



2. LÉKAŘSKÁ
FAKULTA
UNIVERZITA
KARLOVA

Vědecká konference

1.—2. 10. 2020

2. LF UK, Velká posluchárna

čt 1. 10. — 10.00

Jan Royt

Smrt a její reflexe
ve výtvarném umění

pá 2. 10. — 10.00

Jiří Neužil

Mitochondrie jako nový
cíl léčby rakoviny

čt 1. 10. — 13.20

**Od mediků
pro mediky**

Jakub Hurych,
Pavel Dřevínek

Křest knihy

LÉKAŘSKÁ
MIKROBIOLOGIE
repetitorium

pá 2. 10. — 12.15

EKG:

O Lásce a Prostoru

Motolské vydání
legendárního **literárního**
kabaretu Igora Malijevského
a Jaroslava Rudiše.

Host: architekt a herec
David Vávra

Vyzvání řečníci

Přemysl Jiruška
Petr Libý
Lenka Petruželková
Ondřej Novák

**Další informace
a posterová galerie**



Vědecký výbor: Jan Zuna (předseda), Barbora Fišárková, Jakub Hort,
Michal Rygl, Zdeněk Šumník, Lýdia Vargová, Josef Zámečník, Marie Žaloudíková

Vědecká konference

program



ČTVRTEK

1. října
10.00

Oficiální zahájení

Vladimír Komárek, děkan 2. LF UK

Jan Trka, proděkan pro vědu a výzkum 2. LF UK

10.10
12.00

Sekce Antonína Důry^{1. přednášková}

Předsedající: Vladimír Komárek, Štěpánka Průhová

10.10
🕒 45'

Hlavní host
Jan Royt

Smrt a její reflexe
ve výtvarném umění

O—01

BEZLEPKOVÁ DIETA U DĚTÍ S NOVĚ MANIFESTOVANÝM DIABETEM 1. TYPU: DVANÁCTIMĚSÍČNÍ INTERVENČNÍ STUDIE

Pomáhá bezlepková dieta dětem s diabetem 1. typu?

Neuman V. (1), Průhová Š. (1), Kulich M. (2), Koloušková S. (1), Vosáhlo J. (3), Romanová M. (3), Petruželková L. (1), Obermannová B. (1), Funda D. P. (4), Cinek O. (1), Šumník Z. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha, 2 – Oddělení pravděpodobnosti a matematické statistiky MFF UK, Praha, 3 – Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha, 4 – Oddělení gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha a Nový Hrádek

Školitel: Zdeněk Šumník

O—02

NK19 BUŇKY JAKO NOVÁ VÝVOJOVÁ VĚTEV PRO KONVENČNÍ NK BUŇKY A DRUHÁ ŠANCE PRO NĚKTERÉ B LYMFOCYTY

Přepište dějiny a učebnice imunologie!

Pelák O., Rejlová K., Svatoň M., Nováková M., Wali M., Froňková E., Hrušák O., Kalina T.

Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Školitel: Tomáš Kalina

O—03

DIAGNOSTIKA ZÁVAŽNÝCH ANOREKTÁLNÍCH
MALFORMACÍ – NOVÉ MOŽNOSTI ZOBRAZENÍ A JEJICH VÝTĚŽNOST

Chybějící řitní kanál — nové pohledy na radiodiagnostiku ARM

Maslava D. (1), Holubová Z. (1), Kynčl M. (1), Poš L. (2), Škába R. (2)

1 – Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, 2 – Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Martin Kynčl

11.39

🕒 15'

Vyzvaný řečník

Přemysl Jiruška

.....

Možnosti léčby farmakorezistentní
epilepsie v blízké budoucnosti

Sekce výpravčího Hubičky posterová

.....

Superpředseda: Tomáš Kalina

Předsedající: M. Žaloudíková, M. Krůtová, M. Nováková,

12.00

13.20

K. Škvárová, K. Fišer, M. Hančárová, Z. Blechová, D. Kachlík

Postery › **P—01 až P—42**

Občerstvení

posterová sekce
přesunuta na web
Vědecké konference

13.20

Sekce dědy Komárka 2. přednášková

.....

Předsedající: Jan Zuna, Petra Laššuthová

13.20

🕒 15'

Od mediků pro mediky

Jakub Hurych,
Pavel Dřevínek

Křest knihy

Lékařská mikrobiologie
repetitorium

O—04

PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION OF NG2-glia FOLLOWING
DIFFERENT TYPES OF BRAIN DISORDERS

Heterogeneity of NG2-glia following different types of brain disorders

Belov Kirdajova D. (1, 2), Valihrach L. (3), Kročianova D. (1), Filipi T. (1, 2), Koleničová D. (1, 2), Turečková J. (1), Kriska J. (1), Androvič P. (3) and Anderova M. (1, 2)

1 – Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic; 2 – Department of Neuroscience, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Czech Republic; 3 – Laboratory of Gene Expression, Institute of Biotechnology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: Miroslava Anderová

O—05

ZMĚNA KOMPENZACE DIABETU PO ZAVEDENÍ HYBRIDNÍ
UZAVŘENÉ SMYČKY ANDROIDAPS: RETROSPEKTIVNÍ STUDIE
U DĚTÍ S DIABETEM 1. TYPU

Nahradí AndroidAPS diabetology?

Pavlaína Jiráňová, Zdeněk Šumník, Štěpánka Průhová, Barbora Obermannová, Stanislava Koloušková, Lenka Petruželková

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a FN v Motole, Praha

Školitel: Zdeněk Šumník

O—12

THE EFFECT OF MICROENVIRONMENT ON L-ASPARAGINASE
TREATMENT IN LEUKEMIA CELLS

Dealing (with) drugs in the bone marrow

Alquézar-Artieda N. (1, 2), Kavan D. (3), Pecinová A. (4), Hložková K. (1, 2), Žaliová M. (1, 2), Mráček T. (4), Novák P. (3), Trka J. (1, 2) and Starková J. (1, 2)

1 – CLIP – Childhood Leukemia Investigation Prague, 2 – Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 – Laboratory of Structural Biology and Cell Signaling, Institute of Microbiology, Academy of Science of the Czech Republic, Prague, Czech Republic, 4 – Department of Bioenergetics, Institute of Physiology of the Czech Academy of Science, Prague, Czech Republic.

Supervisor: Júlia Starková

miniO—01

UNIKÁTNÍ BIOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY RADIOTERAPIÍ
INDUKOVANÝCH GLIOMŮ

„Dobrá služba a zlý pán“

Váňová K. (1, 2), Vícha A. (1), Krsková L. (3), Zámečník J. (3), Malinová B. (5), Sumerauer D. (1, 2), Mišove A. (1, 2), Libý P. (4) Zápotocký M. (1, 2)

1. Prague Brain Tumor Research Group; 2. Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol; 3. Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol; 4. Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol; 5. Radioterapeutické oddělení 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Michal Zápotocký

miniO—02 / pregraduální student

URČOVÁNÍ ZMĚN POČTU CHROMOZOMÁLNÍCH KOPIÍ POMOCÍ RNA-SEQ SE ZAMĚŘENÍM NA DĚTSKOU AKUTNÍ LYMFOLASTICKOU LEUKÉMIÍ

Jak na karyotyp? Mikroskop a lidské oko nebo RNA-seq a umělá inteligence?

Bařinka J. (1, 2), Gu Z. (2), Mullighan C. G. (2)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol; 2 – St. Jude Children's Research Hospital, Department of Pathology

Školitel: Zhaohui Gu

miniO—03

MÍRNÁ BEHAVIORÁLNÍ PORUCHA A JEJÍ ASOCIACE S ATROFIÍ MOZKOVÝCH STRUKTUR U PACIENTŮ S KOGNITIVNÍMI STÍŽNOSTMI BEZ SYNDROMU DEMENCE

Jsou změny chování ve stáří časným projevem Alzheimerovy nemoci?

Matušková V. (1), Nikolai T. (1, 2), Marková H. (1), Čechová K. (1), Nedelská Z. (1), Lerch O. (1), Ismail Z. (3), Laczó J. (1), Hort, J. (1), Vyhnálek M. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Neurologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha, 3 – University of Calgary, Cumming School of Medicine, Calgary, AB, Canada

Školitel: Martin Vyhnálek

miniO—04

POROVNÁNÍ LOKALIZACE SENZORICKÉ OBLASTI PRO RUKU POMOCÍ SEP ZE SKALPOVÉHO A INTRAKRANIÁLNÍHO EEG

Co nám intrakraniální EEG říká o vzdálených zdrojích?

Kalina A. (1), Hammer J. (1), Fábera P (1)., Ježdík P. (2), Marusič P. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol; 2 – Katedra měření, FEL, ČVUT

Školitel: Petr Marusič

14.42



Vyzvaný řečník

Petr Libý



2020: přístup k nízkostupňovým gliomům dětí v Motole

PÁTEK

2. října

10.00

11.45

Sekce Pavla Hvězdáře^{3. přednášková}

Předsedající: Zdeněk Šumník, Júlia Starková

10.00

🕒 45'

Hlavní host
Jiří Neužil

Mitochondrie jako nový
cíl léčby rakoviny

O—07

FUNKČNÍ OVĚŘENÍ AKTIVAČNÍ MUTACE V TSHR GENU U RODINY
S FAMILIÁRNÍ NEAUTOIMUNITNÍ HYPERTYREÓZOU VE TŘECH
GENERACÍCH

Aktivační mutace v genu TSHR u neautoimunitní hypertyreózy

Bezdička M. (1), Kleiblová P. (2), El-Lababidi E. (3), Souček J. (4), Smrž D. (5), Rataj M. (5), Souček O. (1)

1 – Laboratoř Věry Vávrové/VIAL Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN, Praha, 3 – Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha, 4 – Dětská endokrinologická ambulance, Karlovy Vary, 5 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: Ondřej Souček

O—08

ROZDÍLY V ADAPTACI PRAVÉ A LEVÉ KOMORY NA CHRONICKÉ
OBJEMOVÉ PŘETÍŽENÍ Z HLEDISKA INVAZIVNÍ HEMODYNAMIKY A
ANALÝZY PROTEOMU

Pravá či levá — je v tom rozdíl?

Havlenová T. (1, 2), Kotrč M. (1), Škaroupková P. (1), Běhounek M. (3), Chmel M. (3), Červenka L. (1, 2), Petrák J. (3), Melenovský V. (1)

1 – IKEM Praha, 2 – 2. LF UK, 3 – BIOCEV, 1. LF UK

Školitel: Vojtěch Melenovský

O—09

IDENTIFIKACE PREDIKTORŮ EFEKTU LÉČBY THIOPURINY
U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S CROHNOVOU CHOROBOU –
MULTICENTRICKÁ STUDIE IBD PORTO SKUPINY PŘI ESPGHAN

Predikce časného selhání thiopurinů u dětských pacientů s CD

Jerchova T. (1), Hradský O. (1), Kulich M. (2), Veres G. (3), Dias J. A. (4), Sladek M. (5), Kolacek S. (6), Van Biervliet S. (7), Melek J. (8), Serban D. (9), Winther K. (10), de Meij T. (11), Schwarz J. (12), Kolho K. L. (13), Escher J. C. (14), Bronsky J. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a FN Motol, 2 – Katedra pravděpodobnosti a matematické statistiky, Matematicko-fyzikální fakulta, Univerzita Karlova, 3 – Pediatric Institute-Clinic, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, 4 – Hospital S. Joao do Porto, Porto, Portugal, 5 – Polish-American Children's Hospital, Jagiellonian University, Cracow, Poland, 6 – Children's Hospital Zagreb, Faculty of Medicine, Zagreb, Croatia, 7 – UZ, Gent, Belgium, 8 – Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, 9 – 2nd Clinic of Pediatrics, "Iuliu Ha-tieganu" University of Medicine and Pharmacy, Emergency Clinical Hospital for Children, Cluj-Napoca, Romania, 10 – Department of Pediatrics, Copenhagen University Hospital, Hvidovre, Denmark, 11 – Amsterdam UMC, location VUMC, Amsterdam, Netherlands, 12 – Dětská klinika, Fakultní nemocnice Plzeň, Univerzita Karlova, 13 – Children's Hospital and University of Helsinki, Helsinki, Finland, 14 – Erasmus MC-Sophia Children's Hospital, Rotterdam, Netherlands

Školitel: Ondřej Hradský

O—10

STABILITA A VNÍMÁNÍ VERTIKÁLY PACIENTŮ PO KOCHLEÁRNÍ
IMPLANTACI

Může operace, která obnoví sluch, zhoršit vnímání prostoru?

Kučerová K. (1), Bouček J. (2), Slabý K. (1), Jeřábek J. (3), Balatková Z. (2), Čákt O. (1)

1 – Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. LF UK a FN Motol Praha, 2 – Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol Praha, 3 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: Ondřej Čákt

Sekce Otíka Rákoslíka posterová

.....

Superpředseda: Markéta Kalinová

Předsedající: O. Hradský, O. Souček, V. Kanderová, P. Jiruška,
O. Hrušák, K. Hložková, J. Zámečník, E. Froňková

Příspěvky › P—43 až P—81

Občerstvení

posterová sekce
přesunuta na web
Vědecké konference

11.45
13.00

12.15
🕒 60'

**EKG:
O Lásce
a Prostoru**

Motolské vydání legendárního
literárního kabaretu uvádějí Igor
Malíjevský a Jaroslav Rudiš.
Host: architekt a herec David Vávra

Sekce strýce Pepina ^{4. přednášková}

Předsedající: Jan Trka, Lýdia Vargová

13.30
🕒 15'

Vyzvaný řečník
**Lenka
Petrůželková**

Umělá slinivka AndroidAPS aneb
jak jsme společně s pacienty spustili
převrat ve světové diabetologii!

O—11

PROSTOROVÁ ORIENTACE A VIZUÁLNÍ POZORNOST V ČASNÝCH
STADIÍCH ALZHEIMEROVY NEMOCI

Virtuální realita v diagnostice alzheimera

Pařížková M. (1, 2), Kalinová J. (1), Vyhnálek M (1, 2), Hort J. (1, 2), Wiener
JM (3), Laczó J (1, 2)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, 3 – Department of Psychology, Ageing and Dementia Research Centre, Bournemouth University, Poole, UK

Školitel: Jan Laczó

O—12

“SUPRASCAPULAR CANAL”: TOPOGRAPHICAL DESCRIPTION
AND ITS CLINICAL IMPLICATION IN ENTRAPMENT SYNDROME

The Suprascapular Canal!

Al-Redouan A., Holding K., and Kachlík D.

Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Supervisor: David Kachlík

miniO—05 / pregraduální student

FOSSA VERMIANA – ANATOMICKÉ BÁJE A POVĚSTI

Fossa vermiciana – anatomické báje a pověsti

Kunc V. (1), Fábik J. (1), Kubičková B. (1), Kachlík D. (1)

1 – Ústav anatomie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Školitel: David Kachlík

miniO—06

MODEL ISCHEMICKÉ KONČETINY A ISCHEMICKÉ

RÁNY V EXPERIMENTU U PRASETE

Prase domácí jako experimentální model ischemické tkáně

Lovášová V. (1, 4), Bém R. (2), Husáková J. (2), Němcová A. (2), Dubský M. (2), Chlupáč J. (1, 5), Šimůnková Z. (3), Froněk J. (1, 5)

1 – Klinika transplantační chirurgie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha; 2 – Centrum diabetologie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha; 3 – Centrum experimentální medicíny, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha; 4 – 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha; 5 – Ústav anatomie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Školitel: Jiří Froněk

miniO—07 / pregraduální student

LEARNING THROUGH OSMOSIS: LEVERAGING A GLOBAL NETWORK OF MEDICAL STUDENTS TO IMPROVE WIKIPEDIA'S HEALTH CONTENT

Learning through Osmosis: A global Wikipedia editing course

Guven T. K. (1), Bhatt P. (2), Gopalakrishnan M. (3), Green J. (4) and Azzam A. (5)

1 – Second Faculty of Medicine, Charles University; 2 – International American University College of Medicine; 3 – Saveetha Medical College and Hospital, India.; 4 – St. George's University; 5 – University of California, San Francisco

Supervisor: Amin Azzam

14.30

🕒 15'

Vyzvaný řečník

Ondřej Novák

.....

Where Are They When

We Need Them? The Role of

**Inhibitory Interneurons in Cortical
Spreading Depolarization**

Vědecká konference

přednášky



BEZLEPKOVÁ DIETA U DĚTÍ S NOVĚ MANIFESTOVANÝM DIABETEM 1. TYPU: DVANÁCTIMĚSÍČNÍ INTERVENČNÍ STUDIE

Pomáhá bezlepková dieta dětem s diabetem 1. typu?

Neuman V. (1), Průhová Š. (1), Kulich M. (2), Koloušková S. (1), Vosáhl J. (3), Romanová M. (3), Petruželková L. (1), Obermannová B. (1), Funda D. P. (4), Cinek O. (1), Šumník Z. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha, 2 – Oddělení pravděpodobnosti a matematické statistiky MFF UK, Praha, 3 – Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha, 4 – Oddělení gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha a Nový Hrádek

Školitel: Zdeněk Šumník

Úvod: Experimentální data naznačují protektivní vliv bezlepkové diety na funkci beta buněk u diabetu 1. typu (T1D).

Cíl: Naším cílem bylo zjistit, zda zavedení bezlepkové diety může zpomalit pokles zbytkové inzulín-sekretorické kapacity beta buněk v období jednoho roku po manifestaci u dětí s T1D.

Materiál a metody: Studie byla nerandomizovaná, o zařazení subjektů do intervenční nebo kontrolní skupiny rozhodovali rodiče. Zúčastnilo se celkem 45 dětí ve věku $10,2 \pm 3,3$ let, z toho 26 zahájilo měsíc po manifestaci T1D studijní intervenci, přísnou bezlepkovou dietu (GFD). V kontrolní skupině paralelně 19 dětí pokračovalo ve standardním dietetickém režimu. Hodnocenými parametry byly rozdíly v poklesu plochy pod křivkou (AUC) C-peptidu v testech smíšenou stravou v 6 a 12 měsících po zahájení diety a rozdíly v dávce inzulínu, HbA1c a HbA1c adjustovaném na dávku inzulínu (IDAA1c) hodnocené každé tři měsíce. Adherence k dietě byla testována měřením imunoreaktivního peptidu lepku ve stolici a analýzou jídelníčků. Kvality života byla hodnocena u účastníků po ukončení intervence po 12 měsících pomocí certifikovaných dotazníků. Data byla analyzována per-protokol analýzou u 39 pacientů (20 GFD, 19 kontrolní skupina), kteří studii řádně dokončili s použitím lineárních a longitudinálních regresních modelů adjustovaných na pohlaví, věk a vstupní HbA1c, AUC C-peptidu, celkovou denní dávku inzulínu a IDAA1c.

Výsledek: Ve 12 měsících byl rozdíl v AUC C-peptidu mezi bezlepkovou a kontrolní skupinou 205 pmol/l (95% CI -223 to 633; $p = 0.34$). V longitudinální analýze zahrnující všechny časové body byl pokles C-peptidu statisticky významně pomalejší ve skupině dodržující bezlepkovou dietu (rozdílem v trendech 409 pmol/l/rok, $p = 0.04$). Skupina na bezlepkové dietě měla mírně nižší denní dávku inzulínu (0.15 j/kg/den; $p = 0.07$), IDAA1c (0.137 ; $p = 0.01$) a nižší HbA1c (7.8 mmol/mol; $p = 0.02$) než kontrolní skupina ve 12 měsících. V denním příjmu sacharidů ($p = 0.49$) ani v kvalitě života hodnocené účastníky ($p = 0.70$) či jejich rodiči ($p = 0.59$) statisticky významné rozdíly pozorovány nebyly.

Závěr: Bezlepková dieta zavedená v prvním roce po diagnóze T1D je u dětí asociována s nižším HbA1c a prodloužením období parciální klinické remise onemocnění. Hraniční zpomalení úbytku kapacity beta-buněk v intervenční skupině otevírá prostor pro hledání patofyziologických mechanismů protektivního vlivu GFD u osob s T1D a jinými autoimunitními chorobami.

Podpora projektu: Podpořeno grantem AZV č. 16-27994A

Přepište dějiny a učebnice imunologie!

Pelák O., Rejlavá K., Svatoň M., Nováková M., Wali M., Froňková E., Hrušák O., Kalina T.

Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Školitel: Tomáš Kalina

Úvod: Vrozená složka imunitního systému slouží jako první obranná linie proti mikrobiálním infekcím a transformovaným nádorovým buňkám. NK („přirození zabijáci“) buňky patří spolu s přirozenými lymfoidními buňkami mezi klíčové složky vrozené imunity, které spadají mezi lymfocytární populace. Naproti tomu T a B lymfocyty patří mezi buňky adaptivní imunity a v průběhu jejich vývoje u nich probíhají přestavby genů pro T a B buněčné receptory. Jakékoli chyby v tomto procesu vedou k programované buněčné smrti. Jak ale ukazuje naše studie, nic není pouze černé a bílé a imunitní systém má záchranné mechanismy, jak dát určitým buňkám druhou šanci na život.

Cíl: Určit podrobný fenotyp a funkčnost unikátní populace lymfocytů (NK19), která vykazuje fenotyp NK buněk, ale na svém povrchu exprimuje i exkluzivní znak pro B lymfocyty, molekulu CD19.

Materiál a metody: V naší studii jsme nesupervidovanou analýzou cytometrických dat získaných v letech 2016–2019 zachytili a identifikovali populaci NK19 buněk (tvořící 0,62–12,1% z lymfocytů) u celkem čtyř pacientů. Tuto populaci jsme dále analyzovali pomocí průtokové cytometrie a sekvenování nové generace, s cílem bližšího určení její role a původu v imunitním systému.

Výsledky: Pomocí průtokové cytometrie jsme u NK19 buněk prokázali expresi proteinů perforinu a granzymu a schopnost degranulace na úrovni klasických NK buněk, čímž jsme jednoznačně potvrdili příslušnost těchto buněk ke konvenčním NK buňkám. NK19 buňky od dvou pacientů jsme dále vysortovali pro analýzu přestaveb imunoglobulinových genů na úrovni DNA. U obou vzorků jsme prokázali přítomnost přestaveb, ovšem vždy se jednalo o neproduktivní přestavby. Jeden vzorek neobsahoval žádnou kompletní IgH, ale měl jednu kompletní IgK přestavbu. Druhý vzorek obsahoval kompletní IgH přestavbu, ovšem IgK přestavba byla mimo čtecí rámec a tudíž nevedla k vytvoření funkčního B buněčného receptoru. U obou vzorků se jednalo o klonální populace NK19 buněk. Zajímavý byl nález různých izoform molekul CD19. Ty byly doposud identifikované pouze u leukemických buněk po cílené léčbě zaměřené proti CD19.

Závěr: Naše studie objevila novou dráhu vývoje NK buněk z prekurzorů B lymfocytů, kterým se nepodařilo produktivně přestavět B buněčný receptor. Neprokázali jsme souvislost mezi přítomností NK19 buněk a jakoukoliv patologickou diagnózou. Původně náhodný nález pomáhá odhalit nový koncept v regulaci vývoje B lymfocytů a NK buněk a poukazuje na možnou roli různých izoform molekul CD19.

Podpora projektu: Podpořeno grantem NPU-I LO1604

Chybějící řitní kanál - nové pohledy na radiodiagnostiku ARM

Maslava D. (1), Holubová Z. (1), Kynčl M. (1), Poš L. (2), Škába R. (2)

1 – Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, 2 – Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Martin Kynčl

Úvod: Anorektální malformace (ARM) jsou spektrem raritních anomálií, při kterých typicky chybí řitní kanál a místo něj je patrné anomální vyústění konečníku na hráz nebo do močových a pohlavních cest – tzv. píštěl. Určení přítomnosti a přesné lokalizace této píštěle je kritické pro plánování rekonstrukční operace, a to zejména u závažnějších typů ARM, u kterých vyústění píštěle není detekovatelné na perineu při klinickém vyšetření. Za metodu první volby se při zobrazení píštěle u této skupiny ARM považuje skiaskopické vyšetření s podáním kontrastní látky do tlustého střeva přes stomii – skiaskopický distální tlakový kolostogram (DTK). Moderní alternativou je MR vyšetření, které může být provedeno několika způsoby: s podáním gadolinia nebo fyziologického roztoku do tlustého střeva stomií (MR-DTKG a MR-DTKF resp.) nebo nativně bez plnění stomie.

Cíl: Porovnání diagnostické přesnosti skiaskopického vyšetření a různých metod MR zobrazení v určení typu píštěle v předoperačním hodnocení závažnějších typů ARM se zavedenou kolostomií.

Materiál a metody: Ve FN v Motole bylo v období 2005–2018 operováno 359 pacientů s ARM. Do retrospektivní studie bylo zařazeno 66 vyšetření chlapců se závažnějším typem ARM a dostupným MR zobrazením. Každý pacient měl výsledky jednoho z tří různých MR přístupů. Zobrazení byla porovnána s operační diagnózou. Porovnání se zaměřovalo na určení přítomnosti a přesné lokalizace rektální píštěle dle Krickenbeckovy klasifikace. 38 pacientů ze souboru mělo zároveň provedené skiaskopické vyšetření. U této menší skupiny jsme mohli porovnat přesnost skiaskopie a MR zobrazení.

Výsledky: V souboru 66 pacientů byla shoda s operačním nálezem v obou parametrech v 84 % případů při MR-DTKG, v 92 % při MR-DTKF, v 62 % při nativním MR. U 38 pacientů jsme mohli porovnat přesnost skiaskopického a MR zobrazení píštěle, shoda s operačním nálezem byla u 100 % MR a u 42 % skiaskopii.

Závěr: Otázka volby nejvhodnějšího diagnostického postupu u pacientů s ARM v rámci dostupných metod zobrazování se v dnešní době řeší v rámci významných světových klinických pracovišť. FN v Motole je centrem péče o tyto pacienty, a proto jsme na naší klinice měli unikátní možnost porovnat přesnost všech dostupných způsobů zobrazení.

Náš výzkum ukazuje, že MR s plněním stomie fyziologickým roztokem nebo gadolinem poskytuje nejpresnější předoperační diagnostické hodnocení ARM. Skiaskopické vyšetření, které bylo dosud považováno za metodu první volby u těchto pacientů, se ukazuje být méně přesnou metodou ve srovnání s MR.

Heterogeneity of NG2-glia following different types of brain disorders

Belov Kirdajova D. (1, 2), Valihrach L. (3), Kročianova D. (1), Filipi T. (1, 2), Koleničová D. (1, 2), Turečková J. (1), Kriska J. (1), Androvič P. (3) and Anderova M. (1, 2)

1-Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic; 2-Department of Neuroscience, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Czech Republic; 3-Laboratory of Gene Expression, Institute of Biotechnology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: Miroslava Anderová

Introduction: NG2-glia, a fourth major glial cell population, are present in the adult central nervous system and display distinct morphology, antigens, and functions from other mature glial cell types. Recently, many studies have shown that these cells are multipotent in vitro and they also display wide differentiation potential under pathological conditions in vivo.

Aims: The aim of this study was to identify the rate of proliferation and differentiation after different types of brain disorders, such as focal cerebral ischemia (FCI), stab wound (SW) and demyelination (DEMY) in 3-month-old mice.

Materials and Methods: We used transgenic Cspg4-cre/CAG-tdTomato mice, which after the administration of tamoxifen express a red fluorescent protein (tdTomato) in NG2-glia and cells derived therefrom. FCI was induced by middle cerebral artery occlusion, SW by sagittal cortical cut and DEMY by feeding mice with copper chelator cuprizone. To recognize the changes in expression profiles we employed single-cell RT-qPCR in control mice and those 7 days after injury, followed by PCA analysis and self-organizing Kohonen maps.

Results: These methods enabled us to recognize two main populations (NG2-glia, oligodendrocytes from NG2-glia) which each had 4 subpopulations. Expression profiles showed that one subpopulation, NG2-glia that express a marker of reactive astrocytes – glial fibrillary acidic protein (GFAP), was present only after severe ischemic injury of the cortex (FCI) while after mild injury of the cortex (SW) and corpus callosum (DEMY) predominated subpopulations of different stages of oligodendrocytes. These results we also confirmed by immunohistochemistry on the coronal brain slices from control mice and those 7 days after injury where we determined the percentage of cells that were double positive for tdTomato and one of the other marker typical for proliferation and differentiation (to astrocytes or oligodendrocytes).

Conclusions: Taken together we have shown that the proliferation rate of tdTomato cells is significantly increased after all three types of brain disorders while differentiation potential fluctuates depending on the type of brain disorder.

Support: Supported by the Grant Agency of the Czech Republic: GACR 17-04034S, GACR-19-030163

Nahradí AndroidAPS diabetology?

Pavlaína Jiráňová, Zdeněk Šumník, Štěpánka Průhová, Barbora Obermannová, Stanislava Koloušková, Lenka Petruželková

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a FN v Motole, Praha

Školitel: Zdeněk Šumník

Úvod: AndroidAPS (AAPS) je mobilní aplikace pracující na principu hybridní uzavřené smyčky. Umožňuje automatické úpravy dávkování inzulínu inzulinovou pumpou na základě dat z kontinuálního monitoru glykémie (CGM). Jedná se o volně dostupnou aplikaci, která je stále více využívána pacienty s diabetem 1. typu (DM1). Dlouhodobé studie prokazující bezpečnost a efektivitu AAPS nejsou dosud k dispozici.

Cíl: Porovnat parametry kompenzace DM1 tři měsíce před a tři měsíce po zavedení AAPS pomocí retrospektivní analýzy záznamů.

Materiál a metody: Získali jsme data od 30 dětí (15 dívek) ve věku 3-16 let (průměr $8,8 \pm 3,6$ roky) s průměrnou dobou trvání DM1 $4,8 \pm 2,6$ let. Všichni účastníci studie používali kontinuálně senzor a pumpu (SAP) po dobu minimálně tří měsíců před přechodem na AAPS a alespoň tři měsíce využívali systém AAPS. Hodnoty CGM byly exportovány z účtů pacientů v aplikacích Nightscout a Diasend. Sledovali jsme následující parametry: poslední HbA1c před přechodem na AAPS, první HbA1c na AAPS, průměrná glykémie, procento času strávené v rozmezí 3,9-7,8 mmol/l (optimální), 3,9-10 mmol/l (cílové), >14 mmol/l (hyperglykémie), <3,9 mmol/l (hypoglykémie). Data jsme porovnali pomocí regresního modelu opakovaného měření ANOVA. Po celou dobu používání AAPS jsme ze strukturovaných dotazníků zjišťovali výskyt diabetické ketoacidózy (DKA), těžké hypoglykémie a důvody pro přerušení používání systému AAPS.

Výsledek: HbA1c se po zavedení AAPS snížil z $54 \pm 5,5$ mmol/mol na $47 \pm 5,6$ mmol/mol ($p < 0.001$). Dále jsme pozorovali snížení průměrné glykémie ze $8,0 \pm 1,1$ mmol/l na $7,3 \pm 0,4$ mmol/l ($p < 0.001$), zvýšení procenta času stráveného v optimálním rozmezí z 59,1% na 69,3% ($p < 0.001$), v cílovém rozmezí z 73,4% na 81,4% ($p < 0.001$) a snížení procenta času v hyperglykémii z 3,7% na 2,0% ($p < 0.001$). Procento času stráveného v hypoglykémii se nezměnilo (3,6% vs. 4,5%, $p = 0,51$). Během používání AAPS nebyly zaznamenány žádné epizody DKA ani těžké hypoglykémie. Osm pacientů přerušilo používání AAPS v průměru na $2,8 \pm 2,0$ dní (rozmezí 1-7 dní), nejčastěji z důvodu optimalizace nastavení bazální dávky.

Závěr: Kompenzace diabetu je u dětí využívajících systém AAPS vynikající. Po zavedení AAPS pozorujeme prodloužení času stráveného v normoglykémii, aniž by se zvýšilo riziko hypoglykémie.

Podpora projektu: TAČR TJ02000342

Dealing (with) drugs in the bone marrow

Alquézar-Artieda N. (1, 2), Kavan D. (3), Pecinová A. (4), Hložková K. (1, 2), Žaliová M. (1, 2), Mráček T. (4), Novák P. (3), Trka J. (1, 2) and Starková J. (1, 2)

1 – CLIP – Childhood Leukemia Investigation Prague, 2 – Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 – Laboratory of Structural Biology and Cell Signaling, Institute of Microbiology, Academy of Science of the Czech Republic, Prague, Czech Republic, 4 – Department of Bioenergetics, Institute of Physiology of the Czech Academy of Science, Prague, Czech Republic.

Supervisor: Júlia Starková

Introduction: Mechanism of action of L-asparaginase (ASNase), the key component in the treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL), is still under investigation due to differences in the sensitivity among treated patients. Worse outcome and higher probability to relapse are connected with poor response to ASNase. Our group previously described that metabolic rewiring occurring after ASNase administration is involved in decreased effectiveness of the drug in vitro. However, in vivo conditions cannot be ignored, the microenvironment of bone marrow influences basal cellular changes and was shown to participate in chemoresistance.

Aims: The aim of this study was to investigate how microenvironment of the bone marrow influences metabolic setup of leukemia cells and how it interferes with response to ASNase treatment.

Materials and Methods: Precursor-B ALL cell lines (Nalm-6, Reh) were cultivated in the absence or presence of mesenchymal stem cells (MSCs, no physical contact) in both normoxia and hypoxia. Two conditions were tested: constant presence of ASNase in culture media or media pretreated with ASNase followed by its withdrawal. Sensitivity of leukemia cells to ASNase was determined by flow cytometry. Concentration of extracellular amino acids (AAs) from the culture media was assessed by HPLC. Activity of bioenergetic pathways was measured by Seahorse Analyzer and radioactivity assays.

Results: Presence of MSCs increased survival of leukemia cells only in media with ASNase withdrawal, comparably both in normoxia and hypoxia. While in the media with constant depletion of asparagine and glutamine MSCs did not induce chemoresistance. We detected the release of asparagine from MSC which was eventually uptaken by leukemic cells. The uptake of other AAs was lower in the culture with MSCs comparing to leukemia cell culture alone. However, we did not observe any difference in activity of bioenergetic processes after ASNase treatment in mono – or co-culture system.

Conclusions: We assume that MSCs compensate depletion of asparagine (glutamine) and by that rescue leukemia cells upon ASNase treatment. Although metabolic response does not contribute to MSCs-mediated rescue effect we suggest that the mechanism is more complex involving other cellular processes such as proteosynthesis or autophagy.

Support: Supported by the Charles University Grant agency (794218) and AZV grant NV18-07-00129.

FUNKČNÍ OVĚŘENÍ AKTIVAČNÍ MUTACE V TSHR GENU U RODINY S FAMILIÁRNÍ NEAUTOIMUNITNÍ HYPERTYREÓZOU VE TŘECH GENERACÍCH

Aktivační mutace v genu TSHR u neautoimunitní hypertyreózy

Bezdička M. (1), Kleiblová P. (2), El-Lababidi E. (3), Souček J. (4), Smrž D. (5), Rataj M. (5), Souček O. (1)

1 – Laboratoř Věry Vávrové/VIAL Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN, Praha, 3 – Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha, 4 – Dětská endokrinologická ambulance, Karlovy Vary, 5 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: Ondřej Souček

Úvod: Tyreotoxikóza je onemocnění způsobené zvýšenou aktivitou štítné žlázy. Nejčastěji vzniká v důsledku produkce autoprotilátek proti receptoru pro thyroideu stimulující hormon (TSH), vzácnější příčinou je aktivační mutace v genu pro TSH receptor (TSHR). Aktivovaný membránový receptor pro TSH (TSHR) v buňce působí přes druhotného posla cyklický adenosinmonofosfát (cAMP).

Cíl: Cílem práce bylo ex vivo funkční ověření geneticky zjištěné mutace v TSHR u rodiny s výskytem neautoimunitní hypertyreózy ve třech generacích.

Materiál a metody: DNA byla analyzována pomocí cíleného NGS panelu genů (CZECAN-CA). K vytvoření substituční mutace v TSHR genu byl použit komerční plazmid s divokou formou (wt) lidského TSHR, pár specifických primerů a metoda „site-directed mutagenesis“. Produkt byl ověřen Sangerovým sekvenováním. Plazmidy s wt i mutantní formou TSHR byly každá zvlášť transformací vloženy do kompetentních buněčných linií E. Coli kmene DH5α, namnoženy a izolovány. Transfekcí pak byly plazmidy vloženy do lidské buněčné linie HEK293. Expres TSHR proteinu byla ověřena fluorescenční mikroskopií a western blotem. Pomocí průtokové cytometrie byla kvantifikována exprese TSHR proteinu. Míra produkce cAMP bez a po stimulaci TSH byla stanovena kompetiční chemiluminiscenční imunosejí. V programu R byly rozdíly mezi skupinami testovány dvou-výběrovým oboustranným t-testem.

Výsledky: Molekulárně genetické vyšetření prokázalo u všech třech nemocných členů rodiny patogenní variantu NM_000369.2: c.1856A>G (p.Asp619Gly) již v literatuře popsanou jako somatická. Zatímco v HEK293 buňkách bez TSHR byla detekována minimální produkce cAMP ($0,18 \pm 0,14$ pmol bez a $0,27 \pm 0,12$ pmol po stimulaci TSH; $p=0,19$), u buněk transfekovaných divokou formou TSHR bylo zaznamenáno 15násobné zvýšení produkce cAMP po stimulaci TSH ($1,4 \pm 0,4$ pmol, resp. $21,5 \pm 5,1$ pmol; $p<0,001$). Buňky s mutantním TSHR měly 6,5násobně vyšší bazální nestimulovanou produkci cAMP než nestimulované buňky s wt TSHR ($9,1 \pm 2,1$ pmol vs. $1,4 \pm 0,4$ pmol; $p<0,001$). Po stimulaci TSH měly buňky s mutantním i wt TSHR srovnatelnou produkci cAMP ($21,8 \pm 2,8$ pmol vs. $21,5 \pm 5,1$ pmol; $p=0,88$).

Závěr: Prokázali jsme, že varianta TSHR genu identifikovaná a děděná v rodině s vícečetným výskytem neautoimunitní hypertyreózy vede ke konstituční aktivaci receptoru i bez stimulace přirozeným ligandem (TSH). Jedná se o první popsaný případ familiární neautoimunitní hypertyreózy způsobené zárodečnou mutací p.Asp619Gly.

Podpora projektu: MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203 a OP VaVpI spolufinancovaný EU (CZ.1.05/4.1.00/16.0337).

Pravá či levá - je v tom rozdíl?

Havlenová T. (1, 2), Kotrč M. (1), Škaroupková P. (1), Běhounek M. (3), Chmel M. (3), Červenka L. (1, 2), Petrák J. (3), Melenovský V. (1)

1 – IKEM Praha, 2 – LF UK, 3 – BIOCEV, 1. LF UK

Školitel: Vojtěch Melenovský

Úvod: Objemové přetížení je častým mechanismem podílejícím se na rozvoji srdečního selhání a vede ke zcela odlišným fenotypovým změnám ve srovnání s tlakovým přetížením. Není známo, zda existují rozdíly v odpovědi pravé (PK) a levé (LK) komory na chronické objemové přetížení. Tyto potenciální rozdíly by mohly být podkladem cílené terapie.

Cíl: Prozkoumat rozdíly ve struktuře, funkci a proteomu PK a LK u modelu chronického objemového přetížení navozeného aorto-kavální píštělí (ACF).

Materiál a metody: 8týdenním samcům potkana kmene HanSD byla standardizovanou punkční technikou vytvořena ACF, zvířata v kontrolní skupině podstoupila zdánlivou operaci (n = 30/19). Po 24 týdnech bylo provedeno echokardiografické vyšetření, tlakově-objemová analýza a proteomická analýza myokardu PK a LK.

Výsledek: Po 24 týdnech vykazovalo 70 % zvířat s ACF klinické známky srdečního selhání. ACF vedla k masivní hypertrofii obou komor (PK o 150 %, $p < 0.0001$; LK o 70 %, $p < 0.0001$), plicní kongesci a redukcí váhy ledvin. Echokardiograficky byla patrná dilatace komor, zvýšení srdečního výdeje a snížení systolické funkce komor (LK o 30 %, $p < 0.000$; PK o 15 %, $p = 0.0037$). Invasivně hemodynamicky bylo prokázáno zvýšení tepové práce komor (PK 7x, $p < 0.0001$; LK 4x, $p < 0.0001$), zvýšení end-diastolických tlaků (PK o 60 %, $p = 0.0028$; LK o 90 %, $p < 0.0001$) a snížení systolické funkce komor (PK 3x, $p = 0.0039$; LK 6x, $p < 0.0001$). Zatímco diastolická funkce LK byla snížena, diastolická funkce PK nebyla ovlivněna. Proteomickou analýzou myokardu komor zvířat s ACF bylo identifikováno 3078 proteinů, z nichž 136 bylo diferenciálně exprimováno ($> 1,5x$) ve srovnání s kontrolami. Zvýšená exprese byla zaznamenána zejména u proteinů účastnících se tvorby extracelulární matrix, buněčné adheze, degradace katecholaminů a metabolismu sacharidů, snížená exprese u proteinů sarkomery a proteinů podílejících se na transportu a metabolismu mastných kyselin. Spektrum diferenciálně exprimovaných proteinů se mezi PK a LK výrazně nelišilo, ale stupeň změny exprese byl vyšší v PK (cca v poměru 1:0.6).

Závěr: Chronické objemové přetížení navozené ACF vedlo k obdobným změnám ve struktuře, kontraktilitě a proteomu PK a LK. PK byla při stejném stupni objemového přetížení relativně více zatížená než LK, tolerovala však přetížení lépe. Změny proteomu typické pro srdeční selhání byly systematicky více vyjádřeny v PK, což může odrážet vyšší stupeň zatížení nebo lepší schopnost adaptace PK na objemové přetížení.

Podpora projektu: Podpořeno GAČR (grant GA15-14200S).

IDENTIFIKACE PREDIKTORŮ EFEKTU LÉČBY THIOPURINY
U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S CROHNOVOU CHOROBOU –
MULTICENTRICKÁ STUDIE IBD PORTO SKUPINY PŘI ESPGHAN

Predikce časného selhání thiopurinů u dětských pacientů s CD

Lerchova T. (1), Hradský O. (1), Kulich M. (2), Veres G. (3), Dias J. A. (4), Sladek M. (5), Kolacek S. (6), Van Biervliet S. (7), Melek J. (8), Serban D. (9), Winther K. (10), de Meij T. (11), Schwarz J. (12), Kolho K. L. (13), Escher J. C. (14), Bronsky J. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a FN Motol, 2 – Katedra pravděpodobnosti a matematické statistiky, Matematicko-fyzikální fakulta, Univerzita Karlova, 3 – Pediatric Institute-Clinic, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, 4 – Hospital S. Joao do Porto, Porto, Portugal, 5 – Polish-American Children's Hospital, Jagiellonian University, Cracow, Poland, 6 – Children's Hospital Zagreb, Faculty of Medicine, Zagreb, Croatia, 7 – UZ, Gent, Belgium, 8 – Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, 9 – 2nd Clinic of Pediatrics, "Iuliu Hatieganu" University of Medicine and Pharmacy, Emergency Clinical Hospital for Children, Cluj-Napoca, Romania, 10 – Department of Pediatrics, Copenhagen University Hospital, Hvidovre, Denmark, 11 – Amsterdam UMC, location VUMC, Amsterdam, Netherlands, 12 – Dětská klinika, Fakultní nemocnice Plzeň, Univerzita Karlova, 13 – Children's Hospital and University of Helsinki, Helsinki, Finland, 14 – Erasmus MC-Sophia Children's Hospital, Rotterdam, Netherlands

Školitel: Ondřej Hradský

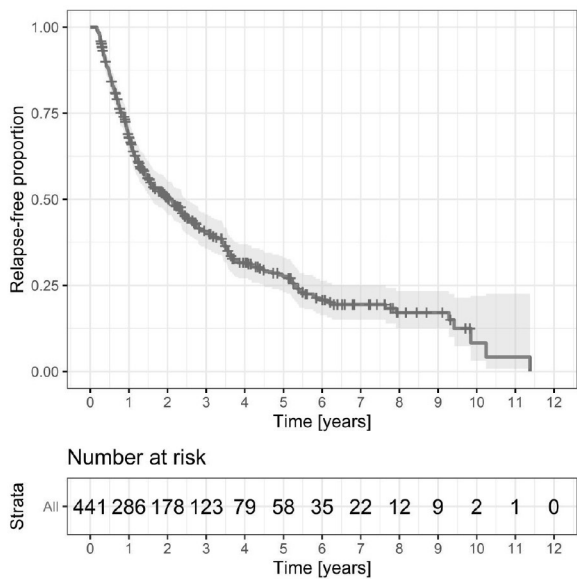
Úvod: Na základě současných doporučení je v Evropě většinou dětským pacientům s diagnózou Crohnovy choroby (CD) podávána dlouhodobá imunosupresivní léčba thiopuriny, resp. azathioprinem (AZA). s

Cíl: Hlavním cílem této studie bylo vytvoření predikčního modelu, který by umožnil stratifikovat pacienty s nově diagnostikovanou CD a určit ty jedince, kteří nebudou z léčby AZA profitovat a budou vyžadovat intenzivnější terapeutický přístup časné po diagnóze.

Materiál a metody: Tato práce byla navržena tak, aby vytvořila pravidlo klinické predikce pomocí retrospektivní analýzy dat od pacientů zahrnutých v prospektivním registru EUROKIDS-IBD do roku 2017. Celkem bylo z registru ve 13 evropských centrech vybráno 1190 pacientů s diagnózou CD užívajících AZA. Z nich bylo následně do této multicentrické studie vybráno 441 pacientů, kteří odpověděli na indukční léčbu, byla jim zahájena léčba AZA do 6 týdnů od stanovení diagnózy a kteří byli v remisi ve 12. týdnu od doby diagnózy. Primárním outcome této práce byla doba do klinického relapsu onemocnění definovaná jako nutnost reindukce remise. S cílem predikovat riziko relapsu byla aplikována sekvence Cox modelů. Proměnné, které se jevily jako signifikantní v univariantské analýze, byly postupně jedna po druhé přidávány do modelu a nesignifikantní parametry byly následně vyloučeny.

Výsledky: U více než 50 % pacientů nedošlo ke klinickému relapsu onemocnění po 2 letech léčby AZA. (Obrázek 1) Medián času do relapsu byl 2.11 (CI 1.59-2.46) let. Ze všech testovaných parametrů dostupných v době diagnózy bylo nalezeno 8 prediktivních v souvislosti s časným relapsem onemocnění. Po adjustaci na dávku AZA, kalendářní čas a centrum se v multivariantské analýze pouze 3 proměnné jeví jako prediktivní: věk (HR=1.389 95% CI (1.004-1.921), p=0.047), CRP (HR=1.504 95% CI (1.116-2.027), p=0.008) a BMI Z-skóre (HR=0.830 95% CI (0.742-0.928), p=0.001).

Závěr: U dětských pacientů s CD, kteří dosáhli klinické remise po indukční léčbě ve 12. týdnu, byl AZA účinný jako udržovací léčba u více než 50 % pacientů po dobu 2 let. Vzhledem k nízkým hodnotám HR se možnost predikce časného selhání léčby AZA jeví jako limitovaná.



Křivka přežití doby do relapsu pacientů s CD na léčbě thiopuriny

Podpora projektu: Tuto práci podpořila Grantová agentura Univerzity Karlovy v Praze [grantové číslo 364617] a Ministerstvo zdravotnictví ČR – koncepční rozvoj výzkumné organizace, Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika [00064203].

Může operace, která obnoví sluch, zhoršit vnímání prostoru?

Kučerová K. (1), Bouček J. (2), Slabý K. (1), Jeřábek J. (3), Balatková Z. (2), Čákr O. (1)

1 – Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. LF UK a FN Motol Praha, 2 – Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol Praha, 3 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: Ondřej Čákr

Úvod: Kochleární implantace je operace, při které jsou pacientovi zavedeny elektrody do kochley za účelem stimulace zakončení sluchového nervu. Jde o operační výkon, který umožní pacientovi obnovení sluchové funkce, avšak podle posledních studií může po operaci dojít i k ovlivnění funkce vestibulárního systému.

Cíl: Cílem práce bylo analyzovat, jak funguje vestibulární systém u pacientů indikovaných ke kochleární implantaci oproti zdravým jedincům. Druhým cílem byla analýza těchto funkcí u pacientů v časně fázi po operaci.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme 20 pacientů, 11 žen a 9 mužů ve věkovém rozmezí 26–72 let (průměr $46.9 \pm SD\ 13.5$), indikovaných ke kochleární implantaci z důvodu perцепční ztráty sluchu. Pacienty jsme vyšetřili celkem třikrát a to před operací, jeden den po operaci a 14 dní po operaci.

Kontrolní skupinu tvořilo 20 zdravých jedinců, 11 žen a 9 mužů ve věkovém rozmezí 27–68 let (průměr $41.9 \pm SD\ 12.2$), které jsme vyšetřili jednou.

Analýzu funkce vestibulárního systému jsme hodnotili prostřednictvím vyšetření stability stoje, pomocí stabilometrie ve čtyřech situacích (stoj na pevné/pěnové podložce, otevřené/zavřené oči), dále jsme vyšetřili vnímání subjektivní zrakové vertikály (schopnost pacienta orientovat přímku do vertikální polohy bez možnosti zrakové kontroly pomocí okolí).

Výsledky: Parametry stabilometrického vyšetření prokázaly signifikantní rozdíl ($p < 0.01$) mezi pacienty a kontrolní skupinou, pacienti vykazovali větší posturální výchylky. Ve vnímání subjektivní zrakové vertikály nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi pacienty a kontrolní skupinou.

Analýza parametrů stabilometrie v časně fázi po implantaci neprokázala rozdíl mezi jednotlivými měřeními. Ve vnímání vertikály byl prokázán signifikantní rozdíl ($p < 0.001$) mezi vyšetřením před operací, v časně fázi po operaci a s odstupem 14 dnů. Po operaci vnímali pacienti vertikálu mimo fyziologickou normu ($> 2^\circ$ od geofyzikální vertikály).

Závěr: Uvedené výsledky ukazují, že u pacientů indikovaných ke kochleární implantaci je porucha rovnováhy již předoperačně. V časně fázi po operaci mají pacienti poruchu vnímání vertikály. Čtrnáct dní po operaci dochází u většiny z nich k postupné kompenzaci. U některých však přetrvává zhoršení i v následujícím období.

Monitorace vestibulárních funkcí u pacientů s kochleární implantací může umožnit včasné zahájení rehabilitace u symptomatických pacientů.

Podpora projektu: Práce byla podpořena grantem GA UK č. 260119.

Virtuální realita v diagnostice alzheimerera

Pařízková M. (1, 2), Kalinová J. (1), Vyhnálek M (1, 2), Hort J. (1, 2), Wiener JM (3), Laczů J (1, 2)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, 3 – Department of Psychology, Ageing and Dementia Research Centre, Bournemouth University, Poole, UK

Školitel: Jan Laczů

Úvod: V průběhu stárnutí může docházet k lehkému narušení kognitivních funkcí (rozvoji mírné kognitivní poruchy, MCI), které může dále progredovat a vést k nesoběstačnosti (rozvoji demence). Nejčastějším onemocněním způsobujícím demenci je Alzheimerova nemoc (AN) jejíž časná diagnostika a odlišení od jiných etiologií kognitivního deficitu je pro úspěšnou léčbu zásadní. Narušení prostorové orientace se ukazuje jako časný a specifický kognitivní marker AN. Studie zkoumající prostorovou orientaci u pacientů s AN definovaných pomocí biologických markerů však chybí.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnotit, zda úloha prostorové orientace ve virtuální realitě odliší pacienty v časných stadiích AN definovaných pomocí biologických markerů od pacientů s kognitivním deficitem jiné etiologie. Dále jsme hodnotili, zda se pacienti liší v zaměření vizuální pozornosti na okolní objekty pomocí sledování jejich očních pohybů.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 48 účastníků: 9 s lehkou demencí při AN, 14 s MCI (MCI při AN), 8 s MCI bez průkazu AN (MCI-AN negativní) a 17 starších kognitivně normálních osob. Účastníci absolvovali test „Křižovatky“ ve virtuální realitě skládající se ze tří úloh: 1) egocentrické „Opakovaní trasy“, kdy účastníci opakovaně procházeli trasu virtuálním městem, 2) allocentrické „Zpětné projití trasy“, kdy se účastníci vraceli z cíle trasy zpět na start a 3) allocentrické „Jiný přístupový směr“, kdy účastníci určovali svoji původní polohu při cestě z jiného směru na křižovatce s dvěma stejnými a dvěma jedinečnými domy. Zde jsme měřili počet a délku zrakových fixací na jedinečné domy. Přítomnost AN byla stanovena pomocí biologických markerů – amyloidového PET vyšetření a/nebo průkazem beta-amyloidu v mozkomíšním moku.

Výsledky: Skupiny s MCI a demencí při AN měly méně přesný výkon v egocentrické a allocentrické úloze „zpětné projití trasy“ v porovnání s kognitivně normálními jedinci ($p < 0,012$) i MCI AN-negativními ($p < 0,007$). Skupina s demencí při AN měla nižší skóre v allocentrické úloze „Jiný přístupový směr“ ve srovnání s kognitivně normální skupinou ($p = 0,027$). Všechny skupiny měli shodně vyšší počet a delší trvání fixací na jedinečné domy.

Závěr: Virtuální egocentrická a allocentrická úloha spolehlivě detekuje specifické postižení prostorové navigace u pacientů v časných stadiích AN, a proto může být nástrojem pro časnou diagnostiku AN. Postižení prostorové orientace u AN není způsobeno poruchou vizuální zaměřené pozornosti.

Podpora projektu: Podporováno grantem Univerzity Karlovy v Praze: číslo grantu: 693018

The Suprascapular Canal!

Al-Redouan A., Holding K., and Kachlík D.

Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Supervisor: David Kachlík

Introduction: Suprascapular nerve (SN) passes through the suprascapular notch (SSN) running on the dorsal surface of the scapula via an osteofibrous canal to exit from the spinoglenoid notch (SGN). This topographical space has not yet been described in a complete form. The importance of introducing a comprehensive description of this topography relates to how each of its three composing segments corresponds to a specific set of anatomical implications in SN entrapment syndrome.

Aims: To report a topographical study of the suprascapular canal (SSC) and to propose it to be incorporated into the official Terminologia Anatomica (TA). Ultimately, to understand how the SSC anatomy correlates to anatomical SN entrapments.

Materials and Methods: Observational study on 30 free limb formaldehyde fixed cadaveric dissection (15 right, 15 left). The SN and vessels were traced as they passed through the canal. The SSC boundaries were observed and documented. Then, the SSC was exposed by reflecting away the bordering muscles. The dimensions of the SSC as well as the parameters of the SSN and SGN were measured using digital caliper. Finally, a thorough literature review was made to survey the SN entrapment incidence by site. The study was approved by the Ethics Committee of the University Hospital Motol and Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic (Reference ID no. EK-353/19).

Results: The SSC is suited in the spinoglenoid fossa of a 13.48 ± 2.37 mm in width and runs underneath the supraspinatus muscle in a distance of a 25.10 ± 3.42 mm between the SSN and SGN sloping in an inferio-dorso-lateral direction. The first segment represents the SSC entrance site composed of two spaces, an osteofibrous space and a musculofibrous space. The second segment is bordered by the supraspinatus muscle fascia, lateral margin of the supraspinous fossa, glenohumeral joint capsule, and bony surface of the scapula (spinoglenoid fossa). The third segment emerges around the spinoachromial arch exiting through the SGN enclosed by the spinoglenoid ligament.

Conclusions: The distal SN passes through the SSC via five intervals, corresponding to five SSC potential anatomical entrapment sites: at the pre-entrance site, entrance site, passage site, exit site, and post-exit site. Each of those sites were found to be associated with specific causes and anatomical forms of entrapment.

Support: Grant project of the Charles University: GAUK no. 1720119.

nebude prezentováno

ANALÝZA GENOMICKÉ FÚZE BCR-ABL1 U 453 PACIENTŮ
S BCR-ABL1-POZITIVNÍ LEUKÉMIÍ

Co všechno (ještě ne)víme o vzniku fúze BCR-ABL1?

Hovorková L. (1), Zwyrtková M. (1), Cario G. (2), Sutton R. (3), Cazzaniga G. (4), Machová Poláková K. (5), Žaliová M. (1), Starý J. (6), Trka J. (1), Zuna J. (1)

1 – CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika, 2 – Department of Paediatrics, University Medical Centre Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Kiel, Německo, 3 – Children's Cancer Institute, Lowy Cancer Research Centre, University of New South Wales, Sydney, Austrálie, 4 – Department of Pediatrics, University of Milano-Bicocca, San Gerardo Hospital, Monza, Itálie, 5 – Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha, Česká republika, 6 – Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika

Školitel: Jan Zuna

Úvod: Fúzní gen BCR-ABL1 – produkt chromozomální translokace t(9;22) – je typickým znakem pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) a je přítomen i u části pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL). Při vzniku fúze dochází k DNA zlomům v rozsáhlých intronových oblastech obou genů – v rámci genu ABL1 se jedná o oblast ~160 kbp, v genu BCR jsou tyto oblasti dvě: minor (~55 kbp) a Major (~2,9 kbp). Některé práce zaměřené na studium genomického přechodu Major-BCR-ABL1 naznačují, že ke zlomům dochází v blízkosti rozptýlených repetitiv, především Alu elementů, či se na jejich vzniku podílejí RAG-rekombinázy.

Cíl: V naší práci jsme se zaměřili na analýzu přechodových sekvencí u pacientů s Major i minor formou fúzního genu BCR-ABL1.

Materiál a metody: Vzorky periferní krve či kostní dřeně dětských i dospělých pacientů odebrané při diagnóze/relapsu CML či BCR-ABL1-pozitivní ALL byly použity k izolaci DNA. Hledání přechodových sekvencí bylo provedeno metodou long-distance PCR či NGS Custom Target Enrichment. Analýza přechodových sekvencí byla provedena pomocí nástrojů Ensembl, STAR, DeFuse, Repeatmasker, RSS databáze, MEME software a R studio.

Výsledky: Celkem jsme charakterizovali fúzi u 453 pacientů (218/235 s minor/Major BCR-ABL1; 274/179 pacientů s ALL/CML); jedná se o největší soubor pacientů, u kterých se podařilo genomickou fúzní sekvenci BCR-ABL1 popsat. I přes nenáhodnou distribuci míst zlomů v oblasti minor BCR, Major BCR i ABL1 jsme v blízkosti zlomů nedetekovali častější výskyt některého z motivů, které se obecně podílejí na rekombinaci či vzniku DNA zlomů. V rámci genu ABL1 byl patrný rozdíl v distribuci zlomů v závislosti na typu výsledné fúze (minor vs. Major, $p=0,02$) a leukémie (CML vs. ALL, $p=0,001$). Analýza sekvencí v místech spojení obou fúzních partnerů naznačuje, že u většiny pacientů je za fúzi pravděpodobně zodpovědný proces nehomologního spojování konců.

U 161 pacientů jsme charakterizovali i reciprokou fúzi ABL1-BCR. Srovnání BCR-ABL1 a ABL1-BCR zlomů ukázalo na velice přesný (+/- 3bp) reciprokový mechanismus vzniku translokace t(9;22) u 96/161 pacientů (60%).

Závěr: Nalezli jsme rozdílnou distribuci zlomů v rámci oblasti ABL1 mezi pacienty s minor a Major formou translokace a mezi pacienty s ALL a CML. Naše výsledky naznačují, že na vzniku zlomů v genech BCR a ABL1 se pravděpodobně podílí spíše vyšší struktura DNA a dostupnost chromatinu, které mohou způsobit blízkost a křehkost obou fúzních partnerů v určitých stádiích buněčného cyklu.

Podpora projektu: AZV NV18-08-00385; AZV NV19-07-00329.

nebude prezentováno

LONG-TERM DYNAMICS OF SEIZURES IN AN ANIMAL MODEL OF TEMPORAL LOBE EPILEPSY

Long-term dynamics of seizures in an animal model of epilepsy

Kudlacek J. (1, 2, 3), Chvojka J. (1, 2, 3), Posusta A. (2), Hermanovska B. (1, 2), Novak O. (1), Prochazkova N. (1), Otahal J. (2), Jiruska P. (1, 2)

1 – 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, 2 – Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, 3 – Faculty of Electrical Engineering, Czech Technical University, Prague

Supervisor: Premysl Jiruska

Introduction: The long-term fluctuations in seizure probability and clustering of seizures widely recognized in both patients and animal models of epilepsy.

Aims: The aim of this study was to investigate the seizure clusters occurring in the tetanus toxin model of mesial temporal lobe epilepsy and to propose possible mechanisms responsible for the clustering.

Materials and Methods: Epilepsy was induced in adult rats (n=6) by injection of 10 ng of tetanus toxin into the right dorsal hippocampus. Electrodes were implanted bilaterally into dorsal hippocampus and motor cortex. Animals were continuously video-EEG monitored for >2 weeks. Seizures were identified and classified as convulsive or non-convulsive. Signal power during seizures was analyzed in each studied brain area. Apart from that, we analyzed long-term evolution of one type of interictal activity, namely epileptic bursts – few seconds long series of EEG spikes. We analyzed their rate, duration, power and channel cross-correlation.

Results: We analyzed one seizure cluster in each animal. Clusters lasted 2.3 ± 0.2 days and contained 90 ± 15 seizures. All clusters were characterized by progressive increase of ISI. The percentage of convulsive seizures progressively increased in all clusters ($p=0.008$) and so did the signal power in the motor cortices ($p=0.008$) whereas in the hippocampi a non-significant decrease of power was observed ($p=0.74$). Between the clusters, we observed increasing rate, power and spread of epileptic bursts whereas the duration produced a U-shape.

Conclusions: We have identified complex changes of brain dynamics occurring during the course of a single cluster. We hypothesize that early non-convulsive seizures facilitate spreading of later seizures. In contrast, later generalized seizures have inhibitory effect which leads to reduction of seizure rate and finally to the cluster termination. Between the clusters, changes of the epileptic bursts can be interpreted as a marker of delayed recovery from internal perturbations which may serve as an early warning signal of impending transition to the next seizure cluster. Knowledge of the long-term processes involved in seizure generation is crucial for better understanding of pathophysiology of epilepsy and development of new treatment strategies.

Support: Supported by grants from the Ministry of Health of the Czech Republic (AZV CR 17-28427A), Czech Science Foundation (GACR 15-08565S, 20-25298S, 18-07908S) and Primus/19/med/003.

nebude prezentováno

CHROMOSOME 21 GAIN IS DISPENSABLE FOR TRANSIENT
MYELOPROLIFERATIVE DISORDER DRIVEN BY A NOVEL GATA1 MUTATION

Trisomy 21 is dispensable for TMD development

Lukes Jr J. (1, 2), Danek P. (3), Alejo-Valle O. (4), Potuckova E. (1, 2), Gahura O. (5), Heckl D. (4), Starkova J. (1, 2), Stary J. (2, 6), Mejstrikova E. (1, 2, 6), Alberich-Jorda M. (1, 3), Zuna J. (1, 2, 6), Trka J. (1, 2, 6), Klusmann J-H. (4), Zaliova M. (1, 2, 6)

1 – CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2 – Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 – Department of Hemato-Oncology, Institute of Molecular Genetics, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic, 4 – Pediatric Hematology and Oncology, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Halle, Germany, 5 – Institute of Parasitology, Biology Center, Czech Academy of Sciences, Ceske Budejovice, Czech Republic, 6 – University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: Markéta Kubříčanová Žaliová

Introduction: Transient myeloproliferative disorder (TMD) is a hematopoietic disease, characterized by a clonal proliferation of immature megakaryoblasts in newborns triggered by trisomy 21 (constitutional or somatic) together with acquired mutations of GATA1 resulting in the exclusive production of its short variant – GATA1s. No other TAM drivers have been described so far. We have diagnosed a unique TMD case with a typical clinical and laboratory manifestation but without the gain (or any other aberration) of chromosome 21. Thorough genomic profiling revealed 4 somatic mutations: GATA1 D65_C228del, JAK1 F636del, FN1 R2420C and SPIRE2 R471W.

Aims: Functional characterization of the novel JAK1 and GATA1 mutations in order to elucidate the alternative pathogenesis of TMD without the involvement of trisomy 21.

Materials and Methods: Genomic profiling. Functional studies of candidate drivers using cell line based in vitro models.

Results: GATA1 D65_C228del results in the expression of an internally truncated protein which is trafficked into the nucleus and lacks a part of the transactivation domain and, unlike GATA1s, also the N-terminal zinc finger. Homology modeling of JAK1 F636del showed that loss of F636 is compatible with both active and inactive conformations. Western blot analysis of JAK/STAT signaling suggested decreased kinase activity of JAK1 F636del. Moreover, JAK1 F636del did not induce IL3-independent growth in Ba/F3 cells. Next, we assessed the impact of JAK1 F636del in the context of mutated GATA1. We utilized an in-vitro model in which CRISPR/Cas9-mediated induction of Gata1s expression led to the expansion and sustained proliferation of fetal liver cells from embryonic day 13.5 ROSA26:Cas9-EGFPki/wt mice. Similar to wild type JAK1, lentivirally introduced JAK1 F636del had no impact on the proliferation and maturation status of such Gata1-edited cells irrespective of the timing of its introduction or of culturing conditions.

Conclusions: The novel GATA1 mutation results in the expression of an aberrant isoform which is predicted to lose both transactivation potential and more importantly the ability to recognize DNA binding sites, possibly triggering TMD alone. Our thorough characterization of JAK1 F636del questions its role in TMD development. Altogether we describe the molecular events in the first case of trisomy 21 independent GATA1 mutated TMD.

Support: GAUK 86218, EHA Research Mobility Grant

„Dobrý sluha a zlý pán“

Váňová K. (1, 2), Vícha A. (1), Krsková L. (3), Zámečník J. (3), Malinová B. (5), Sumerauer D. (1, 2), Mišovec A. (1, 2), Libý P. (4) Zápotocký M. (1, 2)

1. Prague Brain Tumor Research Group; 2. Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol; 3. Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol; 4. Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol; 5. Radioterapeutické oddělení 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Michal Zápotocký

Úvod: Radioterapií indukované gliomy (RIG) představují nejčastější sekundární solidní tumory. Jejich příčinou jsou spolu s ionizujícím zářením také intenzivní chemoterapie a vrozené genetické abnormality. Prognóza těchto pacientů zůstává z povahy agresivity chování RIG přes veškeré terapeutické snahy velmi nepříznivá.

Cíl: Cílem naší práce bylo klinicky charakterizovat a popsat molekulárně biologické odlišnosti RIG od primárních gliomů.

Materiál a metody: Hodnotili jsme klinická data jedenácti pacientů s RIG, kteří jsou součástí naší kohorty zhruba osmdesáti pacientů s dětskými high-grade gliomy. U pacientů s dostupnými vzorky jsme použili celogenomovou metylační array (Illumina Infinium MethylationEPIC BeadChip) a u vybraných provedli cílené sekvenování na specifické onkogenní alterace charakteristické pro high-grade gliomy.

Výsledky: V letech 2000-2019 jsme diagnostikovali RIG u 11 pacientů (6 dívek, 5 chlapců) ve věkovém rozmezí 5-12 let při primární diagnóze, která byla: ependymom (4), T-ALL (3), meduloblastom (2), karcinom choroidálního plexu (1), meningeom (1). Tito pacienti rozvinuli RIG v horizontu 3-31 let s mediánem 9 let od primární diagnózy. Osm pacientů zemřelo do 1 roku od diagnózy RIG, dva pacienti jsou naživu déle než 4 roky od diagnózy, jeden je recentně diagnostikovaný. Podle metylačního Heidelbergského klasifikátoru spadá 7 z 9 vyšetřených RIG do skupiny „IDH wild-type glioblastoma“ podtřídy „midline“, což biologicky odpovídá středočárovým difúzním gliomům (DMG – diffuse midline glioma). Oproti primárním DMG nenesou charakteristickou mutaci H3 K27M. Jeden pacient rozvinul anaplastický gangliogliom s BRAFFV600E mutací a metylačním profilem identickým se skupinou pleomorfních xantoastrocytomů a je naživu déle než 4 roky od diagnózy RIG. U poloviny pacientů ze skupiny DMG IDH wild-type glioblastomů vyšetřených metylační array byla nalezena amplifikace PDGFRA.

Závěr: Naše data ukazují, že většina RIG jsou středočárové IDH wild-type glioblastomy se špatnou prognózou, které se absencí histonové mutace biologicky liší od primárních DMG. PDGFRA amplifikace znamená potenciální možnost využití cílených inhibitorů a zlepšení prognózy těchto pacientů.

Jak na karyotyp? Mikroskop a lidské oko nebo RNA-seq a umělá inteligence?

Bařinka J. (1, 2), Gu Z. (2), Mullighan C. G. (2)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol; 2 – St. Jude Children's Research Hospital, Department of Pathology

Školitel: Zhaohui Gu

Úvod: RNA-seq se v posledních letech stává důležitou metodou pro subtypizaci dětských B-buněčných akutních lymfoblastických leukémií (B-ALL). Důvodem je zejména detekce fúzních genů a expresní profilování. Dalším významným subtypizačním faktorem pro určení leukemického subtypu jsou změny počtů kopií (CNV) na chromozomové úrovni, které se nacházejí u více než 25% dětských pacientů se standardním rizikem. Doposud však nebyl publikován bioinformatický nástroj, který by byl schopen detekce chromozomových CNV z RNA-seq dat. Unikají nám tak cenné informace a nevyužíváme potenciál RNA-seq v plné míře.

Cíl: Cílem naší práce bylo vytvořit bioinformatický nástroj, který by umožnil "digitální karyotypizaci", tedy detekci chromozomových a potenciálně i raménkových CNV. Současně bylo záměrem aplikovat metody strojového učení pro automatickou detekci takových změn.

Materiál a metody: Nástroj byl napsán v programovacím jazyku R. Pro vývoj balíčku jsme měli k dispozici data ze vzorků B-ALL ($n = 428$). Jako standard pro CNV jsme použili data z Affymetrix SNP Array 6.0 se 946 000 sondami. RNA-seq knihovny byly připraveny kombinací metod jak pro celkové RNA, tak pro mRNA, s délkou readů 75bp nebo 100bp. Sekvence byla provedena na platformě Illumina HiSeq a průměrná sekvenační hloubka byla 70 readů.

Jako vstupní data analýzy každého vzorku využíváme soubor s počtem readů pro jednotlivé geny a soubor obsahující informaci o frekvenci minoritních alel.

Výsledky: Výstupem je nástroj pro určení a grafické znázornění CNV v analyzovaném vzorku, který umožňuje integraci informace o míře exprese genů a frekvenci minoritních alel. Korelace míry exprese a CNV společně s variabilitou exprese napříč vzorky slouží k výpočtu váhy pro každý gen, která určuje, jak moc je k daným genům ve výsledné analýze přihlíženo.

Pro automatickou klasifikaci CNV byly vytvořeny dva na sebe navazující random forest modely. První model určující chromozomová raménka se dvěma kopiemi má odhad hodnoty out of bag (OOB) error rate 0.22%. Model na něj navazující, který klasifikuje samotné CNV na úrovni ramének, má odhad hodnoty OOB error rate 0.2%.

Pro manuální korekci automatické klasifikace a prohlížení výsledků jsme vytvořili aplikaci v rozhraní shiny.

Závěr: Naš nástroj je efektivní metodou pro vizualizaci a automatické určení CNV na úrovni chromozomů a chromozomálních ramének. Umožňuje určit karyotyp, a tedy přispět k subtypizaci B-ALL pomocí RNA-seq.

Podpora projektu: Fond mobility Univerzity Karlovy; Nadační fond Kapka naděje

Jsou změny chování ve stáří časným projevem Alzheimerovy nemoci?

Matušková V. (1), Nikolai T. (1, 2), Marková H. (1), Čechová K. (1), Nedelská Z. (1), Lerch O. (1), Ismail Z. (3), Laczó J. (1), Hort, J. (1), Vyhnálek M. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Neurologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha, 3 – University of Calgary, Cumming School of Medicine, Calgary, AB, Canada

Školitel: Martin Vyhnálek

Úvod: Neuropsychiatrické symptomy (NPS) jsou heterogenní skupina změn v osobnosti a chování detekovatelné již v časných stádiích Alzheimerovy nemoci (AN). Mírná behaviorální porucha (angl. Mild behavioral impairment, MBI) je diagnostická kategorie popisující nově vzniklé NPS u starších osob bez přítomnosti demence. Vztah MBI ke strukturálním změnám v mozku však dosud není dobře prozkoumán.

Cíl: Cílem naší studie je zjistit strukturální koreláty MBI na klinickém souboru starších osob bez demence s použitím námi adaptované české verze dotazníku Mírné behaviorální poruchy (MBI-C), který byl navržen pro detekci MBI.

Materiál a metody: 116 osob se subjektivními stížnostmi na kognici bez přítomnosti demence (průměrný věk 69,56±8,18) podstoupilo v rámci České studie stárnutí mozku (CBAS) neurologické, komplexní neuropsychologické vyšetření a volumetrické měření mozkových struktur pomocí magnetické rezonance (1,5T) a na jejich základě byly klasifikovány jako osoby se subjektivním kognitivním poklesem ($n = 37$, MMSE = 29.30±0.88) nebo mírnou kognitivní poruchou ($n = 79$, MMSE = 26.82±2.51). Českou verzi dotazníku MBI-C vyplnily blízké osoby účastníků. Pět předem zvolených mozkových struktur: tloušťka orbitofrontálního kortexu (OFC), předního (ACC) a zadního (PCC) cingulárního kortexu, entorhinálního kortexu (ERC) a objemy hipokampů adjustované pro celkový intrakraniální objem bylo změřeno pomocí programu Freesurfer 5.3. Vztahy mezi mozkovými strukturami a celkovými a pěti doménovými skóry v MBI-C byly analyzovány pomocí Spearmanových korelací.

Výsledky: MBI-C celkové skóre bylo signifikantně asociováno s objemem hipokampů ($\rho = -0,225$; $p = 0,016$), tloušťkou ERC ($\rho = -0,284$, $p = 0,002$) a OFC ($\rho = 0,214$, $p = 0,023$) nezávisle na věku, pohlaví a vzdělání. Asociace s ERC a OFC zůstaly signifikantní také po kontrole pro globální kognici. V rámci jednotlivých domén byl objem hipokampů asociován s poruchami motivace ($\rho = -0,248$, $p = 0,008$) a kontroly impulzů ($\rho = -0,240$, $p = 0,011$), tloušťka ERC s poruchami kontroly impulzů ($\rho = -0,368$, $p < 0,001$) a OFC s poruchami motivace ($\rho = -0,201$, $p = 0,033$).

Závěr: NPS (zejména poruchy motivace a kontroly impulzů) kvantifikované pomocí námi adaptované české verze dotazníku MBI-C u starších osob bez přítomnosti demence jsou asociovány se strukturálními změnami v oblastech mozku typicky zasaženými v časném stádiu AN. Tato zjištění podporují koncept MBI jako jednu z časných prezentací AN.

Podpora projektu: Výzkum byl podpořen GA UK č. 176317, č. 692818, č. 654217 a IPE 2. LF UK No. 699012.

Co nám intrakraniální EEG říká o vzdálených zdrojích?

Kalina A. (1), Hammer J. (1), Fábera P (1)., Ježdík P. (2), Marusič P. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol; 2 – Katedra měření, FEL, ČVUT

Školitel: Petr Marusič

Úvod: Intrakraniální EEG je zlatý standard v lokalizaci epileptogenní zóny u pacientů s farmakorezistentní epilepsií v rámci epileptochirurgického programu. Disponuje vysokým časovým rozlišením, ale prostorové rozlišení je omezeno na části mozku přímo přilehlé k zavedeným elektrodám. Oproti tomu HD EEG (EEG s vysokým počtem elektrod) je schopné pokrýt celou plochu skalpu s vysokým prostorovým i časovým rozlišením. Obě metody se dají využít k ESI (electrical source imaging).

Cíl: Naším cílem bylo porovnat lokalizační schopnost intrakraniálního a HD EEG pomocí dobře známého zdroje – SEP (somatosenzorických evokovaných potenciálů).

Materiál a metody: Analyzovali jsme data 19 pacientů, kterým byly v rámci epileptochirurgického programu zavedeny intrakraniální elektrody (celkem 21 implantací) a kteří předtím podstoupili monitoraci pomocí HD EEG. Během obou vyšetření bylo k systému připojeno stimulační zařízení a provedena stimulace n. medianus. Na každé straně bylo stimulováno 512 impulsů o frekvenci 2 Hz, šířce 0,2 ms a individuální intenzitě nutné k vyvolání motorické odpovědi. Kanály s vysokým obsahem šumu a artefaktů byly vyřazeny a následně byl signál zprůměrován podle značek pro jednotlivé stimulační impulsy. Výsledný průměrný grafoelement byl použit pro inverzní úlohu za využití algoritmu sLORETA, který lokalizoval zdroj elektrické aktivity na modelu hlavy vytvořeném z MRI. Jako časový úsek k výpočtu výsledku byl použit peak GFP (global field power), který se většinou nachází 20-30 ms od stimulace.

Výsledky: V intrakraniálním EEG se podařilo lokalizovat SEP alespoň pro jednu HK u šesti pacientů, u dvou pacientů pro obě. Výsledky lokalizace byly ve shodě s lokalizací získanou pomocí HD EEG. U zbylých 11 pacientů nebyly zavedeny elektrody procházející centrální oblastí a far field potenciály neměly lokalizační hodnotu.

Závěr: Při vhodné konfiguraci zavedených intrakraniálních elektrod je možné využít ESI k lokalizaci zdrojů, které se nenachází v jejich blízkosti.

Podpora projektu: Podpořeno GAUK 488217/2017

Fossa vermiana - anatomické báje a pověsti

Kunc V. (1), Fábík J. (1), Kubičková B. (1), Kachlík D. (1)

1 – Ústav anatomie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Školitel: David Kachlík

Úvod: Fossa vermiana (FV) je drobná deprese na spodní části crista occipitalis interna (COI) sousedící s foramen magnum. Její etiologie je stále nejasného původu a prevalence v různých populacích je udávána od 4% do 80%. V současné literatuře zároveň zcela chybí definice normy, která je komplikovaná i k velkému množství užitých termínů, které jsou často přiřazovány k odlišným strukturám, nebo vnímána jako synonyma. FV byla dříve rozdělena dle Kale na tři typy: typ I, který má trojúhelníkový tvar, typ II, který má kosočtvercový tvar a typ III, který má tvar atypický.

Cíl: Od popsání FV italským anatomem Cesarem Lombroso uběhlo už přes 140 let a FV byla předmětem zájmu řady studií, i přes to stále zůstává řada nejasností od jejího vztahu k Chiariho malformaci, nejasného názvosloví a klasifikace, po chybějící definici normy.

Materiál a metody: Zhodnotili jsme 1042 lebek (811 intaktních za pomoci zubařského zrcátka a 231 s odstraněnou kalvou), které byly rozděleny na základě klasifikace Kale a naší nové klasifikace. Morfometrické parametry šířka a výška byly měřeny u 91 lebek s odstraněnou kalvou pomocí digitální šuplery. Oba parametry byly měřeny od vnitřních okrajů.

Výsledky: Nejčastěji se objevovala norma s trojúhelníkovým zakončením COI bez deprese v 710 případech (68,14%), typ I v 264 případech (25,34%) a typ II, v 45 případech (4,34%). Průměrná výška obou typů je 17,2 mm, průměrná šířka 21,7 mm.

Závěr: Norma byla definována jako COI s trojúhelníkovou vyvýšeninou bez centrální deprese, eminentia triangularis. Byla objasněna prevalence v evropské populaci a zároveň vyvráceny některé nejasnosti týkající se především chybného názvosloví předešlých studií, která neobsahují literaturu starší než z roku 1990, kde jsou tyto termíny definovány. Na základě našich měření jsme definovali novou klasifikaci zakládající se na morfologii COI, která si klade za cíl minimalizovat počet nejasných měření a zároveň ji lze převést na klasifikaci dle Kale a tím i srovnat výsledky s předešlými pracemi. Typ I definujeme jako FV ohraničenou rozštěpenou COI. V případě, že úroveň štěpení byla v průběhu COI jedná se o typ IA, pokud je COI rozštěpena už od svého začátku u protuberantia occipitalis interna, pak se jedná o typ IB. Typ II definujeme jako FV nacházející se uvnitř COI, ta se tedy nejdříve rozštěpí a následně zase spojí, čímž ohraničuje i distální aspekt FV. Typ II byl také rozdělen na typ IIA a typ IIB v závislosti na výši umístění FV. V neposlední řadě byl naznačen možný vliv ke Chiariho malformaci.

Prase domácí jako experimentální model ischemické tkáně

Lovássová V. (1, 4), Bém R. (2), Husáková J. (2), Němcová A. (2), Dubský M. (2), Chlupáč J. (1, 5), Šimůnková Z. (3), Froněk J. (1, 5)

1 – Klinika transplantací chirurgie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha; 2 – Centrum diabetologie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha; 3 – Centrum experimentální medicíny, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha; 4 – 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha; 5 – Ústav anatomie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Školitel: Jiří Froněk

Úvod: Ischemická choroba dolních končetin představuje v současné době závažné onemocnění. Vedle známé efektivity standardních metod revaskularizace přibývají důkazy o prospěšnosti buněčné léčby kritické končetinové ischemie. Nalezení vhodného zvířecího modelu, u kterého lze vytvořit známky chronické a ne jenom akutní končetinové ischemie, by pomohlo objasnit mechanismus účinku aplikovaných kmenových buněk do ischemických ran a proces jejich hojení.

Cíl: Podstatou práce je nalezení vhodného zvířecího modelu chronické ischemické rány a zkoumání účinku buněčné terapie v léčbě ischemie.

Materiál a metody: Pro naši práci jsme jako experimentální zvíře zvolili prase domácí. Jednalo se o 12 prasat rozdělených do 4 skupin po 3 prasatech. V prvních dvou skupinách byla 3 prasata nediabetická a 3 s uměle vytvořeným diabetem pomocí streptozotocinu. U těchto dvou skupin jsme provedli 3 typy podvazů pánevních tepen vpravo:

izolovaný podvaz zevní pánevní tepny;

podvaz zevní + vnitřní pánevní tepny;

podvaz zevní + oboustranný podvaz vnitřní pánevní tepny.

Poté jsme vytvořili drobnou ránu na postižené končetině o rozměrech 2 × 2 cm. Jako kontrolní skupina sloužila rána na nepostižené levé končetině. V dalších dvou skupinách diabetických a nediabetických prasat jsme vytvořili 4 podminované kožní laloky na zádech v plné tloušťce o rozměrech 15 × 5 cm. Laloky jsme podložili sítkou a na povrchu každého vytvořili ránu o rozměrech 2 × 2 cm. Kontrolní rána byla vytvořena na zádech mimo ischemické laloky. Následně jsme 0., 7., 14. a 28. den po provedení ran měřili transkutánní tenzi kyslíku (TcPO₂) k posouzení kvality a přetrvávání ischemie.

Výsledky: Ischemie bylo dosaženo u obou modelů. V kontrolních ránách byla hodnota 51.5 mmHg. U kožních laloků na zádech byla hodnota 9.9 mmHg ± 11.2, $p < 0.001$ a u ischemických končetin 8.7 mmHg ± 11.1, $p < 0.001$. Prvních 14 dní se hodnoty u obou modelů zásadně neměnily, po 28 dnech však bylo vidět signifikantní rozdíl (končetiny – 32.8 mmHg ± 13.5 vs. laloky – 13.2 mmHg ± 11.9, $p < 0.001$). Nebyl pozorován zásadní rozdíl v hodnotách TcPO₂ mezi skupinou diabetických a nediabetických zvířat.

Závěr: Ischemizace pomocí kožních laloků se ukázala být perspektivnější než končetinová ischemie. Porcinní diabetické ischemické kožní laloky tedy představují vhodný model pro další experimenty s cílem zkoumání možností buněčné terapie v hojení ran.

Podpora projektu: Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) rozvoje výzkumné organizace 00023001 (IKEM) – Institucionální podpora.

miniO–07 / pregraduate student

LEARNING THROUGH OSMOSIS: LEVERAGING A GLOBAL NETWORK OF MEDICAL STUDENTS TO IMPROVE WIKIPEDIA'S HEALTH CONTENT

Learning through Osmosis: A global Wikipedia editing course

Guven T. K. (1), Bhatt P. (2), Gopalakrishnan M. (3), Green J. (4) and Azzam A. (5)

1 – Second Faculty of Medicine, Charles University; 2 – International American University College of Medicine; 3 – Sa-
veetha Medical College and Hospital, India.; 4 – St. George's University; 5 – University of California, San Francisco

Supervisor: Amin Azzam

Introduction: Wikipedia is a ubiquitous source of information for patients, medical students and junior doctors alike. Yet medical educators discourage students to stay away from Wikipedia as a source of medical information.

Aims: To address the disconnect between educators who discourage Wikipedia use and medical students who continue to use it as a source, Osmosis' Director of Open Learning Initiatives created a novel Wikipedia-editing course structured to leverage the large global network of Osmosis-subscribing students.

Materials and Methods: We offered a Wikipedia editing class for a global network of medical students. Four weekly sessions were given via Zoom through the Wiki Education foundation platform. After an orientation to Wikipedia article quality and importance scales, students selected a low-quality article, completed self-directed editing goals, and participated in peer feedback exercises.

Results: Twelve students enrolled in the course and 11 articles were assigned. A total of 8,775 words and 119 higher quality references were added whilst 35 lower-quality references were removed. Students increased their trust in and ability to contribute to Wikipedia. Students also enjoyed their collaboration with a global diversity of peers. The 11 assigned Wikipedia pages were viewed 175,022 times during the course.

Conclusions: We demonstrated the viability of a non-credit bearing, remote-access course in Wikipedia editing with medical students from around the world. This obviates the challenge of incorporating such coursework into already packed medical school curricula and adds a new approach to improve the health content of the world's most heavily used health information source. The outcome of greatest potential public health impact is the direct improvements to health-related Wikipedia content, which may be read by patients, laypeople and future students.

By opening a course to a global cohort, students from underserved regions and countries will be able to network and learn with peers from wealthier areas. Together, these outcomes serve to bridge a gap in the flow of information between the medical profession and the communities in which we serve, in both the privileged and underdeveloped world.

Support: At the time of this work, Amin Azzam received salary support from Osmosis.org as a pedagogical consultant on grants from the Hewlett Foundation to promote Open Educational Pedagogy.

nebude prezentováno

PROGNOSTICKÁ ROLE M2 MAKROFÁGŮ V NÁDOROVÉM MIKROPROSTŘEDÍ METASTATICKÉHO KARCINOMU OVARIA

M2 makrofágy určují imunosupresi v metastatickém HGSC

Kasikova L. (1, 2), Hensler M. (2), Fiser K. (3), Rakova J. (2), Skapa P. (4), Laco J. (5), Lanickova T. (2), Truxová I. (2), Vosahlikova S. (2), Moserova I. (2), Halaska M. (7), Brtnický T. (6), Rob L. (7), Ryska A. (5), Fridman S. C. (8, 9), Galluzi L. (10, 11, 12, 13, 14), Spisek R. (1, 2), Fucikova J. (1, 2)

1 – Ústav imunologie FN Motol Praha, 2 – Sotio a.s. Praha, 3 – CLIP, 4 – Ústav Patologie a molekulární biologie FN Motol Praha, 5 – Fingerlandův ústav patologie FN Hradec Králové, 6 – Gynekologicko-porodnická klinika, FN Motol Praha, 7 – Gynekologicko-porodnická klinika, FN Vinohrady, Praha, 8 – INSERM, U1138, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France, 9 – Sorbonne Université, Paris, France, 10 – Department of Radiation Oncology, Weill Cornell Medical College, New York, NY, USA, 11 – Sandra and Edward Meyer Cancer Center, New York, NY, USA, 12 – Caryl and Israel Englander Institute for Precision Medicine, 13 – Department of Dermatology, Yale University School of Medicine, New Haven, CT, USA, 14 – Université de Paris, Paris, France

Školitel: Jitka Palich Fučíková

Úvod: Nádorové mikroprostředí představuje komplexní heterogenní strukturu, která hraje esenciální roli v podpoře růstu, proliferaci a schopnosti maligních buněk tvořit metastatická ložiska. Nádorové mikroprostředí je tvořeno maligními, stromálními, epiteliálními, endoteliálními buňkami a složkami imunity. Z výsledků preklinického testování vyplývá, že složení a funkční orientace imunitního systému v nádorovém mikroprostředí pacientek s HGSC (z angl. high grade serous carcinoma) má zásadní vliv na výslednou prognózu tohoto onemocnění. Nicméně složení a funkční orientace nádorového mikroprostředí metastatické tkáně a jeho případný vliv na prognózu pacientek s HGSC není dosud jednoznačně objasněn.

Cíl: Hlavním cílem tohoto projektu je charakterizovat složení a funkční kapacitu imunitního infiltrátu v primární (P-TME) a metastatické (M-TME) tkáni pacientek s HGSC a definovat jeho případnou prognostickou roli.

Materiál a metody: Pomocí celogenomového sekvenování jsme porovnali 24 párových vzorků P-TME a M-TME pacientek s HGSC. Imunohistochemická a imunofluorescenční analýza byla využita k hodnocení zastoupení imunitního infiltrátu v nádorovém mikroprostředí 80 P-TME a M-TME vzorků HGSC. Průtoková cytometrie byla využita k hodnocení funkční kapacity imunitních buněk.

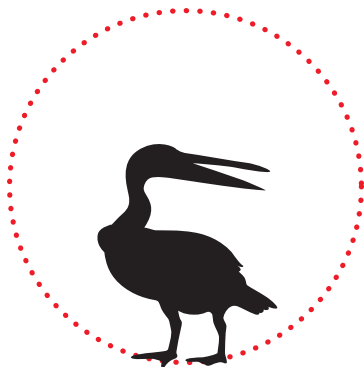
Výsledky: Pomocí celogenomového sekvenování jsme identifikovali 1468 rozdílně exprimovaných genů mezi P-TME a M-TME pacientek s HGSC. Zvýšená exprese genů v M-TME, byla asociována zejména s remodelací extracelulární matrix a imunitním systémem. Toto tvrzení je v souladu s výsledky retrospektivní IHC analýzy, která dokumentuje vyšší infiltraci CD8+, CD20+, DC-LAMP+ DC a NKp46+ buněk v M-TME oproti P-TME pacientek s HGSC. Z výsledků cytometrické analýzy vyplývá funkční inhibice T lymfocytů infiltrujících M-TME, která není důsledkem zvýšené exprese inhibičních molekul, ale imunosupresivního cytokinového prostředí způsobeného zvýšenou infiltrací M2 makrofágů v M-TME pacientek s HGSC. Na základě transkripční analýzy P-TME a M-TME pacientek jsme identifikovali skupinu 60 genů – tzv. metastatický index (MSI), asociovaných s formací extracelulární matrix a negativní regulací imunitní odpovědi, které silně korelují s horší prognózou metastatického HGSC, ale také pacientů s dalšími typy nádorových malignit.

Závěr: Z výsledků studie vyplývá stěžejní imunosupresivní role M2 makrofágů u metastatického HGSC. Pomocí stanovení MSI v nádorové tkáni jsme schopni identifikovat pacientky s nejhorší prognózou tohoto onemocnění.

Vědecká konference

postery

posterová sekce
přesunuta na web
Vědecké konference



Karcinom prostaty, nejčastější nádor současnosti

Novák Vojtěch (1), Lukšanová Hana (2), Průša Richard (2), Čapoun Otakar (3), Fiala Vojtěch (3), Dolejšová Olga (4), Eret Viktor (4), Stejskal Jiří (5), Záleský Miroslav (5), Veselý Štěpán (1)

1 – Urologická klinika FN Motol, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, 2 – Ústav lékařské chemie a biochemie FN Motol, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, 3 – Urologická klinika Všeobecné fakultní nemocnice, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, 4 – Urologická klinika Fakultní nemocnice Plzeň, 5 – Urologické oddělení Thomayerovy nemocnice, 1. a 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Školitel: Štěpán Veselý

Úvod: Karcinom prostaty je v současné době jedno z nejčastějších nádorových onemocnění. Radikální prostatektomie je jednou z možností léčby především lokalizovaného onemocnění. V mnoha studiích byl prokázán prognostický význam předoperačních parametrů, především konvenčně používaného prostatického specifického antigenu (PSA). Nedávno zavedené deriváty a izoformy PSA jako (-2) proPSA a index zdraví prostaty (PHI) mají potenciál zvýšit prognostickou přesnost samotného PSA.

Cíl: V naší multicentrické studii jsme chtěli posoudit, zda tyto nové biomarkery související s PSA korelují s nálezem signifikantního karcinomu prostaty (CaP) ve výsledné histologii po radikální prostatektomii a dokáží tedy předpovědět agresivitu onemocnění a tudíž i nutnost razantní léčby.

Materiál a metody: Shromáždili jsme základní charakteristiky a výsledky u 472 pacientů po radikální prostatektomii ze čtyř urologických center v České republice. Všichni pacienti zahrnutí do studie měli předoperačně zjištěnou hodnotu sérového PSA, fPSA, (-2) proPSA a PHI a podstoupili otevřenou či laparoskopickou radikální prostatektomii. Schopnost jednotlivých předoperačních parametrů předpovědět nález signifikantního CaP byla hodnocena pomocí nonparametrického Wilcoxonova testu a plochy pod křivkou (AUC). Signifikantní CaP byl definován výslednou histologií GS >6, TNM klasifikací – T3 a více, popřípadě oběma faktory zároveň. Navíc jsme sledovali korelaci hodnoty zmiňovaných markerů s pozitivitou okrajů preparátu, která byla nalezena u 133 pacientů.

Výsledky: Porovnáním p-hodnoty u PHI oproti PSA jsme prokázali významně vyšší korelaci PHI s nálezem signifikantního CaP oproti klasickému PSA ve všech sledovaných výstupech. Pro GS>6 (PHI, $p = 0,001$), (PSA, $p = 0,662$). Pro T3 a vyšší (PHI, $p = 0,002$), (PSA, $p = 0,048$). Pro oba sledované parametry (GS>6 i T3 a vyšší) (PHI, $p = 0,001$), (PSA, $p = 0,171$). Pro pozitivní okraje (R1) (PHI, $p = 0,003$), (PSA, $p = 0,134$). Přesnost predikce PHI vyjádřená jako plocha (AUC) byla (GS>6 – 58,495), (T3 a vyšší – 59,156), oba parametry (GS>6 i T3 a vyšší – 70,780), (R1 – 58,796).

Závěr: Naše výsledky prokázaly, že PHI lépe koreluje s nálezem signifikantního karcinomu prostaty ve výsledné histologii po radikální prostatektomii než PSA a dokáže tedy přesněji určit pacienty vyžadující razantní léčbu.

HEART RATE RESERVE BUT NOT RIGHT VENTRICULAR
SYSTOLIC FUNCTION PREDICTS EXERCISE CAPACITY IN
PATIENTS AFTER SENNING CORRECTION OF TGA

Heart Rate Reserve Predicts VO₂max. in TGA

Antonova P.

Center for Adults with Congenital Heart Disease, Cardiovascular Surgery, University Hospital Motol, Praha

Supervisor: Vilem Rohn

Introduction: Patients after Senning correction of TGA survive well into adulthood. Their quality of life is determined largely by exercise tolerance.

Aims: Our aim was to compile a study of a set of routinely tested parameters easily accessible in daily clinical practice and examine their relation to maximal oxygen uptake.

Materials and Methods: 86 consecutive patients after Senning correction of TGA in childhood were subjected to clinical and echocardiographic examination, blood tests, MRI and exercise test. VO₂max., NYHA, NT-proBNP, right ventricular ejection fraction and heart rate reserve during exercise were tested. Analysis of relations among studied variables was performed using non-parametric statistical methods. P-values less than 5% were considered as statistically significant

Results: Average age of patients was 23+3,5 years, average NYHA class 1,3± 0,4. Echocardiographic and MRI right ventricular function respectively was normal in 60 (69,7%) and 50 (58,1%) patients, mildly decreased in 23 (26,7%) and 30 (34,8%) and moderately decreased in 3 and 6 (7,1%) patients. Average RVEF by MRI was 51,9 ± 7,9%. Average ntproBNP was 124,3 + -23,59 ng/l. Average VO₂ max. was 31,7 ml/kg/min ± 6,5 ml/kg/min. Average heart rate reserve was 106 ± 24/min. There was no statistically significant relationship of NYHA, nt-proBNP and RVEF to VO₂ max. HRR was the only parameter predicting VO₂ max.

Conclusions: Long term results of follow up of patients after Senning correction of TGA are good. The most striking fact emerging from our study is that exercise capacity of our patients compared to literature is substantially, by 32%, higher than in other cohorts. Our patients reached 77,3% of norm for healthy subjects. Number of nt-proBNP values exceeding threshold for cardiac insufficiency in our study was extremely low. More than a half of patients show that their systemic right ventricle systolic function is in normal range and it is severely impaired only in minority of patients. RVEF does not correlate with VO₂ max.. The reason is possibly considerably more complex etiopathogenesis of decreased exercise capacity in patients after atrial switch with intricate haemodynamics including limited flow through atrial baffles. Ability to increase heart rate during exercise is the only significant predictor of VO₂x max in our study. This could possibly mean that it is not just the stroke volume but the overall heart output which influences the exercise capacity.

Nahá partie vřetenní kosti

Beneš M., Kunc V., Kachlík D.

Ústav anatomie 2. LF UK

Školitel: David Kachlík

Úvod: „Bare area“ (BA) je variabilní kostěná oblast na proximální části kosti vřetenní nacházející se v canalis supinatorius (CS), která je tvořena posunem mezi povrchovou a hlubokou vrstvou musculus supinator (MS). V místě úponů těchto vrstev se může utvářet kostěná rýha, kterou lze nalézt na suchých preparátech kostí. BA má zároveň blízký vztah k nervus interosseus posterior (NIP), jenž se rovněž nachází v CS a může být v přímém kontaktu s touto strukturou. V případě přítomnosti BA čili chybně hluboké vrstvy MS pokrývající periost může u zlomenin proximálního konce vřetenní kosti docházet k mechanickému poranění tohoto nervu.

Cíl: Zjistit četnost výskytu této variabilní manifestace, její morfometrické parametry a porovnat její vztah k dalším anatomickým strukturám.

Materiál a metody: Ze sbírek anatomických ústavů všech tří pražských lékařských fakult bylo vypitváno 35 horních končetin (bez bližšího určení věku a pohlaví) fixovaných klasickou formaldehydovou metodou, u nichž byly měřeny morfometrické parametry pomocí posuvného měřítka s přesností 0,1 cm a analytického softwaru. Analyzována byla i vzdálenost proximálního a distálního okraje BA od caput radii (CR) a její vztah k NIP. Podle tvaru byla BA klasifikována do čtyř skupin (Tabulka 1.). Dále bylo zkoumáno 486 suchých vřetenních kostí (bez bližšího určení věku a pohlaví) a u přítomné rýhy odpovídající poloze BA bylo její uložení porovnáváno s tuberositas radii (TR).

Výsledky: Zjistili jsme přítomnost BA u 19 vzorků (54 %). Vzdálenost proximálního okraje BA od CR byla v průměru 3,8 cm a distální okraj byl vzdálen 5,3 cm. Průměrný obsah BA byl 50,6 mm². Typ I jsme našli v deseti případech, dva byly typu II, pět typu III a typ IV se vyskytoval u dvou případů. U šesti vzorků byl NIP v přímém kontaktu s periostem vřetenní kosti v neutrální pozici předloktí. Na suchých preparátech byla rýha nalezena v 205 případech (42 %). Většina rýh (63,9 %) se nacházela distálně od TR, 33,7 % v její úrovni a pouze v 5 případech proximálně od ní.

Závěr: Velikost BA hraje zásadní roli pro případný kontakt NIP s periostem vřetenní kosti. I v případě, že nebyl tento nerv přímo v kontaktu s okosticí v neutrální pozici, je pravděpodobné, že se u rozsáhlejších BA do kontaktu dostane při supinaci nebo pronaci předloktí. Tato znalost může být užitečná pro pochopení vzniku některých traumatických poškození NIP při zlomeninách proximálního konce vřetenní kosti, u nichž může být nerv mechanicky narušen, nebo jako prevence iatrogenního poškození NIP při osteosyntéze v této oblasti.

Tabulka 1: Klasifikace bare area podle tvaru

Typ	Tvar
I	longitudinální
II	kosočtvercový
III	oválný
IV	trojúhelníkový

Má monitorace thiopurinových metabolitů u dětí smysl?

Pospíšilová K. (1), Šíroká J. (2), Karásková E. (3), Hradský O. (1), Lerchová T. (1), Zárubová K. (1), Čopová I. (1), Gonsorčíková L. (1), Véghová Velgáňová M. (3), Francová I. (4), Urbánek L. (2), Geryk M. (3), Mihál V. (3), Bronský J. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FNM, Praha, 2 – Laboratoř růstových regulátorů Univerzity Palackého v Olomouci a AV ČR, Olomouc, 3 – Dětská klinika Fakultní nemocnice Olomouc, Olomouc

Školitel: Jiří Bronský

Úvod: Thiopuriny (azathioprin) patří mezi nejčastěji užívaná imunosupresiva v terapii nespecifických střevních zánětů u dětí. V případech indikace biologické léčby se azathioprin často ponechává v kombinaci. Současné užívání thiopurinů v případech léčby infliximabem (anti-TNF preparát biologické léčby) je považováno za více účinné než infliximab v mono-terapii, rizikem je však četnější výskyt nežádoucích účinků.

Cíl: Primárním cílem studie bylo zhodnocení vztahu mezi koncentrací metabolitů thiopurinů v erytrocytech a sérovou koncentrací infliximabu před podáním další dávky (tzv. „trough levels“) a tvorbou protilátek proti infliximabu. Vedlejšími cíli poté bylo zhodnocení vztahu mezi thiopurinovými metabolity a klinickými i laboratorními známkami aktivity onemocnění.

Materiál a metody: 63 dětských pacientů ve dvou centrech České republiky (Fakultní nemocnice v Motole, Fakultní nemocnice Olomouc) bylo prospektivně sledováno během opakovaných návštěv od února 2016 do června 2017 – celkem 321 návštěv. Thiopurinové metabolity (6-thioguanin a 6-methylmercaptapurin) byly stanoveny za použití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Sérové koncentrace infliximabu a jeho protilátky byly stanoveny rutinně metodou ELISA. Riziko ztráty odpovědi na léčbu bylo následně studováno v podskupině 51 motolských pacientů.

Výsledky: Asociace mezi sérovými koncentracemi infliximabu a koncentracemi 6-thioguaninu v erytrocytech byla zaznamenána v případech, že byly proměnné testovány jako kategorické. Koncentrace 6-thioguaninu vyšší než 278 pmol/8 x 10⁸ se jeví jako prediktivní pro koncentrace infliximabu vyšší než 5 µg/ml (sensitivita 0,799; specifita 0,347). Vyšší riziko ztráty odpovědi k infliximabu jsme pozorovaly u pacientů s nedetekovatelnými (nulovými) hladinami 6-thioguaninu. Z non-adherence k léčbě azathioprinem je podezřelých 18% sledovaných pacientů.

Závěr: Monitorace thiopurinových metabolitů u dětských pacientů s Crohnovou chorobou může pomoci v optimalizaci kombinované léčby (infliximabu a azathioprinu).

Podpora projektu: Podpořeno MZ ČR – RVO (Fakultní nemocnice v Motole, Praha, 00064203 a Fakultní nemocnice Olomouc, Olomouc, 0098892)

Vliv downbeat nystagmu na vestibulo-okulární reflex

Danková M., Černý R., Vyhnálek M., Jeřábek J.

Neurologická klinika 2. LF a FN Motol

Školitel: Jaroslav Jeřábek

Úvod: Downbeat nystagmus (DBN) je častým okulomotorickým příznakem u pacientů s vestibulocerebelárním postižením, může však být způsoben také centrální dysbalancí vertikální složky vestibulo-okulárního reflexu (VOR). Vestibulocerebellum hraje důležitou roli při kontrole vestibulo-okulárního reflexu. Video Head Impulse test umožňuje testovat VOR ve všech horizontálních a vertikálních polokruhovitých kanálech.

Cíl: Cílem studie bylo porovnat odpovědi VOR v horizontální a vertikální rovině u pacientů s downbeat nystagmem.

Materiál a metody: Pomocí video Head Impulse Testu bylo vyšetřeno 16 pacientů s DBN a 16 pacientů s degenerativním postižením mozečku (většinou ILOCA) s dalšími okulomotorickými projevy vestibulocerebelárního postižení kromě DBN (pohledový nystagmus, patologické plynulé sledovací oční pohyby, porucha zrakové suprese VOR). Hodnocen byl gain VOR v horizontální i vertikální rovině.

Výsledky: Zjistili jsme významné rozdíly mezi odpověďmi VOR v horizontální a vertikální rovině u pacientů s DBN, kdy gain VOR vertikálních kanálů byl významně nižší ve srovnání s horizontálními. Tento rozdíl nebyl patrný u druhé skupiny pacientů. Odpovědi VOR předních a zadních kanálů byly (u obou skupin) symetrické.

Závěr: Video Head Impulse test ukázal signifikantně nižší VOR odpovědi na vertikální impulsy u pacientů s DBN. Tyto výsledky svědčí pro postižení drah vertikálního VOR u našich pacientů s DBN.

Podpora projektu: podpořeno GAUK projekt č. 608218

Can a neurosurgeon be even better and drop the infections?

G. Felici (1,2), P. Liby (1), A. Ricciardi (2), S. Necozone (3), A. Grimaldi (2), M. Tichy (1)

1 – 2nd Dept. of Pediatric Neurosurgery, Motol University Hospital, Prague, 2 – Dept. of Infectious diseases, University of L'Aquila, 3 – Dept. of Life, Health & Environmental Sciences, University of L'Aquila

Supervisor: Petr Liby

Introduction: The insertion of foreign body materials into the body may be accompanied by many potential problems. In case of ventriculo-peritoneal shunts the infection is a major complication. The average shunt infection rate is about 5–15%, 90% of infections are caused by *Staphylococcus* species. Preoperative i.v. antibiotics are administered routinely 15–30 minutes before incision. The latest development consists in using antibiotic-impregnated catheters (AIC), with the prolonged release of two different antibiotics.

Aims: This study was undertaken to determine the risk factors for infections, risk factor for a negative prognosis and to set a new protocol.

Materials and Methods: A total of 191 patients underwent 552 device implantations from January 2013 to May 2018. We selected the infected patients using 2 or more criterias among these: the presence of the pathogen(s) in the CSF, the presence of the pathogen(s) in the blood, fever, CRP > 8mg/l, neutrophils > 0.700×10^9 , leucocytes in the liquor > $12/3$ ul. We collected the resistances of pathogens based on one or more Antibioqram(s). Axetine (cefuroxime) was administered to each patient intravenously in every surgery performed, 30 minutes before first incision.

Results: The total number of tumors was 69, the total number of non tumor related etiology was 122. The total number of infections was 71. The total number of patients infected was 43.

Thirty-seven children presented one or more pathogen(s) in the CSF. Thirty-five children presented fever. All the children presented a CRP higher than 8 mg/l (mean: 98.48 mg/l). Eighteen on 25 children presented neutrophils > 0.700×10^9 (mean: 1.06×10^9). Eight on 8 children presented leucocytes > $12/3$ ul in the CSF (mean: $1416/3$ ul).

The infection was more frequent in non-tumoral hydrocephalus etiology (2.15 times more; $P=0.035$), age below 6 years (3.18 times more; $P=0.0001$) and more than one infection in the patient's history (10.43 times more; $P<0.0001$).

Conclusions: Non-tumoral etiology hydrocephalus, Age < 6 years, Implantation of shunt, More than 1 infection in the patient's history and Perioperative antibiotic different from vancomycin or cefuroxime are important risk factor for developing a device infection, and should be considered in a new protocol.

Dlhá nekódujúca RNA MIAT...

Feriančíková B., Feglarová T., Eckschlager T., Hraběta J.

Klinika detské hematologie a onkologie, UK 2. LF a FN Motol

Školiteľ: Tomáš Eckschlager

Úvod: Dlhé nekódujúce RNA (lncRNA) sú typom RNA s dĺžkou presahujúcou 200 nukleotidov, ktoré sa neprekladajú do proteínov. Ich funkciou býva regulácia génovej expresie. Zmeny expresie lncRNA boli nájdené u mnohých nádorov. Neuroblastóm (NBL) je najčastejším solidným extrakraniálnym maligným nádorom detí. Amplifikácia onkogénu NMYC je dobre známym negatívnym prognostickým markerom v NBL a koreluje s vysokou agresivitou nádoru. Zistilo sa, že lncRNA MIAT vykazuje aberantnú expresiu pri rôznych ochoreniach (infarkt myokardu, schizofrénia, ischemická mŕtvica, diabetické komplikácie aj nádorové ochorenia).

Cíl: Cieľom štúdie je objasnenie významu expresie lncRNA MIAT v bunkách NBL.

Materiál a metódy: Experimenty boli prevádzané na bunkových líniiach odvodených od ľudského NBL. Hladina expresie MIAT a NMYC bola stanovená pomocou qRT-PCR. Pre dosiahnutie zníženej expresie MIAT bola transfekovaná siRNA MIAT a kontrolná siRNA do buniek NBL. Pomocou PrestoBlue bola zisťovaná životaschopnosť buniek. Miera apoptózy bola analyzovaná pomocou Annexin V/DAPI. Expresia proteínu NMYC bola stanovená Western blotom. Migrácia buniek po transfekcii bola hodnotená pomocou „wound healing assay“. Mitochondriálna respirácia a glykolýza boli merané pomocou Agilent Seahorse XFP Cell Mito a Glyko záťažovými testami.

Výsledky: Bola skúmaná expresia lncRNA MIAT na paneli bunkových línii NBL s amplifikáciou NMYC a bez nej. Bolo zistené, že expresia MIAT silno koreluje s NMYC amplifikáciou. Knock-down MIAT pomocou siRNA sa prejavil vo významnom zastavení buniek v G0 fáze bunkového cyklu a v poklese fáze S v UKF-NB-4 (MYCN ampl.) aj SH-SY5Y (MYCN nonampl.) bunkách. Ďalej, down-regulácia MIAT znižuje migráciu buniek s amplifikáciou NMYC i bez nej (UKF-NB-4, SH-SY5Y). Umlčanie MIAT v bunkových líniiach ľudského NBL indukovalo apoptózu v líniiach s NMYC amplifikáciou v porovnaní s bunkovou líniou bez NMYC amplifikácie, kde sme pozorovali iba inhibíciu rastu. Mitochondriálna oxidatívna fosforylácia, meraná rýchlosťou spotreby kyslíka, a tiež funkcia glykolýzy, meraná rýchlosťou extracelulárneho okysľovania, boli znížené v skupine siMIAT. Knock-down MIAT znížil expresiu NMYC na úrovni proteínu aj mRNA v bunkových líniiach NBL s NMYC amplifikáciou.

Záver: Tieto výsledky naznačujú, že hladina expresie MIAT je potenciálne spojená s NMYC amplifikáciou v NBL a je dôležitá pre proliferáciu, metabolizmus a agresivitu NBL, najmä pre tie s NMYC amplifikáciou.

Podpora projektu: Podporuje GAUK 2120247.

ADAPTATION OF TAPE REMOVAL TEST FOR MEASUREMENT
OF SENSITIVITY IN PERINEAL AREA OF RAT**Adaptation of tape removal test**

Neumannova K. (1, 2), Machova-Urdzikova L. (1), Kwok J. C. F. (1, 3), Fawcett J. W. (1, 4), Jendelova P. (1, 2)

1 – Institute of Experimental Medicine Czech Academy of Science, Prague, Czech Republic, 2 – 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 – Faculty of Biological Sciences, University of Leeds, UK, 4 – John van Geest Centre for Brain Repair, University of Cambridge, UK

Supervisor: RNDr. Pavla Jendelová

Introduction: Regeneration after spinal cord injury is a goal of many studies. Although the most obvious target is to recover motor function, restoration of sensation can also improve the quality of life after spinal cord injury. For many patients, recovery of sensation in the perineal and genital area is a high priority. Currently there is no experimental test in rodents for measuring changes in sensation in the perineal and genital area after spinal cord injury.

Aims: The aim of our study was to develop the behavioural test for measuring the sensitivity of perineal and genital area in rats.

Materials and Methods: We have modified the tape removal test used routinely to test sensorimotor deficits after stroke and spinal cord injury to test the perineal area with several variations. A small piece of tape was attached to the perineal area. Time to first contact and to the removal of the tape was measured. Each rat was trained for 5 consecutive days and then tested weekly. We compared different rat strains (Wistar, Sprague-Dawley, Long-Evans and Lewis), both genders, shaving and non-shaving and different types of tape.

Results: We found that the test was suitable for all tested strains, however, Lewis rats achieved the lowest contact times, but this difference was significant only for the first few days of learning the task. There were no significant differences between gender and different types of tape or shaving. After training the animals underwent dorsal column lesion at T10 and were tested at day 3, 8, 14 and 21. The test detected a sensory deficit, the average time across all animals to sense the stimulus increased from 1'32 up to 3'20. There was a strong relationship between lesion size and tape detection time, and only lesions that extended laterally to the dorsal root entry zone produced significant sensory deficits. Other standard behavioural tests (BBB, von Frey, ladder and Plantar test) were performed in the same animals. There was a correlation between lesion size and deficit for the ladder and BBB tests, but not for the von Frey and Plantar tests.

Conclusions: We conclude that the tape removal test is suitable for testing perineal sensation in rats, can be used in different strains and is appropriate for monitoring changes in sensation after spinal cord injury.

Support: Supported by Operational Programme Research, Development and Education in the framework of the project “Center of Reconstructive Neuroscience”, registration number CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000419

Hledání biomarkeru k snížení počtu biopsií

Hanousková L. (1), Řezáč J. (2), Veselý Š. (2), Průša R. (1), Kotaška K. (1)

1 – Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF a FNM, 2 – Urologická klinika 2. LF a FNM

Školitel: Karel Kotaška

Úvod: Zvýšená hladina thymidinkinasy-1 (TK-1) v séru je spojována s proliferací maligních buněk a byla zkoumána u různých typů nádorů. (karcinom prsu, plic, kolorektální karcinom, hematologické malignity atd.).

Cíl: Cílem studie bylo zjistit možné diagnostické využití TK-1 u karcinomu prostaty.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno celkem 59 pacientů průměrného věku 68 let s klinicky diagnostikovaným karcinomem prostaty a 28 zdravých jedinců průměrného věku 63 let bez relevantní urologické anamnézy a hodnoty PSA v normě (PSA <3.0 µg/L). TK-1 v séru byly měřeny komerčně dostupným kitem založeným na principu sendvičové ELISY (LSBio, Inc., Severní Amerika). Detekční limit metody je 0.0625 pmol/l a intra-assay CV <5.6 inter-assay CV <8.3%. Pacienti byli rozděleni dle závažnosti onemocnění do dvou skupin dle Doporučení Evropské urologické asociace (EAU) (Stage 1,2 – méně závažné a Stage 3 – závažné tumory). Rozdíl mezi skupinami byl statisticky vyhodnocen pomocí neparametrického Mann-Whitneyova testu ($P < 0.005$) a k posouzení diagnostické efektivity byla použita ROC analýza.

Výsledky: specifitou 53.6% a senzitivitou 94.9. %). Pacienti s méně závažným i závažným stupněm onemocnění měli signifikantně zvýšené koncentrace TK-1 v séru ($P < 0.0001$). Pacienti s karcinomem prostaty měli vyšší hodnoty PSA oproti kontrolní skupině (7.32 µg/L vs. 1.25 µg/L) Kombinace vyšetření Stanovení TK-1 s PSA zvýšila diagnostickou efektivitu (AUC = 0.87).

Závěr: Koncentrace TK-1 jsou signifikantně zvýšené u karcinomu prostaty a vyšší koncentrace jsme prokázali u závažnějších stádií. TK-1 se jeví jako slibný doplňkový biomarker pro diagnostiku pacientů s karcinomem prostaty.

Podpora projektu: Práce byla podpořena Grantem Urologické kliniky FN Motol (výzkumným záměrem č. 6014)

**Prodloužení dávkování natalizumabu u RS — více muziky
za méně peněz?**

Petržalka M. (1), Meluzínová E. (1), Mojžišová H. (1), Libertínová J. (1), Ročková P. (1), Němá E. (1), Elišák M. (1), Marusič P. (1)

Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: Petr Marusič

Úvod: Natalizumab je vysoce efektivní lék používán v terapii RS. Nejzávažnějším nežádoucím účinkem natalizumabu je riziko rozvoje progresivní multifokální leukoencefalopatie. Za účelem minimalizace tohoto rizika bylo navrženo prodloužení dávkovacího intervalu.

Cíl: Cílem této studie bylo posoudit možné důsledky prodloužení intervalu na účinnost léčby.

Materiál a metody: Jedná se o retrospektivní analýzu všech pacientů léčených natalizumabem v Centru pro diagnostiku a léčbu demyelinizačních onemocnění FN Motol, kteří byli vzhledem ke zcela stabilizovanému stavu a/nebo zvýšenému riziku rozvoje progresivní multifokální leukoencefalopatie převedeni na 6týdenní dávkovací interval. Zahrnuti byli pouze pacienti léčení alespoň 1 rok v 4týdenním intervalu a zároveň alespoň 1 rok v 6týdenním dávkovacím intervalu.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno 25 pacientů, které jsme hodnotili před a po převedení na 6týdenní interval. Průměrná délka sledovaného období byla celkem $3,8 \pm 1,9$ roku (v součtu pro oba intervaly). Průměrná roční četnost atak (annualized relapse rate) byla při 4týdenním intervalu $0,073 \pm 0,209$; při 6týdenním $0,074 \pm 0,178$ ($p = 1,0000$). Průměrná nová roční aktivita na MR byla při 4týdenním intervalu $0,29 \pm 0,40$; při 6týdenním $0,16 \pm 0,33$ ($p = 0,1250$). Průměrné EDSS bylo při 4týdenním intervalu $2,29 \pm 0,90$; při 6týdenním $2,16 \pm 0,88$ ($p = 0,0127$). Při prodlouženém intervalu jsme zaznamenali jeden případ progresivní multifokální leukoencefalopatie, při standardním intervalu nebyl zaznamenán žádný.

Závěr: V našem souboru jsme neprokázali nižší efektivitu 6týdenního dávkovacího intervalu natalizumabu oproti 4týdennímu. Tento výsledek je v souladu s výsledky předchozích studií. Případná změna dávkovacího schématu na základě těchto poznatků by měla za následek kromě vyšší bezpečnosti a většího komfortu pro pacienta i nižší finanční zatížení pro zdravotní systém.

Podpora projektu: Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekty č. 470119 a č. 546317).

NOVEL NRG1 GENE FUSIONS AND ITS TUMOR ASSOCIATIONS IDENTIFIED BY NEXT-GENERATION SEQUENCING

NRG1 - Rearranged Cancers

Ptakova N. (1, 2), Vanecek T. (1), Martinek P. (1), Hajkova V. (1) and Macek M. jr. (2)

1 – Molecular Genetics Department, Biopsticka Laboratory s.r.o., Pilsen, Czech Republic, 2 – Second faculty of Medicine, Prague, Czech Republic

Supervisor: Milan Macek jr.

Introduction: The NRG1 gene is localized on the chromosome arms 8p. It codes protein neuregulin 1, a critical signaling protein that mediates the growth and development of multiple organ systems. Its aberrant activation, mainly via mutation and fusions, is associated with a wide range of malignancies. It is also believed to be a promising therapeutic target in the near future, similar to NTRK genes. The Archer technology permits the simultaneous detection of both known recurrent fusions as well as previously unidentified fusions at key breakpoints in target genes. Targeted next-generation sequencing is currently used for diagnostics, prognostics and predictive molecular analysis in routine molecular pathology.

Aims: Our study set out to retrospectively examine the NRG1 fusions identified at our institution over a 2-year period, using various NGS panels, detection of novel fusion partners and their association with specific tumor entities.

Materials and Methods: In the years 2017–2018, 2480 different neoplastic tissues were analyzed for the presence of fusion transcripts by targeted RNA sequencing. Fusion Plex Solid Tumor and Comprehensive Thyroid and Lung Kit (ArcherDX Inc., Boulder, CO) was used to construct cDNA library for detection fusion transcripts in 52 and 36 genes respectively. All positive results were merged with clinical follow – up. We used data mining to seek and classify the NRG1 gene rearrangements in our internal database.

Results: Six NRG1 fusion-positive cases investigated by Fusion Solid Tumor (Archer Dx) panel were identified during 2017 and 2019 at our institution. Fusions were identified by RNA-based AMP and confirmed by break-apart fluorescence in-situ hybridization (FISH) and/or primer specific RT-PCR.

Five of the six identified fusion genes were unique. Two novel fusions were identified, namely TNC – NRG1 in a kidney papillary carcinoma, and a UNC5D-NRG1 in a prostate acinic carcinoma. The rest four NRG1 gene alteration, which included SDC4-NRG1, CD74 – NRG1 and VAMP2-NRG1 fusions, were seen in lung adenocarcinomas (bronchus adenocarcinomas and lung adenocarcinoma).

Conclusions: NRG1 rearrangements occurred predominantly in lung cancers however can be detected across a variety of other cancers. Using a large targeted RNA sequencing panels proved to be efficient in detecting new clinically actionable targets.

**Better knowledge of lymphatic tissue means
better oncological outcomes**

Votava J. (1, 2), Grega M. (3), Hoch J. (1), Kachlík D. (2)

1 – Department Of Surgery, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague and Motol University Hospital,
2 – Department of Patology and Molecular Medicine, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague and Motol
University Hospital, 3 – Department of Anatomy, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Supervisor: David Kachlík

Introduction: In literature can be found evidence of reduction of lymphatic tissue after chemotherapy and radiotherapy. Only few studies were focused primarily on difference between numbers of lymph nodes found in the rectal specimen in groups of patients who underwent neoadjuvant chemotherapy and radiotherapy and those who were operated on primarily.

Aims: Number of lymph nodes found in the specimen is one of the decisive factors for adjuvant therapy. Therefore focus of this study is to show level of reduction of lymphatic tissue by neoadjuvant therapy.

Materials and Methods: 139 patients who underwent surgery for rectal adenocarcinoma at our department were analysed and divided in to two groups: first group of patients treated with neoadjuvant therapy, and second group cured without this method. Attention was given to number of lymph nodes found by pathologists in the specimen. All patients were operated by the same technic with objective to achieve total mesorectal excision and all the specimens were examined by the same team of pathologists. For statistics was used one-way analysis of variance ANOVA.

Results: First group (neoadjuvant therapy) contained 69 patients with an average number of 13,7 (1-38) lymph nodes in the specimen while in the second group (primarily operated) contained 70 patients with the average number of 17,3 (4-43) lymph nodes. Result from ANOVA is p-value less than 0.05 ($p < 0.016$). Difference between two groups is statistically significant.

Conclusions: Significantly lower number of lymph nodes was found in group of patients who underwent neoadjuvant therapy. This fact should be considered because it shows need of re-evaluation of conditions for the necessity of adjuvant chemotherapy from the perspective of number of lymph nodes found in the specimen collected.

Support: This study is financially supprotted by GAUK nr. 2120256

ANALÝZA ZDROJE MESENCHYMÁLNÍCH KMENOVÝCH BUNĚK A JEHO VYUŽITÍ V TERAPII CHONDRÁLNÍHO DEFEKTU KOLENNÍHO KLOUBU U PACIENTŮ STARŠÍCH 40 LET

Buňky, které nestárnou, máme na dosah

Neckář P. (1), Havlas V. (2), Bauer P. (3)

1 – Oddělení sportovní medicíny, Krajská zdravotní a.s., Masarykova nemocnice Ústí nad Labem o.z., 2 – Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF, FN Motol, 3 – Bioinova s.r.o.

Školitel: Vojtěch Havlas

Úvod: Léčba chondrálních defektů kolenního kloubu pomocí mikrofraktur u pacientů nad 40 let věku nemá dobré výsledky. Aplikace získaných Mononukleárních buněk (MNCs) nebo kultivovaných mesenchymálních buněk (MSCs) na 3D nosič by mohla zvýšit efektivitu léčby u pacientů nad 40 let věku.

Cíl: Cílem naší studie bylo zjistit, zda buněčný aspirát kostní dřeně z proximální tibie má stejné kvantitativní a kvalitativní výsledky jako aspirát z lopaty kosti kyčelní u pacientů starších 40 let. Jestliže by se naše hypotéza potvrdila, bylo by možné provést odběr aspirátu peroperačně při artroskopické operaci a získaný aspirát MNCs či kultivované MSCs použít k léčbě chondrálního defektu u pacientů starších 40 let.

Materiál a metody: Materiál, aspirát kostní dřeně, byl získán trepanobioptickou jehlou z lopaty kosti kyčelní a proximální metafýzy tibie u 10 dobrovolných dárců starších 40 let během implantace totální edoprotézy kolenního kloubu. Získané mononukleární buňky (MNCs) byly izolovány, kultivovány a imunofenotypizovány. Oba zdroje byly vůči sobě porovnány stran viability buněk, množství získaných MSCs a potenciální diferenciaci v chondroblasty.

Výsledky: Koncentrace mononukleárních buněk (MNCs) byla signifikantně vyšší z oblasti lopaty kosti pánevní. Zisk MSCs byl signifikantně vyšší u MSCs, pocházejících z pánevní kosti a to v rámci porovnání podílu MSCs ku MNCs při první pasáži. Nicméně kvalitativní analýzy, zaměřující se na imunofenotypizaci, viabilitu a parametr population doubling time vychází stejně u MSCs z obou odběrových míst.

Závěr: Přestože počet MNCs i poměr MSCs ku MNCs vychází signifikantně ve prospěch kmenových buněk izolovaných z lopaty kosti pánevní, kvalitativní znaky jsou na stejné úrovni. Taktéž z parametru population doubling time se dá usuzovat, že alternativní zdroj MSCs v podobě metafýzy proximální tibie lze využít pro získání terapeuticky relevantního počtu kmenových buněk a tedy pro případnou léčbu chondrálních defektů kolenního kloubu.

Podpora projektu: Analýza buněk byla podpořena interním gratem Krajské zdravotní a.s.

Komparace bioinformatických analýz pro detekci CNV

Brož P. (1, 3), Kvapilová K. (2, 3), Daniel L. (3), Kvapil P. (3)

1 – ÚBLG 2. LF UK a FN Motol, 2 – PíF UK, 3 – Institute of Applied Biotechnologies a.s.

Školitel: Jan Geryk

Úvod: Genomové strukturní varianty typu CNVs hrají nejenom významnou roli v lidské evoluci, ale také zajišťují fenotypovou diverzitu mezi jednotlivci. Zároveň jsou dle současných poznatků zodpovědné za celou škálu onemocnění včetně autismu, schizofrenie, obezity a dalších. Klinicky zavedené laboratorní techniky pro detekci CNVs jsou: FISH, CGH array, SNP arrays případně MLPA. Tyto techniky mohou detekovat CNVs od velikosti jedné kilobáze (Kb) až po několik megabází (Mb). S nástupem NGS byla vytvořena řada algoritmů pro nalezení CNVs s rozlišením od 50 páru bází (bp) až po megabáze.

Cíl: Cílem studie bylo srovnat algoritmické bioinformatické metody pro detekci CNVs a porovnat frekvence a výskyt jednotlivých strukturních variant. Tyto varianty následně validovat pomocí laboratorní metody CGH Array a následně uložit do relační databáze.

Materiál a metody: Dnes existují čtyři základní bioinformatické přístupy pro detekci CNVs z NGS dat sekvenovaných metodou paired end: (1): read depth (RD), (2): paired-end mapping (PEM), (3): split reads (SR) a (4): assembly (AS). V naší studii, která je pilotní částí projektu ENIGMA – národní digitální mapy českého genomu, jsme vybrali kohortu 100 probandů, jejichž DNA byla následně sekvenována na platformě NovaSeq 6000 dvěma způsoby: (1): celogenomové sekvenování (WGS) a (2): celoxomové sekvenování (WES). V první fázi testování workflow pro detekci CNV byl použit algoritmus na principu read depth. Data byla zarovnána k referenční sekvenci hg38 (primary assembly), následně filtrována dle kvality Phred Q30, coverage (alespoň 30x), dále byl vytvořený konfidenční interval (+-30bp), ve kterém byla následně vypočítána read depth, normalizována na základě QC content a nakonec segmentována (Circular Binary Segmentation). Výstupem celé workflow je VCF (variant calling file) soubor. Workflow byla programována v jazyce Python, Bash a R.

Výsledky: Výsledný VCF soubor byl kategorizován dle velikosti CNV (50-500bp, 500 bp – 2 Kb, 2 Kb – 10 Kb a > 10 Kb). Celkem bylo nalezeno v jednotlivých intervalech 2609 CNVs pro data set WGS a 1724 CNVs pro WES. V Kategorii intervalu < 500 bp 315 a 118 CNVs (WGS a WES), 500 bp – 2 Kb 862 a 131 CNVs, 2 Kb – 10 Kb 463 a 256 CNVs a v intervalu více jak 10 Kb 969 a 1219 CNVs. Dané CNV byly Anotovány k databázi Clinvar (CNV). Zajímavý nález byl například delece genu GSTM1, který může hrát roli v kolorektálním karcinomu.

Závěr: Všechny výsledky budou validovány dalšími bioinformatickými přístupy včetně technologie CGH Array. Potvrzené CNV budou uloženy do relační databáze a budou tvořit jednu z důležitých částí pro anotaci a interpretaci klinických nálezů.

Podpora projektu: Podpořeno granty: CZ.01.1.02/0.0/0.0/16_084/0010360 – Enigma, MPO

Diagnostika primárních imunodeficitů v mnohobarevné zkumavce

Bakardjieva M. (1), Blom M. (2), Barendregt B. (3), Kanderová V. (1), Bonroy C. (4), Philip-pé J. (4), Blanco E. (5), Perez-Andres M. (5), Pico-Knijnenburg I. (2, 3), Wolska B. (6), Pac M. (6), Tkaczyk J. (7), Akar H. (8), Formánková R. (1), Freiburger T. (9, 10), Svatoň M. (1), Šedivá A. (11), de Arriba S. (5), Orfao A. (5), J. M. van Dongen J. (3, 12), van der Burg M. (2, 3) and Kalina T. (1)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 2 – Dept. of Pediatrics, Laboratory for Immunology, Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden; 3 – Dept. of Immunology, Erasmus MC, Rotterdam, University Medical Center Rotterdam; 4 – Laboratory for Clinical Biology and Hematology, University Hospital Ghent; 5 – Dep. Medicine-Serv. Cytometry, Cancer Research Center (IBMCC-CSIC/USAL) and Univ. of Salamanca, Salamanca; 6 – Dept. of Immunology, Children's Memorial Health Institute, Dept. Of Immunology, Warsaw; 7 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha; 8 – Dept. of Pediatric hematology and Oncology at Erciyes University, Kayseri; 9 – Centrum kardiiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno; 10 – CEITEC, Masarykova Univerzita, Brno; 11 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 12 – Dept. of Immunohematology and Blood Transfusion (IHB), Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden

Školitel: Tomáš Kalina

Úvod: Primární imunodeficiency (PID) představují heterogenní skupinu vrozených poruch imunitního systému. Nejzávažnější formou PID je těžký kombinovaný imunodeficit (SCID-Severe Combined Immunodeficiency), který se vyznačuje poruchou vývoje T lymfocytů, často v kombinaci s deficitem v dalších lymfocytárních řadách. Klinicky se projevuje komplikovanými infekcemi časně po narození. U těchto pacientů je nutná včasná diagnóza a indikace transplantace hematopoetických buněk. Euroflow konsorcium vyvinulo panel pro průtokovou cytometrii (SCID-RTE Tube) za účelem standardizované evaluace pacientů s podezřením na PID. Test se zaměřuje na detekci nejnaivnějších forem T lymfocytů, tzv. recent thymic emigrants (RTE) společně s dalšími maturačními i aktivačními stádii T lymfocytů.

Cíl: Vyvinout standardizovaný test (SCID-RTE Tube) pro průtokovou cytometrii k identifikaci pacientů s podezřením na závažnou formu PID.

Materiál a metody: Byla analyzována krev pacientů s geneticky definovanou formou PID (n=26, 0–2 roky): 15 SCID pacientů s mutacemi v genech RAG1 nebo RAG2 (n=4, 2 s Omenovým syndromem), IL2RG (n=4, 1 s potvrzeným maternálním engraftmentem), NHEJ1 (n=1), CD3E (n=1), ADA (n=1), JAK3 (n=3, 2 s potvrzeným maternálním engraftmentem), DCLRE1C (n=1) a 11 dalších PID pacientů s různými molekulárními defekty v genech ZAP70 (n=1), WAS (n=2), PNP (n=1), FOXP3 (n=1) del22q11.2 (DiGeorge n=2; kompletní DiGeorge n=2), CDC42 (n=1) a FAS (n=1). Pacientské vzorky byly společně se vzorky krve zdravých dárců (n=44, 0–2 roky) změřeny ve 4 Euroflow laboratořích pomocí SCID-RTE zkumavky využívající 8 barevný protilátkový panel pro průtokovou cytometrii. RTE buňky byly definovány jako CD62L+CD45RO-HLA-DR-CD31+, naivní CD8+ a CD4+ lymfocyty jako CD62L+C-D45RO-HLA-DR – a aktivační stav buněk jako HLA-DR+.

Výsledek: Pomocí SCID-RTE zkumavky jsme identifikovali pacienty s PID, a to detekcí nízké hladiny nebo úplné absence RTE buněk i dalších naivních forem CD4+ a CD8+ lymfocytů. Úplná absence RTE buněk byla potvrzena u všech SCID pacientů, včetně těch s maternálním engraftmentem nebo Omenovým syndromem charakteristickým přítomností oligoklonálně expandovaných buněk. Dalším významným poznatkem byly zvýšené hodnoty aktivovaných CD4+HLA-DR+ a CD8+HLA-DR+ lymfocytů u všech pacientů.

Závěr: SCID-RTE zkumavka je vhodným diagnostickým cytometrickým testem pro vyšetření pacientů s podezřením na závažnou formu PID.

Podpora projektu: GAUK316218

Robotické operace cystických lézí jater

Langer D., Ryska M.

Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha

Školitel: Miroslav Ryska

Úvod: Od počátku třetího milénia je patrna robotizace miniinvasivních výkonů v mnoha chirurgických oborech. Indikace k použití robotické soustavy da Vinci se postupně rozšiřují včetně jaterní chirurgie.

Cíl: 1. Prezentace výsledků chirurgické léčby s robotickou asistencí u nemocných s cystickým onemocněním jater. 2. Analýza celkové odezvy organismu a srovnání zátěže při manuálním a roboticky asistovaném laparoskopickém výkonu.

Materiál a metody: Zhodnocení skupiny 15 nemocných, kteří na našem pracovišti podstoupili pro symptomatické cystické léze jater roboticky asistovanou operační léčbu. Porovnání získaných dat a výsledků – osobních a intraoperačních dat včetně ukazatelů hemodynamiky, biochemického vyšetření krve a údajů k hodnocení perioperační celkové zátěže pacienta vyjádřené hodnotami cytokinů, u skupiny roboticky operovaných pacientů s kontrolní skupinou nemocných, u kterých byla provedena operace laparoskopickou technikou.

Výsledky: Soubor pacientů operovaných s robotickou asistencí tvořilo 11 žen (73%) a 4 muži (27%) průměrného věku 62 let (38–72 let). Operační výkony jsme u všech nemocných dokončili miniinvasivní technikou s průměrnou dobou operačního výkonu 109 minut. V polovině případů byla jaterní cysta lokalizována v pravém laloku. U čtyř pacientů jsme současně provedli cholecystektomii. V hodnocené sestavě nemocných jsme zaznamenali časovou pooperační komplikaci u 1 operanta (biliární leak). Žádný nemocný nezemřel. Transfúzní přípravky jsme nepodali. Ve třech případech jsme potvrdili recidivu onemocnění.

Při srovnání údajů stran věku, perioperační krevní ztráty, komplikací a délky hospitalizace nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi oběma skupinami nemocných. Robotická skupina pacientů nevykázala oproti kontrolní skupině statisticky signifikantní rozdíl, kromě hodnot hladin fibrinogenu třetí pooperační den. V hemodynamických parametrech (srdeční index, centrální žilní tlak, indexovaný tepový objem, indexovaná systémová vaskulární rezistence, dodávka kyslíku ke tkáním, střední arteriální tlak – MAP, laktát, intraabdominální tlak) jsme nezaznamenali signifikantní rozdíl mezi kontrolní a experimentální skupinou, kromě jedné hodnoty a to MAP s koncem operačního výkonu.

Závěr: Miniinvasivní přístup v operační léčbě cystického onemocnění (vyjma polycystózy) jater je postupem efektivním s minimální morbiditou. Robotický systém da Vinci se významně uplatní především v méně dostupných jaterních segmentech v podbráničním prostoru. Posuzované perioperační parametry u obou skupin pacientů jsou ve výsledcích srovnatelné.

Když dva mají totéž, není to vždycky totéž

Slámová Z. (1), Tajtlová J. (2), Novotná D. (1), Šulcová H. (2), Trková M. (3), Hedvičáková P. (1), Havlovicová M. (1), Gregor V. (2), Drábová J. (1), Sedláček Z. (1)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol Praha, 2 – Oddělení lékařské genetiky, Thomayerova nemocnice Praha, 3 – Gennet, s.r.o. Praha

Školitel: Zdeněk Sedláček

Úvod: Chromozomová oblast 15q11q13 je vzhledem k přítomnosti pěti rekurentních zlomových míst (BP1-BP5) náchylná ke vzniku intrachromozomových přestavb (delecí, duplikací, triplikací a inverzí), případně k formování nadpočetných marker chromozomů (sSMC). Intersticiální triplikace 15q11q13 zapříčiňující tetrazomii dané oblasti jsou vzácné, a na rozdíl od duplikací jsou vždy doprovázeny závažným fenotypovým projevem. Podobně jako u triplikací lze parciální tetrazomii oblasti 15q11q13 a tedy i kritického regionu pro PWS/AS pozorovat u pacientů s velkým nadpočetným inv dup(15) sSMC v karyotypu.

Cíl: Cílem práce bylo genotypové a fenotypové porovnání dvou patientek s velice podobným microarray profilem při odlišné konstituci karyotypu. U pacientky A se jednalo o komplexní přestavbu oblasti 15q, zatímco u pacientky B byl zjištěn velký nadpočetný inv dup(15) sSMC. Obě přestavby měly de novo původ.

Materiál a metody: U patientek A i B (ve věku 4 a 2 roky) byl stanoven karyotyp, následně bylo provedeno vyšetření metodou array CGH a SNP array. Všechny nálezy byly ověřeny a upřesněny metodou FISH. Byla též provedena analýza imprintovaných oblastí 15q metodou MS-MLPA.

Výsledky: Porovnáním obou patologických microarray profilů představovaných triplikací oblasti 15q11.2q13.2 (BP1-BP4) v rozsahu 7,88 Mb (pacientka A) a 8,00 Mb (pacientka B) s navazující duplikací oblasti 15q13.2q13.3 (BP4-BP5) v rozsahu 2,18 Mb (A) a 2,07 Mb (B) byly zjištěny pouze nevýznamné odchylky v délce jednotlivých segmentů. Z hlediska relevantního genového obsahu lze obě přestavby hodnotit jako rovnocenné. Rovněž rodičovský původ aberovaných chromozomů je u obou případů maternální, čemuž odpovídá i metylační profil imprintovaných oblastí. U pacientky A chromozomová přestavba 15q11.2q13.3 sestává ze tří nestejně dlouhých segmentů, přičemž oba krajní obsahují triplikovanou i duplikovanou oblast (BP1-BP5) a prostřední invertovaný segment pouze triplikovanou (BP1-BP4). U pacientky B je nadpočetný marker chromozom tvořen dvěma opačně orientovanými nestejně dlouhými segmenty (BP1-BP5) a (BP1-BP4).

Závěr: Na základě podobného fenotypu obou patientek, tj. velmi mírný kraniofaciální dysmorfismus, centrální hypotonie, autistické rysy, PMR s opožděním vývoje řeči, středně těžká MR (diagnostikovaná vzhledem k věku zatím pouze u pacientky A), a též minimálního rozdílu v rozsahu jednotlivých segmentů obou přestavb se lze domnívat, že uspořádání jednotlivých kopií v karyotypu v tomto případě nehraje zásadní roli.

Podpora projektu: AZV 17-29423A, MZ ČR–RVO, FN Motol 00064203

TARGETED FASCICULAR BIOPSY OF THE SCIATIC NERVE: RATIONALE AND OPERATIVE TECHNIQUE

Targeted fascicular biopsy of the sciatic nerve

Stepan Capek (1, 2), Kimberly K. Amrami (3), P. James B. Dyck (4), Robert J. Spinner (5)

1 – Department of Neurosurgery, University of Virginia, Charlottesville, VA, USA, 2 – 2nd Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic, 3 – Department of Radiology, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA, 4 – Department of Neurology, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA 5 – Department of Neurosurgery, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Supervisor: Martin Sames

Introduction: Nerve biopsy is typically performed in distal, sensory non-critical nerves with no imaging to target more involved regions; the yield of these procedures rarely achieves more than 50%. We believe that in selected cases where preoperative evaluation points towards a more localized (usually a more proximal) process, targeted biopsy would be likely to capture the disease. Synthesis of data obtained from clinical examination, electrophysiological testing and magnetic resonance imaging allows us to biopsy a portion of major mixed nerves safely and efficiently.

Aims: To provide a summary of our experience over a 15-year period with the most common site of biopsy, the sciatic nerve, and our improved results in obtaining diagnoses for otherwise undiagnosed cases.

Materials and Methods: We reviewed all cases of sciatic nerve biopsy performed between 2000 and 2014 at our institution. Only cases of fascicular nerve biopsy approached from the buttock or from the posterior aspect of the thigh were included. Demographic data, clinical presentation and the presence of percussion tenderness for each patient were recorded. Reviewed studies included electrodiagnostic tests and imaging modalities. Previous nerve and muscle biopsies were noted. All details of the procedure, final pathology and its treatment implications were recorded. Complication rate was carefully assessed for temporary as well as permanent complications.

Results: One hundred-twelve cases (63 men, 49 women) of sciatic nerve biopsy were performed. Mean age was 46.4 years. Seventy seven (68.8%) patients presented with single lower extremity symptoms, 16 (14.3%) with bilateral and 19 (17%) with generalized symptoms. No patient had normal physical examination. All patients had electrodiagnostic studies, which were abnormal in 110 (98.2%) cases. MRI was available in all patients and was read as pathological in 111 (99.1%). The overall diagnostic yield of the biopsy was 84.8% (n=95). The pathological diagnoses included inflammatory demyelination, perineurioma, non-specific inflammatory changes, neurolymphomatosis, amyloidosis, prostate cancer, injury neuroma, neuromuscular choristoma, sarcoidosis, vasculitis, hemangiomas, arteriovenous malformation, fibrolipomatous hamartoma (lipomatosis of nerve) and cervical adenocarcinoma. In the series were 11 (9.9%) temporary and 5 (4.5%) permanent complications: 3 patients (2.7%) reported permanent numbness in the peroneal division distribution and 2 patients (1.8%) diagnosed with neuromuscular choristoma developed desmoid tumor at the biopsy site three and eight years later.

Conclusions: Targeted fascicular biopsy of the sciatic nerve is safe and efficient diagnostic procedure, which in highly selected cases we offer as an initial procedure over distal cutaneous nerve (i.e. sural or superficial peroneal) biopsy. Diagnoses were very diverse including entities considered very rare. Even in the more prevalent diagnoses, the biopsy technique allowed for a more targeted approach with a higher diagnostic yield and justification for more aggressive treatment. Based on this series we have also identified new radiologic patterns of some entities, which we biopsy less frequently.

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE OF PLACENTAL GROWTH FACTOR SERUM CONCENTRATION IN CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMA

PIGF — a potential biomarker in clear cell renal cell carcinoma

Cechova M. (1), Chocholatý M. (1), Babjuk M. (1), Zima T. (2.), Havlova K. (1), Koldova M. (1), Schmidt M. (1), Kalousova M. (2)

1 – Department of Urology, University Hospital Motol, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, 2 – Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Supervisor: Marek Babjuk

Introduction: Placental Growth Factor (PIGF), a member of vascular endothelial growth factor (VEGF) family, plays a crucial role in angiogenesis, which is a key factor of carcinogenesis. PIGF was identified as a potential prognostic biomarker in various types of cancer as higher expression is associated with more aggressive disease and unfavourable prognosis.

Aims: The aim of our study was to evaluate the diagnostic accuracy and prognostic value of PIGF serum concentration in patients with clear cell renal cell carcinoma (ccRCC).

Materials and Methods: In a prospective study including 49 patients subjected to partial or radical nephrectomy for ccRCC [localized without relapse (lccRCC; n=31), localized with later relapse (rccRCC; n=8), primary metastatic cancer (mccRCC; n=10); median of follow-up 4.4 years] PIGF serum concentration was assessed prior to surgery and 3 months postoperatively. Our control group consisted of 38 healthy subjects.

Results: PIGF serum concentration was significantly higher in ccRCC compared to controls ($p=0.002$). The cut-off value of PIGF concentration for the risk of ccRCC was determined at 12.71 pg/mL ($AUC=0.729$; $p=0.0001$). Prior to surgery, among ccRCC subgroups, significantly higher PIGF concentration was detected in mccRCC compared to lccRCC ($p=0.002$). Postoperatively, we observed a tendency to higher PIGF serum concentration in rccRCC compared to lccRCC subgroup, however not reaching the statistical significance ($p=0.17$). The cut-off value for the risk of relapse was 11.41 pg/mL ($AUC=0.792$; $p=0.0003$). In subjects with localized ccRCC with PIGF concentration below 11.41 pg/mL 3-years cancer specific survival was 93% compared to 61% in subject with concentration above the cut-off value ($p=0.018$).

Conclusions: Based on our findings, PIGF serum concentration seems to be a useful biomarker in diagnostics and prediction of prognosis in ccRCC.

ZLOMENINY PATNÍ KOSTI POSTIHUJÍCÍ ARTICULATIO
CALCANEOCUBOIDEA: ZAVEDENÍ OSTEOSYNTETICKÉHO
MATERIÁLU V ZÁVISLOSTI NA ANATOMICKÝCH POMĚRECH

**Zlomeniny kalkanea & articulatio calcaneocuboidea:
nekouká nám šroubek?**

Bába V. (1,2), Samešová A. (2,3), Kopp L. (1,2), Kachlík D. (2)

1 – Klinika úrazové chirurgie FZS UJEP a Krajské zdravotní a.s. – Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.,
2 – Ústav anatomie 2. LF, Univerzita Karlova, Praha, 3 – 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Školitel: Lubomír Kopp

Úvod: Zlomeniny patní kosti se řadí mezi nejčastější v oblasti tarzálních kostí a z celkového počtu všech zlomenin představují 0,5–2 %. Případy, u nichž lomné linie zasahují kromě articulatio subtalaris (ST) též do articulatio calcaneocuboidea (CC), se dle dostupné literatury vyskytují přibližně ve 40–60 %. Jedná se o poranění často nediagnostikovaná a neadekvátně léčená, ačkoli vzhledem k vysokým biomechanickým nárokům dané oblasti mohou představovat riziko následků při malpozici osteosyntetického materiálu.

Cíl: Získat statisticky relevantní soubor dat pro bezpečnější zavádění osteosyntetického materiálu při zlomeninách patní kosti postižujících articulatio calcaneocuboidea.

Materiál a metody: Autoři sestavili soubor dat proměřením lidských suchých patních kostí ze sbírek anatomických ústavů UK a dále proměřením CT rekonstrukcí (snímky pacientů bez přítomnosti zlomeniny patní či krychlové kosti) dle kritérií stanovených pro jejich využitelnost v chirurgii nohy. Vybraná kritéria zahrnovala: délku patní kosti, délku přední části patní kosti, výšku a šířku facies articularis cuboidea, Böhlerův úhel, Gissaneův úhel a úhel sevřený mezi facies articularis cuboidea a laterální kortikalis. Nadále bylo zhodnoceno 30 pooperačních CT po osteosyntéze patní kosti k ověření četnosti postižení CC kloubu a případné malpozice osteosyntetického materiálu.

Výsledky: Bylo změřeno celkem 40 suchých kostí a 26 CT rekonstrukcí intaktních patních kostí. Průměrná nejkratší šířka facies articularis cuboidea byla 21 mm, resp. 24,8 mm, a její průměrný sklon vůči laterálnímu povrchu 66°, resp. 72°. Četnost postižení CC kloubu byla 57 % a malpozice materiálu byla zjištěna v jednom případě.

Závěr: Dle teorie, při které je nejpevnější konstrukce osteosyntézy zajištěná umístěním v subkortikální oblasti, byla zjištěna nejkratší vhodná délka šroubů 21–24,8 mm zavedených v úhlu 66–72° od laterální kortikalis patní kosti. V navazující klinické části této studie budou hodnoceny funkční výsledky při postižení CC kloubu u zlomenin patní kosti, v závislosti na metodě použité vnitřní fixace.

Podpora projektu: Grantová podpora Krajské zdravotní, a.s. – IGA-KZ-2018-2-6

Albumin a transplantace plic: kde, kdy, jak a proč?

Pečínková I., Durila M., Vajter J., Beroušek J.

Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Miroslav Durila

Úvod: Albumin je hlavní plazmatický protein, mezi jehož funkce mimo jiné patří regulace onkotického tlaku, anti-oxidační a anti-inflamatorní účinky. Přestože nález hypoalbuminémie je relativně častý u pacientů po velkých chirurgických výkonech a u kriticky nemocných, není zcela jasné, zda jde o příčinu nebo důsledek závažného stavu. Prokazatelně však existuje korelace mezi hodnotou albuminémie a mortalitou pacientů. Podávání albuminových preparátů se sice ukazuje být vhodné u pacientů s hypoalbuminémií a vysokým rizikem komplikací, ale obecně nadále zůstává kontroverzním.

Cíl: Cílem studie je ověřit roli načasování podání albuminu, vliv podaného množství a význam plasmatické hladiny albuminu ve vztahu k oběhové stabilitě pacientů po transplantaci plic. Anti-inflamatorní účinky albuminu vedou k hypotéze, že jeho časné podání by mohlo zamezit nebo zpomalit rozvoj SIRS (syndrom systémové zánětové odpovědi), tzn. pozitivně ovlivnit permeabilitu kapilár, přestup albuminu z intra – do extra-vasculárního prostoru, zabránit vazoparalýze, a tudíž omezit nutnost vazopresorické podpory.

Materiál a metody: Do této retrospektivní studie bylo zahrnuto 22 pacientů, kteří podstoupili transplantaci plic ve Fakultní nemocnici v Motole mezi roky 2018 a 2020. Během výkonu dostali 5% albumin, vyžadovali podporu oběhu katecholaminy a následně byli léčeni na resuscitačním oddělení. Sledované údaje zahrnovaly čas od začátku anestezie do podání albuminu, celkový objem podaného albuminu a plasmatickou hladinu albuminu před a po transplantaci. Podpora oběhu byla kvantifikovaná jako maximální dávka noradrenalinu během výkonu, při předání pacienta z operačního sálu a na resuscitačním oddělení.

Výsledky: Byla nalezena pozitivní korelace ($r = 0.51$) mezi časem od začátku anestezie do podání albuminu v první polovině operace a maximální dávkou noradrenalinu na resuscitačním oddělení. Dále byla nalezena negativní korelace ($r = -0.58$) mezi albuminémií po transplantaci a maximální dávkou noradrenalinu při předání pacienta z operačního sálu. Množství podaného albuminu a albuminémie před výkonem neměla na sledované hodnoty významný vliv.

Závěr: K hlubšímu objasnění role albuminu v péči o transplantované pacienty je s ohledem na nižší počet pacientů ve studii vhodný další výzkum. Závěrem však lze konstatovat, že časné podání albuminu během transplantace a vyšší hladina albuminémie po výkonu vedou k nižší potřebě vazopresorické podpory, což potvrzuje hypotézu této práce.

Význam detekce CNVs pomocí aCGH u pacientů s epilepsií

Zůnová H. (1), Rašplíčková T. (1), Štolfa M. (1), Novotná D. (1), Slámová Z. (1), Štěřbová K. (2), Kršek P. (2), Zárubová J. (3), Krijtová H. (3), Marusič P. (3), Havlovicová M. (1), Tesner P. (1), Vlčková M. (1)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha; 2 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 3 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Markéta Vlčková

Úvod: Epilepsie je chronické neurologické onemocnění s prevalencí 8/1000. Jedná se o klinicky a etiologicky heterogenní jednotku, charakterizovanou přítomností záchvatů. Poznatky z minulých i současných studií potvrzují, že epilepsie mají silný genetický podklad. Do dnešního dne bylo identifikováno značné množství genů a rekurentních CNVs, spojených s rizikem rozvoje epilepsie. Záchyt kauzálních CNVs pomocí metody array CGH u pacientů s epilepsií se v publikovaných studiích pohybuje v rozmezí 2–11 %.

Cíl: .

Materiál a metody: Prezentujeme soubor 314 pacientů s epilepsií rozdělených do dvou skupin – pacienti s izolovanou formou epilepsie a pacienti s neurovývojovým onemocněním, které zahrnuje epilepsii. K vyšetření byla použita metoda array CGH na platformě 8x60K a 4x180K (Agilent Technologies).

Výsledek: CNV bylo detekováno u 46/314 pacientů. U sedmi pacientů byla nalezena více než 1 aberace, nejčastěji kombinace duplikace + delece, jejichž charakter svědčil pro tzv. nebalancovanou translokaci. Jako patogenní, ev. pravděpodobně patogenní, byla varianta hodnocena ve 26/46 případech (56 %). U třech pacientů nalezená varianta nevysvětlovala epilepsii a byla hodnocena jako benigní. V 17 případech byla varianta hodnocena jako nejasná (VOUS). Původ aberace byl určen u 56 % případů. Ve skupině pacientů s izolovanou formou epilepsie bylo detekováno CNV u 7 pacientů, avšak příčinná souvislost s epilepsií byla prokázána pouze u jednoho pacienta. U pacientů s komplexním neurovývojovým onemocněním bylo nalezené CNV příčinou epilepsie v 11 % případů (25/220).

Závěr: Nejčastěji byly detekovány varianty v rozsahu 0,5–10 Mb, tedy pod rozlišovací schopností karyotypu, což svědčí pro nutnost vyšetřování pacientů s epilepsií pomocí molekulárně cytogenetických metod, jakými je právě array CGH. S výjimkou rekurentních CNVs a CNVs v oblastech tzv. epileptických „hot-spotů“ byly detekovány také nerekurentní CNVs v oblastech genomu, která nejsou v současné době s epilepsiemi spojována, nebo je jejich význam prozatím nejasný. Rozšiřování souboru pacientů a detekce rekurentních i nerekurentních CNVs poskytuje možné vodítko pro identifikaci nových genů zapojených do etiologie epilepsie.

Podpora projektu: Podpořeno projekty: 00064203, NF-CZ11-PDP-3-003-2014, AZV-17-29423A

VÝZNAM TKÁŇOVÉHO KALPROTEKTINU PRO PREDIKCI REKURENCE ONEMOCNĚNÍ PO ILEOCÉKÁLNÍ RESEKCI U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S CROHNOVOU CHOROBOU

Tkáňový kalprotektin — marker budoucnosti?

Zárubová K. (1), Fabián O. (2), Hradský O. (1), Lerchová T. (1), Mikuš F. (2), Dotlačil V. (3), Poš L. (3), Škába R. (3), Bronský J. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; 2 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol; 3 – Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Jiří Bronský

Úvod: Téměř 70% pacientů s Crohnovou chorobou během 10 let od diagnózy dospěje k chirurgickému výkonu. Nejčastější je ileocékální resekce (ICR). U dospělých jsou dobře popsány rizikové faktory pooperační rekurence onemocnění, u dětí je studií velmi málo. Proto zaměření se na jejich identifikaci je klíčové. Fekální kalprotektin se běžně k monitoraci onemocnění používá, kdežto využití imunohistochemického stanovení kalprotektinu ve tkáních je spíše raritní.

Cíl: Cílem studie bylo ověřit, zda stanovení a hodnocení kalprotektinu v resekčních okrajích po ICR může být vhodným predikčním ukazatelem případné rekurence onemocnění po 6 měsících od operace.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 48 pacientů s Crohnovou chorobou, kteří podstoupili ICR, a to bez ohledu na terapii před operací nebo během ní. U pacientů byla hodnocena klinická, laboratorní, chirurgická, endoskopická a histopatologická data v době operace a při kontrole za 6 měsíců. Kalprotektin byl stanovován v dostupných histopatologických vzorcích z resekčních okrajů. Rekurence onemocnění v anastomóze byla hodnocena pomocí Rutgeerts score.

Výsledky: Ze zařazených 48 pacientů mělo 52% endoskopickou rekurenci po 6 měsících od ICR. Počet buněk pozitivních na kalprotektin v proximálním resekčním okraji byl negativně asociován s endoskopickou rekurencí onemocnění ($p=0,008$), stejná asociace byla při hodnocení obou okrajů dohromady. U distálního resekčního okraje nebyla tato korelace nalezena. Fekální kalprotektin nad 100 ug/g ($p=0,0005$) v 6 měsících, nízká koncentrace sérového albuminu v době ICR ($p=0,066$) a vyšší CRP v době ICR ($p=0,060$) byly pozitivně asociovány s endoskopickým relapsem onemocnění v anastomóze.

Závěr: Více než polovina pacientů rozvinula endoskopickou rekurenci onemocnění 6 měsíců po ICR. Tkáňový kalprotektin se nezdá být vhodným predikčním faktorem pro tento stav, bez ohledu na terapii po operaci. Nicméně jsou zde jiné potenciální prediktory, jako je nízký albumin nebo vyšší CRP v době operace a vyšší fekální kalprotektin při kontrolní endoskopii po 6 měsících.

Podpora projektu: Podpořeno z grantů GAUK 2120248 a FNM 00064203

INCIDENCE NONTUBERKULÓZNÍCH MYKOBAKTERIÓZ
U DĚTÍ V ČESKÉ REPUBLICE MEZI LETY 2003–2018

**Řekni 3× nontuberkulózní mykobakteriíza bez chyb
a dostaneš dárek**

Doležalová Karolína (1, 2), Göpfertová Dana (2), Malý Marek (3)

1 – Pediatrická klinika 1. LF UK Thomayerova nemocnice Praha 4 – Krč; 2 – Ústav epidemiologie 2. LF UK Praha 5 – Motol; 3 – Oddělení biostatistiky, Státní zdravotní ústav Praha 10

Školitel: Dana Göpfertová

Úvod: Souhrn: V letech 2011–2018 bylo nahlášeno do Registru tuberkulózy 89 dětí s kultivačně potvrzenou krční lymfadenitidou vyvolanou netuberkulózními mykobakteriemi. Vyvolavatelem infekce byla v naprosté většině případů mykobakteria řazená ke komplexu *Mycobacterium avium*. Ve stejně dlouhém časovém období mezi roky 2003–2010 bylo krčních lymfadenitid se stejnou etiologií nahlášeno 7. Za hlavní důvod nárůstu výskytu považují autoři celoplošné zrušení kalmetizace v roce 2010.

Cíl: Porovnání dvou identických časových období před a po zrušení celoplošné kalmetizace s cílem vyhodnotit, zda se jedná o staticky významné rozdíly v incidenci.

Materiál a metody: Metodika: Retrospektivní sběr onemocnění vyvolaných atypickými mykobakteriemi nahlášených do Registru TBC a porovnání v období od roku 2003 do roku 2018.

Výsledky: Referujeme výsledky ze dvou srovnatelných 8letých období, mezi roky 2003 a 2010 a mezi roky 2011 a 2018 z celého území České republiky, které byly nahlášeny do Registru tuberkulózy. Celkem se jednalo o 7 případů v prvním období a 89 případů v druhém období.

Incidence v roce 2005 byla 0,04/100 000 dětí a v roce 2018 14,28/100 000 dětí.

Závěr: Jednoznačný nárůst případů krční lymfadenitidy způsobené netuberkulózními mykobakteriemi, zejména *Mycobacterium avium*, v posledních osmi letech je velmi pravděpodobně asociován s celoplošným ukončením očkování proti tuberkulóze v roce 2010. Tento závěr odpovídá trendu, který byl publikován v mnoha zemích, které již celoplošný očkovací program BCG vakcínou ukončily.

Funkční charakteristika poruch ciliárního epitelu

Varényiová Z. (1), Martinů M. (1), Dvořáková P. (1), Kadlecová S. (2), Bořek-Dohalská L. (1), Uhlík J. (2), Pohunek P. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Ústav histologie a embryologie 2. LF UK, Praha

Školitel: Petr Pohunek

Úvod: Primární ciliární dyskineze (PCD) je vzácné, geneticky podmíněné onemocnění, které vzniká na podkladu dysfunkce ciliárního aparátu buňky. Řasinky (lat. cilia) se v rámci respiračního systému podílejí na muko-ciliární clearance a výsledkem jejich dysfunkce jsou rekurentní a chronické infekce horních a dolních dýchacích cest (otitidy, sinusitidy, bronchitidy a bronchopneumonie). Pozdními komplikacemi jsou následná porucha až ztráta sluchu a bronchiektázie, které vedou k nezvratnému poškození plicní tkáně.

Výskyt PCD je odhadován asi na 1:15 000 – 1:30 000. V České republice se předpokládá asi 300–600 nemocných, no v současnosti je diagnostikováno jen 80 (tj. 13–26% z očekávaného počtu nemocných). Výrazná pod-diagnostikovanost je podmíněna nízkou informovaností odborné veřejnosti i náročností diagnostického procesu. Využíváme následující diagnostické metody: nasální NO, vysokorychlostní videomikroskopii (high-speed video microscopy, HSVM), elektronovou mikroskopii, imunofluorescenci a genetickou analýzu. Limitací těchto postupů je náročnost odlišení primárních a sekundárních změn hybnosti řasinek při HSVM a velký počet genů zodpovědných za vývoj PCD (genetická analýza odhalí jen 2/3 pacientů). Podobně je to u elektronové mikroskopie – defekt v ultrastruktuře řasinek lze prokázat asi jen u 70% pacientů. Nově jsme zavedli metodu buněčných kultur respiračního epitelu.

Cíl: Kultury jsou v této fázi připraveny: 1) ke klinickému využití v rámci diagnostiky a 2) k hodnocení korelace genotypu a fenotypu u PCD. Dále plánujeme realizovat i experimenty s cílem posoudit charakter zánětlivých změn, imunitní odpovědi a efektu imunomodulační terapie.

Materiál a metody: Postup je založený na víceetapové kultivaci bazálních buněk získaných z nasofaryngu na speciálních nosičích transwell, kde je zajištěn kontakt s nutrieny v médiu a zároveň kontakt apikálního povrchu buněk se vzduchem (air-liquid interface), což imituje podmínky in vivo v dýchacích cestách.

Výsledky: V krátké době se podařilo zavést do diagnostického algoritmu metodu buněčných kultur respiračního epitelu, která pomáhá odlišit primární od sekundárních změn hybnosti řasinek a zpřesňuje tak diagnostiku u suspektních pacientů.

Závěr: Studium korelace genových mutací s konkrétním fenotypem ciliární poruchy je nevyhnutná pro pochopení patogenezy PCD. Následná determinace cytokinového milieu a charakter odpovědi buněk na imunitní stimuly je zcela neprobádanou oblastí u PCD a mohli by přinést možnosti cílené terapie pro tyto pacienty.

Má pacient se svalovou dystrofií zvýšené jaterní nebo „svalové“ testy?

Rohlenová M., Haberlová J.

Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FNM

Školitel: Jana Haberlová

Úvod: Pro Duchennovu svalovou dystrofii (DMD) je typická elevace myoglobinu (MGB), kreatinkinázy (CK) a laktátdehydrogenázy (LDH). Ze svalů se však uvolňují i alaninamino-transferáza (ALT) a aspartátaminotransferáza (AST), které u DMD často působí diagnostické rozpaky. Pro játra specifičtější gamaglutamyltransferáza (GGT) nemusí být zvýšena u hepatopatií bez cholestázy a naopak může být elevována u metabolického syndromu, při kortikoterapii či při městnavém srdečním selhání. Predikce výše transamináz dle výše svalových enzymů by mohla pomoci odlišit jejich jaterní původ od svalového.

Cíl: Popis vztahu mezi svalovými a tradičními jaterními enzymy v souboru chlapců s DMD. U GGT popis závislosti na body mass indexu (BMI), kortikoterapii a ejekční frakci (EF) myokardu.

Materiál a metody: Lineární regresní analýza retrospektivně zaznamenaných hodnot CK [ukat/l], LDH [ukat/l], MGB [ug/l], ALT [ukat/l], AST [ukat/l], GGT [ukat/l], věku, kortikoterapie, BMI, EF.

Výsledky: Bylo vyšetřeno 33 chlapců s DMD. ALT stoupala lineárně v závislosti na CK ($\text{betaCK}=0,0097$, $p<0,0001$), pro odhad její výše platil vztah: $\text{ALT}=2,80+0,01\cdot\text{CK}$. Také AST stoupala v závislosti na CK ($\text{betaCK}=0,012$, $p<0,0001$) dle vztahu $\text{AST}=1,41+0,01\cdot\text{CK}$. Hodnota GGT naopak s CK klesala ($\text{betaCK}=-0,0001$, $p=0,03$). Závislost na LDH ani MGB nebyla prokázána u ALT ($\text{betaLDH}=0,0001$, $p=0,82$, $\text{betaMGB}<0,0001$, $p=0,95$), AST ($\text{betaLDH}=0,0002$, $p=0,51$, $\text{betaMGB}=-0,0007$, $p=0,34$) ani GGT ($\text{betaLDH}>-0,0001$, $p=0,12$, resp. $\text{betaMGB}<-0,0001$, $p=0,21$). CK, ALT i AST klesaly s věkem ($\text{betaCK}=-47,09$, $p<0,0001$; $\text{betaALT}=-0,66$, $p<0,0001$; $\text{betaAST}=-0,64$, $p<0,0001$). Naopak GGT s věkem stoupala ($\text{betaGGT}=0,009$, $p=0,03$). Výše GGT nebyla odlišná ve skupině léčených kortikoidy a neléčených ($0,20$ ukat/l ($n=12$), resp. $0,18$ ukat/l ($n=10$), $p=0,46$) a nebyla závislá na EF ($\text{beta}=-0,0007$, $p=0,81$). GGT stoupala s BMI ($\text{betaBMI}=0,0078$, $p=0,005$).

Závěr: U DMD byly ALT, AST i GGT závislé na CK dle daného lineárního vztahu. CK se zdá být ze svalových parametrů pro další analýzy nejvhodnější.

CK, ALT i AST s věkem klesaly. Tato dynamika CK i ostatních svalových enzymů je u DMD známa a odpovídá postupnému ubývání svalové hmoty s progresí choroby. Podobný průběh u AST i ALT podporuje hypotézu jejich svalového původu u DMD.

GGT s věkem stoupala, bez závislosti na kortikoterapii či EF. Pozitivně korelovala s BMI. Nález naznačuje, že u DMD může být riziko metabolického syndromu či lehkého postižení jater při obezitě (zejména z kazuistik známá nealkoholická jaterní steatóza).

Podpora projektu: MH CR AZV 16-30206 FNM, ČR

Víme přesně, co máte v hlavě! Pokročilá MR mozku

Malucelli A. (1), Pajuelo D. (2), Bartoš R. (1), Sameš M. (1), Hájek M. (2)

1 – Neurochirurgická klinika Masarykova nemocnice Ústí nad Labem, 2 – IKEM Praha

Školitel: Milan Hájek

Úvod: Magnetická Rezonance (MR) je hlavní zobrazovací metodou v neuroonkologii a umožňuje detekci a charakterizaci nádorů lidského mozku. Klasické MR zobrazení má ale relativně nízkou specifitu a často neumožňuje jistou diferenciální diagnózu mozkových lézí a rozlišení mezi recidivou tumoru a fyziologickou reakcí na radiochemoterapii (RChT). V posledních letech se objevují v klinické praxi pokročilé metody MR zobrazování, které umožňují přesnější neinvazivní diagnostiku mozkových nádorů: 1H-MR Spektroskopické zobrazování (MRSI), zobrazování pomocí difuzního tensoru (DTI), T2 relaxometrie. Kombinace těchto metod otevírá nové možnosti ve sledování pacientů s onkologickým mozkovým onemocněním.

Cíl: Cílem této práce je prezentovat zkušenosti autorů s využitím pokročilých MR technik (MRSI, DTI, relaxometrie) u neuroonkologických pacientů bez či po RChT a ukázat potenciální přínos těchto metod v diagnostice a sledování mozkových nádorů.

Materiál a metody: 68 pacientů s intrakraniální lézí a 60 zdravých kontrol bylo vyšetřeno v magnetickém poli 3T. 34 pacientů podstoupilo RChT. Diagnóza byla nastavena histologií či dlouhodobým radiologickým sledováním podle McDonaldových kritérií. U 14 pacientů byla využita metoda MRI+MRSI navigovaných biopsií.

Výsledky: Signifikantní rozdíly v relativních hodnotách MRSI, DTI a relaxometrií byly nalezeny v různých mozkových lézích a v odlišných oblastech stejné mozkové léze. Specifické tvary korelačních křivek mezi sledovanými hodnotami charakterizovaly odlišné histologické nálezy (bílá hmota infiltrovaná tumorem, nekrotický tumor, edema). Skupinová analýza dat ukázala signifikantní změny v intenzitách cholinových sloučenin (Cho) a poměru Cho ku kreatinu (Cho/Cr) mezi HGG a LGG, mezi HGG před a po RChT i mezi rekurencí tumoru a radionekrózou. Individuálně však bylo možno stanovit práh pouze pro diferenciální diagnostiku mezi rekurencí tumoru a radionekrózou, a to pomocí interhemisferálního srovnání Cho. Samotná hodnota N-Acetyl-Aspartátu (NAA) nevykazovala signifikantní rozdíly v diferenciální diagnostice vyšetřovaných lézí.

Závěr: Kombinací pokročilých metod MR lze neinvazivně upřesnit diagnózu mozkových nádorových lézí a získat informace o charakteru léze, jejím skutečném rozsahu a směru proliferace. K lézím u pacientů s a bez RChT je nutno přistupovat odlišně. Pro diferenciaci neléčených lézí je vhodné sledovat koncentrace Cho, Cr, laktát a jejich poměry, u léčených především Cho v porovnání s kontralaterální stranou.

Podpora projektu: Podpořeno grantem 00023001IKEM.

P—28 / pregraduate student

CALCULATING CURVATURE THROUGH GRADIENT DESCENT AND NONLINEAR REGRESSION: A NOVEL MATHEMATICAL APPROACH TO DIGITAL ANATOMICAL MORPHOMETRY

Math for Medics – Curvature, Excel, and Anatomy

Olson C. V. L., Itani M. D., Al-Redouan A., and Kachlík D.

Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha

Supervisor: David Kachlík

Introduction: Measurement of angular projection of structures has long been an established approach in anatomical morphometry, particularly in regards to bones. However, many of the described projection angles are in reference to inherently curved structures, often oversimplifying their topologies. Measuring the curvature of a projecting structure allows for a more accurate description of the structure's behavior in regards to its proximal–distal course in a given plane.

Aims: To develop a quick, quantitative method for determining structural curvature from digital images.

Materials and Methods: Projection curvature was modeled on and assessed by the coracoid process (CP) from 68 dry scapulae. Digital images were taken at a known scale off-axis to the axial plane, perpendicular to the CP. Images were then processed in ImageJ software where seven markers were placed along the interior curve of the CP from base to apex. The marker positions were recorded as pixel coordinates and imported into Excel. Utilizing Excel's Solver function (GRG Nonlinear, constraint precision = 10^{-6} , convergence = 10^{-9} , central derivative, multistart, pop. size = 10^4 , random seed = 0), the coordinate points were passed through a rotation matrix and optimized for second order regression. Solver was instructed to minimize sum of squared error by manipulating angle of point rotation and regression coefficients. Outputted data reported CP curvature in mm^{-1} and R^2 . This method was subsequently tested on fifteen radiographs (AP projection, spinoacromial arch) and one CT reconstruction for in vivo assessment.

Results: Mean CP axial curvature was found to be $0.18 \text{ mm}^{-1} \pm 0.03 \text{ mm}^{-1}$ at $R^2 = 0.96 \pm 0.04$. Sample set was normally distributed with a within-sample coefficient of variation of 0.67% and 95% confidence interval (CI) between 0.17 and 0.19. Radiograph and CT analyses were successful in proof of concept.

Conclusions: Solver allows for both researchers and clinicians to quickly characterize morphometric courses and properties of a given structure of interest, even in vivo. Paired with other scalar measurements, curvature can complete the picture of an anatomical structure's pattern. In the test case of the CP, curvature plus length and width measurements can describe the size of the CP, along with its projection into a given plane, affecting factors regarding subcoracoid impingement–related surgeries.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 1720119.

Living with Duchenne muscular dystrophy in CZ

Podolská K. (1, 3), Juříková L. (2, 5), Hájíčková B. (4, 5), Velacková B. (4), Bálintová Z. (2, 5), Staněk, J. (6), Haberlová J. (1), Doležal T. (4, 5) and Mlčoch T. (4)

1 – Department of Paediatric Neurology, Charles University, Second Faculty of Medicine and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic; 2 – Department of Paediatric Neurology, University Hospital and Masaryk University, Brno, Czech Republic; 3 – Parent Project, z.s.; 4 – Institute of Health Economics and Technology Assessment (IHETA), Prague, Czech Republic; 5 – Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; 6 – Department of Paediatric Neurology, University Hospital in Ostrava, Czech Republic

Supervisor: Jana Haberlová

Introduction: Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a rare neuromuscular disease affecting ≈300 people in the Czech Republic (CZ).

Aims: The aim of the study was to explore medical, psychosocial and financial aspects of DMD in CZ and to describe how the disease influences patients' quality of life, family budget and work productivity.

Materials and Methods: The survey was divided into four sections:

- 1) state of the disease and available care,
- 2) quality of life measured by EQ-5D (visual analogue scale (VAS) and Utility Index) and PedsQL questionnaires,
- 3) financial burden from patients' perspective,
- 4) work productivity (Work Productivity and Activity Impairment Questionnaire (WPAI)).

The results were collected from 64 patients who were approached by their neurologists and by two patient organizations. Data were collected from January 2018 to April 2019.

Results: The mean age was 12.9 years with mean age at diagnosis of 3.4 years and loss of ambulation at 9.5 years. Sixty-one respondents were at least annually examined by a neuromuscular specialist, 81% of respondents were satisfied with the care provided and 69.8% felt they had been offered sufficient help at diagnosis. The EQ-5D Utility Index decreased from 0.712 in children under 5 years to 0.026 in 18+years group. In PedsQL, the worst rated ability of DMD patient by both respondents and their parents was communication in general, arm strength and change of weight. Regarding financial burden of DMD, caregivers stated that on average 20% of family's income is spent on the care of DMD patient, monthly €54 on vitamins and dietary supplements, €42 on medical devices, €41 on travel costs, €21 on medication. Family caregiver dedicates on average 16.3 hours/day to taking care of a DMD patient. Moreover, 62.5% caregivers are not employed. The average deterioration in labor productivity of employed carers is 38.7%; usual activities are impaired by 47.8% in all caregivers.

Conclusions: The study provides an overview and insight into the overall burden of DMD patients and their caregivers in CZ and addresses several important issues. Not only does DMD have a tremendous effect on the quality of life of the patient, but it also has a pronounced impact on caregivers' daily activities and significantly impairs their ability to work. This loss of productivity further deepens the financial burden imposed by a family member with DMD. To our knowledge, this is the first DMD patient and caregiver study of this kind conducted in the CZ and one of a few worldwide.

Support: Parent Project, z.s.

**Trehalose Enhances MIR-124 Inhibitor
Efficiency in Neural Stem Cell Culture**

Arzhanov I., Petrenko Y., Romanyuk N.

Institute of Experimental Medicine ASCR v.v.i., Prague, Czech Republic

Supervisor: Nataliya Romanyuk

Introduction: MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNA molecules that consist of 18-25 nucleotides and are involved in transcription and post-transcription regulation of genes. MicroRNA-124 is one of the most abundant miRNAs in the adult brain. It is highly expressed in neural cells during their differentiation when developing into mature neurons. miR-124 also significantly decreases in its expression in the nervous tissue after injury, which can lead to irreversible consequences. However, using miR-124 inhibitor may contribute to faster recovery after injury.

Aims: The aim of this study was to evaluate the efficiency of miR-124 inhibitor in neural stem cell culture and the possibility of increasing its absorption in the presence of trehalose.

Materials and Methods: In our study, we used human induced pluripotent stem cell-derived neural precursors (IMR-90) as an in vitro model. After two weeks of differentiation, we treated cells with miR-124 inhibitor in a concentration of 50 nM. In order to raise a permeability of the cell membrane for miR-124 inhibitor, we increased the osmolarity of the medium by adding trehalose with concentrations of 50 mM and 100 mM. Three days after treatment, we collected samples for the western blot and immunocytochemistry.

Results: We demonstrated that miR-124 inhibition lead to upregulation of two main targets Sirtuin1 by 34% and Jagged1 by 48%. miR-124 inhibition also led to increased expression of a neuronal marker Neurofilament light chain by 18% and β -III-tubulin by 32%. The expression of explored proteins in cells that were treated by both trehalose and miR-124 inhibitor increased by around 20% compared to cells that were treated only with miR-124 inhibitor.

Conclusions: Our results show that the presence of trehalose in the medium increases the absorption of the miR-124 inhibitor by neural stem cells. Further studies are necessary to uncover detailed mechanisms of this effect.

Support: Supported by GACR 18-21942S

Genetika smrti

Votýpka P. (1), Peldová P. (1), Krebsová A. (2), Rücklová K. (10), Pilin A. (4), Kučerová-Pohlavá Š. (9), Petřková J. (8), Blanková A. (3), Kulvajtová M. (6), Tavačová T. (7), Tomášek P. (5), Janoušek J. (7), Macek M. jr. (1)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, 3 – Ústav soudního lékařství a toxikologie, Krajská nemocnice Liberec, 4 – Ústav soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK a VFN, Praha, 5 – Ústav soudního lékařství 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha, 6 – Ústav soudního lékařství 3. LF UK, Praha, 7 – Dětské kardiocentrum 2. LF UK a FN Motol, Praha, 8 – I. interní klinika – kardiologická, FN Olomouc a LF Univerzity Palackého, 9 – Ústav soudního lékařství LF UK a FN v Hradci Králové, 10 – Klinika dětí a dorostu 3. LF a FN Královské Vinohrady, Praha

Školitel: Milan Macek jr.

Úvod: Náhlá srdeční smrt (SCD) je u mladých osob poměrně vzácným jevem. Podle statistik připadají 1–2 případy náhlého úmrtí osob do 40 let věku na 100 tisíc obyvatel/rok. Srdeční zástava však může být prvním symptomem, kterým se srdeční onemocnění projeví. Příčiny SCD jsou různé a předpokládá se, že zhruba v 60% je příčinou vrozené onemocnění srdce. Navíc se ve většině případů jedná o autozomálně dominantní přenos, je proto velké riziko opakování SCD v rodině. Nalezení kauzální varianty tak může mít zásadní vliv na preventivní opatření u dalších členů postižené rodiny. Náš tým zde prezentuje skupinu obětí SCD do 40 let věku, kteří byli v průběhu pilotní studie vyšetřeni ve spolupráci ústavy soudního lékařství v ČR. V průběhu pilotní studie bylo vyšetřeno více než 50 případů SCD do 40 let věku na přítomnost mutací v genech spojených s dědičnou srdeční chorobou.

Cíl: Naším cílem je identifikovat co nejvíce kauzálních variant u zemřelých a následně poskytnout včasnou a důkladnou kardiologickou diagnostiku a léčbu relevantním příbuzným v riziku SCD.

Materiál a metody: DNA získaná post-mortem je vyšetřována metodou NGS custom panelem 229/100 kardiogenů. Sekvence probíhá na sekvenátorech Illumina (USA). Data jsou procesována pomocí BWA/GATK analýzy a filtrována. Nalezené varianty jsou hodnoceny na základě ACMG klasifikace a porovnány s pitevní diagnózou. Následně je prováděna segregační analýza na přítomnost těchto variant u relevantních příbuzných v riziku metodou Sangerova sekvenování.

Výsledky: V dosud testované skupině 57 případů SCD se nám podařilo prokázat velmi pravděpodobně kauzální varianty (class ≥ 4) v genech RYR2, FLNC, TTN, KCNH2, SCN5A, ABCC9, DES a KCNQ1 u 10/57 obětí SCD (17,5%) Možná příčina úmrtí (class 3), kdy je potřeba doplnit specializovanou vyšetření, byly nalezeny u 13/57 SCD případů (22,8 %). Tyto varianty byly nalezeny v genech RYR2, CTNNA3, SCN10A, MYLK2, KCNE3, MYH7, ANK2 a DPP6. Ve 3 případech byl nalezen známý rizikový faktor pro léky vyvolaný LQT syndrom (KCNE1 p.Asp85Asn). Ve skupině SIDS nebyla nalezena žádná kauzální varianta.

Závěr: Dosud získané výsledky ukazují na velmi prospěšnou spolupráci kardiologických pracovišť, genetických laboratoří a ústavů soudního lékařství zapojených do této studie. U části obětí SCD se podařilo molekulární analýzou potvrdit závěry pitvy, někde dokonce molekulární pitva umožnila objasnit příčinu úmrtí tam, kde klasickou pitvou nebylo možné zjistit žádnou strukturální abnormalitu srdce nebo cév.

Podpora projektu: Podpora MZČR s reg. č. NV18-02-00237

NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF SYNTHETIC STRUCTURAL
MODIFICATIONS OF NEUROSTEROID PREGNANOLONE
SULFATE: STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP

Neuroactive Steroids - Promising Neuroprotectants?

Chvojková M. (1, 2, 3), Rambousek L. (2), Chodounská H. (4), Kudová E. (4), Vales K. (1, 2)

1 – National Institute of Mental Health, Klecany, 2 – Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague, 3 – 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, 4 – Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech Academy of Sciences, Prague

Supervisor: Karel Vales

Introduction: 20-oxo-5 β -pregnan-3 α -yl sulfate (pregnanolone sulfate, PA-S) is a naturally in the brain occurring neurosteroid inhibiting N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors. Its synthetic derivative 20-oxo-5 β -pregnan-3 α -yl L-glutamate (pregnanolone glutamate, PA-Glu) was proven to have neuroprotective properties and minimal side effects.

Aims: Here we tested neuroprotective efficacy and behavioral effects of selected structural modifications of the PA-S molecule in laboratory rodents. The first modification represented a non-polar modification of the steroid D-ring (5 β -androstane-3 α -yl L-glutamate, androstane glutamate, AND-Glu), the second the attachment of a positively charged group to C3 (20-oxo-5 β -pregnan-3 α -yl L-argininate dihydrochloride salt, pregnanolone arginate, PA-Arg). The 5 β -androstane-3 α -yl L-argininate dihydrochloride salt (androstane arginate, AND-Arg) combined both modifications.

Materials and Methods: Neuroprotective effects were tested in a model of excitotoxic damage of the hippocampus in Wistar rats based on its behavioral consequences. Additional behavioral tests in mice were performed with respect to known effects of NMDA receptor antagonists (hyperlocomotion, anxiolytic effect).

Results: Neuroprotective effects of PA-Glu and especially AND-Glu were proven, suggesting possible benefit of the non-polar D-ring modification. Moreover, AND-Glu at the neuroprotective dose (1 mg/kg) did not cause psychotomimetic side effects, which limit the use of many NMDA receptor antagonists. Besides, anxiolytic effects of PA-Glu and AND-Glu were ascertained.

Conversely, positively charged molecules (PA-Arg, AND-Arg) did not have any neuroprotective effects.

Conclusions: Our results contributed to the elucidation of the relationship between the structure of the steroid molecule and its biological effects. These findings are essential for future research and development of these promising neuroprotectants.

Support: The project was supported from European Regional Development Fund projects "BrainView" CZ.2.16/3.1.00/2154 and "PharmaBrain" CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0 007444, grant TE01020028 Center for Development of Original Drugs from the Technology Agency of the Czech Republic, projects GACR P304/12/G069, GACR P304 18-09296S and GACR P304 14-20613S, and by the project "Sustainability for the National Institute of Mental Health", under grant number LO1611, with the financial support from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic under the NPU I program.

P—33 / pregraduate student

PREVALENCE OF DIABETES AND PREDIABETES AND ITS RISK FACTORS IN ADULTS AGED 25-64 IN THE CZECH REPUBLIC: A CROSS-SECTIONAL STUDY

Diabetes and Prediabetes in Adults (25-64) in Czech Republic

Nunes M. (1), Malinovská J. (1), Zajac K. (2), Jenšovský M. (1), Lustigová M. (3, 4), Brož J. (1)

1 – Department of Internal Medicine, Second Faculty of Medicine, Charles University, Czechia, 2 – Collegium Medicum, University of Zielona Góra, Poland, 3 – National Institute of Public Health, Czechia, 4 – Department of Social Geography and Regional Development, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czechia

Supervisor: Jan Brož

Introduction: Diabetes mellitus (DM) is currently one of the most frequent metabolic disorders in the world with a prevalence among adults increasing globally over the last decades. The number of persons diagnosed with DM among the Czech population in 2016 was 929 945 (prevalence rate 8.8%), but the number of people with prediabetes is unknown. Also a detailed information about DM and pre diabetes risk factors related to the Czech population are unknown.

Aims: The aim of this study is to establish the prevalence of DM and prediabetes in the Czech population aged 25–64 years old and to evaluate the association with various cardiometabolic, sociodemographic, and lifestyle risk factors.

Materials and Methods: Data from Czech EHES (European Health Examination Survey) conducted in 2014 were used for this analysis. This was a stratified, cross-sectional, cluster, random sampling epidemiological study. Sociodemographic, lifestyle, and anamnestic data were collected through professional interviewer-administered questionnaires, medical examination, and biochemical assays. One-way analysis of variance (ANOVA), the χ^2 -test and finally, the binary logistic regression were used to evaluate obtained data.

Results: Among the 1,189 participants (40% men, 60% women), 114 were diagnosed with DM (9.6%), 330 with prediabetes (27.8%) and 745 were non-diabetes/non-prediabetes individuals (62.7%). The prevalence of both, prediabetes and DM, significantly increased with age, the highest prevalence was found in the 55–64 years age group (40.1% in prediabetes and 18.0% in DM). Further, education was found as a strong determinant for prevalence of DM and prediabetes. Logistic regression analysis showed that overweight, general and abdominal obesity, hypertension, and lower level of HDL (increased risk) significantly increased the risk of both prediabetes and DM. Living in the cities decreased the risk of DM. Among life style variables the significantly increased risk of prediabetes and DM was found for smokers and ex-smokers.

Conclusions: The study shows a high prevalence of DM and prediabetes in the Czech population between the age of 25–64, providing data on their association with several risk factors.

P—34 / pregraduate student

CONTINUOUS GLUCOSE MONITORING RECORDS ANALYSIS TO DETERMINE THE FREQUENCY AND OTHER VARIABLES RELATED TO HYPOGLYCEMIA IN TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Hypoglycemia in Type 1 Diabetes Mellitus

Taniwall A. (1), Brabec M. (2), Brož J. (3)

1 – Second Faculty of Medicine; 2 – Institute of Computer Science of the ASCR, v. v. i., Czech Republic; 3 – Department of Internal Medicine, Second Faculty of Medicine, University Hospital in Motol, Prague

Supervisor: Jan Brož

Introduction: Hypoglycemia is a frequent adverse effect of the treatment of diabetes mellitus with insulin. It is an undesirable episode which can not only interfere with everyday activities such as performing at work or driving but also influences the cardiovascular (arrhythmias and myocardial ischemia) and central nervous systems (faster cognitive decline and accelerated onset of dementia). Also, the fear of hypoglycemia affects the self-treatment of diabetes mellitus and prevents optimal glycemic control.

Aims: We analyzed CGM records of patients with type 1 diabetes mellitus to determine the frequency of hypoglycemia, its duration, and depth. Also, the results of hypoglycemia treatment were analyzed.

Materials and Methods: We analyzed CGM records of 13 patients with type I diabetes mellitus treated with an insulin pump. Each patient used CGMS for about 7 days and was instructed to record all the relevant activities such as insulin injection, meals, exercise, and hypoglycemic episodes.

We inspected the glycemic levels to evaluate the number of hypoglycemic episodes per patient, the duration of each episode, the time of the day and the day of the week that the hypoglycemic episode occurred. We also analyzed the glycemic levels 1,2 and 3 hours after hypoglycemia treatment as well as determined the lowest glycemia during an episode.

Results: We evaluated CGM records in 13 patients with type I diabetes mellitus (mean age was 27 ± 8.6 , the mean duration of the disease was $8.4 \pm .6.1$ years, mean HbA1c was 65 mmol/mol, mean duration of monitoring was 6.54 ± 0.85 days per patient). We detected 39 hypoglycemic episodes in 7 patients. Average duration of hypoglycemia was 01:23:51 (total), 01:05:06 (day), 01:56:37 (night). The average lowest hypoglycemia was 3.24 (day) and 3.13 (night). Average glycemia 1,2 and 3 hours after correction of the hypoglycemia episode was 7.70, 9.49 and 10.5 mmol/l respectively, the levels over 10 mmol/l occurred in 13 events.

Conclusions: Hypoglycemia episodes were present in more than half of the patients. Hypoglycemia was more common during the day than night but the hypoglycemic episodes during night lasted almost twice longer on average. Higher than recommended values within 3 hours after the hypoglycemia treatment (10 mmol/l) occurred in 1/3 cases. Hypoglycemia should be a matter of regular education in type 1 diabetes patients.

Dlouhodobý osud allograftů v RVOT

Havova M. (1), Gebauer R. (2), Fabián O. (3), Antonová P. (1), Chaloupecký V. (2), Vlk L. (1), Hornofová L. (3), Rohn V. (1)

1 – Klinika kardiiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN v Motole, Praha; 2 – Dětské kardiocentrum FN v Motole, Praha; 3 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN v Motole, Praha

Školitel: Vilém Rohn

Úvod: Rekonstrukce RVOT u pacientů s vrozenou srdeční vadou v různých věkových kategoriích stále zůstává diskutabilní problematikou v chirurgii chlopenních vad. Za „zlatý standard“ rekonstrukce pravého výtokového traktu u vrozených srdečních vad, jak Fallotova tetralogie, truncus arteriosus, atřezie plicnice, transpozice velkých arterií a dvojvýtoková pravá komora se považuje použití allograftu – čerstvého nebo kryoprezervovaného.

Cíl: Cílem studie je zkoumání, systematizace a získání způsobu ovlivnění faktorů zhoršujících prognózu a dlouhodobé přežití chlopenních náhrad u pacientů, vyžadujících výkony s použitím allograftů nebo xenograftů pro rekonstrukce RVOT.

Materiál a metody: V letech 1983–2016 bylo na Klinice kardiiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol a DKC FN Motol provedeno 722 výkonů na RVOT, z nichž 570 jsou implantace allograftů, 152 implantace bioprotéz. Vyloučení jednotlivých allograftů probíhalo podle následujících kritérií: infekční endokarditida, perioperační a krátkodobá mortalita, použití allograftů jako monocusp. Endpoint allograftů jsme definovali jako explantace konduity, catheter-based intervence na konduitu a úmrtí pacienta. Byla provedena Kaplan-Meierová analýza dat pacientů.

Od září 2017 do května 2018 histologicky bylo vyšetřeno 27 vzorků allograftů, z kterých 6 explantovaných allograftů (4 pulmonálních, 2 aortálních) a 21 jsou preparáty graftů před implantací.

Výsledky: Z celého souboru sledovaných faktorů na degenerace allograftů mají vliv zejména: velikost a typ allograftů, věk intervence, vstupní diagnóza a typ operačního zákroku.

U skupiny allograftů před implantací dominovala ztráta viability buněk. Nebuněčné komponenty byly relativně zachovalé, chlopně byly relativně dobře prezervované a změny byly mírné. U explantovaných allograftů dominovaly extenzivní pokročilé degenerativní změny v podobě prakticky kompletní fibrotizace až hyalinizace cév i chlopní, s kalcifikacemi, úseky nekróz, téměř zcela zničenou elastikou a kolekcemi kyselých mukosubstancí. Ani na jednom ze vzorků nebyly zastíženy známky celulární rejeckce.

Závěr: Rekonstrukce RVOT s použitím allograftů prokázaly dobré středně až dlouhodobé výsledky.

Homografty před implantací trpí zejména ztrátou viability fibroblastů a hladké svaloviny, ale nebuněčné komponenty jsou relativně zachovalé. Nejedná se o klasický degenerativní proces, spíše avitalizaci graftů v rámci kryoprezervace. Explantované homografty však byly naopak těžce degenerativně změněné.

Podpora projektu: Práce byla podpořena interním grantem DKC FN Motol.

P—36 / pregraduální student

ABSENCE HYPERSIGNÁLNÍCH LOŽISEK V T2 VÁŽENÝCH OBRAZECH (FASI)
NA MRI MOZKU JAKO NOVÝ DIAGNOSTICKÝ PŘÍZNAK LEGIUS SYNDROMU

Absence FASI na MRI mozku jako nový příznak Legius syndromu

Šantová A. (1), Petrák B. (2), Dvořáková M. (3)

1 – 2. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova Praha, Česká republika, 2 – Klinika dětské neurologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika, 3 – Klinika zobrazovacích metod, 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika

Školitel: Bořivoj Petrák

Úvod: Legius syndrom (LGSS, neurofibromatosis type 1–like syndrome) je vzácné AD dědičné neurokutánní onemocnění (MIM 611431), vzniklé na základě mutace SPRED1 genu (15q14). V roce 2007 byla tato nová diagnóza odlišena od neurofibromatosis von Recklinghausen typ 1 (NF1). Stejně jako u NF1 jsou u LGSS na kůži nalézány skvrny café-au-lait (CALM) a někdy freckling. Na rozdíl od NF1 se u LGSS nevyskytují gliomy, neurofibromy ani Lischovy noduly a klinicky je LGSS definován právě tímto odlišením od NF1. Dále je popisován fenotyp s makrocefalií, malým vzrůstem, poruchami učení a poruchami soustředění a/nebo hyperaktivitou. Vždy je třeba molekulárně genetické potvrzení diagnózy LGSS. Obě diagnózy jsou řazeny mezi RASopatie, ale LGSS má proti NF1 výrazně nižší onkologická rizika. Diagnóza NF1 je definována sedmi diagnostickými kritérii, z nichž dvě (gliom zrakové dráhy/OPG a dysplasie křídla kosti klínové) je možné najít na MRI mozku. Kromě toho je u NF1 na MRI mozku velmi častý nález hypersignálních ložisek v T2 vážených obrazech (FASI) v typických lokalizacích (uváděno asi 85% dětí s NF1). U pacientů s LGSS nejsou ložiska FASI zmiňována a jejich výskyt dosud nebyl porovnán s nálezů u NF1.

Cíl: Porovnat nálezy FASI na MRI mozku u skupin pacientů s LGSS a NF1 a zhodnotit význam rozdílu ve výskytu FASI pro další odlišení těchto dvou diagnóz.

Materiál a metody: Byla hodnocena skupina 7 dětí s diagnózou LGSS a 59 dětí s diagnózou NF1. Vstupní podmínkou pro zařazení pacienta do studie bylo molekulárně genetické stanovení diagnóz LGSS nebo NF1, MRI vyšetření mozku a v době MRI vyšetření stáří do 18 let věku. Jinak byl výběr pacientů náhodný. Byl hodnocen výskyt FASI na MRI vyšetření mozku a výsledky byly zpracovány statisticky t-testem. Dále byl hodnocen výskyt OPG a kostních dysplasií.

Výsledky: Ze 7 dětí s LGSS byli 4 chlapci, 3 dívky, průměrného věku 8 let a 4 měsíce. Na MRI mozku nebyla u LGSS nalezena žádná ložiska FASI, žádné OPG či dysplastické kostní změny.

Z 59 dětí s NF1 bylo 32 chlapců a 27 dívek, průměrného věku 7 let a 3 měsíce. Na MRI mozku byla nalezena ložiska FASI u 49/59 (83%) dětí s NF1. Současně byly nalezeny OPG u 19/59 (32%) a dysplastické kostní změny u žádného (0%) z dětí s NF1. Rozdíl nálezů FASI u LGSS a NF1 byl statisticky vysoce významný ($p < 0.01$).

Závěr: Rozdíl nálezů FASI na MRI mozku u diagnóz LGSS a NF1 je na vysoké hladině významnosti, proto lze absenci FASI na MRI vyšetření mozku pacientů s LGSS považovat za nové diagnostické kritérium Legius syndromu.

Podpora projektu: IG KDN FNM 6005

KONCENTRACE KYSELINY HYALURONOVÉ V SYNOVIÁLNÍ TEKUTINĚ JAKO UKAZATEL ZÁVAŽNOSTI A STUPNĚ POSTIŽENÍ U PACIENTŮ S GONARTRÓZOU.

Kyselina hyaluronová u pacientů s gonartrózou

Kotaška J. (1), Hanousková L. (2), Kotaška K. (2), Trč T. (1)

1 – Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF UK a FN v Motole, 2 – Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN v Motole

Školitel: Tomáš Trč

Úvod: Kyselina hyaluronová (HA) je hlavní složkou synoviální tekutiny v kloubu a je ukazatelem kloubní viskozity a viskoelasticity. Hypotézou studie byla snížená koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině jako ukazatel závažnosti artrózy.

Cíl: Cílem studie bylo stanovit koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině a vyhodnotit korelaci se závažností artrózy definovanou dle RTG klasifikace gonartrózy podle Kellgrena a Lawrence.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno celkem 67 pacientů průměrného věku 67 let (35 mužů, průměrný věk 65 let a 32 žen, průměrný věk 68 let) s klinicky a RTG diagnostikovanou artrózou kolenního kloubu. Pacienti byli rozděleni do čtyř skupin dle závažnosti postižení (1. skupina – gonartróza I. stupně až 4. skupina – gonartróza IV. stupně, nejtěžší stupeň postižení).

Koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině, odebrané pacientům během operačních výkonů (artroskopie a implantace TEP kolenního kloubu), byly stanoveny pomocí komerčně dostupného kitu, založeného na principu sendvičové ELISY (Teco Hyaluronic acid, Švýcarsko).

Výsledky: Průměrné koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině v jednotlivých skupinách byly následující Skupina 1: HA = 2302 mg/l, Skupina 2: HA = 2234 mg/l, Skupina 3: HA = 2300 mg/l, Skupina 4: HA = 2446 mg/l.

Koncentrace HA v synoviální tekutině se nelišily od publikovaných referenčních hodnot v synoviální tekutině (1450 – 2940 mg/l). Dle naměřených výsledků koncentrace HA v synoviální tekutině nezávisí na věku, pohlaví a stupni artrózy, tedy na závažnosti onemocnění.

Závěr: Koncentrace hyaluronové kyseliny v synoviální tekutině nekorelují se závažností ani stupněm postižení gonartrózou dle RTG nálezu.

**NR, morfologické a imunofenotypické
odlišení od nefroblastomu**

Vyleťalová K. (1), Kodet R. (2)

1 – 2. LF UK, 2 – Ústav patologie a molekulární medicíny FN Motol

Školitel: Roman Kodet

Úvod: Jedním z cílů onkologické péče je identifikace a diagnostika prekancerózních stavů. U prekanceróz rozvíjejících se v orgánech je to problematické, přesto má rozpoznání nádorových prekurzorů význam, i když jsou v takových situacích často vedlejším nálezem vlastního nádorového onemocnění. Tak je tomu v případě nádorů ledvin u dětí, nefroblastomů. Za prekancerózní stav se považují nefrogenní rezidua (NR). NR jsou nezralé, ve tkáni nezapojené části ledviny a to ve dvou kompartmentech: perilobární a intralobární. Vzácně může být onemocnění masivní, nefroblastomatóza. NR mohou s věkem dítěte regredovat nebo přejít v hyperplázii a transformovat v nefroblastom. Rozpoznání hyperplastických reziduí od nefroblastomu není snadné a nejsou stanovena jednoznačná diagnostická kritéria.

Cíl: Protože identifikace NR a jejich odlišení od nefroblastomu má svá úskalí, stanovili jsme dva cíle: 1. Vyšetřit nefroblastomy, mapovat frekvenci výskytu reziduí a stanovit mikroskopická kritéria přechodu v nefroblastom. 2. V nejasných případech jsme vyslovili předpoklad, že by v odlišení hyperplastických reziduí a nefroblastomu mohla pomoci detekce proliferací aktivita pomocí Ki-67, případně diferenciálního znaku, proteinu WT1.

Materiál a metody: Využili jsme databázi vzorků ledvin s nefroblastomem u dětí ve věku od 2 do 4 let. Retrospektivně jsme vyšetřili nemocné od roku 1995 do roku 2020. Sestava tvořila 163 dětí s nefroblastomem.

Výsledky: NR jsme zjistili v 52 případech, tj. 31,9%. Ve 27 případech (16%) jsme zaznamenali perilobární NR, intralobární NR v 10 případech (6,1%) a smíšenou formu obou typů u 15 případů (9,2 %). Rezidua se znaky hyperplázie jsme rozpoznali u 24 případů (14,7 %). Proliferační aktivita Ki-67 byla nejnižší u stacionárních a regredujících NR, u hyperplastických kolísala od 5% – 10% buněk. Čím bližší byl vztah k nefroblastomu, tím byla proliferace vyšší. U nefroblastomů kolísala, místy dosahovala nad 80%. WT1 protein byl u nefroblastomů jaderně pozitivní ve všech buňkách, u NR pouze fokálně.

Závěr: NR jsou předmětem diferenciální diagnózy od nefroblastomu. Rozpoznání hyperplázie od již rozvinutého nefroblastomu má význam pro další léčbu nemocných. Zjistili jsme, že stanovení proliferací/diferenčních markerů má význam a doporučujeme je stanovit u každého nefroblastomu, zejména pro zlepšení identifikace hyperplastických nefrogenních reziduí.

P—39 / pregraduate student

FREQUENCY OF PATIENTS WITH IMPAIRED HYPOGLYCEMIA
AWARENESS AMONG DRIVERS WITH TYPE 1 DIABETES –
EVALUATION OF A GRAVELING QUESTIONNAIRE SURVEY

Frequency of Patients with IHA among Drivers with DM T1

Salih S. (1), Brabec M. (2) and Brož J. (3)

1 – Second Faculty of Medicine; 2 – Institute of Computer Science of the ASCR, v. v. i., Czech Republic; 3 – Department of Internal Medicine, Second Faculty of Medicine, University Hospital in Motol, Prague

Supervisor: Jan Brož

Introduction: Acquisition of a driving license is an important right of European Union citizens. Some diseases, such as diabetes, can limit that right according to current European law regulations. In the case of diabetes, hypoglycemia (causing impaired driving performance), especially severe episodes (defined as those which require the help of another person) and impaired hypoglycemic awareness (IHA) which further increase the risk of hypoglycemia are important considerations that increase the risk of driving accidents.

Aims: The aim of this study was to reveal the portion of patients suffering from IHA among type 1 diabetes drivers and to see if they follow the basic preventative steps recommended to minimize the risk of hypoglycemia (glycemia self-monitoring before the beginning of driving).

Materials and Methods: Data was obtained from 328 type 1 diabetic patients (mean age 39 ± 14.7 years; 221 men, 107 women; mean diabetes duration 15.7 ± 11.3) from 4 outpatient units. Patients answered a questionnaire with 67 questions about important aspects of diabetes and the topic of driving, and their answers were analyzed. Seven-point Gold score was used in the questionnaire and was employed to evaluate impaired hypoglycemia awareness (points 4-7 indicate impaired hypoglycemia awareness). This investigation utilized an adapted and expanded questionnaire by Graveling et al.

Results: 50 patients with impaired hypoglycemia awareness (15.2% of the total number) with 9 patients at point 7 of the scale and 10 patients at point 6 (5.26%) were identified. There was no significant difference observed in the two groups of patients (with and without impaired hypoglycemia awareness) as to the frequency of glycemia measurement before driving (0.20%, resp. 0.23% of patients measure their glycemia before every single drive, 1.43% resp. 1.31% before every second one).

Conclusions: There is a substantial number of patients with impaired hypoglycemia awareness among drivers with Type 1 diabetes. Preventing hypoglycemia while driving is insufficient in a majority of the patients among this group, as well as among the entire study population. This should be taken into consideration and emphasized on during the education process.

Když stojím, nezvládám počítat!

Levínská, K. (2), Danková, M. (1) Vyhnaček, M. (1), Čákr, O. (2), Jeřábek, J. (1), Kolář, P. (2)

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

Školitel: Pavel Kolář

Úvod: Cerebelární ataxie (CA) je heterogenní soubor onemocnění, která se projevují progresivním mozečkovým syndromem často v kombinaci s dalšími klinickými projevy (kognitivní dysfunkce, extrapyramidové jevy). Tato onemocnění mají ve vysokém procentu případů genetický podklad. Mezi složky mozečkového syndromu patří porucha stability a v některých případech přítomnost 3Hz třesu ve frekvenční analýze posturografického signálu. U organismů s poruchou posturální kontroly je na udržení stability třeba více pozornosti než u zdravých. V případě, že tento organismus vystavíme dalšímu úkolu (kognitivními či senzorickému), interakce mezi stabilitou a kognicí roste a dle publikovaných studií dochází ke zhoršení stability nebo výkonu v sekundárních úkolech.

Cíl: Cílem první části studie bylo ověřit přítomnost 3Hz třesu u pacientů s CA. Ve druhé části bylo cílem vyšetřit schopnost pacientů s CA zpracovávat souběžně posturální a kognitivní, respektive kognitivně-vizuální, úkol a interakci popsat.

Materiál a metody: Stabilitu stoje jsme vyšetřili u 30 pacientů s geneticky definovanou CA (52.4 ± 2.7 let). Při vyšetření na stabilometrické plošině (modifikovaný test senzorické integrace) byla v různých posturálních situacích hodnocena přítomnost 3Hz třesu ve frekvenční analýze stabilometrického signálu.

Devět pacientů s CA (56.5 ± 7.2 let) bylo vyšetřeno pomocí dual-task protokolu (kognitivní a vizuální test, mSOT). Byla hodnocena stabilita stoje při souběžném úkolu a bez něj, stejně tak výkon v sekundárním úkolu (reakční čas odpovědi) v sedě a ve stoji.

Výsledky: Posturální 3Hz tremor byl detekován u 90% pacientů s CA (27 ze 30).

U pacientů s CA hodnocených DT protokolem jsme neobjevili statisticky významný vliv souběžných úkolů na stabilitu stoje v žádné z posturálních situací ($p > 0,2$ se zachováním optické kontroly, respektive $p > 0,1$ bez ní). Reakční čas odpovědi v kognitivním testu zpětného odečítání se statisticky významně prodloužil ve všech měřených posturálních situacích. Při stoji na pevné podložce se prodloužil méně ($p < 0,05$) než při stoji na pěnové podložce ($p < 0,001$). Interakce mezi vizuálním a posturálním úkolem nebyla na hladině statistické významnosti.

Závěr: 3Hz třes lze označit za typický znak přítomný ve frekvenční analýze posturografického signálu pacientů s CA. Schopnost vykonávat souběžně kognitivní a posturální úkoly je u pacientů s CA snížena. Vliv na stabilitu pacientů je v DT situaci nevýznamný, nicméně výkon v kognitivním úkolu se statisticky významně zhoršuje v závislosti na náročnosti posturální situace.

Epidurální analgezie novorozeneých — Risk, či nová změna SPC?

Šípek J. (1), Mixa V. (1), Pokorná P. (2), Berka I. (3)

1 – KARIM FN Motol, 2. LF UK, Praha 5; 2 – Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN; Praha 2; 3 – Ústav pro péči o matku a dítě, 3. LF UK, Praha 4

Školitel: Vladimír Mixa

Úvod: Účinná analgezie novorozeneých dětí je náročná činnost pro odlišnosti ve farmakokinetice (FK) a farmakodynamice (FD) i kvůli obtížné hodnotitelnosti. U analgeticky náročných stavů je první volbou kontinuálně podávaný morfin oblišený pro účinnost i bezpečnost. Jeho podávání je však spojeno s řadou známých nežádoucích účinků (NÚ). Nezralost jaterních enzymů navíc způsobuje nárůst rezistence a zvyšuje tak nároky na analgetika.

Velikost dávky morfinu lze významně snížit kontinuální kaudální epidurální analgezií (c-CELA). Ta může též zkrátit dobu hospitalizace a zlepšit finální outcome pacienta.

Užívaným lokálním anestetikem (LA) je levobupivacain (L-BUP) vyznačující se nízkou toxicitou a vysokou efektivitou. Část podaného LA přechází z epidurálního prostoru do krevní plasy. Volný, na bílkovinu plasy nevázaný, L-BUP se pak může kumulovat, případně způsobovat toxické NÚ.

Studii na toto téma je velmi málo. Epidurální podávání L-BUP v této věkové kategorii není povoleno v Souhrnu údajů o léčivém přípravku (SPC).

Cíl: Stanovit FK a FD model L-BUP, vyloučit možnost kumulace volné frakce a sledovat eventuální výskyt toxicity.

Materiál a metody: Klinická studie: 2 kohorty, 20-30 donošených (postmenstruační věk (PMA) 37 týdnů a více) a 20–30 nedonošených (PMA méně než 37 týdnů)

Zařazující kritéria: Závažné stavy náročné na analgezi (pooperační stavy, nekrotizující enterokolitis, brániční kýla ...), souhlas zákonného zástupce, PMA nižší než 45. týden

Vylučující kritéria: nesouhlas zákonného zástupce, alergie na LA, malformace páteře, selhání provedení c-CELA, významné snížení funkce jater a ledvin, koagulopatie, seps

Provedení: zavedení C-CELA (katetr Premicath) se standardním dávkováním L-BUP 0,25% rychlostí 0,2 mg/kg/hod, následně se odebere 7 vzorků (0,2-0,5 ml) žilní krve během 144 hod

Laboratorní metoda: stanovení koncentrace volného a vázaného L-BUP v krvi pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrofotometrií

Statistika: FK model pomocí softwarového algoritmu NONMEN

Vyřazení ze studie: neurologické či kardiální NÚ, komplikace c-CELA (infekce, malfunkce, alergie). Při toxických NÚ v celé kohortě či průkazu kumulace bude studie přerušena.

Výsledky: Metoda stanovení volného L-BUP byla validována v lednu 2020. Po schválení SÚK Lem (ve finální fázi) bude zahájeno zařazování pacientů. Výsledky budou známy po jednom roce.

Závěr: Pokud se nepotvrdí kumulace volného L-BUP v krevní plasmě pacienta, bude tuto metodu možné zavést do klinické praxe a zahájit jednání o úpravě SPC L-BUP.

P—42 / pregraduální student

PREVALENCE A LÉČBA HYPERTENZE U PACIENTŮ
S PREDIABETEM A DIABETEM V ČESKÉ REPUBLICE

Hypertenze a pre/diabetes – jak jsme na tom?

Jenšovský M. (1), Lustigová M. (2,3), Brož J. (1)

1 – Interní klinika 2. LF UK a FN Motol, 2 – Státní zdravotní ústav, 3 – Katedra sociální geografie a regionálního rozvoje, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

Školitel: Jan Brož

Úvod: Diabetes a prediabetes jsou metabolická onemocnění s rostoucí prevalencí v ČR i ve světě. Míra společného výskytu DM a hypertenze jako rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění je známa. Informace o míře zachycené hypertenze a její léčbě u pacientů s prediabetem a diabetem v ČR však chybí.

Cíl: Cílem naší studie bylo analyzovat míru míru zachycené hypertenze a úspěšnost její léčby (hodnoty $<140/90$ mmHg) u osob zdravých, pacientů s diabetem a pacientů s prediabetem na reprezentativním vzorku populace ČR ve věku 25-64 let.

Materiál a metody: K analýze byla použita data z EHES (European Health Examination Survey) provedené v letech 2014. EHES je stratifikovaná epidemiologická průřezová studie, která se zaměřuje na výběrové šetření zdravotního stavu evropské populace. Data byla získána na základě dotazníkového šetření a následného lékařského vyšetření. Vyhodnocení dat bylo provedeno pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA), a χ^2 testu.

Výsledky: Z celkových 1189 účastníků bylo v nediabetické skupině 745 (62,66 %), v prediabetické skupině 330 (27,75 %) a v diabetické skupině 114 (9,6 %). Prevalence hypertenze se signifikantně lišila mezi výše uvedenými skupinami (jinak zdraví 28,6 %, prediabetes 47 %, diabetes 73,7 %, $p < 0,001$). Procento dosud nezachycené hypertenze bylo vyšší ve skupině prediabetu než ve skupině diabetické, ale nejvyšší mezi jinak zdravými (23,2 % vs. 13,1 % vs. 39 %, $p < 0,001$). Mezi osobami s léčenou hypertenzí nedosahovalo cílových hodnot 34 % z jinak zdravých, 42,1 % mezi prediabetiky a 47,1 % mezi diabetiky. Měření krevního tlaku zdravotnickým personálem v posledních 12 měsících reportovalo z celé studované populace 29,5 % zdravých, 22,1 % prediabetiků a 7,9 % diabetiků.

Závěr: Míra zachytu hypertenze i úspěšnost její léčby je v populaci ČR stále nedostatečná. Nejnižší zachyt jsme prokázali mezi jinak zdravými a nejnižší úspěšnost léčby s ohledem na dosažený tlak $<140/90$ mezi pacienty s diabetem.

Periferní nervový systém a jeho dysfunkce u pacientů s IBD

Wasserbauer M. (1), Hlava Š. (1), Šťovíček J. (1), Ročková P. (2), Keil R. (1)

1 – Interní klinika FN Motol, Praha; 2 – Neurologická klinika FN Motol, Praha

Školitel: Radan Keil

Úvod: Nespecifické střevní záněty jsou asociovány s širokým spektrem extraintestinálních příznaků jako je například postižení kloubů, kůže, očí a dalších orgánových soustav. Extraintestinální příznaky jsou přítomny až u 40% pacientů a mohou postihovat téměř všechny orgánové soustavy člověka. Mezi jednu z těchto skupin extraintestinálních příznaků patří i neurologická problematika.

Cíl: Objasnit jakým způsobem je ovlivněn periferní nervový systém u pacientů s nespecifickými střevními záněty a jeho četnost, jak se tato dysfunkce manifestuje a jaký je vliv terapie na vznik a manifestaci periferní neuropatie.

Materiál a metody: Zařazeni pacienti s nespecifickými střevními záněty ve věku nad 18 let. U pacientů provedeno neurologické vyšetření k objasnění přítomnosti periferní neuropatie. Nyní u pacientů s pozitivním neurologickým nálezem postupně doplňováno EMG a rovněž vyšetření autonomní neuropatie.

Výsledky: Do studie zařazeno 122 pacientů a u všech provedeno certifikovaným neurologem detailní neurologické vyšetření. U 59 pacientů byl přítomen patologický neurologický náález, tedy až u 40,2%. Nejčastějšími patologickým neurologickým nálezem byly: areflexie břišní, polyneuropatie dolních končetin, hyperreflexie dolních končetin a poruchy vibračního cití.

Závěr: Nespecifické střevní záněty jsou často asociovány s extraintestinálními příznaky, a to i s dnes hojně opomíjenými poruchami periferního nervového systému.

TESTOVÁNÍ STABILITY U MLADÝCH ADOLESCENTNÍCH SPORTOVČŮ
S M. OSGOOD-SCHLATTER POMOCÍ Y-BALANCE TESTU

**Y-Balance Test, Osgood-Schlatterova choroba,
bolesti kolene u dětí**

Hladký V. (1), Kaplan A. (2), Havlas V. (1), Smetanová J. (1,3)

1 – Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie FN Motol, Praha, 2 – Fakulta tělesné výchovy a sportu UK, Praha, 3 – Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství FN Motol, Praha

Školitel: Vojtěch Havlas

Úvod: Z literárních pramenů lze vyvodit, že přetížení úponu ligamentum patellae vzniká nejenom na podkladě působení sil ve smyslu absolutním. K přetížení ve smyslu relativním mohou vést i chybné pohybové vzorce. Výsledkem je tak chronické přetěžování úponu lig. patellae a rozvoj Osgood–Schlatterovy choroby

Cíl: Cílem práce je:

Zjistit, zda existuje korelace mezi pohybovou úrovní pacienta ve standardizovaném testu ve stoji na jedné noze a rozvojem symptomatické Osgood-Schlatterovy choroby.

Změřit a vyhodnotit sledované kineziologické vzorce.

Zhodnotit efekt individuálního intervenčního programu směřujícího k nápravě abnormálních pohybových vzorců.

Materiál a metody: Vstupně bylo do experimentu zařazeno 10 pacientů. Jednalo se o chlapce se symptomatickou Osgood-Schlatterovou chorobou, jejichž průměrný věk činil 13,6 let (rozmezí 12-16 let). Byla provedena série třech oddělených měření. Druhého a třetího měření, se zúčastnilo 7 probandů, se kterými jsme dále pracovali. Probandi byli vyšetřeni pomocí Y-Balance Testu. Získaná data byla zpracována dle originální metodiky Plisky et al.

Výsledky: Abnormálních hodnot dosahovali probandi s naprostou převahou při vyšetření na přední ose. Naopak u posteromediální i posterolaterální osy jsme četnější výskyt nefyziologických hodnot nezaznamenali. U 2 pacientů s jednostranným postižením nebyla zcela jasná vazba abnormálních hodnot na postiženou dolní končetinu.

Závěr: Na základě zpracovaných dat lze usuzovat, že jistá korelace mezi Osgood-Schlatterovou chorobou a snížením pohybové úrovně pacientů existuje. Y-Balance Test a metodika dle Plisky et al. se jeví jako vhodný způsob, jak lze pohybovou úroveň jedince vyšetřit a kvantifikovat.

Držme si palce, bez nich to nejde

Jurča Jiří

Ortopedické oddělení nemocnice v Chomutově, Krajská zdravotní a.s.

Školitel: Vojtěch Havlas

Úvod: Artróza prvního karpometakarpálního (trapeziometakarpálního) kloubu neboli rhizartróza je druhým nejčastějším artrotickým postižením ruky. Trapeziometakarpální kloub neboli kořenový kloub palce ruky, má sedlovitý tvar, což umožňuje vícerovinný pohyb ve smyslu flexe-extenze, abdukce-addukce a axiální rotace. Tím je dán značný rozsah hybnosti, zejména opozice palce, která je nezbytná pro úchop. Stabilita kloubu je vedle tvaru kloubních ploch, zajištěna zejména kloubním pouzdem zesíleným vazy a šlachami jdoucími k palci. To je příčinou velkého zatížení kořenového kloubu a tím častějšího a časnějšího rozvoje degenerativním změn a artrózy. Zpravidla se jedná o idiopatické onemocnění, postihující zejména ženy po menopauze, často oboustranně, dále jsou formy pouřazové a revmatické. Pokročilá stadia onemocnění nás vedou k chirurgické léčbě.

Cíl: Prezentace autorem používaných operačních technik s preferencí totální náhrady kořenového kloubu, jejich indikací, porovnání a zhodnocení jejich výsledků.

Materiál a metody: Od r. 2011 se autor komplexně zabývá problematikou pokročilé rhizartrózy, kdy v případech symptomatické rhizartrózy III. a IV. st. klasifikace dle Eaton-Glickella volí operační postupy. Postupně zavádí řadu operačních technik, jako závesnou artroplastiku dle Burton – Pellegriniho, totální náhradu kořenového kloubu Beznoska a Ivory, interpoziční a závesnou artroplastiku se silikonovou náhradou trapézia Medin a TIE-IN. Na základě výsledků a získaných dat vytváří algoritmus operační léčby. Při volbě operačního postupu a způsobu řešení se řídí řadou kritérií: stupněm artrotického postižení vlastního kořenového kloubu, stavem trapézia, přítomností rozvinuté pantrapeziální artrózy či artrózy karpu jako takového, přítomností kompenzačních deformit palce (zigzag deformita), etiologii postižení (primární versus sekundární – revmatická). Vedle toho posuzuje věk pacienta a jeho fyzické nároky na úchop, jemnou motoriku a zátěž ruky jako takové.

Výsledky: Soubor 180 odooperaovaných symptomatických pokročilých rhizartróz. Při hodnocení výsledků autor užívá systémy měření rozsahu hybnosti – opozice palce dle Kapandjiho, abdukce palce, Buck-Gramcko skóre, handgrip strength test a další skórovací systémy – DASH skóre, VAS skóre. Vždy srovnává předoperační nález s vyšetřením 3, 6 měsíců a 1 rok po operaci.

Závěr: Z výsledků vyplívá, že totální náhrada kořenového kloubu je vedle závesné či interpoziční artroplastiky zlatým standardem léčby a při dodržení indikačních kritérií vykazuje nejlepší výsledky.

Výzkum jedné z posledních terra incognita ve fossa cubitalis

Šuto L., Brabec J., Kachlík D.

Ústav anatomie 2. lékařské fakulty UK

Školitel: David Kachlík

Úvod: Vena perforans cubitalis (Graciov perforátor) je žíla, která ve fossa cubitalis spojuje povrchový a hluboký žilní systém horní končetiny. Je již několik desetiletí využívána k založení arteriovenózních píštělí formou end-to-side u pacientů, kteří potřebují dialýzu. Pro tento účel má ideální stavbu – dostatečně široký průsvit, vyhovující délku a není tedy třeba využívat cévní náhrady. K použití Graciov perforátoru k tvorbě arteriovenózní píštěle se přistupuje, není-li možné vytvořit zkrat v zápěstí nebo pokud tento selhal a je třeba využít proximálnější možnosti. I když se tato žíla v klinické praxi používá již dlouho, její anatomická stavba a vztahy k okolí nejsou dostatečně a podrobně popsány.

Cíl: Cílem práce je shromáždit co nejvíce morfometrických dat o povrchových žilách předloktí a paže, zejména pak o vena perforans cubiti a jejím bezprostředním okolí. Studie je zaměřena především na stanovení jeho základních parametrů a jeho větvení.

Materiál a metody: Shromažďování dat probíhalo na kadaverech fixovaných klasickou formaldehydovou metodou, obou pohlaví, ve věkovém rozmezí 60–90 let. Celkem bylo zpracováno 73 horních končetin. Vzhledem k velké části pitvaných separovaných končetin údaj o pohlaví u větší části z nich chybí.

Výsledek: Podrobné výsledky shrnuje tabulka. Průměrný průsvit perforátoru byl 3,35 mm (medián 3,00 mm). Vena perforans cubitalis začíná u místa odstupu vena mediana cubiti z vena cephalica a ústí jak do vena radiales, tak do vena ulnares. Patrné jsou drobné větve, které prorážejí m. brachioradialis, tyto však nebyly dále zkoumány. Z poměru průsvitu vena perforans cubitalis a vena mediana cubiti, jeho průměrné hodnoty, mediánu a odchylky vyplývá, že průsvit vena mediana cubiti je přímo úměrný průsvitu vena perforans cubitalis, která z ní odvádí krev do hloubky.

Závěr: Studií byla prokázána přítomnost perforátoru ve 100% případech. Byly stanoveny jeho základní průměrné parametry a popsána struktura větvení. Bylo sesbíráno dostatečné množství dat k vyvození závěrů ohledně hemodynamiky a variability žil a tepen předloktí a paže. Data mohou být využita klinicky při rozhodování, kde a jak arteriovenózní píštěl vytvořit.

Tabulka:

	Průměr	Medián	Odchylka
VBa Ø prox.	5,5769	5,0000	2,3579
VBa Ø dist.	2,5758	2,0000	1,4902
VBa Ø paže	5,0658	5,0000	2,1597
VC Ø prox.	3,8646	4,0000	1,3036
VC Ø dist.	2,6020	2,0000	1,0606
VC Ø paže	3,8333	4,0000	1,3899
VMA Ø	2,1500	2,0000	0,7472
VMC Ø	3,4878	3,0000	1,6105
Gracz Ø	3,3469	3,0000	1,3315
Gracz délka	22,9773	20,0000	9,7013
Poměr Gracz/VMC	1,07	1	0,57
VR Ø prox. 1	2,5313	2,5000	1,1848
VR Ø prox. 2	1,5375	1,5000	0,5816
VR Ø dist. 1	1,4875	1,5000	0,6176
VR Ø dist. 2	1,2027	1,0000	0,4324
VBr Ø prox. 1	5,4375	5,0000	2,8543
VBr Ø prox. 2	5,0694	4,0000	2,9860
VU prox. 1	3,8158	4,0000	0,9755
VU prox. 2	2,8824	3,0000	0,9852
VU dist. 1	1,4744	1,5000	0,5495
VU dist. 2	1,1711	1,0000	0,3344
AR Ø prox.	4,0641	4,0000	0,9609
AR Ø dist.	3,7125	4,0000	0,8465
AU Ø prox.	4,9487	5,0000	1,0870
AU Ø dist.	3,8553	4,0000	0,7790
ABr	6,8108	7,0000	1,6472

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ REZISTENCI A PULSATILITU MOZKOVÝCH ARTERIÍ U PACIENTŮ S KAROTICKOU ATEROSKLERÓZOU

Co skutečně ovlivňuje rezistenci mozkových cév u rizikových pacientů?

Kešnerová P. (1, 2), Školoudík D. (3), Herzig R. (4), Netuka D. (5), Langová K. (3, 6); ANTIQUE Trial Group

1 – Neurologická klinika, 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika, 2 – Cerebrovaskulární poradna a Neurosonologie, Sonolab s.r.o., Praha, Česká republika, 3 – Centrum vědy a výzkumu, Fakulta zdravotnických věd, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, Česká republika, 4 – Neurologická klinika, LF UK a FN Hradec Králové, Hradec Králové, Česká republika, 5 – Neurochirurgická klinika, 1. LF UK a ÚVN Praha, Praha, Česká republika, 6 – Ústav biofyziky, LF Univerzita Palackého Olomouc, Olomouc, Česká republika

Školitel: David Školoudík

Úvod: Transkraniální barevně kódovaná duplexní sonografie [TCCS] umožňuje detekovat a měřit charakteristiky průtoku krve v mozkových cévách intaktní lebkou, včetně rezistence a pulsatility.

Cíl: Cílem studie je identifikovat faktory ovlivňující indexy pulsatility [PI] a resistance [RI] u pacientů s karotickou aterosklerózou.

Materiál a metody: Do studie byli zařazeni soběstační pacienti s aterosklerotickým plátem s 20-70% karotické stenózy. Všichni pacienti podstoupili duplexní sonografii krčních tepen a TCCS s měřením procenta stenózy karotické tepny, úhly korigovaných rychlostí průtoku krve, PI a RI ve střední mozkové tepně, neurologická a fyzikální vyšetření. Byly zaznamenány následující údaje: věk, pohlaví, výška, hmotnost, index tělesné hmotnosti [BMI], systolický a diastolický krevní tlak, výskyt současných a předchozích onemocnění (arteriální hypertenze [AH], diabetes mellitus [DM], hypercholesterolémie, vaskulární příhody, atd.), chirurgie, léky, kouření a denní dávka alkoholu. Pro identifikaci faktorů ovlivňujících RI a PI byly použity metoda univariální a multivariální logistické regresní analýzy.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno celkem 1863 subjektů: 139 zdravých kontrol (54 mužů, věk $55,52 \pm 7,05$ let) v derivační kohortě a 1724 pacientů (777 mužů, věk $68,73 \pm 9,39$ let) ve validační kohortě. Horní limity indexů byly stanoveny: pro RI 0,63 a pro PI 1,21. Nezávislé faktory patologicky zvýšeného RI a / nebo PI byly věk (odds ratio [OR] = 1,108 / 1,105 za 1 rok), DM (OR = 1,767 / 2,170), AH (OR = 1,700 pouze pro RI), stenóza karotidy (OR = 1,260 na 10% stenózy pouze pro RI) a mužské pohlaví (OR = 1,530 pro PI) ($p \leq 0,01$ ve všech případech).

Závěr: Nezávislémi faktory ovlivňujícími cerebrální vaskulární pulsatilitu a / nebo rezistenci jsou vyšší věk, diabetes mellitus, arteriální hypertenze, závažnost stenózy karotické tepny a mužské pohlaví.

Podpora projektu: Studii podpořilo Ministerstvo zdravotnictví ČR (granty č. 16-29148A, 16-30965A, 17-31016A a RVO – FN HK 00179906) a částečně Univerzita Karlova v České republice (grant č. PROGRES Q40). Všechna práva vyhrazena

IL-2 INDUCES A REVERSIBLE EXPRESSION OF Tim-3 IN THE EXPANDED CD8+ T CELLS AND AFFECTS THEIR PHENOTYPE AFTER THE ANTIGEN RE-CHALLENGE

IL-2 in Tim-3 expression and T cell phenotype after antigen re-challenge

Taborska P., Stakheev D., Svobodova H., Strizova Z., Bartunkova J., Smrz D.

Department of Immunology, Charles University, Second Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague

Supervisor: Daniel Smrž

Introduction: IL-2 is a widely used cytokine for the expansion of T cells ex vivo. This cytokine induces expression of Tim-3 on the surface of T cells and differentiation of T cells into short-lived effector memory T cells. However, it is not known how IL-2 affects T cell differentiation after the antigen re-challenge.

Aims: To investigate the impact of IL-2 on T cell differentiation after antigen re-challenge of ex vivo expanded T cells.

Materials and Methods: The ex vivo expanded T cells were generated from lymphocytes using allogeneic monocyte-derived matured dendritic cells (DCs), inactivated PC-3 prostate cancer (PCa) cell line, and IL-2. The expanded cells were cultured overnight in the presence or absence of IL-2 (80 IU/ml). Alternatively, the cells were cultured overnight in the presence of IL-2 and a GSK3 β inhibitor TWS119. The cells were analyzed for Tim-3 expression or re-challenged with inactivated PC-3 for 1 day. Then the cells were supplemented with IL-2 (4000 IU/ml) and cultured for 6 days. The phenotype of the cells was analyzed by FACS using CD45RO – and CCR7-specific antibodies.

Results: The expanded T cells cultured in the presence of IL-2 had significantly increased expression of Tim-3 in CD8+ T cells as compared with the non-IL-2-cultured counterpart. This expression was, however, downregulated by TWS119. The antigen re-challenge of the expanded T cells in the absence of IL-2 or in the presence of IL-2 and TWS119 increased the proportions of central memory T cells over the effector memory ones.

Conclusions: The generation of central memory CD8+ T cells is promoted by IL-2 starvation or by TWS119 treatment prior to the antigen re-challenge.

Support: PRIMUS/MED/12, AZV 16-28135A, GA UK No. 364218

P—49 / pregraduate student

ANALYSIS OF 24-HOUR NUMBER OF STEPS OBTAINED WITH PEDOMETER IN COMPARISON WITH RECORDS OF CONTINUOUS GLUCOSE MONITORING IN TYPE 1 DIABETES PATIENTS

Walking out of diabetes

Candeias M. (1), Holubová A. (2), Brabec M. (3), Brož J. (4)

1 – Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 2 – Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Czech Republic, 3 – Institute of Computer Science of the ASCR, v. v. i., Czech Republic, 4 – Department of Internal Medicine, Second Faculty of Medicine, University Hospital in Motol, Prague

Supervisor: Jan Brož

Introduction: The resulting metabolic response of people with type 1 diabetes is a reflection of many factors. The most influential ones are considered to be amount of carbohydrates in a meal, insulin dose and level of physical activity. The most common type of physical activity is walking. In addition to the reduction of cardiovascular diseases, physical activity also affects blood glucose levels. Determining the amount of daily steps needed, in order to have an impact on hypoglycaemia, can reduce the risks of such events.

Aims:

1. to determine the daily amount of steps taken and the effect on people with type 1 diabetes.
2. to analyse its relation to blood glucose levels
3. determine daily variations in steps taken and whether these correlate with blood glucose values

Materials and Methods: 31 patients with type 1 diabetes (mean age was 32 ± 10.6 , mean duration of the disease was 7.2 ± 5.7 years. have been included into this study (20 women and 11 men). Each patient was equipped with an electronic pedometer Flex (Fitbit, Inc.) and a continuous glucose monitoring system Guardian REAL-Time (Medtronic Inc.) for 5-7 days. Multiple regression analysis and GAM (Generalized additive model) were used for the statistical model-based data processing.

Results: The system was used for an average of 5.82 ± 0.89 days per patient, in total, 180 days of usage were evaluated. The average number of steps per patient was $10,285 \pm 3172/24$ hours, the lowest number of daily steps among the patients was 4241 and the largest number was 15,790. We proved a negative correlation between the average number of steps/day and the average daily blood glucose value (GAM).

Conclusions: The performed simulations show a correlation between the average number of steps per day and the average daily blood glucose values. This finding is in concordance with general knowledge about relationship between glycemia and physical activity but also suggests that pedometer could identify days (those with less physical activity) with increased needs of delivered insulin. The relationship between the intraday numbers of steps and the blood glucose levels was not found.

Alosterická modulace v proteinových chimérách

Zouharová M. (1, 2), Bednářová L. (2), Vaněk O. (3), Heřman P. (4), Vetýšková V. (2), Vondrášek J. (2), Boušová K. (2)

1 – 2. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, V Úvalu 84, 150 06, Praha, 2 – Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 542, 160 00 Praha, 3 – Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 6, 128 00 Praha, 4 – Matematicko-fyzikální fakulta, Univerzita Karlova, Ke Karlovu 5, 121 16 Praha

Školitel: Kristýna Boušová

Úvod: Centrálním paradigmatem strukturní biologie je koncept domén. Proteiny jsou složeny z modulů (domén) se strukturní či funkční charakteristikou nezávislou na zbytku molekuly. Pomocí kombinace domén lze získat nové proteiny s využitím v medicíně či biotechnologiích. Současné poznatky v oblasti strukturní biologie však přinášejí zpochybnění centrálního paradigmatu a vyvstává otázka: Jak se domény v novém uspořádání v rámci fúzního proteinu navzájem ovlivňují? Prostřednictvím fúze kalmulinu (CaM) s C-koncovou doménou ameloblastinu (AMBN-Ct) byla studována potenciální alosterická modulace mezi fúzními partnery. CaM je detailně charakterizovaný senzor intracelulární koncentrace Ca^{2+} . Vazba Ca^{2+} indukuje konformační změny, umožňující interakci CaM s dalšími proteiny signalizační kaskády. AMBN je naopak málo charakterizovaný nestrukturovaný protein, sekretovaný během procesu biomineralizace.

Cíl: Cílem projektu je získat rozpustného chimérického konstrukt CaM/AMBN-Ct a studium vlivu C-koncové domény AMBN na interakci CaM s ionty Ca^{2+} i s jeho cílovým vazebným partnerem – iotovým kanálem TRPM4.

Materiál a metody: CaM/AMBN-Ct, AMBN-Ct i CaM byli exprimováni v *E. coli* BL-21 a finálně přečištěni na Superdex 200 Increase (GE Healthcare). Stupeň disperzity byl ověřen dynamickým rozptylem světla (Laser Spectroscater 201, RiNa), změny ve tvaru molekul analytickou ultracentrifugací (ProteomeLab XL-I, Beckman Coulter). Struktura proteinů a teplotní stabilita byla studována měřením cirkulárního dichroismu (Jasco 1500, Jasco), afinita k vazebnému epitopu pro CaM na TRPM4 (syntetizován jako peptid TRPM4np) stanovena měřením časově ustálené fluorescenční anizotropie (Photon counting spectrometer PC1, ISS Inc.)

Výsledky: CaM/AMBN-Ct, AMBN-Ct i CaM jsou v prostředí s i bez Ca^{2+} monodisperzní proteiny. U CaM/AMBN-Ct a CaM dochází vazbou Ca^{2+} ke zkompatnění molekul, přičemž změna je nejvýraznější u CaM/AMBN-Ct. Teplota tání (T_m) CaM/AMBN-Ct je výrazně vyšší než T_m CaM. Indukce konformačních změn typických pro interakci CaM s Ca^{2+} byla prokázána u CaM i CaM/AMBN-Ct, přičemž CaM ve fúzi s AMBN-Ct má po aktivaci vazbou Ca^{2+} sníženou schopnost interakce s TRPM4np oproti samostatné molekule CaM.

Závěr: Navýšení T_m struktur CaM v důsledku fúze s nestrukturovanou doménou AMBN a změny ve tvaru molekul naznačují alosterické působení fúzních domén. AMBN C-konec pravděpodobně interaguje s CaM a zabraňuje jeho vazbě na TRPM4np při zachování schopnosti CaM vázat Ca^{2+} . Výstupy experimentu naznačují alosterickou modulaci funkcí fúzních domén a nutnost tento jev zohlednit při designu nových proteinů.

Murine model of focal cortical dysplasia – electrographic features

Chvojka J. (1, 2, 3), Buran P. (2), Heřmanovská, B. (1, 2), Ravi, T. (1), Kudlacek J. (1, 2, 3), Novak O. (1), Prochazkova N. (1), Otahal J. (2), Jiruska P. (1, 2)

1 – Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 2 – Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic, 3 – Faculty of Electrical Engineering, Czech Technical University, Prague, Czech Republic

Supervisor: Přemysl Jiruška

Introduction: Focal cortical dysplasia (FCD) is a localized and highly epileptogenic malformation of the cerebral cortex. FCD is a common cause of pharmacoresistant epilepsy. The exact mechanisms responsible for the endogenous epileptogenicity of FCD are not well known.

Aims: To explore the electrographic features of epileptiform activity in a murine model of FCD-related epilepsy.

Materials and Methods: mTOR mutation p.Leu2427Pro that has been identified as causative of human FCD was introduced into embryonic mouse brains. The cDNA construct containing the mutation together with a gene for green fluorescent protein (GFP) was injected into the lateral ventricle of E14.5 mouse embryos using a glass capillary and electroporated. Six adult GFP positive mice were implanted at the age of six weeks with four silver electrodes positioned bilaterally and epidurally over the cortex. Video-EEG was recorded for 14 days starting at the age of 7 weeks (n=3), 9 weeks (n=2), 10 weeks (n=1). Seizures were identified visually, onsets were labeled and classified according to the Perucca's classification. The interictal epileptiform discharges (IED) were detected and analyzed using the signal envelope distribution modeling technique. Electrodes were labeled as distant or close with respect to GFP (FCD) lesion for each animal. IED rate in each electrode was normalized per animal.

Results: Animals exhibited 20.0 ± 3.9 seizures on average and the mean duration of seizure was 48.5 ± 2.2 s. The majority of seizure onsets initiated with a low-voltage fast activity (LVFA) (43%) or high-amplitude polyspikes (34 %). The onset was temporally and spatially synchronous across all electrodes in both hemispheres. Behavioral correlates of seizures measured on Racine scale ranged from 3 to 5. Levels 1 and 2 could not be distinguished due to insufficient video quality. Electrodes adjacent to the lesion displayed a significantly larger proportion of IEDs observed ($p=0.0175$, Wilcoxon rank-sum test) in comparison to electrodes distant from the GFP positive tissue.

Conclusions: We demonstrate, that the murine model of FCD-related epilepsy has electrographic features analogous to human cases. LVFA is one of the most frequent seizure onset patterns in FCD. Understanding the mechanisms of this seizure onset may provide a key information about the basic principles of seizure emergence within FCD lesion.

Support: Ministry of Health of the Czech Republic (AZV CR 17-28427A), Czech Science Foundation (GACR 15-08565S, 20-25298S) and Primus.

ZAVEDENÍ METODIKY STANOVENÍ KONCENTRACE MMP-9 V SLZÁCH: PILOTNÍ STUDIE

Stanovení koncentrace MMP-9

Minaříková M. (1), Fík Z. (2), Ferrova K. (3), Cendelinová V. (4), Vaněček J. (3), Žaloudíková M. (1), Mahelková G. (1, 3)

1 – Ústav fyziologie 2. LF UK, 2 – Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol, 3 – Oční klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol, 4 – 2. LF UK, obor všeobecné lékařství

Školitel: Marie Žaloudíková

Úvod: Syndrom suchého oka (SSO) je multifaktoriálním onemocněním. V etiopatogenezi hraje významnou roli zánět. Za jeden z použitelných markerů je považována matrixová metaloproteináza 9 (MMP-9). Desikační stres a hyperosmolarita, významné faktory vzniku SSO, zvyšují hladinu MMP-9 v slzách. U pacientů s ligoftalmem (LAGO) dochází v důsledku narušení stírací funkce víček a poruchy sekrece slz k poruše homeostázy povrchu oka a příznakům SSO. Lze tedy předpokládat, že hladina MMP-9 v slzách bude na oku s LAGO vyšší než na zdravém oku.

Cíl: Cílem práce bylo zavést metodiku odběru slz a stanovení hladiny MMP-9 v odebraném vzorku a následně v rámci testovací studie vyšetřit hladinu MMP-9 v slzách pacientů s LAGO.

Materiál a metody: Pomocí skleněné mikropipety byly odebrány vzorky 18 subjektům z řad dobrovolníků a pacientů Oční kliniky 2. LF UK. Byl změřen objem slz a stanoven obsah proteinu. Následně byla zavedena metodika stanovení MMP-9. Metodika byla dále otestována na souboru 8 pacientů s LAGO a porovnány koncentrace MMP-9 na oku zdravém a nemocném. Pacienti se závažným nálezem na rohovce a spojivce nebo s jiným lokálním či celkovým onemocněním byli ze studie vyloučeni.

Výsledky: Dostatečný objem vzorku slz (3-5 ul) byl získán z 28 očí. Koncentrace proteinu v slzách byly v souladu s hodnotami prezentovanými v dostupných studiích ($3,82 \pm 0,9$ mg/ml). U všech pacientů s LAGO byla koncentrace MMP-9 na oku s LAGO vyšší než na oku zdravém. Koncentrace MMP-9 byla na oku s LAGO (doba trvání déle než 3 měsíce) průměrně 7,5x vyšší než na oku zdravém (v rozmezí 3,05–20,67). Průměrná koncentrace MMP-9 v slzách na zdravém oku byla $104,85 \pm 103,33$ ng/ml (v rozmezí 10,05–240,28 ng/ml) a na oku s LAGO $1263,33 \pm 1604,35$ ng/ml (v rozmezí 61,22–4328,37).

Závěr: Úspěšně jsme zavedli metodiku odběru slz a stanovení koncentrace MMP-9 v slzách. Na testovacím souboru pacientů s jednostranným LAGO jsme prokázali zvýšenou hladinu MMP-9 v slzách na oku s LAGO oproti oku zdravému. To dokumentuje výraznou poruchu homeostázy povrchu oka s LAGO i přes zdánlivě klinicky uspokojivý nález. Zároveň však absolutní hodnoty koncentrace MMP-9 vykazují velkou interindividuální variabilitu. To naznačuje pravděpodobný vliv více faktorů a potvrzuje multifaktoriální etiopatogenezi vzniku SSO. Naše výsledky do budoucna plánujeme ověřit na rozšířeném souboru pacientů a podrobněji zhodnotit včetně statistické analýzy.

Podpora projektu: Podpořeno interním grantem 2. LF UK 1110026 a projektem MZČR koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 FN Motol.

P—53 / pregraduate student

MAPING THE SUPRASCAPULAR NOTCH TOPOGRAPHICAL VARIATIONS AS A GUIDANCE TO ULTRASOUND IMAGING

Mapping the Suprascapular Notch

Al-Redouan A. (1), Holding K. (1), Nanka O. (1, 2), and Kachlík D. (1)

1 – Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2 – Institute of Anatomy, First Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Supervisor: David Kachlík

Introduction: Vascular variations around the suprascapular notch (SSN) have been reported throughout the literature; however, a specific map has not yet been established and controversies on the extent of variability remain. For instance, in basic anatomy textbooks and curricula, it is commonly taught that the suprascapular artery (SA) and suprascapular vein (SV) travel above the suprascapular ligament (SSL). However, it is often observed that this is not always the case. The SA may travel under the SSL within the SSN. The SV has also been observed to be highly variable as on occasion there may even be more numerous veins that travel around the SSN with different proximities to the suprascapular nerve (SN) and SA. This variation forms obstacles during ultrasound assessment of the SSN.

Aims: To map the vascular variation within the suprascapular notch.

Materials and Methods: The SSN was observed on 77 cadaveric dissections (30 bilateral on full body, 24 right free limbs, 23 left free limbs). Cadavers were of Central European origin, fixed with classical formaldehyde method, aged over 60 years. Vascular variations were observed and recorded schematically, suprascapular nerve and vessels diameter were measured.

The study was approved by the Ethics Committee of the University Hospital Motol and Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic (Reference ID no. EK-353/19).

Results: A single SN of a 2-3 mm in diameter was constantly passing inside the SSN in all cases with no variation. In the 30 bilateral SSN (15 pairs), 6 had a symmetrical morphology while 9 SSN had an asymmetrical morphology. The course of the SA and SV are shown in the table.

Conclusions: Nine variants of vascular topography at the SSN were observed. It has been proposed to name the vessels passing inside the SSN as “suprascapular notch” artery and vein, respectively, to eliminate ambiguity. The six cases of absent SA could mean that the supraspinatus muscle may receive varying blood supply from the subscapular artery since it is known that it anastomoses with the SA.

The documented variant combination throughout the literature does not accurately represent this disparity. A further cadaveric investigation is needed to meet a statistical significant report.

Support: Grant project of the Charles University: GAUK no. 1720119.

Table: results

Suprascapular artery (0-2 found around the SSN)

	Passing inside SSN only (0-1 SA)	Passing outside SSN only (0-2 SA)	Passing both inside & outside SSN	Absent
SA diameter	1-4 mm	1-5 mm		
Number of cases	16	52	3	6

Suprascapular vein (1-3 found around the SSN)

	Passing inside SSN only (0-2 SV)	Passing outside SSN only (0-2 SV)	Passing both inside & outside SSN	Absent
SV diameter	0.5-5 mm	1-7 mm		
Number of cases	11	44	18	0

Total number: 77 suprascapular notches

P—54 / pregraduate student

JUGULAR FORAMEN MORPHOMETRY

Jugular Foramen

Al-Redouan A., Oliveira I. and Kachlik D.

Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha

Supervisor: David Kachlík

Introduction: The jugular foramen (JF) is located on the skull base bilaterally, antero-medial to the mastoid process, serving as cranial nerves and vascular passage into and from the posterior cranial fossa. A fibrous bridge splits the JF into two spaces: the anteromedial space conveys the glossopharyngeal (IX) nerve. The posterolateral space carries the vagus (X) and accessory (XI) nerves as well the internal jugular vein and posterior meningeal artery.

Jugular foramen syndrome (JFS), also known as Vernet's syndrome, is characterized by neurological symptoms of the passing cranial nerves IX, X, XI associated with some localized etiology at the JF. Many pathological processes reported at this site are known; however, whether the morphology of the JF plays a role in the JFS is not well elaborated.

Aims: To assess the extent of JF variation to further understand its morphological relations to the JFS.

Materials and Methods: The JF was observed and measured bilaterally in 135 dry skulls with opened cranial cavity. The maximum length (L) in an anteroposterior dimension as well the maximum width (w) in a mediolateral dimension of the JF were measured internally from the posterior cranial fossa and externally at the skull base by a digital caliper. Likewise, the shape of the JF was assessed. The depth of the JF was measured as two separated parameters: between the external plane of the JF and the jugular fossa (Ext-Fossa), and between the external plane and the internal plane of the JF (Ext-Int).

Results: The parametric results of the JF are shown in the Table.

Conclusions: The JF can be thought of as a canal between the external aperture at the skull base and the internal aperture in the posterior cranial fossa and varies in alignment from a straight to a sloped line in direction. The length of the canal represented by the depth of the JF seemed to be symmetrical but the size of the JF is rather asymmetrical with a tendency to be larger on the right side. The external aperture of the JF was found to be slightly larger than the internal one. The shapes of the FJ showed disparity with oval being the dominate presentation. The presence of a complete and incomplete bridge could mean a calcified fibrous bridge or could mean an actual osteofibrous morphological variation. Whether or not these morphological observations play role in the JFS need be investigated.

Table: results

		Size (mm)				Shape	
		Max	Mean	± SD	Min	%	
Internal	Right	Width	20.78	12.6	4.31	6.93	0 68.4
		Length	18.97	9.14	3.14	2.33	Δ 3.4
							/ 28.2
		Left	Width	18.8	11.96	3.69	5.2
	Length		12.85	8.68	2.34	2.54	Δ 31.1
						/ 2.5	
	External						
	Depth	Right	Ext-Fossa	18.44	11.36	3.67	4.17
Ext-Int			17.79	11.67	2.82	6.68	/15.5
Left		Ext-Fossa	19.59	11.26	3.17	4.83	133.0
		Ext-Int	17.23	11.43	2.96	5.12	/15.9

P—55 / pregraduate student

VERTEBROBASILAR ANATOMY AND CLINICAL IMPLICATION: PRELIMINARY STUDY

Vertebrobasilar Complex

Al-Redouan A., Lehto C., Salaj M., and Kachlik D.

Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha

Supervisor: David Kachlík

Introduction: The vertebrobasilar complex (VBC) consists of paired vertebral (VA) and unpaired basilar artery (BA) arranged in a rather variable geometric configuration. Its spatial arrangement would probably influence the physiological properties of its blood flow. The VBC is located on the internal skull base slopping in a rostroventral direction away from the foramen magnum. This makes its accessibility during dissection as well as in imaging rather complicated and hard to obtain. Consequently, the anatomical knowledge of this area features some gaps.

Aims: A pilot assessment to initiate an extensive anatomical analysis of the VBC.

Materials and Methods: Scoping review was conducted to survey the VBC configuration. The suggested configuration found in the literature was used as a reference to evaluate 6 retrospective VBC angiography and 8 cadaveric brain VBC, beside 96 VBC samples found in the literature. The collective samples of the VBC in this preliminary study was 110. The VBC was classified into 3 categories based on its shape as follows: 1) Tuning fork – two equal VA forming a symmetrical confluence at the BA origin; 2) Walking – two equal VA bend in same direction before the confluence at the BA origin; 3) Lambda—one dominant VA and the other VA is smaller and forming a pseudo T-junction.

Results: The result of the scoping review was only two collected articles investigating the VBC geometric configuration on retrospective angiographs. No cadaveric study of the VBC geometric configuration was found in the literature. The configuration types of the VBC was found to be: Tuning fork (23/110), Walking (22/110), Lambda (65/110).

Conclusions: Majority of the VBC (Lambda type – 59.09%) showed asymmetrical form of VA accompanied by a curved BA. In the Walking type, the BA took a counter-curved direction to that of the VA. Only 20.91% (Tuning fork type) showed symmetrical non-curved vessels. The remaining 79.09% exhibited configurations that seem to be a consequence of vascular remodelling changes associated with the blood flow dynamics. The anatomical-physiological relationship of this varying geometric configuration needs to be investigated further.

The VBC geometric anatomy, although known, has not yet been classified into a practical types.

Ovlivňují změny metylace expresi genů?

Jenčová P. (1), Zelinka T. (2), Musil Z. (1, 5), Vosecká T. (1), Pacák K. (3), Dušková J. (4), Vácha A. (1)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha; 2 – Centrum pro výzkum, diagnostiku a léčbu hypertenze, III. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha; 3 – Section on Medical Neuroendocrinology, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health & Human Development (NICHD), National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, 20892, USA; 4 – Institut patologie, 1. LF UK a VFN, Praha; 5 – Institut biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN, Praha

Školitel: Aleš Vácha

Úvod: Feochromocytomy a paragangliomy (PPGL) jsou vzácné neuroendokrinní tumory, které vznikají z chromafinních buněk sympatiku. Většina těchto nádorů je benigních, ale okolo 10% nádorů je maligních. Se vznikem PPGL je nyní spojováno nejméně 19 genů.

Cíl: Ve studii jsme se zaměřili na změny v chromosomálním počtu a metylačním stavu genů IGF2, H19 a KCNQ1OT1 (11p15), protože jejich zapojení do vývoje různých nádorů bylo prokázáno již dříve. U PPGL byly zatím tyto geny zkoumány minimálně a změny jejich metylačního stavu byly popsány pouze dvě a to delece maternální alely a snížená metylace genu KCNQ1OT1. Obě tyto změny mají stejný následek a to snížení exprese genu CDKN1C. Naším cílem bylo zjistit, zda se u PPGL nevyskytují i jiné změny této oblasti a zda všechny změny mají stejný důsledek.

Materiál a metody: Vyšetřovaným materiálem byla DNA vyizolovaná ze zamražené nádorové tkáně pacientů s diagnostikovaným PPGL. Zvolenou metodou byla metylační MLPA probemix ME030. Vybranou skupinu vzorků jsme vyšetřili pomocí ddPCR.

Výsledky: Prozatím máme pomocí metody MLPA zanalyzováno 104 vzorků a našli jsme 7 různých změn ve sledované oblasti, z nichž nejčastější je delece maternální alely sledované oblasti (31/104). Nejzajímavější a u PPGL dosud nepublikovanou změnou je paternální uniparentální disomie (pUPD), kterou jsme prokázali v 5 případech. Dalšími nalezenými změnami jsou gain paternální alely (2/104), gain maternální alely (1/104), delece oblasti 11p bez změny metylace (3/104), gain 11p bez změny metylace (1/104) a delece genů KCQN1, CDKN1C s hypometylací v oblasti KCQN1 (1/104).

U vybrané skupiny 37 vzorků jsme stanovili expresi genů IGF2 a CDKN1C pomocí ddPCR. – Expresi genu IGF2, která by měla být ovlivňována změnou metylace genu H19, byla zvýšena u vyšetřovaného vzorku s pUPD. Změny u ostatních skupin ještě analyzujeme.

Závěr: Ve vyšetřovaném souboru jsme našli 7 různých typů změn sledované oblasti 11p15. Pilotní data z ddPCR naznačují, že tyto změny ovlivňují expresi genů IGF2 a CDKN1C. Expresi těchto genů plánujeme vyšetřit pomocí qRT-PCR.

Basal Ganglia Post Status Epilepticus Degenerative Changes

Al-Redouan A. (1), Salaj M. (1), Kubova H (2), and Druga R. (1, 2)

1 – Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha, 2 – Department of developmental Epileptology, Institute of Physiology, The Czech Academy of Sciences, Prague

Supervisor: Rastislav Druga

Introduction: Experimental studies indicate that Status epilepticus (SE) caused neurodegenerative changes in the hippocampus, limbic structures (amygdala, parahippocampal cortices, piriform cortex, claustrum), thalamus and neocortical areas. However, basal ganglia (BG) were rarely mentioned. Several clinical studies have reported brain abnormalities (atrophy, metabolic changes) in structures remote from the seizure focus as well as in BG.

Aims: To obtain new data on the extent of neuronal degeneration in Dorsal striatum (DS) during development after SE.

Materials and Methods: Lithium pilocarpine model of SE: Wistar pups 18 days old. 3mmol/kg, i.p. LiCl were injected 24 h before 40 mg/kg, i.p. pilocarpine. 2 h post SE, motor seizures were suppressed with 0.3-0.6 ml/kg i.p. paraldehyde. Survival intervals: 4, 8, 12, 24, 48 h, 1 week post SE. 3-4 rats per age and interval group.

Anaesthesia: 2.5 g/kg, i.p. urethane and perfused with PBS followed by 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4. Brains were sectioned into 50 µm. FJB-labeled degenerated neurons were plotted to standard stereotaxic sections.

Animal care and experimental procedures were conducted in accordance with the guidelines of the European Community Council directives 86/609 EEC.

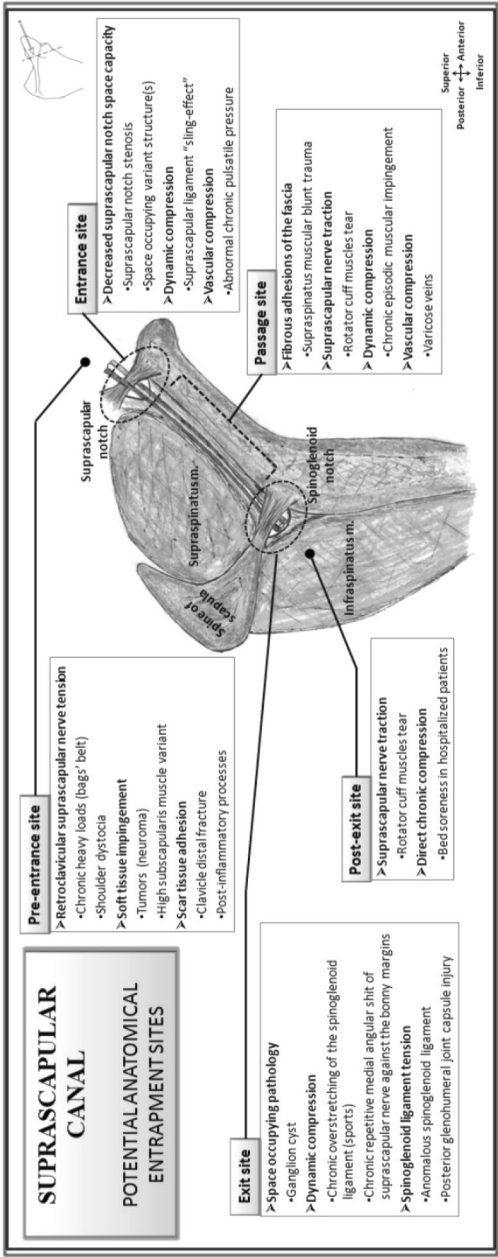
Results: Degeneration of striatal neurons was consistently observed In the 18 days old developing rats. Severity of damage reached a peak at 24 and 48 h post SE. At intervals up to 24 h post SE, FJB-positive neurons exhibited intense staining of the cell body. At longer survival intervals (48 h, 1 week) some of positive neurons were shrunken and less intensely stained and surrounded by background of disintegrated fibers.

Conclusions: Neuronal degeneration within the DS could be explained by the hyperactivity in aferent systems.

Degenerating neurons in the rostral half of the DS overlap with amygdalostratial projections and projections from orbital area, MI area, premotor area, and prefrontal area. In the caudal half of the DS overlap with corticostriatal projections from parietal cortex and visual associated area projections was evident.

SE induced hyperactivity of corticostriatal and amygdalostratial glutamatergic projection together with postnatal development of striatal synapses may result in excessive glutamate release and in development of excitotoxic damage of striatal neurons.

Figure:



ÚLOHA METABOLITŮ KYSELINY ARACHIDONOVÉ V REGULACI KREVNIHO TLAKU U EXPERIMENTÁLNÍCH MODELŮ ANG II-DEPENDENTNÍ FORMY HYPERTENZE

Přispívá nedostatek EETs nebo 20-HETEs k vysokému tlaku potkanů?

Jíchová Š. (1, 2), Kopkan L. (2), Husková Z. (2), Červenka L. (1, 2)

1 – 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, 2 – Oddělení kardio-renálního výzkumu, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Školitel: Luděk Červenka

Úvod: Metabolickou dráhou cytochromů P-450 vznikají z kyseliny arachidonové dvě hlavní skupiny produktů: epoxyeikosatrienové kyseliny (EETs) a 19 a 20-hydroxyeikosatetraenové kyseliny (19 – a 20 – HETE). Tyto metabolity hrají důležitou roli v regulaci krevního tlaku, zánětlivých reakcích organismu, regulaci vylučování sodíku a dalších důležitých fyziologických procesech. Naše studie byly založeny na hypotéze, že abnormality v produkci a zároveň funkci těchto metabolitů vznikající cestou cytochromu P450, významným způsobem přispívají k patofyziologii angiotenzin II-dependentní formy hypertenze.

Cíl: Zjistit, zda zvýšením koncentrací těchto metabolitů v ledvinné tkáni dosáhneme příznivého účinku výši krevního tlaku u ANG II – dependentního potkaního modelu hypertenze.

Materiál a metody: navýšení koncentrace EETs jsme zvolili dvojí přístup. V první části experimentu jsme podávali inhibitor solubilní epoxidové hydrolázy cAUCB (cis-4-[4-(3-adamantan-1-yl)-ureido)cyclohexyloxy]benzoová kyselina, 26 mg.l⁻¹ v pitné vodě), enzymu zodpovědného za inaktivaci biologicky aktivních forem EETs. V druhé části experimentu jsme použili syntetický EETs analog EET-A (sodium 2-(Z-(13-(3-pentyl)ureido)-tridec-8-enamido) malonát) v dávce 10 mg.kg⁻¹ v pitné vodě. Pro zvýšení renální koncentrace 20-HETE jsme použili fenofibrát (Lipanthyl 265M) v dávce 3,2 g.kg⁻¹ diety.

Výsledky: Léčba sEH i analogem EET-A zmírnila rozvoj maligní hypertenze u našich potkaních modelů, nicméně zřejmě hlavně díky oslabení vazokonstrikční osy RAAS a aktivaci té vazodilatační. Léčba fenofibrátem také skutečně významně oslabovala rozvoj maligní hypertenze, nicméně jsme u těchto zvířat nenaměřili zvýšenou koncentraci 20-HETE, ačkoliv jsme u nich v souladu s literaturou pozorovali aktivaci CYP4A enzymu (zodpovědný za tvorbu 20-HETE u potkanů). Zdá se, že hlavní mechanismus snížení krevního tlaku byl v této části především spojen s interakcí fenofibrátu přímo s genem pro renin Ren2, čímž byla utlumena prohypertenzní osa RAAS.

Závěr: Potvrdili jsme naši hypotézu, že intrarenální nedostatek EETs významně přispívá k patofyziologii angiotenzin II-dependentní formy hypertenze u našich potkaních modelů.

Vzácný nádor, který ani nezabíjí

Mišove A. (1), Krsková L. (2), Sumerauer D. (1), Zámečník J. (2), Váňová K. (1), Starý J. (1), Perníková I. (3), Vícha A. (1), Libý P. (4), Tichý M. (4), Táborský J. (4), Kynčl M. (5), Zápotocký M. (1)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, 2 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, 3 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, 4 – Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol, 5 – Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Michal Zápotocký

Úvod: Nádory míchy jsou v dětském věku extrémně vzácné, představují 0,5–1 % tumorů lokalizovaných v centrálním nervovém systému. Histologicky se jedná o různorodou skupinu s převahou gliálních nádorů (95 %). Intramedulární gliomy nízkého stupně malignity (spinal low-grade gliomy – sLGGs) jsou vzácnou entitou s chudým porozuměním. Tyto nádory jsou zřídka smrtelné, ale jejich terapie je svízelná a velmi často zásadně snižují kvalitu života pacienta.

Cíl: Molekulárně a geneticky charakterizovat sLGGs v koleraci s klinickou anotací pacientů.

Materiál a metody: Provedli jsme jednoinstitucionální retrospektivní analýzu pacientů léčených pro sLGGs na Klinice dětské hematologie a onkologie FN Motol od roku 2000 do současnosti. Jako screeningová metoda pro záchyt genetických alterací v cílových genech byla použita metoda MLPA (Multiplex Ligation Probe Amplification), pomocí RT-PCR byly vyšetřovány již známé typy fúze genů KIAA-BRAF, pomocí Sangerova sekvencování bodové mutace v genech BRAF, H3F3A, HIST1H3B, FGFR1. U 15 vzorků bylo doplněno RNA-sekvencování (FusionPlex Archer Diagnostics).

Výsledky: V letech 2000–2019 bylo diagnostikováno 24 pacientů s sLGGs (medián věku 6,7 let, rozmezí 1,1–17,5 let), což představuje přibližně 5 % pacientů léčených pro LGG. U 90 % pacientů se podařilo prokázat alteraci v MAPK dráze, konkrétně onkogenní fúze genu BRAF. U 17 pacientů byly identifikovány vzácné a nové varianty KIAA1549-BRAF fúze a noví fúzní partneři genu BRAF. U dvou pacientů s mnohočetnými progresemi onemocnění byla pomocí RNA sekvenování odhalena fúze genu NTRK2, která je cílem vysoké priority pro biologickou léčbu. Jeden pacient při progresi nádorového onemocnění zahájil terapii NTRK-inhibitorem s příznivou odpovědí dokumentovanou na zobrazovacích metodách již 2 měsíce po zahájení terapie. Tři pacienti na komplikace způsobené nádorovým onemocněním zemřeli. U 2 pacientů jsme nebyli pro sublimitní kvalitu odebraného materiálu molekulárně-geneticky jejich nádorové onemocnění charakterizovat.

Závěr: Naše výsledky poukazují, že moderní metody molekulární biologie u pacientů léčených pro tumor míchy v dětském věku přináší informace cenné k určení diagnózy a rozšiřují terapeutické možnosti. Fúzní varianty genu BRAF raritně nebo vůbec nezachycené u intrakraniálních LGG jsou v oblasti míchy dominující. Fúze genu BRAF a NTRK představují terapeutický cíl pro biologickou léčbu a dávají pacientům naději pro lepší kontrolu onemocnění.

Proč mají někteří diabetici nemocné srdce a cévy?

Pátek O., Piňha J., Horáčková M.

Interní klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Miroslava Horáčková

Úvod: Diabetes mellitus 1. typu může být asociován s rozvojem kardiovaskulárního a renálního poškození. Je experimentálně i klinicky doloženo, že současné poškození kardiovaskulárního systému a ledvin je amplifikováno kardio-renální interakcí. Tato interakce byla studována především u diabetiků 2. typu v pozdních fázích srdečního, vaskulárního a ledvinového onemocnění. Analýza časných fází kardiorenální interakce u diabetiků 2. typu byla předmětem naší předchozí studie, ve které jsme echokardiograficky dokumentovali poruchu relaxace levé komory srdeční (E') u 56% asymptomatických pacientů. Parametr E' závisel na kompenzaci diabetes mellitus, lipidového metabolismu a krevního tlaku.

Cíl: Analyzovat vztah mezi diastolickou funkcí levé komory srdeční a renálními funkcemi podrobným nefrologickým vyšetřením a analýzou tubulárních funkcí. Posouzení vlivu metabolických parametrů, hypertenze na diastolickou funkci levé komory srdeční, renální funkce a časné vaskulární změny.

Materiál a metody: Do studie jsou řazeni pacienti s diabetes mellitus 1. typu sledovaní v diabetologickém centru Interní kliniky FN Motol. Pacienti podepsali IS, výzkum je schválený Etickou komisí FN Motol (EK-1484/16). Vylučovacím kritériem je zjevné onemocnění srdce a cév, jakož i významná porucha glomerulární filtrace (GFR pod 1 ml/s/1,73 m²).

U pacientů provádíme biochemická vyšetření, echokardiografické vyšetření, sonografické vyšetření distensibility a průtokových parametrů (rychlosti průtoků, pulzatilní a rezistenční index) karotických tepen, vyšetření Oliva-Roztočil indexu a ABPM.

Výsledky: V současné době je vyšetřeno 28 pacientů (průměrný věk=39,71 roků, 53,5% žen, průměrná doba trvání diabetu=19,78 roků), probíhá nábor dalších. V této skupině byla nalezena silná pozitivní korelace mezi E' a délkou trvání diabetu ($r=0,5931$). Glomerulární filtrace silně negativně korelovala s Belcaro skóre ($r=-0,681$) a silně pozitivně korelovala s vrcholovou systolickou rychlostí naměřenou v karotických tepnách ($r=-0,633$). Při mnohotné regresní analýze a vložení dalších sledovaných parametrů včetně věku, však tyto korelace nebyly statisticky významné.

Závěr: Z dosavadních výsledků u menší skupiny pacientů byla patrná statisticky významná, ale nikoli nezávislá, korelace mezi diastolickou dysfunkcí LK a dobou diabetu a mezi renálními funkcemi a morfologickými a průtokovými parametry v karotických tepnách. Časná stádia kardiorenální interakce a subklinické změny cévní stěny budou dále analyzovány ve větší skupině pacientů.

Třetí rozměr v klinické genetice a hraniční porucha osobnosti

Turnovec M., Moslerová V., Schwarz M., Zelinová M., Havlovicová M., Macek M. jr.

Ustav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Milan Macek jr.

Úvod: V rámci klinicko-genetické diagnostiky byl vždy důležitý přesný popis fenotypu probanda. Takový popis je zatížen i určitou mírou subjektivity, která souvisí například s mírou zkušeností vyšetřujícího genetika. V době narůstajícího využívání metod sekvenování nové generace (NGS), včetně celoxomového či celogenomového sekvenování, je přesný popis fenotypu pacienta čím dál tím důležitější pro následnou bioinformatickou analýzu a hodnocení nalezených variant.

Cíl: Cílem naší práce je objektivizace a zpřesňování popisu faciálního fenotypu pacientů. Přesný popis morfologie obličeje je nezbytný nejen u jedinců se zřetelnými dysmorfickými rysy, ale i u pacientů s orgánovými vadami či poruchami psychomotorického vývoje bez na první pohled patrné faciální či somatické dysmorfie. Dalším důležitým úkolem je standardizace takovýchto popisů a možnost jejich dalšího strojového zpracování.

Materiál a metody: Pro zpřesnění popisu fenotypu využíváme standardizovanou Human Phenotype Ontology (HPO), která je v současné době překládána i do češtiny. Naše pracoviště je vybaveno přístrojem pro 3D skenování obličejů (3dMD Face System). Pomocí speciálních programů (Morphome3cs, Cliniface) je možné na 3D modelech provádět přesná měření (rozměry, objem) a geometricko-morfometrické analýzy. Dalším cílem je zavedení a další vývoj nástrojů pro automatické generování HPO termínů z 3D modelů obličeje (software Cliniface).

Výsledky: Od roku 2015 jsme pořídili 3D model obličeje u více než 5 tisíc jedinců, z větší části se jedná o pacienty naší genetické ambulance, v některých případech jsou skenování i jejich zdraví rodinní příslušníci. U některých pacientů je skenování prováděno opakovaně. Tento semilongitudinální přístup nám umožňuje hodnotit změny morfologie obličeje v průběhu času. Pomocí specializovaných programů je možné vytváření „průměrných“ obličejů pro určitou věkovou kategorii či pro konkrétní syndrom a porovnání pacienta s takovýmto průměrem. Je také možné hodnotit a vizualizovat případnou asymetrii obličeje, která je pro některé syndromy typická. Pro NGS analýzy bylo zatím popsáno pomocí HPO termínů téměř 150 pacientů.

Závěr: Popis fenotypu pomocí HPO umožňuje strojové zpracování těchto dat a jejich využití při bioinformatické analýze výsledků získaných pomocí NGS. Pomocí moderních technologií, jako je například 3D skenování, je možné popis fenotypu objektivizovat a do budoucna tyto postupy i částečně automatizovat.

Podpora projektu: Institucionální podpora FNM 00064203 a projekt NF-CZ-11-PDP-3-003-2014.

P—62 / pregraduate student

ONCE-DAILY REGIMENS VS. TWICE-DAILY REGIMENS OF
LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN IN HIGH BLEEDING RISK
PATIENTS AND NON-HIGH BLEEDING RISK PATIENTS

Different regimens of LMWH in different bleeding risk patients

Kum D. (student of 6th year of medicine), MUDr. Durila M., MUDr. Berousek J.

Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Second Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic.

Supervisor: Miroslav Durila

Introduction: In general, heparins are used as prophylaxis for developing thromboembolism in ICU (intensive care unit patients). For patients with venous thrombosis, the greatest risk of embolization is during the first few days following the diagnosis, particularly if patients are not anticoagulated. Thus, anticoagulant therapy should be started immediately as a delay may increase the risk of life-threatening embolization. The timing, duration, and dose of initial anticoagulation vary with the agent selected. Low molecular weight heparin (LMWH, e.g. Enoxaparin) is used in our ICU. We used 2 different regimens in 2 different patients. Once-daily regimens in high bleeding risk patients and twice-daily regimens in non-high bleeding risk patients.

Aims: To assess the effectiveness of 2 regimens – Once-daily regimens vs. Twice-daily regimens in 2 different groups – high risk and low risk patients.

Materials and Methods: We evaluated the patients who stayed in ICU for more than 3 days (total N=22). We divide the patients into 2 groups; once-daily regimens (40mg s.c.) in high bleeding risk patients such as brain trauma, stroke, or cranial bleeding and twice-daily regimens (40mg s.c. x 2) in non-high bleeding risk patients such as various types of infections or sepsis. We used ultrasound to prove whether there was any developing thromboembolism in femoral, subclavian, and jugular veins in all studied patients. We compared 2 groups mainly by the presence of thromboembolism, anti-Xa, d-dimer, anti-thrombin level, and other parameters.

Results: We did not find any developing thrombosis in the once-daily regimens group (N=8). However, on the other hand, we found 2 developing thrombosis patients in twice-daily regimens group (N=14).

There were no significant difference in anti-Xa (p-value = 0.2437), d-dimer (p-value = 0.8185), and anti-thrombin (p-value = 0.0758).

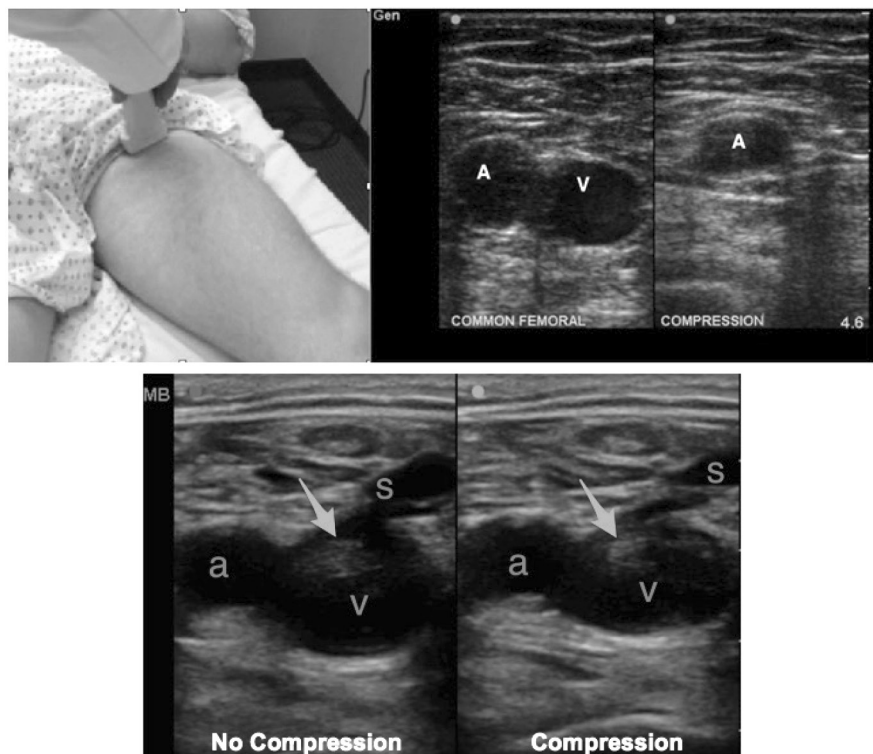
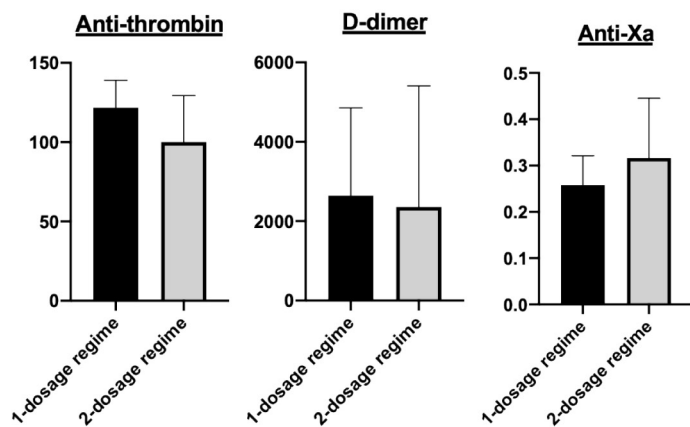
Conclusions: Once-daily regimens of LMWH were sufficient in high bleeding risk patients to prevent thrombosis. However, twice-daily regimens in non-high risk bleeding patient were not sufficient in some patients, since we found 2 patients with ultrasound-proven thrombosis. These patients maybe need to aim for higher anti-Xa levels up to the so-called "gray zone (0.4-0.6)" to decrease the risk of developing thrombosis. Whether the usage of once-daily regimens of LMWH in these patients may be also sufficient to prevent thrombosis requires future study.

References: <http://aliemcards.com/cards/dvt-ultrasound/>

Venous thromboembolism: Initiation of anticoagulation (first 10 days).

In: UpToDate

Figure:



Kolik je u nás pacientů s PCD?

Martinů V. (1), Dvořáková P. (2), Varényiová Ž. (1), Kadlecová S. (2), Bořek-Dohalská L. (1), Uhlík J. (2), Pohunek P. (1)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Ústav histologie a embryologie 2. LF UK, Praha

Školitel: Petr Pohunek

Úvod: Primární ciliární dyskineze (PCD) je vzácné, geneticky podmíněné onemocnění. Podkladem je dysfunkce ciliárního aparátu buňky. Hlavní symptomatologií je respirační nemocnost při porušené mukociliární clearance. V současnosti je známo 50 genů, jejichž mutace mohou být asociovány s PCD. Naše pracoviště je jediným komplexním centrem pro PCD v ČR. Velkým problémem je poddiagnostikovanost a vysoký průměrný věk při stanovení diagnózy vedoucí k nevratnému poškození plic.

Cíl: Plánujeme vytvoření národního registru pacientů s PCD a jeho propojení s mezinárodními registry s cílem zmapování výskytu nemoci. Cílem je vytvoření informační kampaně zaměřené na zvýšení zachytu nemocných. Lepší informovanost veřejnosti by měla vést ke zlepšení prognózy díky nižšímu věku při stanovení diagnózy.

Materiál a metody: V posledních letech se snažíme rozšířit povědomí o PCD mezi odbornou i laickou veřejností. Proběhlo více než 15 přednášek v rámci kongresů, rozhovory v médiích (periodika, rozhlas), v plánu je tisková konference. Zlepšujeme spolupráci s dalšími specialisty, kterým pomáháme odhalovat nové pacienty pomocí cílených dotazníků. Součástí kampaně jsou webové stránky www.rasinky.cz. Nové pacienty podrobuje komplexní diagnostice a zařazujeme do registrů. Sledujeme vývoj jejich klinických příznaků.

Výsledky: V roce 2019 bylo nově diagnostikováno 13 pacientů (5 dospělých), v předchozích 6 letech byl tento počet výrazně nižší (1 – 6 pacientů). V lednu 2020 byli nově diagnostikováni 2 dospělí pacienti, u dalších vyšetření probíhá. Tento výrazný nárůst je jednoznačně důsledkem naší kampaně, kvalitní diagnostiky a komplexního přístupu k celé problematice. Pozitivní zpětnou vazbu jsme zaznamenali i od dospělých pneumologů, vzrostl počet starších pacientů, jejichž správná diagnóza byla doposud opomenuta. V současné době máme 81 pacientů s potvrzenou diagnózou, z toho 68 vedených v registrech (31 žen, 37 mužů). Průměrný věk při diagnóze je t. č. v ČR 12 let (u dětí 6 let, u dospělých 20 let). Díky zlepšování diagnostiky a informovanosti očekáváme další nárůst počtu nových případů.

Závěr: Jednoznačně se ukazuje, že systematickým a cíleným přístupem k problematice je možné zlepšit zachyt nemoci a vyjasnit řadu okolností. Správná a včasná diagnóza je u PCD zásadní pro správnou léčbu a dobrou prognózu. Do budoucna je zapotřebí další zpřesňování diagnostiky včetně možností genetického testování. Komplexní přístup k PCD může být modelovou situací pro další vzácná a poddiagnostikovaná onemocnění.

Podpora projektu: AZV grant NV19-07-00210; GAUK 670119

Jak na kloaku — nový pohled na diagnostické zobrazení

Holubová Z. (1), Maslava D. (1), Kynčl M. (1), Škába R. (2), Poš L. (2)

1 – Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, 2 – Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Martin Kynčl

Úvod: Kloakální malformace (KM) spadají do skupiny vrozených vývojových vad (VUV) urogenitálního a trávicího traktu – anorektálních malformací (ARM). Postihují pouze dívky a jsou jednou z nejvzácnějších podskupin ARM. Nejčastějším typem je klasická kloaka, kdy se všechna tři ústrojí sbíhají do jednoho společného kanálu, který je vyveden jedním otvorem na hráz. Velmi často se také vyskytují přidružené anomálie jiných orgánových soustav, které mají zásadní vliv na výsledný funkční outcome pacientky. Správná a detailní diagnostika umožňuje plánování celkového managementu a vhodného operačního řešení dané vady. U části patientek lze KM diagnostikovat již na prenatálním vyšetření; vzniká tak možnost časného rodičovského poradenství.

Cíl: Vyhodnotit a vzájemně porovnat nálezy v magnetické rezonanci (MR) při prenatálním a postnatálním zobrazení u patientek s KM. Zjistit přesnost a výtěžnost prenatálních MR vyšetření. V druhé době porovnat postnatální MR vyšetření s operačním nálezem patientek.

Materiál a metody: Z 20 patientek operovaných ve FN Motol pro kloakální malformaci v letech 2007–2019 byly do souboru zahrnuty 4 pacientky s dostupným pre – i postnatálním MR zobrazením. Dále byla zařazena i pacientka, která doposud nepodstoupila rekonstrukční operaci, avšak endoskopický nález umožňuje porovnání zvolených parametrů.

Parametry hodnocené na MR vyšetření: typ kloaky, délka kloakálního kanálu (KK), hydrokolpos, VVV vnitřního genitálu, močového systému a míchy, malformace páteře a presakrální masa. V druhé době bylo u operačního nálezu a postnatálního MR vyšetření hodnoceno: typ kloaky a délka KK.

Výsledky: Při srovnání pre – a postnatálního MR byla vzájemná shoda v typu kloaky 20%, v délce KK 0% a v 80% u VVV močového systému a míchy. V jednom případě prenatálního MR zobrazení nebylo možné vyloučit přítomnost presakrální masy. Ostatní hodnocené parametry vykazaly 100% shodu.

Přesnost hodnocení typu kloaky mezi postnatálním MR vyšetřením a operačním nálezem byla 100%. Nepřesnosti vznikly jen při hodnocení délky KK, kdy 3/5 případů byly na MR nadhodnoceny, jeden podhodnocen (rozdíl 2–9 mm).

Závěr: Prenatální MR hraje důležitou roli v časném stanovení diagnózy a rovněž v prenatálním poradenství, není však srovnatelná s postnatálním MR v přesném hodnocení typu KM a délky KK v rámci předoperačního plánování. V ostatních hodnocených parametrech je s postnatálním zobrazením téměř srovnatelná. Postnatální MR má výraznou shodu s operačním nálezem, a proto by mělo být zavazato do úvahy chirurga v předoperačním plánování.

DIFFERENT BEHAVIOR OF ADIPOSE TISSUE-DERIVED STEM CELLS AND VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS ON MODIFIED POLY (L-LACTIC ACID) FOILS

Is poly(L-lactic acid) suitable for artificial blood vessels?

Trávnicková M. (1, 2), Slepíčková Kasálková N. (3), Sedlář A. (1), Molitor M. (4), Musílková J. (1), Slepíčka P. (3), Švorčík V. (3) and Bačáková L. (1)

1 – Department of Biomaterials and Tissue Engineering, Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic; 2 – Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 3 – Department of Solid State Engineering, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic; 4 – Department of Plastic Surgery, Bulovka Hospital, Prague, Czech Republic

Supervisor: Lucie Bačáková

Introduction: Poly (L-lactic acid) (PLLA) is one of the widely studied polymeric biomaterial due to its biocompatibility, biodegradability, and suitable biomechanical properties. Nevertheless, the relatively high hydrophobicity of pristine PLLA can impair cell-material interactions (e.g., cell adhesion and later growth). Current tissue engineering emphasizes various PLLA modifications to ameliorate later cell growth and differentiation. Vascular smooth muscle cells (VSMCs) are the major cell component of vascular tunica media. The use of adipose tissue-derived stem cells (ADSCs) in vascular tissue engineering seems to be promising because they can be quite easily differentiated towards VSMCs depending on specific in vitro culture conditions.

Aims: The aims of our study were to study the adhesion, growth and differentiation of ADSCs and VSMCs on variably modified PLLA foils that can be later used in vascular tissue engineering.

Materials and Methods: Biopolymer PLLA foils were variably modified by plasma treatment, by grafting with polyethylene glycol (PEG), or by grafting with dextran (Dex). Pristine PLLA and tissue culture polystyrene (PS) were used as controls. The growth and differentiation of ADSCs and VSMCs on modified materials were studied in 2 different culture media (i.e., non-differentiation medium and differentiation medium). A resazurin conversion assay was used to detect a metabolic activity of the cells. Immunofluorescence staining was used to detect markers of differentiation towards VSMCs.

Results: The ADSCs performed similar metabolic activity on all samples when they were cultured in the non-differentiation medium. However, when the differentiation medium was added, the highest metabolic activity of ADSCs was observed on plasma-treated PLLA and on PS control. Moreover, the differentiation medium supported the differentiation of ADSCs towards VSMCs on all tested samples. The VSMCs performed the worst adhesion and growth on pristine PLLA. However, the presence of differentiation markers was observed on all tested samples.

Conclusions: Our study showed the suitable biocompatibility of pristine and mainly of modified PLLA foils in a three-week cell culture. The tested foils seem to be favorable for vascular tissue engineering.

Support: This work was supported by the Grant Agency of Charles University (GAUK, project No. 642217) and by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic within LQ1604 National Sustainability Program II (BIOCEV-FAR Project).

You're on the Clock

Grebenyuk V. (1, 2), Stejskal F. (1, 2, 3, 4), Richterová L. (5), Roháčová H. (2), Trojánek M. (1, 2, 6)

1 – Klinika infekčních nemocí 2. LF UK, 2 – Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí Nemocnice Na Bulovce, 3 – Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK, 4 – Infekční oddělení, Krajská nemocnice Liberec, 5 – Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Na Bulovce, 6 – Katedra infekčního lékařství IPVZ

Školitel: Milan Trojánek

Úvod: Tropická malárie představuje závažnou až život ohrožující importovanou nákazu. V souvislosti s nárůstem turistických i pracovních výjezdů do endemických oblastí je i v ČR zaznamenáván významný vzestup počtu diagnostikovaných případů.

Cíl: Zhodnotit epidemiologické, klinické a laboratorní charakteristiky tropické malárie u českých cestovatelů a určit rizikové faktory pro rozvoj maligní malárie.

Materiál a metody: Do retrospektivní studie byli zařazeni pacienti všech věkových skupin s malárií vyvolanou *Plasmodium falciparum* ošetření na Klinice infekčních, tropických a parazitárních nemocí Nemocnice Na Bulovce v období od ledna 2006 do února 2020. Maligní malárie byla definována vstupní parazitémií $>10\%$ či přítomností specifických orgánových komplikací dle kritérií WHO z roku 2015. Spojité proměnné jsou prezentovány jako medián s interkvartilovým rozpětím a k jejich srovnání byl užit Mann-Whitneyův test. K porovnání nespojitých proměnných byl užit chí-kvadrát nebo Fisherův exaktní test.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno celkem 120 pacientů s nekomplikovanou a 30 pacientů s maligní malárií. V obou skupinách byli dominantně zastoupeni muži (poměr vůči ženám 3,62 : 1, resp. 3,29 : 1; $p=NS$). Věkový medián pacientů s maligní malárií činil 44 let (IQR 36-58), cestovatelé s nekomplikovanou malárií byli mladší (medián 37 let, IQR 29-50; $p = 0,011$). Doba od začátku onemocnění do zahájení antimalarické terapie byla 2 dny (IQR 1-3) u pacientů s nekomplikovanou malárií a 4 dny (IQR 3-6) u pacientů s maligní malárií ($p < 0,001$). Pacienti s maligní malárií později vyhledali lékařskou péči [3 dny (IQR 2-5) vs. 2 dny (IQR 1-3), $p=0,008$], avšak zároveň u nich byla zaznamenána signifikantně delší doba od prvního vyšetření do zahájení antimalarické léčby ($p < 0,001$). Výskyt chronických komorbidit se mezi jednotlivými skupinami nelišil. Celkem u 15 pacientů (50,0%) s maligní malárií došlo k rozvoji ALI/ARDS, u 13 (43,3%) se rozvinul šokový stav, 12 (40,0%) prodělalo cerebrální malárii a 9 (30,0%) vyžadovalo náhradu renálních funkcí. Smrtnost maligní malárie v našem souboru byla 10% (3/30).

Závěr: Počet importovaných případů malárie trvale narůstá, avšak onemocnění je i nadále značně podceňováno pacienty i lékaři. Věk cestovatele a časová prodleva do zahájení antimalarické léčby jsou hlavními rizikovými faktory pro rozvoj maligní malárie. Zkrácení doby potřebné k zahájení cílené léčby a zvýšení adherence cestovatelů k antimalarické chemoprophylaxi jsou hlavními předpoklady pro prevenci závažného průběhu.

Je možné neinvazivně detekovat urologické nádory z moče?

Dušková K. (1), Veselý Š. (1), Brisuda A. (1), Jarolím L. (1), Heger Z. (2), Schmidt M. (1), Babjuk M. (1)

1 – Urologická klinika UK 2. If a FNMotol, V Úvalu 84, Praha 5; 2 – Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita, Zemědělská 1, Brno

Školitel: Štěpán Veselý

Úvod: Navzdory relativně vysoké incidenci urologických nádorů není jejich diagnostika jednoduchá. Pro karcinom prostaty zůstává zlatým standardem prostatický specifický antigen, který postrádá dostatečnou specificitu. Pacienti s nádorem močového měchýře musí podstupovat invazivní endoskopická vyšetření. Nádory ledvin jsou obvykle odhaleny v počátečních stádiích pouhou náhodou. Optimální biomarker, který by dokázal neinvazivně diagnostikovat výše zmíněné malignity, zatím není k dispozici.

Cíl: Výzkum možnosti využití koncentrace aminokyselin v moči jako markerů karcinomu prostaty, močového měchýře a ledviny.

Materiál a metody: Byla provedena analýza hladin jednotlivých aminokyselin ve vzorcích kryoprezervované moče 30 pacientů s histologicky ověřeným karcinomem prostaty, 28 nemocných s diagnostikovaným tumorem močového měchýře a 16 pacientů s tumorem ledviny. Současně byly vyšetřeny vzorky moče skupiny 21 zdravých dobrovolníků starších 50 let bez onkologické anamnézy, kteří nejevili známky nádorového onemocnění. Koncentrace 18 aminokyselin v moči u 3 skupin pacientů byly srovnávány pomocí neparametrického Mann-Whitneyho testu s kontrolní skupinou.

Výsledky: Porovnáním hladin aminokyselin v moči u pacientů s tumorem prostaty a zdravých kontrol byl zjištěn signifikantní rozdíl ($p < 0,05$) v koncentraci 4 testovaných aminokyselin. U skupiny nemocných s tumorem močového měchýře byla z 18 testovaných aminokyselin nalezena signifikantní odlišnost u 6 aminokyselin v porovnání s kontrolní skupinou. Analýza vzorků moče pacientů s tumorem ledviny prokázala odlišné koncentrace v některých skupinách, nicméně pro nízký počet analyzovaných vzorků nelze tyto výsledky považovat za signifikantní.

Závěr: Výsledky našeho výzkumu potvrzují poznatky metabolomických studií. Sledování koncentrací jednotlivých aminokyselin v moči můžeme považovat za nadějný marker nejen karcinomu prostaty, ale i močového měchýře. Budoucí využití této metody musí být potvrzeno dalším výzkumem a zejména rozšířením souboru testovaných pacientů.

P—68 / pregraduate student

MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN A MURINE MODEL OF FOCAL CORTICAL DYSPLASIA

The future of pharmacoresistant epilepsy research

Prochazkova N. (1), Chvojka J. (1, 2, 3), Buran, P. (4), Heřmanovská, B. (2, 4, 5), Novak O. (1), Balastik M. (4), Otahal J. (2), Jiruska P. (1, 2)

1 – Department of Physiology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 2 – Department of Developmental Epileptology, Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic; 3 – Department of Circuit Theory, Faculty of Electrical Engineering, Czech Technical University, Prague, Czech Republic; 4 – Department of Molecular Neurobiology, Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic; 5 – Department of Paediatric Neurology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Supervisor: Přemysl Jiruška

Introduction: It is estimated that malformations of cortical development cause up to 40% of pharmacoresistant focal epilepsy and focal cortical dysplasia (FCD) is the most common origin. FCD is a highly epileptogenic lesion and approximately 50% of pediatric epilepsy surgery cases are due to FCD. The exact mechanisms involved in seizure emergence in FCD are poorly understood. To gain insight into the pathophysiological principles of FCD-related epilepsy requires a highly realistic murine model of FCD-related epilepsy.

Aims: The central objective of this study was the implementation of a murine model of FCD type IIb due to human mTOR mutation and the exploration of its morphological features.

Materials and Methods: FCD IIb-type lesion was induced by the process of in utero electroporation. Mouse embryos at E14 were injected with plasmid carrying human mTOR mutation p.Leu2427Pro and GFP, and electroporated by delivering five 35V 50ms pulses with 950ms interpulse periods. After birth, successful electroporation was verified with an epifluorescence lamp. Brains of adult mice were collected and slices were prepared to assess the morphology of the lesion using a confocal microscope. The cortical cytoarchitecture was determined in hematoxyline-eosin stained slices.

Results: Mice with induced FCD exhibited spontaneous epileptic seizures. FCD lesion displayed features reminiscent of FCD observed in human patients. The FCD was characterized by altered laminar cortical structure and aberrant radial migration of neurons. GFP positive neurons (i. e. neurons carrying the mTOR mutation) were also present in the white matter. The induced FCD lesion was characterized by the presence of neurons that displayed abnormal cellular morphology – dysmorphic neurons.

Conclusions: We have successfully induced FCD-related epilepsy in mice which had electrographic, behavioral and morphological features observed in human cases with FCD-related epilepsy. The availability of realistic model represents an essential prerequisite for future studies exploring the role of the mTOR signaling, dysmorphic neurons and altered neuronal connectivity in the pathogenesis of seizures and other electrographic phenomena associated with FCD.

Support: Supported by grants from the Ministry of Health of the Czech Republic (AZV CR 17-28427A) and Primus/19/med/003.

Může radiolog nahradit patologa?

Havlová K. (1), Chocholatý M. (1), Lisý J. (2), Veselý Š. (1), Babjuk M. (1)

1 – Urologická klinika 2. LF UK a FN Motol; 2 – Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Štěpán Veselý**Úvod:** Význam Diffusion-Weighted a Dynamic Contrast-Enhanced MRI u pacientů s karcinomem ledviny.**Cíl:** Naším cílem je prokázat význam Diffusion-Weighted a Dynamic Contrast-Enhanced MRI (DWI-DCE-MRI) zobrazení u pacientů s tumorem ledviny a jeho využití v předoperační predikci různého histologického typu renálního karcinomu.**Materiál a metody:** Od roku 2010 do roku 2014 jsme provedli DWI-DCE-MRI u 158 pacientů se známým tumorem ledviny. Všichni pacienti následně podstoupili radikální nefrektomii nebo resekci ledviny na našem pracovišti. Zobrazovací vyšetření byla provedena na magnetické rezonanci Avanto Siemens 1.5T. Měřili jsme aparentní difúzní koeficient (ADC) a také jsme aplikovali intravenózně gadolinium, zobrazení bylo dynamické v T1/VIBE sekvenci (volumetric interpolated breath hold examination). Změřili jsme signální intenzitu v nativní, arteriální, portálně-žilní a vylučovací fázi v tumoru a ve zdravém parenchymu. Získané výsledky jsme porovnali s histologickými nálezy a statisticky zhodnotili. Přesnost predikce histologické varianty renálního karcinomu spolu s gradem nádoru jsme vyjádřili pomocí hodnot AUC (plocha pod křivkou).**Výsledky:** U 114 pacientů byl výsledný histologický nálezn světlobuněčný karcinom, u 13 se jednalo o papilární renální karcinom, u 8 byl nalezen onkocytom a 4 pacienti měli uroteliální karcinom. Zjistili jsme signifikantní rozdíl ($p < 0.001$) mezi signální intenzitou u T1-arteriální fáze u onkocytomu ($379,8 \pm 54,1$) v porovnání s ostatními histologickými variantami – světlobuněčný karcinom ($274,4 \pm 94,1$), papilární renální karcinom ($204,5 \pm 54,1$) a uroteliální karcinom ($193,8 \pm 80$). Hodnoty AUC pro predikci onkocytomu a renálního karcinomu grade 3-4 pomocí T1-arteriální fáze byly 0,77 respektive 0,62. ADC získaný z DWI MRI předpovídal přítomnost vyššího gradu 3-4 s AUC 0,72.**Závěr:** Zdá se, že předoperační zobrazení DWI-DCE-MRI má potenciál v diagnostice histologického subtypu renálního karcinomu a jeho gradingu.

Poslední samuraj?

Dunovská K., Klapková E., Čepová J., Průša R.

Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Eva Klapková

Úvod: Cystická fibróza je závažné autosomálně recesivní onemocnění vedoucí k multiorgánové dysfunkci postihující zejména respirační systém, zažívací ústrojí, pankreas a játra. Nedostatečná funkce pankreatu se projevuje neprospíváním a řídkými stolicemi s nestráveným tukem, ale také nedostatkem vitaminů rozpustných v tucích (vitaminy A, D, E a K). Nedostatek vitaminu K1 může mít za následek poruchy hemokoagulace. Pacienti mají zvýšené riziko krvácení, vzniku modřin, vyšší krvácivosti z dásní nebo nosu, přítomnosti krve ve stolici a moči. V literatuře je popisována asociace insuficience vitaminu K2 s rizikem rozvoje diabetu mellitu 2. typu. Diabetes mellitus 2. typu patří mezi častá onemocnění, která postihují pacienty s cystickou fibrózou. Vitamin K dokáže redukovat sníženou rezistenci na inzulin, která provází právě diabetes mellitus 2. typu, a snižuje riziko výskytu tohoto onemocnění pomocí dostatečně karboxylovaného osteokalcinu.

Cíl: Cílem bylo stanovit hladiny vitaminu K1 a vitaminů K2 (2 formy menachinonů: MK-4, MK-7) u dětí z Centra cystické fibrózy v Motole a porovnat hladiny vitaminů K se zdravou populací.

Materiál a metody: Stanovení koncentrací vitaminů K v séru byla prováděna pomocí kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií za použití ionizace elektrosprejem v pozitivním módu na systému Agilent 1290 Triple Quad 6470. Separace jednotlivých vitaminů K probíhala na koloně s reverzní fází SB-C8 (1,8 µm, 2,1 × 100 mm) při teplotě 40 °C za použití gradientu mobilních fází (A – 50% metanol s 0,1% fluoridem amonným, B – 100% metanol s 0,1% fluoridem amonným). Jako vnitřní standardy byly použity deuterizované standardy pro jednotlivé formy vitaminu K. Pro přípravu vzorku byla použita extrakce na pevné fázi. Analýza vzorku trvala 9 minut.

Výsledky: Celkem bylo analyzováno 202 sérových vzorků od dětských pacientů z Centra cystické fibrózy. Pacienti s cystickou fibrózou, kteří neužívají Kanavit, vykazovaly hladiny vitaminu K1 nižší než u zdravé populace, zatímco pacienti s cystickou fibrózou při užívání Kanavitu vykazovaly hladiny vitaminu K1 staticky nevýznamně rozdílné od hladin vitaminu K1 u zdravé populace. Pacienti s cystickou fibrózou mají významně snížené hladiny forem vitaminu K2 oproti zdravé populaci.

Závěr: Tato studie ukazuje, že užívání Kanavitu má vliv na zvýšení hladiny vitaminu K1, ale žádný vliv na zvýšení hladin vitaminů MK-4 a MK-7. Suplementace vitaminem K2 u pacientů s cystickou fibrózou by mohla být přínosná.

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

14-3-3 PROTEIN MASKS THE NUCLEAR LOCALIZATION SEQUENCE AND BLOCKS THE DIMERIZATION INTERFACE OF CASPASE-2

14-3-3 regulates the activation of caspase-2

Kalabova D. (1), Filandr F. (2, 3), Alblova M. (1), Petrvalska O. (1, 4), Obsil T. (1, 4) and Obsilova V. (1)

1 – Division BIOCEV, Department of Structural Biology of Signaling Proteins, Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Vestec, 2 – Division BIOCEV, Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences, Vestec, 3 – Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague, 4 – Department of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague

Supervisor: Veronika Obšilová

Introduction: Apoptosis is crucial in the maintenance of cellular homeostasis and the removal of damaged cells. Members of the caspase family of proteases play essential roles in its initiation and execution. Incorrect regulation of caspases and subsequently an apoptosis underlies the pathogenesis of many human diseases including a cancer. Many existing therapies for cancer aim to overcome apoptosis evasion by targeting different caspase pathways. It can be done indirectly by small molecules that repress natural inhibitors of caspases already present in the cell or by strategies based on directly targeting caspases. For such approaches the detailed knowledge of caspase regulation is essential.

The initiator caspase-2 (C2) is activated through dimerization and autoproteolytic cleavage and inhibited through phosphorylation at Ser139 and Ser164, within the linker between the caspase recruitment and p19 domains of the zymogen, followed by association with the adaptor protein 14-3-3, which maintains C2 in its immature form procaspase (proC2).

Aims: Understanding how 14-3-3 interacts with and affect the structure and function of proC2.

Materials and Methods: Combination of following methods of integrative structural biology were used: hydrogen/deuterium mass spectrometry, protein crystallography, differential scanning fluorimetry, fluorescence polarization assay and analytical ultracentrifugation measurements.

Results: The mapping of the binding interface between proC2 and 14-3-3 protein shows that 14-3-3 protein binding masks both the nuclear localization sequence (NLS), bordered by phosphorylation sites Ser139 and Ser164, and the region of the p12 domain of proC2 through transient interactions in which the p19 and p12 domains of proC2 are not firmly docked onto the surface of 14-3-3 dimer. The 14-3-3 dimer interacts with proC2 not only through ligand-binding grooves but also through other regions outside the central channel, thus explaining the substantially higher binding affinity of 14-3-3 protein to proC2 than the 34-aminoacids long peptide spanning phosphorylated sites Ser139 and Ser164. The formation of the complex between 14-3-3 protein and proC2 does not induce any large conformational change in proC2.

Conclusions: 14-3-3 protein masked the region of p12 domain involved in C2 activation by dimerization. Therefore, 14-3-3 protein likely inhibits proC2 activation by blocking its dimerization surface. Also, 14-3-3 protein buries the NLS of proC2, which may play an additional role in regulation of C2 activation.

ENTERÁLNÍ VÝŽIVA JAKO RŮSTOVÉ MÉDIUM PRO KOMENZÁLNÍ BAKTERIE A JEJÍ VLIV NA JEJICH MNOŽSTVÍ VE STOLICI DĚTÍ S CROHNOVOU CHOROBOU

Enterální výživa jako růstové médium pro komenzální bakterie

Čopová I. (1), Hradský O. (1), Bronský J. (1), Nevorál J. (1); Modráčková N. (2), Bunešová V. (2), Vlková E. (2), Musilová Š. (2), Mrvíková I. (2)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2 – Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze

Školitel: Ondřej Hradský

Úvod: Současné studie naznačují souvislost mezi příjmem výhradní enterální výživy (EEN) a vyvoláním komplexních změn ve střevní mikrobiotě a klinickým zlepšením u pacientů s Crohnovou chorobou (CD).

Cíl: Prvním cílem této studie bylo otestovat schopnost různých komenzálních bakteriálních kmenů, jako jsou bifidobakterie, laktobacily a *Escherichia coli*, růst in vitro na třech různých polymerních enterálních výživách (ENs). Druhým cílem bylo stanovit počty kultivovatelných komenzálních bakterií ve fekální mikrobiotě u pacientů s CD před a po dokončení EEN.

Materiál a metody: První část této studie byla zaměřena na ověření schopnosti bakterií růst in vitro ve třech různých vzorcích ENs pomocí mikrotitrační destičky. Dále byly stanoveny počty těchto bakterií a celkové počty anaerobních bakterií ve fekálních vzorcích dětí s CD před a po 6 týdnech podávání EEN stravy pomocí kultivace na selektivním médiu.

Výsledky: Zkoušené preparáty ENs byly shledány vhodnými růstovými médii pro testované komenzály. V kontrolním médiu WSP rostly všechny testované kmeny ($n=19$) v počtu vyšším než 10×9 CFU/ml. Dále byly stanoveny a porovnány počty testovaných komenzálů ve vzorcích stolice 15 dětí s CD před (v týdnu 0) a v 6. týdnu EEN. Zkoumané vzorky stolice obsahovaly podobné množství bakterií v týdnu 0 a 6 a v žádné skupině nebyly identifikovány statisticky významné rozdíly. Počet bifidobakterií ve zkoumaných vzorcích stolice se pohyboval od $7,86 - 1,58 \log$ CFU/g před EEN do $7,49 - 1,76 \log$ CFU/g po 6 týdnech léčby EEN a byl přibližně o dva řády nižší než celkový počet anaerobních bakterií – od $9,22 - 0,86 \log$ CFU/g v týdnu 0 do $9,38 - 0,79 \log$ CFU/g v týdnu 6. Laktobacily byly také detekovány v obou skupinách vzorků stolice; jejich počet však dosáhl počtu téměř $4 \log$ CFU/g (od $3,79 - 1,70$ do $3,96 - 2,31 \log$ CFU/g). *E. coli* vykazovala lepší růstovou schopnost ve srovnání s laktobacily s počty od $6,42 - 2,07 \log$ CFU/g v týdnu 0 do $6,54 - 1,96 \log$ CFU/g v týdnu 6.

Závěr: Počty kultivovatelných komenzálních bakterií ve fekálních vzorcích dětí CD nebyly EEN významně ovlivněny. Testované bakterie však vykazovaly určité individuální změny v počtu před a po terapii EEN. Navíc bylo zjištěno, že kultivované bifidobakterie jsou u dětí s CD snižené. Proto by se mělo zvážit zařazení bifidogenních prebiotických složek do ENs u pacientů s CD.

Podpora projektu: Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze (grant č. 364617 a 246216); a dále Ministerstvem zdravotnictví České republiky (institucionální podpora – grant č. 00064203).

DECREASE OF COLLAGEN TYPE I DEPOSITION AND TISSUE-LIKE CONTRACTION IN CLUBFOOT-DERIVED CELLS BY MINOXIDIL ADMINISTRATION IN VITRO

Effect of minoxidil on clubfoot-derived cells

Doubkova M. (1, 2), Knitlova J. (1), Plencner M. (1), Vondrasek D. (1, 3), Eckhardt A. (1), Ostadal M. (4), Musilkova J. (1), Bacakova L. (1) and Novotny T. (2, 5)

1 – Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague, 2 – Charles University, Second Faculty of Medicine, Prague, 3 – Faculty of Physical Education and Sport, Charles University, Prague, 4 – Department of Orthopaedics, First Faculty of Medicine, Charles University and Na Bulovce Hospital, Prague, 5 – Masaryk Hospital, Usti nad Labem

Supervisor: Marta Vandrovcova

Introduction: Idiopathic clubfoot (PEC, talipes equinovarus) is the second most common congenital orthopaedic deformity of a lower limb. Stiff, contracted tissue is formed between the medial malleolus, sustenaculum tali and os naviculare, rotating the foot inwards and downwards. The mass of this tissue closely resemble other fibroproliferative disorders, showing signs of fibrosis, high amount of extracellular matrix proteins (collagen I, III, VI) and profibrotic cytokines (TGF β , PDGF). Current treatment consists of physiotherapy, cast fixations and Achilles tenotomy (the Ponseti). However, potential use of antifibrotic agents in treatment of relapsed PEC has received little attention.

Aims: Minoxidil (MXD) has an inhibitory effect on lysyl hydroxylase, which influence the quality of extracellular matrix crosslinking, and could therefore be used to reduce the stiffness and to improve the flexibility of the tissue. To assess its therapeutic potential in vitro, we established primary fibroblast-like cells from the tissue of relapsed patients (n=11).

Materials and Methods: Cell viability and proliferation were quantified by xCELLigence, MTS and LIVE/DEAD assays. The amount of collagen I deposited into the extracellular matrix was quantified using immunofluorescence with subsequent image segmentation analysis, hydroxyproline assay and Second Harmonic Generation imaging. Extracellular matrix contraction was studied in a 3D model of cell-populated collagen gel lattices.

Results: MXD concentrations of 0.25, 0.5 and 0.75 mM inhibited the cell proliferation in a concentration-dependent manner without causing a cytotoxic effect. Exposure to ≥ 0.5 mM MXD resulted in a decrease in collagen type I accumulation after 8 and 21 days in culture. Changes in collagen fiber assembly were observed after immunofluorescence staining and SHG signal imaging. MXD also inhibited the contraction of cell-populated collagen lattices (0.5 mM by 22%; 0.75 mM by 28%).

Conclusions: Minoxidil exerts an in vitro inhibitory effect on the cell proliferation, collagen accumulation and extracellular matrix contraction processes that are associated with fibrosis in PEC. This study provides important preliminary results demonstrating the potential relevance of minoxidil (or a substance with similar effects) for adjuvant pharmacological therapy in standard treatment of relapsed clubfoot, which could potentially decrease the contracture and facilitate the casting.

Support: Ministry of Health of the Czech Republic (AZV 17-31564A); Charles University, project GA UK No. 336218.

Lidská děloha — jedna velká arteriální kolaterála?

Křístek J. (1, 2), Kachlík D. (2), Froněk J. (1, 2, 3)

1 – Ústav anatomie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, 2 – Klinika transplantáční chirurgie, IKEM, Praha, 3 – 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Školitel: Jiří Froněk

Úvod: Transplantace lidské dělohy je experimentální metoda terapie absolutní nebo relativní absence lidské dělohy. Má za ambici stát se řešením pro ženy, které trpí tímto stavem a přejí si mít dítě a zároveň pro ně z různých důvodů není řešením adopce nebo surrogátní mateřství. Transplantace dělohy je technicky náročná metoda. Samotná transplantace trvá obvykle 5–7 hodin. Během této operace je nutné založit 2 tepenné anastomózy a 2–4 žilní anastomózy. Průsvit těchto cév je velice drobný a založení anastomóz tak drobných cév v malé pánvi velmi náročné. V případě existence arteriálních ipsilaterálních a kontralaterálních kolaterál, lze teoreticky dále uvažovat o možnosti založení pouze 1 tepenné a 1–2 žilních anastomóz během transplantace. Dostupná literární rešerše je skoupá na data o kolaterálách tepen lidské dělohy.

Cíl: Cílem této práce je zjistit, zda je existují kontralaterální a ipsilaterální tepenné kolaterály lidské dělohy.

Materiál a metody: Na preparátu nativní lidské dělohy, která byla odebrána zdravé altruistické dárkyni a která zároveň nebyla použita k transplantaci z důvodu velmi tenkých děložních a vaječnickových žil, byla tuší nastříknuta jedna arteria uterina. Bylo hodnoceno, zda tuš pronikla do celého parenchymu dělohy.

Výsledky: Tuš pronikla do všech kvadrantů dělohy a asi do 2/3 tloušťky myometria.

Závěr: Tato interim analýza prokázala, že jedinou děložní tepnou lze perfundovat téměř celou lidskou dělohu. Tento výsledek však nehovoří o funkční suficienci jedné děložní tepny pro úspěšné dokončení gestace.

ORGANOIDS AS A PERSONALIZED MEDICINE TOOL FOR ULTRA-RARE MUTATIONS IN CYSTIC FIBROSIS: THE CASE OF S955P

Personalized medicine in cystic fibrosis

Dousova T. (1), Silva I. (2), Ramalho S. (2), Centeio R. (2), Clarke L. (2), Valaskova I. (3), Holubova A. (4), Hwang TC. (5), Drevinek P. (6), Amaral MD. (2)

1 – Department of Pediatrics, UH Praha, 2 – Faculty of Sciences, University of Lisboa, Portugal, 3 – Department of Medical Genetics, UH Brno, 4 – Department of Biology and Medical Genetics, UH Praha, 5 – Dalton Cardiovascular Research Center, University of Missouri, USA, 6 – Department of Medical Microbiology, UH Praha

Supervisor: Pavel Drevinek

Introduction: More than 2,000 CFTR mutations have been described, which can be grouped according to their functional defect into 7 classes. For most of them, neither the associated disease liability nor the underlying basic defect are known. This knowledge is essential for disease prognosis and CFTR-based therapeutics, since functional defect -specific corrective therapies (CFTR modulators) have been already approved.

Aims: As a case study for personalized medicine we aimed to characterize novel ultra-rare mutation S955P (p.Ser955Pro), identified in Czech patient with F508del (p.Phe508del) on the other allele.

Materials and Methods: Rectal biopsies were analyzed in micro-Ussing chambers. Crypt isolation, organoid culturing and FIS assay were performed. Novel cell line (S955P -CFTR CFBE cells) was generated. CFTR protein was detected in organoids or cells line with anti-CFTR CFF antibodies. CFTR function was assessed in cell monolayers mounted in micro-Ussing chamber. Single-channel recordings by patch-clamp was carried out in S955P-CFTR CHO cells. Data are mean values $\pm$ SEM. Statistical analyses were performed on GraphPad Prism 7.0 using two-tailed paired student's t-tests, with $p \leq 0.05$ considered as significant.

Results: Western blot analysis of organoids and S955P-CFTR CFBE cells excluded defect in CFTR intracellular trafficking. Also, relatively high residual function of CFTR (~18% vs non-CF) was confirmed in rectal biopsies, CFBE cells and intestinal organoids. Normal channel conductance but decreased open-probability (50% vs wt-CFTR) was confirmed by single-channel study. These data are consistent with S955P being a class III mutation. The fact that in organoids S955P-CFTR appears at much lower levels than wt-CFTR suggests its instability, thus possibly also being a class VI mutation. Analysis of intestinal organoids using CFTR modulators showed that combination of VX-770/VX-809 or VX-770/VX-661 resulted in significant responses which is in the range of possible clinical benefit.

Conclusions: These data illustrate how complementary in vitro and ex vivo studies can contribute to understand the basic defect of ultra-rare CFTR mutations and to determine their responsiveness to CFTR modulator drugs for possible translation into clinical use.

Support: UID/MULTI/04046/2013 grant from FCT, Portugal; Orphan Mutations from CFF USA; Charles University GAUK No. 412217; Ministry of Health, Czech Republic – conceptual development of research organisation, Motol University Hospital, Prague, 00064203.

A PRE-VASCULARIZED SKIN CONSTRUCT MADE OF A COLLAGEN HYDROGEL STRENGTHENED BY FIBRIN-COATED NANOFIBROUS MEMBRANE

A Pre-Vascularized Skin Construct

Pajorova J. (1, 2), Zikmundova M. (1), Broz A. (1), Travnickova M. (1,2), Bacakova L. (1)

1 – Dept. of Biomaterials and Tissue Engineering, Institute of Physiology CAS, Prague, 2 – 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Supervisor: Lucie Bacakova

Introduction: The three-dimensional (3D) collagen hydrogels has been used for many years as a physiological environment for the cell cultivation. Despite of the excellent biocompatibility, the artificially created collagen hydrogels are not able to provide a sufficient mechanically resistant scaffold for embedded cells. The hydrogels are typically shrink by the cell traction forces.

Aims: In order to avoid the shrinkage, we stabilized a two-layer skin construct made of collagen hydrogel by fibrin-coated electrospun nanofibrous membrane. The skin construct was pre-vascularized by embedding of the human endothelial cells, which are naturally creating capillary network in physiological conditions. We were analyzed the stability of the collagen and the capillary formation.

Materials and Methods: Electrospun polylactid acid (PLLA) membranes were coated with fibrin mesh and pre-seeded either with human dermal fibroblasts (NHDF) or with adipose-derived stem cells (ADSC). After 3 days, collagen hydrogel was prepared either with embedded endothelial cells (HUVEC) or without any cells on the surface of the membrane with growing cells. The primary human keratinocytes (KERAT) were seeded on the top of collagen hydrogel after additional 2 days. The spreading, proliferation, migration and morphology of the cells were visualized by scanning electron microscopy (SEM) and by high-resolution confocal microscopy.

Results: We observed that the fibrin improved the adhesion and proliferation of NHDF and ADSC and moreover it enhanced their migration from membrane into the collagen hydrogel. The shrinkage of the collagen hydrogel caused by the traction forces of spreading cells were minimized by their gradual migration and collagen remodeling. The endothelial cells in combination with ADSC formed capillary-like network after 14 days. The keratinocytes created a monolayer of highly dividing basal cells, and a suprabasal layer.

Conclusions: The pre-vascularized full-thickness skin construct similar to natural skin seems to be a promising substitute of deep dermo-epidermal skin wounds. The collagen hydrogel strengthened by membrane provides sufficient mechanical properties for potential clinical applications.

Support: This study was supported by the Grant Agency of Charles University in Prague (grant 756218) and by the Grant Agency of the Czech Republic (grant 17-02448S).

Jak zachází dětští praktičtí lékaři s antibiotiky?

Kantor J. (1), Večerková B. (2), Šebková A. (3), Trojáněk M. (1, 4, 5)

1 – Klinika infekčních nemocí 2. LF UK, 2 – ACNielsen Czech Republic, 3 – Odborná společnost praktických dětských lékařů ČLS JEP, 4 – Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí Nemocnice Na Bulovce, 5 – Katedra infekčního lékařství IPVZ

Školitel: Milan Trojáněk

Úvod: Narůstající rezistence bakterií na antibiotika představuje závažný problém, který úzce souvisí s antibiotickou preskripcí. Dostupná data uvádí, že až 80 % všech antibiotik je předepsáno v ambulantní praxi, přičemž v řadě případů jsou antibiotika indikována nevhodně.

Cíl: Cílem tohoto projektu bylo získat reprezentativní údaje o znalostech, názorech a přístupu praktických dětských lékařů k antibiotické preskripci, které bude možné využít ke zlepšení antibiotické politiky v primární péči.

Materiál a metody: Celostátní dotazníková studie proběhla v období od září do prosince 2019. Elektronický dotazník byl zaslán všem členům Odborné společnosti praktických dětských lékařů ČLS JEP. Součástí dotazníku byly informace o respondentovi a jeho klinické praxi, otázky zaměřené na znalost problematiky, přístup k antibiotické preskripci a nejčastěji předepisovaná antibiotika.

Výsledky: Dotazník vyplnilo 390 respondentů z celkem 1034 oslovených (37,7 %). Medián věku respondentů byl 56 let (IQR 50–63), většinu tvořily ženy (330; 84,6 %) a uváděná délka klinické praxe byla 23 let (IQR 12–33). Většina respondentů uvedla, že narůstající rezistence bakterií na antibiotika vnímá jako závažný problém a je případně ochotna klinickou praxi změnit (328; 84,1 %) a 247 dotazovaných (63,3 %) připouští, že antibiotická rezistence ovlivňuje jejich každodenní praxi. Jako nejčastější důvody antibiotické preskripce dotazovaní uvádí infekce močových cest (314; 80,5 %), dolních (292; 74,9 %) nebo horních cest dýchacích (267; 68,5 %). Mezi nejčastěji předepisovaná antibiotika patří penicilin (379; 97,2 %), amoxicilin (198; 50,8 %) a klaritromycin nebo jiné makrolidy (174; 44,6 %). Za nejdůležitější faktory přispívající k rozvoji a šíření rezistence respondenti označují preskripci v pohotovostních službách (277; 71,0 %), v primární péči (220; 56,4 %), v odborných ambulancích a ve veterinární medicíně či zemědělství (shodně 189; 48,5 %). Za hlavní faktory, které vedou k nevhodné či neindikované preskripci, lékaři uvádí nedostatečnou edukovanost pacienta, nátlak na lékaře ze strany pacienta, vyšetření před svátkem či víkendem, klesající proočkovanost populace a nedostatečné odborné znalosti lékaře.

Závěr: Vzhledem k tomu, že projekt obdobného rozsahu dosud nebyl v ČR proveden, tato studie přináší zásadní informace o přístupu k antibiotické preskripci v pediatrické primární péči. Získané informace budou využity pro úpravu antibiotické politiky v primární péči a při přípravě edukačních programů pro odbornou i širokou veřejnost.

Come and explore HIF-1 acting in tumor cells

Doktorova H. (1), Hrabeta J. (1), Feglarova T. (1,2), Eckschlager T. (1)

1 – Department of Paediatric Haematology and Oncology, 2nd Medical faculty, Charles University in Prague and University Hospital Motol, 2 – Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague

Supervisor: Tomas Eckschlager

Introduction: The main driving force behind vascularization and neoangiogenesis of solid tumors is tumor hypoxia caused by inadequate blood supply. Hypoxia is one of the reasons for reduced cell death in radiation – and cytostatic-treated cancer cells. Adaptation of tumor cells to hypoxic conditions contributes to the aggressive attitude of tumors and their dedifferentiation. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) is the main factor that is necessary for hypoxia adaptation and so targeting the HIF-1 pathway has become an important area for cancer therapy research.

Aims: HIF-1 is continuously expressed in hypoxia despite an overall decrease in global protein translation. There are also several mechanisms in some types of tumors that regulate the stability and activity of HIF-1 in an oxygen-independent manner. Therefore, in our project, we focus on in vitro study of neuroblastoma (NB) derived cell lines and the impact of HIF-1 in normoxia and in hypoxia induced resistance to commonly used cytostatics, which is a major cause of anti tumor failure in children.

Materials and Methods: We have used siRNA anti-HIF-1 in normoxic and hypoxic (1% O₂) conditions in four NB cell lines with (Kelly, UKF-NB-4) or without (SK-N-AS, SH-SY5Y) MYCN amplification. In these cells we performed viability assay after 48 hrs in hypoxia and normoxia with or without cisplatin.

Results: We have found out that using siRNA anti-HIF-1 is responsible for decrease in the amount of viable cells in hypoxia, but also in normoxia. In hypoxia, the inhibition of HIF-1 can suppress the chemoresistance of tumor cells to cisplatin. These experiments are consistent with our previous results, when we used small-molecule HIF-1 inhibitors and shRNA gene silencing.

Conclusions: In the past years, HIF-1 has been studied primarily in context with tumor hypoxia. Based not only on our recent results, HIF-1 is involved in tumor agresiveness even in normoxic conditions. Acting of HIF-1 in both normoxic and hypoxic conditions is a very complex field that is still interesting to explore in more detailed way in different types of tumors. Definitely, better understanding of the regulatory mechanisms of HIF-1 will have an impact on the treatment of NB and other malignant tumors.

**Problematika úrazů v dětském věku z pohledu
veřejného zdravotnictví**

Švancarová A., Holcátová I.

Ústav veřejného zdravotnictví a preventivního lékařství 2. LF UK

Školitel: Ivana Holcátová

Úvod: Celosvětovým problémem veřejného zdravotnictví jsou úrazy v dětském věku. U dětí starších jednoho roku se jedná o nejčastější příčinu mortality, morbiditu a hospitalizace. Vzhledem k preventibilitě úrazů je nutno uplatňovat koordinovaný, mezioborový přístup, jehož nedílnou součástí je analýza úrazového děje a zvyšování zdravotní gramotnosti v obecném měřítku.

Cíl: Cílem studie bylo získat epidemiologická data o úrazech dětí na území ČR za posledních deset let a analyzovat aktuální trendy v této oblasti.

Materiál a metody: Retrospektivní sběr dat zahrnuje období let 2007–2017. V rámci sekundární analýzy dat byly využity dokumenty následujících institucí – MZČR, ČSÚ, ÚZIS, WHO. Objektem výzkumu jsou děti ve věkové kategorii 0–19 let.

Výsledky: Na základě provedeného šetření lze konstatovat, že na počátku desetiletého období nebyly na našem území aktivně koordinovány preventivní aktivity. Klíčovým okamžikem bylo ustanovení Meziresortní pracovní skupiny pro prevenci dětských úrazů při MZČR a následná koncepce úrazové politiky. Jedním z hlavních úspěchů je snížení standardizované úmrtnosti dětí ve věkové kategorii 0–14 let – nyní 3,97 (výchozí hodnota 7). Nejčastější příčinou úmrtí na vnější příčiny zůstávají dopravní nehody a úmyslné sebepoškození, následují náhodná utonutí a potopení se. U dětí ve věku 0–14 let došlo k poklesu absolutního počtu ambulantně ošetřených úrazů – v roce 2007 evidujeme celkem 427 523 úrazů, v roce 2017 evidujeme celkem 358 491 úrazů. Pokles byl zaznamenán zejména v oblasti úrazů školních a sportovních. U dětí ve věkové kategorii 15–19 let, které jsou monitorovány až od roku 2009, došlo k nárůstu ambulantně ošetřených dětí – v roce 2009 evidujeme celkem 204 305 úrazů, v roce 2017 evidujeme celkem 211 457 úrazů. Pokles byl zaznamenán zejména u kategorie úrazů domácích a ostatních. Úrazů sportovních a domácích celkově ubylo. Úrazy pod vlivem alkoholu a drog mají mírně stoupající tendenci.

Závěr: Vzhledem k dobře zavedenému systému meziresortní spolupráce je nezbytné pokračovat v dosavadní praxi a zaměřit se na další problémové oblasti. Zvyšování zdravotní gramotnosti v širší rovině může přispět k posílení obecné odpovědnosti sebe sama za své zdraví.

PHLDA3 OVEREXPRESSION IN ASTROCYTES CAUSES ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS

PHLDA3 Overexpression in Astrocytes Causes Endoplasmic Reticulum Stress

Vargová I. (1, 2), Řehořová M. (1, 2), Turečková J. (1), Kwok J. C. F. (1, 3), Fawcett J. W. (1, 4), Jendelová P. (1, 2)

1 – Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Science, 2 – Second Faculty of Medicine, Charles University, 3 – Faculty of Biological Sciences, University of Leeds, 4 – John van Geest Centre for Brain Repair, University of Cambridge

Introduction: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease characterised by gradual loss of voluntary movement, caused by death of motor neurons (MNs). Pathogenesis of ALS is unknown, but previous studies have shown that astrocytes (ACs) from ALS patients have altered response to neuronal injury and contribute to death of MNs. Recent evidence suggests that harmful instead of favourable function of ACs in ALS could be caused by upregulation of pleckstrin homology-like domain, family A, member-3 (PHLDA3). PHLDA3 was recently discovered as a molecule participating in p53-dependent signalling and is activated in endoplasmic reticulum stress (ER stress). ER stress is one of the mechanisms implicated in the pathogenesis of ALS.

Aims: The aim of this study is to investigate the role of PHLDA3 upregulation in ACs and their interaction with MNs in in vitro model.

Material and methods: The functional effect of PHLDA3 on primary wild-type ACs cultures was demonstrated using plasmid delivery of PHLDA3 gene fused with a green fluorescent protein (GFP). The expression of PHLDA3 and marker of ER stress (p-eIF2 α) were evaluated using Western blot and fluorescence microscopy. LDH assay was used to determine cytotoxicity of inserted PHLDA3 gene. Astrocyte-mediated toxicity to MNs was tested by treating primary MN cultures with conditioned medium collected from ACs overexpressing PHLDA3.

Results: Our results show that overexpression of PHLDA3 in ACs increases level of ER stress marker p-eIF2 α , but does not cause cytotoxicity in these cells. Reduced survival of MNs in cultures treated with conditioned medium from these astrocytes was observed.

Conclusion: PHLDA3 molecule upregulation is inducing ER stress in healthy ACs. Modulation of PHLDA3 mediated ER stress in ALS astrocytes may be exploited in designing new strategies to control motor neuron death.

Acknowledgments: Authors I. V. and M. Ř. contributed equally to this work, supported by Operational Programme Research, Development, and Education project “Center of Reconstructive Neuroscience”, registration number CZ.02.1.01/0.0./0.0/15_003/0000419.

Genetická etiologie a výsledky léčby u (sga) dětí

Toni L., Plachý L., Kučerová P., Elblová L., Průhová Š., Lebl J.

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Školitel: Jan Lebl

Úvod: Menší část dětí, které se rodily malé na svůj gestační věk (SGA; s porodní hmotností a/nebo délkou pod -2SD pro daný gestační věk), zůstává malá i v dětství (výška pod -2,5SD pro daný věk a pohlaví ve věku 3 roky a více; SGA-SS). Tyto děti bez léčby končí zpravidla jako malí dospělí, proto mohou být indikovány k terapii růstovým hormonem (GH). Etiologie SGA-SS je heterogenní a zůstává většinou neobjasněna. Cílem studie je posoudit u těchto dětí efekt léčby GH ve vztahu ke genetické příčině jejich růstové poruchy.

Metody: Od roku 2006 se na Pediatrické klinice léčilo růstovým hormonem z indikace SGA-SS 445 dětí (současný věk 1,3 až 27 let; medián 11,8). Kombinací několika genetických metod včetně cíleného nebo celoxomového sekvenování, které jsme volili podle fenotypu, jsme hledali genetickou etiologii malého vzrůstu. U etiopatogeneticky definovaných skupin jsme analyzovali účinek léčby růstovým hormonem.

Výsledky: Genetickou etiologii jsme zatím objasnili u 60 pacientů. 11 dětí mělo patogenní variantu v genech kódujících složku chrupavčité matrix (ACAN nebo různé typy kolagenu), 13 dětí poruchu SHOX genu, 9 dětí patogenní variantu v genech osy GH--IGF-1 (GHSR, HGMA2, OTX2, STAT3, IGFALS, IGF1R), 10 dětí mělo Silver-Russellův syndrom a dalších 17 dětí patogenní varianty jiných genů (NSF1, SRCAP, LMNA aj.). Zatímco systémová odpověď na léčbu GH, vyjádřená vzestupem standardizované hladiny IGF-1 v SDS po zahájení léčby, byla podobná u dětí s poruchou chrupavčité matrix ($+1,47 \pm 0,36$; průměr $\pm$ SD), s poruchou osy GH—IGF-1 ($+1,42 \pm 0,46$) i u dětí bez známé genetické etiologie ($+1,50 \pm 0,10$ SD; n.s.), růstová odpověď na léčbu se lišila: Po dvou letech podávání GH nejlépe rostly děti s poruchou osy GH--IGF-1 (zisk výšky $+1,12 \pm 0,09$ SDS), zatímco děti s poruchou chrupavčité matrix získaly jen $+0,84 \pm 0,09$ SDS ($p=0,046$) a děti s neobjasněnou genetickou etiologií $+0,96 \pm 0,04$ SDS.

Závěr: Naše studie přinesla unikátní data o genetické heterogenitě růstové poruchy navazující na nitroděložní růstovou restrikcí (SGA-SS). Poprvé se podařilo dokumentovat vliv genetické etiologie na růstovou odpověď při léčbě GH. Tyto výsledky mohou přispět nejen k poznání etiopatogeneze, ale také k individualizaci léčby těchto dětí na principu farmakogenomiky.

Podpora projektu: Studie je podpořena grantem AZV č. NV18-07-00283. Rutinní genetická vyšetření těchto dětí byla provedena v ÚBLG 2. LF UK. Za klinickou diagnostiku a vedení léčby děkujeme lékařům endokrinologické skupiny Pediatrické kliniky.

Vědecká konference

poznámky



Vědecká konference

datum: 1.—2. 10. 2020

autoři: Jan Trka, Jan Zuna a kolektiv autorů

editoři: Petr Andreas, Tereza Kůstková, Juan Zamora

grafické zpracování a sazba: Linda Kriegerbecková

vydává: 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

tisk: C-Copy Centrum Praha, s. r. o.

datum vydání: IX/2020