní operaci stoupá s počtem dostatečně specifických a sensitivních biomarkerů onemocnění. Za jednu z pravděpodobných příčin klinických obtíží pacientů se považuje poškození periventrikulární bílé hmoty, proto se hodnocení parametrů bílé hmoty pomocí MR (pomocí DTI) jeví jako vhodný cíl dalšího šetření.

Cíl: Cílem této studie bylo porovnat hodnoty difuze periventrikulární bílé hmoty u nemocných s NPH a u kontrolní skupiny.

Materiál a metody: 18 pacientů bylo vyšetřeno pro podezření na NPH. Všichni pacienti podstoupili diagnostický lumbální infuzní test (LIT) a byla jim zavedena zevní lumbální drenáž (LD). Do studie byli zařazeni jedinci s pozitivní odpovědí na LIT a LD ($n=13$, věk $75,8\pm 6,8$) a následně jim byl zaveden VP shunt. Všichni pacienti byli vyšetřeni pomocí 3T MRI, ve které byla obsažena i DTI sekvence. Stejný MR protokol podstoupilo i 17 zdravých jedinců (věk $71,6\pm 7,7$). Následně jsme manuálně změřili hodnoty frakční anizotropie (FA) a zdánlivého koeficientu difuze (apparent diffusion coefficient, ADC) v genu a spleniu corporis callosi (CC), v radiatio optica a v genu capsulae internaе (CI), vždy dva řezy nad commissura anterior. K analýze výsledků byl použit Mann-Whitneyho U test.

Výsledky: Statické signifikance ($p<0,01$) bylo dosaženo při srovnání hodnot ADC v genu CC. Statické signifikanci se blížili výsledky FA genu CC ($p=0,059$) a genu CI vlevo ($p=0,074$). Obdobné výsledky ukázala i automatická TBSS (Tract-based Spatial Statistic) analýza. Statistické rozdíly v jiných oblastech bylo možné přičíst věkovému rozdílu.

Závěr: Naše měření ukázalo, že mezi zdravými dobrovolníky a jedinci s NPH existují signifikantní rozdíly v parametrech difuze periventrikulární bílé hmoty. Této problematice se hodláme dále věnovat a jsme přesvědčeni, že se parametry vycházející z DTI mohou stát jednoduchým a dobře dostupným biomarkerem u pacientů s normotenzním hydrocefalem.

Podpora projektu: Podpořeno grantem GAČR P304/10/P464

24. HYPERMOTORICKÉ ZÁCHVATY U TEMPORÁLNÍ EPILEPSIE

Elišák M.¹, Marusič P.^{1,2}

¹Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol; ²Neurochirurgická klinika 1. LF UK a ÚVN Praha

Pregraduální student

Školitel: Doc. MUDr. Petr Marusič, Ph.D.

Úvod: Hypermotorické záchvaty (HMS) jsou typicky asociovány s epilepsií frontálního laloku, ale vyskytují se rovněž u části pacientů s epilepsií temporální (TLE).

Cíl: Určit charakteristiky pacientů s TLE, u nichž se tento typ záchvatů objevuje.

Materiál a metody: Mezi dospělými pacienty indikovanými k operaci pro TLE jsme identifikovali pacienty, u nichž byly během video-EEG monitorování zachyceny záchvaty splňující kritéria HMS. U těchto pacientů jsme určili charakteristiky demografické, klinické, stranu operace, histopatologický nálezu a pooperační výsledek.

Výsledek: Ze 161 odoperovaných se HMS vyskytly u deseti pacientů (6,2 %). V této skupině souboru převažovali muži (7/3), průměrný věk počátku záchvatů byl 9,7 let a všichni pacienti měli pravostrannou TLE. Ze semiologických znaků typických pro temporální původ byly nejčastější oroalimntární automatizmy (50 %), epigastrická (10 %) a sluchová aura (10 %). Z celkem 73 zaznamenaných záchvatů mělo hypermotorický charakter 42, z nich bylo 38 % vázáno na spánek. Léze v temporálním pólu či oblasti amygdaly byla na MRI mozku prokázána u 50 % pacientů, obraz hipokampální sklerózy u 20 %. Invazivní EEG vyšetření bylo provedeno u čtyř pacientů. U sedmi pacientů byla provedena anteromediální resekce, u jednoho pacienta laterální temporální kortikektomie, ve dvou případech byl resekován pouze temporální pól a amygdala. Histopatologicky byla u všech pacientů prokázána fokální kortikální dysplázie (FCD) v oblasti pólu nebo amygdaly (70 % izolovaně, 30 % sdružená s další patologií – hipokampální sklerózou nebo gangliogliomem). Při hodnocení výsledku dva roky po operaci bylo 70 % pacientů bez záchvatů, jeden pacient jen s ojedinělými záchvaty, jeden významně zlepšen v četnosti záchvatů a jeden nezlepšen.

Závěr: Hypermotorické záchvaty byly v naší skupině pacientů s temporální epilepsií asociovány s postižením temporálního pólu, byť často zjištěným až histopatologicky. Tento nálezu odpovídá údajům v literatuře, v naší skupině ale byla u všech pacientů prokázána vývojová léze (FCD) a u všech pacientů byla lateralizace epilepsie do pravé hemisféry. Z hlediska operačního má tento typ epilepsie výsledky srovnatelné s ostatními TLE pacienty. V cílení diagnostického postupu HMS do temporálního laloku mohou napomoci semiologické znaky záchvatů (oroalimntární automatizmy, aury sluchové a epigastrické) a/nebo průkaz MRI léze v oblasti temporálního pólu.

POSTERY

P01. ROZDIELY V BIOCHEMICKÝCH A HEMATOLOGICKÝCH PARAMETROCH (VRÁTANE TROMBOELASTOGRAFIE) MEDZI NEINFEKČNÝM SIRS A SEPSOU U PACIENTOV PO EZOFAGEKTOMII

Durila M.¹, Bronský J.², Haruštiak T.³, Pazdro A.³, Pechová M.⁴, Cvachovec K.1

¹Klinika anesteziologie a resuscitace, 2. LF UK a FN Motol; ²Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; ³III. chirurgická klinika 1. LF UK a FN Motol; ⁴Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN Motol

Školiteľ: Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MAB

Úvod: Včasná diagnostika sepsy a jej odlíšenie od neinfekčného SIRS je veľmi dôležitá. Vzťah medzi zápalom a koaguláciou hraje dôležitú úlohu v týchto procesoch. V prospektívnej štúdii sme sledovali hematologické a biochemické parametre (vrátane tromboelastografie, TEG) u pacientov počas 6 dní po chirurgickom odstránení pažeráka.

Ciel: Cieľom nášho projektu bolo zistiť prípadné rozdiely v týchto parametroch medzi pacientmi so sepsou a SIRS, čo by mohlo pomôcť v rozlišovaní týchto dvoch stavov.

Materiál a metódy: Do štúdie sme zaradili 38 pacientov (vo veku 41 až 74 rokov), ktorí podstúpili ezofagektómiu. Krvné vzorky boli odobrané v ranných hodinách pred operáciou a potom každých 24 hodín počas nasledujúcich 6 pooperačných dní (POD). Boli vyšetrowané nasledujúce parametre: prokalcitonín (PCT), C-reaktívny proteín (CRP), interleukín-6 (IL-6), aspartát transamináza (AST), laktát, počet bielych krviniek (WBC), D-diméry, antitrombín (AT), medzinárodný normalizovaný pomer (INR), aktivovaný parciálny tromboplastínový čas (APTT) a parametre TEG.

Výsledky: U 9 pacientov sa do 6 dní po operácii rozvinula sepsa. U 5 z nich bol príčinou zápal pľúc a u 4 pacientov rozpad gastroezofageálnej anastomózy. Medzi pacientmi so SIRS a sepsou boli zistené signifikantné rozdiely v nasledujúcich parametroch:

0-deň (pred operáciou): žiadne signifikantné rozdiely;

POD 1: rozdiely v AST ($p < 0.002$);

POD 2: AST ($p < 0.003$), laktát ($p < 0.006$), D-diméry ($p < 0.02$), PCT ($p = 0.03$), IL-6 ($p < 0.03$), WBC ($p < 0.03$);

POD 3: AST ($p < 0.03$), PCT ($p < 0.02$), IL-6 ($p = 0.006$), CRP ($p < 0.04$), WBC ($p < 0.05$);

POD 4: AST ($p = 0.006$), PCT ($p = 0.007$), IL-6 ($p < 0.02$), CRP ($p = 0.03$), D-diméry ($p < 0.05$), INR ($p = 0.03$);

POD 5: PCT ($p < 0.003$), IL-6 ($p < 0.04$), CRP ($p < 0.04$), AT ($p = 0.03$);

POD 6: PCT ($p = 0.0001$), CRP ($p < 0.013$), WBC ($p = 0.03$), TEG- LY30 ($p < 0.04$).

Záver: Denné merania biochemických a hematologických parametrov, a to hlavne AST, PCT, IL-6, WBC, CRP a D-dimérov môžu pomôcť v skoréj diagnostike sepsy u pacientov po rozsiahlej operácii, ako je ezofagektómia. Na druhej strane, TEG vyšetrenie sa nezdá byť užitočné pri rozlišovaní SIRS/sepsy v skorom pooperačnom období. Zdá sa však, že môže byť užitočné po 5. pooperačnom dni.

Podpora projektu: Projekt bol podporený Grantovou agentúrou Karlovej Univerzity č. 21509

P02. VYPUZOVÁNÍ AMPLIFIKOVANÝCH KOPIÍ ONKOGENU MYCN Z NEUROBLASTOMOVÝCH BUNĚK VYVOLANÉ KULTIVACÍ S CISPLATINOU, DOXORUBICINEM, HYDROXYUREOU A VINKRISTINEM

Procházková P., Hraběta J., Vicha A. a Eckschlager T.
Klinika dětské hematologie a onkologie UK, 2. LF a FN Motol, Praha

Školitel: Tomáš Eckschlager

Úvod: Nejdůležitějším prognostickým znakem u neuroblastomu (NBL) je amplifikace onkogenu MYCN, která je známkou velmi špatné prognózy. Amplifikovaný MYCN může být cytogeneticky detekován jako extrachromozomální acentrické fragmenty (Double minute Chromatin Bodies, dmin) nebo intrachromozomální homogenně se barvící oblasti (Homogenously Staining Regions, HSR). Amplifikace MYCN představuje obvykle 50–100 nadbytečných kopií. Přesný počet není pro prognózu důležitý, protože nádorové buňky obsahující více než 8 kopií, při zachování diploidního stavu, jsou vždy agresivní. Vypuzování amplifikovaných kopií bylo popsáno jak u buněk z nádorů pacientů, tak linií, ale pouze u amplifikace typu dmin.

Cíl: Naším cílem bylo zjistit, zda se po aplikaci hydroxyurey (HU), která může zrychlit vypuzování amplifikovaných genů, nebo po aplikaci cytostatik používaných v léčbě NBL, nemění počty kopií MYCN v HSR NBL.

Materiál a metody: Buněčné linie: NBL linie IMR-32, SK-N-AS, UKF-NB-2, UKF-NB-3, UKF-NB-4 a od nich odvozené sublinie rezistentní k cisplatině, doxorubicinu a vinkristinu. Komparativní genomová hybridizace: Byla porovnána intenzita fluorescence rozdílně značených DNA (kontrolní, vyšetřovaná) hybridizovaných na metafazických chromozomech pro zjištění možné delecce nebo zmožení genetického materiálu. Fluorescenční hybridizace in situ: S využitím specifické sondy byly potvrzeny změny v počtu kopií MYCN a stanoveny přesné počty kopií ve 200 jádrech každé linie a opakovaně v průběhu pasážování.

Výsledky: V buňkách linií IMR-32 a UKF-NB-4 obsahujících MYCN ve formě HSR bylo nalezeno vypuzování amplifikovaných kopií popsané již dříve u dmin. Již po první kultivaci NBL buněk s HU byl pozorován úbytek kopií. UKF-NB-4 ztratila průměrně 20 a IMR-32 15 kopií ($p < 0.001$). Po druhé pasáži s HU byly poprvé nalezeny buňky bez amplifikace, které se nevyskytují v původní mateřské linii. Pasážování probíhalo až do 11. pasáže, kdy již buňky vykazovaly zvýšenou rezistenci k HU. Buněčné linie rezistentní k cisplatině, doxorubicinu a vinkristinu ztratily v průběhu pasážování průměrně 17 kopií oproti mateřské linii. Předpokládáme, že buňky s vysokým stupněm amplifikace jsou zničeny cytostatiky nebo cytostatika podporují vypuzování nadbytečných kopií z buňky. Přítomnost většího množství buněk s vypuzováním MYCN při kultivaci s HU svědčí pro druhý mechanismus.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že vypuzování amplifikovaných kopií onkogenu MYCN je možné nejen z dmin, ale i z HSR a nepodílí se na něm pouze HU, ale mohou jej vyvolat i jiné cytostatika.

P03. ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA: KVANTITATIVNÍ HODNOCENÍ FRAKČNÍ ANIZOTROPIE A PRŮMĚRNÉ DIFUZIVITY V CORPUS CALLOSUM PŘED A PO FYZIOTERAPII

Ibrahim I.^{1,2}, Řasová K.³, Škoch A.^{1,2}, Jirů F.¹, Martinková P.⁴, Tintěra J.^{1,2}

¹Pracoviště radiodiagnostiky a intervenční radiologie ZRIR – Oddělení magnetické rezonance, ²Centrum neuropsychiatrických studií, Praha, ³Klinika rehabilitačního lékařství 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha, ⁴EuroMISE Centrum UK v Praze a AV ČR, Ústav informatiky AV ČR, Praha

Školitel: Ing. Milan Hájek, DrSc., *Konzultant:* Ing. Jaroslav Tintěra, CSc.

Úvod: Ovlivnění neurodegenerace pomocí fyzické aktivity (fyzioterapie) je aktuální téma současného výzkumu roztroušené sklerózy (RS). Patofyziologické změny v bílé hmotě u RS probíhají mnohem dříve, než symptomy se objevují nebo strukturální změny jsou patrné na MR obraze. Mikroskopické poškození axonů způsobuje změny difúze molekul vody v mozkové tkáni, která je dobře zobrazitelná pomocí difúzní váženého obrazu a difúzního tenzoru (diffusion tensor imaging-DTI). Tyto změny lze pak kvantifikovat měřením difúzních indexů v bílé hmotě.

Cíl: Cílem naší studie bylo kvantitativní hodnocení integrity bílé hmoty in vivo v corpus callosum (CC) metodou DTI u RS před a po fyzioterapii.

Materiál a metody: Jedenáct pacientů s RS bylo podrobena neurologickému (EDSS) a kognitivnímu testu (PASAT) a vyšetřeno magnetickou rezonancí (MR) na 3T tomografu Siemens Trio na začátku studie, po měsíci bez fyzioterapie a po dvouměsíční fyzioterapii. Zároveň 11 zdravých kontrol bylo podrobena kognitivnímu testu (PASAT) a vyšetření MR na začátku studie a po měsíci. Hodnoty frakční anizotropie (FA) a průměrné difuzivity (MD) byly spočteny v CC. Výběr oblasti zájmu byl proveden na střední sagitální vrstvě na T1-3D MPRAGE obrazech koregistrovaných s difúzními MR obrazy. Data byla analyzována s použitím lineárních modelů se smíšenými efekty a párovými a dvou výběrovými t testy.

Výsledek: U pacientů s RS byl zjištěn signifikantní pokles v FA ($p < 0.001$) a nárůst v MD ($p < 0.001$) hodnotách ve srovnání se zdravými kontrolami na začátku studie. Hodnoty FA a MD se po měsíci bez fyzioterapie v obou skupinách neměnily. Rozdíly v FA a MD byly po dvouměsíční fyzioterapii u pacientů větší než u zdravých kontrol. U pacientů došlo k signifikantnímu nárůstu v FA ($p < 0.001$) a poklesu v MD ($p < 0.014$) hodnotách.

Závěr: Výsledky ukazují, že rehabilitace ovlivňuje mikrostrukturu mozkové tkáně a může být účinnou metodou ke zpomalení progresu RS choroby.

Podpora projektu: Granty:1M0517, IGA 1A/8628-5, MZ0IKEM2005, MZ0PCP2005, AV0Z10300504.

P04. MOŽNOSTI VYUŽITÍ KADAVEROZNÍCH ALLOŠTĚPŮ PATELÁRNÍHO LIGAMENTA PŘI ŘEŠENÍ NESTABILITY KOLENNÍHO KLOUBU

Sadovský P., Musil D.

Ortopedické oddělení Nemocnice České Budějovice, a. s.

Školitel: Doc. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA

Úvod: Rekonstrukce nestability kolenního kloubu při ruptuře LCA (lig. cruratum ant.) je rutinním výkonem na ortopedických pracovištích. S rostoucí četností rekonstrukcí LCA dochází k nárůstu počtu pacientů u kterých dochází k selhání rekonstruovaného vazů autogenním štěpem. Příčiny selhání jsou obecně: 1) operační chyba při rekonstrukci, 2) nová trauma, 3) imunobiologické příčiny.

Při selhání rekonstruovaného štěpu a následné nestabilitě kolenního kloubu (objektivně prokazatelné klinickým vyšetřením a zobrazovacími metodami i subjektivně pociťované) jsme postaveni před problémem, jakého materiálu použít pro replastiku vazů. Možnosti jsou ve využití dalších anatomických autogenních struktur (kontralaterálního BTB štěpu, šlachového štěpu hamstringů a další), či použít štěpu allogenního.

Použití allogenního kadaverozního B-T-B štěpu (Bone-Tendon-Bone) z patelárního ligamenta se jeví jako použitelná metoda, jejíž výhoda spočívá zejména ve skutečnosti, že kolenní kloub není alterován odebráním dalšího materiálu.

Cíl: Cílem práce je vyhodnotit soubor pacientů s revizní replastikou předního kříž. vazů B-T-B alloštěpem, zhodnotit stupeň reziduální nestability po reoperaci, zhodnotit funkční výsledek reoperace pomocí Lysholmova skóre a posoudit použitelnost kadaverozního alloštěpu při rekonstrukci i jiných vazových struktur kolenního kloubu (mediálního či laterálního postranního vazů).

Materiál a metody: Bylo posuzováno celkem 100 pacientů, u kterých byla provedena náhrada některého ze statických stabilizátorů pomocí B-T-B alloštěpu.

U 81 pacienta byla provedena replastika LCA, u 13 pacientů replastika LCA a současně LCP, u 6 pacientů byla provedena replastika LCA a některý z jiných výkonů v oblasti kolenního kloubu (osteotomie proximálního bérce, chondrografting kloubní plochy atp.). Pacienti byli pozváni ke kontrolnímu vyšetření s odstupem minim. jednoho roku od provedené operace a bylo provedeno jednak klinické vyšetření stability, rozsahu pohybu a dále funkční zhodnocení dle Lysholmova skóre.

Výsledky: Analýza výsledků při kontrolním vyšetření prokázala, že při použití kadaverozních alloštěpů pro replastiku LCA se dosahuje obdobné stability, jako při primární rekonstrukci, ale funkční výsledek je modifikován již přítomnými degenerativními změnami či chondropatií, nebo současnou meniskeální lézí.

Závěr: Na základě výsledků šetření považujeme revizní operaci - rekonstrukci LCA kadaverozním alloštěpem za dostatečně spolehlivou a použitelnou operační metodu při řešení selhané plastiky LCA.

P05. HPLC SEPARATION OF FLUORESCENT PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION IN ERYTHROCYTES AND MITOCHONDRIA

Ivica J.¹, Skoumalová A.¹, Topinková E.², Wilhelm J.¹

¹Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2nd Medical Faculty, ²Department of Geriatrics, 1st Medical Faculty, Charles University in Prague

Supervisor: prof. RNDr. Jiří Wilhelm, Ph.D.

Introduction: Polyunsaturated fatty acids found in membrane phospholipids are readily oxidized by free radicals producing highly reactive aldehydes such as malondialdehyde. These aldehydes react with biological material to form fluorescent lipid peroxidation end products known as lipofuscin-like pigments.

Aims: We studied fluorescent pigments from beef heart mitochondria incubated with malondialdehyde in vitro and from erythrocytes of patients with Alzheimer's disease to evaluate their potential as markers of oxidative stress and to develop HPLC methods for their qualitative analysis.

Materials and Methods: We used tridimensional fluorescence spectral arrays and synchronous fluorescence spectra in connection with HPLC separation with fluorescence detection. Lipofuscin-like pigments were obtained from in vitro peroxidized mitochondria at two different temperatures of 25°C and 50°C. Isocratic reverse phase HPLC system was used for the separation of the fluorescent pigments.

Results: Stable fluorophores were found in both models, where the incubation with higher temperature gave rise to the much faster and greater production of lipofuscin-like pigments. The methods developed in this work proved to be efficient for resolving single fluorophores successfully into several distinctive fractions.

Conclusions: By developing methods for resolution of individual fluorophores by HPLC, the basis for their further characterization by mass spectrometry is created. This would enable to determine the chemical structure of these elusive compounds that are produced under many pathologic conditions and therefore are of great medical importance.

Support: We would like to thank the foundation of 'Nadání Jozefa, Marie a Zdeňky Hlávkových' from Prague, Czech Republic, for their financial support. This research was supported by The Czech Science Foundation, grant number 220 032.

P06. GENETICKÉ VYŠETŘENÍ ČESKÝCH PACIENTŮ S HEREDITÁRNÍ A „IDIOPATICKOU“ CHRONICKOU PANKREATITIDOU

Koudová M.^{1,2}, Macek Jr. M.¹, Anguelová I.¹, Kotalová R.³, Nevoral J.³, Špičák J.⁴

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol; ²GHC Genetics, s. r. o.- NZZ;

³Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; ⁴Klinika hepatogastroenterologie, IKEM, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Milan Macek Jr., DrSc.

Úvod: Chronická pankreatitida (CP) je zánětlivé onemocnění pankreatu s degenerací acinárních buněk, s rozvojem fibrózy a zevně (posléze i vnitřně) sekretorické insuficience. V 1/3 případů není možno nalézt zjevnou vyvolávající příčinu - tzv. „idiopatická“ CP (ICP). Hereditární pankreatitida (HP) je AD dědičné onemocnění způsobené mutacemi v genu PRSS1. Studie prokazují také vliv mutací genu SPINK1 na možný rozvoj CP.

Cíl: V období I/2005-III/2009 jsme celkem vyšetřili 95 pacientů s klinickou dg. ICP (46 dětí, 49 dospělých) a 29 pacientů s klinickou diagnózou HP (11 dětí, 18 dospělých) s cílem zjistit výskyt nejčastějších mutací genů PRSS1 a SPINK1 u těchto pacientů. Současně byla testována česká kontrolní populace (112F/115M, věk 18-45 let) ke korelaci zjištěných nálezů.

Materiál a metody: DNA pacientů i kontrol byla izolována z periferní žilní nesrážlivé krve. Testované mutace R122H a N29I genu PRSS1 a mutace N34S genu SPINK1 byly detekovány metodami molekulárně genetické diagnostiky: PCR, nested PCR a restriční analýza s gelovou elektroforézou a vizualizací zařízením UV/kamera.

Výsledek: Frekvence mutací R122H a N29I genu PRSS1 byla ve srovnání s kontrolami (0/454) signifikantně zvýšena ($p < 0.001$) ve skupině pacientů s klinickou dg. HP (8/58), ale ne ve skupině dětských a dospělých pacientů s klinickou dg. ICP (2/190). Mutace N34S SPINK1 byla prokázána ve skupině pacientů s HP (4/58) i dospělých pacientů s ICP (2/98), ale ve srovnání s kontrolami (8/454) byl signifikantní nález jen ve skupině dětských ICP pacientů (8/92).

Závěr: Výsledky ukazují, že vyšetřované mutace PRSS1/SPINK1 genů jsou asociovány s rozvojem ICP/HP u českých pacientů, ale vzhledem k nízké záchytnosti mutovaných alel předpokládáme přítomnost dalších mutací v těchto genech (plánujeme použít skenovací metody) nebo v jiných genech (např. CFTR, UGT1A7), i nám dosud neznámých. Molekulárně genetická diagnostika je pro dif. dg. ICP/HP nezbytná a u pozitivních případů musí být vždy následována genetickým poradenstvím a klinickou dispenzarizací k prevenci komplikací z důvodu zvýšeného rizika adenokarcinomu pankreatu u pacientů s HP!

Podpora projektu: Problematika byla řešena s podporou 6112 VZFNM 0000064203

P07. SOLUBILNÍ FORMA KARBOANHYDRÁZY IX (CAIX) U NEMOCNÝCH S UROTELIÁLNÍM KARCINOMEM MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

Hyršl L.¹, Závada J.², Zavadová Z.², Kawaciuk I.³, Veselý Š.³, Škapa P.⁴, Babjuk M.³

¹Urologické odd. ON Kladno; ²Ústav organické chemie a biochemie AVČR; ³Urologická klinika UK 2. LF a FNM; ⁴Klinika patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FNM

Školitel: Prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

Úvod: Karbonická anhydráza IX (CAIX) je povrchový buněčný protein, který se normálně vyskytuje pouze ve sliznici žaludku a žlučových. Ektopicky se jako nádoru přidružený antigen vyskytuje u některých humánních karcinomů, zejména u adenokarcinomu ledviny, karcinomu hrdla děložního a některých dalších. V poslední době byla histochemicky prokázána na membráně buněk uroteliálních karcinomů (TCC) vývodných cest močových. Jeho syntéza u TCC je spuštěna zřejmě ischemií v nádoru.

Cíl: Prokázat uvolňování CAIX do moče a stanovit koncentrace s-CAIX v séru a moči nemocných s TCC.

Materiál a metody: Do souboru bylo zařazeno 32 pacientů s endoskopickým podezřením na uroteliální nádor močového měchýře (TCC), v jednom případě ledvinné pánvičky a 16 kontrol. K průkazu CAIX antigenu ve vzorcích nádorů nemocných po operaci jsme použili imunohistochemické barvení pomocí specifické monoklonální protilátky M75. Pro extrakty z buněk nebo pro media z buněčných kultur používáme metodu ELISA, vyžadující použití dvou protilátek. Ke stanovení koncentrace CAIX v krvi a moči pacientů, dosahující pouze několika pg/ml, jsme použili citlivou a specifickou techniku „Western blot“ .

Výsledky: Hodnoceno bylo 32 nemocných s podezřením nebo prokázaným uroteliálním tumorem vývodných močových cest. Uroteliální karcinom byl histologicky prokázán u 22 nemocných, u jednoho se jednalo o karcinom spinocelulární. Imunohistochemické barvení prokázalo CAIX protein zejména v povrchových vrstvách nádoru u 13 nemocných. Ani v jednom případě jsme nepozorovali vyšší intenzitu barvení v perinekrotické oblasti. Pozitivní nálezy s-CAIX byly u 23 (71,9%) pacientů, z nich 16 (69,6%) mělo potvrzený TCC a SCC histologicky. U těchto nemocných se koncentrace s-CAIX proteinu v moči ve většině případů pohybovaly mezi 5-40 pg/ml. V sedmi případech byl s-CAIX falešně pozitivní. Negativní nálezy s-CAIX byly u devíti (28,1%) pacientů, z toho u sedmi falešně negativní. Senzitivitu jsme v naší skupině spočetli na 69,6% a pozitivní prediktivní hodnotu 69,6%. Specifická a negativní prediktivní hodnota byly pouze 22,2%. Sérové koncentrace s-CAIX byly u všech těchto nemocných negativní.

Závěr: Práce prokázala uvolňování CAIX proteinu do tkáňových tekutin u nemocných s TCC a možnost jeho detekce. Pro další výzkum je nutno vyvinout jinou, vysoce citlivou, specifickou a rychlou metodu pro stanovení CAIX v krvi a moči a více pochopit metabolismus s-CAIX v organismu.

P08. ANGIOTENZIN II SNIŽUJE PRODUKCI NO PŘI HYPOXICKÉM POŠKOZENÍ PLICNÍCH CÉV

Havlenová T. a Novák V.
Ústav fyziologie 2. LF Univerzity Karlovy

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Úvod: Hypoxická plicní hypertenze je vyvolána radikálovým poškozením stěny prealveolárních plicních cév, klíčová je rovnováha produkce NO a superoxidu. Angiotenzin II snižuje schopnost NO syntázy produkovat NO snížením biologické dostupnosti aktivního (neoxidovaného) tetrahydrobiopterinu (odpřažení NO syntázy).

Cíl: Zjistit, do jaké míry je u potkanů s inhibicí angiotensin konvertujícího enzymu (ACE) ovlivněna hypoxická plicní vazokonstrikce uvolněným NO.

Materiál a metody: Dospělí samci laboratorních potkanů kmene Wistar (skupina G, N=6) dostávali po dobu 6 dnů inhibitor ACE Gopten (2 mg/l vody na pití). Kontrolní skupina (skupina K, N=6) pila vodu.

Velikost hypoxické plicní vazokonstrikce byla studována na preparátu izolovaných plic perfundovaných konstantním průtokem solným roztokem s albuminem. Byl měřen střední arteriální krevní tlak v plicnici, plíce byly ventilovány normoxickou směsí plynů (21% O₂ + 5% CO₂ + N₂). Hypoxická plicní vazokonstrikce byla vyvolána cca 10 min trvající ventilací hypoxickou směsí (0% O₂ + 5% CO₂ + N₂). Velikost hypoxické plicní vazokonstrikce byla studována před a po inhibici NO syntázy (L-NAME 5.10-5 M)

Výsledky: Před inhibicí NO syntázy byla velikost hypoxické plicní vazokonstrikce u skupiny pokusné stejná jako u skupiny kontrolní (G = 15,5, SE= ± 1,4 a K = 15,0, SE= ± 1,3 torr). Podání L-NAME zvětšilo velikost hypoxické plicní vazokonstrikce v obou skupinách, u skupiny s inhibicí ACE bylo zvětšení hypoxické plicní vazokonstrikce signifikantně větší (G = 31,1, SE= ± 2,0 a K = 24,0, SE= ± 1,8 torr, P<0.02).

Závěr: Snížení koncentrace angiotenzinu II zvyšuje schopnost NO syntázy produkovat NO. Uvolnění angiotenzinu II při chronické hypoxii se může mechanismem odpřažení NO syntázy podílet na hypoxickém poškození prealveolárních plicních cév.

P09. VÝSKYT DNA VIRU HERPES SIMPLEX 1 V MOZKOMÍŠNÍM MOKU PŘI HERPES LABIALIS U PACIENTŮ S PURULENTNÍ MENINGITIDOU

Labská K.¹, Džupová O.3, Roubalová K.¹, Marešová V.²

¹Státní zdravotní ústav; ²I. infekční klinika, FN Na Bulovce; ³II. Infekční klinika FN Na Bulovce

Školitel: Doc. MUDr. Marešová Vilma, CSc.

Úvod: Polymerázová řetězová reakce je v současnosti nejpoužívanějším nástrojem při diagnostice neuroinfekcí vyvolaných herpetickými viry. Dynamika výskytu a persistence DNA herpetických virů v mozkomíšním moku (MM) stále není objasněná, zejména pro neetičnost opakovaného provádění lumbální punkce. Unikátním souborem jsou proto pacienti s purulentní meningitidou, u kterých dochází k rozsáhlým výsevům herpes labialis a jsou u nich prováděny opakované lumbální punkce z diagnostických důvodů.

Cíl: Cílem naší studie bylo zjistit, zda je DNA viru herpes simplex (HSV) přítomná v MM u pacientů s lokální reaktivací (herpes labialis) a sledovat jak dlouho bude tato DNA v mozkomíšním moku detekovatelná.

Materiál a metody: Mozkomíšní mok 11 pacientů s purulentní meningitidou komplikovanou výsevem herpes labialis byl vyšetřen na přítomnost DNA virů HSV a varicella zoster (VZV). Vzorky MM (n=24) byly odebrány při kontrolních lumbálních punkcích (1-6 na pacienta) a skladovány při minus 50°C do zpracování. Detekce DNA byla provedena in-house metodou nested PCR a pozitivní výsledky ověřeny komerčním kitem (LighCycler HSV1/2 qual kit, Roche) metodou real-time PCR.

Výsledky: Podařilo se nám zachytit 1 výskyt HSV DNA v MM u pacientky s pneumokokovou purulentní meningitidou. Tato pacientka zároveň trpěla mnohočetným myelomem. Výsev herpes labialis se u ní objevil 6. den onemocnění a pozitivní vzorek MM byl ze 7. dne. Zobrazovacími metodami nebyly zastiženy změny typické pro sporadickou nekrotizující encefalitidu (SNE).

Závěr: Podařil se nám unikátní záchyt HSV1 DNA v MM u pacientky s lokálním výsevem herpes labialis bez morfologických známek SNE. Jev je zřejmě vzácný a izolovaný na silně imunokompromitované jedince.

P10. VARIABILITA EXHALOVANÉHO MNOŽSTVÍ NO U POTKANA

Málková M., Herget J.
Ústav fyziologie 2. LF UK

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Úvod: Exhalované množství NO je dobrým indikátorem přítomnosti tkáňového poškození.

Cíl: Zjistit:

- variabilitu množství vydechovaného NO v čase
- ovlivnění koncentrací NO v okolním vzduchu
- vliv celkové anestezie
- podíl z vydechovaného NO produkovaný v horních dýchacích cestách

Materiál a metody: Množství NO ve vydechovaném vzduchu bylo měřeno chemiluminescenční metodou. Šest dospělých potkanů kmene Wistar (380 ± 18 g) byla měřeno opakovaně během dvou týdnů při různé koncentraci NO v okolním vzduchu. Po posledním měření byly anestetizovány Thiopentalem ($1,8 \mu\text{l/g}$) a měření bylo zopakováno. Potom jim byla provedena tracheostomie a opět bylo změřeno NO ve vydechovaném vzduchu.

Výsledky: Hodnoty NO ve vydechovaném vzduchu se během jednotlivých měření měnily v závislosti na okolní koncentraci NO ve vzduchu. Při hodnotách NO v okolním vzduchu mezi 6,2 a 51,0 PPB se NO ve vydechovaném vzduchu pohybovalo mezi 197,6 a 402,8 pg/min/100g tělesné váhy. Anestezii se hodnota NO významně nezměnila. Po tracheostomii hodnota NO významně poklesla oproti hodnotám naměřeným v anestezii ($364,6 \text{ pgNO/min/100g}$ během anestezie a $214,0 \text{ pgNO/min/100g}$ při tracheostomii, $p < 0,05$).

Závěr: Množství NO ve vydechovaném vzduchu závisí na okolní koncentraci NO. Anestezie množství vydechovaného NO neovlivní. Pokles koncentrace NO po provedení tracheostomie lze vysvětlit výrazným podílem paranasálních dutin a horních dýchacích cest na celkové produkci NO.

Podpora projektu: Centrum výzkumu chorob srdce a cév 1MO510

P11. ROBOTICKY ASISTOVANÁ CHIRURGICKÁ LÉČBA JATERNÍCH CYST

Langer D.¹, Ryska M.¹, Pudil J.¹, Lásziková E.²

¹Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha; ²Anesteziologicko-resuscitační oddělení ÚVN Praha

Školitel: Prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

Úvod: Jaterní cysty nepatří ve střední Evropě mezi častá onemocnění. Téměř ve všech případech se jedná o ne parazitární cystická ložiska. Jen minoritní část nemocných s cystickými útvary jater má klinické obtíže, které si vyžadají léčbu.

Cíl: Prezentace krátkodobých výsledků chirurgické léčby s robotickou asistencí u nemocných s cystickým onemocněním jater.

Materiál a metody: Zhodnocení skupiny 12 nemocných, kteří podstoupili pro symptomatické cystické léze jater miniinvazivní operační léčbu na našem pracovišti.

Výsledky: Soubor pacientů tvořilo 9 žen (75 %) a 3 muži (25 %) průměrného věku 60 let, v rozmezí od 40 do 72 let. Operační výkony jsme u všech nemocných dokončili laparoskopickou technikou. Průměrná doba operačního výkonu činila 125 minut. V polovině případů byla jaterní cysta lokalizována v pravém laloku. U tří pacientů jsme současně provedli cholecystektomii. V hodnocené sestavě nemocných jsme zaznamenali časnou pooperační komplikaci u 1 operanta. Žádného nemocného jsme neztratili. Krevní ztráty byly minimální, transfúzní přípravky jsme nepodali. Ve třech případech jsme potvrdili recidivu onemocnění.

Závěr: Naše zkušenosti ve shodě s literárními údaji potvrzují, že laparoskopický přístup v operační léčbě cystického onemocnění (vyjma polycystózy) jater je postupem efektivním s minimální morbiditou. Robotický systém da Vinci se významně uplatnil především v méně dostupných jaterních segmentech v podbráničním prostoru. Naše výsledky jsou srovnatelné se závěry publikovaných prací. Vzhledem ke krátkému časovému období je nutné výsledky považovat za průběžné.

P12. SLEDOVÁNÍ A HODNOCENÍ VÝVOJE EXCITABILITY MOZKOVÉ KŮRY U PACIENTŮ PO PORANĚNÍ MÍCHY

Kříž J.¹, Zedka M.², Kolář P.¹, Komárek V.³

¹Klinika RHB a TVL; ²Univ. of Lausanne, CH; ³Klinika dětské neurologie

Školitel: Doc. PaedDr. Pavel Kolář, Ph.D.

Úvod: Traumatická léze míchy spouští proces dynamických změn v nervovém systému, v jejichž důsledku se rozvíjí charakteristický klinický obraz. Změny se odehrávají jak na úrovni míchy samotné, tak mozku. Jejich charakter však nebyl dosud zcela objasněn. Získání informací o řídicí funkci mozku na poraněnou míchu může pomoci porozumět patologii a navrhnout adekvátní terapii.

Cíl:

1. Způsobuje poranění míchy změny v excitabilitě primárního motorického kortexu?
2. Jsou změny v excitabilitě kortexu odlišné u kompletních a nekompletních lézí?
3. Souvisí kortikální excitabilita s maximální silou, kterou může sval vyvinout?
4. Je souvislost mezi excitabilitou kortikální oblasti reprezentující svaly nad a pod lézí?
5. Jak se vyvíjí kortikální excitabilita během prvního roku po míšním poranění?

Materiál a metody: Studie se zúčastnilo 17 pacientů ve věku 18-63 let (průměr 30,1 let) po poranění míchy (úroveň léze C4-L3, AIS A-D) a 10 kontrolních subjektů. Sledovali jsme funkci kortikospinální dráhy a funkci mozkové kůry pomocí TMS stimulace kortexu jednotlivými a párovými pulzy s EMG záznamem ze svalů horní a dolní končetiny (m. biceps, thenar a m. tibialis anterior). Všichni pacienti absolvovali 2 vyšetření v průběhu prvních čtyřech měsíců po úraze s odstupem 1 měsíce. 10 pacientů absolvovalo třetí vyšetření za 1 rok po úraze.

Výsledek: Při hodnocení výsledků prvního měření byl nalezen významný rozdíl v excitabilitě mozkové kůry mezi pacienty a zdravými subjekty. Nicméně rozdíl v excitabilitě kůry mezi pacienty s motoricky kompletním (AIS A,B) a motoricky nekompletním (AIS C,D) postižením nebyl prokázán. Při hodnocení vztahu mezi motorickou funkcí jednotlivých svalů a excitabilitou odpovídající arey motorického kortexu byly patrné rozdíly, které však neměly statistickou významnost. Zaznamenali jsme však signifikantně vyšší kortikální drive pro svaly horní končetiny při jejich zachované motorické funkci v případě nulové motorické funkce na dolních končetinách. Při hodnocení vývoje v čase byl patrný nárůst kortikální excitability v průběhu prvních dvou měření u pacientů s nekompletní motorickou lézí proti snížení excitability u pacientů s kompletní motorickou lézí. Mezi druhým a třetím měřením pak dochází shodně k útlumu aktivity mozkové kůry.

Závěr: Prokázali jsme rozdíl v excitabilitě mozkové kůry po míšním poranění a to i pro různé motoricky postižené svaly. V pouřazovém průběhu dochází ke změnám v excitabilitě motorického kortexu a to i v oblasti pro svaly bez motorického postižení přetrvávajícím i jeden rok.

P13. ČTYŘKANÁLOVÁ PROFILOMETRE PELVIURETERÁLNÍHO PŘECHODU (PUP) U SKUPINY PACIENTŮ SE STENÓZOU PUP PŘED A PO ENDOPYELOTOMII

Drlík P.¹, Jarolím L.², Kawaciuk I.², Kohler O.²

¹Urologické oddělení ÚVN Praha; ²Urologická klinika FNM

Školitel: Doc. MUDr. L. Jarolím, CSc.

Úvod: Při diagnostice stenóz PUP se v některých případech setkáváme s diagnostickými rozpaky. Z tohoto důvodu jsme se pokusili vytvořit zcela novou originální metodu, při které bychom definovali normální a patologické tlakové hodnoty PUP. Tuto metodu jsme nejprve zkoumali na prasečích a lidských nefrektomovaných ledvinách. Získané výsledky nám potvrdily výtěžnost a opakovatelnost metody a její nezávislost na průtoku katétre a poloze ledviny. Toto vyšetření jsme nyní zařadili mezi ostatní vyšetřovací postupy u pacientů před plánovanou endopyelotomií při stenóze PUP. Metoda vychází z profilometrie uretry, nebyla u nás nikdy prováděna a ve světovém písemnictví jsme se s obdobnou metodou setkali dvakrát.

Cíl: Cílem našeho sdělení je prezentace výsledků čtyřkanálové profilometrie PUP u skupiny pacientů se stenózou ureterálního přechodu před a po endopyelotomií, zhodnocení výtěžnosti metody a porovnání s ostatními vyšetřovacími metodami.

Materiál a metody: Na souboru 22 pacientů (12 mužů a 10 žen), průměrného věku 40let s verifikovanou stenózou PUP standartními vyšetřovacími metodami (wash-out testy), jsme provedli čtyřkanálová profilometrická vyšetření. U každého měření jsme hodnotili maximální tlak Pmax (cm H₂O) a délku tlakového profilu d (mm). První měření jsme provedli před endopyelotomií a druhé 6 týdnů po operaci. Měření jsme provedli na urodynamickém přístroji Uromic 6 čtyřkanálovým gastrointestinálním katétre 7F fy Mediplus délky 120 cm. Rychlost extrakce katétru byla 10 mm/min a průtok 3 ml/min.

Výsledky: U všech předoperačních profilometrických vyšetření jsme naměřili vysoké hodnoty Pmax. Průměrná hodnota byla 32,6 cm H₂O sloupce, což bylo ve shodě s provedenými wash-out testy. Průměrná délka profilu byla 10,5 mm. Průměrná pooperační hodnota Pmax u úspěšných pacientů byla 13,25 cm H₂O sloupce. U dvou pacientů byla operace bez efektu, hodnoty Pmax se zlepšily průměrně pouze o 5,15 cm vod. sloupce. Pooperační průměrná délka profilu byla ve všech případech beze změny. Též pooperační wash-out testy byly ve shodě s výsledky profilometrie.

Závěr: Získané výsledky potvrzují výtěžnost metody, její shodu s ostatními standartními wash-out testy, její technickou možnost provedení a zařazení mezi vyšetřovací metody. Závěry naznačují možnost užití této metody v rámci hodnocení obstrukce PUP v případě nejistoty indikace operačního výkonu a u nemocných, kde operace byla bez efektu.

P14. EFFECT OF THE HISTONE DEACETYLASE INHIBITOR VALPROATE ON THE EXPRESSION OF CD133 IN NEUROBLASTOMA CELL LINE

Ashraf M., Hrabeta J., Cipro S., Vicha A., Eckschlager T.
Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Medical School

Supervisor: Prof.Tomas Eckschlager

Introduction: Recently it is suggested that cancer stem cells (CSC) play an important role in carcinogenesis and tumor progression. More researches showed their capability of self-renewal, differentiation and tumor induction after xenotransplantation. CD133 is a marker commonly found in the stem and progenitor cells in various tissues. It has been demonstrated that CD133+ cells are more resistant to hypoxia, irradiations and some chemotherapeutics compared to CD133- cells. Increased number of CD133+ cells is described as a sign of worse prognosis in neuroblastoma (NBL) and other tumors. Normal stem cells can be transformed into CSC after genetic modifications or due to epigenetic alterations. Nowadays epigenetic therapy is considered as a promising approach to target CSC. Histone deacetylase inhibitors (HDACi) are tested as anticancer drugs which induce reexpression of epigenetically silenced genes in tumors. Also they induce cell cycle arrest, and interruption of mitosis in cancer cells. Current researches proved the effect of HDACi on CSC; therefore we plan to focus on examination of the effect of HDACi Valproate (VPA) on NBL CSC.

Aims: Our goal was to identify the effect of HDACi Valproate on the expression of CD133 in neuroblastoma cell line.

Materials and Methods: Human NBL cell line UKF-NB3 was cultured in Advanced DMEM/ F12 serum-free medium supplemented with EGF,Heparin and B27. Cells were cultured in a concentration of 1mM of VPA and harvested in 3 consequent days. The expression of surface antigen CD133 was measured by flow cytometry and quantitative reverse transcriptase PCR (RT-PCR). The percentages of live, apoptotic, and dead cells in each population were estimated by PI/Annexin binding assays.

Results: Cytometric analysis of CD133 shows significant gradual increase of CD133+ cells after treating with VPA reaching 12% by the 3rd day, in comparison to the control which ranged from 0.40% to 2.8% during the same period. The values of RT-PCR were correlating with the cytometric results.

Conclusions: Increase the expression of cell surface marker CD133 in UKF-NB3 cell line after treating with 1mM concentration of VPA, supports the idea that CD133 expression is directly controlled by histone modifications. Our results open new area of discussion whether VPA therapy may increase the number of CSC or increases the expression of CD133 in non-stem cancer cells. The increase of CD133+ cells after VPA therapy may cause residual disease of CSC or chemoresistance.

P15. VZTAH ŠÍŘE KOMPLEXU INTIMA-MEDIA A VYBRANÝCH PARAMETRŮ VULNERABILITY KAROTICKÝCH PLÁTŮ

Fiedler J., Veselka J.

Kardiologická klinika Kardiovaskulárního centra, 2. LF UK a FNM, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Josef Veselka, CSc.

Úvod: Riziko klinické manifestace aterosklerotického plátu je částečně určeno jeho tzv. vulnerabilitou. Extrakraniální úsek karotického řečiště vyšetřujeme standardně ultrasonograficky včetně šíře intima-media společné karotidy (cIMT) a nově určením stupně jeho (neo-)vaskularizace pomocí echokonstrastní látky.

Cíl: Hodnocení vybraných parametrů vulnerability karotických plátů ve vztahu k šíři komplexu intima-media společných karotických tepen.

Materiál a metody: Zařazeni byli nemocní s neinvazivně prokázaným pokročilým aterosklerotickým postižením karotid podstupujících angiografii. Zkoumaní pacienti byli dále rozděleni do dvou porovnávaných skupin dle sonografického záchytu kontrastu v plátu sonograficky lineární cévní sondou během jeho podání do odstupu společné karotidy katetrizaci (soubor A – bez patrné vaskularizace, B – prokázána vaskularizace).

Hodnocené parametry:

1) KLINICKÉ

Anamnéza recentní ipsilaterální CMP/TIA (do 6 měsíců) x staršího iktu x stran CMP nemá

2) LABORATORNÍ

hsCRP, základní lipidogram (TC, TG, HDL-C, LDL-C, lp(a) + apo B) - po celonočním lačnění ranním náběrem žilní krve v den katetrizačního výkonu

3) SONOGRAFICKÉ

a/ cIMT- průměry ze tří manuálních měření zadní stěny 10-15 mm od počátku bulbu obou stran

b/ povrch plátu – hladký x nerovnosti povrchu x zjevné ulcerace, nasedající trombóza

c/ krevního toku v plátu dopplerovsky (Color flow, Power doppler): přítomen x nepřítomen

d/ homogenita plátu sonograficky B modem: homogenní x intermediální x výrazně nehomogenní

Provedení vyšetření perfúze plátu:

Selektivně byl nasondován odstup společné karotidy (CCA), následován nástřik 1,5 ml kontrastní látky bolusově s off-line analýzou nahraných záznamů v 2, 5 a 10 a 20 sec po aplikaci. Hladinu statistické významnosti mezi soubory A vs B jsme definovali jako $p < 0,05$.

Výsledek: POROVNÁVÁNÍ A vs B PARAMETRY VULNERABILITY

– významně nižší hodnoty souboru B: cIMT

– významně vyšší hodnoty souboru B: hsCRP

– bez významného rozdílu: ostatní (anamnéza recentní ipsilaterální CMP/TIA; TC, TG, HDL-C, LDL-C, lp(a); apo B; povrch plátu; přítomnost krevního toku v plátu a homogenita plátu)

Závěr: Přítomnost perfúze uvnitř plátů (vaskularizace) byla přítomna u většiny vyšetřovaných osob s pokročilým aterosklerotickým postižením karotid. Oproti pacientům bez této patologie se významně nelišili ve sledovaných charakteristikách stenózu způsobujícího plátu s výjimkou nižší průměrné hodnoty šíře komplexu intima-media a vyšší hodnoty hsCRP.

P16. FUNKCE SYSTÉMOVÉ PRAVÉ KOMORY U TRANSPOZICE VELKÝCH TEPEN POMOCÍ MAGNETICKÉ REZONANCE METODOU STANOVENÍ PRAHU INTENZITY SIGNÁLU: PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY

Adla T.¹, Lisý J.¹, Antonová P.², Roček M.¹

¹Klinika zobrazovacích metod; ²Kardiologická klinika

Školitel: Doc. MUDr. Miloslav Roček, CSc.

Úvod: Ve srovnání s komorou levou je hodnocení objemů pravé komory (PK) srdeční obtížnější pro její geometricky složitější tvar i u pacientů bez srdeční vady. U pacientů s transpozicí velkých tepen (TGA) řešené korekcí v oblasti síní je pravá komora systémová a z ní se tedy plní aorta a systémové řečiště. PK je u těchto pacientů hypertrofická včetně hypertrofické trabekulizace, což dále ztěžuje kvantifikaci objemu pomocí echokardiografie i tradičním MR volumetrií postavenou na poloautomatickém definování hranice dutiny PK v jednotlivých skenech. Metoda automatického stanovení prahu intenzity signálu (signal intensity threshold method) používaná v CT srdce je méně závislá na zásahu operátora, avšak není jasné zda je přesnější.

Cíl: Cílem práce je srovnání hodnocení ejekční frakce (EF) PK z MR vyšetření pomocí metody stanovení prahu intenzity signálu s tradiční MR volumetrií a s echokardiografickým hodnocením.

Materiál a metody: Deset pacientů (6 mužů, 23 +/- 3 roky) s TGA po operaci v oblasti síní podstoupilo MR vyšetření (Gyrosan Intera 1,5 T, Philips, Nizozemí). Kinematické balanced turbo field echo obrazy byly získány v krátké ose přes celou PK (10-15 rovin, skeny šíře 8 mm, 10-25 fází). Objemy PK byly změřeny tradičním způsobem pomocí dedikované pracovní stanice (Extended MR WorkSpace, Philips, Nizozemí) na základě poloautomatické detekce endokardu. Pracovní stanice Aquarius WS (Terarecon, USA) byla použita pro poloautomatické hodnocení objemu metodou stanovení prahu intenzity signálu. Standardní echokardiografické vyšetření bylo provedeno na dedikovaném ultrazvukovém přístroji.

Výsledky: Průměrná EF PK byla 0,39 +/- 0,06 pro standardní MR volumetrii, 0,56 +/- 0,07 pro hodnocení prahovou metodou, a 0,42 +/- 0,07 pro echokardiografii. Korelační koeficient byl 0,377 (p = 0,283) pro obě MR metody, 0,161 (p = 0,656) pro standardní MR volumetrii a echokardiografii, a 0,455 (p = 0,186) na prahovou metodu a echokardiografii.

Závěr: Metoda stanovení prahu intenzity signálu v našem souboru celkově nadhodnotila EF PK. Avšak přes vyšší rozdíl mezi absolutní průměrnou hodnotou EF PK zjištěné metodou stanovení prahu intenzity signálu a echokardiografií, tyto dvě metody prokázaly vyšší korelaci, než echokardiografie a standardní MR volumetrie. Nebyla zjištěna významná korelace a výsledky by měly být vzhledem k malému počtu subjektů považovány za předběžné.

Podpora projektu: Podpořeno výzkumného projektu MZOFNM2005.

P17. CHRONICKÁ HYPOXIE ZVYŠUJE PERIFERNÍ CÉVNÍ ODPOR PLACENTY PŘI PERFUZI KRVÍ

Kafka P.^{1,3}, Vajnerová O.^{1,2}, Hampl V.^{1,2} a Herget J.^{1,2}

¹Ústav fyziologie 2. LF UK; ²Centrum výzkumu chorob srdce a cév; ³Klinika anesteziologie a resuscitace 3. LF UK a FNKV

Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

Úvod: Fetoplacentální cévy reagují stejně jako plicní na akutní hypoxický podnět vazokonstrikcí. Expozice chronické hypoxii působí plicní arteriální hypertenzi, v placentě bylo popsáno zvětšení fetoplacentárního cévního odporu při vysoké hodnotě průtoku při perfuzi solným roztokem, při klidové bazální perfuzi byl rozdíl v cévní rezistenci pod hranicí statistické významnosti.

Cíl: Cílem práce bylo zjistit, zda způsobí perfuze roztokem o vyšší viskozitě větší rozdíl fetoplacentárního cévního odporu při srovnání chronicky hypoxických a normoxických potkanů.

Materiál a metody: Pokus se prováděl na izolované, dvojité perfundované placentě laboratorního potkana. Maternální i fetální strana placenty byla perfundována Krebsovým roztokem ze společného rezervoáru (konstantní průtok 1 ml/min, ekvilibrována se směsí 21% O₂ + 5% CO₂ + 74% N₂), po stabilizaci jsme fetální stranu perfundovali krví za stejných podmínek. Krev byla odebrána kardiální punkcí potkanů (dárců).

Byly použity 2 skupiny potkanů – kontrolní normoxická N (n = 6), která strávila celou dobu březosti, tj. 21 dnů, v normoxických podmínkách, a hypoxická H (n = 8), která strávila posledních 7 dnů březosti v hypoxické normobarické komoře s 10% O₂.

U obou skupin potkanů jsme měřili závislost fetoplacentárního perfuzního tlaku během konstantního bazálního průtoku při perfuzi Krebsovým roztokem a krví a pro přesnější popis odporových vlastností závislost perfuzního tlaku na kontinuálně se zvyšujícím průtoku (P/Q) při perfuzi krví.

Výsledky: Bazální fetoplacentární perfuzní tlak je statisticky signifikantně vyšší u chronicky hypoxických potkanů (34 ± 2 mmHg) ve srovnání s kontrolními normoxickými potkany (23 ± 2 mmHg, P = 0,001) během bazálního průtoku při perfuzi Krebsovým roztokem. Perfuze fetální strany placenty krví zvýšila cévní tonus u obou skupin potkanů, u hypoxických (94 ± 6 mmHg) je signifikantně vyšší ve srovnání s kontrolními (77 ± 5 mmHg, P = 0,049) během stejné hodnoty průtoku. Křivka závislosti fetoplacentárního perfuzního tlaku na průtoku (P/Q) je u hypoxických potkanů statisticky signifikantně vyšší než u normoxických.

Závěr: Chronická hypoxie zvyšuje cévní odpor na fetální straně placenty při perfuzi krví u laboratorního potkana.

P18. MOLEKULÁRNÍ TYPIZACE IZOLÁTŮ CLOSTRIDIUM DIFFICILE A JEJÍ VÝZNAM

Dahmen R. A., Matějková J., Nyč O.
Ústav lékařské mikrobiologie UK 2. LF a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Jana Matějková

Úvod: Sporulující bakterie *C.difficile* je v současnosti nejčastějším původcem nozokomiálních střevních infekcí, jejich těžké formy jsou spojeny s těžkými komplikacemi a vysokou letalitou. V některých zemích je *C.diff* nejvýznamnějším nozokomiálním patogenem vůbec. Kromě klinické symptomatologie, která ale není vždy zcela specifická, je pro potvrzení diagnózy stěžejní laboratorní průkaz bakterie a jejich toxinů kmeny ve stolici.

Cíl: V Evropě je za referenční metodu obecně považována PCR ribotypizace. PCR ribotyp je definován jako soubor kmenů se shodným profilem fragmentů nukleových kyselin vizualizovaných na agarozovém gelu. Význam tohoto vyšetření spočívá v identifikaci hypervirulentních kmenů jako je například prozatím nejrozšířenější PCR ribotyp 027, ale i dnes již popsaných epidemiologicky významných ribotypů (078, 001...), které představují jak z klinického, tak i epidemiologického hlediska velkou hrozbu pro rizikového jedince i jeho okolí. Tato analýza je proto v mnoha zemích dostupná prostřednictvím specializovaných laboratoří. Pracoviště ÚLM 2.LF UK se snaží suplovat chybění této laboratoře a provádí typizaci klinicky významných izolátů *C.diff* včetně kmenů zaslanych z jiných pracovišť.

Materiál a metody: Cílem PCR ribotypizace je amplifikace regionu mezi 16S a 23rDNA. Tento operon je v genomu *C.diff* přítomen v mnoha kopiích. Bakteriální kmeny se liší délkou ITS (vnitřní přepisované mezerníky), které se nacházejí uvnitř transkripčních jednotek mezi kmeny pro funkční molekuly rRNA. Výsledné proužky agarozovém gelu jsou hodnoceny vizuálně a srovnávány s nejfrekventnějšími známými ribotypy. Odlišnost v jediném fragmentu je považována za nový ribotyp, který je nutno konfirmovat v evropské referenční laboratoři v Leidenu.

Výsledky: V období od března 2010 do února 2011 jsme otypovali 15 externích a 40 kmenů *C. diff* z FN Motol. Izoláty pocházející z FN Motol vykazovaly v rámci PCR ribotypů značnou variabilitu, což je z epidemiologického hlediska příznivé zjištění. Při analýze externě dodaných kmenů se ale podařilo prokázat celosvětově zatím neobvyklý ribotyp 176, který je biologickými vlastnostmi podobný ribotypu 027, od kterého se liší i v rámci ribotypizace pouze v jednom proužku.

Závěr: Molekulární typizace *C.difficile* je nezbytnou podmínkou prevence a adekvátní léčby těžkých infekcí. Dílčí výsledky motolské laboratoře ukazují na značnou variabilitu izolovaných ribotypů, ale současně se podařilo identifikovat unikátní epidemický ribotyp 176, který je zřejmě lokálních epidemií v některých regionech ČR.

P19. IMPACT OF FETAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING ON PRENATAL DIAGNOSIS OF FETAL CRANIOFACIAL ANOMALIES

Frisova V.¹, Kyncl M.¹, Borsky J.², Prosova B.¹, Rocek M.¹

¹Clinic of Imaging methods; ²Clinic of plastic surgery

Supervisor: Doc. MUDr. Miloslav Roček, CSc.

Introduction: Craniofacial malformations include a wide spectrum of fetal anomalies. facial clefts are the far most frequent with an estimated incidence between 1 and 2.2/1000. The prenatal ultrasound diagnosis of fetal craniofacial malformations by conventional two-dimensional (2D) ultrasound is possible, however reported sensitivity is low. The incorporation of 3-dimensional (3D) ultrasound into clinical practice has resulted into remarkable progress in the evaluation of fetal face. Magnetic resonance (MR) is a valuable complement to the sonography, adding useful information about the maxillofacial anatomy and allowing precise evaluation of the palate. Although its use has been described in prenatal diagnosis of many craniofacial anomalies, its real impact needs to be proven.

Aims: To evaluate the impact of fetal magnetic resonance (MR) on diagnosis of fetal craniofacial abnormalities.

Materials and Methods: We have examined 15 fetuses referred for suspected craniofacial anomaly both by 2D/3D ultrasound and MR.

MR straight-line followed 2D/3D US and was performed on Philips Gyroscan Intera 1.5T with additional Sense

Cardiac Coil on maternal abdomen. Imaging included sB-TFE and SS-T2/TSE in all cases and FLAIR, SS-FFE-Bone, DIF and T1-TFE in three orthogonal planes. All examinations and evaluation of stored images were performed by single operator specialized in fetal medicine. Diagnosis based on MR was each time confirmed by specialized pediatric radiologists.

Primary information about outcomes were obtained from parents or referral centers, the detailed diagnosis was retrieved from co-operating paediatric specialists or pathologists.

Results: 16 consecutive pregnancies referred for suspected craniofacial anomalies were examined. Our 2D/3D US examination revealed 1 normal and 15 abnormal pregnancies affected by craniofacial abnormalities: 1 case of encephalocele associated with anophthalmia and bilateral cleft lip and palate, 10 facial clefts, 1 epidermal scalp cyst and 3 tumors affecting fetal head suspected to be most likely lymphangiomas. Fetal MR confirmed our 2D/3D US findings, but it provided additional information about location, size and borders of craniofacial tumors and epidermal scalp cyst. Moreover, it improved our confidence into the correct diagnosis

Conclusions: Ultrasound remains to be the primary prenatal imaging method, however MR can add clinically relevant information in selected group of pregnancies affected by craniofacial anomaly.

Support: MZOFNM2005

P20. MR VOLUMETRIE TEMPORÁLNÍHO LALOKU U ZDRAVÝCH OSOB

Martinkovič L.^{1,2}, Hořínek D.⁴, Belšan T.³, Marusič P.^{1,4}

¹Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol; ²Neurologické oddělení UVN Praha;

³Radiodiagnostické oddělení UVN Praha; ⁴Neurochirurgická klinika UVN Praha a 1. LF UK

Školitel: Doc. Petr Marusič, Ph.D.

Úvod: Objem temporálního laloku a jeho částí je významným parametrem u pacientů s epilepsií temporálního laloku

– typicky je uváděna atrofie těchto struktur v porovnání s objemy naměřenými u zdravých lidí při porovnání skupinových hodnot.

Cíl: Zmapovat variabilitu v objemu temporálních laloků a jeho částí v rámci zdravé populace. Tento poznatek umožní identifikaci významných objemových odchylek u jednotlivých pacientů s epilepsií.

Materiál a metody: Do souboru bylo zařazeno 15 zdravých dobrovolníků (8 mužů, 7 žen) ve věkovém rozmezí 23-72 let (median 42 let) . U všech byla provedena MR mozku s vysokým stupněm rozlišení (3 Tesla, T1 sekvence, tloušťka řezu 1,5 mm).

Byla provedena měření temporálního pólu, temporálního laloku, hipokampu a intrakraniálního supratentoriálního objemu (ICV) bilaterálně (vlevo-L, vpravo-R). Všechna měření byla prováděna manuální metodikou s pomocí softwaru Scanview v koronárních řezech, pouze objemy hipokampů byly naměřeny v rovině sagitální. Při statistickém zpracování byl použit index asymetrie = $(L-R) / [(L+R)/2] \times 100 \%$, dále pak variační koeficient = $SD/\text{průměr} \times 100 \%$. K určení spolehlivosti měření byla stanovena intraindividuální variabilita (rozdíl dvou měření v poměru k průměru z obou měření).

Výsledky: Index asymetrie (%)

T laloky -5,0

T póly -3,7

hipokampy -4,4

ICV 0,5

Objem (cm³)

T lalok vlevo 73,3±13,8

T lalok vpravo 77,3±19,8

T pól vlevo 18,4±6,5

T pól vpravo 19,3±8,2

hipokampus vlevo 2,4±0,6

hipokampus vpravo 2,5±0,5

ICV vlevo 579,9±101,4

ICV vpravo 576,9±96,2

Intraindividuální variabilita (%)

T laloky 0,32

T póly 2,10

hipokampy 5,20

ICV 0,20

Variační koeficient (%)
T lalok vlevo 9,4
T lalok vpravo 12,8
T pól vlevo 17,5
T pól vpravo 21,2
hipokampus vlevo 12
hipokampus vpravo 11,1
ICV vlevo 8,7
ICV vpravo 8,3

Závěr: Naměřené hodnoty u zdravých kontrol ukázaly asymetrii mezi levým a pravým temporálním lalokem i hipokampy, při nízkém variačním koeficientu. Temporální póly mají nižší index asymetrie, ale výrazně vyšší variační koeficient. Nejnižší index asymetrie i variační koeficient vykazoval překvapivě supratentoriální ICV. Získané hodnoty jsou výchozím bodem pro porovnání s volumetrickými daty u pacientů s epilepsií.

P21. ELECTROPHYSIOLOGICAL DIVERSITY OF LAYER V PYRAMIDAL NEURONS IN THE PRIMARY AUDITORY CORTEX AND BELT AREA OF THE RAT

Pysanenko K.¹, Profant O.^{1,2}, Syka J.¹, Turecek R.¹

¹Department of Auditory Neuroscience, IEM AS CR, v. v. i, Prague; ²Department of ENT, 1st Medical Faculty, Charles University, Motol Hospital, Prague

Supervisor: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

Introduction: Previously, during extracellular recording of sound-evoked auditory cortex (AC) activity, striking differences were observed between the spiking patterns of neurons from the primary AC (A1) and surrounding belt area. Most A1 neurons displayed short latency onset responses, suggesting a phasic character of the neurons, unlike the prevalent tonic neurons in the belt area. It has been hypothesized that incoming signals could be processed differently by neurons in these areas.

Aims: The aim of this study was to investigate whether the differences in the spiking patterns observed *in vivo* could be at least partially explained by differences in the intrinsic passive and active electrical properties of the A1 and belt neurons.

Materials and Methods: In the current study we have investigated the intrinsic electrical properties of layer V pyramidal neurons by patch-clamp recording in acute rat AC slices.

Results: Three distinct cell types were recognized in both AC areas: two regular-spiking slowly adapting types, RS1 and RS2, and intrinsically bursting cells (IB). RS neurons prevailed among cells in both auditory areas, while the lower frequency spiking subtype RS1 dominated in the belt. In contrast, the A1 neuronal population showed equal contributions of RS1 and RS2 neurons. The spiking ability of neurons from both areas was significantly altered in the presence of inhibitors of Ca²⁺-activated K⁺ channels. Apamin and TRAM-34 but not iberiotoxin, both increased the frequency of the action potentials (APs) evoked by long depolarizing stimuli. Consistent with the larger contribution of the RS1 subtype in the belt area, belt neurons showed a significantly stronger sensitivity to the inhibitory effect of apamin.

Conclusions: Our data support the hypothesis that differences in spiking patterns obtained *in vivo* could be at least partially explained by differences in the intrinsic passive and active electrical properties of the A1 and belt neurons.

Support: The study was supported by grants AV0Z50390512, GACR 309 ? 07 ? 1336 and LC 554.

P22. DVĚ MUTACE ZPŮSOBUJÍCÍ GLUKOKINÁZOVÝ DIABETES VZNIKLY U SPOLEČNÝCH PŘEDKŮ PŘED NĚKOLIKA STALETÍMI

Dušátková P., Průhová Š., Lebl J., Cinek O.
Pediatrická klinika, FN v Motole a 2. LF UK v Praze

Školitel: MUDr. Ondřej Cinek, Ph.D.

Úvod: Glukokinázový diabetes (MODY2) je charakteristický chronickou mírnou hyperglykemií. Zatímco většina rodin s touto diagnózou nese v genu pro glukokinázu (GCK) svou unikátní mutaci, v České republice jsme našli řadu nepříbuzných rodin, které sdílejí stejné mutace: 21 rodin nese mutaci E40K, 14 rodin L315H, 12 rodin G318R a 8 rodin V33A. Navíc původ rodin s mutacemi E40K a L315H je v rámci republiky geograficky ohraničen.

Cíl: Cílem studie bylo pomocí genetických metod objasnit, zda mají tyto české prevalentní mutace v GCK u nepříbuzných rodin společný původ.

Materiál a metody: Využili jsme haplotypové analýzy polymorfismů: okolo mutací pocházejících z dávného předka by tyto polymorfismy byly uspořádány do ancestrálních haplotypů. U 131 nositelů mutací a u 95 zdravých kontrol jsme stanovili genotypy 17 jednonukleotidových polymorfismů obklopujících gen GCK v délce 14Mb. Statistická analýza zahrnovala odhad haplotypů pomocí programů PHASE a Haploview a odhad doby vzniku mutací provedený programem DMLE+.

Výsledek: Narozdíl od zdravých kontrol sdíleli nositelé mutace E40K haplotyp o délce 6,6Mb, což potvrzuje ancestrální původ této mutace. Její vznik byl odhadnut na 15. století. Efekt zakladatele jsme prokázali i u mutace L315H, která se u jejich nositelů nachází na haplotypu o délce 1,4Mb. Tato mutace vznikla přibližně ve 13. století. U mutací G318R a V33A jsme efekt zakladatele neprokázali.

Závěr: U dvou prevalentních mutací způsobujících glukokinázový diabetes, E40K a L315H, jsme prokázali jejich ancestrální původ. Naše výsledky ukazují, že glukokinázový diabetes nesnižuje fertilitu, a dokonce vybízejí k otázce, zda nepřináší svým nositelům určitou evoluční výhodu: mohla by vyšší glykémie pomoci lépe přečkat přechodný nutriční nedostatek?

Podpora projektu: Podpořeno grantem GA UK 840/2010 a MZČR NT 11402.

P23. FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF CA²⁺ SIGNALING PATHWAYS IN HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS-DERIVED NEURAL PRECURSORS

Forostyak O.¹, Kozubenko N.^{1,2}, Syková E.^{1,2} and Dayanithi G.¹

¹Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Videnska 1083, Prague 14220, Czech Republic; ²Department of Neuroscience and Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University, Second Medical Faculty, Prague, Czech Republic

Supervisor: Prof. Eva Syková MD, DrSc.

Introduction: Human embryonic stem cell-derived neural precursors (hESC NPs) are considered to be a promising strategy for cell replacement therapy in central nervous system injuries and neurodegenerative diseases. However, to date there is no clear evidence on the functional properties of hESC NPs.

Aims: In our study we used CCTL14 hESC-derived neural precursors to characterize their physiological properties in terms of calcium signalling during long term propagation in culture (in vitro).

Materials and Methods: Using Fura-2 fast fluorescence microspectrofluorimetry, we have characterized [Ca²⁺]_i responses in single cells of cultured CCTL14 hESC-derived neural precursors. The rise of intracellular [Ca²⁺]_i in response to various physiological stimuli was measured in different passages of hESC NPs.

Results: Our results showed that the number of cells responding to various physiological stimuli (e.g., high K⁺, ATP, glutamate and caffeine) is higher in passage 7 (P7) NPs when compared to P6, P8 or P10 NPs. These cells (P7) responded to high K⁺, ATP and glutamate by both an influx of Ca²⁺ and the release of Ca²⁺ from intracellular stores. Some cells (18%) exhibited spontaneous oscillations in [Ca²⁺]_i. In the presence or absence of 2 mM extracellular Ca²⁺, the application of ATP (100 μM) led to a marked rise in [Ca²⁺]_i, suggesting the activation of P2Y purinoreceptors and the release of Ca²⁺ from the intracellular stores. The ATP- and glutamate-induced [Ca²⁺]_i responses were reproducible and concentration-dependent.

Conclusions: Together, these results show that hESC NPs respond to different physiological stimuli by an increase in [Ca²⁺]_i that varies during the course of hES cell differentiation. Further, our findings suggest that P7 hESC NPs express functional glutamate receptors, purinoreceptors, voltage-dependent Ca²⁺ channels and show spontaneous Ca²⁺ oscillations as typically observed in neuronal/endocrine cells. These data contribute to a better understanding of the physiology and the functional state of hESC NPs and can help to improve strategies for the use of hESC NPs in transplantation and treatment.

Support: PITN-GA-2008-214003; GA CR P305/112373

P24. ASTROCYTIC CYTOSKELETAL ATROPHY AND GLUTAMINE SYNTHETASE DECREASE IN THE MEDIAL PREFRONTAL CORTEX DURING THE PROGRESSION OF ALZHEIMER

Kulijewicz-Nawrot M.¹, Syková E.^{1,2}, Verkhatsky A.^{1,3}, Rodríguez J. J.^{1,4,5}

¹Institute of Experimental Medicine, AVCR, Prague, Czech Republic; ²Department of Neuroscience and Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University, 2nd Medical Faculty, Prague, Czech Republic; ³Faculty of Life Sciences, The University of Manchester, Manchester, UK; ⁴IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain; ⁵Department of Neurosciences, University of the Basque Country, Leioa, Spain

Supervisor: Prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder characterised by loss of cognitive functions, including personality expression and decisions making; which are controlled by the medial prefrontal cortex (mPFC) in direct association with hippocampus and entorhinal cortex, that are strongly attained by AD. Astrocytes maintain the internal homeostasis and function of CNS, including the mPFC, but they also have a central role in neurodegenerative processes, such as AD.

Aims: Here, we analyzed astrocytic changes within the mPFC in AD by: measuring the surface and volume of glial fibrillary acidic protein (GFAP), their relation with amyloid- β deposits (A β) and analyzing of their glutamine synthetase (GS) expression.

Materials and Methods: We used quantitative confocal and light microscopy immunohistochemistry comparing transgenic (3xTG-AD) and non-transgenic animals of different ages (1 to 18 months).

Results: 3xTg-AD animals showed clear cytoskeleton atrophy, starting at early ages (3 months; 37.93% and 48.30% decrease in surface and volume, respectively) and sustained through the disease progression at 9, 12 and 18 months (47.99% and 31.66%; 38.47% and 35.79%; 40.89% and 36.17%, respectively). This atrophy is independent of A β accumulation, since, few GFAP-positive cells were localized around these A β , which suggests no relationship between atrophy and A β toxicity. We also observed decrease in GS-positive astrocytes at 1, 6 and 9 months (14.57%, 27.22% and 27.22%, respectively).

Conclusions: Our results suggest that the progressive reduction in astrocytic branching and domain in mPFC, together with decrease of GS expressing astrocytes, can account for the integrative dysfunction leading to the cognitive and memory deficits of AD.

Support: Supported by: GACR309/09/1696; GACR305/08/1384; PITN-GA-2008-214003

P25. KOAGULOPATIA V ŤAŽKOM SIRS/SEPSE ZISTENÁ POMOCOU TROMBOELASTOGRAFIE (TEG) MÔŽE BYŤ KORIGOVANÁ PODANÍM PROTAMÍNU

Durila M., Bureš Jan, Pelichovská M., Cvachovec K.
Klinika anesteziologie a resuscitace, 2. LF UK a FN Motol

Školiteľ: Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

Úvod: Porucha zrážania je často prítomná u pacientov so SIRS/sepsou. V závislosti na mnohých okolnostiach sa môže jednať o hyperkoagulačný alebo hypokoagulačný stav. Tromboelastografia (TEG) je metóda, ktorá dokáže rozpoznať obidva typy koagulopatie.

Cíl: Na tomto príklade chceme poukázať, že koagulopatia-hypokoagulácia v ťažkom SIRS/sepse môže byť korigovaná podaním protamínsulfátu.

Materiál a metódy: Pacient, u ktorého sa perioperačne rozvinul infarkt myokardu (a nemožno vylúčiť i bakteriémiu-48 hodín po radikálnej cystektómii) bol prijatý na resuscitačné oddelenie v ťažkom SIRS/sepse. Bol v kardiogénnom/septickom šoku, na umelej pľúcnej ventilácii, mal známky pooperačného krvácania. Vyšetřili sme krv na štandardné koagulačné testy (INR, APTT) a TEG (Haemoscope, IL, USA). Vzorky krvi boli získané z arteriálneho katétru po znehodnotení dostatočného objemu krvi, aby bol eliminovaný vplyv heparínového preplachu na TEG. V prvom kroku vyšetřenia TEG boli použité natívne kyvetky (bez heparinázy) a citrát-kaolínová metóda. V druhom kroku bola použitá rovnaká metóda a kyvetky s heparinázou. V treťom kroku sme pridali do natívnej kyvetky protamínsulfát.

Výsledky: V prvom kroku sme zistili hypokoagulačný stav s predĺžením parametru R. To svedčí buď o nedostatku koagulačných faktorov alebo o prítomnosti endogénnych heparinoidov. Endogénne heparinoidy možno nájsť veľmi často u pacientov so SIRS/sepsou a môžu ovplyvniť výsledky TEG. V druhom kroku sme pomocou heparinázy zistili normálne R, čím bola eliminovaná možnosť nedostatku koagulačných faktorov. V treťom kroku sme sa rozhodli použiť protamínsulfát k neutralizácii tohto fenoménu. Po pridaní 20 jednotiek protamínu do kyvetky sme na monitore zaznamenali rovnú čiaru. To je v súlade so skutočnosťou, že predávkovanie môže spôsobiť hypokoagulačný stav. Naopak, po pridaní 0,5 jednotky protamínu bola zaznamenaná takmer normálna krivka, tzn. že došlo k neutralizácii hypokoagulačného fenoménu spôsobeného prítomnosťou endogénnych heparinoidov.

Záver: Na základe našich zistení sme dospeli k záveru, že v prípade krvácajúceho pacienta, ktorý nereaguje na bežnú liečbu a u ktorého je podozrenie, že krvácanie je spôsobené prítomnosťou endogénnych heparinoidov, je možné uvažovať o liečebnom použití protamínsulfátu. Požitie protamínu k neutralizácii endogénnych heparinoidov bolo v minulosti úspešne použité pri transplantácii pečene u detí.

P26. ASOCIACE MEZI PŘÍZNAKY CHRONICKÉHO ŽILNÍHO ONEMOCNĚNÍ DOLNÍCH KONČETIN A KARDIOVASKULÁRNÍMI RIZIKOVÝMI FAKTORY U ŽEN STŘEDNÍHO VĚKU

Auzký O.¹, Lánská V.², Piřha J.¹, Roztočil K.¹

¹Centrum výzkumu chorob srdce a cév, Praha, ²Oddělení lékařské statistiky, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Školitel: MUDr. Jan Piřha, CSc.

Úvod: Zda existuje asociace mezi onemocněním žil a aterosklerózou je předmětem výzkumu.

Cíl: Cílem práce bylo získat údaje o vztahu mezi příznaky chronického žilního onemocnění (CHŽO) a kardiovaskulárními rizikovými faktory včetně preklinické aterosklerózy u žen středního věku.

Materiál a metody: Ženy z obecné populace ve věku 45-54 let (n = 902) vyplňovaly standardizovaný dotazník týkající se příznaků chronické žilní insuficience dolních končetin. Současně byly získávány údaje o kardiovaskulárních rizikových faktorech včetně tlakového indexu kotník – paže (ABI) a tloušťky tepenné vrstvy intimy – média karotických tepen hodnocené ultrazvukem. Byly hodnoceny rozdíly ve výskytu kardiovaskulárních rizikových faktorů mezi skupinou žen s příznaky CHŽO a skupinou žen bez příznaků CHŽO.

Výsledky: Příznaky CHŽO (křeče, bolesti, otok a poruchy spánku) dolních končetin se vyskytly u 606 (67,2 %) žen, z toho 114 (12,6 %) žen uvádělo závažnou intenzitu příznaků CHŽO způsobující omezení ve výkonu každodenních aktivit. U žen s příznaky CHŽO byla častěji zjištěna snížená hodnota ABI < 0,91 (p = 0,005 pro jakékoliv příznaky, p = 0,029 pro závažné příznaky). U žen s příznaky jakékoliv intenzity a u žen se závažnými příznaky byla oproti ženám bez příznaků zjištěna vyšší prevalence ischemické choroby srdeční, vyšší index tělesné hmotnosti, větší obvod pasu, vyšší sérové triglyceridy, vyšší sérový C-reaktivní protein a nižší sérový HDL-cholesterol.

Závěr: Příznaky CHŽO byly významně asociovány se sníženou hodnotou ABI a řadou ovlivnitelných kardiovaskulárních rizikových faktorů. Výskyt CHŽO může být provázen zvýšeným rizikem aterosklerózy.

Podpora projektu: Práce byla podpořena grantem ministerstva zdravotnictví České republiky č. NR/9396-3/2007.

P27. INHIBICE SOLUBILNÍ EPOXID HYDROLÁZY ZMÍRŇUJE ROZVOJ HYPERTENZE A ZLEPŠUJE RENÁLNÍ HEMODYNAMIKU U CYP1A1-REN-2 TRANSGENNÍCH POTKANŮ

Honetschlägerová Z.^{1,2}, Sporková A.^{1,2}, Kopkan L.^{1,2}, Husková Z.^{1,2}, Červenka L.^{1,3}

¹Oddělení experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, ²Centrum výzkumu chorob srdce a cév, Praha, ³Ústav fyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Luděk Červenka, CSc. MBA

Úvod: Kyselina arachidonová je metabolizována skupinou enzymů cytochromu P450 na epoxyeikosatrienové kyseliny (EETs), které jsou dále hydrolyzovány enzymem solubilní epoxid hydrolázou (sEH) na biologicky méně aktivní dihydroxyeikosatrienové kyseliny (DHETs). EETs se významně podílí na kontrole krevního tlaku tím, že ovlivňují vaskulární tonus a renální transportní mechanismy. Dosavadní studie potvrzují, že inhibitor sEH snižuje krevní tlak zvýšením biologické dostupnosti EETs u mnoha modelů hypertenze.

Cíl: Cílem této studie bylo ověřit účinky nového inhibitoru solubilní epoxid hydrolázy (c-AUCB) na krevní tlak a renální autoregulaci během rozvoje maligní hypertenze u Cyp1a1-Ren-2 transgenních potkanů po indukci myššího reninového genu.

Materiál a metody: ANG II-dependentní forma hypertenze u inbredního kmene transgenních potkanů [TGR(Cyp1a1Ren-2)] byla navozena podáním diety (11dní) obsahující přírodní xenobiotikum indole-3-carbinol (I3C, 0.3%). c-AUCB, cis-4-[4-(3-Adamantan-1-yl-ureido)-cyclohexyl-oxy]-benzoic acid, byl podáván potkanům v pitné vodě (26 mg/l) 48hod před podáním I3C a v průběhu hypertenze. Poté byli potkani anestetizováni (thiopental, 60 mg/l) i.p.) a připraveni na renální funkční studie k ověření účinnosti renální autoregulace na postupné snižování perfuzního tlaku pomocí aortální svorky.

Výsledky: Indukce myššího reninového genu u transgenních potkanů vedla k prudkému rozvoji hypertenze (185 ± 3 vs. 127 ± 2 mmHg, $p < 0.001$) ve srovnání s neindukovanými zvířaty, se kterou byl úzce spjat pokles celkového průtoku krve ledvinou (6.3 ± 0.4 vs. 8.5 ± 0.4 ml/min/g, $p < 0.01$) a porušení schopnosti renální autoregulace a tlakově-natriuretického mechanismu. Podání c-AUCB vedlo u indukovaných transgenních potkanů k významnému zmírnění hypertenze (158 ± 4 mmHg) a normalizaci průtoku krve ledvinou (8.6 ± 0.6 ml/min/g). Navíc u těchto zvířat došlo ke zlepšení autoregulační schopnosti ledvin a k posunu tlakově-natriuretické křivky.

Závěr: Tato studie ukazuje, že dlouhodobá léčba inhibitorem solubilní epoxid hydrolázy c-AUCB významně zmírňuje rozvoj ANG II-dependentní formy hypertenze a zlepšuje schopnost renální autoregulace u indukovaných Cyp-1a1-Ren-2 transgenních potkanů a tudíž by se mohla stát novým přístupem léčby esenciální hypertenze u lidí.

P28. MATRIXOVÉ METALOPROTEINÁZY A HOJENÍ PO OPERACI ROZŠTĚPU RTU

Bláha K.¹, Borský J.², Kotaška K.¹, Průša R.¹, Štekláčová A.¹, Otoupalová E.¹, Pechová M.¹, Matějová R.¹, a Dostálová T.³

¹Ústav klinické biochemie a patobiochemie, Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Praha; ²Klinika plastické chirurgie, FN Královské Vinohrady, Praha; ³Dětská stomatologická klinika, Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Praha

Školitel: Ing. Karel Kotaška, Ph.D.

Úvod: Matrixové metaloproteinázy (MMP) jsou endopeptidázy podílející se na degradaci extracelulární matrix a hrají významnou roli ve fázi remodelace při hojení tkáně.

Cíl: Cílem studie bylo porovnat koncentrace matrixových metaloproteináz ve vzorcích tkáně odstraněných při operaci rozštěpu rtu.

Materiál a metody: MMP byly stanoveny u 30 vzorků (16 chlapců a 14 dívek). 17 dětí bylo operováno během sedmi dnů po narození (skupina A, vyznačující se hojením rány s méně nápadnými jizvami) a 13 dětí operovaných dle klasického protokolu ve 2–4 měsíci (skupina B). Vzorky tkáně byly extrahovány v kakodylátovém pufru po dobu 24 hodin. V extraktech byly stanoveny koncentrace celkové bílkoviny Lowryho metodou a změřeny koncentrace matrixových metaloproteináz MMP-1 a MMP-3 metodou ELISA (GE Healthcare). Koncentrace matrixových metaloproteináz byly vztaženy na koncentraci celkové bílkoviny ve vzorcích. Ke statistickému zpracování výsledků byl použit neparametrický-nepárový t-test na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky: Výsledky jsou uvedeny jako průměr \pm směrodatná odchylka. MMP-1: skupina A $0,017 \pm 0,023$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny, skupina B $0,028 \pm 0,026$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny. MMP-3: skupina A $0,200 \pm 0,142$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny, skupina B $0,155 \pm 0,093$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny.

Závěr: Nebyly pozorovány signifikantní rozdíly v koncentracích MMP-1 ($p=0,42$) a MMP-3 ($p=0,49$) vzhledem k časnosti operace. Nepodařilo se tedy prokázat, že by koncentrace matrixových metaloproteináz MMP-1 a MMP-3 měly vliv na hojení tkáně méně nápadnou jizvou.

Podpora projektu: Práce vznikla za podpory grantu IGA MZČR č. 10012-4.

P29. VZTAH FIBRINOGENU A RIZIKOVÝCH FAKTORŮ ATEROSKLERÓZY U MUŽŮ A ŽEN

Pagáčová L., Lánská V., Škodová Z., Kovář J., Piřha J.
IKEM Praha

Školitel: MUDr. Jan Piřha, CSc.

Úvod: Vliv hemostázy na vznik kardiovaskulárních onemocnění není doposud zcela jasný. Především fibrinogen je jedním z nejintenzivněji sledovaných parametrů v této oblasti. Zatím nebylo popsáno, jestli tento faktor může hrát odlišnou roli u mužů a žen.

Cíl: Cílem naší práce bylo určit vztah hladiny fibrinogenu k rizikovým faktorům aterosklerózy v závislosti na pohlaví.

Materiál a metody: Byla statisticky analyzována data z reprezentativního vzorku populace: 152 žen a 134 mužů z okresu Benešov. Průměrný věk obou skupin byl shodný: 53,3 let. Byly sledovány tyto parametry: kouření, věk, váha, pas, boky, systolický a diastolický tlak, glykémie, hladiny inzulínu a glykovaného hemoglobinu, cholesterol, triglyceridy, HDL a LDL cholesterol, apolipoprotein B (Apo B), obsah cholesterolu v remnantních lipoproteinech (RLP-C), obsah triglyceridů v remnantních lipoproteinech (RLP-TG) a průměr intima-media (CIMT). Ke statistickému vyhodnocení byla použita metoda vícerozměrné lineární regrese, v porovnávání skupin metoda směrnice (slopes).

Výsledky: Byla zjištěna statisticky vyšší hladina fibrinogenu u žen (3,56 g/l, SD 1,10) než u mužů (3,12 g/l, SD 0,94); $p < 0.001$. Hladina fibrinogenu nekorelovala s kouřením ani u mužů, ani u žen. U žen, na rozdíl od mužů, fibrinogen významně pozitivně koreloval s většinou dalších kardiovaskulárních rizikových faktorů. Statisticky významně se vztah fibrinogenu a ostatních rizikových faktorů lišil mezi muži a ženami v případě váhy, boků, Apo B a RLP-TG.

Závěr: Podle našich výsledků vyplývajících z této observační studie se domníváme, že fibrinogen může mít při vzniku kardiovaskulárních onemocnění u žen odlišnou úlohu než u mužů. Tímto vztahem se dále zabýváme.

Podpora projektu: Tento projekt byl podpořen grantem č. NR/9396-3/2007

P30. POLYDENDROCYTES DIFFERENTIATE INTO ASTROCYTES AND NEURONS AFTER FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA IN THE MOUSE CORTEX

Honsa P.^{1,2}, Pivonkova H.^{1,2}, Anderova M.^{1,2}

¹Laboratory of Neurobiology, Institute of Experimental Medicine AS CR, v. v. i.;

²2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Supervisor: Miroslava Anderova

Introduction: Polydendrocytes (also known as NG2 glial cells) were the last type of glial cell to be discovered in the adult mammalian central nervous system (CNS). They can be characterized by the expression of NG2 proteoglycan and are uniformly distributed throughout the grey and white matter. It is well known that these cells differentiate into oligodendrocytes *in vivo* and have often been equated with oligodendrocyte precursor cells; furthermore, some recent studies have described their differentiation into ventral protoplasmic astrocytes.

Aims: We aimed to characterize the full differentiation potential of polydendrocytes in the uninjured and injured CNS using a genetic fate mapping technique.

Materials and Methods: To follow the differentiation fate of polydendrocytes after CNS injury, we used transgenic mice (B6; FVB-Tg(Cspg4-cre)1Akik/J) in which Cre recombinase is expressed under the NG2 promoter. After breeding with reporter mice (Tg(CAG-Bgeo/GFP)21Lbe/J), NG2-positive cells express green fluorescent protein (GFP) and remain GFP-positive (GFP+) during their subsequent differentiation as well. We used permanent middle cerebral artery occlusion (MCAO), a commonly used model of focal cerebral ischemia, and followed the fate of GFP+ cells using immunohistochemistry and the patch clamp method.

Results: In the non-injured somatosensory cortex GFP+ cells expressed NG2 proteoglycan together with platelet-derived growth factor α receptor. We did not detect any GFP+ neurons, and in contrast to previous studies, no glial acidic fibrillary protein (GFAP)-positive astrocytes were found in this region. Seven days after injury, the number of GFP+ cells in the gliotic tissue dramatically increased when compared to non-injured cortex; these GFP+ cells co-expressed the astrocytic markers GFAP and Vimentin. Moreover, starting from this time point some GFP+ cells expressed doublecortin (DCX) – a marker of neuronal precursors. Electrophysiological analysis revealed that GFP+ cells in the non-injured somatosensory cortex display a complex current pattern that is typical for polydendrocytes, while 7 days after MCAO, a large number of GFP+ cells displayed a passive current pattern resembling that of astrocytes.

Conclusions: Taken together, our data indicate that polydendrocytes in the somatosensory cortex are activated after MCAO and give rise mainly to an astrocytic population that contributes to the formation of a glial scar and furthermore to a smaller population of neuronal precursors.

Support: GACR 309/08/H079, GACR 490/396

P31. PROTILÁTKOVÉ ARRAYS A PROTEINOVÝ PROFIL DĚTSKÝCH AKUTNÍCH LEUKEMIÍ

Kanderová V.¹, Stuchlý J.¹, Černá D.¹, Fišer K.¹, Hrušák O.¹, Wu W.², Holm A.²,
Lund-Johansen F.², Kalina T.¹

¹Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, CLIP - Cytometrie, Praha, ČR; ²Dept of Immunology, Rikshospitalet Medical Center and the University of Oslo, Norway

Školitel: MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.

Úvod: Funkční jednotkou buňky jsou proteiny. Představují důležité molekulární znaky a cíle pro terapeutika. Analýza proteomu (široké škály buněčných proteinů) může přinést důležitější informace o buněčném chování a účincích léčby než expresní profilování transkriptomu (mRNA). Mapování širokého spektra buněčných proteinů primárních leukemických vzorků a pochopení efektu cílených terapeutik však vyžaduje novou technologii a nové analytické přístupy.

Cíl: Vytváříme a testujeme protilátkové arrays, pomocí kterých sledujeme změny v expresi a posttranslačních modifikacích buněčných proteinů, které mohou asociovat s klinickými charakteristikami či s účinností léčby dětské akutní leukemie.

Materiál a metody: Buněčné proteiny označíme biotinem a rozdělíme pomocí chromatografie na 24 velikostních frakcí. Tyto frakce smícháme se suspenzí kuliček, která obsahuje až 1700 protilátek proti různým buněčným proteinům, a kuličky s navázaným komplexem protilátka-detekovaný protein změříme na 6-ti barevném průtokovém cytometru. Tento nový koncept má oproti jiným protilátkovým arrays několik výhod:

- 1) Vysoká úroveň multiplexe díky barevnému kódování kuliček (až 1728 cílů)
- 2) Informace o velikosti proteinu a protein-protein interakcích
- 3) Flexibilita při tvorbě array a výběru protilátek (př. fosfo-specifických protilátek)
- 4) Semi-automatizovaný algoritmus umožňující analýzu 96 vzorků v průběhu několika minut s následnou možností hierarchického klastrování dat.

Získaná data nám poskytují komplexní informaci o expresi proteinů, jejich subcelulární lokalizaci, posttranslačních modifikacích a protein-protein interakcích [Wu et al., Mol Cell Proteomics, 2008].

Výsledky: Vytvořili jsme protilátkovou array, kterou jsme schopni odlišit B-buněčné a T-buněčné akutní lymfoblastické leukemie (B-ALL, T-ALL), akutní myeloidní leukemie (AML) a chronické myeloidní leukemie (CML) podle klasických imunofenotypových kriterií. Tuto array jsme otestovali na dobře definovaných ALL and AML buněčných liniích (n=12) a primárních diagnostických vzorcích (n=30). Dále jsme otestovali potenciálně prognostické znaky (např. IKZF1, OPAL1) vybrané z dostupných DNA-expressních profilů a změny proteinového profilu v BCR/ABL+ buněčných liniích po inhibici BCR-ABL fúzního proteinu imatinib mesylátem.

Závěr: Sledování širokého proteinového profilu otevírá nové možnosti k lepšímu pochopení biologie dětských leukemií.

Podpora projektu: Norway Grants and EEA Grants (#A/CZ0046/2/0008), IGA (#NS/10473-3), NPV2B06064 a #VZ MSMT 0021620813.

P32. VAZBA CA²⁺-KALMODULINU NA C-KONCOVÉ DOMÉNY IONTOVÝCH KANÁLŮ TRPV2 A TRPV5

Holakovská B., Gryčová L. a Teisinger J.
Fyziologický ústav, Akademie věd ČR

Školitel: Ing. Jan Teisinger, CSc.

Úvod: Iontové kanály TRPV2 a TRPV5 patří do rodiny vaniloidních TRP kanálů (transient receptor potential). Tyto kanály jsou exprimovány ve všech eukaryotických buňkách a podílejí se na řadě buněčných procesů jako například převod smyslových signálů nebo regulace homeostázi vápenatých a hořečnatých iontů.

TRPV2 patří mezi tzv. termo TRP kanály a zřejmě se podílí na vnímání pocitů horka. TRPV5 je zcela odlišným členem podrodiny TRPV kanálů a od zbytku podrodiny liší svými vlastnostmi. Je přísně Ca²⁺ selektivní a podílí se na absorpci/reabsorpci Ca²⁺ v ledvinách. Je známo, že TRP kanály jsou regulovány pomocí kalmodulinu, a že tato regulace je závislá na přítomnosti vápenatých iontů. Kalmodulin se váže na intracelulární N- a C- konec těchto iontových kanálů a ovlivňuje tak jejich aktivitu.

Cíl: Cílem našeho projektu bylo pomocí molekulárně-biologických a biofyzikálních metod zjistit a charakterizovat přítomnost kalmodulin vázajících domén na C- koncích lidských iontových kanálů TRPV2 a TRPV5.

Materiál a metody: Fluorescenčně značené konstrukty odpovídající kalmodulin vazebným doménám na TRPV2 a TRPV5 byly syntetizovány ve firmě Genscript, USA jako 30 aminokyselinové peptidy. Rekombinantní kalmodulin byl produkován v buňkách E. coli BL21 a purifikován pomocí hydrofóbní a gelové chromatografie.

Pomocí měření stacionární anisotropie fluorescence byla stanovena vazebná afinita kalmodulinu k vazebným doménám na TRPV2 a TRPV5 a byl určen vliv mutací bazických aminokyselin v rámci těchto domén na vazbu.

Měření spekter cirkulárního dichroismu byly sledovány změny v sekundární struktuře proteinů během vazby.

Byly vytvořeny počítačové homologní modely TRPV2 a TRPV5 v komplexu s kalmodulinem.

Výsledek: V rámci tohoto projektu se podařilo lokalizovat kalmodulin vázající domény na C-koncích lidského TRPV2 v oblasti 654-683 a TRPV5 v oblasti 587-616. Obě domény odpovídají konzervovaným kalmodulin vazebným motivům 1-5-10. Zajímavé je, že hydrofóbní aminokyselinový zbytek v pozici 5 v tomto motivu je u TRPV2 nahrazen lysinem. Mutace bazických reziduí v obou vazebných doménách vedly ke snížení nebo i k úplné ztrátě vazebné afinity vůči kalmodulinu.

Závěr: Vůbec poprvé se podařilo zjistit přítomnost kalmodulin vázajících domény na intracelulárním konci TRPV2. Mutace bazických reziduí ve vazebných doménách na TRPV2 a TRPV5 mají zásadní vliv na vazbu kalmodulinu na tyto domény.

Podpora projektu: Tento projekt byl podporován granty GAAV IAA600110701, GAČR 301/10/1159, GAČR P205/10/P308, Centrum neurověd č. LC554 MŠMT a GAČR 305/08/H037.

P33. AN ADP-RIBOSYLTRANSFERASE 3 (ART3) POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH REDUCED SPERM COUNT IN CZECH MEN

Norambuena P., Krenkova P., Stambergova A., Macek M Sr. and Macek M Jr.
Department of Biology and Medical Genetics, Charles University 2nd Medical School and
University Hospital Motol, Praha, Czech Republic.

Supervisor: Prof. MUDr. Milan Macek jr., DrSc.

Introduction: Infertility affects 10 – 15% of couples trying to conceive in Western countries and in about 50 % of male infertility cases the original cause has not yet been identified. Therefore, there have been many attempts to identify genetic factors associated with male infertility. A previous report made in Japanese population proposed that the rs6836703: G>A single-nucleotide polymorphism (SNP) of the ADP-ribosyltransferase 3 (ART3) gene is related to non-obstructive azoospermia (NOA) with very high significance.

Aims: The aim of this study is to elucidate if there is an association between the rs6836703: G>A SNP from ART3 and impaired spermatogenesis in Czech male population.

Materials and Methods: We genotyped DNA samples of 275 fertile individuals of proven paternity and 98 sub-/infertile men for the rs6836703: G>A polymorphism by High Resolution Melting (HRM) of small amplicons. Association studies of differences in allele and genotype frequencies were analyzed by odds ratio (OR) and chi-square test (χ^2) where p-values ≤ 0.05 were considered statistically significant.

Results: Significant differences in allele distribution between both Czech population groups (fertile versus sub-/infertile) were found (OR = 1.78, 95% CI: 1.17 -2.70; P = 0.007). After sub-stratification of sub-/infertile patients cohort, we found that the difference in allele frequency was higher for the oligozoospermic group with sperm counts ≥ 5 and < 15 million sperm / mL (OR = 2.10, 95% CI: 1.26 - 3.50; P = 0.004). Additionally, a difference in genotype distribution was found between fertile and sub-/infertile men (P = 0.008), and between fertile and oligozoospermic men (P = 0.011).

Conclusions: This study was the first replication effort to evaluate in a different population the implication of rs6836703: G>A in male infertility. We found that the rs6836703: G>A SNP of ART3 might be a genetic risk factor for oligozoospermia in Czech male population.

Support: This study was supported by VZFNM 64203 and NR9448-3/2007 grants.

P34. HYALURONIC ACID DECREASES UVB-INDUCED CHANGES IN CORNEAL HYDRATION EQUIVALENT TO 5 HRS OF UVB RADIATION REACHING THE HUMAN CORNEA FROM SUNLIGHT

Čejka Č.^{1,3,4}, Ardan T.¹, Širc J.², Michálek J.², Brůnová B.³ and Rosina J.⁴

¹Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic; ²Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, ³Eye Clinic for Children and Adults, ^{2nd} Faculty of Medicine, ⁴Department of Medical Biophysics and Informatics, ^{3rd} Faculty of Medicine, Prague

Supervisor: Prof. MUDr J. Rosina, Ph.D.; Prof. MUDr. B. Brůnová, DrSc.

Introduction: Hyaluronic acid is a glycosaminoglycan used in eye drops in clinical medicine to promote healing of various corneal defects. Recently, it has been described in human corneal epithelial cell lines that hyaluronic acid decreases cell damage evoked by UVB irradiation by reduction of apoptosis and inflammation.

Aims: Photokeratitis is the intracorneal inflammation caused by solar UVB radiation. It is accompanied by increased corneal hydration and decreased corneal transparency, both increasing the light absorption in the cornea. The aim of the present study was to examine in rabbits whether hyaluronic acid is able to inhibit the above mentioned UVB-induced changes in corneal optics.

Materials and Methods: Rabbit corneas were irradiated with a daily UVB dose of 0.5 J/cm² for four days. During the irradiation procedures in the first group of animals hyaluronic acid was dropped on the right eye and in the second group of rabbits buffered saline was applied on the right eye. One day after the irradiation procedures (on day five) the rabbits were sacrificed and corneal light absorption (resp. light transmission) examined by our spectrophotometrical method developed previously. Every experimental day corneal hydration was measured as central corneal thickness by an ultrasonic Pachymeter before the irradiation and the last experimental day before sacrificing the animals. The normal corneas served as controls.

Results: After buffered saline treatment during UVB irradiation, the corneal hydration gradually increased along with the increase in UVB dose. Hyaluronic acid application during UVB irradiation inhibited the increase in corneal hydration (compared to buffered saline treatment) after the first irradiation. In later time intervals of UVB irradiation there were no differences between hyaluronic acid and buffered saline treatment in the increase in corneal hydration as well as changes in corneal optics.

Conclusions: Hyaluronic acid in eye drops significantly suppressed changes of corneal hydration after single irradiation of the rabbit cornea with a dose of 0.5 J/cm² equivalent to 5 hrs exposure of UVB radiation reaching the human cornea from sunlight.

P35. ANOPHTHALMIA, PITUITARY HYPOPLASIA AND CRANIOFACIAL ABNORMALITIES AS A CONSEQUENCE OF INTERSTITIAL DELETION 14(Q22.2Q23.2) – A CASE REPORT

Zmitkova Z., Simandlova M., Drabova J., Hancarova M., Novotna D., Sedlacek Z.
Department of Biology and Medical Genetics, Charles University 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol

Supervisor: Prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

Introduction: Interstitial deletions of the long arm of chromosome 14 are extremely rare and only few cases with deletions of 14q22 → q23 have been described so far.

Aims: We report a 21-month-old girl with psychomotor retardation, bilateral anophthalmia and absence of the optic nerves, chiasm and tracts, as well as pituitary gland hypoplasia and ear anomalies (large dysplastic low set ears) but no deafness. She also presented with microcephaly, high prominent forehead with high frontal hairline, deep set small orbits, wide nasal bridge, hypoplastic alae nasi, downturned corners of the mouth, microretrognathia and clinodactyly of the fifth finger on both hands. No cardiac, spinal or abdominal malformations were found.

Materials and Methods: Karyotyping performed at the age of 8 months showed a normal result. Array CGH analysis revealed a ~7.5 Mb long de novo interstitial deletion of the long arm of chromosome 14, del(14)(q22.2q23.2). The finding was confirmed using FISH.

Results: The deleted region included the OTX2, RTN1, SIX6, SIX1 and SIX4 genes known to be involved in embryonic eye, pituitary and craniofacial development. Surprisingly, the analysis suggested the BMP4 gene coding a growth factor playing a role in pituitary and eye development was not deleted in our patient, in contrast to other cases described in literature.

Conclusions: Our case confirms that the region 14q22 is essential for normal eye and pituitary development.

Support: Supported by CHERISH (EC FP7 223692) and MZOFNM2005.

P36. NOVOROZENECKÝ SCREENING CYSTICKÉ FIBRÓZY V ČECHÁCH – SROVNÁNÍ PROTOKOLŮ IRT/DNA/IRT A IRT/PAP/PT+DNA

Krulišová V.¹, Balaščaková M.¹, Skalická V.², Piskáčková T.¹, Holubová A.¹, Štambergová A.¹, Dvořáková L.¹, Křenková P.¹, Zemková D.², Kračmar P.³, Vávrová V.², Macek M. Jr.¹, Votava F.³
¹Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FNM, Praha; ²Pediatrická klinika 2. LF UK a FNM, Praha; ³Pediatrická klinika 3.LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Milan Macek Jr., DrSc.

Úvod: Cystická fibróza (CF) je závažné autozomálně recesivní onemocnění s prevalencí v ČR 1:2736, které postihuje zejména dýchací a trávicí ústrojí, ale i mnoho dalších orgánů. Je způsobeno mutací v genu CFTR, který řídí činnost chloridového kanálu v membráně buněk. Dlouhodobé studie opakovaně prokázaly lepší stav plic a růstu, ale i sníženou morbiditu u nemocných, u kterých se diagnóza stanoví před manifestací klinických příznaků ve srovnání s nemocnými diagnostikovanými na základě klinických projevů a poukazují tak na důležitost fungujícího novorozeneckého screeningu CF.

Cíl: Cílem tohoto projektu bylo porovnání efektivity současného celoplošného protokolu IRT/DNA/IRT s paralelně probíhajícím IRT/PAP/PT+DNA protokolem. (IRT – imunoreaktivní trypsinogen, PAP – pancreatitis-associated protein, PT – potní test)

Materiál a metody: V rámci celoplošného protokolu IRT/DNA/IRT bylo od října 2009 do prosince 2010 vyšetřeno 104 455 novorozenců. Z toho u 965 (0,92%) novorozenců byl tento screening hodnocen jako pozitivní (hodnoty IRT vyšší než 65ng/ml, 99. percentil). Pomocí IRT/PAP/PT+DNA protokolu, který byl zkoušen v době od srpna 2009 do prosince 2010, bylo testováno 115 540 novorozenců, mezi nimiž 257 (0,22%) dětí mělo screening označený za pozitivní (hodnoty IRT v rozmezí 50.0 - 100.0 a současně PAP \geq 1.8 nebo IRT \geq 100.0 a současně PAP \geq 1.0, vše v ng/ml). K molekulárně genetickému vyšetření byly použity kity Elucigene CF-EU1Tm resp. CF-EU2Tm od firmy Tepnel, které detekují 32 resp. 50 nejčastějších mutací v genu CFTR (populační specifická pro ČR 91% resp. 92,8%).

Výsledek: IRT/DNA/IRT protokol odhalil 16 dětí s CF, 2 děti s CF zachyceny nebyly. Tyto 2 případy falešné negativity byly odhaleny pomocí IRT/PAP/PT+DNA protokolu. IRT/PAP/PT+DNA schéma odhalilo celkem 15 dětí s CF, 5 dětí s CF tímto protokolem zjištěno nebylo, ale byly identifikovány díky IRT/DNA/IRT.

Závěr: Naše dosavadní výsledky prokazují, že IRT/DNA/IRT protokol je úspěšnější v zachytu novorozenců s CF než protokol IRT/PAP/PT+DNA.

Podpora projektu: Podpořeno IGA MZ 2008 9986-3

P37. DVĚ RODINY S FAMILIÁRNÍM VÝSKYTEM DIABETU MELLITU A NOVOU MUTACÍ H241Q V GENU NEUROD1

Gonsorčíková L.¹, Průhová Š.¹, Cinek O.¹, Ek J.², Pelikánová T.³, Jørgensen T.⁴, Eiberg H.⁵, Pedersen O.², Hansen T.² a Lebl J.¹

¹Pediatrická klinika, UK 2. LF a FN Motol; ²Steno Diabetes Center and Hagedorn Research Institute, Gentofte, Denmark; ³Centrum diabetologie, IKEM; ⁴Research Centre for Prevention and Health, Glostrup University Hospital, Glostrup, Denmark; ⁵Department of Cellular and Molecular Medicine, University of Copenhagen, Denmark

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Úvod: Maturity-onset diabetes of the young (MODY) je monogenní forma diabetu mellitu charakterizovaná autozomálně-dominantní dědičností a nástupem v mladém věku. Dosud bylo popsáno 11 typů MODY označených podle genů, jejichž produkty mají vliv na správnou funkci beta buňky.

Cíl: Cílem studie bylo vyšetření přítomnosti mutací v genech NEUROD1 (MODY 6) a IPF-1 (MODY 4) u pacientů s klinickou diagnózou diabetu MODY, u kterých nebyla nalezena mutace v genech HNF-4A(MODY1, GCK(MODY2)a TCF(MODY3).

Materiál a metody: U 30 nepříbuzných českých probandů byly vyšetřeny všechny exony, promotory a exon/intronové přechody v genech NEUROD1 a IPF-1 pomocí dHPLC a přímého sekvenování.

Výsledek: Zatímco v genu IPF-1 nebyla mutace nalezena, v genu NEUROD1 jsme identifikovali novou variantu H241Q u dvou probandů ze dvou nepříbuzných rodin. U obou z nich mutace vedla ke vzniku špatně kompenzovatelného diabetu s časným nástupem (ve 20 resp. ve 30 letech), s rozvojem četných diabetických komplikací. Oba tito pacienti byli zároveň obézní s BMI přes 34 kg/m².

Závěr: Popsali jsme dosud nepublikovanou variantu genu NEUROD1-H241Q, která se vyskytovala v rodinách s familiárním výskytem diabetu mellitu. Tato mutace vedla u nositelů k rozvoji onemocnění, zejména v kombinaci s výraznou obezitou.

Podpora projektu: GAUK 7544/2007

P38. LYMFOPROLIFERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ MLÉČNÉ ŽLÁZY V BIOPTICKÉ PRAXI

Kamarádová K.¹, Veselá E.¹, Steyerová P.², Campr V.¹, Axmannová E.¹, Kodet R.¹
¹Ústav patologie a molekulární medicíny; ²Radiodiagnostická klinika VFN a 1. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Úvod: Lymfoproliferativní onemocnění prsu jsou relativně vzácná a zahrnují nádorové i nenádorové léze. Nenádorová onemocnění resp. benigní lymfoidní hyperplázie (pseudolymfomy) mohou postihovat jak povrchovou kožní lokalizaci tak samotné žlazové těleso. Nádorové lymfoproliferace představují primární nebo sekundární postižení žlázy lymfomem.

Cíl: Z širokého spektra lymfoproliferativních onemocnění jsme se zaměřili na výskyt primárních lymfomů prsu v bioptické praxi našeho ústavu.
Materiál a metody: V období 1/2004–2/2010 jsme zaznamenali celkem 15 případů primárního lymfomu prsu z celkového počtu 3348 vyšetření mléčné žlázy za toto období.

Výsledky: Nejčastěji spadají lymfomy prsu do kategorie B-non-Hodgkinských lymfomů (B-NHL). V našem souboru jsme zachytili 10 případů difúzního velkobuněčného lymfomu (DLBCL), 4 extranodální lymfomy z buněk marginální zóny (MALT) a jeden případ Burkittova lymfomu (BL).

Závěr: Primární lymfomy prsu jsou vzácné a představují 0,5–1% všech lymfomů a 0,1–1% všech maligních nádorů prsu. U lymfomů jako je folikulární lymfom (FL) a DLBCL je prokázána horší prognóza při primární lokalizaci v prsu než při uzlinové lokalizaci. Ve skupině DLBCL je pak častěji prokázán agresivnější průběh. V léčbě se využívá častěji kombinace chemo-radioterapie a ukazuje se, že použití biologické léčby (rituximab) nezlepšuje prognózu pacientů.

Podpora projektu: VZ FNM 0064203

P39. DIABETES V TĚHOTENSTVÍ SE ZAMĚŘENÍM NA DIABETES 1.TYPU – JAK SE VZÁJEMNĚ OVLIVŇUJÍ MATKA A JEJÍ DÍTĚ?

Ulmannová T.¹, Norková J.², Bartášková D.³, Špálová I.⁴, Včeláková J.¹, Štechová K.¹

¹Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole; ²PřF UK; ³Interní klinika 2. LF UK a FN v Motole; ⁴Gynekologicko–porodnická klinika 2. LF UK a FN v Motole

Školitel: Doc. MUDr. Kateřina Štechová Ph.D.

Úvod: Diabetes matky významně ovlivňuje vývoj jejího dítěte, nezanedbatelný je však i vliv těhotenství na kompenzaci a komplikace diabetu matky. Zvyšující se incidence diabetu v dětství navýší v budoucnu jistě i počty matek léčených pro diabetes a akcentuje tak nejen potřebu nových poznatků v péči o zdravé matky, ale i nutnost maximální možné úrovně poznání o vlivu tohoto onemocnění na jejich děti.

Cíl: Cílem našeho projektu je analyzovat působení diabetu matky na její dítě a to se zaměřením na imunitní regulaci. Z rozsáhlého spektra buněčných pochodů ovlivňujících imunitní regulaci jsme si vzhledem k jejich významu vybrali T regulační buňky (Tregs). Plánujeme korelovat jejich počet s klinickými parametry. V tomto ohledu existuje velmi málo literárních údajů.

Materiál a metody: Pro náš projekt sbíráme anamnestická, klinická a laboratorní data. T. č. je po stránce klinické a anamnestické zpracováno 37 těhotenství matek s T1D (diabetes 1.typu). Pomocí průtokové cytometrie dále stanovujeme zastoupení Tregs (definovaných jako CD4+CD25+CD127low) ve vzorcích pupečnickové krve diabetických matek a také kontrolních zdravých matek. T.č. máme na průtokovém cytometru analyzováno 36 kontrolních vzorků pupečnickové krve zdravých matek, 9 pupečnickových krví matek s gestačním diabetem a 7 matek s T1D. Pro komplexní statistickou analýzu včetně detailní korelační analýzy byl využit program SPSS 16.0.

Výsledky: V naší skupině matek s T1D bylo zastoupení chronických komplikací následující: retinopatie 32%, nefropatie 27%, neuropatie 6%. Ve 24% případů došlo k progresi nebo manifestaci chronických diabetických komplikací u matky v průběhu těhotenství. Thyreopatie byla v různé míře přítomna u 46% matek. Pozorovali jsme silnou korelaci výsledku těhotenství s hladinou HbA1c v druhém trimestru ($p=0,005$) a s přítomností nefropatie matky ($p=0,007$), která zároveň silně korelovala se systolickým tlakem krve ve druhém trimestru ($p=0,002$). V pilotních datech nevidíme signifikantní rozdíl v zastoupení Tregs v pupečnickové krvi zdravých a diabetických matek, ale je potřeba dále rozšířit skupinu vzorků matek diabetiček.

Závěr: Kompenzace diabetu matky ovlivňuje výsledek jejího těhotenství. Vysoký počet thyreopatií v naší skupině ilustruje nutnost častých kontrol thyreoideálních funkcí těhotných diabetiček.

Vzhledem k zatím nedostatečnému množství změřených pupečnickových krví diabetických matek se zatím nemůžeme vyjádřit k tomu, zda jsou ve studovaných skupinách přítomné rozdíly v zastoupení Tregs.

Podpora projektu: Podpořeno projektem MZOFNM2005

P40. THE SUBCELLULAR DISTRIBUTION OF PRESYNAPTIC GLYCINE RECEPTORS CORRELATES WITH THE OCCURRENCE OF ENDOGENOUS SOURCES OF THEIR AGONISTS

Trojanova J.¹, Kulik A.², Janacek J.³ and Turecek R.¹

¹Department of Auditory Neuroscience, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic; ²Department of Anatomy and Cell Biology, Institute of Anatomy I and Cellular Biology, University of Freiburg, Germany; ³Department of biomathematics, Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic

Supervisor: RNDr. Rostislav Turecek, Ph.D.

Introduction: The glycine receptor (GlyR), a member of the pentameric Cys-loop ion channel receptor family, mediates inhibitory neurotransmission in the spinal cord, brainstem and retina. Functional GlyRs are formed by a combination of five subunits ($\alpha 1$ – $\alpha 4$, β). Individual receptor subtypes show differential regional and developmental distribution in nervous tissues. Previously, we have identified rare $\alpha 1$ homomeric GlyRs at giant glutamatergic nerve terminals called calyces of Held in the rat medial nucleus of the trapezoid body (MNTB). The pharmacological activation of these presynaptic receptors led to a strong enhancement of glutamate release from the calyx. The activation of GlyRs by endogenous agonists has not yet been fully clarified.

Aims: We have hypothesized that presynaptic GlyRs could be activated by glycine spillover from inhibitory fibers. The goals of the study were therefore to determine the spatial relationship between the subcellular distribution of calyceal GlyRs and glycine release zones.

Materials and Methods: The experiments were performed on brainstem slices isolated from adult rats. GlyRs and typical presynaptic proteins were labeled with specific antibodies conjugated with gold particles or horseradish peroxidase. The labeling was examined using high resolution electron microscopy and quantified with Reconstruct and ImageJ. 3D reconstructions of electron microscopy images were obtained with an IRIS Explorer.

Results: We have found that presynaptic $\alpha 1$ containing GlyRs were diffusely localized in the calyceal membrane. The distribution of GlyRs among individual calyceal compartments was not homogenous. The receptors were significantly more concentrated in glutamate release apparatus-packed "swellings" compared to other calyceal parts. In the swellings, GlyRs were preferentially located on the outer, postsynaptic cell non-facing, membrane and tended to accumulate in calyceal compartments which were apposed to glycinergic nerve endings.

Conclusions: The results support the view that presynaptic GlyRs are endogenously activated by glycine spillover from inhibitory terminals. We also suggest that the distribution of resynaptic GlyRs is plastic and could follow sources of endogenous transmitters.

P41. IgA NEFROPATIE DĚTSKÉHO VĚKU

Štekláčová A.¹, Dušek J.², Vondrák K.², Háček J.³, Stejskal J.³, Matoušovic K.⁴

¹UK 2. LF; ²Pediatrická klinika UK 2. LF; ³Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF;

⁴Interní klinika UK 2. LF

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic DrSc.

Úvod: IgA nefropatie (IgAN) je nejčastější glomerulonefritidou na celém světě, s incidencí 15–50 pacientů/1 000 000 obyvatel/rok. Její výskyt neklesá, u 1/3 pacientů má pomalu progresivní průběh a specifická léčba není známa. U více než poloviny pacientů recidivuje v transplantované ledvině. Diagnóza IgAN je dána dominancí depositů IgA v mesangiu glomerulů.

Cíl: Zhodnotit klinickou presentaci IgAN u pacientů dětského věku.

Materiál a metody: Provedli jsme retrospektivní studii u 35 dětí (26 chlapců, 9 dívek) ve věku 5,7–18,6 r. ($14,2 \pm 3,8$, průměr \pm SD; median 15,2), u nichž byla diagnostikována IgAN v renální biopsii. Pacienti byli sledováni na ambulancích Pediatrické a později Interní kliniky UK 2.LF. Bioptické vzorky byly vyšetřeny světelnou, imunoflorescenční a elektronovou mikroskopií. U všech pacientů byla vyšetřena kvantitativně proteinurie, močový sediment průtokovou cytometrií, S–kreatinin (S-kr) a krevní tlak (TK). Porovnali jsme jejich nálezy v době biopsie a na konci sledování.

Výsledky: IgAN jsme diagnostikovali u 6 pacientů ve věku 5–9 let, u 12 pacientů ve věku 10–14 let a u 17 pacientů ve věku 15–19 roků. Doba sledování po biopsii činila 0,3–12,3 roků ($6,1 \pm 3,3$; median 6,1). V době biopsie mělo hypertenzi 5 ze 35 pacientů (14 %), na konci sledování 23 %. Mikroskopickou hematurii v době biopsie mělo 26 pacientů (74 %), makroskopickou 9 (26 %). Na konci sledování přetrvávala mikroskopická hematurie u 15/35 (43 %). S-kr v době biopsie byla v rozmezí 43 až 520 $\mu\text{mol/l}$ (105 ± 104 ; median 72). Kvantitativní proteinurie byla v době biopsie v rozmezí 0–20,0 g/24 h/m² ($3,2 \pm 4,4$; median 1,0). V průběhu sledování se u většiny pacientů významně snížila a na konci se pohybovala v rozmezí 0,0–1,9 g/24 h/m² ($0,4 \pm 0,4$; median 0,2). Zcela vymizela u 54 % nemocných. Glomerulární filtrace byla na konci sledování významně snížena u 7 ze 35 (20 %) pacientů, z toho 2 jsou léčeni náhradou funkce ledvin, a to od věku 19 a 24 roků, za jeden a 10 let po bioptické diagnóze. TK byl na začátku sledování zvýšen u 20 % a na konci u 12 % pacientů.

Závěr: IgAN dětského věku je závažné onemocnění s prognózou srovnatelnou s dospělými. U dětí častěji začíná proteinurií až nefrotickým syndromem, která se obvykle v dalším průběhu snížila. U poloviny pacientů se onemocnění klinicky vyhojilo, ale u 20 % jsme zaznamenali postupný úbytek funkce, někdy až do chronického selhání ledvin.

Podpora projektu: Podpořeno výzkumným záměrem MSM 0021620819

P42. CYTOGENETIC AND ARRAYCGH ANALYSIS OF WILMS' AND OTHER CHILDHOOD RENAL TUMORS IN CORRELATION WITH HISTOLOGICAL AND CLINICAL FEATURES

Stejskalová E.¹, Jarošová M.², Urbánková H.², Mališ J.¹, Kodet R.³

¹Department of Pediatric Hematology and Oncology, University Hospital Motol-Prague, Czech Republic; ²Department of Hemato-oncology, Palacky University Hospital Olomouc, Czech Republic; ³Department of Pathology and Molecular Medicine, University Hospital Motol-Prague, Czech Republic

Supervisor: Prof.RNDr.Marie Jarošová,Ph.D.

Introduction: By far the most common renal neoplasm in children is Wilms' tumor (WT). Multimodality treatment has resulted in a significant improvement in outcome of WT patients. However, successful treatment of relapsing or nonresponding WT remains a challenge. Several biological factors have been identified that may supplement stage and histology in assigning risk. According to some studies, cytogenetic abnormalities of presumed prognostic significance include karyotype complexity and allelic losses from the short arm of chromosome 1 and from the long arms of chromosomes 11, 16 and 22. Other studies have highlighted 1q gain and monosomy 22 as markers of increased relapse risk. There is little information regarding the molecular events that occur with WT progression and relapse. Further data are necessary to gauge the clinical importance of chromosomal changes. Genetic alterations seem to be of importance for morphology and tumor growth in distinct subtypes of renal cell carcinomas (RCC), thus distinct abnormalities may assist histological subtyping. Reports of chromosomal analysis of RCC in children are scarce. A recurrent t(X;1)(p11.2;q21.2) represents a specific subgroup of RCC, often seen in pediatric patients.

Aims: To precisely characterise non random aberrations in childhood renal tumors. Reliable identification of tumors likely to show aggressive behavior would allow selection of patients for risk-adapted therapy.

Materials and Methods: We have used conventional cytogenetics to analyse the karyotype of tumor cells, with multicolor FISH and array CGH analysis refining the resolution. Results: We present a series of 25 WT, mostly without pre-operation chemotherapy and 3 rare childhood renal tumors – RCC. We have detected numerical as well as structural changes in WT, which mostly involved chromosome 1, either presenting with a deletion of 1p or the formation of an isochromosome 1q. In our report, we have correlated these findings with histological and clinical features, patient outcome and the results of previously published studies.

Conclusions: Our study in a cohort of pediatric renal tumors has confirmed the nonrandom losses and gains of chromosome regions presumed to play an important role in the pathogenetic consequences and progression of these tumors. ArrayCGH yielded results not seen by cytogenetics or in cytogenetically unsuccessful cases. Thus we have found non-random losses of 16q12.1-16q24.3 and 17p with prognostic value.

Support: The work is supported by grant VZ MZ 6715

P43. VLIV KROMOGLYKÁTU SODNÉHO NA ZMĚNU ZASTOUPENÍ PLICNÍCH PERIFERNÍCH ARTÉRIÍ SE ZTLUŠTĚLOU T. MEDIA PŘI AKUTNÍ A CHRONICKÉ HYPOXII

Novotný T.^{1,2}, Krejčí J.¹, Švehlík V.¹, Wasserbauer R.¹, Malíková J.^{1,3}, Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta;

²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice; ³Pediatrická klinika, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

Úvod: Prostor se sníženým obsahem kyslíku vede k rozvoji hypoxické plicní hypertenze (HPH) a k remodelaci plicních arterií, zejména pak neomuskularizací prealveolárních a periferních plicních arterií, která je charakterizována novotvorbou membrana elastica externa (MEE). Ta spolu s již existující membrana elastica interna (MEI) tvoří obraz tzv. double laminated vessels (DLV), jejichž dominantní procentuální zastoupení (PZ) je považováno za morfologickou známku neomuskularizace při HPH. Tento proces je uskutečňován mj. působením produktů žírných buněk (ŽB). Remodelační procesy lze tedy výrazně modifikovat a zpomalit stabilizací ŽB kromoglykátém sodným (KS).

Cíl: V tomto pokusu jsme posuzovali změny v PZ DLV v závislosti na délce hypoxie a různé načasované aplikaci KS.

Materiál a metody: Celkem 64 samců potkana kmene Wistar-Han bylo rozděleno po 8 jedincích do 8 skupin a vystaveno 4 denní (H4) nebo 21 denní (H21) normobarické hypoxii (10 % kyslíku) za současně různě časované intraperitoneální aplikace KS. Za DLV byly ve řezech plic považovány artérie o $\varnothing < 100 \mu\text{m}$, u kterých byla MEE pozorovatelná alespoň na polovině obvodu.

Výsledek: Ve skupině H4 jsme zaznamenali signifikantní nárůst v PZ DLV oproti normoxické kontrole.

Ve skupině H4 se současnou každodenní aplikací KS jsme zaznamenali signifikantní pokles v PZ DLV oproti skupině H4. Tento výsledek jednoznačně dokazuje morfologickou odezvu plicních periarteriálních ŽB na podání KS.

Ve skupině H21 jsme zaznamenali signifikantní nárůst v PZ DLV oproti normoxické kontrole. Tento výsledek potvrzuje přetrvávající remodelační změny arteriálních stěn v průběhu H21.

Ve skupině H21 s aplikací KS v prvních 4 dnech hypoxie jsme zaznamenali signifikantní nárůst PZ DLV oproti skupině kontrolní normoxické, avšak pokles oproti skupině H21. Tento výsledek dokazuje, že zde byly remodelační procesy zahájeny, nejsou však tak výrazné jako u skupiny H21.

Ve skupině H21 s aplikací KS v posledních 4 dnech hypoxie jsme zaznamenali signifikantní nárůst v PZ DLV oproti skupině kontrolní normoxické. Tento výsledek je téměř totožný s výsledkem H21. Pozdní aplikace KS nemá tedy na remodelační procesy HPH žádný vliv.

Závěr: Výsledky pokusu přinesly jednoznačnou morfologickou podporu funkčních experimentů, kdy aplikace KS v časných fázích H4 a H21 výrazně redukovala rozvoj obrazu HPH (Baňasová a spol., 2008).

Podpora projektu: Projekt byl podpořen grantem GAUK č. 74108.

P44. VLIV KROMOGLYKÁTU SODNÉHO NA ZASTOUPENÍ PLICNÍCH PERIFERNÍCH ARTÉRIÍ SE ZTLUŠTĚLOU T. MEDIA PŘI KRÁTKODOBÉM A DLOUHODOBÉM ZOTAVENÍ Z CHRONICKÉ HYPOXIE

Švehlík V.¹, Novotný T.^{1,2}, Krejčí J.¹, Wasserbauer R.¹, Malíková J.^{1,3}, Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta;

²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice; ³Pediatrická klinika, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta

Pregraduální student

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

Úvod: Prostedí se sníženým obsahem kyslíku vede k rozvoji hypoxické plicní hypertenze (HPH) a k remodelaci plicních arterií, zejména pak neomuskularizací prealveolárních a periferních plicních arterií, která je charakterizována novotvorbou membrana elastica externa (MEE). Ta spolu s již existující membrana elastica interna (MEI) tvoří obraz tzv. double laminated vessels (DLV). Po návratu do normoxického prostředí dochází ke zpětně remodelačním procesům (ZRP), které jsou provázeny poklesem procentuálního zastoupení (PZ) DLV. ZRP jsou uskutečňovány mj. působením produktů žírných buněk (ŽB). ZRP lze tedy výrazně modifikovat a zpomalit stabilizací ŽB kromoglykátem sodným (KS).

Cíl: V tomto pokusu jsme posuzovali změny v PZ DLV v závislosti na délce zotavení a různé načasované aplikaci KS.

Materiál a metody: Celkem 56 samců potkana kmene Wistar-Han bylo rozděleno po 8 jedincích do 7 skupin a vystaveno 21 denní (H21) normobarické hypoxii (10 % kyslíku) se 4 denním (H25R) či 21 denním (H42R) zotavením a různě načasované aplikaci KS. Za DLV byly v řezech plic považovány artérie o $\varnothing < 100 \mu\text{m}$, u kterých byla MEE pozorovatelná alespoň na polovině obvodu.

Výsledek: Ve skupině H25R jsme zaznamenali z období dlouhodobé hypoxie stále pokračující nárůst PZ DLV oproti skupině normoxické kontroly (N), avšak také již pokles oproti H21. ZRP již byly zahájeny.

Ve H25R s aplikací KS v prvních 4 dnech hypoxie (H25KZ) pozorujeme stále vyšší PZ DLV oproti N, je zde patrný pokles oproti H21. ZRP není výrazně urychlen.

Ve skupině H25RK pozorujeme vyšší PZ DLV oproti N, dále však také vyšší PZ DLV oproti H25R a H25KZ, což považujeme za jednoznačný morfologický důkaz zpomalení ZRP této skupiny.

Ve skupině H42R pozorujeme vyšší PZ DLV oproti N, ale také pokles proti H21. ZRP stále probíhají a nejsou ukončeny.

Ve skupině H42R s aplikací KS v prvních 4 dnech hypoxie pozorujeme stále zvýšené PZ DLV oproti N, ale také pokles oproti H21. ZRP stále probíhají a nejsou ukončeny.

Ve skupině H42R s aplikací KS v prvních 4 dnech zotavení pozorujeme vyšší PZ DLV N, dále také vyšší PZ DLV oproti H42R a H42KZ. Tento výsledek potvrzuje výrazné zpomalení ZRP vlivem inhibované degradace ŽB KS.

Závěr: Výsledky pokusu přinesly jednoznačnou morfologickou podporu funkčních experimentů, kdy aplikace KS v časných fázích zotavení z dlouhodobé hypoxie výrazně omezila a zpomalila ZRP (Maxová a spol., 2010).

Podpora projektu: Projekt byl podpořen grantem GAUK č. 74108.

P45. MORFOLOGICKÉ ZMĚNY PLICNÍCH VODIVÝCH ARTÉRIÍ PŮSOBENÍM HYPOXIE

Krejčí J.¹, Novotný T.^{1,2}, Humlová D.¹, Švehlík V.¹, Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta;

²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice

Pregraduální student

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

Úvod: Prostředí se sníženým obsahem kyslíku vede k rozvoji hypoxické plicní hypertenze (HPH) a k remodelaci plicních artérií, zejména k neomuskularizaci prealveolárních a periferních plicních artérií. Tento proces je uskutečňován mj. působením produktů žírných buněk (ŽB). Remodelační procesy lze tedy výrazně modifikovat a zpomalit stabilizací ŽB kromoglykátém sodným (KS). Toto schéma změn je v současné době plně uznávaným faktem. Při našich morfoloických pokusech o ovlivnění obrazu HPH jsme však narazili i na zajímavé a dosud nepublikované změny ve struktuře artérií vodivých s $\varnothing > 100 \mu\text{m}$. Tyto cévy z fyziologického hlediska nehrají roli v tvorbě konečného tlaku v plicním arteriálním řečišti, jejich morfologie se ale působením hypoxie zásadně mění.

Cíl: V tomto pokusu jsme posuzovali změny v tloušťce tunica media (TM) vodivých plicních artérií (VPA).

Materiál a metody: Celkem 64 samců potkana kmene Wistar-Han bylo rozděleno po 8 jedincích do 8 skupin a vystaveno 4 denní (H4) nebo 21 denní (H21) normobarické hypoxii (10 % kyslíku) za současné různě časované intraperitoneální aplikace KS, a to první 4 dny pokusu u skupin H4K a H21KZ, popřípadě poslední 4 dny pokusu u H21KK. Za VPA byly v řezech plic považovány artérie s $\varnothing > 100 \mu\text{m}$. Při posuzování TM jsme vycházeli z předpokladu, že i nepravidelně ohraničenou plochu si lze představit tak, že patří kruhu, jehož poloměr lze vypočítat. Pokud jsme těchto „kruhů“ vytvořili koncentricky více (lumen-TM), následným odečtem jejich poloměrů jsme získali průměrnou tloušťku TM. K měření ploch jsme použili analyzátor obrazu NIS elements 3.0 AR.

Výsledky: Ve skupině H4 a H4K jsme zaznamenali signifikantní nárůst v tloušťce TM oproti normoxické kontrole. Rozdíl ve skupině s aplikací KS nebyl patrný.

Ve skupinách H21, H21KZ a H21KK jsme zaznamenali pokračující signifikantní nárůst v tloušťce TM oproti normoxické kontrole, bez rozdílu mezi jednotlivými hypoxickými skupinami.

Závěr: Prostředí se sníženým obsahem kyslíku vede k nárůstu TM VPA oproti normoxické kontrole. Tyto přestavbové změny však zřejmě nejsou uskutečňovány převážně produkty ŽB, protože k nim došlo i přes účinnou stabilizaci KS. Předpokládáme, že by za danými změnami mohly stát některé z mitogenních faktorů navozených hypoxií.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen grantem GAUK č. 74108.

P46. MORFOLOGICKÉ ZMĚNY PLICNÍCH VODIVÝCH ARTÉRIÍ PŘI ZOTAVENÍ Z DLOUHODOBÉ HYPOXIE

Humlová D.¹, Novotný T.^{1,2}, Krejčí J.¹, Švehlík V.¹, Uhlík J.¹ a Vajner L.¹

¹Ústav histologie a embryologie, Univerzita Karlova v Praze – 2. lékařská fakulta;

²Ortopedické oddělení, MěN Litoměřice

Pregraduální student

Školitel: Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc.

Úvod: Po návratu potkana z hypoxie do normoxie dochází k postupné korekci hypoxické plicní hypertenze (HPH) jako důsledku zpětné remodelace plicních artérií, zejména pak neomuskularizovaných prealveolárních a periferních plicních artérií. Tento proces je uskutečňován mj. působením produktů žírných buněk (ŽB). Zpětné remodelační procesy lze tedy výrazně utlumit stabilizací ŽB kromoglykátém sodným (KS). Při našich morfoloických pokusech o ovlivnění obrazu HPH jsme však narazili i na zajímavé a dosud nepublikované změny ve struktuře vodivých plicních artérií (VPA) s $\varnothing > 100 \mu\text{m}$. Tyto cévy z fyziologického hlediska patrně nehrají roli v tvorbě konečného tlaku v plicním arteriálním řečišti, jejich morfologie se ale působením hypoxie a zotavení zásadně mění.

Cíl: V tomto pokusu jsme posuzovali změny v tloušťce tunica media (TM) vodivých plicních artérií (VPA).

Materiál a metody: Celkem 56 samců potkana kmene Wistar-Han bylo rozděleno po 8 jedincích do 7 skupin a vystaveno 21 denní (H21) normobarické hypoxii (10 % kyslíku) se 4 denním (H25R) či 21 denním (H42R) zotavením a s aplikací KS v prvních 4 dnech hypoxie (H25KZ a H42KZ) nebo v prvních 4 dnech zotavení (H25RK a H42RK). Za VPA byly v řezech plic považovány artérie s $\varnothing > 100 \mu\text{m}$. Při posuzování TM jsme vycházeli z předpokladu, že i nepravidelně ohraničenou plochu si lze představit tak, že patří kruhu, jehož poloměr lze vypočítat. Pokud jsme těchto „kruhů“ vytvořili koncentricky více (lumen-TM), následným odečtem jejich poloměrů jsme získali průměrnou tloušťku TM. K měření ploch jsme použili analyzátor obrazu NIS elements 3.0 AR.

Výsledky: Ve skupinách H25R, H25KZ a H25RK jsme zaznamenali z období dlouhodobé hypoxie přetrvávající ztlustění TM VPA oproti skupině normoxické kontroly (N). Mezi VPA jednotlivých experimentálních skupin není patrný rozdíl. Funkční stabilizace ŽB KS tedy výsledný obraz VPA neovlivnila. Reparační procesy VPA ještě nebyly zahájeny. Ve skupinách H42R, H42KZ a H42RK ještě stále přetrvává ztlustění TM VPA oproti N. Mezi VPA jednotlivých experimentálních skupin rozdíl není a reparační procesy nejsou patrné.

Závěr: Hypoxie indukuje nárůstu tloušťky TM VPA přetrvávající neselektivně ve všech experimentálních skupinách našeho pokusu. 4 denní ani 21 denní zotavení nestačí k tomu, aby byly na VPA patrné zpětné remodelační bez ohledu na účinnou stabilizaci ŽB KS. ŽB tedy podle našich výsledků v procesu zpětné remodelace TM CVPA nehrají významnou roli.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen grantem GAUK č. 74108.

P47. KORELACE DYNAMICKÉHO BIOMECHANICKÉHO TESTOVÁNÍ, HISTOPATOLOGICKÝCH NÁLEZŮ A VIZUÁLNÍHO MAKROSKOPICKÉHO VYŠETŘENÍ U LIDSKÉ HYALINNÍ CHRUPAVKY

Kos P.¹, Varga F.², Handl M.¹, Kautzner J.¹, Chudáček V.³, Držik M.⁴, Povýšil C.⁵, Trč T.¹, Amler E.²

¹III. ortopedická klinika FN Motol; ²Ústav biofyziky 2. LF UK; ³Fakulta elektrotechnická, ČVUT;

⁴International Laser Center, Bratislava; ⁵Ústav patologické anatomie 1. LF UK

Školitel: Doc. MUDr. Milan Handl, Ph.D.

Úvod: Kloubní chrupavka má unikátní mechanické vlastnosti, které optimalizují přenos zátěže na subchondrální kost a degradaci mění svoje funkční vlastnosti. Pro stanovení diagnózy, prognózy a zahájení léčby především v časných stádiích artrózy je třeba vyvinout přesnější klasifikaci jejího poškození.

Cíl: Naším cílem bylo korelovat dynamické biomechanické vlastnosti chrupavky s histopatologickými nálezy a vizuálním makroskopickým skóre.

Materiál a metody: Při náhradě kolenního kloubu jsme od 14 pacientů odebrali 112 vzorků ze 4 zátěžových zón kondylů, vždy 2 vzorky ze stejného místa pro histopatologické a mechanické testování. Vzorky byly makroskopicky klasifikovány dle International Cartilage Repair Society (ICRS). Polovina vzorků byla mechanicky vyšetřena na zařazení pro nárazové dynamické testování. Z dat byly sestaveny zátěžové diagramy a vypočteny hodnoty disipované energie testovacího nárazu, tuhosti vzorku při napětí 1 MPa. Druhá polovina korespondujících vzorků byla vyšetřena patologem a klasifikována dle ICRS.

Výsledky: Pro jednotlivé histologické parametry jsme signifikantní rozdíly prokázali u hodnot disipované energie a specifické tlumicí kapacity pro parametry 1, 2 a 3 (povrch, extracelulární matrix, buněčná distribuce), další mechanické charakteristiky nekorelovaly signifikantně (T-test, $p > 0.05$). Signifikantní korelaci jsme našli mezi makroskopickým skóre, specifickou tlumicí kapacitou a disipovanou energií (ANOVA, $p < 0.01$), její hodnoty vzrůstaly mezi makroskopickými stupněmi 0-1 a 1-2 o 11.3% resp. 18.6%. Výsledky ukazují, že tato charakteristika může odlišit časné stupně poškození bez patrných větších makroskopických změn. Přestože tloušťka vzorku a celkové histologické skóre nekorelovaly, závislost jsme prokázali mezi tloušťkou a energií rozptýlenou v objemové jednotce – relativní disipovanou energií ($p < 0.001, R^2 = 0.69$).

Závěr: Současným standardem pro klasifikaci poškození chrupavky je odběr histologického vzorku. Pouhé artroskopické zhodnocení nepodává informaci o morfologii tkáně. U nízkého stupně makroskopické degradace (ICRS 0-1) jsou histologické nálezy velmi rozdílné. Cílená léčba u nízkých stupňů artrózy vyžaduje časnou diagnózu a je třeba přesnější nástroje pro klasifikaci. Prokázali jsme, že mechanické testování posuzující disipovanou energii je slibným přístupem a může být klinicky aplikovatelné při stanovení kombinované mechanicko–histopatologické klasifikace a následné konstrukci miniinvasivních testovacích sond, nevyžadujících porušení kongruence testované tkáně.

P48. ENHANCEMENT OF THE EFFICACY OF DOCETAXEL WITH CONJUGATED LINOLEIC ACID IN LNCAP PROSTATE CANCER CELLS

Kakawand S.

University of Aberdeen; Charles University Prague

Supervisor: Dr Andy Schofeild

Introduction: Docetaxel has had its tumoricidal properties elucidated in breast, ovarian, prostate cancers. Docetaxel works by promoting microtubule stabilization as well as inducing apoptosis via inhibition of bcl-2 and inhibition of NFκB pathway. Polyunsaturated fatty acids can promote lipid peroxidation and free radical production. They further, increase membrane fluidity and influence transcription factor activity. Conjugated Linoleic Acid (CLA) has had its antiproliferatory properties evaluated. Despite docetaxel's beneficial therapeutic potential, its wider use has been compromised due to its systematic activity affecting and development of drug resistance. Drug supplementation could reduce the administered dose of docetaxel while improving its potency

Aims: Whether CLA enhances the antiproliferatory effects of docetaxel in LNCaP prostate cancer cells

To identify mRNA expression change of selected genes involved in NFκB upon treatment

To hypothesize possible mechanism of action of the selected genes, upon combinatorial treatment with CLA+ docetaxel

Materials and Methods: Immortalized LNCaP cells were treated with docetaxel, CLA and concurrently with CLA+ docetaxel. Incubated for 24 and 48 hrs. Cell viability was determined by colorimetric MTT assay. RNA was extracted from cells treated with docetaxel, CLA, CLA+ docetaxel and control

RT-PCR of RNA extracts followed by PCR of the candidate genes, FADD, MAX, AKT1 and MAP2K4, were carried out. Comparative Densitometry and statistical analysis were carried out

Results: CLA enhances the efficacy of docetaxel.

LNCaP cells treated with 0.01 μM of docetaxel followed by concurrent treatment with 50 μM of CLA enhanced the efficacy of docetaxel by 37%

Conclusions: CLA enhances the efficacy of docetaxel possibly with synergistic effect.

Docetaxel is a victim of its own actions. It increases the expression of NFκB mediated genes involved in cell proliferation. CLA supplementation reduces the activation of NFκB by reducing the expression of genes such as AKT1, MAX, FADD, and MAP2K4. This reduces cell viability by inducing apoptosis. I propose, the reduced expression of these genes reduces the observed proliferatory response to stress (docetaxel). Thus, overall opposition to docetaxel's actions are reduced, and net cell death is increased. Therefore docetaxel exerts its effect more efficaciously.

FA supplementation would result in alteration in cellular response to chemotherapy and biophysical properties of tumour membrane. This notion could sustain therapeutical potentials

P49. VPLYV HYPOXIE NA CHEMOREZISTENCIU A ZMENY BUNKOVÉHO CYKLU NEUROBLASTÓMOVÝCH BUNKOVÝCH LÍNII

Figová K., Hraběta J., Poljaková J., Cipro S., Eckschlager T.
Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha.

Školitel: Eckschlager Tomáš, Prof. MUDr., CSc.

Úvod: Hypoxia v nádorovom tkanive významne koreluje s rozsahom a horším klinickým priebehom ochorenia. Toto je sčasti spôsobené hypoxiou-indukovanou rezistenciou k rádio a chemoterapii, genómovou instabilitou a indukciou angiogenézy. Hypoxiou indukovaný transkripčný faktor (HIF) je hlavný transkripčný faktor aktivovaný poklesom parciálneho tlaku kyslíka v mikroprostredí. Je tvorený dvoma podjednotkami a riadi transkripciu mnohých génov kódujúcich proteíny zahrnuté v angiogenéze, metabolizme glukózy, proliferácii buniek, bunkovom prežívaní, invázii a vzniku metastáz. Nadmerná expresia HIF-1 α je spájaná so zlyhaním liečby a zvýšenou úmrtnosťou. Jednou z príčin zníženej cytostatikami navodenej apoptózy a klonogénnej rezistencie je deprivácia kyslíku.

Cíl: Cieľom našej štúdie bolo určiť význam a vplyv hypoxie na citlivosť bunkových kultúr odvodených od neuroblastómu (NBL) voči cisplatine a jej derivátu karboplatine. Ďalej sme sledovali zmeny bunkového cyklu a apoptózu.

Materiál a metódy: Hypoxické podmienky in vitro sme indukovali kultiváciou v zatvorenom systéme (Hypoxic chamber, Billups-Rothenberg, Inc.) s definovanou zmesou plynov O₂ (1–2 %), CO₂ (5 %), N₂ (93–94 %). Hypoxický fenotyp testovaných buniek sme overili kontrolou expzie proteínu HIF-1 α (Western blot). IC₅₀ cytostatík sme vypočítali z výsledkov 96jamkových MTT testov (GraphPad Prism4). Analýzu bunkového cyklu a apoptózu sme hodnotili väzbou AnexínuV na prietokovom cytometri (FACSCalibur). Zmeny morfológie bunkového jadra sme sledovali pomocou fluorescenčného mikroskopu.

Výsledky: U všetkých neuroblastómových línii sa v hypoxických podmienkach chemorezistencia značne zvýšila. Nárast chemorezistencie indukovanej hypoxiou sa sčasti javí byť závislý na type buniek. Chemorezistencia línie UKF-NB4, S-typ neuroblastómu, bola za hypoxických podmienok vyššia než u tej istej línie s in vitro navodenou rezistenciou na cisplatinu. Naopak, u N-typu, UKF-NB3 línie a jej rezistentného klonu, je v normo i hypoxických podmienkach chemorezistencia na použité cytostatiká vždy vyššia u rezistentnej línie.

Vo všetkých skúmaných bunkových líniiach za hypoxických podmienok došlo k redukcii proliferáčnej frakcie (S+G₂/M fáza) v porovnaní s kontrolou, a takisto u všetkých došlo k poklesu percenta apoptotických buniek po podaní derivátov platiny.

Záver: Naša pilotná štúdia poukazuje na pokles chemosenzitivity nádorových buniek za hypoxických podmienok, ktoré sú častým sprievodným javom malígnych nádorov in vivo.

Podpora projektu: Podporené MŠMT VZ č. 0021620813.

P50. RELIABILITA ASPEKČNÍCH TESTŮ POSTURÁLNÍ STABILIZACE – PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY

Voráčková H., Slabý K.
Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Kryštof Slabý

Úvod: U většiny funkčních testů, které se používají v rehabilitaci a mezi něž řadíme i testy posturální stabilizace (TPS), není k dispozici zlatý standard ani jiná objektivizační kritéria. V souladu s požadavky Evidence Based Practice/Medicine je tedy žádoucí pokusit se stanovit shodu mezi hodnotiteli jako první krok v procesu objektivizace těchto testů.

Cíl: Prostřednictvím dvojice zkušených a dvojice nezkušených hodnotitelů stanovit inter-rater reliabilitu u dvou baterií aspekčních TPS.

Materiál a metody: Byly vybrány dvě baterie aspekčních TPS (Kolář 2006, Luomajoki 2007). Provedení testů bylo nezávisle hodnoceno současně dvěma zkušenými (XA) a dvěma nezkušenými (UA) hodnotiteli na smíšeném souboru zdravých osob a pacientů s vertebrogenním algickým syndromem bederní páteře bez neurologického deficitu a neurochirurgického výkonu na páteři v posledních 5 letech ($n = 32$, 18 žen, průměrný věk $44,8 \pm 12$ let).

Hodnocení testů předcházela jejich formalizace (pozitivita jednotlivých znaků, hodnocení testu na čtyřbodové škále a na vizuální analogové škále, binární hodnocení celkové positivity testu).

Ke stanovení shody mezi hodnotiteli jsme použili procentní shodu (Agr).

Výsledek: U testů podle Koláře přesná Agr v hodnocení na čtyřbodové škále ve většině případů nepřesahuje 50 %, Agr v hodnocení jednotlivých znaků má velký rozptyl (30–50 %) u XA i UA.

Agr binárního hodnocení XA je v rozmezí 82-90 % u všech testů kromě flexe trupu (76 %); UA mají u flexe v kyčli Agr kolem 90 % stejně jako XA, u ostatních testů cca o 20 % méně.

U testů podle Luomajokiho nacházíme rozptyl hodnocení jednotlivých znaků kolem 20 % a menší rozdíly v hodnocení XA a UA.

Průměrná Agr binárního hodnocení XA a UA je 73 %.

Závěr: Předběžné výsledky ukazují, že odstupňování míry patologie není příliš spolehlivé. Nižší Agr u flexe trupu přičítáme tomu, že hodnocení přední strany trupu je obtížnější než hodnocení zad, kde se sledované znaky soustředí na menší a přehlednější ploše.

U testu flexe v kyčli si 90% Agr UA vysvětlujeme tím, že test je pozitivní téměř u všech probandů.

Výrazný rozdíl mezi hodnocením XA a UA u dalších testů podle Koláře potvrzuje naši hypotézu, že shoda významně závisí na zkušenosti hodnotitele.

Tomu odpovídá i nižší Agr binárního hodnocení u běžně nepoužívaných testů podle Luomajokiho, kde jsme vzhledem k nižšímu počtu sledovaných znaků (1–2 oproti 3–5 u Koláře) očekávali větší shodu. Ukázalo se však, že s menší náročností těchto testů stoupá variabilita hodnocení, čímž celková Agr v hodnocení klesá.

P51. STANDARDNÍ KEFALOMETRICKÉ HODNOTY VZORKU ČESKÉ POPULACE – POROVNÁNÍ SE STŘEDNÍMI HODNOTAMI POUŽÍVANÝCH ANALÝZ

Hofmanová P.^{1,2}, Řeháček A.², Michalík P.¹, Dostálová T.¹

¹Dětská stomatologická klinika FN MOTOL, 2. LF UK Praha; ²Privátní praxe

Školitel: Prof. MUDr. Tatjana Dostálová Dr.Sc., MBA

Úvod: Kefalometrická analýza je diagnostickou metodou používanou v ortodontii, parodontologii, protetice a čelistní chirurgii. Je využívána ke stanovení míry dysgnací obličejového skeletu a dentálních anomálií (zejména polohy horních a dolních řezáků). Vlastní měření jsou prováděna v současné době na kefalogramech lebky pomocí počítačových programů. Kefalometrické standardní hodnoty musí odrážet průměrné a akceptovatelné rozsahy naměřených hodnot tak, abychom s nimi mohli porovnávat pacienty.

Cíl: Naším cílem je vyhodnotit námi naměřené hodnoty vzorku české populace a porovnat je s běžně používanými analýzami pro „kavkazskou“ populaci. Zaměříme se i na možná specifika dentálních a skeletálních parametrů.

Materiál a metody: Na vzorku laterálních snímků (100 žen/100 mužů) vybraných podle kritérií – dospělý, s harmonickým obličejem bez zjevných malformací, dentoskeletální parametry odpovídající Angleově I. třídě - jsme provedli měření pomocí počítačového programu Dolphin Imaging 11.0 za využití několika běžně používaných analýz. Principem analýzy je přesné zadávání bodů na laterálním kefalogramu lebky a následné vyhodnocení úhlových a lineárních hodnot s vysokou přesností.

Výsledky: Námi dosud zpracované výsledky měření vychází velmi podobně pro obě pohlaví. Horizontální skeletální vztahy nevykazují odchylky od standardních hodnot. Hodnoty vertikálních parametrů vykazují tendenci k hlubokému skusu a anteriorotaci. Tato je kompenzována větší hodnotou úhlu OR-MR. Výsledky měření U1-OR, L1-OR poukazují na strmější polohu horních a protruznější polohu dolních řezáků, což připomíná stav podobný kompenzačním mechanismům Angleovy II. třídy. Poloha L1 k ML se velmi blíží standardním hodnotám a podporuje funkční stabilitu.

Závěr: Standardní kefalometrické hodnoty jsou závislé na věku, pohlaví, rase a případně i etniku a naše výsledky potvrzují, že individualizovaná kefalometrie usnadňuje diagnostiku a následně pak pomáhá stanovit správný léčebný plán.

P52. VYUŽITÍ TESTŮ POSTURÁLNÍ STABILITY PŘI DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTICE HEREDITÁRNÍCH ATAXIÍ

Schwabová J.¹, Zahálka F.³, Komárek V.², Malý T.³, Hráský P.³, Gryc T.³ a Zumrová A.²
¹Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol, Praha; ²Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol, Praha; ³Laboratoř sportovní motoriky UK FTVS, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Úvod: Mezi nejčastější diagnostikované hereditární ataxie v České republice patří ataxie Friedreichova (FRDA) a autosomálně dominantní spinocerebelární ataxie typu 2 (AD SCA 2). Dlouhou dobu byla FRDA ataxií dětského věku, v současnosti však patří i do diferenciální diagnostiky hereditárních ataxií dospělého věku. I když jsou známa důležitá kritéria pro rozlišení těchto ataxií, zacílení před DNA vyšetřením bývá někdy složité.

Cíl: Cílem naší studie bylo otestovat, zda li je posturografické vyšetření vhodné pomocné vyšetření při diferenciální diagnostice hereditárních ataxií.

Materiál a metody: Bylo vyšetřeno 17 pacientů s AD SCA 2, 12 pacientů s FRDA a 10 zdravých kontrol. Posturografické vyšetření proběhlo na multisenzorické tenzometrické plošině - stoj se zrakovou kontrolou, bez zrakové kontroly a výpon, kde byly v čase zaznamenány změny zatížení plosky.

Výsledky: Na základě stoje přímého se zrakovou kontrolou a výponu se jasně odlišili pacienti od zdravých kontrol ($p < 0,01$), pacienty mezi sebou odlišit možné nebylo. V případě stoje přímého bez zrakové kontroly byla jednoznačně odlišená skupina pacientů s FRDA od zdravých kontrol ($p < 0,01$).

Závěr: Vybrané posturální testy tedy jednoznačně odlišily skupinu pacientů od skupiny zdravých kontrol a také skupiny mezi sebou, co má význam v diferenciální diagnostice ataxií. V současné době byly publikované práce srovnávající klinické testy s parametry posturografie, které jednoznačné výsledky nepřinesly. Vzhledem k tomu, že klinické škály obsahují různé provokační momenty, jeví se vhodné jejich výsledky srovnávat s posturografickými parametry, také po „provokaci“ jako je např. stoj bez zrakové kontroly nebo výpon.

Podpora projektu: GAUK 96909; IGA MHCR 100005-4; MSM 002160864 a VZ FNM MZO 0064203-6505

P53. ESID REGISTR PACIENTŮ S CVID

Milota T., Zimanová V.
Ústav imunologie 2. LF UK

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Anna Šedivá, CSc.

Úvod: Primární imunodeficity (PID) jsou vrozené poruchy imunity, vznikající na podkladě mutací genů kódující jednotlivé složky imunitního systému. V naší práci jsme se zaměřili na běžný variabilní imunodeficit (CVID). Podstatou onemocnění je predominantní porucha tvorby protilátek. Genetický podklad je ve většině případů neznámý. Zatím pouze u 5% byla objasněna molekulová a genetická podstata. Jedná se převážně o defektní expresi molekuly ICOS. Ve vzácných případech pak dalších molekul jako TACI, CD19, BASFFR.

Cíl: Vzhledem k nízké incidenci tohoto onemocnění (1–4:100 000) je důležité pro získání relevantních dat vytvoření větších souborů pacientů. Evropská společnost pro primární imunodeficity (ESID) proto koordinuje činnost registru pacientů s PID. Jeden ze subregistru obsahuje také pacienty s CVID. Jeho základní funkcí je nejen registrace pacientů, ale i sledování řady parametrů jako je vývoj onemocnění, klinická prezentace, výskyt komplikací, reakce na terapii, důležitá vyšetření a jejich dynamika. Cílem této práce je právě analýza a interpretace těchto dat.

Materiál a metody: Zdrojem dat pro naši práci byl ESID Registry-subregistr pacientů s CVID. Údaje pro jeho vytvoření byly získány z dokumentace pacientů FN Motol.

Výsledky: Sledovaný soubor obsahuje celkem 24 pacientů s CVID. Převažují v něm muži v poměru 7:4. Průměrný věk při stanovení diagnózy byl 26,6 roku. Nejčastějšími projevy onemocnění byly opakované infekty HCD (100 % pacientů), opakované bronchitidy (59,1 %), zvýšená únava (22,7 %), opakované otitidy (13,6 %). Hlavním sledovaným kritériem při stanovení diagnózy byla koncentrace imunoglobulinů. U 50% pacientů došlo ke snížení ve všech sledovaných třídách (IgG, IgA, IgM), u 22,7 % v IgG a IgA, u 13,6 % v IgA a IgM a pouze ve třídě IgG u 13,6 %. Průměrná délka terapie je 8,1 roku. V současné době se u pacientů nejčastěji používají preparáty IVIG (u 63,6 % pacientů), dále SCIG (31,8 %) a IMIG (4,5 %). Dlouhodobou profylaxi ATB vyžaduje 36,4 % pacientů. V průběhu onemocnění se u pacientů vyskytly nejčastěji tyto komplikace – přetrvávající infekty HCD (90,1 % pacientů), chronický kašel (77,3 %), obstrukční porucha dýchání (72,7 %), autoimunitní onemocnění (45,5 %). Z autoimunitních onemocnění pak nejčastěji autoimunitní trombocytopenie a autoimunitní tyreoiditida.

Závěr: Esid registr pacientů s CVID nám umožňuje nejen vytvoření větších skupin pacientů, ale i dlouhodobé sledování jednotlivých případů a jejich variabilitu. Získali jsme tak důležitá a cenná data poskytující komplexní pohled na toto onemocnění.

P54. AKUTNÍ KALORICKÁ RESTRIKCE OMEZÍ ROZSAH INFARKTU MYOKARDU U POTKANA

Šnorek M.^{1,3,4}, Neckář J.^{4,5}, Skoumalová A.^{2,4}, Hodyc D.^{1,4}, Šedivý V.^{1,4}, Wilhelm J.^{2,4}, Kolář F.^{4,5} a Herget J.^{1,4}

¹Ústav fyziologie; ²Ústav lékařské chemie a biochemie; ³Kardiocentrum Nemocnice České Budějovice, a. s.; ⁴Centrum výzkumu chorob srdce a cév; ⁵Fyziologický ústav AV ČR

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Úvod: Omezení koronární perfúze při akutním koronárním syndromu způsobí ischemii myokardu. K jeho výslednému poškození dále přispívá ischemicko-reperfuční poškození modulované reaktivními formami kyslíku (ROS). Dlouhodobá (měsíce) i krátkodobá (týdny) kalorická restrikce vede ke snížení produkce ROS a následného radikálového poškození. Efekt akutního hladovění (několik dní bezprostředně před experimentálním navozením ischemie myokardu) nebyl doposud podrobněji zkoumán. Možným mechanismem působení akutní kalorické restrikce je změna redoxního stavu buňky při zvýšené ketogeneze a konzumpci redukovaných pyridinových nukleotidů s následným omezením produkce ROS.

Cíl: V této studii jsme zkoumali, zdali třídní hladovění potkana ovlivní produkci ROS v srdeční tkáni a rozsah ložiska infarktu myokardu.

Materiál a metody: Radikálové poškození jsme kvantifikovali stanovením lipofilních fluorescenčních pigmentů (LFP, vyjádřeno v relativních fluorescenčních jednotkách RFU) v srdeční tkáni jako indikátoru radikálového poškození u kontrolní a experimentální skupiny (třídní hladovění). Model infarktu myokardu in vivo jsme použili u analogických skupin zvířat. Anestezovaným potkanům jsme provedli levostrannou torakotomii a následně zahájili okluzi přední sestupné větve levé věnčité tepny (LAD, RIA). Po 20 minutách byla okluze ukončena a následovala tříhodinová fáze reperfuze. Velikost levé komory srdeční (LV), ohrožené oblasti (AR) a infarktového ložiska (IS) byla stanovena na řezech srdce planimetricky po barvení manganistanem draselným a 2,3,5-triphenyltetrazolium chloridem. Reprodukovatelnost výsledků umožňuje použití normalizovaných hodnot AR/LV a IS/AR.

Výsledky: Třídní hladovění snížilo produkci LFP v srdeční tkáni: 1.9 +/- 0.1 RFU u hladovějících potkanů (n=9) vs. 3.1 +/- 0.3 RFU u kontrol (n=7), p<0.005. Rozsah infarktového ložiska představoval u hladovějících 48.5 +/- 3.3 % ohrožené oblasti (IS/AR), zatímco u kontrol 74.3 +/- 2.2 %, p< 0.005.

Závěr: Akutní kalorická restrikce u potkana omezuje radikálové poškození srdce a rozsah ložiska infarktu myokardu.

Podpora projektu: Grant GAUK č. 60009/2009 (200100) a Centra výzkumu chorob srdce a cév MSMT 1M 0510.

P55. ROLE HIPOKAMPU PŘI ROZEZNÁVÁNÍ POZICE VZDÁLENÉHO OBJEKTU

Levčák D., Nekovářová T. a Klement D.
Fyziologický ústav AV ČR

Školitel: MUDr. Jan Bureš, DrSc.

Úvod: Role hipokampu v kognici je intenzivně zkoumána. Nicméně je stále nejasné, zda je tato struktura klíčová pro rozeznávání pozice vzdáleného objektu.

Cíl: Objasnit roli hipokampu při zpracování informace o vzdálených objektech.

Materiál a metody: V prostorově-operantním testu rozeznávání pozice vzdáleného objektu, který byl vyvinutý v naší laboratoři, potkani pozorují vzdálený objekt na LCD monitoru a vyhodnocují jeho polohu nezávisle na vlastní poloze. Podstatou úlohy je, že operantní odpovědi (mačkání páčky) jsou posilovány pouze, pokud objekt, který se pohybuje po monitoru, projíždí určitou oblastí (rozeznávání pozice pohybujícího se objektu) nebo pokud je stojící objekt zobrazen na určitém místě (rozeznávání pozice stacionárního objektu). Potkani byli trénováni do asymptotické úrovně výkonnosti. Poté jsme zkoumali funkci hipokampu v těchto testech pomocí aplikace blokátoru Na⁺-napěťově ovládaných kanálů tetrodotoxinu a agonisty GABAA-receptorů muscimolu do obou hipokampů.

Výsledky: Naše výsledky ukazují, že hipokampální inaktivace narušila schopnost rozeznávání pozice vzdáleného objektu v obou testech (rozeznávání pozice pohybujícího se i stacionárního objektu).

Závěr: Podařilo se nám prokázat, že schopnost rozeznávat pozici vzdáleného objektu je závislá na hipokampu. Toto zjištění rozšiřuje naše poznatky o roli této struktury v kognici.

Podpora projektu: Podpořeno grantem GA ČR 309/09/0286, výzkumnými centry MŠMT ČR 1M0517 a MŠMT ČR LC554 a výzkumným projektem AV0Z50 110509.

P56. PROGNOSTICKÝ VÝZNAM IMUNOLOGICKÝCH FAKTORŮ U T AKUTNÍ LYMFBLASTICKÉ LEUKÉMIE

Zdráhalová K.¹, Froňková E.², Mejstříková E.²

¹Klinika dětské hematologie a onkologie; ²Laboratoř molekulární genetiky, FN Motol, Praha

Školitel: Eva Froňková

Úvod: T akutní lymfoblastická leukémie (T-ALL) představuje 15 % dětských ALL. Zatím u tohoto typu nebyly nalezeny jednoznačné genetické a imunologické prognostické faktory.

Cíl: Zhodnotit význam imunofenotypu včetně exprese časných diferenciačních znaků a aberantní exprese myeloidních markerů pro prognózu pacientů s T-ALL.

Materiál a metody: Pomocí průtokové cytometrie bylo analyzováno 106 dětských pacientů s de novo T-ALL diagnostikovaných v ČR od 9/1996 do 12/2008. Křivky přežití byly sestaveny metodou podle Kaplan-Meiera a výsledky hodnoceny log-rank testem. Srovnání nominálních hodnot bylo prováděno Fisherovým testem a kontinuálních proměnných Mann-Whitneyovým testem.

Výsledky: Převahu pacientů tvořili chlapci (80 %), typický byl vyšší věk (medián 10,7 let). 3-letý EFS (pravděpodobnost přežití bez události) byl pro celou skupinu 84%. Použitý léčebný protokol neměl dopad na prognózu. Špatná odpověď na prednisonovou předfázi (PPR) (≥ 1000 blastů/ul v periferní krvi den 8) byla u 28 % pacientů, což je významně více než u B prekurzorové ALL (7,7 %). EFS byl u PPR významně horší než u PGR (dobrá odpověď na prednison) – 67 % oproti 92 %. Dle klasifikace EGIL byli pacienti zařazeni do early (=pro a pre T) (n=25), intermediate (n=36), mature (n=39) podtypu. Early T měla signifikantně horší výsledky 3-letého EFS (70 % oproti 90 % ostatních 2 skupin). Při kombinaci kritérií imunofenotypu a odpovědi na prednison dosahovala skupina early T a PPR EFS jen 25 %, v kombinaci early T a iniciální leukocytóza nad $50 \times 10^9/L$ 29 %. 10 pacientů (9,8 %) splňovalo kritéria hybridní leukémie podle EGIL, 9 z 10 mělo early T imunofenotyp. Přes přítomnost myeloidních znaků vedla ALL indukční chemoterapie ve všech případech k dosažení kompletní remise. Exprese časných diferenciačních znaků CD34 a CD117 neměla vliv na prognózu.

Závěr: Zařazení pacientů s T-ALL podle EGIL klasifikace mělo signifikantní dopad na prognózu. Nejhorší výsledky měla skupina early T, především v kombinaci se špatnou odpovědí na prednison nebo s leukocytózou nad $50 \times 10^9/L$. Tito pacienti jsou potenciálními kandidáty na intenzifikaci léčby. Exprese CD34 a CD117 neměla význam pro prognózu. Hybridní leukémie byly asociovány s early T imunofenotypem a i přes současnou expresi myeloidních znaků dobře odpovídaly na lymfoidně orientovanou indukci.

P57. GLYCINOVÉ RECEPTORY V MNTB KONTROLNÍCH A KOCHLEOTOMIZOVANÝCH POTKANŮ

Hrušková B., Trojanová J. a Tureček R.
Ústav experimentální medicíny AVČR, Praha

Školitel: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

Úvod: Glycinové receptory (GlyR) jsou pentamery tvořené kombinacemi čtyř typů α - a jednoho typu β - podjednotky. Podjednotkové složení ovlivňuje kinetické vlastnosti receptoru, a tak může měnit jeho fyziologickou roli. Hlavní neurony (PC) mediálního jádra trapézovitého tělesa (MNTB) převádějí excitační signály na glycinergní inhibici. Tato činnost je zásadní pro přesnou lokalizaci zdroje zvuku u savců. Vedle glutamatergního terminálu (Heldův kalich), jsou PC inervovány řadou drobných inhibičních vláken s nezcela objasněnou funkcí. Receptor-mediátorový inhibiční systém MNTB prodělavá během postnatálního vývoje nápadné změny probíhající hlavně v období nástupu sluchu. Mohou tak být pod vlivem přirozené kochleární aktivity.

Cíl: Cílem studie bylo zjistit, jaké je podjednotkové složení GlyR na pre- a postsynaptických neuronech MNTB. Také jsme sledovali vliv nepřítomnosti normální kochleární aktivity na vývoj inhibičního systému u potkanů po oboustranné kochleární ablaci.

Materiál a metody: Pokusy byly prováděny na řezech mozku 13-72 denních potkanů. Proudové vyvolané aplikací GABA/glycinu byly snímány technikou terčíkového zámku. Řezy byly zafixovány, inkubovány s primárními protilátkami (Ab) mířenými proti podjednotkám GlyR a gephyrinu. Sekundární Ab byly fluorescenčně značeny. Kochleární ablace byla provedena u 5 denních potkanů.

Výsledek: Použití látek se selektivním vlivem na jednotlivé fenotypy GlyR (picrotoxin, ICS-205,930, cyano-triphenylborát) odhalilo, že presynaptické kalyceální GlyR jsou α -homomery, zatímco somatické GlyR globulárních keříčkových buněk (GBC) a postsynaptické receptory na tělech PC jsou $\alpha\beta$ - heteromery. Podtypy α - podjednotek byly určeny imunohistochemicky. Selektivní značení produkovala pouze anti- $\alpha 1$ Ab. Anti- $\alpha 2$ či - $\alpha 3$ Ab neposkytly v MNTB specifický signál. Přítomnost β - podjednotky potvrdilo značení β -asociovaného proteinu gephyrinu. Také se ukázalo se, že kochleotomie v raném věku zabrání vývojovému přesmyku GABAR na GlyR u kalyceárních inhibičních receptorů.

Závěr: GBC exprimují dva typy GlyR-somatické $\alpha 1\beta$ heteromery a kalyceální $\alpha 1$ homomery. Dochází tedy k selektivnímu směřování β podjednotky. PC produkují receptory s rychlou kinetikou schopné sledovat vysokofrekvenční aktivitu, zatímco nízká koncentrace glycinu přetékající z inhibičních terminálů aktivuje vysoko afinitní kalyceární receptory. Vývojové změny v inhibičním systému MNTB potkana jsou závislé na kochleární aktivitě i na dalších procesech.

P58. PRM1 AND PRM2 GENE POLYMORPHISMS IN CZECH MEN WITH IDIOPATHIC OLIGOZOOSPERMIA, NORMOZOOSPERMIC MEN AND MEN WITH PROVEN FERTILITY

Křenková P.¹, Tuettelmann F.², Paulasová P.¹, Diblík J.¹, Macek M. jr.¹, Macek M. sr.¹

¹Department of Biology and Medical Genetics, ²nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic; ²Institute of Human Genetics, University of Münster, Münster, Germany

Supervisor: Doc. MUDr. Milan Macek sr., CSc.

Introduction: Protamines (PRM1 and PRM2) are the major nuclear proteins playing the crucial role in the differentiation of spermatids. During spermatogenesis, protamines replace histones in the sperm head to achieve a high condensation of chromatin. This is essential for DNA integrity and the proper sperm maturation. Haploinsufficiency of these genes causes infertility in mice. Therefore many studies tried to disclose the role of PRM1/2 variants in male infertility. No association of variants to spermatogenesis

Aims: The aim of our study was to verify the impact of protamine variants and ACC haplotype on spermatogenesis in Czech male and specify their clinical and diagnostics utilization

Materials and Methods: PRM1 and PRM2 sequencing was performed on 3130xl Genetic Analyzer in 52 men with idiopathic oligozoospermia, in 52 normozoospermic and in 75 males with proven fertility.

Results: In PRM1 we detected one common variant (g.230A>C) with an overall minor allele frequency (MAF) of 28.5% and three rare variants (g.54G>A, g.102G>T and g.166C>T) with overall frequency 0.56%, 0.28% and 0.28%, respectively. In PRM2 we detected two common polymorphisms (g.298G>C and g.373C>A) with overall MAF 49.1% and 29.3%, respectively and two rare variants (g.201C>T, g.377C>T), both with overall frequency 0.28%. The prevalence of all detected variants and ACC haplotype between men with idiopathic oligozoospermia and controls was not significantly different. We have not confirmed any relationship of the ACC haplotype to the sperm concentration.

Conclusions: We confirmed that the protamine variants are rare and are not directly related to spermiogenesis disorders in Czech males. Our results of haplotype analyses indicate that the impact of PRM1 and PRM2 gene variants on increased sperm counts is dependent on population genetic background and/or epigenetic impacts of different environment and lifestyle factors.

Support: Supported by MZ0FNM2005.

References: (1) Tüttelmann et al. Int J Androl. 2010 33(1):240-248.

PH59. POSITIVE ALLOSTERIC MODULATOR OF METABOTROPIC GLUTAMATE RECEPTORS SUBTYPE 4, PHCCC IN THREE MODELS OF EPILEPTIC SEIZURES ELICITED IN IMMATURE RATS

Szczurowska E., Mareš P.

Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: Prof. Pavel Mareš

Introduction: PHCCC, N-phenyl-7-(hydroxyimino) cyclopropa[b]chromen-1acarboxamide, is a positive allosteric modulator of mGluR4 metabotropic glutamate receptor subtype. mGluR4 is involved in generation of normal and pathological rhythms in the adult and developing brain. Activation of mGluR4 seems to be beneficial for treating several types of Parkinson-like symptoms and produces anxiolytic-like effect in rodents.

Aims: Because of insufficient evidence concerning influence of activated mGluR4 receptor subtype on epileptic seizures in immature brain, we studied effects of PHCCC administration in a three different models of seizures.

Materials and Methods: PTZ-induced convulsions were elicited in 7-, 12-, 18- and 25-day-old rats. PTZ (100mg/kg) was administered 30 min after pretreatment with PHCCC in doses of 1, 3, 10 and 20 mg/kg i.p. Rats were observed for 30 min after PTZ injection. Incidence, pattern and latencies of convulsions were registered. For cortical afterdischarges (ADs) experiment rat pups 12, 18 and 25 days old were implanted with silver epidural stimulation and recording electrodes. ADs were elicited by low-frequency stimulation of sensorimotor cortex. Stimulations were repeated six times with 10-min intervals. Five min after the first AD, PHCCC was injected (3 and 10 mg/kg i.p.). Total duration of ADs and severity of motor phenomena were evaluated. PTZ-induced absence-like seizures experiment was performed in 18- and 25-day-old rats. Four recording electrodes were used for EEG registration. Two 20-mg/kg doses of PTZ were administered with a 20-min interval. PHCCC was injected in a dose of 3 or 10 mg/kg 15 min after the first dose of PTZ (20mg/kg i.p.). Latency, number and duration of the RMA were evaluated in 10 min intervals. Control animals in all three experiments received solvent dimethylsulfoxide (DMSO)

Results: PHCCC did not significantly influence motor seizures induced by PTZ in any age group. In contrast, PHCCC administration caused significant ADs prolongation and increased the incidence and duration of RMA. DMSO did not significantly affect any model used.

Conclusions: These results suggest that mGluR4 activation in developing brain have clear proconvulsant effect. It supports hypothesis that activated presynaptic mGluR4 at corticothalamic connections reduce glutamate release in a manner which can lead to limitation of GABAergic inhibition in RTN and aggravate spike-and-wave EEG rhythm.

Support: Supported by grant 200 107 of the GAUK and projects LC-554 and 305/08/H037

P60. VARIABILITA MĚŘENÍ A JEJÍ VLIV NA VÝSLEDEK ANTENATÁLNÍHO SCREENINGU VROZENÝCH VAD

Loucký J.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol; IMALAB s. r. o. Zlín

Školitel: Prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

Úvod: Antenatální screening vrozených vývojových vad je multidisciplinární činností, na které se podílejí gynekologové, laboratorní pracovníci, ultrazvukoví specialisté a genetici. Smyslem provádění screeningu je pomocí dostupných, neinvazivních metod určit těhotenství se zvýšeným rizikem výskytu vývojové vady. Provádění screeningu je založeno na měření obsahu specifických biochemických látek v krvi matky a také na ultrazvukovém vyšetřování plodu.

Cíl: Cílem práce bylo ověření, jakým způsobem může být celkový výsledek rizika výskytu vývojové vady ovlivněn variabilitou měření jednotlivých markerů. Porovnával jsem také způsob hodnocení variability měření u biochemických a UZ parametrů.

Materiál a metody: Metodou pro dlouhodobé sledování parametru v biochemické laboratoři je provádění interní a externí kontroly kvality. V případě antenatálního screeningu se sleduje také parametr log SD, který popisuje rozdělení hodnot v rámci daného souboru. Stejný parametr je možné použít také pro hodnocení ultrazvukového markeru NT. Celkový statistický výsledek rizika přítomnosti vývojové vady je tedy závislý na kvalitě měření těchto parametrů. Z pohledu biochemických vyšetření (PAPP-A, AFP, HCG, uE3) se dlouhodobá nestabilita používaných analytů může projevit kolísáním hodnot těchto rizik. K tomuto analytickému faktoru je nutno přičíst také vstupní údaje o těhotenství, zejména správné určení délky gravidity pomocí měření CRL. Tato skutečnost ovlivňuje přepočítání absolutních hodnot biochemických markerů na násobky mediánu, které se pro vlastní výpočet rizika používají.

Výsledky: Práce ukazuje, jakým způsobem se mění výsledné riziko, pokud se hodnoty biochemických vyšetření budou pohybovat v intervalu daném směrodatnou odchylkou od dlouhodobého průměru interní kontroly kvality. UZ marker NT je pro různé operátory hodnocen také pomocí parametru log SD a dále sledováním týdenního nárůstu hodnoty v průběhu těhotenství. Naše výsledky ukazují, že existují významné rozdíly mezi UZ operátory a každý z nich by měl být v praxi považován za samostatný zdroj měření. Sledování kvalitativních parametrů u biochemických vyšetření bylo provedeno na souboru 4000 gravidních žen. UZ parametr byl hodnocen v souboru 2000 gravidních žen, kdy měření prováděli čtyři certifikovaní sonografisté.

Závěr: Statisticky vypočtený výsledek screeningu VVV je závislý na kvalitě všech prováděných vyšetření. Zvláštní místo má provádění UZ vyšetření, které nelze automatizovat a má z pohledu operátora provádějícího UZ vyšetření vysoce individuální charakter.

P61. ZKUŠENOSTI S ČASNOU KOREKČÍ JEDNOSTRANNÝCH A OBOUSTRANNÝCH ROZŠTĚPŮ RTU U NOVOROZENCŮ

Černý M.¹, Borský J.²

¹Novorozenecké oddělení s JIRP; ²Klinika plastické chirurgie FNKV, Praha

Školitel: Prof.MUDr. Martin Vízek, DrSc.

Úvod: Ve sdělení uvádíme pětileté zkušenosti s časnými primárními suturami rtu (do 8 dnů po porodu) u novorozenců s rozštěpem rtu i patra.

Cíl: Sledování a hodnocení perioperačních komplikací, porovnání dlouhodobých výsledků časné operace a operace v 6 měsících věku.

Materiál a metody: V Praze bylo v období 12/2005–1/2011 operováno stejným chirurgem 159 novorozenců s jednostranným a 20 novorozenců s oboustranným rozštěpem rtu. Extubaci provádíme po příjezdu z operačního sálu s nástupem dostatečné spontánní ventilace. Součástí péče je reflexní orofaciální rehabilitace od 1. pooperačního dne se zácvikem matky. Propuštění je realizováno u jednostranných rozštěpů 4. pooperační den, u oboustranných 5. pooperační den. Nosní fixátory jsou ponechávány 2 měsíce.

Výsledky: U pacientů se nevyskytly žádné komplikace operační či ve vztahu k celkové anestezii. Vzhled jizvy v porovnání se skupinou dětí operovaných po 3. měsíci života je výrazně lepší. Negativní vliv na růst a vývoj horní čelisti po časné operaci nebyl prokázán.

Závěr: Při prenatalní diagnostice obličejového rozštěpu je vhodné vyšetření v prenatalní poradně FN Motol, aby rodiče mohli být náležitě seznámeni s problematikou rozštěpové vady a s možností operativního řešení v prvních dnech po porodu. Časnou korekci rozštěpu rtu je možné doporučit jako metodu bezpečnou a efektivní.

P62. NANOFIBERS WITH ADHERED LIPOSOMES AS A NOVEL DRUG DELIVERY SYSTEM FOR TISSUE ENGINEERING

Míčková A.¹, Rampichová M.¹, Jakubová R.¹, Martinová L.², Košťáková E.², Lukáš D.², Amler E.¹

¹2nd Faculty of Medicine, Department of Biophysics; ²Technical University of Liberec, Department of Nonwovens

Supervisor: RNDr. Doc. Evžen Amler, CSc.

Introduction: Typical electrospun polymer fibers were reported to have similar diameters as natural extracellular matrix filaments. Thus, nanofibers appear to be the ideal material for scaffold development in regenerative medicine.

Aims: The aim of this study was to investigate the interaction between liposomes and novel nanofiber scaffolds and to develop a novel drug delivery system. Attention was devoted to a system of liposomes containing fetal bovine serum (FBS) and their effect on chondrocyte seeding and proliferation.

Materials and Methods: Electrospinning of polymers PHEMA and PCL was carried out on a NanospiderTM technology device. Liposomes were prepared using the extrusion method. To achieve adhesion, liposomes were spread on the nanofiber scaffolds and incubated overnight. Fluorescent spectroscopy measurement was performed for liposomes – nanofiber interaction. Cryo field emission scanning microscopy (FESEM) was performed for liposomes visualization. To study chondrocyte proliferation MTT assay as well as confocal and fluorescence microscopy was used.

Results: We employed PHEMA and PCL nanofibers as a prefigurative model for nanofiber functionalization by liposomes. Adhesion of liposomes on nanofibers was measured using fluorescent spectroscopy. It was shown, that around 30% of liposomes remained bound to nanofiber mesh after overnight washing. PHEMA scaffolds were seeded with chondrocytes and biologically tested. Stimulating factors immobilized in tightly anchored liposomes on the scaffold positively influenced cell adhesion and proliferation. The best chondrocytes adhesion was observed on PHEMA/FBS. Proliferation of cells was significantly higher on PHEMA/FBS compared to control.

Conclusions: Nanofibers from PHEMA and PCL are promising substances for artificial cartilages construction. Serum containing liposomes, immobilized on the nanofiber mesh, proved to serve as a cell targeting system, significantly improving chondrocyte proliferation. Consequently, such a system could be useful as a drug delivery tool and could find a broader application in tissue engineering.

Support: Supported by Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (research programs NPV II 2B06130 and 1M0510), and Grant Agency of the Academy of Sciences grant No. IAA500390702 and by Czech Science Foundation grant No. GA202/09/1151, EU project BIOSCENT ID number 214539, the Grant Agency of the Charles University grant No.96610, No.119009, No.97110 and No.119209.

PE63. FUNCIONALIZOVANÁ POLYPROPYLENOVÁ SÍTKA PRO OPERATIVNÍ ŘEŠENÍ INCIZIONÁLNÍ KÝLY

East B.¹, Plecner M.^{2,3}, Krejčí T.¹, Rampichová M.^{2,3}, Prosecká E.^{2,3}, Otáhal M.⁵, Lytvynets A.⁴, Amler E.^{2,3}, Hoch J.¹

¹Chirurgická klinika 2. LF UK; ²Ústav biofyziky 2. LF UK; ³1 Laboratoř tkáňového inženýrství, Ústav experimentální medicíny AVČR, v. v. i.; ⁴Ústav experimentální medicíny AVČR, v. v. i.;

⁵Laboratoř aplikovaných výpočtů, laboratoř biomechaniky člověka, ČVUT

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.

Úvod: Kýla v jizvě je nejčastější pooperační komplikací a ačkoliv její manifestace trvá řadu let, pravděpodobně je její příčinou narušená funkce fibroblastů ve tvořící se jizevnaté tkáni během několika dní po operaci. Reparační kýla v jizvě je zatížena neakceptovatelně vysokým rizikem recidivy stoupajícím s každou další reoperací. Současně používané chirurgické sítě nesnižují, ale pouze oddalují recidivu o několik let a jejich použití je zatíženo řadou závažných nežádoucích účinků. Nanovláknenné struktury se úspěšně využívají v tkáňovém inženýrství jako skafoldy pro růst buněk včetně fibroblastů a v předchozím roce jsme úspěšně ověřili viabilitu fibroblastů vysazených na tuto síť v laboratorních podmínkách.

Cíl: Cílem projektu je připravit funkcionalizovanou chirurgickou síť potaženou vrstvou kaprolaktonu ve formě nanovláken a otestovat její biokompatibilitu na zvířecím modelu.

Materiál a metody: 27 laboratorních králíků plemene činčila bylo rozděleno 6 skupin a byla jim vytvořena středočárová laparotomie o délce 5 cm uzavřená jedním z následujících způsobů. a. prostou suturou Prolene 3-0 pokračujícím stehem, či suturou vyztuženou jednou z následujících sítí o rozměrech 4x6cm: b. Prolene, c. Prolene + PCL nanovláknna, d. Prolene + PCL nanovláknna inkubovaná s růstovými faktory, e. PCL nanovláknny, f. PCL nanovláknny inkubovanými s RF. Zvířata byla utrácena 6 týdnů po výkonu a jejich břišní stěna podrobena histologickému vyšetření a měření tržného napětí zhojené rány.

Výsledky: U 5 králíků došlo k tvorbě podkožního abscesu okolo sítě a 2 králíci byli ze studie pro jeho rozsah vyřazeni. Při makroskopickém hodnocení byla Prolene síťka zavzatá do tuhé vazivové tkáně a při zkoušce tržného napětí došlo k odtržení od zdravé břišní stěny. Kombinace Prolene a PCL nanovláken se jevila spíše jako opouzdřená vazivem než vazivem prorostlá. PCL nanovláknna jak s tak bez přídavku růstových faktorů makroskopicky vykazovala nejlepší biokompatibilitu a vyšší tržné napětí než prostá sutura. Definitivní výsledky biomechanického testu ani histologického vyšetření nejsou k 28.2.2011 k dispozici.

Závěr: Předběžné výsledky hojení laparotomie po prosté sutuře i použití Prolene sítíky jsou v souladu s literaturou. PCL ve formě nanovláken jsme použili jako první s cílem vylepšit vlastnosti Prolene sítě. Překvapením byly výsledky, jakých bylo dosaženo použitím samotných PCL nanovláken přes to, že samotné nevykazují žádnou mechanickou sílu a pevnost. Jeví se tak jako vhodný kandidát nejen pro léčbu, ale zejména pro prevenci incizionální hernie.

P64. STRUKTURÁLNÍ ZMĚNY V PRŮDUŠKOVÉ SLIZNICI U MALÝCH DĚTÍ S VYSOKÝM RIZIKEM PRO ROZVOJ ASTMATU

Urbanová K.¹, Pohunek P.¹, Uhlík J.²

¹Pediatrická klinika 2. LF UK a FNM; ²Ústav histologie a embryologie 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

Úvod: Průduškové astma patří k nejčastějším chronickým onemocněním dětského věku. Strukturální změny v průduškové sliznici dospělých astmatiků byly již detailně studovány. V minulosti byl vznik těchto změn (remodelace) dáván v souvislost s dlouhodobě probíhajícím zánětem v dýchacích cestách, který je uváděn jako základní charakteristika astmatu. Nicméně, patologické nálezy ve smyslu remodelace průduškové stěny byly již dokumentovány i u dětských astmatiků školního věku. Znamená to, že jsou nejspíše přítomny podstatně dříve, než se původně předpokládalo. V současnosti máme jen velmi omezené množství informací o začátku a vývoji těchto změn u malých dětí s opakovanými pískoty, které jsou nejpravděpodobnějšími kandidáty pro vznik průduškového astmatu. Protože průběh tohoto onemocnění v raném dětském věku lze jenom obtížně předvídat, je také náročné identifikovat rizikovou skupinu dětí a zvolit vhodnou strategii jejich léčby.

Cíl: Cílem studie je analyzovat abnormality v průduškové sliznici u malých dětí s vysokým rizikem pro rozvoj astmatu v pozdějším věku.

Materiál a metody: Do studie byly zařazeny děti do čtyř let věku, indikované k vyšetření flexibilním bronchoskopem z jiných klinických důvodů než pro opakované pískoty. Celkem jsme získali vzorky od 23 pacientů.

Dvanáct pacientů splňovalo kritéria prediktivního indexu astmatu dle Castro-Rodrigueze, dalších jedenáct dětí tvořilo kontrolní skupinu. Bioptické vzorky průduškové sliznice byly studovány v přehledném barvení ve světelném mikroskopu, dále jsme pomoci imunohistochemických metod analyzovali přítomnost některých zánětlivých markerů (množství neutrofilních leukocytů a myofibroblastů v subepiteliálním vazivu).

Výsledek: Tloušťka bazální membrány u pacientů z astmatické skupiny je signifikantně větší než u kontrol (4,14 um vs. 3,53 um). Na druhé straně jsme nepozorovali významnější rozdíl mezi početním zastoupením neutrofilních leukocytů a myofibroblastů. Toto může souviset se skutečností, že žádné z vyšetřovaných dětí nebylo zcela zdravé, všichni pacienti byli indikováni k bronchoskopickému vyšetření pro různé chronické nebo recidivující respirační obtíže.

Závěr: První známky remodelace průduškové sliznice (ztluštění bazální membrány) jsou přítomny již v časném dětském věku u pacientů predisponujících ke vzniku astmatu. Tyto poznatky by mohly pomoci lépe identifikovat konkrétní rizikové pacienty a pomoci zlepšit časně terapeutické strategie s cílem zabránit vzniku ireverzibilních morfoloických změn v pozdějším věku.

Podpora projektu: IGA MZČR č. NT 11444 a NT 11459

P65. THE EFFECT OF IRON OXIDE NANOPARTICLE LABELING ON HUMAN MESENCHYMAL STROMAL CELL PROLIFERATION AND MIGRATION

Kapcalová M.^{1,2}, Mareková D.^{1,2}, Babič M.^{2,3}, Syková E.^{1,2} and Jendelová P.^{1,2}

¹Institute of Experimental Medicine AS CR; ²Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University; ³Institute of Macromolecular Chemistry AS CR

Supervisor: RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

Introduction: Human mesenchymal stromal cells (hMSCs) have already found their way into the clinic and might have a beneficial effect on the treatment of different degenerative disorders. For pre-clinical and clinical trials, it will be important to track stem cells noninvasively in order to evaluate their therapeutic effect and grafting location to rule out potentially dangerous side effects; however, cell labeling must not affect cell proliferation or migration. Magnetic resonance imaging (MRI) provides a noninvasive method for studying the fate of transplanted cells labeled with contrast agents such as superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION).

Aims: The aim of this study was to compare the growth and migration of SPION-labeled human mesenchymal stem cells (hMSC) with that of unlabeled hMSCs.

Materials and Methods: Human MSCs were labeled with maghemite SPIONs coated with poly-L-lysine (PLL), the commercial contrast agent Endorem® or Endorem®-combined with a poly-L-lysine transfection agent (End/PLLc). Labeling efficiency was determined by counting the number of Prussian Blue-stained and unstained cells. Cell proliferation and migration were assessed using a xCELLigence Real Time Cell Analyzer (RTCA). As chemoattractants, we used SDF1 factor (60ng/ml), MCP-1 (30ng/ml) and conditioned media prepared from injured spinal cord (CM-SCI), brain (CM-PCHL) or a human glioblastoma (CM-T).

Results: The efficiency of cell labeling was 38,5% for Endorem, 65% for End/PLLc and 91.5% for PLL. All three magnetic labels slowed down cell proliferation during the first 10 hours with the greatest decrease seen in cells labeled with PLL. Free migration was slightly facilitated in Endorem and End/PLLc-labeled cells, while a small decrease was observed in PLL-labeled cells. Cell migration towards the chemoattractants was facilitated in all experiments, except for CM-T and MCP-1. The best results were obtained with End/PLLc, while the worst and slowest migration was seen in cells labeled with PLL.

Conclusions: Although magnetic labeling slows down cell proliferation, it does not affect the cells' ability to migrate towards chemoattractants. A high efficiency of cell labeling can have a negative effect on cell proliferation and migration, and this should be taken into consideration when selecting a suitable contrast agent.

Support: AVOZ50390703, LC554, 1M0538, GAČR 203/09/1242 and GAČR 309/08/H079

P66. POHLAVNÍ A VĚKOVÉ ROZDÍLY V GABAERGNÍ TRANSMISI V SUBSTANTIA NIGRA PARS RETICULATA U KRYS

Chudomel O.¹, Bojar M.¹, Moshé S. L.², Syková E.³, Galanopoulou A. S.²

¹Neurologická klinika FN Motol; ²Department of Neurology Albert Einstein College of Medicine, USA; ³Ústav Neurověd 2. LF UK

Školitel: Doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Úvod: Citlivost GABAergních neuronů v substantia nigra pars reticulata (SNR) k látkám působícím na GABAA receptory (GABAAR) závisí na věku a pohlaví. GABA působí na synaptické a extrasynaptické GABAAR. Tyto receptory se liší podjednotkovým složením, které determinuje jejich farmakokinetické vlastnosti. Synaptické GABAAR obsahují podjednotky ve složení $\alpha 1-3\beta 2/3\gamma 2$, extrasynaptické $\alpha 4\beta 2/3\delta$.

Cíl: Cílem studie bylo popsat vývojové, pohlavní a farmakologické rozdíly v synaptické a tonické GABAergní inhibici u krys.

Materiál a metody: Experimenty byly provedeny v SNR krys starých 5-9, 12-15 a 28-32 dní. Pomocí in situ hybridizace a imunohistochemie byla zjištěna exprese $\alpha 1$, $\alpha 3$ a δ podjednotek v populaci GABAergních neuronů. Synaptická a tonická inhibice byla měřena in vitro metodou patch clamp na mozkových řízcích. U spontánních postsynaptických proudů (sIPSC) byly měřeny frekvence, amplituda, aktivační a deaktivční časy a přenos náboje za jednotku času. Tonická inhibice (TI) byla demaskována podáním inhibitoru GABAAR bicucullinu v dávce 100 μM a měřena jako rozdíl proudu před a po nástupu jeho efektu. TI byla modifikována inhibitory zpětného vychytávání GABA, GABAA agonisty a modulátory.

Výsledky: V časném vývoji je exprese $\alpha 3$ podjednotky vysoká a $\alpha 1$ nízká. Tento poměr se postupně mění a v PN28-32 je exprese $\alpha 1$ vysoká a výskyt $\alpha 3$ je minimální. Se změnou podjednotkového složení korelují rychlejší aktivační a deaktivční časy sIPSC, větší amplituda a frekvence. sIPSC PN5-9 samců mají vyšší frekvenci, amplitudu a náboj přenesený za jednotku času než samice. PN28-32 samců mají větší amplitudu a rychlejší kinetiku než stejně staré samice. Efekt $\alpha 1$ -selektivního modulátoru zolpidemu na sIPSC vzrůstá s věkem. Expese δ podjednotky je vysoká u PN5-9 a PN12-15 zvířat a klesá u PN28-32. Velikost TI koreluje s množstvím δ podjednotky a je největší na počátku vývoje, s věkem klesá a je stejná u obou pohlaví. TI je augmentována inhibitory zpětného vychytávání GABA a překvapivě i zolpidemem, látkou, jež nepůsobí přes δ ale přes $\alpha 1\gamma 2$ podjednotky. Agonisté GABAAR muscimol a THIP ovlivňují TI v závislosti na věku a pohlaví.

Závěr: Změny v expresi $\alpha 1$ a $\alpha 3$ podjednotek vysvětlují pohlavně a věkově vázané rozdíly ve vlastnostech sIPSC a rozdílnou sensitivitu k zolpidemu. Velikost TI koreluje s expresí δ podjednotky a je zprostředkována i non- δ GABAAR.

Podpora projektu: NIH NINDS grants NS20253, GACR 309/08/H079

P67. VYUŽITÍ ČÍPOVÉ TECHNOLOGIE KE STUDIU EXPRESNÍHO PROFILU CHRONICKÝCH MYELOPROLIFERATIVNÍCH NEOPLAZEM

Otáhalová E.¹, Strnad H.², Prchal J. T.³

¹Ústav hematologie a krevní transfuze; ²Ústav molekulární genomiky AV ČR; ³University of Utah

Školitel: Josef T. Prchal

Úvod: Polycythemia vera (PV), esenciální trombocytémie (ET) a primární myelofibróza (PMF) tvoří skupinu BCR-ABL negativních chronických myeloproliferativních neoplazem (MPN). Společným rysem je bodová mutace JAK2 V617F nalezená u většiny pacientů s PV a více než poloviny pacientů s ET a PMF.

Cíl: Cílem našeho projektu je studium dalších mutací a deregulací, které odlišují tato fenotypově velmi rozdílná klonální hematologická onemocnění.

Materiál a metody: Mononukleární buňky (MNC) izolované z periferní krve MPN pacientů (PV: n=20, ET: n=7, PMF: n=8) a 6 zdravých dárců jsme pomocí 21 denní in vitro kultury v trifázovém tekutém mediu diferenciovali do erytroidní linie. Ve vzorcích napříč kultivací (den 1, 7, 14, 21) jsme pomocí BeadChip Illumina technologie sledovali genovou expresi. Získaná data jsme statisticky analyzovali v programu R.

Výsledek: Pomocí komparativních analýz jsme pro další studium vybrali skupiny kandidátních genů nejvíce odlišně exprimovaných u jednotlivých MPN diagnóz ($p \leq 0,05$, $|\log_{2}FC| \geq 1$): PVxPMF-153 genů, PVxET-40 genů, ETxPMF-136 genů. Jedním z genů, které zaujaly naši pozornost, se stal inhibitor cyklin-dependentních kináz 2A (CDKN2A; p14; p16). V souběžném projektu studia jednonukleotidových polymorfizmů (SNP) napříč genomem granulocytů 20 PV pacientů metodou SNP čipů byla, kromě předpokládané a dříve popsané 9pLOH, u 2 pacientů navíc identifikována malá 9pLOH v oblasti CDKN2A (9p21LOH). Pomocí TaqMan® Copy Number Assay jsme detegovali 2 kopie CDKN2A a potvrdili tak zachování diploidního počtu alel. V exonu 2 a 3 a kódujících oblastech exonu 1 jsme nenašli žádné mutace. Metodou RT-PCR v reálném čase jsme našli zvýšenou expresi CDKN2A v erytroidních progenitorech, granulocytech a destičkách pacientů s touto 9p21LOH v porovnání s PV pacienty bez 9p21LOH a zdravými dárci.

Závěr: Četnost mutací CDKN2A napříč širokým spektrem různorodých onemocnění činí z tohoto genu velmi zajímavý cíl ke studiu. Souběžně se věnujeme studiu role dalších kandidátů ze skupiny genů odlišně exprimovaných u MPN diagnóz. Lepší poznání expresního profilu různých stádií diferenciace erytroidní řady by mohlo vést k objasnění patogenéze jednotlivých MPN, tedy k identifikaci spouštěcího mechanismu i následných dějů progresu onemocnění.

Podpora projektu: Podpora: GAUK 200095.

P68. DENDRITICKÉ BUŇKY U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU (T1D) A JEJICH PŘÍBUZNÝCH S GENETICKY DEFINOVANÝM STUPNĚM RIZIKA ROZVOJE T1D

Kayserová J.¹, Štechová K.², Ulmannová T.², Šumník Z.², Koloušková S.², Šedivá A.¹, Špišek R.¹

¹Ústav imunologie, UK 2. LF a FN Motol, Praha; ²Pediatrická klinika, UK 2. LF a FN Motol, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Anna Šedivá, DrSc.

Úvod: Dendritické buňky (DC) jsou hlavní antigen-prezentující buňky, schopné indukovat a regulovat imunitní reakci. DC hrají zásadní roli v rozvoji a udržení periferní tolerance. Určitý deficit DC tudíž může vést k rozvoji autoimunitního onemocnění. Jako model autoimunitního onemocnění jsme si zvolili diabetes mellitus 1. typu (T1D) – orgánově-specifické autoimunitní onemocnění se známými autoantigeny.

Cíl: V naší studii jsme srovnávali počet subtypů DC – myeloidní (mDC) a plasmacytoidní (pDC) v periferní krvi a funkční vlastnosti DC po stimulaci TLR ligandy u pacientů s T1D a jejich prvostupňových příbuzných s pacienty s diabetes mellitus 2. typu (T2D) a se zdravými kontrolami.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme 30 pacientů s T1D: 21 pacientů s čerstvým záchytem T1D (T1Dč), 9 pacienty s dlouhodobě kompenzovaným T1D (T1Dch) a 12 pacientů s T2D, 31 prvostupňových příbuzných (rodič, sourozenec, dítě) a 29 zdravých kontrol bez autoimunitního onemocnění, i s negativní rodinnou anamnézou na autoimunitní onemocnění. U pacientů s čerstvým záchytem T1D byla periferní krev odebrána po stabilizaci vnitřního prostředí. DC v periferní krvi jsme stanovili pomocí kombinace monoklonálních protilátek pomocí FACS Aria. Periferní mononukleární buňky jsme stimulovali ligandy Toll-Like receptorů (TLR) a pomocí Luminex kitů jsme stanovili koncentraci cytokinů v supernatantech.

Výsledky: Signifikantně nižší počet myeloidních DC i plasmacytoidních DC byl nalezen u obou skupin T1D pacientů (106/L, průměr±SD: T1Dč mDC 12.8±5.7, pDC 7.2±4.3; T1Dch mDC 9.1±3.6, pDC 6.8±2.9) a u prvostupňových příbuzných pacientů s T1D (mDC 13.5±5.4, pDC 9.2±6.4) v porovnání se zdravými kontrolami (mDC 20.4±9.1; pDC 13.9±8.1) ($p < 0.001$). Skupinu příbuzných jsme rozdělili dle pozitivivity autoprotilátek v séru (anti-GAD65, anti-IA-2). mDC u příbuzných s pozitivními autoprotilátkami (10.8±3.5) byly signifikantně nižší než u příbuzných s negativními autoprotilátkami v séru (16.3±5.7) a u zdravých kontrol (20.4±9.1; $p < 0.01$, reps. $p < 0.05$). Pacienti s T1D produkovali signifikantně vyšší množství IFN α po stimulaci TLR 9 (pg/mL, průměr±SD: 615.5±968.4) v porovnání se zdravými kontrolami (173.6±173.3; $p < 0.01$).

Závěr: Naše studie prokázala početní i funkční deficit subpopulací DC, především pDC, u pacientů a jejich příbuzných s orgánovým autoimunitním postižením.

Podpora projektu: Práce byla podpořena projekty IGA NT/11407-5, MZ0FNM2005 a GAČR P302/10/1679.

P69. VLIV HEPARINU NA HLADINU PLAZMATICKÉHO PROTEINU A SPOJENÉHO S TĚHOTENSTVÍM U NEMOCNÝCH S AKUTNÍM KORONÁRNÍM SYNDROMEM

Hájek P.¹, Macek Sr. M.², Lashkevich A.², Klučková H.², Hladíková M.², Hansvenclová E.¹, Malý M.¹, Veselka J.¹, Krebsová A.³

¹Kardiologická klinika UK 2. LF a FN Motol; ²Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN Motol; ³Department of Internal Medicine/Cardiology, Virchow Klinikum, Humboldt University, Berlin, Germany

Školitel: Doc. MUDr. Milan Macek Sr., Ph.D.

Úvod: Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (PAPP-A) je zkoumán jako slibný časný marker akutního koronárního syndromu (AKS). Některé práce však naznačují, že hladina PAPP-A může být ovlivněna heparinem.

Cíl: Cílem naší práce bylo studovat dynamiku změn PAPP-A v závislosti na podání heparinu.

Materiál a metody: Hladina PAPP-A byla stanovena u 30 pacientů s AKS s elevací ST úseku (STE-AKS) léčených přímou koronární angioplastikou (PCI), u 10 pacientů s plánovanou PCI, u 12 nemocných, u nichž byla provedena selektivní koronární angiografie (SKG) a současně podán heparin (transradiální přístup, intrakoronární ultrazvuk) a u 5 nemocných se SKG provedenou transfemorálním přístupem (bez podání heparinu) s normálním nálezem. Vzorky byly odebírány před zahájením výkonu, bezprostředně po jeho ukončení a za 1, 2, 4, 6, 12 a 24 hodin po ukončení výkonu.

Výsledek: Podání heparinu vedlo k významnému zvýšení PAPP-A nejen u všech STE-AKS pacientů, ale i u nemocných bez AKS a dokonce i pacientů s normálním koronárním angiogramem. U SKG bez podání heparinu nebyly zjištěny žádné změny PAPP-A. Hladina PAPP-A významně korelovala s výší ACT (activated clotting time; $r = 0,71$; $p = 0,0001$). Zvýšení PAPP-A nebylo závislé na délce PCI. Hladina PAPP-A rychle poklesla během 1–2 hodin. K návratu k normálním hodnotám (< 10 mlU/l) došlo u 80% STE-AKS pacientů během 12ti hodin. Pokles PAPP-A u pacientů heparinovaných pro PCI (medián 4,3 hodiny) či angiografii (medián 5,4 hodiny) byl významně rychlejší ($p < 0,05$).

Závěr: Naše výsledky ukazují, že heparin významně zvyšuje hladinu PAPP-A. Tento fakt je třeba brát v úvahu při hodnocení diagnostického a prognostického významu PAPP-A u AKS. Pomalejší normalizace hladin PAPP-A u STE-AKS pacientů může být způsobena zvýšením PAPP-A v důsledku existence nestabilního plátu.

Podpora projektu: VZ FNM VZFN000064203

P70. PARVALBUMIN AND CALRETININ IMMUNOREACTIVITY OF THE PRELIMBIC AND INFRA LIMBIC CORTEX IN THE RAT

Salaj M.¹, Cerman J.¹, Druga R.^{1,2}

¹Department of Anatomy 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague;

²Institute of Anatomy, 1st Medical Faculty, Charles University, Prague

Supervisor: Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.

Introduction: The medial prefrontal cortex can be subdivided into dorsal and ventral subdivisions. Both subdivisions differs significantly functionally, in their connectivity and in expression of transmitters and neuropeptides. Our recent findings indicate that the PL and IL areas belong among brain structures that are seriously and severely damaged after status epilepticus (SE) in young immature animals.

Aims: For further exploration of inhibitory functions of the PL and IL areas, a precise description of distribution and morphology of inhibitory interneurons might be of great value. We used calretinin (CR) and parvalbumin (PV) immunocytochemistry, as these calcium binding proteins are well known as markers of different interneuronal subpopulations.

Materials and Methods: Brains of six male Wistar rats weighing 350 – 400 g were used for this study. Brains were postfixed, cryoprotected, sectioned at 50 µm and stained immunohistochemically for CR and PV. The qualitative and quantitative analysis was performed using an image analysing software (Cell * F, Olympus) and digital camera (Olympus DP 70) attached to the microscope Olympus BX 51.

Results: The infralimbic area

The overall level of CR – immunopositivity in the IL is markedly lower than that in the neighbouring prefrontal cortex. CR- ir neurons were distributed in all layers but their density was higher in superficial layers. Vertically oriented bipolar / bitufted neurons prevailed in all layers. Conversely to CR, on PV stained sections the IL is characterized by higher immunopositivity in all cortical layers. PV – ir neurons were more numerous in deep layers. The prelimbic area

CR-immunoreactivity, distribution of neurons and their somatodendritic characteristics in the PL is similar to other medial prefrontal areas. The level of PV- immunostaining was similar as in other prefrontal areas but lower than in the IL.

Conclusions: We studied the general pattern of calretinin and parvalbumin immunoreactivity as well as morphological features and density of CR- and PV-immunopositive neurons in the rat prelimbic and infralimbic prefrontal areas. The PL differed from the IL in lower PV immunoreactivity. In the IL was low CR immunoreactivity, while PV immunoreactivity was higher in all layers.

Support: This study was supported by the grant 304/07/1137 of the Grant Agency of the Czech Republic.

P71. PROGNOSTICKÝ A DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM DETEKCE EXPRESE PROTEINU INI1 U EMBRYONÁLNÍCH NÁDORŮ CNS

Kuncová K.¹, Vícha A.², Churáčková M.², Gajdoš P.³, Kodet R.¹, Zámečník J.¹

¹Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol; ²Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol; ³Centrum laboratorních činností, Státní zdravotní ústav

Školitel: Doc. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.

Úvod: Atypický teratoidní / rhabdoidní nádor (AT/RT) je vzácný nádor centrálního nervového systému (CNS), postihující především kojence a batolata. Ve WHO klasifikaci nádorů CNS je řazený spolu s meduloblastomy a primitivními neuroektodermálními nádory CNS (PNET-CNS) mezi embryonální nádory CNS. Histologicky je AT/RT často obtížně odlišitelný od ostatních embryonálních nádorů CNS. Toto odlišení je však vzhledem k agresivnějšímu chování AT/RT pro nutnost intenzifikace terapie nezbytné. Recentně je v této diferenciální diagnostice WHO klasifikací nádorů CNS doporučovaná imunohistochemická (IHC) detekce proteinu INI1. Tento protein je součástí ATP dependentního chromatin remodelujícího komplexu SWI-SNF, kódovaného genem hSNF5/SMARCB1. Změny v tomto genu a následná ztráta exprese proteinu INI1 je dle WHO klasifikace nádorů CNS typická pro většinu AT/RT. Četné práce pokládají ztrátu exprese INI1 dokonce za definující předpoklad diagnózy AT/RT.

Cíl: Cílem práce je ověření významu IHC detekce INI1 v diferenciální diagnostice embryonálních nádorů CNS v naší sestavě těchto vzácných nádorů.

Materiál a metody: Soubor tvořilo 29 pacientů, z toho 8 pacientů s AT/RT, 17 pacientů s meduloblastomy a 4 pacienti s PNET-CNS. Diagnóza byla stanovena dle kritérií recentní WHO klasifikace nádorů CNS. K imunohistochemickému průkazu exprese proteinu INI1 byla použita protilátka Anti-BAF47 (ředění 1:500), (BD Transduction Laboratories™). Křivky přežití jsme sestavili pomocí Kaplan-Meierovy metody. Srovnání přežívání jednotlivých skupin pacientů bylo provedeno log rank testem.

Výsledky: Ztráta exprese proteinu INI1 byla zaznamenána u 6/8 AT/RT, ale i u 1/17 meduloblastomu a u 1/4 PNET-CNS. Ztráta exprese proteinu INI1 nebyla statisticky signifikantně horším prognostickým faktorem přežití pacientů s embryonálními nádory CNS (pro přežití bez progresu nemoci (EFS) i celkové přežití (OS)). Histopatologická diagnóza AT/RT bez ohledu na expresi proteinu INI1 naopak byla v porovnání s ostatními embryonálními nádory CNS negativním prognostickým faktorem (EFS: $p=0,0065$; OS: $p=0,0045$).

Závěr: Ztráta exprese proteinu INI1, podmíněná změnou v genu hSNF5/SMARCB1, se v našem souboru neukázala být zcela určující pro diagnózu AT/RT – část AT/RT typické morfologie tuto změnu nevykazovala, naopak u jiných histologických typů nádorů byla ojediněle detekovatelná také. V diferenciální diagnostice embryonálních nádorů CNS se tedy IHC detekce exprese proteinu INI1 ukázala být významným, nikoliv však jednoznačným diagnostickým znakem.

Podpora projektu: VZMZOFNM2005

P72. HEREDITARY NON-SYNDROMIC DEAFNESS DFNB49 IN CZECH GYPSY FAMILIES – USEFULNESS OF HOMOZYGOSITY MAPPING ON SNP CHIPS

Brožková D.¹, Laštůvková J.², Štěpánková H.³, Seeman P.¹

¹DNA laboratory, Department of Child Neurology, Charles University 2nd Medical School, Prague; ²Department of Medical Genetics, Masaryk Hospital, Ústí nad Labem; ³Department of Clinical Genetics, Hospital České Budějovice

Supervisor: Pavel Seeman

Introduction: Non-syndromic hearing loss is genetically extremely heterogeneous, but in vast majority of cases follows autosomal recessive (AR) inheritance. Mutations in the GJB2 gene are the most common cause of AR non-syndromic hearing loss named as DFNB. Gypsy population is known to have a higher risk for AR diseases.

Aims: The aim was to localize the homozygous regions in genomes of affected deaf patients and heterozygous in their unaffected parents and find out the causal genes within these regions.

Materials and Methods: We used homozygosity mapping in Czech Gypsy family with a deaf child and a known consanguinity of parents where mutations in the GJB2 gene were previously excluded.

The genomic DNA samples from the affected patient, his both parents and unaffected sister were hybridized on the Affymetrix GeneChip Human Mapping 250K NspI arrays. Data were analysed in the Affymetrix software - Genotyping Console. We searched for homozygous segments in the affected patient which were heterozygous in the parents. Homozygous segments of 2Mb size or larger were selected for further analysis.

Results: The 20 homozygous regions of 2Mb size or larger were screened for the genes or loci already associated with the autosomal recessive non-syndromic hearing loss (DFNB loci). In one of the largest homozygous region (9 Mb) only one gene previously associated to hearing loss, was found, namely: Marveld2. Mutations in the Marveld2 gene are cause of genetic deafness DFNB49. Sequencing of all 6 coding exons and flanking intron parts of Marveld 2 gene in our Gypsy patients revealed the splice-site mutation IVS 4+2 T-C. This mutation was found in the homozygous state only in the patient, the parents were heterozygous. The same mutation was already described and studied in 5 Pakistani patients with non-syndromic hearing loss. Testing of further 16 Czech Gypsy deaf patients without GJB2 mutations revealed positive finding of the same mutation in further two unrelated Gypsy patients, showing that DFNB49 is probably an important cause of deafness in Gypsy population.

Conclusions: These are probably the first cases of DFNB49 in the Gypsy population. Our finding may have important implications for further Gypsy patients and families with non-syndromic hearing loss. Homozygosity mapping using SNP chips followed by sequencing of candidate genes within the largest homozygous intervals proved to be a powerful tool for finding causal mutations in Gypsy families with autosomal recessive disorders.

Support: Grant GAUK 309

P73. ADIPOSE TISSUE PLASTICITY IS COUPLED WITH SEX-DEPENDENT EFFECTS OF DIFFERENT DIETS ON GLUCOSE HOMEOSTASIS

Janovska P., Medrikova D., Macek Jilkova Z., Bardova K., Rossmeisl M. and Kopecky J.
Department of Adipose Tissue Biology, Institute of Physiology of the Academy of Sciences
of the Czech Republic v. v. i., Prague, Czech Republic

Supervisor: MUDr. Jan Kopecky, DrSc.

Introduction: Human as well as animal studies demonstrate less severe obesity-related metabolic disorders including peripheral tissue insulin resistance and dyslipidemia and/or later onset these adverse phenotypes in female than in male subjects. However, mechanisms underlying a relatively low susceptibility of females to metabolic syndrome remain largely unknown.

Aims: The goal of this study was to assess the role of adipose tissue in less severe impairment of glucose homeostasis in females compared to males during the course of high-fat (HF) feeding in mice

Materials and Methods: Female and male mice of the C57BL/6N strain were fed either a chow or obesogenic HF diet for 15 or 35 weeks after weaning. Metabolic markers and hormones in plasma, glucose homeostasis, adipocyte size, inflammatory markers and cellularity of gonadal (gWAT) and subcutaneous (scWAT) adipose tissue depots were evaluated.

Results: HF-fed males were heavier than females until week~20, after which the body weight stabilized at similar level (55-58g) in both sexes. Greater weight gain and fat accumulation in female were associated with larger adipocytes in gWAT and scWAT at week 35. While adipose tissue macrophage infiltration was in general less frequent in scWAT, it was reduced in both fat depots of female as compared to male mice; however the expression of inflammatory markers in gWAT was similar in both sexes at week 35. In females, later onset of the impairment of glucose homeostasis and better insulin sensitivity were associated with higher plasma levels of adiponectin (week 0, 15 and 35). Compared to males, female mice demonstrate increased capacity for adipocyte enlargement in response to a long-term HF-feeding, which is associated with reduced adipose tissue macrophage infiltration and with better insulin sensitivity.

Conclusions: Our data suggest that adipose tissue expandability and adiponectin levels might play a role in the sex differences observed in obesity-associated metabolic disorders.

P74. p16 IMMUNOPROFILING OF SQUAMOUS LESIONS OF THE UTERINE CERVIX WITH LIMITED DIAGNOSTIC REPRODUCIBILITY

Škapa P.¹, Robová H.², Rob L.² a Zámečník J.¹

¹Department of Pathology and Molecular Medicine; ²Department of Obstetrics and Gynaecology, Charles University, 2nd Medical School, University Hospital Motol, Prague

Supervisor: Doc. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.

Introduction: Cyclin-dependent kinase inhibitor p16, which is involved in the regulation of cell cycle, may be overexpressed as a consequence of infection with oncogenic high-risk human papillomavirus. The immunostaining for p16 is therefore a feature of HPV-associated precancerous lesions (cervical intraepithelial neoplasias; CIN) and carcinomas of the uterine cervix and it may be used as an auxiliary method for the histopathological evaluation.

Aims: The implications of p16 immunohistochemistry for the histopathological classification of squamous lesions of the uterine cervix with a limited diagnostic reproducibility (CIN I and atypical immature metaplasia; AIM) was analyzed.

Materials and Methods: A total of 200 cervical biopsies was divided into groups of CIN I (n=29), CIN II (n=48), CIN III (n=32), squamous metaplasia (M; n=51), squamous metaplasia with histological signs of HPV infection (M-HPV; n=16) and AIM (n=24). All samples were analyzed immunohistochemically with p16 antibody. The intensity (strong; weak) and horizontal distribution (focal; diffuse) of the immunoreaction were assessed and the most common staining pattern for each group was identified.

Results: The typical immunostaining patterns for p16 were as follows: CIN I – diffuse weak positivity (51.7%), CIN II – diffuse strong positivity (87.5%), CIN III – diffuse strong positivity (93.75%), M-HPV – focal weak positivity (56.3%) and M – negativity (86.3%). AIM was the most heterogeneous group showing typical immunoprofiles of high-grade CIN (25.0%), M-HPV (33.3%) and M (29.2%). The biologic potential of AIM lesions with focal strong p16 immunoreaction (12.5%) remains unclear. Significant heterogeneity was observed also in CIN I group which contained lesions with high grade CIN (24.1%) and M-HPV (20.7%) immunoprofiles.

Conclusions: p16 immunohistochemistry may be used for the reclassification of categories of cervical squamous lesions with the limited diagnostic reproducibility and the heterogeneous p16 expression (CIN I and AIM).

Support: Supported by the research projects GAUK 85608 and MZ0FNM2005.

P75. KRYOPREZERVACE NEOVLIVŇUJE MECHANICKÉ VLASTNOSTI MITRÁLNÍCH ALLOGRAFTŮ

Hlubocký J.¹, Nováček V.², Klepáček J.³, Kochová P.², Špatenka J.⁴

¹II. chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie VFN Praha; ²Katedra nových technologií ZČU Plzeň; ³katedra mechaniky ZČU Plzeň; ⁴TC FN Motol Praha

Školitel: prim. MUDr. Jaroslav Špatenka, CSc.

Úvod: Zatímco aortální allografty jsou hlavně v indikaci infekční endokarditidy běžně používány, mitrální allografty mají zatím poměrně úzké klinické využití. Největší výhody přinášejí u pacientů s endokarditidou trikuspidální chlopně. Zatímco aortální allografty jsou standardně zpracovávány a uchovávány ve tkáňových bankách, u mitrálních allograftů tomu tak doposud nebylo. Zatím nebylo potvrzeno, zda-li technika zpracování a zejména kryoprezervace neovlivňují vlastnosti takto zpracovaných mitrálních allograftů.

Cíl: Cílem práce je v experimentu prokázat zda-li ovčí mitrální allografty mění svoje mechanické vlastnosti v důsledku zpracování a kryoprezervace.

Materiál a metody: Za použití trakčního stroje Zwick Roell jsme vyšetřili 13 kryoprezervovaných ovčích mitrálních allograftů. Jako kontrolní skupinu jsme použili 39 čerstvých ovčích mitrálních allograftů. U všech jsme použili stejný testovací protokol. Vždy jsme použily celou mitrální chlopeň od anulu, přední cíp se šlašinkami a papilární sval. Vzorky byly upnuty do stroje fixací za anulus a papilární sval. Byla definována iniciální síla, která napínala celý vzorek a po pěti minutách byl zvýšen tah o 1mm. Zaznamenané křivky byly korelovány s pětiparametrovým Maxwelllovským modelem, který hodnotil visko-elastické chování jednotlivých vzorků. Naměřené hodnoty každého cyklu a každého vzorku byly zpracovány T testem a F testem.

Výsledky: Mezi testovanou a kontrolní skupinou nebyly nalezeny žádné signifikantní rozdíly ani u viskozních ani u elastických parametrů ($p=0.05$).

Závěr: Mechanické vlastnosti mitrálních allograftů nejsou ovlivněny kryoprezervací. Tento výsledek je dalším krokem vedoucím ke klinickému používání mitrálních allograftů.

P76. VYŠETŘENÍ NGAL U KARDIOCHIRURGICKÝCH PACIENTŮ ZA ÚČELEM PREDIKCE RENÁLNÍCH KOMPLIKACÍ

Lejsek J.^{1,2}, Průša R.², Pechová M.²

¹Klinika anesteziologie a resuscitace UK 2. LF a FN Motol; ²Ústak klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

Úvod: Stanovení neutrofilního s gelatinázou B asociovaného lipokalínu (NGAL) představuje časný marker akutního renálního selhání. Jeho sekrece není ovlivněna hypovolemií ani podávanými diuretiky. U kardiochirurgických pacientů dochází k diagnosticky významnému zvýšení koncentrace NGAL v moči již 2 hodiny po operaci. Včasná detekce rozvíjejícího se renálního selhání umožňuje časné zavedení terapeutických opatření.

Cíl: Zavedení vyšetření NGAL v moči by bylo vhodnou metodou časné detekce renálního selhání. Dalším cílem bylo stanovení vhodného schématu vyšetření.

Materiál a metody: Soubor tvořilo deset pacientů ve věku 49–76 let (průměrný věk 60,7 let), 8 mužů, 2 ženy. 9 pacientům byla provedena revaskularizace myokardu pro ischemickou nemoc srdeční, jeden pacient podstoupil náhradu aortální chlopně.

Vzorky moči k vyšetření byly odebírány 1. po úvodu do celkové anestezie a dále v odstupu 2. 1 hodina, 3. 5 hodin a 4. 10 hodin od konce operace resp. od příjmu na jednotku intenzivní péče. Zároveň se stanovením NGAL byla ve vzorcích moči vyšetřena koncentrace kreatininu. Kvantitativní stanovení koncentrace NGAL bylo prováděno na automatickém biochemickém analyzátoru ARCHITECT i4000 firmy ABBOT imunoturbidimetrickým testem.

Výsledky: Průměrné hodnoty NGAL byly 1. v úvodu operace 8,185 µg/l, 2. 1 hodinu po skončení operace 7,92 µg/l, 3. 5 hodin po skončení operace 10,129 µg/l a 4. 10 hodin od konce operace 16,383 µg/l. Poměry koncentrací NGAL v moči ke koncentracím kreatininu v moči byly: 1. 0,536, 2. 2,216, 3. 3,197 a 4. 4,51. U pacientů s renálními komplikacemi byly hodnoty koncentrace NGAL: 1. 10,735 µg/l, 2. 4,35 µg/l, 3. 7,7 µg/l a 4. 8 µg/l. Poměry koncentrací NGAL a kreatininu v moči u těchto pacientů byly: 1. 0,52, 2. 1,1, 3. 2,535 a 3. 1,87.

Závěr: Dynamika vývoje poměru NGAL a kreatininu v moči nedosahuje v průměru dvojnásobných vzestupů oproti předchozí hodnotě v souboru všech pacientů. U pacientů s renálními komplikacemi lze sledovat dynamiku vývoje poměru koncentrace NGAL a kreatininu v moči ve dvojnásobném zvýšení oproti předchozí hodnotě mezi 1. a 2. a 2. a 3. odběrem. Renální komplikace by tedy bylo možné predikovat na základě dvojnásobného vzestupu poměru koncentrace NGAL a kreatininu v moči u vzorků odebraných v úvodu operace a hodinu po jejím skončení anebo hodinu po skončení operace a v odstupu pěti hodin od konce operačního výkonu. Dále bylo zjištěno, že poměr mezi koncentrací NGAL a kreatininu v moči u vzorků odebraných v úvodu operace koreluje s věkem pacienta.

P77. NEUROFIBROMATÓZA TYPU 1- cDNA ANALÝZA GENU NF1

Bendová Š.¹, Vasovčák P.¹, Maříková T.¹, Petrák B.², Kalužová M.², Křepelová A.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN Motol; ²Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol

Školitel: MUDr. Anna Křepelová, CSc.

Úvod: Neurofibromatóza typu 1 (NF1 MIM162200) patří mezi neurokutánní syndromy primárně postihující tkáň derivovanou z nervových kmenových buněk. Charakteristickými projevy onemocnění u člověka jsou neurofibromy, skvrny barvy bílé kávy, Lishovy noduly, gliomy optiku a kostní displázie. Příčinou tohoto autozomálně dominantního onemocnění jsou zárodečné mutace tumor supresorového genu NF1 (17q11.2), které jsou zodpovědné za nedostatečné množství kódovaného proteinu, neurofibrominu. Centrální oblast neurofibrominu je homologní s částí GTPázu aktivujícího proteinu (GAP), který pomocí své fosfatázové aktivity inhibuje funkci Ras proto-onkogenu. Vlivem mutací v NF1 genu dochází k negativnímu ovlivnění dráhy Ras proto-onkogenu a tím k nadměrné buněčné proliferaci. Gen NF1 sa vyznačuje vysokou mutační mírou, až 50% mutací vzniká de novo. Mutační analýza je ztížena především značným rozsahem genu, rovnoměrným rozmístěním a množstvím mutací v kódující oblasti.

Cíl: Cílem této práce bylo zavést molekulárně genetickou metodu, která by nám umožnila efektivně a spolehlivě vyšetřit celou kódující oblast genu NF1 a odhalit tak kauzální mutace odpovědné za onemocnění NF1.

Materiál a metody: Vyšetřovaný soubor tvořilo 15 pacientů splňujících NF1 kritéria. Těmto pacientům byla odebrána žilní krev, z které byla pomocí kitu PAXgene Blood RNA izolována mRNA. Reverzní transkripce mRNA jsme získali celou kódující (cDNA) oblast NF1 genu, kterou jsme pomocí 20 nově navržených párů primerů sekvenovali. Nalezené germinální mutace jsme ověřili přímou sekvenací příslušného exonu na úrovni gDNA. Pokud kauzální mutace nebyla nalezena, gDNA pacientů jsme vyšetřili metodou multiplex ligation probe-dependent amplification (MLPA). Tato metoda umožňuje odhalit i takové genové přestavby, které není možné detekovat přímou sekvenací cDNA.

Výsledek: Analýzou cDNA jsme našli 13 kauzálních germinálních mutací (5 doposud v literatuře nepopsaných) zodpovědných za vznik onemocnění NF1. 7 mutací bylo typu delece, 4 nonsense, 1 mutace měnila sestřihové místo a 1 byla typu indels. Všichni vyšetřeni pacienti splňovali diagnostická kritéria. Mezi genotypem a fenotypem pacientů není zřejmá žádná signifikantní závislost.

Závěr: Pomocí mutační analýzy NF1 genu založené na izolaci mRNA, její reverzní transkripci do cDNA a následně přímé sekvenaci PCR produktů jsme objasnili molekulárně genetickou příčinu onemocnění u 87,5 % vyšetřených pacientů a považujeme tak metodu za velmi přínosnou.

P78. FRAKCIONOVANÁ PLAZMATICKÁ SEPARACE A ADSORPCE NEOVLIVŇUJE HEMODYNAMICKÉ PARAMETRY U EXPERIMENTÁLNÍHO AKUTNÍHO SELHÁNÍ JATER

Lásziková E.^{1,5}, Pražák J.², Pantoflíček T.^{3,5}, Ryska O.⁴, Koblihová E.^{3,5}, Jurenka B.¹, Ryska M.^{3,5}

¹Oddělení anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče ÚVN Praha; ²Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče 2. LF UK; ³Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha; ⁴Chirurgická klinika 1. LF UK, Nemocnice na Bulovce Praha; ⁵Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad, 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec CSc., MBA, Prof. MUDr. Miroslav Ryska CSc.

Úvod: Akutní jaterní selhání je relativně vzácné onemocnění s vysokou mortalitou. Kromě elevace jaterních testů, poruchy srážlivosti, rozvoje encefalopatie a rizika fatálních infekčních komplikací bývá tento syndrom doprovázený hemodynamickou instabilitou. Léčba pomocí FPSA – frakcionovaná plazmatická separace a adsorpce (přístroj Prométheus) – je metodou, která může být použita v terapii tohoto onemocnění.

Cíl: Zhodnotit vliv frakcionované plazmatické separace a adsorpce (FPSA) na hemodynamiku u experimentálního modelu akutního jaterního selhání (ASJ) na velkém laboratorním zvířeti ve srovnání s kontrolní skupinou.

Materiál a metody: Celkem u 21 laboratorních prasat bylo vyvoláno metodou devaskularizace ASJ. Léčba pomocí FPSA byla provedena u 14 z nich. Dalších 7 zvířat bylo zařazeno do kontrolní skupiny. Během pokusu jsme monitorovali parametry hemodynamiky v 0., 3., 6., 9. a 12. hodině, biochemické parametry a ICP. Data byla statisticky analyzována pomocí T-testu a Mann-Whitneyovým neparametrickým testem, za významný byl považován rozdíl $p < 0,05$.

Výsledky: V obou skupinách jsme zaznamenali signifikantní snížení indexované systémové vaskulární rezistence (SVRI) v čase 3., 6., 9. a 12. hodině a signifikantní zvýšení tepové frekvence (HR) a indexovaného srdečního výdeje (CI) v 6., 9. a 12. hodině v porovnání s hodnotami na začátku pokusu. U skupiny zvířat s léčbou FPSA jsme nenašli signifikantní rozdíly středního arteriálního tlaku (MAP), indexované systémové vaskulární rezistence (SVRI) a laktátu ($p > 0,05$) ve srovnání s kontrolní skupinou. Významné snížení intrakraniálního tlaku (ICP) jsme pozorovali u skupiny léčené FPSA ($p < 0,05$). Ve 3. hodině jsme zaznamenali signifikantní snížení tepové frekvence (HR) ve skupině s FPSA. V 9. hodině bylo signifikantní zvýšení indexovaného srdečního výdeje (CI) a v 6. a 12. hodině signifikantní snížení tlaku v zaklínění (PAWP).

Závěr: Eliminační terapie přístrojem Prométheus je podpůrnou terapií v léčbě ASJ do doby reparace jaterního parenchymu či transplantace jater. Naše experimentální práce s léčbou akutního jaterního selhání pomocí přístroje Prométheus u velkého laboratorního zvířete neprokázala signifikantní změny hemodynamických parametrů.

P79. PORUCHY SLUCHOVÉ FUNKCE U DĚTÍ A DOSPÍVAJÍCÍCH LÉČENÝCH CISPLATINOU

Pelánová J.¹, Šuta D.¹, Sumerauer D.³, Zápotocký M.³, Groh D.^{1,2}, Kabelka Z.², Starý J.³, Syka J.¹

¹Ústav experimentální medicíny AV ČR, ²Klinika dětské ORL a ³Klinika dětské hematookologie 2. LF UK a FNM, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.

Úvod: Terapie cisplatinou je spojena s rizikem ototoxického poškození sluchu. Je snahou vytvořit takový soubor audiologických testů, jež by umožnil odhalit první změny sluchu dříve, než by mohly mít dopad na komunikační možnosti pacienta.

Cíl: Cílem studie bylo popsat a zhodnotit výsledky audiologických testů standardního klinického a experimentálního rozšířeného testovacího módu vzhledem k predikci poškození sluchu při terapii cisplatinou.

Materiál a metody: K vyšetření sluchových funkcí byl použit záznam otoakustických emisí (spontánní emise, tranzientní emise a distorzní produkty); tónová audiometrie v rozsahu 125 Hz–16 kHz. Zkoumaný soubor tvořilo 25 pacientů ve věku 6–19 let převážně s osteosarkomy, průměrně 4 roky po ukončení terapie, v předchorobí bez patologie v oblasti hlavy a krku. Kontrolní skupinu tvořilo 120 zdravých dobrovolníků. V běžné klinické praxi se užívá tónová audiometrie 125 Hz–8 kHz, záznam distorzních produktů a transientních emisí.

Výsledek: U přibližně 90 % uší dětí léčených cisplatinou bez ohledu na kumulativní dávku byl sluchový práh do 2 kHz ještě v mezích fyziologické normy. Na 10 kHz a výše bylo přítomno výrazné postižení sluchu u všech léčených dětí. Na středních frekvencích se postupně determinovaly dvě podskupiny pacientů: 1) rezistentní skupina se ztrátou sluchu na 4 kHz nedosahující 25 dB, a jen mírným postižením do 8kHz, často však již s výraznými prognosticky zásadními změnami na nejbližších vyšších frekvencích klinikovi v běžné praxi nedostupných, a 2) skupina vulnerabilní se sluchovou ztrátou od 4 kHz přesahující 35 dB - významné postižení sluchu v celém testovaném rozsahu. Zhoršení sluchových funkcí se odráželo i ve snížení amplitudy a počtu vrcholů otoakustických emisí. U obou skupin osciloval medián kumulativní dávky cisplatinu kolem 480 mg/m², přesto zhruba u poloviny pacientů – rezistentní skupina - je sluch v rozsahu standardního audiogramu do 8 kHz jen mírně postižen, v některých případech je zachován téměř v mezích normy.

Závěr: Výsledky ukázaly, že evaluace a predikce poškození sluchu vzhledem ke kumulativní dávce na základě rutinního testování není dostatečná a může vést k falešně negativnímu posouzení poškození sluchu. Reálnější zhodnocení sluchových funkcí umožňuje audiometrie v rozšířeném frekvenčním rozsahu, která byla použita v této studii.

Podpora projektu: Grant MŠMT Centrum neurověd LC554.

POZNÁMKY

POZNÁMKY