VĚDECKÁ KONFERENCE

VELKÁ POSLUCHÁRNA 20.—21. DUBNA 2016

středa 20. 4. v 10.15

Shahrokh François Shariat

What does it take to be a successful physician scientist: Bladder cancer as a model

čtvrtek 21. 4. v 10.00

Jiří Beneš

Alternativní metody versus medicína důkazů

čtvrtek 21. 4. v 12.40

EKG motolský speciál: O lásce a podvodnících

Igor Malijevský, Emil Hakl, Marek Šindelka, Tomáš Pastrňák & HerrDZ!

vyzvaní řečníci

Tariq Kwaes, Ondřej Szárszoi, Pavel Dřevínek, Štěpánka Průhová, Dana Šafka Brožková, Ondřej Souček, Eva Froňková

panelová diskuse ve středu 20. 4. ve 13.00

Podvody ve vědě

Václav Hořejší ředitel Ústavu molekulární genetiky AV ČR
Michal Kubát proděkan Fakulty sociálních věd UK
Martin Rychlík vědecký novinář Lidových novin

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

středa 20. 4. v 9.00, Malá levá posluchárna

Laboratorní medicína je zvědavá medicína

moderuje: Tomáš Kalina

Ester Mejstříková, Ondřej Cinek, Pavel Dřevínek, Pavel Seeman

čtvrtek 21. 4. v 9.00, Malá levá posluchárna

Ženy a kariéra v medicíně

moderuje: Tereza Kůstková

Štěpánka Průhová, Eva Froňková, Lucie Šrámková

středa 20. 4. v 17.00 (atrium)

Motolská míle

čtvrtek 21. 4. v 16.00

divadlo Zvýrazněná medicína

P. Tatíček et al. (sic!)

Cena pro pozorného diváka

Elektronická čtečka knih Amazon Kindle Voyage 6"

sledujte
vedecka-konference.lf2.cuni.cz
2. lékařská fakulta UK

VĚDECKÝ PROGRAM STŘEDA 20. 4. 2016

9.00
WORKSHOP
Laboratorní medicína je zvědavá medicína
Moderuje Tomáš Kalina
Ester Mejstříková, Ondřej Cinek, Pavel Dřevínek, Pavel Seeman

10.00
OFICIÁLNÍ ZAHÁJENÍ
Vladimír Komárek, děkan 2. LF UK
Jan Trka, proděkan pro vědu a výzkum 2. LF UK

10.10–12.20
Sekce O1 NÁDORY & LEUKÉMIE
Předsedající Vladimír Komárek, Marek Babjuk

WHAT DOES IT TAKE TO BE A SUCCESSFUL PHYSICIAN SCIENTIST: BLADDER CANCER AS A MODEL **50'**
Shahrokh F. Shariat
Department of Urology, MedUni Wien

1 **UMÍME VŽDY ODLIŠIT ALL A CML? MY ANO…**

aneb ***FÚZNÍ GEN BCR/ABL1 U DĚTSKÝCH HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT – KDE JE HRANICE MEZI AKUTNÍ LYMFOBLASTICKOU A CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ?***

Hovorková L. (1,2), Žaliová M. (1,2), Trková M. (3), Venn N. C. (4), Linhartová J. (5), Machová Poláková K. (5), Sutton R. (4,6), Starý J. (2), Trka J. (1,2), Zuna J. (1,2)

1 – CLIP Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2 – Klinika dětské hematologie a onkologie, Karlova Univerzita v Praze, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká Republika, 3 – Gennet s.r.o, Praha, Česká Republika, 4 – Children's Cancer Institute Australia, Sydney, Austrálie, 5 – Ústav hematologie a krevní transfuse, Praha, Česká republika, 6 – School of Women's and Children's Health, University of NSW, Sydney, Austrálie

Školitel: doc. MUDr. Jan Zuna, Ph.D.

2 PERINEURÁLNÍ ŠÍŘENÍ: DĚLAJÍ TO VŠICHNI, A KDO ŘÍKÁ, ŽE NE, TEN LŽE

aneb ***PERINEURÁLNÍ ŠÍŘENÍ PÁNEVNÍCH NÁDORŮ: MECHANISMUS A DIAGNOSTIKA***

Čapek Š. (1,2), Amrami K. K. (3), Howe B. M. (3), Spinner R. J. (1)

1 – Department of Neurosurgery, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA 2 – 2. lékařská fakulta UK, Praha 3 – Department of Radiology, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Školitel: Prof. MUDr. Martin Sameš, CSc.

3 STRESOVANÉ NÁDOROVÉ BUŇKY POMÁHAJÍ LÉČIT PACIENTY S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

aneb ***ECTO-CRT KORELUJE SE ZVÝŠENOU IMUNITNÍ ODPOVĚDÍ PROTI LEUKEMICKÝM ANTIGENŮM A POZITIVNÍ PROGNÓZOU PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ***

Truxová I. (1, 2), Fučíková J. (1, 2), Hensler M. (2), Becht E. (3, 4, 5), Kašíková L. (1, 2), Moserová I. (2), Vošahlíková Š. (2), Church S. (3, 4, 5), Cremer I. (3, 4, 5), Šálek C. (6), Špíšek R. (1, 2)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN v Motole Praha, 2 – Sotio a. s. Praha, 3 – Institute National de la Santé et de la Recherche Medicale (INSERM), UMRS1138, Centre de Recherche des Cordeliers Paris, 4 – Université Pierre et Marie Curie – Paris 6, UMRA1138 Paris, 5 – Université Paris Descartes – Paris 5, UMRS1138 Paris, 6 – Ústav hematologie a krevní transfuze Praha

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

4 VŠE, CO JSTE CHTĚLI VĚDĚT O MDS U DĚTÍ A BÁLI JSTE SE ZEPTAT

aneb ***DIVERZITA MYELODYSPLASTICKÉHO SYNDROMU U DĚTÍ: NOVÉ IMUNOLOGICKÉ A GENETICKÉ SUBTYPY***

Nováková M. (1), Žaliová M. (1), Froňková E. (1), Suková M. (2), Zemanová Z.(3), Campr V.(4), Vodičková E.(5), Trka J. (1), Starý J. (2), Hrušák O. (1), Mejstříková E. (1)

1 – CLIP – Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha 2 – Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha 3 – Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK v Praze, Praha 4 – Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol, Praha 5 – Oddělení klinické hematologie, FN Motol, Praha

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

5 **VZTAHY MEZI GENETIKOU A EPIGENETIKOU JSOU KOMPLIKOVANÉ**

aneb ***ROLE DEMETHYLÁZ HISTONŮ V TRANSKRIPČNÍ REGULACI HOX GENŮ U PML-RARA+ PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ***

Rejlová K. (1), Slámová M. (1), Dobiášová A. (1), Škvárová Kramarzová K. (1), Alberich Jorda M. (1,2), Fišer K. (1), Trka J. (1), Starková J. (1)

1 – CLIP Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Praha, Česká republika 2 – Ústav molekulární genetiky, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika

Školitel: Mgr. Júlia Starková, Ph.D.

SEKVENOVÁNÍ GENOMU: NOVÁ ZÁBAVA PRO NADŠENCE NEBO PRŮLOMOVÁ DIAGNOSTICKÁ METODA? **15'**

Eva Froňková

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

12.20–13.50

POSTEROVÁ SEKCE I / občerstvení

Josef Zámečník, Lýdia Vargová, Tomáš Kalina, Jan Laczó, Markéta Kalinová, Karel Fišer

Postery – příspěvky č. P1–P30

13.00

PANELOVÁ DISKUSE O VĚDĚ A PODVODECH

Moderuje Jan Trka

Václav Hořejší, Michal Kubát, Martin Rychlík

13.50–15.25

Sekce O2 SCREENINGY A JINÁ VYŠETŘOVÁNÍ

Předsedající Ondřej Souček, Pavel Dřevínek

MIKROBIOLOGIE A GENETIKA: JAK TO JDE V PRAXI DOHROMADY **15'**

Pavel Dřevínek

Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol

6 PRENATAL SCREENING OF ANEUPLOIDIES: A CZECH PILOT STUDY

aneb ***PRENATAL SCREENING OF ANEUPLOIDIES USING THE FIRST TRIMESTER QUAD TEST HAS HIGHER DETECTION RATE AND POTENTIALLY DECREASES INVASIVE PRENATAL PROCEDURES WHEN COMBINED WITH NIPT: A CZECH PILOT STUDY***

Vlckova M. (1), Tesner P. (1), Peskova M. (1), Vlk R. (2), Matecha J. (2), Hanulikova P. (2), Zimmermann P. (3), Geryk J. (1), Havlovicova M. (1), Macek M. Jr. (1), Stambergova A. (1), Macek M. Sr. (1)

1 – Department of Biology and Medical Genetics, Charles University 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic 2 – Department of Obstetrics and Gynaecology, Charles University 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic 3 – Department of Statistics and Probability, Faculty of Informatics and Statistics, University of Economics, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

7 ...

aneb ***MOŽNOSTI SCREENINGU PREEKLAMPSIE – PRVNÍ VÝSLEDKY S VYUŽITÍM PLACENTÁRNÍHO MARKERU PLGF***

Vlk R. (1), Macek M. sr. (2), Pešková M. (2), Turnovec M. (2), Hanulíková P. (1), Špálová I. (1), Vlčková M. (2), Rob L. (1) 1 – Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol 2 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc.

8 BRONCHIÁLNÍ REMODELACE: V HLAVNÍ ROLI EPITEL

aneb ***ROLE EPITELO-MEZENCHYMÁLNÍ TRANSFORMACE V ROZVOJI REMODELAČNÍCH ZMĚN U CHRONICKÝCH RESPIRAČNÍCH ONEMOCNĚNÍ***

Hoňková L. (1), Beránková K. (1), Uhlík J. (2), Šimůnková P (1,2), Pohunek P. (1)

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

Školitel: Prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

9 OBJEVOVÁNÍ NOVÝCH GENŮ U VZÁCNÝCH ONEMOCNĚNÍ SNADNO A RYCHLE

aneb ***OBJEVENÍ NOVÉHO GENU ZPŮSOBUJÍCÍHO SPINOCEREBELÁRNÍ ATAXII POMOCÍ EXOMOVOVÉHO SEKVENOVÁNÍ***

Ptáková N., Maříková T., Macek M. Jr.

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

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

10 ATEROSKLEROTICKÉ ONEMOCNĚNÍ KAROTID – POHLED DO NITRA PLÁTU IN-VIVO

aneb ***HODNOCENÍ ZMĚNY LIPIDOVÉHO JÁDRA ATEROSKLEROTICKÉHO PLÁTU PŘI KAROTICKÉM STENTINGU POMOCÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROSKOPIE A INTRAVASKULÁRNÍHO ULTRAZVUKU***

Štěchovský C., Hájek P., Špaček M., Horváth M., Veselka J. Kardiologická klinika 2. LF UK a FNM, Praha

Školitel: doc. MUDr. Petr Hájek Ph.D.

KVALITA KOSTÍ A RIZIKO FRAKTUR U DÍVEK S TURNEROVÝM SYNDROMEM **15'**

Ondřej Souček

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

VĚDECKÝ PROGRAM ČTVRTEK 21. 4. 2015

9.00
WORKSHOP
Ženy a kariéra v medicíně
Moderuje Tereza Kůstková
Štěpánka Průhová, Eva Froňková, Lucie Šrámková

10.00–12.05
Sekce O3 NERVY
Předsedající Jakub Hort, Pavel Seeman

ALTERNATIVNÍ METODY VERSUS MEDICÍNA DŮKAZŮ **50'**
Jiří Beneš
Přednosta Ústavu biofyziky a informatiky 1. LF UK

11 JAK SE ALZHEIMEŘI ZTRÁCÍ V BLUDIŠTI

aneb ***VLIV ALZHEIMEROVY NEMOCI NA STRATEGIE POUŽÍVANÉ PŘI ORIENTACI V PROSTORU***

Pařízková M. (1), Moffat S. D. (2), Vyhnálek M. (1,3), Andel R. (3,4), Hort J. (1,3), Laczó J. (1,3)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha 2 – School of Psychology, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, USA 3 – Mezinárodní centrum klinického výzkumu, FN u sv. Anny v Brně, Brno 4 – School of Aging Studies, University of South Florida, Tampa, Florida, USA

Pregraduální student

Školitel: Doc. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

12 PROČ MUSÍME SPÁT? CO NÁM ŘEKLY EPILEPTIFORMNÍ VÝBOJE

aneb ***VLIV GENERALIZOVANÉ EPILEPTIFORMNÍ AKTIVITY VE SPÁNKU NA KOGNITIVNÍ FUNKCE U DĚTÍ S FARMAKOREZISTENTNÍ EXTRATEMPORÁLNÍ EPILEPSIÍ***

Novák V. (1,2), Maulisová A. (3,4), Ježdík P. (5), Komárek V.(6), Kršek P. (6)

1 – Oddělení dětské neurologie, Fakultní nemocnice Ostrava 2 – Lékařská fakulta Ostravské univerzity 3 – Oddělení klinické psychologie FN Motol, Praha 4 – Katedra psychologie FF UK Praha 5 –

Katedra teorie obvodů, FEL, ČVUT Praha 6 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Kršek, Ph.D.

13 PORUCHY ZRÁNÍ MOZKOVÝCH DRAH U DĚTÍ S VÝVOJOVOU DYSFAZII

aneb ***STRUKTURÁLNÍ ZMĚNY KORTIKOSPINÁLNÍHO TRAKTU U DĚTÍ S VÝVOJOVOU DYSFÁZIÍ***

Vydrová R. (1), Šanda J (2), Kynčl M. (2), Vránová M. (4), Štěrbová K. (1), Maulisová A. (3), Žáčková J. (3), Kršek P. (1), Reissigová J. (5), Jahodová A. (1), Komárek V. (1)

1 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, Praha, 3 – Oddělení klinické psychologie FN Motol, Praha, 4 – Klinická logopedie, Praha, 5 – Ústav informatiky Akademie věd České Republiky

Školitel: Prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

14 JEDNODUCHÁ METODIKA K PREVENCI SPORTOVNÍCH ÚRAZŮ VE FLORBALU

aneb ***VLIV SPECIFICKÉHO TRÉNINKU SENZOMOTORICKÉ KOORDINACE A SVALOVÉ SÍLY NA STABILITU STOJE U HRÁČŮ FLORBALU***

Levínská K. (1), Opršal J. (2), Čakrt O. (1,3)

1 – Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole 2 – Ústav environmentální chemie a chemického inženýrství, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice 3 – České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství

Pregraduální student

Školitel: PhDr. Ondřej Čakrt, Ph.D.

PÁTRÁNÍ PO PŘÍČINĚ DĚDIČNÉ NEUROPATIE ODHALILO MUTACI V GENU HARS 15'

Dana Šafka Brožková

Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol

12.05–13.40

POSTEROVÁ SEKCE II / občerstvení

Tomáš Seeman, Michal Rygl, Jiří Uhlík, Daniel Smrž, Júlia Starková, Miroslava Hančárová

Postery – příspěvky č. P31–P59

12.40

EKG O LÁSCE A PODVODNÍCÍCH

Motolský speciál

Jaroslav Rudiš, Igor Malijevský, Emil Hakl, Marek Šindelka

Kapela Tomáš Pastrňák & HerrDZ

13.40–15.30

Sekce O4 OPĚT NERVY A LEUKEMIE

Předsedající Pavel Kršek, Jan Zuna

KDYŽ DVA DĚLAJÍ TOTÉŽ JE VÝSLEDKEM PRAVÝ OPAK **15'**

Štěpánka Průhová

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

15 VALPROIC ACID IN CANCER THERAPY, SHALL WE FAIRLY TRUST?

aneb ***VALPROIC ACID INCREASES CD133 POSITIVE CELLS THAT SHOW LOW SENSITIVITY TO CYTOSTATICS IN NEUROBLASTOMA***

Khalil MA. (1), Hraběta J. (1), Groh T. (2), Procházka P. (3,4), Doktorová H. (1), Eckschlager T. (1)

1 – Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Medical Faculty, Charles University and UH Motol, Prague 2 – Department of Biochemistry, Faculty of Science, Prague 3 – Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences, Prague 4 – Institute of Biology and Medical Genetics, 1st Medical Faculty, Charles University, Prague

Supervisor: Prof. Tomáš Eckschlager, MD, Ph.D.

16 CHAMELEONI MEZI BUŇKAMI

aneb ***OPTIMALIZACE CYTOMETRICKÉ DETEKCE MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U PACIENTŮ S PREB AKUTNÍ LYMFOBLASTICKOU LEUKÉMIÍ S PŘESMYKEM DO MONOCYTÁRNÍ LINIE***

Dobiášová A. (1), Nováková M. (1), Kalina T. (1), Froňková, E. (1), Slámová, L. (1), Starková, J. (1), Rejlová, K. (1), Kubričanová Žaliová, M. (1), Trka, J. (1), Hrušák, O. (1), Fišer, K. (1), Mejstříková, E. (1)

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

Školitel: Mgr. Karel Fišer, Ph.D.

17 ALTERNATIVNÍ ANIMÁLNÍ MODEL ALZHEIMEROVY CHOROBY

aneb ***TRIMETHYLCÍNEM VYVOLANÝ MODEL NEURODEGENERACE JAKO NÁSTROJ PRO TESTOVÁNÍ NEUROPROTEKTIV***

Chvojková M. (1, 2), Valeš K. (1, 3)

1 – Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, 2 – 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, 3 – Národní ústav duševního zdraví

Školitel: RNDr. Karel Valeš, Ph.D.

18 O SRDEČNÍCH NÁDORECH, EPILEPSII, AUTISMU A JAK TO SPOLU SOUVISÍ

aneb ***ČASNÉ PREDIKTORY KLINICKÉHO A MENTÁLNÍHO VÝVOJE U PACIENTŮ S TUBERÓZNÍ SKLERÓZOU: PROSPEKTIVNÍ STUDIE***

Beňová B. (1), Petrák B. (1), Kynčl M. (2), Ježdík P. (3), Maulisová A. (4), Jahodová A. (1), Komárek V. (1), Kršek P. (1)

1 – Klinika dětské neurologie 2.lf UK a FN Motol, 2 – Klinika zobrazovacích metod 2. lf UK a FN Motol, 3 – České vysoké učení technické v Praze – Fakulta elektrotechnická, 4 – Oddělení klinické psychologie FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Pavel Kršek, Ph.D.

19 ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA A TĚHOTENSTVÍ? NE, DĚKUJU. NEBO JAK TO VLASTNĚ JE?

aneb ***VLIV GRAVIDITY NA PRŮBĚH ROZTROUŠENÉ SKLERÓZY***

Petržalka M. (1), Meluzínová E. (2)

1 – 2. LF UK, 2 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Eva Meluzínová

IMPLANTACE LEVOSTRANNÉ MECHANICKÉ SRDEČNÍ PODPORY U PACIENTŮ S KORIGOVANOU TRANSPOZICÍ VELKÝCH TEPEN **15'**

Ondrej Szárszoi

Kardiolog v IKEM

SPECIALISING INTERNATIONALLY; A PERSONAL EXPERIENCE **15'**

Tariq Kwaees

Resident in Trauma and Orthopaedic Surgery

Mersey Deanery, Health Education North West,

United Kingdom

WORKSHOPY A PANELOVÁ DISKUSE 2016

20. 4. 2016 9.00

Workshop „Laboratorní medicína je zvědavá medicína": lékaři, kteří si zvolili laboratorní medicínu a výzkum, vysvětlí, proč to udělali, proč svého rozhodnutí nelitují a jak zajímavou práci lze v laboratoři dělat.

Moderuje Tomáš Kalina.

Ester Mejstříková, Ondřej Cinek, Pavel Dřevínek, Pavel Seeman

Panelová diskuse „O vědě a podvodech": jsou vědecké podvody skutečným problémem nebo spíš pozornost přitahující kuriositou? Je větším problémem mnoho „malých" drobných podvodů nebo několik velkých a efektních? Dokáže vědecká komunita vlastními prostředky dostatečně efektivně odhalovat podvody? Lze nějak jednoduše rozlišit kvalitní vědecké výsledky od nekvalitních či přímo podvodných? Může se společnost spolehnout na to, že vědecká komunita sama ohlídá svou integritu?

Moderuje Jan Trka.

Diskutují Václav Hořejší (ředitel Ústavu molekulární genetiky AV ČR), Michal Kubát (proděkan pro vědu FSV UK) a Martin Rychlík (etnolog a vědecký novinář Lidových novin).

21. 4. 2016 9.00

Workshop „Ženy a kariéra v medicíně": úspěšné lékařky a mnohočetné matky se podělí o své zkušenosti jak dosáhnout pracovních úspěchů v medicíně, porodit a vychovávat děti a nezbláznit se z toho – pozor, genderově extrémně nevyrovnané!

Moderuje Tereza Kůstková – bioložka, novinářka a matka čtyř dětí.

Štěpánka Průhová, Eva Froňková, Lucie Šrámková

Motolský speciál *EKG O Lásce a Podvodnících*

Motolský speciál literárního kabaretu Igora Malijevského a Jaroslava Rudiše bude letos věnovaný Lásce a podvodníkům. Autoři ke své tématické přednášce přizvali spisovatele a odborníky Emila Hakla a Marka Šindelku. Zahraje komorní kapela Tomáš Pastrňák & HerrDZ!

Abstrakt přednášky: Vztahové podvody jsou problematikou, na kterou většina z nás v životě narazila nebo narazí. Jak v takové situaci kvalitně obstát ať již v roli podváděného nebo podvodníka? Teoretický úvod budou bohatě ilustrovat příklady z klinické praxe.

Přednášejí Emil Hakl, Igor Malijevský a Marek Šindelka.

Zpívá Tomáš Pastrňák & HerrDZ!

Odborný dohled guru Jára

ABSTRAKTY 2016

PŘEDNÁŠKY

O-01. FÚZNÍ GEN BCR/ABL1 U DĚTSKÝCH HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT – KDE JE HRANICE MEZI AKUTNÍ LYMFOBLASTICKOU A CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ?

Hovorková L. (1,2), Žaliová M. (1,2), Trková M. (3), Venn N. C. (4), Linhartová J. (5), Machová Poláková K. (5), Sutton R. (4,6), Starý J. (2), Trka J. (1,2), Zuna J. (1,2)

1 – CLIP Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2 – Klinika dětské hematologie a onkologie, Karlova Univerzita v Praze, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká Republika, 3 – Gennet, s. r. o, Praha, Česká Republika, 4 – Children's Cancer Institute Australia, Sydney, Austrálie, 5 – Ústav hematologie a krevní transfuse, Praha, Česká republika, 6 – School of Women's and Children's Health, University of NSW, Sydney, Austrálie

Školitel: doc. MUDr. Jan Zuna, Ph.D.

Úvod: Fúzní gen BCR/ABL1 (B/A) je spojován s chronickou myeloidní (CML) a akutní lymfoblastickou leukémií (ALL). B/A+ ALL má nepříznivou prognózu a to i v éře tyrozin-kinázových inhibitorů (TKI). Obecně je u ALL nejvýznamnějším ukazatelem prognózy minimální reziduální nemoc (MRN), u B/A+ ALL je však její úloha nejasná. Standardně je ke stanovení MRN u ALL využíváno kvantifikace klonálních přestaveb imunoreceptorových genů (Ig/TCR) a u B/A+ ALL i kvantifikace fúzního transkriptu.

Cíl: Porovnat hladiny MRN měřené různými přístupy a v případě odlišných výsledků odhalit jejich biologické pozadí a případně klinický význam.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme 365 vzorků kostní dřeně (KD) od 34 pacientů s minor typem B/A. Hladinu MRN jsme stanovili kvantifikací Ig/TCR, fúzního transkiptu B/A (mRNA) a fúzní sekvence na genomické úrovni (gDNA B/A). Z diagnostické KD 6 pacientů (2xCML, 4xALL) jsme izolovali různé buněčné populace (leukemické blasty, T-buňky, monocyty a nemaligní B-buňky) a detekovali v nich B/A pomocí fluorescenční in-situ hybridizace.

Výsledky: Zlomovou sekvenci fúzního genu jsme na DNA úrovni úspěšně identifikovali u 32 (94 %) pacientů. Srovnání hladin MRN kvantifikované „genomickými" přístupy (Ig/TCR a B/A gDNA) potvrdilo významné množství nekorelujících vzorků (korelační koeficient R2=0,68), zejména těch s vyšší hladinou B/A. Nekorelujících vzorků přibývalo s časem od diagnózy (den 15: 10%; den 33: 25%; týden 12: 47%; týden 22: 60%). Pacienti s vyššími hladinami B/A gDNA oproti Ig/TCR na konci indukční léčby (den 33) měli signifikantně horší prognózu než ti, u kterých se hladiny B/A gDNA a Ig/TCR nelišily o více než řád. MRN určená kvantifikací B/A gDNA v týdnu 12 nejlépe predikovala prognózu (p=0,0003; Ig/TCR p=0,017, B/A mRNA p>0,05).

Pacienti s ALL s dobrou korelací MRN měli fúzní gen B/A detekovatelný pouze v populaci leukemických blastů. U pacientů se špatnou korelací a dlouhodobě zvýšenými hladinami B/A oproti Ig/TCR jsme detekovali fúzní gen i v jiných populacích, stejně jako u pacientů s CML.

Závěr: Zatímco Ig/TCR přestavby jsou specifické pro lymfoidní buňky, kvantifikace B/A gDNA přináší nejpřesnější informaci o hladině reziduálního leukemického klonu. Špatná korelace MRN ukazuje na možné postižení myeloidních buněk a tedy spíše než na diagnózu ALL na CML v lymfoblastické krizi. Prognostický význam špatné korelace ukazuje na nutnost tyto pacienty včas identifikovat a nabídnout jim adekvátní terapii, která by mohla být založena na prodloužení léčby TKI a časné transplantaci.

Podpora projektu: GAUK 554214.

O-02. PERINEURÁLNÍ ŠÍŘENÍ PÁNEVNÍCH NÁDORŮ: MECHANISMUS A DIAGNOSTIKA

Čapek Š. (1,2), Amrami K. K. (3), Howe B. M. (3), Spinner R. J. (1)

1 – Department of Neurosurgery, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA, 2 – 2. lékařská fakulta UK, Praha, 3 – Department of Radiology, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Školitel: Prof. MUDr. Martin Sameš, CSs.

Úvod: Neoplastická lumbosakrální plexopatie (nLSP) je poměrně vzácná komplikace nádorů pánevních orgánů, která se nejčastěji vyskytuje u kolorektálního karcinomu nebo u karcinomu děložního čípku. Tradičně se vysvětluje jako buď hematogenní metastatizace nebo přímá infiltrace z pánevní nádorové masy. My věříme, že nLSP se dá ve vybraných případech vysvětlit perineurální šířením podél autonomních nervových pletení.

Cíl: Cílem této studie je popsat mechanismus šíření a radiologické a klinické znaky nLSP u pacientů s anamnézou karcinomu prostaty, děložního čípku, močového měchýře a rekta, které by usnadnily včasnějšího diagnostiku a léčbu.

Materiál a metody: Retrospektivně bylo zhodnoceno 17 pacientů s nLSP způsobenou perineurálním šířením nádorových buněk z primárního ložiska do lumbosakrálního plexu. Byly zaznamenány dostupné demografické údaje, anamnéza, klinická prezentace, nález na zobrazovacích metodách a elektrodiagnostických studiích; v případě diseminované nemoci i detaily o metastázách. Pacienti byli rozdělení do dvou skupin: A) Pacienti s nLSP potvrzenou biopsií B) Pacienti diagnostikováni jako nLSP na základě zobrazovacího nálezu, ačkoliv u nich biopsie LSP nebyla provedena nebo byla negativní.

Výsledky: Ve skupině A bylo 10 pacientů (průměrný věk byl 69 let): 9 pacientů bylo symptomatických, 1 byl asymptomatický; nejčastější postižené nervy byly L5-S1 spinální nervy a nervus ischiadicus; u 3 pacientů se nádor šířil až intradurálně. V době poslední kontroly bylo naživu 7 pacientů. 2 pacienti měli regionální kostní a svalové metastázy segmentálně odpovídající postiženým nervům. Ve skupině B bylo 7 pacientů (průměrný věk byl 64 let): 4 pacienti byli symptomatičtí, 2 asymptomatičtí a u 1 byl k dispozici pouze zobrazovací nález; nejčastější postižené nervy byly L5-S1 spinální nervy a nervus ischiadicus; u žádného pacienta nedošlo k intradurálnímu šíření a v době poslední kontroly byly naživu 4 pacienti.

Závěr: Neoplastická lumbosakrální plexopatie je ve vybraných případech způsobena perineurálním šířením nádorových buněk z primárního ložiska podél nervi splanchnici pelvici et sacrales do lumbosakrálního plexu a dále centrálně podél spinálních nervů až intradurálně, kde může dojít k intrathékální diseminaci. V opačném směru se mohou nádorové buňky šířit do periferie podél vznikajících nervů jako např. nervus ischiadicus a obturatorius až do okolní muskulatury a způsobit „metastázy" ve svalech. Alternativou je šíření podél nervů inervujících periost a kost do pánve a tvorba kostních „metastáz". U těchto pacientů je na zobrazovacích metodách identifikovatelný reproducibilní a specifický nález, obdobně jako u nich můžeme popsat charakteristické klinické znaky.

O-03. ECTO-CRT KORELUJE SE ZVÝŠENOU IMUNITNÍ ODPOVĚDÍ PROTI LEUKEMICKÝM ANTIGENŮM A POZITIVNÍ PROGNÓZOU PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Truxová I. (1, 2), Fučíková J. (1, 2), Hensler M. (2), Becht E. (3, 4, 5), Kašíková L. (1, 2), Moserová I. (2), Vošahlíková Š. (2), Church S. (3, 4, 5), Cremer I. (3, 4, 5), Šálek C. (6), Špíšek R. (1, 2)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN v Motole Praha, 2 – Sotio, a. s., Praha, 3 – Institute National de la Santé et de la Recherche Medicale (INSERM), UMRS1138, Centre de Recherche des Cordeliers Paris, 4 – Université Pierre et Marie Curie – Paris 6, UMRA1138 Paris, 5 – Université Paris Descartes – Paris 5, UMRS1138 Paris, 6 – Ústav hematologie a krevní transfuze Praha

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

Úvod: Imunogenní buněčná smrt (ICD) představuje specifický typ buněčné smrti vedoucí k aktivaci imunitního systému. ICD je spouštěna některými chemoterapeutiky (např. antracykliny) a fyzikálními modalitami (fotodynamická terapie a vysoký hydrostatický tlak) a je charakterizována expresí či uvolněním molekul asociovaných s vnitrobuněčným stresem (DAMPs;danger-associated molecular patterns). Mezi dosud popsané DAMPs se řadí zejména chaperonový protein kalretikulin (CRT), proteiny teplotního stresu (HSP70 a 90), molekula ATP a pozdně apoptotický marker HMGB1 (high mobility group box 1). DAMPs pomocí specifických receptorů aktivují složky adaptivní imunity, což vede k indukci protinádorové imunitní odpovědi. Současné poznatky ukazují, že DAMPs hrají také zásadní význam pro prognózu pacientů s nádorovým onemocněním.

Cíl: Sledovali jsme expresi imunogenních markerů na povrchu maligních blastů u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) před a po terapii antracykliny s cílem objasnit, zda chemoterapie indukuje vystavení těchto molekul na buněčný povrch in vivo. Tato data byla korelována s imunitní odpovědí proti leukemickým antigenům a s klinickými parametry pacientů.

Materiál a metody: V prospektivní kohortě 50 pacientů s akutní myeloidní leukémií jsme sledovali expresi CRT a HSPs na povrchu blastů (ecto-CRT, resp. ecto-HSPs) před a po terapii antracykliny pomocí průtokové cytometrie. Solubilní formy DAMPs byly detekovány v séru pacientů pomocí metody ELISA. Přítomnost ecto-CRT byla korelována s expresí genů asociovaných s imunitní odpovědí detekovaných pomocí Taqman ereje. Tato data byla ověřená pomocí Nanostring nCounter analyzačního systému a na proteinové úrovni pomocí průtokového cytometru. Přítomnost T lymfocytů specifických pro leukemické antigeny byla analyzována pomocí průtokové cytometrie.

Výsledky: Aplikovaná chemoterapie neovlivňuje expresi a uvolnění DAMPs. Přítomnost ecto-CRT na maligních blastech je asociována s Th1 a cytotoxickou T lymfocytární odpovědí a přítomností NK buněk v periferní krvi pacientů. Pomocí průtokové cytometrie jsme u pacientů s vysokou povrchovou expresí CRT detekovali vyšší zastoupení CD4+ a CD8+ T lymfocytů specifických pro nádorové antigeny. U této skupiny pacientů jsme zaznamenali statisticky významné prodloužení doby do dosažení relapsu a lepší prognózu onemocnění.

Závěr: Přítomnost ecto-CRT na maligních blastech představuje nový prognostický znak asociovaný s lepší prognózou a s vyšším zastoupením antigen specifických T lymfocytů u pacientů s AML.

O-04. DIVERZITA MYELODYSPLASTICKÉHO SYNDROMU U DĚTÍ: NOVÉ IMUNOLOGICKÉ A GENETICKÉ SUBTYPY

Nováková M. (1), Žaliová M. (1), Froňková E. (1), Suková M. (2), Zemanová Z. (3), Campr V. (4), Vodičková E. (5), Trka J. (1), Starý J. (2), Hrušák O. (1), Mejstříková E. (1)

1 – CLIP-Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha, 2 – Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha, 3 – Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK v Praze, Praha, 4 – Ústav patologie a molekulární medicíny UK 2. LF a FN Motol, Praha, 5 – Oddělení klinické hematologie, FN Motol, Praha

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

Úvod: Myelodysplastický syndrom (MDS) je vzácné onemocnění postihující přibližně 2-5 dětí ročně v České republice. Patogeneze selhání kostní dřeně (KD) na podkladě MDS není zcela objasněna, část pacientů se svými klinickými a laboratorními nálezy překrývá s pacienty s aplastickou anémií (AA), u nichž je předpokládána autoimunitní příčina selhání KD. Nově byla popsána mutace v transkripčním faktoru GATA-2 způsobující několik syndromů včetně familiárního výskytu MDS/akutní myeloidní leukémie (AML). Odlišení těchto pacientů je důležité pro terapeutickou rozvahu i pochopení patogeneze onemocnění.

Cíl: Naším cílem bylo charakterizovat pacienty s MDS a AA pomocí průtokové cytometrie (PC) a vytipovat podskupiny pacientů se suspektním či prokázaným genetickým či imunologickým podkladem.

Materiál a metody: Do kohorty jsme zahrnuli dětské pacienty se subtypem MDS refrakterní cytopenie dětského věku (RCC)(N=33) a AA (N=39), a dále pacienty s pokročilou formou MDS (non-RCC) (N=23). U všech pacientů byla sekvenována kódující část genu pro transkripční faktor GATA-2. U pacientů jsme vyšetřili KD a periferní krev (PK) pomocí PC s cílem kvantifikace jednotlivých populací. U pacientů s dostupným materiálem byly vyšetřeny hladiny excizních kroužků B (KREC) a T (TREC) buněčného receptoru.

Výsledky: Celkem jsme identifikovali 9 pacientů s mutací GATA2: 6 pacientů s RCC a 3 pacienty s non-RCC. Pacienti s GATA2 mutací se významně odlišovali několika parametry: nízkou hladinou B lymfocytů v KD a PK, nízkým zastoupení naivních a nezralým forem B lymfocytů a nízkou hladinou KREC. Ostatní nálezy často popisované v literatuře nebyly konstantním nálezem. V rámci RCC byli 3 pacienti svým fenotypem B lymfocytů velmi podobní pacientům s mutací GATA2. U 2 pacientů jsme provedli celoexomové sekvenování s nálezem mutací v genech SLX4 a ASXL1. Specifickou skupinou byli rovněž pacienti, u nichž selhání KD nastalo po proběhlé hepatitidě bez prokazatelného infekčního agens. Tito pacienti mají často vysokou aktivaci T lymfocytů, nízký poměr CD4/CD8 a vyšší zastoupení granulocytů.

Závěr: Podařilo se nám charakterizovat pacienty s GATA2 mutací pomocí průtokové cytometrie a na základě získaného algoritmu identifikovat kandidáty pro celoexomové sekvenování. Odlišnou podskupinou, vznikající nejspíše na autoimunitním podkladě, je selhání kostní dřeně po proběhlé hepatitidě. Identifikace jednotlivých podskupin může napomoci výběru nejoptimálnějšího terapeutického přístupu a urychlení diagnostiky těchto pacientů.

Podpora projektu: GAUK 802214, UNCE 204012, AZV 15-28525A.

O-05. ROLE DEMETHYLÁZ HISTONŮ V TRANSKRIPČNÍ REGULACI HOX GENŮ U PML-RARA+ PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Rejlová K. (1), Slámová M. (1), Dobiášová A. (1), Škvárová Kramarzová K. (1), Alberich Jorda M. (1,2), Fišer K. (1), Trka J. (1), Starková J. (1)

1 – CLIP Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Praha, Česká republika 2 – Ústav molekulární genetiky, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika

Školitel: Mgr. Júlia Starková, Ph.D.

Úvod: Homeoboxové (HOX) geny kódující transkripční faktory jsou velmi často deregulovány u řady leukémií. Naše předchozí výsledky popisují odlišnou hladinu exprese HOX genů u geneticky charakterizovaných subtypů dětské akutní myeloidní leukémie (AML). Celkově nejnižší exprese HOX genů byla detekována u PML-RARa pozitivních pacientů. U těchto pacientů korelovala exprese HOX genů pozitivně s expresí histon 3 lyzin 27 (H3K27) specifických demethyláz JMJD3 a UTX. Zároveň bylo již dříve publikováno, že PML-RARa fúzní protein se váže do oblasti genu JMJD3 (Martens, JH et al, 2010).

Cíl: Naším cílem bylo tedy ověřit, zda je snížená exprese HOX genů u této skupiny pacientů způsobena sníženou expresí JMJD3 a UTX demethyláz, která vede ke zvýšení hladiny represní chromatinové značky (H3K27me3) a tím také k inhibici transkripce cílových genů.

Materiál a metody: Ke stanovení hladiny exprese genů na mRNA úrovni byla použita metoda kvantitativní PCR (qPCR). Hladina modifikovaných histonů byla testována pomocí metody western blot na celkové proteinové úrovni a také metodou chromatinové imunoprecipitace (ChIP) na promotorech konkrétních genů. Životnost použitých buněčných linií byla testována pomocí průtokové cytometrie.

Výsledky: V přítomnosti ATRA (all-trans retinoic acid), která uvolňuje diferenciační blok způsobený PML-RARa, bylo detekováno zvýšení exprese HOX genů a histon demethyláz u PML-RARa+ buněčné linie NB4. Naopak při inkubaci této buněčné linie s ATRA v kombinaci s JMJD3/UTX specifickým inhibitorem GSK-J4 došlo ke snížení exprese HOX genů. Inkubace NB4 linie s ATRA dále způsobila snížení H3K27me3 na promotorech vybraných HOX genů, zatímco působení ATRA spolu s GSK-J4 vedlo k opačnému efektu. Zároveň inkubace této buněčné linie s kombinací ATRA a GSK-J4 způsobila redukci aktivační chromatinové značky (H3K4me2).

Následně bylo prokázáno, že kombinace těchto dvou látek způsobila synergistický apoptotický efekt u PML-RARa+ buněčné linie. Podobný efekt této kombinace byl detekován také u buněčných linií MV4,11 (MLL-AF4+) a BV173 (BCR-ABL+). Naopak u buněčné linie THP-1 (MLL-AF9+) nebyla životnost kombinací ATRA a GSK-J4 ovlivněna.

Závěr: Z výsledků vyplývá, že JMJD3 a UTX demethylázy se podílejí na regulaci transkripce HOX genů změnou histonového kódu. Apoptotický efekt specifického inhibitoru těchto demethyláz GSK-J4 v kombinaci s ATRA naznačuje možnost budoucího terapeutického využití u ATRA rezistentních PML-RARa+ pacientů.

Podpora projektu: GAČR P304/12/2214 a GAUK 568213.

O-06. PRENATAL SCREENING OF ANEUPLOIDIES USING THE FIRST TRIMESTER QUAD TEST HAS HIGHER DETECTION RATE AND POTENTIALLY DECREASES INVASIVE PRENATAL PROCEDURES WHEN COMBINED WITH NIPT: A CZECH PILOT STUDY

Vlckova M. (1), Tesner P. (1), Peskova M. (1), Vlk R. (2), Matecha J. (2), Hanulikova P. (2), Zimmermann P. (3), Geryk J. (1), Havlovicova M. (1), Macek M. Jr. (1), Stambergova A. (1), Macek M. Sr. (1)

1 – Department of Biology and Medical Genetics, Charles University 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic, 2 – Department of Obstetrics and Gynaecology, Charles University 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic, 3 – Department of Statistics and Probability, Faculty of Informatics and Statistics, University of Economics, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

Introduction: Trisomy 21 (T21), as the most common genetic cause of intellectual disability, has been the focus of prenatal screening since 1980s. Since then multiple alternative protocols for T21 prenatal screening have been developed, concurrently with the gradually increasing maternal age in Europe, and beyond.

Aims: Here we present our first experience with the first trimester combined QUAD prenatal test (measurement of PAPP-A, f?-hCG, PlGF, AFP together with ultrasound nuchal translucency /NT/ and nasal bone /NB/ assessement) in comparison to the current "dual screening" protocol (measurement of PAPP-A, f?-hCG with NT and NB). The main aim of the study was to optimize the indications for invasive prenatal diagnosis and non-invasive prenatal testing (NIPT).

Materials and Methods: We compared the results of QUAD screening with those generated by the "dual protocol" in 41 singleton pregnancies with proven T21 and 433 controls. Biochemical analyses were performed by B.R.A.H.M.S Kryptor for dual test and Perkin Elmer Delfia® Xpress for QUAD test, and the LifeCycle™ software was used for the risk calculations.

Results: Examined cases of pregnant women were stratified into 3 study cohorts: high risk (> 1:100), intermediate risk (1:101 – 1:500) and low risk (< 1:500) for data assessment and re-evaluation. Overall, we detected 97.6 % (for QUAD) and 85.4 % (for the "dual protocol") of all T21 pregnancies, respectively. In controls, 16.9 % of pregnant women were at high or intermediate risk (for the QUAD test), compared to 18.2 % (for the "dual protocol").

Conclusions: In conclusion, the QUAD test has higher detection rate of T21 than currently utilised prenatal screening protocols at our centre. Furthermore, if the QUAD testing strategy is combined with NIPT for the intermediate group, indications for invasive testing could be markedly reduced.

Support: Supported by FNM 00064203, IGA-NT13770, LN14073, NF-CZ11-PDP-3-003-201 and CZ.2.16/3.1.00/24022.

O-07. MOŽNOSTI SCREENINGU PREEKLAMPSIE – PRVNÍ VÝSLEDKY S VYUŽITÍM PLACENTÁRNÍHO MARKERU PLGF

Vlk R. (1), Macek M. sr.(2), Pešková M. (2), Turnovec M. (2), Hanulíková P. (1), Špálová I. (1), Vlčková M. (2), Rob L. (1)

1 – Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc.

Úvod: Preeklampsie (PET) je závažné onemocnění těhotných, které zásadní měrou ovlivňuje perinatální mortalitu i morbiditu. Identifikace klinicky využitelných screeningových testů ke stanovení rizika vzniku PET dříve, než se objeví klasické klinické symptomy, je v popředí zájmu mnoha recentních studií. Vzhledem k současnému pohledu na patogenezi PET dominuje v možnosti predikce tohoto onemocnění, vedle shodnocení anamnestických rizikových faktorů a měření krevního tlaku, zejména využití biochemických markerů (zejména růstového faktoru PlGF), a to buď samostatně anebo v kombinaci s ultrazvukovým dopplerovským zobrazením uterinních arterií.

Cíl: Cílem studie bylo vypracování metodického postupu laboratorního, ultrazvukového a klinicko-genetického vyšetření k časnému záchytu gravidit se zvýšeným rizikem PET s možností účinné prevence a léčby anopyrinem už mezi 13.–16. týdnem gravidity k vyloučení či ke snížení klinické závažnosti choroby.

Materiál a metody: Soubor tvořilo 512 těhotných, z nichž se u 92 rozvinula PET. Celkem bylo zpracováno 800 vzorků odebraných mezi 9.–18. týdnem. Pacientky s fyziologickým průběhem těhotenství tvořily kontrolní soubor. Z jejich výsledků byly propočteny normy PlGF pro 3., 5., 25., 50. (medián), 75. a 95. percentil. Byly propočteny prahové hodnoty ke stanovení rizika preeklampsie v I. a II. trimestru. Vedle výpočtu norem PlGF pro populaci těhotných žen v ČR byly stanoveny hladiny u pacientek s PET. Statistická analýza výsledků byla hodnocena neparametrickými testy (Kruskal-Wallis, Fisherův exaktní test a ??).

Výsledky: Výsledky prokázaly, že snížení hladin PlGF je vysoce významné zejména u extrémně časné formy PET s ukončením těhotenství mezi 24. a 29. týdnem. Výrazně snížené hladiny PlGF při ukončení gravidity odpovídaly normám 9. týdne. Časná forma PET s ukončením mezi 30.–33. týdnem měla hodnoty odpovídající 14. týdnu. Pozdní formy ve 34.–41. týdnu měly průměrné hodnoty odpovídající 16. týdnu, žádný vzorek nepřekročil hladinu pro 20. týden.

Závěr: V první části studie byly stanoveny spolehlivé normy PlGF pro I. a II. trimestr (9.–18. týden). Ve druhé části studie bylo prokázáno, že klinická závažnost PET odpovídá nepřímo úměrně stupni snížení hladin PlGF. Tím byl potvrzen i význam PlGF v patogenezi PET v důsledku významně snížené angiogeneze placenty. Klinický význam detekce PlGF koncem I. trimestru těhotenství představuje zásadní posun v predikci preeklampsie, neboť časná identifikace takto rizikově těhotných dává možnosti časné preventivní léčby.

O-08. Role epitelo-mezenchymální transformace v rozvoji remodelačních změn u chronických respiračních onemocnění

Hoňková L. (1), Beránková K. (1), Uhlík J. (2), Šimůnková P (1,2), Pohunek P. (1)

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

Školitel: Prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

Úvod: Remodelační změny bronchiální sliznice byly v minulosti považovány za specifické pro průduškové astma (AB). Studie v posledních letech však ukazují, že obdobné změny mohou být přítomny i u jiných chronických respiračních chorob, např. cystické fibrózy (CF). Etiopatogeneze těchto změn nebyla doposud jednoznačně určena. U pacientů s AB bylo popsáno, že chronické dráždění epitelových buněk může hrát roli v rozvoji bronchiální remodelace na podkladě epitelo-mezenchymální transformace.

Cíl: Cílem naší studie bylo posoudit výskyt znaků bronchiální remodelace a známek epitelo-mesenchymální transformace u různých skupin dětských pacientů s chronickými respiračními chorobami.

Materiál a metody: Do naší studie bylo prospektivně zařazeno 62 pacientů ve věku 4–19 let (11,24±3,83). Pacienti byli rozděleni do čtyř skupin – AB, CF, primární ciliární dyskineze (PCD) a kontroly. Mezi kontroly byli zařazeni pacienti bez postižení dolních cest dýchacích. Všichni podstoupili odběr vzorku bronchiální sliznice v průběhu flexibilní bronchoskopie na Pediatrické klinice FNM a 2. LF UK. Vzorek byl následně zpracován a vyhodnocen v laboratoři Ústavu histologie a embryologie 2. LF UK. U všech pacientů byla zhodnocena šíře bazální membrány (BM), jejíž ztluštění je považováno za typický znak bronchiální remodelace , epiteliální exprese transformujícího růstového faktoru beta-1 (TGF-?1), který je řazen mezi profibrogenní cytokiny, a počet myofibroblastů jako buněk, u nichž se předpokládá původ v epitelo-mesenchymální transformaci.

Výsledky: U všech chronických respiračních chorob (AB, CF, PCD) byla šířka BM, epiteliální exprese TGF-1 a počet myfibroblastů vyšší než u zdravých kontrol ($p < 0,01$). Sledované parametry se mezi jednotlivými skupinami (AB, CF, PCD) navzájem nelišily ($p > 0,05$). Šířka BM i počet myofibroblastů pozitivně korelovaly s epiteliální expresí TGF-?1 (r2 = 0,65, p ? 0,001; r2 = 0,34, p = 0,037).

Závěr: Rozšíření bazální membrány a zvýšený počet myofibroblastů byly pozorovány v bronchiální sliznici u dětí s chronickým respiračním onemocněním bez ohledu na základní diagnózu AB, CF nebo PCD. Obě změny navíc pozitivně korelovaly s epiteliální expresí TGF- ?1. Naše výsledky naznačují, že zvýšená exprese TGF- ?1 by mohla hrát klíčovou roli v bronchiální remodelaci u dětí s těmito diagnózami a že mezi epitelovými buňkami a myofibroblasty by mohl existovat úzký vztah.

Podpora projektu: GAUK 360213.

O-09. OBJEVENÍ NOVÉHO GENU ZPŮSOBUJÍCÍHO SPINOCEREBELÁRNÍ ATAXII POMOCÍ EXOMOVOVÉHO SEKVENOVÁNÍ

Ptáková N., Maříková T., Macek M. jr.

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

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

Úvod: Autozomálně dominantní spinocerebelární ataxie (SCA) představují velkou heterogenní skupinu mnoha typů progresivního neurodegenerativního onemocnění. Všechny typy SCA zahrnují určitý stupeň dysfunkce mozečku a různý stupeň postižení ostatních složek nervového systému. Široké spektrum mutací a genů, ve kterých se nacházejí, je příčinou časově i finančně nákladné a nezřídka kdy neúspěšné diagnostiky tohoto onemocnění na molekulárně genetické úrovni. Sekvenování nové generace (NGS) je metoda umožňující efektivně vyšetřit pacienty se vzácným genetickým onemocněním, u kterých konvenční vyšetřovací metody nebyly úspěšné, nebo ty, pro které tyto metody vzhledem k vzácnosti výskytu onemocnění nejsou dostupné.

Cíl: Cílem práce bylo využití exomového sekvenování (WES) v kombinaci s programy pro prioritizaci variant u případu čtyřgenerační rodiny s SCA, u které nebyl předešlými standardními vyšetřovacími metodami shledán žádný patologický nález odpovídající za fenotyp postižených pacientů.

Materiál a metody: Pro analýzu byli z dostupných vzorků vybráni 3 postižení zástupci napříč generacemi. Vzorky DNA byly analyzovány pomocí metody NGS v rozsahu exomu. Knihovny byly připraveny podle protokolu Nextera DNA preparation kit (Illumina, CA) a samotná sekvence byla provedena na platformě HiSeq 1500/2000 (Illumina, CA) sekvenováním v režimu Rapid Run. Získaná data jsme filtrovali základním kvalitativním filtrem (dostatečné pokrytí varianty) a na základě parametrů odpovídajících modelu dědičnosti (AD), frekvence výskytu v referenční populaci a podle konsekvence variant.

Výsledky: Nenalezli jsme žádnou potencionálně kauzální variantu v genech dříve popsaných v souvislosti s SCA. Varianty vyhovující našemu nastavení filtrace jsme dále analyzovali pomocí programu Exome Walker. Podařilo se nám identifikovat variantu v genu KCNA2. Nalezená sekvenační varianta NM_004974.3:c.881G>A se nachází ve vysoce konzervované doméně draslíkového kanálu. In silico byla varianta predikována jako poškozující. Následně jsme ověřili přítomnost této varianty u všech postižených členů rodiny a její absenci u všech zdravých členů rodiny sekvenací dle Sangera.

Závěr: Exomovým sekvenováním vybraných členů rodiny s SCA se nám podařilo identifikovat doposud nepopsanou kauzální variantu v genu KCNA2. Varianta je predikována jako poškozující a byla potvrzena u všech postižených členů rodiny (5/9), u zdravých členů (4/9) se varianta nevyskytuje.

Podpora projektu: NF-CZ11-PDP-3-003-2014.

O-10. HODNOCENÍ ZMĚNY LIPIDOVÉHO JÁDRA ATEROSKLEROTICKÉHO PLÁTU PŘI KAROTICKÉM STENTINGU POMOCÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROSKOPIE A INTRAVASKULÁRNÍHO ULTRAZVUKU

Štěchovský C., Hájek P., Špaček M., Horváth M., Veselka J.

Kardiologická klinika 2. LF UK a FNM, Praha

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

Úvod: Aterosklerotické onemocnění karotid je příčinou až jedné pětiny cévních mozkových příhod. Možnosti predikce ateroembolizačního rizika stenosy karotických tepen, a tedy i výběr pacientů, kteří by měli největší přínos z invazivní léčby, jsou velmi omezené. Nástroje k posouzení vulnerability karotického plátu in vivo nejsou zatím užívány v klinické praxi a jejich spolehlivost nebyla ověřena v klinických studiích.

Cíl: Užitím infračervené spektroskopie (NIRS) a intravaskulárního ultrazvuku (IVUS) zhodnotit velikost a složení aterosklerotických plátů v a. carotis interna (ACI) a efekt karotického stentingu (CAS) na lipidové jádro plátu.

Materiál a metody: NIRS-IVUS jsme provedli během 77 CAS u 73 pacientů (muži 66%, věk 67.4 ± 8.3 let) s angiograficky významnou (84 ± 9%) stenosou ACI. Měřili jsme minimální plochu lumen (MLA), velikost lipidového jádra – lipid core burden index (LCBI), nejvyšší LCBI na 4mm úseku tepny (LCBImax) a LCBI ve 4mm úseku tepny s nejmenší plochou lumen (LCBImla).

Výsledky: Oblast s nejvyšším LCBI s nacházela 2,87 mm (95% CI: 5,01 – 0,72) proximálně od oblasti MLA a měla zúžení 62.8 ± 20.4% oproti 88.9 ± 4.7% v místě MLA (p< 0.001). Během CAS se MLA zvětšila jak implantací stentu, tak postdilatací, efekt postdilatace na MLA byl větší (Tab.). Po implantaci stentu došlo k významnému poklesu LCBI, LCBImax i LCBImla, po postdilataci již k dalšímu poklesu nedošlo (Tab.).

Před CAS (A) Po implantaci stentu (B) Po postdilataci (C)
MLA (mm2) 4.01 ± 1.73*,+ 6.00 ± 2.70*,# 12.81 ± 3.83#,+
LCBI 97.7 ± 86.7*,+ 31.3 ± 43.8* 31.9 ± 48.6+
LCBImla 219.6 ± 237.5*,+ 24.2 ± 81.6* 23.4 ± 64 ± 7+
LCBImax 346.6 ± 209.0*,+ 143.8 ± 147.1* 138.3 ± 139.0+
*p<0.01 (A vs. B), #p<0.01 (B vs. C), +p<0.01 (A vs. C)

Závěr: Nejvyšší obsah lipidů v plátu se nacházel proximálně od místa maximální stenosy. Již samotná implantace samoexpandabilního stentu do ACI vedla k signifikantnímu zmenšení lipidového jádra plátu. Naopak na zvětšení lumen měla větší efekt postdilatace.

Podpora projektu: Studie byla spolufinancována z institicionální podpory FNM grant č. 6007.

O-11. VLIV ALZHEIMEROVY NEMOCI NA STRATEGIE POUŽÍVANÉ PŘI ORIENTACI V PROSTORU

Pařízková M. (1), Moffat S. D. (2), Vyhnálek M. (1,3), Andel R. (3,4), Hort J. (1,3), Laczó J. (1,3)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – School of Psychology, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, USA, 3 – Mezinárodní centrum klinického výzkumu, FN u sv. Anny v Brně, Brno, 4 – School of Aging Studies, University of South Florida, Tampa, Florida, USA

Pregraduální student

Školitel: Doc. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Úvod: U Alzheimerovy nemoci (AN) dochází velmi časně ke zhoršení kognitivních funkcí závislých na funkci hipokampu. Proto pacienti více využívají kompenzační kognitivní strategie.

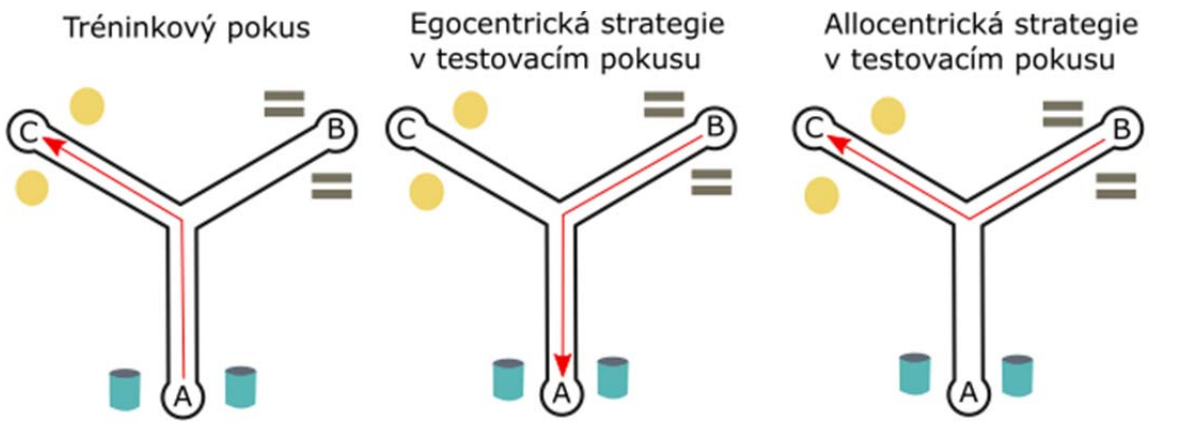
Cíl: Cílem naší studie bylo určit rozdíly v prostorové navigaci – allocentrické (podle orientačních značek v okolí, závislé na hipokampu) a egocentrické (podle vlastní polohy, nezávislé na hipokampu) u kognitivně nepostižených starších osob a u pacientů v časných stádiích AN.

Materiál a metody: Studie se zúčastnilo 16 pacientů s amnestickou mírnou kognitivní poruchou (aMCI) při AN, 12 pacientů s lehkou demencí při AN a 33 kognitivně nepostižených starších osob. Diagnóza AN byla podpořena biomarkery (atrofie hipokampu na MRI a/nebo snížená hladina beta-amyloidu a zvýšená hladina celkového a/nebo fosforylovaného tau proteinu). Subjekty absolvovaly test ve virtuálním bludišti tvaru písmene „Y" (viz. obrázek), které bylo vytvořeno za účelem posouzení navigačních strategií. Bludiště se skládalo z 5 bloků, z nichž každý obsahoval 5 tréninkových a 1 testovací pokus. V testovacím pokusu subjekty vycházely z místa, které nebylo na pozici původního startu ani cíle. Subjekty, které šly po trase naučené v tréninku (zahýbaly stále na stejnou stranu), používaly egocentrickou strategii. Zatímco subjekty, které došly správně do cíle (umístěného na opačné straně bludiště), používaly allocentrickou strategii.

Výsledky: Jednotlivé skupiny se lišily ve volbě strategií prostorové navigace (?2=8.06, p=.018). Pacienti s aMCI a lehkou demencí při AN v drtivé většině preferovali egocentrickou strategii (obě skupiny používaly v 90% egocentrickou a v 10% allocentrickou strategii). Kognitivně normální skupina shodně prerefovala egocentrickou (52%) a allocentrickou (48%) strategii. Volba strategie nezávisela na pohlaví subjektů (?2=0.28, p=.869).

Závěr: Pacienti s aMCI a lehkou demencí při AN preferovali egocentrickou strategii, zatímco kognitivně normální starší osoby měly téměř shodnou preferenci egocentrické a allocentrické navigační strategie. Výrazná preference egocentrické strategie v časných stádiích AN je nejspíše důsledkem funkčních a anatomických změn v hipokampu a přiléhajících meziotemporálních strukturách. Preference egocentrické strategie může odrážet kognitivní adaptaci na změny způsobené AN. Tato studie jako první dokumentuje proporcionální zastoupení jednotlivých navigačních strategií u pacientů v časných fázích AN.

Podpora projektu: GAUK č. 624012, 546113 a 1108214, IPL 2/2012 (699002), MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203, projekt FNUSA-ICRC (no. CZ.1.05/1.1.00/ 02.0123) z Evropského fondu regionálního rozvoje.



A - výchozí pozice v tréninkovém pokusu, B - výchozí pozice v testovacím pokusu, C - správná poloha cíle

O-12. VLIV GENERALIZOVANÉ EPILEPTIFORMNÍ AKTIVITY VE SPÁNKU NA KOGNITIVNÍ FUNKCE U DĚTÍ S FARMAKOREZISTENTNÍ EXTRATEMPORÁLNÍ EPILEPSIÍ

Novák V. (1,2), Maulisová A. (3,4), Ježdík P. (5), Komárek V. (6), Kršek P. (6)

1 – Oddělení dětské neurologie, Fakultní nemocnice Ostrava, 2 – Lékařská fakulta Ostravské univerzity, 3 – Oddělení klinické psychologie FN Motol, Praha, 4 – Katedra psychologie FF UK Praha, 5 – Katedra teorie obvodů, FEL, ČVUT Praha, 6 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Kršek, Ph.D.

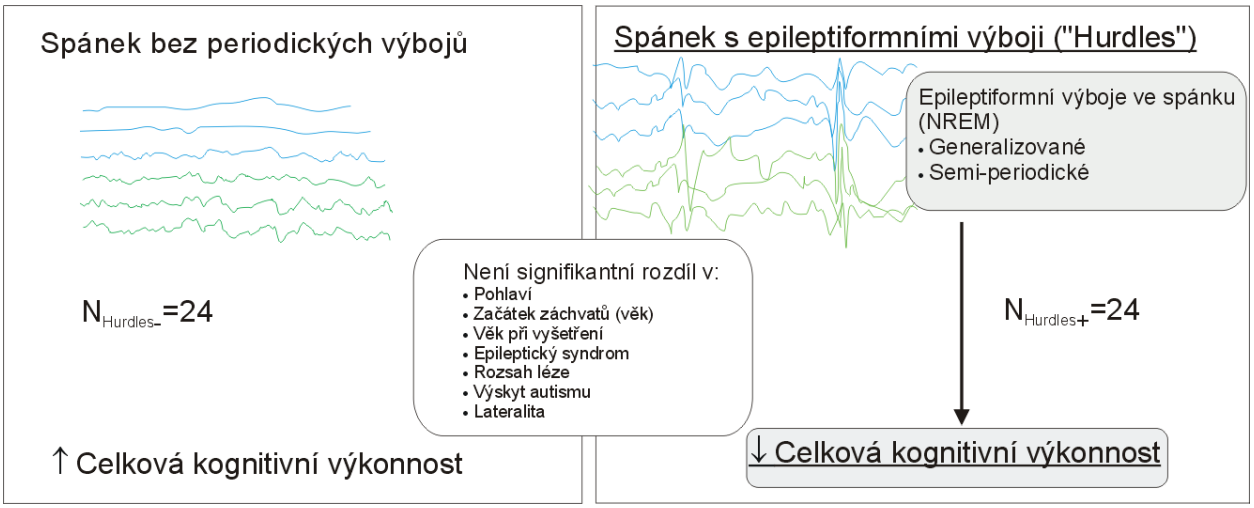
Úvod: Spánek má zásadní význam pro učení, paměť a další psychické funkce. Interiktální epileptiformní výboje v EEG (IED) narušují kognici v bdělosti, i když se neprojevují záchvatem. Vliv epileptiformní aktivity ve spánku na kognici u dětí s fokální (zejména extratemporální) epilepsií není dostatečně prozkoumaný.

Cíl: Ověření či vyvrácení hypotézy založené na klinickém pozorování: Elektrofyziologická desorganizace spánku a zejména semi-periodické výboje generalizované epileptiformní aktivity ve spánku jsou prediktorem kognitivního deficitu u dětí s farmakorezistentní fokální epilepsií.

Materiál a metody: Retrospektivně jsme analyzovali 48 dětí s farmakorezistentní extratemporální epilepsií léčených v Centru pro epilepsie Motol. U všech bylo provedeno dlouhodobé video-EEG , MRI mozku a podrobné neuropsychologické vyšetření. Spánkové EEG bylo vyhodnoceno jak vizuálně, tak pomocí softwarového detektoru. Pacienty jsme rozdělili do dvou skupin podle přítomnosti či nepřítomnosti generalizovaných semi-periodických epileptiformních výbojů v non-REM spánku významně narušujících organizaci spánku. Mezi oběma skupinami jsme porovnávali jednotlivé domény neuropsychologického vyšetření. Statistické analýzy jsme prováděli pomocí statistického software SPSS 15.0.

Výsledky: Mezi skupinou 24 pacientů se semiperiodickými generalizovanými interiktálními výboji ve spánku a s desorganizací spánku ("hurdles") a kontrolní skupinou 24 pacientů nebyl statisticky významný rozdíl v pohlaví, věku počátku záchvatového onemocnění, délce trvání záchvatového onemocnění v době vyšetření, typem epileptického syndromu, etiologií a rozsahem léze. Ve skupině "hurdles" (s desorganizací spánku) byly statisticky signifikantně nižší ($p < 0.01$) hodnoty celkové kognitivní výkonnosti (měřené komplexním standardizovaným testem odpovídající pro daný věk).

Závěr: Epileptiformní aktivita narušující spánkovou organizaci, zejména přítomnost četných generalizovaných interiktálních výbojů s periodicitou, je nezávislým prediktivním faktorem postižení kognitivních funkcí u dětí s farmakorezistentní fokální epilepsií.



O-13. STRUKTURÁLNÍ ZMĚNY KORTIKOSPINÁLNÍHO TRAKTU U DĚTÍ S VÝVOJOVOU DYSFÁZIÍ

Vydrová R. (1), Šanda J (2), Kynčl M. (2), Vránová M. (4), Štěrbová K. (1), Maulisová A. (3), Žáčková J. (3), Kršek P. (1), Reissigová J. (5), Jahodová A. (1), Komárek V. (1)

1 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, Praha, 3 – Oddělení klinické psychologie FN Motol, Praha, 4 – Klinická logopedie, Praha, 5 – Ústav informatiky Akademie věd České Republiky

Školitel: Prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Úvod: Vývojovou dysfázií (VD) trpí asi 5% dětské populace. Jedná se o vrozenou komplexní poruchu osvojení si řečových dovedností. Příčinou je porucha centrálního zpracování řečového signálu. V nedávné studii jsme s využitím magnetické rezonance prokázali, že jedním z patofyziologických mechanismů VD je porucha dozrávání mozkových traktů spojujících řečová centra. Porucha řeči je u pacientů s VD doprovázena přidruženými deficity, často poruchami grafomotoriky. Chtěli jsme proto ověřit, zda porucha maturace bílé hmoty zasahuje i kortikospinální trakt (CST), hlavní motorickou dráhu.

Cíl: Strukturální analýza kortikospinálního traktu u dětí s vývojovou dysfázií.

Materiál a metody: Analyzovali jsme data 37 dětí s vývojovou dysfázií a 34 kontrol (věk 6-12 let), párovaných dle věku, pohlaví a preference ruky. Psychologické vyšetření potvrdilo u většiny pacientů poruchu grafomotoriky. Mozkové dráhy byly zobrazeny pomocí metody magnetické rezonance, traktografie (DTI MRI). Hodnotili jsme objem a frakční anizotropii CST. Skupinové rozdíly mezi pacienty s VD a zdravými dětmi byly zjištěny pomocí ANCOVA, při kontrole věku a pohlaví.

Výsledky: Ve skupině pacientů byly zjištěny: (1) menší objem dráhy v levé (dominantní) hemisféře ($p=0.022$; VD: mean 6129, median 4712, SD 2568, kontroly: mean 3909, median 3936, SD 1680) a (2) snížené hodnoty frakční anozotropie bílé hmoty bilaterálně (levá hemisféra: $p<0.001$, VD: mean 0.477, median 0.480, SD 0.046, kontroly: 0.531, median 0.531, SD 0.032; pravá hemisféra: $p<0.001$, VD: mean 0.489, median 0.0491, SD 0.031, kontroly: 0.523, median 0.522, SD 0.033). Snížené hodnoty frakční anizotropie odráží deficitní mikrostrukturu bílé hmoty a svědčí pro poruchu dozrávání CST u dětí s VD.

Závěr: VD je spojena s difúznější poruchou maturace bílé hmoty mozku, která kromě řečových drah zasahuje také kortikospinální dráhu.

Podpora projektu: IGA NT/11443-5, MZ CZ – DRO, Fakultní nemocnice Motol, Praha, ČR 00064203.

O-14. VLIV SPECIFICKÉHO TRÉNINKU SENZOMOTORICKÉ KOORDINACE A SVALOVÉ SÍLY NA STABILITU STOJE U HRÁČŮ FLORBALU

Levínská K. (1), Opršal J. (2), Čakrt O. (1,3)

1 – Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole, 2 – Ústav environmentální chemie a chemického inženýrství, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, 3 – České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství

Pregraduální student

Školitel: PhDr. Ondřej Čakrt, Ph.D.

Úvod: Florbal je velice oblíbená sportovní disciplína charakteristická výraznou dynamikou, prudkými změnami pohybu a kontakty se spoluhráči, nevyhnutelně tak dochází k velkému počtu zranění. V zahraničních studiích bylo prokázáno, že jednou z možností, jak snížit riziko zranění DKK u sportovců je specifický nácvik senzomotorické koordinace a silový trénink zařazený do kondičního plánu sportovců. V rámci těchto studií byl hodnocen zejména vliv specifického prevenčního programu na sílu dolních končetin, rychlost, stabilitu stoje a na obratnost.

Cíl: Cílem práce bylo zjistit, zda má specifický trénink senzomotorické koordinace a svalové síly prováděný u sportovců po dobu 16 týdnů prokazatelný vliv na stabilitu stoje.

Materiál a metody: Skupinu vyšetřených osob tvořilo 16 mužů ve věku 17 až 32 let (24 ± 3.61). Ve skupině byli rovnoměrně střelci praváci a leváci (dle strany držení hole). Probandi byli poprvé stabilometricky vyšetřeni před intervencí koncem dubna 2014, intervence probíhala od 11. května do 31. srpna 2014 a druhé měření proběhlo v září 2014. V průběhu intervence byly do tréninkového plánu zařazeny cvičení svalové koordinace, balanční cvičení a posilovací cvičení DKK. K objektivizaci posturálních výchylek jsme použili stabilometr Synapsys posturography system (Synapsys, Francie).

Stabilitu stoje jsme hodnotili v 5 posturálních situacích: stoj na pevné podložce (stoj 1), stoj na pravé (stoj 2) a levé dolní končetině (stoj 3), stoj na pravé dolní končetině s nápřahem hokejkou vlevo (stoj 4), stoj na levé dolní končetině s nápřahem hokejkou vpravo (stoj 5). Všechny posturální situace byly měřeny jak s otevřenýma, tak se zavřenýma očima.

Pro hodnocení posturálních výchylek jsme zvolili tyto parametry CoP: délka křivky stabilogramu (L) a plocha stabilogramu (A). Naměřená data byla zpracována neparametrickým Wilcoxonovým testem v programu Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa, OK) Hladina statistické významnosti byla stanovena p?0.05.

Výsledky: Statisticky významný rozdíl před a po intervenci byl prokázán v situacích bez vizuální kontroly, a to ve stoji 2, 3,4 a 5 v obou parametrech (A i L). Ve stoji 1 ke statisticky významným změnám nedošlo.

Závěr: Bylo prokázáno, že 16-ti týdenní trénink senzomotorické koordinace a svalové síly zařazený do tréninkového plánu extraligových florbalistů zlepšuje parametry stability stoje při stabilometrickém vyšetření. Toto zlepšení je více významné u náročnějších posturálních pozic (stoj na jedné DK) s vyloučením vizuální kontroly.

Podpora projektu: Studie vznikla za podpory grantu PRVOUK.

O-15. VALPROIC ACID INCREASES CD133 POSITIVE CELLS THAT SHOW LOW SENSITIVITY TO CYTOSTATICS IN NEUROBLASTOMA

Khalil MA.(1), Hraběta J. (1), Groh T. (2), Procházka P. (3,4), Doktorová H. (1), Eckschlager T. (1)

1 – Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Medical Faculty, Charles University and UH Motol, Prague, 2 – Department of Biochemistry, Faculty of Science, Prague, 3 – Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences, Prague, 4 – Institute of Biology and Medical Genetics, 1st Medical Faculty, Charles University, Prague

Supervisor: Prof. Tomáš Eckschlager, MD, Ph.D.

Introduction: Valproic acid (VPA) is an antiepileptic drug that exhibits antitumor activities through its action as a histone deacetylase inhibitor. CD133 is considered to be a cancer stem cell marker and its high expression has been linked to a poor prognosis in various tumors including neuroblastoma. CD133 transcription can be regulated by several factors which can alter its expression such as epigenetic modifications.

Aims: We evaluated the epigenetic effects of treatment with 1mM VPA on the expression of CD133 in neuroblastoma cell lines.

Materials and Methods: We have measured the expression of CD133 in four neuroblastoma cell lines after treatment with 1mM VPA using western blot and flow cytometry. Acetylation status of histones H3 and H4 was assessed. We combined CD133 measurement with DAPI staining and cleaved caspase-3 antibodies to examine the chemoresistance and cell cycle of CD133+ and CD133- populations using flow cytometry. Colongenicity was examined after treating the cells with VPA. We performed methylation-sensitive high resolution melting analysis to assess the methylation status of CD133 promoter P1 and P3 of examined cell lines.

Results: Our results revealed that VPA induces CD133 expression that was in relation to increase the acetylation of histones H3 and H4. On treatment with VPA and cytostatics, CD133+ cells were mainly detected in the S and G2/M phases of the cell cycle and they showed less activated caspase-3 compared to CD133? cells. UKF-NB-3 neuroblastoma cells expressing CD133 have acquired higher colony formation capacity and activated Akt expression when treated with VPA, unlike IMR-32 which lacks for CD133 protein. VPA did not induce CD133 expression in cell lines with methylated P1 and P3 promoters, where the CD133 protein was not detected. Applying the demethylating agent 5-aza-2′-deoxycytidine to the cell lines with methylated promoters resulted in CD133 re-expression that was associated with a drop in P1 and P3 methylation level

Conclusions: CD133 expression in neuroblastoma can be regulated by histones acetylation and/or methylation of its CpG promoters. VPA can induce CD133+ cells which displayed high proliferation potential and low sensitivity to cytostatics in neuroblastoma. These results give new insight into the possible limitations of epigenetic cancer therapy (histone deacetylase inhibitors, demethylating agents).

Support: GA CR P301/12/1734, GA UK grant No 620612 and 635712/2012, Ministry of Health of the Czech Republic 00064203.

O-16. OPTIMALIZACE CYTOMETRICKÉ DETEKCE MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U PACIENTŮ S PREB AKUTNÍ LYMFOBLASTICKOU LEUKÉMIÍ S PŘESMYKEM DO MONOCYTÁRNÍ LINIE

Dobiášová A. (1), Nováková M. (1), Kalina T. (1), Froňková, E. (1), Slámová, L. (1), Starková, J. (1), Rejlová, K. (1), Kubričanová Žaliová, M. (1), Trka, J. (1), Hrušák, O. (1), Fišer, K. (1), Mejstříková, E. (1)

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

Školitel: Mgr. Karel Fišer, Ph.D.

Úvod: Nejčastěji se vyskytující malignitou u dětí je akutní lymfoblastická leukémie (ALL). Objevili jsme nový subtyp B prekurzorové (preB) ALL s přesmykem do monocytární linie během časné fáze léčby (swALL). U blastů dochází ke snížení exprese znaků specifických pro preB lymfocyty (CD19, CD34) a naopak zvýšení exprese monocytárních znaků (CD33, CD14) (Slámová, 2014).

Monitorování průběhu léčby u ALL probíhá prostřednictvím sledování minimální reziduální nemoci (MRN). MRN se obvykle detekuje pomocí qPCR (kvantitativní stanovení klonálních Ig-TCR přestaveb) a/nebo průtokovou cytometrií (PC).

Cíl: Zajímalo nás, zda detekce MRN PC přináší u pacientů se swALL srovnatelné výsledky s qPCR. Pomocí transkriptomu jsme hledali znaky vhodné pro diagnostiku a monitorování swALL PC.

Materiál a metody: Hladina MRN v kostní dřeni či periferní krvi u swALL pacientů v průběhu léčby byla stanovena pomocí qPCR a PC, u sortovaných monocytárních populací swALL pacientů pouze qPCR. Celogenomové stanovení exprese genů na úrovni mRNA (transkriptomu) bylo provedeno metodou RNAseq.

Výsledky: Při porovnání hladiny MRN u 26 swALL pacientů ve dnech 8, 15 a 33 od zahájení léčby jsme odhalili nesrovnalosti mezi hodnotami naměřenými qPCR a PC (Spearman. koef.: d8 0,61, d15 0,55, d33 0,18), které obvykle u preB-ALL korelují (Mejstříková, 2010). U 38 z 88 vzorků jsme pozorovali sníženou hodnotu PC MRN více než 10x oproti qPCR. U 17 swALL pacientů jsme proto v diagnóze a výše zmíněných časových bodech pomocí PC vysortovali monocytární populaci (CD34negCD33posCD14posCD19neg) a detekcí klonálních Ig-TCR přestaveb jsme sledovali zastoupení blastů v této populaci, které se pohybovalo mezi 0 – 100 % (medián 16 %). Rozdíly mezi PC a qPCR stanovenou MRN jsou tedy pravděpodobně způsobeny ztrátou exprese znaku CD19, který je důležitý pro stanovení MRN PC orientovanou na B lymfocytární znaky, na povrchu blastů v průběhu liniového přesmyku.

Analýza transkriptomů swALL a kontrolních preB-ALL (n=8,8) poukázala na signifikantně zvýšenou expresi genů CLEC12B, CLEC12A (CLL1) a CEACAM1 (CD66) u swALL B blastů již v diagnóze. Tyto geny kódují proteiny exprimované za fyziologických podmínek na zralých monocytech.

Závěr: Pro swALL je typická diskrepance mezi hladinami MRN měřenými qPCR a PC a přítomnost klonálních Ig-TCR přestaveb v monocytární populaci. Znaky identifikované na úrovni transkriptomu využíváme při diagnostice swALL a použili jsme je i při návrhu 16-18 barevné zkumavky pro PC k odlišení monocytoidních blastů od zdravých monocytů u swALL.

Podpora projektu: 15-28525A.

O-17. TRIMETHYLCÍNEM VYVOLANÝ MODEL NEURODEGENERACE JAKO NÁSTROJ PRO TESTOVÁNÍ NEUROPROTEKTIV

Chvojková M. (1, 2), Valeš K. (1, 3)

1 – Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, 2 – 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, 3 – Národní ústav duševního zdraví

Školitel: RNDr. Karel Valeš, Ph.D.

Úvod: Neurodegenerativní onemocnění včetně Alzheimerovy choroby (AD) představují závažný socioekonomický problém. Výzkum sporadické formy AD, který se v posledních dekádách zaměřoval hlavně na amyloidní hypotézu u genetických myších modelů, dosud nevedl k objasnění příčiny ani adekvátní léčby AD.

Alternativní možnost výzkumu představují farmakologické animální modely. Systémové podání trimethylcínu (TMT) u potkana indukuje selektivní poškození hipokampu, kognitivní deficit, excitotoxicitu, oxidativní stres, neuroinflamaci a progresivní neurodegeneraci, tedy jevy napodobující AD. Tento nadějný model by mohl přinést nový pohled na výzkum AD a její léčby.

Účinek TMT u potkana je však závislý na věku a kmeni a rovněž dávkování TMT a načasování následných testů se u jednotlivých autorů liší.

Cíl: Cílem tohoto projektu bylo validovat TMT model neurodegenerace u potkana v naší laboratoři pro účely budoucího testování léčiv.

Materiál a metody: Bylo nutno zvolit vhodnou dávku TMT, věk a kmen potkanů a typ a načasování následných testů. Zaměřili jsme se na indukci behaviorálních a histologických změn bez dosažení nežádoucích toxických účinků. Byli použiti samci potkanů kmene Long-Evans a Wistar různých věkových skupin (10-14 týdnů). Trimethylcín chlorid (8 mg/kg, ve fyziologickém roztoku) byl aplikován intraperitoneálně, kontrolním zvířatům byl aplikován fyziologický roztok. Zvířata byla ustájena samostatně. Jejich kognitivní funkce byly testovány v Morrisově vodním bludišti (úloha závislá na hipokampu; 14 dní po aplikaci TMT) a strachovém podmiňování (závislé na amygdale; 21 dní po aplikaci). 28 dní po aplikaci byla zvířata perfundována a bylo provedeno Nisslovo barvení hipokampu.

Výsledky: Jako nejvhodnější skupina byli zvoleni 11týdenní potkani kmene Wistar. Po podání TMT u nich byl pozorován kognitivní deficit (opožděné učení) v Morrisově vodním bludišti a histologické změny v hipokampu (rozpad CA3), avšak nedošlo k mortalitě. V testu strachového podmiňování byl u nich shledán pouze nesignifikantní kognitivní deficit.

Závěr: Validovali jsme TMT model neurodegenerace u potkana. Tento model nyní využijeme k testování účinku vybraných neuroprotektiv (antagonisté NMDA receptorů) na behaviorální (Morrisovo bludiště) i histologické úrovni. Výsledky těchto experimentů povedou k rozšíření současných znalostí o animálních modelech a možné budoucí farmakoterapii AD.

O-18. ČASNÉ PREDIKTORY KLINICKÉHO A MENTÁLNÍHO VÝVOJE U PACIENTŮ S TUBERÓZNÍ SKLERÓZOU: PROSPEKTIVNÍ STUDIE

Beňová B. (1), Petrák B. (1), Kynčl M. (2), Ježdík P. (3), Maulisová A. (4), Jahodová A. (1), Komárek V. (1), Kršek P. (1)

1 – Klinika dětské neurologie 2.lf UK a FN Motol, 2 – Klinika zobrazovacích metod 2. lf UK a FN Motol, 3 – České vysoké učení technické v Praze – Fakulta elektrotechnická, 4 – Oddělení klinické psychologie FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Pavel Kršek, Ph.D.

Úvod: Epilepsie představuje jednu z nejzávažnějších komorbidit u onemocnění tuberózní skleróza (TSC). Nedostatečná kompenzace záchvatů může vést k rozvoji mentální retardace a poruch autistického spektra pacientů s TSC.

Cíl: Cílem studie je nalézt časné prediktory farmakoresistence, mentální retardace a poruch autistického spektra (PAS) ve skupině dětských pacientů s pre- nebo perinatální diagnózou srdečních rhabdomyomů jako prvního příznaku TSC. Zároveň chceme demonstrovat význam standardizovaného diagnostického a sledovacího protokolu u pacientů s vysokým rizikem diagnózy TSC a rozvoje farmakorezistentní epilepsie s jejími negativními dopady na jejich dlouhodobou prognózu.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 22 dětí s definitivní diagnózou TSC, s pre-/perinatálně diagnostikovanými srdečními rhabdomyomy. Pacienty jsme prospektivně sledovali podle standardního protokolu vyvinutého v našem centru, který zahrnuje klinické, neuropsychologické, elektrofyziologické a neurozobrazovací vyšetřovací metody. Kromě informací o klinickém a mentálním vývoji jsme hodnotili dostupná EEG vyšetření z období před, v době, a po rozvoji epilepsie. V dostupných MRI vyšetření z období před a po dokončení myelinizace jsme hodnotili přítomnost typických TSC lézií, včetně přítomnosti známek fokální kortikální dysplázie.

Výsledky: Na základě výpočtů Barnardova testu a Kruskal-Wallace-ova testu nezávislosti se jako statisticky signifikantní ($p<0.05$) jeví zmiňované veličiny.

Jako prediktory rozvoje mentální retardace se ukázaly být abnormity v neurologickém vyšetření, časné opoždění psychomotorického (PM) vývoje, přetrvávající záchvaty a abnormální základní aktivita na EEG na konci sledování, nižší věk u prvního záchvatu, vyšší celkový počet užívaných antiepileptik a vyšší počet antiepileptik na konci sledování, vyšší četnost T1 hyperintenzních lézí a oblastí se známkami FCD na MRI. Časné opoždění PM vývoje, vyšší celkový počet užívaných antiepileptik a vyšší počet antiepileptik na konci sledování, vyšší četnost tuberů a oblastí se známkami FCD na MRI predikovaly rozvoj těžké mentální retardace. Jako prediktory rozvoje PAS se jevily: časné opoždění PM vývoje, selhání léčby první volby, abnormální základní aktivita a vyšší frekvence interiktálních výbojů na EEG na konci sledování a vyšší četnost oblastí se známkami FCD na MRI.

Závěr: Časná iniciace antiepileptické léčby a rychlá kompenzace záchvatů představují významné prediktory mentálního vývoje u pacientů s TSC.

Podpora projektu: GAUK 134415, int. číslo 2120196.

O-19. VLIV GRAVIDITY NA PRŮBĚH ROZTROUŠENÉ SKLERÓZY

Petržalka M. (1), Meluzínová E. (2)

1 – 2. LF UK, 2 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Eva Meluzínová

Úvod: Roztroušená skleróza (RS) je autoimunitní onemocnění CNS. Vyskytuje se nejčastěji mezi 20.–40. rokem věku, ženy jsou postiženy 2x častěji. Základním předpokladem pro příznivý průběh gravidity u nemocné s RS je stabilizace onemocnění v posledním roce před plánovaným početím. V průběhu gravidity zánětlivá aktivita onemocnění klesá, imunitní systém matky musí tolerovat přítomnost plodu vybaveného znaky otce.

Cíl: Cílem retrospektivní studie bylo sledování aktivity onemocnění 1 rok před graviditou, během gravidity a během prvního roku po porodu. Dále jsme sledovali vliv kojení na aktivitu onemocnění.

Materiál a metody: Aktivita onemocnění byla hodnocena dle klinického vývoje (počet relapsů a škála EDSS) a pomocí dynamiky na MR. Byla srovnána aktivita onemocnění u kojících a nekojících matek v období prvých 6 měsíců po porodu. Aktivita onemocnění prvých 6 měsíců po porodu byla dále korelována s aktivitou onemocnění v měsíci 7-12, kdy ženy již nekojily.

Výsledky: Do souboru jsme zařadili 87 gravidit (74 pacientek, 13 z nich rodilo dvakrát). Většina porodů byla vedena přirozenou cestou, jen v 9 případech byla gravidita ukončena císařským řezem. Předčasně rodilo 20 pacientek. Průměrný věk v době porodu byl 31 let. Ve sledovaném souboru (n=87) jsme zaznamenali 7 relapsů před graviditou a 3 relapsy v graviditě.

Po porodu kojily pacientky celkem v 75 případech, v 12 případech nekojily vůbec. Laktaci předčasně ukončilo 13 pro relaps a 26 z jiných důvodů, 36 kojilo ?6 měsíců. Během prvních šesti měsíců po porodu byl relaps zaznamenán v 18 případech, z toho v 15 případech u kojících. Kromě 2 případů znamenal relaps ukončení laktace. U nekojících se relaps vyskytl ve 3 případech. V dalším sledovaném období mezi 7. – 12. měsícem po porodu mělo relaps 19 pacientek, z toho 7 kojilo ?6 měsíců.

Progrese na MR provedené za rok po porodu se objevila u 43 pacientek (ze kterých kojilo 15) oproti 47 v 1 roce před graviditou. EDSS se za rok po porodu zhoršilo u 9 pacientek (ze kterých kojila 1), průměrné EDSS se však zvýšilo minimálně (z 1,3 na 1,4). Eskalace na léky druhé linie byla nutná u 2 nemocných (1 kojila 2 měsíce, 1 nekojila).

Závěr: Vyšší počet relapsů v prvém roce po porodu a snížení klinické aktivity během gravidity je v souladu s literárními údaji. Vývoj EDSS v prvém roce po porodu nesvědčí pro nárůst invalidity. Vývoj nálezů na MR po porodu nesvědčí o negativním vlivu těhotenství na průběh onemocnění. Počet relapsů v sledovaném období laktace nepřevýšil počet relapsů v době, kdy ženy již nekojily.

POSTERY 2015

P-01. PREDIKCE KOMPLIKOVANÉHO POSTNATÁLNÍHO VÝVOJE U NOVOROZENCŮ S GASTROSCHÍZOU NA ZÁKLADĚ PRENATÁLNÍCH ULTRAZVUKOVÝCH MARKERŮ

Frýbová B. (1), Vlk R. (2), Kokešová A. (1), Rygl M. (1)

1 – Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol, 2 – Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol

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

Úvod: Gastroschíza je nejčastější vrozenou vadou břišní stěny a je dobře diagnostikovatelná na prenatálním ultrazvuku. Pokud se podaří najít takové ultrazvukové markery, jejichž přítomnost by předvídala komplikace po porodu, mohl by ultrazvuk ve spojitosti s gastroschízou pomoci i klinikům v další postnatální péči.

Cíl: Cílem studie je najít prenatální ultrazvukové markery, které predikují komplikovaný postnatální průběh u novorozenců s gastroschízou.

Materiál a metody: Retrospektivní analýza dat novorozenců operovaných na našem pracovišti v letech 2004-2013. Celkem 64 ultrazvukových nálezů z 30. týdne těhotenství bylo porovnáno s daty z lékařských zpráv (konkrétně s dobou hospitalizace, přítomností atrézie střeva, počátkem enterálního příjmu, celkovou dobou parenterální výživy a počtem operací), abychom indentifikovali prenatální ultrazvukové nálezy, které predikují komplikovaný postnatální průběh. Mezi ultrazvukovými markery jsme se zaměřili na přítomnost intraabdominální dilatace střevních kliček plodu, eventraci žaludku nebo kolon, zesílenou stěnu střeva plodu, přítomnost oligohydramnia a velikost defektu v břišní stěně. Statistická analýza byla provedena s použitím Mann-Whitneyho U-testu a Studentského T-testu.

Výsledky: Bylo zpracováno 64 kompletních dat z lékařské dokumentace pacientů s gastroschízou. 30 dětí se narodilo císařským řezem, 34 dětí per vias naturales, ale dle naší studie způsob vedení porodu neměl vliv na budoucí vývoj novorozence s gastroschízou. Průměrný věk gestace byl 35 + 6, průměrná porodní hmotnost byla 2270 g (1110 g – 3790 g).

Bylo zjištěno, že prenatální intraabdominální dilatace střeva plodu (více než 10 mm) souvisí s výskytem střevní atrézie ($p<0.01$), delší dobou parenterální výživy, delší dobou hospitalizace (medián 53 vs. 21 dní, 68 vs. 36 dní, obě hodnoty s $p<0.05$) a v celkovém součtu s větším množstvím chirurgických výkonů ($p< 0.05$). Pacienti s prenatálně zesílenou stěnou střeva (rovno nebo větší než 3 mm) vyžadovali delší dobu podávání parenterální výživy (medián 34 vs. 20 dní; $p<0.01$) a delší dobu hospitalizace (medián 44 vs. 37 dní; $p<0.05$). Přítomnost oligohydramnionu (AFI cut off 8 cm) byla spojena s delší dobou parenterální nutrice, kterou naši pacienti vyžadovali (medián 30 vs. 16 dní, $p< 0.05$).

Atrézii střeva jsme během operace nalezli v 6 případech. Tito pacienti potřebovali delší dobu podávání parenterální výživy (medián 74 vs. 22 dní; $p<0.05$), delší dobu hospitalizace (medián 86 vs. 36 dní; $p<0.01$) a podstoupili větší počet chirurgických operací ($p<0.01$). Letalita našeho souboru byla 5% (3 pacienti), ale proběhlá analýza neprokázala žádnou korelaci s výskytem sledovaných ultrazvukových markerů. U přítomnosti eventrace kolon či žaludku jsme neobjevili souvislost s budoucím postnatálním vývojem, vliv neměla ani velikost defektu břišní stěny měřená ve 30. týdnu gestace.

Závěr: Přítomnost oligohydramnionu (s AFI cut off 8 cm), zesílené stěny střevní u plodu (rovno nebo více než 3 mm) a přítomnost intraabdominální střevní dilatace (více než 10 mm) signifikantně predikuje komplikovaný pooperační průběh u pacientů s gastroschízou.

Podpora projektu: Studie je podporována grantem GA UK 159115, 2. LF UK.

P-02. ANOREKTÁLNÍ DYSFUNKCE PŘI PORUŠE PÁNEVNÍHO DNA U PACIENTŮ S ROZTROUŠENOU SKLERÓZOU

Kövári M. (1), Havlíčková M. (1), Malá Š. (2), Keil R. (2)

1 – Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. LF UK a FN Motol, 2 – Interní klinika FN Motol a 2. LF UK, oddělení gastroenterologie

Školitel: doc. MUDr. Radan Keil, Ph.D.

Úvod: Dysfunkce pánevního dna ve smyslu anorektálních poruch dle dostupných literárních údajů bývá častým projevem pacientů s poruchou centrálního motoneuronu. U pacientů s roztroušenou sklerózou (RS) se vyskytuje obstipace u 18-43 %, a inkontinence stolice u 3-51% . Inkontinenci stolice u RS pacientů způsobuje několik faktorů: nedostatek volní kontroly zevního análního svěrače (pro poruchu vláken pyramidového traktu inervující zevní anální sfinkter), rektální hyperaktivita (snížením inhibičních mechanismů CNS), snížení rektálního tonu a schopnosti kontrakce vedoucí k rektální distenzi a také snížení či úplné vymizení anální senzitivity při poruše drah senzitivních. Svůj podíl mají zřejmě i viscerální senzorické mechanismy (zhoršení vnímání rektálního obsahu, nedostatečné vnímání nutkání na stolici).

Cíl: Chtěli bychom prokázat, že individuální intenzivní fyzioterapie v kombinaci s biofeedbackem může snížit výskyt inkontinenčních epizod stolice u RS pacientů, zlepšit svalovou sílu análních svěrači a timing zapojení svalů pánevního dna či alespoň zlepšit subjektivní vnímání pacientů a tím zlepšit kvalitu jejich života (dotazníky níže uvedenými). Předpokládaná velikost souboru cca 20 pacientů.

Materiál a metody: Do studie jsou zařazení pacienti s RS kteří trpí inkontinencí stolice či kombinovanou anorektální dysfunkcí (obstipace v kombinaci s epizodami inkotinence) a to bez jiných přidružených onemocnění ovlivnující kvalitu defekace. Základní klinické vyšetření se doplňuje o vyšetření rektální manometrií, endosonografií svěrače a vyplnění dotazníků St Marks Faecal Continence Score a Fecal Incontinence Qualityof Life Scale. Tyto dotazníky a rektální manometrie se pak doplňuje kontrolně po 3 měsíční intenzivní fyzioterapii a také po následném třiměsíčním cíleném samostatném domácím cvičení.

Výsledky: Během 2 let práce na studii se nám podařilo shromáždit výsledky u 10 pacientů, další dva máme aktuálně v terapii. První výsledky hovoří slibně – v dotaznících se u většiny pacientů zlepšila kvalita života pacienta a výsledky rektální manometrie korespondují s výše uvedenými dotazníky – poukazují na zvýšení svalové síly kontrakce zevního svěrače anu a zvýšení výdrže kontrakce.

Závěr: Bohužel tato studie je velmi náročná na spolupráci pacienta i časové možnosti jak pacienta, tak terapeuta, proto soubor těchto pacientů je zatím takto malý. Plánujeme další nábor pacientů, neboť z pilotních výsledků je zřejmé, že z rehabilitace svalů pánevního dna pacienti s RS zjevně profitují.

P-03 MOLEKULÁRNÍ TYPIZACE IZOLÁTŮ CLOSTRIDIUM DIFFICILE ANEB CO NÁM PROZRADILO ČTENÍ V GENOMU O EPIDEMIOLOGII INFEKCÍ VYVOLANÝCH C. DIFFICILE V ČR

Krůtová M. (1, 2), Matějková J. (1), Kuijper E. (3) a Nyč O. (1)

1 – Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Fakultní nemocnice v Motole, 2 – DNA laboratoř, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Fakultní nemocnice v Motole, 3 – Leiden University Medical Centre, Leiden, the Netherlands

Školitel: MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.

Úvod: Clostridium difficile je v současnosti nejvýznamnějším nozokomiálním patogenem vyvolávajícím střevní infekce zpravidla v souvislosti s předchozí nebo současnou antibiotickou terapií. Aktivní surveillance infekcí vyvolaných C. difficile není v ČR prozatím k dispozici a česká epidemiologická data pocházejí pouze z časově omezených celoevropských studií.

Cíl: Zmapování epidemiologické situace výskytu a šíření C. difficile v České republice. Získaná data zasadit do evropského kontextu sledování infekcí vyvolaných C. difficile.

Materiál a metody: V období 2013-2015 bylo shromážděno 2311 klinických izolátů C. difficile z 94 zdravotnických zařízení v ČR. U všech izolátů byla provedena ribotypizace založená na kapilární elektroforéze (CE) podle evropského doporučeného protokolu (http://www.ecdisnet.eu/). K určení ribotypu byly získané CE profily porovnány s Leiden-Leeds sbírkou referenčních profilů a také s profily dostupnými ve Webribo databázy (https://webribo.ages.at). Přítomnost genů pro tvorbu toxinů (A, B, binární) byla detekována pomocí multiplex PCR reakce. Míra genetické příbuznosti v rámci prevalujícího ribotypu byla stanovena porovnáním 5 úseků obsahující tandemové repetice metodou multi-locus-variable tandem-repeats analysis (MLVA). Fylogenetická příbuznost identifikovaných ribotypů byla provedena pomocí multi-locus-sequence typing (MLST).

Výsledky: Ribotypizací jsme určily 53 různých CE profilů, z nichž bylo 29 ribotypů a 24 Webribotypů. Toxigenní (A, B) byly izoláty ze 46 skupin CE profilů a z těchto, 7 skupin izolátu neslo zároveň geny pro produkci binárního toxinu. Dominantními ribotypy byly: 001 (461; 19, 9%) a 176 (600; 26%). MLVA provedená u izolátů RT001 a RT176 z roku 2014 odhalila 27 klonálních komplexů tvořených 84.5 % izolátů RT176 a 14 klonálních komplexů tvořených 76,6 % izolátů RT001. Klonální šíření bylo potvrzeno v rámci konkrétního nemocničního zařízení tak i mezi nemocnicemi zpravidla ve vztahu regionální-fakultní.

MLST analýzou 53 zástupců jednotlivých ribotypů jsme identifikovali 40 sekvenačních typů klastrujících do pěti příbuzných fylogenetických skupin.

Závěr: Během 2013-2015 byla shromážděna jedinečná sbírka klinických C. difficile izolátů obsahující 53 ribotypů a 40 sekvenačních typů. Z výsledků molekulární typizace jsme zjistili, že epidemiologické situace výskytu a šíření C. difficile v ČR má dva jmenovatele: ribotyp 001 a 176. U obou těchto ribotypů bylo potvrzeno klonální šíření metodou MLVA.

Podpora projektu: MZ ČR IGA NT14209-3 (2013-2015).

P-04. GENETICKÉ VYŠETŘENÍ ČESKÝCH PACIENTŮ S HEREDITÁRNÍ A „IDIOPATICKOU" CHRONICKOU PANKREATITIDOU

Koudová M. (1,2), Macek Jr. M. (1), Anguelová I. (1), Kotalová R. (3), Nevoral J. (3), Špičák J. (4)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – GENNET, Praha, 3 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 4 – Klinika hepatogastroenterologie, IKEM, Praha

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

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

Cíl: Molekulárně genetické vyšetření genů PRSS1, SPINK1 a CFTR u 95 pacientů s klinickou dg. ICP (46 dětí, 49 dospělých) a 29 pacientů s klinickou diagnózou HP (11 dětí, 18 dospělých). Korelace nálezů vyšetřením 227 kontrol české populace (112 žen a 115 mužů, věk 18-45 let).

Materiál a metody: Izolace DNA ze žilní krve. Nejčastější mutace genů PRSS1 (R122H a N29I) a SPINK1 (N34S) byly testovány pomocí nested PCR a restrikční analýzy s gelovou elektroforézou a vizualizací zařízením UV/kamera. Celá kódující sekvence CFTR genu byla analyzována metodou DGGE s konfirmací nálezu metodou přímého (Sanger) sekvenování.

Výsledky: Frekvence mutací R122H a N29I PRSS1 byla ve srovnání s kontrolami (0/454) signifikantně zvýšena ($p < 0.001$) ve skupině pacientů s klinickou dg. HP (8/58), ale ne ve skupině dětských a dospělých pacientů s klinickou dg. ICP (2/190). Mutace N34S genu SPINK1 byla prokázána ve skupině pacientů s HP (6,9%) i dospělých pacientů s ICP (2%), ale ve srovnání s kontrolami (1,8%) byl signifikantní nález jen ve skupině dětských ICP pacientů (8,7%). Všichni pozitivní pacienti byli heterozygoti pro detekovanou mutaci, homozygot ani složený heterozygot nebyl nalezen. Frekvence CFTR mutací (F508del, R117H, L997F) byla zvýšena jen u dospělých ICP ($p=0.01$) a byla asociována se zvýšenou frekvencí haplotypu IVS8 (T)9/(TG)10 ($p=0.001$) a polymorfismem 125G/C ($p=0.01$) ve srovnání s kontrolami.

Závěr: Výsledky ukazují, že vyšetřované mutace PRSS1, SPINK1 a CFTR genů jsou asociovány s rozvojem ICP/HP u českých pacientů, ale vzhledem k nízké frekvenci mutovaných alel ve skupině pacientů předpokládáme přítomnost dalších mutací v těchto nebo i jiných, nám dosud neznámých genech. Význam molekulárně genetické diagnostiky je především pro dif. dg. ICP/ HP, u pozitivních případů musí být vždy následována klinickou dispenzarizací k prevenci komplikací (zvýšené riziko adenokarcinomu pankreatu u pacientů s HP, porucha spermiogramu u mužských nositelů mutace CFTR genu) a genetickým poradenstvím k zajištění testování pokrevních příbuzných v riziku (prevence CF v rodině).

Podpora projektu: podpora 6112 VZFNM 0000064203.

P-05. KOŽNÍ TOXICITA BIOLOGICKÉ TERAPIE EGFR A VEGF INHIBITORY JAKO MOŽNÝ PREDIKTOR EFEKTU TÉTO LÉČBY U ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ

Koblová K. (1), Jůzlová K. (1), Rob F. (1), Pála M. (3), Pauk N. (2), Hercogová J. (1)

1 – Dermatovenerologická klinika 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, 2 – Klinika pneumologie a hrudní chirurgie 3. LF UK a Nemocnice Na Bulovce 3 – Ústav radiační onkologie 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce

Školitel: Prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc.

Úvod: Biologická léčba je v současnosti jednou z nejmodernějších terapií onkologických pacientů. Kožní toxicita u onkologických pacientů, léčených EGFR a VEGF inhibitory, je nejčastějším vedlejším účinkem. Nejčetnější popsanou dermatologickou diagnózou, vzniklou v souvislosti s touto biologickou terapií, je papulopustulózní erupce (známá také jako akneiformní exantém).

Jsou vybíráni onkologičtí pacienti na specifické biologické terapii (EGFR nebo VEGF inhibitorech), kterým se při této léčbě vyskytly dermatologické projevy.

Cíl:

1. Cílem je zjistit souvislost výskytu papulopustulózní erupce s jednotlivými demografickými sledovanými daty vybrané populační skupiny.
2. Cílem je prokázat nebo vyloučit souvislost stupně papulopustulózní erupce s délkou přežití u onkologických pacientů, léčených vybranými biologickými preparáty.
3. Srovnání lokalizace a závažnosti kožních projevů při léčbě EGFR a VEGF inhibitory v určeném časovém intervalu mezi jednotlivými biologickými léčivy (cetuximab, paniutmumab, erlotinib a další).
4. Rozšířit a upevnit mezioborovou spolupráci dermatologů a onkologů.
5. Vytvoření informačního letáku pro pacienty o vedlejších dermatologických účincích dané biologické léčby.
6. Vytvoření diagnosticko-léčebného postupu u pacientů, léčených EGFR a VEGF inhibitory pro Českou republiku.

Materiál a metody: Na Dermatovenerologické klinice 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce proběhne dermatovenerologické vyšetření a v nejasných případech bioptický odběr vzorků k verifikaci diagnózy (lokální anestezie, injekční stříkačky, průbojníky, pinzety, nůžky, krytí).

Výsledky: Doposud bylo vyšetřeno 22 pacientů, léčených cílenou terapií EGFR a VEGF inhibitory. Ve vzorku je 12 mužů a 10 žen. Vedlejším kožním účinkem (akneiformním exantémem) byli postiženi všichni sledovaní pacienti. Pacientům byla indikována biologická léčba v 9 případech pro bronchogenní karcinom, ve 13ti případech pro tumory kolorekta. Ve srovnání užité biologické léčby erlotinibem, který se užívá především v terapii bronchogenního karcinomu, jsou paronychia častějším vedlejším kožním účinkem než u léčby cetuximabem, který se užívá především v terapii kolorektálního karcinomu.

Závěr: Výše uvedené hypotézy této práce byly doposud ověřovány pouze v zahraničních studiích. Je nutné objasnit, zda dynamika vedlejších kožních projevů koreluje s dynamikou tumoru. Snahou této práce je zlepšit kvalitu života onkologických pacientů vytvořením informačního textu, obsahující stručné validní informace o vedlejších kožních účincích jejich léčby.

P-06. PŘÍPRAVA PROTOKOLU VÝROBY TUMOR SPECIFICKÝCH LYMFOCYTŮ PRO ADOPTIVNÍ TRANSFER V LÉČBĚ NÁDORU PROSTATY

Vávrová K. (1), Horváth R. (1,2), Vrabcová P. (1), Bartůňková J. (1)

1 – Ústav imunologie 2. LF a FN Motol, 2 – Oddělení revmatologie dětí a dospělých FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.,MBA

Úvod: Adoptivní transfer tumor specifických T lymfocytů (Adoptive cell transfer, ACT) je slibnou imunoterapeutickou strategií využívanou k navození protinádorové odpovědi u pacientů s onkologickým onemocněním. Metoda je založena na ex vivo expanzi tumor specifických T lymfocytů s následným podáním zpět pacientovi.

Cíl: Cílem projektu je vypracovat a optimalizovat experimentální protokol výroby autologních tumor specifických T lymfocytů pomocí vakcíny z dendritických buněk vhodný pro adoptivní transfer pacientům s karcinomem prostaty.

Materiál a metody: Expanze lymfocytů probíhá v podmínkách ex vivo, za pomoci autologní vakcíny na bázi dendritických buněk, které jsou pulzované prostatickou nádorovou linií LNCaP. T lymfocyty dárce se ko-kultivují s autologní vakcínou, čímž se indukuje tvorba tumor specifických lymfocytů. Tyto preinkubované lymfocyty se následně stimulují pomocí magnetických kuliček Dynabeads (anti-CD3/anti-CD28) a dále expandují na klinicky požadované množství. Ve finálním produktu stanovujeme frekvenci a fenotypový profil tumor specifických T lymfocytů a následně testujeme schopnost těchto lymfocytů zabíjet buňky nádorové linie.

Výsledky: Frekvence tumor specifických T lymfocytů ve finálním produktu v průměru odpovídala 2,3 % u CD8+IFNg+ a 22 % u CD4+IFNg+ T lymfocytů. Analýza fenotypu také prokázala, že většina těchto lymfocytů exprimuje molekuly CD27 a CD28, ale zároveň neexprimuje znak CD57. Tento profil odpovídá efektorovým paměťovým T buňkám, které však nejsou terminálně diferencované a tudíž jsou vhodné pro účely adoptivního transferu. Test cytotoxicity prokázal, že takto vypěstované T lymfocyty mají životnost více než 92 % a jsou schopny ex vivo zabíjet nádorové buňky prostatické linie LNCaP.

Závěr: Experimenty byly provedeny na modelu zdravých dárců (n= 6) v běžných laboratorních podmínkách, nyní převádíme protokol na krevní produkt pacientů s karcinomem prostaty. Předpokládáme, že kombinovaná terapie vakcíny a ACT povede k navození protinádorových imunitních odpovědí a přispěje k účinnější léčbě pacientů.

Podpora projektu: Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze (projekt č. 960214).

P-07. MATEŘSKÁ SYNCHRONIZACE SUPRACHIASMATICKÝCH JADER POTKANA BĚHEM ONTOGENEZE

Olejníková L. (1,2), Polidarová L. (2), Sumová A. (2)

1 – 2. LF UK Praha, 2 – FGÚ AV Praha

Školitel: PharmDr. Alena Sumová, DSc.

Úvod: Cirkadiánní systém umožňuje organismům adaptovat se na periodicky se měnící podmínky na Zemi. Jeho ontogenetický vývoj probíhá postupně a největší změny prodělává během pozdně embryonálního a raně postnatálního vývoje. Pro jeho správnou funkci je důležitý také vývoj jeho synchronizace s vnějším prostředím. Zatímco v dospělosti je nejvýznamnějším synchronizátorem cirkadiánních hodin světlo, během rané ontogeneze se uplatňují nesvětelné synchronizační podněty, a to především rytmické mateřské signály. Plný rozsah mateřské synchronizace však není dosud zcela znám.

Cíl: Cílem této práce bylo zjistit, zda může být cirkadiánní systém mláďat ovlivněn pozměněným cirkadiánním fenotypem matky, který byl reprezentován samicemi spontánně hypertenzního potkana (SHR).

Materiál a metody: Březí samice potkanů Wistar a SHR byly chovány ve standartních světelných podmínkách LD 12:12 hod a byly krmeny ad libitum. Den po narození byly celé jednotlivé vrhy mláďat přemístěny k náhradním matkám druhého kmene. Vzorky suprachiasmatických jader hypotalamu (SCN) a periferních tkání byly odebrány ve 4hod intervalech v průběhu celého dne ve věku 10 a 30 dní po narození (P10 a P30). Hladiny mRNA hodinových genů Per2, Bmal1 a Rev-erb? byly stanovovány metodami in situ hybridizace a RT-qPCR.

Výsledky: Zjistili jsme, že ve věku P10 došlo k fázovému posunu genové exprese u mláďat Wistar potkana vychovávaných SHR matkami. U mláďat SHR, která byla vychovávána Wistar matkami k žádnému signifikantnímu posunu v genové expresi nedošlo. Ve věku P30 nebyl efekt mateřské synchronizace na SCN prokázán.

Závěr: Tyto výsledky ukázaly, že ve věku P10 může být cirkadiánní systém mláďat stále ovlivněn narušeným cirkadiánním fenotypem matky, ačkoliv v této době jsou cirkadiánní hodiny mláďat již plně synchronizovatelné světlem.

Podpora projektu: Práce byla podpořena grantem GAČR No. P30412G069 a grantem GAUK No. 352214.

P-08. QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH COMPLEX REGIONAL PAIN SYNDROME

Marcisova H. (1), Kozak J. (2) and Cerny R. (3)

1 – 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 2 – Department of Pain Research and Treatment, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague and Motol University Hospital, 3 – Department of Neurology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague and Motol University Hospital

Supervisor: MUDr. Rudolf Černý CSc.

Introduction: Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) is a debilitating chronic disease with largely unknown etiology. Recent pathophysiological hypotheses consider this syndrome as a form of central neuropathic pain in which remodelation of cortical somatosensory and pain-related areas lead to abnormal pain perception and severe autonomic and vasomotor dysregulation of the affected body segments.

Aims: Our objective was to investigate the consequences of CRPS on quality of life (QOL) of the patients.

Materials and Methods: In a cross-section study, we have used a validated measure of quality of life EQ5D-3L in order to assess the impact of CRPS on QOL in a group of 40 chronic CRPS patients treated at the Center for Treatment and Study of Pain, University hospital Motol. The outcomes were compared with European and German normal, age and sex matched population.

EQ5D-3L questionnaire consists of five parameters assessed in three levels from which an index of life quality is calculated and a visual analogue scale of overall quality of life. Statistical analysis was calculated using the R package.

Results: QOL in CRPS patients is significantly decreased by more than 50% both in terms of QOL index (patients 0,668±0,078, controls 0,906± 0,011, p<0.001) and visual analogue scale (patients 52,41±7,172, controls 78,187±1,486, p<0.001).

Linear model analysis of five QOL parameters (motion, self care, activities of daily living, pain, anxiety/depression) showed highest impact of pain and self care parameters on the QOL in CRPS patients.

Two patients subgroups were identified – more affected group (QOL index ? 0,4) and less affected group (QOL index ? 0,5). More affected group of patients had longer average duration of disease (55 x 20,1 months) and higher overall pain intensity, no other factors (age, gender, etiology,...) have been statistically significant.

Conclusions: Our results show profound decrease of QOL in CRPS patients. EQ5D-3L has been proved as useful measure of QOL for neuropathic patients. The results support the importance of early diagnosis and treatment of acute CRPS in order to minimalize the percentage of chronic patients. EQ5D-3L can be used to identify more affected patients with low QOL index. We conclude that analgesic treatment should be more intensive and more support for adequate self care should be given in a low QOL subgroup.

P-09. ZMĚNY TLOUŠŤKY KOMLEXU INTIMA – MEDIA A PARAMETRŮ MIKROCIRKULACE U PŮVODNĚ EXTRÉMNĚ NEZRALÝCH NOVOROZENCŮ

Mormanová Z.(1,2), Lee H.-N. (3), Eicher S. (3), Dalla Pozza R. (4), Genzel-Boroviczény O. (3)

1 – Ústav patologické fyziologie 2. LF UK Praha, 2 – Dětské oddělení Krajská nemocnice Liberec, 3 – Neonatologie Perinatální centrum Univerzitní klinika LMU Mnichov, 4 – Dětské kardiocentrum Univerzitní klinika LMU Mnichov

Školitel: Prof. MUDr. Martin Vízek, CSc.

Úvod: Extrémně nízká porodní hmotnost resp. nezralost zvyšují podle dosud provedených studií kardiovaskulární riziko těchto dětí v dalším životě. V případě intrauterinní retardace se toto riziko vysvětluje tzv. thrifty nebo-li úsporným fenotypem a riziko kardiovaskulárních onemocnění je možné snížit postnatálně upraveným redukovaným přísunem bílkovin a sacharidů, který je co nejlépe připodobněný prenatálnímu přijmu bílkovin a cukrů. U nedonošených novorozenců se předpokládá podobný efekt vzniku kardiovaskulárního rizika. Zda je možné ho ovlivnit složením výživy podávané postnatálně není známo.

Cíl: Cílem práce bylo prokázat, zda u původně extrémně nedonošených dětí dochází k trvalým změnám tloušťky komplexu intima-medie a kožní mikrocirkulace prokazatelným v pozdějším věku těchto dětí.

Materiál a metody: U 70 děti ve věku 10 – 14 let byla měřena funkční hustota kapilár neinvazivní metodou zobrazení v tmavém poli před, v průběhu a po arteriálním uzávěru (pravé předloktí) tlakovou manžetou. U 54 původně extrémně nedonošených novorozenců (porodní hmotnost 753 ± 152 g) stejné věkové kategorie byl vyšetřen krevní tlak, tělesná hmota a tloušťka komplexu intima-media v a. carotis communis pomocí sonografie (B-modus) s vysokým rozlišením a tyto hodnoty korelovány s věku odpovídajícími normami. 16 původně donošených dětí stejné věkové kategorie (porodní hmotnost 3395 ± 558 g) bylo vyšetřeno jako kontrolní skupina pro hodnoty intravitální mikroskopie v tmavém poli.

Výsledky: Systolický tlak ve skupině původně extrémně nedonošených novorozenců byl signifikantně vyšší než referenční hodnoty (dívky 119±8 z-Score 1.23; chlapci 118±11 z-Score 1.14 mmHg); stejně tak tloušťka komplexu intima – medie (0.45 ± 0.03 vs. 0.38 ± 0.04 mm $p<0.001$). Také funkční hustota kapilár v klidovém stavu byla zvýšena oproti kontrolní skupině (nedonošení 33.6 ± 14.5 (SD) vs. donošení 23.0 ± 7.1 cm/cm?, $p = 0.002$) s významně nižší reaktivitou cév v průběhu arteriálního uzávěru (Chi kvadrát test 7.14, $p = 0.008$). Korelace mezi hodnotami tloušťky komplexu intima – medie, funkční hustotou kapilár a systolickým tlakem nebyla prokázána.

Závěr: Původně extrémně nedonošení novorozenci mají v dětském věku (10 – 14 let) významně vyšší hodnoty systolického tlaku, větší tloušťku komplexu intima-medie v a.carotis communis a předpokládané trvalé změny stavu mikrocirkulace v porovnání se stejně starými, původně donošenými dětmi a to i přes výrazné zlepšení ve stavu postnatální výživy.

P-10. KORELACE KONCENTRACÍ JEDNOTLIVÝCH AMINOKYSELIN V MOČI S VÝSKYTEM UROLOGICKÝCH MALIGNIT – VÝSLEDKY VLASTNÍ STUDIE

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. LF a FN Motol, V Úvalu 84, Praha 5, 2 – Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita, Zemědělská 1, Brno

Školitel: MUDr. Štěpán Veselý, Ph.D.

Úvod: Urologické malignity, mezi které řadíme karcinom prostaty, močového měchýře a ledvin, mají v populaci relativně vysokou incidenci. Karcinom prostaty je jednou z nejčastějších příčin úmrtí na nádor. V roce 2008 bylo na celém světě diagnostikováno přibližně 899 000 pacientů s tímto onemocněním a 258 000 jich na tuto chorobu zemřelo. Tumor močového měchýře je jedenáctou nejčastější onkologickou diagnózou a v žebříčku úmrtí na nádor se řadí na čtrnácté místo. Nádory ledvin představují 2-3% všech tumorů a ve většině evropských zemí jejich incidence stále roste.

Ačkoli tyto malignity patří mezi relativně velmi častá onemocnění, urologové se stále potýkají s absencí spolehlivých nádorově-specifických markerů, které by umožnily včasnou detekci a diagnózu.

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.

Podpora projektu: Podpořeno grantem 00064203 (FN MOTOL).

P-11. OVLIVNĚNÍ KVALITY STŘEVNÍ STĚNY A REAKTIVITA GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU NA INFEKCI CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Drábek J. (1), Nyč O. (2), Krůtová M. (2), Šťovíček J. (1), Matějková J. (2), Keil R. (1)

1 – Interní klinika 2. LF UK a FN v Motole, 2 – Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Radan Keil, Ph.D.

Úvod: Infekce vyvolané Clostridium difficile (CDI) je závažnou komplikací antimikrobní léčby. Problematika tohoto onemocnění nabývá v současné době na významu v důsledku výskytu nových vysoce virulentních kmenů s epidemickým výskytem. V západní Evropě a Severní Americe je nejvíce spojován s těmito vlastnostmi ribotyp 027, v České republice dle dosavadních výzkumů je nejvíce zastoupen ribotyp 176.

Cíl: Cílem studie byla depistáž výskytu CDI na Interní klinice Fakultní nemocnice v Praze v Motole, dále molekulárně-mikrobiologická analýza zachycených izolátů Clostridium difficile se stanovením jednotlivých ribotypů a zhodnocení závažnosti klinického průběhu, jako projevu reaktivity gastrointestinálního traktu na CDI, v souvislosti s prokázaným ribotypem.

Materiál a metody: Do studie byli zařazeni pacienti s průjmem (3 a více řidších stolic), hospitalizovaných na výše zmíněném pracovišti. Nemocní s prokázanou CDI byli dále sledováni, byl stanoven ribotyp C. difficile a byly porovnány ukazatele závažnosti onemocnění (počet leukocytů, hladina CRP, ATLAS skóre a Horn index) u nemocných s rekurentní infekcí, nemocných, kteří zemřeli do 3 měsíců od ukončení léčby první ataky a nemocných s CDI způsobenou ribotypem 176 oproti ostatním. Celkově sběr dat trval 31 měsíců.

Výsledky: CDI jsme prokázali u 88 nemocných. U 44,3% (n=39) nemocných byl prokázán ribotyp 176. U nemocných s prokázaným ribotypem 176 byly prokázány signifikantně vyšší hodnoty CRP i leukocytů, a dále vyšší hodnoty ATLAS skóre a Horn indexu oproti nemocným s ostatními ribotypy. Při porovnání skupin nemocných s rekurentní infekcí do 3 měsíců a bez ní nebyl zjištěn žádný významný rozdíl ve sledovaných parametrech. Při porovnání nemocných, kteří zemřeli do 3 měsíců po první atace CDI, s ostatními byly prokázány signifikantní rozdíly počtu leukocytů, hladiny CRP, výši Horn index i ATLAS skóre.

Závěr: Studie potvrdila vysoký záchyt CDI vyvolaných ribotypem 176 na interní klinice FNM, což odpovídá již dříve prokázané situaci v České republice. Dále její výsledky prokazují možný, závažnější klinický průběh CDI, jako obraz ovlivnění střevní stěny a reaktivity gastrointestinálního traktu vyvolaných ribotypem 176. Také bylo potvrzeno, že výše leukocytů, hladina CRP, výše Horn indexu a ATLAS skóre se hodí dobře jako predikující faktory možné mortality do 3 měsíců v souvislosti s CDI. Naopak nebyla potvrzena vhodnost těchto hodnot jako faktorů predikce recidivy CDI.

P-12. ABSENCE OF REPETITION SUPPRESSION OF AUDITORY EVOKED POTENTIALS IN MIDDLE- BUT NOT LONG-LATENCY COMPONENTS CORRELATES WITH PERCEPTUAL PHENOMENA

Pokorný J. (1), McCombs D. (2) and Nerad L. (1,2)

1 – Department of Physiology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Praha, 2 – Department of Psychology, University of New York in Prague, Praha

Pregraduate student

Supervisor: RNDr. Ludek Nerad, CSc.

Introduction: When two sounds are presented to a subject after each other, auditory evoked potentials (AEPs) to the second sound are absent or reduced. This is known as repetition suppression (RS). The closer the stimuli in time, the greater the suppression. However, at a stage when individual peaks of the AEPs evoked by the second stimulus cease to be detectable, experimental subjects still keep perceiving both stimuli well.

Aims: The aim of this study was to find differences among AEP peaks in terms of their RS. It was hypothesised that despite the apparent suppression of large long-latency peaks, middle-latency peaks may display reduced RS. This would have an implication on our theories of perceptual processes.

Materials and Methods: Twenty-eight volunteers aged 19-28, were used. EEG was recorded from vertex relative to the right auricle. The ground electrode was placed on the forehead. A PowerLab 26T converter and LabChart v.7 software were used to collect EEG data and calculate evoked potentials. The stimuli were 1.5 kHz 20-ms long beeps delivered through Sennheiser headphones at SPL of 50 dB above the individual's hearing threshold. The recording consisted of two 15-minute blocks (H and HH) separated by 10 s. In H, the stimulus was played every 2 s. In HH, two stimuli, separated by 10 ms, were played every 2 s.

Results: A method of stacked AEP arrays revealed relatively stable AEP peak latencies of up to 100 ms. The most notable effect of the second stimulus was a lack of suppression of middle-latency AEPs. P1 of the second stimulus was detectable on the falling edge of N1 in all subjects. We calculated a first derivative of the signal and compared its value at the P1 peak in HH and at the same location of H. A paired t-test demonstrated a significant difference between H (-0.012, SD = 0.013) and HH (-0.001, SD = 0.008) trials; $t(27) = -5.14$, $p<0.001$.

Conclusions: Our experiment shows that middle-latency AEP components of the second stimulus are not suppressed by the effects of the first stimulus. The opposite is true for the long-latency components. In particular, neither N1 nor P2 are a simple sum of peaks evoked by the two stimuli and are mainly, if not exclusively, evoked by the first stimulus. The information that our perceptual system uses to determine that there were two stimuli is therefore originating in the middle-latency components. The N1 and P2 components may be reflecting processes that deal with the whole complex as defined by its beginning and end, without regard to its detailed structure.

P-13. SÉROVÉ HLADINY METALOTHIONEINŮ U PACIENTŮ SE ZHOUBNÝMI NÁDORY

Pokorná P. (1), Heger Z.(2), Adam V. (2), Eckschlager T. (3)

1 – Onkologická klinika, 2. LF UK a FN Motol, Praha,2 – Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita, Brno, 3 – Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Úvod: Metalothioneiny (MT) jsou proteiny s vysokým obsahem thiolových skupin, na které se váží kovy. Mají 4 isoformy. Hlavní funkcí isoforem MT1 a MT2 je regulace hladin kovů. MT3 je syntetizován v CNS, kde chrání buňky. MT4 je v epiteliích a má protektivní účinek na kůži a sliznice. Významné je zapojení MT do etiopatogeneze nádorů. Exprese MT ovlivňuje proliferaci, metabolismus, metastazování a rezistenci k apoptóze. MT jsou nezbytné pro funkci p53 i dalších proteinů zapojených do karcinogeneze. Mají i proangiogenní efekt a korelují s gradem některých nádorů. MT mají i vztah k chemorezistenci – thiolové skupiny vážou platinová cytostatika a ovlivňují oxidativní stres.

Cíl: Předpokládáme, že měření MT v séru onkologických pacientů může být přínosné:

1. v monitorování průběhu, aktivity a rozsahu onemocnění;
2. v odhalení chemorezistence.

Materiál a metody: Měření MT v séru bylo provedeno u skupiny 69 pacientů se 3 diagnózami:

1. karcinom prsu (55);
2. karcinom prostaty (10);
3. gastrointestinální stromální tumor (4).

S ohledem na vysoký výskyt karcinomu prsu bylo nejvíce vyšetřených s touto diagnózou ve stadiu IIA (19 pacientek), a dále ve stadiu IA (11 pacientek), IIB (8 pacientek), IIIA (8 pacientek), IV (6 pacientek), IIIB (2 pacientek), IB (1 pacientka). Celkem 8 pacientů s karcinomem prostaty bylo zařazeno již ve stadiu generalizace, pouze 2 pacienti byli odebráni před plánovanou adjuvantní radioterapií. S gastrointestinálním stromálním tumorem bylo – pro vzácnost diagnózy zařazeni 4 pacienti. Všichni prodělali onkologickou terapii. Srovnání bylo provedeno s výsledky vyšetření u skupiny 58 zdravých dobrovolníků.

MT byly stanoveny modifikovanou Brdičkovou reakcí v Ústavu chemie a biochemie Mendelovy univerzity v Brně. Vzorky byly po tepelné denaturaci analyzovány absorpční přenosovou technikou s diferenční pulzní voltametrií v tříeleketrodovém uspořádání. Data byla hodnocena jako parametrická (potvrzeno K-S testem). Výsledky byly zprácovány jako průměr ± s.d. a porovnány nepárovým t-testem.

Výsledky: Průměr hladiny MT u celé skupiny vyšetřovaných 0,69 ± 0,23 μM byl významně vyšší než průměr zdravých dobrovolníků 0,51 ± 0,2 μM. Průměr u pacientek s karcinomem prsu byl 0,66 ± 0,18 μM, u karcinomu prostaty 0,61 ± 0,42 μM a u GIST 0,78 ± 0,12 μM. Nejvyšší hladiny měli pacienti s relapsem (1,39 ± 0,398 μM).

Závěr: Poznatek, že těžké kovy ovlivňují karcinogenezi, nás vedl k předpokladu, že stanovení hladiny MT může být přínosné nejen jako prognostický znak, ale i k monitorování chemorezistence.

Podpora projektu: Podpořeno grantem AZV č. 15-28334A.

P-14. VÝZNAM STANOVENÍ SEKUNDÁRNÍCH MUTACÍ V GENU KIT A MUTAČNÍ ANALÝZA V GENU BRAF U PACIENTŮ S GASTROINTESTINÁLNÍM STROMÁLNÍM NÁDOREM

Kalfusová A. (1), Hilská I. (1), Kalinová M. (1), Krsková L. (1), Linke Z. (2), Kodet R. (1)

1 – Ústav patologie a molekulární medicíny, 2 LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Onkologická klinika, 2 LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Úvod: Gastrointestinální stromální nádory (GIST) patří mezi nejčastější mesenchymální nádory gastrointestinálního traktu. GIST jsou charakterizovány přítomností aktivačních mutací v genech KIT nebo PDGFRA. Pacienti s metastatickým, recidivujícím nebo neoperabilním GIST úspěšně profitují z cílené terapie selektivním inhibitorem aktivovaných receptorových tyrosinkináz (RTK) imatinib mesylátem (IM). Část pacientů ovšem dodatečně rozvine rezistenci na terapii IM. Mechanizmus získané rezistence zahrnuje vznik sekundárních mutací, amplifikaci genu KIT, nebo aktivaci alternativních RTK. Studie z posledních let naznačují, že část pacientů s GIST s nemutovanými geny KIT/PDGFRA může mít mutace v genu BRAF.

Cíl: Mutační analýza pacientů s GIST léčených IM na přítomnost sekundárních mutací v genech KIT a skupiny pacientů s GIST s nemutovanými geny KIT/PDGFRA na průkaz mutací v genu BRAF.

Materiál a metody: Molekulární analýzu sekundárních mutací v genu KIT a mutací v exonu 15 (event. exonu 11) genu BRAF jsme stanovovali prostřednictvím amplifikace specifických produktů s následním určením pořadí nukleotidů pomocí asymetrické sekvenační PCR na genetickém analyzátoru ABI PRISM 3130. Zdrojem DNA pro mutační analýzu byla DNA získaná extrakcí z bioptických vzorků primárních nádorů nebo nádorů recidivujících či jejich metastáz fixovaných ve formolu a zalitých do parafinu nebo čerstvých zamražených vzorků nádorů.

Výsledky: Analyzovali jsme 119 vzorků od 104 pacientů léčených IM na detekci sekundárních mutací a 38 vzorků od 34 pacientů na přítomnost mutací v exonu 15 genu BRAF. Ve 13 vzorcích od 8 pacientů s progresí nemoci jsme zjistili sekundární mutace v exonech 13 a 17 genu KIT (11%) a substituční mutace V600E jsme prokázali ve dvou vzorcích od 2 pacientů (5,2%).

Závěr: Získaná rezistence je důležitým aspektem selhání cílené biologické terapie pomocí IM. Molekulární analýza GIST a detekce sekundárních mutací může být prospěšná pro výběr a podání inhibitorů aktivovaných RTK druhé generace. Pacienti s mutacemi v genu BRAF mohou profitovat s terapie selektivními BRAF inhibitory.

Podpora projektu: GAUK 198 213, Projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN Motol) IG 6006, a OPPK CZ.2.16/3.1.00/24022.

P-15. UNDER THE MASK OF THE KABUKI-LIKE SYNDROMES: A PILOT CZECH STUDY

J. Paderova, J. Drabova, A. Holubova, M. Vlckova, M. Havlovicova, R. Pourova, M. Malikova, A. Puchmajerova, V. Caganova, A. Krepelova, M. Macek Sr, M. Macek jr.

Department of Biology and Medical Genetics, Charles University Prague-2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: Prof. MUDr. Milan Macek jr.

Introduction: Kabuki (make up) syndrome (KABUK; OMIM 148920) is mainly due to autosomal de novo pathogenic variants. Distinctive facial features and the degree of intellectual disability are broad making its clinical diagnosis difficult even for experienced clinical geneticists, in particular in Kabuki-like phenotypes.

Aims: In this study we tried to elucidate underlying genetic cause in patients with Kabuki and Kabuki like phenotype missing mutation in genes causing Kabuki syndrom (KMT2D, KDM6A) in order to understand what other genes or copy number variations may cause such type of manifestation.

Materials and Methods: A representative cohort of Czech KABUK / Kabuki-like patients was examined (2013-2015) by Sanger DNA sequencing, MLPA, array CGH, followed by next-generation sequencing-based (NGS) gene panel assays (TruSight One, Illumina). Correlation of molecular genetic- and cytogenetic test outcomes was compared to the reliability of clinical diagnosis. In addition, 3D digital phenotyping of facial gestalt was carried to further characterise these patients.

Results: In 24 KABUK / Kabuki-like cases pathogenic variants in KMT2D were detected in 9 patients. Array CGH revealed likely pathogenic CNVs on chromosomes X and 15, respectively, in 2 patients. NGS detected likely pathogenic variants in genes associated with intellectual disability (HUWE1, GRIN1), including genes coding for mandibulo-facial dysostosis (EFTUD2, EDNRA). Nonetheless, in 5 cases their underlying genetic etiology has not been elucidated, while in the remainder familial consent for further testing is pending.

Conclusions: Array CGH and broad NGS-based gene panels have a high diagnostic yield in KABUK/Kabuki-like phenotypes. Genomic testing may foster elucidation of otherwise ambiguous clinical diagnoses. 3D facial gestalt phenotyping proved to be a useful tool for further stratification of such patients and eventual prioritisation of detected variants.

Support: 00064203, CZ.2.16/3.1.00/24022OPPK, LD14073 and NF-CZ11-PDP-3-003-2014.

P-16. METABOLISM OF TAMOXIFEN IN MOUSE BRAIN: IMPLICATIONS FOR FATE-MAPPING STUDIES USING TAMOXIFEN-INDUCIBLE CRE/LOX SYSTEM

Valny M. (1,2), Honsa P. (1,2), Kirdajova D. (1), Kamenik Z. (3), Anderova M. (1,2)

1 – Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic, 2 – 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 – Laboratory for Biology of Secondary Metabolism, Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: Ing. Miroslava Anderova, CSc.

Introduction: Tamoxifen-inducible Cre/Lox system is widely used in fate-mapping studies for visualization or functional modification of specific cell-type population at desired time-points. In experiments, in which the cell fate is influenced by any treatment, such as surgery or drug administration, the time window between tamoxifen injection and the treatment should be large enough to allow complete degradation of tamoxifen and its metabolites. Otherwise, they might promote recombination in cells that start express the Cre recombinase as a result of the treatment, which can lead to data misinterpretation.

Aims: We aimed to define the optimal time window allowing the complete degradation of tamoxifen and its metabolites, such as 4-hydroxytamoxifen, N-desmethyltamoxifen, endoxifen and norendoxifen, in mouse brain after injection of 200/400 mg/kg tamoxifen i.p.

Materials and Methods: For this purpose we determined biological activity of all substances in vitro and maximal concentration of the most potent metabolite 4-OH-tamoxifen that does not cause recombination in vivo employing the liquid chromatography coupled with mass spectroscopy and double transgenic Cspg4-cre/Esr1/ROSA26Sortm14(CAG-tdTomato) mice, in which tamoxifen administration triggers the expression of red fluorescent protein (tomato) specifically in NG2-positive cells and cells derived therefrom. Next we determined degradation kinetics of all substances and revealed how it is affected by age, mouse strain, dosage and disruption of the blood brain barrier by middle cerebral artery occlusion, a model of focal cerebral ischemia.

Results: Our results revealed that tamoxifen and its metabolites were completely degraded within 8 days in young adult C57BL/6 mice, while the age-matched FVB male mice displayed faster degradation. Moreover, 18 months old C57BL/6 mice were unable to metabolize all substances within 8 days. The lowering of initial tamoxifen dose leads to 2 days faster degradation of all substances. Disruption of the blood-brain barrier by middle cerebral artery occlusion cause significant decrease in the ipsilateral hemisphere concentration of tamoxifen, 4-OH-tamoxifen and N-desmethyl tamoxifen.

Conclusions: Taken together, we show that tamoxifen metabolism in mouse brain is age-, strain- and dose-dependent. These findings indicate the possible weaknesses of fate-mapping of neural cells using tamoxifen-inducible Cre/Lox systems.

Support: GA CR P303/12/0855, P304/12/G069 and GA UK 134615.

P-17. SPÁNKOVÉ CHARAKTERISTIKY U POTOMKŮ RODIČŮ S BIPOLÁRNÍ PORUCHOU

Šebela A. (1), Kemlink D. (2), Novák T. (1,3), Prokešová A. (4), Goetz M. (4,5)

1 – Národní ústav duševního zdraví, Klecany, 2 – Neurologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha, 3 – 3. LF UK, Praha, 4 – 2. LF UK, Praha, 5 – Dětská psychiatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: MUDr. Michal Goetz, Ph.D.

Úvod: Bipolární afektivní porucha (BAP) je celoživotně probíhající onemocnění s genetickým podkladem, která vážně narušuje kvalitu života. První typické symptomy jsou obvykle zachyceny v pozdní adolescenci. Studium potomků v riziku BAP, pro onemocnění jednoho z rodičů, umožňuje sledovat vývoj této poruchy od možných prekurzorů až k plně vyjádřené klinické formě. Poruchy a snížená kvalita spánku mohou představovat prekurzory BAP objevující se již v dětství. Zatím byly publikovány pouze dvě studie zabývající se spánkovými charateristikami u této vysoce rizikové populace.

Cíl: Zjistit, zda se u dětí a adolescentů v genetickém riziku BAP vyskytují poruchy spánku a jeho snížená kvalita.

Materiál a metody: Design studie: Půřezová studie případů a kontrol. Soubor: 43 potomků rodičů s BAP. Kontroly: 43 potomků rodičů bez psychiatrického onemocnění. Případy i kontroly spárované věkem a pohlavím. Metody: Škála cirkadiánní preference pro děti, Dotazník pro poruchy spánku v dětském věku, Spánková subškála Všeobecného dotazníku chování. Dva týdny aktigrafického záznamu. Aktuální psychopatologie byla vyšetřena pomocí semistrukturovaného interview Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia Present – Lifetime.

Výsledky: Dle hodnocení rodičů bylo narušení spánku častěji zaznamenáno u případů než u kontrol: noční můry (21,6% vs. 2,4%, p=0,008), bolesti hlavy po probuzení (17,9% vs. 2,4%, p=0,02), nadměrná ospalost přes den (38,5% proti 10,0%, p=0,003) a zřejmá únava po probuzení (43,6% vs. 15,0%, p=0,005). Dle hodnocení rodičů byly příznaky insomnie častější u případů než u kontrol (p=<0,000). V sebeposuzovací verzi dotazníku byl zaznamenán trend vyššího výskytu insomnie u případů (p=0,070). Nebyl nalezen žádný meziskupinový rozdíl v cirkadiánních preferencích a výsledcích analýz aktigrafických záznamů. Aktuální porucha nálady byla zaznamenána u 28% případů, mezi kontrolami zaznamenána nebyla (p<0,001). Poruchy úzkostného spektra byly přítomny u 51% případů a 12% kontrol (p<0,000).

Závěr: Využitím rodičovských i sebeposuzovacích verzí dotazníků mapujících spánkové charakteristiky a objektivního aktigrafického záznamu, přináší naše studie jako první komplexní pohled na sledovanou problematiku. Rodiče dětí v genetickém riziku BAP referují u svých dětí častější výskyt symptomů insomnie a narušené kvality spánku než rodiče kontrol. Tato baseline data jsou základem pro prospektivní sledování a objasnění vztahu poruch spánku k vývoji plně vyjádřené BAP.

Podpora projektu: IGA NT 13337-4, NUDZ ED2.1.00/03.0078.

P-18. EXPRESE MARKERŮ NÁDOROVÝCH KMENOVÝCH BUNĚK V UROTELIÁLNÍCH LÉZÍCH MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

Háček J. (1), Brisuda A. (2), Zámečník J. (1)

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

Školitel: prof. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.

Úvod: Uroteliální nádory močového měchýře jsou heterogenní skupinou onemocnění vyznačující se vysokou mírou rekurence a možnou postupnou progresí nádorového grade i stage. V mnoha různých nádorech byla popsána populace nádorových kmenových buněk (CSC) odpovědných za iniciaci, progresi a rekurence nádorů. Podobný koncept je zvažován i v případě uroteliálních nádorů. Dosud bylo identifikováno několik markerů CSC, mimo jiné i molekuly CD24, CD44 a CD47.

Cíl: V nenádorovém urotelu, uroteliálních nádorech a jejich prekurzorových lézích jsme zkoumali expresi markerů nádorových kmenových buněk CD24, CD44 a CD47. Cílem bylo zjistit, zda existují rozdíly v expresi těchto markerů v závislosti na typu léze, stupni diferenciace a stadiu onemocnění, a zda by se jejich detekce mohla stát diagnostickým či potenciálně prognostickým ukazatelem při hodnocení uroteliálních lézí.

Materiál a metody: Použili jsme vzorky tkání zalité v parafinových bločcích získané transuretrální resekcí od 58 pacientů (45 mužů, 13 žen; průměrný věk 66 let): nenádorový urotel (12), uroteliální karcinom in situ (10), low-grade uroteliální karcinom (20), high-grade uroteliální karcinom (15). U všech vzorků jsme provedli imunohistochemické vyšetření markerů CD24, CD44 a CD47. Hodnotili jsme míru exprese (na třístupňové škále) a distribuci jednotlivých markerů a korelovali jsme je s histopatologickými charakteristikami jednotlivých lézí.

Výsledky: U markerů CD44 a CD24 jsme zjistili rozdíly v distribuci pozitivních buněk u různých typů uroteliálních lézí. Znak CD44 byl exprimován v bazálních vrstvách nenádorového urotelu. U low-grade uroteliálních nádorů vykazoval nekonstantní pozitivitu kolísající intenzity, zatímco u high-grade lézí byla přítomna difuzní silná pozitivita. Znak CD24 byl v nenádorovém urotelu exprimován v povrchové vrstvě deštníkových buněk. U low-grade nádorů byla přítomna nekonstantní slabší pozitivita i v hlubších partiích urotelu. Ve většině high-grade lézí jsme pozorovali difuzní střední až silnou pozitivitu nádorových buněk.

Znak CD47 nevykazoval rozdíly v distribuci pozitivních buněk, a korelaci intenzity pozitivity s typem a gradem uroteliální léze jsme v naší sestavě neprokázali.

Závěr: Studie ukázala, že existují rozdíly především v distribuci exprese markerů CSC CD24 a CD44 v nenádorovém urotelu oproti prekurzorovým lézím a nádorům. Kombinované využití těchto markerů by proto mohlo napomoci v diagnostice uroteliálních lézí, která je zatížena interobservační variabilitou.

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

P-19. FUNKCE PLIC U KOJENCŮ A BATOLAT S CYSTICKOU FIBRÓZOU A RIZIKEM BRONCHIÁLNÍHO ASTMATU A JEJICH ROZDÍLY

Koucký V., Pohunek P.

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

Úvod: Chronická plicní onemocnění představují významnou příčinu dětské morbidity. Různé studie ukazují, že první poruchy funkce dýchacího traktu mohou být přítomny již u kojenců. Terapeutické intervence zahájené v tomto období mají tedy největší potenciál příznivě ovlivnit přirozený vývoj onemocnění (zastavit či výrazně zpomalit jeho progresi). Na významu tak nabývá dostupnost dostatečně citlivých metod schopných tyto změny postihnout.

Cíl: Zhodnotit přítomnost odchylek ve funkci plic u kojenců a batolat s cystickou fibrózou (CF) a rizikem asthma bronchiale (AB) a jejich výskyt navzájem porovnat.

Materiál a metody: Hodnoceno bylo 29 pacientů – CF skupina – 14 dětí s klasickou formou CF a non CF skupina – 15 dětí s rizikem rozvoje AB splňující tato kriteria: i) ?3 lékařem potvrzené obstrukční epizody, ii) ? 1 užití systémových kortikosteroidů pro bronchiální obstrukci. Asthma predictive index dle T. Guilbert byl pozitivní v 60% nonCF pacientů. Věkové rozmezí pacientů bylo mezi 7 a 24 měsíci, jejich klinické charakteristiky shrnuje Tabulka 1. Až na procentuelní zastoupení chlapců se skupiny navzájem signifikantně neliší. Plicní funkce byly vyšetřeny dle mezinárodních standardů v arteficielně navozeném spánku pěti metodami dostupnými na našem pracovišti.

Výsledky: Vyšetřovali jsme pět různých parametrů s dostupnými populačními normami: bodypletysmografická funkční residuální kapacita (FRCbox), odpor dýchacích cest (Reff), dechovou frekvenci (RR), poměr času dosažení maximálního výdechového proudu ku času exspiria (tPTEF/tE) a poddajnost respiračního traktu (Crs), dále pak několik parametrů odvozených z testu vícedechového vyplavování dusíku z plic (N2-MBW). Porucha funkce plic – tzn. alespoň jeden ze studovaných parametrů mimo normu – byla nalezena u 57,1 % CF pacientů a 53,3% potenciálních astmatiků. Podrobné zastoupení udává Graf 1, přesné hodnoty Tabulka 2. Nejčastější poruchou byla hyperinflace plicní (z-skore FRCbox >2), dále pak zvýšený odpor dýchacích cest (Reff>130% n) a tachypnoe vzhledem k věku a výšce. Nejlépe diferencovat mezi oběma skupinami byla schopna metoda N2-MBW hodnotící nehomogenitu ventilace plic (očišťovací index plic – LCI), její výsledky ukazují na významnější postižení nejperifernějších dýchacích cest (12.–16. genenerace) u pacientů s CF. Zároveň byl u těchto pacientů zjištěn větší objem funkčního mrtvého prostoru (Vd/Vt%). Ostatní parametry nebyly schopny obě skupiny odlišit.

Závěr: Porucha funkce plic je přítomna u významné části dětí s CF a s rizikem AB již ve věku do 2 let. V souladu s výsledky prací na dětech starších jsou nejvýznamněji postiženy nejperifernější dýchací cesty, míra jejich postižení se mezi skupinami signifikantně liší.

Podpora projektu: GAUK č. 60715.

Přílohy:

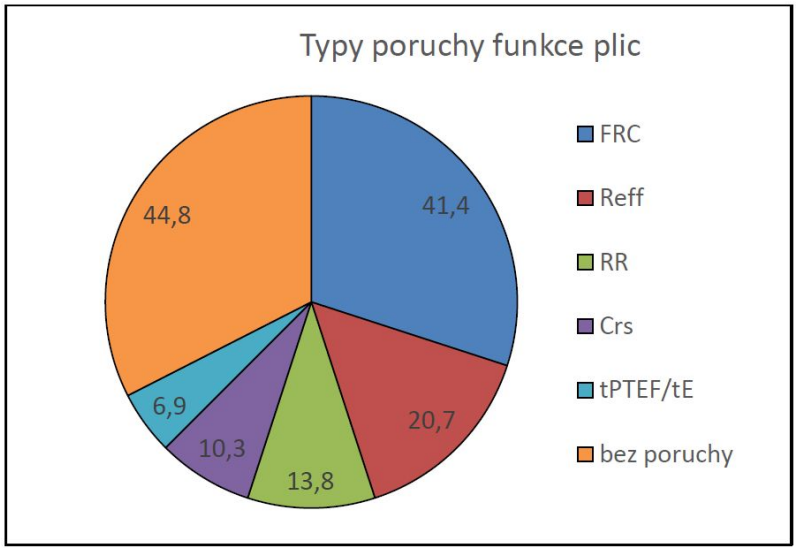
Tabulka 1: Charakteristiky vyšetřovaných pacientů.

	CF	nonCF
Počet/chlapci	14/6	15/9
Věk [týdny] (z-skore)	53,8 (17,9)	55,9 (26,94)
Váha [kg] (z-skore)	9,3 (2,02)	9,9 (1,86)
Váha z-skore	-0,6	-0,1
Délka [cm] (z-skore)	73,8 (6,95)	76,6 (6,92)
Délka z-skore	-0,6	0,1
BMI (z-skore)	16,8 (1,68)	16,8 (1,98)
BMI z-skore	-0,1	-0,1
Prematuritas <38 gest. týdne	4	4

Tabulka 2: Výsledky funkčního vyšetření. Absolutní hodnoty uváděny jako průměr (SD).

	CF	nonCF	Hladina významnosti rozdílu CF vs. nonCF
FRCbox [ml/kg]	24,9 (4,9)	24,3 (4,7)	0,795
FRCbox z-skore	1,6	1,4	0,795
Reff [kPa/l/s]	2,04 (0,95)	2,43 (1,37)	0,459
Reff (%normy)	88,3	111,0	0,316
LCI [-]	12,8 (2,0)	10,5 (2,1)	0,017
Vd/Vt% [-]	69,0 (5,3)	61,6 (6,7)	0,009
RR [/min]	37,8 (9,2)	33,1 (7,3)	0,223
RR (z-skore)	1,2	0,7	0,413
Vt [ml/kg]	8,2 (2,4)	8,6 (1,4)	0,660
tPTEF/tE [-]	25,5 (6,0)	24,5 (13,2)	0,822
tPTEF/tE (z-skore)	0,2	-0,1	0,976
Crs/kg [ml/kPa/kg]	12,4 (2,3)	13,5 (4,2)	0,228
Crs (%normy)	105,1	108,1	0,855

Graf 2: Procentuální zastoupení různých poruch funkce plic u studovaných pacientů.



P-20. TRANSPLANTACE KRYOPREZERVOVANÉHO MITRÁLNÍHO ALOGRAFTU DO TRIKUSPIDÁLNÍ POLOHY – DLOUHODOBÉ VÝSLEDKY NA OVČÍM MODELU

Fiala R. (1), Mokráček A. (2), Čanádyová J. (2), Burkert J. (1,3), Šulda M. (2), Hlubocký J. (4), Vojáček J. (5), Pepper J. (6), Špatenka J. (3)

1 – Klinika kardiovaskulární chirurgie FN Motol, 2 – Kardiocentrum Nemocnice České Budějovice, 3 – Oddělení transplantací a tkáňové banky FN Motol, 4 – Kardiocentrum VFN Praha, 5 – Kardiochirurgická klinika, FN Hradec Králové, 6 – Royal Brompton Hospital, Academic Department of Cardiothoracic Surgery, London, UK

Školitel: MUDr. Jan Burkert, Ph.D.

Úvod: Byl vypracován vlastní model transplantace mitrálního alograftu (MA) do trikuspidální pozice s cílem získat potřebné technické zkušenosti a nabídnout tuto alternativu především nemocným s infekční endokarditidou trikuspidální chlopně. Prezentovaný projekt hodnotí osud MA v trikuspidální pozici po 12 měsících. Tato doba je pokládána za interval srovnatelný s výsledky po 12 letech u člověka.

Cíl: Cílem experimentu na zvířecím modelu bylo získání potřebných technických zkušeností s implantací MA do trikuspidální pozice a ověření vhodné vyšetřovací metody pro sledování funkce štěpu.

Materiál a metody: Na experimentálním pracovišti IKEM byly MA v celkové anestezii asepticky odebrány 20 dárcům (věk ovcí 12 měsíců, hmotnost: 23 – 36 kg). Zpracování MA podle protokolu Oddělení transplantací a tkáňové banky FN Motol zahrnovalo dekontaminaci antibiotiky a kryoprezervaci. Po rozmražení byly MA v celkové anestezii s použitím mimotělního oběhu (MO) transplantovány 19 ovcím do trikuspidální polohy. U 11 ovcí byl štěp našit anatomickou technikou (skupina 1 – přední cíp MA orientován směrem k septu), u dalších 8 potom technikou antianatomickou (skupina 2 – přední cíp MA orientován směrem k volné stěně pravé komory). Papilární svaly MA byly do volné stěny pravé komory zakotveny stehy vedenými přes teflonové podložky. Peroperačně byla funkce štěpů kontrolována po ukončení MO epikardiální echokardiografií (ECHO). Veterinární vyšetření a transtorakální ECHO absolvovaly ovce po 3 a 6 měsících. Po 12 měsících byla potom vyhodnocena funkce MA pomocí transtorakální ECHO a u dvou ovcí i MRI. Oběma metodami bylo pátráno především po neomitrální regurgitaci na MA – MAR, která byla hodnocena ve IV stupních. Nakonec byla zvířata utracena, vyhodnoceny mechanické vlastnosti, makroskopická a mikroskopická struktura tkáně.

Výsledky: Prvních 24 hodin po operaci nepřežilo 10 ovcí. Jedna ovce z každé skupiny uhynula po 3 týdnech a po 4 měsících. Po 3 a po 6 měsících prokázalo kontrolní transtorakální ECHO u všech ovcí dilataci anulu. Jen u jednoho zvířete skupiny 1 byla zjištěna MAR II/IV, u ostatních byla přítomna MAR stopová, max. I/IV. Po 12 měsících byla přeživší zvířata uvedena do celkové anestezie. Transtorakální ECHO potvrdilo další dilataci anulu u všech zvířat. Stupeň dilatace anulu po 3, 6 a 12 měsících se ve skupinách 1 a 2 nelišil (párový t-test, $p = 0,986$ – ns). Finální ECHO neprokázalo u žádného ze zvířat další progresi MAR a statisticky nebyly rozdíly mezi skupinami (stejně jako po 3 a 6 měsících) signifikantní (Chi-square test 1,283, $p=0,7331$). MRI vyšetření bylo v celkové anestezii dobře proveditelné, ale výsledky byly v naprosté shodě s výsledky ECHO, neznamenaly žádný diagnostický přínos. Papilární svaly byly u všech zvířat pevně vhojené. Mechanické i morfologické vlastnosti tkáně MA byly příznivé.

Závěr: Vlastní model transplantace MA do trikuspidální pozice se na ovčím modelu ukázal jako reprodukovatelná metodika s vynikajícími krátkodobými výsledky. Vyhodnocení výsledků u zvířat po 12 měsících ukazuje příznivé výsledky jak z hlediska funkce štěpu (ECHO), tak i mechanických, makroskopických a mikroskopických vlastností tkáně. Pro hodnocení funkce MA je peroperačně ideální epikardiální ECHO. V dalším sledování a pro definitivní vyhodnocení je potom zcela dostačující transtorakální ECHO.

P-21. DETEKCE NOVÉ KAUZÁLNÍ MUTACE V GENU RIT1 U PACIENTA SE SYNDROMEM NOONANOVÉ, NÁLEZEM LEUKOPENIE A TRANZIENTNÍHO MYELOPROLIFERATIVNÍHO PROCESU

Němčíková M. (1), Vejvalková V. (1), Fencl F. (2), Suková M. (3), Křepelová A. (1)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol Praha, 2 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol Praha, 3 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol Praha

Školitel: MUDr. Anna Křepelová, CSc.

Úvod: Syndrom Noonanové (NS) je geneticky podmíněné onemocnění charakterizované typickou faciální dysmorfií, srdeční vadou, malým vzrůstem, opožděním psychomotorického vývoje, kryptorchismem. Společně s kardiofaciokutánním syndromem, syndromem Costello, NS s mnohočetnými pihami, neurofibromatózou typu I a syndromem Legius je řazen mezi RASopathie. Molekulární podstatou onemocnění jsou germinální mutace v genech účastnících se RAS/MAPK signalizační dráhy, jejímž prostřednictvím je řízena dcelá řada buněčných pochodů. Nedávno byl u pacientů s klinickými příznaky odpovídajícími NS popsán další kauzální gen, gen RIT1.

Cíl: Provést molekulárně-genetickou analýzu genů kauzálních pro NS a jemu podobných onemocnění a zjistit tak molekulárně-genetickou příčinu onemocnění u pacienta s klinickými příznaky syndromu patřícího do skupiny RASopathií.

Materiál a metody: Probandem je 2,5letý chlapec narozený předčasně z rizikové gravidity pro polyhydramnion. Perinatální období bylo komplikováno asfyxií a syndromem dechové tísně. Od 7 měsíců věku byl sledován pro neimunní neutropenii a splenomegalii. Při závažné pneumonii ve věku 10 měsíců došlo k progresi hepatosplenomegalie a byla diagnostikována leukopenie s monocytózou a trombocytopenie. Při aspiraci kostní dřeně bylo vysloveno podezření na myeloperoliferativní syndrom. Dysmorfické rysy, malý vzrůst, stenóza plicnice, pectus carinatum, jednostranný kryptorchismus byly klinické nálezy svědčící pro NS. Byla proto provedena sekvenační analýza genů kauzálních pro RASopathie (PTPN11, SOS1, RAF1, RIT1, HRAS, KRAS, NRAS, BRAF, MAP2K1, MAP2K2, CBL, RRAS, SHOC2).

Výsledky: Analýzou byla v genu RIT1 detekována varianta c.69A>T p.(Lys23Asn), jež nebyla uvedena v žádné z dostupných databází a predikčními programy byla hodnocena jako pravděpodobně patogenní. Ve vyšetřovaných kódujících oblastech ostatních genů nebyla kauzální mutace zjištěna (Nemcikova et al., Eur J Pediatr 2015).

Závěr: NS je jedno z nejčastějších onemocnění z RASopathií, skupinou klinicky i etiologicky příbuzných syndromů. U námi prezentovaného probanda byla analýzou detekována de novo varianta v genu RIT1, predikčními in silico programy vyhodnocena jako pravděpodobně patogenní. Fenotyp našeho pacienta odpovídá klinickým nálezům u pacientů s mutací v genu RIT1, ale ani u jednoho z nich nebyla dosud zjištěna přetrvávající leukopenie ani tranzientní myeloproliferativní proces. Náš nález tak přispívá k rozšíření fenotypického spektra u pacientů s mutací v genu RIT1.

Podpora projektu: Podpořeno 00064203, NF-CZ11-PDP-3-003-2014.

P-22. POHLAVNÍ A VĚKOVÉ ROZDÍLY V GABAERGNÍ TRANSMISI V SUBSTANTIA NIGRA PARS RETICULATA U POTKANŮ

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

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

Školitel: prof. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Úvod: Citlivost GABAergních neuronů v substantia nigra pars reticulata (SNR) k látkám působícím na GABAA receptory (GABAAR) závisí na věku a pohlaví. ?-aminomáselná kyselina (GABA) působí na synaptické a extrasynaptické GABAAR. Tyto receptory se liší podjednotkovým složením, které determinuje jejich farmakokinetické vlastnosti. Synaptické GABAAR typicky obsahují podjednotky ve složení ?1?3?2/3?2, extrasynaptické ?4?2/3?.

Cíl: Cílem studie bylo popsat vývojové, pohlavní a farmakologické rozdíly v synaptické a tonické GABAergní inhibici u potkanů.

Materiál a metody: Experimenty byly provedeny v SNR Sprague-Dawley potkanů starých 5-9, 11-16 a 25-32 postnatálních dní. Pomocí in situ hybridizace a imunohistochemie byla zjištěna exprese ?1, ?3 a ? mRNA a proteinů v populaci GABAergních neuronů. Synaptická a tonická inhibice byla měřena in vitro elektrofyziologickou metodou patch clamp na mozkových řízcích. U spontánních postsynaptických proudů (sIPSC) byly měřeny frekvence, amplituda, aktivační a deaktivační časy a přenos náboje za jednotku času. Tonická inhibice (TI) byla demaskována podáním inhibitoru GABAAR bicucullinu v saturační dávce 100 ?? a měřena jako rozdíl proudu před a po nástupu jeho efektu. TI byla farmakologicky modifikována GABAA agonisty a modulátory.

Výsledky: V časném vývoji je exprese ?3 podjednotky vysoká a ?1 nízká. Tento poměr se postupně mění a v PN25-32 je exprese ?1 vysoká a výskyt ?3 je minimální. Se změnou podjednotkového složení korelují rychlejší aktivační a deaktivační časy sIPSC, větší amplituda a frekvence. sIPSC PN5-9 samců mají vyšší frekvenci, amplitudu a náboj přenesený za jednotku času než samice. PN25-32 samců mají větší amplitudu a rychlejší kinetiku než stejně staré samice. Efekt ?1-selektivního modulátoru zolpidemu na sIPSC vzrůstá s věkem. Exprese ? podjednotky je vysoká u PN5-9 a PN11-16 zvířat a klesá u PN25-32. Velikost TI koreluje s množstvím ? podjednotky a je největší na počátku vývoje, s věkem klesá a je stejná u obou pohlaví. TI je augmentována i zolpidemem, látkou, jež nepůsobí přes ? ale přes ?1?2 podjednotky. Agonisté GABAAR muscimol a THIP ovlivňují TI v závislosti na věku a pohlaví.

Závěr: Změny v expresi ?1 a ?3 podjednotek vysvětlují pohlavně a věkově vázané rozdíly ve vlastnostech sIPSC a rozdílnou sensitivitu k zolpidemu. Velikost TI koreluje s expresí ? podjednotky a je zprostředkována i non-? GABAAR.

Podpora projektu: NIH NINDS granty NS020253, NS045243, NS058303, NS062947, NS078333, grant od International Rett Syndrome Foundation, PACE a Heffer Family Foundation, Autism Speaks, Citizens United for Research of Epilepsy (CURE), Department of Defense, GACR 309/08/H079.

P-23. VÝZNAM TESTOVÁNÍ TERMICKÝCH PRAHŮ V DETEKCI NEUROPATIE TENKÝCH VLÁKEN U DIABETIKŮ 1. TYPU

Potočková V.(1), Malá Š (2), Tomek A. (1), Baumgartner D. (1), Mazanec R. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2 – Interní klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: MUDr. Radim Mazanec, Ph.D.

Úvod: Kvantitativní stanovování termických prahů je nedílnou součástí neurofyziologické diagnostiky neuropatie tenkých vláken. Celosvětově je její nejčastější příčinou diabetes mellitus 1. i 2. typu.

Cíl: Hlavním cílem naší práce bylo stanovit, existují-li signifikantní rozdíly termických prahů mezi diabetiky 1. typu a kontrolní skupinou a zhodnotit vývoj termických prahů v závislosti na délce trvání diabetu.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 45 diabetiků 1. typu (27 žen, 18 mužů, průměrný věk 45,1 let). Soubor jsme rozdělili do dvou skupin podle doby trvání diabetu od stanovení diagnózy do 25 let a nad 25 let. Jednotlivé termické prahy pro chlad a teplo (CDT – cold detection threshold, WDT – warm detection threshold) jsme stanovovali pomocí teplotního stimulátoru firmy Somedic na thenaru, tibii a na nártu bilaterálně vyšetřovacím algoritmem „Limity".

Výsledky: Mezi kontrolní skupinou a diabetiky jsme prokázali statisticky významný rozdíl mezi termickými prahy na DK /tibie (CDT p <0,001, WDT p < 0,002), nárt (CDT, WDT p < 0,001)/. Ve skupině diabetiků je práh pro vnímání chladu nižší a práh pro vnímání tepla vyšší proti zdravým kontrolám. Mezi dvěma podskupinami diabetiků jsme zjistili statisticky významný rozdíl pro průměrné hodnoty CDT (p = 0,024) i WDT (p = 0,049) na nártu. Při délce trvání diabetu nad 25 let práh pro detekci chladu klesá a práh pro detekci tepla stoupá. V souboru diabetiků je časnější abnormita pro CDT. Lineární regresí jsme prokázali statisticky významný vztah mezi CDT i WDT na nártu a délkou trvání diabetu a stanovili jednotlivé regresní rovnice.

Závěr: Dle našich výsledků je časnější abnormitou vzhledem k délce trvání diabetu stanovení termického prahu pro vnímání chladu (CDT). Relevance měření prahů na HK u diabetiků je nízká, pro screeningové vyšetření má význam vyšetřovat termické prahy zejména distálně na DK.

Podpora projektu: OPPK CZ.2.16/3.1.00/24022 a MZ ČR RVO, FN v Motole 00064203.

P-24. ROLE DIFÚZNÍHO TENZOROVÉHO ZOBRAZENÍ V DIAGNOSTICE NORMOTENZNÍHO HYDROCEFALU

David Hoza (1), Hořínek Daniel (2), Buskakowská Irena (3), Nikolett Larson (4), Beneš Vladimír (5), Hort Jakub (6)

1 – Neurochirurgické odd. v Desavě, Německo, 2 – Mezinárodní výzkumné centrum (ICRC), Brno, 3 – Klinika radiologie 2. LF FNM, 4 – Neurologická klinika v Segedínu, Maďarsko, 5 – Neurochirurgická klinika 1. LF UK, 6 – Neurologická klinika 2. LF FNM

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

Úvod: Alzheimerovu nemoc (AD) a normotenzní hydrocefalus (NPH) spojuje jak kognitivní defizit, tak přítomnost ventrikulomegalie. Kromě specifických změn v bílé hmotě zjišt'ovaných pomoci magnetické rezonance u obou onemocnění, zabývalo se jen málo studií přímým porovnáním změn hodnot difuzivity na MRI. Předkládaná studie porovnává změny v bílé hmotě u skupin pacientů s AD a NPH pomocí difúzního tenzorového zobrazení (DTI).

Cíl: Do studie bylo zahrnuto 17 pacientů s NPH, 14 s AD a 17 zdravých subjektů. Frakční anizotropie (FA), střední (MD), axiální (AD) a radiální difuzivita (RD) byly získány pomocí 3T přístroje. Měřeny byly hodnoty svazku axonálních vláken bílé hmoty hemisfér u pacientů obou skupin a zdravých kontrol (Track-based Spatial Statistics).

Materiál a metody: Snížená FA a zároveň zýšená RD byly zachyceny u pacientů s NPH v corpus callosum zejména v jeho spleniu. Vyšší FA u těchto subjektů nalézame naopak v kortiko-fugálních vláknech mířících z fronto-parietálního kortexu do zadního raménka capsula interna. Současně bylo zaznamenáno i zvýšení hodnot MD a AD.

U skupiny nemocných s AD nebyly naměřeny žádné změny FA. AD byla ve všech měřených oblastech lehce vyšší.

Subjekty s NPH vykazovaly oproti pacientům s AD vyšší hodnoty FA, MD a AD ve vláknech corona radiata periventrikulárně vycházející z fronto-parietálního kortexu a směřujících do zadního raménka capsula interna a obou thalamů.

Výsledky: Snížená FA a zároveň zýšená RD byly zachyceny u pacientů s NPH v corpus callosum zejména v jeho spleniu. Vyšší FA u těchto subjektů nalézame naopak v kortiko-fugálních vláknech mířících z fronto-parietálního kortexu do zadního raménka capsula interna. Současně bylo zaznamenáno i zvýšení hodnot MD a AD.

U skupiny nemocných s AD nebyly naměřeny žádné změny FA. AD byla ve všech měřených oblastech lehce vyšší.

Subjekty s NPH vykazovaly oproti pacientům s AD vyšší hodnoty FA, MD a AD ve vláknech corona radiata periventrikulárně vycházející z fronto-parietálního kortexu a směřujících do zadního raménka capsula interna a obou thalamů

Závěr: V uvedené práci byly pomocí DTI nalezeny změny v bílé hmotě, kterými se odlišily obě skupiny onemocnění. Touto analýzou bylo tedy možno určit diagnózu NPH či AD s dostatečnou senzitivitou na mikrostrukturální úrovni, čehož lze využít při výzkumu dalších onemocnění se strukturální patologií bílé hmoty.

P-25. HYPOXIE ZVYŠUJE PŘÍTOMNOST REAKTIVNÍCH SLOUČENIN KYSLÍKU V PLICNÍM ŘEČIŠTI POTKANA

Tkaczyk J. (1), Uhlík J. (2), Vajner L. (2), Vízek M. (1)

1 – Ústav patologické fyziologie 2. LF UK, 2 – Ústav histologie a embryologie 2. LF UK

Školitel: prof. MUDr. Martin Vízek, CSc.

Úvod: Reaktivní sloučeniny kyslíku (ROS) hrají nezbytnou roli v mnoha fyziologických reakcích, zároveň se ale spolupodílí na celé řadě patologických stavů, např. rozvoji plicní hypertenze. Jejich produkci ovlivňuje vystavení hypoxii či reoxygenace.

Cíl: Pomoci histochemické metody detekovat přítomnost reaktivních sloučenin kyslíku (peroxid vodíku) přímo v plicní tkáni pokusných zvířat, vystavených hypoxii. Potvrdit, zda je přítomnost ROS při hypoxii zvýšená a zjistit možné hlavní zdroje v plicích.

Materiál a metody: Skupina 6 pokusných potkanů (samci Wistar) byla v komoře vystavena 3-denní hypoxii (10%O_2). Po vynětí byli potkani anestezováni (pentobarbital 50mg/kg) a po intubaci napojeni na ventilátor. Cestou pravé komory byla kanylována plicnice a po promytí fyziologickým roztokem byl aplikován roztok k detekci přítomnosti peroxidu vodíku (Fe/diaminobenzidine, blíže viz Babbs, Methods in Enzymology, 233, 619-630,1994). U kontrolní skupiny (umístěné na vzduchu) bylo postupováno stejně. Plíce byly následně fixovány parafínem a zpracované běžnou metodou. Na řezech plic byly detekovány cévy dle lokalizace podél větvení dýchacích cest (terminální bronchioly, respirační bronchioly, alveoly) a určeno procento jejich obvodu pokryté indikátorem peroxidu vodíku. Výsledky byly zpracovány programem GraphPad Prism 6 (one way ANOVA + Tukey Multiple comparison test).

Výsledky: V plicích kontrolní skupiny jsme peroxid vodíku prakticky nedetekovali. U pokusných zvířat jsme prokázali přítomnost peroxidu vodíku výlučně v luminu cév. Pozitivita obvodu cév byla významně vyšší v periferní části řečiště (cévy provázející respirační bronchioly (R) = 7,53 ± 1,77 a alveoly (A) = 8,25 ± 1,67) oproti cévám v blízkosti terminálních bronchiolů (T) = 3,45 ± 1,56.

Závěr: Prokázali jsme vyšší přítomnost peroxidu vodíku v arteriální části řečiště spjaté s distálními dýchacími cestami. Z jiných prací vyplývá, že právě tyto cévy jsou místem strukturálních změn při rozvoji hypoxické plicní hypertenze.

P-26. VÝZNAM MYXOVIRUS RESISTANCE PROTEINU A V LÉČBĚ INTERFERONEM BETA U PACIENTU S ROZTROUŠENOU SKLERÓZOU

Libertínová J. (1), Meluzínová E. (1), Havrdová E. (4), Horáková D. (4), Kovářová I. (4), Hynčicová E. (1), Lišková P. (1), Maťoška V. (3), Zajac M. (2), Tomek A. (1), Marusič P. (1), Bojar M. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 3 – Laboratoř molekulární diagnostiky Nemocnice Na Homolce, Praha, 4 – Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd, 1. LF UK a VFN v Praze

Školitel: prof. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Úvod: Interferony-? (IFN?) patří mezi léky první volby v terapii roztroušené sklerózy, jejich imunomodulační účinek vede ke snížení aktivity zánětlivého procesu v centrálním nervovém systému. Odpovídavost na léčbu IFNß může být snížena přítomností neutralizačních protilátek (NAbs), k jejichž tvorbě dochází u 2-42% pacientů. Myxovirus resistance protein A (MxA) patří do skupiny „interferonem stimulovaných genů" a v podobě mRNA MxA je obecně považován za spolehlivý marker účinnosti léčby IFN?. Při poklesu mRNA MxA pod určitou hodnotu (cut-off) vzniká podezření na ztrátu účinnosti IFN?.

Cíl: Ve skupině pacientů zahajujících léčbu IFNß prospektivně sledovat výskyt NAbs i expresi mRNA MxA. U NAbs pozitivních jedinců analyzovat časový vztah a souvislost hodnoty mRNA MxA s titrem NAbs.

Materiál a metody: mRNA MxA byla vyšetřována pomocí real-time PCR každé 3 měsíce, při opakovaném poklesu následoval MxA indukční test, který suspektní ztrátu reaktivity na terapeuticky podávaný IFN? ověřoval. NAbs byly stanovovány každých 6 měsíců pomocí metody cytopatického efektu. Pacienti byli pravidelně sledováni klinicky i pomocí MR. Studie trvala 24 měsíců.

Výsledky: Bylo zařazeno 119 pacientů, u 20 pacientů byla léčba IFN? v průběhu studie ukončena, 99 pacientů sledování řádně dokončilo. Pozitivita NAbs se objevila u 17 pacientů, nejčastěji poprvé v měsíci 12 a 18. U 10 pacientů (10 %) zůstaly NAbs přítomny trvale. Při NAbs v titru 20-100 TRU/ml kleslo MxA pod cut-off v 85 % případů, při titru >100 TRU/ml ve 100 %. Opakovaný pokles MxA pod cut-off byl zjištěn u 19 (19%) pacientů – u všech pacientů s trvalou NAbs pozitivitou (10 pacientů), u některých s přechodnou pozitivitou NAbs (u třech z pěti takových pacientů) a také u šesti pacientů bez NAbs. MxA indukční test byl nedostatečný u všech pacientů s trvalou NAbs pozitivitou. Nedostatečný byl navíc i u 2 pacientů s poklesem MxA bez NAbs. Pokles MxA předcházel obecně vzniku NAbs ve 40 % případů.

Závěr: MxA se stává hlavním laboratorním ukazatelem účinnosti IFN?. K jeho poklesu dochází mnohdy ještě před možností detekce NAbs, screening MxA v průběhu léčby navíc zachytí pacienty s podezřením na ztrátu účinnosti IFN? i v případech bez tvorby NAbs.K ověření ztráty reaktivity na IFN? je třeba expresi mRNA MxA vyšetřit opakovaně, před změnou léčby je nezbytné doplnit i MxA indukční test.

Podpora projektu: Práce byla podpořena výzkumným projektem IGA MZ ČR NT/12385-5.

P-27. FRAKČNÍ ANIZOTROPIE U HYDROCEFALU S DISPROPORCIONÁLNĚ ROZŠÍŘENÝMI SUBARACHNOIDEÁLNÍMI PROSTORY

Radovnický T. (1), Adámek D. (2), Derner M. (2), Sameš M. (1)

1 – Neurochirurgická klinika Univerzity J. E. Purkyně, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, 2 – Radiodiagnostické oddělení, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

Školitel: prof. MUDr. Martin Sameš, CSc.

Úvod: Nález hydrocefalu s disproporcionálně rozšířenými subarachnoideálními prostory (DESH) na MR mozku byl popsán jako důležitý prediktivní faktor v léčbě idiopatického normotenzního hydrocefalu (iNPH). Pacienti s DESH reagují na implantaci ventrikulo-peritoneálního shuntu lépe, než pacienti bez DESH. Tato studie byla založena na hypotéze, že DESH by měl být spojen s vyšší kompresí bílé hmoty mozku, než u pacientů bez nálezu DESH. Mikrostrukturální změny dané kompresí mohou být na MR identifikovány pomocí zobrazení difuzních tenzorů, zejména měření frakční anizotropie (FA).

Cíl: Cílem této studie bylo porovnat hodnoty FA v určitých oblastech u iNPH pacientů s DESH, bez DESH a u zdravých dobrovolníků.

Materiál a metody: Pacientům, splňujících kritéria pravděpodobného nebo možného iNPH a pozitivními likvorodynamickými testy, jsme provedli 1,5 T MR mozku před operací (zavedení ventrikulo-peritoneálního shuntu) a rok po operaci. FA jsme měřili v předním a zadním raménku capsula interna a v corpus callosum. Ve stejných oblastech jsme FA měřili i u kontrolní skupiny.

Celkem jsme do studie zařadili 27 pacientů (17 mužů a 10 žen, věkové rozmezí 51 – 86 let, průměr 72,4 roku) a 24 zdravých dobrovolníků (13 mužů a 11 žen, věkové rozmezí 60 – 79 let, průměr 69,3 let). DESH byl přítomný u 15 pacientů a u 12 pacientů DESH přítomný na MR nebyl.

Výsledky: Signifikantní rozdíl v hodnotách FA mezi iNPH pacienty s DESH a bez DESH byl nalezen v zadním raménku capsula interna. Průměrná hodnota u DESH pacientů byla 0,72 a u pacientů bez DESH 0,66 ($p < 0,01$). V kontrolní skupině byla tato hodnota 0,58, tedy významně nižší než u pacientů ($p < 0,01$). Po operaci hodnota klesla u obou skupin pacientů. U pacientů bez DESH klesla téměř na úroveň kontrolní skupiny, u pacientů s DESH byl patrný významný rozdíl i po implantaci shuntu.

Závěr: Prokázali jsme, že obraz DESH na MR je spojen s vyšší hodnotou FA v zadním raménku capsula interna. To odráží závažnější kompresí bílé hmoty, než je tomu u pacientů s iNPH bez nálezu DESH. Po operaci komprese ustupuje, ale ne až na úroveň zdravých. Lepší výsledky terapie pacientů s DESH mohou být způsobeny tím, že u těchto pacientů hraje důležitou roli právě komprese bílé hmoty, která je snížena operací. U pacientů bez DESH mohou hrát roli i jiné patofyziologické mechanismy, které nejsou derivací likvoru po operaci postiženy. Hodnocení DESH je tedy platnou součástí diagnostického algoritmu idiopatického normotenzního hydrocefalu.

Podpora projektu: Podpořeno grantem IGA MZ NT14448-3/2013.

P-28. SCHOPNOST TVORBY VIZUÁLNÍCH PAMĚŤOVÝCH ASOCIACÍ JE NARUŠENA U ZDRAVÝCH SENIORŮ

Gažová I. (1), Laczó J. (1), Cerman J. (1), Marková H. (1), Vlček K. (2), Hort J. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol; 2 – Oddělení neurofyziologie paměti, Fyziologický ústav AV ČR

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

Úvod: V průběhu stárnutí dochází ke změnám ve specifických oblastech mozku, především v oblasti temporálního laloku, které můžou vést k lehkému nerovnoměrnému poklesu kognitivních funkcí, především v oblasti vybavování nových paměťových stop, časté je i postižení pozornosti, pracovní paměti a exekutivních funkcí, zatímco sémantická paměť a fatické funkce zůstávají z velké části zachovány. Také epizodická paměť, jejíž součástí je i asociační učení, může být postižena ve vyšším věku.

Cíl: Cílem této studie bylo určit, zda je u zdravých seniorů postižena schopnost tvorby vizuálních paměťových asociací.

Materiál a metody: V této studii byl použit speciální test vizuálních paměťových asociací, který se skládá z 3 po sobě jdoucích podtestů se zvyšující se obtížností (viz obr.). Test je založen na tvorbě asociací mezi daným předmětem a jeho polohou a pořadím, v jakém je testovanému subjektu prezentovaný. Bylo vyšetřeno 49 jedinců starších 60 let, kteří byli rozděleni do dvou skupin – 60-70 let (n=25) a 71-84 let (n=24), současně bylo vyšetřeno 25 mladých dobrovolníku ve věku 18-26 let. Všichni účastnici podstoupily standardní neuropsychologické vyšetření kognitivních funkcí k vyloučení kognitivní poruchy a u starších účastníků byla provedena magnetická rezonance mozku k vyloučení významných vaskulárních či neurodegenerativních změn.

Výsledky: Účastníci studie starší 60 let dosahovali horších celkových výsledků oproti mladým účastníkům ($p \leq .008$). Obě skupiny starších účastníků vykazovaly více chyb v zapamatování si pořadí předmětů oproti mladším účastníkům ($p \leq .017$), zatímco pouze u skupiny účastníků starších 71 let bylo přítomno více chyb v zapamatování si polohy předmětů oproti mladším účastníkům ($p \leq .005$) (viz graf). Celková schopnost tvorby vizuálních asociací hodnocena na základě počtu správně přirazené polohy i pozice k danému předmětu byla u účastníků starších 60 let významně nižší. Senzitivita tohoto testu k záchytu poruchy tvorby a vybavení vizuálních asociací u starších byla 72% a specificita 83%.

Závěr: Schopnost tvorby vizuálních asociací je snížená u jedicnů starších 60 let. Test použitý v této studii by mohl zvýšit senzitivitu zavedené baterie neuropsychologických testů.

Podpora projektu: Tento projekt byl připraven za podpory projektu GAUK č. 546113.

P-29. VLIV INFUZNÍCH ROZTOKŮ NA KREVNÍ SRÁŽLIVOST IN VITRO S VYUŽITÍM METODY ROTEM

Ševčíková S., Durila M.

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

Školitel: MUDr. Miroslav Durila, Ph.D.

Úvod: V současnosti je hodně diskutované téma, jaký typ roztoků by měl být preferován v perioperační medicíně a to s ohledem na jejich negativní účinek na koagulaci. Tato práce hodnotila ovlivnění krevní srážlivosti po podání balancovaných infúzních roztoků – krystaloidu, hydroxyethylškrobu (zkr. HES) a želatiny.

Rotační tromboelastometrie (ROTEM) představuje dynamické vyšetření plné krve, které poskytuje informace o funkčním stavu koagula v celém průběhu jeho tvorby a lýzy. Přístroj ROTEM® delta má čtyři pracovní kanály a umožňuje provést vyšetření vnější cesty sekundární hemostázy (EXTEM), vnitřní cesty (INTEM), vyšetření hladiny funkčního fibrinogenu (FIBTEM) a k potvrzení skutečné fibrinolýzy se využívá APTEM test.

Cíl: Porovnat negativní efekt jednotlivých roztoků na krevní srážlivost a najít roztok s nejmenším negativním vlivem na krevní srážlivost.

Materiál a metody: Projekt byl realizován na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní péče 2. LF UK a FN Motol, která disponuje dvěma přístroji ROTEM®delta. Krevní vzorky byly získány od zdravých dobrovolníků podstupující artroskopii kolenního kloubu. Ovlivnění koagulačních parametrů bylo sledováno po podání krystaloidu, HESu a želatiny, a to při navozené 20% diluci. Byly hodnoceny parametry vyšetření EXTEM a FIBTEM analyzované na přístroji ROTEM®delta.

Výsledky: Při vyšetření EXTEM byly hodnoceny parametry CT – čas srážení, CFT – rychlost tvorby koagula, úhel alfa – kinetika srážení, MCF – maximální síla koagula, při vyšetření FIBTEM – parametr MCF.

Dle statistického zpracování přidání infuzních roztoků nemá vliv na parametr EXTEM CT, „p" = 0,1667. Ostatní parametry metody EXTEM i FIBTEM jsou infuzními roztoky ovlivněny, „p" ? 0,0001. Parametr EXTEM CFT je ovlivněn po přidání HESu a želatiny, parametr EXTEM úhel alfa po přidání HESu. Parametr EXTEM MCF ovlivňuje přidání HESu a želatiny. Parametr FIBTEM MCF ovlivňují všechny roztoky, nejméně krystaloid, více, již statisticky významně želatina, nejvíce HES.

Závěr: Při 20% diluci navozené in vitro je krevní srážlivost nejvíce narušena podáním HESu. Prodlužuje se rychlost tvorby koagula, slábne jeho síla. Želatina má na uvedené parametry menší vliv. Nejmenší negativní efekt na krevní srážlivost má podání krystaloidu, který v naší práci významně neovlivnil koagulační parametry.

P-30. MOŽNÉ PATOGENETICKÉ FAKTORY PODÍLEJÍCÍ SE NA VZNIKU A ROZVOJI STEC-HUS U DĚTÍ, HOSTITEL VS. PATOGEN

MUDr. Lucia Karnišová (1), doc. MUDr. Květa Bláhová, CSc (1)

1 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06, Praha 5, Česká republika

Školitel: doc. MUDr. Květa Bláhová, CSc

Úvod: Hemolyticko-uremický syndrom (HUS) patří mezi nejčastější příčiny akutního poškození ledvin u dětí. V 90% se jedná o klasickou/typickou formu HUS, pro kterou je charakteristické infekční průjmové předchorobí. Onemocnění vzniká nejčastěji na podkladě infekce Shiga toxin-produkujícími kmeny Escherichia coli (STEC). Manifestace infekce STEC může mít variabilní průběh, od nekomplikovaného průjmu přes hemoragickou kolitidu, až po rozvoj závažného systémového onemocnění- HUS. Dosud nejsou plně objasněny příčiny rozdílného klinického průběhu daného onemocnění, zejména faktory vedoucí k rozvoji HUS jen u malého procenta pacientů infikovaných STEC. Na této variabilitě se nejpravděpodobněji podílejí jak faktory hostitele, tak i patogenu.

Cíl: Objasnění patofyziologie průběhu těžkých forem STEC-HUS pomocí detailní analýzy faktorů virulence na straně patogena. Na straně hostitele identifikovat laboratorní biomarkery k predikci těžšího průběhu infekce.

Materiál a metody: Klinická a epidemiologická analýza dat 34 pacientů s typickým HUS hospitalizovaných na Pediatrické klinice 2. LF UK a FN Motol v průběhu let 1999 až 2014. Diagnostika mutací ve faktorech virulence 22 kmenů ze STEC-HUS pomocí molekulárně genetických a funkčních metod. Analýza biomarkerů v séru, plasmě, moči nově diagnostikovaných pacientů v akutní fázi HUS a v remisi pomocí imunohistochemických metod.

Výsledky: Nejčastějším vyvolavatelem HUS v ČR je sérotyp STEC O26:H11. Nebyl nalezen statisticky signifikantní rozdíl mezi tíží klinického průběhu onemocnění a různými sérotypy STEC. Nově objevené mutace v hlavním faktoru virulence STEC (missense mutace v stx2a) u dvou kmenů O26 pravděpodobně nemají klinický korelát.

Závěr: Dosud nejsou plně objasněny příčiny rozdílného klinického průběhu daného onemocnění, zejména faktory vedoucí k rozvoji HUS jen u malého procenta pacientů infikovaných STEC. Nově objevené mutace v hlavním faktoru virulence STEC (missense mutace v stx2a) u dvou kmenů O26 pravděpodobně nemají klinický korelát, je nutné otestovat větší vzorek kmenů EHEC na nově zjištěné mutace a ev. ověřit patogenicitu mutací na buněčných kulturách. Jelikož neexistuje specifická terapie typického HUS, je nutná identifikace prognostických faktorů horšího průběhu onemocnění již v době prvních příznaků onemocnění.

Podpora projektu: GAUK.

P-31. RIZIKOVÉ FAKTORY KARDIOVASKULÁRNÍCH KOMORBIDIT U PACIENTŮ S PSORIÁZOU VYUŽITELNÉ V SEKUNDÁRNÍ PREVENCI

Votrubová J. (1,2), Jůzlová K. (1), Hercogová J. (1), Šmerhovský Z. (2), Göpfertová D. (2)

1 – Dermatovenerologická klinika Nemocnice na Bulovce a 2. LF UK, 2 – Ústav epidemiologie 2. LF UK

Školitel: Doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: Psoriáza je chronické zánětlivé kožní onemocnění, které se vyskytuje cca u 2-5% populace. Je asociována s řadou komorbidit, které zhoršují kvalitu života psoriatiků a negativně ovlivňují jejich morbiditu a mortalitu. Dosud publikované studie ukazují na vyšší výskyt kardiovaskulárních komorbidit u pacientů s psoriázou, výsledky těchto studií jsou však velmi různorodé a závěry nejednotné. Proto jsme iniciovali studii, která si klade za cíl zjistit prevalenci rizikových faktorů kardiovaskulárních komorbidit u českých pacientů s lupénkou a definovat vhodný screenigový program k zajištění sekundární prevence.

Cíl:

1. Vyšetření, vyhodnocení a porovnání prevalence jednotlivých rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění (obvod pasu, krevní tlak, dyslipidémie, porucha glukózové tolerance) u případů a kontrol.
2. Porovnání prevalence časných stadií aterosklerózy pomocí sonografického měření šíře intima-medie na a.carotis communis vpravo a vlevo u pacientů s psoriázou a kontrolní skupinou.
3. Na základě získaných výsledků sestavení souboru preventivních vyšetření vhodných k pravidelnému screeningu.

Materiál a metody: Projekt má design studie případů a kontrol. U každého subjektu byl vyšetřen: krevní tlak, glykémiie, lipidogram, CRP, obvod pasu. Dále zaznamenáváme věk, pohlaví, výšku, váhu, přítomnost kouření a u pacientů s lupénkou navíc BSA (body surface area) a PSA (psoriatic severity index).

Výsledky:

1. Porovnáním jednotlivých rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění, dosáhly rozdíly mezi případy a kontrolami hladiny statistické významnosti v následujících parametrech: obvod pasu a BMI, hladina triacylglycerolů, hladina HDL a LDL cholesterolu, tlak krve (systolický i diastolický) a CRP. Rozdíly v hodnotách glykémie mezi případy a kontrolami nedosáhly hladiny statistické významnosti.
2. Při ultrasonografickém měření šíře intima- medie (IMT) a carotis communis vpravo a vlevo nebyl shledán žádný statisticky významný rozdíl mezi případy a kontrolami.

Závěr: Výsledky studie ukazují, že záchyt zvýšených či patologických hodnot u výše zmíněných vyšetřovaných parametrů dosahuje hladin statistické významnosti, proto by se pravidelný screening pacientů s chronicky stacionární formou lupénky měl stát standardem pro dermatology ve spolupráci s praktickými lékaři. Včasná diagnostika těchto onemocnění a rizikových faktorů výrazně zlepší budoucí kvalitu života pacienta a v neposlední řadě se včasnou léčbou komorbidit sníží náklady na léčbu komplikací těchto onemocnění.

P-32. RENTGENOVÝ OBRAZ ARTRÓZY KOLENNÍHO KLOUBU – PREDIKCE A REÁLNÁ BOLEST U PACIENTŮ PODSTUPUJÍCÍCH TOTÁLNÍ ENDOPROTÉZU KOLENNÍHO KLOUBU

Chino M. (1) Tovstucha A. (1), Hodovníková M. (1)

1 – NsP Česká Lípa

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

Úvod: Multifaktoriální příčina bolesti u artózy kolenního kloubu je dobře známa. Přesto je RTG obraz nadále jedním z hlavních indikačních faktorů k totální endoprotéze kolenního kloubu. Větší porozumění etiologie bolesti by jistě vysvětlilo i bolestivost po endoprotéze kolenního kloubu.

Cíl: Stanovit počet pacientů s bolestivostí nekorelujících s RTG obrazem gonartrózy.

Materiál a metody: Šedesát rentgenových obrazů artrózy kolena bylo hodnoceno dvěma ortopedy pro predikovanou lokalitu bolesti. Hodnocení bylo porovnáno s lokalitou bolesti popisovanou pacienty.

Výsledky: Z 60 ti RTG snímků se podařilo správně predikovat rozsah bolestivé lokace u 29 resp. 30 pacientů. Částečně se podařilo odhadnout 53 pacientů. U 5 pacientů byla jednoznačná neshoda v místě bolesti a RTG obrazu. Rozdílné hodnocení mezi hodnotiteli bylo u 6 pacientů . RTG obraz mediální osteoartrózy byl u 50 pacientů a laterální u 10 pacientů. U 4 pacientů obraz minimální artrózy a u 4 pacientů obou kompartmetnů.

Závěr: RTG obraz gonartrózy koreluje jen částečně s místem bolesti. 50 procent pacientů má obraz typické artrózy s rozvinutým RTG obrazem. 8 procent pacientů má bolest lokalizovanou zcela mimo oblast RTG obrazu artrózy.

P-33. FUNKCIONALIZOVANÁ NANOVLÁKNA PRO CHIRURGII ZAŽÍVACÍHO TRAKTU

Vjaclovský M. (1), Barbora E. (1), Hoch J. (1), Amler E. (2), Kralovič M. (2)

1 – Chirurgická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2 – Ústav biofyziky 2. LF UK

Školitel: prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc

Úvod: Anastomózy i sutury na zažívacím traktu jsou kritickým místem operace s rizikem vzniku závažných pooperačních komplikací. Je známo množství faktorů, které bezpečnost anastomóz a sutur ovlivňují – prověřené anastomotické techniky, vhodný materiál, akutní/plánovaná operace, dostatečná zkušenost a dovednost chirurga. Přesto počty anastomotických komplikací v rizikových lokalizacích, jakými jsou anastomózy na rektu, tlustém střevě, jícnu, žlučových cestách, případně při uzávěru duodena, stále neklesají pod 10%. Proto jsou aktuální cesty nebo způsoby podpory hojení anastomózy.

Cíl: Průkaz podpory hojení anastomózy při použití funkcionalizované nanovlákenné sítě na animálním modelu králíka.

Materiál a metody: Materiál: nanovlákenná síť – vyrobena z PVA (polyvinylalkoholu) – vhodné mechanické vlastnosti vytvořena procesem zvaným elektrostatické zvláknování (technologie NanoSpider TM) vysoká porozita materiálu imituje složky extracelularní matrix (adherence a proliferace buněk) detail na obr. 1 ukazuje průměr nanovláken.

Metodika: Animální model – králík. Konstrukce anostomózy na tlustém střevě králíka – ručně šitá anostomóza, šita pokračujícím stehem PDS 4/0 – end to end. Aplikace funkcionalizované nanovlákenné sítě na anastomózu (obr. 3,4). Sutura laparotomie – svalové fascie a kůže. Antibiotická profylaxe.

Výsledky: 4/2016 začátek animálního pokusu.

Závěr: sine

P-34. MOŽNOSTI HMOTNOSTNÍ CYTOMETRIE PŘI ANALÝZE DĚTSKÝCH MOZKOVÝCH NÁDORŮ

Garcia N´Dua F. (1,2), Kužílková D. (2,3), Thurner D. (2,3), Kalina T. (2,3), Zámečník J. (4), Hraběta J. (3), Vícha A. (3), Libý P. (5), Kršek P. (6), Tichý M. (5), Hrušák O. (2,3), Vášková M. (2,3)

1 – Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, 2 – CLIP, 3 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 4 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha, 5 – Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol, Praha, 6 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Pregraduální student

Školitel: RNDr. Martina Vášková, Ph.D.

Úvod: Hmotnostní cytometrie je nová metoda, která umožňuje vyšetřit expresi až 100 molekul na úrovni jednotlivých buněk a získává tak dramaticky více informací než dosud využívané podobné metody. Využívá monoklonální protilátky konjugované s izotopy těžkých prvků.

Cíl: Cílem práce bylo: 1. Nalézt vhodné podmínky pro přípravu buněčné suspenze z dětských mozkových nádorů pro analýzu na hmotnostním cytometru. 2. Sestavit panely protilátek, které umožní identifikovat nádorovou populaci, stanovit vybrané vlastnosti nádorových buněk a identifikovat ostatní (nenádorové) buňky přítomné ve vzorku.

Materiál a metody: Pro porovnání mechanické disagregace tkáně bez a s přidáním enzymů kolegenázy D a DNázy I byla použita nenádorová mozková tkáň odebíraná při epileptochirurgických zákrocích. Stanovení buněčnosti bylo provedeno na průtokovém cytometru LSRII. Na hmotnostním cytometru CyTOF2 se měřily všechny vzorky v průběhu sestavování panelu určeného pro mozkové nádory. Testování monoklonálních protilátek probíhalo na buněčných liniích a vzorcích periferní krve zdravých dárců. Stávající panel byl otestován u vlastního mozkového nádoru.

Výsledky: Zjistili jsme, že pro přípravu buněčně suspenze je dostačující mechanická disagregace tkáně s podobnými výtěžky jako při současném přidání enzymů. Získanou suspenzi je možné uchovávat v methanolu v –80 °C po předchozí fixaci paraformaldehydem.

Sestavili jsme dva panely značených protilátek. První je zaměřen na stanovení fází buněčného cyklu, rozpoznání buněk s imunofenotypem nádorových kmenových buněk a dalších potenciálně prognostických znaků (cytoskeletární protein drebrin, glukózové transportéry Glut1 a Glut3). Druhý panel zahrnuje transkripční faktory charakteristické pro nádorové kmenové buňky (Sox2, Oct-3/4, Nanog) a umožňuje sledovat jejich expresi v buňkách, které identifikujeme jako kmenové pomocí dalších molekul (CD271, CD133, nestin). Dále umožňuje identifikovat infiltrující buňky imunitního systému a endotelové buňky.

Závěr: Hmotnostní cytometrie v principu umožňuje analýzu solidních nádorů po převedení tkáně do buněčné suspenze. V suspenzi lze identifikovat podtypy přítomných buněk a na úrovni jednotlivých buněk lze kvantifikovat přítomnost povrchových, cytoplazmatických, jaderných i fosforylovaných proteinů. Detekce velkého množství molekul umožní vybrat diagnosticky nejpřínosnější z nich.

Podpora projektu: Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-26588A, UNCE 204012, OPPK CZ.2.16/3.1.00/21540, OPPK CZ.2.16/3.1.00/24505.

P-35. MASIVNĚ PARALELNÍ SEKVENOVÁNÍ PANELU GENŮ SPOJENÝCH S NEKOMPLIKOVANOU HEREDITÁRNÍ SPASTICKOU PARAPARÉZOU U ČESKÝCH PACIENTŮ S VYLOUČENÝMI MUTACEMI VE SPAST (SPG4) GENU

Mészárosová A. (1), Šafka Brožková D. (1), Laššuthová P. (1), Krůtová M. (1), Staněk D. (1), Seeman P. (1,2)

1 – DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – GENNET Centrum lékařské genetiky a asistované reprodukce, Praha

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

Úvod: Hereditární spastická paraparéza (HSP nebo SPG) je heterogenní skupinou dědičných onemocnění centrálního motoneuronu (prevalence 3 až 10 : 100 000) s různými typy dědičnosti a velmi variabilním fenotypem od mírných forem až po invalidizující. Projevuje se progredující spasticitou a slabostí dolních končetin, mohou být přidruženy další příznaky. Dosud bylo popsáno již více než 70 typů HSP. S nekomplikovanou formou HSP (pouze spinální postižení) bylo popsáno 28 genů plus dalších 5 lokusů bez definovaného kauzálního genu. Nejčastější příčinou nekomplikované HSP jsou mutace genu SPAST, méně často v genech ATL1 a REEP1, přesto zůstává u více než 40 % pacientů příčina choroby neobjasněna.

Cíl: U vzorku českých pacientů s nekomplikovanou HSP vyšetřit panel kódujících částí všech 28 genů spojovaných s nekomplikovanou HSP a stanovit procento objasnitelnosti příčiny nemoci touto metodou.

Materiál a metody: U 42 českých pacientů s podezřením na HSP (31 pacientů s výskytem nemoci v rodině ve více generacích, 11 pacientů sporadických s časným nástupem choroby), kde byla pomocí Sanger sekvenování a MLPA vyloučena mutace genu SPAST jako příčina choroby, bylo provedeno cílené masivně paralelní sekvenování (MPS) panelu všech exonů 28 genů, spojovaných s nekomplikovanou HSP. Knihovny pro MPS byly připraveny kitem HaloPlex Target Enrichment (Agilent Technologies, USA), sekvenační data analyzována dvěma nezávislými software Agilent SureCall (Agilent Technologies, USA) a NextGene (SoftGenetics, USA). Nalezené mutace byly ověřeny pomocí Sangerova sekvenování. Patogenicita nalezených mutací byla posuzována in silico (Mutation Taster, Polyphen 2, SIFT) a pomocí segregační analýzy v rodině, kde to bylo možné.

Výsledky: U 7 pacientů (16,6 %) jsme nalezli mutace, které považujeme za kauzální. Jde o mutace již popsané jako patogenní (geny REEP1, NIPA1, HSPB3, SPG7 a SPG11) nebo o novou mutaci v místě, kde již patogenní mutace popsána byla (KIF5A). U 4 pacientů (9,5 %) jsme nalezli dosud nepopsané missense varianty (geny BSCL2 a KIAA0196) nejasného významu s nulovou frekvencí v populacích in silico hodnocené jako patogenní a jednu synonymní variantu v genu REEP1 s možným splice efektem, pro potvrzení patogenicity je nutné další ověření nejlépe segregační analýzou v rodině. Všechny kauzální varianty jsme nalezli u pacientů s familiárním výskytem nemoci. U pacientů s časným nástupem jsme nalezli pouze u jednoho variantu nejasného významu v genu BSCL2.

Závěr: Cílené MPS panelu genů spojených s nekomplikovanými formami HSP je účinným nástrojem pro objasnění vzácnějších příčin nemoci, i když objasnitelnost je u HSP nižší než u jiných skupin hereditárních neurologických onemocnění.

Podpora projektu: Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-33041A.

P-36. SGIP1 OVLIVŇUJE SIGNALIZACI KANABINOIDNÍHO RECEPTORU 1 DRÁHOVĚ SPECIFICKÝM ZPŮSOBEM

Hájková A. (1), Techlovská Š. (1), Hubálková P. (1), Dvořáková M. (1), Prezeau L. (2), Blahoš J. (1)

1 – Ústav molekulární genetiky AV ČR v.v.i., Praha, 2 – Institute de Génomique Fonctionnelle, Montpellier, Francie

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

Úvod: Kanabinoidní receptor 1 (CB1R) patří do rozsáhlé skupiny receptorů spřažených s G-proteiny. CB1R se vyskytuje především v neuronech, kde moduluje synaptickou plasticitu. Detailní pochopení molekulárního mechanismu synaptické neurotransmise je klíčové pro odhalení příčin mozkových dysfunkcí a k vývoji nových terapeutických přístupů. Molekulární interakce CB1R jsou zkoumány především v souvislosti s poruchami příjmu potravy (obezita, anorexie), drogovou závislostí, vnímáním bolesti, nespavostí a některými psychickými onemocněními. Naší snahou bylo identifikovat nové intracelulární interakční partnery CB1R a charakterizovat jejich vliv na jeho signalizaci.

Cíl: Identifikace nových intracelulárních interakčních partnerů CB1R a charakterizace jejich vlivu na signalizaci CB1R.

Materiál a metody: Yeast-two hybrid (Y2H); konfokální mikroskopie; western blot; BRET (interakce proteinů; aktivace G-proteinů; interakce s beta-arrestiny); měření hladiny intracelulárního vápníku; HTRF (fosforylace extracelulárním signálem řízených kináz 1/2 (ERK1/2); internalizace receptoru).

Výsledky: Pomocí Y2H jsme nalezli protein „Src homology 3-domain growth factor receptor-bound 2-like (endophilin) interacting protein 1" (SGIP1), jehož interakce s CB1R není doposud známa. Interakce byla ověřena s využitím imunoprecipitace, BRET a také prostřednictvím imunocytochemie primárních neuronálních kultur, která potvrdila možnou fyziologickou interakci obou proteinů v axonálních zakončeních neuronů. Porovnáním změn v aktivitě stimulovaného CB1R v savčích buněčných kulturách buněk HEK293, v přítomnosti či nepřítomnosti SGIP1, jsme prokázali signifikantní vliv SGIP1 signalizaci CB1R prostřednictvím ERK1/2, zatímco signalizace prostřednictvím G-proteinů zůstává nezměněna. SGIP1 také brání internalizaci CB1R z buněčného povrchu a prodlužuje jeho interakci s beta-arrestinem 2.

Závěr: Identifikovali jsme protein SGIP1 interagující s intracelulárním C- koncem CB1R a prokázali, že tato interakce ovlivňuje funkci CB1R dráhově specifickým způsobem a zároveň stabilizuje CB1R na buněčném povrchu.

Podpora projektu: GACR P303/12/2408; RVO: 68378050.

P-37. DUPLIKACE V 17Q25 OBLASTI SEPT9 GENU JAKO NEOBVYKLÁ PŘÍČINA DĚDIČNÉ NEURALGICKÉ AMYOTROFIE- PRAVDĚPODOBNĚ PRVNÍ PŘÍPAD V ČR

Neupauerová J. (1), Krůtová M. (1), Mazanec R. (2), Trková M. (3), Seeman P. (1), Laššuthová P. (1)

1 – DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 3 – Gennet, Praha

Školitel: MUDr. Petra Laššuthová, Ph.D.

Úvod: Hereditární neuralgická amyotrofie (HNA) je vzácná autosomálně dominantní forma recidivující fokální neuropatie. Je charakterizována akutními, opakujícími se bolestivými atakami v distribuci brachiálního plexu. Neuralgickou bolest v postiženém rameni následuje svalová slabost. Vyznačuje se náhlým nástupem ve druhé nebo třetí dekádě věku. V roce 2005 byly popsány bodové mutace v genu SEPT9 asociované s HNA. Až v roce 2010 bylo zjištěno, že příčinou HNA jsou i velké duplikace postihující gen SEPT9.

Cíl: Pomocí masivně paralelního sekvenování objasnit příčinu onemocnění u rodiny s klinickou diagnózou hereditární neuralgické amyotrofie.

Materiál a metody: U pacientky a jejího otce byla již v roce 2003 stanovena diagnóza HNA, gen SEPT9 v té době nebyl znám. Pacientka má specifický fenotyp s náhlým nástupem onemocnění ve věku dvaceti let. První ataka začala bolestí mezi lopatkami s oslabením abdukce levého ramene. Bolest odezněla až po dvou měsících. Druhá ataka byla u pacientky při porodu před dvěma lety. Na dolních končetinách není nález deformity nohou. Až v roce 2015 vzhledem ke klinickému podezření a velikosti genu jsme pacientku zařadili k analýze metodou cíleného masivně paralelního sekvenování (MPS) pomocí panelu genů (HaloPlex, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), jejichž mutace jsou spojovány s dědičnými neuropatiemi, kde je i SEPT9 gen zahrnut.

Výsledky: Pomocí MPS jsme při prvním hodnocení programem SureCall (Agilent Technologies) a nástrojem NextGene (SoftGenetics, PA, USA) nevyhodnotili žádnou odchylku v sekvenci SEPT9 genu oproti referenční sekvenci. Následná analýza copy number variation (CNV) nástrojem NextGene nám detekovala duplikaci všech kódujících exonů SEPT9. Tento nález jsme potvrdili metodou MLPA (MRC-Holland) kitem P307-B2 SEPT9. Současně nám jiné pracoviště (Gennet, Praha) technikou microarray na SNP čipech potvrdilo stejný nález. Duplikaci jsme potvrdili i u stejně postiženého otce. Popsaná pacientka je první v ČR s potvrzenou duplikací celé kódující oblasti SEPT9 genu. Ukázalo se, že HNA může být způsobena duplikacemi genu SEPT9.

Závěr: Duplikace SEPT9 genu objasnila příčinu HNA v první české rodině. Nové možnosti MPS a vyhodnocování pomocí nástroje NextGene se zaměřením na CNV umožňují nalézt i doposud klasickým sekvenováním nedetekovatelné delece a duplikace v genech, což je obohacením vědomostí o genech, spektru mutací a příčinách dědičných neuropatií.

Podpora projektu: Podpořeno grantem MZ ČR NT 16-30206A.

P-38. DENDRITIC CELLS PULSED WITH HHP-INACTIVATED PROSTATE CANCER CELLS AND MATURED WITH POLY (I:C) INDUCE LYMPHOCYTES TO RECOGNIZE AND KILL THE CANCER CELLS

Taborska P., Stakheev D., Vavrova K., Vrabcova P., Bartunkova J., Smrz D.

Institute of Immunology, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Charles University in Prague, Czech Republic

Supervisor: RNDr. Daniel Smrž, Ph.D.

Introduction: High hydrostatic pressure (HHP) has previously been shown to trigger immunogenic cell death in multiple cancer cell lines. Human dendritic cells (DCs) pulsed with HHP-inactivated prostate cancer cell line LNCaP was found to induce proliferation of autologous lymphocytes. These lymphocytes then readily responded to a re-challenge with the DCs. However, what impact these lymphocytes might have on living LNCaP cells is not known.

Aims: To determine whether monocyte-derived DCs that were pulsed with HHP-inactivated LNCaP cells and matured with a TLR3 agonist can induce autologous lymphocyte to recognize living LNCaP cells.

Materials and Methods: Peripheral blood mononuclear cells from healthy donors were isolated by a density gradient. Monocytes were separated by plastic adherence and allowed to differentiate into immature DCs for 5 days in the presence of IL-4 and GM-CSF. Immature DCs were pulsed with HHP-inactivated LNCaP cells for 4 hrs then matured with polyinosinic:polycytidylic acid (poly(I:C)) for 24 hrs. DCs were then used to prime autologous lymphocytes. Following 3 week of culturing in the presence of IL-2, the primed lymphocytes were exposed to cultured (living) LNCaP cells or to a control ovarian cancer cell line SKOV-3. Six hours later the lymphocytes were analyzed by flow cytometry for a marker of cytotoxic response, CD107a externalization.

Results: We show that monocyte-derived immature DCs from healthy donors that were pulsed with HHP-inactivated LNCaP cells and stimulated with TLR3 agonist poly(I:C) have an enhanced surface upregulation of DC maturation markers CD80, CD83, CD86 and HLA-DR, and a capacity to induce a strong expansion of autologous lymphocytes. Such the expanded lymphocytes were found to elicit a cytotoxic response once exposed to living LNCaP cells but not to a control ovarian cancer cell line SKOV-3. Importantly, autologous lymphocytes that were not previously induced by the DCs did not show a cytotoxic response to either of the tested lines.

Conclusions: Our data indicate that DCs loaded with HHP-inactivated prostate cancer cells and matured with poly(I:C) may induce immune response that leads to expansion of lymphocytes that are able to recognize and kill prostate cancer cells.

Support: GA UK No. 188215 GA UK No. 960214 Ministry of Health, Czech Republic – conceptual development of research organization, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic 00064203.

P-39. INCIDENCE KOŽNÍCH NÁDORŮ A DALŠÍCH ZHOUBNÝCH ONEMOCNĚNÍ U PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI LEDVINY V ČESKÉ REPUBLICE: PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY KOHORTOVÉ STUDIE

Krásová M. (1,2), Sečníková Z. (1,2), Göpfertová D. (2), Hercogová J. (1), Viklický O. (3), Šmerhovský Z. (2)

1 – Dermatovenerologická klinika 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha, 2 – Ústav epidemiologie 2. LF UK, Praha, 3 – Klinika nefrologie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha

Školitel: doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

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

Cíl: Zjistit incidenci kožních nádorů a incidenci ostatních malignit u příjemců transplantátu ledviny v největším transplantačním centru v České Republice, Institutu Klinické a Experimentální Medicíny (IKEM). Identifikovat rizikové faktory podílející se na vzniku kožních malignit v transplantované populaci. Odvodit optimální strategii pro skríning zhoubných novotvarů kůže za účelem zlepšení sekundární prevence v rámci posttransplantačním sledování pacientů po transplantaci ledvin.

Materiál a metody: Kohortová studie byla provedena na souboru 797 pacientů po transplantaci ledvin, kteří byli v období od ledna 2013 do ledna 2016 odesláni k dermatologickému vyšetření v rámci dispenzarizace z Kliniky nefrologie IKEM. Pro jednotlivé typy zhoubných novotvarů detekovaných ve sledované kohortě byla pomocí nepřímé standardizace odhadnuta velikost relativního rizika vyjádřena prostřednictvím indexu standardizované morbidity (SMR).

Výsledky: Ve sledované kohortě jsme detekovali celkem 192 maligních nádorů u 86 (10,8 %) pacientů. Nemelanomové kožní nádory (NMSC) představovaly nejčastější typ malignity se SMR=6,42 (P=0,000), následované karcinomem ledviny se SMR=5,9 (P=0,000), maligním melanomem se SMR=2,59 (P=0,080) a karcinomem prostaty se SMR=1.21 (P=0.593). Riziko NMSC bylo signifikantně vyšší ve skupině pacientů, u kterých byl v rámci udržovací imunosuprese využíván kromě takrolimu, mykofenolát mofetilu a steroidů také cyklosporin ve srovnání s pacienty léčenými imunosupresivními režimy bez cyklosporinu (SMR=9.62 vs. SMR=5.18).

Závěr: Předběžné výsledky naznačují, že riziko vzniku nemelanomových kožních nádorů je signifikantně vyšší ve srovnání s běžnou českou populací a zdůrazňují potřebu vytvoření doporučených postupů pro optimální sledování pacientů po transplantaci v ČR.

Podpora projektu: Podpořeno grantem MZ ČR AZV č. 15-26779A.

P-40. ÚRAZY STÁLÝCH ZUBŮ U DĚTSKÝCH PACIENTŮ

Kudrna L., Hart L., Kroulíková V., Hubáček M.

Stomatologická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN, Motol

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

Úvod: Úrazy v oblasti dutiny ústní zaujímají přibližně pět procent z celkového počtu veškerých úrazů, a to s prevalencí 4-40 % a incidencí 2-5 % a v závislosti na pohlaví, věku a ročním období.

Úrazy zubů jsou běžnou součástí každodenní praxe zubních lékařů. Nejvyšší výskyt úrazů u dětí se vyskytuje ve věku 7-12 let (55 %), u dětí ve věku 0-6 jsou úrazy dutiny ústní mnohem méně časté (30 %).

Příčiny úrazu zubů jsou ovlivněny jak psychickými, tak i fyzickými vlastnostmi dítěte, či vlivem sociálního prostředí, ve kterém dítě vyrůstá. Mezi nejčastější příčiny úrazů patří pády doma, dále úrazy vznikající při sportovních aktivitách; nejčastěji při cyklistice a adrenalinových sportech, předměty vrženými či hozenými, cizím zaviněním a jako součást polytraumat, například při autonehodách.

Cíl: Cílem naší studie bylo zjistit procentuální zastoupení postižení stálých zubů při úrazech v dětském věku.

Materiál a metody: Ze studie byli vyřazeni pacienti. starší osmnácti let, dále mnohočetné úrazy v oblasti obličeje, ztráty zubů při zlomeninách čelisti a alveolárního výběžku. Byly prozkoumány dokumentace 3867 pacientů ošetřených ambulatně na Stomatologické klinice dětí a dospělých 2. LF UK a FN, Motol.

Výsledky: Dle výsledků naší studie byly nejčastěji postiženými zuby horní střední řezáky a to v 73 % (39 % zub 11, 34 % zub 21), další zuby dle četnosti jsou zuby 12 (6 %), 31 (5 %), 41 (3 %), 22 (3 %), postižení ostatních zubů (dohromady v 10 %) považujeme za statisticky nevýznamné.

Závěr: Z naší studie vyplývá, že je stále vysoká neinformovanost pacientů v oblasti první pomoci při úrazech stálých zubů.

P-41. RELATIVNÍ KVANTIFIKACE MICRORNA V EPENDYMOMECH DĚTSKÉHO VĚKU Z ARCHIVNÍCH PARAFÍNOVÝCH BLOKŮ POMOCÍ STEMLOOP PRIMERŮ A REAL-TIME PCR

Cipro Š. (1), Belhajová M. (2), Zámečník J. (1)

1 – Ústav patologie a molekulární medicíny FN Motol a 2. LF UK, 2 – Klinika dětské hematologie a onkologie

Školitel: prof. MUDr. Josef Zámečník, PhD.

Úvod: Ependymomy dětského věku jsou nádory centrálního nervového systému, jejichž biologické chování kolísá od prakticky benigních lézí po vysoce agresivní nádory. S ohledem na omezené možnosti predikce jejich chování pouze na základě histologického vyšetření existuje snaha definovat nové prognostické případně terapeutické markery pomocí dalších laboratorních metod.

Deregulace microRNA (miRNA) se ukazuje jako jeden z klíčových prvků etiopatogeneze nádorů, avšak studií o jejich expresi u ependymomů dětského věku existuje jen velmi omezené množství.

S ohledem na nízkou incidenci ependymomů je retrospektivní vyšetřování miRNA z archivního materiálu v podobě parafínových bloků jedna z mála možností, jak sestavit reprezentativní vzorek.

Cíl: Cílem studie bylo stanovit účinnost izolace RNA z archivních parafínových bloků různého stáří a efektivitu kvantifikace miRNA pomocí real-time PCR z takto získané RNA.

Získaná data slouží jako základ pro navazující projekt, ve kterém se zaměřujeme na korelaci exprese konkrétních miRNA se známými prognostickými faktory ependymomů.

Materiál a metody: Do studie byly zahrnuty tři skupiny různě starých vzorků – 10 ependymomů získaných v letech 1985-1989, dále 5 vzorků ependymomů z let 2010-2015 a nově získaný autoptický materiál odebraný z oblasti postranních mozkových komor, který byl ve formě parafínových bloků uchováván pouze 3 dny.

Z parafínových řezů byla izolována RNA, jejíž koncentrace a poměr absorbance 260nm/280nm byly měřeny na spektrofotometru. Vlastní kvantifikace miRNA byla provedena pomocí specifických stem loop primerů a real-time PCR pro miRNA RNU48, miR-34c, miR-135a-3p, let-7d-3p, let-7d-5p.

Výsledky: Neprokázali jsme staticky významnou korelaci mezi stářím vzorku a kvantitou RNA. Kvantita izolované RNA kolísala v rozmezí 22-350 ng/mikroL ve všech třech skupinách. Čistota RNA vyjádřená jako poměr absorbancí 260nm/280nm se pohybovala v rozmezí 1,85-2,05.

Z několika vzorků se sice podařilo vyizolovat RNA v teoreticky dostatečné kvantitě i čistotě, avšak v následném PCR nebyla detekována žádná ze 6 testovaných miRNA. Z většiny vzorků byly vyšetřované miRNA detekovány.

Závěr: Kvantita i čistota RNA izolované z archivních parafínových bloků je ve většině případů dostačující a to i z více než 30 let starého materiálu. Před testováním širšího panelu miRNA u konkrétního vzorku je však vedle stanovení kvantity RNA nutné i testování proveditelnosti PCR na panelu alespoň 3 miRNA.

Podpora projektu: Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze (projekt č. 190315/2015).

P-42. VÝZNAM POSTTRANSLAČNÍCH MODIFIKACÍ HISTONŮ V NÁDOROVÉ REZISTENCI

Plch J. (1), Boleslavská B. (1,2), Černá T. (1,2), Hraběta J. (1), Vícha A. (1), Eckschlager T. (1)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Úvod: Chemorezistence je hlavní příčina selhání protinádorové léčby. Dosud byla rezistence k chemoterapii vysvětlována změnami v genomu klonu nádorových buněk, který nesl určitou mutaci a byl léčbou selektován. Fenomén rychle vzniklé rezistence k cytostatikům svědčí pro dynamickou negenetickou heterogenitu nádorové populace, která kontinuálně produkuje různé fenotypové varianty. Na základě literatury a našich výsledků jsme připravili in vitro model získané chemorezistence, kdy po krátkodobé kultivaci s vysokou dávkou cytostatika (vinkristin/VCR/ – 115xIC50, doxorubicin/DOXO/ – 3×IC50) přežila subpopulace nádorových buněk. U subpopulace buněk přežívající vysokou dávku VCR nebyly metodou SNP/CHIP Array zaznamenány genetické odchylky od mateřské linie. Pro pochopení vzniku chemorezistence jsme provedli analýzu změn posttranslačních modifikací histonů H3, H4 u neuroblastomových buněk UKF-NB4 vystavených vysokým dávkám cytostatika.

Cíl: Cílem bylo studium epigenetické regulace při vzniku chemorezistence pomocí sledování změn v posttranslačních modifikacích histonů.

Materiál a metody: Buňky UKF-NB4 byly kultivovány v médiu s 3?M VCR (115xIC50). Přeživší subpopulace byla kultivována v médiu bez VCR. Buňky UKF-NB4 byly kultivovány v médiu s 0,6?M DOXO (3×IC50). Perzistující buňky byly inkubovány v médiu bez cytostatik. Posttranslační modifikace histonů jsme detekovali Western Blottem za použití protilátek H3ac, H3K14ac, H4ac, H3K27me3, H4K20me3 a H3. Buněčný cyklus jsme hodnotili průtokovou cytometrií s propidium jodidem. Proliferaci buněk jsme hodnotili metodou XCELLigence.

Výsledky: Buňky UKF-NB4 vykazovaly po vystavení VCR hypoacetylaci H3, H4, H3K14 a zvýšení metylace H3K27me3 a H4K20me3. Průtoková cytometrie prokázala zástavu v G2/M fázi. Kultivace v médiu bez cytostatika umožnila návrat do fáze G1,S. Přeživší buňky proliferovaly a tvořily kolonie, které byly senzitivní k působení cytostatika.

Závěr: Deacetylace histonů a zvýšená metylace souvisí s přestavbou chromatinu do transkripčně inaktivní podoby. Po působení cytostatika VCR byla u přežívajících buněk pozorována zástava buněčného cyklu ve fázi G2/M, buňky se během kultivace v médiu bez cytostatika vrátily do proliferační frakce a vzniklé kolonie byly senzitivní k cytostatikům. Naše výsledky ukazují, že vzniklá rezistence k vysokým dávkám je reverzibilní.

P-43. SPEKTROSKOPICKÁ ANALÝZA ATEROSKLEROTICKÉHO PLÁTU PO BIORESORPCI STENTU

Horváth M., Hájek P., Štěchovský C., Adlová R., Tomašov P., Veselka J.

Kardiologická klinika 2. LF UK a FN Motol

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

Úvod: Bioresorbovatelné stenty (BRS) jsou novou alternativou léčby stenóz věnčitých tepen. Jejich charakteristickým rysem je vymizení cizorodého implantátu během dvou let, což přináší potenciální výhody eliminace rizika pozdní trombózy stentu a obnovení cévní vasomotoriky. Vzhledem k limitovaným zkušenostem s BRS však dosud není jasné, jaký bude další vývoj iniciálně intervenovaného, hemodynamicky významného, aterosklerotického plátu po odstranění mechanické podpory, kterou představoval kovový stent.

Cíl: Provést analýzu aterosklerotického plátu pomocí intrakoronární spektroskopie v místě uloženého BRS po jeho bioresorpci. Intrakoronární spektroskopie je metoda k detekci lipidového jádra vulnerabilního plátu (VP). Číselným vyjádřením přítomnosti lipidového jádra VP je lipid core burden index (LCBI).

Materiál a metody: Spektroskopická analýza byla provedena u 8 pacientů za 2 roky po implantaci BRS. Výsledky byly porovnány s kontrolním souborem 12 pacientů, u nichž byla provedena spektroskopická analýza před a po perkutánní koronární intervenci (PCI).

Výsledky: Medián maximálního LCBI (25.;75. percentil; LCBImx) před PCI byl 280,5 (75,5;409,5). Po PCI došlo k významné redukci LCBImx na 57(1;86; p = 0,02). Hodnoty LCBImx během sledování za 2 roky se významně nelišily od hodnoty po PCI (LCBImx24m = 113 (26,5; 240; p= ns.). U 2/8 pacientů nebylo lipidové jádro prokázáno vůbec (LCBImx = 0), u 2/8 byl zjištěn LCBImx větší než medián LCBImx před PCI (LCBImx = 291 resp. 417). Nález LCBImx = 417 byl spojen s redukcí lumen věnčité tepny o 27%.

Závěr: Naše výsledky naznačují, že u většiny pacientů přetrvává i po bioresorpci stentu významná redukce lipidového jádra aterosklerotického plátu, k níž dochází po PCI. Současně však tak jako u kovových stentů není eliminována možnost neoaterosklerotické progrese plátu v místě původní intervence.

P-44. DAILY NUMBER OF STEPS NEGATIVELY CORRELATES WITH GLYCEMIC VALUE IN TYPE 1 DIABETIC PATIENTS: COMPARISON OF CONTINUOUS GLUCOSE MONITORING AND PEDOMETER

Tolarová M. (1), Dimitrov K. (1), Brabec M. (2), Holubová A. (3), Mužík J. (3), Brož J. (4)

1 – Charles University, Second Faculty of Medicine, 2 – Institute of Informatics, Academy of Science, Czech Republic, 3 – Czech Technical University in Prague, Faculty of Biomedical Engineering, Czech Republic, 4 – Department of Internal Medicine, Charles University, Second Faculty of Medicine

Pregraduate student

Supervisor: MUDr. Jan Brož

Introduction: The average number of steps taken daily negatively correlates with the average glycemic value measured in Type 1 diabetic patients, based on comparison between continuous glucose monitor and pedometer records.

Aims: Physical activity has a great impact on blood glucose levels in patients with diabetes mellitus. The objective of the study was to determine the daily steps taken and to analyze their effect on glycemic values of patients with Type 1 diabetes.

Materials and Methods: 34 patients with Type 1 diabetes have been included in the study (20 women and 14 men). Data from 31 of these patients has been evaluated. Each patient was equipped with en electronic pedometer (Flex, Fitbit Inc.) and a continuous glucose monitoring system (Guardian REAL-Time, Medtronic Inc.). Multiple regression analysis and GAM (Generalized Additive Model) were used for the statistical model-based data processing.

Results: The system was used for patients for approximately 5.82 ± 0.89 days on average. In total, 120 days of usage were evaluated. The average number of steps per patient was 10,285 ± 3172/24 hours. The lowest average 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 per day and the average daily blood glucose value (GAM). A relationship was not found between the intra-daily number of steps taken and the measured blood glucose levels.

Conclusions: The performed simulations show a correlation between the average number of steps per day and the average level of daily blood glucose values. This finding is in concordance with general knowledge regarding the relationship between glycemia and physical activity, but also suggests that use of a pedometer could potentially identify days with less physical activity and increased needs of insulin.

P-45. DETEKCE CHROMOZOMÁLNÍCH ABERACÍ U SOMATICKÝCH BUNĚK OVÁRIA

Chrudimská J. (1), Borgbo T. (2,3), Drábová J. (1), Libik M. D. (1), Dvořáková L. (1), Zůnová H. (1), Ptáková N. (1), Macek jr. M. (1), Andersen C. Y. (3) Macek sr. M. (1)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky, Univerzita Karlova – 2. lékařská fakulta a FN v Motole, Praha, 2 – Department of Biomedicine, Aarhus University, Aarhus, 3 – Laboratory of Reproductive Biology, Rigshospitalet, Copenhagen

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

Úvod: Kryoprezervace ovariální tkáně umožňuje zachovat plodnost u žen podstupujících onkologickou léčbu. Konzervovaná tkáň se pacientce po léčbě autotransplantuje k obnovení funkce vaječníků. Nepřítomnost nádorových buněk se ověřuje xenotransplantací tkáňových fragmentů na imunodeficitních myších (6 týdnů). Většina malignit je provázena chromozomálními abnormalitami, které by měly být patrné i v somatických buňkách ována (SBO).

Cíl: Najít spolehlivou metodu pro rychlou analýzu chromozomálních aberací z DNA SBO a odhalení rizika přítomnosti nádorových buněk v ovariu využitím kitu VeriSeq určeného pro NGS diagnostiku chromozomálních aberací z jedné embryonální buňky.

Materiál a metody: Bylo analyzováno 91 vzorků DNA izolovaných ze SBO ze zbylé tkáně určené ke kryoprezervaci. Ženy měly v průměru 28 let (15-43), kavkazský původ a podstoupily kryoprezervaci z důvodu onkologické léčby. Kvůli malému množství dostupného materiálu (cca 20 ?l DNA, c ? 10 ng/?l) byla u všech provedena analýza kitem VeriSeq (po WGA, založený na masivním paralelním sekvenování), u 57 vzorků MLPA (bez WGA) a pro ověření nálezů u 9 vzorků QFPCR (bez WGA) a u 12 array-CGH (po WGA). Detekce mozaik kitem VeriSeq byla ověřena analýzou uměle připravených mixů z amniocytů, choriocytů a z izolované DNA.

Výsledky: Limit pro zachycení aneuploidií kitem VeriSeq byl stanoven na 40 % aberantní linie. Z 91 analyzovaných vzorků byla kitem VeriSeq u 12 (13 %) zachycena suspektní chromozomální aberace. U vzorku K12 byla array-CGH potvrzena možná mozaika +12 chromozomu (MLPA nepotvrdila – možná kvůli suboptimálním podmínkám malého vstupního množství DNA). 55kb delece u vzorku K34 46,XX,del(15)(q26.3) dobře patrná na MLPA a array-CGH nebyla kitem VeriSeq zachycena. Ostatní nálezy z VeriSeq byly vyhodnoceny jako možné analytické chyby/mozaiky pod detekčním limitem. Spolehlivost kitu VeriSeq při detekci segmentálních aberací musí být ověřena na DNA např. z ovariálních karcinomů.

Závěr: Všech 91 analyzovaných vzorků SBO je diploidní, u jednoho vzorku s možnou nízkofrekvenční mozaikou +12, u jiného s nálezem 55kb delece v oblasti 15q26.3. Kit VeriSeq je vhodný k rychlé analýze chromozomálních aneuploidií včetně mozaik s obsahem aberantní linie ? 40 %. Pro detekci segmentálních aberací je vhodnější array-CGH. Kombinace všech metod přispívá k zlepšení hodnocení kvality kryoprezervované tkáně a tím ke zdokonalení strategií technik asistované reprodukce.

Podpora projektu: Podpořeno granty FNM00064203, CZ.2.16/3.1.00/24022, LD14073 a NF-CZ11-PDP-3-003-2014.

P-46. HISTOLOGIE ASCENDENTNÍ AORTY U PACIENTŮ S FALLOTOVOU TETRALOGIÍ

Gebauer R. (1), Hornofová L. (2), Fabián O. (2), Matějka T. (1), Janoušek j. (1)

1- Dětské kardiocentrum FNM, 2- Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF a FNM

Školitel: prof MUDr Jan Janoušek, Ph.D.

Úvod: Fallotova tetralogie je nejčastější cyanotickou vrozenou srdeční vadou a korekce vady v dětském věku umožní většině pacientů přežití do dospělosti.

Dilatace kořene aorty je považována za součást této vrozené srdeční vady. Pravolevý zkrat na úrovni komorového septa a další zkrat aortopulmonálními kolaterálami a případně chirurgicky vytvořenými aortopulmonálními spojkami přispívá k velkému průtoku přes aortu, kterému je přičítán patofyziologický mechanismus způsobující dilataci kořene aorty. Z publikovaných prací je zřejmé, že některé faktory (Fallotova tetralogie s pulmonální atrézií, pravostranný aortální oblouk, paliativní zákroky umožňující posun korekce vady) jsou spojeny s větší dilatací aortálního kořene. Předpokládalo se, že úpravou hemodynamiky radikální operací se proces dilatace aorty zastaví a postupně se velikost kořene aorty normalizuje.

Ze zkušeností s reoperacemi Fallotovy tetralogie v dospělém věku, tj. ve většině případů 15 a více let po korekci vady, je ale zřejmé, že u nezanedbatelné části pacientů (z některých studií asi u 15 % pacientů) dochází k progresivní dilataci kořene aorty na hranici nutného zákroku na ascendentní aortě podle obecně přijímaných guidelines v dospělé kardiochirurgii. Důvodem dilatace aorty tedy není pouze patofyziologie vrozené srdeční vady, ale může být to také skrytá patologie stěny ascendentní aorty.

Cíl: Diagnostika histopatologických změn aorty u pacientů s Fallotovou tetralogií při korekci vady (nutnost informovaného souhlasu rodičů). U pacientů při korekci – tj ve většině případů mezi 6 a 12 měsícem života – bude odebrán malý vzorek stěny ascendentní aorty ke zjištění možných vrozených změn aorty na histologické vyšetření (medionekróza, fibróza, cystická medionekróza, fragmentace elastinu).

Materiál a metody: Odebráno 11 bioptických vzorků + 1 vzorek z nekropsie – pacienti s TOF.

Kontrolní vyšetření u 9 vzorků – normální aorta u kojenců – nekropsie.

Vyšetřena fibrotizace intimy, počet membrán, fragmentace membrán, AB+, fibrotizace medie, medionekróza, disarray hladké svaloviny.

Výsledky: Změny u pacientů s TOF jsou častější a výraznější než u kontrolních pacientů, statistika pro malý počet zatím neprovedena.

Závěr: Aortální stěna u pacientů bez vrozené srdeční vady je normální, aortální stěna u pacientů s Fallotovou tetralogií vykazuje diskrétní změny (fibrotizace membrán, fragmentace membrán, AB+).

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

P-47. SNÍŽENÁ CEREBROVASKULÁRNÍ REZERVNÍ KAPACITA JAKO BIOMARKER MIKROANGIOPATIE U PACIENTŮ S ALZHEIMEROVOU CHOROBOU A MÍRNOU KOGNITIVNÍ PORUCHOU

Urbanová B., Paulasová Schwabová J., Magerová H., Jánský P., Marková H., Vyhnálek M., Laczó J., Hort J., Tomek A.

Neurologická klinika, 2. LF UK a FN Motol, Karlova Univerzita v Praze, Praha, Česká republika

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

Úvod: Jedním z možných mechanizmů progrese neurodegenerace u Alzheimerovy choroby (ACH) je mozková mikroangiopatie způsobující chronickou hypoperfuzi mozku. Její přítomnost v časných stádiích neurodegenerace, u mírné kognitivní poruchy (Mild Cognitive Impairment – MCI), pravděpodobně urychluje progresi do ACH. Mikroangiopatii je možné posoudit pomocí transkraniálního ultrazvuku vyšetřením cerebrovaskulární rezervní kapacity.

Cíl: Porovnat známky mikroangiopatie transkraniálním ultrazvukem s manévrem se zadržením dechu a s výpočtem tzv. Breath Holding Index (BHI) u pacientů s ACH, MCI a zdravých kontrol bez významných cerebrovaskulárních komorbidit.

Materiál a metody: Do projektu byli zahrnuti pacienti Centra pro poruchy paměti, bez anamnézy cévní mozkové příhody, stenózy intra- nebo extrakraniálních tepen, bez známek ischemie či výrazných lézí bílé hmoty na magnetické rezonanci mozku, splňující kritéria ACH ve stadiu demence či kritéria MCI a zdravé kontroly. Všechny subjekty podstoupily ultrazvukové vyšetření se zjištěním průtokových rychlostí (Peak Systolic Velocity – PSV, Mean Flow Velocity – MFV a End Diastolic Velocity – EDV) a rezistenční indexy velkých intrakraniálních tepen (A. cerebri anterior – ACA, A. cerebri media – MCA, A. cerebri posterior – PCA, A. vertebralis – VA obou stran a A. basilaris – BA). Cerebrovaskulární rezervní kapacita byla zhodnocena zvlášť pro každou stranu manévrem se zadržením dechu a výpočtem průměrného BHI ze tří měření.

Výsledky: Bylo zahrnuto 14 ACH (3 muži, 67.9±11.1 let, MMSE 18.0±4.6), 24 MCI (13 mužů, 71.9±7.3 let, MMSE 28.0±1.6) a 24 kontrol (14 mužů, 67.8±6.4 let, MMSE 29.1±1.2) se shodnými rizikovými faktory. Prokázali jsme signifikantní rozdíl v MFV a EDV v obou MCA a v PSV v levé MCA po zadržení dechu. Ostatní rychlosti se snižovaly od zdravých kontrol přes MCI k ACH, tyto výsledky však nebyly statisticky významné. Zjistili jsme statisticky signifikantní rozdíl v BHI v levé MCA, ne však v pravé MCA, což nasvědčuje asymetrickému postižení známému z jiných vyšetřovacích metod. Průměrný BHI vlevo byl 0.34±0.16 u ACH, 0.49±0.31 u MCI a 0.57±0.23 u kontrol ($p = 0.028$). Průměrný BHI vpravo byl 0.53±0.21 u ACH, 0.64±0.36 u MCI a 0.67±0.24 u kontrol ($p = 0.429$).

Závěr: Výsledky svědčí pro přítomnost mikroangiopatie u ACH i MCI bez současné významné cerebrovaskulární komorbidity. Cerebrovaskulární rezervní kapacita identifikována výpočtem BHI je významně snížená u pacientů s ACH oproti kontrolám a může být využita jako jeden z biomarkerů ACH.

Podpora projektu: GAUK 347711, IGA MZ NT/13319.

P-48. DETEKCE INVAZIVNÍ KANDIDÓZY U DĚTSKÝCH HEMATOONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ POMOCÍ BETA-GLUKANU A PCR

Chrenková V. (1), Keslová P. (2), Hubáček P. (1,2), Tkadlec J. (1), Šrámková L. (2), Michalská D. (1), Sedláček P. (2), Dřevínek P. (1)

1 – Ústav lékařské mikrobiologie, 2 – Klinika dětské hematoonkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice Motol, Praha

Školitel: MUDr. Petr Hubáček, Ph.D.

Úvod: Invazivní kandidóza (IC) zůstává významnou příčinou morbidity i mortality u imunokompromitovaných pacientů. Detekce invazivních mykóz (IFD) obecně zůstává výzvou a zejména zkušenosti v dětské populaci jsou jen omezené.

Cíl: Cílem práce bylo provedení retrospektivní studie vyhodnocující dvě novější metody průkazu IFD: panfungální antigen (1?3)-?-D-glukan (beta-glukan) a PCR u dětských hematoonkologických pacientů.

Materiál a metody: Otestovali jsme 157 vzorků séra u 33 pacientů (20Ž/13M, věk 0,7-20,1, medián 6,64 let) s vysokým a středním rizikem IFD léčených v období 07/2012 až 06/2013 na Klinice dětské hematologie a onkologie, Fakultní nemocnice Motol, Praha. Všechny případy IFD byly klasifikovány podle kritérií European Organisation for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group z roku 2008. Vzorky séra byly retrospektivně vyšetřeny na přítomnost beta-glukanu a DNA Candida spp. Výsledky byly porovnány se běžnými metodami dostupnými na našem pracovišti: hemokultivace a antigen mannan.

Výsledky: Bylo detekováno 7 invazivních kandidóz (IC), které byly pozorovány zejména u pacientů s leukémií (3 dívky/4 chlapci, 1,7–16,3 let, 6 akutních leukémií, 1 non-hodgkinský lymfom). Invazivní kandidóza byla detekována ve formě kandidémie (2x C. albicans, 1x C. fabianii), dále formy hepatolienální s/bez postihu dalších orgánů (3x) a plicní (1x). Mannan byl pozitivní u 3 IC. Beta-glukan byl pozitivní u všech 7 pacientů s IC, falešná pozitivita byla pozorována u 13 pacientů. PCR Candida bylo pozitivní u 4 pacientů s IC (3x Candida spp., 1x C. glabrata). PCR přineslo dodatečnou informaci o etiologickém agens ve 2 případech IC, u kterých byla hemokultivace negativní. Byla detekována falešná pozitivita PCR u 2 pacientů.

Závěr: Diagnóza mykotické infekce je kombinací klinických příznaků, radiologických a laboratorních nálezů. Spolehlivost jednotlivých metod je omezená a proto pacienti profitují z kombinace různých metod. Pozorovali jsme v naší studii vysokou senzitivitu beta-glukanu, ale vysoká falešná pozitivita této metody spolu s vysokými finančními náklady omezuje využití stanovení beta-glukanu pro rutinní praxi. Dále naše studie potvrdila přínos PCR detekce DNA Candida sp. pro detekci invazivní kandidózy.

Podpora projektu: Studie byla podpořena Renishaw Diagnostics Ltd, Glasgow, UK, Associates of Cape Cod, East Falmouth, MA, USA a projektem Ministerstva zdravotnictví koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN MOTOL).

P-49. HEARING FUNCTION AND COCHLEAR MORPHOLOGY DIFFERENCIES IN MALE AND FEMALE FISCHER 344 RATS DURING AGING

Balogová Z. (1,3), Rybalko N. (1), Popelář J. (1), Chiumenti F. (2), Chumak T. (1), Syka J. (1)

1 – Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic, 2 – Faculty of Medicine, University of Padova, Padova, Italy, 3 – Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery, 1st Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: Josef Syka, Prof., MUDr., DrSc., dr.h.c.

Introduction: Our previous experiments have shown that some age-related changes are present in the hearing function and cochlear morphology in F344 rats, a strain that is frequently used as a model of fast aging.

Aims: To characterize structural and functional differences in the hearing function of male and female F344 rats.

Materials and Methods: Hearing functions in male and female F344 rats of different age groups (1 – 30 months) were assessed by recording auditory brainstem responses (ABRs), distortion products of otoacoustic emissions (DPOAEs), and acoustic startle responses (ASRs). Cochlear morphology was evaluated using the cochlear surface preparation.

Results: Similar hearing thresholds were found in young (1-month-old) male and female F344 rats. The gender differences appeared in adult and aged animals. In 8 to 30-month-old F344 males, the ABR thresholds were higher and the ABR amplitudes were smaller than those measured in females of the same age. Amplitudes of DPOAEs in both F344 males and females decreased with age. In males older than 20 months, the DPOAEs were practically absent, whereas in some of the 25 to 30-month-old females, the DPOAEs were still measurable. The ASR thresholds in F344 females tended to be lower and the ASR amplitudes were slightly higher than those measured in age- matched males. Hair cell loss in aged F344 rats did not correspond with the deterioration of hearing. There were no differences in the number of inner hair cell ribbon synapses in male and female F344 rats. However, the size of the ribbon synapses were significantly smaller in males than in females.

Conclusions: The present results indicate more pronounced age-related changes in cochlear morphology and hearing function (ABRs and DPOAEs) in F344 males compared to females. The gender differences displayed by males and females should be considered in experiments that use F344 rats.

Support: Supported by grants P304/12/G069 and P304/12/1342.

P-50. FLUORESCENČNÍ IN SITU HYBRIDIZACE V DIAGNOSTICE MARKER CHROMOZOMŮ

Tesner P., Drábová J., Novotná D., Kočárek E.

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

Školitel: RNDr. Eduard Kočárek, Ph.D.

Úvod: Marker chromozomy (small supernumerary marker chromosomes – sSMC) jsou malé zpravidla nadpočetné abnormální chromozomy nalézané u 1 z 2200 lidí; ve světě tedy předpokládáme přes 3 milióny lidí s touto abnormalitou (v ČR by to mělo být téměř 5000). Třebaže nález sSMC (zejména prenatální) vzbuzuje obavy, většina nosičů těchto mimořádných chromozomů je zdráva.

Cíl: Základním úkolem diagnostiky je po nalezení sSMC především přesně určit chromozom, z něhož sSMC pochází, a zmapovat genetický materiál, který obsahuje. Naším dlouhodobým cílem je tuto diagnostiku optimalizovat s ohledem na různé klinické situace.

Materiál a metody: Na našem souboru (dvanácti recentních případů z období 2010-2015 a řadě dalších z let předchozích) jsme upravovali molekulárně cytogenetické diagnostické postupy s využitím různých aplikací metody fluorescenční in situ hybridizace (FISH), včetně užití mnohobarevné malovací a centromerické mFISH. V rámci dalšího vyšetřování neopomíjíme ani další metody, především aCGH (microarray-based Comparative Genomic Hybridization) a v některých případech MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Tyto naše postupy demonstrujeme na 7 konkrétních kazuistikách: u tří prenatálních nálezů, tří dětí s poruchami vývoje a jedné ženy s poruchou reprodukce.

Výsledky: Námi používané algoritmy umožňují identifikaci sSMC v naprosté většině případů, jak potvrzují nálezy širokého spektra sSMC v uvedených kazuistikách: v postnatálních případech šlo o marker chromozomy pocházející z chromozomů 1, 3 a 15 a jejich přítomnost v karyotypu do určité míry vysvětlovala fenotyp pacientů. V prenatálních nálezech se jednalo o sSMC(17) se špatnou prognózou, sSMC z akrocentru s dobrou prognózou a marker nahrazující gonozom, původem z chromozomu X. U dysfertilní pacientky byl náročným diagnostickým postupem identifikován vzácný neocentromerický marker chromozom.

Závěr: Přestože laboratorní vyšetření umožní upřesnit původ a rozsah sSMC, samo o sobě nestačí k celkovému hodnocení nálezu. Proto je velmi důležitá i interpretace, při které nám velmi pomáhá největší databáze případů sSMC shromažďovaných dr. Liehrem, která je volně přístupná na webu Institute of Human Genetics v německé Jeně. V této databázi jsou shromažďovány publikované laboratorní nálezy sSMC a fenotypy jejich nosičů – to umožňuje částečně stanovit korelaci genotyp-fenotyp u obdobných nálezů.

Podpora projektu: GA UK č. 264811, TA ČR TA01010931.

P-51. VYSOKOFREKVENČNÍ ELEKTROMAGNETICKÉ ZÁŘENÍ A GENEROVÁNÍ VOLNÝCH RADIKÁLŮ VE ČTYŘECH ORGÁNECH LABORATORNÍCH MYŠÍ

Stopka P.

2. LF UK Motol, student U3V, 1. Ročník

Školitel: Prof.MUDr. Jaroslav Fajstavr, Dr.Sc.

Úvod: Toto studium je zaměřeno na hodnocení vlivu vysokofrekvenčního elektromagnetického pole (HF EMF) 900 MHz na generování reaktivních kyslíkových částic (volných radikálů). Experimentální zvířata byla ozařována na celém těle ve speciální komůrce po dobu 14 dnů (denně 3hod.). Kontrolní zvířata nebyla ozařována.

Cíl: ověřit metodiku mikrovlnného ozařování laboratorních zvířat. Zjistit vliv vysokofrekvenčního elektromagnetického pole na organismus laboratorních zvířat, na základě sledování zvolených čtyřech orgánů. Z výsledků odhadnout uvedený vliv na lidské orgány.

Materiál a metody: Zvířata: 20 myší, z toho 10 na ozařování a 10 pro kontrolu. Všechny úkony provedeny ve shodě s předpisy EU. Ve shodě s etickou komisí.

Ozařování: ve speciální komůrce, ozařování 900 MHz. Dávky záření byly kontrolovány a registrovány.

Kontroly: stejné podmínky, ale bez ozařování.

Studium volných radikálů: vzorky tkání přechovávány v kapalném dusíku. Vzorky převedeny do křemenných kyvet a provedeno měření volných radikálů metodou EPR spektroskopie, přístroj Bruker Biospin Elexsys. Podmínky měření: mikrovlnný výkon 20mW, modulační amplituda 1mT. Aplikována metoda spinového záchytu za použití spin trapu DMPO.

Výsledky: Po ukončení ozařování byly vypreparovány vzorky tkání (mozek, játra, srdce, ledviny), uchovány v kapalném dusíku a transportovány v kyvetě do rezonátoru EPR spektrometru. Všechny 4 vzorky tkání ozářených zvířat vykazovaly statisticky významné zvýšení koncentrace hydroxylových radikálů. Koncentrace hydroxylových radikálů v ozářených tkáních byly zhruba 8 vyšší.

Výsledky byly publikovány: J. Barcal, P. Stopka, J. Křížová, J. Vrba, F. Vožeh: High-frequency electromagnetic radiation and the production of free radicals in four mouse organs. (Activitas Nervosa Rediviva, Vol. 56, No. 1-2, str. 101 až 106, (2014)).

Závěr: Mikrovlnné záření 900 MHz poškozuje nevratně čtyři sledované orgány laboratorních zvířat. Míra poškození závisí na intenzitě a trvání mikrovlnného ozařování.

P-52. STANOVENÍ VITAMINU K U PACIENTŮ S OSTEOPORÓZOU POMOCÍ METODY HPLC

Dunovská K., Klapková E., Čepová J.

Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Ing. Eva Klapková, Ph.D.

Úvod: Osteoporóza se začíná řadit mezi jedno z nejčastějších onemocnění. Jedná se o závažné onemocnění, které bývá dlouhou dobu bezpříznakové a tak se může více rozvíjet. V České republice je osteoporózou postiženo zhruba 6 – 7 % obyvatelstva. Nejrizikovější skupinou jsou postmenopauzální ženy.

V nedávných letech se prokázalo, že nejen vitamin D ale i vitamin K mohou mít vliv na kostní hmotu. Oba tyto vitaminy by měly zlepšovat kvalitu kosti a tím podporovat prevenci vzniku osteoporotické zlomeniny. Bylo pozorováno, že pokud pacient trpí deficitem vitaminu D a/nebo vitaminu K, dochází u něj k rychlejší resorpci kosti a kost se tak stává křehčí.

Cíl: Cílem této práce je zavést a validovat chromatografickou metodu pro stanovení vitaminu K1 a K2 v séru, stanovit hladiny těchto vitaminů u pacientek s osteoporózou.

Materiál a metody: Byla vyvinuta HPLC metoda s fluorescenční detekcí s post-kolonovou zinkovou redukcí na sestavě Agilent 1260 (Agilent Technologies). Analýza je prováděna na koloně Supersphere 100 RP-18 (Merck). Mobilní fáze tvoří 85 % metanolu, 9 % isopropanolu, 5 % acetonitrilu a 1 % roztoku obsahujícího 10 mM $ZnCl_2$, 5 mM CH_3COONa a 5 mM kyseliny octové). Analýza probíhá při průtoku mobilní fáze 1 ml/min, při teplotě kolony 22°C a při 246 nm emisní a 430 nm excitační vlnové délce.

Výsledky: Podařilo se vyvinout metodu na stanovení vitaminu K1, MK-4 a MK-7. Hladiny vitaminů K byly stanovovány u 41 postmenopauzálních pacientek s prokázanou osteoporózou, 26 postmenopauzálních žen bez prokázané osteoporózy, 14 mladších zdravých žen a 9 starších zdravých žen. Byla vytvořena skupina žen užívajících doplněk stravy Femoralex po dobu 3 měsíců.

Závěr: Byla vyvinuta HPLC metoda pro detekci vitaminu K1, MK-4 a MK-7. Metoda byla úspěšně kalibrována a validována. Hladiny vitaminů K se v jednotlivých skupinách od sebe lišily. Byl prokázán pozitivní účinek doplňku stravy Femoralexu na hladinu vitaminu MK-7.

Podpora projektu: Tato práce je podpořena projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 0064203 (FN MOTOL).

P-53. VÝZNAM NASTAVENÍ PRAHU SPM ANALÝZY IKTÁLNÍHO SPECT U PACIENTŮ S FOKÁLNÍ EPILEPSIÍ

Šulc V. (1), Tomášek M. (1), Martinkovič L. (1), Kudr M. (2), Jahodova A. (2), Krijtova H. (1), Hořínek D. (3), Krsek P. (2), Marusic P. (1)

1 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2 – Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, 3 – Neurochirugická klinika dětí a dospělých 2.LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Daniel Hořínek

Úvod: U pacientů s farmakorezistentní fokální epilepsií je SPECT ko-zaregistrovaný na MRI (SISCOM) často přínosný k lokalizaci místa odkud záchvaty vycházejí. Tato oblast se většinou zobrazí jako lokální zvýšení průtoku krve mozkem v dané oblasti. Mnoho různých faktorů může ovlivnit lokalizační hodnotu SPECT studie. Statistické parametrické mapování se dá použít pro lokalizaci záchvatů na základě iktálního-interiktálního rozdílu mezi pacienty a spárovanými daty z kontrolní skupiny. Doporučení pro posouzení výsledků této analýzy již byla publikována v minulost s dobrou specificitou i senzitivitou, ale dosud dle dostupných zdrojů dosud nebyla provedena analýza, kdy se parametry i typ přístroje mezi kontrolní a pacientskou skupinou zcela lišily.

Cíl: Naším cílem bylo zhodnotit lokalizační hodnotu různých Z skóre (1, 1,5, 2, a 2,5) u pacientů po epileptochirugickém výkonu.

Materiál a metody: Deset pacientů s neokortikální fokální epilepsií, kteří podstoupili resekční epileptochirurgický výkon a měli dostupnou iktální a interiktální SPECT studii, bylo retrospektivně identifikováno a zařazeno do této studie. SPM analýza dat byla provedena s použitím SPECT kontrolní skupiny a pak zaslepeně analyzována pro lokalizaci oblastí zvýšené perfúze. Pro eliminaci zkreslení způsobené případnou lézí na MRI byly perfúzní mapy zobrazeny na standardizovaném T1 vzorovém snímku s prahy Z skóre 1, 1,5, 2 a 2,5 v axiální, sagitální a koronální rovině a v náhodném pořadí.

Výsledky: U analýzy SPM SPECT pomocí volně dostupné kontrolní skupinu získané s různými SPECT systém byl optimální Z práh skóre pro lokalizaci z epileptogenní zóny 2.0.

Závěr: Tato studie ukazuje na důležitost používání různých hodnot prahů v analýze dat SPECT při hledání epileptogenní zóny u kandidátů epileptochirurgického výkonu.

Podpora projektu: AZV č. 15-33115A.

P-54. APLIKACE RÁZOVÉ VLNY DO MYOFASCIÁLNÍHO TRIGGER PONTU VEDE K LOKÁLNÍ I VZDÁLENÉ ELEVACI TLAKOVĚ-ALGICKÉHO PRAHU SVALU

Čech Z. (1), Novák J. (1), Vaculín, Š. (2)

1 – Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství UK 2. LF a FN v Motole Praha, 2 – Ústav normální, patologické a klinické fyziologie UK 3. LF Praha

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

Úvod: Aplikace radiálních extrakorporálně generovaných rázových vln (r-ESWT) je jednou z efektivních terapeutických metod používaných k lokálnímu ovlivnění resistentních myofasciálních trigger pointů (MTrP). Vzhledem k bolestivosti aplikace r-ESWT předpokládáme i její potenciál evokovat centrální mechanismy difusní inhibiční kontroly nocicepce (DNIC) a měnit tak tlakově-algický práh (PPT) svalu nejen v místě aplikace, ale i ve svalech inervačně vzdálených.

Cíl: Cílem této studie bylo ověřit bezprostřední vliv r-ESWT unilaterálně aplikované do MTrP v m. trapezius na PPT v místě aplikace, v analogické kontralaterální lokalitě a bilaterálně ve vybraných svalech hlavy, předloktí a bérce.

Materiál a metody: Protokol experimentu byl navržen jako randomizovaná dvojitě zaslepená placebem kontrolovaná studie. 28 probandů ve věku od 21 do 27 let (medián 24 let) let bylo losem rozděleno do dvou skupin. U experimentální skupiny (7 žen a 7 mužů) byla do MTrP v m. trapezius pars descendens na straně dominantní horní končetiny aplikována reálná r-ESWT o intenzitě 2,6 baru, 11 Hz, 500 rázů. Druhá skupina (8 žen a 6 mužů), která sloužila jako kontrolní, byla v téže lokalitě podrobena klamné r-ESWT o intenzitě 0,5 baru, 11 Hz, 500 rázů. Před aplikací a bezprostředně po ní byl změřen PPT v m. trapezius, m. temporalis, m. extensor digitorum a m. tibialis anterior, vždy bilaterálně. Examinátor PPT ani probandi neměli informaci o příslušnosti ke skupině. Statistické hodnocení proběhlo s využitím ANOVA testu a jako post-hoc test byl využit Fischerův test.

Výsledky: Hodnoty PPT se po aplikaci r-ESWT u experimentální skupiny oproti skupině kontrolní signifikantně zvýšily ($p<0,01$) ve všech sledovaných lokalitách. U kontrolní skupiny, která obdržela klamnou r-ESWT, k signifikantní elevaci PPT nedošlo.

Závěr: Aplikace r-ESWT na MTrP v m. trapezius zvyšuje signifikantně PPT nejen v místě aplikace, ale také v ostatních částech těla. Naše výsledky ukazují, že terapie r-ESWT je schopna vyvolat difuzní inhibici mechano-nociceptivní citlivosti (tzv. DNIC efekt). Potenciální využití vidíme jak v terapii, tak pro diagnostiku kvality centrálních inhibičních mechanismů uplatňujících se v kontrole nocicepce.

P-55. ČASNÁ DĚDIČNÁ NESYNDROMOVÁ ZTRÁTA SLUCHU DFNB16 JE VÝZNAMNOU PŘÍČINOU SLUCHOVÝCH PORUCH I V ČR – ZÁCHYT PRVNÍCH PACIENTŮ

Marková S. (1), Laššuthová P. (1), Šafka Brožková D. (1), Trková M. (2), Dřímal P. (1), Krůtová M. (1), Seeman P. (1)

1 – DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, 2 – Gennet, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Seeman, Ph.D.

Úvod: Porucha sluchu je nejčastější smyslovou vadou a víc než 50% případů je podmíněno geneticky. Dědičná hluchota je vysoce heterogenní, většinou nesyndromová a autozomálně recesivní (DFNB). U přibližně 40% pacientů s DFNB jsou příčinou mutace v GJB2 genu (connexin26), jiná alespoň srovnatelně významná příčina dosud v ČR nebyla identifikována.

Locus DFNB16 byl popsán v roce 1997 a gen STRC v něm v roce 2001. Gen může být postižen jednak velkými delecemi různého rozsahu a jednak bodovými mutacemi typu nonsense nebo frame-shift. Mutace v STRC byly v poslední době popsány jako významná příčina DFNB v Německu i USA. DNA diagnostika STRC je komplikována existencí 98,9% homologního pseudogenu pSTRC.

Cíl: Zjistit podíl velkých delecí STRC na příčinách poruch sluchu u pacientů s vyloučenými mutacemi v GJB2 genu.

Materiál a metody: 248 vzorků pacientů s výskytem hluchoty sporadickým (182 pacientů) a familiárním (postižený sourozenec – 66 pacientů) bylo vyšetřeno fluorescenční PCR (amplifikující oblast intronu 18 obsahující rozdíl mezi STRC a pSTRC) s následnou fragmentační analýzou.

Překrývající se skupina pacientů s familiárním výskytem hluchoty (21 pacientů) byla vyšetřena panelem genů pro DFNB metodou HaloPlex masivně paralelním sekvenováním (MPS). Nalezené varianty byly ověřeny Sangerovým sekvenováním – pro vyloučení pSTRC byla použita LongRangePCR. Výsledky CopyNumberVariation (CNV; NextGENe) analýzy pro predikci delecí v genech byly kromě fragmentační analýzy ověřeny na SNP čipech Illumina.

Výsledky: Fragmentační analýzou jsme zachytili 5 (1,2%) homozygotů a 11 (4,43%) heterozygotů s delecí. 3 (4,54%) homozygoti a 7(10,6%) heterozygotů bylo zachyceno mezi pacienty s familiárním, 2(1,09%) homozygoti a 4(2,19%) heterozygoti mezi pacienty se sporadickým výskytem hluchoty.

V skupině vyšetřené pomocí MPS byly bodové mutace a delece detekovány u 3 vzorků (14,2%). U pacienta 1 byla v heterozygotním stavu zachycena známá mutace c.4402C>T, p.Arg1468* a nová mutace c.3217C>T, p.Arg1073*. Stejná nová mutace v kombinaci s heterozygotní delecí genu (potvrzena fragmentační analýzou i čipem) byla zachycena u pacienta 2. Homozygotní delece u pacienta 3 byla potvrzena pouze pomocí čipu.

Závěr: Referujeme prvních 8 pacientů s DFNB16 v ČR v důsledku mutací STRC zahrnující větší delece i bodové mutace. Fragmentační analýza je zejména u pacientů s familiárním výskytem efektivní metodou pro identifikaci homozygotních delecí zasahujících intron 18, nicméně pacienti s heterozygotními delecemi musí být dovyšetřeni a negativní výsledek přítomnost jiných delecí nevylučuje. STRC se zdá být významnou příčinou DFNB i v ČR (v skupině vyšetřené MPS až 14,2%) a jeho zařazení mezi rutinně vyšetřované geny spolu s vývojem spolehlivé diagnostické metody je potřebné.

Podpora projektu: GAUK 1216214.

P-56. ÚLOHA ADENOSINU VE ZMĚNĚ EXCITABILITY HIPOKAMPU PO EPILEPTICKÉM STÁTU

Fábera P. (1,2), Kubová H. (1), Mareš P. (1)

1 – Oddělení Vývojové epileptologie, Fyziologický ústav AVČR, Praha, 2 – Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Mareš, DrSc.

Úvod: Epileptický status (SE) představuje urgentní stav, který je spojen s výraznou mortalitou a morbiditou. Jednou z možných komplikací proběhlého SE je rozvoj spontánních epileptických záchvatů. SE prodělaný v časném vývojovém období mozku má negativní důsledky na citlivost adenosinergního systému, který se za fyziologických podmínek významně podílí na udržení excitačně/inhibiční rovnováhy v CNS. Následkem těchto změn může docházet ke zvýšení excitability jednotlivých mozkových struktur, zejména hipokampu, který hraje významnou roli v rozvoji temporální epilepsie.

Cíl: V této studii jsme se zaměřili na změny excitability hipokampu po SE a souvislost s hladinou adenosinu v průběhu časného vývoje mozku.

Materiál a metody: Experiment byl proveden u 126 samců laboratorního potkana kmene Wistar. 12. den od narození byl indukován SE intraperitoneální aplikací pilokarpinu. U kontrolní skupiny zvířat byla aplikace pilokarpinu nahrazena fyziologickým roztokem. V časovém odstupu po indukovaném SE (3, 6, 13, 20 dnů) byly zvířatům stereotakticky implantovány elektrody do dorsálního hipokampu. Každá skupina zvířat obsahovala 10 až 14 zvířat. Po operaci byly pomocí přímé kortikální stimulace hipokampu bifazickými elektrickými pulsy (1 ms, f=60 Hz, intenzita 0,05-2,0 mA, celkem šestkrát, interval 20 min) vyvolány epileptické následné výboje (ADs). Parametry ADs (prahová intenzita, délka trvání) byly statisticky hodnoceny analýzou rozptylu a RM ANOVA. Hodnota statisticky signifikantní významnosti byla p=0,05. Zvířata byla usmrcena uvedením do urethanového komatu, při které byly resekovány hipokampy za účelem analýzy koncentrací adenosinu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Výsledky: Prahová intenzita k vyvolání následného výboje byla significantně vyšší u skupiny zvířat 3 dny po SE v porovnání s kontrolní skupinou. V časovém odstupu 6 a 13 dnů po SE nebyl zaznamenán žádný rozdíl v prahové intenzitě, avšak u nejstarší věkové skupiny byla prahová intenzita signifikantně nižší. Korespondující změny byly zjištěny v délce trvání ADs – signifikantní zkrácení u nejmladší věkové skupiny a naopak signikantní prodloužení v nejdelším odstupu po SE korespondující se signifikatně vyšší, respektive nižší hladinou adenosinu.

Závěr: Naše výsledky demonstrovaly, jak v krátkém časovém intervalu po SE u nezralého mozku dochází ke komplexním změnám excitability hipokampu, které mají souvislost se změnami v koncentraci adenosinu.

Podpora projektu: Tato studie byla podpořena grantovým projektem č. 97515 Grantové Agentury Univerzity Karlovy.

P-57. COMBINED INTERVENTION WITH GLITAZONE AND N-3 FATTY ACIDS IN METFORMIN-TREATED DIABETIC PATIENTS ON POSTPRANDIAL LIPID CLEARANCE AND GLUCOSE METABOLISM

Kopecký J. (1), Veleba J. (1), Janovská P. (2), Kuda O. (2), Kopecký J. sr. (2), Pelikánová T. (1)

1 – Diabetes Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, 2 – Department of Adipose Tissue Biology, Institute of Physiology Academy of Sciences of the Czech Republic

Supervisor: Prof. MUDr. Terezie Pelikánová DrSc.

Introduction: Marine n-3 fatty acids eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids help in primary prevention of cardiovascular disease, but their impact on metabolic aspects in type 2 diabetic (T2D) patients remains unclear. Pioglitazone is an established drug in treatement of T2D affecting mainly insulin resistence, other known efects include changes in body fat distribution and serum lipid profile.

Aims: Our aim was to evaluate the effect of a combination intervention using EPA+DHA and a insulin-sensitizing drug pioglitazone on lipid and glucose metabolism.

Materials and Methods: In a double-blind, placebo-controlled trial, 69 patients with T2D already treated by metformin, were randomized to 24-week-intervention using: (i) corn oil (5 g/day; Placebo), (ii) pioglitazone (15 mg/day; Pio), (iii) EPA+DHA (2.75 g/day; Omega3), or (iv) pioglitazone and EPA+DHA (Pio+Omega3). The primary endpoints were the changes from baseline in triacylglycerol (TG) clearance and in insulin sensitivity assessed using a meal test and hyperinsulinemic-isoglycemic clamp. Secondary endpoints included changes in HbA1c, glucose and NEFA clearance and selected cytokines, oxidative stress and inflammation markers.

Results: TG and NEFA clearance were increased by Pio+Omega3. Both fasting glycaemia and HbA1c were increased by Omega3, but unchanged by Pio+Omega3. Insulin sensitivity was improved by Pio + Omega3. Adiponectin concentrations were increased by the intervention in Pio, Pio+Omega3 and Omega3 vs placebo. Oxidative stress markers (SOD activity, TBARS, GSSG / GSH) were not influenced. sP-selectin had a lower concentration after intervention in the Pio+Omega3 group.

Conclusions: The combination of pioglitazone and EPA+DHA can be used to increase postprandial lipid clearance in T2D patients on stable metformin therapy. Modest negative effect of Omega-3 on glycemic control can be prevented by combined Pio+Omega3 treatement. Combined treatment is also accompanied by adiponectin concentration rise and sPSelectin decrease.

Support: Supported by NT13763-4, NT14250-3 and IN 00023001.

P-58. PREDIKUJE HISTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ KOMPLIKACE CROHNOVY CHOROBY U DĚTÍ?

Fabián O. (1), Hradský O. (2), Bronský J. (2)

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

Úvod: Crohnova choroba (CD) je jednou z forem zánětlivých střevních onemocnění, která patří mezi nejčastější chronická gastrointestinální onemocnění v dětském věku. Endoskopické vyšetření s etážovým odběrem bioptických vzorků je v současné době zlatým standardem pro diagnózu. Role histologického vyšetření stran predikce průběhu nemoci je však nejasná.

Cíl: Primárním cílem studie bylo zjistit, zda je rozvoj komplikací u pediatrických pacientů s CD asociován s histologickou závažností. Dále jsme zjišťovali asociace s endoskopickým skóre a zda je případná asociace histologického nálezu nezávislá na endoskopickém skóre.

Materiál a metody: Jednalo se o retrospektivní studie případů a kontrol. Podařilo se nám identifikovat 63 pediatrických pacientů, diagnostikovaných ve spolupráci Pediatrické klinicky a Ústavu patologie a molekulární medicíny mezi roky 2009 a 2015. Endoskopický nález byl objektivizován použitím Simple endoscopic score a histologický nález za použití Global histological activty score. Z elektronické dokumentace bylo zjišťováno, zda pacienti dospěli do námi definované komplikace (striktura neprostupná pro endoskop či s prestenotickou dilatací, intraabdominální píštěl nebo absces, fistulující perianální postižení nebo nutnost zahájení anti-TNF terapie) a pokud ano, za jakou dobu. Pacienti, kteří se již vstupně prezentovali touto komplikací, byli ze studie vyřazeni. Asociace byla testována pomocí Coxovy regresní analýzy.

Výsledky: Na základě optimální plochy pod křivkou bylo sestaveno cut-off pro histologické i endoskopické skóre. Pacienti s endoskopickým skóre nad 15 dospěli do komplikací časněji (HR 95 CI). Oproti tomu, pokud jsme rozdělili pacienty podle histologického nálezu (cut-off > 9) nenalezli jsme rozdíl trvání v doby do komplikace.

Závěr: Nepodařilo se prokázat, že by rozvoj komplikací u pediatrických pacientů s CD byl asociován s histologickým nálezem.

P-59 DETEKCE EGFR MUTACÍ V CT-DNA U PACIENTŮ S EGFR POZITIVNÍM NEMALOBUNĚČNÝM KARCINOMEM PLIC

KŘÍŽOVÁ Ľ. (3), PECH V. (1), KOUBKOVÁ L. (2), KODET R. (1), ČAPKOVÁ L. (1)

1 – Ústav patologie a molekulární medicíny, 2 – Pneumologická klinika,3 – 2. lékařská fakulta Karlovy Univerzity a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Úvod: Tekutá biopsie je rychle se rozvíjející neinvazivní metoda založená na detekci cirkulujících nádorových buněk (CTC) nebo cirkulující nádorové DNA (ctDNA) z periferní krve. V našem projektu detekujeme přítomnost mutace genu EGFR ve volné cirkulující DNA u pacientů s EGFR pozitivním nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC). Sledování molekulárních změn nádoru v čase vede k lepšímu porozumění procesu karcinogeneze a díky možnosti monitorování efektivity léčby k rozvoji účinnějších terapeutických přístupů. Použití ctDNA při detekci těchto změn je výhodné pro snadnou dostupnost materiálu potřebného k analýze zejména v případě, kdy není možné odebrat solidní vzorek tkáně.

Cíl: Cílem našeho projektu je zjistit možnosti a limity detekce mutace EGFR z plazmy za použití standardních metod využívaných v rutinní praxi k detekci této mutace v primárním nádoru. Dále je to korelace záchytu uvedené mutace v plazmě s klinickým stadiem a aktuálním stavem onemocnění (regrese, progrese, stabilizace).

Metodika: K izolaci DNA z plazmy z nesrážlivé periferní krve 14-ti pacientů s EGFR pozitivním NSCLC jsme použili cobas® cfDNA Sample Preparation Kit, pro analýzu mutačního stavu cobas® EGFR Mutation Test v2.

Výsledky: Mutace genu EGFR v plazmě byla zachycena u 4 pacientů, negativní výsledek u 8 pacientů a invalidní výsledek (z důvodu nedostatečného množství analyzované DNA) u 2 pacientů. Všichni 4 pacienti, u nichž jsme zaznamenali mutaci EGFR v plazmě, byli v době odběru vzorku v klinickém stadiu IV a jejich onemocnění bylo v klinické progresi. U jednoho z pacientů byla navíc zaznamenána sekundárně vzniklá rezistentní mutace T790M.

Závěr: Detekce mutace EGFR je pomocí citlivých molekulárních metod možná z minimálního množství nádorové DNA přítomné v plazmě. Přes limitovaný počet pacientů v úvodní části projektu naše výsledky poukazují na možnou korelaci přítomnosti mutované ctDNA s progresí nádorového onemocnění. Využitá metoda umožňuje identifikovat pacienty vhodné k léčbě inhibitory tyrosinkináz 3. generace, účinnými též u pacientů s mutací T790M.

Podpora: Projekt je podpořen interním grantem 6006 Institucionální podpory vědy FN Motol.

POZNÁMKY

Organizační výbor:

Jan Trka (předseda)

Petr Andreas

Tereza Kůstková

Aleš Lukš

Renata Bourahi

Martin Illichman

Jan Matúška

Zdeněk Procházka

Ivana Tinková

Gabriela Vodičková

Vědecký výbor:

Jan Zuna (předseda)

Barbora Fišárková

Jakub Hort

Michal Rygl

Zdeněk Šumník

Lýdia Vargová

Marie Žaloudíková