

VĚDECKÝ PROGRAM STŘEDA 9. 4. 2014

10:30

ZAHÁJENÍ

Vladimír Komárek, děkan 2. LF UK

10:40-12:30

Sekce 1 NÁDORY

Předsedající J. Trka, V. Komárek

50'

EPIGENETICS OF HEMATOPOIESIS: IMPLICATIONS FOR CANCER

Jozef Madžo

Temple University, Philadelphia, USA

1 FLOW CYTOMETRIC FINDINGS IN BONE MARROW AND BLOOD IN PATIENTS WITH GATA-2 MUTATION AND COMPARISON TO PATIENTS WITH MYELODYSPLASIA AND APLASTIC ANEMIA

Nováková M. ¹, Janda A. ², Wlodarski M. W. ³, Suková M. ⁴, Campr V. ⁵, Žaliová M. ¹, Froňková E. ¹, Vodičková E. ⁶, Zapletal O. ⁷, Blatný J. ⁷, Lejhancová K. ⁸, Pospíšilová D. ⁹, Votava T. ¹⁰, Kuhn T. ¹¹, Zemanová Z. ¹², Trka J. ^{1,4}, Hrušák O. ^{1,4}, Starý J. ⁴, Mejstříková E. ^{1,4}

1-CLIP- Department of Paediatric Haematology and Oncology, Charles University, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, 2-Center of Chronic Immunodeficiency (CCI), University Medical Center Freiburg and University of Freiburg, Germany, 3-Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University of Freiburg, Freiburg, Germany, 4- Department of Paediatric Haematology and Oncology, Charles University, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, 5-Department of Pathology and Molecular Medicine, Charles University, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, 6-Department of Clinical hematology, University Hospital Motol, Prague, 7-Department of Paediatric Haematology, Children's University Hospital, Brno, 8-Department of Pediatrics, University Hospital Hradec Kralove and Charles University in Prague, Hradec Králové, 9-Department of Pediatrics, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, 10-Department of Pediatrics, University Hospital Plzeň, Plzeň, 11- Department of Pediatric Medicine, University Hospital Ostrava, Ostrava, 12-Center of Oncocytogenetics, Institute of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Charles University in

Prague, Prague
Supervisor: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

2 VALPROIC ACID INCREASES INCIDENCE OF CD133+ CELLS THAT SHOW STEM CELL CHARACTERS IN NEUROBLASTOMA

Khalil MA¹, Hraběta J.¹, Procházka P.², Groh T.³, Maříková H.¹, Cipro Š.⁴, Eckschlager T.¹

1-Department of Paediatric Haematology and Oncology, UH Motol, Prague, 2-Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences, Prague, 3-Department of Biochemistry, Faculty of Science, Prague, 4-Department of Pathology and Molecular Medicine, UH Motol, Prague

Supervisor: prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

3 CHARAKTERIZACE APOPTOTICKÉ DRÁHY SPOUŠTĚNÉ V LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH BUŇKÁCH VYSOKÝM HYDROSTATICKÝM TLAKEM

Moserová I.¹, Truxová I.^{1,2}, Heřmanová I.³, Bartůňková J.^{1,2}, Špíšek R.^{1,2}, Fučíková J.^{1,2}

1-Sotio, Praha, Česká Republika, 2-Ústav imunologie 2. lékařské fakulty UK a FN v Motole, Praha, Česká Republika, 3-CLIP, 2. lékařská fakulta UK a FN v Motole, Praha, Česká Republika

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

4 KORELACE EPIGENETICKÉHO POZADÍ A GENOVÉ EXPRESE CEBP α GENU S MOLEKULÁRNĚ-GENETICKÝMI SUBTYPY BCP-ALL A ABERANTNÍ EXPRESÍ ANTIGENU CD2.

Slámová L.¹, Starková J.¹, Fišer K.¹, Froňková E.¹, Rezková Řezníčková L.¹, Kubričanová-Žaliová M.¹, Polgárová K.¹, Starý J.², Trka J.¹, Hrušák O.¹, Mejstříková E.¹

1-CLIP- Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FNM, Praha, 2-Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FNM, Praha

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

12:30-13:30

**EKG Motolský speciál O Lásce a Sexu
(nejen pro budoucí gynekology)
Igor Malijevský, Vít Janota, Kateřina Tučková, Karel Kuna, Miro Švolík, Jaromír99**

13:30-14:15

POSTEROVÁ SEKCE 1
(Kalinová, Cinek, Vargová, Průhová)
Postery - příspěvky č. P01- P28

14:15-15:10

Sekce 2 NOVOROZENCI
Předsedající **B. Fišárková, P. Pohunek**

15'

**DIAGNOSTICKÝ PŘÍSTUP K MALÉMU DÍTĚTI
S BRONCHIÁLNÍ OBSTRUKCÍ**
Petr Pohunek
Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

- 5 ANALÝZA MECHANISMU VZNIKU PORUCH SRDEČNÍHO RYTMU U PLODŮ**
Tomek V., Škovránek J., Gilík J.
Dětské kardiocentrum FN v Motole
Školitel: prof. MUDr. Bohuslav Ošťádal, DrSc.
- 6 ÚLOHA DĚDIČNÝ FAKTORŮ V ETIOLOGII A PATOGENEZI BILIÁRNÍ ATRÉZIE**
Dědič T. ¹, Kotalová R. ¹, Stránecký V. ², Jirsa M. ³
1-Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty a FNM, Praha, 2-Ústav dědičných metabolických poruch 1. Lékařské fakulty a VFN, Praha, 3-Laboratoř Experimentální Hepatologie IKEM, Praha
Školitel: MUDr. Radana Kotalová, CSc.
- 7 VČASNÝ ZÁCHYT A STUDIUM PROJEVŮ SEKRETORICKÉ OTITIDY U DĚTÍ S ROZŠTĚPOVOU VADOU OPEROVANÝCH V NOVOROZENECKÉM VĚKU**
Jurovčík M. ¹, Borský J. ^{1,2}, Černý M. ³, Kotaška K. ⁴, Kabelka Z. ¹
1-Klinika ušní, nosní a krční 2. LF UK a FN v Motole, 2-Klinika plastické chirurgie FNKV, 3-Novorozenecké oddělení 2. LF UK a FN v Motole, 4-Ústav klin. biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN v Motole
Školitel: doc. MUDr. Zdeněk Kabelka, Ph.D.

Sekce 3 TĚLO
Předsedající M. Rygl, V. Havlas

MODY DIABETES - OD GENETIKY K LÉČBĚ

15'

Štěpánka Průhová
 Pediatriká klinika 2. LF UK a FN Motol

- 8 BIOMECHANICKÉ VLASTNOSTI FEMORÁLNÍ FIXACE HANSTRINGOVÝCH ŠTĚPŮ PŘI NÁHRADĚ ZKŘÍŽENÉHO VAZU KOLENA**
 Kautzner J., Kos P., Handl M., Trč T.
 Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole
Školitel: doc. MUDr. Milan Handl, Ph.D.
- 9 SPECIFICKÁ KONFIGURACE TĚLESNÝCH SEGMENTŮ MĚNÍ TLAKOVĚ-ALGICKÝ PRÁH SVALU U ZDRAVÝCH SUBJEKTŮ**
 Čech Z., Jevič F., Slabý K.
 Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství UK 2. LF a FN v Motole, Praha
Školitel: prof. PaedDr. Pavel Kolář, Ph.D.
- 10 INTERAKCE OXIDU DUSNATÉHO A REAKTIVNÍCH FOREM KYSLÍKU V ČASNÉ FÁZI POLYTRAUMATU**
 Beitl E.^{1,2}, Baňasová A.^{3,4}, Miková D.⁵, Hampl V.⁵
 1-Chirurgická klinika 2. LF a FN Motol, 2-I.ortopedická klinika 1. LF UK a FN Motol, 3-Ústav patologické fyziologie 2. LF Praha, 4-Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN Motol, 5-Ústav fyziologie 2. LF Praha
Školitel: prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.
- 11 VYUŽITÍ OVÁLNÉ JAMKY TYP-TC V REVIZNÍ ENDOPROTETICE KYČELNÍHO KLOUBU**
 Šťastný E.¹, Trč T.¹, Lisý J.²
 1-Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF UK v Praze a FN v Motole, 2-Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK v Praze a FN v Motole
Školitel: prof. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA

Sekce 4 NERVY

Předsedající J. Hort, P. Seeman

GENERAL OVERVIEW OF MEMORY DISORDERS

45'

Michael Kopelman

King's College London, UK

- 12 BUNĚČNÁ TERAPIE V LÉČBĚ MÍŠNÍHO PORANĚNÍ - SROVNÁVACÍ STUDIE TŘECH TYPŮ KMENOVÝCH BUNĚK**
Růžička J. ^{1,2}, Kárová K. ^{1,2}, Urdzíková-Machová L. ¹, Romanyuk N. ¹, Shannon C. ³, Amemori T. ¹, Murali R. ³, Jhanwar-Uniyal M. ³, Jendelová P. ^{1,2}, Syková E. ^{1,2}
1-Oddělení neurověd, Ústav experimentální mediciny, AVČR, Praha, ČR, 2-2.lékařská fakulta, Karlova Universita, Praha, ČR, 3-Oddělení Neurochirurgie, New York Medical College, Valhalla NY, USA
Školitel: RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.
- 13 STATISTICKÁ ANALÝZA IKTÁLNÍHO A INTERIKÁLNÍHO SPECT U MRI NEGATIVNÍ EPILEPSIE - POROVNÁNÍ S DOSUD POUŽÍVANOU METODOU SISCOM**
Šulc V. ¹, Hořínek D. ², Brinkmann B.H. ³, Wong-Kisiel L.C. ³, Britton J.W. ³, So E. ³, G. A. Worrell G.A. ³
1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2-Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika, 3-Mayo Clinic, Rochester, MN, USA
Školitel: doc. MUDr. Daniel Hořínek, Ph.D.
- 14 KORELACE FARMAKOGENETIKY KLOPIDOGRELU S OPTICKOU AGREGOMETRIÍ**
Tomek A. ^{1,2}, Maťoška V. ², Frýdmanová A. ³, Magerová H. ¹, Urbanová B. ¹, Schwabová J. ¹, Chudomel O. ¹, Šarbochová I. ¹, Goetz P. ⁴
1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2-Nemocnice na Homolce, Praha, 3-Farmaceutická fakulta VFU, Brno, 4-Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK
Školitel: prof. MUDr. Petr Goetz, CSc.
- 15 LIMBICKÉ ENCEFALITIDY: KLINICKÉ CHARAKTERISTIKY**
Elišák M. ¹, Krýsl D. ¹, Hanzalová J. ², Marusič P. ¹
1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2-Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
Školitel: doc. MUDr. Petr Marusič, Ph.D.

POSTEROVÁ SEKCE 2
(Hubáček, Groh, Kalina, Laczo)
 Postery - příspěvky č. P29 - P55

Sekce 5 BACILY & KREV
 Předsedající J. Zuna, J. Zámečník

**MOŽNOSTI CHIRURGICKÉHO ŘEŠENÍ POKROČILÉHO
 SRDEČNÍHO SELHÁNÍ U DOSPĚLÝCH PACIENTŮ
 S VROZENOU VÝVOJOVOU VADOU SRDCE**
 Ondřej Szárszoi
 IKEM, Praha

**16 CHARAKTERIZACE IZOLÁTŮ STAPHYLOCOCCUS AUREUS
 OD PACIENTŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU**

Tkadlec J., Bukáčková E., Melter O.
 Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
 Školitel: MVDr. Oto Melter, Ph.D.

**17 CHARAKTERIZACE VIROMU VE STOLICÍCH DĚTÍ Z MALAWI:
 DIVERZITA ODHALENA POMOCÍ SEKVENOVÁNÍ NOVÉ
 GENERACE**

Kramná L.¹, Holková K.¹, Fan Y.², Oikarinen S.³, Lehto K.²,
 Nurminen N.³, Mangani Ch.^{2,4}, Maleta K.⁴, Ashorn P.^{2,5}, Hyöty H.
³, Cinek O.¹
 1-Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole, 2-School of
 Medicine International Health, University of Tampere, Tampere
 Center for Child Health Research; 3-Department of Virology,
 School of Medicine, University of Tampere; 4-College of Medicine,
 University of Malawi, Blantyre, Malawi; 5-Department of
 Pediatrics, Tampere University Hospital, Tampere, Finland
 Školitel: doc. MUDr. Ondřej Cinek Ph.D.

**18 PODSKUPINA PACIENTŮ S COVID DEFINOVANÁ
 IMUNOFENOTYPIZACÍ B-BUNĚK PERIFERNÍ KRVE MÁ
 TYPICKÝ KLINICKÝ OBRAZ A BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI**

Stuchlý J.¹, Kanderová V.¹, Vlčková M.², Heřmanová I.¹, Slámová
 L.¹, Król L.¹, Trčková M.⁴, Hrušák O.¹, Šedivá A.³, Litzman J.²,
 Froňková E.¹, Kalina T.¹
 1-CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie, Universita
 Karlova - 2. lékařská fakulta, 2-Ústav klinické imunologie a
 alergologie, FN u sv. Anny, Brno, 3-Ústav imunologie, Universita
 Karlova - 2. lékařská fakulta, 4-Centrum lékařské genetiky a
 reprodukční medicíny, Praha
 Školitel: doc. MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.

Sekce 6 THE REST OF THE BEST (THE BEST OF THE REST...?)

Předsedající O. Hrušák, J. Uhlík

15'

VÝZNAM PATOLOGICKÝCH MOZKOVÝCH OSCILACÍ V DIAGNOSTICE A CHIRURGICKÉ LÉČBĚ EPILEPSIE

Přemysl Jiruška

Fyziologický ústav AVČR, Praha

- 19 OVLIVNĚNÍ PRODUKCE OXIDU DUSNATÉHO TETRAHYDROBIOPTERINEM PŘI CHRONICKÉ HYPOXII**
 Koubský K., Ďurišová J., Miková D., Herget J.
 Ústav fyziologie 2. LF UK
 Školitel: prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.
- 20 VAZBA HELIX ASPERSA NA IGA JAKO MOŽNÝ BIOMARKER ZÁVAŽNOSTI IGA NEFROPATIE**
 Chvátalová E.¹, Vondrák K.², Háček J.³, Raška M.⁴, Czerneková L.⁴, Nováková J.⁴, Matoušovic K.⁵
 1-2. Lékařská fakulta UK, 2 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, 3-Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, 4-Ústav imunologie lékařské fakulty Univerzity Palackého Olomouc, 5-Interní klinika 2. LF UK a FN Motol
Pregraduální student
 Školitel: prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.
- 21 NOVÝ MECHANISMUS REGULACE SIGNALIZACE KANABINOIDNÍHO RECEPTORU CB1**
 Hájková A.¹, Techlovská Š.¹, Rafferty N.¹, Kumpošt J.¹, Dvořáková M.¹, Franková D.¹, Prezeau L.², Blahoš J.¹
 1-ÚMG AV ČR, Praha, 2-IGF, Montpellier
 Školitel: doc. MUDr. Jaroslav Blahoš, Ph.D.
- 22 MODIFIKOVANÉ NANOVLÁKENNÉ MEMBRÁNY JAKO NOSIČE KOŽNÍCH BUNĚK**
 Bačáková M.¹, Lopot F.², Hadraba D.^{1,2}, Varga M.³, Riedel T.⁴, Stránská D.⁵, Bačáková L.¹
 1-Oddělení biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR Praha, 2-Katedra anatomie a biomechaniky, Fakulta tělesné výchovy a sportu Karlovy univerzity Praha, 3-Fyzikální ústav AV ČR Praha, 4-Ústav makromolekulární chemie AV ČR Praha, 5 - Elmarco Ltd. Liberec
 Školitel: doc. MUDr. Lucie Bačáková, CSc.

ABSTRAKTA 2014

PŘEDNÁŠKY

01. FLOW CYTOMETRIC FINDINGS IN BONE MARROW AND BLOOD IN PATIENTS WITH GATA-2 MUTATION AND COMPARISON TO PATIENTS WITH MYELODYSPLASIA AND APLASTIC ANEMIA

Nováková M. ¹, Janda A. ², Wlodarski M.W. ³, Suková M. ⁴, Campr V. ⁵, Žaliová M. ¹, Froňková E. ¹, Vodičková E. ⁶, Zapletal O. ⁷, Blatný J. ⁷, Lejhancová K. ⁸, Pospíšilová D. ⁹, Votava T. ¹⁰, Kuhn T. ¹¹, Zemanová Z. ¹², Trka J. ^{1,4}, Hrušák O. ^{1,4}, Starý J. ⁴, Mejstříková E. ^{1,4}

1-CLIP- Department of Paediatric Haematology and Oncology, Charles University, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, 2-Center of Chronic Immunodeficiency (CCI), University Medical Center Freiburg and University of Freiburg, Germany, 3-Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University of Freiburg, Freiburg, Germany, 4-Department of Paediatric Haematology and Oncology, Charles University, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, 5-Department of Pathology and Molecular Medicine, Charles University, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, 6-Department of Clinical hematology, University Hospital Motol, Prague, 7-Department of Paediatric Haematology, Children's University Hospital, Brno, 8-Department of Pediatrics, University Hospital Hradec Kralove and Charles University in Prague, Hradec Králové, 9-Department of Pediatrics, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, 10-Department of Pediatrics, University Hospital Plzeň, Plzeň, 11-Department of Pediatric Medicine, University Hospital Ostrava, Ostrava, 12-Center of Oncocytogenetics, Institute of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague

Supervisor: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

Introduction: Mutation in GATA-2 transcription factor was recently found by next generation sequencing as a common cause of several syndromes: i.e. familial myelodysplastic syndrome (MDS)/acute myeloid leukemia, dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid (DCML) deficiency, mycobacterial infections and monocytopenia (MonoMac) and hereditary lymphedema.

Aims: Our aim was to immunophenotypically analyze peripheral blood (PB) and bone marrow (BM) of Czech pediatric patients with GATA-2 mutation by flow cytometry.

Materials and Methods: Mutation was found in 11 patients. In 7 patients primary manifestation was MDS (refractory cytopenia (RCC) 4, refractory anemia with increase of blasts (RAEB) 3). Two patients were followed in childhood for immunodeficiency and in adulthood developed RCC. One patient suffers from lung disease and his brother has progressive changes in blood count. We compared mutated patients with MDS and aplastic anemia (AA) patients. Following subsets were studied: granulocytes, monocytes, progenitors (CD34pos, CD117pos), lymphocyte subsets (T, B, B cell precursors, NK cells, T cells coexpressing CD16-56 antigen).

Results: Decreased percentage of B cells in BM and PB was found in 10/11 of mutated patients. In BM typically proportion of plasma cells exceeded 10% in reduced B cell compartment and B cell precursors were almost absent. In PB normal or increased proportion of memory B cells was found. Monocytopenia and NK cell lymphopenia were observed in 9/11 patients. In total 4/11 have higher percentage of T cells coexpressing CD16-CD56, which might correspond to large granular lymphocytes. Mutated RCC patients contribute to significant decrease of B cells in bone marrow compared to AA patients and healthy controls. However, the decrease of B cells is significant also in GATA-2 wild type RCC patients.

Conclusions: Changes in the B cell compartment are the most common alterations in mutated patients, regardless presenting phenotype. Decrease and immunophenotypic aberrancies in progenitor

compartment are present before MDS manifestation. Significant decrease of B cells is also present in GATA-2 wild type RCC patients implicating partly similar pathogenesis to GATA-2 mutated RCC patients.

Support: Supported by IGA NT14534-3

02. VALPROIC ACID INCREASES INCIDENCE OF CD133+ CELLS THAT SHOW STEM CELL CHARACTERS IN NEUROBLASTOMA

Khalil MA ¹, Hraběta J. ¹, Procházka P. ², Groh T. ³, Maříková H. ¹, Cipro Š. ⁴, Eckschlager T ¹
1-Department of Paediatric Haematology and Oncology, UH Motol, Prague, 2-Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences, Prague 3-Department of Biochemistry, Faculty of Science, Prague, 4-Department of Pathology and Molecular Medicine, UH Motol, Prague

Supervisor: prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Introduction: CD133 is a pentaspan transmembrane glycoprotein found in the stem and progenitor cells in various tissues particularly in the CNS. The value of studying these cells is related to the assumption they likely can initiate the tumor, relapse and metastasis due to their cancer stem cell (CSC) characters. Epigenetic modifications such as histone acetylation and promoter methylation have been proved to control CD133 transcription. Valproic acid (VPA) is an established antiepileptic drug. It belongs to a new group of anti cancer therapy known as histone deacetylase inhibitors. It has demonstrated anti tumor activities such as inhibition of the cell cycle and induction of apoptosis. Neuroblastoma (NB) is an extracranial pediatric solid tumor of neuroectodermal origin. It is widely accepted that NBs are embryonal tumours which reflects the role of CSCs on its growth and progression. High risk NBs still have bad prognosis because drug resistance arises in the majority of those patients

Aims: Evaluating epigenetic effects of VPA on expression of CD133 in high risk NB cell lines

Materials and Methods: NB cell lines UKF-NB3, UKF-NB4 and IMR were incubated in medium with 1mM VPA for different periods of time and expression of CD133 was detected by flow cytometry and western blot. Cell cycle and Cleaved caspase 3 we assessed by flow cytometry. Acetylated histones were measured by western blot after isolation of histones. Bisulfite conversion of DNA was used to detect the CD133 promotor methylation

Results: VPA increased CD133+ population and maintained it high as far as VPA is included in the culture of UKF-NB3 cells. Valpromide, derivative of VPA that lack the histone deacetylase inhibition effect, doesn't induce CD133 expression in UKF-NB3 which confirms the regulation of CD133 by the state of acetylation. CD133+ cells induced by VPA were highly proliferative and mainly present in S and G2/M phases. VPA increased formation of colonies in UKF-NB3 cells. CD133+ cells have shown less cleaved caspase 3 compared to CD133- when treated by VPA, Cisplatin and Vincristin. Neither IMR-32 nor UKF-NB4 were expressing CD133 protein whether in the control or samples treated with VPA. VPA didn't increase colonies formation in those cell lines. CD133 transcription has been reactivated by demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine. This was confirmed by bisulfite conversion

Conclusions: VPA increases CD133+ cells which show CSC characters in NB. CD133 gene expression is controlled by Histone acetylation and promoter methylation

03. CHARAKTERIZACE APOPTOTICKÉ DRÁHY SPOUŠTĚNÉ V LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH BUŇKÁCH VYSOKÝM HYDROSTATICKÝM TLAKEM

Moserová I. ¹, Truxová I. ^{1,2}, Heřmanová I. ³, Bartůňková J. ^{1,2}, Špišek R. ^{1,2}, Fučíková J. ^{1,2}

1-Sotio, Praha, Česká republika, 2-Ústav imunologie 2. lékařské fakulty UK a FN v Motole, Praha, Česká republika, 3-CLIP 2. lékařská fakulta UK a FN v Motole, Praha, Česká republika

Školitel: prof. MUDr. Radek Špišek, Ph.D.

Úvod: Imunogenní buněčná smrt (ICD) je indukovaná některými chemoterapeutiky nebo fyzikálními modalitami. ICD je typicky charakterizována translokací chaperonových proteinů kalretikulinu a proteinů tepelného šoku HSP70 a HSP90 na buněčný povrch, uvolněním intranukleárního proteinu HMGB1 a ATP z apoptotických buněk.

Cíl: Sledovali jsme schopnost vysokého hydrostatického tlaku (HHP) indukovat imunogenní buněčnou smrt u lidských nádorových buněk. Dále jsme charakterizovali přítomnost klíčových proteinů takto spouštěné apoptotické dráhy a jejich význam pro imunogenicitu nádorových buněk.

Materiál a metody: Široké spektrum primárních lidských nádorových buněk a lidských nádorových buněčných linií bylo ošetřeno HHP. Analyzovali jsme povrchovou expresi markerů imunogenní buněčné smrti, spouštěné signalizační dráhy a schopnost nádorových buněk ošetřených HHP indukovat nádorově-specifickou imunitní odpověď.

Výsledky: Vysoký hydrostatický tlak indukoval rychlou translokaci HSP70, HSP90 a kalretikulinu na buněčný povrch. Buňky ošetřené HHP produkovaly vysoké množství reaktivních kyslíkových radikálů. Detekovali jsme také aktivaci dalších klíčových proteinů v apoptotické dráze spouštěné stresem endoplazmatického retikula jako je fosforylace eIF2 α , aktivace kaspázy 8 a štěpení reziduálního proteinu endoplazmatického retikula BAP31 kaspázou 8. Interakce dendritických buněk s buňkami ošetřenými HHP vedla k rychlé fagocytóze, zvýšení exprese CD83, CD86 a HLA-DR a sekreci IL-6, IL-12p70, a TNF- α dendritickými buňkami. Dendritické buňky pulzované nádorovými buňkami ošetřenými HHP indukovaly vysoký počet nádorově-specifických T buněk.

Závěr: Vysoký hydrostatický tlak je vysoce účinnou modalitou indukující imunogenní buněčnou smrt v lidských nádorových buňkách. HHP aktivuje klíčové komponenty apoptotické dráhy spouštěné stresem endoplazmatického retikula. Ošetření HHP může být využito pro indukci imunogenní buněčné smrti v podmínkách správné výrobní praxe. To umožňuje testovat použití nádorových buněk ošetřených HHP v protinádorových imunoterapeutických protokolech.

Podpora projektu: Projekt je podpořen grantem IGA NT12402-5.

04. KORELACE EPIGENETICKÉHO POZADÍ A GENOVÉ EXPRESE CEBP α GENU S MOLEKULÁRNĚ-GENETICKÝMI SUBTYPY BCP-ALL A ABERANTNÍ EXPRESÍ ANTIGENU CD2.

Slámová L. ¹, Starková J. ¹, Fišer K. ¹, Froňková E. ¹, Rezková Řezníčková L. ¹, Kubričanová-Žaliová M. ¹, Polgárová K. ¹, Starý J. ², Trka J. ¹, Hrušák O. ¹, Mejstříková E. ¹

1-CLIP- Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FNM, Praha, 2- Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FNM, Praha

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

Úvod: CCAAT/enhancer binding protein alpha (CEBP α) je klíčovým myeloidním transkripčním faktorem. Jedním z mechanismů regulace genové exprese CEBP α genu je metylace CEBPA promotoru. Jen málo je známo o genové expresi a metylačních změnách CEBP α genu u B prekurzorové akutní lymfoblastické leukémie (BCP-ALL).

Cíl: Naším cílem bylo zmapovat epigenetické pozadí a korelaci s genovou expresí CEBP α genu u pacientů s BCP-ALL.

Materiál a metody: Metodou bisulfitového sekvenování jsme vyšetřili metylační změny v CEBPA promotoru, které jsou lokalizované mezi -295bp a -593bp od TSS oblasti, hodnotili jsme celkem 24 CpG dinukleotidů. Analyzovali jsme pět subtypů BCP-ALL: leukémie s přestavbou MLL genu, hyperdiploidii, BCP-ALL s pozitivitou fúzních genů mBCR-ABL nebo ETV6-RUNX1 a ostatní BCP-ALL. Epigenetické změny jsme korelovali s genovou expresí CEBP α genu.

Výsledky: Hypermetylace CEBPA promotoru byla přítomna u BCP-ALL s přestavbou MLL genu, hyperdiploidních a ETV6-RUNX1 pozitivních (5/5, 6/6 a 4/6). Hypometylace promotoru byla přítomná u BCP-ALL s fúzním genem mBCR-ABL (5/5). U ostatních BCP-ALL byla přítomna jak hypermetylace (10/39), tak hypometylace (29/39) promotoru CEBPA. U ostatních BCP-ALL s hypometylací promotoru jsme prokázali signifikantní asociaci s aberantní expresí antigenu CD2 (Fisherův test, $p < 0.0001$) a s průkazem liniového přesmyku blastů do monocytární linie během časně fáze léčby ($p = 0.0009$). Hypometylační změny jsou obvykle spojovány se zvýšenou genovou expresí, což dokazují i naše data u části BCP-ALL. Nicméně u hypermetylovaných BCP-ALL s přestavbou MLL genu jsme našli vysokou genovou expresi a u hypometylovaných mBCR-ABL pozitivních jsme detekovali sníženou expresi genu CEBP α .

Závěr: Míra metylace CEBPA promotoru se liší u jednotlivých subtypů BCP-ALL. Obecné pravidlo, že hypermetylace vede ke zvýšené expresi genu, jsme potvrdili u většiny BCP-ALL, s výjimkou ALL s přestavbou MLL genu a mBCR-ABL pozitivních. Hypometylace CEBPA promotoru u subtypu ostatních BCP-ALL byla spojena s aberantní expresí antigenu CD2, zvýšenou expresí CEBP α genu a liniovým přesmykem do monocytární linie.

Podpora projektu: GAČR P301/10/1877, GAUK 914613

05. ANALÝZA MECHANISMU VZNIKU PORUCH SRDEČNÍHO RYTMU U PLODŮ

Tomek V., Škovránek J., Gilík J.
Dětské kardiocentrum FN v Motole

Školitel: prof. MUDr. Bohuslav Ošťádal, DrSc.

Úvod: Poruchy srdečního rytmu plodu jsou prenatálně málo časté, ale mohou vést k srdečnímu selhání, hydropsu a bez správně vedené léčby k úmrtí plodu. Nejčastějšími typy závažné fetální arytmie jsou supraventrikulární tachykardie (SVT) a kompletní atrioventrikulární blokáda (AVB), která se izolovaně vyskytuje u plodů matek s autoimunitním onemocněním.

Cíl: Analýza mechanismů, podílejících se na vzniku arytmie a možnosti prevence některých typů arytmií. Posouzení vlivu podání farmakologických látek na průběh fetálně zjištěné dysrytmie a sledování pozdních důsledků prenatálních arytmií.

Materiál a metody: Echokardiograficky jsme měřili atrioventrikulární interval u 200 zdravých plodů a 21 plodů matek s pozitivním nálezem cirkulujících autoprotilátek anti-SSA-Ro/SSB-La s cílem detekovat inkompletní formy AVB.

Retrospektivní analýzou jsme hodnotili rizikové faktory AVB (175 plodů v rámci multicent. studie). Srovnali jsme výsledky 2 léčebných protokolů (digoxin vs. flecainide) u 86 plodů s SVT s cílem určení optimální léčby.

Výsledky: SVT byla léčena digoxinem (n=52) a flecainidem (n=34). U non-hydropických plodů byl digoxin úspěšný u 23/28 (82%) a flecainide u 26/27 (96%), p 0.19. U hydropických plodů byl digoxin úspěšný u 8/21 (38%) a flecainide 6/7 (86%), p 0.07. Intrauterinně nebo časně postnatálně zemřelo 9/52 (17%) léčených digoxinem a 0/34 flecainidem, p 0.03. U plodů bez konverze na sinusový rytmus se při léčbě digoxinem zlepšila funkce levé komory (SF z $0,193 \pm 0,0616$ na $0,253 \pm 0,111$, p=0,05). Významnost iniciální dysfunkce levé komory byla prediktorem neúspěšné léčby.

AV blok I. stupně byl diagnostikován u 2 plodů z 21 těhotných s pozitivními anti SS-A/Ro, při léčbě medrolem nedošlo k další progresi blokády.

V rámci multicentrické retrospektivní studie jsme neprokázali žádný rozdíl mezi léčenou a neléčenou skupinou plodů s AVB. Ze sledovaných 175 plodů intrauterinně zemřelo 10 a dalších 12 postnatálně (celková úmrtnost 13%). Rizikovými faktory bylo stáří plodu <20 týdnů, frekvence komor <50 tepů/min. a snížená funkce levé komory.

Závěr: Prenatální echokardiografie umožňuje odhalení závažných brady- a tachy-dysrytmií.

V léčbě selhaných plodů s SVT je nejúčinnější flecainide.

Prenatální léčba plodů s kompletní AVB nemá žádný vliv na snížení mortality plodů a novorozenců. AV blokádu I. stupně lze stanovit měřením plodů rizikových těhotných. Preventivní podání glukokortikoidů s transplacentárním přenosem může zabránit rozvoji kompletní formy spojené s významnou bradykardií a nepříznivou prognózou.

06. ÚLOHA DĚDIČNÝCH FAKTORŮ V ETIOLOGII A PATOGENEZI BILIÁRNÍ ATRÉZIE

Dědič T. ¹, Kotalová R. ¹, Stránecký V. ², Jirsa M. ³

1-Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty a FNM, Praha, 2-Ústav dědičných metabolických poruch 1. Lékařské fakulty a VFN, Praha, 3-Laboratoř Experimentální Hepatologie IKEM, Praha

Školitel: MUDr. Radana Kotalová, CSc.

Úvod: Biliární atrézie (BA) je závažné onemocnění novorozeneckého a časného kojeneckého věku, které představuje hlavní indikaci k transplantaci jater u dětí. Etiologie onemocnění je heterogenní. U části jedinců s biliární atrézií byly prokázány mutace v „alagilleovském“ genu JAG1, jeho skutečný vliv na výsledný klinický obraz a průběh nemoci zůstává nejasný. Naopak část pacientů s neúplně vyjádřeným fenotypem Alagilleova syndromu (AGS) je chybně vedena pod diagnózou BA, což ovlivňuje i terapeutický přístup k těmto nemocným.

Cíl: Naším prvním cílem byla identifikace jedinců s deficitem v genu JAG1 v souboru 72 žijících nemocných s BA. Druhým cílem bylo zjištění podílu dalších genů na etiologii či patogenезi syndromické BA charakterizované přítomností splenických malformací (BASM) a event. dalších vrozených anomálií.

Materiál a metody: V letech 1998–2012 bylo na gastroenterologickém pracovišti Pediatrické kliniky 2. LF UK a FNM vyšetřeno 310 pacientů s neonatální cholestázou. U 94 pacientů byla na základě ERCP a peroperační cholangiografie diagnostikována BA. U všech těchto nemocných byla provedena portoenteroanastomóza dle Kasaie. U vybrané skupiny probandů z tohoto souboru (72 dětí) byla provedena mutační analýza genu JAG1. U skupiny probandů s fenotypem připouštějícím dg. AGS a s negativním nálezem ve vyšetřovaných oblastech genu JAG1 bylo provedeno vyšetření počtu kopií metodou MLPA. Dále byla u 5 pacientů s BASM provedena mutační analýza technikou next generation sequencing v genech NOTCH2, ZIC3, CFC1, AVCR2B.

Výsledky: U 5 ze 72 pacientů s BA byly nalezeny heterozygotní zjevně patogenní mutace, jejichž předpokládaným důsledkem je buď předčasné ukončení translace (c. 960 T>A (p. Tyr320*) - popsaná mutace, c.879_880delTG (p.Cys293*) – nová mutace a c. 1998 T>A (p. Cys633*) – nová mutace) nebo posunutí čtecího rámce následované předčasným ukončením translace (c.327_330delCAAG (p.Lys110Profs*50) a c.1313_1314delGT (p. Cys438Serfs*10) – obě nové mutace). Vyšetření počtu kopií genu JAG1 metodou MLPA u 10 probandů s fenotypem připouštějícím AGS i přes negativní nález mutací v JAG1 neprokázalo přítomnost delecí či duplikací.

Prevalence AGS potvrzeného molekulárním vyšetřením činila 6,9% (5 AGS / 72 diagnostikovaných nemocných s BA).

U 5 probandů s BASM nebyly v genech NOTCH2, ZIC3, CFC1 a AVCR2B detekovány žádné potenciálně patogenní mutace.

Závěr: Časná molekulární diagnostika AGS by měla být nedílnou součástí vyšetření pacientů s BA před zvažováním chirurgickým řešením.

Podpora projektu: grantu GAUK č. 630512

07. VČASNÝ ZÁCHYT A STUDIUM PROJEVŮ SEKRETORICKÉ OTITIDY U DĚTÍ S ROZŠTĚPOVOU VADOU OPEROVANÝCH V NOVOROZENECKÉM VĚKU

Jurovčík M. ¹, Borský J. ^{1,2}, Černý M. ³, Kotaška K. ⁴, Kabelka Z. ¹

1-Klinika ušní, nosní a krční 2. LF UK a FN v Motole, 2-Klinika plastické chirurgie FNKV, 3-Novorozenecké oddělení 2. LF UK a FN v Motole, 4-Ústav klin. biochemie a patobiochemie 2. LF UK FN v Motole

Školitel: doc. MUDr. Zdeněk Kabelka, Ph.D.

Úvod: Incidence typických rozštěpových vad obličeje je v české populaci zhruba 1:600. Téměř všichni pacienti s rozštěpovou vadou obličeje trpí dysfunkcí Eustachovy trubice s rozvojem sekretorické otitidy. Kurativní výsledky nejsou příliš uspokojivé. Objevují se recidivy a častý je přechod onemocnění do chronických stadií. První fázi - plastickou operaci rozštěpu rtu provádíme již v novorozeneckém věku do 7 dnů po narození. Na většině pracovišť se tento výkon provádí až nejdříve okolo 3 měsíců věku.

Cíl: Cílem je zachytit první projevy středoušní patologie u novorozenců s rozštěpovou vadou operovaných v časném poporodním období, jejich další sledování, rozbor středoušního sekretu a případně návrh vhodného typu a načasování středoušní drenáže.

Materiál a metody: Prospektivní studie zachycuje od května 2010 celkem 137 pacientů. Vstupní vyšetření sluchových parametrů provádíme 1-2 dny před vlastním výkonem. Zahrnuje otoakustické emise a multifrekvenční tympanometrii. Vlastní výkon je zahájen flexibilní rhinoepipharyngoskopií s hodnocením morfologie tubárních torů. Následuje otomikroskopické vyšetření s případným odsátím středoušního sekretu a dále vlastní plastická operace. Sekret je odeslán na biochemické vyšetření. Pacienti jsou dále sledováni v pravidelných intervalech.

Výsledky: Z celkového počtu 137 pacientů bylo 77 s rozštěpem rtu a patra a 60 pouze s rozštěpem rtu. Všichni s izolovaným rozštěpem rtu měli vzdušné středouší. V 79% byl v případě rozštěpu patra zachycen patologický sekret ve středouší. Patologický sekret se objevuje i na nerozštěpové straně s normálně konfigurovaným tubárním torem. Všichni pacienti byli vyšetřeni 226 Hz a 1000 Hz tympanometrickou sondou. V 83 % se shodoval výsledek 1000 Hz tympanometrického vyšetření /B křivka / s peroperačně ověřeným nálezem sekretu. Klasická 226 Hz sonda predikovala sekret pouze ve 22 %. Byla provedena biochemická analýza prvních 3 vzorků na hladinu AFP. Pacienti byli v den operace ve stáří 9, 6 a 4 dny. U všech byla hodnota pozitivní.

Závěr: Středoušní sekret se objevuje pouze u novorozenců s rozštěpem patra. Přítomnost sekretu nezávisí na straně rozštěpu a objevuje se i u makroskopicky normálně utvořených tubárních torů na nerozštěpové straně. Vysokofrekvenční tympanometrie je vysoce průkazná metoda ke stanovení přítomnosti středoušního sekretu u novorozenců.

Podpora projektu: Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace
00064203 (FN MOTOL)

08. BIOMECHANICKÉ VLASTNOSTI FEMORÁLNÍ FIXACE HANSTRINGOVÝCH ŠTĚPŮ PŘI NÁHRADĚ ZKŘÍŽENÉHO VAZU KOLENA

Kautzner J., Kos P., Handl M., Trč T.

Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole

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

Úvod: Poranění předního zkříženého vazů je častým úrazem kolena. Náhrada zkříženého vazů je standardním způsobem řešení nestability kolena. K náhradě jsou hojně využívány šlachy m.semitendinosus a m.gracilis (hamstringy). Náhrada je velice náročná na metodu fixace, jelikož se jedná o fixaci šlachy do kostního kanálu. Femorální fixační metody mohou zásadním způsobem ovlivnit pevnost šlachového štěpu.

Cíl: Cílem studie je porovnání biomechanických vlastností různých metod femorální fixace u hamstringových štěpů při náhradě předního zkříženého vazů kolena. Tato zjištění mohou být použita k vývoji nových fixačních metod.

Materiál a metody: Ve studii bylo použito 38 čerstvě zmrazených kadaverických štěpů šlach hamstringů (m.semitendinosus a m.gracilis). Tyto šlachy byly prošity obvyklým způsobem, využívaným při rekonstrukci zkříženého vazů.

Šlachy byly upevněny ve speciálním testovacím zařízení, konstruovaném pro tetování dynamické zátěže štěpů.

Štěpy byly rozděleny do dvou skupin, první skupina byla zavěšena přes fixační drát a druhá skupina štěpů byla propíchnuta fixačním drátem o průměru 3,3mm. Šíře fixace odpovídá běžně užívaným fixačním metodám.

Při testování byly testované štěpy zatíženy padajícím závažím a byla zjištěna síla nutná k sejhání štěpu či fixace, tyto mezní síly byly poté porovnány pro jednotlivé skupiny štěpů.

Výsledky: Mezní síla dvouvláknového štěpu z m. gracilis byla u zavěšeného štěpu 1287 ± 134 N, zatímco u propíchnutého štěpu byla pouze 833 ± 111 N.

Pro štěp ze šlachy m. semitendinosus byly síly vypočteny na 1883 ± 198 N a 997 ± 234 N.

Pevnost poškozeného štěpu je pouze 64.7% a 52.9% v porovnání se štěpem nepoškozeným fixací.

Závěr: Fixační metody, které nenaruší strukturu hamstringového štěpu mají statisticky významně vyšší pevnost oproti štěpům poškozeným při fixaci. Tento fakt byl využit při vývoji nové fixační metody náhrady zkříženého vazů.

Podpora projektu: FR TI4/259 Ministerstvo Obchodu a Průmyslu ČR
NT/12156-5 Internal Grant Agency, Ministerstvo Zdravotnictví ČR
Granty FN Motol No. 6013/2012 and No. 9774/2012

09. SPECIFICKÁ KONFIGURACE TĚLESNÝCH SEGMENTŮ MĚNÍ TLAKOVĚ-ALGICKÝ PRÁH SVALU U ZDRAVÝCH SUBJEKTŮ

Čech Z., Jevič F., Slabý K.

Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství UK 2. LF a FN v Motole, Praha

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

Úvod: Lidské tělo lze nahlížet jako soustavu pohybových segmentů, kde tlak přenášející kostní elementy jsou zavzaty v předjaté tenzní síti měkkých tkání. Strukturální integritu systému zajišťují vazivové tkáně, které tvoří celotělovou kontinuální 3D síť. Svalová aktivita poté skrze změnu napětí vazivových struktur ovlivňuje konfiguraci pohybových segmentů a působí omezování (freezing) nebo naopak uvolňování (freeing) stupňů volnosti těchto segmentů. Konfigurace tělesných segmentů v tzv. neutrální zóně je spojeno s nejnižší mírou tenze v měkkých tkáních, zatímco vychýlením segmentů do tzv. elastické zóny dojde k "zavěšení" do měkkých tkání a zvýšení jejich předpětí. Vazivové tkáně bohatě inervované mechanoreceptivními a mechano-nociceptivními neurony přitom představují nejrozsáhlejší somatosenzorický orgán. Z animálních studií vyplývá, že změna předpětí myofasciálních struktur s sebou nese změny mechanosenzitivity.

Cíl: Cílem studie bylo ověřit platnost tohoto jevu klinicky. Sledován byl vztah specifické konfigurace tělesných segmentů, orientace těla v prostoru a tlakově-algického prahu (PPT) u mladých zdravých dobrovolníků.

Materiál a metody: PPT byl pomocí digitálního tlakového algometru změřen u 49 probandů (věk $28,7 \pm 4,1$ roku; 21 žen, 28 mužů) v regionu tří svalů (m.temporalis - TEMP, m. interosseous dorsalis I. - INT, m. tibialis anterior - TIB). V náhodném pořadí byly vyšetřeny dva typy konfigurace tělesných segmentů (konfigurace v neutrální zóně - NZC, konfigurace v elastické zóně - EZC) v rámci dvou orientací těla v prostoru (sed, leh na zádech).

Výsledky: Bez ohledu na orientaci těla v prostoru byl PPT signifikantně vyšší v NZC než v EZC ve všech testovaných svalových regionech. (TEMP: PPT v NZC byl $236,4 \pm 117,5$ kPa, zatímco PPT v EZC byl $217,4 \pm 106,6$ kPa [$p < 0,01$]; INT: PPT v NZC byl $337,6 \pm 137,5$ kPa, zatímco PPT v EZC byl $305,7 \pm 123,1$ kPa, [$p < 0,001$]; TIB: PPT v NZC byl $667,9 \pm 342,8$ kPa, zatímco PPT v EZC byl $608,7 \pm 296,2$ kPa [$p < 0,01$]). V žádném z testovaných míst samotná změna orientace těla v prostoru neměla signifikantní vliv na PPT. Stejně tak nebyl prokázán vliv interakce typu konfigurace tělesných segmentů a orientace těla v prostoru na PPT.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že specifická konfigurace tělesných segmentů měnící mechanické stavy hlubokých měkkých tkání mění také mechano-nociceptivní dráždivost těchto tkání a může ovlivnit zpracování nocicepce. Praktické uplatnění mají tato zjištění především v manuální medicíně, kinezioterapii a dalších oblastech fyzioterapie.

10. INTERAKCE OXIDU DUSNATÉHO A REAKTIVNÍCH FOREM KYSLÍKU V ČASNÉ FÁZI POLYTRAUMATU

Beitl E. ^{1,2}, Baňasová A. ^{3,4}, Miková D. ⁵, Hampl V. ⁵

1-Chirurgická klinika 2. LF a FN Motol, 2- I.ortopedická klinika 1. LF UK a FN Motol, 3-Ústav patologické fyziologie 2. LF Praha, 4-Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní mediciny 2. LF UK a FN Motol, 5- Ústav fyziologie 2. LF Praha

Školitel: prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.

Úvod: Při hledání časného markeru závažnosti poškození organismu v situaci polytraumatu jsme v první studii testovali chování oxidu dusnatého u 93 těžce zraněných pacientů. V závislosti na závažnosti poranění jsme zachytili neočekávanou situaci. U těžce polytraumatizovaných pacientů došlo ke statisticky významné elevaci koncentrace oxidu dusnatého (NO) oproti kontrolní skupině zdravé populace (NO byl detekován ve formě sloučenin -NOx). U nejkritičtějších polytraumatizovaných pacientů s epizodou kardiopulmonální resuscitace a u zemřelých však k předpokládané elevaci hodnot NOx oproti kontrolní skupině nedošlo.

Cíl: Při hledání příčiny absence zvýšené tvorby NO v nejkritičtějších stavech jsme v současné práci zvažovali kromě potlačené produkce NO možnost potenciální inaktivace NO při reakci s kyslíkovými radikály (ROS), tvořenými ve vysoké míře a v krátkém časovém intervalu při nejkritičtějších stavech. Vytvořili jsme proto definovanou situaci na zvířecím modelu polytraumatu s cílem potvrdit či vyloučit inaktivaci NO kyslíkovými radikály.

Materiál a metody: V práci bylo použito 18 samců laboratorního potkana kmene Wistar. Zákroky, měření a odběry biologického materiálu byly prováděny v celkové anestézii. Srovnávali jsme chování NOx u skupiny šesti polytraumatizovaných zvířat a u skupiny šesti polytraumatizovaných zvířat s aplikovaným přímým antioxidantem -N-acetylcysteinem. Zbýlých 6 potkanů představovalo kontrolní skupinu. Koncentraci NOx jsme stanovili chemoluminiscenční metodou.

Výsledky: U skupiny polytraumatizovaných zvířat byl zaznamenán statisticky významný rozdíl oproti kontrolní skupině (22,62±4,42 vs. 10,99±0,72, P-Value 0,03).

U skupiny polytraumatizovaných s aplikovaným blokátorem ROS- N-acetylcysteinem nedošlo ke statisticky významnému rozdílu v koncentraci NOx oproti kontrolní skupině (10,68±0,89 vs. 10,99±0,72, P-Value 0,79).

Při porovnání koncentrací NOx u skupiny polytraumatizovaných a skupiny polytraumatizovaných s aplikovaným N-acetylcysteinem byl zaznamenán statisticky významný rozdíl (22,62±4,42 vs. 10,68±0,89, P-Value 0,02).

Závěr: U polytraumatizovaných zvířat došlo podle předpokladu k významnému zvýšení koncentrace NOx, u skupiny s aplikovaným N- acetylcysteinem (tedy s předpokladem zablokování produkce ROS) však k dalšímu navýšení nedošlo.

Při pokusu na zvířecím modelu nebyla prokázána hypotéza o inaktivaci oxidu dusnatého kyslíkovými radikály při šokovém stavu u těžkého polytraumatu v časné fázi polytraumatu.

11. VYUŽITÍ OVÁLNÉ JAMKY TYP-TC V REVIZNÍ ENDOPROTETICE KYČELNÍHO KLOUBU

Šťastný E. ¹, Trč T. ¹, Lisý J. ²

1-Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2.LFUK v Praze FN v Motole, 2-Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK v Praze a FN v Motole

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

Úvod: Revizní operace totální náhrady kyčelního kloubu jsou náročným ortopedickým výkonem. Ve většině případů se provádí pro uvolnění kontaktu mezi kostí a acetabulární komponentou z důvodu opotřebení (aseptické uvolnění). Volba revizního implantátu by měla vždy odpovídat kvalitě kostní tkáně. Odlišné pojetí konstrukce TC jamky by vedle dostatečného vyplnění defektních prostorů acetabula vzniklých migrací primární jamky, umožnění peroperačně pevné dokonalé jednoduché fixace (ověřené experimentálně i na kadaverózních bovinních pánvích) a pooperačně dokladovatelné sekundární fixace, mělo vytvořit předpoklady pro hojení kostní tkáně tak, aby se defekt spíše zmenšil, než prohloubil.

Cíl: Cílem naší práce je představení konstrukčně zdokonalené revizní oválné jamky- typ TC a zhodnocení minimálně pětiletých střednědobých výsledků s ověřením regenerace kostní tkáně v okolí implantátu.

Materiál a metody: Prezentujeme výsledky 31 pacientů, kteří podstoupili reimplantaci jamky totální endoprotézy kyčelního kloubu v letech 2004 až 2008. Průměrná doba sledování byla 7,1 roku (5,3-9,3 roku). Hodnotili jsem skóre dle Harrise, typ defektu acetabula, kvalitu primární fixace implantátu- v závěru studie pak z rentgenových snímků osteointegraci implantátu a regeneraci kostní tkáně v jeho okolí s využitím počítačové tomografie s 3D rekonstrukcí.

Výsledky: Průměrná hodnota Harris hip score vzrostla z předoperační 39,8 na 85,3. Při radiologickém hodnocení u 25 pacientů byla osteointegrace revizní jamky dobrá, v 5 případech byla jamka stabilní s vrůstem fibrózní tkáně v rozsahu střední a distální třetiny implantátu, jedenkrát došlo k jeho migraci proximálně. Periacetabulární osteolýza nebyla popsána. Informovaný souhlas s CT vyšetřením pánve podepsalo 10 pacientů našeho souboru. Vždy jsme prokázali regeneraci kostní tkáně v prostoru mezi žebry implantátu, kostní defekty po aplikaci allogení spongioplastiky byly vždy prostavěny. U 5 pacientů jsme potvrdili vrůst vazivová tkáně do 2 mm v oblasti distálních 2/3 jamky. Kaplan-Maier křivka přežívání revizní jamky byla 94.2 % 7,1 roku po reimplantaci.

Závěr: Naše výsledky prokázaly dobrou využitelnost tohoto implantátu v revizní endoprotetice- jeho relativně jednoduchou implantovatelnost, spolehlivou primární fixaci (potvrzenou i experimentálně na zvířecím modelu) s prokazatelnými známkami osteointegrace a kostní remodelace v jeho okolí.

12. BUNĚČNÁ TERAPIE V LÉČBĚ MÍŠNÍHO PORANĚNÍ -SROVNÁVACÍ STUDIE TŘECH TYPŮ KMENOVÝCH BUNĚK

Růžička J.^{1,2}, Kárová K.^{1,2}, Urdzíkova-Machová L.¹, Romanyuk N.¹, Shannon C.³, Amemori T.¹, Murali R.³, Jhanwar-Uniyal M.³, Jendelová P.^{1,2}, Syková E.^{1,2}

1-Oddělení neurověd, Ústav experimentální medicíny, AVČR, Praha, ČR 2-2.lékařská fakulta, Karlova Universita, Praha, ČR 3-Oddělení Neurochirurgie, New York Medical College, Valhalla NY, USA

Školitel: RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

Úvod: Současné klinické možnosti léčby poraněné míchy (SCI) jsou velmi limitované. V poslední dekádě se ukazuje, že aplikace kmenových buněk by mohla být jednou z možných cest k úspěšné léčbě.

Cíl: Cílem naší studie bylo porovnat neuroregenerativní vliv implantace lidských mesenchymálních stromálních buněk z kostní dřeně (MSC), neurálních prekursorů diferencovaných z lidské linie fetálních neurálních kmenových buněk míchy (SPC-01) a neurálních prekursorů diferencovaných z lidských indukovaných pluripotentních buněk (iPS-NP) do míšního kompresního balonkového léze (úroveň Th8-9) u potkana (Wistar, 300g).

Materiál a metody: Kmenové buňky/fyziologický roztok byly implantovány 7 dní po poškození míchy přímo do léze (SPC-01, iPS-NP), nebo intratékálně (MSC, L4-5). Hladiny prozánětlivých cytokinů (MIP- α , IL-4, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12p70, TNF- α a RANTES) byly porovnávány mezi léčenými a kontrolními skupinami 10, 14, a 28 dní po SCI (Luminex custom 8-plex bead assay, n=5/čas/skupina). Lokomoční (BBB, beam walking, rotarod) a sensitivní (Plantar test) behaviorální testy byly prováděny jednou týdně, 9 týdnů po SCI (kontroly n=51, MSC n=18, SPC-01 n=22, iPS-NP n=21). Část skupin byla zachována až do 4 měsíců po míšním lézi, kvůli pozorování dlouhodobé diferenciaci lidských neurálních prekursorů. Míšní tkáň pak byla histologicky a imunohistochemicky zpracována.

Výsledky: Implantovaná zvířata vykazovala zlepšení lokomočních schopností ve srovnání s kontrolní skupinou. Nejlepších výsledků dosáhla skupina s iPS-NP. Implantované SPC-01 a iPS-NP přežily v míšní tkáni velmi dobře až do konce studie. Neurální prekursorů diferencovaly převážně do astrocytů a menší část populace implantovaných buněk exprimovala markery cholinergních (CHAT+) a serotonergních (tyrosinhydroxyláza+ a calbindin+) neuronů. MSCs přežily o poznání méně, bez výrazných známek diferenciaci, avšak velmi významně snižovaly hladiny prozánětlivých cytokinů ve srovnání s kontrolou i s neurálními prekursorů, kde naopak hladiny cytokinů byly vůči kontrole zvýšené.

Závěr: Výsledky ukazují, že všechny tři typy kmenových buněk zlepšují funkční deficit po míšním poranění, avšak mechanismus účinku s ohledem na přežívání implantátu, diferenciaci buněk a zánětlivou odpověď se výrazně liší.

Podpora projektu: 13-00939S, 13-15031P, P304/12/G069, AANS/NREF Research Fellowship.

13. STATISTICKÁ ANALÝZA IKTÁLNÍHO A INTERIKTÁLNÍHO SPECT U MRI NEGATIVNÍ EPILEPSIE - POROVNÁNÍ S DOSUD POUŽÍVANOU METODOU SISCOM

Šulc V.^{1,2}, Hořínek D.², Brinkmann B.H.³, Wong-Kissel L.C.³, Britton J.W.³, So E.³, G. A. Worrell G.A.³
1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol 2-Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika, 3-Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Školitel: doc. MUDr. Daniel Hořínek, Ph.D.

Úvod: Výsledky epileptochirurgických výkonů u pacientů s MRI negativní epilepsií jsou významně horší než u pacientů s epileptogenní lézí na MRI. Jedním z hlavních důvodů je obtížná lokalizace epileptogenního ložiska jinými dostupnými metodami. Jednou z takových metod je iktální SPECT, který je založen na změně mozkové perfúze v období záchvatu.

Cíl: Za účelem zhodnocení přínosu statistické analýzy SPECT snímků jsme porovnali tradiční způsob zpracování SPECT dat pomocí subtrakce iktálního a interiktálního snímku (SISCOM) s metodou využívající SPM a kontrolní skupinu (SPM SPECT) jak u pacientů s epilepsií temporálního laloku tak i u pacientů s epilepsií extratemporální.

Materiál a metody: Retrospektivně jsme identifikovali 49 případů (21 případů temporální a 28 extratemporální) farmakorezistentní MRI nelezionální epilepsie, kteří podstoupili resekční epileptochirurgický výkon mezi lednem 1997 a prosincem 2005 na Mayo Clinic, Rochester, MN. Iktální a interiktální snímky perfúzních map byly zpracovány pomocí SISCOM a SPM SPECT dle původně popsanych metod v prostředí programu Analyze pro SISCOM a Matlab a SPM5 pro SPM SPECT. Výsledky analýzy byly prezentovány hodnotitelům ve speciálním software schopném zobrazit výsledky koregistrované se snímky MRI. Hodnotitelé (VS, JWB, LWK), kteří neměli k dispozici další klinické informace, poté určili místo nejpravděpodobnějšího začátku záchvatu.

Výsledky: Z 21 případů nelezionální temporální epilepsie byl SISCOM ve shodě s místem resekce v 38 % a SPM SPECT 71 % ($p < 0,05$). Shoda hodnotitelů (kappa skóre) pro zvolené místo byla 0,20 pro SISCOM a 0,82 pro SPM SPECT.

U případů extratemporální epilepsie byl SISCOM ve shodě s provedeným místem resekce v 36% a SPM SPECT v 57 % ($p < 0,05$). Shoda hodnotitelů pro zvolené místo byla 0,39 pro SISCOM a 0,55 pro SPM SPECT.

Závěr: Metoda SPM SPECT využívající statistickou analýzu pro hodnocení iktálního a interiktálního SPECT dosahovala lepších výsledků v lokalizaci předpokládané epileptogenní zóny v porovnání s analýzou SISCOM. Lepší shoda hodnotitelů také naznačuje, že takto zpracované snímky umožňují lepší vizuální analýzu.

Podpora projektu: Podpořeno z Evropského regionálního rozvojového fondu – Projekt FNUSA–ICRC (CZ.1.05/1.1.00/02.0123) a Inkubátor mladých talentů II (reg. č. CZ.1.07/2.3.00/20.0117), Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky.

14. KORELACE FARMAKOGENETIKY KLOPIDOGRELU S OPTICKOU AGREGOMETRIÍ

Tomek A. ^{1,2}, Maňoška V. ², Frýdmanová A. ³, Magerová H. ¹, Urbanová B. ¹, Schwabová J. ¹, Chudomel O. ¹, Šarbochová I. ¹, Goetz P. ⁴

1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2-Nemocnice na Homolce, Praha, 3-Farmaceutická fakulta VFU, Brno, 4-Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK

Školitel: prof. MUDr. Petr Goetz, CSc.

Úvod: Klopido-grel je jedním z klíčových protidestičkových léků v sekundární prevenci ischemické cévní mozkové příhody (CMP). Relativně vysoká frekvence (15-25%) zvýšené destičkové reaktivity (fenomén rezistence) však může komplikovat jeho použití. Zvýšená reaktivita trombocytů během terapie klopido-grelem určená řadou laboratorních metodik měření trombocytární reaktivity ex-vivo je spojena s vyšším rizikem recidivy CMP. Naneštěstí většina těchto testů vykazuje problematickou replikovatelnost a specifitu. Komplementární metodikou může být farmakogenetika (FG), kdy nosiči alely CYP2C19*2 se sníženou funkcí vykazují vyšší trombocytární reaktivitu. Hlavní výhodou FG testování je její jednoznačnost a zejména fakt, že jí lze vyšetřit v podmínkách akutní péče ještě před zahájením léčby klopido-grelem. Riziko je jasně definováno pro homozygoty *2/*2 (1,5% populace), ale méně je známo o riziku heterozygotů *1/*2 (20-35% populace). I když novější protidestičkové léky - P2Y12 inhibitory tikagrelor a prasugrel mohou částečně překonat rezistenci na klopido-grel, tak jejich použití u pacientů po CMP není rutinně možné pro vyšší riziko krvácení, vysokou cenu a zejména nutnost off-label indikace.

Cíl: Určit korelaci mezi optickou agregometrií (light transmittance aggregometry, LTA) a heterozygotním genotypem *1/*2 genu CYP2C19 u pacientů po nekardioembolické CMP léčených klopido-grelem v monoterapii a zhodnotit její použití při selekci vhodné léčby.

Materiál a metody: Pacienti po nekardioembolické CMP indikovaní k monoterapii klopido-grelem byli genotypizováni na přítomnost alel CYP2C19*1 a *2. Homozygoti *2/*2 byli vyloučeni z léčby, wild type *1/*1 a heterozygoti *1/*2 byli nasazeni na klopido-grel. Po stabilizaci byla doplněna LTA s indukci ADP. Zvýšená reaktivita byla definována jako $\geq 35\%$.

Výsledky: Celkem bylo zařazeno 78 pacientů, stáří 63,1 roku (30-88), 45 (57,7%) mužů. 33 (42,3%) byli heterozygoti *1/*2, 45 (57,7%) byli wild type *1/*1. 14/33 (42,4%) heterozygotů bylo rezistentních podle LTA oproti 6/45 (13,3%) wild type pacientům. Korelace genotypem CYP2C19 a LTA byla středně dobrá ($r = 0,329$, $p = 0,004$). Area under the curve (AUC) podle ROC analýzy byla 0,675 (95% CI: 0,564 - 0,781, $p = 0,008$).

Závěr: Optimální první metodou selekce pacientů vhodných pro léčbu klopido-grelem se může stát farmakogenetika, kdy na nové P2Y12 inhibitory nasadíme homozygoty *2/*2 a náročnější a méně spolehlivou LTA testujeme pouze u heterozygotů *1/*2 a naopak neprovádíme u wild type *1/*1 pacientů.

15. LIMBICKÉ ENCEFALITIDY: KLINICKÉ CHARAKTERISTIKY

Elišák M. ¹, Krýsl D. ¹, Hanzalová J. ², Marusič P. ¹

1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2-Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

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

Úvod: Protilátky proti membránovým a synaptickým antigenům (M-Abs) představují skupinu přímo patogenních protilátek sdružených s neurologickými chorobami, probíhajícími zejména pod obrazem limbické nebo NMDAR encefalitidy. Klinické příznaky mohou být variabilní, což může komplikovat diagnózu. Přítomnost časně podaná imunosupresivní terapie může výrazně zlepšit prognózu pacientů.

Cíl: Určit klinické charakteristiky, které by mohly napomoci v identifikaci pacientů s onemocněními asociovanými s M-Abs.

Materiál a metody: Retrospektivně jsme hodnotili charakteristiky pacientů s pozitivitou protilátek proti membránovým a synaptickým antigenům v séru (anti-LGI1, anti-caspr2, anti-AMPA1, anti-AMPA2, anti-GABABR) vyšetřených od 11/2011 do 8/2013. Vzhledem k již dobře charakterizovanému průběhu onemocnění u pacientů s pozitivitou NMDAR protilátek jsme tyto pacienty nezařadili. Přítomnost M-Abs byla hodnocena nepřímou imunofluorescencí (na HEK293 buňkách transfektovaných genem pro daný antigen - Autoimmune encephalitis mosaic 1, Euroimmun AG) – u všech pacientů v séru, u určitých také v likvoru.

Výsledky: Diagnostikovali jsme celkem devět pacientů s pozitivitou M-Abs. Většina pacientů měla minimálně jeden příznak typický pro limbickou encefalitidou (epileptické temporální záchvaty, poruchu paměti, psychiatrické příznaky), byť míra vyjádření byla u jednotlivých pacientů heterogenní. Anti-LGI1 pozitivní pacienti (n=4) byli dva muži (73 a 59 let) s klinickým obrazem LE a hyponatrémií a dále dvě ženy (40 a 65 let), obě s poruchou krátkodobé paměti a de novo epileptickými záchvaty. Dosud probíhající onkoscreening odhalil u jednoho z anti-LGI1 pozitivních pacientů suspektní nádorové ložisko ve štítné žláze. Anti-caspr2 pozitivní pacienti (n=4) byli ve všech případech muži starší než 40 let. U třech z nich byla hlavním příznakem farmakorezistentní temporální epilepsie, v jednom případě mozečkový syndrom. U jednoho z pacientů byly zároveň přítomny protilátky anti-Hu a anti-AMPA1. Druhou anti-AMPA1 pozitivní pacientkou byla žena (58 let) s temporální epilepsií a kognitivním deficitem. V rámci onkoscreeningu byl u této nemocné zjištěn bronchogenní karcinom. Pozitivitu protilátek anti-AMPA2 a anti-GABABR jsme u našich pacientů nezaznamenali.

Závěr: Spektrum klinickým příznaků a průběh onemocnění je obvykle heterogenní. U pacientů s pozitivitou anti-caspr2 byli společnými faktory mužské pohlaví, pozdní rozvoj epilepsie bez předchozích rizikových faktorů, farmakorezistence, bilaterální nález na EEG a MRI mozku.

16. CHARAKTERIZACE IZOLÁTŮ STAPHYLOCOCCUS AUREUS OD PACIENTŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

Tkadlec J., Bukáčková E., Melter O.
Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: MVDr. Oto Melter, Ph. D.

Úvod: *Staphylococcus aureus* je jedním z prvních a nejčastěji izolovaných patogenů od pacientů s cystickou fibrózou (CF). Mezi izoláty *S. aureus* se objevují rezistentní MRSA (Methicilin Rezistentní *S. aureus*) a SCV kmeny (Small Colony Variant), které jsou spojeny s pokročilým stádiem choroby a horší prognózou onemocnění.

Cíl: Analyzovat izoláty *S. aureus* od pacientů z Centra cystické fibrózy FN Motol z hlediska výskytu rezistence k antibiotikům, patogenních a epidemiologických vlastností.

Materiál a metody: Z 280 vzorků od 105 pacientů s CF bylo v letech 2011 až 2012 získáno 242 izolátů *S. aureus*. Izoláty byly identifikovány pomocí MALDI -TOF MS. Citlivost k antibiotikům byla ověřena diskovou difuzní metodou. Typizace izolátů byla provedena pomocí pulzní elektroforézy (PFGE) a spa-typizace. Bakterie byly vyšetřeny na přítomnosti genů rezistence a virulence. SCV kmeny byly identifikovány fenotypově a byla stanovena jejich auxotrofie.

Výsledky: Celkem 142 izolátů z 58 pacientů bylo rezistentních k makrolidovým a linkosamidovým (ML) antibiotikům, 25 izolátů od 13 pacientů bylo rezistentních k aminoglykosidům. Od 5 pacientů bylo izolováno 6 MRSA kmenů. Rezistence k ML antibiotikům byla asociována s přítomností *erm* genů pro metylázy ribozomu a s efluxní pumpou *msrA*. Izoláty rezistentní k aminoglykosidům vlastnily geny *aadC*, *aphA3* nebo *aac-aphD* pro enzymy modifikující antibiotikum. *mecA* gen byl prokázán u všech MRSA kmenů.

Nejčastěji detekované geny kódující virulenční faktory mezi izoláty byly ze skupiny enterotoxinů: *seg* (n=137), *sei* (n=128), *sec* (n=38), *sea* (n=19), *sej* (n=15) a *seh* (n=18). Jiné determinanty pro faktory virulence jako exfoliatiny, PVL toxin, TSST byly nalezeny pouze sporadicky. Mezi izoláty bylo prokázáno 19 SCV kmenů z 9 pacientů všechny byly auxotrofní k tymidinům.

Typizační metody ukázaly značnou heterogenitu mezi izoláty. Podle PFGE byly kmeny rozděleny do 39 pulzotypů, z nichž dva největší zahrnovaly 61 izolátů od 27 pacientů (26%) respektive 28 izolátů od 10 pacientů (12%). Výsledky spa-typizace odpovídaly PFGE.

Závěr: Výsledky ukazují vysokou prevalenci kmenů rezistentních k makrolidovým a linkosamidovým antibiotikům mezi pacienty (55%) naopak prevalence MRSA (6%) a SCV kmenů (9%) je relativně nízká vzhledem k údajům ze zahraničních studií. Jedná se o první systematickou studii zaměřenou na průkaz a charakterizaci izolátů *S. aureus* u pacientů s chronickou infekcí (CF) v České republice.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen grantem IGA MZ ČR NT12395-5/2010.

17. CHARAKTERIZACE VIROMU VE STOLICÍCH DĚTÍ Z MALAWI: DIVERZITA ODHALENA POMOCÍ SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE

Kramná L. ¹, Holková K. ¹, Fan Y. ², Oikarinen S. ³, Lehto K. ², Nurminen N. ³, Mangani Ch. ^{2,4}, Maleta K. ⁴, Ashorn P. ^{2,5}, Hyöty H. ³, Cinek O. ¹

1-Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole; 2-School of Medicine International Health, University of Tampere, Tampere Center for Child Health Research; 3-Department of Virology, School of Medicine, University of Tampere;

4-College of Medicine, University of Malawi, Blantyre, Malawi; 5-Department of Pediatrics, Tampere University Hospital, Tampere, Finland

Školitel: doc. MUDr. Ondřej Cinek, Ph.D.

Úvod: Sekvenování nové generace (NGS) přineslo nové možnosti ve výzkumu viromu. Stolica je zdrojem četných, mnohdy nepopsaných virů, zejména pokud pocházejí z populací s nízkým standardem hygieny.

Cíl: Cílem práce bylo pomocí sekvenování nové generace identifikovat a charakterizovat pikornaviry vyskytující se ve stolicích dětí z běžné populace v Malawi.

Materiál a metody: Vzorky stolic byly odebrány od zdravých dětí ve věku 6 a 12 měsíců, zařazených do širší studie Lungwena Child Nutrition Intervention (LCNI-5). Pro naši práci bylo vybráno 16 vzorků stolic, které vykazovaly pozitivitu na enterovirus, avšak nebylo možné určit typ viru pomocí Sangerova sekvenování oblasti VP1. Vzorky byly paralelně testovány pomocí specifické PCR též na noroviry, parechoviry, rotaviry a rhinoviry.

Charakterizace viromu začala několikanásobnou centrifugací, filtrací a ultracentrifugací k obohacení a čištění virové frakce. Izolovaná RNA pak byla náhodně amplifikována a knihovny byly sekvenovány na platformě Illumina. Bioinformatická analytická pipeline zahrnovala de-novo assembly náhodných fragmentů a algoritmus pro vyhledávání sekvenčních motivů proti pan-virové databázi s omezením na pikornaviry.

Výsledky: Enterovirus byl pomocí NGS detekovatelný v 15 / 16 vzorců a enterovirový signál zpravidla umožňoval rekonstrukci 30-90% virového genomu. Ve zbývajícím vzorku byly masivně nalezeny parechovirus a cosavirus, které při konstrukci knihovny patrně zastínily velmi nízkou kvantitu též přítomného enteroviru. Charakteristickým rysem 11 z 15 vzorků byla přítomnost více než jednoho lidského pikornaviru v relativně vysoké kvantitě. 9/ 11 vzorků obsahovaly kombinace dvou či tří nepříbuzných kmenů enteroviru, některé navíc ještě parechovirus, cosavirus či obojí. U 2/ 11 vzorků byl nalezen enterovirus s cosavirem. Pomocí NGS jsme nezachytili ani jednu ze čtyř známých pozitivit na rhinovirus, přítomných ve vzorcích v kvantitě do 10 kopií na mikrolitr. Jeden ze vzorků měl obsahovat i norovirus v dostatečné kvantitě, ale NGS jej neidentifikovalo.

Přítomné kmeny enteroviru byly fylogeneticky vzdáleny od známých sekvencí deponovaných GenBank, což spolu s častou přítomností směsné populace enterovirů vysvětluje selhání konvenčních genotypizačních metod.

Závěr: Aplikace NGS umožnila separovat směsnou populaci mnoha rozdílných virů, včetně nových dosud neznámých kmenů enteroviru. V budoucnu bude zajímavé například porovnat složení viromu v malawské a finské populaci s ohledem na autoimunitní onemocnění či alergie.

18. PODSKUPINA PACIENTŮ S CVID DEFINOVANÁ IMUNOFENOTYPIZACÍ B-BUNĚK PERIFERNÍ KRVĚ MÁ TYPICKÝ KLINICKÝ OBRAZ A BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI

Stuchlý J. ¹, Kanderová V. ¹, Vlková M. ², Heřmanová I. ¹, Slámová L. ¹, Król L. ¹, Trková M. ⁴, Hrušák O. ¹, Šedivá A. ³, Litzman J. ², Froňková E. ¹, Kalina T. ¹

1-CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie, Universita Karlova - 2. lékařská fakulta, 2-Ústav klinické imunologie a alergologie, FN u sv. Anny, Brno, 3-Ústav imunologie, Universita Karlova - 2. lékařská fakulta, 4-Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny, Praha

Školitel: doc. MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.

Úvod: Běžný variabilní imunodeficit (CVID) je charakterizován nízkými hladinami sérových IgG, IgA a/nebo IgM a porušenou specifickou protilátkovou odpovědí na antigenní stimulaci. CVID je vysoce heterogenní primární imunodeficit, jehož etiologie je známa u méně než 10% případů.

Cíl: Cílem studie je definovat a charakterizovat skupiny pacientů podle B- a T- buněčného fenotypu, které mohou sdílet podobný etiopatologický mechanismus.

Materiál a metody: Pomocí 8 barevné průtokové cytometrie jsme určili B- a T- buněčný imunofenotyp u 98 pacientů a 47 zdravých dárců. Počítačovou analýzou (probability binning) dat jsme definovali podskupiny pacientů a u vybraných pacientů jsme určili cytokinový profil v krevní plasmě, genetické aberace a provedli jsme in vitro funkční experimenty na izolovaných B-lymfocytech.

Výsledky: Probability binning rozdělil pacienty do jedenácti skupin podle B-buněčného fenotypu. Jediná skupina pacientů (dále jen cluster 5; 14 pacientů) vykazovala jak výrazně aberantní B-buněčný fenotyp (více než 30% CD21low buněk z naivních B-buněk), tak CD4 T-buněčný fenotyp (významně zmenšená populace naivních CD4 T-buněk a zvětšené populace terminálně diferencovaných a vyčerpaných CD4 T-buněk).

Pacienti z clusteru 5 trpí častěji splenomegalií a autoimunitními chorobami (zejména autoimunitní trombocytopenií).

U náhodně vybraných pacientů (17 pacientů, 7 z clusteru 5) jsme analyzovali hladiny cytokinů v plasmě a prokázali významně vyšší hladiny interferonu gama (p -value<0.02), interleukinu 2 (p -value<0.003) a interleukinu 10 (p -value<0.0003) u pacientů z clusteru 5.

Celogenomové sekvenování (ověřeno PCR) objevilo single-nukleotid polymorfismy u pacientů z clusteru 5 v genech kódujících CD21 (komplementový receptor 2, alternativní receptor pro interferon alfa) a IFI44 (gen interferonové dráhy).

Pro ověření hypotézy, že patologický mechanismus u pacientů z clusteru 5 souvisí s porušenou funkcí interferon alfa dráhy, jsme stimulovali separované naivní B buňky interferonem alfa. Buňky pacientů z clusteru 5 reagovaly významným snížením exprese CD21 na B-buňkách (p -value<0.002) a významným zvětšením populace (apoptotických) CD19lowCD21low B-buněk (p -value<0.0005) oproti ostatním CVID pacientům.

Závěr: Definovali jsme novou podskupinu CVID pacientů a navrhli možný patologický mechanismus zodpovědný za jejich imunofenotyp a klinické projevy.

Podpora projektu: NT/11414-5, P302/12/G101, GAUK-643912

19. OVLIVNĚNÍ PRODUKCE OXIDU DUSNATÉHO TETRAHYDROBIOPTERINEM PŘI CHRONICKÉ HYPOXII

Koubský K., Ďurišová J., Miková D., Herget J.
Ústav fyziologie 2. LF UK

Školitel: prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Úvod: Tetrahydrobiopterin (BH4) je nezbytným kofaktorem pro syntázu oxidu dusnatého (NO syntázy, NOS). Působením oxidačního stresu se BH4 oxiduje na dihydrobiopterin (BH2). Snížení poměru BH4/BH2 způsobí rozpřažení dvou enzymatických domén NOS a následnou produkci superoxidu místo NO. V poslední době se ukazuje, že tento proces hraje roli v patogenezi mnoha onemocnění spojených s endoteliální dysfunkcí. Je známo, že chronická hypoxie zvyšuje produkci reaktivních sloučenin kyslíku (ROS), zejména v počáteční fázi. Rozpřažení NOS vlivem oxidačního stresu může dále zvyšovat oxidační poškození a přispívat k rozvoji hypoxické plicní hypertenze.

Cíl: Cílem práce bylo testovat hypotézu, že zvýšená produkce ROS v časně fázi chronické hypoxie snižuje poměr BH4/BH2 a způsobuje rozpřažení NO syntázy.

Materiál a metody: Pokusy byly provedeny na dospělých samcích potkana kmene Wistar. Srovnávali jsme zvířata vystavená hypoxii po 4 dny (normobarická hypoxická komora s 10% O₂) s normoxickými kontrolami.

Zkoumali jsme účinek exogenně podaného BH4 in vitro (A) na izolovaných periferních plicních cévách (hypoxie n=12, kontroly n=12) a izolovaných perfundovaných plicích (hypoxie n=7, kontroly n=8). Byl měřen vazodilatační efekt BH4 při hypoxické plicní vazokonstrikci a jeho ovlivnění inhibitory NOS. Dále jsme měřili in vivo (B) vliv podaného BH4 na koncentraci NO ve vydechovaném vzduchu (hypoxie n=8, kontroly n=6) a opět ovlivnění inhibitory NOS.

Výsledky: (A) Podání BH4 snížilo velikost hypoxické plicní vazokonstrikce v izolovaných plicních cévách i v izolovaných perfundovaných plicích. Tento účinek byl zablokovan podáním L-NAME (inhibitor NOS). BH4 měl nižší účinek u zvířat vystavených hypoxii po 4 dny než u kontrolních zvířat. (B) Vystavení zvířat chronické hypoxii zvýšilo koncentraci NO ve vydechovaném vzduchu. Podání BH4 zvýšilo koncentraci NO ve vydechovaném vzduchu u hypoxických i kontrolních zvířat. Toto zvýšení bylo zablokováno L-NIL (selektivní inhibitor inducibilní NO syntázy).

Závěr: Podání BH4 zvýšilo produkci NO u hypoxických i normoxických potkanů. Toto zvýšení však bylo u hypoxických zvířat nižší. Domníváme se, že tento rozdíl je dán snížením poměru BH4/BH2 při chronické hypoxii a následným rozpřažením NO syntázy. Rozpřažení NO syntázy tedy může hrát důležitou roli v patogenezi hypoxické plicní hypertenze a ovlivnění tohoto procesu pomocí biopterinů by mohlo v budoucnu být užitečnou terapeutickou možností.

Podpora projektu: GAČR 305/08/0108, IGA MZČR NT/13358

20. VAZBA HELIX ASPERSA NA IGA JAKO MOŽNÝ BIOMARKER ZÁVAŽNOSTI IGA NEFROPATIE

Chvátalová E. ¹, Vondrák K. ², Háček J. ³, Raška M. ⁴, Czerneková L. ⁴, Nováková J. ⁴, Matoušovic K. ⁵
1-2. Lékařská fakulta UK, 2-Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, 3-Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, 4-Ústav imunologie lékařské fakulty Univerzity Palackého Olomouc, 5 - Interní klinika 2. LF UK a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.

Úvod: IgA nefropatie (IgAN) je nejčastější glomerulonefritida na světě. V posledních letech se ukazuje, že antigenní determinantou pro tvorbu IgA imunitních komplexů je nedostavěný O-glykosydický řetězec IgA1. Tento defekt se prokazuje vazbou lektinu *Helix aspersa* (HAA). Je známo, že na IgA1 pacientů s IgAN se HAA váže s vyšší intenzitou než na IgA1 pacientů s jinými ledvinovými chorobami a na IgA1 zdravých jedinců. Není však známo, zda vazba HAA souvisí s aktivitou IgAN.

Cíl: Zjistit, zda intenzita vazby HAA je ve vztahu k závažnosti IgAN.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 29 jedinců (23 mužů, 6 žen, 5-28 roků) s prokázanou IgAN, u nichž byl odebrán vzorek séra. Vazba HAA byla zjištěna metodou ELISA. Na destičku potaženou F(ab')₂ anti IgA (2.5 ug/ml) jsme přidali sérum ve dvojkovém ředění, následovala inkubace se sialidázou a vazbu HAA jsme detegovali biotinem značeným HAA. Reakci jsme vyvolali peroxidázovou reakcí a odečetli fotometricky. Klinickou aktivitu IgAN jsme zhodnotili na základě S-krea, C-krea a kvantitativní proteinurie. Biopsický nález ve světelné mikroskopii jsme klasifikovali jednak podle Haase na stupeň 1-5, jednak semikvantitativně podle globální a segmentární sklerotizace glomerulů, přítomnosti extrakapilární proliferace, stupně fibrózy intersticia a arteriolosklerózy. V imunofluorescenčním nálezu byly kromě depozit IgA semikvantitativně vyjádřeny uloženiny IgG, IgM, fibrinogenu a C3 složky komplementu. S těmito parametry jsme korelovali intenzitu vazby HAA (OD).

Výsledky: Hladina S-krea v době biopsie korelovala se stupněm tubulointersticiální regrese ($r=0,44$, $P<0,01$), zatímco korelace s GFR byla pod hranicí významnosti. Další korelace nedosáhly statistické významnosti, ale blížily se jí v následujícím pořadí: intenzita vazby HAA vs. S-krea ($r=0,23$), HAA vs. morfologická regrese dle Haase ($r=0,16$), HAA vs. GFR ($r= -0,15$). Neprokázali jsme korelaci mezi vazbou HAA a procentem sklerotizovaných glomerulů, segmentární sklerotizací glomerulů, srpkami v glomerulech, s fibrózou intersticia a tubulární atrofíí, ani s průkazem IgG, IgM, fibrinogenu a C3 složky komplementu v imunofluorescenční mikroskopii.

Závěr: U IgAN korelovala S-krea s tubulointersticiální regresí. Intenzita vazby HAA na IgA byla nejvyšší u pacientů se zvýšeným S-krea a se stoupající morfologickou závažností dle Haase, tedy s klinickými parametry progresu, statistické významnosti na malé skupině pacientů však tyto vztahy nedosáhly. Intenzita vazby HAA se jeví jako další možný biomarker závažnosti IgAN.

Podpora projektu: IGA NT 11081

21. NOVÝ MECHANISMUS REGULACE SIGNALIZACE KANABINOIDNÍHO RECEPTORU CB1

Hájková A.¹, Techlovská Š.¹, Rafferty N.¹, Kumpošt J.¹, Dvořáková M.¹, Franková D.¹, Prezeau L.², Blahoš J.¹

1-ÚMG AV ČR, Praha, 2-IGF, Montpellier

Školitel: doc. MUDr. Jaroslav Blahoš, Ph.D.

Úvod: Kanabinoidní receptor 1 (CB1R) byl objeven díky své interakci s THC (Δ -9-Tetrahydrocannabinol), psychoaktivní látkou obsaženou v konopí. CB1R patří do rozsáhlé skupiny receptorů spřažených s G-proteiny (GPCR), které charakterizuje 7-transmembránová doména. CB1R je nejrozšířenějším GPCR receptorem v centrální nervové soustavě savců. Je lokalizován presynapticky v axonech neuronů, kde po aktivaci spouští signální dráhy interakcí s inhibičními G-proteiny. Stejně jako řada jiných GPCR vykazuje CB1R v závislosti na navázaném ligandu funkční selektivitu. Jeho primární funkce spočívá v modulaci synaptické plasticity. Reguluje tak řadu procesů ovlivňujících kognitivní funkce, udržování energetické rovnováhy, sociální interakce, emoce, paměť a další. Asi 85% CB1R se nachází uvnitř buňky a pouze zbylých 15% je prezentováno na jejím povrchu, kde může plnit svou funkci. Po aktivaci receptoru dochází k jeho rychlé desenzitizaci a internalizaci. Část internalizovaných receptorů je recyklována a zbytek je směřován do lysosomů k degradaci. Molekulární mechanismus cirkulace CB1R v buňce nebyl doposud dostatečně objasněn. Odhalení molekulárních principů těchto procesů je velmi důležité pro správné pochopení funkce receptoru a může napomoci při vývoji nových léčiv s nižší mírou nežádoucích účinků.

Cíl: Identifikace nových potenciálně významných proteinů interagujících s intracelulárním C-koncem CB1R a charakterizace jejich vlivu na funkci CB1R.

Materiál a metody: Yeast-two hybrid (Y2H), konfokální mikroskopie, funkční testy – měření hladiny intracelulárního vápníku, měření míry internalizace receptoru, fosforylace ERK (extracellular signal-regulated kinases) s využitím HTRF

Výsledky: Pomocí Y2H mezi intracelulárním C-koncem CB1R a myší cDNA knihovnou jsme našli protein, jehož interakce s CB1R nebyla doposud známa. K ověření této interakce byla využita imunocytochemie primárních neuronálních kultur, s využitím námi vyvinutých protilátek, která potvrdila fyziologickou interakci obou proteinů v axonálních zakončeních neuronů. Měřením změn v aktivitě CB1R po stimulaci agonistou v heterologním expresním systému buněk HEK293 transfekovaných CB1R nebo ko-transfekovaných CB1R a nalezeným adaptorem jsme zjistili signifikantní vliv tohoto adaptoru na povrchovou expresi CB1R. Přesný mechanismus a funkční důsledek této interakce na signalizaci CB1R je předmětem našeho současného výzkumu.

Závěr: Identifikovali jsme protein interagující s intracelulárním koncem CB1R a prokázali, že tato interakce ovlivňuje funkci CB1R.

22. MODIFIKOVANÉ NANOVLÁKENNÉ MEMBRÁNY JAKO NOSIČE KOŽNÍCH BUNĚK

Bačáková M. ¹, Lopot F. ², Hadraba D. ^{1,2}, Varga M. ³, Riedel T. ⁴, Stránská D. ⁵, Bačáková L. ¹

1-Oddělení biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR Praha, 2-Katedra anatomie a biomechaniky, Fakulta tělesné výchovy a sportu Karlovy univerzity Praha, 3-Fyzikální ústav AV ČR Praha, 4-Ústav makromolekulární chemie AV ČR Praha, 5-Elmarco Ltd. Liberec

Školitel: doc. MUDr. Lucie Bačáková, CSc.

Úvod: V poslední době jsou nanovláknenné materiály stále více atraktivní pro aplikace v tkáňovém inženýrství. Oproti konvenčně používaným planárním nebo mikrostrukturovaným materiálům lépe napodobují strukturu vláknitých složek přirozené extracelulární matrix. V kožním tkáňovém inženýrství mohou být nanovláknenné membrány využity pro konstrukci dvojvrstvy fibroblastů a keratinocytů, kde membrána odděluje oba buněčné typy, ale přesto díky svým pórům může zajišťovat jejich komunikaci humorální i mezibuněčným kontaktem. Atraktivita nanovláknenných membrán pro adhezi a růst kožních buněk může být dále podpořena vhodnou fyzikální úpravou (ozáření plasmatem) nebo biologicko-chemickou modifikací (potažení nanovláken molekulami extracelulární matrix – kolagen, hyaluronan, fibrin).

Cíl: Práce se zabývá studiem adheze a růstu kožních buněk – lidských fibroblastů a lidských keratinocytů linie HaCaT na polyaktidových nanovláknenných membránách modifikovaných v plasmatu nebo potažených kolagenem I a fibrinem.

Materiál a metody: Nanovláknenné membrány o různé hustotě vláken (5 – 30 g/m²) byly modifikovány v kyslíkovém plasmatu s výkonem 25 – 100 W po dobu 10 – 100 s. Po expozici membrán v plasmatu byla sledována jejich míra poškození (degradace) skenovací elektronovou mikroskopií (SEM), změna zastoupení chemických skupin na jejich povrchu pomocí rentgenové fotoelektronové spektroskopie (XPS) a změna mechanických vlastností.

Kolagenové vrstvy byly připraveny vysrážením kolagenu I změnou pH prostředí. Fibrinové vrstvy byly připraveny smícháním fibrinogenu s trombinem. Na oba typy vrstev byl následně uchycen fibronectin, protein zprostředkující adhezi buněk k materiálu.

Na testovaných materiálech byla hodnocena adheze, růst, metabolická aktivita a viabilita fibroblastů a keratinocytů.

Výsledky: Polyaktidové nanovláknenné membrány podporují adhezi a růst kožních buněk, což bylo dále významně podpořeno plasmovou modifikací. S rostoucím výkonem a zejména dobou plasmování ovšem roste míra poškození (degradace) nanovláken. Po expozici v plasmatu dochází ke zvýšení tuhosti a křehkosti membrán a zastoupení kyslíkových skupin na jejich povrchu. Fibrinové vrstvy na povrchu membrán významně přispívají ke zlepšení adheze a růstu kožních fibroblastů. Keratinocyty přednostně adherují na membránách potažených kolagenem.

Závěr: Nanovláknenné membrány z polyaktidu jsou slibným materiálem pro konstrukci dočasných nosičů kožních buněk, zejména po jejich fyzikální či biologické modifikaci.

Podpora projektu: Podporováno GA ČR (grant č. (grant č. P108/12/G108).

POSTERY

P-01. HETEROTOPICKÁ TRANSPLANTACE SRDCE U POTKANŮ A IMUNOMODULACE POMOCÍ KMENOVÝCH BUNĚK

Čanádyová J.

Kardiochirurgické oddělení Nemocnice České Budějovice, a.s.

Školitel: doc. MUDr. Marek Šetina, CSc.

Úvod: Transplantace srdce je v současnosti někdy jedinou možností léčby terminálního stadia srdečního selhání. Přenos kmenových buněk nabízí v experimentu nové možnosti léčby.

Model heterotopické transplantace srdce u potkanů je používán od roku 1964 a je akceptován jako nejčastější zvířecí model pro studium transplantační imunologie a farmakologie. Výhodou potkaních modelů je jejich dostupnost, malá biologická variabilita, přirozeně vyšší odolnost proti infekci a malá ekonomická náročnost.

Cíl: 1) Příprava a natrénování modifikované techniky heterotopické transplantace srdce u potkanů
2) Posoudit efektivitu mezenchymových kmenových buněk potkanů v navození imunosuprese
3) Určit nejvhodnější protokol infuze mezenchymových kmenových buněk (dávka, místo aplikace, timing)
4) Srovnání účinnosti mezenchymových kmenových buněk v navození imunitolerance event. zabránění akutní rejekce s klasickým imunosupresivním preparátem cyklosporinem A

Materiál a metody: V projektu budou využity kmeny potkanů Wistar a Lewis jako nepříbuzenské kmeny vhodné pro testování imunologických reakcí po transplantaci srdečních alograftů.

V každé skupině (celkem 7) je pro statistické vyhodnocení zapotřebí 10 zvířat jako dárců a 10 zvířat jako příjemců srdce. Celkem projekt počítá se 140 potkany.

Kontrola stavu a funkčnosti štěpu bude probíhat palpačním vyšetřením štěpu a echokardiografickým zhodnocením funkčnosti štěpu. V případě nejasného nálezu pomocí kontrolní probatorní laparotomie.

Odběr krve pro účely diagnostické bude prováděn z ocasní žíly a nevyžaduje anestezii.

Výsledky: V listopadu 2013 byla provedena heterotopická transplantace u 7 potkanů Wistar – Wistar. 3 potkan (43%) uhynuli bezprostředně po výkonu (krvácení, respirační problém). U přežívajících potkanů byla funkčnost štěpů pravidelně kontrolována palpačním, echokardiografickým vyšetřením a probatorní laparotomií. U všech 4 přežívajících potkanů byla provedena kontrola renálních funkcí (vyšetření kreatininu). Po usmrcení přežívajících potkanů byly odebrány orgány (srdce, ledviny) na histologické vyšetření.

Závěr: Technika jedno anastomóзовé heterotopické transplantace (aorta dárce – břišní aorta příjemce) je technicky jednoduchá a reprodukovatelná.

Další fáze experimentu (rok 2014) bude zaměřena na způsob odběru a přípravy kmenových buněk a vypracování optimálního protokolu jejich aplikace.

Podpora projektu: Nadace Kardiocentrum České Budějovice

P-02. PREDIKTIVNÍ HODNOTA LUMBÁLNÍHO INFUZNÍHO TESTU V DIAGNOSTICE NORMOTENZNÍHO HYDROCEFALU

Radovnický T., Sameš M.

Neurochirurgická klinika, Univerzita J. E. Purkyně, Masarykova nemocnice, Ústí nad Labem

Školitel: prof. MUDr. Martin Sameš, CSc.

Úvod: Normotenzní hydrocefalus je chorobou osob vyššího věku, která se projevuje klinickou triádou poruchy chůze, demence a inkontinence. Optimální diagnostická metoda stále nebyla určena. Jednou z metod je lumbální infuzní test se stanovením výtokového odporu likvoru (resistance to outflow, Rout). Jeho význam, stejně jako význam ostatních diagnostických testů, je v poslední době zpochybňován. Analýza vlastního souboru pacientů s případnou revizí diagnostického algoritmu je proto nutná.

Cíl: Naším cílem je stanovit prediktivní hodnotu lumbálního infuzního testu v diagnostickém algoritmu normotenzního hydrocefalu.

Materiál a metody: Do retrospektivní studie bylo zahrnuto 38 pacientů (22 mužů, 16 žen) s věkovým průměrem 68 let (38-86 let). Pacienti byli vyšetřeni standardním vyšetřovacím algoritmem. Provedeno bylo klinické vyšetření se zaměřením na objektivizaci poruchy chůze, kognitivního deficitu a sfinkterových poruch. Dále byl zhodnocen nález na magnetické rezonanci mozku. Při přítomné dilataci komorového systému byl proveden standardizovaný Katzmanův lumbální infuzní test. Pacienti s pozitivním výsledkem testu (Rout > 10 mmHg/ml/min) podstoupili implantaci ventrikulo-peritoneálního zkratu. Po operaci byli pacienti klinicky vyšetřeni s odstupem 1, 3, 6 a 12 měsíců. Vývoj stavu byl srovnán s výsledky lumbálního infuzního testu. Pacienti s pooperačním zlepšením klinického stavu jsou označeni jako responderi a pacienti bez zlepšení symptomatologie jako non-responderi.

Výsledky: Z 38 pacientů profitovalo z implantace ventrikulo-peritoneálního zkratu 29 pacientů (76%), u 9 pacientů jsme klinický efekt nepozorovali. Pozitivní prediktivní hodnota lumbálního infuzního testu v našem souboru byla 76%. Průměrná hodnota Rout u responderů byla 15,4 mmHg/ml/min, u non-responderů 11,8 mmHg/ml/min. Mezi pacienty s Rout 10-11 mmHg/ml/min nebyl responder ani jeden. Zaznamenali jsme také 2 non-respondery ve skupině s Rout 15-16 mmHg/ml/min. Oba dva byli starší než 80 let, klinické příznaky trvaly déle než 2 roky.

Závěr: Norma pro Rout 10 mmHg/ml/min je příliš nízká. Pozitivní prediktivní hodnota je při této hodnotě 76%. Jako hraniční hodnotu doporučujeme 11 mmHg/ml/min, kdy pozitivní prediktivní hodnota stoupá na 86,6% a nikdo z responderů nezůstává bez adekvátní léčby. Pro dosažení optimálních výsledků je nutná korelace výsledků lumbálního infuzního testu s klinickým a grafickým obrazem.

Podpora projektu: Grant - IGA MZ ČR NT/14448-3

P-03. PRVNÍ VÝSLEDKY MOLEKULÁRNÍ TYPIZACE IZOLÁTŮ C. DIFFICILE V ČR

Krůtová M.^{1,2}, Matějková J.¹, Nyč O.¹

1-Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN v Motole, 2-DNA laboratoř KDN, 2. LF UK a FN v Motole

Školitel: MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.

Úvod: Clostridium difficile je významným nozokomiálním patogenem vyvolávajícím střevní infekce zpravidla v souvislosti s předchozí nebo současnou antibiotickou terapií.

Incidence infekcí vyvolaných C. difficile celosvětově narůstá. Striktní dodržování protiepidemických opatření a aktivní surveillance jsou klíčové pro efektivní kontrolu této infekce.

Metoda ribotypizace kliniky významných izolátů C. difficile výrazně napomáhá identifikovat aktuální epidemiologickou situaci v jednotlivých nemocničních zařízeních včetně možnosti predikce klinické závažnosti a rizika rekurencí u jednotlivých ribotypů.

Cíl: Určení zastoupení a distribuce toxigenních ribotypů C. difficile v České Republice.

Materiál a metody: Izoláty C. difficile kultivované na 11 mikrobiologických pracovištích v ČR od hospitalizovaných pacientů s podezřením na CDI (C. difficile infection).

PCR ribotypizace založená na kapilární elektroforéze byla provedena podle evropského standardního operačního postupu ECDIS-net (European C. difficile infection surveillance network) s použitím Webribo databáze k porovnání elektroforetických profilů.

Výsledky: Celkem bylo ribotypizací dourčeno 624 kmenů C. difficile. Identifikováno bylo 75 různých ribotypů.

251 (40%) izolátů C. difficile příslušelo k ribotypu 176.

Ostatní významněji opakující se ribotypy byly 001(3,9%), 014(8,2%), 017(5,1%), 012(5,8%), 020(2,7%), 078(2,4%).

Závěr: Z výsledků vyplývá, že C. difficile ribotyp 176, který se řadí k vysoce virulentním, je predominantním ribotypem pro Českou republiku.

To, že byl prokázán v různé míře ve všech spolupracujících zařízeních, svědčí o jeho epidemiologicky významné distribuci, která je v rámci Evropy zcela výjimečná.

Spektrum ostatních signifikantněji zastoupených ribotypů odpovídá zastoupení toxigenních ribotypů C. difficile v Evropě.

Podpora projektu: MZ ČR IGA NT14209-3

P-04. PRODUKTY VOLNÝCH RADIKÁLŮ JAKO POTENCIÁLNÍ BIOMARKERY PRO VČASNOU DIAGNOSTIKU ALZHEIMEROVY CHOROBY

Illner J. ¹, Chmátalová Z. ¹, Veselská Z. ¹, Vyhnaněk M. ², Laczó J. ², Hort J. ², Skoumalová A. ¹

1-Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol, 2-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: MUDr. Alice Skoumalová, Ph.D.

Úvod: Alzheimerova choroba (ACH) představuje závažné neurodegenerativní onemocnění mozku a nejčastější formu demence spojenou se stárnutím. Patogeneze ACH je doprovázena nadprodukcí volných radikálů v mozku. Bylo zjištěno, že oxidační stres je přítomen v mozku již mnoho let před rozvojem demence v prodromální fázi ACH známé jako mírná kognitivní porucha (MCI). Peroxidace mozkových polynenasycených mastných kyselin v důsledku oxidačního stresu vede v prodromální fázi ke vzniku lipofilních produktů, tzv. lipofuscinoidních pigmentů (LFP), které mohou difundovat do krve. Předpokládá se, že oxidační stres je u ACH výraznější v počátečních stádiích, tj. ve stádiu MCI, v porovnání se stádiem demence.

Cíl: Cílem této práce bylo analyzovat LFP v erythrocytech pacientů s MCI a porovnat jejich množství a složení s demencí při ACH (ACH-D) a kontrolami.

Materiál a metody: Erythrocyty pacientů s MCI (n=25), ACH-D (n=18) a kontrol (n=13) byly extrahovány do chloroformu a analyzovány fluorescenční spektroskopii. Pro kvantitativní analýzy byla použita trojrozměrná a synchronní spektra. Kvalitativní rozdíly ve složení LFP u jednotlivých pacientů byly studovány pomocí druhých derivací synchronních spekter. Analýzy mastných kyselin v membránách erythrocytů byly provedeny plynovou chromatografií.

Výsledky: Fluorescenční spektroskopii byla identifikována dvě výrazná fluorescenční maxima 350/440 nm a 290/340 nm (excitační/emisní vlnová délka). Množství LFP bylo signifikantně zvýšené ve skupině pacientů s MCI ($p < 0,01$) v porovnání s ACH-D a kontrolami. Kvalitativní fluorescenční analýzy odhalily sedm různých fluoroforů, které ukázaly širokou variabilitu jak v kvantitativní charakterizaci, tj. v množství LFP (315/340 nm, 310/360 nm), tak i kvalitativní charakterizaci, tj. v rozdílném složení LFP (395/420 nm, 390/440 nm) mezi jednotlivými skupinami i v rámci skupin. Složení mastných kyselin v membránách erythrocytů bylo podobné ve skupinách pacientů i kontrol.

Závěr: Zjistili jsme zvýšené množství LFP v erythrocytech pacientů s MCI v porovnání s ACH-D a kontrolami, které může být způsobeno oxidačním stresem spojeným s patologickými změnami v mozku v časných fázích ACH. Fluorescenční analýzy ukázaly, že složení LFP v erythrocytech je komplexní. Mastné kyseliny v membránách erythrocytů nebyly LFP modifikovány.

Podpora projektu: Tato studie vznikla za podpory grantu GA UK číslo 604 912.

P-05. POČÁTEK KARDIORENÁLNÍHO SYNDROMU U PACIENTŮ S DM 2. TYPU

Pecková M. ¹, Charvát J. ¹, Schücker O. ¹, Hill M. ², Horáčková M. ¹

1-Interní klinika 2. LF UK a FN Motol Praha, 2-Endokrinologický ústav Praha

Školitel: doc. MUDr. Miroslava Horáčková, CSc.

Úvod: U pacientů s diabetes mellitus 2. typu, vzhledem k vysoké prevalenci kardiální a renální insuficience, dochází častěji k rozvoji kardiorenálního syndromu (KRS). Funkční poruchy obou orgánů se rozvíjejí v závislosti na kompenzaci diabetické poruchy, přítomnosti hypertenze a dalších metabolických vlivů.

Cíl: Studium interakce mezi funkcí srdce a ledvin v časném stadiu u diabetiků 2. typu a posoudit úlohu vybraných faktorů, natriuretických a vasoaktivních peptidů v kardiorenální interakci.

Materiál a metody: Osmdesát dva diabetiků 2. typu s optimálně korigovanou arteriální hypertenzí a metabolickou poruchou, bez příznaků onemocnění srdce, s normální nebo jen mírně sníženou glomerulární filtrací (eGFR) kalkulovanou dle rovnice MDRD podstoupilo echokardiografické vyšetření. Tkáňová dopplerovská echokardiografie hodnotila parametry E' (relaxace levé komory srdeční - LKS) a E/E' (enddiastolický plnicí tlak LKS). Stanovili jsme základní biochemické parametry, NT-proBNP, adrenomedulin (ADM) a calcitonin gene-related peptid (CGRP). Vztahy mezi faktory jsme hodnotili pomocí lineární regrese a multivariační analýzy. Vztah mezi E' a eGFR zkoumán clusterovou analýzou, která rozdělila soubor do dvou podskupin, odlišených hodnotou $E' = 7,1$ cm/s. Validitu vypočítané hodnoty $E' = 7.1$ cm/s jsme prověřili ROC (receiver operating characteristics) analýzou.

Výsledky: ROC analýza prokázala vysokou validitu (senzitivita 97,5% a specifita 97,1%) hodnoty $E' = 7.1$ cm/s. U 38 (46,3%) nemocných bylo $E' \leq 7,1$ cm/s a u 44 (53,7%) větší než 7,1 cm/s. Ve skupině s $E' \leq 7.1$ cm/s koreloval významně E/E' s eGFR, NT-proBNP a ADM. Ve skupině s $E' > 7,1$ cm/s korelovala významně eGFR s věkem, BMI, počtem podávaných antihypertenziv, ale nikoliv s E/E' . Ve skupině s $E' > 7,1$ cm/s korelovala koncentrace NT-proBNP významně s věkem a BMI, ale nikoliv s E/E' . Významná korelace mezi eGFR a NT-proBNP respektive ADM byla přítomna v obou podskupinách.

Závěr: Prokázali jsme kardiorenální interakci u diabetiků 2. typu bez závažné poruchy funkce ledvin, z nichž 46,3% mělo zhoršenou relaxaci LKS ($E' \leq 7.1$ cm/s). Vypočítaná hodnota $E' = 7.1$ cm/s vymezuje kritické zhoršení relaxace LKS, při kterém kardiorenální interakce vzniká. Tyto nálezy interpretujeme jako časné stadium KRS u diabetiků 2. typu. K významným změnám ve vztazích eGFR a hemodynamických parametrů s účastí vlivu natriuretických a vasoaktivních peptidů dochází dříve, než dojde ke klinické manifestaci KRS.

P-06. VYSTAVENÍ POTKANŮ 4-DENNÍ HYPOXII VYVOLÁ ZMĚNY PROTEINOVÉHO SLOŽENÍ BUNĚK HLADKÉHO SVALU PERIFERNÍCH PLICNÍCH CÉV

Karmazín K. ¹, Doušová K. ¹, Eckhardt A. ², Vytášek R. ¹, Žaloudíková M. ¹

1-Ústav patologické fyziologie 2. LF UK v Praze, 2-Fyziologický ústav AV ČR, Praha

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Marie Žaloudíková, Ph.D.

Úvod: Expozice chronické hypoxie vede k funkčním a morfoložickým změnám plicního řečiště. To má nepochybně odraz ve změně proteinového složení buněk hladkého svaly periferních plicních cév. Tato změna však dosud není dostatečně popsána. Proto jsme se rozhodli složení proteinů hladkého svaly plicních cév vystavených hypoxii testovat pomocí 2D elektroforézy.

Cíl: Cílem naší práce je porovnat proteinové složení hladkého svaly izolovaného z prealveolárních plicních artérií potkanů vystavených 4 dnům izobarické hypoxie a kontrol.

Materiál a metody: V pokusu bylo použito 9 dospělých samců potkanů kmene Wistar. Kontrolní zvířata žila v normoxických podmínkách (n=4), experimentální byla vystavena izobarické hypoxii (FiO₂=10%) po dobu 4 dní (n=5). Zvířata byla usmrcena předávkováním intraperitoneální injekcí thiopentalu. Plicní cévy 3.-5. řádu byly izolovány z plic potkanů pod mikroskopickou kontrolou. Buňky hladkého svaly byly získány enzymovou digescí fragmentů a takto připravený materiál byl zpracován sonikací v lyzačním pufru. Získané proteiny byly dále analyzovány pomocí jednorozměrné SDS-polyakrylamidové elektroforézy (SDS-PAGE) a dvourozměrné gelové elektroforézy. Při dvourozměrné gelové elektroforéze byla provedena nejprve izoelektrická fokusace pomocí systému Pro-tean IEF cell systém (Bio-Rad), následovala SDS-PAGE.

Výsledky: Ve všech vzorcích analyzovaných dvourozměrnou gelovou elektroforézou jsme zjistili významné zastoupení α -aktinu. To je důkazem, že námi izolované buňky jsou skutečně hladkým svaem. Dále jsme zjistili, že vystavení zvířat 4-denní hypoxii vedlo ke vzniku detekovatelných odlišností v proteinovém složení buněk hladkého svaly periferních plicních cév.

Závěr: Podařilo se nám připravit nativní buňky hladké svaloviny prealveolárních plicních cév potkanů a prokázat, že expozice zvířat 4 dnům hypoxie v nich navodí významné změny proteinového složení.

Podpora projektu: Tato práce je podpořena granty IGA NT 13358-4, GAČR 13-01710S.

P-07. SESTŘIHOVÉ VARIANTY METABOTROPNÍHO GLUTAMÁTOVÉHO RECEPTORU 1- DOPAD HETERODIMERIZACE NA LOKALIZACI A FUNKCI MGLUR1 V RÁMCI NEURONOVÉ BUŇKY

Techlovská Š. ¹, Chambers J. N. ¹, Petralia R. S. ², Rulcová A. ¹, Hájková A. ¹, Franková D. ¹, Dvořáková M. ¹, Blahoš J. ¹

1-Institut molekulární genetiky AV ČR, Praha, 2-National Institute on Deafness and Other Communication Disorders, Bethesda, Maryland USA

Školitel: doc. MUDr. Jaroslav Blahoš, Ph.D.

Úvod: Metabotropní glutamátové receptory (mGluRs) patří do rodiny receptorů spřažených s G-proteiny. V CNS jsou součástí excitačního nervového přenosu a podílí se na jeho regulaci. Skupina mGluRs je dělena na několik podtříd, podle sekvenční podobnosti a též synaptické orientace. Metabotropní glutamátový receptor 1 (mGluR1) je zástupce I. Skupiny a je dopravován na postsynaptickou část nervových buněk, kde reguluje neuronální excitabilitu, ovlivňuje synaptickou plasticitu a hraje roli ve zpětné inhibici uvolňování neurotransmiterů, čímž ovlivňuje procesy učení a paměti. mGluR1 je v savčím mozku přítomen v několika sestřihových variantách vznikajících alternativním sestřihem a lišících se v délce i kompozici karboxylové části začínající RRKK motivem. Nejdelší varianta mGluR1a je v rámci neuronů cílena do dendritů a dendr. trnů. Podmínkou funkční mGluR1 signalizace je membránová lokalizace a tvorba homodimerů. Naše skupina potvrdila, že izoformy mGluR1a a b tvoří heterodimery v heterologních systémech. Nyní jsme se zaměřili na otázku, zda dochází k tvorbě heterodimerů i v neuron. buňkách, kde se izoformy přirozeně vyskytují.

Cíl: Potvrzení interakce endogenní izoformy mGluR1a s mGluR1b ze vzorků potkaního mozku. Lokalizace izoform na řezech potkaního mozku. Potvrzení jejich společného výskytu. Objasnění lokalizace heterodimerních komplexů mGluR1a/b v porovnání s mGluR1a/a a mGluR1b/b v embryonálních neuronálních kulturách. Porovnání funkčnosti heterodimeru a homodimerní formy mGluR1 komplexu.

Materiál a metody: Genového inženýrství; imunoprecipitace; western blot; eliza; kultivace a transfekce HEK293; izolace, kultivace a transfekce E18 kortikálních neuronů; imunofluorescenční značení

Výsledky: Imunoprecipitace z potkaního mozku potvrdila přítomnost heterodimeru mGluR1a/b jakožto přirozený endogenní jev. Imunofluorescenční značení obou izoform na řezech maturovaného potkaního mozku prokázalo přítomnost mGluR1b ve stejných mozkových oddílech jako mGluR1a. V neur. buňkách jsme detekovali pomocí mikroskopie 1a v proxim. a distal. dendritech, 1b bylo zadržováno v neurosomatickém kompartmentu. Pro heterodimerní mGluR1a/b byl prokázán fenotyp 1a.

Závěr: Odlišné cílení heterodimerů mGluR1a/b oproti homodimeru do budoucna pomůže objasnit přirozené mechanismy regulace glutamatergního nervového přenosu. Funkční podjednotka heterodimeru b bude mít jinou signal. charakteristiku oproti a, ačkoliv bude membr. cílena. Funkčností heterodimer. komplexů se bude nadále zabývat.

Podpora projektu: GAP303/12/2408(2012-2016)

P-08. ZVÝŠENÍ FETOPLACENTÁRNÍHO CÉVNÍHO ODPORU PŘI EXPERIMENTÁLNĚ VYVOLANÉM DIABETU MATKY U POTKANA

Kafka P.^{1,2}, Vajnerová O.¹, Hergert J.¹, Hampl V.¹

1-Ústav fyziologie 2. LF UK, 2-Klinika anesteziologie a resuscitace FNKV a 3. LF UK

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

Úvod: Akutní i chronická hypoxie zvyšuje fetoplacentární cévní odpor u laboratorního potkana. Hypoxie fetální části placenty se podílí na syndromu růstové retardace plodu. Diabetes mellitus ovlivňuje růst plodu. Diabetes působí placentární hypoxii.

Cíl: Ověřovali jsme hypotézu, že diabetes má vliv na fetoplacentární hemodynamiku a že plody diabetických matek mají ve fetoplacentárním cévním řečišti zvýšený odpor. Další otázkou bylo, zda se při diabetu mění reakce fetoplacentárního cévního řečiště na hypoxii.

Materiál a metody: K indukci diabetu byl použit streptozotocin v dávce 50 mg/kg podaný intraperitoneálně samicím 14. den březosti. Kontrolním potkanům bylo aplikováno rozpouštědlo. Den před plánovaným termínem porodu (tj. 20. den březosti) byl provedeno měření na izolované, dvojitě perfundované placentě laboratorního potkana. Byla perfundována mateřská i fetální část placenty solným roztokem za konstantního průtoku (1 ml/min), perfuzát byl syčen normoxickou směsí plynů (21 % O₂ + 5 % CO₂ + 74 % N₂). Byl měřen fetoplacentární perfúzní tlak (FPT) při normoxii a při akutní hypoxii (perfuzát byl syčen směsí 5 % CO₂ + 95 % N₂).

Výsledky: Při normoxii za klidového bazálního průtoku byl FPT u diabetických potkanů (D) vyšší než u kontrolních potkanů (K) (26 ± 0.5 vs. 22 ± 0.9 mmHg, $P < 0.01$). Zvýšení FTP vyvolané hypoxií bylo signifikantně menší u D než u K (D hodnota $+ 2 \pm 0.5$ mmHg, K hodnota $+ 5 \pm 0.7$ mmHg, $P < 0.01$).

Závěr: Diabetes matky potkana zvyšuje perfúzní tlak na fetální straně placenty. Velikost akutní hypoxické fetoplacentární vazokonstrikce je signifikantně menší u diabetických potkanů než u kontrolních potkanů.

P-09. SYNDROM NOONANOVÉ A JEMU PŘÍBUZNÁ ONEMOCNĚNÍ U ČESKÝCH PACIENTŮ

Žmolíková M.¹, Baxová A.², Dvořáčková N.³, Gřegořová A.³, Honzík T.⁴, Kalina Z.⁵, Laštůvková J.⁶, Malíková M.¹, Němečková J.⁵, Prášilová Š.⁵, Puchmajerová A.¹, Seemanová E.¹, Simandlová M.¹, Šilhánová E.³, Šoukalová J.⁵, Vičková M.¹, Všetická J.⁷, Křepelová A.¹

-Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol Praha, 2-Ústav biologie a lékařské genetiky VFN a 1. LF UK Praha, 3-Oddělení lékařské genetiky FN Ostrava, 4-Klinika dětského a dorostového lékařství VFN a 1. LF UK Praha, 5-Oddělení lékařské genetiky FN Brno, 6-Oddělení lékařské genetiky Masarykovy nemocnice Ústí nad Labem, 7-Genetika Ostrava

Školitel: MUDr. Anna Křepelová, CSc.

Úvod: Syndrom Noonanové (NS) je relativně časté autosomálně dědičné onemocnění. Mezi hlavní klinické znaky patří typická facies, malý vzrůst, srdeční vada, různě závažné opoždění psychomotorického vývoje, kryptorchismus u chlapců či muskulokutánní anomálie. U pacientů bylo zjištěno zvýšené riziko vzniku nádorových onemocnění. Klinicky se NS překrývá s kardiofaciokutánním syndromem, syndromem Costello, NS s mnohočetnými pihami, Noonan-like syndrome with loose anagen hair, neurofibromatózou typu I a syndromem Legius. Proto byla tato syndromová onemocnění zařazena do skupiny s názvem RASopathie. Molekulární podstatou syndromů jsou mutace v genech PTPN11, SOS1, RAF1, RIT1, KRAS, NRAS, HRAS, BRAF, MEK1, MEK2, CBL, NF1 a SPRED kódujících proteiny participující v RAS/MAPK signální kaskádě. Prostřednictvím RAS/MAPK dráhy je ovlivňována proliferace buněk, jejich diferenciací, migrací, stárnutím i smrtí.

Cíl: Cílem naší práce je usnadnění a zdokonalení diagnostiky a diferenciální diagnostiky uvedených syndromů využitím vhodného algoritmu metod DNA analýz a zlepšení komplexní péči o pacienty a jejich rodiny.

Materiál a metody: Do vyšetřovaného souboru byli zařazeni pacienti doporučení klinickými genetiky po provedení podrobného klinicko – genetického vyšetření. Z odebraného biologického materiálu byla dle doporučených postupů izolována DNA a následně provedena mutační analýza kauzálních genů metodou přímého sekvenování PCR produktu. Vyšetření bylo provedeno jen se souhlasem pacienta či jeho zákonného zástupce.

Výsledky: Dosud jsme na našem pracovišti vyšetřili 115 pacientů z 85 rodin. Použitými molekulárně-genetickými metodami byly u 44 pacientů ze 34 rodin nalezeny patogenní varianty, jež jsou dle aktuálních znalostí pokládány za molekulární příčinu RASopathií. Mutace v genu PTPN11 byly detekovány u 24 pacientů, mutace v genu SOS1 u 13 pacientů, mutace v genu BRAF a HRAS u 2 pacientů, mutace v genech RAF1, MEK1, KRAS a SHOC2 u 1 pacienta. V 9 rodinách se jednalo o familiární přenos, v 9 případech bylo vyšetření obou rodičů negativní, v 16 případech nebyla DNA rodičů k dispozici.

Závěr: Hlavním cílem projektu je získat nové vědomosti o molekulární podstatě, fenotypu a genotypicko-fenotypické korelaci uvedených syndromů u českých pacientů. Díky značně podobným fenotypickým příznakům i široké rozmanitosti klinických rysů je diagnostika syndromu Noonanové a jemu příbuzných syndromů poměrně obtížná. Jedním z nástrojů velmi nápomocných pro upřesnění diagnostiky jsou právě metody molekulární genetiky.

Podpora projektu: Podpořeno 00064203.

P-10. NEUROSTEROIDS PREFERENTIALLY INHIBIT TONICALLY OVER PHASICALLY ACTIVATED NMDA RECEPTORS

Vyklicky V.^{1,2}, Smejkalova T.², Krausova B.², Stastna E.³, Choudounska H.³ and Vyklicky L.²
1-Institute of Physiology ASCR, v.v.i., Praha, 2-Charles University in Prague, 2nd Faculty of Medicine, Praha, 3-Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the ASCR, v. v. i., Praha

Supervisor: MUDr. Ladislav Vyklický, DrSc.

Introduction: Ionotropic glutamate receptors mediate most of the excitatory transmission in the human brain. N-methyl-D-aspartate receptors (NMDAR) are a subtype of ionotropic glutamate receptor family critically involved in many neurological functions. However, excessive activation of NMDAR leads to excitotoxic cell death and contributes to many acute and chronic neurological disorders. Phasic - synaptic activation is vital for normal CNS function while it is assumed that prolonged tonic activation of the NMDAR may result in cell death.

Aims: The aim of this study is to assess the ability of selected neurosteroids to differently inhibit tonically and phasically (mimicking synaptic transmission) activated NMDA and to determined relative IC₅₀ for steroid inhibition of peak (phasic) and steady state (tonic) responses induced by application of 1 mM glutamate in the ongoing presence of a steroid.

Materials and Methods: We used patch clamp recordings from recombinant NR1-1a/NR2B receptors expressed in HEK293 cells. The patch clamp setup was further equipped by fast application system of solutions to reach synaptic-like glutamate pulses.

Results: Compound // Peak IC₅₀ [μM] // Steady state IC₅₀ [μM] // Ratio

20-oxo-5β-pregnan-3α-yl sulfate // 46 ± 3 // 23 ± 2 // 1.9 ± 0.1
5β-pregnan-20-oxo 3α-yl hemioxalate // 149 ± 26 // 48 ± 8 // 3.1 ± 0.1
5β-pregnan-20-oxo 3α-yl hemimalonate // 197 ± 26 // 52 ± 19 // 3.6 ± 0.5
5β-pregnan-20-on 3α-yl-hemisuccinate // 193 ± 4 // 31 ± 5 // 6.3 ± 1.0
5β-pregnan-20-oxo 3α-yl hemiglutarate // 91 ± 22 // 18 ± 3 // 5.2 ± 2.0
5β-pregnan-20-on 3α-yl-hemiadipate // 296 ± 191 // 21 ± 8 // 19.9 ± 8.5

Our experiments show, that an endogenous, allosteric, voltage-independent inhibitory neurosteroid 20-oxo-5β-pregnan-3α-yl sulfate (PAS), blocks tonically activated receptors with a two-fold higher potency than phasically activated receptors. These results are comparable with similar experiments done with memantine, a voltage-dependent open-channel blocker, approved for treatment of Alzheimer's disease. In the case of synthetic neurosteroid analogs derived from PAS, we observed even severalfold higher selectivity for tonic inhibition (see table above).

Conclusions: Our findings indicate, that presented neurosteroid analogs with preferred block of tonically activated receptors are a promising class of NMDAR modulators and could lead to the development of new neuroprotective drugs with positive therapeutic profiles.

Support: GACR P303/12/1464; 5310 P304/12G069; TACR TE01020028; GAUK 800313; CZ.1.07/2.3.00/30.0025

P-11. TROMBOELASTOMETRIE U PACIENTŮ V INTENZIVNÍ PÉČI PŘED RUTINNÍMI INVAZIVNÍMI INTERVENCEMI.

Lukáš P., Vymazal T., Pelichovská M., Beroušek J., Durila M.

Klinika Anesteziologie, Resuscitace a Intenzivní Medicíny Fakultní Nemocnice Motol

Školitel: MUDr. Miroslav Durila, Ph.D.

Úvod: Tromboelastometrické metody vyšetření se stále častěji celosvětově dostávají do popředí zájmu při terapii pacientů s poruchou procesu srážení na jednotkách intenzivní péče. Tato metodika je již zmiňována v doporučených postupech jako užitečná v identifikaci koagulační poruchy u pacientů po závažném traumatu. V klinické praxi na JIP a ARO je pacient s nějakou formou koagulační poruchy ve smyslu hypo nebo naopak hyperfunkce každodenní praxí.

Cíl: Pilotní prospektivní observace nadřazenosti tromboelastometrie statickým koagulačním vyšetřením pacientů v intenzivní péči před rutinními invazivními intervencemi s rizikem následného krvácení.

Materiál a metody: Prospektivně identifikovaní pacienti s patologickou hodnotou INR před invazivním výkonem s rizikem následného krvácení. Před vlastní intervencí dotazníkem zjištěna eventuální hypotetická terapeutická intervence ošetřujícím lékařem. Následně provedené tromboelastometrické vyšetření RoTEM © vyšetření ExTEM. Nebyla-li identifikována koagulační porucha v ExTEM, nebyly podány žádné krevní deriváty, bez ohledu na hodnotu statických koagulačních parametrů. Následně sledovány klinické projevy krvácení během a bezprostředně po provedení intervence.

Výsledky: Celkem 22 pacientů (15 mužů 7 žen)

Intervence: 5x operačně prováděná tracheostomie, 5x hrudní drenáž, 5x zavedení centrálního žilního katetru, 3x plánovaná chirurgická revize, 2x zavedení PEG, 1x zavedení epidurálního katetru, 1x výměna kardiostimulátoru.

Hodnoty

INR – průměrná hodnota 1,43 (1,20-2,10)

ExTEM:

CT - průměrná hodnota 57,08 (41 – 74) sec, norma 38 – 79 sec

MCF – průměrná hodnota 73,52 (59 – 82) mm norma 50 – 72 mm.

U žádného pacienta nebyly zaznamenány krvácivé komplikace během a 24 hodin bezprostředně po výkonu. Z dotazníku vyplynulo, že při neprovedení ROTEM, by ke korekci patologického INR bylo podáno 2 – 6 transfúzních jednotek (TU) čerstvě mražené plazmy (průměrně 3,24 TU na pacienta).

V jednom případě bylo zvažováno podání 2 TU trombonáplavu.

Závěr: Naše dosavadní zkušenosti ukazují, že vyšetření RoTEM je u pacientů v intenzivní péči před elektivní chirurgickou intervencí efektivnější v predikci krvácivých komplikací než rutinně prováděná statická koagulační vyšetření - INR. Na konkrétních případech bylo prokázáno zbytečné a neindikované podání krevních derivátů ve snaze korigovat patologické hodnoty INR před výkonem. U žádného pacienta jsme nezaznamenali krvácivé komplikace i přes patologickou hodnotu INR před vlastním výkonem.

P-12. ASSESSMENT OF HEARING LOSS IN PATIENTS WITH VESTIBULAR SCHWANNOMAS DURING THE “WAIT AND SCAN“ MANAGEMENT

Balogová Z.^{1,2}, Profant O.^{1,2}, Chovanec M.^{1,3}, Zvěřina E.¹, Betka J.¹, Syka J.²

1-Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic; 2- Department of Auditory Neuroscience, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic; 3- Institute of Anatomy, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.

Introduction: Vestibular schwannomas (VS) are the most common tumors of the cerebellopontine angle (80-95%). VS are benign tumors that arise from the transition zone of the vestibular portion of the 8th cranial nerve. The major symptoms include asymmetric sensorineural hearing loss, tinnitus and vestibular disorder. Treatment options of VS depend on several factors (size and growth of the tumor, symptoms experience, medical comorbidities) and comprise active approach (surgical removal, stereotactic radiosurgery) or observation (Wait and Scan; WaS).

Aims: In our study, we focused on the changes of hearing status in patients with VS treated by WaS.

Materials and Methods: We analyzed a series of patients with VS treated at the Department of ENT Faculty Hospital Motol, Prague between 2009 and 2013. The WaS strategy was proposed according to the size of the tumor, the patient's age and general health status or their preferential treatment. The ENT evaluation for hearing assessment included: high frequency pure tone audiometry, speech audiometry, auditory brainstem responses and measurements of otoacoustic emissions. The follow-up MRI scans were obtained to monitor the growth of the tumor. Patients were regularly examined (hearing evaluation, MRI scans) in 1-year intervals. The data from the first and last examination and their interactions were compared.

Results: 108 patients (mean age 56.5±14.8) were included in our study. 77 patients (71%) underwent four or more follow-ups, 10 patients (9%) three, 10 patients (9%) two and 11 patients (10%) only one follow-up. The hypacusis was reported in 94 patients (87%) at the time of diagnosis. At the end of 5-year observation period 24 patients (22%) subjectively reported a development of hearing, however, the auditory evaluation showed a deterioration of hearing in 22 patients (20%). OAEs were present only in 8.2% of ears with VS. The treatment option was changed to active strategy in 34 patients (32%): 14 patients (41%) exhibited only tumor growth, 12 patients (35%) growth accompanied by deterioration of hearing, 5 patients (15%) accompanied by vertigo and 1 patient (3%) exhibited tumor growth and worsening of tinnitus.

Conclusions: Our results suggest that the main indication for active treatment of patients with VS in WaS management is the growth of the tumor, less frequently accompanied by further deterioration of SNHL. The audiological evaluation showed continual deterioration of SNHL; however, more patients reported a subjective hearing impairment without clinical evidence.

P-13. KARDIOVASKULÁRNE ZMENY U ŽIEN S GESTAČNÝM DIABETES MELLITUS A OPTIMÁLNOU METABOLICKOU KOMPENZÁCIOU V POROVNANÍ SO ZDRAVÝMI GRAVIDNÝMI KONTROLAMI

Žákovičová E. ^{1,2}, Charvát J. ², Kittnar O. ³, Slavíček J. ³, Šváb P. ⁴

1-NsP Medissimo, Bratislava, Slovenská republika, 2-Interní klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha, 3-Fyziologický ústav 1. LF UK v Praze, 4-Kardiologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školiteľ: doc. MUDr. Jiří Charvát, CSc.

Úvod: Gestačný diabetes mellitus (GDM) predstavuje manifestáciu metabolickej dysfunkcie a pacientky s GDM predstavujú rizikovú skupinu so zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom a rizikom rozvoja diabetes mellitus 2. typu v postpartálnom priebehu života.

Cíl: Cieľom práce je posúdenie prítomnosti kardiovaskulárných zmien u pacientok s GDM v pokročilom štádiu gravidity za predpokladu optimálnej kompenzácie a definovanie zmien elektrického srdcového poľa typického pre GDM. Rovnako sme zisťovali závislosť medzi zmenenými parametrami echokardiografického vyšetrenia a zmenami zistenými pri EKG mapovaní s metabolickými parametrami.

Materiál a metódy: Mapovanie EKG (BSM) prístrojom Cardiac 112.2 sa vykonalo a zhodnotilo u 35 žien s GDM a 31 zdravých tehotných žien v 36. gestačnom týždni. MAP je hodnota stredného tlaku ktorú sme získali 24 hodinovým monitorovaním TK. E/A snímanie transmitrálneho prietoku bolo vykonané pulzným Dopplerovským vyšetrením.

Výsledky: Priemerný vek žien s GDM bol 32 ± 4 vs 30.2 ± 3.5 rokov u zdravých gravidných žien (NS). Priemerná glykémia nalačno žien s GDM bola 5.0 ± 0.5 vs 4.6 ± 0.3 mmol/l u kontrolnej skupiny ($p=0.002$). Priemerný stredný 24-hodinový TK bol 84 ± 6.5 vs 86.5 ± 8 mm Hg u kontrol (NS). Hodnotenie srdcového elektrického poľa preukázalo nasledujúce štatisticky významné zmeny u žien s GDM: predĺženie trvania QRS komplexu ($82,96 \pm 15,7$ vs. 76 ± 7 ms; $p < 0,05$), skrátenie ICHVAT, t.j. aktivačného času komorového myokardu ($205,7 \pm 88,5$ vs. $262,8 \pm 91,6$ ms; $p < 0,01$), predĺženie intervalu QT ($400,4 \pm 46,3$ vs. $370,1 \pm 49,3$ ms; $p < 0,01$) a rozšírenie disperzie QT intervalu ($128,8 \pm 29,06$ vs. $89,0 \pm 30,8$, $p < 0,01$). BSM nepreukázalo signifikantne významné rozdiely v depolarizácii a repolarizácii použitím izopotenciálnych, isointegrálnych alebo izoareových máp medzi skupinou žien s GDM a zdravými kontrolami čo je v súlade s výsledkami HRV v našom súbore. ICHVAT významne koreluje s hrúbkou interventrikulárneho septa (IVS) a zadnej komory (PWD), $p = 0,01$ a $p = 0,02$, predĺžené trvania QRS komplexu v súbore GDM koreluje s hrúbkou IVS a PWD ($p = 0,008$ a $p = 0,004$) a QTd koreluje s HbA1C.

Záver: Výsledky predkladanej práce svedčia pre prítomnosť abnormalít v EKG mapovaní u žien s GDM napriek tomu, že ich metabolická kompenzácia bola tesná. Tieto zmeny korelujú s nálezmi echokardiografie vykazujúcej počínajúcu remodeláciu ľavej komory. BSM nepreukázalo signifikantne významné rozdiely v depolarizácii a repolarizácii čo je v súlade so závermi vyšetrenia HRV a znamená neprítomnosť zmien autonómneho vegetatívneho systému

P-14. 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

1-Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, 2-GHC GENETICS, s.r.o.- NZZ, 3-Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, 4-Klinika hepatogastroenterologie, IKEM, Praha

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

Úvod: Chronická pankreatitida (CP) je zánětlivé onemocnění pankreatu charakterizované degenerací acinárních buněk, rozvojem fibrózy a zevně i vnitřně sekreторické insuficience. V 1/3 případů není možno nalézt zjevnou vyvolávající příčinu - tzv. idiopatická chronická pankreatitida (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 5 let jsme testovali nejčastější mutace genů PRSS1 a SPINK1 u 95 pacientů s klinickou dg. ICP (46 dětí, 49 dospělých) a 29 pacientů s klinickou diagnózou HP (11 dětí, 18 dospělých). Ke korelaci zjištěných nálezů bylo stejné vyšetření provedeno celkem u 227 kontrol (112 žen a 115 mužů české populace, věk 18-45 let).

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

Výsledky: Mutace R122H a N29I genu PRSS1 byly signifikantně zvýšeny ($p < 0.001$) ve skupině pacientů s klinickou dg. HP (13,8%), ale ne ve skupině dětských a dospělých pacientů s klinickou dg. ICP (1,1%), u kontrol nebyly nalezeny. Mutace N34S genu SPINK1 byla prokázána ve skupině pacientů s HP (6,9%) i dospělých pacientů s ICP (2%), ale ve srovnání s kontrolami (1,8%) byl signifikantní nález jen ve skupině dětských ICP pacientů (8,7%).

Závěr: Výsledky ukazují, že vyšetřované mutace PRSS1/SPINK1 genů jsou asociovány s rozvojem ICP/HP u českých pacientů, ale vzhledem k nízké frekvenci mutovaných alel ve skupině pacientů předpokládáme přítomnost dalších mutací v těchto genech nebo i jiných, nám dosud neznámých genech. Význam molekulárně genetické diagnostiky je především pro dif. dg. ICP/ HP, neboť u pacientů s geneticky potvrzenou mutací PRSS1 genu je zvýšené riziko rozvoje adenokarcinomu pankreatu!

Podpora projektu: Problematika byla řešena s podporou 6112 VZFNM 0000064203.

P-15. SUBCELLULAR LOCALIZATION OF PRESYNAPTIC GLYCINE RECEPTORS CORRELATES WITH THEIR ENDOGENOUS SOURCES OF GLYCINE

Trojanová J.^{1,2}, Kulik Á.², Janáček J.³ and Tureček R.¹

1-Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídeňská 1083 CZ-142 20 Praha 4, Czech Republic; 2-Institute of Anatomy I and Cellular Biology, University of Freiburg, Albertstrasse 17, D-79104, Germany; 3-Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídeňská 1083, CZ-142 20 Praha 4, Czech Republic

Supervisor: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

Introduction: Principal cells (PC) in the medial nucleus of the trapezoid body (MNTB) accurately convert excitatory signals from globular bushy cells (GBC), which occur in the anteroventral cochlear nucleus (AVCN) to inhibitory signals leading to further contralateral cochlear nuclei. In addition to the excitatory input (calyx of Held), PCs are innervated by small glycinergic inhibitory fibers.

It was found that the PC expresses the inhibitory glycine receptors (GlyRs) permeable to chloride that mediate extremely rapid postsynaptic inhibition. Electrophysiological methods showed that the GlyRs are located on the presynaptic membrane of the calyx of Held and that their role is different. Pre- and postsynaptic receptors in the MNTB perform various different functions.

Aims: The aim of this project was to analyze the distribution of the presynaptic GlyRs and establish their relationship to presynaptic glutamate-release apparatus and endogenous sources of glycine.

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 fluorescent dyes or gold particles. The labeling was examined using a confocal and a high resolution electron microscopy, assembled and analyzed with Reconstruct, IRIS Explorer, NIS-Elements and ImageJ software.

Results: The immunohistochemical method showed that the presynaptic G α 1 were accumulated on calyx segments called swellings that were in the immediate proximity of the glycinergic inhibitory endings and thus support our hypothesis that the presynaptic G α 1 are activated by a glycine spillover from these terminals.

Conclusions: The results are consistent with the indirect modulation hypothesis. The data support the view that presynaptic GlyRs are tuned to sense low concentrations of glycine delivered by spillover.

P-16. PILOT NGS STUDY OF FAMILIAR HYPERTROPHIC AND DILATED CARDIOMYOPATHY IN CZECH REPUBLIC

Ptáková N. ¹, Stránecký V. ^{1,2}, Kubánek M. ³, Krebsová A. ³, Tomašov P. ⁴, Piherova L. ², Hartmannova H. ^{1,2}, Hodanova K. ^{1,2}, Kautzner J. ³, Veselka J. ⁴, Macek M. Jr. ¹, Macek M. sr. ¹

1-Department of Biology and Medical Genetics, Charles University Prague-2nd Faculty of Medicine and Faculty Hospital Motol, Prague, 2-Institute of Inherited Metabolic Disorders, Charles University Prague - 1st Faculty of Medicine and General Hospital, Prague, 3-Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, 4-Department of Cardiology, Charles University Prague-2nd Faculty of Medicine and Faculty Hospital Motol, Prague

Supervisor: prof. MUDr. Macek Milan Jr., DrSc.

Introduction: Cardiomyopathies are heterogeneous group of heart muscle diseases with heart failure, arrhythmia and death. Genetic variation has critical role in their pathogenes.

Aims: Define a detection rate using whole exome sequencing concentrating on the metabolome in familiar hypertrophic- and dilated cardiomyopathy.

Materials and Methods: The 36 individuals from 6 families with dilated cardiomyopathy (DCM) and 8 families with hypertrophic cardiomyopathy (HCM) with 2-3 patients with autosomal dominant inheritance were evaluated.

We used 50ng of total gDNA for preparation indexed, paired-end libraries, followed by enrichment using Illumina TruSightRapid Capture kit and TruSight Exome Gen set (Illumina). Enriched libraries were subjected to 150 base paired-end sequencing (HiSeq 1500; Illumina). Enriched libraries were subjected to 150 base paired-end sequencing.

Results: In 3/6 DCM families variant TTN gene was disclosed, in one family associated with DSP , observed also in HCM patients. In 3//6 families specific variants were not detected. SYNE 2,PLNC, associated with myopathies, was disclosed in one of them. MYO 1C in 1/6 families is not related to DCM. In 5/8 HCM families were detected HCM variants MYLK 2, RYR.2, CALR.3, JPH 2, TPM 1, PK2. Variants found also in DCM(MYH 7,VCL) were in 2 families . In 3 families are 2-3 HCM/DCM variants. In 3 families without DCM/ HCM variants we revealed variants in genes JAG 1, KCNH 2 and ACTC1 associated with angiogenesis, LQT syndrome and muscle cell contractility respectively.. Variants RUR 2.,CASQ 2 associated with tachycardia/arrhythmia supplemented HCM/DCM variants in two families. Variants not related to heart affections SINE 1 associated with cerebellar ataxia was found in 1/8 families.

Conclusions: NGS found DCM/HCM specific variants in 6/14 (42,8%) families. In 4/14(20,8%) DCM/HCM families without cardiomyopathic variants association with variants for myopathy,, Long QT and angiogenesis was revealed. Variants associated with cardiac arrhythmia/tachycardia , accompanied HCM variants in 2/8 HCM families (/28.5 %). Variants not related to HCM/DCM or cardiac disorders occurred in 4/14 families (20,8%).

The detection rate of DCM specific variants 3/6(50%),in HCM 5/8 (62,5%) requires whole genome NGS. Our preliminary data suggest, that the use of metabolome NGS in complex families may have higher diagnostic yield that targeted approaches in CM.

Support: Supported by conceptual research of FNM 64203, CZ.2.16/3.1.00/24022 and IGA NT13770.

P-17. RIZIKOVÉ FAKTORY PRO VZNIK MALIGNÍHO MELANOMU: PILOTNÍ STUDIE V ČESKÉ REPUBLICE

Rajská L. ^{1,2}, Šmerhovský Z. ², Göpfertová D. ², Jiráková A. ¹, Hercogová J. ¹

1-Dermatovenerologická klinika Nemocnice Na Bulovce, Praha, 2-Ústav epidemiologie 2. LF UK, Praha

Školitel: doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: Maligní melanom (MM) je nádor vycházející z melanocytů primárně postihující kůži. Nejdůležitější je včasná diagnóza a léčba. Čím pokročilejší je nádor, tím horší je prognóza. Možným snížením úmrtnosti by mohlo být zjištění správných rizikových faktorů (RF). Proto jsme se rozhodli provést studii případů a kontrol, která by měla potvrdit významnost a relativní důležitost známých rizikových faktorů MM relevantní pro českou populaci. Tyto znalosti mohou být důležité jak pro primární, tak sekundární prevenci.

Cíl: Studie je zaměřená na analýzu distribuce RF MM v běžné české populaci a sílu asociace mezi nimi a výskytem MM. Do studie jsou vybírány incidentní případy z histologicky verifikovaných klinických nálezů, které jsou zachyceny na naší klinice. Kontrolní skupina je tvořena pacienty splňujícími výběrová kritéria s neonkologickým onemocněním, jiným než dermatologickým, pro které jsou v dané době hospitalizováni na jiném oddělení nemocnice. Při řešení vlastního sběru dat a následného statistického vyhodnocení tato data konfrontujeme s přejímanými modely pro určení individuálního rizika, jejichž validitu tímto způsobem testujeme

Materiál a metody: Zdrojem dat pro studii jsou ověřené dotazníky „EUROMELANOM – Vliv způsobu života a rizikové faktory pro vznik melanomu“. Mezi pokládané dotazy patří věk pacienta, nejvyšší dosažené vzdělání, návštěva solária, barva vlasů, očí, kůže, a další.

Výsledky: Od počátku řešení studie v roce 2011 se nám dosud podařilo zachytit celkem 122 incidentních případů MM a k nim vybrat a přiřadit 233 adekvátních kontrol.

Výsledky poukazují na multivariátní úrovni vztahy mezi výskytem melanomu a známými rizikovými faktory, vyjádřené jako odds ratio (OR). Předběžné výsledky ukazují na to, že signifikantními rizikovými faktory na 5% hladině statistické významnosti jsou:

- věk,
- pohlaví,
- kožní nádor v minulosti
- návštěva solária,
- práce na slunci.

V případě některých rizikových faktorů jsou pozorovány velmi silné asociace s výskytem zhoubných melanomů. Např. odds ratio pro rizikový faktor výskyt kožního nádoru v anamnéze je vysoké OR = 36,49, podobně jako výsledek pro návštěvy solária, kde OR = 4,85.

Závěr: Dosavadní řešení projektu potvrzuje jeho proveditelnost a správnost předpokladů, na kterých byl postaven. Je velmi pravděpodobné, že plánované zvětšení studovaného souboru s sebou přinese určité změny v relativním významu jednotlivých RF. Zvětšení souboru je podmínkou pro větší přesnost plánovaných modelů rizika výskytu MM u nosičů RF.

Podpora projektu: IGA MZ ČR č. NT 12401

P-18. EXAMINING KABUKI SYNDROME CAUSING MUTATIONS IN CZECH POPULATION

Paderova J.¹, Holubova A.¹, Simandlova M.¹, Puchmajerova A.¹, Vlckova M.¹, Malikova M.¹, Pourova R.¹, Vejvalkova S.¹, Havlovicova M.¹, Senkerikova M.², Ptakova N.¹, Krepelova A.¹ and Macek M. Jr.^{1,2}

1-Department of Biology and Medical Genetics, Charles University Prague-2nd Faculty of Medicine and Faculty Hospital Motol, Prague; 2-Department of Medical Genetics, Charles University Prague-Faculty of Medicine and Faculty Hospital Hradec Kralove; both Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Milan Macek Jr., DrSc.

Introduction: Kabuki (make-up) syndrome (KS) is an autosomally dominant disorder caused by de-novo mutations and has an estimated prevalence of 1:32 000 newborns. KS1 is caused by mutations or deletions in KMT2D (lysine/K/ specific MethylTransferase 2D) (formerly MLL2) gene, while KS2 is due to similar molecular defects in KDM6A (lysine/K/specific DeMethylase 6A) gene.

Aims: Here we present molecular genetic analysis in patients with clinical symptoms indicative of KS.

Materials and Methods: We utilised DNA Sanger sequencing of coding regions of KMT2D and KDM6A genes and MLPA-based analysis (kit P389-A1) of intragenic rearrangements within KMT2D in a cohort of 14 Czech patients.

Results: Mutations in KMT2D were detected in 6/14 (43%) of patients. All detected mutations were truncating, thereby predicting haploinsufficiency. Three mutations were previously published (c.16371_16374del, c.8743C>T, c.5627_5630del) and three are novel (c.2488G>T, c.4549_4549delG, c.6349_6350delinsA). No mutations were detected within the KDM6A, as well as intragenic rearrangements were not found in KMT2D gene (MLPA assay for KDM6A is not available, thus far).

Conclusions: Our results substantiated the disease association with KMT2D gene. Since the clinical features of "KMT2D mutation-positive" cases did not differ from those, where aforementioned methods did not detect any DNA alterations, we plan to utilize next generation sequencing in an attempt to identify other loci that are potentially contributing to the genetic heterogeneity in KS.

Support: Supported by CZ.2.16/3.1.00/24022OPPK and 00064203.

P-19. ZMĚNY V GENOVÉ EXPRESI BURKHOLDERIA CENOCEPACIA ST32, KTERÉ JSOU URČUJÍCÍ PRO SEPTICKÝ STAV U PACIENTŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

Kalferstová L.¹, Kolář M.², Fila L.³, Vilimovská Dědečková K.¹, Dřevínek P.¹

1-Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, 2-Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha, 3-Pneumologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.

Úvod: Jedním z původců infekcí, které mohou u pacientů s cystickou fibrózou (CF) vést až k respiračnímu selhání, jsou bakterie z komplexu *Burkholderia cepacia* (Bcc). Některé kmeny Bcc mají schopnost šířit se mezi pacienty. Po určité době infekce mohou proniknout do krevního řečiště, což vede k sepsi a fatálnímu *cepacia* syndromu (CS). V Centru cystické fibrózy v Praze Motole došlo v 90. letech 20. století k epidemickému šíření kmene *B. cenocepacia*, označovaného jako ST32, který tehdy infikoval téměř 30 % pacientů s CF.

Cíl: Cílem práce bylo porovnat genovou expresi klinických izolátů kmene ST32 získaných z různých fází infekce pacienta a identifikovat vhodné markery vypovídající o změně stavu infekce.

Materiál a metody: Metodika byla založena na použití 4x44k DNA čipů (Agilent), cíleně navržených pro blízké příbuzný kmen J2315. Použili jsme dva izoláty od pacienta A a dva izoláty od pacienta B (jeden izolát získaný ze sputa z období jeden měsíc před propuknutím CS a druhý izolát získaný z krve v průběhu CS). Všechny izoláty byly kultivovány v triplikátu za podmínek napodobujících situaci *in vivo*: (i) sputum od pacienta s CF (směsné 10% sputum), (ii) tepelně inaktivované sérum, (iii) kontrolní podmínka (základní růstové medium, BSM). Kultivace bakterií trvala 4h, následovala extrakce a přečištění mRNA. Práce s čipy byla provedena podle microarray protokolu a výsledná data byla analyzována pomocí softwaru GeneSpring v 12.0 (Agilent). U všech izolátů byly provedeny funkční testy pro zjištění pohyblivosti bakterií, real time PCR (qPCR) pro vybrané geny a elektronová mikroskopie (TEM).

Výsledky: U izolátů z krve byla zvýšená exprese faktorů virulence (sekreční systém typu 3 pro infikování buněk až 9x vyšší, $p=1.5 \times 10^{-4}$, tvorba bakteriálního pouzdra až 9x vyšší, $p=5.3 \times 10^{-7}$), která byla potvrzena pomocí qPCR provedeném na větším panelu párových izolátů. Snížená exprese v porovnání s izolátem ze sputa byla pozorována u genů pro tvorbu bičíku (až 7x nižší, $p=0,006$), kterou jsme potvrdili jak pomocí qPCR, tak i funkčním testem a TEM.

Závěr: V rámci analýzy založené na zdroji izolátu jsme pozorovali odlišnou expresi určitých genů. Isogenní izoláty získané od stejného pacienta z různých fází infekce vykazují změny v expresi, navzdory tomu, že byly kultivovány ve stejných podmínkách. Tyto markery nám mohou pomoci předčasně diagnostikovat změny stavu infekce *B. cenocepacia* ST32 u pacientů s CF. Jejich další studium by mělo více osvětlit vlastní průběh a mechanismus infekce.

Podpora projektu: Podpořeno granty IGA MZ NT12405-5, MSMT LD11029

P-20. PREVALENCE METABOLICKÉHO SYNDROMU A ATEROSKLERÓZY U PACIENTŮ S PSORIÁZOU

Votrubová J. ¹, Jůzlová K. ¹, Fialová J. ¹, Šmerhovský Z. ², Göpfertová D. ², Hercogová J. ¹
1-Dermatovenerologická klinika NNB Praha, 2-Ústav epidemiologie 2. LF UK

Školitel: doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: Psoriáza je chronické zánětlivé kožní onemocnění, které se vyskytuje cca u 2-5% populace. Manifestuje se nejen zjevnými kožními projevy, kloubním postižením, ale také řadou dalších onemocnění jako jsou chronické zánětlivé gastrointestinální projevy (Crohnova nemoc, ulcerózní kolitida, celiakie), dále se u psoriatiků častěji vyskytuje metabolický syndrom, ateroskleróza a psychologicko-psychiatrické obtíže.

Představujeme předběžné výsledky, vyplývající z porovnání 131 pacientů s psoriázou a 267 kontrol. V budoucnu plánujeme zařazení celkem 200 případů a 400 kontrol.

Cíl: Cílem naší studie je potvrdit hypotézu, že výskyt metabolického syndromu a aterosklerózy u pacientů s chronicky stacionární formou lupénky je větší než v běžné populaci.

Materiál a metody: Projekt má design studie případů a kontrol. Případy i kontroly jsou vybírány z ambulantních i hospitalizovaných pacientů Dermatovenerologické kliniky NNB a 2. LF UK. U každého subjektu vyšetřujeme: krevní tlak, glykémii, lipidogram. Dále zaznamenáváme věk, pohlaví, kouření a u pacientů s lupénkou navíc BSA (body surface area) a PSA (psoriatic severity index).

Výsledky: Statisticky významné rozdíly ($p < 0.05$) jsou mezi pacienty s psoriázou a kontrolní skupinou v několika sledovaných parametrech. V případě systolického a diastolického tlaku, obvodu pasu, hmotnosti, BMI, hladiny HDL cholesterolu a glykémie dosahují hladiny statistické významnosti. V binárním logistickém modelu jsou s psoriázou asociovány následující ukazatele: diastolický krevní tlak a BMI. Pro všechny ukazatele zařazené do logistického modelu je $p = < 0,001$.

Závěr: Choroby asociované s psoriázou výrazně zhoršují kvalitu života pacientů. Tato problematika nebyla dosud v ČR zpracována a nebyl sestaven soubor preventivních opatření. Pokud výsledky projektu prokáží, že přítomnost sledovaných rizikových faktorů metabolického syndromu a aterosklerózy u pacientů s chronicky stacionární formou psoriázy je skutečně významnější než v kontrolní populaci, pak je tato skupina pacientů vhodná pro selektivní screening těchto markerů a rizikových faktorů. Snahou projektu je přispět k sestavení preventivně léčebných opatření pro snížení prevalence těchto onemocnění u pacientů s psoriázou.

Podpora projektu: Výzkumný projekt je podporován grantovou agenturou Ministerstva zdravotnictví - IGA (grant č. NT /13275)

P-21. TONSILY DĚTÍ SE SYNDROMEM PFAPA OBSAHUJÍ ZVÝŠENÉ MNOŽSTVÍ T LYMFOCYTŮ SE SNÍŽENOU EXPRESÍ MOLEKULY PD-1

Dytrych P. ¹, Król P. ², Kotrová M. ³, Hubáček P. ³, Król L. ³, Katra R. ¹, Trka J. ³, Kabelka Z. ¹, Doležalová P. ², Kalina T. ³, Froňková E. ³

1-Klinika ušní, nosní a krční 2. LF UK a FN v Motole, Praha, 2-Klinika dětského a dorostového lékařství VFN a 1. LF UK, Praha, 3-Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN v Motole, Praha

Školitel: doc. MUDr. Zdeněk Kabelka, Ph.D., MUDr. Eva Froňková, Ph.D.

Úvod: PFAPA (Periodic Fever, Aphthous stomatitis, Pharyngitis a Adenitis) syndrom je benigní rekurentní autoinflamatorní onemocnění vyskytující se v dětském věku. Jednou z terapeutických možností je tonsilektomie. Biologický mechanismus objasňující její efekt u pacientů s PFAPA nebyl dosud objasněn. Tonsily jsou místem vyžívání B-lymfocytů po antigenní stimulaci s podporou CD4 T-lymfocytů.

Cíl: Cílem je otestovat hypotézu, že se určité podskupiny specifických lymfocytů, přecházejících z periferní krve do tonsil, podílí na patogenezi PFAPA syndromu.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme dvojice vzorků tonsil a krve a/u dětí s PFAPA syndromem s remisí po tonsilektomii (n=10) a b/u kontrolní skupiny dětí se syndromem obstrukční spánkové apnoe (n=9). Lymfocytární profil byl analyzován 8-barevnou průtokovou cytometrií, klonalita imunoglobulinů (IGH) a T buněčných receptorů (TCR) a proliferační historie lymfocytů (TREC/KREC) byla vyšetřena pomocí PCR, repertoár přestaveb TCR gama byl vyšetřen masivně-paralelním sekvenováním (NGS). Současně byly provedeny PCR detekce vybraných virů, histopatologické a kultivační vyšetření.

Výsledky: PFAPA tonsily obsahovaly signifikantně vyšší podíl T lymfocytů a nižší podíl B lymfocytů než kontroly. Cytotoxické CD8^{pos} buňky byly u PFAPA zvýšené na úkor CD4^{pos} pomocných T lymfocytů. V rámci CD4^{pos} lymfocytů převládaly naivní CD45RA^{pos}CD27^{pos} stádia, v rámci lymfocytů byly signifikantně zvýšeny i naivní CD8^{pos}CD45RA^{pos}CD27^{pos} buňky. V tonsilách pacientů s PFAPA jsme dále pozorovali snížené množství CD4^{pos} buněk exprimujících molekulu PD-1, která inhibuje proliferaci T lymfocytů a stimuluje protilátkovou odpověď B lymfocytů. Proliferační historie lymfocytů naznačila trend k vyššímu množství TREC. To ukazuje, že zvýšené množství T lymfocytů není způsobeno proliferací, ale vcestováním nově vytvořených buněk do tonsil. V souladu s těmito výsledky analýza IGH/TCR vyloučila přítomnost jednoho nebo více lymfocytárních klonů. V 7 z 10 PFAPA tonsil, ale také v 7 z 9 kontrol byla detekována DNA viru Epstein-Barrové, lidského Herperviru-6 a adenoviru. V periferní krvi nebyl rozdíl v žádné vyšetřované populaci kromě vyššího množství plazmatických B buněk u PFAPA.

Závěr: Naše výsledky naznačují, že v patogenezi PFAPA syndromu hrají roli nově derivované, polyklonální T lymfocyty vcestované do patrových tonsil. Pozorované změny byly omezeny na tonsily a nebyly přítomny v periferní krvi, což částečně vysvětluje terapeutický úspěch tonsilektomie.

Podpora projektu: Práce vznikla za podpory GAUK č. 266411.

P-22. PREVALENCE ZÁNĚTLIVÝCH GASTROINTESTINÁLNÍCH CHOROB U PSORIATIKŮ A MOŽNOSTI JEJICH VČASNÉ DIAGNOSTIKY

Jůzlová K. ¹, Votrubová J. ¹, Džambová M. ¹, Šmerhovský Z. ², Fialová J. ¹, Göpfertová D. ², Hercogová J. ¹

1-Dermatovenerologická klinika NNB a 2. LF UK, 2-Ústav epidemiologie 2. LF UK

Školitel: doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: Psoriáza je chronické zánětlivé kožní onemocnění, které se vyskytuje cca u 2-5% populace. Manifestuje se nejen zjevnými kožními projevy, kloubním postižením, ale také řadou dalších onemocnění jako jsou chronické zánětlivé gastrointestinální projevy (Crohnova nemoc, ulcerózní kolitida, celiakie), dále se u psoriatiků častěji vyskytuje metabolický syndrom, ateroskleróza a psychologicko-psychiatrické obtíže.

Představujeme předběžné výsledky, vyplývající z porovnání 131 pacientů s psoriázou a 267 kontrol. V budoucnu plánujeme zařazení celkem 200 případů a 400 kontrol.

Cíl: Cílem studie je potvrdit hypotézu, že výskyt zánětlivých gastrointestinálních chorob u pacientů s chronicky stacionární formou lupénky je větší než v běžné populaci.

Materiál a metody: Projekt má design studie případů a kontrol. Případy i kontroly jsou vybírány z ambulantních i hospitalizovaných pacientů Dermatovenerologické kliniky NNB a 2. LF UK. U každého subjektu vyšetřujeme: krevní obraz, CRP, hladinu železa, celkovou bílkovinu, dále autoprotilátky ASCA (protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae*), AEP (protilátky proti acinárním buňkám zevně sekretorické části pankreatu), p-ANCA (perinukleární protilátky proti neutrofilním granulocytům), AGC (protilátky proti pohárkovým buňkám), EMA (protilátky pro endomyzium), ARA (protilátky proti retikulinu), tTG (protilátky proti tkáňové transglutamináze) a AGA (protilátky proti gliadinu). Dále zaznamenáváme věk, pohlaví a u pacientů s lupénkou navíc BSA (body surface area) a PSA (psoriatic severity index).

Výsledky: Z výsledků naší studie jsou patrné rozdíly mezi pacienty s psoriázou a kontrolní skupinou v několika sledovaných parametrech. V případě hladiny leukocytů a protilátek proti gliadinu (IgA) dosahují rozdíly hladiny statistické významnosti ($p < 0.05$). Binární logistická regrese ukazuje statistickou významnou asociaci psoriázy a hladiny leukocytů.

Závěr: Choroby asociované s psoriázou výrazně zhoršují kvalitu života pacientů. Pokud výsledky projektu prokáží, že přítomnost sledovaných markerů zánětlivých gastrointestinálních chorob u pacientů s chronicky stacionární formou psoriázy je skutečně významnější než v kontrolní populaci, pak je tato skupina pacientů vhodná pro selektivní screening těchto markerů. Snahou projektu je přispět k sestavení preventivně léčebných opatření pro snížení prevalence těchto onemocnění u pacientů s psoriázou.

Podpora projektu: Výzkumný projekt je podporován Interní grantovou agenturou Ministerstva zdravotnictví - IGA (grant č. NT /13275)

P-23. PŘEHLED PRIMÁRNÍCH A SEKUNDÁRNÍCH MUTACÍ V GENECH KIT A PDGFRA U PACIENTŮ S GASTROINTESTINÁLNÍM STROMÁLNÍM NÁDOREM A ROZŠÍŘENÍ ANALÝZY O GEN BRAF

Kalfusová Alena, Hilská Irena, Krsková Lenka, Jungbauerová Helena, Fejfárková Jaroslava, Šmídková Olga, Forejtová Vlastimila, Kalinová Markéta, Kodet Roman
Ústav patologie a molekulární medicíny, Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Motole

Školitel: prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Úvod: Gastrointestinální stromální tumory (GIST) patří mezi nejčastější mesenchymální nádory gastrointestinálního traktu. Aktivační mutace genů KIT a PDGFRA jsou jedním z hlavních faktorů maligní transformace stromálních buněk a vzniku GIST. Pro léčbu metastazujících, neresekovatelných a recidivujících GIST je indikován imatinib mesylát (IM). Senzitivita nádoru na IM u pacientů s GIST souvisí s mutačním stavem genů KIT a PDGFRA. U části pacientů dochází v průběhu terapie IM ke změně senzitivity nádoru ve smyslu vzniku sekundární rezistence (často na podkladu vzniku sekundárních mutací). Podle recentních literárních zdrojů se v menším zastoupení vyskytují u pacientů s GIST s nemutovanými geny KIT a PDGFRA mutace v genu BRAF.

Cíl: Skrining primárních a sekundárních mutací genů KIT a PDGFRA. Podle lokalizace primárních mutací v jednotlivých exonech genů KIT nebo PDGFRA můžeme definovat nádory primárně rezistentní, senzitivní nebo se sníženou citlivostí na biologickou léčbu. Přítomnost sekundárních mutací slouží k potvrzení vzniku získané rezistence. Mutační analýzu pacientů s diagnózou GIST rozšíříme u nemutovaných genů KIT a PDGFRA o sekvenační analýzu genu BRAF, a to nejčastěji postiženého exonu 15.

Materiál a metody: Primární a sekundární mutace genů KIT a PDGFRA jsme stanovovali prostřednictvím amplifikace exonů 9, 11, 13, a 17 genu KIT a exonů 12, 14, a 18 genu PDGFRA s následným určením pořadí nukleotidů pomocí asymetrické sekvenační PCR. Mutace v exonu 15 genu BRAF jsme rovněž vyšetřovali pomocí asymetrické sekvenační PCR.

Výsledky: V rámci mutační analýzy genů KIT a PDGFRA jsme vyšetřili 178 vzorků od 163 pacientů. Primární mutace v exonech 11, 9 a 13 genu KIT jsme detekovali u 108 (61%), 7, a 6 případů (4%, resp. 3%). U genu PDGFRA jsme primární mutace diagnostikovali v exonu 12 a 18 u 4, resp. 21 případů (2, resp. 12%). Přítomnost sekundárních mutací jsme z 82 analyzovaných vzorků od 70 pacientů prokázali ve 12 případech u 7 pacientů. Vyšetření genu BRAF odhalilo mutaci u jednoho z 26 analyzovaných pacientů (4%).

Závěr: Molekulární diagnostika primárních mutací je důležitým nástrojem pro určení senzitivity nádoru na terapii. Mutační analýza v případě vzniku sekundárních mutací umožňuje vysvětlit selhávání terapie a poskytuje příležitost pro volbu alternativní léčby. Mutace v genu BRAF u nádorů s nemutovanými geny KIT a PDGFRA umožní objasnění patogeneze vzniku GIST u těchto pacientů.

Podpora projektu: Projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN Motol) a GAUK 198 213

P-24. INCIDENCE KOŽNÍCH NOVOTVARŮ U PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI SRDCE.

Sečniková, Z. ¹, Džambová, M. ¹, Göpfertová, D. ², Šmerhovský, Z. ², Hošková, L. ³, Hercogová, J. ¹
1-Dermatovenerologická klinika 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha, 2-Ústav epidemiologie 2. LF UK, Praha, 3-Klinika kardiologie IKEM, Praha

Školitel: doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: Transplantace srdce zvyšuje dlouhodobé přežívání pacientů v terminálním stadiu srdečního selhání. Potransplantační období s imunosupresivní terapií přináší množství komplikací, zejména vyšší riziko vzniku malignity. Nejčastějším typem novotvarů u pacientů po transplantaci srdce jsou kožní nádory, zejména nemelanomové kožní nádory.

Cíl: Záměrem je zjistit incidenci kožních nádorů u pacientů po transplantaci srdce v České republice a specifikovat roli dalších faktorů podílejících se na výskytu nádorů kůže. Cílem je poskytnout dostatečné údaje pro vytvoření standardního postupu sekundární prevence kožních novotvarů v rámci potransplantační dispenzarizace v České republice.

Materiál a metody: Retrospektivní kohortová studie byla provedena na 613 pacientech (501 mužů a 112 žen, ve věku 6-81 let), kteří podstoupili transplantaci srdce v letech 1993-2010 v Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze. Jako případy byly zahrnuty pouze nádory po chirurgické excizi a histopatologické verifikaci. Pomocí nepřímé standardizace, přihlížející k věku, pohlaví a kalendářnímu období, byl vypočten standardizovaný index morbidity (SMR) pro výskyt zhoubných novotvarů kůže. Jako standardní populace byla pro potřeby porovnávání zvolena běžná česká populace, resp. údaje o incidenci zhoubných novotvarů kůže získané z Národního onkologického registru za období let 1993-2010.

Výsledky: Ve sledované skupině bylo zjištěno nádorové onemocnění kůže u 70 pacientů (64 mužů a 6 žen). Celkem bylo detekováno 142 kožních nádorů, kde nejčastějším typem nádoru byl spinocelulární karcinom (n=91; 64 %), následovaný bazocelulárním karcinomem (n=43; 30,3 %). Maligní melanom byl zachycen u 2 pacientů, podobně u 2 pacientů jsme zaznamenali Kaposiho sarkom, u jednoho pacienta byl detekován karcinom z Merkellových buněk. Nejčastější lokalizace kožního nádoru byla oblast hlavy a krku (72,53 %). Kožní nádor se vyskytoval na trupu v 15,4 % případů, na končetinách v 6,3 %. Vícečetné kožní nádory byly nalezeny u 29 pacientů, z toho 20 pacientů vyvinulo ≥ 3 kožní nádory. Relativní riziko výskytu kožních novotvarů, resp. SMR bylo v kohortě pacientů po prodělané transplantaci srdce odhadnuto na 94,96 ($P < 0,001$), které potvrzuje existenci velmi silné a

Závěr: Prezentované výsledky nejsou definitivní. Přesto prezentovaná data poukazují na silný vztah mezi imunosupresivní léčbou a výskytem kožních malignit. Výsledky studie jsou přitom konzistentní s podobnými studiemi prováděnými v zahraničí.

Podpora projektu: Studie byla podpořena grantem IGA MZ ČR NT 14203

P-25. A NOVEL MUTATION IN KAT6B IN A PATIENT WITH GENITOPATELLAR SYNDROME AND SOME FEATURES OF SBBYSS

Vlckova M.¹, Simandlova M.¹, Stranecky V.², Hartmannova H.², Hodanova K.², Havlovicova M.¹, Sedlacek Z.¹, Kmoch S.²

1-Department of Biology and Medical Genetics, Charles University 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic; 2-Institute of Inherited Metabolic Disorders, Charles University 1st Faculty of Medicine and General University Hospital, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

Introduction: Genitopatellar syndrome (GPS) and Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson syndrome (SBBYSS) are two clinically overlapping syndromes. Recently de novo heterozygous truncating mutations in KAT6B have been identified in SBBYSS, and independently also in GPS.

KAT6B encodes lysine acetyltransferase 6B, a part of histone H3 acetyltransferase complex. KAT6B is highly conserved and expressed in adult neural stem cells. Most mutations are in exon 18 encoding the acidic (A) and transcriptional activation (TA) domains of KAT6B. Genotype-phenotype correlation showed that patients with mutations in the 5' region of exon 18 leading to loss of both domains suffer from GPS, while patients with mutations in the 3' region leading to loss of the TA domain suffer from SBBYSS. We present an 8-year-old girl with GPS and some features of SBBYSS.

Aims: The aim of our work was to identify genomic variants responsible for rare diseases and to perform genotype-phenotype correlation to assist the diagnostic process in the future.

Materials and Methods: The patient was a girl with intellectual disability, autism and multiple anomalies. Cytogenetic examination was performed using standard protocols. Genomic DNA was isolated using the Genra Puregene Blood Kit (Qiagen). High-resolution array CGH analysis using the Nimblegen Human Whole-Genome 385K Array and whole exome sequencing using the SeqCap EZ Human Exome Library v3.0 (Roche Nimblegen) and the SOLiD technology (Applied Biosystems) were performed according to standard protocols.

Results: Karyotyping and array CGH analysis of the patient yielded normal results. Whole exome and Sanger sequencing of the family trio showed de novo heterozygous truncating mutation KAT6B:NM_001256469:exon18:c.3295G>T:p.E1099X.

Conclusions: The mutation in KAT6B gene in our patient was located in the 5' region of exon 18 and should cause GPS; however, our patient manifested also many features of SBBYSS. She had corpus callosum agenesis, flexion contractures, hypoplastic patella, renal cysts and tracheomalacia which are symptoms frequent in GPS but rare in SBBYSS, as well as blepharophimosis, lacrimal ducts stenosis, long toes, hypotonia and normal head circumference – symptoms frequent in SYBBYSS but rare in GPS. Symptoms common to both syndromes as atrial septal defect, feeding difficulties and bulbous nose were also present. Therefore this case demonstrates that the phenotypic overlap between GPS and SBBYSS could be broader than expected previously.

Support: Supported by 00064203, CZ.2.16/3.100/24022 and NT/14200.

P-26. IEM1460, AN ANTAGONIST OF CALCIUM PERMEABLE AMPA RECEPTORS: ANTICONVULSANT ACTION IN IMMATURE RATS.

Mareš P. ¹

1-Department of Developmental Epileptology, Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Pavel Mareš, DrSc.

Introduction: Ionotropic glutamate receptors of AMPA type are heterotetramers consisting of four major GluR1-4 subunits. If GluR2 subunit is absent, AMPA receptor (AMPA) channel becomes Ca²⁺ permeable. AMPARs lacking GluR2 subunit are common at early stages of development and have been shown to play an important role in various physiological and pathological processes (synaptic transmission and plasticity, seizures and epilepsy). The antagonists of AMPARs exhibit an anticonvulsant action in developing and adult rodents. IEM1460 as a specific antagonist of calcium permeable AMPARs might be a potential age-specific anticonvulsant.

Aims: We determined a possible anticonvulsant action of IEM 1460 in two models of epileptic seizures induced in developing rats: pentylenetetrazol (PTZ)-induced convulsions and cortical afterdischarges (ADs).

Materials and Methods: Experiments were performed in male Wistar rats at postnatal days (P) 12, 18 and 25. IEM1460 was administered i.p. at the doses of 3, 10 and 20 mg/kg in both experiments. Control animals received saline. PTZ-induced convulsions: 30 min prior to PTZ (100mg/kg) animals were pretreated with IEM1460 and rats were observed for 30 min after PTZ administration. Incidence, pattern and latencies of seizures were recorded. For ADs, animals were anesthetized and flat silver electrodes were implanted epidurally. Sensorimotor cortex was stimulated six times (with 20 min intervals) by 15-s series of biphasic pulses (1-ms duration, 8-Hz frequency). IEM1460 was injected 10 min after the end of a first AD. EEG activity was recorded and total duration of ADs was measured.

Results: After the 20-mg/kg dose of IEM1460, latencies of the minimal clonic seizures induced by PTZ were prolonged in P12, P18 and P25 animals, but in P12 it also increased the incidence of these seizures. The same dose of IEM1460 decreased the incidence of generalized tonic-clonic seizures (GTCS) at P18 and P25. In P25 a dose-dependent increase of GTCS latencies was observed. IEM1460 significantly decreased seizure severity in P18 and P25 animals. As for ADs, IEM1460 at the 10-mg/kg dose was able to fully block progressive ADs prolongation in P12. Injection of IEM1460 in P18 and P25 had moderate proconvulsant effect.

Conclusions: The effects of IEM1460 depend on both: age and model of seizures used. It is because structures generating different types of seizures do not mature simultaneously.

Support: Supported by grant No: 2120139 (project No: 579212) of the Grant Agency of the Charles University in Prague, Czech Republic.

P-27. POTENCIÁLNÍ NOVÉ BIOMARKERY DIABETICKÉ NEFROPATIE STANOVENÉ ANALÝZOU MOČOVÉHO PROTEOMU

Vítová L. ¹, Moravec J. ², Tůma Z. ², Kvapil M. ¹, Matějovič M. ², Mareš J. ²
1-Interní klinika UK 2. LF a FNM, 2-I. Interní klinika FN Plzeň

Školitel: prof. MUDr. Kvapil Milan, CSc., MBA

Úvod: Diabetická nefropatie (DN) je závažnou komplikací diabetes mellitus (DM), která zásadní měrou ovlivňuje morbiditu, mortalitu a kvalitu života pacientů s tímto onemocněním. V západních zemích představuje DN nejčastější příčinu nezvratného selhání ledvin s nutností náhrady funkce ledvin. Diagnostika incipientní DN je založena na stanovení tzv. mikroalbuminurie (MA), která ale není ukazatelem specifickým ani časným. Ve stadiu MA mohou být v ledvinovém parenchymu přítomny již významné morfologické změny, proto je v současnosti cílem nalezení výhodnějších markerů DN.

Cíl: Nalezení nových biomarkerů umožňujících časnější diagnostiku, resp. poskytujících nový vhled do patofyziologie rozvoje DN.

Materiál a metody: Provedli jsme proteomickou analýzu vzorků první ranní moči u 25 pacientů s DM I. typu. Porovnány byly 2 skupiny pacientů s rozdílnou hodnotou MA. Proteiny byly separovány pomocí dvojrozměrné elektroforézy (2DE). 2D obrazy na gelech jsme analyzovali pomocí programu PDQuest. Relativní denzita spotu na gelu vyjadřovala kvantitu proteinu. Data byla vyhodnocena multivariační analýzou (Principal component analysis, PCA a Partial least squares – discriminant analysis, PLS-DA). Proteiny dosahující nejvyšší významnosti byly identifikovány hmotnostní spektrometrií.

Výsledky: Pacienti s MA měli vyšší hodnoty glykovaného hemoglobinu a horší ledvinovou funkci, v ostatních sledovaných parametrech byly skupiny srovnatelné. Na gelech bylo celkem rozlišeno 755 spotů. Statistické vyhodnocení potvrdilo potenciál použité metody umožňující rozlišení dvou námi definovaných skupin pacientů. Pomocí MALDI-MS/MS bylo identifikováno celkem 23 odlišných proteinů (nebo jejich fragmentů) v 42 hodnocených spotech. Z patofyziologického pohledu se jedná o proteiny strukturální (LG3 peptid perlecanu, multimerin 2), proteiny hrající roli v metabolismu (GAPDH, alfa-enoláza) a procesu zánětu (MBL, MASP2, QPCT, VIP36, SECTM1), které se na rozvoji DN podílejí. Statisticky nejvýznamnějším prediktorem zařazení do jedné ze skupin je vysokomolekulární kininogen, který je jako součást kalikrein-kininového systému považován z pohledu DN za protektivní.

Závěr: Prokázali jsme rozdíly v močovém proteomu u pacientů s DM I. typu s různou hodnotou MA. Identifikovali jsme proteiny, které mohou hrát roli v patogenezi DN. Nejslibnějším potenciálním časnějším ukazatelem DN se jeví být kininogen. Je za potřebí prospektivní studie na větším počtu pacientů k ověření této hypotézy.

Podpora projektu: MSM 0021620819 Náhrada a podpora funkce některých životně důležitých orgánů.

P-28. STANOVENÍ ALBUMINURIE VYSOKOÚČINNOU KAPALINOVOU CHROMATOGRÁFÍ

Fořtová M.^{1,2}, Klapková E.¹, Kotaška K.¹, Průša R.¹

1-Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol Praha, 2-Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN Praha

Školitel: prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

Úvod: Mnohými studii bylo zjištěno, že albuminurie stanovená vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) je vyšší než albuminurie stanovená rutinními imunochemickými metodami. Rozdíl mezi metodami se vysvětluje dvěma zcela odlišnými způsoby: 1) sníženou imunoreaktivitou močového albuminu, 2) nespecifičností HPLC metody pro vyšetření albuminurie.

Cíl: Zavést HPLC metodu pro stanovení albuminurie, potvrdit či vyvrátit tvrzení, že HPLC poskytuje falešně vyšší hodnoty albuminurie díky interferenci s dalšími bílkovinami, porovnat hodnoty albuminurie stanovené HPLC a imunoturbidimetricky (IT) v patientských vzorcích.

Materiál a metody: Metodu HPLC jsme zavedli za následujících podmínek: složení mobilní fáze: složka A) voda, B) acetonitril, C) 100 mM NaH₂PO₄ a D) 1 % trifluoroctová kyselina; kontinuální gradient mobilní fáze; průtok mobilní fáze 2 ml/min; teplota analýzy 22 °C; UV detekce při 280 nm; kolona Zorbax 300 SB-C3; kapalinový chromatograf Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA). Analyzovali jsme 2 směsné moči. První byla připravena ze vzorků 30 IT negativních močí. Do této směsi byl přidán standard albuminu, výsledná koncentrace stanovená IT byla 79,1 mg/l. Druhá byla připravena z 30 IT „mikroalbuminurických“ vzorků, výsledná IT stanovená koncentrace byla 79,5 mg/l. Soubor tvořilo 1092 pacientů (636 diabetiků a 456 nediabetiků, 595 mužů a 497 žen, věk 43,3 +/- 25,6 let).

Výsledky: Za uvedených analytických podmínek transferin, α -1-kyselý glykoprotein, α -1-antitrypsin, α -1-antichymotrypsin a hemopexin neinterferují s albuminem, zatímco eluční křivka prealbuminu se štěpí na několik píků, z nichž některé z nich s albuminem koeluují. Vzhledem k nízkým sérovým i močovým koncentracím prealbuminu lze usuzovat, že je tato interference klinicky nevýznamná. Ve směsi 1 jsme nezaznamenali významný rozdíl v hodnotách albuminurie mezi metodami (79,1 mg/l IT vs. 82,5 mg/l HPLC), oproti tomu, ve směsi 2 byla HPLC zjištěná hodnota o 26 % vyšší (79,5 mg/l IT vs. 99,9 mg/l HPLC). Tyto výsledky nasvědčují na existenci imunonereaktivního albuminu. Zjistili jsme statisticky významný rozdíl mezi metodami v případě patientských vzorků moči (medián +/- střední chyba průměru: 20,0 +/- 15,0 mg/l IT vs. 31,6 +/- 16,9 mg/l HPLC, $p < 0,0001$, Mann-Whitneyův test)

Závěr: Naše výsledky svědčí pro vyšší senzitivitu HPLC metody pro zachycení mikroalbuminurie, nepotvrdili jsme nespecifičnost této metody.

Podpora projektu: Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN MOTOL).

P-29. CHANGES OF THE EXTRACELLULAR MATRIX AND EXTRACELLULAR SPACE DIFFUSION PARAMETERS IN THE THALAMUS OF AGED BRAL2-DEFICIENT MICE

Cicanic M. ^{1,2}, Edamatsu M. ³, Bekku Y. ³, Oohashi T. ³, Vargova L. ^{1,2}

1-Department of Neuroscience, Charles University, 2nd Faculty of Medicine, Praha; 2-Department of Neuroscience, Institute of Experimental Medicine AS CR, v.v.i., Praha; 3-Department of Molecular Biology and Biochemistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan

Supervisor: doc. MUDr. Lýdia Vargová, Ph.D.

Introduction: The link protein Bral2 stabilizes hyaluronan-lectican binding in the perineuronal nets (PNN), which play a structural as well as an instructive role in controlling CNS plasticity and the termination of critical periods of development. Bral2 is expressed in distinct nuclei of the brainstem and thalamus, but not in the cortex, and its deficiency is associated with changes in the extracellular matrix (ECM) composition and PNN attenuation.

Aims: In the current study, the impact of ECM remodelling on the diffusion in the extracellular space (ECS) was studied in Bral2-deficient (Bral2^{-/-}) mice in the sensorimotor cortex (negative control) and the ventral postero-medial nucleus of the thalamus (VPM).

Materials and Methods: Using the real-time iontophoretic method, the ECS diffusion parameters volume fraction α ($\alpha = \text{ECS volume}/\text{total tissue volume}$) and tortuosity λ ($\lambda^2 = \text{free diffusion coefficient}/\text{apparent diffusion coefficient}$) were evaluated in young (3-6-month-old) and aged (14-20-month-old) Bral2^{-/-} mice and age-matched wild type (wt) controls. The data were correlated with an immunohistochemical analysis of Bral2, brevican, Crtl1 and aggrecan positivity.

Results: The ECS diffusion parameters in the VPM of young wt mice were: $\alpha=0.16\pm0.01$, $\lambda=1.53\pm0.01$, $n=6$ (mean \pm SEM, n-number of slices). Bral2 deficiency had no effect in young mice but led to a smaller α in aged Bral2^{-/-} mice. In the cortex, aging but not Bral2 deficiency induced a decrease in α . The deletion of Bral2 was associated with decreased immunopositivity for brevican and Crtl1 in young animals, while increased positivity for brevican, Crtl1 and aggrecan was found in aged knockouts.

Conclusions: We conclude that Bral2 deficiency evoked changes in ECS volume only in the VPM of aged mice, which might be related to age-dependent quantitative changes in the expression of ECM molecules. A decreased ECS volume may in turn influence the concentration and diffusion of neuroactive substances and thus extrasynaptic transmission and proper tissue function.

Support: Supported by: GACR 13-11867S and GACR P304/12/G069

P-30. VYUŽITÍ ŠKÁLY „SCALE FOR THE ASSESSMENT AND RATING OF ATAXIA“ U PACIENTŮ S FRIEDREICHOVOU ATAXIÍ

Schwabová J. ^{1,2,4}, Malý T. ³, Laczó J. ^{1,4}, Zumrová A. ^{2,4}, Komárek V. ², Mušová Z. ^{5,4} a Zahálka F. ³
1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 - Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 3-Laboratoř sportovní motoriky UK FTVS, Praha, 4-Centrum hereditárních ataxií FN Motol, Praha, 5-Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Úvod: Škála Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) byla původně určena pro hodnocení klinického stavu u pacientů s autosomálně dominantní spinocerebelární ataxií (ADCA). Nově byla také doporučena pro pacienty s ataxií Friedrichovou (FRDA), u níž však je, na rozdíl od ADCA, typická kombinace ataxie původu jak mozečkového, tak senzitivního. Dosud byla pro hodnocení klinického stavu FRDA pacientů doporučována specifická škála Friedreich ataxia rating scale (FARS), která je však časově mnohem náročnější.

Cíl: Cílem studie bylo zjistit, zda se škála SARA u pacientů s Friedreichovou ataxií chová vůči objektivním posturografickým parametrům stejně jako škála FARS a zda ji lze v praxi rutinně využívat.

Materiál a metody: Vyšetřeno bylo 11 pacientů s geneticky potvrzenou Friedreichovou ataxií a 13 s autosomálně dominantní spinocerebelární ataxií, konkrétně typu 2. Klinický stav pacientů byl hodnocen pomocí škál SARA, FARS a posturografie.

Výsledky: Parametry posturální stability u FRDA pacientů ve stoje se zrakovou kontrolou korelovaly s poruchou rovnováhy ve škále FARS ($r \geq 0.622$; $p \leq 0.044$) i SARA ($r \geq 0.735$; $p \leq 0.010$). Bez zrakové kontroly však nacházíme korelaci s posturografickými parametry pouze u škály FARS ($r \geq 0.732$; $p \leq 0.010$).

Závěr: Ve stoje se zrakovou kontrolou korelovala SARA s posturografickými parametry jak u pacientů s FRDA, tak u pacientů s ADCA. Ve stoje bez zrakové kontroly, ve kterém dochází ke zvýraznění ataxie senzitivní, SARA u pacientů s Friedreichovou ataxií s posturografickými parametry nekorelovala. Domníváme se proto, že FARS lépe popisuje klinický deficit pacientů s FRDA a tak se SARA, i když je časově méně náročná, hodí spíše jako metoda orientační, nikoliv jako podklad klinických vědeckých studií.

Podpora projektu: Podpořeno MZ ČR–RVO, FN v Motole 00064203, PRVOUK P38.

P-31. STANOVENÍ KONCENTRACE SELENU V SÉRU NOVOROZENCŮ

Franěk T. ¹, Dejmek P. ², Průša R. ¹

1-Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, UK - 2. LF a FN Motol, Praha 2-Fakultní nemocnice Královské Vinohrady - Klinika dětí a dorostu 3. LF

Školitel: prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

Úvod: Selen je esenciální stopový prvek, jehož význam pro lidský organismus byl doceněn teprve nedávno. Selen patří mezi relativně toxické prvky, ale zároveň patří i do skupiny prvků esenciálních s důležitým biomedicínským významem. V lidské těle významně ovlivňuje antioxidační a imunitní reakce, je významným faktorem při spermiogenezi a metabolismu testosteronu a jeho případný deficit vyvolává specifické patologické stavy.

Cíl: Cílem práce bylo stanovit referenční rozmezí sérové koncentrace selenu pro věkovou skupinu novorozenců ve věku 1-28 dní.

Materiál a metody: V práci byla měřena koncentrace selenu v séru 128 novorozenců (stáří do 28 dnů). Soubor tvořilo 49 novorozenců ženského pohlaví a 79 novorozenců pohlaví mužského. Na stanovení koncentrace selenu v séru jsme použili metodu atomové absorpční spektrometrie (AAS) s grafitovou píčkou, založenou na elektrotermické atomizaci stanovovaného prvku (ETA-AAS) při vlnové délce 196 nm na přístroji Varian 220Z.

Výsledky: Ze získaných dat byly vypočteny referenční meze sérových koncentrací selenu v souboru chlapců v průměru $30,7 \pm 7,54$ $\mu\text{g/l}$ a referenční meze sérových koncentrací selenu v souboru dívek v průměru $40,0 \pm 11,93$ $\mu\text{g/l}$. Průměrná hodnota pro obě pohlaví byla $35 \pm 4,65$ $\mu\text{g/l}$.

Závěr: Stanovili jsme referenční meze sérové hladiny selenu pro novorozence v české populaci. Referenční interval pro věk 1–4 měsíce byl podle literatury 18–64 $\mu\text{g/l}$. Z výše uvedeného vyplývá, že z celosvětového měřítko jsou hodnoty selenu v séru novorozenců průměrné a nemusíme se proto obávat případných zdravotních komplikací z nedostatku či nadbytku tohoto esenciálního prvku.

P-32. MMP-9, TIMP-1 A JEJICH VLIV NA HOJENÍ PO OPERACI ROZŠTĚPU RTU

Bláha K.¹, Borský J.², Kašparová M.³, Štekláčová A.¹, Zajíčková V.¹, Pechová M.¹, Matějová R.¹
Kotaška K.¹ a Dostálová T.³

1-Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Praha, 2-Klinika plastické chirurgie, FN Královské Vinohrady, Praha, 3-Dětská 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, jejichž aktivita je dále kontrolována inhibitory (TIMP). Společně hrají významnou roli ve fázi remodelace při hojení tkáně.

Cíl: Cílem studie bylo porovnat koncentrace MMP-9 a TIMP-1 ve vzorcích tkáně odstraněných při operaci rozštěpu rtu.

Materiál a metody: MMP-9 a TIMP-1 byly stanoveny u 34 vzorků (26 chlapců a 8 dívek). 19 dětí bylo operováno během sedmi dnů po narození (skupina A, vyznačující se hojením rány s méně nápadnými jizvami) a 15 dětí operovaných dle klasického protokolu ve 2 – 4 měsíci (skupina B). Vzorky tkáně byly dále rozděleny na kůži, podkoží a sliznici a extrahovány v kakodylátovém pufru po dobu 24 hodin. V extraktech byly stanoveny koncentrace celkové bílkoviny Lowryho metodou a změřeny koncentrace MMP-9 a TIMP-1 metodou ELISA (GE Healthcare). Koncentrace MMP-9 a TIMP-1 byly vztaženy na koncentraci celkové bílkoviny ve vzorcích. Ke statistickému zpracování výsledků byl použit neparametrický-nepárový t-test u MMP-9 (kůže, podkoží) a TIMP-1 (kůže, sliznice) a nepárový t-test TIMP-1 (podkoží) na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky: Výsledky jsou uvedeny jako průměr \pm směrodatná odchylka. MMP-9 kůže: skupina A $2,168 \pm 3,303$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny, skupina B $0,347 \pm 0,212$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny. MMP-9 podkoží: skupina A $1,251 \pm 1,848$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny, skupina B $0,555 \pm 0,276$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny. TIMP-1 kůže: skupina A $1,762 \pm 2,162$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny, skupina B $1,881 \pm 2,810$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny. TIMP-1 podkoží: skupina A $1,628 \pm 0,822$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny, skupina B $3,117 \pm 1,540$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny. TIMP-1 sliznice: skupina A $2,066 \pm 1,717$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny, skupina B $4,833 \pm 6,550$ $\mu\text{g/g}$ bílkoviny.

Závěr: Přestože byly naměřeny vyšší koncentrace MMP-9 u skupiny dětí operovaných do sedmi dnů po narození, nebyly pozorovány signifikantní rozdíly v koncentracích MMP-9 v kůži ($p=0,200$) a MMP-9 v podkoží ($p=0,866$), ani v koncentracích TIMP-1 v kůži ($p=0,720$) a TIMP-1 v sliznici ($p=0,693$) vzhledem k časnosti operace. Signifikantně nižší hodnoty byly naměřeny u koncentrací TIMP-1 v podkoží ($p=0,018$) u dětí operovaných do sedmi dnů po narození ve srovnání s dětmi operovanými dle klasického protokolu ve 2 - 4 měsíci. Nepodařilo se tedy prokázat, že by koncentrace matrixových metaloproteináz MMP-9 by měly vliv na hojení tkáně méně nápadnou jizvou, zkoumání vlivu TIMP se však zdá být slibné.

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

P-33. KOMBINOVANÁ CHEMOIMUNOTERAPIE AKTIVNÍ PROTINÁDOROVOU BUNĚČNOU TERAPIÍ PREPARÁTEM DCVAC/PCA U PACIENTŮ S KARCINOMEM PROSTATY

Podrazil M. ¹, Rožková D. ², Fučíková J. ², Jarolím L. ³, Babjuk M. ³, Kubáčková K. ⁴, Prausová J. ⁴, Katina S. ⁵, Špišek R. ^{1,2}, Bartůňková J. ¹

1-Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, 2-SOTIO a.s. Praha, 3-Urologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 4-Onkologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 5-Ústav matematiky a statistiky Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Brno

Školitel: prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

Úvod: Aktivní buněčná imunoterapie je novým terapeutickým přístupem u nádorových onemocnění. Na Ústavu imunologie byl v posledních 10 letech vyvíjen terapeutický preparát na bázi dendritických buněk (DC) proti karcinomu prostaty. DC jsou kultivovány z mononukleárních buněk pacienta získaných v průběhu leukaferézy, pulsované apoptotickými nádorovými buňkami prostatické linie LNCaP a maturované TLR-3 ligandem dle zásad správné výrobní praxe schválené SÚKL. Prezентujeme výsledky otevřené jednoramenné studie fáze I/II s preparátem DCVAC/Pca u pacientů s metastatickým kastračně-rezistentním karcinodem prostaty (mCRPC) (EudraCT 2009-017259-24).

Cíl: Stanovení toxicity imunoterapeutického preparátu DCVAC/Pca, sledování imunitní reakce v průběhu imunoterapie a délky celkového přežití pacientů.

Materiál a metody: Do studie byli zařazeni pacienti s mCRPC progredujícím na standardní androgenní deprivaci. Aktivní buněčná imunoterapie je vyráběna z jediné leukaferézy a jednotlivé dávky jsou posléze subkutánně aplikovány v 4-6 týdenních intervalech po dobu přibližně jednoho roku. První vakcína je aplikována nejdříve za 3 až 4 týdny od provedení leukaferézy po 7 denní aplikaci 50 mg cyklofosfamidů p.o. denně. Principem studie je tzv. kombinovaná chemoimunoterapie- léčivý přípravek je pacientovi podáván v kombinaci se standardní chemoterapií docetaxelem (75 mg/m²) ve 3-týdenním režimu a prednisonem (5 mg 2x denně).

Výsledky: Byla vyhodnocena data 25 pacientů. V čase zahájení imunoterapie byl medián věku 67 let, PSA 109 ng/ml a Hg 11,8 g/dl, 48% pacientů mělo GS ≥ 8 . Farmakokinetická studie DC označených pomocí ¹¹¹In-oxinu a vyhodnocovaných pomocí fúzovaných SPECT/low-dose CT snímků prokázala migraci označených DC do spádových lymfatických uzlin za 48 hodin po subkutánní aplikaci. Vakcína vykazuje dobrý bezpečnostní profil. Klinické známky autoimunity nebyly zjištěny u žádného pacienta. V periferní krvi jsou detekovatelné nádorově specifické CD4 and CD8 T lymfocyty produkující IFN- γ . Medián celkového přežití (OS) sledovaného souboru byl 19 měsíců (95% CI: 14.69-23.31) oproti předpokládanému mediánu přežití 12 měsíců (95% CI: 11.19-12.81, p<0,001) kalkulovaného na základě Halabi a MSKCC nomogramů.

Závěr: Kombinovaná chemoimunoterapie je bezpečná, dochází k přechodné stabilizaci pokročilého stadia onemocnění vedoucí k delšímu než očekávanému mediánu přežití.

Podpora projektu: Podpořeno grantem IGA NT 11559-5.

P-34. PŘÍTOMNOST BODOVÝCH MUTACÍ V GENU ORF 62 U VIRU VARICELLA ZOSTER JINÉHO NEŽ OKA PŮVODU

Labská K. ^{1,2}, Roubalova K. ³, Zufanova S. ², Trlifajova J. ², Maresova V. ¹

1-Státní zdravotní ústav, CEM, NRL pro herpetické viry, 2-I. infekční klinika FN Bulovka, 2. LF UK, 3-Vidia spol. s r.o.

Školitel: doc. MUDr. Vilma Marešová, CSc.

Úvod: Mechanismus oslabení očkovacího kmene viru varicella zoster (V-OKA) není dosud spolehlivě objasněn, ale přítomnost bodových mutací v genu ORF 62 patří mezi nejpravděpodobnější hypotézy. Některé z těchto bodových mutací jsou zároveň vhodné k odlišení divokých kmenů viru od V-OKA

Cíl: Cílem naší práce byla analýza bodových mutací v určených restrikčních místech u divokých kmenů VZV, V-OKA a laboratorního kmene David.

Materiál a metody: Kmen VZV David byl atenuován opakovanými pasážemi na LEP buňkách a proběhla u něj 2. fáze klinických zkoušek jako kandidátní profylaktické vakcíny proti planým neštovicím. 2 sekvence z genu ORF 62 a 1 sekvence genu ORF 38 (obsahující sekvenci pro štěpení restrikčními endonukleázami odlišující divoký kmen od očkovacího) byly amplifikovány metodou PCR (primery publikovány v práci Quinlivan et al, 2005). PCR produkty byly štěpeny restrikčními endonukleázami Pst-1, Sma-1 a Nae-1 a vizualizovány elektroforézou na agarózovém gelu a barvením etidymbromidem. Sekvence PCR produktu byla provedena sadou DyeDeoxy terminator Sequencing na automatickém sekvenátoru (Applied Biosystems, Foster City, CA)

Výsledky: Atenuovaný kmen David měl stejný restrikční profil v obou sekvencích z genu IE62 jako V-OKA. To, že náš kmen nepochází z viru OKA bylo potvrzeno přítomností restrikčního místa pro Pst-1 v genu ORF 38.

Závěr: Přítomnost stejných bodových mutací v očkovacím kmene V-OKA a dalších atenuovaných kmenech jiného než OKA původu podporuje roli genu ORF 62 jako příčiny oslabení viru varicella zoster užívaného v očkovací látce

P-35. MORFOLOGIE MITRÁLNÍ CHLOPNĚ KADAVEROZŇNÍCH DÁRCŮ SRDCE – POSOUZENÍ VHODNOSTI PRO PŘÍPRAVU CHLOPENŇNÍHO ŠTĚPU – ALOGRAFTU, PILOTNÍ STUDIE

Fiala R. ¹, Burkert J. ^{1,2}, Špatenka J. ²

1-Klinika kardiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2-Oddělení transplantací a tkáňové banky FN Motol

Školitel: MUDr. Jaroslav Špatenka, CSc.

Úvod: Více než 50 let jsou vyvíjeny komerční protězy umožňující náhradu všech srdečních chlopní. Aortální a pulmonální alografty zůstávají rezervovány pro řešení vrozených srdečních vad a infekční endokarditidy. Použití mitrálních alograftů (MA) do mitrální pozice bylo opuštěno, ale některá pracoviště indukují MA k náhradě trikuspidální chlopně. Anatomické poměry srdce neumožňují připravit současně plnohodnotný aortální a MA. Správné rozhodnutí, kterému typu štěpu dát při přípravě přednost, je proto zásadní. Neexistují však jednotná morfologická kritéria pro posouzení vhodnosti mitrální chlopně od kadaverozního dárce k odběru a použití.

Cíl: Cílem projektu je dokumentace morfologie mitrální chlopně na souboru dárců srdce s ohledem na velikost chlopněního ústí, charakteristiku jednotlivých cípů, anatomii papilárních svalů a závěsného aparátu. Výstupem bude kategorizace a jednotný protokol banky kardiovaskulárních tkání pro posouzení vhodnosti mitrální chlopně pro přípravu MA.

Materiál a metody: Projekt využívá pool dárců srdce banky kardiovaskulárních tkání. Experiment probíhá v rámci rutinní parciální pitvy srdce a přípravy aortálního a pulmonálního alograftu. Modifikace umožňující detailnější zkoumání mitrální chlopně spočívá v odstřižení levé síně a zpřístupnění atrioventrikulárního ústí. Standardizovanou chlopnění měrkou je vyhodnocena plocha předního cípu, Carpentierovými háky je poté ověřena koaptace cípů. Následuje podélná incize levé komory středem P2 části zadního cípu od mitrálního anulu směrem k apexu a zpřístupnění mitrální chlopně k dalšímu měření. Morfologie je fotograficky dokumentována. Je měřen obvod chlopně, výška předního cípu a anatomie závěsného aparátu i papilárních svalů s klasifikací dle Acara (1996). Po provedení experimentu je dokončen standardní odběr aortálního a pulmonálního alograftu.

Výsledky: Pilotní soubor tvoří 5 srdcí dárců mužského pohlaví, průměrného věku 33,6 (17-54.; medián 29) let. Ve všech případech byla experimentálně ověřena dobrá koaptace cípů. Průměrná velikost plochy předního cípu odpovídala měrci č. 30 (28-34; medián 30) mm. Obvod mitrálního anulu činil v průměru 78,8 (74-85; medián 76) mm, průměrná výška předního cípu 23,2 (22-25; medián 23) mm. Anatomie papilárních svalů odpovídala ve 3 případech (60%) typu I, v 1 (20%) typu II a v 1 případě (20%) typu III.

Závěr: Byla vytvořena pracovní verze protokolu pro kategorizaci morfologie mitrální chlopně dárce a posouzení vhodnosti pro přípravu MA. Předpokládáme statistické zpracování minimálně 50 srdcí.

P-36. THERAPEUTIC POTENTIAL OF USE-DEPENDENT INHIBITOR OF NMDA RECEPTOR 3 α 5 β PREGNANOLONE GLUTAMATE

Rambousek L. ^{1,2}, Kleteckova L. ^{1,2}, Kubesova A. ³, Vales K. ¹

1-Institute of Physiology AS CR, v.v.i., Prague, Czech Republic; 2-Charles University, 2nd Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic; 3-Prague Psychiatric Center, Prague, Czech Republic.

Supervisor: Dr. Karel Vales

Introduction: Neuroactive steroids modulate receptors for neurotransmitters in the brain and thus might be efficacious in the treatment of various diseases of the central nervous system. Therefore, we have initiated the development of novel compounds derived from endogenous neurosteroids. Our lead molecule, 3 α 5 β -pregnanolone glutamate (3 α 5 β -P-Glu) acts as a use-dependent inhibitor of NMDA receptor and does not induce psychotomimetic side effects such as hyperlocomotion, cognitive and sensorimotor gating deficits. This drug crosses blood brain barrier and is even bioavailable after oral administration in rat.

Aims: The aim of the present study was to assess the therapeutic potential of 3 α 5 β -P-Glu in animal models of neuropsychiatric disorders connected to affected function of NMDA receptor such as excitotoxicity, focal ischemia, schizophrenia, anxiety and pain.

Materials and Methods: All experiments were performed on LongEvans or Wistar rat.

Results: Our results showed that this drug is capable to reduce an excitotoxic damage of the brain tissue as well as subsequent cognitive impairment in rats, reduce neurodegeneration after perinatal focal ischemia and has procognitive effect in animal model of schizophrenia. Furthermore, we showed that 3 α 5 β -P-Glu has anxiolytic and antinociceptive properties in animal models.

Conclusions: Taken together, neuroactive steroids such as 3 α 5 β -P-Glu may represent a novel class of compounds participating in the restoration of normal brain functioning and these results may facilitate the development of new promising drugs for the treatment of neurological and psychiatric diseases connected to the dysfunction of glutamatergic system.

Support: This study was supported by GACR grants P304/11/P386 P304/14/20613S P304/12/G069, P303/12/1464TACR-TE01020028 and GAUK 604412, institutional support RVO: 67985823.

P-37. 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

1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2-Department of Neurology Albert Einstein College of Medicine, USA, 3-Ústav 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. γ -aminomáselná kyselina (GABA) působí na synaptické a extrasynaptické GABAAR. Tyto receptory se liší podjednotkovým složením, které determinuje jejich farmakokinetické vlastnosti. Synaptické GABAAR typicky 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 Sprague-Dawley krys starých 5-9, 12-15 a 28-32 postnatálních dní. Pomocí in situ hybridizace a imunohistochemie byla zjištěna exprese $\alpha 1$, $\alpha 3$ a δ mRNA a proteinů v populaci GABAergních neuronů. Synaptická a tonická inhibice byla měřena in vitro elektrofyziologickou 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 saturační dávce 100 μ M a měřena jako rozdíl proudu před a po nástupu jeho efektu. TI byla farmakologicky modifikována 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 koreluje 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. Exprese 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 sensitivitou k zolpidemu. Velikost TI koreluje s expresí δ podjednotky a je zprostředkována i non- δ GABAAR.

P-38. INTERINDIVIDUÁLNÍ A INTRAINDIVIDUÁLNÍ VARIABILITA V PROVÁDĚNÍ SEMONTOVA MANÉVRU

Stehlíková M. ¹, Čakrt O. ¹, Černý R. ², Jeřábek J. ²

1-Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. LF UK a FN Motol, 2-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Jaroslav Jeřábek, CSc.

Úvod: Benigní polohové paroxysmální vertigo (BPPV) je nejčastější příčinou závratí. Jedná se o periferní typ závratě spojený se změnou polohy, při níž pacienti obvykle udávají pocit rotace, plavání v prostoru a nauzeu. Příčinou obtíží je uvolnění otokoníí z membrány otolitových váčků do endolymfy některého z polokruhových kanálků. Při postižení zadního polokruhového kanálku dochází při položení pacienta na stranu postiženého ucha k pohybu otolitů a vychýlení kupuly. Polokruhový kanálek tak percipuje gravitaci a dojde k reakci obdobné pohybu v rovině kanálku. Základním terapeutickým přístupem je Semontův reпозиční manévr, jehož cílem je odstranění otokoníální hmoty z lumina polokruhového kanálku. Předpokládá se, že úspěšnost manévru je závislá na pohybu hlavy v rovině postiženého polokruhového kanálku. Přesto je však otázkou, do jaké míry je toto postavení zachováno během celého manévru.

Cíl: Cílem této studie bylo zjistit inter-individuální a intra-individuální variabilitu při provádění Semontova reposisičního manévru a pokusit se definovat parametry, které nejvíce ovlivňují jeho úspěšnost.

Materiál a metody: Semontův manévr byl prováděn třemi zkušenými terapeuty, kteří mají srovnatelnou úspěšnost v léčbě BPPV, na 10 zdravých probandech. Těm byla na čele umístěna inerciální měřicí jednotka složená ze systému akcelerometru a gyroskopu. Jednotka vysílala data o své pozici a pohybu do virtuálního modelu v počítači a porovnávala je s vypočtenou předpokládanou pozicí roviny daného zadního kanálku, z nichž byla vyhodnocena přesnost provedeného manévru.

Výsledky: Vysoká variabilita provedení Semontova manévru byla prokázána ať v porovnání mezi jednotlivými měřeními u jednoho terapeuta (standardní deviace u 3 terapeutů byla 10.2, 16.7, a 7.7) nebo v porovnání mezi terapeuty. Variabilita měření terapeutů se typicky odlišovala v závislosti na výšce probandů ($p = 0.0252$), fázi pohybu ($p < 0.0001$) a také byla prokázána vysoká korelace mezi přesností určité fáze pohybu vzhledem ke straně, na kterou je manévr proveden ($p = 0.0130$).

Závěr: Výsledky potvrzují naši hypotézu, že na úspěšnosti léčby BPPV se nepodílí pouze přesné dodržení prostorové roviny, v níž je manévr prováděn, ale i dalšími faktory. Jejich definování by mělo být předmětem dalšího výzkumu.

Podpora projektu: Děkujeme Ing. Igoru Bodlákovi a firmě Princip a. s. za poskytnutí snímacího zařízení a softwaru a pomoc při řešení projektu.

P-39. p16(INK4a) IMMUNOPROFILES OF SQUAMOUS LESIONS OF THE UTERINE CERVIX - IMPLICATIONS FOR THE RECLASSIFICATION OF ATYPICAL IMMATURE SQUAMOUS METAPLASIA

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

1-Department of Pathology and Molecular Medicine, Charles University, 2nd Medical School, University Hospital Motol, 2 -Department of Obstetrics and Gynecology, Charles University, 2nd Medical School, University Hospital Motol

Supervisor: doc. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.

Introduction: The immunostaining for p16(INK4a) is a feature of precancerous lesions and carcinomas of the uterine cervix and the level of p16(INK4a) expression correlates with the increasing grade of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). The prevalent negativity of cytokeratin 17 (CK 17) in CIN III was reported and the suggestion to use the reciprocal immunoreactivity of p16(INK4a) and CK 17 for the distinction between atypical immature squamous metaplasia (AIM) and high grade CIN was postulated.

Aims: Our primary objective was to estimate typical p16(INK4a) immunoprofiles of non-precancerous and dysplastic squamous cervical lesions and to define their diagnostic value for the potential reclassification of AIM. Secondly, the immunoexpression of CK 17 in all cases of AIM was performed to assess its role in the differential diagnosis between AIM and high grade CIN.

Materials and Methods: Totally, 295 cervical cone biopsies representing squamous metaplasia, reactive changes, koilocytosis, flat condyloma, CIN I, CIN II, CIN III and AIM were subjected to p16(INK4a) immunohistochemistry. AIM cases were analyzed using CK 17 antibody. Typical p16(INK4a) immunoprofiles for the metaplastic, LSIL/HPV and HSIL phenotypes were recorded and used for the categorization of AIM into particular phenotype groups. Results were correlated with CK 17 immunoexpression.

Results: All CIN II and CIN III lesions, all but one case of CIN I and all flat condylomas overexpressed p16(INK4a). Other non-precancerous lesions, including koilocytosis, were predominantly negative. Contrary to the sporadic and focal immunostaining, diffuse positivity was associated with the dysplastic features of the lesion. CIN II and CIN III were characterized by a diffuse, strong/weak, full-thickness staining, whereas CIN I showed a heterogeneous diffuse/focal, weak/strong, lower half positivity. One third of AIM lesions may be reclassified as HSIL, one third as LSIL/HPV and one third shows metaplastic phenotype. All AIM cases with metaplastic and LSIL/HPV phenotypes expressed CK 17 diffusely, whereas focal positivity slightly prevailed in AIM with HSIL phenotype.

Conclusions: p16(INK4a) immunohistochemistry is a supporting method for the differential diagnosis of cervical lesions, which may be especially useful for the reclassification of AIM. The efficacy of CK 17 immunohistochemistry seems to be controversial for these purposes.

Support: Research project GAUK 85608. Project MZ ČR for conceptual development of research organization 00064203 University Hospital Motol.

P-40. CENTROMERICKÁ MFISH – METODA PRO IDENTIFIKACI MARKER-CHROMOZOMŮ: KAZUISTIKA DEMONSTRUJÍCÍ NAŠE PRVNÍ ZKUŠENOSTI

Tesner P.¹, Zimanová V.¹, Lonský P.², Šípek A.², Kočárek E.¹

1-Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FNM, 2-Sanatorium Pronatal, Praha

Školitel: RNDr. Eduard Kočárek, Ph.D.

Úvod: Marker chromozómy (small supernumerary marker chromosomes – sSMC) jsou malé nadpočetné abnormální chromozómy nalézané cca u 1 z 2200 lidí. Ve světě tedy předpokládáme asi 3 milióny lidí s touto abnormalitou. Třebaže nález sSMC (zejména prenatalní) vzbuzuje obavy, většina nosičů těchto mimořádných chromozómů je zdráva.

Cíl: Dlouhodobým cílem naší práce je optimalizace diagnostiky sSMC. Chceme-li předpovědět možný vztah konkrétního sSMC k fenotypu jedince u prenatalních vyšetření, popř. asociaci s fenotypovými abnormalitami u již narozené osoby, je třeba přesně určit chromozóm, z něhož sSMC pochází, a zmapovat genetický materiál, který obsahuje. Tento postup demonstrujeme na níže uvedeném případě.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme kultivované lymfocyty 23leté potenciální dárkyně oocytů, která je klinicky zdráva. Základní cytogenetické vyšetření (G-pruhování) však odhalilo karyotyp 47,XX,+mar[74]/46,XX[43]. Pro upřesnění nálezu jsme identifikovali původ sSMC analýzou FISH. Nejdříve jsme použili směsnou sondu pro centromerickou mnohobarevnou FISH (cen-mFISH) od firmy MetaSystems (XCen mFISH kit). Tento výsledek jsme verifikovali pomocí centromerické sondy.

Výsledky: Již analýzou druhé mitózy v preparátu jsme zjistili, že sSMC je derivovaný chromozóm 2. Nález jsme ověřili pomocí klasické FISH se sondou pro alfa-satelitní sekvenční tohoto chromozomu. Toto vyšetření potvrdilo i původní cytogenetický nález: vyšetřili jsme celkem 504 buněk (včetně interfázních jader), z nichž 62% obsahovalo výše uvedený sSMC.

Závěr: Žena není postižena, neboť sSMC je zřejmě tvořen pouze konstitutivním heterochromatinem. Přesto je tento nález, bez ohledu na původ sSMC, kontraindikací pro darování gamet, neboť je zvýšeno riziko vzniku oocytu s aberantní chromozomovou konstitucí.

Cen mFISH v popsaném případě umožnila rychlou a přesnou determinaci sSMC. Přesto má metoda své nevýhody, k nimž patří zejména fakt, že směsná sonda neznačí všechny lidské chromozomy, proto s ní nelze odhalit až 30% sSMC (např. deriváty chromozómů 13, 14, 20, 21, 22, Y a analoidní markery). Není vhodná pro vyšetření mozaik s nízkým zastoupením sSMC, které vyžadují analýzu velkého množství buněk. Nevýhodou je i vyšší cena. Náš případ však ukazuje, že v konkrétních případech umožňuje cen mFISH (v kombinaci s dalšími postupy) identifikovat původ sSMC. Poskytuje první orientaci při naléhavých prenatalních vyšetřeních, anebo může být součástí složitějšího vyšetřovacího algoritmu.

Podpora projektu: S podporou GAUK-264811 a TAČR-TA01010931.

P-41. ADIPOPILIN LEVELS IN HUMAN COLOSTRUM AND FULL BREAST MILK

Mitrova K. ¹, Bronsky J. ¹, Karpisek M. ², Durilova M. ¹, Nevoral J. ¹

1-Department of Paediatrics, UH MOTOL, Prague, 2-Department of Human Pharmacology and Toxicology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno

Supervisor: doc. MUDr. Jiri Bronsky, Ph.D.

Introduction: Adipophilin is a major constituent of the breast milk (BM) lipid globule surface and was previously described in cow and goat milk.

Aims: Aim of our study was to detect and analyze adipophilin concentrations in human BM during twelve months of lactation.

Materials and Methods: Adipophilin levels were determined using high sensitive ELISA method (Biovendor) in colostrum (D0) and BM of 72 healthy mothers after non-complicated delivery. BM samples were collected in 1, 3, 6, and 12 months of lactation (M1, 3, 6, 12).

Results: Mean adipophilin levels in D0 were 1.98 ± 0.12 , in M1 2.83 ± 0.21 , in M3 2.39 ± 0.17 , in M6 2.57 ± 0.16 , and in M12 3.25 ± 0.21 ug/ml. Significantly higher levels of adipophilin were found in M1 and M12 when compared to D0 and in M12 when compared to M3 (overall $p = 0.0001$). Trend for adipophilin levels was intraindividually highly conserved from M1 onwards throughout the whole lactation. Significant positive correlation between adipophilin levels was observed at M1 and M3 ($r = 0.3091$; $p = 0.0103$). Moreover, adipophilin levels at M3 correlated with levels at M6 ($r = 0.2739$; $p = 0.0227$) and M12 ($r = 0.4476$; $p = 0.0043$) and levels at M6 also correlated with levels at M12 ($r = 0.3699$; $p = 0.0173$). Adipophilin levels at M6 correlated negatively with birth weight of infants ($r = -0.3066$; $p = 0.0083$) and birth length of infants ($r = -0.36$; $p = 0.0018$). There was no other correlation throughout the lactation between BM levels of adipophilin and body weight of infants, their birth length, body weight gain during the first year of life or BMI of mothers before pregnancy.

Conclusions: Adipophilin was detectable in human BM during the whole twelve month lactation period. Higher levels in M12 might be caused by longer intervals between breastfeeding due to introduction of complementary food.

Support: This study was supported by research grant VZ MZO 64203/6903 (VZ FNM 2005).

P-42. KLINICKÝ VÝZNAM AKTIVITY KATEPSINU - B V SÉRU A MOČI U PACIENTŮ S UROTELIÁLNÍM KARCINOMEM MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

Dušek P. ¹, Kotaška K. ², Veselý Š. ¹, Průša R. ², Babjuk.M. ¹

1-Urologická klinika UK 2. LF a FN Motol, Praha, 2-Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol, Praha

Školitel: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

Úvod: Katepsin B (KB) je thiol – dependentní proteáza nalézající se za normálních okolností v lysosomech savčích buněk. Je mu přisuzována významná úloha v řadě patologických procesů, včetně nádorového bujení.

Cíl: V rámci naší studie aktivity katepsinu B u pacientů s karcinodem močového měchýře byla u části našeho souboru porovnána diagnostická účinnost katepsinu B a prokatepsinu B.

Materiál a metody: Koncentrace katepsinu B a prokatepsinu B v séru a moči byly stanoveny enzymatickou imunoanalýzou ve skupině 20 pacientů s karcinodem močového měchýře a u 20 zdravých jedinců. Koncentrace katepsinu B a prokatepsinu B v moči byla adjustována na kreatinin. Kreatinin v moči byl stanoven kreatinázovou metodou.

Výsledky: Koncentrace katepsinu B v séru a v moči a poměr U - katepsinu B / kreatinin jsou podobné ve skupině pacientů s karcinodem močového měchýře a u zdravých jedinců. Naopak, koncentrace prokatepsinu B v moči a poměr U - katepsinu B / kreatinin významně zvýšena u pacientů s karcinodem močového měchýře buněk (3,73 vs 1,35 ug / l , p = 0,007 a 0,67 vs 0,19 ug / mmol kreatininu , p = 0.0005 v uvedeném pořadí). Srovnání diagnostických účinností katepsinu B a prokatepsinu B v séru a v moči ukazují významnou diagnostickou efektivitu prokatepsinu B v moči (AUC = 0,74 vs 0,62) . Poměr U - prokatepsinu B / kreatininu je také efektivní (AUC = 0,81 vs AUC = 0,56) . K efektivnější využití obou parametrů v séru jsou nízké (S - prokatepsinu B : AUC = 0,51 , S - katepsinu B : AUC = 0,59).

Závěr: Stanovení prokatepsinu B v moči je cenným diagnostickým markerem u pacientů s karcinodem močového měchýře.

Podpora projektu: ráce byla podpořena Grantem IGA MZ ČR NT 11415-5.

P-43. KOŽNÍ NÁDORY U PŘÍJEMCŮ TRANSPLANTÁTŮ LEDVIN V TRANSPLANTAČNÍM CENTRU IKEM. VÝSLEDKY PILOTNÍ PROSPEKTIVNÍ KOHORTOVÉ STUDIE NA SOUBORU 190 PACIENTŮ.

Džambová M. ^{1,2}, Sečnicková Z. ^{1,2}, Göpfertová D. ², Šmerhovský Z. ², Viklický O. ³, Hercogová J. ¹
1-Dermatovenerologická klinika 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha, 2-Ústav epidemiologie 2. LF UK, Praha, 3-Klinika nefrologie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny (IKEM), Praha

Školitel: doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: Kožní novotvary, zejména nemelanomové kožní nádory, představují nejčastější nádorové onemocnění u příjemců transplantátu ledviny. Vzhledem ke zvyšujícímu se počtu provedených transplantací a delšímu přežívání nemocných představuje tato problematika důležitou komplikaci, která významně ovlivňuje prognózu a mortalitu transplantovaných pacientů.

Cíl: Zjistit incidenci kožních nádorů u příjemců transplantátu ledviny, porovnání této incidence s incidencí v běžné české populaci a identifikace rizikových faktorů podílejících se na vzniku kožních malignit u transplantovaných pacientů. Na základě výsledků odvodit optimální strategii pro skrining zhoubných novotvarů kůže a sekundární prevenci v rámci posttransplantačního sledování těchto pacientů. Vzhledem ke skutečnosti, že studie byla založena v relativně nedávné minulosti, jsou předmětem prezentace deskriptivní charakteristiky kohorty pacientů.

Materiál a metody: Prospektivní kohortová studie se provádí na souboru pacientů po transplantaci ledvin, kteří byli v časovém období od ledna 2013 do ledna 2014 odesláni k dermatologickému vyšetření v rámci dispenzarizace po transplantaci z Kliniky nefrologie IKEM. Dermatologické sledování probíhalo v 3-6 měsíčních intervalech. Byla sledována lokalizace, typ nádoru, frekvence opakovaných nádorů a časový odstup jejich vzniku od transplantace. Pro porovnání studované kohorty s běžnou českou populací se plánuje použití nepřímé standardizace a výpočet indexu standardizované morbidity (SMR).

Výsledky: V tomto časovém období jsme vyšetřili celkem 190 pacientů (132 mužů a 58 žen), kteří podstoupili transplantaci ledvin v letech 1989 -2014. Ve sledované kohortě jsme detekovali 54 kožních nádorů u 16 (8,4%) pacientů. Bazocelulární karcinom představoval nejčastější typ kožního novotvaru (n=33, 61,1%), následovaný spinocelulárním karcinomem (n=16, 29,6 %). U 4 pacientů byl zjištěn morbus Bowen a 1 pacient měl maligní melanom. Kožní nádory byly častější u mužů (69,4%) a nejčastější lokalizace nádorů byla oblast hlavy (66%).

Závěr: Prezentované výsledky dosud nezahrnují porovnání s externí kontrolní populací a výpočet standardizovaného indexu morbidity na zhoubné novotvary u transplantovaných pacientů. Přesto je zřejmé, že četnost studovaných jevů je v kohortě mimořádně vysoká, což odpovídá pracovní hypotéze a je konzistentní s obdobnými studiemi prováděnými v ČR i zahraničí. Již dosavadní výsledky upozorňují na potřebu vytvoření doporučených postupů pro optimální sledování pacientů po transplantaci.

Podpora projektu: Grant IGA MZ ČR NT 14203.

P-44. STANOVENÍ ÚČINNOSTI DIPYRIDAMOLU A MONITORING DUÁLNÍ ANTIAGREGAČNÍ TERAPIE AGGRENEXEM

Magerová H. ¹, Šarbochová I. ¹, Urbanová B. ¹, Chudomel O. ¹, Schwabová J. ¹, Hadačová I. ², Bojar M. ¹, Tomek A. ¹

1-Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2-Oddělení klinické hematologie FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Úvod: Dipyridamol (DIP) snižuje adhezi a agregaci trombocytů, zejména blokováním zpětného vstřebávání adenosinu do krevních a endoteliálních buněk a zvyšováním intracelulárního cAMP. Klinický přínos kombinovaného užívání kyseliny acetylsalicylové (ASA) a DIP (ASA/DIP, Aggrenox) byl jasně prokázán, existuje ale pouze malé množství dat dokumentujících vliv DIP na agregometrické vyšetření.

Cíl: Cílem studie bylo stanovit profil DIP a rozdíl samostatně užívané ASA a kombinace ASA/DIP v agregometrii.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 204 pacientů po proběhlé ischemické cévní mozkové příhodě (iCMP) - 112 užívajících ASA a 92 ASA/DIP. Byla použita světelná transmisní agregometrie (Light Transmittance Aggregometry, LTA) s agonisty adenosindifosfátem (ADP), kyselinou arachidonovou (ARA), kolagenem a ristocetinem. Sledovanou veličinou byla maximální amplituda, vyjádřená v procentech rozdílu propustnosti světla (%max LTA). Rezistence byla definována jako > 70% %max LTA při použití ADP a > 20% %max LTA pro ARA.

Výsledky: Průměrná %max LTA se nelišila ve skupinách užívajících ASA a ASA/DIP po podání ARA (ASA=14.86%, ASA/DIP=18.02%), kolagenu (53.15%, resp. 60.31%) a ristocetinu (72.58%, resp. 70.74%) ($p > 0.05$). Rozdíl při použití ADP se blížil statistické významnosti (ASA=44.53%, ASA/DIP=50.74%; $p = 0.056$). Statisticky nevýznamný trend k vyšší rezistenci jsme pozorovali ve skupině ASA/DIP při podání ADP (ASA=11.7%, ASA/DIP=20.7%; $p = 0.082$) i ARA (ASA=15.2%, ASA/DIP=19.6%; $p = 0.408$).

Závěr: Naše data ukazují, že současné podávání DIP s ASA nemá významný dopad na výsledek optické agregometrie. Naopak, pacienti užívající kombinovanou terapii vykazují častěji laboratorní známky rezistence, což je pravděpodobně způsobeno nižší dávkou ASA v kombinovaném přípravku. Výsledky ukazují, že agregometrické sledování účinnosti léčby je v případě dipyridamolu a jeho kombinovaného přípravku komplikovanější než u ostatních antiagregancií používaných v sekundární prevenci iCMP.

P-45. EXTRAKORPORÁLNÍ IMUNOADSORPCE - MOŽNOST LÉČBY PACIENTŮ S ORGÁNOVOU TRANSPLANTACÍ

Pagáčová L., Hošková L., Kubánek M., Dorazilová Z., Málek I., Slavčev A., Slatinská J., Viklický O.
IKEM Praha

Školitel: MUDr. Jan Piřha, CSc.

Úvod: Imunoadsorpce (IA) je moderní extrakorporální eliminační metoda umožňující technikou afinitní chromatografie odstranit z plazmy pacienta nežádoucí imunoglobuliny. Používá se v různých léčebných indikacích a má své místo i v transplantační medicíně.

Cíl: IA je jednou z možností léčby nemocných s přítomností vysokých hodnot PRA (panel reaktivních protilátek) před transplantací, kteří mají zvýšené riziko humorální rejekce a selhání štěpu. Lze ji použít v přípravě či k léčbě již rozvinuté rejekce po transplantaci.

Materiál a metody: K výkonům bylo využito separátoru krevních elementů ComTec™ a ke zpracování odseparované plazmy imunoadsorpční monitor Citem 10™ a ADAorb™. Oba systémy pracují pomocí 2 adsorpčních kolon s navázaným stafylokokovým proteinem A - Immunosorba™. Pomocí IA jsme léčili celkem 12 pacientů: 3 pacienti byli s vysokým PRA před transplantací srdce, 7 pacientů po transplantaci srdce a 2 pacientky po transplantaci ledviny.

Výsledky: V období od 18.11.2008 do 28.2.2014 bylo provedeno celkem 108 výkonů IA, 21 na přístroji Citem™ a 87 na ADAorb™, při výkonech nebyly zaznamenány žádné závažnější komplikace. Průměrný počet výkonů na pacienta byl 9,6, průměrný zpracovaný plazmatický objem byl 6257 ml, což je 1,99 plazmatického volumu pacienta (2,17 u nefrologických a 1,95 u kardiologických nemocných). Pokles imunoglobulinů jsme zaznamenali nejvyšší u IgG (průměrně o 66,5%), nejvíce v podtřídách IgG1 (70,5%) a IgG4 (71,3%), nejnižší pokles byl u IgG3 (24,4%). IgM poklesly v průměru 42,6% a IgA o 21,3% v 1 sezení IA. Pokles PRA u pacientů v předtransplantační přípravě byl z 92% na 36%, resp. z 69% na 23%, resp. z 99% na 10%.

Závěr: Po provedených IA došlo u všech našich pacientů před transplantací k poklesu cirkulujících protilátek a PRA. Kombinací opakovaných cyklů imunoadsorpce s následným podáním intravenózních imunoglobulinů a další imunosuprese jsme docílili u pacientů po transplantaci srdce a ledviny potlačení humorální rejekce.

Podpora projektu: Práce podpořena grantem IGA MZČR NT 11262-6.

P-46. DEVELOPMENTAL CHANGES OF LANGUAGE CONNECTOME IN CHILDREN

Vydrová R. ¹, Šanda J. ², Kynčl M. ², Štěřbová K. ¹, Kršek P. ¹, Vranová M. ³, Komárek V. ¹

1-Department of Pediatric Neurology, UH Motol, Prague, 2-Department of Radiology, UH Motol, Prague, 3-Clinical speech therapy, Prague

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Introduction: Research showed importance of ventral neuronal pathways beside the arcuate fascicle during language development. We studied dorsal pathway of the arcuate fascicle (AF) and ventral language streams, i.e. inferior fronto-occipital fascicle (IFOF), uncinate fascicle (UF) and inferior longitudinal fascicle (ILF) using magnetic resonance (MR) diffusion tensor imaging (DTI), in healthy children and children with developmental dysphasia (DD). The findings would contribute to the research of disease related changes of the language connectome in children.

Aims: Our aim was to evaluate the structural changes of diffusivity and geometry of dorsal and ventral language related pathways in healthy children and in children with developmental dysphasia.

Materials and Methods: We performed DTI in 38 children with DD (68.4 % boys, mean age 8,4 years, 84,2% right-handed) and 39 healthy children (48.7 % boys, mean age 9,1 years, 87,9% right-handed). Tractography bilateral clusters of arcuate fascicle were detected manually from MRI data; ventral streams, i.e. IFOF, UF and ILF were identified using regions of interest. Correlation between DTI parameters such as fractional anisotropy (FA), volume, count of fibres and the severity (n=13 mild, n=18 moderate, n=7 severe) and type (i.e. n=11 receptive, n=27 expressive) of the speech impairment was tested. Statistical analysis was performed using ANOVA.

Results: In children with DD, lower volumes of the right AF ($p < 0.001$), right and left IFOF ($p = 0.001$, $p < 0.001$), right and left uncinate fascicle ($p < 0.001$, $p < 0.001$) and right and left ILF ($p < 0.001$, $p < 0.001$) were found compared to controls. Further, lower fractional anisotropy of left AF ($p = 0.005$), right IFOF ($p < 0.001$) and left UF ($p = 0.049$) was found children with DD compared to controls. DTI parameters did not correlate with the severity or type of the DD; however, larger group sizes are needed.

Conclusions: Insufficient arcuate fascicle in the dominant hemisphere and ventral streams are associated with developmental language impairment, as indicated by lower fraction anisotropy of the left AF and lower volumes of IFOF, uncinate fascicle and ILF bilaterally in children with DD. Structural changes of the ventral and dorsal language pathways, related to the severity or type of the speech impairment, were not found.

Support: IGA MZ ČR grant NT11 443, MH CZ-DRO, UH Motol, Prague, Czech Republic 00064203.

P-47. STENOSA AKVEDUKTU – VZÁCNÁ PŘÍČINA HYDROCEFALU U DĚTÍ S NF1

Glombová M.^{1,2}, Petrák B.¹, Lisý J.³, Bendová Š.⁴, Komárek V.¹

1-Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, 2-Dětské oddělení, Oblastní nemocnice Kolín, a.s., 3-Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, 4-Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Školitel: MUDr. Bořivoj Petrák, CSc., prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Úvod: Neurofibromatosa typ 1 (NF1) je multisystémové onemocnění s incidencí 1:2500-3000 a častým výskytem tumorů. Genetickým podkladem je mutace tumor-supresorového genu pro protein neurofibromin. Mezi vzácné manifestace NF1 patří idiopatická stenosa akveduktu, která vede k hydrocefalu i bez přítomnosti expanzivního procesu CNS.

Cíl: Zhodnotit vyšetřovací algoritmus u pacientů s NF1 s cílem vyčlenit rizikovou skupinu dětí stran výskytu hydrocefalu na podkladě stenosis akveduktu.

Materiál a metody: Soubor 290 pacientů se stanovenou diagnosou NF1 vyšetřovaných v letech 1990 – 2010 na Klinice dětské neurologie ve FN Motol. U všech pacientů ze souboru bylo provedeno zobrazení mozku – u 5 pouze CT, u všech ostatních magnetická rezonance.

Výsledky: Hydrocefalus byl nalezen u 24/290 (8%) vyšetřovaných pacientů s NF1. U 2/3 šlo o sekundární hydrocefalus při expanzivním procesu CNS, u 7 dětí byla zjištěna idiopatická stenosa akveduktu, u jedné dívky šlo o stenosis akveduktu, ale v anamnéze byla radioterapie.

Hydrocefalus na podkladě idiopatické stenosis se manifestoval mezi 9. a 17. rokem věku. Klinické příznaky byly různé, ale spíše nenápadné. U jedné dívky šlo o náhodný nálezu při plánované kontrolní magnetické rezonanci, u 2 dětí byla jedním ze společných příznaků těžká porucha vývoje řeči. U 6/8 dětí se stenosis byla provedena DNA analýza, nicméně nalezené mutace byly různé, u jednoho pacienta mutace nebyla nalezena, ale analýza nebyla kompletní.

Závěr: NF1 je onemocnění s častým výskytem nádorů a neurologických komplikací, mezi které patří i rozvoj hydrocefalu. Sekundární hydrocefalus při expanzivním procesu mozku je častější než hydrocefalus při idiopatické stenosis akveduktu, který se objevuje jen asi u 2,5% pacientů s NF1. I na tuto komplikaci je potřeba myslet, zejména pro často nenápadný rozvoj klinických příznaků. Klinická data ani provedená genetická analýza nás neposunuly v identifikaci rizikové skupiny pacientů. Stále častěji jsou diskutována hypersignální ložiska na magnetické rezonanci mozku u pacientů s NF1 a jejich klinický dopad, zejména v případě lokalizace v periakveduktální oblasti.

P-48. NEUROSONOLOGICKÉ MARKERY ALZHEIMEROVY CHOROBY

Urbanová B. ¹, Magerová H. ¹, Hořínek D. ², Tomek A. ¹, Hort J. ¹

1-Neurologická klinika, 2. LF UK a FN Motol, Karlova Univerzita v Praze, Praha, Česká republika,
2-Mezinárodní centrum klinického výzkumu (ICRC), Fakultní nemocnice U Sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika

Školitel: doc. MUDr. Jakub Hort, Ph.D.

Úvod: Mozková perfuze u pacientů s Alzheimerovou chorobou (ACH) ve stadiu demence je snížena nejen z důvodu úbytku parenchymu ale také z důvodu porušené mikrocirkulace.

Cíl: Domníváme se, že porucha mikrocirkulace může být přítomna již v časnějších stádiích kognitivního deficitu a může být odhalena vyšetřením cerebrovaskulární reaktivity transkraniální ultrasonografií za použití tzv. breath-holding manévru.

Materiál a metody: Do projektu byli zahrnuti prospektivní pacienti centra pro poruchy paměti bez anamnézy cévní mozkové příhody či významného kardiovaskulárního onemocnění a bez asymptomatických ischemických lézí na MRI mozku. Na základě podrobného neuropsychologického vyšetření byli rozděleni do 4 skupin [ACH, mírná kognitivní porucha (MCI), subjektivní poruchy paměti a zdravé kontroly bez kognitivního deficitu]. Všechny subjekty podstoupily neurosonologické vyšetření, při kterém byly stanoveny průtokové rychlosti (peak-systolic, mean flow, end-diastolic velocity) a rezistenční a pulsatilní index bilaterálně v a. cerebri anterior, media, posterior, a. vertebralis a v a. basilaris. Cerebrovaskulární reaktivita byla stanovena pomocí breath-holding indexu (BHI) vypočítaného ze tří měření v klidu a po zadržení dechu po maximální možnou dobu v a. cerebri media oboustranně. Výsledky 4 skupin byly statisticky porovnány a korelovány s MMSE.

Výsledky: Bylo zahrnuto 13 pacientů s ACH (4 muži, 69,2±/-2,9 let, MMSE 21,3±/-0,7), 9 pacientů s MCI (5 mužů, 70,9±/-3,6 let, MMSE 27,9±/-0,7), 10 pacientů se subjektivní poruchou paměti (4 muži, 70,3±/-2,1 let, MMSE 29,1±/-0,4) a 10 kontrol se shodnými cévními rizikovými faktory (8 mužů, 71,7±/-2,1 let, MMSE 28,7±/-0,5). Průměrný BHI u ACH vs. kontrol v a. cerebri media vpravo byl 0,51 vs. 0,88 (p=0,09), vlevo 0,36 vs. 0,60 (p=0,036). Nebyly nalezeny rozdíly mezi skupinami v žádných dalších ultrazvukových parametrech. Pokles v BHI obou stran koreloval signifikantně s MMSE (vpravo r=0,463, p=0,035, vlevo r=0,585, p=0,007).

Závěr: Výsledky potvrdily poruchu mozkové mikrocirkulace u pacientů s ACH ve stadiu demence. Neprokázali jsme ultrazvukem detekovatelné změny u pacientů s MCI či subjektivními poruchami paměti.

Podpora projektu: Podpořeno grantem GAUK 347711, IGA MZ NT/13319

P-49. SROVNÁNÍ TLOUŠŤKY VRSTVY NERVOVÝCH VLÁKEN SÍTNICE DĚTSKÝCH HYDROFTALMICKÝCH OČÍ S GLAUKOMEM A ZDRAVÝCH OČÍ ZA POUŽITÍ SKENOVACÍ LASEROVÉ POLARIMETRIE

Hložánek M. ¹, Filouš A. ¹

1-Oční klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Aleš Filouš, CSc.

Úvod: Skenovací laserová polarimetrie (GDxVCC) je při své citlivosti, jednoduchosti a minimální invazivitě cennou metodou použitelnou k diagnostice a monitoraci glaukomu u dětí.

Cíl: Porovnat tloušťku vrstvy nervových vláken sítnice (RNFL) stanovenou GDxVCC u dětských glaukomových hydroftalmických očí s kontrolní skupinou zdravých dětských očí.

Materiál a metody: Studovanou skupinu tvořilo 20 hydroftalmických očí 20 pacientů léčených pro vrozený či infantilní glaukom, průměrného věku 10.64 ± 3.02 let. Bylo provedeno měření standardních parametrů RNFL v temporálním, horním, nasálním a dolním peripapilárním regionu sítnice (TSNIT). Naměřené hodnoty byly srovnány s referenčními hodnotami TSNIT věkově porovnatelné skupiny 120 zdravých očí.

Výsledky: Průměrné hodnoty \pm SD u skupiny glaukomových hydroftalmických očí v parametrech TSNIT Average, Superior Average, Inferior Average a TSNIT SD byly 52.3 ± 11.4 μm , 59.7 ± 17.1 μm , 62.0 ± 15.6 μm a 20.0 ± 7.8 μm . Všechny hodnoty byly signifikantně nižší ve srovnání s referenčními hodnotami ($P=0.021$, $P=0.001$, $P=0.003$ a $P=0.018$). Významná část hodnot u glaukomových hydroftalmických očí se nacházela pod hranicí 5% pravděpodobnosti normality: 30% očí v TSNIT Average, 50% očí v Superior Average, 30% očí v Inferior Average a 45% očí v TSNIT SD.

Závěr: Průměrné hodnoty tloušťky RNFL ve všech standardních TSNIT parametrech měřených metodou GDxVCC byly u dětských glaukomových hydroftalmických očí signifikantně nižší než u kontrolní skupiny zdravých dětských očí. V literatuře je minimum údajů týkajících se konkrétních hodnot tloušťky RNFL u dětí. Práce tak přispívá k upřesnění interpretace výsledků měření pomocí GDxVCC u dětí.

P-50. NA VĚK VÁZANÉ ZMĚNY SLUCHOVÉ FUNKCE U POTKANŮ LONG EVANS

Pelánová J.¹, Šuta D.^{1,2}, Rybalko N.¹, Popelář J.¹, Syka J.¹

1-Ústav experimentální medicíny AV ČR, 2-Ústav lékařské biofyziky a informatiky 3.LF UK, Praha

Školitel: prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.

Úvod: Presbyakuze, zhoršování sluchové funkce s věkem, představuje u starší populace významný handicap při komunikaci. Porucha porozumění mluvené řeči, která se může objevit i u jedinců bez významně zvýšeného sluchového prahu, je dáвана do souvislosti se zhoršováním schopnosti rozlišovat časové parametry zpracování akustického signálu v centrálním sluchovém systému. Tyto změny jsou zkoumány i na zvířecích modelech.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnotit na věk vázané změny sluchové funkce u potkanů pomocí stanovení sluchových prahů, na věk vázané změny schopnosti rozlišovat časové parametry akustických stimulů a popsat případné korelace mezi nimi.

Materiál a metody: Zkoumaný soubor tvořilo 20 mladých (věk 3-4 měs.) a 11 starých (věk 30-34 měs.) potkanů Long Evans. Obě skupiny potkanů byly trénovány ve schopnosti detekovat mezeru a rozlišovat dvě různě dlouho trávající mezery v kontinuálním šumu. Stanovení prahu detekce mezery v šumu (GDT, mezera s délkou trvání 1,5-10ms) a stanovení prahu rozlišení dvou různě dlouho trávících mezer v kontinuálním šumu (GDDL₁₅ - pro sérii 5 mezer, každá o délce trvání 15ms, oddělených 185ms šumu; a GDDL₄₀ - pro sérii 5 mezer o 40ms, oddělených 160ms šumu) bylo provedeno pomocí behaviorální metody negativního podmiňování. Měření sluchových prahů bylo provedeno pomocí registrace střednělatentních evokovaných potenciálů (MLR) ve frekvenčním rozsahu 1-32 kHz.

Výsledky: Mladí potkani vyžadovali statisticky významně kratší dobu tréningu s lepším výkonem než staří potkani. Průměrná hodnota GDT u mladých potkanů byla 2x nižší než u starých potkanů (1,8± 0,1 vs. 3,4 ±0,5ms). Průměrné hodnoty GDDL u mladých jedinců byly opět statisticky významně nižší než u starých jedinců (5,8 ±0,1ms vs. 11,1 ±1,4ms pro GDDL₁₅ a 17,5± 2,4ms vs. 26,1 ±2,2ms pro GDDL₄₀). Sluchové prahy stanovené pomocí MLR u mladých potkanů byly nižší o 10-35dB v celém rozsahu zkoumaného frekvenčního spektra než u starých potkanů. Přímá korelace mezi stupněm ztráty sluchu a zhoršením schopnosti rozlišovat časové parametry akustického stimulu však nebyla prokázána.

Závěr: Výsledky ukázaly, že presbyakuze se může manifestovat nejen zhoršením sluchových prahů, které se tradičně spojují s poruchami periferní části sluchového systému, ale i na sluchovém prahu nezávislým zhoršením zpracování akustické informace v centrálním sluchovém systému.

P-51. VÝZNAM CYTOKINŮ PŘÍTOMNÝCH V MATEŘSKÉM MLÉCE MATEK DĚTÍ S ALERGICKOU KOLITIDOU

Durilová M., Flajšmanová-Tesařová K., Štechová K., Šťavíková V., Nevoral J.
Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: doc. MUDr. Kateřina Štechová, Ph.D.

Úvod: Alergická eozinofilní kolitida je nejčastější příčinou krvavých stolic v prvním roce života. Většinou jde o non-IgE imunitní reakci, v jejíž etiologii se nejčastěji uplatňuje bílkovina kravského mléka. Onemocnění se vyskytuje u dětí plně kojených i dětí kmených umělou mléčnou výživou a má dobrou prognózu.

Cíl: Zjistit zastoupení vybraných cytokinů v mateřském mléku matek dětí s alergickou kolitidou a zdravých kontrol.

Materiál a metody: Bylo vyšetřeno mateřské mléko 20 matek dětí, u kterých byla diagnostikována ve věku 2-27 týdnů života (průměr 16.8 týdnů) alergická kolitida na Pediatrické klinice FN Motol. Kontrolní soubor tvořilo 20 nealergických matek zdravých dětí, u kterých mateřské mléko bylo vyšetřeno ve věku 12 týdnů života dítěte. Pomocí metody ELISA jsme v mléku stanovili koncentrace následujících cytokinů: IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-23, IFN-gama, TGF-beta1, EGF a eotaxinu. Koncentrace v jednotlivých skupinách byly porovnány a statisticky vyhodnoceny.

Výsledky: IL-10 jako jediný z testovaných cytokinů nebyl přítomen v žádném testovaném vzorku ani ve skupině kolitid, ani v kontrolní skupině. Významný rozdíl byl pozorován v koncentraci IFN-gama, který byl vyšší ($p < 0.001$) v mléce matek dětí s alergickou kolitidou (0-8.45 pg/ml, průměr 2.1 pg/ml) v porovnání s kontrolní skupinou (0-3.41 pg/ml, průměr 0.35 pg/ml). V mléce matek dětí s alergickou kolitidou byla vyšší koncentrace IL-4 a nižší koncentrace TGF-beta1, ale rozdíly nebyly statisticky významné.

Závěr: Imunologické faktory přítomné v mateřském mléce pasivně i aktivně ovlivňují vyvíjející se imunitní systém kojeného dítěte. I když jejich role často není úplně známá, významně zasahují do regulace imunitních reakcí a mohou se podílet na např. na protektivním účinku mateřského mléka před vznikem různých onemocnění. V zastoupení jednotlivých cytokinů mateřského mléka existují interindividuální rozdíly a jejich přítomnost bývá ovlivněna různými faktory. Dosavadní výsledky naší studie poukazují na rizikový vzorec cytokinů v mléce matek, kterých děti trpí alergickou kolitidou.

P-52. VLIV STÁRNUTÍ NA PROSTOROVOU ORIENTACI

Gažová I.^{1,2}, Laczó J.^{1,2}, Mokrišová I.^{1,2}, Hort J.^{1,2}

1-Neurologická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole, Česká republika, 2-Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika

Školitel: doc. MUDr. Jakub Hort, Ph.D.

Úvod: V průběhu fyziologického stárnutí může docházet k postupnému mírnému zhoršování kognitivních funkcí. Naše starší práce z reálného prostředí prokázaly, že ve starším věku dochází k mírnému postižení prostorové orientace.

Cíl: Cílem této studie bylo upřesnit charakter poruchy prostorové orientace a prostorového učení ve starším věku s využitím počítačové verze lidské analogie Morrisova vodního bludiště.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 24 mladých dobrovolníků a 44 starších dobrovolníků bez kognitivního deficitu dle standardního neuropsychologického testování. Skupina starších dobrovolníků byla následně rozdělena na základě věku do dvou podskupin – 60-70 let a 71-84 let. Všichni starší dobrovolníci podstoupili magnetickou rezonanci mozku k vyloučení výraznějších vaskulárních změn a atrofie hipokampů. Prostorová orientace byla testována v počítačové verzi lidské analogie Morrisova vodního bludiště, která umožňuje separátně testovat allocentrickou a egocentrickou prostorovou orientaci.

Výsledky: Dobrovolníci ve věku 71-84 let měli horší schopnost allocentrické prostorové orientace ve srovnání se skupinou ve věku 60-70 let ($p=.007$) a se skupinou mladých dobrovolníků ($p=.001$). Podskupiny starších dobrovolníků se mezi sebou nelišily ($p=.077$). Žádné rozdíly mezi skupinami nebyly nalezeny v egocentrické prostorové orientaci. Schopnost prostorového učení byla zachována ve všech skupinách ($p \geq .189$) a skupiny se ve schopnosti učení vzájemně nelišily ($p \leq .001$).

Závěr: Při fyziologickém stárnutí dochází k selektivnímu poklesu schopnosti prostorové orientace v její allocentrické složce a tento pokles je akcentován po 70. roce věku. Egocentrická prostorová orientace a schopnost prostorového učení jsou zachovány i ve starším věku. Tento specifický vzorec poruchy prostorové orientace může napomoci odlišení fyziologického a patologického stárnutí.

Podpora projektu: Tento projekt byl podpořen grantem GAUK 546113 a 624012 a za podpory projektu FNUSA-ICRC (CZ.1.05/1.1.00/02.0123) z Evropského fondu regionálního rozvoje.

P-53. MUTACE V GENECH TMIE, LRTOMT a LHFPL5 NEJSOU ČASTOU PŘÍČINOU AUTOSOMÁLNĚ RECESIVNĚ DEDIČNÉ PORUCHY SLUCHU U ČESKÝCH PACIENTŮ

Marková S., Laššutová P., Brožková D., Krůtová M., Seeman P.,
1-DNA laboratoř kliniky dětské neurologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole

Školitel: prof. MUDr. Pavel Seeman Ph.D.

Úvod: Ztráta sluchu je nejčastější smyslovou vadou a časná hluchota má prevalenci 1:1000. Více než 60% případů je podmíněno geneticky, monogenně a nejčastěji autozomálně recesivních. Jak zjistili Seeman a spol. v české populaci jsou u ~40% pacientů s prelingvální ztrátou sluchu jsou příčinou mutace v GJB2 genu (pro connexin 26). U ~60 % pacientů však zůstává příčina sluchové poruchy po vyšetření GJB2 genu neobjasněna. Je známo přibližně 64 genů zodpovědných za nesyndromovou ztrátu sluchu. Autozomálně recesivní dědičnost je u asi ~40. Z těchto 40 genů je ~14 genů malých. Geny TMIE, LRTOMT a LHFPL5 jsou geny malé a byly vyšetřeny u 52 pacientů pomocí sekvenování Sangerova v rámci většího projektu, který si klade za cíl vyšetřit genetickou příčinu časně sluchové ztráty u vybraných pacientů pomocí panelu všech genů spojených s AR nesyndromovou hluchotou.

Cíl: 1. Vyšetřit 52 vybraných pacientů s předpokládanou AR sluchovou vadou pomocí klasického sekvenování kódujících exonů genů TMIE, LRTOMT a LHFPL5.
2. Zjistit přínos vyšetřování těchto genů u českých neslyšících a spektrum mutací v těchto genech v české populaci

Materiál a metody: 52 použitých vzorků DNA nedoslýchavých pacientů, kteří mají aspoň jednoho neslyšícího sourozence a již vyloučené mutace v GJB2, bylo laskavě poskytnuto centrem GENNET. Vyšetřené geny pomocí metody Sangerova - TMIE, LRTOMT a LHFPL5 - a mají dohromady 12 kódujících exonů.

Výsledky: TMIE(NM147196.2) a LRTOMT(NM001145308.4)

Nebyla prokázána žádná známá patogenní mutace. V genu TMIE v exonu 4 byl ale objeven v České populaci velice častý nepatogenní polymorfismus (14 pacientů het_delAAG, 25 pacientů DelAAG).

LHFPL5(NM182548.3)

Mutace byly prokázány u jednoho vzorku v exonu 1 v pozici c.757 A>AG a v exonu 2 v pozici c.871 C>CT. Obě varianty již byly popsány jako příčina AR nesyndromové hluchoty a to typ - DFNB67. U dalšího vzorku byla prokázána dosud nepopsaná missense mutace c.463 G>GT, která je predikčními programy hodnocena jako patogenní. Druhou mutaci v tomto genu se u tohoto pacienta se však nepodařilo prokázat.

Závěr: Mutace v genech TMIE, LRTOMT a LHFPL5 nejsou častou příčinou AR dědičné časně poruchy sluchu v české populaci, nicméně mutace v genu LHFPL5 byla prokázána jako potenciálně patogenní u 1 vzorku z 52 (cca 1.92%)—jde zřejmě o prvního pacienta s mutacemi v tomto genu, prokazaného v ČR. V genech TMIE a LRTOMT nebyla prokázána žádná příčinná mutace, proto jejich samostatné vyšetřování nepovažujeme za klinicky důležité.

P-54. EPIDEMICKÁ VS PANDEMICKÁ CHŘIPKA – JEN MÁLO ROZDÍLŮ.

Herrmannová K.¹, Trojánek M.¹, Blechová Z.¹, Havlíčková M.³, Jiřincová H.³, Marešová V.¹, Džupová O.²

1-1. Infekční klinika, 2. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha, 2-Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha, 3-Národní referenční laboratoř pro chřipku, Státní zdravotní ústav, Praha

Školitel: doc. MUDr. Vilma Marešová, CSc.

Úvod: V roce 2009 proběhla po celém světě chřipková pandemie. V následujících dvou letech měla sezónní chřipka velice mírný průběh. Epidemie v sezóně 2012/13 se však svým průběhem a závažností vyrovnala pandemické chřipce v sezóně 2009/10.

Cíl: Upozornit na závažnost chřipky a důležitost její prevence.

Materiál a metody: Prospektivní kohortová studie uskutečněná na Infekční klinice Nemocnice na Bulovce v Praze mezi lety 2009 a 2013. Do studie byli zařazeni pacienti, kteří byli přijati pro podezření na onemocnění chřipkou, ověřenou posléze ze sčtu nosohltanu metodou PCR. Kritériem pro hospitalizaci pacienta byla především nízká hodnota saturace krve kyslíkem při podezření na pneumonii. Byla sledována epidemiologická a klinická data, ta následně statisticky zpracována.

Výsledky: V době pandemické chřipky bylo hospitalizováno celkem 163 pacientů. U všech byl identifikován virus chřipky A, u 140 pacientů typ A(H1N1)2009, u zbylých 23 pacientů nebyl suptyp dourčen. V epidemické sezóně 2012-2013 bylo celkem hospitalizováno 199 pacientů, z nichž 136 mělo chřipku typu A (91 H1N1, 33 H3N2, u 12 nebyl subtyp identifikován) a u 66 byla diagnostikována chřipka B (u třech pacientů byla zaznamenána koinfekce typem A i B). Věkový medián se signifikantě lišil, 31 vs. 47 let ($p < 0.001$). Chronické onemocnění bylo zaznamenáno u 28 vs. 54% pacientů ($p < 0.001$). Nejčastějšími klinickými příznaky byly: horečka u 100 vs. 92% pacientů, kašel u 93 vs. 91% pacientů, bolesti hlavy u 41 vs. 53% pacientů, myalgie u 36 vs. 50% pacientů ($p = 0.009$), artralgie u 29 vs. 46% pacientů ($p = 0.001$), pozitivní auskultační nález u 89 vs. 45% pacientů ($p < 0.001$), rentgenologicky však byla pneumonie potvrzena u stejného počtu pacientů (33%) v obou sezónách. Intenzivní péči vyžadovalo 10 vs. 12% pacientů ($p = 0.614$), mechanickou ventilaci 5.5 vs. 3% pacientů ($p = 0.292$). Nejčastější komplikací byla pneumonie - primární virová u 26 vs. 21 pacientů ($p = 0.157$), sekundární bakteriální u 11 vs. 35 pacientů ($p = 0.002$). Během pandemie zemřeli čtyři pacienti, během epidemie šest pacientů ($p = 1.000$).

Závěr: Poslední chřipková epidemie prokázala, že její závažnost může dosáhnout úrovně pandemické. Stále platí, že pandemická chřipka postihuje častěji mladší jedince bez komorbidit. Je zřejmé, že sezónní chřipka vyžaduje stejnou ostražitost jako pandemická. Význam prevence očkováním je však zatím naší společností (včetně odborné) nedoceněn, protože nevnímá chřipku jako závažné život ohrožující onemocnění.

Podpora projektu: Studie byla podpořena grantem IGA MZ CR NT/12493-3.

P-55. MUTACE V GENU *TRPV4* V RODINĚ S DISTÁLNÍ MOTORICKOU DĚDIČNOU NEUROPATIÍ OBJEVENÁ POMOCÍ SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE.

Neupauerová J.¹, Mazanec R.², Šafka Brožková D.¹, Krůtová M.¹, Seeman P.¹, Laššuthová P.¹
1-DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
2'Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: MUDr. Petra Laššuthová, Ph.D.

Úvod: Dědičné neuropatie jsou klinicky a geneticky heterogenní skupinou onemocnění postihujících periferní nervy. Méně častým typem dědičných neuropatií je distální dědičná motorická neuropatie (dHMN) s autozomálně dominantním typem dědičnosti. Klinicky je charakterizována slabostí a atrofií distálního svalstva bez senzitivního deficitu.

Je známo, že dědičné neuropatie jsou způsobeny mutacemi v přibližně 60 popsáných genech. Mutace v genu *TRPV4* (*transient receptor potential vanilloid 4*), který jsme zahrnuli do panelu genů pro sekvenování nové generace, způsobují neuropatii Charcot-Marie-Tooth typu 2C a distální hereditární motorickou neuropatii (dHMN). Mutace v *TRPV4* jsou také příčinou některých autozomálně dominantních skeletálních dysplázií. Pacienti s dHMN způsobenou mutacemi v genu *TRPV4* jsou různě závažně postiženi, trpí proximální distální slabostí, skoliózou, slabostí bránice a laryngeálních svalů.

Cíl:

1. Vyšetřit geny *DNM2*, *GARS* a *TRPV4* v reprezentativním souboru aspoň 50 pacientů s neobjasněnou příčinou onemocnění. Zjistit frekvenci a spektrum mutací i polymorfismů u těchto genů u českých pacientů.
2. Blíže popsat klinický fenotyp pacientů s mutacemi.

Materiál a metody: Z databáze pacientů v naší laboratoři je vybrána skupina pacientů s méně častým typem dědičné neuropatie a s dominantním typem přenosu v rodině nebo sporadické případy, u kterých doposud nebyla objasněna příčina jejich pravděpodobně hereditární neuropatie.

Vybraní pacienti jsou vyšetřeni pomocí Sangerova sekvenování všech kódujících exonů výše uvedených genů. Vybrané vzorky jsou zařazeny k vyšetření metodikou sekvenování nové generace pomocí HaloPlex-u a následného potvrzení objevené mutace klasickým Sangerovým sekvenováním a dovyšetření segregace v rodině.

Výsledky: Prezentujeme výsledky vyšetření za pomoci metodiky HaloPlex, potvrdili jsme mutaci v genu *TRPV4* u pacientky, u které klinický i EMG nález svědčí pro distální hereditární motorickou neuropatii s časným nástupem v dětství a pozvolnou progresí. Elektrofyziologicky u ní nejsou příznaky senzitivní léze, což potvrzuje motorický typ neuropatie. U pacientky je výrazné zkrácení Achilových šlach, skolióza, dušnost. Na našem pracovišti u ní již byly v minulosti vyšetřeny geny asociované s CMT2 a dHMN: *HSP22*, *HSP27*, *SH3TC2*, *HINT*, vše bez nálezu kauzální mutace. Za současných možností sekvenování nové generace jsme u pacientky pomocí panelu genů spojovaných s dědičnou neuropatií a testovaných metodou HaloPlex (Agilent) našli mutaci *p.R186Q* (c.557 G>A) v genu *TRPV4* a tento nález následně potvrdili klasickým Sangerovým sekvenováním. Mutace se nachází v exonu 3, ve středně konzervované oblasti. Byla již popsána jako příčina dHMN u pacientů. Mutace byla detekována i u matky pacientky s neurologicky potvrzeným typem autozomálně dominantní neuropatie, také u postižené sestry-dvojčete. Jde zřejmě o první pacienty s potvrzenou mutací v genu *TRPV4* v ČR.

Závěr: Identifikace mutace *p.R186Q* v *TRPV4* genu pomocí sekvenování nové generace ukazuje na význam využití masívně paralelního sekvenování pro objasňování příčin dědičných neuropatií u pacientů se vzácnými typy CMT.

Podpora: Podpořeno grantem IGA MZ ČR NT 14348-3

POZNÁMKY

POZNÁMKY