

Vědecký program středa 28.3. 2012

10.30

ZAHÁJENÍ

Ondřej Hrušák, děkan 2. LF UK

Sekce 1 MOZEK & DEMENCE
Předsedající: O. Hrušák, P. Marusič

10.40–12.20

LZE PROGRESI DIABETICKÉ NEFROPATIE OPRAVDU JEN ZPOMALIT?

30'

Vladimír Tesař

Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN v Praze

1 LIPIDOMICKÁ ANALÝZA ERYTROCYTŮ U ALZHEIMEROVY CHOROBY: VÝZNAM PRO DIAGNOSTIKU

Klusáčková Z., Skoumalová A.

Ústav lékařské chemie a biochemie 2. LF UK Praha

Školitel: MUDr. Alice Skoumalová, Ph.D.

2 POSTIŽENÍ ČICHU U DEMENCÍ NON-ALZHEIMEROVSKÉ ETIOLOGIE

Magerová H.¹, Vyhnálek M.^{1,2}, Laczó J.^{1,2}, Anđel R.³, Kadlecová A.^{1,2},
Sheardová K.^{2,4}, Hort J.^{1,2}, Bojar M.¹

¹Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol, Praha, ²International Clinical Research Center, Brno, ³University of South Florida, School of Aging Studies, Tampa, FL, USA, ⁴1. neurologická klinika LF MU a FN U svatě Anny, Brno

Školitel: Doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

3 MÁ DEPRESE VLIV NA ROZEZNÁVÁNÍ EMOCÍ U PACIENTŮ S MCI?

Magerová H., Vyhnálek M., Hort J.

Neurologická klinika dospělých FN Motol a 2. LF, Praha

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

4 VLIV GRAVIDITY NA AKTIVITU ONEMOCNĚNÍ U PACIENTEK S RS

Hynčicová E.¹, Meluzínová E.¹, Binder T.², Hanulíková P.²

¹Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol, ²Gynekologicko-porodnická klinika UK 2. LF a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Eva Meluzínová

Literární show Jaroslava Rudiše
J. Rudiš

12.30–13.30

Sekce 2 NEURONY & POTKANI
Předsedající: M. Žaloudíková, L. Vargová

13.30–14.50

MATEŘSKÉ MLÉKO A NUTRIČNÍ PROGRAMOVÁNÍ

15'

Jiří Bronský

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

**5 PRENATÁLNÍ EXPOZICE ALKOHOLU VEDE K PORUŠE KLIDOVÉ
KORTIKÁLNÍ SYNCHRONIZACE**

Vydrová R.^{1,2}, Georgopoulos AP.^{2,3}, Lewis SM.^{2,4}, Leuthold AC.^{2,3}

¹Klinika dětské neurologie, FN Motol, Praha, ²Brain Sciences Center,
US Department of Veterans Affairs Medical Center, Minneapolis, USA,
³Department of Neuroscience, University of Minnesota Medical School,
Minneapolis, USA, ⁴Department of Neurology, University of Minnesota
Medical School, Minneapolis, USA

Školitel: Prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

**6 VYUŽITÍ BIOLOGICKÉ ZPĚTNÉ VAZBY U PACIENTŮ
S NESPECIFICKÝMI BOLESTMI BEDERNÍ PÁTEŘE**

Prokůpková E.¹, Kolář P.¹, Jeřábek J.², Funda T.³, Čákrť O.¹

¹Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství, ²Neurologická klinika
dospělých, ³České vysoké učení technické v Praze, Fakulta
biomedicínského inženýrství

Pregraduální student

Školitel: Mgr. Ondřej Čákrť

**7 VÝZNAM RHO KINÁZY V REGULACI HYPOXICKÉ PLICNÍ
VAZOKONSTRIKCE U PERINATÁLNĚ HYPOXICKÝCH POTKANŮ**

Šedivý V., Hniličková O., Smolková P.

Ústav fyziologie UK 2. LF

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

- 8 INHIBICE RHO-KINÁZY FASUDILEM OSLABUJE AKUTNÍ HYPOXICKOU FETOPLACENTÁRNÍ VAZOKONSTRIKCI U POTKANA**
Kafka P.^{1,2}, Vajnerová O.¹, Herget J.¹, Hampl V.¹

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

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

- 9 CALRETININ, PARVALBUMIN A CALBINDIN IMUNOPOSITIVNÍ INTERNEURONY V PERIRHINÁLNÍ MOZKOVÉ KŮŘE A V OBLASTI TE3V U POTKANA**

Barinka F.^{1,2}, Salaj M.¹, Rybář J.^{1,3}, Krajčovičová E.⁴, Kubová H.⁴, Druga R.^{1,4,5}

¹Anatomický Ústav 2. LF UK v Praze, ²Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universität Regensburg, ³Klinika dětské neurologie 2. LF UK v Praze,

⁴Fyziologický Ústav AV ČR, ⁵Anatomický Ústav 1. LF UK v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.

Sekce 3 ONKOLOGIE SOLIDNÍ & TEKUTÁ

15.00–16.30

Předsedající: J. Zuna, R. Špíšek

SOUČASNÝ POHLED NA VÝVOJ LYMFOCYTŮ:

15'

JAK TĚŽKÉ JE ZMĚNIT OSUD BUŇKY

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

- 10 HIRSCHSPRUNGOVA CHOROBA A MEDULÁRNÍ KARCINOM ŠTÍTNÉ ŽLÁZY – MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA RET PROTO-ONKOGENU**

Kavalcová L.¹, Škába R.¹, Václavíková E.², Rousková B.¹, Dvořáková Š.², Mačoková P.³, Bendlová B.²

¹Klinika dětské chirurgie FNM, ²Endokrinologický ústav Praha,

³Patologický ústav FNM

Školitel: Prof. MUDr. Richard Škába, CSc.

**11 XENOTRANSPLANTAČNÍ MODEL A EPIGENETICKÉ POZADÍ
TRANSDIFERENCIACE B PREKURZOROVÝCH LEUKEMICKÝCH
BLASTŮ DO MONOCYTOIDNÍ LINIE**

Slámová L.^{1,3}, Starková J.¹, Bornhauser B. C.³, Froňková E.¹,
Řezníčková L.¹, Zuna J.¹, Fišer K.¹, Trka J.¹, Starý J.², Hrušák O.¹,
Bourquin J.-P.³, Mejstříková E.¹

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

²Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FNM,

³University Children's hospital Zurich, division of Pediatric Oncology, CH

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

**12 EFFECT OF HISTONE DEACETYLASE INHIBITOR VALPROATE ON
EXPRESSION OF CD133 IN NEUROBLASTOMA CELL LINE**

Khalil M. A, Hraběta J, Cipro Š, Vicha A, Eckschlager T
Department of Pediatric Haematology and Oncology, 2nd Faculty of
Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic
Supervisor: Prof. Tomáš Eckschlager

**13 ZASTOUPENÍ T LYMFOCYTŮ V KOSTNÍ DŘENI U PACIENTŮ
S APLASTICKOU ANÉMIÍ A REFRAKTERNÍ CYTOPENIÍ**

Reiterová, M.¹, Kalina, T.¹, Suková, M.², Campr, V.³, Thürner, D.¹,
Hrdličková, A.¹, Król, L.², Švec, P.⁶, Zemanová, Z.⁴, Zapletal, O.⁵, Trka, J.^{1,2},
Starý, J.², Hrušák, O.^{1,2}, Mejstříková, E.^{1,2}

¹CLIP-Childhood Leukemia Investigation Prague, Praha, ²Klinika dětské
hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha, ³Ústav patologie
a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol, Praha, ⁴Ústav lékařské
biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice
a 1. LF UK v Praze, ⁵Oddělení dětské hematologie, Fakultní nemocnice
Brno, ⁶Klinika dětské hematologie a onkologie DFNSP, Bratislava
Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

ONKOLOGICKÁ LÉČBA BĚHEM TĚHOTENSTVÍ

15'

Michael Halaška

Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol

Vědecký program čtvrtek 29.3. 2012

Sekce 4 DIABETES & OKO
Předsedající: J. Trka, Z. Šumník

10.30–12.00

REFORMA ZDRAVOTNICTVÍ A JEHO FINANCOVÁNÍ

30'

Pavel Vepřek, Poradce ministra zdravotnictví,
předseda občanského sdružení Občan

**14 POROVNÁNÍ TLOUŠŤKY VRSTVY NERVOVÝCH VLÁKEN SÍTNICE
U DĚTÍ S PROKÁZANÝM GLAUKOMEM A U ZDRAVÝCH DĚTÍ ZA
POUŽITÍ SKENOVACÍ LASEROVÉ POLARIMETRIE**

Hložánek M., Filouš A., Ošmera J.

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

Školitel: Doc. MUDr. Aleš Filouš, CSc.

**15 ZMĚNY HODNOT GLYKOVANÉHO HEMOGLOBINU (HBA1C) PO
UKONČENÍ TERAPIE INZULÍNOVOU PUMPOU U ADOLESCENTŮ
S DIABETEM 1. TYPU**

Volná K.¹, Koloušková S.¹, Štechová K.¹, Hlávka Z.², Cínek O.¹, Lebl J.¹,
Šumník Z.¹

¹Pediatrická klinika UK 2. LF a FN Motol,

²Matematicko-fyzikální fakulta UK

Pregraduální student

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

**16 PREVALENCE, DYNAMIKA HLADIN PO MANIFESTACI DIABETU
A VÝZNAM VYŠETŘENÍ AUTOPROTILÁTEK PROTI NOVÉMU
AUTOANTIGENU ZNT8 V ČESKÉ DĚTSKÉ DIABETICKÉ POPULACI**

Petruželková L., Včeláková J., Štechová K., Lebl J., Dušátková P., Šumník Z.,
Koloušková S.

Pediatrická klinika FNM,

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

EXISTUJE DIABETOGENNÍ VIRUS?

15'

Ondřej Cínek

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

POSTEROVÁ SEKCE 1 (P. Hubáček, J. Hort)

12.00–13.30

Postery – příspěvky č. P01–P11

POSTEROVÁ SEKCE 2 (M. Kalinová, V. Havlas)

Postery – příspěvky č. P12–P23

POSTEROVÁ SEKCE 3 (J. Uhlík, M. Rygl)

Postery – příspěvky č. P24–P34

Sekce 5 LEDVINY & SRDCE

13.30–14.30

Předsedající: J. Zámečník, T. Seeman

**IMUNOTERAPIE NÁDORU: MŮŽE STIMULACE
PROTINÁDOROVÉ IMUNITNÍ REAKCE POMOCI V LÉČBĚ
NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ?
Radek Špišpek, Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol**

15^t

**17 ADRENOMEDULIN VE VZTAHU MEZI DIASTOLICKOU FUNKCÍ
LEVÉ KOMORY SRDEČNÍ A GLOMERULÁRNÍ FILTRACÍ
U ASYMPTOMATICKÝCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 2. TYPU**

Pecková M.¹, Charvát J.¹, Schüick O.¹, Šváb P.², Hill M.³, Horáčková M.¹

¹Interní klinika 2. LF UK a FN Motol Praha, ²Kardiologická klinika 2. LF UK a FN Motol Praha, ³Endokrinologický ústav Praha

Školitel: Doc. MUDr. Horáčková Miroslava, CSc.

**18 ABERANTNÍ O-GLYKOSYLACE PANTOVÉ OBLASTI („HINGE
REGION“) TĚŽKÉHO ŘETĚZCE SÉROVÉHO IGA1 NENÍ
SPECIFICKÝM NÁLEZEM U PACIENTŮ S IGA NEFROPATII**

Štekláčová A.¹, Matoušovic K.²

¹Univerzita Karlova v Praze, 2. LF, ²Interní klinika, UK 2. LF

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.

19 REGRESIVNÍ ZMĚNY PARENCHYMU LEDVINY PŘÍTOMNÉ JIŽ V DÁRCI NEPŘÍZNIVĚ OVLIVŇUJÍ ÚROVEŇ GLOMERULÁRNÍ FILTRACE PO TRANSPLANTACI

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

¹Transplantační centrum FN Motol, ²Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol, ³Pediatrická klinika UK 2. LF a FN Motol, ⁴Kardiochirurgická klinika UK 2. LF a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.

Sekce 6 GENOM & BAKTERIE

14.40–16.00

Předsedající: P. Dřevínek, Š. Průhová

IMUNODEFICIENCE PO TRANSPLANTACI KMENOVÝCH BUNĚK KRVĚTVORBY

15'

Tomáš Kalina

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

20 ANALÝZA VARIÁCIÍ POČTU KÓPIÍ (CNV) V GENÓMOCH PACIENTOV S MENTÁLNÍ RETARDÁCIÍ A NORMÁLNÝM KARYOTYPOM

Hančárová M., Vlčková M., Drábová J., Zmítková Z., Havlovicová M., Sedláček Z.

Ústav biologie a lékařské genetiky

Školitel: Prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

21 STABILITA TRANSKRIPČNÍ BUBLINY A JEJÍ ROLE V GENOVÉ EXPRESI

Maderová Z., Sojka L., Krásný L.

Laboratoř molekulární genetiky bakterií MBÚ AV ČR vvi, Praha 4, Vídeňská 1083

Školitel: Libor Krásný

22 KONEC DLOUHOTRAVJÍCÍ EPIDEMIE V CENTRU CYSTICKÉ FIBRÓZY V PRAZE MOTOLE

Dědečková K.¹, Fila L.², Skalická V.¹, Bartošová J.¹, Kučerová T.¹, Vávrová V.¹, Zemková D.¹, Kalferstová L.¹, Melter O.³, Cinek O.¹, Dřevínek P.^{1,3}

¹Pediatrická klinika 2. LF Praha, ²Pneumologická klinika 2. LF Praha,

³Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF Praha

Školitel: MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.

23 ALTERATION OF THE MOLECULAR CIRCADIAN CLOCK IN CHILDREN WITH SMITH-MAGENIS SYNDROME

Nováková M.^{1,2}, Nevšímalová S.³, Příhodová I.³, Sládek M.¹, Sumová A.¹

¹Institute of Physiology, v.v.i., Academy of Science of the Czech Republic,

²2nd Faculty of Medicine, Charles University, ³Department of Neurology,

^{1st} Faculty of Medicine and General Teaching Hospital

Supervisor: PharmDr. Alena Sumová, DrSc.

**VŠE, CO JSTE CHTĚLI VĚDĚT O FARMACEUTICKÉM
PRŮMYSLU A BÁLI JSTE SE ZEPTAT**

15^t

J. Dvořáček, P. Kastner

Asociace inovativního farmaceutického průmyslu

ABSTRAKTA

PŘEDNÁŠKY

01. LIPIDOMICKÁ ANALÝZA ERYTHROCYTŮ U ALZHEIMEROVY CHOROBY: VÝZNAM PRO DIAGNOSTIKU

Klusáčková Z., Skoumalová A.

Ústav lékařské chemie a biochemie 2. LF UK Praha

Školitel: MUDr. Alice Skoumalová, Ph.D.

Úvod: Alzheimerova choroba (ACH) představuje závažné neurodegenerativní onemocnění mozku, pro jejíž léčbu je důležitá včasná diagnóza. Jelikož se symptomy ACH překrývají s jinými chorobami a s projevy normálního stárnutí, je kladen důraz na hledání specifického biomarkeru. Patogeneze ACH je doprovázena oxidačním stresem a změnami v zastoupení polynenasycených mastných kyselin (PUFA) v mozku. Produkty lipidové peroxidace mohou z mozku difundovat do krve, kde se mohou navázat na erythrocyty, reagovat s proteiny a lipidy v jejich membránách a specificky je modifikovat.

Cíl: Naším cílem bylo analyzovat lipidové složení membrán erythrocytů pacientů s ACH a hledat specifické změny související s ACH, které by mohly být využity k diagnostice.

Materiál a metody: Izolované membrány erythrocytů pacientů s ACH (n=15) a kontrol (n=10) byly podrobeny analýzám lipidového složení. Pomocí plynové chromatografie bylo stanoveno zastoupení jednotlivých PUFA ve skupině pacientů a kontrol. Membrány erythrocytů byly následně vystaveny peroxidačnímu poškození in vitro a byly sledovány změny v lipidovém složení a také tvorbě fluorescenčních produktů peroxidace lipidů. Fluorescenční produkty byly analyzovány pomocí fluorescenční spektrofotometrie.

Výsledky: Naše výsledky ukazují, že erythrocyty pacientů s ACH jsou více náchylné k oxidačnímu poškození a v průběhu in vitro peroxidace kumulují signifikantně zvýšené množství peroxidačních produktů. Vznikající nové fluorofory jsou specifické pro ACH a liší se ve složení od kontrol. Dále výsledky analýz lipidového složení ukázaly, že zastoupení některých PUFA se liší u ACH v porovnání s kontrolami.

Závěr: Erythrocyty pacientů s ACH jsou více náchylné k peroxidačnímu poškození v důsledku oxidačního stresu doprovázejícího tuto chorobu. Specifické lipidové změny v erythrocytech mají potenciální význam jako biochemické markery pro ACH.

Podpora projektu: GAČR 220 032

02. POSTIŽENÍ ČICHU U DEMENCÍ NON-ALZHEIMEROVSKÉ ETIOLOGIE

Magerová H.¹, Vyhnálek M.^{1,2}, Laczó J.^{1,2}, Andel R.³, Kadlecová A.^{1,2}, Sheardová K.^{2,4}, Hort J.^{1,2}, Bojar M.¹

¹Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol, Praha; ²International Clinical Research Center, Brno; ³University of South Florida, School of Aging Studies, Tampa, FL, USA;

⁴1. neurologická klinika LF MU a FN U svaté Anny, Brno

Školitel: Doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Úvod: Postižení čichu je podrobně popsáno u Alzheimerovy choroby (ACH), kde představuje jeden z nejčasnějších symptomů nemoci. Naopak jen velmi málo informací je známo o čichových funkcích u vzácnějších neurodegenerativních onemocnění spojených s demencí – například u frontotemporální lobární degenerace (FTLD). Demence je předcházena stádiem mírné kognitivní poruchy (MCI), která se dělí na amnestickou formu (představující pravděpodobně prodromálním stádiem ACH) a neamnestickou formu, která progreduje spíše do demencí non-alzheimerovské etiologie.

Cíl: Cílem této studie bylo zjistit míru postižení čichové identifikace u demencí z okruhu frontotemporální lobární degenerace (FTLD) a u naMCI.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 25 pacientů s FTLD, 24 pacientů s naMCI a 15 zdravých věkově vázaných kontrol. Skupina FTLD byla dále subklasifikována dle jejích subtypů: behaviorální varianta FTLD (FTD-bv, n=7), sémantická demence (SD, n=4), primární non-fluentní afázie (PNFA, n=4), progresivní supranukleární obrna (PSP, n=8) a kortikobazální degenerace (CBD, n=2). Čichová identifikace byla vyšetřena pomocí testu vyvinutého na naší klinice – Motol Hospital Smell Test (MHST).

Výsledky: Čichová identifikace byla postižena u pacientů s FTLD-bv ($p=.004$) a PSP ($p=.007$) v porovnání s kontrolní skupinou. Výsledky ve skupině SD a naMCI se blížily statistické významnosti ($p=.02$, respektive $p=.016$). Skupina PNFA se nelišila od kontrolní skupiny ($p=.062$). Skupina CBD vzhledem k vzácnosti diagnózy a malému počtu pacientů nebyla statisticky hodnotitelná.

Závěr: Naše data ukazují, že čichová identifikace je postižena i u dalších demencí neurodegenerativní etiologie. Hraniční výsledky ve skupině naMCI pravděpodobně odrážejí její heterogenitu a naznačují, že čich je u FTLD postižen v pozdějších stádiích nemoci než je tomu u ACH.

Podpora projektu: Podpořeno granty GAUK 74308, GAUK 98509, GAČR 309/09/1053, IGA NT11225-4

03. MÁ DEPRESE VLIV NA ROZEZNÁVÁNÍ EMOCÍ U PACIENTŮ S MCI?

Magerová H., Vyhnálek M., Hort J.

Neurologická klinika dospělých FN Motol a 2. LF, Praha

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

Úvod: V řadě studií byl popsán častý výskyt poruch chování u pacientů s rozvinutou Alzheimerovou chorobou (ACH) ve fázi demence, ale i u pacientů s mírnou kognitivní poruchou (MCI). Nejčastěji pozorovaná neuropsychiatrická porucha u pacientů s MCI je deprese a její přítomnost zvyšuje riziko konverze z MCI do AD až dvakrát. Byly rozeznány dva systémy důležité pro vznik neuropsychiatrických poruch. Jedná se o limbický a fronto-subkortikální okruh. Struktury těchto okruhů se rovněž podílí na zpracování emocí.

Cíl: Cílem studie bylo zjistit vztah mezi poškozením rozeznávání emocí z výrazu tváře a depresivitou u pacientů s MCI.

Materiál a metody: V studii bylo vyšetřeno 34 MCI pacientů a 23 věkem odpovídajících kontrol. Subjekty byly vyšetřeny standardní neuropsychologickou baterií (vyšetřující paměť, exekutivní, visospaciální a jazykové funkce). Dále byli všichni vyšetřeni Facial Emotion Recognition Testem k rozeznání emoční agnózie (bylo testováno rozeznávání šesti základních emocí, a to hněv, radost, znechucení, překvapení, strach a smutek) a geriatrickou škálou deprese.

Výsledek: Pacienti s MCI hůře rozeznávali emoce z výrazu tváře než kontrolní skupina ($p < 0,05$), a zároveň tato skupina byla signifikantně depresivnější než kontroly ($p < 0,05$). Avšak mezi výsledkem v rozeznávání emocí jako celku a depresivitou nebyla nalezena korelace ($p = 0,28$, $r = 0,15$). Při rozboru jednotlivých emocí deprese negativně korelovala s rozeznáváním radosti. ($p < 0,05$, $r = -0,322$).

Závěr: MCI pacienti jsou depresivnější než kontrolní skupina a mají poškozené rozeznávání z výrazu tváře avšak toto postižení s mírou depresivity nesouvisí. Jedná se nejspíše o dva různé prediktory konverze do ACH a o nezávislé procesy.

Podpora projektu: grant GAUK 200 106

04. VLIV GRAVIDITY NA AKTIVITU ONEMOCNĚNÍ U PACIENTEK S RS

Hynčicová E.¹, Meluzínová E.¹, Binder T.², Hanulíková P.²

¹Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol; ²Gynekologicko-porodnická klinika UK 2. LF a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Eva Meluzínová

Úvod: Roztroušená skleróza (RS) postihuje ve větší míře ženy, většinou v reprodukčním věku. Zatímco dříve bylo těhotenství pacientkám zakazováno a považováno za zdravotní riziko, podle výsledků provedených studií posledních let nepředstavuje gravidita negativní vliv na průběh onemocnění. Základními předpoklady pro úspěšný průběh je klinicky stabilizovaná nemocná v posledním roce před otěhotněním. Období gravidity, zejména 2. a 3. trimestr, vede většinou ke stabilizaci vlivem protizánětlivého působení vysoké hladiny estriolu. Rizikem může být období peripartální a následujících 6 měsíců po porodu. Důvodem jsou hormonální výkyvy se snížením produkce estrogenu; názory na vliv zvýšené hladiny prolaktinu a tím na vliv laktace se rozcházejí.

Cíl: Cílem studie bylo sledovat aktivitu choroby během gravidity a rok po jejím ukončení a porovnat ji s aktivitou onemocnění rok před otěhotněním.

Materiál a metody: Soubor tvoří 65 patientek. Průměrný věk v době porodu je 30,5 roku, průměrná doba trvání choroby do otěhotnění je 5,5 roku. 58 (92 %) patientek porodilo v termínu, u 5 (8 %) došlo k předčasnému porodu. Plně kojilo 56 (86 %) žen po dobu 4,6 měsíců.

Ženy byly sledovány nejméně po dobu jednoho roku po porodu. Aktivita onemocnění rok před otěhotněním, během gravidity a první rok po porodu byla hodnocena pomocí počtu relapsů za rok, vývojem skóre Expanded Disability Status Scale (EDSS) a dynamikou změn na MRI mozku.

Výsledky: V posledním roce před graviditou bylo 64 (98,5 %) žen bez relapsu, 1 (1,5 %) pacientka měla jeden relaps. V době gravidity jsme relaps zaznamenali u 3 (4,6 %) patientek. V prvním roce po porodu se relaps nevyskytl u 31 (54 %) nemocných, u 26 (46 %) patientek jsme zaznamenali jeden a více relapsů. Z toho 15 (56 %) patientek prodělalo relaps v 6 měsících po porodu, 12 (44 %) nemocných prodělalo relaps až po 6 měsících od porodu. Kontrolní MRI byla u 23 (38 %) nemocných bez progresu, u 33 (55 %) nemocných byla prokázána progresu a u 4 (7 %) došlo k regresi onemocnění. EDSS zůstalo beze změny u 53 (84 %), ke zhoršení došlo u 10 (16 %) nemocných – maximálně o 3 stupně škály EDSS.

Závěr: Srovnáním aktivity choroby pomocí MRI a počtu relapsů rok před otěhotněním a rok po porodu je evidentní, že došlo ke zhoršení průběhu choroby po porodu. Podle hodnocení škály EDSS se ale nejednalo o takovou progresi onemocnění, která by vedla k nárůstu invalidizace patientek.

05. PRENATÁLNÍ EXPOZICE ALKOHOLU VEDE K PORUŠE KLIDOVÉ KORTIKÁLNÍ SYNCHRONIZACE

Vydrová R.^{1,2}, Georgopoulos AP.^{2,3}, Lewis SM.^{2,4}, Leuthold AC.^{2,3}

¹Klinika dětské neurologie, FN Motol, Praha; ²Brain Sciences Center, US Department of Veterans Affairs Medical Center, Minneapolis, USA; ³Department of Neuroscience, University of Minnesota Medical School, Minneapolis, USA; ⁴Department of Neurology, University of Minnesota Medical School, Minneapolis, USA

Školitel: Prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Úvod: Prenatální expozice alkoholu u plodů matek s abusem alkoholu během těhotenství vede k celoživotním následkům označovaným jako spektrum poruch fetálního alkoholového syndromu (FASD). FASD zahrnuje fetální alkoholový syndrom (fetal alcohol syndrome, FAS) s charakteristickou kraniofaciální malformací, poruchou růstu a poškozením CNS; částečný FAS (partial FAS, pFAS), kdy příznaky typické pro FAS nejsou zcela vyjádřeny; a neurovývojovou poruchu zapříčiněnou alkoholem (alcohol related neurodevelopmental disorder, ARND), která zahrnuje osoby s poškozením CNS bez kraniofaciální dysmorfie. Patofyziologické podklady neurobehaviorálních poruch u osob s FASD nebyly dosud objasněny. Neurovizuální studie identifikovaly různorodé strukturní a funkční poruchy CNS, jejich interpretace však nejsou jednoznačné.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnotit klidový funkční stav CNS u osob s FASD pomocí analýzy magnetoencefalografického (MEG) záznamu mozkové aktivity.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto celkem 37 osob s FASD (23 mužů, 14 žen, věkové rozmezí: 9–34 let). Byly rozděleny do 2 skupin dle diagnostické kategorie: FAS (n=5), ARND (n=32). Kontrolní skupinu tvořily zdravé osoby v odpovídajícím věkovém rozmezí (n=101). MEG záznam z 248 senzorů byl proveden během klidového stavu a trval 60 s. Analýza MEG signálu byla provedena pomocí testu synchronních neuronálních interakcí (SNI) zkoumajícího interakce mezi kortikálními neuronovými populacemi.

Výsledky: Analýza kovariance (kovariáty: věk, pohlaví) prokázala odlišnost klidového stavu mozkové aktivity u osob s FASD ve srovnání s kontrolní populací ($p < 0,01$). Sensory s významným efektem abnormálních neuronových interakcí byly lokalizovány v oblasti parietálního kortexu. Vzorec abnormálních SNI byl odlišný u osob s FAS a u ARND.

Závěr: Prokázali jsme poruchu komunikace kortikálních neuronových okruhů u osob FASD během klidového stavu. Postižení parietálního kortexu je ve shodě s nálezy předchozích neurovizuálních i behaviorálních studií účinků prenatální expozice alkoholu. V rámci výzkumu FASD nebyla dosud publikována žádná MEG studie, přestože tato metoda díky výbornému časovému rozlišení signálu, který není ovlivněn prostupem tkání kryjících mozek, poskytuje komplementární informace ke standardním neurovizuacím metodám, jako jsou funkční magnetická rezonance a elektroencefalografie.

06. VYUŽITÍ BIOLOGICKÉ ZPĚTNÉ VAZBY U PACIENTŮ S NESPECIFICKÝMI BOLESTMI BEDERNÍ PÁTEŘE

Prokúpková E.¹, Kolář P.¹, Jeřábek J.², Funda T.³, Čákr O.¹

¹Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství; ²Neurologická klinika dospělých;

³České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství

Pregraduální student

Školitel: Mgr. Ondřej Čákr

Úvod: Práce se zabývá problematikou rehabilitace pacientů s nespecifickými bolestmi bederní páteře. Výsledky studií provedených u pacientů s bolestmi bederní páteře ukazují, že pacienti mají horší stabilitu stoje proti zdravým jedincům.

Předpokládáme, že zlepšení stability stoje se u pacientů projeví snížením bolesti zad. Využití biologické zpětné vazby (VZV) při nácviku stability stoje představuje jednu z moderních možností tréninku stability a umožňuje pacientům naučit se ovládat polohu těžiště těla co nejefektivněji a tím snížit svalové úsilí i při běžných denních činnostech.

Cíl: Cílem práce bylo zjistit, zda cvičení stability stoje s biologickou zpětnou vazbou vede ke snížení bolesti zad u pacientů a porovnat toto zlepšení se skupinou pacientů léčenou pomocí standardní rehabilitace.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto 19 pacientů (věk 43 ± 14 , průměr $\pm$ SD), kteří absolvovali trénink s VZV. Kontrolní skupinu tvořilo 19 pacientů (věk 48 ± 13 , průměr $\pm$ SD). Pro sledování efektu terapie jsme použili krátkou formu dotazníku McGillovy univerzity doplněnou o sledování celkového životního pocitu, intenzity, nepříjemnosti a trvání bolesti pomocí vizuální analogové škály.

Testovaná skupina absolvovala 10 terapií s využitím VZV na komerční platformě Wii Fit Plus (Nintendo, Japonsko). Obsahem každé z 8 terapií (délka trvání jedné terapie byla 30 min) bylo 18 nácviků na posturografické desce. Úvodní a poslední terapie obsahovaly pouze 2 nácviky. Kontrolní skupina měla běžnou terapii ve shodné intenzitě jako skupina s VZV.

Výsledky: Pro statistické porovnání obou skupin jsme použili Mann – Whitneův test. Výsledky prokazují statisticky významné zlepšení ($p < 0,05$) u skupiny pacientů s VZV oproti kontrolní skupině v parametrech intenzita bolesti ($p = 0,0084$) a nepříjemnost bolesti ($p = 0,0344$). Pro parametry celkový životní pocit ($p = 0,1038$) a trvání bolesti ($p = 0,2981$) není rozdíl mezi porovnávanými skupinami statisticky významný. Pro krátkou formu dotazníku McGillovy univerzity platí, že relativní zlepšení testované skupiny je 38%, referenční 42%. Výroková jistota R^2 je 90% u testované, R^2 kontrolní skupiny je 79%. Výsledky obou skupin lze považovat za srovnatelné.

Závěr: Z výše uvedených výsledků vyplývá, že využití VZV je pro terapii nespecifických bolestí bederní páteře vhodnou terapeutickou metodou (intervencí) a přináší pozitivní výsledky v podobě snížení intenzity bolest, výsledky v podobě úlevy od bolesti, které jsou lepší nebo srovnatelné v porovnání se standardně poskytovanou standardní rehabilitací.

07. VÝZNAM RHO KINÁZY V REGULACI HYPOXICKÉ PLICNÍ VAZOKONSTRIKCE U PERINATÁLNĚ HYPOXICKÝCH POTKANŮ

Šedivý V., Hniličková O., Smolková P.
Ústav fyziologie UK 2. LF

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Úvod: Hypoxický stres v období kolem porodu je spojen se zvýšenou náchylností k řadě chorob v dospělosti. Perinatální hypoxie způsobuje ireversibilní změny plicního cévního řečiště. Dospělí potkani narození v hypoxii mají zvýšenou hypoxickou plicní vazokonstrikci (HPV) v období zotavení z chronické hypoxie. Odpor zvyšujícímu se průtoku je naopak u perinatálně hypoxických potkanů nižší, ale akutní hypoxie zvyšuje nejen kritický uzavírací tlak jako u kontrol, ale i cévní odpor. Mechanismus těchto změn není jasný. Hladké svalové buňky plicních cév reagují na akutní hypoxii zvýšením $[Ca^{2+}]_i$ (první fáze) a zvýšením citlivosti kontraktálního aparátu k Ca^{2+} cestou Rho kinázy (ROK, druhá fáze).

Cíl: Cílem experimentu bylo objasnit, zda odlišná reaktivita plicních cév na akutní hypoxii u perinatálně hypoxických potkanů je způsobena změněnou aktivitou ROK.

Materiál a metody: Laboratorní potkani kmene Wistar byli rozděleni do 2 skupin. Pokusná skupina (perinatální hypoxie, PH, 8 samců a 8 samic) byla vystavena jeden týden před a jeden týden po narození hypoxii v normobarické hypoxické komoře při FiO_2 0,12. Dále byla stejně jako kontrolní normoxická skupina (N, 8 samců a 8 samic) chována na vzduchu až do stáří 20 týdnů, kdy bylo prováděno měření. Izolované plíce byly perfundovány solným roztokem s albuminem (4%), L-NAME /nitro-L-arginin-metyl-ester/ (50 μ M) a meklofenamátem (17 μ M). Po 2 úvodních cyklech angiotensin II - hypoxie jsem měřili závislost perfúzního tlaku na kontinuálně zvyšujícím se průtoku (P/Q křivka). Závislost P/Q jsme měřili při ventilaci normoxickou a hypoxickou (0% O_2) směsí před a po podání fasudilu (inhibitor ROK, 10 μ M).

Výsledky: Závislost P/Q byla lineární (průměr $R^2=0,95$). Při ventilaci normoxií se sklon P/Q přímky ani průsečík s tlakovou osou u obou pohlaví mezi PH a N nelišil. Při akutní hypoxii (HPV) se sklon P/Q přímky nelišil, ale průsečík s tlakovou osou byl vyšší u PH samců, u samic se nelišil (PH vs N). Fasudil nezabránil zvýšení průsečíku s tlakovou osou u PH samců při akutní hypoxii.

Závěr: Perinatální hypoxie neovlivňuje odpor zvyšujícímu se průtoku ani kritický uzavírací tlak plicního řečiště v normoxických podmínkách. Při akutní hypoxii perinatální hypoxie zvyšuje kritický uzavírací tlak u samců, nioliv u samic. Zvýšená HPV u perinatálně hypoxických samců není způsobena zvýšenou citlivostí kontraktálního aparátu k Ca^{2+} .

Podpora projektu: Podpořeno grantem GAČR 305/08/0108.

08. INHIBICE RHO-KINÁZY FASUDILEM OSLABUJE AKUTNÍ HYPOXICKOU FETOPLACENTÁRNÍ VAZOKONSTRIKCI U POTKANA

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

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

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

Úvod: Signální dráha Rho-kináza hraje důležitou roli v regulaci senzitivity cévního hladkého svalu k intracelulárním iontům Ca^{2+} . Cestou inhibice myosinové fosfatázy zvyšuje fosforylaci lehkých řetězců myosinu a působí vazokonstrikci. Akutní hypoxie způsobuje hypoxickou fetoplacentární vazokonstrikci (HFPV). Domníváme se, že se aktivace Rho-kinázové dráhy ve fetoplacentárních cévách podílí na změně periferního odporu při HFPV. Rho-kinázová dráha byla inhibována fasudilem.

Cíl: Cílem pokusu je zjistit vliv podání inhibitoru Rho-kinázového mechanismu na reaktivitu fetoplacentárních cév při normoxii a akutní hypoxii.

Materiál a metody: Použili jsme model izolované, dvojité perfundované placenty laboratorního potkana. Perfundovali jsme mateřskou a fetální část placenty Krebsovým roztokem za konstantního průtoku, perfuzát byl probubláván normoxickou směsí plynů. Byl měřen fetoplacentární perfuzní tlak a fetoplacentární cévní rezistence jako závislost cévního perfuzního tlaku na kontinuálně se zvyšujícím průtoku (P/Q).

Byly použity 2 skupiny potkanů: normoxická kontrolní skupina N (n = 11) a normoxická skupina s fasudilem NF (n = 11). U skupiny NF byl do perfuzátu na začátku perfuze přidán fasudil (10 μM).

Výsledky: Fasudil způsobil statisticky signifikantní pokles fetoplacentárního perfuzního tlaku při normoxii (z 38 ± 3 mmHg na 31 ± 3 mmHg, $P < 0,01$). Po podání fasudilu došlo ke kompletnímu zablokování vazokonstrikční odpovědi na hypoxický podnět (perfuzní tlak 31 mmHg před hypoxií vs. 31 mmHg při hypoxii). Při akutní hypoxii byla závislost P/Q u NF skupiny signifikantně snížena směrem k nižším tlakům ve srovnání s kontrolní skupinou N.

Závěr: Prokázali jsme roli signální dráhy Rho-kinázy v mechanismu HFPV. Inhibice Rho-kináz způsobila signifikantní pokles bazálního tonu fetoplacentárních cév. Fasudil inhibuje akutní hypoxickou fetoplacentární vazokonstrikci u laboratorního potkana.

Podpora projektu: Studie byla podpořena grantem GAČR 305/08/0108.

09. CALRETININ, PARVALBUMIN A CALBINDIN IMUNOPOSITIVNÍ INTERNEURONY V PERIRHINÁLNÍ MOZKOVÉ KŮŘE A V OBLASTI TE3V U POTKANA

Barinka F.^{1,2}, Salaj M.¹, Rybář J.^{1,3}, Krajčovičová E.⁴, Kubová H.⁴, Druga R.^{1,4,5}

¹Anatomický Ústav 2. LF UK v Praze; ²Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universität Regensburg; ³Klinika dětské neurologie 2. LF UK v Praze; ⁴Fyziologický Ústav AV ČR;

⁵Anatomický Ústav 1. LF UK v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.

Úvod: Perirhinální kortex (PRC) pozůstávající z korových oblastí 35 a 36 představuje důležitý spojovací uzel pro přenos impulzů mezi neokortexem a hipokampální formací. V PRC byl popsán masivní inhibiční mechanismus, schopný selektivně zabránit přenosu impulzů mezi neokortexem a hipokampální formací. Morfologický substrát tohoto systému není znám, je ale možné předpokládat podíl inhibičních interneuronů. Zatímco populace inhibičních interneuronů v hipokampálním komplexu i v mnoha neokortikálních polích byly detailně prostudovány, popis interneuronů v PRC nebyl zatím předložen.

Cíl: Cílem práce bylo popsat populace inhibičních interneuronů v PRC. Jako markery jednotlivých subpopulací byly použity calretinin(CR), parvalbumin(PV) a calbindin(CB). Testovaná hypotéza zněla: Mimořádně mohutný inhibiční systém v PRC je primárně vlastností intrinsických inhibičních interneuronů, co by se mělo projevit specifickou skladbou, kvantitou a morfologií těchto neuronů, odlišnou od jiných korových areí.

Materiál a metody: Použito bylo 8 potkanů Wistar. Mozky byly nařezány na 50 µm tlusté koronární řezy, tyto byly imunohistochemicky obarveny a.) Nisslovým barvením, pomocí monoklonálních protilátek proti b.) CR, c.) PV a d.) CB. Na těchto řezech byly kvantitativně a kvalitativně hodnoceny interneuronální populace. Na Nissl-barvených řezech byla stereologicky změřena celková hustota neuronů ve zkoumaných oblastech. Densitometricky byla hodnocena optická densita neuropilu u CR, PV a CB materiálu. Kvantitativní hodnoty změřeny v jednotlivých oblastech byly porovnány za použití statistiky.

Výsledek: Morfologie CR+, PV+ a CB+ interneuronů v PRC se zásadně nelišila od sousední neokortikální oblasti Te3V. Optická densita neuropilu byla u CR+ materiálu v PRC signifikantně vyšší než u areí Te3V, u PV+ řezů tendenčně nižší než v areí Te3V, na CB+ řezech nebyly pozorovány významnější rozdíly. Densita CR+ neuronů v areí 35 (3194 neu/mm³) byla signifikantně vyšší než v Te3V (1512 neu/mm³), densita PV+ neuronů naopak nesignifikantně nižší (3805 proti 3951 neu/mm³). Celková neuronální hustota v areí 35 (50365 neu/mm³) byla signifikantně vyšší než v Te3V (42565 neu/mm³).

Závěr: Interneuronální populace v PRC se svojí skladbou s atypicky vysokým podílem CR+ interneuronů významně liší od neokortikální oblasti Te3V. Bohaté zastoupení CR+ interneuronů v PRC by mohlo být základem pro fungování masivního inhibičního systému. Získané poznatky mají význam pro pochopení šíření epileptické aktivity u temporální epilepsie.

10. HIRSCHSPRUNGOVA CHOROBA A MEDULÁRNÍ KARCINOM ŠTÍTNÉ ŽLÁZY – – MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA RET PROTO-ONKOGENU

Kavalcová L.¹, Škába R.¹, Václavíková E.², Rousková B.¹, Dvořáková Š.², Mačoková P.³, Bendlová B.²

¹Klinika dětské chirurgie FNM; ²Endokrinologický ústav Praha; ³Patologický ústav FNM

Školitel: Prof. MUDr. Richard Škába, CSc.

Úvod: Hlavní genetickou příčinou Hirschsprungovy choroby (HD) jsou inaktivující zárodečné mutace RET proto-onkogenu. U některých pacientů může být HD sdružena s výskytem medulárního karcinomu štítné žlázy (MTC). MTC bývá způsoben zárodečnou aktivující mutací v jednom ze šesti rizikových exonů RET proto-onkogenu. Pacienti s HD a MTC často mívají mutaci v exonu 10 (kodon 609, 611, 618, 620).

Cíl: Detekce zárodečným mutací RET proto-onkogenu a stanovení rizika vzniku MTC u pacientů s HD.

Materiál a metody: Retrospektivní a prospektivní genetická analýza pacientů s HD, kteří byli od prosince 1979 do prosince 2011 operováni na Klinice dětské chirurgie FNM. DNA byla izolována z periferních leukocytů. Molekulárně genetický screening rizikových exonů byl u HD pacientů a jejich rodinných příslušníků proveden pomocí sekvenace.

Výsledky: Celkem bylo vyšetřeno 163 pacientů. Zárodečná mutace v RET proto-onkogenu byla nalezena u 16 pacientů (10 %). U dvou rodin byl prokázán sdružený výskyt HD a MTC (mutace v exonu 10) a 8 rodin mělo mutaci s potencionálně vysokým rizikem vzniku MTC (převážně mutace v exonu 13). U 4 pacientů byla nalezena nová mutace s nejasnou funkcí. Vysoký podíl mutací byl objeven ve skupině pacientů s totální aganglionózou kolon (40%). Tři pacientky podstoupily totální thyroidektomii, u 2 byl nalezen MTC v klinickém stádiu, jedna měla hyperplázii C buněk.

Závěr: Výsledky potvrzují přínos systematického vyšetřování mutací RET proto-onkogenu, které napomáhá diagnostikovat MTC v preklinických stádiích. Všichni pacienti s HD by měli být rutinně vyšetřeni pro mutaci RET protoonkogenu v exonu 10 a nyní i v exonu 13.

Podpora projektu: GAUK 411611

11. XENOTRANSPLANTAČNÍ MODEL A EPIGENETICKÉ POZADÍ TRANSDIFERENCIACE B PREKURZOROVÝCH LEUKEMICKÝCH BLASTŮ DO MONOCYTOIDNÍ LINIE

Slámová L.^{1,3}, Starková J.¹, Bornhauser B. C.³, Froňková E.¹, Řezníčková L.¹, Zuna J.¹,
Fišer K.¹, Trka J.¹, Starý J.², Hrušák O.¹, Bourquin J.-P.³, Mejstříková E.¹

¹CLIP- Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2.LF a FNM; ²Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2.LF a FNM; ³University Children's hospital Zurich, division of Pediatric Oncology, CH

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

Úvod: Identifikovali jsme pacienty s akutní B-prekurzorovou lymfoblastickou leukémií (BCP ALL) charakterizovanou transdiferenciací do monocytární linie (swALL), tvořící až 4 % z BCP ALL. Transdiferenciace probíhá v prvních týdnech léčby, kdy významnou roli hraje léčba kortikosteroidy. Klonální příbuznost monocytoidních blastů byla potvrzena průkazem identických přestavb imunoreceptorových genů Ig-TCR. Jednotná kauzální genetická aberace nebyla doposud prokázána.

Cíl: Položili jsme si následující otázky: Lze v in vivo modelu rekapitulovat transdiferenciaci? Lze identifikovat společné epigenetické změny?

Materiál a metody: Leukemické buňky swALL (n=7) jsme amplifikovali v myším kmeni NOD/SCID s delecí v řetězce receptoru pro IL-2, u kterého je prokázána vysoká úspěšnost přijetí buněk BCP-ALL. Provedli jsme simulaci léčby prednisonem v dávce 30mg/kg/den intraperitoneálně. Navrhli jsme systém pro stanovení metylačních změn v promotorech genů PAX5 a CEBPα, které jsou důležité pro liniovou diferenciaci, za použití metody bisulfite sequencing. Epigenetické změny v genu CEBPα jsme vyšetřili u 62 pacientů s AL (15 swALL, 5 TALL, 14 AML, 28 BCP ALL). Celogenomovou HELP assay jsme stanovili metylační změny u 4 swALL (1 vzorek po xenotransplantaci) a 3 kontrolních BCP ALL.

Výsledky: Prokázali jsme významně horší schopnost přijetí swALL v myším modelu ve srovnání s publikovanou četností BCP-ALL (asi 70%). Xenomateriál od 2 přijetých swALL plně nevyvinul liniový přesmyk ani při simulaci léčby. Myeloidní fenotyp byl zřetelnější v kostní dřeni, v krvi a slezině si buňky udržely B lymfoidní fenotyp. Prokázali jsme demetylace promotoru CEBPα genu u 13/15 swALL v diagnóze. Demetylace promotoru CEBPα genu korelovala s vyšší genovou expresí oproti ostatním BCP a T ALL. Prokázali jsme hypermetylace promotoru u T ALL a většina BCP ALL měla zřetelné hypermetylační změny s výjimkou pacientů nesoucích fúzním genem BCR/ABL při nízké expresi CEBPα genu. Nenašli jsme rozdílný charakter metylace promotoru PAX5 genu.

Závěr: Přijetí swALL blastů se podařilo jen u menší části vzorků, incidence obdobná jako u publikovaných AML v tomto modelu. Lze předpokládat, že roli hraje cytokinové prostředí, neboť v průběhu liniového přesmyku dochází k dynamickému nárůstu exprese receptoru pro granulocyty-monocyty stimulující faktor. Prokázali jsme jedinečné epigenetické změny v promotoru myelo-specifickém genu CEBPα resultující ve zvýšenou genovou expresi.

Podpora projektu: GAČR P301/10/1877, Sciex 09.043, GAUK 15710, COST Ped-AML MDS, UNCE 204012

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

Khalil M. A., Hraběta J., Cipro Š., Vicha A., Eckschlager T.

Department of Pediatric Haematology and Oncology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Supervisor: Prof. Tomáš Eckschlager

Introduction: Recently, it has been suggested that cancer stem cells (CSC) play an important role in carcinogenesis and tumor progression. CD133 is a marker commonly found in the stem and progenitor cells in various tissues. Increased CD133 expression is described as a sign associated with worse prognosis in Neuroblastoma (NBL) and other tumors. Nowadays, epigenetic therapy is considered as a promising approach to target CSC. Histone deacetylase inhibitors (HDACi) are tested as a new class of anticancer agents which can induce re-expression of epigenetically silenced genes in tumors. Valproic acid (VPA), a well known drug used in treatment of epilepsy, is one member of HDACi which possesses anticancer properties such as inhibition of the cell cycle as well as induction of apoptosis.

Aims: The aim of our study was to identify the effect of the VPA on the expression of CD133 in UKF-NB3 cell line derived from high risk NBL

Materials and Methods: Human neuroblastoma cell line UKF-NB3 was cultured in Advanced DMEM/F12 and in a mixture of DMEM/F12(1:1) media, supplemented with EGF, Heparin and B27. Cells were harvested in three consequent days after incubation in 1mM of VPA. Expression of surface antigen CD133 was detected by Flow cytometry and Quantitative Reverse Transcription-Polymerase chain Reaction(RT-PCR). The percentages of live, apoptotic, and dead cells were estimated by PI/Annexin-binding assay using flow cytometer. Cell cycle analysis of CD133+ and CD133- ratio was done using flow cytometer

Results: The flowcytometric results showed increase percentage of CD133+ cells after incubation with VPA in both media. The values of RT-PCR were correlating positively with the cytometric results. There was no significant difference in cell viability and apoptosis between the control and sample treated with VPA up to 3rd day. CD133+ population is mainly observable in S and G2/M phases whereas CD133- cell population was predominantly in G0/G1 phase

Conclusions: Increase expression of surface marker CD133 in UKF-NB3 after treatment with VPA, supports the idea that CD133 expression is directly controlled by histone modifications. VPA induces cell cycle arrest at G0/G1 phase, while CD133+ are mainly in S and G2M phases, we suggest that VPA affects mainly CD133- cells while CD133+ cells are actively proliferating. Our results open a new area of discussion whether VPA therapy may increase the number of CSC or increase the expression of CD133 in non-stem cancer cells

Support: GACR P301/10/0356

13. ZASTOUPENÍ T LYMFOCYTŮ V KOSTNÍ DŘENÍ U PACIENTŮ S APLASTICKOU ANÉMIÍ A REFRAKTERNÍ CYTOPENIÍ

Reiterová, M.¹, Kalina, T.¹, Suková, M.², Campr, V.³, Thürner, D.¹, Hrdličková, A.¹, Król, L.², Švec, P.⁶, Zemanová, Z.⁴, Zapletal, O.⁵, Trka, J.^{1,2}, Starý, J.², Hrušák, O.^{1,2}, Mejstříková, E.^{1,2}
¹CLIP-Childhood Leukemia Investigation Prague, Praha; ²Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha; ³Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol, Praha; ⁴Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze; ⁵Oddělení dětské hematologie, Fakultní nemocnice Brno; ⁶Klinika dětské hematologie a onkologie DFNSP, Bratislava

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

Úvod: Aktivované T lymfocyty se podílí na patogenezi selhání krvetvorby u pacientů s aplastickou anémií (AA). Patogeneze a klinické projevy refrakterní cytopenie (RCC), nejčastějšího subtypu myelodysplastického syndromu (MDS) u dětí, jsou částečně podobné AA.

Cíl: Naším cílem bylo charakterizovat zastoupení subpopulací T lymfocytů v kostní dřeni (KD) u AA a RCC pomocí průtokové cytometrie (PC) a identifikovat případné vzájemné rozdíly, včetně porovnání s kontrolními vzorky.

Materiál a metody: V letech 2005-2011 bylo diagnostikováno 33 pacientů (medián 10,5 let, 1,1–18 let) s AA a 23 pacientů (medián 10,2 let, 4,2–18let) s RCC. Vzorky KD byly vyšetřeny mnohobarevnou PC s analýzou následujících populací: CD3pos, CD3pos8pos, CD3pos4pos, HLA-DRpos z CD3pos, HLA-DRpos z CD3pos8pos HLA-DRpos z CD3pos4pos, CD19pos (hodnoceno z jaderných buněk). Do kontrolní skupiny jsme zařadili pacienty vyšetřované v rámci stagingu solidního nádoru a 1 zdravého dárce KD (medián 2,6 let, 0-17let). Pro detailní analýzu T lymfocytů jsme v roce 2011 zavedli extenzivní 10 barevný panel.

Výsledky: U kontrolních pacientů jsme prokázali vyšší zastoupení lymfocytů a CD19pos lymfocytů včetně jejich nezralých forem u mladších věkových skupin (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). V rámci T řady jsme prokázali nárůst proporce CD8pos z CD3pos ve vyšších věkových skupinách ($p < 0,05$) a nižší podíl aktivovaných CD8pos T lymfocytů u pacientů do 1r věku. Pacienti s AA mají vyšší zastoupení T lymfocytů (CD3pos, CD3posCD8pos, CD3pos4pos) ve srovnání s kontrolami (Mann Whitney, $p < 0,05$) a vyšší podíl aktivovaných CD8pos T lymfocytů ($p < 0,05$, analýza pro věk > 1r). Ve srovnání s RCC je u AA vyšší zastoupení celkových CD3pos a aktivovaných CD8pos T lymfocytů, podobný rozdíl je zřetelný i mezi RCC a kontrolami. Pomocí nového panelu jsme analyzovali 61 vzorků (6 AA pacientů, 1 RCC, 1 RAEB, kontrolní a vzorky s nepotvrzenou susp.hemoblastózou) KD a periferní krve. U dětí do 1r bez AA či MDS je převaha naivních CD28pos27pos45RApos, které klesají s věkem. U AA nacházíme vyšší podíl aktivovaných CD8pos lymfocytů dle exprese CD57 a HLA-DR. Pokles těchto aktivovaných buněk jsme pozorovali u 2 AA pacientů s dobrou odpovědí na léčbu.

Závěr: U pacientů s AA nacházíme vyšší zastoupení aktivovaných T lymfocytů v kostní dřeni ve srovnání s kontrolními pacienty i ve srovnání s RCC. Nově zavedený 10 barevný panel pro T lymfocyty umožňuje detailně analyzovat posuny v distribuci od naivních k aktivovaným formám.

Podpora projektu: GAUK 23010, GAČR P301/10/1877, NT/12425-4, COST Ped-AML-MDS, UNCE 204012

14. POROVNÁNÍ TLOUŠŤKY VRSTVY NERVOVÝCH VLÁKEN SÍTNICE U DĚTÍ S PROKÁZANÝM GLAUKOMEM A U ZDRAVÝCH DĚTÍ ZA POUŽITÍ SKENOVACÍ LASEROVÉ POLARIMETRIE

Hložánek M., Filouš A., Ošmera J.
Oční klinika dětí a dospělých UK 2. LF a FN Motol

Školitel: Doc. MUDr. Aleš Filouš, CSc.

Úvod: Skenovací laserová polarimetrie je u dospělých pacientů ověřenou metodou používanou k časně detekci a monitoraci glaukomu. Principem je měření tloušťky vrstvy nervových vláken sítnice (RNFL), která se u glaukomatiků progresivně ztenčuje. Tato neinvazivní nenáročná metoda je dobře proveditelná i u dětí. V přístroji není dostupná normativní databáze dětské populace.

Cíl: Porovnat výsledky měření tloušťky RNFL u dětí s prokázaným glaukomovým onemocněním a hydroftalmem s daty věkově porovnatelné skupiny zdravých dětí.

Materiál a metody: Do skupiny glaukomatiků bylo zařazeno 20 hydroftalmických očí dětí léčených pro vrozený či infantilní glaukom. Průměrný věk těchto dětí byl 10.64 ± 3.02 roku. Byla provedena statistická analýza standardních Temporal-Superior-Nasal-Inferior-Temporal (TSNIT) parametrů RNFL měřených na přístroji GDxVCC. Výsledky byly porovnány s TSNIT parametry 240 očí věkově srovnatelné skupiny zdravých dětí (průměrný věk 12.85 ± 3.0 let), které byly již dříve publikovány stejnou skupinou autorů jako referenční hodnoty.

Výsledek: Všechny průměrné hodnoty v parametrech TSNIT Average, Superior Average, Inferior Average a TSNIT SD byly u glaukomových hydroftalmických očí signifikantně nižší než u skupiny zdravých očí ($P=0.021$, $P=0.001$, $P=0.003$ a $P=0.018$).

Závěr: Výsledky studie prokazují užitečnost měření tloušťky RNFL skenovací laserovou polarimetrií u dětské populace. U dětí s jednoznačně prokázaným glaukomovým onemocněním byly parametry RNFL statisticky významně nižší než parametry u zdravých dětí. Výsledek studie tak podporuje možnost využití skenovací laserové polarimetrie jako metody vhodné k diagnostice a monitoringu glaukomu u dětí. Vzhledem k nenáročnosti vyšetření a obtížnosti diagnostiky a monitoringu glaukomu u dětí přispívá metoda ke zlepšení oftalmologické péče v této oblasti.

Podpora projektu: Práce vznikla za podpory grantu IGA MZČR číslo 8463/5 a grantu CZ.2.16/3.1.00/24022

15. ZMĚNY HODNOT GLYKOVANÉHO HEMOGLOBINU (HbA1c) PO UKONČENÍ TERAPIE INZULÍNOVOU PUMPOU U ADOLESCENTŮ S DIABETEM 1. TYPU

Volná K.¹, Koloušková S.¹, Štechová K.¹, Hlávka J.², Cinek O.¹, Lebl J.¹, Šumník Z.¹

¹Pediatrická klinika UK 2. LF a FN Motol; ²Matematicko-fyzikální fakulta UK

Pregraduální student

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

Úvod: Aplikace inzulínu inzulinovou pumpou (IP) patří mezi efektivní způsoby terapie diabetu 1. typu (T1D). Přesto se u některých dětí a adolescentů s diabetem rozhodneme tuto terapii ukončit a převést tyto pacienty zpět na inzulinová pera; nejčastějším důvodem této změny je neuspokojivá kompenzace diabetu způsobená zejména nepravdělnou aplikací bolusových dávek.

Cíl: Cílem práce bylo prostřednictvím dlouhodobého monitorování HbA1c posoudit, zda odebrání IP z důvodu špatné kompenzace nevede k dalšímu zhoršení metabolické kontroly diabetu.

Materiál a metody: Všichni pacienti, u nichž byla ukončena terapie IP (39 dětí ve věku 15,2 (13,5-16,5 roku, medián, IQR), léčení IP v průměru 3,3 roku) bylo hodnoceno na pozadí ostatních pacientů našeho dětského diabetického centra. Hladiny HbA1c (všech 24941 hodnot HbA1c získaných mezi roky 1999 a 2011 od našich 1127 pacientů, včetně 227 pacientů s IP) byly hodnoceny jako závislá proměnná v modelu používajícím zobecněné odhadové rovnice (generalized estimating equations, GEE) s prediktory popisujícími vznik a průběh diabetu (datum narození, pohlaví, věk při manifestaci, lékař pečující o pacienta, datum nasazení inzulinové pumpy, datum odebrání inzulinové pumpy). Spojité proměnné byly modelovány pomocí kubických splinů s empiricky zvolenými uzly.

Výsledek: Průměrný HbA1c byl u pacientů s později odebranou IP 1 rok před nasazením IP 87,2 +/- 16,2 mmol/mol, během terapie pumpou 86,7 +/- 10,2 mmol/mol, v 1. roce po odebrání IP 90,0 +/- 13,4 mmol/mol, 89,1 +/- 14,0 mmol/mol ve 2. roce a 89,9 +/- 15,2 mmol/mol ve 3. roce. Kompenzace těchto pacientů nebyla signifikantně odlišná od těch, kdo pumpou léčení nebyli, kdežto pacienti, kterým byla IP nasazena a zůstala, měli signifikantně lepší HbA1c než pacienti léčení jinak ($p < 0.04$). U pacientů po odebrání IP nebylo pozorovatelné další signifikantní zhoršení v prvním roce ($p = 0.07$, změna HbA1c +3.8 mmol/mol), ani v dalších letech ($p = 0.47$).

Závěr: Ukončení terapie inzulinovou pumpou u adolescentů, kteří vykazovali špatnou kompenzaci T1D při léčbě IP, nevyvolalo další signifikantní zhoršení jejich HbA1c, a to jak v prvním roce od odebrání IP, tak v letech následujících. Tyto výsledky ukazují, že není třeba váhat s ukončením této nákladné terapie, pokud nepřináší předpokládaný efekt.

16. PREVALENCE, DYNAMIKA HLADIN PO MANIFESTACI DIABETU A VÝZNAM VÝŠETŘENÍ AUTOPROTLÁTEK PROTI NOVÉMU AUTOANTIGENU ZNT8 V ČESKÉ DĚTSKÉ DIABETICKÉ POPULACI

Petruželková L., Včeláková J., Štechová K., Lebl J., Dušátková P., Šumník Z., Koloušková S.
Pediatrická klinika FNM,

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Úvod: Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je chronické autoimunitní onemocnění vedoucí k progresivní ztrátě beta buněk pankreatu. Pozitivita autoprotilátek je důležitým diagnostickým znakem DM1. Zinkový transportér 8 (ZnT8) je nově objevený ostrůvkový autoantigen asociovaný se vznikem DM1. Prevalence a přínos vyšetření autoprotilátek proti ZnT8 (ZnT8Ab) v dětské diabetické populaci nebyl dosud publikován.

Cíl: Cílem naší studie bylo zmapovat prevalenci nové autoprotilátky ZnT8Ab v populaci dětských pacientů s čerstvě manifestovaným DM1, dynamiku hladin ZnT8Ab v období po manifestaci a stanovení významu vyšetřování ZnT8Ab při diferenciální diagnostice diabetu.

Materiál a metody: V první části bylo vyšetřeno 219 sér čerstvě manifestovaných diabetiků diagnostikovaných ve FN Motol v letech 2006-2011. Průměrný věk při manifestaci diabetu byl 8 let, 95 pacientů bylo dívek, 124 chlapců. Všechna séra z období manifestace byla vyšetřena na ZnT8Ab metodou ELISA a dále byly stanoveny již známé s diabetem asociované autoprotilátky (IAA, IA2A, GADA) metodou RIA.

V druhé části bylo vyšetřeno 116 sér od 87 pacientů s rozdílným trváním DM1 (11, 52, 97 měsíců po manifestaci). Všechny séra byly vyšetřeny na ZnT8Ab, IA2A a GADA a u všech pacientů byla známá hladina Ab v době manifestace.

Výsledky: Z 219 vyšetřených pacientů bylo při manifestaci 116 (50 %) pozitivních na IAA, 186 (80 %) na IA2A, 165 (71 %) na GADA a 165 (71 %) na ZnT8Ab. 6 pacientů bylo pozitivních pouze na ZnT8Ab a byla u nich potvrzena diagnóza DM1. 15 pacientů bylo negativní na všechny 4 vyšetřované autoprotilátky. U 4 z nich byl diagnostikován MODY diabetes (MODY2, MODY3), 2 pacienti odpovídají diagnóze MODY, ale běžné mutace se u nich neprokázaly, 1 pacientka odpovídá DM 2. typu. Ostatní Ab negativní pacienti jsou t.č. dovýšetřováni.

V období po manifestaci DM1 (12-97 měsíců) dochází k signifikatnímu poklesu hladin všech tří vyšetřovaných autoprotilátek ZnT8Ab, IA2, GADA ($p < 0,001$).

Závěr: Prevalence ZnT8Ab v dětské diabetologické populaci v ČR je 71 %. Vyšetření ZnT8 Ab přispívá k potvrzení diagnózy DM1. Vzhledem k signifikatnímu poklesu Ab v období po manifestaci DM1 doporučujeme stanovení autoprotilátek v době manifestace.

Podpora projektu: Podpořeno Interní grant FNM 6666/14.

17. ADRENOMEDULIN VE VZTAHU MEZI DIASTOLICKOU FUNKCÍ LEVÉ KOMORY SRDEČNÍ A GLOMERULÁRNÍ FILTRACÍ U ASYMPTOMATICKÝCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 2. TYPU

Pecková M.¹, Charvát J.¹, Schüick O.¹, Šváb P.², Hill M.³, Horáčková M.¹

¹Interní klinika 2. LF UK a FN Motol Praha; ²Kardiologická klinika 2. LF UK a FN Motol Praha;

³Endokrinologický ústav Praha

Školitel: Doc. MUDr. Horáčková Miroslava CSc.

Úvod: Natriuretické hormony působí zvýšení glomerulární filtrace a současně jsou zvýšené u srdečního selhání. Tytéž vlastnosti vykazuje i adrenomedulin. V recentní literatuře je uváděn vztah mezi diastolickou dysfunkcí a glomerulární filtrací (GFR) u jedinců s chronickým renálním onemocněním.

Cíl: Cílem naší studie bylo posouzení významu adrenomedulinu pro vzájemný vztah mezi diastolickou dysfunkcí a GFR u diabetiků 2. typu s mírnou až středně závažnou poruchou GFR.

Materiál a metody: Diastolická funkce levé komory srdeční (LKS) byla posuzována pulzní a tkáňovou echokardiografií. Byly vyšetřeny parametry indukující relaxaci LKS (E') a plnicí tlak LKS (E/E'). GFR byla kalkulována na podkladě MDRD formule (eGFR). Pro statistické hodnocení byla využita lineární regresní analýza a parciální korelační analýza.

Výsledky: Vyšetřeno 82 asymptomatických metabolicky optimálně kompenzovaných diabetiků 2. typu v průměrném věku 61 ± 6 let. Průměrná hodnota eGFR činila 1.2 ± 0.3 ml/s/1,73m². U 38 nemocných s porušenou relaxací LKS ($E' \leq 7,1$ cm/s, což je hodnota udávající horní limit normální relaxace LKS respektující věk vyšetřených) byla mezi hodnotami E/E' a eGFR, respektive mezi adrenomedulinem a E/E' zjištěna významná nepřímá korelace ($r = -0.348$, $p = 0.032$, respektive $r = -0.382$, $p = 0.018$) a přímá korelace mezi adrenomedulinem a eGFR ($r = 0.597$, $p < 0.001$). Nebyla zjištěna významná korelace mezi E/E' a eGFR při $E' > 7.1$ cm/s. Význam adrenomedulinu pro vztah mezi E/E' a GFR podporují výsledky parciální korelační analýzy.

Závěr: Adrenomedulin ovlivňuje vztah mezi plnicím tlakem LKS a glomerulární filtrací u diabetiků 2. typu s porušenou relaxací LKS a s mírným až středním snížením eGFR.

Podpora projektu: Podpořeno výzkumným grantem IGA MZ CR NR/9520-3

18. ABERANTNÍ O-GLYKOSYLACE PANTOVÉ OBLASTI (“HINGE REGION”) TĚŽKÉHO ŘETĚZCE SÉROVÉHO IGA1 NENÍ SPECIFICKÝM NÁLEZEM U PACIENTŮ S IGA NEFROPATÍÍ

Štekláčová A.¹, Matoušovic K.²

¹Univerzita Karlova v Praze, 2. LF; ²Interní klinika, UK 2. LF

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.

Úvod: Podstatou IgA nefropatie (IgAN), nejčastější glomerulonefritidy celosvětově, je ukládání cirkulujících imunitních komplexů (CIK) obsahujících IgA v glomerulárním mesangiu, kde spouští kaskádu zánětlivých změn. Podstatou těchto CIK je molekula IgA1 s abnormálně O-glykosylovanou pantovou oblastí těžkého řetězce, v níž chybí β 1,3 napojení galaktózy na N-acetylgalactosamin (GalNac). Obnažená molekula GalNac je antigenní determinantou pro IgG protilátky (méně často IgA1) za tvorby CIK. Množství těchto CIK v séru pacientů s IgAN je možné detegovat metodou ELISA s použitím lektinu izolovaného ze šneka zahradního, *Helix Aspersa* (HAA), který se specificky váže na molekulu GalNac.

Cíl: Metodou ELISA posoudit, zda degalaktosylovaný IgA1 je výlučně přítomen v séru pacientů s IgAN.

Materiál a metody: Shromáždili jsme vzorky sér 53 pacientů s různými nefropatiemi. V souboru bylo 14 pacientů s diagnózou IgAN, 19 s jinými imunologicky podmíněnými chorobami glomerulu (u 5 membranózní proliferativní glomerulonefritida, u 6 fokálně segmentární glomeruloskleróza, u 2 ANCA asociované nefritidy a u 6 SLE), 11 nemocných s tubulointersticiální nefritidou, 3 s hereditární neimunologickou nefritidou (Alportův syndrom) a kontrolní skupinu tvořilo 6 zdravých osob. Koncentraci IgA1 deficientního v galaktóze jsme stanovili metodou HAA ELISA. Destičku jsme potáhli anti-IgA v koncentraci 3 μ g/ml, k blokování byl použit 1% roztok BSA-PBS tween. Testovaná séra jsme naředili 1:500 až 1:16000. HAA byl značen biotinem, k vyvolání reakce jsme použili Avidin peroxidázu a zastavili ji po 40 minutách 0,1 molární kyselinou sírovou. OD jsme odečetli při 490 nm. Jako standard jsme použili myelomový protein deficientní v galaktosylaci.

Výsledek: Nejvyšší koncentraci Gal-deficientního sérového IgA1 jsme našli u pacientů s imunologickými chorobami glomerulů (OD 3249 $\pm$ 1245) a IgAN (OD 3165 $\pm$ 1494), méně u Alportova syndromu (OD 2469 $\pm$ 1209) a tubulointersticiální nefritidy (OD 2128 $\pm$ 1776). Nejméně reagovalo s HAA sérum zdravých kontrol (OD 1914 $\pm$ 1039). Reakce nebyla úměrná celkové koncentraci IgA v séru.

Závěr: Prokázali jsme, že aberantně glykosylovaný IgA1 není nálezem specifickým pro IgAN, ale sérová koncentrace této molekuly je zvýšená u všech námi testovaných imunologicky podmíněných glomerulonefritid. Biopsie ledvin zůstává jediným spolehlivým diagnostickým prostředkem verifikace IgAN. Další výskum je třeba zaměřit na hledání jiných biomarkerů IgAN, aby ji bylo možno diagnostikovat méně invazivně.

Podpora projektu: VZ MSM-0021620819

19. REGRESIVNÍ ZMĚNY PARENCHYMU LEDVINY PŘÍTOMNÉ JIŽ V DÁRCI NEPŘÍZNIVĚ OVLIVŇUJÍ ÚROVEŇ GLOMERULÁRNÍ FILTRACE PO TRANSPLANTACI

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

¹Transplantační centrum FN Motol; ²Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol; ³Pediatrická klinika UK 2. LF a FN Motol; ⁴Kardiochirurgická klinika UK 2 LF a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.

Úvod: V naší loňské studii jsme prokázali, že již u tzv. ideálních dárců středního věku se vyskytují regresivní změny v renálním parenchymu. V této studii jsme zhodnotili vliv těchto změn na úroveň glomerulární filtrace po transplantačním období.

Cíl: Zhodnotit význam preexistujících regresivních změn renálního parenchymu na úroveň glomerulární filtrace.

Materiál a metody: V retrospektivní studii jsme zhodnotili morfologické nálezy biopsií nulté hodiny dárcovské ledviny pro transplantaci (TPL) dětí ve FN Motol v letech 2004–2009. Do studie bylo zařazeno 45 příjemců, 23 chlapců a 22 dívek. Všechny biopsie byly provedeny klínovitou excizí těsně před transplantací štěpu do těla příjemce. Vzorky byly semikvantitativně hodnoceny světelnou mikroskopií z hlediska změn na glomerulech, tubulech, intersticiu a cévách. Změny na tubulech a intersticiu (TIS), arteriích a arteriolách jsme hodnotili skórem 0–3+, změny na glomerulech jsme vyjádřili jako procento sklerotizovaných glomerulů. Poté jsme morfologické změny korelovali s glomerulární filtrací (eGFR) vypočtenou podle Schwartzze při ukončení hospitalizace po TPL, po půl roce, po roce a při poslední kontrole. Ke statistickému zhodnocení výsledků jsme použili korelační analýzu a nepárový t-test.

Výsledky: eGFR nepřímo korelovala se stupněm TIS při propuštění ($r=-0,2532$, $P<0,1$), půl roku po TPL ($r=-0,37887$, $P<0,01$), po roce ($r=-0,27349$, $P<0,1$) a při poslední kontrole ($r=-0,4683$, $P<0,001$). Průměrná eGFR u pacientů s TIS 0 vs. TIS 1+ byla při propuštění 112 ± 54 ml/min/1,73m² (medián 89) vs. 87 ± 32 (medián 82, $P=0,08695$), po půl roce 105 ± 40 (medián 102) vs. 72 ± 31 (medián 95, $P=0,0089$), po roce 92 ± 38 (medián 82) vs. 72 ± 23 (medián 73, $P=0,0691$), při poslední kontrole 127 ± 37 (medián 125) vs. 86 ± 37 (medián 73, $P=0,0012$).

Závěr: Ze sledovaných regresivních změn v biopsii nulté hodiny měly pro úroveň funkce TPL ledviny největší význam TIS, s nímž eGFR nepřímo korelovala v časném i pozdním po-TPL období. Mezi regresivními změnami arteriálních větví, arteriol a glomerulů a vyšší eGFR byl zjištěn záporný korelační koeficient, ale tento vztah byl většinou statisticky nevýznamný, pravděpodobně pro malý počet jedinců zařazených do studie. Biopsie nulté hodiny je klinicky významná, neboť umožňuje jednak posoudit stav dárcovské ledviny, jednak usuzovat na úroveň funkce štěpu v potransplantačním období.

Podpora projektu: Podpořeno VZ MSM 0021620819

20. ANALÝZA VARIÁCIÍ POČTU KÓPIÍ (CNV) V GENÓMOCH PACIENTOV S MENTÁLNOU RETARDÁCIOU A NORMÁLNYM KARYOTYPOM

Hančárová M., Vlčková M., Drábová J., Zmítková Z., Havlovicová M., Sedláček Z.
Ústav biologie a lékařské genetiky

Školitel: Prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

Úvod: Mentálna retardácia (MR) je vysoko heterogénne ochorenie s prevalenciou okolo 2 %. Nové štúdie arrayovými metódami poukázali na častejší výskyt variant v počte kópií (copy number variants-CNVs) u pacientov s MR. CNVs tak pravdepodobne prispievajú nielen k bežnej fenotypovej variabilite, ale aj k predispozícii k rôznym ochoreniam vrátane MR. Genetická variabilita MR vyžaduje u každého pacienta, resp. rodiny, osobitý prístup a individualizovanú molekulárne-genetickú analýzu.

Cíl: Cieľom projektu bola celogenómová analýza ziskov a strát genetického materiálu v súbore českých pacientov s MR doplnená o dôkladnú bioinformatickú analýzu identifikovaných zmien. Takto je možné odhaliť úseky genómu potenciálne podmieňujúce vznik MR u našich pacientov a určiť frekvenciu výskytu a pravdepodobný klinický význam pozorovaných genetických zmien.

Materiál a metódy: Bolo vyšetrených 173 rodín (184 pacientov) s rôznymi formami MR. Vstupnými kritériami bol normálny alebo zdanlivo balancovaný karyotyp a absencia expanzie v géne FMR1. Celogenómová analýza DNA bola prevedená pomocou vysoko rozlišovacej SNP array HumanCytoSNP-12 BeadChips (Illumina). Dáta boli analyzované dvoma nezávislými programami, a to Genome Studio (Illumina) a QuantiSNP (University of Oxford). Získané výsledky boli následne podrobené dôkladnému bioinformatickému rozboru. Potenciálne dôležité aberácie boli nezávisle laboratórne potvrdené a bola analyzovaná ich dedičnosť v rodine. U 4 rodín sme overili a spresnili už známu aberáciu.

Výsledky: V priemere analýza u každého pacienta odhalila 6,5 potenciálnych CNVs, čo spolu tvorilo viac než 1100 identifikovaných odchýliek. U 18 pacientov sme identifikovali klinicky relevantný nález. Išlo o už popísaný mikródelečný/duplikačný syndróm, o zásah génu asociovaného s MR alebo o nález aberácie veľkého rozsahu. U 11 pacientov sme našli dosiaľ v literatúre nepopísanú avšak pravdepodobne patogénnu aberáciu. Ďalších 56 pacientov nieslo aberácie nejasnej signifikancie. U 99 pacientov sme identifikovali iba bežné populačné polymorfizmy.

Záver: Výsledky štúdie potvrdili prítomnosť jasne kauzálneho CNV najmenej u 10 % pacientov v zhode s publikovanými údajmi. Niektoré nálezy u našich pacientov prispeli k spresneniu dosiaľ diskutovaných nových syndrómov, iné poukazujú na existenciu možných nových kauzálnych génov. V súčasnosti prebieha overovanie zvyšku aberácií a bioinformatická analýza možnej kauzality aberácií pri vzniku MR.

Podpora projektu: Projekt bol podporený grantmi CHERISH a MZ0FNM2012.

21. STABILITA TRANSKRIPČNÍ BUBLINY A JEJÍ ROLE V GENOVÉ EXPRESI

Maderová Z., Sojka L., Krásný L.

Laboratoř molekulární genetiky bakterií MBÚ AV ČR vvi, Praha 4, Vídeňská 1083

Školitel: Libor Krásný

Úvod: Schopnost operativní regulace genové exprese na úrovni transkripce u bakterií přímo souvisí se schopností buňky obstát v konkurenčním boji – přežít i rozmnožit se. Rozhodujícím faktorem pro regulaci transkripce je její iniciace, kdy interaguje RNA polymeráza (RNAP) s promotorovou DNA. Klíčovým pro regulaci iniciace na některých promotorech je vznik a stabilita tzv. otevřeného komplexu, tj. tvorba transkripční bubliny. Pokud je otevřený komplex relativně nestabilní, pak může být stabilizován a pozitivně regulován koncentrací iniciačního NTP (iNTP). Tento typ regulace je důležitý pro rychlé změny genové exprese, které jsou např. u patogenů klíčové pro přežití v hostiteli. V současnosti není plně známo, které sekvenční promotorové prvky DNA podmiňují jejich schopnosti tvořit stabilní/nestabilní otevřené komplexy.

Cíl: Cílem práce je určit jak ovlivňuje DNA sekvence promotorů schopnost RNAP tvořit stabilní/nestabilní transkripční bublinu.

Materiál a metody: Experimenty proběhly v definovaném bezbuněčném transkripčním systému in vitro. RNAP byla vyčištěna z *B. subtilis*. Dále byly připraveny plasmidy s vnesenými testovanými promotory. Tyto promotory byly dvojího typu – nativní a chimérní. Chimérní promotory kombinovaly části z promotorů které tvoří stabilní a nestabilní otevřené komplexy. Pomocí dvou typů experimentů byla pak určena stabilita těchto promotorů. Následná analýza identifikovala elementy DNA, které ovlivňují stabilitu otevřeného komplexu.

Výsledky: Bylo otestováno více jak 30 nativních a chimérních promotorů a byla určena stabilita otevřených komplexů těchto promotorů s RNAP. Analýzou výsledků jsme identifikovali 3' oblast promotoru (ve směru transkripce) jakožto klíčovou pro stabilitu otevřeného komplexu. Získané výsledky pak posloužily pro tvorbu modelu interakce promotorové DNA s RNAP.

Závěr: Pro regulaci genové exprese koncentrací iNTP při iniciaci transkripce musí mít takto regulovaný promotor schopnost tvořit relativně nestabilní transkripční bublinu. Tato schopnost je zakódována v sekvenci promotoru v oblasti 3'. Část výsledků byla publikována (Sojka L. at al, Nucleic Acids Res. 2011 June; 39(11): 4598–4611). Další experimenty pokračují s cílem vytvořit detailní model vlivu sekvence promotorové DNA na schopnost RNAP tvořit transkripční bublinu.

Podpora projektu: Práce je podpořena grantem GAČR (P302/11/0855).

22. KONEC DLOUHOTRAVAJÍCÍ EPIDEMIE V CENTRU CYSTICKÉ FIBRÓZY V PRAZE MOTOLE

Dědečková K.¹, Fila L.², Skalická V.¹, Bartošová J.¹, Kučerová T.¹, Vávrová V.¹, Zemková D.¹,
Kafertová L.¹, Melter O.³, Cinek O.¹, Dřevínek P.^{1,3}

¹Pediatrická klinika 2. LF Praha; ²Pneumologická klinika 2. LF Praha; ³Ústav lékařské
mikrobiologie 2. LF Praha

Školitel: MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.

Úvod: Komplex bakterií *Burkholderia cepacia* (Bcc) představuje skupinu úzce příbuzných oportunních patogenů způsobující chronické respirační onemocnění u pacientů s cystickou fibrózou (CF). Jejich přítomnost v CF populaci je spojována nejen s významným snížením dlouhodobých šancí pacientů na přežití, ale také se schopností přenosu z pacienta na pacienta a vznikem epidemie. Počátek epidemie v pražském CF centru způsobené kmenem *Burkholderia cenocepacia* ST32 je datován na začátek 90. let minulého století. Za účelem stanovení infekce v její rané fázi byla v roce 2001 do systému vyšetřování zařazena metoda *recA* PCR, která společně s kultivací potvrdila infekci způsobenou epidemickým kmenem téměř u 30 % pacientů.

Cíl: Cílem této studie bylo shrnout epidemiologickou situaci za období 2001 až 2010 a objektivně zhodnotit praktický význam PCR diagnostiky ve vyšetřovacím schématu.

Materiál a metody: K analýze byly použity výsledky 6109 klinických vzorků od 299 pacientů s CF, které byly za období 2001-2010 vyšetřeny jak kultivačně, tak PCR. V případě diagnostikování Bcc infekce se k určení druhové a kmenové příslušnosti použily genotypizační techniky MLST (Multilocus Sequence Typing) a/nebo RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

Výsledek: Bcc infekce byla diagnostikována v 39 případech, pozitivita pomocí obou technik byla detekována v 27 případech, ve zbývajících 12 byla pozitivita stanovena pouze metodou PCR. U 8/12 případů se kultivační pozitivita objevila se zpožděním od 1 do 22 měsíců od první PCR positivity, u zbývajících 4/12 pacientů se negativní kultivační nález nikdy nezměnil v pozitivní.

V roce 2001 byla Bcc infekce potvrzena u 56 (29 %) ze 194 pacientů s CF. Kmen ST32 byl nalezen u 52 (93 %) pacientů. Do roku 2010 přibýlo 5 nových případů s ST32 (poslední v roce 2007), zemřelo 30 ST32 pozitivních pacientů. Na konci roku 2010 se centrum staralo o 243 pacientů s CF, 45 (19 %) pacientů mělo Bcc infekci z nichž 27 (60 %) bylo infikováno kmenem ST32.

Závěr: Na základě této studie jsme prokázali, že metoda *recA* PCR hraje významnou roli v časně detekci Bcc infekce a nejen s její pomocí, ale i s dodržováním striktních pravidel protiepidemického režimu jsme dosáhli eliminace infekce a úspěšně jsme zastavili šíření epidemie.

Podpora projektu: Studie byla podpořena granty: GAUK 307311; IGA MZ NT12405-5; MŠ MT LD11029

23. ALTERATION OF THE MOLECULAR CIRCADIAN CLOCK IN CHILDREN WITH SMITH-MAGENIS SYNDROME

Nováková M.^{1,2}, Nevšímalová S.³, Příhodová I.³, Sládek M.¹, Sumová A.¹

¹Institute of Physiology, v.v.i., Academy of Science of the Czech Republic;

²2nd Faculty of Medicine, Charles University; ³Department of Neurology, 1st Faculty of Medicine and General Teaching Hospital

Supervisor: PharmDr. Alena Sumová, DrSc.

Introduction: All rhythms repeating with a period of circa 24 h are called the circadian rhythms. They are driven by a central clock located in the suprachiasmatic nuclei (SCN) of the hypothalamus which is synchronized every day by the light/dark cycle. The SCN drives rhythms in physiological functions in the body, including secretion of the pineal gland hormone melatonin. Other oscillators are present also in various peripheral organs. These peripheral clocks are self-sustained but need to be synchronized by the central SCN clock. At the molecular level, the circadian oscillations are ensured by the transcriptional-translational feedback loops of the clock genes. In our study, we focused on the circadian system in children with Smith-Magenis syndrome (SMS). In SMS patients, melatonin as well and sleep/wake rhythms are severely disrupted.

Aims: The study aimed to ascertain whether the anomalies in the melatonin secretion in SMS patients might be due to an alteration of the molecular mechanism of the circadian clock.

Materials and Methods: Five SMS patients (3 to 17 years old) and five healthy age- and sex-matched control subjects were involved in the study. Saliva and buccal scrub samples were collected every 4 h during a 24-h period. Daily profiles of melatonin were determined in saliva using a direct double-antibody radioimmunoassay. Daily profiles of clock gene mRNA levels (Per1, Per2 and Rev-erba) were determined in buccal scrub samples by RT PCR.

Results: In controls, melatonin levels were elevated during the nighttime and very low during the daytime. Daily profiles of clock gene Per1, Per2 and Rev-erba mRNA levels in buccal mucosa exhibited significant and mutually synchronized circadian variations. In SMS patients, melatonin profiles were significantly altered compared to controls, being phase-reversed, phase-advanced, depressed or abolished. Daily profiles of all studied clock gene mRNA levels exhibited circadian rhythms. However, daily profiles of the individual clock genes were desynchronized among each other and their phases differed significantly.

Conclusions: Our findings suggest that the anomalies in melatonin profiles of SMS patients might be due to a disturbance of the molecular circadian clockwork.

Support: Sponsored by the Internal Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic, grant No. NT11474-4/2010; the Grant Agency of the Charles University in Prague, No. 22810; the Grant Agency of the Czech Republic, no. 309/08/H079, and Research Projects No. AV0Z50110509 and MSM0021620849.

POZNÁMKY

POSTERY

P01. MOLEKULÁRNÍ METODY V DIAGNOSTICE PURULENTNÍCH MENINGITID

Petroušová L.¹, Rožnovský L.¹, Marešová V.²

¹Klinika infekčního lékařství Fakultní nemocnice Ostrava; ²1. infekční klinika 2. lékařská fakulta, Universita Karlova

Školitel: Doc.MUDr. Vilma Marešová, CSc.

Úvod: Purulentní meningitida je vždy život ohrožující onemocnění, včasná diagnostika a včasné zahájená cílená terapie má vliv na prognózu onemocnění. Molekulární metody, zejména polymerázová řetězová reakce (PCR), umožňují rychlou a přesnou diagnostiku původce onemocnění i po nasazení antibiotické terapie.

Cíl: Cíl práce je stanovit přínos molekulárních metod ve srovnání s klasickými mikrobiologickými metodami jako je mikroskopie, kultivace a latex aglutinace v diagnostice purulentních meningitid.

Materiál a metody: Soubor pacientů tvoří pacienti s diagnózou purulentní meningitidy, kteří byli hospitalizováni na Klinice infekčního lékařství Fakultní nemocnice Ostrava od roku 2007 do konce roku 2011. Likvor všech pacientů byl vyšetřen mikroskopicky, latex aglutinací a kultivačně na Zdravotním ústavu Ostrava nebo ve spádových laboratořích. PCR vyšetření likvoru bylo prováděno na Zdravotním ústavu Ostrava. PCR diagnostika byla použita k rychlé detekci klasických původců meningitid, které zahrnují *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* (do roku 2011 jen sérotyp b, od roku 2011 i non b sérotypy), *Neisseria meningitidis* včetně sérotypizace a *Listeria monocytogenes*.

Výsledky: V období od ledna 2004 do konce roku 2011 bylo na Klinice infekčního lékařství hospitalizováno 225 pacientů s purulentní meningitidou, 152 z nich (68 %) mělo jednoznačně prokázanou etiologii onemocnění. Metodou PCR byl likvor vyšetřen u 149 pacientů (66 %), pozitivní výsledek byl u 71 pacientů (48 %). PCR diagnostika jako jediná prokázala původce u 35 pacientů, což představuje 23 % ze 152 pacientů s etiologicky objasněnou meningitidou. Původci, které bylo možno diagnostikovat PCR metodou, způsobili onemocnění u 109 pacientů, což představuje 71 % etiologicky objasněných meningitid. U 43 pacientů (28 %) se na onemocnění podíleli původci, které PCR diagnostika nebyla schopna zachytit. Jednalo se o tyto patogeny *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus vestibularis*, *Streptococcus epidermidis*, *Streptococcus oralis/mitis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Aktinomyces* sp. a *Cryptococcus neoformans*.

Závěr: PCR diagnostika objasnila navíc etiologii onemocnění u 23 % pacientů. Značná variabilita původců dokazuje, že je nutno dále využívat více diagnostických metod současně.

P02. DISULFIDICKÉ MŮSTKY ZPŮSOBENÉ EXTRAkcÍ ZINKU MĚNÍ BARVITELNOST NATIVNÍ I JEDNOVLÁKNOVÉ DNA SPERMII

Houska P.¹, Dackland A.-L.², Björndahl L.³, Kvist U.³

¹2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Centrum reprodukční genetiky, Ústav biologie a lékařské genetiky, Praha, Česká republika; ²Karolinska University Hospital Huddinge, Centre for Cell analysis, Stockholm, Švédské království; ³Karolinska University Hospital and Karolinska Institute Huddinge, Center for Andrology and Sexual Medicine Clinic for Endocrinology Department of Medicine, Stockholm, Švédské království

Školitel: Doc. MUDr. Milan Macek, CSc.

Úvod: Poškození DNA spermií hraje důležitou roli v mužské subfertilitě. Existuje již několik metod na měření poškození DNA, přesto je role zdrojů těchto změn všeobecně podceňována. Stabilita chromatinu závisí na přítomnosti zinkových (S-Zn-S) a disulfidických můstků (S-S) v molekulách protaminu. Po ejakulaci dochází ke ztrátě zinku v chromatinu a konverzi můstků zinkových na disulfidické, čímž dochází ke změně kvality chromatinu a jeho barvitelnosti. Toto může vést ke změně výsledků testů stability chromatinu i úspěšnosti fertilizace.

Cíl: Určit jak ovlivňuje extrakce zinku barvitelnost DNA pomocí akridin oranže (AO) a průtokové cytometrie, zvláště pro nativní (zelená) a jednovláknovou (červená fluorescence) DNA.

Materiál a metody: Vzorky od 11-ti dobrovolníků byly zkoumány do 1 hodiny po ejakulaci. Pročištěny v NaCl pufru obsahujícím 10uM zinek (BSS-Zn) a resuspendovány v BSS-Zn nebo BSS-Zn s 6mM chelatačním činidlem (BSS-Zn-EDTA). Po 2 hodinách v +4°C byly některé alikvoty vystaveny účinkům 1mM dithiothreitolu (DTT) po 10 min. Poté byly všechny alikvoty podrobeny standardnímu postupu (30s silné kyseliny, 2,5 min pufr s AO). Měření probíhalo na BD FACSTrack ve dvou duplikátech. Pro analýzu dat byly použity průměry červené a zelené fluorescence (MR a MG) obarvených částic, na statistickou analýzu byl použit Wilcoxon Matched Pairs Test.

Výsledek: Účinky DTT – Spermie uložené na 2 hodiny v BSS-Zn a poté vystavené účinkům DTT měly nejvyšší hodnoty průměru průměrů červené (MR=44) a průměru průměrů zelené (MG=162). Spermie bez expozice DTT dosáhly hodnot MR=39 ($p<0,01$) a MG=133 ($p<0,01$). Vystavení účinkům DTT tedy zvýšilo jak červenou, tak zelenou fluorescenci. Účinky EDTA – U spermií vystavených účinkům EDTA po 2 hodiny nedošlo ani k signifikantnímu úbytku MR (36 vs kontrolní 39) ani k signifikantní změně MG (133 vs kontrolní 133).

Kombinace účinků – U spermií vystavených účinkům EDTA nedošlo po vystavení účinkům DTT ke zvýšení MR ani MG, takže byly výsledky signifikantně nižší vůči účinkům pouze DTT jak pro MR (39 vs kontrolní 44, $p<0,01$) i pro MG (130 vs kontrolní 162, $p<0,01$).

Závěr: Vystavení účinkům zink chelatačnímu činidlu EDTA (běžně používaném v komerčních přípravcích) došlo ke změnám chromatinu. Tyto změny zapříčinily snížení barvitelnosti chromatinu pro červenou složku. Po vystavení účinkům DTT došlo ke zvýraznění těchto změn a snížení barvitelnosti bylo signifikantní jak pro červenou, tak i zelenou složku AO. Tyto změny jsou pravděpodobně způsobeny tvorbou disulfidických můstků.

P03. ROZDÍLY MOČOVÉHO PROTEOMU U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU V ZÁVISLOSTI NA HODNOTĚ MIKROALBUMINURIE

Vítová L.¹, Moravec J.², Tůma Z.², Kvapil M.¹, Matějovič M.², Mareš J.²

¹Interní klinika UK 2. LF a FNM; ²I. 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 terminálního selhání ledvin s nutností náhrady funkce ledvin některou z dialyzačních metod nebo transplantací. Diagnostika incipientní DN je nyní založena na stanovení tzv. mikroalbuminurie – MA. Albuminurie není specifickým ani časným ukazatelem DN. Ve stadiu MA mohou být v ledvinném parenchymu přítomny již významné morfologické změny, proto je v současnosti cílem nalezení nových markerů DN, které by umožnily rozšíření znalostí patofyziologie, časnější diagnostiku a efektivnější terapii této komplikace.

Cíl: Cílem naší studie je identifikace potenciálních časných biomarkerů DN v moči pacientů s DM I. typu.

Materiál a metody: Provedli jsme proteomickou analýzu vzorků první ranní moči u 26 pacientů s DM I. typu s rozdílnou hodnotou MA, porovnány byly 2 skupiny pacientů. Proteiny byly separovány pomocí dvojrozměrné elektroforézy (2DE). 2D obrazy na gelech jsme analyzovali pomocí programu PDQuest. Relativní densita spotu na gelu vyjadřovala kvantitu proteinu. Spoty, které byly přítomny u více než 90% vzorků alespoň v jedné ze skupin, resp. hodnoty jejich denzit, jsme vyhodnotili pomocí PCA (Principal component analysis). Spoty, které dosáhly nejlepší korelace s hlavní komponentou, byly vybrány pro identifikaci pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie (MALDI-MS/MS).

Výsledky: Pacienti s MA měli vyšší hodnoty glykovaného hemoglobinu a horší ledvinnou funkci, v ostatních sledovaných parametrech byly skupiny srovnatelné. Na gelech bylo celkem rozlišeno 755 spotů. PCA potvrdila potenciál použité metody umožňující rozlišení dvou námi definovaných skupin pacientů. Pomocí MALDI-MS/MS bylo identifikováno celkem 26 odlišných proteinů v 45 hodnocených spotech. Snížení perlecanu, GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), alfa-enolázy a multimerinu-2 (nebo fragmentů těchto proteinů) v moči u pacientů s MA se jeví být konzistentní s dosavadními poznatky o mikrovaskulárních komplikacích DM včetně DN.

Závěr: Prokázali jsme rozdíly v močovém proteomu u pacientů s DM I. typu s různou hodnotou MA. Identifikovali jsme 26 proteinů, z nichž některé mohou hrát roli v patogenezi DN a mohly by tak být časnějším ukazatelem DN než MA. 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.

P04. QUALITY OF LIFE OF CHILDREN WITH ATOPIC DERMATITIS AND THEIR FAMILIES

Jiráková A.¹, Göpfertová D.², Hercogová J.³

¹Department of Dermatovenerology 2nd Medical School Charles University and Hospital Bulovka, Prague; ²Department of Epidemiology 2nd Medical School Charles University, Prague

Supervisor: Dana Göpfertová , Jana Hercogová

Introduction: Atopic dermatitis (AD) still remains one of the most common childhood inflammatory skin diseases. As a chronic disease it can have a physical and psychological effect on the social functioning of the affected child as well as his family.

Aims: The objective of this study is to evaluate the quality of life of children with AD and their families.

Materials and Methods: A total of 636 children, 314 with a diagnosis of AD and 321 with the diagnosis of naevi, aged from newborns to 18 years and 636 of their parents took part in our study. All participants, according to their age, completed the questionnaires: Infants' Dermatitis Quality of Life Index (IDQOL), Childrens' Dermatology Life Quality Index (CDLQI)-text and cartoon version and Dermatitis Family Impact Questionnaire (DFI).

Results: We gained statistically significant differences in the mean scores between children with the diagnosis of AD and children with the diagnosis naevi. We also gained differences of mean scores in different age groups of patients with AD. The highest and statistically proven score was in the oldest group of children with AD (9,85) then in the group from 7 to 13 years (8,33) and the lowest in the group of children from newborns to 6 years (7,84). There was also proven an influence of the child's AD on the quality of life of his parents with the mean scores in particular age groups: 7,39, 6,69, 7,3.

Conclusions: The study demonstrated and confirmed that AD significantly impairs the children's QoL in all age groups and also their families. To the best of our knowledge our study is the first one in the Czech Republic dealing with this problem. We also conducted the first, official validation of the Family Impact Questionnaire into Czech language. In our results we noticed that there are significant differences in the quality of life impairment in different age groups of children. Moreover according to the child's age different spheres of his life are impaired. There are very similar results connected with parental quality of life impairment. Our results were comparable with the results gained in other foreign studies. Such data give us patient-oriented information which is of great importance for understanding the situation of individuals suffering from AD and its influence on the members of their family. Moreover they can significantly influence the allocation of healthcare resources to AD care.

Support: Czech Academy of Dermatovenerology

P05. MIKRODELECE 17Q21.31 U MONOZYGOTNÍCH DVOJČAT

Vičková M.¹, Hančárová M.¹, Drábová J.¹, Zmítková Z.¹, Koudová M.^{1,2}, Alánová R.^{1,3}, Sedláček Z.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 2. lékařské fakulty UK a FNM; ²GHC Genetics, s. r. o. - NZZ, Praha; ³Ústav pro péči o matku a dítě, Praha

Školitel: Prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

Úvod: Mikrodeleční syndrom 17q21.13 je jednou z nově objevených příčin mentální retardace (MR). Je způsoben rekurentní delecí v oblasti 900 kb inverze vyskytující se u přibližně 20 % evropské populace. Invertovaná varianta nese haplotyp H2 a více nízkofrekvenčních repetit, které predisponují ke vzniku delecí. Prezентujeme studii jednovaječných dvojčat s touto mikrodelecí a mírně odlišným fenotypem.

Cíl: Pacientky byly zachyceny ve studii variant v počtu kopií (CNV) u pacientů s MR. Cílem práce bylo přispět k poznatkům o fenotypu a genotypu pacientů s mikrodelečním syndromem 17q21.13. Laboratorně byly mapovány zlomy, určen rodičovský původ delece a proveden pokus nalézt případné odlišnosti v genomech pacientek, které by mohly vysvětlit jejich fenotypové rozdíly.

Materiál a metody: Pacientky byly podrobeny detailnímu klinicko-genetickému vyšetření. CNV byly hledány metodou BAC array CGH (BlueGnome) u dvojčete A a nález byl následně potvrzen FISH se sondou RP11-111I23 u obou dvojčat. Stejnému testu byli podrobeni rodiče. Dědičnost byla ověřena analýzou charakteristických SNP. Genomy obou sester pak byly porovnány pomocí SNP array Illumina Human CytoSNP-12 (300K) a array CGH Nimblegen 2.1M.

Výsledek: Dvojčata se narodila ve 38. týdnu císařským řezem pro hypoxii plodu B. Byla hypotrofičká (hmotnost pod 3. perc.) a měla postaxiální hexadaktylie na všech končetinách, hydronefrózu a luxaci kyčlí. U dvojčete A se rozvinul hyperviskózní syndrom. U dvojčete B došlo k intrakraniálnímu krvácení. Psychomotorický vývoj obou dívek byl opožděn, dvojče B navíc vykazovalo strabismus a horizontální nystagmus. V 19 letech měly dívky podobný fenotyp s podlouhlým obličejem s mužskými rysy, prominující bradou, plnými rty, krátkým hladkým filtrem a výrazným hruškovitým nosem. Obě měly disproporční malý vrůst se zkrácením končetin, hrudní hyperkyfózu, hirsutismus, hrubé husté vlasy, hluboký hlas a středně těžkou MR. Obě nesly de novo delecí maternální alely 17q21.13. Matka byla homozygotní pro haplotyp H2. Podrobným srovnáním nebyly v genomech dívek zjištěny odlišnosti, které by vysvětlovaly rozdíly v jejich fenotypu.

Závěr: Fenotyp dvojčat odpovídal obrazu popsaných pacientů a potvrdil, že mikrodeleční syndrom 17q21.13 je jedním z mála nových syndromů s tak charakteristickým fenotypem, že může být často diagnostikován klinicky. Při použitím rozlišení nebyly u dvojčat zjištěny žádné genotypové rozdíly. Mírně těžší postižení dvojčete B mohlo souviset s jeho závažnější perinatální anamnézou.

Podpora projektu: CHERISH, CZ.2.16/3.1.00/24022 a MZ0FNM2012.

P06. ASYMETRICAL HYPOPERFUSSION OF NUCLEI CAUDATI IN MS PATIENTS IS IN RELATIONSHIP TO DEPRESSSION AND AXONAL LOSS

Cihelkova S.¹, Jung M.², Baranikova Z.³, Taborska K.⁴

¹Neurological Clinic of 3rd Faculty of Charles University; ²Psychological Department of University Motol Hospital; ³Psychiatric clinic for children of 2nd Faculty of Charles University;

⁴Clinic of Nuclear Medicine of 2nd Faculty of Charles University

Supervisor: neni

Introduction: The role of asymetrical pathology of basal ganglia, including nuclei caudati and especially their damage by ferum deposits and their relationship to disease progression in multiple sclerosis /MS/ are known, but no in relationship to blood perfussion. There are no studies investigating a relationship of asymetry of ncl.caudati' hypoperfussion to axonal damage, only to depression in depressive MS patients in one side and axonal loss to depression in other side. These patients seems to have basal ganglia' hypoperfussion and, for hypothesized effect of depression to MS worse course, be in higher risk of disease progression.

Aims: To investigate, if in MS patients with depression is asymetry of basal ganglia blood perfussion in relationship to axonal damage and depression and their closer relationship to left or right side.

Materials and Methods: 12 patients fullfilling the McDonald's criteria for MS and depression recently or in anamnesis (9 with RR-MS and 3 SP-MS), to EDSS 4,5 and 7 years of disease duration, clinically stable on medication free of drugs provoking the depression were examined by BDI II, BAI II, SCL-90, fatigue MS scale, Hamilton scales, psychiatric and psychologic examination, SPECT of and MRI of thalami and ncl.caudati and serum IgM antibody to heavy neurofilamental protein /antiHNfl/. Symetricity of hypoperfussion of nuclei caudati and thalami were compared by Wilcoxon test and correlation of perfussion of left and right ncl.caudatus to antiHNfl and BDI score were done.

Results: No asymetry was found in blood perfussion between thalami, contrary to higher than 0,05 statistical significant hypoperfussion in right ncl.caudatus, there are no correlation to BDI score, which was in relationship to both ncl.caudati hypoperfussion in our previous study. No correlation were found between hypoperfussion of each ncl.caudatus and IgM antiHNfl, but level of this antibody correlated with hypoperfussion of both ncl.caudati on significancy more than 0.01.

Conclusions: Significant asymetrical hypoperfussion of nuclei caudati in depressive MS patients was confirmed, but without clear relationship of depresssion to hypoperfussion of left or right side and this asymetry seems to be performed without hemispherical dysconnection. Furthermore, relationship of asymetrical hypoperfussion, depression and axonal damage, either without relationship to side preference of these structures, may be possible.

P07. 54 LET CHIRURGICKÉ SÍTKY – REVIEW

East B., Krejčí T., Hoch J.
Chirurgická klinika 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.,

Úvod: Chirurgická síťka byla poprvé pro plastiku kýly použita v roce 1958 a od té doby ukázala, že v chirurgii má svou nezastupitelnou pozici. Bohužel se však během let ukázaly i komplikace s jejím použitím spojené, zejména adhezivní postižení, tvorba píštělí, infekční komplikace a narušená kinetika břišní stěny se všemi důsledky. Na trhu je dnes přes 100 typů chirurgické sítě z různých materiálů a snad i to je důkazem, že ideální materiál doposud nebyl nalezen.

Cíl: Cílem review bylo analyticky zpracovat dostupné publikované studie provedené na zvířecím modelu od doby zavedení chirurgické sítě do klinické praxe a zhodnotit výhody a hlavní rozdíly mezi jednotlivými materiály. Konečným cílem bylo zhodnocení, zda jsou dnešní finančně náročné a sofistikované sítě skutečně pro pacienta lepší volbou a skutečně snižují riziko pooperačních komplikací v porovnání s tradičními materiály.

Materiál a metody: Databáze MedLine byla systematicky prohledána. Vybrány byly všechny klinické a srovnávací studie provedené na zvířecím modelu zaměřené na testování chirurgické sítě pro operační řešení kýly. Při hledání byly použity MeshTerms. Novější články doposud neindexované pro Medline byly vybrány manuálně jedním autorem. Review a meta-analýzy byly z výběru vyřazeny.

Výsledky: Pomocí MeshTerms bylo nalezeno celkem 134 zvířecích experimentů publikovaných od roku 1977 do října 2011. Dalších 23 doposud neindexovaných článků bylo doplněno po manuálním prohledání databáze. Články byly následně rozděleny podle zvířecího modelu a podle použité sítě. Analýza byla zaměřena na srovnání biokompatibilitě jednotlivých materiálů.

Závěr: Kompozitní sítě ukazují alespoň ve zvířecím experimentu vesměs výhodnější biologické vlastnosti než samotný polypropylén. Ne všechny antiahezivní bariéry jsou však stejně efektivní. Navzdory marketingovému tlaku jednotlivých výrobců byly publikovány studie, které dokazují, že by některé materiály z humánní medicíny měly zcela vymizet. Tato práce je zatím prvním shrnutím všech publikovaných experimentů s chirurgickou sítí provedených na zvířecím modelu a umožní objektivní pohled na složitou problematiku hledání ideálního materiálu pro její výrobu.

Podpora projektu: B Braun Medical, s. r. o.

P08. ANOMÁLNÍ NÁLEZY V POČTU, MORFOLOGII A TVARU STÁLÝCH ZUBŮ U 7-10TI LETÝCH DĚTÍ ŽIJÍCÍCH V ČR

Ginzellová K.¹, Kripnerová T.², Dostálová T.¹

¹Dětská stomatologická klinika, FN Motol a 2. LF UK Praha; ² 2.LF UK Praha

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

Úvod: U některých dětí se vyskytují odchylky v počtu zubů, jejich morfologii a tvaru.

Cíl: Naším cílem je zjistit, u kolika dětí z populace se tyto odchylky vyskytují, na kterém typu stálých zubů diagnostikujeme nejčastěji tyto odchylky.

Materiál a metody: Do studie byly zařazeny 7–10ti leté děti, celkově zdravé, které byly prohlédnuty a radiograficky (OPG, v nejasných případech CT a 3D rekonstrukce) vyšetřeny na poliklinice FN Motol, Praha. Zjišťovali jsme: numerické anomálie (hypodoncie, hyperodoncie), morfologické anomálie (čipkovité zuby, hrbolky na palatinální straně řezáků, hrbolky typu dle Carabelli, dens in dente, taurodontismus), anomálie tvaru (mikrodoncie, makrodoncie) a možné kombinace uvedených diagnóz.

Výsledky: Celkem vyšetřeno 430 dětí (219 chlapců a 211 dívek). Dentální anomálie byly zjištěny u 14,1 % vyšetřených dětí (z toho je 44,2 % chlapců a 55,7 % dívek). Z postižených dětí má numerické anomálie 77,1 % dětí, morfologické anomálie 18,6 % dětí, anomálie tvaru zubů 1,2 % dětí a kombinace dentálních anomálií je u 2,4 % dětí.

Závěr: V literatuře není na toto téma mnoho prací, protože jsou technicky a časově náročné. Po zhodnocení výsledků je možno stanovit objem nadstandardní stomatologické péče (ortodoncie, dentální chirurgie, protetická stomatologie).

Podpora projektu: 9991 - 4 - IGA MZ ČR

P09. HYPERFAMILIARITY IN PATIENTS WITH TEMPORAL LOBE EPILEPSY

Kotaskova J.¹, Cavanna A. E.^{2,3}, Bradac O.⁴, Javurkova A.⁵, Marusic P.^{1,4}

¹Department of Neurology, Charles University in Prague, 2nd Faculty of Medicine, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic; ²Department of Neuropsychiatry, BSMHFT and University of Birmingham, UK; ³Institute of Neurology, University College London, UK; ⁴Department of Neurosurgery, Charles University in Prague, 1st Faculty of Medicine, Central Military Hospital, Prague, Czech Republic; ⁵Department of Psychology, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

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

Introduction: Hyperfamiliarity is a type of paramnesia which has been associated with temporal lobe pathology.

Aims: This study investigated hyperfamiliarity in patients with temporal lobe epilepsy (TLE) by assessing the ability of these patients to recognize both familiar and unfamiliar faces.

Materials and Methods: We evaluated 61 patients with pharmacoresistant TLE (33 with right-sided focus, 28 left-sided) and 10 controls with face recognition tests.

Results: The ability to recognise familiar faces was similar between patients and controls, although patients with left-sided TLE were characterised by poorer performance in familiar face naming compared to both patients with right-sided TLE and controls. Hyperfamiliarity was observed in a significantly higher number of patients with TLE compared to controls. There was no significant difference in the number of affected patients between right and left-sided TLE groups, although right-sided TLE patients showed more severe impairments.

Conclusions: It is proposed that hyperfamiliarity can be a relatively common symptom in patients with refractory TLE.

Support: This work was supported by grant projects IGA MZCR NT/11536-5 and GAUK 200 084/999.

P10. VÝZNAM STANOVENÍ SEKUNDÁRNÍCH MUTACÍ U GASTROINTESTINÁLNÍCH STROMÁLNÍCH NÁDORŮ S OHLEDEM NA OBJASNĚNÍ VZNIKU ZÍSKANÉ REZISTENCE NA CÍLENOU TERAPII

Augustiňáková A., Hilská I., Kalinová M., Břizová H., Krsková L., Kodet R.
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 nádory (GIST) jsou ve velké většině charakterizovány přítomností aktivačních mutací v genech KIT a PDGFRA kódujících příslušné receptorové tyrosinkinázy (RTK) KIT a PDGFRA. Uvedené skutečnosti se využívá v cílené biologické terapii u neoperabilních, recidivujících nebo metastazujících nádorů pomocí inhibitoru aktivovaných RTK. Sekundární mutace vznikají v průběhu léčby pacienta s GIST a tvoří jeden z hlavních mechanismů vzniku získané rezistence na terapii. Sekundární mutace se prezentují ve formě jednoduchých substitucí a postihují tyrosinkinázové domény (TK) 1 a 2 proteinů KIT nebo PDGFRA. Častěji se vyskytují v genu KIT, konkrétně v exonech 13 nebo 17, které kódují zmiňované TK domény. U genu PDGFRA se s nimi setkáváme výjimečně. U pacientů s nemutovanými geny KIT a PDGFRA ke vzniku sekundárních mutací nedochází. Mechanizmy vzniku sekundární neboli získané rezistence mimo uvedené sekundární mutace zahrnují také amplifikaci genu KIT, nebo aktivaci jiných RTK.

Cíl: Zjistit přítomnost sekundárních mutací u pacientů léčených inhibitory aktivovaných TK a objasnit rezistenci na podávané terapeutikum.

Materiál a metody: Přítomnost sekundárních mutací jsme stanovovali prostřednictvím amplifikace zmiňovaných exonů uvedených genů s následním určením pořadí nukleotidů pomocí asymetrické sekvenační PCR na genetickém analyzátoru ABI PRISM 3130. Zdrojem DNA pro sekvenační reakci byla DNA získaná extrakcí z biotických vzorků primárních nádorů nebo nádorů recidivujících či jejich metastáz fixovaných ve formolu a zalitých do parafinu nebo čerstvých zamražených vzorků nádorů.

Výsledky: Přítomnost sekundárních mutací jsme z 82 analyzovaných vzorků od 70 pacientů prokázali v 10 případech. V 7 vyšetřovaných vzorcích byly sekundární mutace přítomny v exonu 17. Exon 17 kóduje enzymatickou oblast receptoru KIT, konkrétně TK2 doménu. Ve 4 z uvedených vzorků se zjištěnými sekundárními mutacemi v exonu 17 byl místem výskytu primární mutace exon 11 (kóduje regulační, juxtamembránovou doménu proteinu KIT). Ve zbývajících 3 případech exon 13 (kóduje enzymatickou doménu TK1). Ve 3 případech jsme detekovali sekundární mutace v exonu 13. Primární mutace byly ve všech zmiňovaných vzorcích lokalizovány v exonu 11.

Závěr: Průkaz přítomnosti sekundárních mutací u pacientů s progresí nemoci umožní ve spolupráci s klinickým pracovištěm zajistit možnost volby dvojnásobné dávky IM nebo nasadit inhibitory druhé či třetí generace.

Podpora projektu: Projekt podporován OPBK CZ.2.16/3.1.00/24022 a MZO FNM 2005/6704

P11. STATE-DEPENDENT ACTION OF INHIBITORY NEUROSTEROIDS AT THE NMDA RECEPTOR

Vyklicky V.¹, Borovska J.¹, Stastna E.², Kapras V.², Slavikova B.², Horak M.¹, Chodounska H.², Vyklicky L. Jr.¹

¹Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, v. v. i.; ²Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, v. v. i.

Supervisor: MUDr. Ladislav Vyklicky, Jr., DrSc.

Introduction: N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors play important roles in development, synaptic plasticity, learning, and memory, however, abnormal activation of NMDA receptors is thought to mediate neuronal degeneration. NMDA receptor activity can be influenced by exogenous and endogenous ligands, including neurosteroids - endogenous steroids that are synthesized and act in the central nervous system. Allosteric modulators influence activity of NMDA receptor-channels positively or negatively with biological consequences. 20-oxo-5 β -pregnan-3 α -yl sulfate (pregnanolone sulfate, PAS) is an endogenous neurosteroid that inhibits NMDA receptors and is neuroprotective.

Aims: We tested the hypothesis that the interaction of PAS with plasma membrane is critical for its inhibitory effect.

Materials and Methods: To delineate the mechanism of NMDA receptor inhibition by PAS patch-clamp and imaging recordings from HEK293 cells expressing NR1/NR2B receptors and cultured rat hippocampal neurons were used. We have prepared eighteen pregnanolone derivatives substituted at C3 with negatively and positively charged chemical groups in different distances from C3 as well as with uncharged residues and in addition two fluorescence tagged steroids.

Results: The results of our electrophysiological experiments show that kinetics of the steroid inhibition is slow and not typical for drug-receptor interaction in the aqueous solution. In addition, the recovery from inhibition was accelerated by β - and γ -cyclodextrin. Values of IC₅₀ assessed for novel synthetic C3 analogs of PAS differ by more than 30-fold. The values of IC₅₀ were positively correlated with the steroid lipophilicity. The onset of inhibition induced by C3 analogs of PAS can range from agonist-dependent to agonist-independent. The onset and offset of cell staining by fluorescent analogs of PAS is slower than that determined of the onset and offset of these steroids induced inhibition of current responses mediated by NMDA receptors.

Conclusions: We conclude that steroid accumulation in plasma membrane is route, from which it accesses a site on the NMDA receptor.

Support: Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (309/07/0271; 309/08/H079; 203/08/1498), Research Project of the AS CR AV0Z 50110509, and Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (1M0002375201 and LC554). Work of E. S, V. K, B. S., H. C. was supported by Research Project Z4 055 0506.

P12. FEROMAGNETICKÉ NANOČÁSTICE PRO MR ZOBRAZOVÁNÍ A MAGNETICKOU HYPERTERMII

Turnovcová K.^{1,2,3}, Herynek V.^{2,4}, Jendelová P.^{1,2,3}, Pollert E.⁵, Veverka M.⁵, Veverka P.⁵, Hájek M.^{2,4}, Syková E.^{1,2,3}

¹Ústav neurověd 2 LF UK, Praha; ²Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad 2 LF UK, Praha; ³Oddělení neurověd, Ústav experimentální medicíny AV ČR v. v. i, Praha; ⁴Pracoviště radiodiagnostiky a intervenční radiologie, IKEM, Praha; ⁵Oddělení magnetik a supravodičů, Fyzikální ústav AV ČR v. v. i, Praha

Školitel: RNDr. Pavla Jendelová, Ph. D.

Úvod: La_{1-x}Sr_xMnO₃ perovskity, založené na manganu, vykazují silné feromagnetické vlastnosti. Ve vysokofrekvenčním magnetickém poli se zahřívají na vysokou teplotu. Perovskitové nanočástice mohou být proto užity nejen jako kontrastní materiál pro MRI, ale také jako prostředek pro lokální destrukci patologické tkáně teplem po aplikaci vysokofrekvenčního magnetického pole. Problémem neupravených částic je silná cytotoxicita.

Cíl: Cílem naší studie bylo otestovat biologické vlastnosti perovskitových nanočástic obalených silikonem in vitro a in vivo jako MRI kontrastního materiálu.

Materiál a metody: Testovali jsme šest typů perovskitových nanočástic s manganem s různou velikostí od 18 do 21 nanometrů. Částice byly obalené 20 nm SiO₂. Částice byly přidány ke kultuře potkaních mesenchymálních buněk a inkubovány 48 hodin. Viabilita buněk byla poté otestována pomocí trypanové modři. Buněčná proliferace a adheze byla hodnocena na přístroji xCELLigence System.

Značené i nezačené buňky v čistém médiu a nezačené buňky v suspenzi s nanočásticemi byly poté vystaveny vysokofrekvenčnímu magnetickému poli (1 mHz, 7 mT).

Samotné nanočástice byly injektovány do mozku laboratorního potkana a jejich kontrastní vlastnosti byly vyhodnoceny na MRI přístroji Bruker Biospec 4,7 T 1 den a 24 dní po injekci.

Výsledek: Viabilita značených buněk kolísala mezi 72–85 %, zatímco nezačené buňky dosáhly viability 92 %. Adheze a proliferace buněk byla zasažena pouze mírně a projevila se bezprostředně po přidání nanočástic. Celková proliferace kultur nebyla významně porušena. Viabilita značených buněk vystavených vysokofrekvenčnímu magnetickému poli klesla o 50 % ve srovnání s nezačenými buňkami. Teplota vzorku samotného nebyla zvýšena.

Viabilita nezačených buněk v suspenzi s nanočásticemi se snížila po expozici magnetickému poli o 15–20 %, přičemž teplota vzorku se zvýšila na 43°C.

Injekce samotných částic do potkaního mozku prokázala vysokou kontrastní schopnost nanočástic in vivo.

Závěr: Obalené perovskitové nanočástice jsou mírně toxické a jejich biologické vlastnosti a snášenlivost musí být dále upravena modifikací povrchu obalu. Po injektování in vivo mohou být snadno sledovány pomocí MRI. Díky feromagnetickým vlastnostem mohou být tyto nanočástice zahřívány na vysokou teplotu ve vysokofrekvenčním magnetickém poli a být tak užity jako zdroj pro MRI kontrolovanou termoablací patologické tkáně.

Podpora projektu: Podporováno grantovým projektem Ministerstva průmyslu a obchodu FR-TI3/521.

P13. MOLEKULÁRNÍ PRŮKAZ A TYPIZACE KMENŮ S. AUREUS A SCV S. AUREUS Z RESPIRAČNÍHO TRAKTU PACIENTŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

Tkadlec J.¹, Melter O.¹, Bukáčková E.¹, Pantůček R.²

¹Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol Praha; ²Ústav experimentální biologie PřF MU Brno

Školitel: MVDr. Oto Melter, Ph.D.

Úvod: *Staphylococcus aureus* je jedním z významných patogenů u pacientů s cystickou fibrózou (CF). Infikuje jejich respirační systém již v raném dětství a způsobuje chronickou rekurentní infekci. Mezi izoláty z dýchacích cest pacientů jsou pravidelně přítomny kmeny *S. aureus* tvořící tzv. trpasličí kolonie – SCV (Small Colony Variant). Tato fenotypová varianta vyznačující se drobným růstem je mimo jiné schopná intracelulární perzistence v buňkách dýchacího epitelu, což zvyšuje její odolnost k antibiotické terapii a může být příčinou chronické infekce.

Cíl: Fenotypový a genotypový průkaz *S. aureus* a SCV *S. aureus* u pacientů s CF a charakterizace jejich fyziologických vlastností, rezistence k antibiotikům a klonality.

Materiál a metody: Bakteriální kmeny: klinické izoláty *S. aureus* (n=18) ze sputa tří CF pacientů odebraných v 3 až 5 měsíčních intervalech po dobu 15 měsíců. Typové kmeny *S. aureus* ATCC 25923 a *S. aureus* NCTC 8325 a jiných bakteriálních patogenů od pacientů s CF.

Identifikace klinických kmenů: MALDI-TOF, STAPHYtest 16, PCR nuc – Sa2052 (duplex PCR úseky DNA specifické pro *S. aureus*)

Testování citlivosti k antibiotikům diskovou difúzní metodou.

Průkaz genů MLSB rezistence pomocí PCR.

Testování auxotrofie k tymidinu, menadionu a heminu diskovou difúzní metodou.

Typizace kmenů makrorestrikční analýzou DNA (štěpení *Sma*I) pomocí pulzní elektroforézy (PFGE) a analýzou genu pro protein A (spa-typizace).

Výsledky: Kombinací fenotypových a genotypových metod byly klinické izoláty (n=18) určeny jako *S. aureus*. Optimalizovaná metoda PCR nuc – Sa2052 a ověřená její specifita.

Šest klinických izolátů s SCV fenotypem bylo auxotrofních k tymidinu. Zjištěny kmeny rezistentní k erytromycinu (n=10), ke klindamycinu (n=7). U rezistentních kmenů prokázány geny MLSB rezistence: *ermA* (2 izoláty), *ermB* (4 iz.), *ermC* (1 iz.) a *msrA* (4 iz.). Pomocí PFGE a spa-typizace prokázány 4 kmeny.

Závěr:

1. Zavedena metoda pro přímý průkaz *S. aureus* (včetně SCV kmenů) – PCR nuc – Sa2052
2. U studovaných izolátů byla zjištěna rezistence k erytromycinu a klindamycinu a prokázána přítomnost genů rezistence k MLSB antibiotikům: *ermA*, *ermB*, *ermC* a *msrA*.
3. U všech *S. aureus* SCV kmenů byla prokázána auxotrofie k tymidinu
4. Klonální analýza prokázala stabilitu kmenu *S. aureus* u dvou pacientů, u jednoho pacienta došlo k nahrazení původního kmenu. Také bylo zjištěno, že v případě izolátů *S. aureus* s SCV a běžným fenotypem ze stejného vzorku se jedná o tentýž kmen.

Podpora projektu: Studie byla podpořena grantem MZ IGA NT12395-5/2011.

P14. DOES EARLY CLONAZEPAM EXPOSURE AFFECT LATER DEVELOPMENT OF SOCIAL PLAY BEHAVIOR IN RAT PUPS?

Pařízková M., Mikulecká A., Kubová H.

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

Pregraduate student

Supervisor: Doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc

Introduction: Social play represents a separate category of behavior and together with social investigation can be influenced by various conditions, brain impairment or drugs. Rats start to play around 18 days of age, playing increased and peaks at 30–36 days, and declines thereafter. Clonazepam (CZP), a high-potency benzodiazepine structurally related to diazepam, is primarily used as antiepileptic drug. Despite its use in infants and children, knowledge about effects of CZP on brain development is very limited.

Aims: The aim of the present study was to investigate whether early postnatal CZP exposure affect the developmental course of social play behavior. CZP was administered in a dose of 1.0 mg/kg for 5 consecutive days (from postnatal day (P) 7 to P 11), control siblings (C) received vehicle.

Materials and Methods: Before experiments, rats were weighted, marked and isolated by one in small cages. After 30 min, they were subjected to a social interactions test. Two pups identical in treatment (CZP vs. CZP, C vs. C) but from different litters were placed into the opposite corners of an open field (OF) and their behavior was video-recorded for 10 min. The rats were repeatedly tested on P 18, 25, 32, and 40. Video-recordings were analyzed using Observer XT (Noldus Technology). Duration of following behavioral patterns per pair of pups were evaluated: active contacts (crawling over and under, mutual sniffing), passive contact (pups in close contact, resting, with no movement), following (one pup followed rapidly the other pup so that it almost touched him) and playful fighting (pinning and boxing).

Results: There was a similar developmental trend with a gradual increase in duration of active contacts and a gradual decrease in duration of passive contacts, in both controls and CZP treated rats. There was a trend to developmental delay of following and playful fighting duration in CZP treated animals whereas significant increase of both these behaviors was found in control animals. The comparison of controls and CZP treated rats in individual ages, showed a significant decrease in play behavior in CZP-exposed animals on PD 32 and 40.

Conclusions: In conclusion, our results revealed that early postnatal CZP exposure produce a significant alteration in play behavior. This effect was most expressed during adolescence when the playing behavior in rats reached the peak.

Support: Supported by Grant 305/09/0846 of the Grant Agency of the Czech Republic and project LC554 of the Ministry of Education of the Czech Republic

P15. PERCEPTION OF TEMPORAL ORDER OF SOUNDS IS NOT ALWAYS BASED ON NEURAL SIGNALS REPRESENTING STIMULUS ONSETS

Florová M.¹, Humby B.², Nerad L.^{1,2}

¹2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague; ²University of New York in Prague, Prague

Pregraduate student

Supervisor: Luděk Nerad

Introduction: Our everyday perception of temporal order of events (such as sounds) seems to be accurately reflecting this order. This, however, is no longer true for events whose onsets are separated by a very brief delay. Despite the fact that immediate neural responses to these events are clearly separated in time, we have problems consciously analysing this separation (e.g., realising which of two events came first). Moreover, a strong stimulus that arrives several tens of milliseconds after an otherwise perceptible weak stimulus will wipe the weak stimulus from consciousness. This is called “backward masking”. Given the neural responses to the unperceived weak stimulus precede those for the strong stimulus, a question arises as to which neural responses govern temporal order judgments.

Aims: Most stimuli that our sensory systems detect control our behaviour subconsciously. The aim of our experiment was to find out whether judgment of temporal order of acoustic stimuli is determined by our brain using onsets of subliminally detected or consciously perceived stimuli.

Materials and Methods: Eight subjects judged temporal order of a 20-ms click and 20-ms beep in a series of click-beep pairs, that differed by mutual temporal offsets of the two stimuli, by pressing either a “Before”, “Simultaneous”, or “After” button. The longest pair had an 80-ms delay between stimulus onsets. In the shortest pair the stimuli were simultaneous. In half of all 170 stimulus pairs a quiet beep (masked stimulus, 20 dB above the hearing threshold) preceded the regular beep by 30 ms. The subjects were not aware of its existence. If the two sets produced identical results, the masked stimulus couldn't have played any role in temporal order judgment. If the results were offset relative to each other by 30 ms, it must have been the masked stimulus that controlled the temporal order judgment.

Results: For both sets of stimuli and for all three types of judgment a probability of correct response was calculated for each click-beep delay. ‘Centres of gravity’ of these curves in the masked and unmasked case were compared by t-test. No difference was found for either “before”, “simultaneous”, or “after” judgment between the sets with and without the masked beep.

Conclusions: We conclude that judgments of temporal order are based on perceived, rather than subconsciously detected, features. Our results support the view that a percept needs time to develop and what happens during this time can affect it and alter our perception of reality.

P16. KOMPLEXNÍ REGIONÁLNÍ BOLESTIVÝ SYNDROM – DYSFUNKCE V AUTONOMNÍM NERVOVÉM SYSTÉMU?

Marčišová H.¹, Černý R.²

¹Klinika rehabilitace FNM Praha; ²Neurologická klinika dospělých FNM

Školitel: MUDr. Rudolf Černý, CSc.

Úvod: Komplexní regionální bolestivý syndrom (KRBS) je neuropatický bolestivý syndrom se známkami motorického, senzitivního a autonomního postižení. Mezi projevy autonomních poruch patří otoky, změny pocení a regulace mikrocirkulace. Oblast, rozsah a tíže postižení u KRBS často neodpovídá původnímu traumatu, nebo je původní trauma úplně neznámé. Etiopatofyziologie KRBS není objasněna, diskutují se podíl CNS, neurogenní zánět, podíl autonomního nervového systému.

Cíl: Cílem naší práce bylo určit, zda je u pacientů s KRBS přítomna autonomní dysfunkce ve smyslu snížení variability srdeční frekvence (VSF).

Materiál a metody: Pacienti a normy:

Vyšetřili jsme 22 pacientů s KRBS I. typu (77 % žen) a 32 zdravých norem (75 % žen).

Diagnóza pacientů byla určena zkušeným neurologem na základě klinického vyšetření a byla potvrzena kostní scintigrafií.

Metodika:

Vyšetření VSF proběhlo ve funkční elektrofyziologické laboratoři u všech subjektů během ranních hodin.

K měření jsme použili přístroj FAN (Schwarzer). EKG bylo nahráváno po 10 min lehu v potmělé laboratoři, nejprve 5 minut vleže a poté dalších 5 minut po vertikalizaci. Nahráná data byla manuálně zkontrolována a případné artefakty odstraněny.

Přístroj vyhodnotil standardní parametry časové i frekvenční domény VSF ve dvou situacích – leh i stoj. Statisticky jsme zhodnotili rozdíly mezi skupinami pacienti x normy.

Výsledky: Téměř ve všech parametrech VSF analýzy jak v časové tak ve frekvenční doméně jsme prokázali signifikantní rozdíl mezi pacienty s KRBS I a zdravými normami. Vleže i vestoje měly normy signifikantně vyšší parametry frekvenční: HF power ($p=0,0006$), LF power ($p=0,001$) a total power ($p<0,0001$) i časové: pNN50 ($p<0,0001$) a RMSSD ($p<0,0001$) než pacienti.

Rozdíl nebyl ani vleže ani vestoje v poměru LF/HF (který odráží vzájemný poměr aktivity vagotonní a adrenergní složky ANS).

Závěr: Jednoznačně prokazujeme oslabení parametrů VSF u pacientů s KRBS oproti zdravým normám, které indikuje poruchu v ANS. Zdali se jedná o poruchu, která vznikla po onemocnění KRBS nebo o specifické nastavení ANS, které mohlo přispět k rozvoji KRBS u těchto pacientů, není zatím jasné.

Nenalezli jsme rozdíl mezi poměrem LF a HF u pacientů a norem, a to ani vleže ani v posturální zátěži. Tento náález hodnotíme jako normální funkci baroreflexu u pacientů. Předpokládáme, že se jedná o náález specifický pro KRBS, u pacientů s depresí a anxiózními stavy (kde bychom mohli očekávat podobnost) nalézáme sníženou HF power a naopak vyšší LF power, což u KRBS není.

P17. CHIRURGICKÉ KOMPLIKACE TRANSPLANTACÍ LEDVIN U DĚTÍ

Jonáš D.⁵, Burkert J.¹, Zeman L.², Kříž J.², Mixa V.³, Seeman T.⁴, Špatenka J.⁵

¹Kardiochirurgická klinika FNM; ²Klinika dětské chirurgie FNM; ³Klinika anesteziologie a resuscitace FNM; ⁴Pediatrická klinika FNM; ⁵Transplantační centrum FNM

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Jan Burkert, Ph.D.

Úvod: Transplantace ledvin u dětí představuje optimální léčbu chronické renální insuficience. Obnovení funkce ledvin pozitivně ovlivní nejen správný růst a vývoj dětských nemocných, ale především významně zlepší kvalitu jejich života.

Cíl: Cílem našeho sledování bylo zhodnocení všech možných chirurgických komplikací u pacientů transplantovaných v letech 1999–2010.

Materiál a metody: Retrospektivní analýza 99 konsekutivních pacientů, u kterých provedeno 103 transplantací ledviny. V souboru bylo 40 dívek a 59 chlapců. Průměrný věk byl 11.8 ± 4.7 (1.9–18.8) let. Průměrná hmotnost byla 36.3 ± 18.4 (10.8–112) kg. Většina příjemců – 92 (93 %) dostala štěp kadaverózního dárce, 7 dětí (7 %) bylo transplantováno štěpem od žijícího dárce. Preemptivní transplantace byla v tomto období provedena u 5 (5 %) dětí. 9 (9 %) pacientů z našeho souboru podstoupilo retransplantaci po předchozí rejekci štěpu. Průměrný věk dárců byl 31.3 ± 12.1 roku, jejich hmotnost 69.8 ± 15.5 (30–150) kg. Průměrná doba studené ischémie byla 17.1 ± 4.8 (1.5–31.0) hodin.

Výsledky: U 99 pacientů se vyskytlo celkem 24 (24.0 %) chirurgických komplikací. Dle etiologie jsou rozděleny na cévní, urologické a jiné. Dle doby výskytu na časné (v době potransplantační hospitalizace) a pozdní. Časné cévní komplikace se vyskytly u 6 pacientů (6.0 %), jednalo se o trombózu renální tepny u 1 (1.0 %), trombózu renální žíly u 2 (2.0 %) a krvácení vyžadující operační revizi u 3 (3.0 %). 1 krvácení bylo letální. Všechny 3 cévní trombózy si vyžádaly urgentní operaci s trombektomií a přešitím anastomózy. V obou případech žilní trombózy došlo ke ztrátě štěpu. Pozdní cévní komplikace byly zjištěny u 2 (2.0 %). Jednalo se o kinking renální tepny u 1 (1.0 %) a stenozu renální tepny u 1 (1.0 %). Oba případy byly řešeny endovaskulární intervencí. Časné urologické komplikace se vyskytly u 3 (3.0 %) a vždy se jednalo o leak ureterovesikální anastomózy. Ve 2 případech byl řešen resekci terminálního ureteru a přešitím ureterovesikální anastomózy a v 1 případě konzervativně. Pozdní urologické komplikace byly zjištěny u 5 (5.1 %) a vždy se jednalo o subrenální obstrukci. Ve 2 případech, kdy došlo k rozvoji hydronefrozy byl perkutánně zaveden stent pro trvalou drenáž. 3 případy zúženého ureteru byly řešeny dilatací stentem. Případy vesikoureterálního refluxu se řešily vždy pouze konzervativně.

Závěr: Malé počty těchto výkonů jsou důvodem k centralizaci programu se zajištěním komplexní interdisciplinární péče a spolupráce. Velmi nízká incidence chirurgických komplikací v naší sestavě potvrzuje její vysokou efektivnost.

P18. HETERODIMERIZACE SESTŘIHOVÝCH VARIANT METABOTROPNÍHO GLUTAMÁTOVÉHO RECEPTORU 1

Hájková A.^{1,2}, Techlovská Š.^{1,2}, Rafferty N.², Rulcová A.⁴, Kumpošt J.², Franková D.², Dvořáková M.^{2,3}, Blahoš J.^{1,2}

¹2LF, obor biochemie a patobiochemie; ²UMG AV ČR; ³Přírodovědecká fakulta, obor biochemie; ⁴Farmaceutická fakulta

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

Úvod: Metabotropní glutamátové receptory 1 (mGluR1) modulují excitační nervový přenos. Podmínkou jejich fungování je tvorba kovalentně spojených dimerů. Alternativním sestřihem vzniká delší mGluR1a a kratší mGluR1b. Tvorbu heterodimerních komplexů mGluR1a s mGluR1b jsme prokázali v heterologních systémech. Nyní jsme tato pozorování rozšířili také o endogenní receptory. Z našich výsledků vyplývá, že delší mGluR1a může fungovat jako chaperon pro sestřihovou variantu mGluR1b.

Cíl: Prokázat endogenní výskyt heterodimeru mGluR1a/mGluR1b.

Materiál a metody: Imunoprecipitace: solubilizace membránových proteinů 1% sodiumdodecylsulfátem sodným (SDS). Imunoprecipitace mGluR1a a mGluR1b námi vyvinutými protilátkami. Detekce metodou western blot. Konfokální fluorescenční mikroskopie: fixované vzorky primárních smíšených kultur potkaních embryonálních kortikálních a hippokampálních transfekovaných neuronů. K imunoznačení použity primární protilátky vyvinuté v naší laboratoři a k detekci sekundární protilátky s fluorescenčními značkami. Analýza na invertovaném fluorescenčním mikroskopu Leica DMI6000 s konfokálním nástavcem Leica TCS SP5 AOBS Tandem.

Výsledky: Pomocí imunoprecipitace vzorku, rozpuštěného pomocí silně denaturačního SDS, jsme prokázali endogenní výskyt heterodimeru mGluR1a/1b, přičemž obě podjednotky jsou kovalentně spojené. Například pomocí protilátky specifické proti mGluR1a jsme v precipitované frakci získali fragmenty odpovídající svou velikostí jak homodimeru mGluR1a tak heterodimeru mGluR1a/1b.

Získané výsledky jsme potvrdili také pomocí konfokální mikroskopie primárních neuronálních kultur. Zde byla patrná změna v intracelulární distribuci mGluR1b, kdy v případě overexprese pouze mGluR1b byl jeho výskyt omezen do oblasti axonu, zatímco při overexpresi obou forem receptoru byl mGluR1b výrazně zastoupen také v somatodendritické oblasti, kde kolokalizoval s mGluR1a.

Závěr: Protein mGluR1b je v rámci heterodimeru v neuronech transportován s mGluR1a.

P19. DOES RO-25-6981, A SELECTIVE BLOCKER OF NMDA RECEPTORS CONTAINING NR2B SUBUNIT, INFLUENCE CORTICAL EPILEPTIC AFTERDISCHARGES IN DEVELOPING RATS?

Szczurowska E., Mareš P.

Department of developmental epileptology, Institute of Physiology AV CR

Supervisor: Prof. MUDr. Pavel Mareš, DrSc.

Introduction: During early postnatal development, glutamatergic transmission is controlled by NMDA receptors (NMDARs) containing predominant NR2B subunit. The elevated excitation allows the neonatal brain to develop quickly but it also makes it highly prone to age-specific seizures.

Aims: It has been reported that blockade of NMDARs can suppress epileptic seizures, therefore we investigated effects of administration of Ro-25-6981, (aR,bS)-a-(4-Hydroxyphenyl)-b-methyl-4-(phenylmethyl)-1-piperidinepropanol maleate, a selective antagonist of NMDARs containing NR2B subunit on cortical epileptic afterdischarges (ADs) in developing rats.

Materials and Methods: Experiments were carried out in male Wistar rats at the age of postnatal day (P) 12, 18 or 25. ADs were elicited by six subsequent series of biphasic rectangular pulses of 1 ms duration and 8 Hz frequency. Ro-25-6981 was injected 10 min after first ADs in a dose of 1 and 3 mg/kg, control animals received saline in a volume of 1 ml/kg. Changes in duration of ADs were evaluated.

Results: Duration of ADs in control 12-day-old animals exhibited progressive prolongation with repeated stimulations. It was not influenced by 1-mg/kg dose of Ro-25-6981. On the other hand the 3-mg/kg dose resulted in a suppression of this progressive prolongation of ADs. Both 18- and 25-days-old rats did not exhibit progressive prolongation and duration of ADs was not affected by either dose of Ro-25-6981.

Conclusions: Ro-25-6981 exhibits protective effects against prolongation of ADs elicited in the youngest, 12-day-old group of rats but do not have any influence on ADs duration in 18- and 25-day-old rat pups.

Support: This study was supported by a grant No: 200 107 (project no: 102 709) of the Grant Agency of Charles University.

P20. A DEFICIENCY OF ALPHA-SYNTROPHIN, THE ANCHORING PROTEIN OF AQUAPORIN-4, AFFECTS CELL SWELLING INDUCED BY HYPOOSMOSIS, MILD HYPERKALEMIA OR ANOXIA

Cicanič M.^{1,2}, Dmytrenko L.^{1,2}, Vargová L.^{1,2} and Syková E.^{1,2}

¹Department of Neuroscience, Charles University, 2nd Faculty of Medicine; ²Department of Neuroscience, Academy of Sciences, Institute of Experimental Medicine

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

Introduction: The astroglial water channel aquaporin-4 (AQP4) plays an important role in maintaining ionic and osmotic homeostasis in the brain extracellular space (ECS). Its association with α -syntrophin makes α -syntrophin knock-out mice (α -syn^{-/-}) a useful model for studying the function of AQP4.

Aims: The aim of our study was to investigate the effect of α -syntrophin deficiency on ECS volume and geometry in experimental models of brain cell swelling.

Materials and Methods: We used the real-time iontophoretic method to measure the ECS diffusion parameters volume fraction α (α =ECS volume/total tissue volume) and tortuosity λ (λ 2=apparent diffusion coefficient/free diffusion coefficient) in the somatosensory cortex of 3-month-old α -syn^{-/-} and wild type (wt) mice. As experimental models of cell swelling, the application of hypotonic (250 mOsmol/l) or hyperkalemic (10 mM K⁺) solution was used in vitro and terminal ischemia/anoxia in vivo.

Results: Control values of α were significantly higher in α -syn^{-/-} than in wt mice (0.23 ± 0.01 , $n=7$ vs. 0.21 ± 0.01 , $n=6$ and 0.21 ± 0.01 , $n=10$ vs. 0.19 ± 0.01 , $n=16$, in vivo and in vitro, respectively) with no significant difference in tortuosity, which was about 1.5 in vitro and 1.6 in vivo. During hypotonic superfusion, the absolute values of α reached lower minimum values in wt than in knock-out mice (0.13 ± 0.01 , $n=9$ and 0.16 ± 0.01 , $n=5$, respectively); however, the relative decreases from control values were not significantly different. During 10 mM K⁺ perfusion, both absolute and relative decreases in α were larger in wt mice (0.09 ± 0.01 , 49%, $n=5$) than in knock-outs (0.15 ± 0.01 , 76%, $n=6$). The maximum tortuosity increase (to about 1.6) was similar during hypotonic or hyperkalemic application and did not differ between the groups. Terminal ischemia/anoxia induced a more pronounced decrease in α in wt (0.09 ± 0.01 , 45%, $n=6$) than in α -syn^{-/-} animals (0.12 ± 0.01 , 52%, $n=7$); however, the final values of λ were significantly lower in wt than in α -syn^{-/-} mice (2.09 ± 0.08 , $n=6$ and 2.25 ± 0.01 , $n=7$, respectively).

Conclusions: We conclude that AQP4 contributes to cell-swelling associated changes in ECS volume that affect the concentration of neuroactive substances and that α -syn deficiency is a protective factor during brain edema.

Support: The study was supported by the grants: AV0Z50390703, GA309/09/1597, GAP303/11/2378, P304/12/G0691.

P21. CONSERVATIVE TREATMENT TEMPOROMANDIBULAR JOINT DISORDERS EVALUATION

Hlíňáková P.¹, Dostálová T.¹, Navrátil L.², Kroulíková V.¹, Bučková M.¹

¹Department of pediatric dentistry 2. LF and FN Motol; ²THERAP THILLIA

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

Introduction: The development of the disorders of the temporomandibular joint (TMD) is nowadays based on multifactorial theory - the diseases' development is involved in more than one mechanism. Therefore, the most frequent area of dealing with this topic today is focused on diagnosis and its most effective therapy. Nearly half of the population has difficulties with this joint, patient suffer from one of the most common symptoms, but only 15 per cent of patients seek medical attention. Accurate measurement, early diagnosis and classification of disorders of TMK as evaluation of available treatments, can significantly increase the effect of the therapy of patients suffering from any disorders of TMJ.

Aims: The aim of the communication is to evaluate the results in the treatment of disease of the temporomandibulárního joint.

Materials and Methods: The set of 115 patients was created during the study, who underwent initial preoperative examination consisting of history, clinical examination, radiographic examination and analysis of joint tracs and cephalometric analysis. Based on the results of the examinations, patients were divided into 7 groups according to the used therapy. The basic therapy was the conservative one. When the conservative one was unsuccessful a surgical treatment was used. The most common symptom in patients with disorders of the temporomandibular joint are pain and limited mouth opening. The evaluation focuses of these two criteria manly the presence of pain before and after the therapy and the mouth opening before and after therapy.

Results: The results we obtained showed that conservative therapy was successful in 94 %. Only 6 % of patients were indicated for surgical treatment. During physical therapy a significant pain relief and improved mouth opening was found.

Conclusions: It is known that the TMD are caused by number of factors that could be summarised under the term civilization illness. That is why so many patients suffer from these problems. Accurate measurement, early diagnosis and classification of disorders of TMK as evaluation of available treatments, can significantly increase the effect of the therapy of patients suffering from any disorders of TMJ.

Support: Research was created with the support of IGA MZCR .9902-4.

P22. ROLE DIHYDROFOLÁTREDUKTÁZY PŘI HYPOXICKÉM POŠKOZENÍ PLICNÍCH CÉV

Havlenová T., Novák V., Herget J.
Ústav fyziologie 2. LF UK

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Úvod: Hypoxická plicní hypertenze je vyvolána radikálovým poškozením stěny prealveolárních plicních cév. Klíčovou roli v tomto procesu hraje rovnováha produkce NO a superoxidu. Methotrexát inhibicí enzymu dihydrofolátreduktázy snižuje biologickou dostupnost aktivního (neoxidovaného) tetrahydrobiopterinu, kofaktoru NO syntázy, a tím i schopnost NO syntázy produkovat NO (odpřažení NO syntázy).

Cíl: Zjistit, zda inhibice dihydrofolátreduktázy ovlivní produkci NO při expozici chronické hypoxií, a zda možný deficit NO ovlivní akutní hypoxickou plicní vazokonstrikci.

Materiál a metody: Dvě skupiny dospělých samců laboratorních potkanů kmene Wistar (skupina H, n=7 a MH, n=8) byly po dobu 14 dnů vystaveny ventilační hypoxii v izobarické komoře ($FiO_2=0,1$). Kontrolní skupina N, n=8 pobývala v normoxii. Zvířata skupiny MH dostala celkem 4x s odstupem 48 hod 2 mg/kg methotrexát i.p. Množství NO ve vydechovaném vzduchu bylo stanovováno chemiluminiscenčním analyzátozem. Byla měřena akumulace NO v celotělovém pletismografu. Velikost hypoxické plicní vazokonstrikce byla studována na preparátu izolovaných plic perfundovaných konstantním průtokem solným roztokem s albuminem. Byl měřen střední arteriální krevní tlak v plicnici. Plíce byly ventilovány normoxickou směsí plynů (21 % O_2 + 5 % CO_2 + N_2). Hypoxická plicní vazokonstrikce byla vyvolána 10 min trvající ventilací hypoxickou směsí (0 % O_2 + 5 % CO_2 + N_2). Velikost hypoxické plicní vazokonstrikce byla studována před a po inhibici NO syntázy (L-NAME 5.10-5 M).

Výsledky: Množství NO ve vydechovaném vzduchu bylo u zvířat vystavených hypoxii (H) větší než u normoxických kontrol (N, $P<0.001$). Podání methotrexátu signifikantně snížilo produkci NO u hypoxických zvířat ($P<0.002$, $H = 8,9$, $SE = \pm 0,7$, $MH = 6,2$, $SE = \pm 0,2$ a $N = 5,1$, $SE = \pm 0,6$ ng/min/kg). Podání methotrexátu signifikantně neovlivnilo podíl chronickou hypoxií uvolněného NO na velikosti hypoxické plicní vazokonstrikce.

Závěr: Inhibice dihydrofolátreduktázy methotrexátem snižuje schopnost NO syntázy produkovat NO (odpřažení NO syntázy). Snížená produkce NO neovlivnila velikost hypoxické plicní vazokonstrikce. Možným vysvětlením je zvýšení produkce superoxidu odpřaženou NO syntázou. Odpřažení NO syntázy se může podílet na patogenezi hypoxické plicní hypertenze.

P23. PREVALENCE METABOLICKÉHO SYNDROMU A ATEROSKLERÓZY U PACIENTŮ S PSORIÁZOU

Stránská J.¹, Jůzlová K.¹, Göpfertová D.², Hercogová J.¹

¹Dermatovenerologická klinika NNB Praha; ²Ústav epidemiologie II. LF UK Praha

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 choroby (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, celiakie), dále se u psoriatiků častěji vyskytuje metabolický syndrom, ateroskleróza a psychologicko-psychiatrické obtíže. Představujeme předběžné výsledky vyplývající z porovnání 80 pacientů s chronicky stacionární formou psoriázy a 168 kontrol. V budoucnu plánujeme do studie zařadit 200 případů a 400 kontrol.

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

Materiál a metody: Projekt má design studie případů a kontrol. Případy i kontroly jsou vybírány z ambulantních a hospitalizovaných pacientů Dermatovenerologické kliniky NNB a 2. LF UK.

U každého subjektu vyšetřujeme: krevní tlak, glykémii, lipidogram. Dále zaznamenáváme věk, pohlaví a u pacientů s psoriázou také BSA (body surface area) a PASI (psoriatic severity index).

Výsledky: Z výsledků naší studie jsou patrné rozdíly mezi pacienty s psoriázou a kontrolní skupinou v několika sledovaných parametrech. V případě systolického a diastolického tlaku, obvodu pasu, váhy, BMI, leukocytů a HDL cholesterolu rozdíly dosahují hladinu statistické významnosti ($p < 0.05$). Binární logistická regrese ukazuje statisticky významnou asociaci psoriázy a diastolického tlaku, BMI a kouření.

Závěr: Asociované choroby s psoriázou výrazně zhoršují kvalitu života pacientů, doposud nebyla tato problematika výrazněji sledovaná, nebyla podobná studie v ČR uskutečněna a nebyl sestaven soubor preventivních opatření.

Pokud výsledky projektu prokáží, že přítomnost studovaných 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 zánětlivých těchto onemocnění u pacientů s psoriázou.

Podpora projektu: Výzkumný projekt je podporován Grantovou agenturou Univerzity Karlovy – grant č. 110410 a Českou akademií dermatovenerologie.

P24. VÝSLEDKY KONZERVATIVNÍ LÉČBY PACIENTŮ S PORUCHAMI TEMPOROMANDIBULÁRNÍHO KLOUBU

Hlíňáková P.¹, Dostálová T.¹, Navrátil L.², Kroulíková V.¹, Bučková M.¹

¹Dětská stomatologická klinika 2. LF a FN Motol; ²THERAP THILLIA, ambulantní oddělení v oboru fyzioterapie a komplexní léčebné rehabilitace, Praha

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

Úvod: Vznik onemocnění temporomandibulárního kloubu (TMK) vychází v současné době z multifaktoriální teorie – na vzniku onemocnění se podílí více než jeden mechanismus. Proto nejčastější oblastí zabývající se touto problematikou je dnes zaměřena na diagnostiku a na ní navazující nejúčinnější terapii. Bez mála polovina populace má obtíže s tímto kloubem projevujícím se minimálně jedním z nejčastějších příznaků, ovšem odborné ošetření vyhledá jen kolem 15 % pacientů. Přesná měření, včasná diagnostika a klasifikace poruch TMK stejně jako kontrola léčby, může výrazně zvýšit účinek terapie pacientů trpících některou s poruch TMK.

Cíl: Cílem sdělení je zhodnotit výsledky při léčbě onemocnění temporomandibulárního kloubu.

Materiál a metody: Během studie byl vytvořen soubor 115 pacientů, kteří podstoupili vstupní předoperační vyšetření skládající se z anamnézy, klinického vyšetření, rentgenologického vyšetření a analýza kloubních drah spolu s kefalometrickou analýzou. Na základě získaných výsledků jednotlivých vyšetření byli pacienti rozděleni do 7 skupin, dle použité terapie. Základem léčby byla konzervativní terapie. Při neúspěšné konzervativní terapii je metodou volby léčba chirurgická. Nejčastější obtíží u pacientů s poruchami temporomandibulárního kloubu je bolest a omezené otvírání úst. Úspěšnost léčby se zaměřila na hodnocení těchto dvou kritérií a to, přítomnosti bolesti před léčbou a po jejím ukončení a maximální možný rozsah otvírání úst před terapií a po ní.

Výsledky: Z námi získaných výsledků je patrné, že konzervativní terapie byla úspěšná v 94 % léčených pacientů. Pouze u 6 % pacientů byla indikována chirurgická léčba. Během fyzioterapie dochází k výraznému ústupu bolesti a zlepšení otvírání úst.

Závěr: Je známo, že na vzniku onemocnění TMK se podílí celá řada faktorů, které by se daly shrnout pod pojem civilizační, proto je problematika stanovení diagnózy a následná léčba aktuální a týká se stále většího počtu pacientů. Přesná klasifikace poruch temporomandibulárního kloubu a s tím související jasné determinované terapeutické postupy jsou základem k úspěšné léčbě pacienta.

Podpora projektu: Výzkum vznikl za podpory IGA MZCR 9902-4.

P25. ADIPOPHILIN LEVELS IN HUMAN COLOSTRUM AND FULL BREAST MILK

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

¹Department of Paediatrics, University Hospital Motol, Prague; ²Department of Human Pharmacology and Toxicology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno

Supervisor: Jiri Bronsky, MD, 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. This was the first study detecting adipophilin by ELISA method.

Support: Supported by grant VZ 64203/6903

P26. PREVALENCE ZÁNĚTLIVÝCH GASTROINTESTINÁLNÍCH CHOROB U PSORIATIKŮ A MOŽNOSTI JEJICH VČASNÉ DIAGNOSTIKY

Jůzlová K.¹, Stránská J.¹, Göpfertová D.², Hercogová J.¹

¹Dermatovenerologická klinika NNB Praha; ²Ústav epidemiologie II.LF UK Praha

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 choroby (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, celiakie), dále se u psoriatiků častěji vyskytuje metabolický syndrom, ateroskleróza a psychologicko-psychiatrické obtíže. Představujeme předběžné výsledky vyplývající z porovnání 80 pacientů s chronicky stacionární formou psoriázy a 168 kontrol. V budoucnu plánujeme do studie zařadit 200 případů a 400 kontrol.

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

Materiál a metody: Projekt má design studie případů a kontrol. Případy i kontroly jsou vybírány z ambulantních a hospitalizovaných pacientů Dermatovenerologické kliniky NNB. Do kontrolní skupiny zařazujeme pacienty s běžnými dermatózami s výjimkou autoimunitních a chronických onemocnění.

U každého subjektu vyšetřujeme: ASCA (protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae*), AEP (protilátky proti acinárním buňkám zevně sekretní části pankreatu), p-ANCA (perinukleární protilátky proti neutrofilním granulocytům), AGC (protilátky proti pohárkovým buňkám), EMA (protilátky proti endomysiu), ARA (protilátky proti retikulinu), tTG (protilátky proti tkáňové transglutamináze), AGA (protilátky proti gliadinu), krevní obraz, hladinu sérového železa, celkovou bílkovinu, CRP.

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

Závěr: Asociované choroby s psoriázou výrazně zhoršují kvalitu života pacientů, doposud nebyla tato problematika výrazněji sledovaná, nebyla podobná studie v ČR uskutečněna a nebyl sestaven soubor preventivních opatření.

Pokud výsledky projektu prokáží, že přítomnost studovaných rizikových faktorů 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.

Podpora projektu: Výzkumný projekt je podporován Grantovou agenturou Univerzity Karlovy – grant č.110410 a Českou akademií dermatovenerologie.

P27. MARKER CHROMOZOM DVOJÍ TVÁŘE

Tesner P.¹, Mihalová R.², Baxová A.², Zimanová V.¹, Drábová J.¹, Kočárek E.¹

¹Ústav biologie a lék. genetiky UK 2. LF a FNM; ²Ústav biologie a lék. genetiky 1. LF UK a VFN

Školitel: as. RNDr. Eduard Kočárek, Ph.D.

Úvod: Marker chromozomy (small supernumerary marker chromosomes – sSMC) jsou malé nadpočetné chromozomy nalézané cca u jednoho z 2000 lidí (bez ohledu na pohlaví, etnikum atd.). U většiny nosičů nemají sSMC žádné klinické projevy, přesto je ve větší míře nacházíme u osob s poruchami fertility (zvláště u mužů), s mentální retardací, anebo s vrozenými vývojovými vadami. Velmi časté (více než 2/3 případů) jsou nálezy sSMC v mozaice. Molekulárně cytogenetická diagnostika sSMC umožňuje zpřesnit odhad možného účinku na fenotyp jedince u prenatalních vyšetření, popř. vztah k fenotypovým abnormalitám u již narozené osoby.

Cíl: Naše práce dokumentuje na zajímavém případě sSMC v mozaice možnosti molekulárně cytogenetické diagnostiky sSMC. Prezentujeme kazuistiku postnatálně identifikovaného sSMC, kdy stejné vyšetření téhož marker chromozomu poskytlo ve dvou vzorcích od téže pacientky poněkud odlišný výsledek.

Materiál a metody: Pacientkou je 17letá dívka, žačka zvláštní školy, od narození sledovaná pro neprospívání a metabolické poruchy. Standardním G-pruhováním u ní byl stanoven mozaikový karyotyp 47,XX,+r/46,XX, přičemž podíl buněk se sSMC byl odhadnut na 15 %. K analýze metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) jsme použili kultivované lymfocyty (z odběrů v letech 2005 a 2010). Původ sSMC jako der(1) jsme objasnili mnohobarevnou FISH (multicolor FISH). K mapování rozsahu sSMC a k ověření poměrů v mozaice jsme provedli standardní FISH se sondami specifickými pro chromozom 1, resp. pro jeho pericentromerickou oblast (1q12 / D1Z1).

Výsledky: Při vyšetření chromozomů z prvního vzorku (2005) periferní krve byl nadpočetný chromozom patrný jako drobný sSMC okrouhlého tvaru, který byl plně pokryt signálem sondy pro heterochromatin chromozomu 1. Vyšetření chromozomů z pozdější kultivace (2010) ukázalo, že jde o ring-chromozom, který však obsahuje mimo heterochromatinu i poměrně velký úsek pravděpodobného euchromatinu. Protože se sSMC vyskytuje v mozaice o nízké frekvenci (podle FISH asi 10%) nebylo možné jeho rozsah dále upřesnit.

Závěr: Výsledek potvrzuje nutnost zachovat značnou diagnostickou obezřetnost při interpretaci analýz marker chromozomů metodou FISH: sSMC tvořené výhradně heterochromatinem mají obecně lepší prognózu než sSMC s obsahem euchromatinu, což je právě hlavním dilematem při obdobném nálezu jako uváděný případ. Analýza FISH neposkytne vždy jasný výsledek, ale může být cenným doplňkem dalších vyšetření jako např. array-CGH.

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

P28. KLINICKÁ A MOLEKULÁRNÍ CHARAKTERIZACE SYNDROMŮ S DEREGLACÍ RAS/MAPK SIGNALIZACE U PACIENTŮ V ČR

Žmolíková M.¹, Baxová A.², Puchmajerová A.¹, Seemanová E.¹, Simandlová M.¹, Křepelová A.¹

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

Školitel: MUDr. Anna Křepelová, CSc.

Úvod: Noonanové syndrom, Costello syndrom, kardiofaciokutánní syndrom (CFC syndrom) a syndrom LEOPARD jsou autosomálně dominantně dědičné syndromy charakterizované podobnými dysmorfickými rysy, srdeční vadou, muskulokutánními anomáliemi, růstovou retardací a různě závažným neurokognitivním deficitem. U pacientů trpících těmito syndromy bylo zjištěno zvýšené riziko vzniku nádorů (JMML, neuroblastom, embryonální rhabdomyosarkom, karcinom močového měchýře). U novorozenců a kojenců nemusí být charakteristické rysy toho kterého syndromu plně vyjádřeny, což značně znesnadňuje klinickou diagnózu.

Tato skupina syndromů je způsobena deregulací RAS/MAPK signalizace v důsledku zárodečných mutací genů HRAS, KRAS, BRAF, MEK1/2, PTPN11, SOS1, RAF1 a NRAS. Proteiny RAS/MAPK signalační kaskády hrají velmi důležitou roli v buněčné proliferaci, diferenciaci, stárnutí a smrti buněk. Syndromy dostaly společný název RASopathie.

Cíl: Cílem projektu je zpřesnit a zrychlit diagnostiku a diferenciální diagnostiku uvedených syndromů využitím metod DNA analýzy a tím zlepšit komplexní péči o tyto nemocné a jejich rodiny.

Materiál a metody: Do vyšetřovaného souboru byli zařazeni pacienti doporučení klinickými genetiky po provedení podrobného klinicko – genetického vyšetření. Pacientům byla odebrána žilní krev, z leukocytů periferní krve byla izolována DNA a poté provedena mutační analýza kauzálních genů metodou přímého sekvenování PCR produktu. Odběr byl proveden jen se souhlasem pacienta nebo jeho zákonného zástupce.

Výsledky: Dosud bylo celkem na našem pracovišti vyšetřeno 25 pacientů z 16 rodin. V sedmi případech byly použitými molekulárně – genetickými metodami detekovány patogenní varianty, které jsou dle současných poznatků považovány za molekulární příčinu RASopathií. Byly detekovány tři mutace v genu PTPN11, dvě mutace v genu SOS1, jedna mutace v genu RAF1 a jedna mutace v genu HRAS. V jednom případě dcera zdělila patogenní variantu od otce. Mutace u ostatních dětí vznikly s největší pravděpodobností de novo.

Závěr: Hlavním cílem práce je získat nové poznatky o molekulární podstatě, fenotypu a genotypicko-fenotypické korelaci uvedených syndromů u nemocných v ČR. Velmi podobné klinické rysy a rozmanitost fenotypů činí klinickou diagnostiku syndromu Noonanové, CFC, Costello a LEOPARD velmi náročnou, a to obzvláště u kojenců a dětí v batolecím věku. Molekulárně genetické diagnostické metody představují vysoce informativní prognostický prostředek, který upřesní a zkrátí diagnostiku těchto syndromů.

Podpora projektu: Podpořeno VZFM2005.

P29. BIOCHEMICKÉ ASPEKTY ČASNÉHO PRIMÁRNÍHO UZÁVĚRU ROZŠTĚPU RTU

Kašparová M.¹, Bláha K.², Dostálová T.¹

¹Dětská stomatologická klinika FN Motol; ²Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol

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

Úvod: Rozštěp rtu samostatný nebo v kombinaci s rozštěpem patra je jednou z nejčastějších vrozených vývojových vad s incidencí 1:700 – 1:1000. Incidence se liší u jednotlivých ras a vykazuje i regionální rozdíly. V současné době je diskutováno zejména načasování chirurgické korekce rozštěpu rtu. Takzvaný časný primární uzávěr rozštěpu rtu podstupují pacienti co nejdříve po porodu na rozdíl od klasického protokolu, kdy se k chirurgické korekci rozštěpu rtu přistupuje až ve 3 měsících věku dítěte.

Cíl: Cílem naší studie bylo analyzovat extracelulární matrix, matrixové metaloproteinázy a jejich tkáňové inhibitory ve vzorcích tkáně získaných při časně primární korekci rozštěpu rtu a stanovit, zda aktivita biochemických markerů ovlivňuje výsledek chirurgické korekce v brzkém věku pacienta, zejména vznik jizvy.

Materiál a metody: Studijní skupina byla tvořena 118 pacienty, kteří v průběhu posledních 5 let podstoupili primární rekonstrukci rozštěpu rtu na oddělení maxillofaciální chirurgie FN Motol. Chirurgická korekce byla provedena v průměru 48 hodin po narození. Kontrolní skupinu tvořilo 38 dětí, u kterých byla provedena primární sutura rozštěpu rtu v průměru 200 dní po narození. Všichni pacienti byli operováni stejným chirurgem, modifikovanou metodou dle Tennisona. V průběhu operace byly odebrány vzorky tkáně, které byly podrobeny biochemické analýze se zaměřením na aktivitu matrix metaloproteináz a jejich tkáňových inhibitorů.

Výsledky: Statisticky významný rozdíl v koncentraci TIMP-1 byly nalezeny v podkoží. U ostatních markerů nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly ve tkáních pacientů operovaných časně a pacientů operovaných dle klasického protokolu.

Závěr: Tato studie potvrdila důležitou úlohu matrix metaloproteináz v hojení a remodelaci tkáně u pacientů s rozštěpem rtu.

P30. KLINICKÉ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ TĚHOTENSTVÍ ŽEN S DIABETEM 1. TYPU Z POHLEDU NOVOROZENCE I MATKY

Ulmannová T.¹, Bartášková D.², Špálová I.³, Štechová K.¹

¹Pediatrická klinika UK 2. LF a FN Motol Praha; ²Interní klinika UK 2. LF a FN Motol Praha;

³Gynekologicko-porodnická klinika UK 2. LF a FN Motol Praha

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

Úvod: Těhotenství komplikované diabetem 1. typu (T1D) je vždy zatížené zvýšeným rizikem. Se zlepšující se péčí o pacientky s T1D je třeba se zaměřit i na méně markantní faktory ovlivňující průběh a výsledek jejich těhotenství. Kromě standardních parametrů jako je glykovaný hemoglobin jsme sledovali i méně obvyklé klinické parametry, které byly publikovány jen raritně a ne pro českou populaci.

Cíl: Cílem studie byla podrobnější analýza méně známých faktorů ovlivňujících výsledek těhotenství žen s T1D.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto 35 těhotenství pacientek s T1D (1x dvojčata, 2x potrat, 2x úmrtí plodu). Průměrný HbA1c v jednotlivých trimestrech byl 5,9 % (4–9,8 %), 5,4 % (3,7–10 %) a 5,2 % (3,8–7,7 %). Průměrná doba trvání diabetu byla 12,8 roku (3–28 let). 18 matek bylo léčeno CSII. 11 matek trpělo nefropatií, 6 neuropatií a 12 retinopatií. Dopad na dítě byl hodnocen podle délky gestace, přítomnosti vrozených vad, Apgar skóre, novorozeneckého ikteru, hypoglykémie, hmotnosti novorozence, nutnosti dechové podpory a hospitalizace na JIP.

Výsledky: Akutní diabetické komplikace byly vzácné, ale progresi chronických komplikací během těhotenství byla pozorována u 9 matek. Vznik preeklampsie (10 případů) koreloval s diastolickým tlakem ve 2. a 3. trimestru ($p=0,036$ resp. $p=0,02$). Potvrdil se známý vztah zvýšeného HbA1c matky (ve všech trimestrech) k riziku patologie plodu a těhotenství a též zvýšené riziko těhotenství u matek trpících mikrovaskulárními komplikacemi diabetu. Kromě toho jsme však prokázali např. i význam BMI matky. Matky s vyšším BMI vykazovaly průměrně kratší dobu gestace ($p\leq 0,01$ pro 2. a 3. trim. a $p\leq 0,05$ pro 1. trim. a BMI před graviditou). Se zkrácením gestace koreloval i zvýšený tlak v 2. trim. (diastolický $p\leq 0,01$, systolický $p=0,038$). Doba trvání diabetu matky korelovala s délkou gestace (zkrácením), hodnocením porodu jako patologického a ukončením těhotenství císařským řezem ($p\leq 0,01$). Děti matek léčených CSII měly nižší porodní hmotnost ($p\leq 0,01$). 9 novorozenců mělo porodní hmotnost nad 95. percentilem a z nich pouze 2 byli matek léčených CSII.

Závěr: Pacientkám s T1D uvažujícím o těhotenství lze doporučit kromě výborné kompenzace diabetu již před těhotenstvím i úpravu hmotnosti a přechod na léčbu CSII. Zvláště zajímavý je vztah BMI k délce těhotenství, neboť se zdá, že i relativně malé zvýšení BMI nad normu zvyšuje riziko zkrácení těhotenství. Rovněž vyšší hodnota krevního tlaku v 2. trimestru varuje před hrozícím předčasným porodem.

Podpora projektu: VZ FN v Motole MZOFNM2005

P31. RIZIKOVÉ FAKTORY PRO VZNIK MALIGNÍHO MELANOMU: PILOTNÍ STUDIE V ČESKÉ REPUBLICE

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

¹Dermatovenerologická klinika NNB Praha; ²Ústav epidemiologie 2. LF UK Praha

Školitel: Doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: Maligní melanom vzniká neoplastickou proliferací buněk tvořících pigment. V ČR incidence MM stoupla za posledních 40 let více než 40krát. Toto onemocnění představuje ve většině zemí vážný zdravotní problém. Úmrtnost na melanom je extrémně vysoká. Možným snížením úmrtnosti by mohlo být zjištění správných rizikových faktorů. Proto jsme se rozhodli provést na Kožní klinice 2. LF UK a NNB případovou studii na bázi studie case-control, která by měla potvrdit důležitost a relativní důležitost známých RF melanomu v ČR. Tyto znalosti mohou být důležité pro primární i sekundární prevenci.

Cíl: Naše případová studie si klade za cíl popsat distribuci známých rizikových faktorů melanomu v ČR a určit sílu asociace mezi těmito faktory a výskytem MM. Do studie jsou vybrány případy z histol. verif. klinických nálezů, které jsou zachyceny na naší klinice, a kontrolní skupina je vybírána mezi pacienty s neonkologickým onemocněním jiným než dermatologickým, pro které jsou v dané době hospitalizováni na jiném oddělení v NNB. K zachytům MM jsou vybíráni 2 či 3 kontrolní pacienti z hlediska efektivity studie ve stejné věkové skupině ± 5 let.

Materiál a metody: Studie kontrol a případů je stanovena pomocí ověřených dotazníků: „EUROMELANOM – Vliv způsobu života a rizikové faktory pro vznik melanomu“. Mezi pokládané dotazy patří např. věk pacienta, nejvyšší dosažené vzdělání, čas během života strávený na slunci, spáleniny kůže až do vzniku puchýřů před 18. rokem života, barva vlasů, očí, kůže, návštěva solárií a další.

Výsledky: V průběhu roku 2011 jsme zjistili 33 incidentních případů MM (19 mužů a 14 žen, prům. věk 58,2 roků) a 134 kontrol (48 mužů a 86 žen, prům. věk 43,9 roků). Z našich statistických výpočtů je zřejmé, že 45,5 % z těchto pacientů mělo kožní nádor již v minulosti. Více než 20 % těchto pacientů tvrdilo, že nikdy nebo téměř nikdy nepoužili ochranný krém na opalování. Naopak 36,4 % pacientů ochranný krém vždy použilo. Celkem 87,9 % pacientů se nikdy neopalovalo v soláriích, 9,1 % naopak solárium navštívilo několikrát za rok, vždy však méně než dvacetkrát ročně. Více než 30 % pacientů již v minulosti podstoupilo vyšetření névů.

Závěr: Předkládané výsledky, jsou předběžného charakteru a přesnost daných čísel je v současné chvíli nízká. Nicméně vzhledem k dalšímu průběhu naší studie věříme v navýšení získaných pacientů a zlepšení statistických výsledků naší studie. Věříme, že řádné posouzení rizika melanomu v populaci ČR je klíčové pro zlepšení zachytu a primární prevence MM.

Podpora projektu: IGA MZ ČR č. NT 12401

P32. VYUŽITÍ GENETICKÝCH METOD V DVOUSTUPŇOVÉM NOVOROZENECKÉM SCREENINGU KONGENITÁLNÍ ADRENÁLNÍ HYPERPLAZIE

Malíková J.¹, Votava F.², Vrzalová Z.³, Lebl J.¹, Cinek O.¹

¹Pediatrická klinika 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole;

²Klinika dětí a dorostu, 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Královské

Vinohrady; ³Centrum molekulární biologie a genové terapie, Masarykova univerzita a Fakultní nemocnice Brno

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc

Úvod: Novorozenecký screening kongenitální adrenální hyperplázie (CAH) je založen na měření koncentrace 17-hydroxyprogesteronu (17OHP) v suchých kapkách krve. Specifita screeningu není optimální a jeho falešná pozitivita představuje reálnou zátěž zdravé části novorozenců opakovanými odběry krve v případě mírného (nejasného) zvýšení koncentrace 17OHP.

Cíl: Projekt dvoustupňového screeningu CAH měl za úkol ověřit možnost využití genetických metod k zjištění genotypu jedinců s mírně zvýšenou hladinou 17-OHP a snížit tak falešnou pozitivitu.

Materiál a metody: Analyzovali jsme 753 vzorků z novorozeneckého screeningu, u kterých byla zjištěna mírně zvýšená hladina 17-OHP (nad "cut-off" 20–200 nmol/l v závislosti na porodní hmotnosti), která však nedosahovala kritických hodnot svědčících pro CAH. Jako kontrolu jsme použili 70 suchých kapek se známým genotypem CAH a 181 vzorků od zdravých dětí. K detekci bodových mutací jsme sekvenovali amplikon genu CYP21A2. Fragmentovou analýzou a real-time PCR kvantifikací jsme ověřili přítomnost genu CYP21A2 u vzorků s nezdařenou amplifikací a zjišťovali poměr počtu kopií genu a pseudogenu. Poměry kopií genu a pseudogenu byly ověřeny pomocí MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

Výsledky: Gen CYP21A2 byl úspěšně sekvenován u 701 vzorků, u 670 vzorků (95 %) nebyla nalezena bodová mutace nebo nová varianta. Heterozygotní mutaci pro CAH jsme našli u 21 vzorků, dále jsme objevili 8 heterozygotní a 2 homozygotní varianty. Celkem 52 vzorků se známým genotypem bylo úspěšně sekvenováno, byly nalezeny již dříve popsane mutace. Fragmentová analýza a real-time PCR kvantifikace vyloučila homozygoty pro velkou přestavbu CYP21A2 genu v případech, kdy nebyla sekvenace úspěšná. U všech vzorků jsme také stanovili poměr genu a pseudogenu s cílem nalézt heterozygoty pro velké přestavby. Poměry genu a pseudogenu byly u vzorků s nejasně zvýšenou hladinou 17-OHP bez signifikantního rozdílu ve srovnání se skupinou zdravých dětí. MLPA byla úspěšně provedena u 137 vybraných probandů k ověření poměru kopií genu a pseudogenu.

Závěr: Pomocí sekvenace genu CYP21A2 bylo možné vyloučit CAH u 95 % vzorků, které byly na základě biochemického stanovení považovány za suspektní. Fragmentová analýza a real-time PCR kvantifikace nevedly k detekci heterozygotů pro velkou delecii či konverzi. Naše zkušenosti ukázaly, že praktické využití genetických metod v dvoustupňovém screeningu CAH je pro velkou finanční a časovou náročnost omezené.

Podpora projektu: MZ projekt IGA NS 9981-3/2008, MŠMT projekt MSM0021620814

P33. SPATIAL NAVIGATION IMPAIRMENT IS PROPORTIONAL TO RIGHT HIPPOCAMPAL VOLUME IN OLDER ADULTS WITH AND WITHOUT COGNITIVE IMPAIRMENT

Nedelská Z.^{1,2}, Laczó J.^{1,2}, Anđel R.^{2,4}, Vlček K.³, Hořínek D.^{2,5}, Lisý J.⁶, Sheardová K.², Varjassýová A.^{1,2}, Bureš J.³ and Hort J.^{1,2}

¹Memory Disorders Clinic, Department of Neurology, Motol Faculty Hospital and Charles University in Prague, 2nd Faculty of Medicine, Prague, Czech republic; ²International Clinical Research Center and St. Anne's University Hospital Brno, Czech republic; ³Department of Neurophysiology of Memory, Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech republic; ⁴School of Aging Studies, University of South Florida, Tampa, U.S.; ⁵Klinik für Neurochirurgie, Philipps-Universität Marburg, Germany; ⁶Department of Radiology, Motol Faculty Hospital and Charles University in Prague, 2nd Faculty of Medicine, Prague, Czech republic

Supervisor: Doc. MUDr. Jakub Hort, Ph.D.

Introduction: Cognitive problems in older adults are often attributed to Alzheimer's disease (AD) featured by hippocampal impairment. Among these persons, the spatial navigation deficit, indicated by poor hippocampus dependent allocentric strategy, may occur well before the onset of dementia.

Aims: 1.To determine that allocentric navigation impairment reflects reduction of right hippocampal volume irrespective of the general brain atrophy. 2.We also contrasted the respective scores of the real-space human Morris water maze (hMWM) with its virtual 2D computerized version.

Materials and Methods: We included cognitively impaired subject - patients in the mild AD (n=19, DSM IV-IR criteria for dementia, NINCDS-ADRDA for probable AD) and patients with amnesic mild cognitive impairment (aMCI, n=23, Petersen 2004) Memory impairment > 1.5 SD below the mean of age- and education-matched norms in any memory test. We included 14 age-matched cognitively intact controls. All underwent extended clinical neuropsychological testing. MRI scans (1.5T Siemens, MPRAGE sequence) and subsequent automated volumetry using FreeSurfer (v4.4.0) to measure total brain, right and left hippocampal volumes.

Results: We found that smaller right hippocampal volume was associated with poorer navigation performance in the real-space (Beta=-0.62, p<.001) and virtual (Beta=-0.43, p=.026) versions, controlling for demographic variables, total brain and left hippocampal volumes, particularly when cognitive impairment was present. The respective real-space and virtual scores strongly correlated with each other. (p<.001, r=.83).

Conclusions: The results underline the importance of the right hippocampus for allocentric navigation. The relevance of the right hippocampus for real-space navigation was particularly prominent in cognitively impaired patients. Our hMWM tests can serve as a reliable early diagnostic tool.

Support: GAČR 309/09/1053 and 309/09/0286, European Regional Development Fund – Project FNUSA-ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123), GAUK 74308

P34. KOGNITIVNÍ DEFICIT VE VZTAHU KE STRANĚ UZAVŘENÉ VNITŘNÍ KAROTIDY

Urbanová B.¹, Varjassyová A.¹, Pulkrábková A.², Ostrý S.³, Laczóz J.¹, Netuka D.³, Hořínek D.³, Beneš V.³, Bojar M.¹, Tomek A.¹, Hort J.¹

¹Neurologická klinika, Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Motole, Praha; ²Oddělení psychologie, Ústřední vojenská nemocnice, Praha; ³Neurochirurgická klinika, Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Ústřední vojenská nemocnice, Praha

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

Úvod: U pacientů s uzavřením vnitřní karotidy (ICA) dochází k rozvoji kognitivního deficitu.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnotit míru kognitivního deficitu u pacientů s jednostrannou okluzí ICA ve srovnání se zdravými kontrolami, a zjistit souvislost strany okluze s výkonem v kognitivních testech specifických pro dominantní a nedominantní hemisféru.

Materiál a metody: Pacienti s okluzí ICA i kontroly byli vyšetřeni čtyřmi neuropsychologickými testy zaměřenými na funkce dominantní (jazykové) a čtyřmi na funkce nedominantní hemisféry (vizuospaciální). Průměrná testová skóre byla srovnávána mezi pacienty a kontrolami a dále mezi stranami okluze.

Výsledky: Vstupní kritéria splnilo 18 praváků s okluzí ICA (10 vlevo, 8 vpravo). Okluze byla u 9 asymptomatická, u 9 symptomatická (TIA). Bylo zahrnuto 18 kontrol odpovídajících pohlavím a věkem. Nenalezli jsme rozdíl mezi pacienty a kontrolami ($p > 0.1$), kromě nesignifikantního trendu v testu Visual Object Space Perception ($p = 0.09$). U pravostranných okluzí byl ve srovnání s levostrannými nesignifikantní trend k horšímu výkonu v testu Faces Recognition zaměřeného na nedominantní hemisféru ($p = 0.099$).

Závěr: Studie neprokázala významný kognitivní deficit u jednostranné okluze ICA ani vztah většiny hemisferálně specifických kognitivních testů ke straně okluze. Byl patrný trend k většímu poškození vizuospaciálních funkcí ve srovnání s jazykovými funkcemi v nedominantní hemisféře.

Podpora projektu: IGAS10331-3, GAUK 347711.

POZNÁMKY

POZNÁMKY