2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
UNIVERZITA KARLOVA

VĚDECKÁ KONFERENCE

Pelouchova posluchárna 25.—26. dubna 2018
budova 2. lékařské fakulty „Žížala“, Plzeňská 130/221

středa 25. 4. v 10.30

Eberhard Passarge

The Concept of Disease in Human Genetics

čtvrtek 26. 4. v 10.30

Julius Lukeš

Nejsme sami — my a náš mikrobiom a eukaryom

středa 25. 4. v 13.15

Šimon Pánek: Leadership neboli náčelnictví

Uvádí Jan Pergler

Vyzvaní řečníci:

Ondřej Čakrt, Jan Zuna, Viktor Tomek, Lucie Šrámková

středa 25. 4. v 16.00

Motolská míle

start u Dr. Vojáka, Žížala

čtvrtek 26. 4. v 13.15

Vejce natvrdo!

S básnířkou Olgou Stehlíkovou a hudebníkem Tomášem Braunem

Moderuje Josef Chuchma

středa 25. 4. v 9.30

Workshop:

Jak se měří věda… a vědci

Jan Zuna, Tomáš Kalina

Vědecký výbor:

Jan Zuna (předseda), Barbora Fišárková, Jakub Hort, Michal Rygl, Zdeněk Šumník, Lýdia Vargová, Josef Zámečník, Marie Žaloudníková

Cena pro pozorného diváka

Kupón na 100 šálků kávy v Motol Cafe

Další informace najdete na webu 2. lékařské fakulty a na Facebooku.

VĚDECKÝ PROGRAM STŘEDA 26. 4. 2017

10.30

OFICIÁLNÍ ZAHÁJENÍ

Vladimír Komárek, děkan 2. LF UK

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

10.40–12.40

SEKCE MIRKA DUŠÍNA

Předsedající Vladimír Komárek, Ondřej Hrušák

PŘIŠEL ŽIVOT Z VESMÍRU? **50'**

Jiří Šponer

Biofyzikální ústav AV ČR

1 AKTIVAČNÍ MUTACE GENU GNB1 VEDE K REZISTENCI K TYROZIN KINÁZOVÝM INHIBITORŮM U TEL-ABL+ LEUKÉMIE

aneb ***Rezistence na tyrozin kinázové inhibitory u ETV6-ABL1+ leukémie***

Zimmermannová O. (1,2), Doktorová E. (3), Stuchlý J. (1,2), Falkenburg F. (4), Petrák J. (3), Zuna J. (1,2), Žaliová M. (1,2)

1 - CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague; 2 - Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK, Praha, Česká republika; 3 - BIOCEV, 1.LF UK, Vestec, Česká republika; 4 - Department of Hematology, Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands

Školitel: MUDr. Markéta Žaliová, Ph.D.

2 ASSOCIATIVE PLASTICITY AND ADAPTIVE POPULATION CODING IN THE AUDITORY CORTEX

aneb ***Do you remember those times? I do; my brain is plastic***

Novak O., Zelenka O., Brunova A. and Syka J.

Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences CR, v.v.i.

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

3 **DOKÁŽE IMPLANTACE INTRAKARDIÁLNÍHO EXPANDERU ZABRÁNIT ROZVOJI SRDEČNÍ ATROFIE NAVOZENÉ HETEROTOPICKOU TRANSPLANTACÍ SRDCE U LABORATORNÍHO POTKANA?**

aneb ***Jak může metalický expandér zachránit svět?***

Pokorný M. (1), Červenka L. (2), Netuka I. (1), Pirk J. (1), Melenovský V. (3), Šochman J. (3), Mrázová I. (2), Malý J. (1)

1 - Klinika kardiochirurgie IKEM Praha, 2 - Cenrum experimentální medicíny IKEM Praha, 3 - Klinika kardiologie IKEM Praha

Školitel: doc. MUDr. Jiří Malý, Ph.D.

4 **ERYTROIDNÍ ŘADA UKAZUJE KVALITU VZORKU KOSTNÍ DŘENĚ PŘI ANTILEUKEMICKÉ CHEMOTERAPII**

aneb ***Co Vám červená krvinka práskne o kostní dřeni?***

Vakrmanová B. (1), Nováková M. (1), Vodičková E. (2), Houdková A. (2), Vášková M. (1), Janotová I. (3), Starý J. (3), Trka J. (1,3), Hrušák O. (1,3), Mejstříková E. (1,3)

1 - CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, 2 - Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice v Motole, Praha, 3 - Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

AKTUÁLNÍ POHLED NA LÉČBU NÁDORŮ MOČOVÉHO MĚCHÝŘE **15'**
Marek Babjuk

12.40–13.30

LOSNOVA POSTEROVÁ SEKCE / občerstvení

Superpředsedající Jan Zuna

Postery – příspěvky č. P01 – P45

13.30

Divadlo Archa uvádí: EKG o Lásce a Úrazech

Motolský speciál literárního kabaretu Igora Malijevského a Jaroslava Rudiše bude letos věnován lásce a úrazům. Autoři ke své tématické přednášce přizvali básníka, nositele ceny Jiřího Ortena a odborníka na danou problematiku Jana Těsnohlídka ml. Hraje Lenka Dusilová.

14.30–16.10

ČERVENÁČKOVA SEKCE

Předsedající Josef Veselka, Jan Laczó

DESET DŮVODŮ, PROČ MÍT RÁD KLINICKÝ VÝZKUM, I KDYŽ HO ZATÍM NEZNÁTE **15'**

Josef Veselka

5 **AMYLOIDOVÝ PET A VYŠETŘENÍ BIOMARKERŮ LIKVORU U DEMENCÍ NEURODEGENERATIVNÍ ETIOLOGIE V KLINICKÉ PRAXI: SROVNÁNÍ A KLINICKÝ DOPAD**

aneb ***Amyloidový PET: Klíč k časné diagnóze Alzheimera?***

Cerman J. (1), Laczó J. (1), Vyhnálek M. (1), Sheardová K. (2), Hort J. (1)

1 - Neurologická klinika FN Motol a 2. LF UK; 2 - Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Školitel: doc. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

6 **DETEKCE PROTINÁDOROVÉ IMUNITNÍ ODPOVĚDI PROTI VYBRANÝM NÁDOROVÝM ANTIGENŮM U PACIENTEK S KARCINOMEM PRSU**

aneb ***Karcinom prsu – zacíleno na nádorové antigeny***

Vančurová I. (1,2), Velíšková M. (3), Kašíková L. (1,2), Truxová I. (1,2), Belicová L. (2), Palata O. (1,2), Halaška j. M. (4), Strnad P. (3), Fialová A. (2), Špíšek R. (1,2), Hensler M. (2) a Fučíková J. (1,2)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Sotio a.s., Praha, 3 – Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 4 – Gynekologicko-porodnická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

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

7 VYŠETŘOVÁNÍ CMV SPECIFICKÝCH BUNĚK PRO ADOPTIVNÍ IMUNOTERAPII: JE VHODNĚJŠÍ DETEKCE POMOCÍ MULTIMERŮ NEBO PRODUKCÍ IFNγ?

aneb ***Hledání virus specifických buněk v kupce periferní krve***

Pelák O. (1,2), Říha P. (2), Keslová P. (2), Sedláček P. (2), Formánková R. (2), Hrušák O. (1,2), Kalina T. (1,2)

1 - CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2 - Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

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

8 DIABETICKÁ RETINOPATIE A ZMĚNY NERVOVÝCH VLÁKEN HODNOCENÉ KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIÍ ROHOVKY

aneb ***Konfokální mikroskopie rohovky aneb oko do duše i nohy okno***

Česká Burdová M. (1), Mahelková G. (1,2)

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

Školitel: MUDr. Gabriela Mahelková, Ph.D.

9 HISTOPATOLOGICKÝ SKÓROVACÍ SYSTÉM AKTIVITY CROHNOVY CHOROBY (GHAS) MÁ PRO PREDIKCI ROZVOJE KOMPLIKACÍ U DĚTÍ JEN LIMITOVANÝ VÝZNAM

aneb ***Dětská Crohnova choroba – těžký úděl patologův***

Fabián O. (1), Hradský O. (2), Potužníková K. (2), Krsková L. (1), Kalfusová A. (1), Hornofová L. (1), Zámečník J. (1), Bronský J. (2)

1 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol; 2 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

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

10 REAKTIVNÍ PLICNÍ HYPERTENZE VYVOLANÁ TLAKOVÝM PŘETÍŽENÍM LEVÉ SRDEČNÍ KOMORY U LABORATORNÍHO POTKANA

aneb ***Nový experimentální model plicní hypertenze***

Odintsov I. (1), Chovanec M. (1, 3), Vízek M. (2), Herget J. (1)

1 - Ústav fyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova; 2 - Ústav patofyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova; 3 - Oddělení kardiologie, Nemocnice na Homolce, Praha

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Milan Chovanec, Ph.D.

VĚDECKÝ PROGRAM ČTVRTEK 27. 4. 2017

9.30
Workshop Jana Tleskače: Curriculum Reform
Sarah Leupen, Petr Marusič

10.30–12.25
SEKCE JARKY METELKY
Předsedající Jan Trka, Jakub Hort

MAKING AND BREAKING SPINAL MOTOR NEURONS: FROM STEM CELLS TO „ALS IN A DISH" **45`**
Hynek Wichterle
Columbia University, New York

11 **VYSOKÁ SHODA MEZI NEZÁVISLÝMI NEURORADIOLOGY PŘI HODNOCENÍ MRI ZMĚN U TUBERÓZNÍ SKLERÓZY**

aneb ***Golden eye(s) neuroradiologů***

Beňová B. (2,5), Hulshof HM (1), Kynčl M. (3), Lequin M. (4), Bělohlavková A. (2,5), Ježdík P. (2), Braun KPJ (1), Kršek P. (2,5), Jansen FE (1)

1 - Department of Pediatric Neurology, Brain Center Rudolf Magnus, University Medical Center, Utrecht, the Netherlands.; 2 - Klinika dětské neurologie 2. lékařské fakulty UK a FN Motol; 3 - Klinika zobrazovacích metod 2. lékařské fakulty UK a FN Motol; 4 - Department of Radiology, University Medical Center, Utrecht, the Netherlands.; 5 - 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

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

12 **CELOEXOMOVÉ SEKVENOVÁNÍ U DĚTÍ S IMUNITNÍ CYTOPENIÍ: APLIKACE A KLINICKÝ DOPAD**

aneb ***Která metoda v diagnostice dr. Housovi chyběla?***

Svatoň M. (1), Kanderová V. (1), Smíšek P. (1), Suková M. (1), Šrámková L. (1), Kayserová J. (2), Stuchlý J. (1), Žaliová M. (1), Freiberger T. (3), Elblová L. (4), Průhová Š. (4), Vlčková M. (5), Pospíšilová D. (6), Blatný J. (7), Procházková D. (8), Mejstříková E. (1), Kalina T. (1), Šedivá A. (2), Starý J. (1), Trka J. (1), Froňková E. (1)

1 - Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 2 - Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 3 - Genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno; 4 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha; 5 - Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha; 6 - Dětská klinika FN Olomouc; 7 - Oddělení dětské hematologie FN Brno; 8 - Dětská klinika, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, Krajská zdravotní a.s.

Školitel: MUDr. Eva Froňková, Ph.D.

13 ANALOGY PREAGNANOLONU PREFERENČNĚ INHIBUJÍ TONICKY OPROTI FAZICKY AKTIVOVANÝM NMDA RECEPTORŮM

aneb ***Inhibitory NMDA receptorů: stop nežádoucím účinkům!***

Krausová B. (1,3), Vyklický V. (1), Smejkalová T. (1), Balík A. (1), Kořínek M. (1), Borovská J. (1), Horák M. (1), Chvojková M. (1), Kletečková L. (1), Valeš K. (1), Černý J. (1), Nekardová M. (2), Chodounská H. (2), Kudová E. (2), Vyklický L. (1)

1 - Fyziologický ústav AV ČR Praha, 2 - Ústav organické chemie a biochemie AV ČR Praha, 3 - 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Školitel: prof. MUDr. Ladislav Vyklický, DrSc.

14 THYMOMY – EXPRESE MOLEKUL DRÁHY WNT/ß-CATENIN, E-CADHERINU A JEJICH POTENCIÁLNÍ VÝZNAM V ONKOGENEZI A DIAGNOSTICE

aneb ***O nádorech brzlíku (nejen pro gurmány)***

Vodička P. (1), Krsková L. (1), Odintsov I. (1), Schützner J. (2), Zámečník J. (1)

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

Pregraduální student

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

VYUŽITÍ GENOMICKÝCH METOD V DIAGNOSTICE DĚDIČNÝCH NEUROLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ **15'**

Petra Laššuthová

12.25–13.15

MAŽŇÁKOVA POSTEROVÁ SEKCE / občerstvení

Superpředsedající Josef Zámečník

Postery – příspěvky č. P46 – P90

13.15

Workshop Jindry Hojera: Úspěchy a úrazy v postgraduálním studiu

Absolventi 2. LF, kteří se rozhodli pro doktorské studium v biomedicíně, komentují své dobré i špatné zkušenosti a zážitky – aneb co napodobit a čemu se vyhnout?

Barbora East, Klára Roženková, Michael Svatoň

Moderuje Jan Trka

14.00–15.55

RYCHLONOŽKOVA SEKCE

Předsedající Tomáš Kalina, Ondřej Cinek

CELEBRITY MEZI BÍLÝMI KRVINKAMI **15'**

Tomáš Kalina

15 DYNAMIKA SOMATICKÝCH MUTACÍ U VYSOCE RIZIKOVÝCH PACIENTŮ S MYELODYSPLASTICKÝM SYNDROMEM LÉČENÝCH AZACITIDINEM

aneb ***Klonální evoluce u myelodysplastického syndromu***

Polgárová K. (1,2), Kulvait V. (1), Vargová K. (1), Minařík Ľ. (1,2), Zemanová Z. (3), Jonášová A. (1,2), Stopka T. (1,2)

1 - 1. LF UK, BIOCEV, 2 - 1. Interní klinika – Klinika hematologie, VFN, Praha, 3 - Centrum nádorové cytogenetiky, VFN, Praha

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Stopka, Ph.D.

16 HUMAN MESENCHYMAL STROMAL CELLS FROM BONE MARROW AND ADIPOSE TISSUE IMPROVE WOUND HEALING IN DIABETIC RAT MODEL

aneb ***Stem cells heal diabetic wounds***

Kočí Z. (1,2), Bém R. (3), Kubinová Š. (1), Dubský M. (3), Turnovcová K. (4) and Jirkovská A. (3)

1 - Department of Biomaterials and Biophysical Methods, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic; 2 - Department of Neuroscience, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 3 - Diabetes Centre, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic; 4 - Department of Tissue Culture and Stem Cells, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: PharmDr. Šárka Kubinová, Ph.D.

17 MUSKULOSKELETÁLNÍ SYSTÉM U DĚTÍ A ADOLESCENTŮ SE ZÁNĚTLIVÝMI STŘEVNÍMI ONEMOCNĚNÍMI

aneb ***Muskuloskeletální systém u dětí a adolescentů se zánětlivými střevními onemocněními***

Maratová K. (1), Hradský O. (1), Bronský J. (1), Matysková J. (1), Mynářová R. (2), Čopová I. (1), Souček O. (1), Šumník Z. (1)

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

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

18 JE POOPERAČNÍ PRŮBĚH U PACIENTŮ S HIRSCHSPRUNGOVOU CHOROBOU OVLIVNĚN MUTACÍ V RET PROTO-ONKOGENU?

aneb ***RET mutace = pooperační komplikace u Hirschsprungovy choroby***

Pošl L. (1), Václavíková E. (2), Rousková B. (1), Jaroščiáková S. (1), Škába R. (1)

1 - Klinika dětské chirurgie, UK 2. LF a FN Motol, Praha 2 - Oddělění molekulární endokrinologie, Endokrinologický ústav, Praha

Školitel: prof. MUDr. Richard Škába, CSc.

19 LITIUM BRÁNÍ RŮSTOVÉMU SELHÁNÍ ZPŮSOBENÉMU GLUKOKORTIKOIDY V KULTIVOVANÝCH FETÁLNÍCH POTKANÍCH METATARZECH

aneb ***Jak zabránit růstovému selhání způsobenému léčbou kortikoidy?***

Souček O. (1,2), Zaman F. (2), Sävendahl L. (2)

1 - Peditrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká Republika, 2 - Klinika pediatrie a gynekologie, Karolinska Institutet, Stockholm, Švédsko

Školitel: MUDr. Ondřej Souček, Ph.D.

20 ABNORMÁLNÍ VENTILAČNÍ ODPOVĚĎ NA HYPEROXII U KOJENCŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

aneb ***Pozná batole s CF, co dýchá? Aneb jak reaguje na čistý kyslík***

Koucký V. (1), Koucký M. (2), Pohunek P. (1)

1 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; 2 - Katedra aplikované matematiky, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická, Technická Univerzita v Liberci

Školitel: prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

21 VLIV KOMBINOVANÉ BLOKÁDY SOLUBILNÍ EPOXID HYDROLÁZY A ACE NA PRŮBĚH CHRONICKÉHO SRDEČENÍHO SELHÁNÍ: STUDIE NA REN-2 HYPERTENZNÍM TRANSGENNÍM POTKANU

aneb ***Vliv inhibice ACE a sEH na průběh chronického srdečního selhání***

Kala P. (1,2), Sedláková L. (2), Škaroupková P. (2), Vaňourková Z. (2), Kopkan L. (2), Červenka L. (1,2)

1 - Ústav patologické fyziologie 2. LF UK, Praha; 2 - Centrum Experimentální Medicíny, IKEM, Praha

Pregraduální student

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

WORKSHOPY A DOPROVODNÝ PROGRAM 2017

středa 26. 4. ve 13.30

Motolský speciál EKG O Lásce a Úrazech

Igor Mailjevský, Jaroslav Rudiš, Jan Těsnohlídek ml. a Lenka Dusilová

Divadlo Archa uvádí motolský speciál literárního kabaretu Igora Malijevského a Jaroslava Rudiše, který bude letos věnovaný Lásce a úrazům. Autoři ke své tématické přednášce přizvali básníka, nostiele ceny Jiřího Ortena a odborníka na danou problematiku Jana Těsnohlídka ml. Hraje Lenka Dusilová! Abstrakt přednášky: Úvod do milostné traumatologie: teorie a kazuistika. Obecná teorie úrazů, milostné úrazy a jejich diagnostika, první pomoc, zaléčení milostného úrazu prostředky tzv. reverze. Úrazy z pohledu gender studies. Praktická cvičení.

čtvrtek 27. 4. v 9.30

Workshop Jana Tleskače: Curriculum Reform

Sarah Leupen, Petr Marusič

Medical schools all over the world are changing the way that they teach students-- perhaps changing to an "integrated" curriculum, or changing to a whole new way of teaching, such as problem-based learning or case-based learning. Are these changes just "fashionable" or do they really help students become better doctors? This workshop will try to answer these questions, and help us think about how to plan changes that are the most effective.

čtvrtek 27. 4. ve 13.15

Workshop Jindry Hojera: Úspěchy a úrazy v postgraduálním studiu

Barbora East, Klára Roženková, Michael Svatoň

Moderuje Jan Trka

Absolventi 2. LF, kteří se rozhodli pro doktorské studium v biomedicíně, komentují své dobré i špatné zkušenosti a zážitky – aneb co napodobit a čemu se vyhnout?

ABSTRAKTY 2017

PŘEDNÁŠKY

O-01. AKTIVAČNÍ MUTACE GENU GNB1 VEDE K REZISTENCI K TYROZIN KINÁZOVÝM INHIBITORŮM U TEL-ABL+ LEUKÉMIE

Zimmermannová O. (1,2), Doktorová E. (3), Stuchlý J. (1,2), Falkenburg F. (4), Petrák J. (3), Zuna J. (1,2), Žaliová M. (1,2)

1 - CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague; 2 - Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK, Praha, Česká republika; 3 - BIOCEV, 1. LF UK, Vestec, Česká republika; 4 - Department of Hematology, Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands

Školitel: MUDr. Markéta Žaliová, Ph.D.

Úvod: Leukémie nesoucí fúzi TEL-ABL1 představují vzácnou, prognosticky nepříznivou skupinu onemocnění, biologicky i klinicky obdobnou častějším BCR-ABL+ leukémiím. Oba fúzní geny kódují konstitutivně aktivovanou tyrozin kinázu, jejíž aktivitu lze terapeuticky inhibovat specifickými tyrozin kinázovými inhibitory (TKI). Mechanismy případné rezistence k TKI nebyly dosud u TEL-ABL+ leukémií studovány.

Cíl: Naším cílem bylo popsat mechanismy získané rezistence vůči TKI na modelu TKI-rezistentní buněčné linie.

Materiál a metody: Pomocí dlouhodobé kultivace s TKI imatinibem (IM) jsme vytvořili multi-TKI rezistentní TEL-ABL+ buněčnou linii. Změny získané rezistentní linií jsme studovali pomocí celoexomového sekvenování a 2-dimenzionální elektroforézy.

Výsledky: U rezistentní linie jsme nejprve vyloučili běžné mechanismy rezistence popsané u BCR-ABL+ leukémií. Umlčením fúzní kinázy jsme prokázali, že rezistentní linie ztratila závislost na pro-survival signalizaci zprostředkované onkogenem TEL-ABL a zřejmě vyvinula alternativní mechanismus aktivace této signalizace.

Porovnáním genomických a proteomických profilů obou linií jsme identifikovali získanou mutaci v genu GNB1 (K89M) kódujícím podjednotku G proteinu jako nejpravděpodobnější příčinu rezistence v našem modelu. Mutace postihující daný kodón GNB1 vedou k narušení funkce G proteinu a intracelulární signalizace (Yoda, Nature Medicine, 2015). Pomocí imunoblotu jsme zjistili, že oproti senzitivní linii dochází u linie rezistentní k opětovné aktivaci imatinibem blokované pro-survival signalizace přes dráhy PI3K/Akt/mTOR a MAPK.

Abychom objasnili úlohu mutace genu GNB1 na vzniku TKI rezistence, vytvořili jsme lentivirální expresní vektory nesoucí GNB1WT i GNB1K89M/E a transdukovali jimi původní TKI-senzitivní linii. Následně jsme porovnávali vliv exprese mutantní varianty genu GNB1 na senzitivitu k TKI a buněčnou signalizaci v odpovědi na IM-indukovanou inhibici TEL-ABL kinázy. Zjistili jsme, že oproti kontrolní skupině transdukované prázdným vektorem/GNB1WT vektorem, buňky exprimující mutantní varianty GNB1 dokázaly obnovit buněčnou PI3K/Akt/mTOR a MAPK signalizaci a získaly rezistenci vůči testovaným TKI.

Závěr: Ukázali jsme, že dlouhodobá expozice TEL-ABL+ leukemických buněk imatinibu vede k vzniku rezistence k TKI na podkladě získané mutace genu GNB1, a jí navozené aktivace pro-survival signalizace. Tento mechanismus resistence je nezávislý na kináze cílené TKI, a je tedy potenciálně relevantní pro širší spektrum malignit léčených kinázovými inhibitory.

O-02. ASSOCIATIVE PLASTICITY AND ADAPTIVE POPULATION CODING IN THE AUDITORY CORTEX

Novak O., Zelenka O., Brunova A. and Syka J.

Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences CR, v.v.i.

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

Introduction: In the ever changing world, it is beneficial that sensory cortices of mammals have the ability to adapt their functioning to produce a better performance in the processing of new salient stimuli. This fact also holds true in the auditory cortex (AC) of mouse. Plasticity in adults needs to be motivated by behavioral salience; negative or positive associations with certain stimuli. Such association may be established for example in a fear conditioning protocol, in which an unconditioned stimulus (e.g. mild foot shock) is paired with a conditioned stimulus (CS+; e.g. 8 kHz pure tone). It has been repeatedly shown by electrophysiologists that such protocol led to overpopulation of the AC neurons coding for frequencies near to the CS+. Nevertheless, these studies mostly lacked single cell resolution and cell type identification capability. Here we used fear conditioning protocol, the newest optophysiological techniques, genetic manipulations and behavioral testing to extend the knowledge of the involved processes.

Aims: To analyze changes within individual principal cells with spatial context and to discern the specific roles of the two main types of inhibitory interneurons: parvalbumin- and somatostatin-positive cells (PV+ and SST+ cells).

Materials and Methods: We used cranial window surgery and viral (AAV with a gene for calcium indicator GCaMP6s) transduction in transgenic mice expressing red fluorescent protein tdTomato in either PV+ or SST+ interneurons (n=6 mice in each group). The activity of individual neurons was measured via Ca2+ imaging using a two-photon (2p) microscope under isoflurane anesthesia. The protocol was as follows: day1-Receptive fields (RFs) of the individual AC neurons measurement using 2p microscopy, d3- Conditioning (CS+=8kHz, CS-=16kHz), d5- The 2p RFs measurement from the reidentified neurons and d7-testing for the behavioral consequences of the conditioning.

Results: Retuning on a single-cell basis is highly complex; both shifts of the RFs towards CS+ and CS- were observed. We show that SST+ interneurons probably mediate the observed changes. Contesting the view of a simple overrepresentation of CS+, we observed the system to evolve towards better discernability between CS+ & CS-. Behavioral consequences of the fear conditioning are rich, complex and parameter-dependent including types of attentional head orientation, escape behavior and freezing.

Conclusions: Our study offers deeper understanding of the mechanisms underlying adult plasticity in the mouse auditory cortex.

Support: GAUK408313

O-03. DOKÁŽE IMPLANTACE INTRAKARDIÁLNÍHO EXPANDERU ZABRÁNIT ROZVOJI SRDEČNÍ ATROFIE NAVOZENÉ HETEROTOPICKOU TRANSPLANTACÍ SRDCE U LABORATORNÍHO POTKANA?

Pokorný M. (1), Červenka L. (2), Netuka I. (1), Pirk J. (1), Melenovský V. (3), Šochman J. (3), Mrázová I. (2), Malý J. (1)

1 - Klinika kardiochirurgie IKEM Praha, 2 - Cenrum experimentální medicíny IKEM Praha, 3 - Klinika kardiologie IKEM Praha

Školitel*:* doc. MUDr. Jiří Malý, Ph.D.

Úvod: Při léčbě pacientů v terminální fázi srdečního selhání v klinické praxi stále častěji užíváme mechanické srdeční podpory. Přes řadu nesporných benefitů, které léčba mechanickými srdečními podporami přináší lze konstatovat, že po dlouhodobém odlehčení srdečního oddílů dochází k jejich atrofii. Tento redukuje pravděpodobnost zotavení myokardu a potenciální explantaci systému mechanické srdeční podpory, bez nutnosti transplantace srdce. Heterotopická transplantace srdce u laboratotního potkana (po navození srdečního selhání) předtavuje vhodný model ke studiu atrofických změn a možností jejich ovlivnění.

Cíl: Předpokládáme, že implantace, námi navrženého nitrokomorového trojramenného expanderu, přinese dostatečné navýšení izovolumického zatížení levé komory, které povede ke zmírnění atrofických změn následujících po heterotopické transplantaci srdce.

Materiál a metody: Heterotopická transplantace srdce byla prováděna u laboratorního potkana (Lewis). Míra atrofie myokardu byla hodnocena jako hmotnostní poměr transplantovaného a nativního srdce. Atrofické změny byly hodnoceny 7, 14, 21 28 dní po heterotopické transplantaci. K transplantaci byly použity štěpy po navození srdečního selhání (na podkladě objemového přetížení). Do jedné skupiny transplantátů byl zaveden expander do levé komory, kontrolní skupina bez implantace expanderů. (n=10 v každé skupině).

Výsledky: Heterotopická transplantace selhávajícího srdce vedla k váhovému úbytku 41±3, 57±4, 66±4 a 70±4% v příslušných termínech. Implantace nitrokomorového expanderu redukovala váhový úbytek na 26±2, 42±3, 43±3 a 44 % ($p<0.05$ pro každý termín při porovnání se skupinou bez expanderu).

Závěr: Naše výsledky prokazují zmírnění atrofických změn, vzniklých na podkladě mechanického odlehčení při heterotopické transplantaci srdce, po implantaci nitrokomorového expanderu.

Podpora projektu*:* Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. 16-27420A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

O-04. ERYTROIDNÍ ŘADA UKAZUJE KVALITU VZORKU KOSTNÍ DŘENĚ PŘI ANTILEUKEMICKÉ CHEMOTERAPII

Vakrmanová B. (1), Nováková M. (1), Vodičková E. (2), Houdková A. (2), Vášková M. (1), Janotová I. (3), Starý J. (3), Trka J. (1,3), Hrušák O. (1,3), Mejstříková E. (1,3)

1 - CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, 2 - Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice v Motole, Praha, 3 - Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Pregraduální student

Školitel*:* MUDr. Ester Mejstříková, PhD.

Úvod: Akutní lymfoblastická leukemie (ALL) je nejčastějším nádorovým onemocněním u dětí. V rámci léčebného protokolu AIEOP BFM 2009 je v den 15 hodnocena odpověď na léčbu pomocí stanovení minimální reziduální nemoci (MRN) v kostní dřeni (KD) průtokovou cytometrií (PC). Pacienti vysokého rizika (HR) mají ≥10% maligních buněk (blastů) v KD, pacienti standardního rizika (SR) < 0.1%, ostatní pacienti jsou středního rizika (MR). Hodnocení MRN je často komplikováno nízkou buněčností a klíčovou otázkou je, jak poznat nereprezentativní vzorek s významnou příměsí periferní krve. V roce 2008 jsme spolu s dalšími 4 národními laboratořemi definovali standardní operační postup, dle kterého by měl reprezentativní vzorek v den 15 obsahovat ≥2% erytroidních prekurzorů (EP) definovaných jako jaderné buňky imunofenotypu CD19negCD45neg u B prekurzorové (BCP) ALL a CD7negCD45neg u T ALL.

Cíl: Jaké je zastoupení EP v KD v den 15? Jak často je vzorek suspektní z kontaminace periferní krví? Jsou rozdíly mezi BCP ALL a T ALL?

Jak specifická je populace CD19neg45neg pro definici EP? Je specifičtější analýza pomocí exprese transferinového receptoru (CD71)?

Materiál a metody: Pomocí PC jsme hodnotili 332 vzorků KD den 15 (294 BCP ALL, 38 T ALL). Celkem 36 pacientů bylo hodnoceno jako HR, 178 jako MR, 112 jako SR, 6 vzorků bylo nehodnotitelných. Jaderné buňky byly definovány pomocí značení SYTO16 či SYTO41, viabilita pomocí 4

Výsledky: Medián zastoupení EP je 5.2% (0.4-43%). Významně nižší zastoupení je u pacientů SR (medián 3.5%) ve srovnání s MR (6.9%) i HR (5.4%). Nebyl rozdíl mezi pacienty s BCP a T ALL.

Celkem 49 pacientů (46 B-ALL, 3 T-ALL) mělo nízké zastoupení EP (<2%) dle PC, z toho 27 bylo SR, 14 MR, 2 HR, 6 pacientů bylo nehodnotitelných dle PC v den 15.

Zjistili jsme, že populace CD19neg45neg v sobě zahrnuje významnou subpopulaci neživých buněk dle značení DAPI (6.5-97%, medián 58%). Populace definovaná pomocí CD71 je z pohledu viability specifičtější (neživé buňky v rozmezí 0-67%, medián 8.9%). Obě populace spolu korelují (r=0.7), nicméně % CD71pos buněk je významně nižší (medián 1.2%).

Závěr: Celkem 15% pacientů mělo nízké zastoupení EP v den 15. Prokázali jsme signifikantně nižší zastoupení EP u pacientů se SR. Populace definovaná jako CD19neg45neg zahrnuje velké množství apoptotických buněk. Specifičtější definice této populace pomocí CD71 zahrnuje erytroidní linii od stádia erytroblastů.

Podpora projektu*:* GAUK 318217, AZV 15-28525A

O-05. AMYLOIDOVÝ PET A VYŠETŘENÍ BIOMARKERŮ LIKVORU U DEMENCÍ NEURODEGENERATIVNÍ ETIOLOGIE V KLINICKÉ PRAXI: SROVNÁNÍ A KLINICKÝ DOPAD

Cerman J. (1), Laczó J. (1), Vyhnálek M. (1), Sheardová K. (2), Hort J. (1)

1 - Neurologická klinika FN Motol a 2. LF UK; 2 - Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Školitel: doc. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Úvod: V posledních diagnostických kritériích Alzheimerovy choroby (ACH) je znát důraz na časnější diagnostiku a s tím související přesun těžiště z klinické diagnózy na vyšetření biomarkerů. V ČR je již cca 1 rok dostupné vyšetření pomocí amyloidového PET, který patří spolu s analýzou likvoru k nejdůležitějším metodám vyšetření metabolických biomarkerů.

Cíl: Vzájemně srovnat výsledky vyšetření amyloidovým PET a biomarkerů likvoru, jejich konkordanci (tj. kdy výsledky z různých modalit shodují) a dopad na léčbu u jednotlivých pacientů.

Materiál a metody: Studie zahrnovala celkem 37 pacientů Kognitivního centra Neurologické kliniky FN Motol ve stadiu MCI nebo mírné demence, kteří byli indikováni z důvodu 1/ diferenciální diagnostiky frontotemporální lobární degenerace a ACH (n = 25), 2/ presenilní demence (n = 4), 3/ diferenciální diagnostiky ACH a parkinson plus onemocnění a 4/ suspekce na neurodegenerativní onemocnění na pozadí psychiatrické komorbidity (n=3). Pacienti podstoupili standardní vyšetření zahrnující MRI, neuropsychologické vyšetření a dále vyšetření metabolických biomarkerů v likvoru s následujícími cut offy: <650pg/mL (beta-amyloid Aß1-42), >358pg/mL (celkové-tau) a >48 (fosfo-tau). Amyloidový PET na přítomnost kortikálních depozit amyloidu byl hodnocen vizuálně.

Výsledky: Výsledek amyloidového PET byl konkordantní s vyšetřením beta-amyloidu v likvoru v 81%, s výsledkem fosfo-tau v 79% a s výsledkem celkového tau v 64% případů. Interpretace výsledků amyloidového PET vedla ke změně diagnozy u 38% pacientů. U 27% pacientů byla následně vysazena léčba ACHEi a u 21% léčba nově nasazena.

Závěr: Vyšetření kortikálních depozit amyloidu pomocí PET a metabolických biomarkerů likvoru vykazuje vysokou konkordanci. Fosfo-tau a beta-amyloidu v likvoru dosahují obdobné konkordance s výsledkem PET, u celkového tau je konkordance relativně nižší. Interpretace amyloidového PET měla významný klinický dopad na diagnostiku a léčbu pacientů.

O-06. DETEKCE PROTINÁDOROVÉ IMUNITNÍ ODPOVĚDI PROTI VYBRANÝM NÁDOROVÝM ANTIGENŮM U PACIENTEK S KARCINOMEM PRSU

Vančurová I. (1,2), Velíšková M. (3), Kašíková L. (1,2), Truxová I. (1,2), Belicová L. (2), Palata O. (1,2), Halaška j. M. (4), Strnad P. (3), Fialová A. (2), Špíšek R. (1,2), Hensler M. (2) a Fučíková J. (1,2)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Sotio a.s., Praha, 3 – Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 4 – Gynekologicko-porodnická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

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

Úvod: Karcinom prsu patří mezi nejčastější zhoubné malignity postihující ženy ve vyspělých zemích. Rostoucí incidence představuje závažný problém a včasná diagnóza je předpokladem úspěšné léčby. Současné poznatky o roli imunitního systému v boji proti nádorovým buňkám umožnily rozvoj nových technologií v léčbě karcinomu prsu, jejichž cílem je aktivovat imunitní systém k účinné protinádorové reakci. Existují předpoklady pro úspěšné uplatnění imunoterapie v prevenci i terapii karcinomu prsu. Studium antigenů, které jsou asociované s nádory (TAAs), je pro tyto účely naprosto zásadní. Objasnit vztah jednotlivých TAAs v aktivaci imunitní odpovědi a využití těchto poznatků v imunoterapii a imunomonitoringu protinádorové léčby patří k hlavním cílům onkologického výzkumu.

Cíl: Cílem naší prospektivní studie bylo charakterizovat expresi 18 vybraných TAAs v rozsáhlé kohortě pacientek s karcinomem prsu a sledovat vliv vybraných TAAs na aktivaci protinádorové imunitní odpovědi (humorální i buněčné) a prognózu nádorového onemocnění.

Materiál a metody: Genová exprese byla měřena pomocí kvatnitativní PCR na vzorcích nádorové a zdravé tkáně u skupiny 90 pacientek s karcinomem prsu. Získaná data byla následně ověřena na nezávislé pacientské kohortě z veřejné genové databáze. Specifická T-buněčná odpověď byla analyzována pomocí průtokové cytometrie na periferních mononukleárních buňkách izolovaných z periferní krve pacientek. Pomocí metody ELISA byla stanovena přítomnost specifických protilátek v séru. Získaná data byla hodnocena pomocí univariantní biostatistické analýzy.

Výsledky: Identifikovali jsme skupinu 5 genů, BIRC5, CEACAM5, ERBB2, EPCAM a MUC1, signifikantně exprimovaných na nádorových buňkách pacientek s karcinomem prsu. Přítomnost těchto TAAs v nádorové tkáni nekorelovala s prognózou onemocnění. Tyto výsledky byly ověřeny v nezávislé kohortě pacientek z TCGA databáze. V periferní krvi pacientek jsme detekovali specifické T lymfocytů proti klíčovým antigenům, nicméně jejich zastoupení nekoreluje s expresním profilem těchto antigenů ani s prognózou pacientek. Naopak přítomnost specifických protilátek proti antigenům CEA, HER2/Neu a MUC-1 je asociována se signifikantně horší prognózou.

Závěr: V naší studii jsme identifikovali panel 5 TAAs, BIRC5, CEACAM5, ERBB2, EPCAM, MUC1, specificky exprimovaných na nádorových buňkách karcinomu prsu. Studovali jsme vztah těchto TAAs a imunitní odpovědi a ukázali, že přítomnost nádorově specifických protilátek umožňuje identifikovat pacientky s negativní prognózou.

O-07. VYŠETŘOVÁNÍ CMV SPECIFICKÝCH BUNĚK PRO ADOPTIVNÍ IMUNOTERAPII: JE VHODNĚJŠÍ DETEKCE POMOCÍ MULTIMERŮ NEBO PRODUKCÍ IFNγ?

Pelák O. (1,2), Říha P. (2), Keslová P. (2), Sedláček P. (2), Formánková R. (2), Hrušák O. (1,2), Kalina T. (1,2)

1 - CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2 - Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

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

Úvod: Po transplantaci hematopoetických kmenových buněk (HSCT) dochází k častým reaktivacím Cytomegaloviru (CMV), což je způsobeno post-transplantačním deficitem CMV specifické T-buněčné imunitní odpovědi. Jako prevence nebo léčba post-transplantačních komplikací je možné využití adoptivního přenosu CMV specifických T-lymfocytů od haploidentického dárce. Abychom mohli tento přístup využít, je nezbytné provádět vyšetřování potenciálních dárců na přítomnost vhodných CMV specifických T-lymfocytů.

Cíl: Cílem naší studie bylo najít vhodnou metodu pro pravidelné vyšetřování a separaci CMV specifických T-lymfocytů od možných dárců, tak abychom našli potenciálního dárce pro co největší množství našich pacientů. Taková včasná identifikace vhodného dárce může následně urychlit celou proceduru přípravy CMV specifických T-lymfocytů pro adoptivní přenos až o několik týdnů.

Materiál a metody: Pomocí průtokové cytometrie jsme celkem vyšetřili 55 rodičů od 35 pediatrických pacientů po HSCT na vhodnost buď pro přímou separaci CMV specifických buněk pomocí technologie CMV specifických Streptamerů (73%), nebo pro separaci pomocí izolace buněk produkujících IFNγ po stimulaci CMV antigeny (87%).

Výsledky: Souběžné vyšetření oběma metodami se nám podařilo provést celkem u 35 rodičů, kdy jsme identifikovali 29 rodičů vhodných pro separaci pomocí izolace přes IFNγ a 26 rodičů pro přímou separaci pomocí Streptamerů. Celkově jsme detekovali více CMV specifických buněk produkujících IFNγ (medián 1.073%z CD8+) než buněk, které byly označeny přímo CMV specifickým multimerem (medián 0,45% z CD8+). Tento rozdíl je nejspíše způsoben použitím směsi CMV antigenů pro stimulaci a následnou detekci produkce IFNγ, spíše než nižší přesností detekce pomocí CMV specifických multimerů. Pro ověření této hypotézy jsme provedli šesti denní proliferační test u třech dárců s CMV antigenem, který odpovídal HLA shodnému multimeru. U těchto tří dárců jsme detekovali proliferaci nejenom na buňkách pozitivních na CMV multimer, ale i na části multimer negativních buněk. Tyto výsledky odpovídají většímu množství CMV specifických buněk detekovaných pomocí produkce IFNγ a zároveň jasně ukazují, že existují klony T-lymfocytů, které odpovídají na antigenní stimulaci ale nerozeznávají imunodominantní peptid.

Závěr: Detekce CMV specifických T-lymfocytů pomocí produkce IFNγ identifikuje širší spektrum buněk, nicméně obě metody se nakonec ukázaly jako vhodné. Celkem jsme byli schopni najít vhodného dárce pro 85% (n=25) našich pacientů.

Podpora projektu: Podpořeno grantem AZV 15-26588A.

O-08. DIABETICKÁ RETINOPATIE A ZMĚNY NERVOVÝCH VLÁKEN HODNOCENÉ KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIÍ ROHOVKY

Česká Burdová M. (1), Mahelková G. (1,2)

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

Školitel: MUDr. Gabriela Mahelková, Ph.D.

Úvod: In vivo konfokální mikroskopie rohovky (CCM) představuje neinvazivní vyšetření, které umožní zobrazit jednotlivé vrstvy rohovky na buněčné úrovni včetně nervových vláken subbazálního nervového plexu. Mikrovaskulární komplikace diabetu představují závažné až život ohrožující stavy. Byla prokázána úzká souvislost mezi rozvojem diabetické neuropatie a změnami subbazálního nervového plexu rohovky. V rámci studie byli vyšetřeni pacienti s diabetes mellitus 1.typu (DM 1) s různým stupněm diabetické retinopatie a kontrolní skupina zdravých jedinců. Byla testována závislost stavu nervových vláken na stupni retinálního poškození.

Cíl: Testovat korelaci změn subbazálního nervového plexu rohovky a stupně diabetické retinopatie u pacientů s DM 1.

Materiál a metody: Konfokální mikroskopií rohovky bylo vyšetřeno 65 pacientů rozdělených do tří skupin podle stupně diabetické retinopatie (DR) a 20 zdravých dobrovolníků. Byl hodnocen počet všech vláken a počet hlavních nervových vláken (t-NFD, NFD), celková délka (NFL), počet bodu křížení nervových vláken (NBD) a jejich tortuozita (NFT).

Výsledky: NFD byla u pacientů bez DR, s lehkým a těžkým stupněm DR nižší než u zdravých jedinců ($p<0.0001$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). t-NFD byla nižší ve skupině bez DR, s lehkým a těžkým stupněm DR než u zdravých jedinců ($p=0.0127$, $p=0.0002$, $p<0.0001$). NFL byla nižší ve skupině bez DR, s lehkým a těžkým stupněm DR než v kontrolní skupině ($p=0.0004$, $p<0.0001$, $p<0.0001$). NFB bylo nižší ve skupině bez DR než s lehkým a těžkým stupněm DR i oproti zdravým jedincům ($p=0.0476$,$p=0.00427$, $p<0.0001$). NFT byla vyšší ve skupině s lehkým a těžkým stupněm DR oproti zdravým jedincům ($p=0.0077$, $p=0.0024$).

Po zohlednění věku, trvání DM 1 a hodnoty glykovaného hemoglobinu (HbA1C) byla NFD, t-NFD a NFL nižší ve skupině s těžkým stupněm DR než bez DR a s lehkým stupněm DR ($p=0.0013$, $p=0.0001$; $p=0.0011$, $p=0.0016$; $p=0.0076$, $p=0.0007$), NBD nižší ve skupině s těžkým stupněm DR než bez DR ($p=0.0203$) a NFT vyšší ve skupině s těžkou a lehkou DR než bez DR ($p=0.0175$, $p=0.0371$).

Závěr: Prokázali jsme snížení počtu, pokles délky a bodů křížení nervových vláken subbazálního nervového plexu u pacientů s DM 1 ve srovnání se zdravými jedinci. Jednotlivé parametry klesaly spolu s progresí diabetické retinopatie. Tortuozita nervových vláken byla naopak vyšší u DM 1 než u zdravých jedinců. Naopak jsme neprokázali efekt věku, trvání DM 1 a hodnoty HbA1C na sledované parametry.

Podpora projektu: Projekt koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 a projekt CZ.2.16/3.1.00/24022.

O-09. HISTOPATOLOGICKÝ SKÓROVACÍ SYSTÉM AKTIVITY CROHNOVY CHOROBY (GHAS) MÁ PRO PREDIKCI ROZVOJE KOMPLIKACÍ U DĚTÍ JEN LIMITOVANÝ VÝZNAM

Fabián O. (1), Hradský O. (2), Potužníková K. (2), Krsková L. (1), Kalfusová A. (1), Hornofová L. (1), Zámečník J. (1), Bronský J. (2)

1 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol; 2 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

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

Úvod: Nespecifické záněty střevní jsou jedním z nejčastějších chronických onemocnění gastrointestinálního traktu u dětí. Histopatologické vyšetření bioptických vzorků střevní sliznice je nezbytnou součástí multidisciplinárního diagnostického procesu. Role mikroskopie v průběhu kontrolních endoskopických vyšetření je však jiná. Měla by podávat informace o aktuální intenzitě a aktivitě zánětu a měla by sloužit jako jeden z klíčů pro další léčebný postup a případně mít i prediktivní hodnotu pro rozvoj komplikací. V případě ulcerózní kolitidy mikroskopie tuto roli splňuje. U Crohnovy choroby (CD) dospělých pacientů však studie dokládají její nízkou prediktivní hodnotu i špatnou korelaci s endoskopickým nálezem. Pro dětskou populaci na toto téma zatím existuje minimum dostupných informací.

Cíl: Cílem výzkumu bylo zjistit, zda je rozvoj komplikací u dětí s CD asociován s mikroskopickou intenzitou a aktivitou zánětu a zda mikroskopický nález koreluje s nálezem endoskopickým.

Materiál a metody: Byla provedena retrospektivní studie na 63 dětských pacientech s CD, diagnostikovaných ve FN Motol v letech 2009 – 2015. U všech pacientů byl znovu zhodnocen endoskopický nález a objektivizován použitím Simple Endoscopic Score (SES). Mikroskopická intenzita zánětu byla hodnocena použitím Global Histology Activity Score (GHAS). Dále byl zpětně počítán Pediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI). Zpětně jsme zjišťovali, zda pacienti dospěli do některé z námi definovaných komplikací a pokud ano, za jakou dobu. Mezi sledované komplikace patřily: striktura neprostupná pro endoskop či s prestenotickou dilatací, intraabdominální píštěl nebo absces, fistulující perianální postižení nebo nutnost zahájení anti-TNF terapie pro přetrvávající aktivitu zánětu nebo relaps onemocnění. Pacienti, kteří se již vstupně prezentovali některou z těchto komplikací, byli ze studie vyřazeni. Asociace byly testovány pomocí Coxovy regresní analýzy.

Výsledky: SES bylo vyšší u dětí s komplikacemi. Oproti tomu, skóre GHAS ani PCDAI nebylo asociováno s komplikovaným průběhem onemocnění. SES nad 15 bodů se navíc ukázalo jako nezávislý prediktor rozvoje komplikací CD. Dále byla prokázaná jen slabá korelace mezi SES a GHAS, a žádná korelace mezi GHAS a PCDAI.

Závěr: Histopatologický skórovací systém GHAS nelze doporučit jako ukazatel aktivity procesu ani jako vhodný prediktor rozvoje komplikací u dětí s CD. Oproti tomu, SES podává validnější informace o aktuální intenzitě postižení střeva a lépe koreluje s komplikovaným průběhem onemocnění.

O-10. REAKTIVNÍ PLICNÍ HYPERTENZE VYVOLANÁ TLAKOVÝM PŘETÍŽENÍM LEVÉ SRDEČNÍ KOMORY U LABORATORNÍHO POTKANA

Odintsov I. (1), Chovanec M. (1, 3), Vízek M. (2), Herget J. (1)

1 - Ústav fyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze; 2 - Ústav patofyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze; 3 - Oddělení kardiologie, Nemocnice na Homolce, Praha

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Milan Chovanec, Ph.D.

Úvod: V klinické praxi je plicní hypertenze (PH) vyvolána často levostranným srdečním selháním. U části těchto pacientů s venózní PH se na zvýšení středního tlaku krve v plicnici (PAP) podílí i plicní arteriální vazokonstrikce a/nebo remodelace prealveolárních cév (reaktivní PH). V naší práci jsme se zaměřili na studium chronické reaktivní PH vyvolané u laboratorního potkana. Srdeční selhání jsme vyvolali tlakovým přetížením levé srdeční komory částečnou intravaskulární obstrukcí ascendentní aorty polyetylénovou kanylou (OD 0.96 mm) zavedenou přes pravostrannou krční tepnu. Po 3 týdnech levostranného tlakového přetížení (LVEDP 1.34±0.07 mmHg v porovnání s kontrolami 0.41±0.13 mmHg, $p<0.0001$) se zvýšil PAP (23.0±0.6 mmHg v porovnání s kontrolními potkany 16.9±1.0 mmHg, $p<0.05$) a zvětšila se váha pravé srdeční komory (RV/BW poměr: 5.5±0.32.10-4 v porovnání s kontrolami 4.6±0.16.10-4, $p<0.05$).

Cíl: Zkoumali jsme, zda PH vyvolaná touto metodou je pasivní důsledek venózního městnání anebo se na jejím rozvoji podílí i arteriálního odpor plicní cirkulace (reaktivní PH).

Materiál a metody: Měření jsme provedli technikou dvojité okluze na izolovaných plicích dospělých laboratorních potkanů kmene Wistar perfundovaných solných roztokem s albuminem. Porovnávali jsme skupinu zvířat s PH vyvolanou tlakovým levostranným přetížením po dobu 3 týdnů (N=7) s kontrolami (N=7).

Výsledky: V arteriálním segmentu plicní cirkulace jsme zjistili větší pokles krevního tlaku (9.0±1.2 mmHg) oproti kontrolám (5.0±0,5 mmHg, $p<0.05$). Ve venózním segmentu plicní cirkulace jsme zjistili větší vzestup krevního tlaku (11.2±1.3 mmHg) oproti kontrolám (7.0±0.7 mmHg, $p<0.05$).

Závěr: Prezentujeme novou metodu vyvolání reaktivní PH tlakovým přetížením levé srdeční komory u laboratorního potkana. Výsledky ukazují, že PH vyvolána popsanou metodou aortální obstrukce je způsobena kombinací pasivně zvýšeného plicního venózního tlaku s aktivním podílem zvýšení odporu v arteriální části plicního cévního řečiště.

Podpora projektu: Podpořeno z GAUK 210216.

O-11. VYSOKÁ SHODA MEZI NEZÁVISLÝMI NEURORADIOLOGY PŘI HODNOCENÍ MRI ZMĚN U TUBERÓZNÍ SKLERÓZY

Beňová B. (2,5), Hulshof H. M. (1), Kynčl M. (3), Lequin M. (4), Bělohlavková A. (2,5), Ježdík P. (2), Braun K. P. J. (1), Kršek P. (2,5), Jansen F. E. (1)

1 - Department of Pediatric Neurology, Brain Center Rudolf Magnus, University Medical Center, Utrecht, the Netherlands.; 2 - Klinika dětské neurologie 2. lékařské fakulty UK a FN Motol; 3 - Klinika zobrazovacích metod 2. lékařské fakulty UK a FN Motol; 4 - Department of Radiology, University Medical Center, Utrecht, the Netherlands.; 5 - 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

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

Úvod: U pacientů s tuberózní sklerózou (TSC) pozorujeme mnohočetné anatomické změny na mozku; doposud neexistuje standardní postup jejich radiologického hodnocení. Ze zkušenosti zúčastněných center usuzujeme, že tyto změny lze objektivizovat a hodnotit pomocí standardizovaného protokolu, který může přispět k objektivní lokalizaci těchto změn spojených s farmakorezistentní epilepsií.

Cíl: Autoři vyvinuli protokol k hodnocení změn asociovaných s TSC na předoperačním MRI a následně zhodnotili interobserver variabilitu (IOV) pro jednotlivé sledované parametry mezi dvěma nezávislými neuroradiology.

Materiál a metody: Dva nezávislí neuroradiologové ze 2 evropských center (MK, ML) zhodnotili předoperační MRI u 31 pacientů s TSC , jenž podstoupili epileptochirurgii ve zmiňovaných centrech, bez znalosti klinických a neurofyziologických dat. Sledovanými parametry byly změny typické pro TSC (tubery, kalcifikace, cysty, subependymální nodulus - SEN, subependymální obrovskobuněčný astrocytom - SEGA), změny typické pro fokální kortikální dysplázii (FCD, setření hranice šedé a bílé hmoty, „transmantle" znak, zesílení kortexu) a dále největší oblast postižená FCD. Mozek byl pro účely hodnocení rozdělen do 22 regionů: frontální mesiální, laterální, basální, polární, centrální; temporální mesiální a laterální; okcipitální mesiální a laterální; parietální mesiální a laterální. Jako předpokládanou epileptogenní zónu jsme určili největší postiženou oblast s nejčetnějšími změnami charakteru FCD. Pomocí kappa statistiky jsme spočetli interobserver variabilitu pro 9 sledovaných parametrů, 22 mozkových regionů, největší postiženou oblast a předpokládanou epileptogenní zónu.

Výsledky: Celková kappa pro všechny regiony a parametry dosáhla téměř perfektní shody (total score kappa 0.91; [0.91-0.92], p<0.001); taktéž jednotlivě pro největší postiženou oblast (0.98; [0.96-0.99], p<0.001) a pro předpokládanou epileptogenní zónu (0.94; [0.92-0.96], p<0.001).

Závěr: Navrhovaný protokol hodnocení vykazuje téměř perfektní shodu mezi dvěma experty v neuroradiologii pro všechny sledované parametry a lze jej tedy použít ke standardnímu hodnocení MRI mozku u pacientů s TSC a farmakorezistentní epilepsií. Protokol plánujeme dále využít k detailnímu studiu neurozobrazovacích charakteristik epileptogenní zóny u TSC.

Podpora projektu: Studie byla podpořena grantem GA UK: 134415.

O-12. CELOEXOMOVÉ SEKVENOVÁNÍ U DĚTÍ S IMUNITNÍ CYTOPENIÍ: APLIKACE A KLINICKÝ DOPAD

Svatoň M. (1), Kanderová V. (1), Smíšek P. (1), Suková M. (1), Šrámková L. (1), Kayserová J. (2), Stuchlý J. (1), Žaliová M. (1), Freiberger T. (3), Elblová L. (4), Průhová Š. (4), Vlčková M. (5), Pospíšilová D. (6), Blatný J. (7), Procházková D. (8), Mejstříková E. (1), Kalina T. (1), Šedivá A. (2), Starý J. (1), Trka J. (1), Froňková E. (1)

1 - Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 2 - Ústav imunologie 2.LF UK a FN Motol, Praha; 3 - Genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno; 4 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha; 5 - Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha; 6 - Dětská klinika FN Olomouc; 7 - Oddělení dětské hematologie FN Brno; 8 - Dětská klinika, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, Krajská zdravotní a.s.

Školitel: MUDr. Eva Froňková, Ph.D.

Úvod: Sekvenování nové generace (NGS) se stává hlavní diagnostickou metodou geneticky podmíněných onemocnění. Vedle celoexomového sekvenování (WES) zahrnujícího všechny kodující oblasti genů se využívá také sekvenování vybraných panelů genů pro určitá onemocnění.

Cíl: Naším cílem bylo zhodnotit přínos a úskalí WES jako diagnostické metody u skupiny pacientů trpících autoimunitní hemolytickou anémii (AIHA), idiopatickou thrombocytopenickou purpuru (ITP), imunitní neutropenii, anebo kombinaci těchto onemocnění (Evansův syndrom). Většina pacientů v studii měla další symptomy imunitní dysregulace (ID) včetně běžného kombinovaného imunodeficitu (CVID), lymfoproliferace a autoimunitních onemocnění (DM 1, AI thyreoiditida).

Materiál a metody: Provedli jsme celoexomové sekvenování u 30 pacientů (věk 0-39 let). Sekvenační knihovny byly připraveny pomocí Agilent SureSelectXT Human All Exon V5/6+UTR kitu a sekvenovány na přístroji Illumina NextSeq 500.

Výsledky: U deseti pacientů (33%) jsme byly schopni identifikovat pravděpodobné kauzální varianty onemocnění. Tři pacienti (sourozenci) byli heterozygoti pro dříve nepopsanou variantu v genu CTLA4, vedoucí k CTLA4 deficitu, další novou variantu v CTLA4 nesla pacientka současně s patogenní variantou v genu TSC1, vedoucí ke kombinovanému fenotypu. U jednoho pacienta jsme našli aktivační mutaci ve STAT3, která byla nedávno popsána u ID. U tří pacientů jsme nalezli variaty v genech typicky popsaných u protilátkových deficitů (TACI, CD40L, IKBKG). Jeden pacient s chronickou AIHA a ITP nesl variantu v genu TERT. Jeden pacient s Evansovým syndromem byl heterozygot pro variantu v genu KMT2D, způsobující syndrom Kabuki. U čtyř ze zbývajících pacientů jsme nalezli varianty v genech, které jsou popsány u syndromů ID, ale vyskytují se také u zdravých jedinců (CASP10, PIK3CD). Dvanáct pacientů (36%) neslo pouze heterozygotní mutaci v genech spojených s AR onemocněním (např. ITK, LRBA) nebo jsme u nich zatím nenašli žádnou relevantní aberaci. U čtyř pacientů jsme nalezli nové varianty v genech, které hrají důležitou roli v imunitní regulaci, ale prokázání jejich patogenicity vyžaduje rozsáhlé funkční studie.

Závěr: WES umožňuje identifikaci genetické příčiny onemocnění zhruba u jedné třetiny pacientů. Přesto, že cílené sekvenování genových panelů snižuje náklady na vyšetření a zjednodušuje analýzu výsledků, panely se rychle stávají obsoletními. Vzhledem k heterogenitě genetických příčin syndromů imunitní dysregulace, doporučujeme využití WES před cíleným sekvenováním.

Podpora projektu: NV15-30626A, 16-32568A, P302/12/G101

O-13. ANALOGY PREAGNANOLONU PREFERENČNĚ INHIBUJÍ TONICKY OPROTI FAZICKY AKTIVOVANÝM NMDA RECEPTORŮM

Krausová B. (1,3), Vyklický V. (1), Smejkalová T. (1), Balík A. (1), Kořínek M. (1), Borovská J. (1), Horák M. (1), Chvojková M. (1), Kletečková L. (1), Valeš K. (1), Černý J. (1), Nekardová M. (2), Chodounská H. (2), Kudová E. (2), Vyklický L. (1)

1 - Fyziologický ústav AV ČR Praha, 2 - Ústav organické chemie a biochemie AV ČR Praha, 3 - 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Školitel: prof. MUDr. Ladislav Vyklický, DrSc.

Úvod: Rychlá, fazická aktivace synaptických N-methyl-D-aspartátových receptorů (NMDARs) hraje klíčovou roli při synaptické plasticitě, která zprostředkovává učení a paměť. Avšak nadměrná aktivace NMDARs pomocí tonicky zvýšeného glutamátu může vést k excitotoxicitě, jež se pokládá za základ řady akutních a chronických neurologických poruch. Je zde proto velký zájem o farmakologické látky, které by byly schopny selektivně blokovat tonicky aktivované NMDARs, aniž by ovlivnily normální synaptický přenos.

Cíl: Cílem této studie bylo zkoumat účinek endogenního neurosteroidu pregnanolon sulfátu (PA-S) a jeho analogů na tonicky a fazicky aktivované NMDARs.

Materiál a metody: Ke studiu účinku pregnanových analogů na NMDARs jsme využili elektrofyziologická snímání na HEK293 buňkách exprimujících rekombinantní GluN1/GluN2B receptory a na hipokampálních mikroostrůvkových kulturách z potkana.

Výsledky: Výsledky ukazují, že PA-S je přibližně 2-krát účinnější při inhibici tonicky oproti fazicky aktivovaným NMDARs. Testovali jsme také řadu syntetických analogů pregnanolonu s různě dlouhým karboxylovým zbytkem na uhlíku C3. Schopnost těchto analogů inhibovat tonicky aktivované NMDARs se zvyšovala s rostoucí délkou postranního řetězce na C3. Pregnanové analogy s delším řetězcem vykazovaly oproti PA-S pomalejší nástup inhibice, což spolu s use-dependentním mechanismem účinku přispívá k jejich preferenční inhibici tonicky aktivovaných NMDARs. Pregnanolon hemipimelát (PA-hPim), nejvíce selektivní analog s nejdelším substituentem, neměl žádný vliv na NMDAR složku EPSCs, zatímco účinně inhiboval proudy vyvolané tonickou aplikací glutamátu. Behaviorální experimenty dále ukázaly, že PA-hPim má neuroprotektivní vliv a nevyvolává u testovaných zvířat vedlejší psychomimetické účinky.

Závěr: Ukázali jsme, že PA-S a jeho syntetické analogy přednostně inhibují tonicky oproti synapticky aktivovaným NMDARs a vykazují neuroprotektivní aktivitu, bez vedlejších psychomimetických účinků. Naše výsledky přispívají k pochopení vlivu neurosteroidů na neuronální funkci a mají potenciální terapeutický význam pro vývoj léků s neuroprotektivním působením.

Podpora projektu: Tato práce vznikla za podpory GACR P303/12/1464; 5310 P304/12/G069, TACR TE01020028, GAUK 1520-243-253483; 800313/2012/2.LF, RVO 67985823, CBV (CZ.1.07/2.3.00/30.0025) and BIOCEV (CZ.1.05/1.1.00/02.0109).

O-14. THYMOMY - EXPRESE MOLEKUL DRÁHY WNT/ß-CATENIN, E-CADHERINU A JEJICH POTENCIÁLNÍ VÝZNAM V ONKOGENEZI A DIAGNOSTICE

Vodička P. (1), Krsková L. (1), Odintsov I. (1), Schützner J. (2), Zámečník J. (1)

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

Pregraduální student

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

Úvod: Nádory z thymických epitelových buněk (thymomy) jsou vzácné. Patří do skupiny tzv. nádorů nejistého biologického chování – většinou jsou poměrně indolentní a řešením je chirurgická resekce. Přesto existuje část thymomů, které se chovají invazivně a zhoršují prognózu pacienta recidivujícím průběhem, infiltrací okolních orgánů či metastazováním. O molekulární patogenezi thymomů existuje doposud jen minimum informací. Ty však mohou být důležité nejen pro diagnostickou identifikaci agresivnějších subtypů, ale také pro jejich potenciální cílenou léčbu.

Cíl: Naším cílem bylo studovat expresi několika molekul dráhy wnt/ß-catenin a E-cadherinu u thymomů na proteinové úrovni i na úrovni exprese mRNA, a zjistit případné korelace s klinickými parametry onemocnění či jejich diagnostický a prognostický význam.

Materiál a metody: Do studie jsme zahrnuli vzorky 27 thymomů a 8 kontrol. Skupina thymomů zahrnovala jak thymomy s medulární diferenciací typu A (n = 5 pacientů), tak kortikální thymomy typu B1 (n = 5 pacientů), B2 (n = 10 pacientů) a B3 (n = 7 pacientů). Expresi ß-cateninu a E-cadherinu jsme studovali imunohistochemicky. V každém vzorku jsme také stanovovali relativní expresi mRNA genů CTNNB1, MYCC, CCND1, AXIN2 a CDH1 pomocí real-time kvantitativní RT-PCR (RQ-RT-PCR) s kvantifikací pomocí Ct metody. U pacientů jsme sledovali klinické parametry onemocnění (věk, pohlaví, asociaci s myasthenia gravis, invazivní chování, metastázy).

Výsledky: Exprese ß-cateninu i E-cadherinu byla na proteinové úrovni i na úrovni mRNA signifikantně zvýšená u všech thymomů v porovnání s kontrolami. U neinvazivních thymomů typu A, B1 a B2 byla lokalizace obou proteinů cytoplazmatická, na rozdíl od invazivní komponenty thymomů typu B2 a u všech thymomů typu B3, kde se ß-catenin i E-cadherin exprimoval membránově. mRNA exprese ostatních studovaných molekul wnt dráhy byla u všech thymomů také zvýšená. Membránová exprese ß-cateninu i E-cadherinu korelovala s invazivním chováním nádorů. Invazivně se chovaly signifikantně častěji nádory bez asociace s myasthenia gravis.

Závěr: Tato studie dokumentuje zvýšenou expresi molekul dráhy wnt/ß-catenin a E-cadherinu u lidských thymomů, což ukazuje na možnou roli v jejich onkogenezi. Imunohistochemická detekce membránové exprese ß-cateninu a E-cadherinu je navíc využitelná v diagnostice thymomů.

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

O-15. DYNAMIKA SOMATICKÝCH MUTACÍ U VYSOCE RIZIKOVÝCH PACIENTŮ S MYELODYSPLASTICKÝM SYNDROMEM LÉČENÝCH AZACITIDINEM

Polgárová K. (1,2), Kulvait V. (1), Vargová K. (1), Minařík Ľ. (1,2), Zemanová Z. (3), Jonášová A. (1,2), Stopka T. (1,2)

1 - 1. LF UK, BIOCEV, 2 - 1. Interní klinika – Klinika hematologie, VFN, Praha, 3 - Centrum nádorové cytogenetiky, VFN, Praha

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Stopka, Ph.D.

Úvod: Myelodysplastický syndrom (MDS) je klonální onemocnění kmenové buňky s dysplastickou neefektivní hematopoézou a rizikem transformace do akutní myeloidní leukémie (AML). Somatické mutace nacházíme u asi 90% pacientů s MDS. U části mutovaných genů byl definován i jejich vztah k fenotypu nemoci, odpovědi na léčbu, či prognóze.

Cíl: Cílem naší práce bylo zjistit, jakým způsobem terapie Azacitidinem (AZA) ovlivňuje klonální architekturu kostní dřeně (KD) pacientů a její dynamiku a zdali léčba pomocí AZA vede k selekci AZA-rezistentních klonů definovaných konkrétními mutacemi.

Materiál a metody: Za použití platformy Illumina Myeloid TruSight panel jsme analyzovali duplikáty 97 vzorků KD 38 pacientů s MDS s vysokým rizikem před a v průběhu terapie AZA. Germinální varianty byly odfiltrovány za použití nemaligní CD3+ frakce. Kohortu tvořily následující MDS subtypy: RAEB2 (n=17, 46%), RAEB1 (n=13, 35%), AML/MDS (n=5, 13%), CMML (n=2, 4%), a RCMD (n=1, 2%); 19% pacientů mělo komplexní karyotyp. Medián celkového přežití byl 24 měsíců, přežití bez progrese bylo 16 měsíců; kompletní či morfologické kompletní remise dosáhlo 43% pacientů, 60% dosáhlo hematologického zlepšení; 65% transformovalo do AML.

Výsledky: Celkem bylo u všech pacientů detekováno 125 somatických variant s alelickou frekvencí (VAF) >5%. Většina pacientů (92%) nesla alespoň 1 mutaci v jednom z 54 analyzovaných genů (rozmezí 1-9). Nejčastěji mutované geny byly TP53 (n=11), TET2 (n=10), CUX1 (n=9), BCORL1 (n=8) a ASXL1 (n=7). V souladu s publikovanými daty jsme potvrdili nepříznivý vliv mutací v genech regulujících buněčný cyklus jako TP53 (přežití 14.8 měsíců) nebo CDKN2A (12.3 měsíců).

U 37% genů, včetně TET2, BCORL1, CDKN2A a EZH2 jsme nepozorovali významné změny ve VAF v průběhu terapie, což poukazuje na přítomnost AZA-rezistentních klonů a je spojeno s kratším přežíváním (14 měsíců). Naopak pacienti, s poklesem VAF jednotlivých variant, čili s AZA-zprostředkovanou inhibicí růstu maligního klonu, přežívali déle (31 měsíců). Další dynamické vzorce byly pozorované u pacientů s dosažením kompletní remise různého trvání, přičemž nárůst VAF u klonů, které byly zpočátku AZA-inhibované, předcházel u 10% pacientů relaps onemocnění.

Závěr: Změny v klonální architektuře u pacientů s MDS korelují s průběhem onemocnění. Sledování těchto změn umožňuje predikovat přítomnost klonů potenciálně rezistentních na AZA a předvídat ztrátu odpovědi na uvedenou terapii.

Podpora projektu: AZV16-27790A, GAČR16-05649S, UNCE204021, LH15170, ProgresQ26/Q28, NPU2 LQ1604, RVO-VFN64165

O-16. HUMAN MESENCHYMAL STROMAL CELLS FROM BONE MARROW AND ADIPOSE TISSUE IMPROVE WOUND HEALING IN DIABETIC RAT MODEL

Kočí Z. (1,2), Bém R. (3), Kubinová Š. (1), Dubský M. (3), Turnovcová K. (4) and Jirkovská A. (3)

1 - Department of Biomaterials and Biophysical Methods, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic; 2 - Department of Neuroscience, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 3 - Diabetes Centre, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic; 4 - Department of Tissue Culture and Stem Cells, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Supervisor: PharmDr. Šárka Kubinová, Ph.D.

Introduction: The biological properties of mesenchymal stromal cells (MSCs) have the potential to provide a favourable environment for wound healing and angiogenesis. This is highly demanded in diabetic patients, where prolonged and incomplete wound healing result in diabetic ulcer formation, and in many cases even limp amputation.

Aims: To evaluate the therapeutic effect of MSC from various sources, we explored the process of full-thickness wound healing in diabetic rats treated with human MSCs isolated from bone marrow (BM-MSCs), adipose tissue (ASCs), or bone marrow mononuclear cells (BMC) obtained from diabetic and nondiabetic donors.

Materials and Methods: BMC were isolated using Gelofusine separation, BM-MSCs and ASCs were isolated and cultured according to standard protocols. Diabetes was induced in Wistar rats by a single intraperitoneal injection of streptozocin 64 mg/kg and confirmed 48 h later by a blood glucose level higher than 15 mmol/l. After two weeks, two full-thickness skin wounds, 0.8 cm in diameter, were created by a punch biopsy at the back of each animal. The cell suspension (200 000 of BMC, 2 000 000 of BM-MSCs and ASCs) was injected into the base of the wound, and its close surroundings. The speed of wound closure and vessel index (VI), assessed as number of CD31+ cells in wound area, were determined after 3, 7 and 14 days.

Results: A significant acceleration of wound contraction was seen in all cell treated groups in comparison with controls after 7 and 14 days (BMC $p<0.001$; BM-MSCs $p<0.01$; ASCs $p<0.05$). No difference was observed between groups treated with cells from diabetic and nondiabetic donors. Also, VI was significantly higher in all cell-treated groups in comparison to controls ($p<0.05$).

Conclusions: Both diabetic and nondiabetic stromal cells improved healing of full-thickness wounds in diabetic rats. Our preclinical study demonstrates that BMC, BM-MSCs and ASCs from both, diabetic and nondiabetic donors, represent safe and efficient cell source for improvement of wound healing in diabetic patients.

Support: This project was supported by MEYS of the Czech Republic under the NPU I (LO1309), EATRIS LM2015064.

O-17. MUSKULOSKELETÁLNÍ SYSTÉM U DĚTÍ A ADOLESCENTŮ SE ZÁNĚTLIVÝMI STŘEVNÍMI ONEMOCNĚNÍMI

Maratová K. (1), Hradský O. (1), Bronský J. (1), Matysková J. (1), Mynářová R. (2), Čopová I. (1), Souček O. (1), Šumník Z. (1)

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

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

Úvod: Snížená kostní denzita (BMD) a zvýšená incidence fraktur patří mezi popsané extraintestinální komplikace pacientů se zánětlivými střevními onemocněními (IBD). Etiopatogeneze těchto komplikací je multifaktoriální povahy, kromě malabsorpce a zvýšené zánětlivé aktivity může hrát důležitou roli také deficit vitamínu D.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnocení muskuloskeletálních funkcí a posouzení asociace mezi sérovou koncentrací 25-hydroxyvitamínu D (25-OHD) a svalovými funkcemi a parametry kostní pevnosti u dětí a adolescentů s IBD. Druhým cílem bylo stanovení prevalence asymptomatických vertebrálních fraktur (VF) u těchto dětí.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 70 dětí s IBD (39 chlapců a 31 dívek) starších 6 let, medián věku byl 13,8 let. Volumetrická BMD a geometrické parametry kosti byly vyšetřovány prostřednictvím periferní kvantitativní počítačové tomografie na nedominantní tibii. Dynamické svalové funkce jako je maximální volní svalová síla (Fmax) a výkon (Pmax) byly vyšetřeny pomocí mechanografie. Pohlavně a výškově specifická Z-skóre svalových funkcí byla vypočítána na základě vlastních publikovaných referenčních dat. VF byly hodnoceny za použití semikvantitativní standardizované klasifikace podle Genanta. Rozdíly oproti normě byly testovány pomocí jednovýběrového t-testu.

Výsledky: Svalové funkce adjustované na tělesnou hmotnost se u dětí s IBD nelišily od referenční populace. Zaznamenána byla snížená trabekulární BMD (Z-skóre -1,6; p<0,001) a šíře kortikální kosti (Z-skóre -0,7; p<0,001). Kortikální BMD (Z-skóre 1,1; p<0,001) byla naopak zvýšená. Asociace mezi 25-OHD a svalovými a denzitometrickými parametry nebyla prokázána. VF byla prokázána pouze u jednoho z našich pacientů.

Závěr: IBD diagnostikovaná v dětském věku ovlivňuje pevnost kosti, ale nikoliv svalové funkce. Tyto změny nejsou asociovány se sérovými koncentracemi 25-OHD. Posoudit vliv substituce vitamínem D na svalové funkce a kostní parametry je úkolem následné intervenční studie. Laterogram páteře není u asymptomatických dětí s IBD indikován.

O-18. JE POOPERAČNÍ PRŮBĚH U PACIENTŮ S HIRSCHSPRUNGOVOU CHOROBOU OVLIVNĚN MUTACÍ V RET PROTO-ONKOGENU?

Poš L. (1), Václavíková E. (2), Rousková B. (1), Jaroščiáková S. (1), Škába R. (1)

1 - Klinika dětské chirurgie, UK 2. LF a FN Motol, Praha 2 - Oddělění molekulární endokrinologie, Endokrinologický ústav, Praha

Školitel: prof. MUDr. Richard Škába, CSc.

Úvod: Riziko medulárního karcinomu štítné žlázy (MCT) pro pracienty s Hirschprungovou chorobou (HD), kteří jsou nositeli mutace v RET proto-onkogenu je prokázáno. RET proto-onkogen však ovlivňuje také vývoj Peyerských plaků ve střevě, což by mohlo pro pacienty s HD a RET mutací představovat zvýšené riziko enterokolitidy (HAEC) i dalších pooperačních komplikací.

Cíl: Porovnat výskyt HAEC a dalších pooperačních komplikací u pacientů s HD bez RET mutace a HD pacientů s mutací RET proto-onkogenu za použití analýzy párové shody.

Materiál a metody: Retrospektivní analýza dokumentace u 213 geneticky testovaných pacientů s HD, kteří byli operováni v letech 1979 až 2015. Pacienti byli párováni dle pohlaví, délky aganglionárního úseku, typu operačního výkonu, roku operace a věku v době operace.

Výsledky: V souboru bylo 23 pacientů s mutací (RET-HD). Čtyři pacienti byli ze studie vyloučeni. 2 pacienti s celkovou střevní aganglionózou a 1 pacient excesivní střevní aganglionózou. Jeden pacient měl nedostatečnou dokumentací. Spárováno bylo tedy 38 pacientů. V každé skupině bylo 7 pacientů s totální aganglionózou (TCA), 2 s dlouhou formou aganglionózy (LCA) a 10 s klasickou rektosigmoideální formou HD (RS). HAEC se vyskytla u 10(53%) RET-HD pacientů (4 RS, 1 LCA, 5 TCA) a u 8(42%) HD pacientů (3 RS, 5 TCA). Striktura anastomózy vznikla u 6(32%) RET-HD pacientů (4 RS, 2 TCA) a u 4(21%) HD pacientů (2 RS, 2 TCA). U 5 pacientů (4 RET-HD, 1 HD) musela být striktura resekována, u 5 pouze dilatována. Vznik striktury byl statisticky významně vyšší u RET-HD (p=0,03). Pooperační průběh zcela bez komplikací mělo 8 RETM-HD pacientů a 9 HD pacientů. U jednoho z RET-HD pacientů (TCA, mutace p.Tyr791Phe) s HAEC a strikturou propukla ve věku 14 let akutní lymfoblastická leukemie, jedna RET-HD pacientka podstoupila ve věku 23 let exstirpaci teratomu ovaria (RS, mutace p.Tyr791Phe) a u další RETM-HD pacientky (TCA, mutace p.Cys609Tyr) se objevilo klinické stadium MTC. Nejčastější mutace byla p.Tyr791Phe ve 13. exonu, kterou jsme zachytili u 5/10 HAEC pacientů a 5/6 pacientů se strikturou.

Závěr: Nalezli jsme statisticky významně vyšší výskyt pooperačních komplikací včetně HAEC u pacientů s mutací RET proto-onkogenu. Zároveň se mutace RET proto-onkogenu zdá být riziková i pro jiná onkologická onemocnění než MTC. Doporučujeme proto genetické vyšetření všech pacientů s HD.

Podpora projektu: Granty AZV 16-32665A and MH CR - RVO (Endokrinologický ústav, Praha, 00023761)

O-19. LITIUM BRÁNÍ RŮSTOVÉMU SELHÁNÍ ZPŮSOBENÉMU GLUKOKORTIKOIDY V KULTIVOVANÝCH FETÁLNÍCH POTKANÍCH METATARZECH

Souček O. (1,2), Zaman F. (2), Sävendahl L. (2)

1 - Peditrická klinika 2.LF UK a FN Motol, Praha, Česká Republika, 2 - Klinika pediatrie a gynekologie, Karolinska Institutet, Stockholm, Švédsko

Školitel: MUDr. Ondřej Souček, Ph.D.

Úvod: Glukokortikoidy jsou běžnou součástí standardní léčby mnoha chronických onemocnění u dětí. Kromě jejich žádoucího protizánětlivého a imunosupresivního účinku způsobují glukokortikoidy též růstové selhání a osteoporózu. Tyto vážné vedlejší účinky byly částečně vysvětleny poruchou Wnt/beta-kateninové signální dráhy. V současnosti neexistuje adekvátní prevence nežádoucích účinků glukokortikoidů na kostní tkáň.

Cíl: Cílem studie bylo testovat hypotézu, že litium, které aktivuje Wnt/beta-kateninovou signální dráhu, může zabránit poruše longitudinálního růstu kostí způsobené glukokortikoidy.

Materiál a metody: Fetální potkaní metatarzy byly vypreparovány 19. den březosti a kultivovány (7-9 metatarzů v každé skupině) v kontrolním mediu (C), 1μM dexamethazonu (Dexa), 1mM LiCl (L1), 10mM LiCl (L10) nebo v mediu s kombinací obou látek (Dexa+L1 a Dexa+L10) po dobu 12 dní. Digitální obraz metatarzů byl zaznamenán á 2-3 dny a jejich délka byla změřena v programu ImageJ. Byl spočítán nárůst délky mezi dny 0 a 12. Statistické analýzy byly provedeny v programu R.

Výsledky: Délka metatarzů v kontrolním mediu se zvětšila o 141±12%. Naproti tomu, metatarzy kultivované v Dexa narostly pouze o 115±12% (p=0.001 vs C). Růst v litiu byl srovnatelný s kontrolní skupinou (147±15% a 146±16% ve skupině L1, resp. L10). Metatarzy kultivované v Dexa+L10 narostly o 147±20%, což bylo významně více v porovnání s metatarzy kultivovanými pouze v Dexa (p=0.004). Nižší koncentrace litia nezabránila růstovému selhání metatarzů in vitro způsobenému glukokortikoidy (121±19% vs. 115±12% pro L1+Dexa, resp. Dexa; p=0.44).

Závěr: Chlorid lithný [10mM] vykazuje preventivní účinky proti glukokortikoidy způsobenému růstovému selhání in vitro kultivovaných fetálních potkaních metatarzů. Tento efekt je velmi pravděpodobně způsoben aktivací Wnt/beta-kateninové signální dráhy. Vzhledem k tomu, že LiCl se již klinicky používá v psychiatrii, mohou tato data případně otevřít cestu k novým přístupům v prevenci glukokortikoidy způsobeného růstového selhání u dětí.

Podpora projektu: Podpořeno grantem odborné společností ESPE (ESPE Research Fellowship), sponzorováno firmou NovoNordisk A/S.

O-20. ABNORMÁLNÍ VENTILAČNÍ ODPOVĚĎ NA HYPEROXII U KOJENCŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

Koucký V. (1), Koucký M. (2), Pohunek P. (1)

1 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; 2 - Katedra aplikované matematiky, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická, Technická Univerzita v Liberci

Školitel: prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

Úvod: Hyperoxie (HO) významně ovlivňuje dechový vzor zejména u kojenců. Bifazická odpověď na HO (počáteční pokles ventilace následovaný vzestupem do nebo nad normoxické hodnoty) je všeobecně známá. Narušená poporodní adaptace alteruje tuto fyziologickou reakci, není však jasné, zda existují i jiné faktory mající vliv na charakter této odpovědi.

Cíl: Zjistit, zda má diagnóza CF jako taková vliv na charakter ventilační reakce na hyperoxii nezávisle na časných postnatálních vlivech.

Materiál a metody: Studijní skupina zahrnovala 17 kojenců s klasickou formou CF, kontrolní skupina 17 kojenců s patologií horních cest dýchacích či rizikem vývoje astmatu (dle modifikovaného prediktivního indexu pro astma). Děti z prematurity, s prolongovanou poporodní adaptací, potřebou suplementace kyslíku nebo ventilační podpory v novorozeneckém období do studie zařazeny nebyly. U všech kojenců byla stanovena dechová frekvence (RR), dechový objem (Vt) a minutová ventilace (VE) za normoxie (NO) a během prvních 10, 20 a 30 vteřin HO. Měření proběhlo na přístroji Exhalzyer D, Ecomedics, syrová data byla zpracována námi vyvinutým softwarem. Čas odpovědi na HO (HRT) byl stanoven jako čas od počátku HO do prvního ze 4 po sobě následujících dechů s VE pod 5. percentilem normoxických hodnot. Za bifazickou odpověď byl považován pokles VE pod 5. percentil normoxických hodnot trvající minimálně 6 dechů ≈ 10 s následovaný vzestupem do normoxických hodnot. Rozdíly mezi studijní a kontrolní skupinou byly testovány pomocí t-testu, rozdíly mezi VE, Vt a RR za NO a HO pomocí párového testu a rozdíly v počtu bifazických reakcí u jednotlivých skupin pomocí jednostranného testu rozdílu dvou nezávislých poměrů.

Výsledky: Nebyl signifikantní rozdíl v parametrech VE, Vt a RR mezi skupinami za NO a HO (po 10, 20 i 30 s). Bifazická reakce na hyperoxii byla ve studijní skupině signifikantně méně častá (63 % vs. 80 %, p=0,04). HRT kontrolní skupiny byl 3,64±1,72 s (mean±SD), zatímco u studijní skupiny 5,02±1,79 s, rozdíl signifikantní (p=0,03).

Závěr: Funkce periferních receptorů má významný vliv na ventilaci a hraje důležitou roli v adaptaci na hypoxii. Charakter této reakce může být narušen různými vlivy z časného poporodního období (abnormální přenastavení chemoreceptorů) v důsledku předčasného porodu, nedostatečné oxygenace atd. Naše výsledky ukazují, že i samotná diagnóza CF ovlivňuje kvalitu i kvantitu reakce na hyperoxii. Funkce periferních chemoreceptorů je tedy u pacientů s CF abnormální nezávisle na časných postnatálních vlivech.

Podpora projektu: Podpořeno z grantu GAUK 60715.

O-21. VLIV KOMBINOVANÉ BLOKÁDY SOLUBILNÍ EPOXID HYDROLÁZY A ACE NA PRŮBĚH CHRONICKÉHO SRDEČENÍHO SELHÁNÍ: STUDIE NA REN-2 HYPERTENZNÍM TRANSGENNÍM POTKANU

Kala P. (1,2), Sedláková L. (2), Škaroupková P. (2), Vaňourková Z. (2), Kopkan L. (2), Červenka L. (1,2)

1 - Ústav patologické fyziologie 2.LF UK, Praha; 2 - Centrum Experimentální Medicíny, IKEM, Praha

Pregraduální student

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

Úvod: V naší nedávné studii jsme prokázali, že u Ren-2 transgenních hypertenzních potkanů (TGR), což je model hypertenze závislý na zvýšené aktivitě renin-angiotenzinového systému (RAS), je progrese chronického srdečního selhání (CHSS) indukovaného objemovým přetížení skrze aorto-kavální píštěl (AKP) spojena se sníženou tkáňovou koncentrací epoxyeikosatrienových kyselin (EETs). Zjistili jsme, že chronická léčba inhibitorem solubilní epoxid hydrolázy (sEH), což je enzym degradující EETs, zvýšila u AKP TGR tkáňové koncentrace EETs, zlepšila přežívání, aniž by ovlivnila aktivitu RAS. Chronická léčba inhibitorem angiotenzin-konvertujícího enzymu (ACEi) vykazovala ještě příznivější účinky na progresi CHSS u AKP TGR aniž by ovlivnila tkáňovou koncentraci EETs. Učinili jsme závěr, že chronická léčba inhibitorem sEH a ACEi, každá ovlivněním jiného vazoaktivního systému, zmírňuje progresi CHSS u AKP TGR.

Cíl: Cílem této studie bylo ověřit hypotézu, že chronická kombinovaná léčba pomocí inhibitoru sEH a ACEi by měla vykazovat aditivní příznivé účinky na průběh CHSS u AKP TGR léčených pouze ACEi (což je uznávaný „zlatý terapeutický standard").

Materiál a metody: AKP TGR potkani byli použiti jako model CHSS (iniciální n = 36 v každé skupině). AKP byla založena v týdnu -1 a léčba byla zahájena týden po založení AKP (týden 0). Doba sledování byla 50 týdnů. Zdánlivě operovaní transgen-negativní, normotenzní (HanSD) potkani byli použiti jako kontrolní skupina.

Výsledky: Všichni zdánlivě operovaní HanSD potkani přežili do konce experimentu. Neléčení AKP TGR začínali umírat v týdnu +2 a v týdnu +10 žilo pouze 9 % zvířat, v týdnu +29 byla již 100 % mortalita. Léčba pomocí ACEi významně zlepšovala přežívání, neboť v týdnu +10 žilo 90 % zvířat a na konci experimentu žilo 86 % zvířat. Chronická kombinovaná léčba pomocí inhibitoru sEH a ACEi nezlepšila přežívání u AKP TGR ve srovnání se skupinou léčenou pouze ACEi. Naopak počínaje týdnem +28 vykazovala tato skupina horší přežívání a rovněž přežití na konci experimentu bylo signifikantně horší (53 % vs 86 %, $p<0.05$).

Závěr: Naše výsledky ukazují, že léčba kombinací inhibitoru sEH a ACEi nejenže nevykazuje lepší výsledky na průběh CHSS u tohoto modelu ve srovnání s léčbou pouze ACEi, ale přežívání zvířat je dokonce horší. Tyto výsledky naznačují, že kombinované farmakologické zásahy, které zvyšují tkáňové koncentrace EETs a zároveň blokují nepřiměřeně zvýšenou aktivitu RAS zřejmě nepředstavují nový farmakologický přístup pro léčbu CHSS.

POSTERY 2017

P-01. EFFECT OF ACOUSTICALLY ENRICHED ENVIRONMENT APPLIED DURING EARLY ONTOGENESIS ON THE NEURONAL ACTIVITY IN THE PRIMARY AUDITORY CORTEX IN RAT

Pysanenko K., Lindovský J., Bureš Z., Rybalko M. and Syka J.

Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences

Supervisor: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

Introduction: The development of the juvenile sensory systems passes through a critical period (CP), a period of heightened sensory receptivity and plasticity during which particular experience could have life-long lasting effect. In the case of hearing, proper sound stimulation is essential to maintain normal hearing function. Auditory experience during the CP plays important role in the development of perception of behaviourally important environmental sounds and in species-specific communication in different mammals' species including humans.

Aims: Previously we described changes in the inferior colliculus of rats after application of the acoustically enriched environment (AEE) during the critical period of development (Bureš et al., 2014). In the present experiments we applied AEE during the third and fourth week of life of laboratory rats and examined its effects on the function of the adult auditory system, mainly of the primary auditory cortex (AI).

Materials and Methods: As a model for studying effect of acoustically enriched environment (AEE) applied during the critical period we used 14-days old rats of Long Evans strain. The AEE that comprised spectrally and temporally modulated complex sounds was introduced during the third and fourth postnatal weeks. The behaviour of animals was monitored individually using custom made monitoring system. The hearing function of animals was investigated 3-4 months after the enrichment by recordings of the auditory brainstem responses, distortion-product otoacoustic emissions, acoustic startle reflex and prepulse inhibition of the startle reflex (PPI-ASR). Afterwards, multiunit neuronal activity was recorded in the primary auditory cortex.

Results: Enriched animals showed lower thresholds of the auditory brainstem responses and a shift of excitatory thresholds of AI neurons toward lower values. AI cortical neurons of acoustically enriched animals produced in comparison with controls more specialised and synchronised responses to amplitude modulated sound stimuli. Behavioural data (PPI-ASR) demonstrated improved frequency discrimination at lower sound intensities in the enriched animals.

Conclusions: The results demonstrate that providing the complex acoustic enriched environment with incorporated various frequency and amplitude modulated sounds during the critical period of development influences positively sensitivity and responsiveness of the auditory cortex neurons and these changes persist until the adulthood.

Support: GAČR grant P304/12/G069

P-02. AN EFFECTIVE STRATEGY OF MAGNETIC STEM CELL DELIVERY FOR SPINAL CORD INJURY THERAPY

Tukmachev D. (1,2), Lunov O. (3), Zablotskii V. (3), Dejneka A. (3), Syková E. (1), Kubinová Š. (3,4)

1 - Department of Neuroscience, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 2 - Center for Spinal Surgery, Motol University Hospital, Prague, Czech Republic; 3 - Institute of Physics, ASCR, Prague, Czech Republic; 4 - Institute of Experimental Medicine, ASCR, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Eva Syková, DrSc. FMCA.

Introduction: Spinal cord injury (SCI) is a condition that results in significant mortality and morbidity. Treatment of SCI utilizing stem cell transplantation represents a promising therapy. To achieve significant therapeutic benefit, minimally invasive but highly efficient delivery strategies are crucial aspects of cell transplantation. The most effective non-invasive method for SCI is cell delivery through the cerebrospinal fluid via lumbar puncture.

Aims: In our study, subdurally injected cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles(SPION) were navigated by a high-gradient magnetic force and successfully delivered near the lesion site in the rat spinal cord. The experiments were carried out in following groups of animals: SPION-labelled MSCs exposed to MF and non-labelled MSCs exposed to MF.

Materials and Methods:

Cell preparation

Bone marrow MSCs were obtained from 4-week-old green fluorescent protein (GFP) transgenic Sprague Dawley rats.

Cell labeling with SPION

For cell labeling, poly-L-lysine-coated SPION were used in this study. Cultures of MSCs were incubated with SPION 72 hours prior to experiments.

Balloon induced spinal cord compression lesion model

A spinal cord lesion is made by balloon inflation (volume 15 µl) at the Th8-Th9 spinal level. Inflation for 5 minutes produces paraplegia.

Cell transplantation

SPION-labeled GFP-MSCs or GFP/MSCs (control) (500 000 cells in 50µl PBS) prepared were injected into the subdural space 7 days after lesioning.

Magnetic system

After that the animal was placed for 2 hours inside a magnetic system consisting of two cylindrical magnets (1 cm diameter and 5cm height).

Results: The cell distribution correlates with the magnetic forces of the external magnetic systém installed above the lesion site, which attracts and concentrates the cells near the lesion and prevents the cells from advancing more cranially. Comparing the experimentally achieved stem cell distributions with the force distribution, one can see their strong resemblance.

Conclusions: This study demonstrates that our minimally-invasive magnetic targeting system allows rapid and safe cell retention after intrathecal transplantation. The main advantage of the proposed magnetic system is its ability to create a tuneable spatial magnetic flux distribution with a zero-force area allowing the focusing of SPION-labeled cells in order to achieve their therapeutic concentration in the vicinity of the lesion site.

P-03 NEUROEPIDEMIOLOGICKÁ STUDIE KOGNITIVNÍHO STÁRNUTÍ CZECH BRAIN AGING STUDY. CHARAKTERISTIKA SOUBORU A APOE ZASTOUPENÍ U RŮZNÝCH KOGNITIVNÍCH SKUPIN

Sheardová K. (1,2), Vyhnálek M. (1,3), Laczó J. (1,3), Nedelská Z. (1,3), Andel R. (1,4), Marciniak R. (1), Hudeček D. (1,2), Hort J. (3)

1 - Mezinárodní centrum klinického výzkumu, FN u sv. Anny Brno, 2 - 1.NK, FN u sv. Anny Brno, 3 - Kognitivní centrum, Neurologická klinika, II. LF UK, FN Motol Praha, 4 - School of Aging Studies, University of South Florida, Tampa, Florida

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

Úvod: Patologické změny provázející Alzheimerovu nemoc (AN) jsou v mozku přítomny až 15 let před klinickými projevy. Dle nových diagnostických guidelines je AN neuropatologickým kontinuem se stádiem preklinickým - provázeným často subjektivním kognitivním poklesem (SCD), prodromálním – s mírnou kognitivní poruchou (MCI) a klinickým - s plně rozvinutou demencí (DAT). Kauzální terapeutické intervence budou zřejmě účinné jen v časných fázích choroby. Pro časné diagnostikování jedinců ohrožených AN je třeba definovat biomarkery AN a její rizikové faktory, jednímž z nich je např. izoforma E4 apolipoproteinu E.

Cíl: V roce 2011 byla založena longitudinální studie Czech Brain Aging Study (CBAS) zaměřující se na hledání časných biomarkerů AN a rizikových faktorů životního stylu.

Materiál a metody: Subjekty se stížnostmi na paměť a kognitivně zdravé kontroly (NC) nad 55 let jsou vyšetřovány ve dvou centrech v Brně a Praze. U všech je provedeno neuropsychologické vyšetření, MRI mozku, APOE genotyp, vyplněny dotazníky na subjektivní poruchy paměti a životní styl, u některých změřena hladina amyloidu v likvoru či proveden amyloidový PET. Subjekty jsou rozděleny do kohort na základě konsenzuální diagnózy – NC, SCD, MCI amnestická (aMCI) a neamnestická (naMCI) a demence. Etiologie demence je určena dle jednotlivých diagnostických kritérií. Nedementní pacienti jsou zařazeni do databáze CBAS a jsou dále sledování v ročních intervalech.

Výsledky: V 2011-2015 bylo vyšetřeno 1785 subjektů , 752 bylo zařazeno do CBAS databáze (305 Praha/402 Brno), z toho 99 dokončilo 3. rok sledování, 15% konvertovalo do demence (14%MCI, 1%SCD), 88 ztraceno ze sledování. APOE genotyp byl vyšetřen u 841 subjektů (38 NC, 282 SCD, 278 aMCI, 123 naMCI, 64 DAT, 56 jiné demence) z těchto o mělo E2/2, 88 E2/3, 479 E3/3, 17 E2/4, 225 E3/4 and 32 E4/4 genotyp. Frekvence APOE4/- byla 13% u NC, 29% u SCD, 40% u aMCI, 24% u naMCI a 50% u DAT, APOE4/4 frekvence u DAT byla 14%, u ostatních kohort 3%. Ze 108 demencí vyšetřených v 2013 bylo 27 v pokročilé fázi dosud bez terapie.

Závěr: Frekvence konverze do demence u MCI odpovídá datům v jiných studiích. Prevalence APOE*4/- a APOE*4/4 u NC a DAT odpovídá prevalenci ve střední Evropě. V SCD kohortě se prevalence APOE*4/- blížila více MCI a DAT nežli NC, což podporuje hypotézu, že subjektivní stížnosti na paměť mohou reflektovat populaci s rizikem rozvoje AN dříve než neuropsychologické vyšetření. Velká část pacientů s AN není v ČR stále rozpoznána praktickými lékaři včas.

P-04. NEUROLOGICKÝ A MR SCREENING PACIENTU S CROHNOVOU CHOROBOU MŮŽE ZVÝŠIT BEZPEČNOST DLOUHODOBÉ TERAPIE ANTI TNF ALFA

Lišková P. (1), Šťovíček J. (2), Lisý J. (3), Hlava Š. (2), Šrámek M. (1), Keil R. (2)

1 - Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 - Interní klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 3 - Radiodiagnostická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

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

Úvod: V minulosti bylo publikováno několik prací popisující gliové změny na MR mozku typické pro demyelinizační onemocnění u pacientů s nespecifickými střevními záněty, kteří byli léčení monoklonální protilátkou anti-TNF-α. Některé z těchto prací dokonce poukazovaly na možný podíl anti-TNF-α terapie na rozvoj roztroušené sklerózy.

Cíl: Hlavním cílem naší studie bylo zhodnocení neurologického stavu pacientů s Crohnovou chorobou před zahájením terapie anti-TNF-α s cílem minimalizovat riziko progrese choroby u pacientů se zatím klinicky němou roztroušenou sklerózou. Naším druhým cílem bylo, prostřednictvím prospektivního sledování MR a neurologického nálezu, zhodnotit riziko rozvoje roztroušené sklerózy u pacientů na terapii anti-TNF-α.

Materiál a metody: 50 pacientů, kteří byli sledováni více než dva roky, byli zařazeni do prospektivní studie. 30 z těchto pacientů bylo léčeno anti-TNF-α. 20 pacientů s Crohnovou chorobou bez této terapie byli do studie zařazení jako kontroly. Všichni pacienti byli neurologicky vyšetření a podstoupili magnetickou rezonanci mozku před zahájením terapie anti-TNF-α / na počátku studie a následně rok a půl po zahájení terapie/ od počátku studie v případě kontrol.

Výsledky: U 54% pacientů byla zjištěna abnormita v neurologickém nálezu. U 7% pacientů byly na MRI mozku nalezeny změny budící podezření na demyelinizaci. U jednoho z těchto pacientů byla v mozkomíšním moku prokázána syntéza oligoklonálních pásů. Pacient splnil kriteria pro roztroušenou sklerózu a léčba anti-TNF-α byla kontraindikována. Za 1,5 roku sledování nedošlo u pacientů na terapii anti-TNF-α k jakékoli změně neurologického stavu ani na MRI.

Závěr: Neurologický screening pacientů s Crohnovou chorobou a vyřazení pacientů s podezřením na roztroušenou sklerózu dle výsledků MRI z terapie anti-TNF-α může zvýšit bezpečnost této terapie.

P-05. VYUŽITÍ IMUNOFENOTYPIZACE V CYTOLOGII MOČI PACIENTŮ S UROTELIÁLNÍM KARCINOMEM MOČOVÉHO MĚCHÝŘE – METODIKA, PILOTNÍ VÝSLEDKY

Brisuda A. (1), Čechová M. (1), Háček J. (2), Polidarová Z. (1), Babjuk M. (1)

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

Školitel: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

Úvod: Cytologie moči je standardním markerem v diagnostice a sledování nádorů močového měchýře, zejména u low grade (LG) nádorů však nedosahuje dostatečné senzitivity. Ke zvýšení senzitivity cytologie je perspektivní využití metod imunohistochemie – použití vybraných protilátek a jejich aplikace na cytobloky (imunocytochemie = imunocytologie).

Cíl: Cílem sdělení je prezentace prvotních výsledků - stanovení specificity a senzitivity cytologie, hodnocení buněčnosti cytobloků ve vztahu k sedimentu a kultivaci moči.

Materiál a metody: Od 6/2015 do 6/2016 jsme prospektivně analyzovali moč od 154 pacientů (56 pacientů s uroteliálním karcinomem močového měchýře a 98 kontrol). K cytologickému vyšetření byla odeslána spontánně vymočená druhá ranní moč nebo moč odebraná v průběhu dne v minimálním množství 50 ml a byla zpracována do 2 hodin po vymočení. Cytologii jsme hodnotili jako negativní (PAP I, II) a pozitivní (PAP III, IV, V), cytobloky jako buněčné a nebuněčné. Současně bylo provedeno vyšetření močového sedimentu a kultivace. K hodnocení dat jsme použili Fisherův a Chi-quadrát test.

Výsledky: Specificita cytologie moči v našem souboru byla 91 %. Senzitivita pro detekci nádoru byla 52 %, 53 % v podskupině s LG nádory, 66 % s high grade nádory. V buněčnosti cytobloků nebyl statisticky významný rozdíl při porovnání kontrol s nádory (buněčný cytoblok přítomen u 63 % kontrol resp. u 73 % nádorů; p = 0,4). Při pozitivním sedimentu moči byla alespoň malá buněčnost cytobloků u 86 % všech subjektů, zatímco při negativním sedimentu pouze u 41 % (vysoce signifikantní vztah). Ve skupině pacientů s nádorem mělo negativní sediment 17 % pacientů. Buněčnost cytobloku nekorelovala s pozitivní kultivací.

Závěr: V naší skupině pacientů jsme potvrdili, že senzitivita cytologie v diagnostice karcinomu měchýře je nízká. Dále jsme prokázali, že buněčnost a tedy použitelnost cytobloku signifikantně souvisí s pozitivním sedimentem, ale nesouvisí s močovou infekcí. Z metodologického hlediska je důležitý fakt, že většina pacientů s nádory má pozitivní sediment a tedy větší šanci na buněčný cytoblok. V další fázi studie navýšíme počty kontrol a pacientů před analýzou vlastních imunocytologií.

Podpora projektu: Grantová podpora: 15-33266AZV – Využití imunofenotypizace v cytologii moči pacientů s karcinomem močového měchýře pro neinvazivní detekci a dispenzarizaci.

P-06. INHIBICE SOLUBILNÍ EPOXID HYDROLÁZY ZMÍRŇUJE ROZVOJ HYPERTENZE A ZLEPŠUJE RENÁLNÍ AUTOREGULACI U CYP1A1-REN-2 TRANSGENNÍCH POTKANŮ

Honetschlägerová Z. (1), Sporková A. (1), Kopkan L. (1), Husková Z. (1), Hwang S. H. (2), Hammock B. D. (2), Imig J. D. (3), Kramer H. J. (4), Červenka L. (1,5)

1 - Oddělení experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika, 2 - Department of Entomology, University of California, Davis, CA, 3 - Department of Pharmacology and Toxicology, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI, 4 - Section of Nephrology, Medical Policlinic, Department of Medicine, University of Bonn, Bonn, Germany, 5 - Ústav fyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika

Školitel: doc. MUDr. Věra Čertíková-Chábová, Ph.D.

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

Cíl: Zjistit, zda inhibitor sEH snižuje krevní tlak a zlepšuje renální autoregulaci během rozvoje maligní hypertenze u transgenních potkanů po indukci myšího reninového genu.

Materiál a metody: ANG II dependentní forma hypertenze byla navozena podáním diety (11dní) s obsahem přírodního xenobiotika indol-3-karbinolu (I3C, 0.3%) u inbredních transgenních potkanů [TGR(Cyp1a1Ren-2)]. Inhibitor sEH, cis-4-[4-(3-Adamantan-1-yl-ureido)-cyclohexyl-oxy]-benzoic acid (c-AUCB), v dávce 26 mg/l byl podáván v pitné vodě. Léčba byla zahájena 2 dny před podáním diety obsahující I3C. Byly provedeny renální studie na c-AUCB léčených a neléčených anestezovaných zvířatech. Byl měřen střední arteriální tlak pomocí katetru zavedeného do femorální arterie a průtok krve ledvinou ultrazvukovou sondou na levé renální arterii. Byla provedena redukce renálního arteriálního tlaku (RAP) na 120, 100, 85 mmHg pomocí aortální svorky. Po 50-ti min. equilibraci následoval sběr moče (30min) při fyziologické úrovni RAP a další 3 vzorky v následujících redukovaných RAP. Na konci pokusu byl proveden odběr krve z femorálního katetru.

Výsledky: Podání 11-ti denní diety s I3C vedlo k rozvoji maligní hypertenze a značnému úbytku tělesné hmotnosti. Léčba c-AUCB signifikantně snížila hypertenzi a zamezila výraznější ztrátě hmotnosti u I3C-indukovaných potkanů. Aktivace reninového genu u I3C-indukovaných potkanů významně omezila průtok krve ledvinou a podstatně zhoršila autoregulační schopnost ledvin ve srovnání s neindukovanými potkany. c-AUCB normalizoval PKL a navíc lépe udržel PKL i GF při redukcích RAP u I3C-indukovaných potkanů.

Závěr: Chronická léčba inhibitorem solubilní epoxid hydrolázy c-AUCB významně snižuje rozvoj maligní hypertenze a zlepšuje efektivitu renální autoregulace u I3C-indukovaných Cyp1a1-Ren-2 transgenních potkanů.

P-07. VÍČKOVÉ IMPLANTÁTY V TERAPII LAGOFTALMU

Odehnal M., Malec J., Mahelková G., Ferrová K., Dotřelová D.

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

Školitel: prof. MUDr. Dagmar Dotřelová, CSc., FEBO

Úvod: Lagoftalmus znamená neschopnost plně uzavírat oční štěrbinu. Tato funkční patologie může vést k trvalé expozici povrchu rohovky vnějšímu prostředí, jejímu osychání, zánětům až k tvorbě vředů se všemi následky pro zrakové funkce. Úkolem oftalmologa je udržet integritu rohovky. Mimo řadu konzervativních postupů je v indikovaných případech optimální využít víčkové implantáty, které umožňují uzavírání oční štěrbiny svojí hmotností.

Cíl: Zavést a propracovat na Oční klinice novou metodiku léčby víčkovými implantáty u lagoftalmu.

Materiál a metody: V období od května 2004 do září 2016 jsme na Oční klinice dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol aplikovali víčkové implantáty u 92 pacientů (51 mužů, 41 žen). Věk pacientů se pohyboval od čtyř let do 82 let. Průměrná sledovací doba v souboru byla 7,5 roku (pět měsíců až 12let). Nejčastější etiologií lagoftalmu byla obrna lícního nervu vzniklá v rámci nádorové, úrazové nebo cévní problematiky. U několika pacientů se jednalo o vrozené anomálie víček. Indikací k operaci byl lagoftalmus se známkami expoziční keratitidy. Rozsah poškození rohovky jsme hodnotili škálou ve stupních od povrchního postižení až po výrazné poškození povrchu rohovky. Funkci svěrače víčka jsme hodnotili podle kriterií House - Brackmannovy škály. Před operačním zákrokem jsme pomocí sady zkušebních implantátů zjistili optimální hmotnost definitivního implantátu, který byl následně vyroben z 24 karátového zlata. Nejčastěji jsme aplikovali implantáty o hmotnosti 1,6 g (1,2-1,9g). Operace v celkové anestézii spočívala ve vložení a fixování implantátu na přední plochu tarzální ploténky horního víčka.

Výsledky: Průměrná hodnota lagoftalmu před operací byla 5,5 mm, po operaci došlo k redukci lagoftalmu v průměru na 1,5 mm. U 85 % pacientů jsme zaznamenali zlepšení biomikroskopického stavu rohovky do jednoho roku od implantace. Zraková ostrost se po operaci zlepšila u 35 % pacientů. V dotazníku spokojenosti udávalo zlepšení kvality života 89 % pacientů. Jako pooperační komplikace se u dvou pacientů objevilo zánětlivé vyloučení implantátu do dvou let po operaci. U jednoho pacienta se vyvinula alergie na zlato a implantát se vyloučil.

Závěr: Víčkové implantáty patří mezi moderní varianty terapie lagoftalmu. Výrazným příspěvkem v léčbě tohoto onemocnění je efektivní pacienta nezatěžující operace, zlepšení klinického nálezu, minimum komplikací a zvýšení kvality života pacientů.

Podpora projektu: Podpořeno: CZ.16/3.1.OO/24022 MZ-ČR-RVO, FN v Motole 00064203

P-08. NITRIC OXIDE ELEVATION IN POLYTRAUMA IS DRIVEN BY OXYGEN RADICALS

Beitl. E. (1), Baňasová A. (2,3), Miková D. (2), Hampl V. (2)

1 - 1st Orthopaedic Clinic 1std Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic; 2 - Department of Physiology 2nd Faculty of Medicine , Prague, Czech Republic; 3 - Department of Anaesthesiology and ICM 2nd Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc.

Introduction: A common problem in management of polytrauma - a simultaneous injury to more than one organ or organ system, at least one of them lethal without intervention - is a discrepancy between a relatively good initial state and a serious subsequent development. Since nitric oxide (NO) is produced in high quantities during tissue injury, we assumed that serum levels of NO (and its oxidation products, NOx) might serve as a prognostic marker of polytrauma severity. However, we found recently that NOx was increased in polytrauma, but not in the most severe cases.

Aims: The present study was undertaken to test the hypothesis that serum NOx is reduced in severe polytrauma by concomitant overproduction of reactive oxygen species (ROS).

Materials and Methods: Polytrauma was induced in rats under anesthesia by bilateral fracture of femurs and tibiae plus incision of the right liver lobe through laparotomy. Serum NOx was measured by chemiluminescence after hot acidic reduction. The role of ROS was assessed by treatment with an antioxidant, N-acetyl-L-cysteine (NAC).

Results: Experimental polytrauma elevated NOx from 11.0 ± 0.7 to 23.8 ± 4.5 ppb. This was completely prevented by NAC treatment (9.1 ± 2.2 ppb).

Conclusions: . Serum NOx is elevated in severe polytrauma, and this is not reduced by ROS. On the contrary, ROS are necessary for the NOx elevation, probably because ROS produced by inflammatory cells activated by the polytrauma induce massive NO production.

Support: Supported by Grant Agency of the Czech Republic grant number GA13-01710S.

P-09. RENÁLNÍ VASKULÁRNÍ REAKTIVITA U POTKANŮ S AORTO-KAVÁLNÍ PÍŠTĚLÍ

Krátký V. (1,2), Kopkan L. (2), Charvátová Z. (1)

1 - Ústav patologické fyziologie 2. LF UK, 2 - Centrum experimentální medicíny IKEM

Školitel: MUDr. Zuzana Charvátová, Ph.D.

Úvod: Renální dysfunkce významným způsobem přispívá k progresi chronického srdečního selhání (CHSS), ale patofyziologické mechanizmy, které jsou odpovědné za zhoršení renálních funkcí u pacientů s CHSS zůstávají nejasné. Byla představena hypotéza, že rozvoj renální dysfunkce je negativním důsledkem chronické kompenzační neurohumorální aktivace a to zejména nepřiměřeně zvýšené aktivity renin-angiotenzinového systému (RAS) a sympatického nervového systému (SNS). Nadměrná aktivace RAS a SNS ve svém důsledku zásadně mění renální vaskulární reaktivitu a takto změněná renální vaskulární reaktivita je podkladem k rozvoji renální dysfunkce, čímž dochází k další akceleraci progrese CHSS. Tato hypotéza však nebyla doposud prověřena.

Cíl: Cílem této studie bylo porovnat renální vaskulární reaktivitu u zdravých zvířat a u zvířat s navozeným CHSS v jeho kompenzované fázi.

Materiál a metody: Jako model CHSS indukovaného objemovým přetížením byli použiti potkani kmene Hannover-Sprague Dawley (HanSD) s aorto-kavální píštělí (AKP), neboť minulé studie prokázaly, že tento model je charakterizován významnou aktivací RAS a SNS a progrese CHSS u tohoto modelu je doprovázena rozvojem renální dysfunkce. Reaktivita průtoku krve ledvinou (PKL) na intrarenální bolusové podání angiotenzinu II (ANG II) (1,5 a 6 ng), noradrenalinu (NA) (10 a 30 ng) a acetylcholinu (Ach) (10 a 40 ng) byla studována 5 týdnů po navození AKP (n=8), neboť v tomto období AKP HanSD potkani vykazují známky kompenzovaného CHSS. Zdánlivě operovaní HanSD potkani byli použiti jako kontrolní skupina (n=8).

Výsledky: Intrarenální podání obou dávek ANG II vyvolalo u AKP HanSD a kontrolních HanSD potkanů podobné poklesy PKL (-55±6 vs. -46±2 a -73±3 vs. -69±4 %). Intrarenální podání NA vyvolalo větší poklesy PKL u AKP HanSD než u kontrolních HanSD potkanů (-37±3 vs. -24±1 a -64±2 vs. -43±3 %, $p<0,05$). Intrarenální podání Ach vyvolalo větší vzestupy PKL u AKP HanSD než u kontrolních HanSD potkanů (+71±4 vs. +47±4 a +86±4 vs. +58±4 % $p<0,05$).

Závěr: Naše výsledky ukazují, že AKP HanSD potkani nemají ve srovnání s kontrolními zvířaty zvýšenou renální vaskulární reaktivitu k ANG II, ale vykazují zvýšenou citlivost k vazokonstrikčním účinkům NA, ale rovněž k vazodilatačním účinkům Ach. Naše výsledky nepodporují hypotézu, že zvýšená renální vaskulární reaktivita k vazokonstrikčním mediátorům RAS a SNS a snížená renální vaskulární reaktivita k endogenním vazodilatačním faktorům je bezprostředně odpovědná za rozvoj renální dysfunkce a následnou progresi CHSS.

P-10. COMBINATION OF HYALURONIC ACID HYDROGEL AND WHARTON'S JELLY-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS FOR SPINAL CORD INJURY REPAIR

Zaviskova K. (1,2), Tukmachev D. (1,2), Dubisova J. (1,2), Vackova I. (1), Hejcl A. (1), Bystronova J. (3), Sulakova R. (3), Pravda M. (3), Kubinova S. (1)

1 - Institute of Experimental Medicine, AS CR, Prague, Czech Republic; 2 - 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague, Czech Republic; 3 - Contipro a.s., Dolni Dobrouc, Czech Republic

Supervisor: Šárka Kubinová, PharmD, PhD

Introduction: Hydrogel scaffolds, which bridge the lesion, together with stem cell therapy represent a promising approach for treatment of spinal cord injury (SCI). Hyaluronic acid (HA) is widely used in tissue repair due to its biocompatibility, biodegradability and anti-inflammatory properties.

Aims: In this study, we evaluated the neuroregenerative potential of HA hydrogel in combination with human Wharton

Materials and Methods: Hydroxyphenyl derivatives of HA were modified with the integrin binding peptide RGD and crosslinked with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide to form a soft hydrogel. HA hydrogel alone or seeded with hWJ-MSCs was applied into acute or subacute spinal cord hemisections. Animals were behaviourally tested and tissue regeneration was evaluated after 4, 8 and 16 weeks using histological and real-time qPCR analysis.

Results: Both injected and implanted HA hydrogels matched well with the surrounding tissue and filled the lesion cavity with no signs of adverse effects. The same axonal density as well as number of blood vessels were found after acute implantation or injection of the hydrogel. Subacute injection of HA hydrogel improved axonal ingrowth, and combination of the hydrogel and hWJ-MSCs further enhanced tissue regeneration. On the other hand, hydrogel treatment had no effect on the density of glial scar which was formed around the lesion as well as on the size of the lesion cavity when compared to the control empty lesion. Subacute injection of HA hydrogel with hWJ-MSCs increased expression of genes related to axonal growth and macrophages markers.

Conclusions: RGD-modified HA hydrogel promoted axonal sprouting, vascularisation as well as tissue bridging after SCI and represents a promising material and cell carrier for SCI repair.

Support: GACR 15-01396S, MEYS of the Czech Republic under the NPU I (LO1309)

P-11. ZOBRAZENÍ GANGLIOVÝCH PLEXŮ OKOLO LEVÉ SRDEČNÍ SÍNĚ U PACIENTŮ S FIBRILACÍ SÍNÍ POMOCÍ I-123 METAJODOBENZYLGUANIDINU

Bláha M. (1,2), Wichterle D. (1), Peichl P. (1), Aldhoon B. (1), Čihák R. (1), Kautzner J. (1)

1 - Klinika kardiologie IKEM Praha; 2 - 2. LF UK Praha

Školitel: prof. MUDr. Josef Kautzner, CSc., FESC

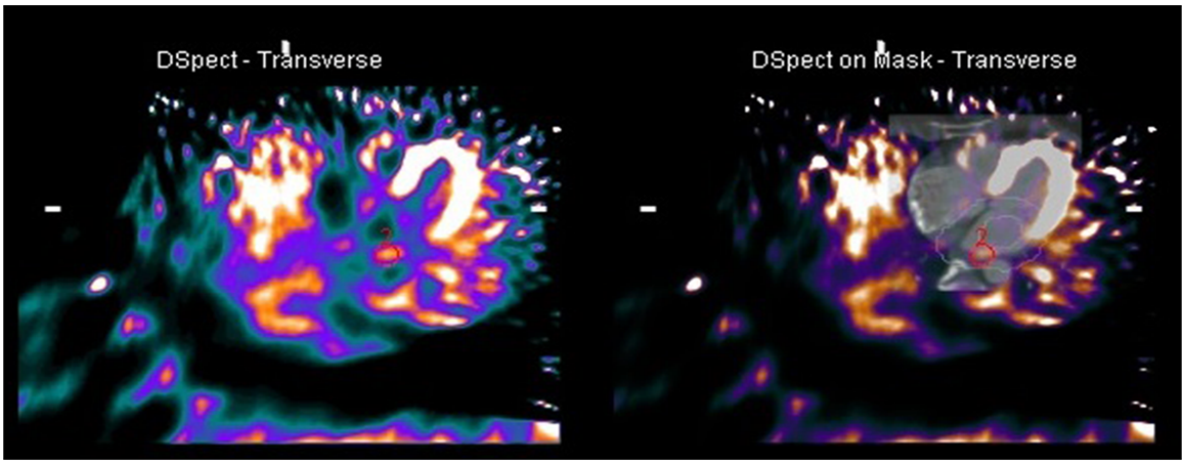
Úvod: Je známo, že autonomní inervace srdce má modulující vliv na iniciaci a udržení fibrilace síní (AF). Některé studie ukazují, že lokalizace a ablace srdečních autonomních gangliových plexů (GPs) může zlepšit úspěšnost ablace AF. Nová generace gamakamer s kadmium-zinek-telluridovými detektory má lepší prostorové a časové rozlišení, a tedy potenciál k zobrazení GPs pomocí radiofarmaka I-123 metajodobenzylguanidinu (MIBG).

Cíl: Zhodnotit schopnost gamakamery D-SPECT zobrazit GPs okolo levé srdeční síně (LA).

Materiál a metody: U deseti pacientů před ablací AF (všichni s paroxysmální AF; 8 mužů; věk 55±12 let) jsme provedli MIBG scintigrafii srdce a data jsme spojili s anatomickým CT obrazem. Místa s vysokým signálem MIBG v okolí stěny levé síně jsme porovnávali s šesti empirickými regiony LA GPs – pravým předním (ARGP), pravým spodním (IRGP), levým horním (SLGP), levým dolním (ILGP), Marshallovým ligamentem (LOM) a koronárním sinem (CS).

Výsledky: Celkem jsme při epikardu LA identifikovali 37 míst s vysokým signálem MIBG, v průměru 3,7±1,8 na pacienta (medián: 3; interkvartilové rozpětí: 2-5; variační šíře 2-7). Jen 15 (41%) z nich bylo v empirických regionech, s frekvencí 30%, 30%, 0%, 20%, 20% a 40% pro ARGP, IRGP, SLGP, ILGP, LOM, respektive CS. Zbylých 22 z 37 (59%) míst s vysokým signálem MIBG jsme lokalizovali poblíž fossa ovalis (u 60% pacientů), hluboko uvnitř plicních žil nebo ve větší vzdálenosti od povrchu LA.

Závěr: Distribuce lokalit s vysokým signálem MIBG, jež by měly odpovídat LA GPs, nekoresponduje s daty z předchozích studií, které využívaly technik vysokofrekvenční stimulace (HFS). Senzitivita MIBG pro detekci GPs v typických lokalitách známých z HFS studií je značně nízká. MIBG signál z GPs výrazně interferuje se silným pozadím aktivity radiofarmaka z plic a z levé srdeční komory. Před klinickým použitím této metody je nutné zlepšit přesnost integrace obrazů a provést studie reprodukovatelnosti.



P-12. RELATION OF PLASMA SELENIUM AND LIPID PEROXIDATION END-PRODUCTS IN PATIENTS WITH ALZHEIMER´S DISEASE

Chmátalová Z. (1), Vyhnálek M. (2), Laczó J. (2), Hort J. (2), Pospíšilová R. (1), Pechová M. (1), Skoumalová A. (1)

1 - Department of Medical Chemistry and Clinical Biochemistry of 2nd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague 2 - Memory Clinic, Department of Neurology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague

Supervisor: MUDr. Alice Skoumalová, Ph.D.

Introduction: Increased oxidative stress in the brain during the course of Alzheimer's disease (AD) leads to formation of free radical reaction end-products, which may be detected in blood as fluorescent lipofuscin-like pigments (LFPs). All aerobic organisms have a very complex and effective antioxidant system, which protects molecules against oxidative damage and selenium plays a major role in antioxidant defence via the redox regulation of key antioxidant enzymes.

Aims: The aim of this study was to evaluate and compare LFPs which are the markers of lipid peroxidation with plasma selenium concentrations representing an integral part of the antioxidant system in patients with AD.

Materials and Methods: Plasma samples from subjects with AD dementia (ADD; n = 11), amnestic type of mild cognitive impairment (aMCI; n = 17) representing early stages of ADD and controls (C; n = 12), were collected. The concentration of selenium was measured using atomic absorption spectroscopy. LFPs were analysed by fluorescence spectroscopy and quantified for different fluorescent maxima and then correlated with plasma selenium.

Results: Lower levels of selenium were detected in aMCI and ADD patients than in controls (P = 0.003; P = 0.049). Additionally, higher fluorescence intensities of LFPs were observed in aMCI patients compared to controls in four fluorescence maxima (355/380, 350/400, 360/410 and 415/440) and to ADD in three maxima (355/380, 350/400, and 415/440). Significant negative correlation between selenium concentrations and LFPs fluorescence was observed in the three fluorescence maxima (355/380: r = -0.420, P = 0.012; 350/400: r = -0.390, P = 0.015; 360/410: r = -0.398, P = 0.016).

Conclusions: Our results revealed significantly lower plasma selenium concentrations in aMCI and ADD patients than in controls, which may be the consequence of the increased consumption of glutathione peroxidase and other selenium-dependent antioxidants in a course of AD development. These results were completed with measurement of specific end-products of oxidative damage, which proved significantly higher levels in early stages of ADD (aMCI) than in controls. To sum up, the amount of selenium negatively correlated with LFPs in the plasma, which might reflect increased oxidative stress in AD, particularly in its early stages, as well as impaired or deficient antioxidant defense.

Support: The study was supported by the Charles University, project GA UK No 36216 and the 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague.

P-13. VÝSLEDKY VČASNEJ KAROTICKEJ ENDARTEREKTÓMIE PO TIA

Orlický M., Vachata P., Sameš M.

Neurochirurgická klinika Masarykovy nemocnice a Univerzity Jana Evangelisty Purkyně, Ústí nad Labem

Školitel: prof. MUDr. Sameš Martin, CSc.

Úvod: Veľká významnosť včasne prevedenej karotickej endarterektómie u indikovaných pacientov po transitornej ischemickej atake (TIA) z pohľadu sekundárnej prevencie iktu viedla k potrebe podrobnej analýzy našich dát, ich korelácie s všeobecne akceptovanými odporučeniami AHA, prípadne hľadaní nápravy.

Cíl: Cieľom našej štúdie bolo retrospektívne:

1. vyhodnotiť či indikácie k CEA pre symptomatické stenózy (TIA) v rámci KCC v ústeckom kraji sledujú doporučovaný trend časovania – či operujeme indikovaných pacientov včas,

2. zhodnotiť perioperačné komplikácie a ich vzťah k časovaniu operácie.

Na základe zistených výsledkov pracovať na úprave nedostatkov alebo pochváliť.

Materiál a metody: Do prospektívnej štúdie bolo zaradených 975 karotických endarterektomií operovaných na Neurochirurgickej klinike Masarykovej nemocnice v Ústí nad Labem v období od roku 2006 do roku 2013. Všetky operácie boli v lokálnej anestézií so selektívnym požitím skratu v závislosti na vývoji neurologického stavu po nasadení klipov na karotídu. Vyšetrenie mozgu pomocou MR DW bolo uskutočnené v deň príjmu pacienta k operácii a 24 hodín po výkone. Z dostupných dát bola spätne vyselektovaná skupina symptomatických stenóz (n=422) a podrobne analyzovaná skupina s priebehom ako TIA (n=187).

Sledované parametre boli (1) čas prevedenia operácie od vzniku klinických príznakov (2) počet a typ komplikácii vzhľadom k časovaniu operácie.

Výsledky: (1)V skupine všetkých TIA je od roku 2007 medián doby od vzniku príznakov k prevedeniu operácie v akceptovateľnom rozmedzí 3,5-14 dní, pre skupinu hemisferálnych TIA je medián ešte nižší 3-13 dní, pre skupinu TIA len s prejavom amaurosis fugax (AF) medián presahuje hodnotu doporučení (14-25,5 dní).

(2) Počet veľkých komplikácií je 2,5% a nie je častejší pri časných indikáciách.

Závěr: KCC spolu s iktovými jednotkami v ústeckom kraji managuje pacientov po hemisferálnej príhode TIA indikovaných CEA v súlade s doporučeniami jak z pohľadu časovania tak z pohľadu počtu komplikácií. Je potrebné zlepšiť informovanosť verejnosti o AF a skrátiť tak dobu časovania CEA v týchto prípadoch.

P-14. LOW - LEVEL LASER THERAPY EFFECT ON SPINAL CORD INJURY RECOVERY

Svobodová B. (1,2), Machová Urdziková L. (1), Kloudová A. (1), Navrátil L. (3) and Jendelová P. (1,2)

1 - Department of Tissue Culture and Stem Cells, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences; 2 - 2nd Faculty of Medicine, Charles University; 3 - Institute of Biophysics and Informatics, 1st Faculty of Medicine, Charles University

Supervisor: doc. RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

Introduction: Low-intensity laser therapy has biomodulatory effects on nervous tissue and it has been applied in neuroscience research due to its anti-inflammatory effects on tissue in the repairing process.

Aims: The aim of this study was to investigate the effect of low-level laser therapy on the functional recovery, soleus muscle mass and histopathological changes of the spinal cord after spinal cord injury (SCI) in rats.

Materials and Methods: Animals with balloon induced spinal cord compression lesions were treated with a low-intensity MLS laser (simultaneously 808 nm continuous emission and 905 nm pulse emission, pulse-wave frequency, 10 Hz) at a light dose of 300 J. Light was applied transcutaneously at the lesion site immediately after injury for 10 days, daily for 9 minutes. Functional recovery was assessed weekly by locomotor tests (BBB and Beam walking) and a sensitivity test (Plantar test). The animals were sacrificed 9 weeks after injury; the mass of soleus muscle was weighted and the spinal cord tissue was histologically evaluated.

Results: Laser therapy significantly improved functional locomotor recovery from the first week after lesioning not only in BBB test, but also in advanced locomotor test, such as beam walking. Of 13 rats, 7 were able to cross the beam, compared to zero in the control group. Phototherapy showed a significantly positive impact on diminishing thermal hyperalgesia after SCI. Laser treated animals showed less atrophy in soleus muscle mass compared to the control group. Low-power laser radiation had a positive effect on grey and white matter sparing and there was a tendency to increase axonal sprouting. There were no significant changes in GFAP-positive area after laser treatment.

Conclusions: Non-invasive light therapy promotes functional recovery in acute SCI. These results suggest that light is a promising therapy for human SCI.

Support: Supported by: GACR 13-00939S, LO1309 and 7F14057

P-15. STUDIUM IN VITRO PEROXYNITRITEM INDUKOVANÉ NITRACE MITOCHONDRIÁLNÍCH PROTEINŮ

Kohutiar M. (1,2), Eckhardt A. (3), Mikšík I. (3), Šantorová P. (1), Průša R. (1), Wilhelm J. (2)

1 - Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol; 2 - Oddělení biochemie membránových receptorů, Fyziologický ústav AVČR; 3 - Oddělení analýzy fyziologicky aktivních látek, Fyziologický ústav AVČR

Školitel: prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

Úvod: Mitochondrie patří mezi hlavní zdroje volných radikálů v buňce. Vznik superoxidu a oxidu dusnatého je součásti fyziologických procesů. Produkovaný superoxidový radikál reaguje s oxidem dusnatým za vzniku peroxynitritu. Peroxynitrit pak dále může vyvolávat nitraci tyrosinu, štěpení peptidových vazeb a fragmentaci proteinů. Za účelem objasnění uvedených procesů jsme studovali vliv peroxynitritu na izolované mitochondrie z hovězího srdce.

Cíl: Cílem naší práce bylo studovat in vitro peroxynitritem indukovanou nitraci mitochondriálních proteinů.

Materiál a metody: Mitochondrie byly izolovány z hovězího srdce metodou diferenciační centrifugace. Suspenze mitochondrií byla inkubována s peroxynitem v následujícím uspořádání: (1) inkubace rozpustné a membránové frakce, (2) inkubace po separaci na rozpustnou a membránovou frakci, (3) inkubace s následnou separací na rozpustnou a nerozpustnou frakci. Mitochondriální proteiny z každého uspořádání byly rozděleny metodami 2D elektroforézy a nitrace proteinů byla studována technikami western blotu s chemiluminiscenční detekcí. Nitrace ve vybraných spotech byla potvrzena metodami hmotnostní spektrometrie.

Výsledky: Hmotnostní spektrometrie potvrdila nitraci beta podjednotky ATP syntázy, E1 podjednotky pyruvátdehydrogenázového komplexu, citrátsyntázy a acetyl-CoA acyltransferázy. Imunochemicky byla detekována nitrace v cytochromu b-c1, NADH [ubichinon] Fe-S proteinu, elongačním faktoru Tu, NADH [ubichinon] dehydrogenázy flavoproteinu 2, v Hsp beta-1 a v NADH [ubichinon] Fe-S proteinu 8. Porovnáním 3D struktur proteinů nebyla zjištěna přítomnost identického strukturního motivu v okolí modifikace. Sekvence v okolí nitrovaného tyrosinu obsahovaly převažující podíl hydrofobních aminokyselin.

Závěr: Nitrace proteinů není náhodný proces. V naší studii jsme pozorovali nitraci a fragmentaci proteinů indukovanou peroxynitritem. Nitrace ATP syntázy byla potvrzena v rozpustné i nerozpustné frakci. ATP syntáza je tedy velmi citlivá na nitraci a tato modifikace může vést ke změnám funkce enzymu, který je klíčový pro energetický metabolizmus srdečního svalu. Hmotnostní spektrometrie a potvrdila nitraci ve vybraných imunopozitivních proteinech a odhalila přesnou pozici modifikace v molekule.

Podpora projektu: Tato práce je podpořena projektem GACR č. P303/11/0298.

P-16. KVALITATIVNÍ A KVANTITATIVNÍ ZMĚNY V BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ U MLADÝCH A DOSPĚLÝCH POTKANŮ S EXPERIMENTÁLNĚ NAVOZENÝM ASTHMA BRONCHIALE

Dvořáková P.1,2, Vajner L.1, Pohunek P.2, Štěpánek L.3, Uhlík J.1

1 - Ústav histologie a embryologie 2. LF UK, 2 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FNM, 3 - Ústav vědeckých informací 2. LF UK a FNM

Školitel: MUDr. Jiří Uhlík, Ph.D.

Úvod: Asthma bronchiale je chronické onemocnění, které můžeme charakterizovat zánětem ve stěně dýchacích cest. Histologickým obrazem astmatu je remodelace bronchů a bronchiolů. Pod pojmem remodelace se skrývají změny v epitelu, tedy zmnožení pohárkových buněk, ztluštění bazální membrány, změny v počtu hladkých svalových buněk, zvýšená depozice extracelulárních proteinů a změny ve vaskularizaci. Takové změny byly popsány jak u astmatu vzniklého v dospělosti, tak u astmatu dětského věku. Zda a jak se liší patofyziologický mechanismus dospělého a dětského astmatu, je však dosud málo známo. V naší předchozí studii jsme prokázali odlišné morfologické parametry stěny dýchacích cest u mladých a dospělých potkanů po experimentálně navozeném astmatu.

Cíl: Našim cílem bylo stanovit, zda a jakým způsobem se liší složení bazální membrány u astmatických potkanů v mládí a dospělosti. Pozornost jsme soustředili na hlavní strukturální proteiny vyskytující se ve vrstvách bazální membrány – lamina lucida, lamina densa a lamina reticularis.

Materiál a metody: Mladí (4 týdny) a dospělí potkani v pokusné skupině byli senzitizováni opakovanými intraperitoneálními injekcemi ovalbuminu (OA). Během následujících dvou týdnu jim byl v pravidelných intervalech podáván OA inhalačně v nízké koncentraci. Do pokusu byly zahnuty dvě kontrolní skupiny: potkanům byl buď podáván místo OA intraperitoneálně a inhalačně fyziologický roztok, nebo byli ponecháni zcela bez zásahů. Na konci pokusu byli potkani usmrceni a jejich plíce zpracovány pro světelnou mikroskopii. Složky bazální membrány byly vizualizovány pomocí impregnace stříbrem podle Gömöriho (lamina reticularis) a imunohistochemicky pomocí protilátek proti kolagenu IV (lamina densa) a lamininu (lamina lucida).

Výsledky: Dospělí potkani pokusné skupiny měli signifikantně silnější vrstvy všech složek bazální membrány oproti kontrolám. U mladých potkanů nebyla zvýšená depozice strukturálních proteinů tolik patrná. Signifikantně silnější depozita byla ve vzorcích pokusné skupiny zaznamenána u kolagenu IV a lamina reticularis, nikoli však u lamininu.

Závěr: Při přihlédnutí k výsledkům naší předchozí studie (1) se dá předpokládat, že dospělí jedinci s astmatem mají tendenci ke změnám plynoucím z aktivace bronchiální epitelové složky. Oproti tomu mladí jedinci reagují spíše morfologickými změnami periferní vrstvy stěny dýchacích cest.

Podpora projektu: Studie byla podpořena grantem IGA MZ CR NT 11444 a projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN MOTOL).

Poznámka: Reference: 1. Uhlík J, Šimůnková P, Žaloudíková M, Partlová S, Jarkovský J, Vajner L. Int Arch Allergy Immunol. 2014;164(4):289-300.

P-17. POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ KONZERVATIVNÍ A OPERAČNÍ LÉČBY AVULZNÍCH ZLOMENIN V OBLASTI KYČLE A PÁNVE U DĚTÍ A DOSPÍVAJÍCÍCH

Stančák A., Kautzner J., Trč T., Havlas V.

Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF UK a FN Motol

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

Úvod: Avulzní zlomeniny v oblasti pánve a kyčelního kloubu jsou vzácná poranění a zahrnují avulze spina iliaca anterior superior (SIAS), spina iliaca anterior inferior (SIAI), tuber ischiadicum, trochanter minor, trochanter major, a raritně crista iliaca. Mechanismem úrazu je prudká kontrakce příslušného svalu a ,,vytržení" daného kostěnného výběžku. Nejčastěji se vyskytují jako sportovní úrazy. Terapie je závislá na míře dislokace fragmentu a přítomnosti poranění nervově-cévních struktur. Roli hraje i sportovní aktivita dítěte.

Cíl: Cílem práce je porovnání a zhodnocení různých možností léčby avulzních zlomenin v oblasti pánve u pacientů dětského a adolescentního věku.

Materiál a metody: Během let 2005 – 2016 bylo na pracovišti autorů ošetřeno 69 pacientů pacientů (52 chlapců a 17 dívek) s avulzní zlomeninou v oblasti pánve, jejichž průměrný věk byl 15,6 roku (4-17 let). Nejčastěji byly pozorovány avulze SIAS a SIAI, které tvořily 71% (49 z 69 pacientů). Celkem bylo 38 pacientů ošetřeno operačně (55,1%) a 31 pacientů konzervativně (44,9%). Hlavní indikací k operační léčbě byla dislokace fragmentu nad 1 cm a přítomnost útlaku nervových struktur.

Retrospektivně byl hodnocen rozsah pohybů (ROM) v kyčelním kloubu, míra bolestivosti dle VAS, doba imobilizace, odlehčení a návratu k plné aktivite a dale výskyt některé z komplikací (infekční, neurologické). Zhodnocení jednotlivých modalit probíhalo v intervalech 6 týdnů, 3 a 12 měsíců od úrazu klinicky a pomocí RTG.

Konzervativní postup zahrnoval klid na lůžku a polohování končetiny, následně vertikalizaci s odlehčením a rehabilitaci. V případě operačního postupu byla metoda fixace zvolena dle anatomické lokalizace poranění.

Výsledky: Ve skupině operovaných pacientů byly zaznamenány lepší známky hojení dle RTG v 6ti týdnech od úrazu v porovnání s konzervativně léčenou skupinou, stejně jako dřívější dosažení plného ROM. V době 3 měsíců od úrazu tento rozdíl již nebyl patrný. Ve skupině konzervativně léčených pacientů byla průměrná doba do vertikalizace 24,5 dnů, u operačně léčebných pacientů tato doba činila pouze 8,5 dne. Nebyly zaznamenány závažné komplikace.

Závěr: Naše výsledky dokladují srovnatelné klinické nálezy u pacientů jak pro konzervativní, tak operační metodu léčby v horizontu jednoho roku od operace. Výhodou konzervativního postupu je absence operační zátěže dítěte. Výhodou operačního postupu je rychlejší dosažení plného rozsahu pohybu, časnější rehabilitace a možnost návratu k plné sportovní aktivitě.

P-18. PROGNÓZA ČETNOSTI DIABETES MELLITUS V ČESKÉ REPUBLICE

Lukáč O. (1), Brabec M. (3,4), Kvapil M. (1,2), Brož J. (1,2)

1 - 2. LF UK, Praha, 2 - Interní klinika 2.LF UK a FN Motol, Praha, 3 - Ústav informatiky Akademie věd ČR, Praha, 4 - Český institut Informatiky, Robotiky a Kybernetiky, ČVUT, Praha

Pregraduální student

Školitel: as. MUDr. Jan Brož

Úvod: Diabetes mellitus je označován za epidemii třetího tisíciletí a počet obyvatel naší republiky trpících tímto onemocněním neustále narůstá. Zatímco v roce 1980 bylo na českém území evidováno 317 144 diabetiků, v roce 2000 to už bylo 654 164. Dnes už počet pacientů překračuje počet 900 tisíc. Zdaleka největší podíl na tomto počtu diabetiků má diabetes mellitus 2. typu. Tento narůstající počet nemocných zatěžuje a nadále bude zatěžovat české zdravotnictví jak po finanční, tak po personální stránce.

Cíl: Cílem studie je pokusit se predikovat vývoj počtu nových diabetiků v budoucích desetiletích a popřípadě vyvolat diskusi o potřebných změnách v uspořádání péče o toto onemocnění i o jeho prevenci.

Materiál a metody: Vycházeli jsme z počtu nových diabetiků (muži a ženy) od roku 1980 do roku 2012 reportovaných každoročně do systému ÚZIS. Naším cílem bylo vytýčit pravděpodobnou prognózu toho, jak se bude počet nových diabetiků nadále vyvíjet. Pro odhad přírůstků nových pacientů v budoucnosti jsme vytvořili statistický model závislosti počtů nových pacientů na počtu obyvatel v příslušných letech segmentovaný podle stáří v jednoroční škále. Vytvořený model jsme aplikovali na odhad počtu obyvatel segmentovaný opět podle stáří v jednoroční škále (data z Českého statistického úřadu). Modelovali jsme prognózu pro nejnižší i nejvyšší odhad velikosti budoucí populace do roku 2050. Prognoza je udávána v počtu nových diabetiků za rok. Pro srovnání uvádíme počet nových pacientů s diabetem v roce 2012 - muži: 34 529; ženy: 37 534.

Výsledky: Dle našich výpočtů by měl počet nových diabetiků v České republice i nadále výrazně narůstat. Prognoza pro nejvyšší odhad budoucí populace ukazuje, že v roce 2020 přibude až 40 000 nových pacientů diabetiků-mužů a v roce 2050 dokonce 70 000. Počet nových diabetiček pak v roce 2020 bude 50 000 a v roce 2050 až 110 000. Prognoza pro nejnižší odhad hovoří pro rok 2050 o 60 000 nových diabetiků, respektive 90 000 nových diabetiček (pro rok 2020 se prognozy pro oba odhady příliš neodlišují).

Závěr: Nárůst počtu diabetiků ročně by tedy dle naší prognózy měl v polovině století dosahovat značně vysokých hodnot. Je tak velmi pravděpodobné, že diabetes mellitus bude i nadále stále více zatěžovat české zdravotnictví.

P-19. NEUTROFILNÉ EXTRACELULÁRNE PASCE A DIABETES MELLITUS 1. TYPU: ZVÝŠENÁ AKTIVÁCIA DENDRITICKÝCH BUNIEK PRISPIEVA K ROZVOJI PROZÁPALOVÉHO PROSTREDIA

Paračková Z. (1), Zentsová I. (1), Kayserová J. (1), Průhová Š. (2), Kolouškova S. (2), Šumník Z. (2), Šedivá A. (1)

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

Školitel: prof. MUDr. Anna Šedivá, DSc.

Úvod: Neutrofilné extracelulárne pasce (NETy) predstavujú účinnú zbraň vrodeného imunitného systému v obrane proti infekciám. NEty sú produkty neutrofilov, zložené z chromatínu, granulárnych a cytoplazmatických proteínov. Svojím tvarom pripomínajú siete a ich hlavnou úlohou je zachytiť patogény do „pasce" a následne ich zneškodniť. Ich zvýšená tvorba, či nedostatočné odstraňovanie je spojené s rozvojom rôznych autoimunitných ochorení, ako je lupus erythematodes, vaskulitídy a iné.

Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je autoimunitné ochorenie, pri ktorom dochádza k deštrukcii β-buniek pankreasu prevažne cytotoxickými Th1 lymfocytmi. Avšak tieto bunky sú len jedným dielom komplexnej skladačky udalostí vedúcich k rozvoji DM1. Vplyv NETov, neutrofilov a celkovo buniek vrodenej imunity je síce intenzívne skúmaný, no stále málo objasnený pri vývoji DM1.

Cíl: Objasniť úlohu NETov u chronických pacientov s DM1 so zameraním na ich vplyv na dendritické bunky (DC).

Materiál a metody: Do tejto štúdie boli zatiaľ zapojení 13 pacienti v chronickom štádiu DM1 a 9 zdravých darcov s negatívnou históriou na autoimunitné ochorenia.

Neutrofily boli izolované z plnej krvi pomocou dextranovej sedimantácie a stimulované PMA 3 hodiny. Vzniknuté NETy boli vizualizované pomocou protilátok proti neutrofilnej elastáze a histónu3 a DNA bola vizualizovaná pomocou Hoechst.

Pomocou enzymatického štiepenia získané fragmenty NETov boli použité pre kultivačné experimenty s DC z periférnej krvi, na ktorých sledujeme ich fenotyp pomocou prietokovej cytometrie a s monocyte-derived DC (moDC), u ktorých sledujeme zmeny ich fenotypu, produkcie cytokínov a indukciu subpopulácii T lymfocytov – Th1. Th17 a Tregs.

Výsledky: Naše pilotné dáta ukazujú, že prítomnosť NETov zvyšuje expresiu maturačných znakov na povrchu dendritických buniek v periférnej krvi u diabetických pacientov. Zároveň zvyšujú produkciu prozápalových cytokínov - IL-1β a bazálnu hladinu IFNα, , a naopak znižujú produkciu IL-10, protizápalového cytokínu, u moDC diabetických pacientoch. Tiež dochádza k zvýšenej schopnosti moDC indukovať Th1 odpoveď a zníženej schopnosti indukovať regulačné T lymfocyty u týchto pacientov.

Závěr: Prítomnosť NETov prispieva k zápalovej odpovedi prostredníctvom zvýšenej aktivácie dendritických buniek a tým indukcie Th1 lymfocytov u diabetických pacientoch. Naše výsledky naznačujú spoluúčasť NETov a dendritických buniek pri rozvoji DM1.

Podpora projektu: Táto práca vznikla za podpory grantu získaného od Ministerstva zdravotníctva AZV 16-32838A.

P-20. EFEKT DLOUHODOBÉ LÉČBY AZITROMYCINEM NA REZISTENCI A VIRULENCI STAPHYLOCOCCUS AUREUS OD PACIENTŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

Tkadlec J., Vařeková E., Melter O.

Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: doc. MVDr. Oto Melter, Ph.D.

Úvod: Staphylococcus aureus je významný původce akutních i chronických infekcí. Tato bakterie je jednou z nejčastěji izolovaných z dýchacích cest pacientů s cystickou fibrózou (CF), a dokaže u těchto pacientů perzistovat řádu let. Během chronické infekce je S. aureus vystaven chronickému zánětu a opakovaným cyklům antibiotické terapie. Tyto podmínky vytváří silný selekční tlak, na který S. aureus reaguje změnami své virulence a rezistence k antibiotikům.

Cíl: V naší studii jsme si dali za cil srovnat, jakým způsobem se změnila virulence a rezistence vybraných izolátů S. aureus během chronické infekce pacientů s cystickou fibrózou v závislosti na tom, zda byli nebo nebyli dlouhodobě léčeni azitromycinem.

Materiál a metody: Pomocí kvantitatvních metod jsme stanovili míru mutační frekvence, hemolyticku aktivitu a tvorbu biofilmu u dvojic charakterizovaných isogenních časných a pozdních izolátů S. aureus od dvaceti pacientů s CF. Výsledky jsme statisticky korelovali s údaji o léčbě pacientů.

Výsledky: Hemolytická aktivita se významně lišila mezi izoláty, devět izolátů bylo nehemolytických a 17 izolátů silně hemolytických. Mezi časným a pozdním izolátem nedošlo u devíti pacientů k změně, u osmi došlo k zvýšení a u tři k snížení hemolytické aktivity. Tvorba biofilmu se mezi izoláty signifikantně nelišila většina izolátů biofilm netvořila. Z hlediska mutační frekvence bylo sedm izolátů od pěti pacientů silnými hypermutátory a dalších devět izolátů slabými hypermutátory. Hodnota mutační frekvence mezi časným a pozdním izolátem se průměrně změnila 1,98x. Pouze u dvou pacientů došlo k více než 10násobému zvýšení mutační frekvence u pozdního izolátu. Izoláty od pacientů lečených azitromycinem vykazovaly vyšší míru hemolytické aktivity a vyšší mutační frekvenci.

Závěr: Dlouhodobá léčba azitromycinem má významný vliv na změnu vlastností S. aureus, kromě selekce antibiotické rezistence, měly izoláty od pacientů léčených azitromycinem signifikantně vyšší mutační frekvenci a míru hemolytické aktivity.

P-21. DISTINCT EFFECTS OF WNT SIGNALING MANIPULATION ON IN VITRO DIFFERENTIATION OF NEONATAL AND ADULT NEURAL STEM/PROGENITOR CELLS

Kriska J. (1,2), Knotek T. (1), Janeckova L. (1,3), Butenko O. (1), Kolenicova D. (1), Dzamba D. (1), Honsa P. (1), Nahacka Z. (3), Andera L. (3), Korinek V. (1,3), Anderova M. (1,2)

1 – Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague 4, Czech Republic; 2 – 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague 5, Czech Republic; 3 – Institute of Molecular Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague 4, Czech Republic

Supervisor: Ing. Miroslava Anderova, CSc.

Introduction: Wnt ligands are secreted cysteine-rich proteins that play an important role in embryogenesis and postnatal developmental stages. Three major Wnt signaling pathways have been identified – the canonical Wnt (β-catenin) pathway, and two non-canonical pathways: the planar cell polarity and Wnt/Ca2+ pathways. The key element of canonical Wnt signaling, β-catenin, is implicated in gene transcription, and proliferation and differentiation of cells.

Aims: However, it remains elusive how Wnt signaling influences the differentiation potential of neural progenitor cells.

Materials and Methods: We employed three transgenic mouse strains, allowing us to manipulate the canonical Wnt signaling pathway at different subcellular levels. To show the impact of Wnt signaling on neural stem/progenitor cells (NS/PCs) differentiation in the early and later postnatal stages of mouse ontogenesis, we utilized the patch-clamp technique in the whole-cell configuration, immunocytochemical staining, calcium imaging, quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR), and Western blotting.

Results: Our data showed that Wnt signaling activation, in both neonatal and adult NS/PCs, leads to higher expression of β-catenin and Wnt target genes, while inhibition of the pathway gives opposite results. Next, we identified three electrophysiologically and immunocytochemically distinct cell types differentiated from neural progenitors. The incidence of the cell types was strongly affected by Wnt signaling only in cells from neonatal mice, where activation of the pathway promoted neurogenesis at the expense of gliogenesis, while its inhibition led to suppressed neurogenesis and increased numbers of glial cells. Moreover, Wnt signaling activation in neonatal as well as adult neural progenitor cells resulted in an increased incidence of cells showing outwardly rectifying K+ currents together with inwardly rectifying Na+ currents, a current pattern typical of immature neurons, while inhibiting the pathway resulted in the reverse effect markedly only in NS/PCs from neonatal mice.

Conclusions: Aforementioned results show that Wnt signaling drives neonatal NS/PCs differentiation towards cells of neuronal phenotype. In addition, the transgenic mice utilized in this study may serve as useful models in experiments on the β-catenin-dependent Wnt signaling pathway and thus help researchers study nervous tissue regeneration during central nervous system disorders.

Support: The study was supported by the grants GACR 17-04034S and GAUK 26214.

P-22. VLIV IMMUNONUTRICE NA OXIDAČNÍ STRES A PARAMETRY ZÁNĚTU U PACIENTŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

Hloch O. (1), Charvát J. (1), Fila L. (2), Havlín J. (3), Masopust J. (1)

1 - Interní klinika 2.LF UK a FNM, 2 - Pneumologická klinika 2.LF UK a FNM, 3 - III.chirurgická klinika 1.LF UK a FNM

Školitel: prof. MUDr. Jiří Charvát, CSc.

Úvod: Cystická fibróza je onemocnění spojené se závažnou dysfunkcí respiračního a gastrointestinálního systému. Její léčba by měla zabránit nejen zhoršení respiračních funkcí, ale také vzniku podvýživy. Významná část pacientů s cystickou fibrózou vyžaduje umělou nutriční podporu, protože podvýživa je spojena s častějšími komplikacemi a zvýšenou mortalitou. Pozitivní vliv imunonutrice je znám u pacientů podstupujících chirurgický výkon a u onkologicky nemocných, u pacientů s cystickou fibrózou však tento efekt nebyl doposud zkoumán.

Cíl: Cílem práce bylo posoudit vliv imunonutrice na parametry oxidačního stresu a zánětu u pacientů s cystickou fibrózou.

Materiál a metody: Studie probíhala v letech 2014-2015 na Interní a Plicní klinice 2.LF UK a FNM. Zařazeni byli pacienti starší 18let užívající nutriční podporu ve formě sippingu (Nutridrink, Nutricia Co., Amsterdam, Netherland) po dobu alespoň 1 roku. Vstupně byl hodnocen malonyldialdehyd(MDA) jako ukazatel oxidačního stresu, hsCRP, SAA (serum anuloid A), interleukin 1 a 6 a imunoglobuliny IgA, IgG a IgM jako ukazatele zánětu. Následujících 8 týdnů užívali pacienti imunonutrici Impact (Nestlé Co., Vevey, Switzerland) a byli znovu vyšetřeny uvedené parametry. Ve třetí fázi se vrátili ke svému původnímu preparátu na dobu 8 týdnů se závěrečnými odběry.

Výsledky: Ve studii bylo 30pacientů s CF, 22 mužů a 8 žen. Průměrný věk byl 24,7±3,6 roků. Po užívání immunonutrice jsme zaznamenali statisticky významný vzestup MDA a pokles SAA. Po změně na standardní sipping se uvedené parametry vrátily do původních hodnot.

Závěr: Aplikace imunonutrice může zlepšit imunitní odpověď u chronicky malnutričních a imunokompromitovaných nemocných. Statisticky významný pokles SAA je důsledkem takového efektu imunonutrice. Zvýšení MDA jako parametru oxidačního stresu je důsledkem inkorporace substrátů imunitního systému u malnutričních pacientů, které je spojeno s vyšším tkáňovým poškozením.

Limitací studie byla velikost souboru a nerandomizace. Jedná se však o pilotní studii, která přináší cenné informace k další randomizované práci s větším počtem pacientů.

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

Tabulka1: Změny zánětlivých parametrů ve vztahu ke změně typu výživy

	Nutridrink	Impact	Návrat k Nutridrinku	**p**
MDA (umol/L)	0.66±0.24	0.96±0.30	0.77±0.27	<0.01
SAA (mg/L)	26.1±16.5	18.1±7.1	21.2±11.9	0.014
CRP (mg/L)	13.7±24.1	17.7±21.1	24.7±42.8	NS
IL-6 (mmol/L)	8.4±11.9	6.1±7.7	7.5±9.2	NS
IL-1 (mmol/L)	10.3±6.6	11.5±8.3	9.1±4.9	NS
IgM (g/L)	1.7±0.7	1.6±0.7	1.8±0.8	NS
IgA (g/L)	3.5±1.8	3.5±1.8	3.7±1.9	NS
IgG (g/L)	16.1±4.1	16.0±4.5	16.6±3.8	NS

MDA= malonyldialdehyd

SAA= serový amyloid A

CRP= C-reaktivní protein

IL-6= interleukin 6

IL-1= interleukin 1

p = změna mezi Nutridrinkem a Impactem na začátku a po 8 týdnech užívání imunonutrice

P-23. ANESTÉZIE V EXPERIMENTÁLNÍ KARDIOCHIRURGII NA ZVÍŘECÍM MODELU

Hmirák M., Vymazal T.

KARIM 2.LF UK a FN Motol Praha

Školitel: MUDr. Tomáš Vymazal, Ph.D., MHA

Úvod: V Centru experimentální medicíny IKEM Praha jsme provedli anestézie při experimentálních kardiochirurgických výkonech u skupiny 40 ovcí o hmotnosti 30-50kg.

Cíl: Cílem bylo vypracovat anesteziologický protokol, který by neměl vliv na výsledek experimentu, minimalizoval negativní dopady anestézie na průběh operace, přežívání zvířat po operaci a byl humánní ke zvířatům určených k experimentu. Dalším cílem bylo dosažení oběhové stability při a po výkonu na otevřeném srdci v ECC s použitím kardioplegie.

Materiál a metody: Praktická experimentální práce na zvířecím modelu při experimentální kardiochirurgii

Výsledky: *Nepodáváme v premedikaci sedativa a farmaka působící imobilizačně (regurgitace z GIT a mikroaspirace do dýchacích cest)

*K premedikaci pouze atropin 0,04 mg/kg i.m. 30 minut před indukcí do anestézie

*Ovce velmi intenzivně reagují na aplikaci alfa2 agonistů, působí imobilizačně

*Aplikujeme prokinetika a spasmoanalgetika – přežvýkavec

*Nedokonalá sondáž žaludku – poligaster

*Obtížná intubace-malý prostor na manipulaci v orální dutině a nutnost velké ETK

*Nemožné katetrizovat močový měchýř beranům

*Kurarizace rocuronium 0,5 mg/kg pouze v jedné dávce-působí dlouhodobě

*UPV pro tympanii GIT- VCV s prodlouženým T insp

*Heparinizace 0,3 mg/kg t.j. 10x nižší než u člověka

*Krystaloidní kardioplegie nevýhodná pro fibrilace komor při odpojování z ECC, častý výskyt arytmií v bezprostředním pooperačním období, nutná kombinovaná podpora oběhu. Výhoda podání krevní kardioplegie

*Priming ECC–minimalizace mrtvého objemu, minimalizace náplně elektrolyty

*Perfuzní tlak při ECC-kontinuálně noradrenalin, zvýšení průtoku o 0,5 litru nad vypočtenou perfuzi

*Renální podpora furosemidem 2-4mg/kg/den

*Transfúze krve – ovce nemají primárně protilátky, získávají je sekundárně

*Úvod do anestézie kombinací midazolam 0,2mg/kg+fentanyl 5ug/kg+propofol 3mg/kg i.v.

*Vedení anestézie - O2+vzduch+isofluran, kontinuálně sufentanil 3ug/kg/hod

*Kontinuální analgosedace v pooperační péči sufentanil 1ug/kg/hod+propofol 8mg/kg/hod

*Extubace při normotermii, oběhové stabilitě bez oběhové podpory, drény neodvádí za cca 6-8 hodin po operaci v ECC.

*Podpora oběhu-noradrenalin 0,1-0,5ug/kg/min, případně kombinace s dobutaminem 2-5ug/kg/min

Závěr: Vypracovali jsme anesteziologický protokol vhodný na kardiochirurgické výkony u experimentálních ovcí. Protokol obsahuje přípravu zvířete k operaci, premedikaci, indukci a vedení celkové anestézie, specifika vedení mimotělního oběhu, podporu oběhu a bezprostřední pooperační péči.

P-24. ZMĚNY OBJEMU ASTROCYTŮ A REGULACE BUNĚČNÉHO OBJEMU V PRŮBĚHU STÁRNUTÍ

Turečková J. (1), Koleničová D. (1,2), Eliášová B. (1), Valný M. (1), Honsa P. (1), Kriška J. (1), Valihrach L. (3), Kubista M. (3), Anděrová M. (1,2)

1 - Oddělení buněčné neurofyziologie, Institut experimentální medicíny AVČR, Praha, 2 - Oddělení neurověd, 2. Lékařská fakulta UK, Praha, 3 - Laboratoř genové exprese, Biotechnologický ústav AVČR, Praha

Školitel: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Úvod: Astrocyty jsou multifunkční buňky, které hrají významnou roli ve vývoji mozku, ve fyziologických procesech i v patologii. Změny v morfologii a funkci astrocytů, ke kterým dochází v průběhu stárnutí, mohou přispívat ke vzniku a progresi různých neurodegenerativních onemocnění a demencí.

Cíl: Cílem práce je studium změn funkčních vlastností astrocytů v průběhu stárnutí, především schopnosti regulovat svůj objem v odpovědi na patologické stimuly.

Materiál a metody: Objemové změny astrocytů byly sledovány v mozkových řezech izolovaných z GFAP/EGFP myší ve věku 3, 9, 12 a 18 měsíců. Objem buněk byl kvantifikován metodou konfokální 3D morfometrie, která umožňuje měření objemu jednotlivých buněk v akutních tkáňových řezech, kde je zachováno jak extracelulární prostředí, tak mezibuněčné kontakty. Mozkové řezy byly exponovány 20i minutovému hypotonickému stresu nebo silné hyperkalémii (50mM K+). Funkce glutamátových transportérů (EAAT1, 2) a Na+-K+-Cl- kotransportéru (NKCC1) při změnách objemu astrocytů byla studována s použitím specifických inhibitorů.

Kvantitativní PCR na úrovni jedné buňky (single cell RT-qPCR) byla použita pro zmapování expresse genů v jednotlivých astrocytech značených zeleným fluorescenčním proteinem (EGFP). Pro vyhodnocení dat byla použita SOM analýza, která umožňuje rozdělení buněk do skupin podle podobnosti v míře exprese vybraných genů.

Výsledky: Expozice astrocytů vysokým koncentracím K+ vyvolala u tříměsíčních a dvanáctiměsíčních zvířat nárůst objemu o 65-70%, zatímco u devíti- a osmnáctiměsíčních pouze o 35-40%. Současná aplikace 50mM K+ a inhibitorů EAAT nebo NKCC1 transportérů způsobila zmenšení otoku astrocytů o 40, resp. 50%. Expozice hypotonickému stresu vedla ke stejným změnám objemu u všech věkových skupin (25-30%).

Na základě výsledků RT-qPCR byly značené astrocyty rozděleny do čtyř podskupin s podobnou expresí genů pro kanály a transportéry, které se účastní procesů vedoucích ke změnám objemu. Výskyt těchto čtyř populací se významně liší v průběhu stárnutí.

Závěr: Výsledky ukazují, že v průběhu stárnutí se u hipokampálních astrocytů mění exprese iontových kanálů a transportérů, což má zásadní vliv na funkční vlastnosti těchto buněk a jejich schopnost reagovat na různé patologické stimuly.

Podpora projektu: Práce je podporována z grantů GAČR 16-10214S, GAUK 636316.

P-25. THE EFFECT INTRATHECAL AND INTRAMUSCULAR APPLICATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS AND THEIR SECRETOME IN THE TREATMENT OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Monika Šeneklová (1,2*), Serhiy Forostyak (1,2) , Yuriy Petrenko (1), Pavla Jendelová (1,2)

1 - Institute of Experimental Medicine ASCR, Prague, Czech Republic; 2 - 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Supervisor: doc. RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

Introduction: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is characterized by degeneration and subsequent death of motor neurons leading to muscle atrophy, paralysis and death due to disorders of the respiratory muscles. The mesenchymal stem cells (MSCs) can be a promising tool for overcoming therapeutic problems. Research in the last decade strongly suggests that mesenchymal stem cells (MSCs)-mediated therapeutic benefits are mainly due to their secretome, which has been proposed as a possible therapeutic tool for the treatment of ALS.

Aims: The aim of this project was to clarify if the beneficial effects of MSC therapy are dependent on direct cell contact or if MSC mediate neuroprotection in an indirect way via condicioned medium (CM-MSC).

Materials and Methods: We transplanted hMSC and CM-MSC into symptomatic SOD1 ALS animals. The animals' motor functions were tested throughout the whole progress of the disease.

The treatment with hMSC was combined with MSC intramuscular application into hindlimb muscles to prevent dying-back axonal degeneration.

The underlying mechanisms of motor neuron death was revealed by analysis of the signaling molecules using western blotting and qPCR.

Results: Our results suggest that the repeated application of hMSC ameliorated disease progression, significantly improved motor activity and prolonged life span by approximately 20 days compared to the untreated animals. This effect was lesser after application of conditioned medium. The injection of hMSC in rat model was able to revert the ALS phenotype, potentiating the rescue of motor neurons in the ventral horn of spinal cord.

We founded that the application of MSCs decrease expression markers for apoptosis (Casp3, Bak) and necroptosis (MLKL, RIPk1,RIPk3) in spinal cord. This decrease could explain the preservation of motor neurons in the spinal cord after injection of hMSCs.

Conclusions: The potential effect of repeated application might be even more beneficial to ALS patients, who have longer disease progression and their cells can exert repeatedly the effect.

Support: This work was supported as a part of the project "Centre of Reconstructive Neuroscience " registration number CZ.02.1.01/0.0./0.0/15_003/0000419 financed by the Operational Programme Research, Development and Education provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year 2017.

P-26. EXTRACELLULAR MATRIX HYDROGELS FROM CNS AND NON-CNS TISSUES DEVELOPED FOR NEURAL TISSUE REPAIR

Vyborný K. (1,2), Koci Z. (1,2), Vackova I. (1), Lunov O. (3), Kubinova S. (1)

1 - Institute of Experimental Medicine, AS CR, Prague; 2 - 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague; 3 - Institute of Physics, AS CR, Prague

Supervisor: PharmDr. Sarka Kubinova, Ph.D.

Introduction: Extracellular matrix (ECM) scaffolds prepared by tissue decellularization preserve the composition, mechanical integrity, and biological activity of the native ECM suggesting that the molecular composition of these materials is an active factor in remodelling events. While ECM scaffolds are commonly used for various tissue reconstructions, including skin, muscles, bone, cartilage, trachea, lung or heart, there is little evidence of their use in CNS tissue reconstruction.

Aims: The aim of this study is to prepare injectable ECM hydrogels from CNS and non-CNS tissues and compare their physical, biochemical and biological properties in vitro.

Materials and Methods: Four types of ECM hydrogels were prepared by the decellularization of porcine brain (BM), porcine spinal cord (SCM), porcine urinary bladder (UBM) and human umbilical cord (WJM). All materials were characterized in terms of their residual DNA concentration as well as their collagen and glycosaminoglycans content. The morphologies and mechanical properties of the hydrogels were characterized by the scanning electron microscope (SEM). The gel point and rate of shear modulus were derived from rheological testing. Turbidimetric gelation kinetics was determined spectrophotometrically. The viability and migration of MSCs isolated from bone marrow, adipose tissue and Wharton jelly were evaluated using a WST assay and xCELLigence system. The neurotrophic properties of ECM hydrogels were assessed on dorsal root ganglion (DRG) explant cultures.

Results: All hydrogels can be successfully solubilized and formed into an injectable gel with a three-dimensional porous fibrillar structure. Turbidimetric gelation kinetics showed a sigmoidal shape for BM, SCM and UBM hydrogels, whereas WJM showed an exponential shape. The time required to reach half of the final turbidity was the longest for UBM and the shortest for WJM. In terms of composition, WJM hydrogels contained the highest concentration of sulphated glycosaminoglycans and collagen. All types of ECM hydrogels promoted the proliferation and migration of hMSCs as well as massive neurite sprouting out of DRG explants.

Conclusions: Although ECM hydrogels from CNS and non-CNS tissues do not reveal significant differences in their biological testing in vitro, dissimilarities in their composition, rheology and gelation kinetics can have possible effects on scaffold gelation in situ and lead to diverses tissue response after their injection into damaged neural tissue.

Support: GAČR 15-01396S and LO1309 of the MEYS CR

P-27. POROVNÁNÍ METOD PŘÍPRAVY NANOVLÁKENNÝCH NOSIČŮ OBOHACENÝCH O TROMBOCYTÁRNÍ LYOFILIZÁT

Vocetková K. (1,2), Sovková V. (1,2), Buzgo M. (3), Rampichová M. (2,3), Míčková A. (2,3), Amler E. (1,2,3)

1 - Ústav biofyziky 2.LF UK, 2 - ÚEM AV ČR, v.v.i., 3 - UCEEB ČVUT

Školitel: prof. RNDr. Evžen Amler, CSc.

Úvod: Nanovlákna jsou v regenerativní medicíně používaná jako nosiče a systémy pro dodávání bioaktivních látek. Mezi metody přípravy patří elektrostatické nebo centrifugační zvlákňování. Nanovlákenné vrstvy připravené centrifugačně mají více 3D strukturu v porovnání s nanovlákny připravenými elektrostatickým zvlákňováním.

Jejich struktura mimikuje extracelulární matrix a velký měrný povrch umožňuje obohacení o bioaktivní látky. Jejich vhodným zdrojem jsou krevní destičky, neboť obsahují široké spektrum růstových faktorů. Lyzováním a následnou lyofilizací je možné ovlivnit dobu jejich použitelnosti.

Cíl: Cílem této práce bylo připravit nanovlákenné nosiče obohacené o trombocytární lyofilizát elektrostatickým a odstředivým zvlákňováním a otestovat je in vitro za použití fibroblastů.

Materiál a metody: Destičky z buffy coatu v náhradním roztoku byly zlyzovány a zlyofilizovány; obsah jejich granul byl následně charakterizován na přístroji Bioplex.

Nanovlákenné nosiče typu jádro-plášť byly připraveny pomocí elektrostatického (24 % PCL, plášť) a centrifugačního zvlákňování (40 % PCL, plášť) s trombocytárním lyofilizátem inkorporovaným do jádra nanovláken (PF68) v koncentracích 1, 5 a 10 %. Neobohacené nosiče PCL byly použity jako kontrola. Nosiče byly charakterizovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie.

Poté byly nosiče osazeny linií myších 3T3 fibroblastů a jejich metabolická aktivita byla měřena pomocí MTS testu 1., 3., 7., 14. a 17. den experimentu. Obsah DNA na nosičích byl stanoven pomocí fluorescenčního kitu s PicoGreen™ sondou. Morfologie buněk byla vizualiazována na konfokálním a elektronovém mikroskopu.

Výsledky: SEM snímky nosičů ukázaly typickou morfologii pro PCL; nosiče připravené centrifugačním zvlákňováním měly větší porozitu a větší průměry vláken v porovnání s nosiči připravenými elektrostatickým zvlákňováním. Nosiče připravené elektrostatickým zvlákňováním s 10% obsahem jádrového polymeru ukázaly společně s kontrolou největší metabolickou aktivitu v průběhu experimentu. Na nosičích připravených zvlákňováním centrifugačním nebyla metabolická aktivita buněk významně podporována.

Závěr: Byly připraveny nosiče obsahující trombocytární lyofilizát metodami elektrostatického a centrifugačního zvlákňování. Optimální koncentrace a kinetika uvolňování enkapsulovaného trombocytárního lyofilizátu byla na nosičích obsahující 10% jádrový polymer. Na morfologii vláken (2D u elektrostatického zvlákňování, 3D u centrifugačního zvlákňování) reagovaly fibroblasty obdobně.

Podpora projektu: Tato práce byla podpořena následujícími granty: GA UK (1246314, 1262414, 512216 a 1228214), GA ČR (15-15697S a 16-28637A), MŠMT (NPU LO1508 a LO1309) a OPPK CZ.2.16/3.1.00/21528.

P-28. TROMBOCYTÁRNÍ LYZÁT JAKO NÁHRADA FETÁLNÍHO BOVINNÍHO SÉRA PRO KULTIVACI KOŽNÍCH BUNĚK NA BIOMIMETICKÝCH NANOVLÁKENNÝCH NOSIČÍCH

Sovková V. (1,2), Vocetková K. (1,2,3), Rampichová M. (2,3), Míčková A. (2,3,4), Buzgo M. (1,2,3), Lukášová V. (2,5), Daňková J. (1,2), Filová E. (2,6), Nečas A. (4), Amler E. (1,2,3,6)

1 - Ústav biofyziky, 2LF UK; 2 - ÚEM AV ČR; 3 - UCEEB ČVUT; 4 - VFU Brno; 5 - Přf UK Praha 6 - FBMI ČVUT

Školitel: prof. RNDr. Evžen Amler, CSc.

Úvod: Trombocyty jsou významným zdrojem přírodních růstových faktorů využitelných v tkáňovém inženýrství. Jejich výhodou je nízké riziko imunitní odpovědi příjemce, snadná dostupnost a nízká cena. Hlavní nevýhodou připravených trombocytů je krátká doba použitelnosti. Metoda lýzy trombocytů tuto bariéru překonává a umožňuje využití destičkových proteinů v řádech měsíců. Takto připravené lyzáty jsou vhodné i jako náhrada fetálního bovinního séra v buněčných kulturách pro klinické aplikace.

Pro simulaci přirozeného prostředí tkáně v in vitro podmínkách mohou být využity nanovlákenné nosiče, neboť se vyznačují tím, že svojí strukturou simulují extracelulární matrix.

Optimální podmínky použitého suplementu a nosiče pro adhezi buněk jsou nezbytné pro in vitro studie a mají vysoký potenciál pro transfer do aplikací in vivo.

Cíl: Cílem práce bylo vytvořit a optimalizovat pokročilý sytém pro kultivaci buněk založený na použití trombocytárního lyzátu v kombinaci s PCL nanovlákennými nosiči.

Materiál a metody: Pomocí systému BioPlex byly změřeny koncentrace jednotlivých růstových faktorů, cytokinů a dalších mediátorů v trombocytárním lyzátu. PCL nosiče byly osázeny 3T3 fibroblasty nebo XB2 keratinocyty, které byly suplementovány médiem s přídavkem různých koncentrací lyzátu nebo kombinací FBS a lyzátu. Proliferace a viabilita buněk byla hodnocena pomocí molekulárně biologických metod.

Výsledky: Výsledky ukázaly že 7% (v/v) lyzát je dostatečný pro stimulaci růstu fibroblastů i keratinocytů. Kombinace lyzátu a FBS má na fibroblasty spíše inhibiční efekt narozdíl od keratinocytů, kde efekt byl synergistický.

Závěr: Data naznačují, že trombocytární lyzát zlepšuje buněčnou proliferaci a může být použit jako suplement pro kultury 3T3 fibroblastů i XB2 keratinocytů.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (Granty č. 424213, 1246314, 1262414, 1228214), MŠMT v NPÚ I: projekt No. LO1605, LO15.

P-29. TERAPIE ROTÁTOROVÉ MANŽETY ZA POMOCI KMENOVÝCH BUNĚK

Havlas V., Koníček P.

Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2.LF UK a FNM

Školitel: doc. MUDr. Vojtěch Havlas, Ph.D.

Úvod: V rámci chirurgického řešení poranění šlachy rotátoru ramenního kloubu se ukazuje, že i přes technologický posun v léčbě daný rozvojem artroskopických technik a zlepšováním kvality fixačních materiálů zůstává vysoké procento reruptury šlachy po její operační rekonstrukci. Jednou možností, jak posílit biologii hojení šlachy, se v současné době ukazuje augmentace chirurgické rekonstrukce šlachy rotátoru za použití kmenových buněk. Cílem aplikace kmenových buněk je zlepšení prostředí pro hojivé procesy v oblasti spojení šlacha–kost a zvýšení regenerační kapacity původního úponu šlachy . Pro tento účel je recentně využíváno také multipotentních kmenových buněk získaných z kostní dřeně s diferenciačním potenciálem mezenchymální tkáně – mezenchymální kmenové buňky (mesenchymal stem cells, MSC). Na Klinice dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2 LF a UK a FNM probíhá klinická studie bezpečnosti aplikace lidských kultivovaných autologních MSC podaných peroperačně během artroskopické rekonstrukce šlachy rotátoru.

Cíl: Záměrem tohoto posteru je zhodnotit nynější výzkum týkající se využití MSC v rekonstrukci šlachy rotátoru in vivo a seznámit s vlastním přínosem k této oblasti výzkumu.

Materiál a metody: Kolektiv autorů pracoviště spustil in vivo lidskou studii - aplikaci MSC při artroskopické sutuře rotátorové manžety, ze které jsou předběžné výsledky bezpečnosti metody. Do této studie bylo zařazeno 10 pacientů, kteří byli sledováni 6 týdnů, 3 měsíce a 6 měsíců pooperačně. Při kontrole bylo zhodnoceno klinické vyšetření, škála bolestivosti VAS a funkce ramenního kloubu podle subjektivních dotazníků UCLA a Constant skóre.

Výsledky: V porovnání se stavem před operací se výsledky klinického vyšetření, hodnocení VAS, UCLA a Constant skóre významně zlepšily při všech kontrolách. Nález MR v 6 měsících od operace ukázal celistvou strukturu tkáně rotátorové manžety u všech sledovaných pacientů. Během studie nebyly zjištěny žádné vedlejší účinky či komplikace.

Závěr: Danou problematikou se zabývá řada výzkumných týmů v zahraničí i v tuzemsku, probíhají studie jednak na zvířecích modelech, jednak u člověka - jsou publikovány první výsledky z hlediska bezpečnosti metody. Výsledky prací jak zahraničních, tak tuzemských jsou slibné, nicméně pro uvedení dané metody léčby do praxe bude nutný další klinický výzkum.

Podpora projektu: Práce byla vypracována za podpory projektu koncepčního rozvoje výzkumné organizace č. 00064203.

P-30. SIMULTÁNNÍ TRAUMATICKÁ RUPTURA LIGAMENTUM PATELLAE A KONTRALATERÁLNÍ RUPTURA M. QUADRICEPS FEMORIS

Hladký V., Havlas V.

Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF UK a FNM Praha

Školitel: doc. MUDr. Vojtěch Havlas, PhD.

Úvod: Poškození extenzorového aparátu kolene je běžným avšak závažným poraněním. V případě oboustranného postižení je stav významně komplikován, zejména z pohledu následné terapie. Kombinace ruptury lig. patellae na straně jedné a ruptury m. quadriceps femoris na straně druhé je považována za zcela raritní.

Cíl: Cílem sdělení je prezentovat použitý individualizovaný postup a zhodnotit výsledek léčby u ošetřeného pacienta s níže popsaným poraněním. V neposlední řadě chceme porovnat výše uvedené s dostupnými literárními prameny.

Materiál a metody: Prezentujeme případ 64letého pacienta s oboustranným poraněním kolenních kloubů po běžném pádu. BMI pacienta byl 30,4, hmotnost 93 kg, výška 175. Mimo perorální antidiabetika při diabetes mellitus II. typu byl pacient bez dalších komorbidit. U pacienta byla diagnostikována ruptura šlachy m. quadriceps femoris vlevo a ruptura lig. patellae vpravo. 2. den hospitalizace byl pacient odoperován. Ruptura lig. patellae řešena naložením distanční cerkláže a poté suturou ligamenta. Šlacha m. quadriceps femoris refixována do oblasti původního úponu kostními stehy. Po výkonu byly kolenní klouby fixovány ortézou v plné extenzi.

Od prvního pooperačního dne byla zahájena vertikalizace nejprve v chodítku a za použití ortéz. Od 6. týdne bylo nahrazeno chodítko francouzskými holemi a bylo započato pasivní cvičení hybnosti v obou kolenních kloubech s progresivním navyšováním rozsahu pohybu. Od 8. pooperačního týdne bylo zahájeno cvičení aktivní hybnosti. V 11 týdnech pooperačně povolena flexe v kolenních kloubech do 120°. Ortézy již snímány na noc. Od 12. týdne ortézy zcela vysazeny. Nadále však chůze o francouzských holích. Po 14 týdnech provedeno odstranění cerklážní smyčky. V necelých 16 týdnech od extrakce odložení berlí a umožněna běžná zátěž. Sportovní zátěž však povolena až po 6 měsících od operace.

Výsledky: Po extrakci kovu v necelých 16 týdnech pooperačně byla flexe v obou kolenních kloubech plná. Vlevo nadále přetrvával deficit extenze cca 5°. Kontrolní rtg P kolena vykazoval i po extrakci kovů správné postavení pately v obou projekcích s Insallovým-Salvatiho indexem 0,9.

Závěr: Současné poranění ligamentum patellae a m. quadriceps femoris lze bezpochyby považovat za raritní. Ve shodě s literaturou lze souhlasit, že klinické výsledky operační léčby ruptury ligamentum patellae i m. quadriceps femoris jsou ve většině případů dobré. Podmínkou jsou však včasná a správná diagnostika a adekvátní terapie s odpovídající rehabilitací.

P-31. DISTRIBUCE RIZIKOVÝCH FAKTORŮ MELANOMU V ČESKÉ POPULACI A JEJICH APLIKACE DO PRIMÁRNÍ PREVENCE

Rajská L. (1,2), Šmerhovský Z. (2), Hercogová J. (1), Göpfertová D. (2)

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

Školitel: doc. MUDr. Dana Göpfertová, CSc.

Úvod: V České republice je hlášeno jedno z nejvyšších čísel incidentních záchytů maligního melanomu (MM) v Evropě a případů stále přibývá. Uvedená studie si kladla za cíl vyhodnotit váhu známých rizikových faktorů pro vznik melanomu, a jejich použitelnost pro sekundární, případně primární prevenci maligního melanomu v České republice.

Cíl: Cílem studie bylo vyhodnotit sílu asociace známých a všeobecně uznávaných rizikových faktorů pro vznik MM v České republice, která je, na rozdíl od populací v zemích, kde byly faktory rozpoznány, výrazně homogennější a proto příspěvek těchto rizikových faktorů k celkovému riziku vzniku melanomu může být jiný, než v zemích, kde se tyto studie prováděly.

Materiál a metody: Studie byla provedena jako studie případů a kontrol, kdy případy tvoří incidentní záchyty melanomů na Dermatovenerologické klinice Nemocnice Na Bulovce (NNB). Kontroly byly vybírány mezi pacienty hospitalizovanými na jiném než kožním oddělení, kteří netrpěli žádným zhoubným novotvarem.

Výsledky: Od června 2011 do konce prosince 2014 bylo na Dermatovenerologické klinice NNB detekováno a histologicky verifikováno celkem 174 incidentních případů MM, ke kterým bylo párováním na věk vybráno 345 nemocničních kontrol. Testovány byly vztahy na mezi známými rizikovými faktory pro vznik melanomu tak, jak jsou používány v dotazníku vytvořeném „Euromelanoma Task Force of European Academy of Dermatology and Venereology".

Na multivariátní úrovni byly prokazatelné pouze asociace melanomu s pouhými pěti z nich. Jako rizikové faktory se uplatnily mužské pohlaví, změna kožního znaménka a především výskyt kožního nádoru v minulosti a také návštěva solárií. Jako protektivní faktor se uplatnilo používání ochranných opalovacích prostředků. Zbývající faktory se ve vícerozměrové analýze jako signifikantní faktory neuplatnily.

Závěr: Z výsledků studie vyplývá, že většina popisovaných rizikových faktorů, se v homogenní české populaci zřejmě nedá efektivně použít, a že je třeba problematiku rizikových faktorů ještě otevřít. Ze sady 18 rizikových faktorů používaných v dotazníku, bylo s rizikem melanomu asociováno pouze 5 z nich. Vztahy mezi některými sledovanými faktory jsou složitější a nelze vyloučit jejich vzájemné interakce. Z výsledků studie vyplývá, že odhad rizika vzniku melanomu na základě přítomnosti etablovaných rizikových faktorů uváděných v dotazníku a bivariátních vztahů, není pro českou populaci optimální.

Podpora projektu: Studie byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NT 12401.

P-32. MŮŽE BÝT I-FABP BIOMARKEREM PRO POŠKOZENÍ STŘEVA U PACIENTŮ S GASTROSCHÍZOU?

Frýbová B. (1), Kokešová A. (1), Coufal Š. (2), Rygl M. (1)

1 - Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole; 2 - Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky

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

Úvod: Gastroschíza je nejčastější vrozený defekt břišní stěny s incidencí 1:4000 živě narozených dětí. Bylo zjištěno, že I-FABP (intestinal fatty-acid binding protein) je slibným markerem probíhající nekrotizující enterokolitidy. V návaznosti na tyto výsledky jsme se rozhodli realizovat studii, která by porovnala hladiny I-FABP s postnatálním vývojem u pacientů s gastroschízou a zjistit, zda by I-FABP mohl sloužit jako biomarker poškození střeva.

Cíl: Cílem prospektivní studie bylo zjistit, zda hladina I-FABP koreluje s postnatálním vývojem novorozence s gastroschízou a zda by I-FABP mohl sloužit jako biomarker poškození střeva.

Materiál a metody: Do prospektivní studie byli zařazeni pacienti s gastroschízou přijatí na Kliniku dětské chirurgie FN v Motole v letech 2012 – 2015. Vzorky moči byly odebírány každých 6 hodin po operačním výkonu až do 48. hodiny a hladina I-FABP byla měřena metodou ELISA. Dynamika hladiny I-FABP byla hodnocena u pacientů s jednoduchou a komplexní gastroschízou, dále u pacientů po primárním uzávěru břišní stěny a u pacientů s uzávěrem pomocí Gore-texového sila. Hladina I-FABP byla porovnána s postnatálním vývojem (s délkou hospitalizace, s dobou do počátku enterálního příjmu 20ml/kg/den a s celkovou dobou parenterálního příjmu).

Soubor byl statisticky zpracován pomocí Mann-Whitneyho testu a Spearmanova koeficientu korelace (r).

Výsledky: Do studie bylo zařazeno 24 pacientů s jednoduchou a 6 pacientů s komplexní gastroschízou. 22 pacientů bylo chirurgicky řešeno primárním uzávěrem břišní stěny, 8 pacientů pomocí sila. Nebyla nalezena statisticky významná korelace mezi hladinou I-FABP u pacientů s jednoduchou a komplexní gastroschízou (p=0.1). Statisticky významně se hladina I-FABP nelišila ani u pacientů po primárním uzávěru a u pacientů po použití sila (p=0.59). Hladina I-FABP nesouvisela s délkou hospitalizace (r=0.19), s dobou do počátku enterálního příjmu 20ml/kg/den (r=0.26), ani s celkovou dobou parenterálního příjmu (r=0.34).

Závěr: Hladina I-FABP nekoreluje s postnatálním vývojem novorozenců s gastroschízou, není vhodným biomarkerem pro poškození střeva u této vrozené vývojové vady.

Podpora projektu: Projekt vznikl za podpory grantu GA UK 159115.

P-33. EMOTION RECOGNITION AND FAUX-PAS IDENTIFICATION IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY PATIENTS

Martinkovic L., Amlerova J. and Marusic P.

Department of Neurology, Charles University, 2nd Faculty of Medicine, University Hospital Motol, Prague

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

Introduction: Emotion recognition from facial expression and identification of social faux-pas depend on intact temporal lobe structures. There is extensive evidence that patients with temporal lobe epilepsy (TLE) are frequently impaired in these functions.

Aims: The aim of our study was to assess the correlation between emotion recognition, faux-pas identification, and amygdalar and hippocampal volumes in TLE patients.

Materials and Methods: An experimental Emotion Recognition Test (ERT) adapted from Ekman and Friesen and short version of Faux Pas Test (FPT) were used to evaluate emotion recognition and social cognition in a group of patients with unilateral, refractory TLE (6 with right-sided and 8 with left-sided). Based on high-resolution MRI (T1-weighted images, 1.5mm slice thickness, perpendicular to AC-PC line) amygdala and hippocampus volumetry was manually performed. Volumes were measured in coronal sections by InsightSnap software and normalized to intracranial volume.

Results: Almost 36 % of TLE patients scored abnormal in ERT and 50 % in FPT irrespective of the epilepsy lateralization. The volume of amygdala and hippocampus did not correlate with the performance in the ERT nor the FPT. There was a trend in correlation between the low score in ERT and the volume of ipsilateral amygdala (Pearson correlation test, r= -0,44; p= 0,11). On the other hand, the patient with most prominent bilateral atrophy showed no functional impairment.

Conclusions: In our small cohort of TLE patients the volume of amygdala or hippocampus did not predict the performance on ERT or FPT which allow us to hypothesize that rather functional network changes may be responsible for the impairment.

Support: This work was supported by grant projects IGA MZCR NT/11536-5 and GAUK 334911/2011.

P-34. TŘI DE NOVO VARIANTY V GENU CDKL5 VEDOUCÍ KE TVORBĚ ABERANTNÍHO TRANSKRIPTU JSOU PŘÍČINOU ZÁVAŽNÉ EPILEPTICKÉ ENCEFALOPATIE U NAŠICH PACIENTŮ

Neupauerová J. (1), Štěrbová K. (2), Vlčková M. (3), Staněk D. (1), Sebroňová V. (2), Maříková T. (3), Krůtová M. (1), Seeman P. (1), Laššuthová P. (1)

1 - DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 2 - Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 3 - Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: MUDr. Petra Laššuthová, Ph.D.

Úvod: Patogenní varianty v CDKL5 byly popsány jako příčina CDKL5-epileptické encefalopatie. Je X-vázaným onemocněním s časným nástupem, těžkým psychomotorickým opožděním a většinou nekompenzovatelnými záchvaty.

Cíl: Popsat tři de novo varianty v CDKL5 genu nalezené pomocí masivně paralelního sekvenování u pacientů s epileptickou encefalopatií.

Materiál a metody: Pacienty jsme zařadili na vyšetření panelu genů spojovaných s různými formami epilepsií (112 genů) zahrnující také gen CDKL5 (NM_003159.2).

Výsledky: Byly nalezeny tyto varianty: p.Gln860* (c.2578C>T) v hemizygotním stavu v exonu 18 CDKL5 genu u chlapce, varianta (c.463+5G>A) v intronu 7 v heterozygotním stavu ovlivňující normální splicing u dívky, mRNA studií se nám podařilo prokázat aberantní sestřih. Třetí je mozaiková delece p.Glu416Valfs*2 (NM_003159.2; c. 1247-1248del), v současnosti probíhá její dovyšetření odběrem nového vzorku z jiné tkáně. Nalezené varianty jsme ověřili Sangerovým sekvenováním, u zdravých rodičů nebyly nalezeny, byla ověřena parentita. Varianty nebyly dosud popsány, splňují kritéria dle ACMG.

U všech 3 pacientů je věk nástupu v prvních měsících života, opoždění ve vývoji, absence řeči, nedostatečný oční kontakt a farmakorezistentní záchvaty.

Závěr: Nálezem kauzálních variant v CDKL5 již u třech pacientů považujeme varianty v tomto genu za relativně časté, jsou 4. nejčastější příčinou epilepsií u našich pacientů. CDKL5 encefalopatie mají klinicky rozpoznatelné znaky: časný nástup onemocnění s rezistencí na antiepileptickou léčbu, psychomotorické opoždění, absence řeči a poruchy ve vidění. Všechny mutace vedou ke vzniku aberantního transkriptu, u jedné jsme to prokázali i sekvenováním cDNA. Třetí varianta ukazuje, že i mozaicismus pro variantu v CDKL5 nejspíše může být příčinou epileptické encefalopatie.

Podpora projektu: Podpořeno grantem GA UK 438216.

P-35. RADIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ PŘI PODEZŘENÍ NA TÝRANÉ DÍTĚ VE FAKULTNÍ NEMOCNICI V MOTOLE (FNM)

Popelová E., Roček M.

Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Miloslav Roček, CSc.

Úvod: Při třesení dítětem (shaken baby syndrome) může dojít k vzniku extraaxiálního krvácení a k poruše vědomí. Na skeletu dochází k frakturám žeber a drobným metafyzárním avulzím. Při podezření na týrání u nejmladších dětí je proto nezbytné provést komplexní a cílené radiologické vyšetření skeletu. V České Republice dosud neexistuje národní doporučení pro použití zobrazovacích metod při podezření na týrané dítě.

Cíl: Cílem této práce bylo vyhodnotit radiologický postup při podezření na týrané dítě ve věku do dvou let ve FNM. Shoduje se tento postup s doporučením Child Abuse Taskforce Evropské pediatrické radiologické společnosti (ESPR)?

Materiál a metody: V radiologické databázi byla vyhledána vyšetření hlavy pomocí počítačové tomografie (CT) u dětí do dvou let v období 2010-2014. U pacientů s anamnézou poruchy vědomí nebo křečí bylo vyhodnoceny nálezy CT vyšetření. V případě patologického nálezu, který neodpovídal anamnéze, bylo zjišťováno, jaký byl další radiologický postup a radiologický závěr.

Výsledky: CT hlavy podstoupilo celkem 208 dětí. U 39 dětí bylo CT vyšetření provedeno pro anamnézu poruchy vědomí, křečí, či jejich kombinaci. 6/39 (15%) z těchto pacientů mělo patologický nález neodpovídající anamnéze (extraaxiální krvácení, edém a extraaxiální krvácení, extraaxiální krvácení a kontuze mozku, extraaxiální krvácení a fraktura kalvy, extraaxiální krvácení, fraktura kalvy a kontuze mozku, extraaxiální krvácení a přesun středových struktur). U všech 6 pacientů byl proveden rentgenový snímek (RTG) hrudníku. U jednoho pacienta nebylo provedeno žádné další radiologické vyšetření skeletu. U 3/6 (50%) pacientů byl proveden RTG snímek horních a dolních končetin. U jednoho pacienta byl proveden kostní protokol. V jednom případě byl zhotoven babygram. U 4/6 (67%) pacientů byly RTG snímky popsány jako normální. Ve dvou případech (33%) byly závěry nejednoznačné.

Závěr: Pouze u jednoho pacienta bylo provedeno vyšetření kostního protokolu v souladu s mezinárodním doporučením. V ostatních případech byla radiologická vyšetření nedostačující. Radiologické závěry byly ve většině případů negativní. Pokud bylo vysloveno podezření na patologický nález, chyběla míra jistoty radiologa a doporučení dalších kontrol, případně doplňujících vyšetření, které by nález pomohly objasnit. Je žádoucí vytvořit národní doporučení, které by českým radiologům pomohlo zorientovat se v komplexní problematice radiodiagnostiky týraného dítěte.

P-36. DATABÁZE PROTEINOVÝCH DOMÉN MAPOVANÝCH NA LIDSKÝ GENOM

Staněk D. (1), Bis D. (2), Saghira C. (2), Rebelo A. (2), Abrams A. J. (2), Zuchner S. (2), Seeman P. (1), Laššuthová P. (1)

1 - DNA laboratoř KDN 2.LF UK a FNM; 2 - Department of Human Genetics and John P. Hussman Institute for Human Genomics, Miller School of Medicine, University of Miami, Miami, FL 33136, USA;

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Petra Laššuthová, Ph.D.

Úvod: Pro hodnocení genetických variant z dat získaných z MPS sekvenování je dnes využíváno mnoho anotačních nástrojů. Žádný z těchto nástrojů ale neposkytuje přímou informaci o tom, jestli je specifická DNA varianta translací překládána do specifického místa proteinu. Databáze NCBI poskytuje informace o proteinových doménách a dalších důležitých oblastech v rámci proteinu, avšak bez vazby na strukturu DNA.

Cíl: Cílem tohoto projektu je vytvoření databáze proteinových domén a dalších oblastí namapovaných na lidský genom, uživateli pak bude umožněno dle genomické lokace vyhledat příslušné oblasti v proteinu.

Materiál a metody: Pro získání dat z databáze NCBI bylo využito vestavěného programového balíku Entrez Programming Utilities. Díky této knihovně je možné získat všechny požadované informace o proteinech. Tato data byla dále zpracována, byla provedena zpětná translace a nakonec byly záznamy namapovány na referenční genom hg19 a uloženy do MySQL databáze.

Výsledky: Výsledkem je webová stránka dostupná na adrese: http://hihg.med.miami.edu/code/http/web/, která umožňuje přístup do databáze. Po zadání genomické lokace (např: chr2:15229777) dojde k nalezení záznamu s následujícími údaji: název genu, RefSeq ID pro gen i protein (NM_xxx a NP_xxx), typ (Region/Site), kompletní záznam z NCBI a chromosomální lokace (začátek a konec proteinové domény) s tím, že jednotlivé záznamy byly rozděleny, aby pokrývaly pouze kódující oblasti.

Závěr: Výsledná databáze tak poskytuje zcela novou informaci pro vyhodnocování MPS dat a evaluaci variant. Informace z databáze mohou identifikovat nové varianty ovlivňující správnou funkci proteinů a nabízejí další cennou informaci pro zpracování velkého množství variant produkovaných MPS sekvenováním.

Podpora projektu: Projekt byl financován v rámci grantu AZV-16-30206.

P-37. ÚLOHA mTOR SIGNÁLNÍ DRÁHY V ANTIDEPRWESIVNÍM ÚČINKU KETAMINU U POTKANA

Holubová K., Kletečková L., Valeš K.

Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

Školitel: RNDr. Karel Valeš, Ph.D.

Úvod: V animálním modelu deprese jsme zkoumali úlohu mTOR signální dráhy v antidepresivním účinku ketaminu. Bilaterální olfaktorická bulbektomie narušuje integritu limbického systému a následně vede k behaviorálním, anatomickým a biochemickým změnám.

Cíl: 1) Validovat olfaktorickou bulbektomii jako animální model deprese

2) Stanovit možný antidepresivní účinek aplikace ketaminu v dávce 10 mg/kg v behaviorálních testech

3) Stanovit vliv aplikace rapamycinu (1 mg/kg), inhibitoru mTOR signální dráhy, na výkon zvířat

Materiál a metody: Sestavili jsme baterii behaviorálních testů, ve kterých jsme testovali zvířata 3 týdny po operaci. Vybrané behaviorální testy posuzovali lokomoční aktivitu (open field), anxietu (vyvýšené křížové bludiště) a kognitivní funkce (kolotočové bludiště) protože mezi změny pozorované po bulbektomii mimo jiné patří hyperlokomoce v novém prostředí, snížená anxieta a deficity v učení a paměti. Rychlý účinek ketaminu je připisovaný aktivaci mTOR signální dráhy. Rapamycin je inhibitor mTOR signální dráhy a jeho aplikace by měla vést k snížení antidepresivního účinku ketaminu. Potkanům kmene Wistar byl podán ketamin, fyziologický roztok, ketamin+rapamycin anebo fyziologický roztok+rapamycin 24 hodin před prvním testem.

Výsledky: Bulbektomovaní (OBX) potkani se signifikantně lišili od kontrol ve všech použitých testech. Jednorázová aplikace ketaminu znormalizovala lokomoční aktivitu OBX potkanů ve vyvýšeném křížovém bludišti a rapamycin blokoval antidepresivní účinek ketaminu v závislosti od behaviorální úlohy. OBX zvířata vykazovala zvýšenou citlivost na podané látky ve srovnání s kontrolami, u kterých se efekt látky neprojevil v žádné úloze.

Závěr: Olfaktorická bulbektomie indukovala změny ve fenotype, které odpovídali depresi-podobnému chování. Míra stresu, které byli zvířata vystavené během behaviorálních testů, měla opační vliv na OBX a SHAM zvířata. Neuronální mechanismus zodpovědný za tuto dichotomii musí být ještě objasněn. Aktivace a inhibice mTOR dráhy neměla očekávaný efekt na výkon zvířat v testech. To poukazuje na to, že antidepresivní účinek ketaminu nemusí být exkluzivně zprostředkovaný aktivaci mTOR dráhy, případně, že dysfunkce mTOR dráhy nemusí být jediným kauzálním faktorem deprese.

Podpora projektu: Projekt byl financován grantem IGA MZ ČR NT/13403.

P-38. MODIFIED INJECTABLE THERMORESPONSIVE HYDROGELS IN SPINAL CORD INJURY

Karova K. (1,2), Machova-Urdzikova L. (1), Vetrik M. (3), Hruby M. (3), Jendelova P. (1,2)

1 - Department of Tissue Cultures and Stem Cells, Institute of Experimental Medicine AS CR, Praha; 2 - 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Praha; 3 - Department of Supramolecular Polymer Systems, Institute of Macromolecular Chemistry, AS CR, Praha

Supervisor: doc. RNDr. Pavla Jendelova, Ph.D.

Introduction: Several detrimental processes take place after spinal cord injury (SCI), such as glutamate (Glu) excitotoxicity or oxidative stress. Glutamate is released causing overstimulation and death of neurons. High levels of reactive oxygen species are generated and cause lipid peroxidation and destruction of cell membrane. Thermoresponsive polymer pNIPAM (poly – N – isopropyl – acrylamide) was modified with glutamate oxidase (GO) or superoxid dismutase (SOD) to target glutamate or superoxide release and to reduce secondary injury in rats.

Aims: The aim of this project was to evaluate effects of these biomaterials 1, 6 and 24 hours after application. Changes in gene expression involved in apoptosis (Bax, Bcl-2, Casp3), oxidative stress response (Cat), inflammation (IL-2, IL-6, IL-12b, IL10) and macrophage phenotype (Irf5) were determined. Levels of macrophages (CD68+) were investigated and concentration of free Glu in CSF was measured.

Materials and Methods: SCI was performed on male Wistar rats using a balloon compression model at level Th8. Immediately after SCI, 30 µl of pNIPAM, GO - pNIPAM or SOD – pNIPAM was injected into the lesion site. At 1, 6 and 24 hours after application, CSF was used to determinine Glu concentrations spectrophotometrically. Spinal cord tissue was collected from perfused rats 1, 6 and 24 hours after SCI, embedded in parafin and sectioned (5 µm) for IHC staining for CD68. RNA was isolated and transcribed into cDNA for RT-PCR analysis.

Results: Gene expression analysis 1 h after application revealed that Bax was downregulated as well as IL-2, IL-6, IL-10 and Irf5. Upregulation was observed in IL-12b, Cat and Casp3. Interestingly, all investigated genes were downregulated 6 hours after application, however at 24 h, Bax, Bcl-2 (excl. SOD-pNIPAM), IL-2, Irf5, Cat, Casp3 (excl. GO-pNIPAM) were upregulated. Analysis of free Glu in CSF did not reveal significant differences, but the lowest levels were detected in GO – pNIPAM group at 6 and 24 hours. IHC showed significant decrease in CD68+ cells 1 hour after implantation, however an increase at later time points was observed with the highest rate in GO – pNIPAM group.

Conclusions: Results suggest that the most pronounced effect is at early time points with reduced immunological response (dowregulation of cytokines, proapoptotic Bax and Casp3, low numbers on CD68+ cells). These biomaterials could serve as complementary to other approaches or in combination with stem cell therapy.

Support: MEYS CZ-NOR research program CZ09, project 7F14057, GACR P304/12/G069

P-39. 5-HYDROXYDEKANOÁT NEOVLIVNIL ODOLNOST NEONATÁLNÍHO SRDCE K ISCHEMICKO-REPERFUZNÍMU POŠKOZENÍ

Doul J. (1), Charvátová Z. (1), Ošťádalová I. (2), Maxová H. (1), Ošťádal B. (2)

1 - Ústav patologické fyziologie 2. LF UK; 2 - Fyziologický ústav AV ČR

Školitel: MUDr. Zuzana Charvátová, Ph.D.

Úvod: Rozsah ischemického poškození srdečního svalu nezávisí pouze na intenzitě a trvání ischemického inzultu, ale také na odolnosti srdce k nedostatku kyslíku, která v průběhu ontogenetického vývoje klesá. Odolnost srdce k ischemii lze zvýšit řadou kardioprotektivních mechanizmů, jako jsou ischemický preconditioning a postconditioning. V mechanizmech kardioprotektivních intervencí se mimo jiné uplatňuje otevření mitochondriálního K-ATP kanálu.

Cíl: Cílem práce bylo snížit vysokou odolnost neonatálního srdce blokátorem mito-K-ATP kanálu 5-hydroxydekanoátem (5-HD) aplikovaným v reperfuzi.

Materiál a metody: K pokusům byla použita mláďata laboratorního potkana kmene Wistar ve stářích 1, 4, 7 a 10 dnů. Mláďata byla usmrcena dekapitací, hrudník rychle otevřen a srdce vyjmuto a perfundováno metodou dle Langendorffa Krebs-Henseleitovým roztokem. Síla kontrakce (DF) byla měřena izometrickým snímačem. V prvním experimentu byla srdce po stabilizaci perfundována 500mM roztokem 5-HD a následně vystavena 40 minutám globální ischemie, po které následovala reperfuze do maximální obnovy síly kontrakce. Prvních 20 minut reperfuze byla srdce opět perfundována roztokem 5-HD. V druhém experimentu byl vyvolán postconditioning aplikací pěti cyklů 10-ti sekundové ischemie. 5-HD byl aplikován analogicky jako v prvním experimentu. Odolnost srdce byla vyjádřena jako míra obnovení síly kontrakce.

Výsledky: Odolnost srdečního svalu k ischemii se mezi 1. a 4. dnem postnatálního života neměnila, 7. a 10. den následoval významný pokles. V žádném z testovaných stáří 5-HD signifikantně neovlivnil odolnost srdce k ischemii. 5-HD ovšem signifikantně prodloužil dobu do obnovení kontraktility 4. a 10. den. Ischemický postconditioning signifikantně zvýšil obnovu kontraktilních funkcí u 10-ti denních potkanů, ale 5-HD tento kardioprotektivní efekt neovlivnil.

Závěr: 5-HD nesnížil ani odolnost neonatálního srdce k ischemicko-reperfuznímu poškození ani kardioprotektivní efekt ischemického postconditioningu. Zdá se tedy, že v těchto dvou případech se mito-K-ATP kanály na regulaci odolnosti nepodílejí.

Podpora projektu: Tato studie byla podporována Grantovou agenturou České republiky (GAČR 13-01710S).

P-40. KONTINUÁLNÍ MĚŘENÍ GLUKÓZY U NOVOROZENCŮ DIABETICKÝCH MATEK

Tabery K. (1), Zoban P. (1), Štechová K. (2)

1 - Novorozenecké odd., Gyn.-por. klinika 2.LF UK a FN Motol. 2 - Interní klinika 2. LF UK a FN Motol

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

Úvod: Novorozenci matek s diabetem jsou více ohroženi poporodní hypoglykémií než novorozenci zdravých matek. To platí i v případě, že se dítě diabetické matky jeví jinak jako zcela fyziologický novorozenec. Dle současných světových doporučení se novorozenci ohrožení glykémií vyšetřují pravidelně pouze prvních 24 života. Toto vyšetřování je pro matku i dítě stresující a narušuje utvoření jejich vzájemné vazby. Použití kontinuálního měření glukózy (CGM) je bezpečnou a spolehlivou alternativou, která může být použita od prvních hodin po porodu. CGM navíc může odhalit i dříve nezachytitelné klinicky němé hypoglykémie. Dlouhodobé následky těchto skrytých hypoglykémií nejsou zatím známy.

Cíl: Zdokumentování adaptace glukózové homeostázy u novorozenců matek pregestačně přítomným diabetem i gestačním diabetem na inzulinové terapii. Zhodnocení vlivu skrytých hypoglykémií na psychomotorický vývoj jejich dětí.

Materiál a metody: Subkutánní senzor pro kontinuální měření hladiny glukózy je použit prvních pět dní života nebo do propuštění z nemocnice. Data, která jsou bezdrátově přenášena do přijímače, jsou následně statisticky hodnocena. Ve dvou letech života je psychomotorický vývoj posouzen pomocí Bayley Scales of Infant Development III.

Výsledky: Byl pořízen záznam od 31 novorozenců diabetických matek (gest.věk 35.-39. týden) v délce 26 – 164 hod. Zjistili jsme u 16 z nich klinicky němé hypoglykémie i po prvních 24 hodinách života. Ze 33 našich dětí musely být dvě hospitalizovány na JIP pro protrahovanou (nad 120 min.) hypoglykémii. Hodnocení psychomotorického vývoje proběhlo zatím u 10 dětí.

Závěr: CGM je účinnou metodou k zachycení klinicky zjevných, ale především němých hypoglykémií u novorozenců diabetických matek. Dopad těchto hypoglykémií na psychomotorický vývoj dítěte bude zhodnocen po ukončení studie.

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

P-41. PŘÍSPĚVEK DĚDIČNÝCH FAKTORŮ K ETIOLOGII ATRÉZIE ŽLUČOVÝCH CEST

T. Dědič (1), M. Jirsa (2), M. Rygl (4), J. Šnajdauf (4), R. Keil (3), Š. Průhová (1), J. Lebl (1), R. Kotalová (1)

1 - Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty a FNM, Praha, Česká republika; 2 - Laboratoř Experimentální Hepatologie IKEM, Praha, Česká Republika; 3 - Interní klinika 2. lékařské fakulty UK a FNM, Praha, Česká republika; 4 - Klinika dětské chirurgie 2. lékařské fakulty a FNM, Praha, Česká republika

Školitel: MUDr. Radana Kotalová, CSc.

Úvod: Neonatální cholestáza je důsledkem řady závažných vrozených onemocnění, ale i některých získaných patologických stavů. Obraz cholestatického ikteru je nespecifický a vyžaduje rychlou diferenciální diagnostiku. Jedna z nejčastějších příčin neonatální cholestázy je biliární atrézie (BA), která představuje hlavní indikaci k transplantaci jater u dětí. Etiologie tohoto onemocnění je heterogenní. V časném kojeneckém věku může klinický obraz biliární atrézie napodobit řada onemocnění - např. Alagilleův syndrom (AGS), stavy na podkladě mutací v genu HNF1B a další.

Cíl: Naším cílem bylo identifikovat nositele mutací v JAG1 v souboru dětských pacientů se suspektním AGS (4) a s BA (72). Dále jsme zjišťovali podíl mutací v genu HNF1B v etiologii a patogenezi BA.

Materiál a metody: V letech 1998 – 2012 bylo na gastroenterologickém pracovišti Pediatrické kliniky 2. LF UK a FNM vyšetřeno 310 pacientů s neonatální cholestázou. Na základě klinického a laboratorního vyšetření bylo u 127 pacientů se suspektní BA indikováno k provedení ERCP. U 96 pacientů byl zjištěn patologický nález na žlučových cestách s nutností následné operační revize. U zbývajících 31 pacientů byl nález na žlučových cestách normální. U 72 žijících (z původních 96) pacientů s izolovanou BA a u 4 nemocných se suspektním AGS a s normálním nálezem na žlučových cestách byla provedena mutační analýza genu JAG1. U 4 pacientů s cystickou formou BA bylo provedeno komplexní vyšetření genu HNF1B.

Výsledky: Ve 4 rodinách s podezřením na AGS a ve 3 rodinách s BA bylo zachyceno sedm nových mutací - jedna missense [c.402G>T (p.Leu134Phe)], dvě nonsense [c.1899_1900delTG(p.Cys633*), c.879_880delTG (p.Cys293*)], a čtyři frameshift mutace [c.327_330delCAAG (p.Lys110Profs*50), c.1313_1314delGT (p.Cys438Serfs*10), c.2913_2914delAC (p.Pro971Argfs*10) a c.2050delG (p.Asp684Thrfs*59) přítomná u 2 sourozenců]. Ve 4. rodině s výskytem BA byla detekována známá nonsense mutace [c.960T>A (p.Tyr320*)]. Ve 4 z těchto 8 rodin nebyla prokázána přítomnost mutací u rodičů probandů. Pět pacientů s deficitem JAG1 se zpočátku prezentovalo jako BA, do 3 let věku však všichni vyvinuli klinické příznaky typické pro AGS. Žádné mutace v JAG1 nebyly nalezeny u 67 pacientů s izolovanou BA. U 2 pacientů s cystickou formou BA jsme prokázali heterozygotní odchylky v počtu kopií genu HNF1B: u jednoho velkou (1698 kb) deleci zasahující celý gen HNF1B, u druhého pak duplikaci všech kódujících oblastí HNF1B.

Závěr: Naše nálezy nepodporují asociaci BA s mutacemi v genu JAG1. K rozlišení mezi AGS a BA zvl. v časném kojeneckém věku je nutná rychlá molekulární analýza mutací v genu JAG1 a provedení jaterní biopsie. U pacientů s cystickou formou biliární atrézie vzhledem k postižení dalších orgánových systémů v pozdějším věku je vhodné provést komplexní vyšetření genu HNF1B zahrnující i analýzu počtu jeho kopií.

Podpora projektu: Tato práce vznikla za podpory grantu GAUK č. 630512.

P-42. FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ČASNÁ STÁDIA KARDIORENÁLNÍHO SYNDROMU

Pátek O.

Interní klinika 2.LF UK a FN Motol

Školitel: doc.MUDr. Miroslava Horáčková, CSc.

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

Iniciální fáze kardiorenální interakce u asymptomatických diabetiků 1. typu nebyly dosud studovány.

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

Materiál a metody: Do studie jsou řazeni pacienti s diabetes mellitus 1.typu sledovaní v diabetologickém centru Interní kliniky FN v Praze Motole. Vylučovacím kriteriem je zjevné onemocnění srdce a cév, jakož i významná porucha glomerulární filtrace (GFR pod 1 ml/s/1,73 m2).

U pacientů provádíme biochemická vyšetření, echokardiografické vyšetření zaměřené na diastolickou funkci levé komory srdeční, sonografické vyšetření distensibility ACC, vyšetření Oliva-Roztočil indexu a ABPM.

Výsledky: V současné době probíhá náběr a vyšetřování pacientů do projektu, toho času nemáme dostatečný počet vyšetřených pacientů dle protokolu k statistickému zhodnocení a prezentaci.

Závěr: Iniciální fáze kardiorenální interakce u asymptomatických diabetiků 1. typu nebyly dosud studovány. Současné klinické hodnocení kardiorenálního syndromu nebere v potaz možnost poruchy tubulární renální funkce, přestože je postižení myokardu spojeno s významnou aktivací peptidů, které ovlivňují tubulární transport základních elektrolytů.

Předpokládáme, že naše výsledky přispějí k našem vědomostem o patofyziologii časného kardiorenálního syndromu, o jeho vztahu ke kardiovaskulárnímu riziku pacientů s diabetes mellitus 1.typu.

P-43. VLIV DLOUHODOBÉ INHIBICE FOSFODIESTERÁZY 5A NA REMODELACI PRAVÉ A LEVÉ KOMORY U CHRONICKÉHO SRDEČNÍHO SELHÁNÍ NA PODKLADĚ OBJEMOVÉHO PŘETÍŽENÍ

Havlenová T. (1,2), Kotrč M. (1), Škaroupková P. (1), Červenka L. (1,2), Melenovský V. (1)

1 - IKEM Praha, 2 - 2. LF UK

Školitel: doc. MUDr. Vojtěch Melenovský, CSc.

Úvod: Hemodynamické přetížení vede k hypertrofii a následnému selhání levé (LK) i pravé (PK) komory srdeční. Zatímco vliv dlouhodobého tlakového přetížení na PK je dobře prozkoumán, o dlouhodobém objemovém přetížení v kontextu biventrikulárního selhání nejsou k dispozici téměř žádné práce. Zároveň bylo prokázáno, že dlouhodobá inhibice fosfodiesterázy 5A (PDE5A) může zabránit rozvoji hypertrofie a systolické dysfunkce tlakově přetížené LK i PK, její vliv na objemově přetíženou komoru však zůstává nejasný.

Cíl: Ukázat, zda existují rozdíly v odpovědi PK a LK na chronické objemové přetížení, a zda dlouhodobá léčba PDE5A inhibitorem (PDE5Ai) či ACE inhibitorem (ACEi) ovlivní remodelaci a dysfunkci srdce či přežití potkanů s chronickým srdečním selháním na podkladě objemového přetížení v důsledku centrálního arterio-venózního zkratu (aorto-kavální fistule, ACF).

Materiál a metody: U 8-týdenních samců potkana kmene HanSD byla standardizovanou punkční technikou vytvořena ACF a zvířata byla randomizována k terapii PDE5Ai (sildenafil 80 mg/kg, n = 20), ACEi (trandolapril 6 mg/l H_2O, n = 26) nebo placebo (n = 30). Kontrolní skupinu tvořila zvířata bez ACF (n = 19). Po 20 týdnech léčby bylo provedeno echokardiografické vyšetření, tlakově-objemové analýzy z LK i PK a stanovení tkáňových hladin cGMP. Samostatná kohorta zvířat (n = 10–40/skupinu) sloužila k analýze přežití.

Výsledky: ACF vedla k masivní hypertrofii (PK: o 150%, p<0.0001; LK: o 70%, p<0.0001) a systolické dysfunkci (pokles end-systolické elastance PK: 3x, p=0.0039; LK: 6x, p<0.0001) obou komor. PK byla relativně více zatížená než LK (práce PK vzrostla 7x, p<0.0001; LK 4x, p<0.0001), přesto snášela objemové přetížení lépe (end-diastolický tlak PK vzrostl o 60%, p=0.0028; LK o 90%, p<0.0001). ACEi omezil plicní kongesci a hraničně i hypertrofii LK, PDE5Ai neměl žádný vliv. Medián přežití ve skupině ACF/placebo, ACF/PDE5Ai a ACF/ACEi byl 26, 27 a 37 týdnů (p<0.05 pro ACF/ACEi vs. ACF/placebo). Potkani léčení PDE5Ai měli významně vyšší hladiny cGMP v plicích (o 150%, p<0.0001), nikoli v PK či LK.

Závěr: Chronické objemové přetížení navozené ACF vede k obdobným změnám ve struktuře a kontraktilitě obou komor. Při stejném stupni objemového přetížení je PK relativně více zatížená než LK, toleruje však zátěž lépe. ACEi snižují stupeň kongesce a hraničně i hypertrofie LK a zlepšují přežití. PDE5Ai nemají žádný vliv na přežití, remodelaci a funkci srdce a nezvyšují hladinu cGMP v myokardu.

Podpora projektu: Podpořeno projektem Grantové agentury ČR 15-14200S.

P-44. VYŠETŘOVÁNÍ AUTONOMNÍ NEUROPATIE GASTROINTESTINÁLNÍHO TYPU U DIABETIKŮ

Hoskovcová L. (1), Malá Š. (1), Chudá M. (1), Šťovíček J. (1), Brož J. (1), Táborská (2), Kvapil M. (1)

1 - Interní klinika 2.LF UK a FN Motol, Praha, 2 - Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2.LF UK a FN Motol, Praha

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

Úvod: Jedním z důsledků gastrointestinální autonomní neuropatie je stav významně opožděného vyprazdňování potravy ze žaludku do duodena bez přítomnosti mechanické obstrukce žaludečního antra či pyloru - tzv. gastroparéza, opačným případem je tzv. tachygastrie.

Po 20 letech trvání diabetu je gastrointestinální autonomní neuropatií postiženo 30-60% pacientů. Symptomy se vyskytují pouze u 5-12% pacientů. Většina pacientů nemá žádné dyspeptické obtíže a manifestuje se pouze laboratorními a klinickými známkami neuspojivé dlouhodobé kompenzace diabetu.

Cíl: Dnes je zlatým standartem funkčního vyšetřování zažívacího traktu evakuační scintigarfaie žaludku. Naše práce si klade za cíl ověřit možnosti hodnocení elektrogastrografie (EGG) jako neinvazivní experimentální metody k vyšetření motility trávícího traktu. A možnost jeho zavedení do běžné praxe, neboť úspěšný screening dysmotilitních poruch by u pacientů umožnil cílenou terapeutickou intervenci.

Materiál a metody: EGG se užívá k detekci myoelektrické aktivity žaludku. K jejímu snímání se používají elektrody přilepené na kůži - na přední stěně břišní v oblasti epigastria. Snímání probíhá ve dvou fázích - preprandiálně, po té pacient sní definovanou stravu a následně probíhá měření postprandiálně. Výsledkem je trojrozměrný graf, který je obrazem pomalých elektrických vln žaludku v čase a dle frekvenční analýzy můžeme detekovat zpomalené či zrychlené vyprazdňování žaludku. Nevýhodou je nutnost klidného lehu po dobu 1,5 hodiny.

Výsledky: Celkem bylo vyšetřeno 40 diabetiků 1. i 2. typu. U 5 z nich bylo cestou evakuační scintigrafie diagnostikováno zpomalené vyprazdňování žaludku. Tzv. polovina obsahu žaludku byla vyprázdněna za více než 90minut. Korelace gastroparetického záznamu v EGG byla zastižena pouze v 1 případě.

Problémem evakuční scintigrafie je absence všeobecně platných normem pro zrychlené vyprazdňování žaludku. Z EGG vychází celkem u 9 pacientů suspekce na tachygastrii při přídatném centru automacie, bohužel bez možnosti korelace cestou scintigafie.

Závěr: Přestože v teoretické rovině se jeví EGG jako funkční metoda budoucnosti, naměřené výsledky přináší otázky, jak správně nálezy interpretovat. Zároveň nespolupráce a pohyb pacienta mohou EGG vyšetření zkreslit. Přestože evakuační scintigrafie je vyšetření senzitivní, limituje nás absence platných norem. Vzhledem k malému vzorku pacientů jsou naše měření statisticky nevýznamná. Pro další měření bude vhodné ve sporných případech zopakovat vyšetření a zhodnotit reprodukovatelnost záznamu EGG.

P-45. VČASNÝ ZÁCHYT A STUDIUM PROJEVŮ SEKRETORICKÉ OTITIDY U DĚTÍ S ROZŠTĚPOVOU VADOU OPEROVANÝCH V NOVOROZENECKÉM VĚKU

Jurovčík M. (1), Borský J. (1), Černý M. (2), Kotaška K. (3), Skřivan J. (1)

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

Školitel: MUDr Jiří Skřivan, CSc.

Úvod: Chirurgické řešení rozštěpových vad obličeje již v novorozeneckém období je stále diskutované téma. Na většině pracovišť se rozštěpy operují nejdříve ve třetím měsíci věku. Výhodou neonatální chirurgie je využití vlastnosti rychlého hojení novorozenecké tkáně a v neposlední řadě i psychologický efekt rychlého řešení kosmeticky závažného defektu. Téměř u všech pacientů s rozštěpem patra se objevuje porucha funkce Eustachovy trubice s následným rozvojem sekretorické otitidy.

Cíl: Zachytit první projevy středoušní patologie u novorozenců s rozštěpovou vadou operovaných v časném poporodním období a jejich další sledování s ohledem na případný rozvoj středoušní patologie.

Materiál a metody: Prospektivní studie zachycuje: 1/ soubor 225 pacientů operovaných od května 2010 do prosince 2016 mezi 2-10 dnem věku u kterých byla zároveň provedena audiologická diagnostika a vlastnímu výkonu předcházelo otomikroskopické vyšetření a rhinoepipharyngoskopie 2/ soubor 183 pacientů 2010-2015, u kterých probíhalo další sledování středoušních parametrů.

Výsledky: Z celkového počtu 225 pacientů bylo 142 s rozštěpem rtu a patra a 83 pouze s rozštěpem rtu. Všichni pacienti s izolovaným rozštěpem rtu měli v době výkonu vzdušné středouší. V 73% byl v případě rozštěpu patra zachycen patologický sekret ve středouší. U 76 pacientů ze souboru 2/ jsme na našem pracovišti v odstupu 6-8 měsíců provedli palatoplastiku. V 65 % jsme u nich nalezli sekret v obou středouších při první operaci v novorozeneckém věku. Ve 24 % byl sekret pouze v jednom uchu a u 11% byl nález negativní. Následně po palatoplastice byl indikován další výkon na středouší u 47 pacientů (odsátí sekretu, zavedení gromet). U 15 pacientů (31%) byl nález sekretu negativní a středoušní parametry vykazovaly normální vzdušnost, maximálně podtlakovou křivku C na tympanometru. Zcela specifické je skupina, u které byla provedena operace rtu a patra současně. Jednalo se o čtyři pacienty. U jednoho z nich byly dále indikovány opakované výkony se zavedením gromet, u třech zbývajících jsme nezaznamenali sekret v dlouhodobém sledování.

Závěr: První příznaky sekretorické otitidy lze pozorovat již od druhého poporodního dne u pacientů s rozštěpem patra, a to bez závislosti na straně rozštěpu. V průběhu dalšího sledování jsme ve 31% nepozorovali přítomnost středoušního sekretu u pacientů se sekretem diagnostikovaným a odsátým během prvního výkonu.

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

P-46. MOLEKULÁRNĚ-BIOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY GERMINÁLNÍCH NÁDORŮ VARLAT

Bakardjieva-Mihaylova V. (1), Škvárová-Kramarzová K. (1), Kužílková D. (1), Dobiášová A. (1), Büchler T. (2), Dušek P. (3), Grega M. (4), Rosová B. (5), Abrahámová J. (2), Trka J. (1) , Boublíková L. (1,2)

1 - Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, 2 - Onkologická klinika, 1. LF UK a Tomayerova nemocnice, 3 - Urologická klinika, 2. LF UK a FN Motol, 4 - Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, 5 - Oddělení patologie, 1. LF UK a Tomayerova nemocnice

Školitel: MUDr. Ludmila Boublíková, Ph.D.

Úvod: Testikulární germinální nádory (TGN) jsou nejčastější solidní tumory u mužů ve věkové skupině 20-40 let a také hlavní příčina úmrtí na nádory v této věkové skupině. Jejich odpověď na chemoterapii na bázi cisplatiny je velice dobrá a pravděpodobně souvisí se zárodečným původem a charakterem buněk. Molekulární biologie je u nich nedostatečně prozkoumána, molekulárně-biologické markery se v klinické praxi nepoužívají. V naší práci se zabýváme transkripčním faktorem WT1 (gen Wilmsova tumoru 1) a dalšími genetickými aberacemi, které by mohly sloužit jako prediktivní nebo prognostický faktory u těchto nádorů.

Cíl: Vyšetření a zhodnocení molekulárních aberací s potenciálním klinickým významem u testikulárních tumorů.

Materiál a metody: Po informovaném souhlasu pacientů bylo shromážděno 284 vzorků testikulárních nádorů a 100 nemaligních kontrol (normální testikulární tkáň z okolí nádoru nebo varle odoperované z jiných příčin).

Výsledky: Zjistili jsme signifikantně nižší expresi celkového WT1 u TGN ve srovnání s nenádorovými kontrolami i stromálními nádory. Exprese WT1 byla nižší u seminomů než u neseminomů. Dále jsme prokázali změněnou expresi izoforem WT1 genu. Zjistili jsme sníženou expresi p53 proteinu ve vzorcích metastáz. Mutace v genu BRAF byla identifikována jen u 2 z 217 vyšetřených vzorků, bez souvislosti s chemorezistencí. Pomocí NGS jsme prokázali vysokou frekvenci mutací v genu WT1 a překvapivě nízkou frekvenci mutací v genu KIT.

Závěr: Gen WT1 má celkově sníženou expresi u germinálních nádorů varlat. To společně s jeho změněným izoformovým vzorcem a relativně vysokou mutovaností naznačuje jeho významnou roli v patogenezi těchto nádorů a možnost jeho případného využití jako nového molekulárně biologického markeru u tohoto typu tumorů. Další výsledky poukazují na možnou roli proteinu p53 při vzniku metastáz a/nebo při indukci chemorezistence u testikulárních nádorů. Pomocí NGS sekvenování byla zjištěna překvapivě nízká frekvence mutací genu KIT, jehož aberace je v současné době považována za klíčovou událost v časném stadiu vývoje testikulárních tumorů.

Podpora projektu: Podporováno granty: IGA NT/12414-5, GAUK56413, UNCE204012 a CDRO00064203FNM.

P-47. REKURENTNÍ MUTACE MYOD1 U VŘETENOBUNĚČNÉHO RMS JE VÝZNAMNÝM PROGNOSTICKÝM FAKTOREM

Odintsov I. (1), Krsková L. (1), Vícha A. (2), Jenčová P. (2), Kodet R. (1)

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

Pregraduální student

Školitel: RNDr. Lenka Krsková, Ph.D.

Úvod: Rhabdomyosarkom (RMS) je nejčastější maligní nádor měkkých tkaní dětského věku. Molekulární diagnostika hraje významnou roli ve stanovení diagnózy a prognózy tohoto onemocnění. Rabdomyosarkomy se vyskytují ve čtyřech základních variantách: alveolární (aRMS), embryonální (eRMS), pleomorfní (pRMS) a nově vřetenobuněčný/sklerozující RMS. Embryonální RMS (dříve zahrnoval i skupinu vřetenobuněčných/sklerozujících RMS) je geneticky heterogenní populace nádorů, u nichž prognostické molekulární markery mnohdy chybí. Významný vliv na prognózu pacientů je popsán u rekurentní mutace MYOD1 genu, jež je spojována s agresivním chováním a vysokou mortalitou (desetileté přežití 0% v porovnání s 48% u eRMS bez mutace).

Cíl: Naším cílem bylo stanovit prevalenci mutace MYOD1 L122R u českých pacientů s RMS a její korelaci s prognózou a molekulárními změnami na krátkém raménku chromozómu 11.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme 71 pacientů s eRMS, 24 nemocných s aRMS a 2 pacienty s pRMS.

Genomickou DNA jsme izolovali z parafinových nebo zmražených vzorků. Byla amplifikována oblast exonu 1 MYOD1 genu, kde se objevuje rekurentní mutace. Následně jsme provedli Sangerovo sekvenování amplifikovaného produktu. Pomocí analýzy mikrosatelitních lokusů jsme zjišťovali ztrátu heterozygosity (LOH) v oblasti 11p15.5. Analýzu uniparentální disomie (UPD) u pacienta s průkazem mutace L122R jsme provedli pomocí metody MLPA.

Výsledky: Homozygotní mutaci v genu MYOD1 L122R jsme prokázali u 2 pacientů s RMS ve věku 12 a 7,5 let. U obou pacientů byl nádor lokalizován ve vedlejších dutinách nosních, histologická verifikace prokázala vřetenobuněčnou variantu RMS. U jednoho pacienta jsme prokázali ztrátu heterozygosity 11p zasahující až do oblasti lokalizace genu MYOD1, u druhého pacienta jsme rovněž prokázali LOH 11p, nicméně STR lokusy v těsné blízkosti genu MYOD1 nebyly informativní a vyšetření bylo nepřínosné. Pomocí metody MLPA jsme u 1 pacienta prokázali pUPD, u druhého pacienta plánujeme analýzu doplnit. Onemocnění mělo u obou nemocných nepříznivý průběh s přežíváním 3 a 8 let od diagnózy.

Závěr: Rekurentní mutace MYOD1 genu je významným negativním prognostickým faktorem vřetenobuněčného/sklerozujícího RMS (dříve vřetenobuněčná varianta embryonálního rabdomyosarkomu) a může byt použitá ke stratifikaci pacientů s RMS vysokého rizika. U těchto nemocných je pak odůvodněno použití intenzivnější terapie.

Podpora projektu: Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN MOTOL) a OPPKCZ.2.16/3.1.00/24022.

P-48. ANALÝZA ZMĚN HMOTNOSTI U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU SLEDOVANÝCH V DIABETOLOGICKÉ AMBULANCI INTERNÍ KLINIKY FN MOTOL – RETROSPEKTIVNÍ OBSERVAČNÍ STUDIE

Hurych J. (1), Brož J. (1,2), Pudilová V. (1), Brabec M. (3,4)

1 - 2. lékařská fakulta UK Praha, 2 - Interní klinika 2. LF UK a FN Motol Praha, 3 - Ústav informatiky Akademie věd ČR, Praha, 4 - Český institut Informatiky, Robotiky a Kybernetiky, ČVUT, Praha

Pregraduální student

Školitel: as. MUDr. Jan Brož

Úvod: Insulin je základním terapeutickým prvkem v léčbě diabetes mellitus 1. typu. Přírůstek hmotnosti je udávaným nežádoucím účinkem insulinové terapie a strach z něj často pacientům brání dávku dostatečně navýšit. Navyšování hmotnosti u českých pacientů s diabetes mellitus 1. typu systematicky dosud hodnoceno nebylo.

Cíl: Primárním cílem studie bylo zjistit změny hmotnosti u pacientů s diabetes mellitus 1. typu a porovnat je s populačními daty a hodnotami známými ze studií s pacienty s tímto onemocněním. Sekundárním cílem bylo zjistit, zda je rozdíl v přírůstku/úbytku na váze u pacientů v období léčby inzulínovými pery a období insulinovou pumpou.

Materiál a metody: Data byla získána ze zdravotní dokumentace pacientů sledovaných v diabetologické ambulanci Interní kliniky FN Motol v období od jejich první návštěvy ambulance až do doby ukončení studie v červenci 2015. Celkem byly zpracovány záznamy od 151 pacientů s diabetes mellitus 1. typu, z toho bylo 73 mužů a 78 žen. Průměrný věk pacientů byl 37,6±13,0 let, průměrné BMI bylo 25,3±4,87 kg/m2. 143 pacientů bylo v určitém období léčeno pomocí inzulínové pumpy a 40 v určitém období používalo inzulínová pera. Data byla analyzována pomocí lineárního modelu se smíšenými efekty (LMI). Údaje o nárůstu hmotnosti v populaci či velkých skupin diabetiků byla získána ze studií publikovaných v zahraniční odborné literatuře.

Výsledky: Odhadnuté lineární trendy pro přírůstek hmotnosti jsou pro obě pohlaví 0,41 kg na rok věku a nelišily se podle typu terapie (pero/pumpa). Model stanovil rozdíl hmotnosti při stejném věku mezi muži a ženami 13,8 kg. Model byl testován na nelinearitu ve věku pacienta (různá rychlost změn s ohledem na věk) s negativním výsledkem. Dávka insulinu při léčbě pery byla 0,73±0,21 U/kg/den, při léčbě pumpu 0,64±0,21 U/kg/den. Údaje ze zahraniční literatury: přírůstek hmotnosti po prvním roce intenzivní léčby insulinem je průměrně 3,3 kg±4,46, v dalších letech pak 0,92 kg/rok u mužů a 1,0 kg/rok u žen . Průměrný roční přírůstek hmotnosti v běžné populaci je u mužů 0,30±0,02, u žen 0,31±0,02

Závěr: Léčba insulinem u pacientů s diabetes mellitus 1.typu v Diabetologické ambulanci FN Motol je provázena průměrným ročním přírůstkem hmotnosti 0,41 kg, který je stejný pro léčbu pomocí inzulínových per a pumpy. S ohledem na data ze studií lze říci, že námi zjištěný přírůstek je oproti zdrojům z literatury nižší, v porovnání s běžnou populací je pak vyšší pouze o 0,10-0,11 kg/rok.

P-49. SUBJEKTIVNÍ KOGNITIVNÍ STÍŽNOSTI U KOGNITIVNĚ NORMÁLNÍCH SENIORŮ: DŮSLEDEK DEPRESE ČI ČASNÁ ZNÁMKA KOGNITIVNÍHO POSTIŽENÍ?

Marková H. (1), Andel R. (2), Štěpánková H. (3), Kopeček M. (3), Nikolai T. (1), Hort J. (1), Vyhnálek M. (1)

1 - Kognitivní centrum, Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol v Praze, 2 - School of Aging Studies, University of South Florida, Tampa, FL, USA, 3 - Národní ústav duševního zdraví, Klecany.

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

Úvod: Subjektivní kognitivní stížnosti (SCC, z angl. subjective cognitive complaints) u seniorů dosahujících normálních výkonů při neuropsychologickém testování jsou v literatuře obvykle asociovány s přirozeným stárnutím či se zvýšenou mírou depresivní symptomatologie. Nově jsou však také považovány za možný časný marker počínající Alzheimerovy nemoci. Specifičnost SCC pro každý z těchto stavů však dosud nebyla objasněna.

Cíl: Cílem této studie bylo (a) zjistit prevalenci SCC a (b) identifikovat SCC reflektující objektivně oslabenou paměťovou výkonnost a zvýšenou míru depresivní symptomatologie v populaci kognitivně normálních seniorů (KNS).

Materiál a metody: Výzkumný soubor zahrnoval 340 KNS, jejichž věk byl ≥ 60 let, reprezentující třetí vlnu longitudinálního projektu Národní normativní studie kognitivních determinant zdravého stárnutí. Všichni zahrnutí jedinci podstoupili komplexní neuropsychologické vyšetření, vyplnili zkrácenou 15-položkovou Geriatrickou škálu deprese (GDS-15) a 10-ti položkový Dotazník subjektivních kognitivních stížností (QPC; z franc. Le Questionnaire de Plainte Cognitive). Nebyli zahrnuti jedinci s mírnou kognitivní poruchou a jedinci s aktuálně těžkou depresivní symptomatologií (tj. skórující v GDS-15 > 10 bodů). Byla provedena regresní analýza s kontrolou pro věk a GDS-15, jednotlivé kognitivní domény byly pro účely analýzy vyjádřeny ve formě z-skórů.

Výsledky: Alespoň 1 stížnost udávalo 71 % subjektů. Prevalence jednotlivých SCC se pohybovala v rozmezí od 4% do 40%. „Změna v osobnosti" ($p<0.001$) a „Omezení v denních aktivitách" ($p=0.002$) byly statisticky významně asociovány s vyšším skórem v GDS-15. „Obtíže s orientací v prostoru" ($p=0.019$) a „Pocit horší paměti ve srovnání s vrstevníky" ($p=0.012$) byly statisticky významně asociovány s nižším paměťovým výkonem.

Závěr: Subjektivní kognitivní stížnosti jsou v kognitivně normální seniorské populaci časté. Pomocí 10-položkového dotazníku QPC jsme identifikovali stížnosti specificky reflektující zvýšenou depresivní symptomatologii a SCC specificky reflektující nižší paměťové výkony jevící se jako rizikové pro rozvoj kognitivní poruchy.

Podpora projektu: Studie byla podpořena Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt č. 135215).

P-50. BAZÁLNÍ HLADINA FEKÁLNÍHO KALPROTEKTINU JAKO PREDIKTOR JEJÍHO POKLESU V ŠESTÉM TÝDNU LÉČBY VÝHRADNÍ ENTERÁLNÍ VÝŽIVOU U DĚTÍ S CROHNOVOU NEMOCÍ

Čopová I., Hradský O., Zárubová K., Gonsorčíková L., Potužníková K., Dršková T., Nevoral J., Bronský J.

Pediatrická klinika Fakultní nemocnice v Motole a 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Česká republika

Školitel: MUDr. Ondřej Hradský, Ph.D.

Úvod: Bylo prokázáno, že výhradní enterální výživa (EEN) je stejně účinná jako kortikosteroidy, a to bez jejich vedlejších účinků, v dosažení klinické remise, a lepší v dosažení slizničního hojení u dětských pacientů s Crohnovou nemocí (CD). Údaje o prediktorech odpovědi na léčbu v časné fázi EEN jsou nedostatečné.

Cíl: Primárním cílem této studie bylo zjistit, zda je možno použít rozdíl v hodnotě fekálního kalprotektinu (FC) před léčbou a ve 2. týdnu léčby EEN k predikci poklesu FC mezi 0. týdnem a 6. týdnem.

Materiál a metody: U dětí s nově diagnostikovanou CD byla metodou ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) stanovena koncentrace FC ve čtyřech prospektivně odebraných vzorcích stolice v průběhu léčby pomocí EEN (v týdnu 0, 2, 4 a 6), a šest týdnů po ukončení indukční léčby EEN.

Výsledky: Čtyřicet jedna dětských pacientů (28 chlapců, 16,1 ± 2,8 r) s nově diagnostikovanou CD bylo zařazených do studie. Od zahájení do ukončení EEN poklesl medián koncentrace FC o 259 µg/g (IQR: -1.25 - 508,2). Pouze u třech pacientů se podařilo dosáhnout hladiny FC <100 µg/g v průběhu léčby EEN. Rozdíl koncentrace FC před léčbou pomocí EEN a ve 2. nebo 4. týdnu léčby předpovídal pokles FC v 6. týdnu léčby (p <0,00001). Pokles hladiny FC o více než 8 µg/g ve 2. týdnu měl specificitu 1 a senzitivitu 0,63 pro predikci jakéhokoli poklesu FC v 6. týdnu (AUC 0,83).

Závěr: Časný pokles FC u dětí s nově diagnostikovanou CD během indukční léčby pomocí EEN předpovídá hladinu FC po dokončení EEN. Monitorování aktivity onemocnění založené na koncentraci FC může být užitečné pro predikci odpovědi na léčbu.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen výzkumnými granty Univerzity Karlovy č. 136215 a 246216, a VZ FNM 00064203/6001.

P-51. MAGNETICKÁ REZONANCE V HODNOCENÍ AKTIVITY ROZTROUŠENÉ SKLERÓZY

Mojžišová H. (1), Šanda J. (2), Lisý J. (2), Meluzínová E. (3)

1 - 2.LF UK; 2 - Klinika zobrazovacích metod 2.LF UK a FN Motol; 3 - Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Eva Meluzínová

Úvod: Magnetická rezonance hraje důležitou roli nejen v diagnostice, ale i při sledování vývoje roztroušené sklerózy, kdy se hodnotí počet a dynamika hypersignálních ložisek v T2W nebo FLAIR sekvencích. Počet lézí však často nekoreluje s tíží klinických projevů a sám o sobě se zatím ukazuje jako nedostatečný ukazatel aktivity nemoci. Proto se navíc v posledních letech zavádí i měření objemu lézí (lesion load) jako ukazatele zánětu (ve FN Motol pomocí softwaru LST), a také atrofie corpus callosum a mozkové tkáně jako míry neurodegenerace.

Hodnocení radiologem je limitováno právě jen na hodnocení počtu lézí a jejich změn v čase na dalších MR. Předpokladem je, že kombinace měření více parametrů, by mohla přinést lepší predikci vývoje disability a tedy i adekvátní volbu terapie a její případnou modifikaci.

Cíl: Cílem studie bylo prozkoumat korelaci mezi počtem lézí určeným dvěma hodnotiteli a počtem naměřeným softwarem LST.

Materiál a metody: Retrospektivně byla zhodnocena MR ve FLAIR sekvenci u 30 pacientů – byl stanoven celkový počet lézí (oběma hodnotiteli a softwarem). Snahou bylo zjistit, jak významný je rozdíl v počtu lézí mezi oběma hodnotiteli a nakolik počet zhodnocený přístrojem koreluje s počtem u hodnotitelů.

Statistická analýza dat byla provedena s užitím SW SAS.

Lesion Segmentation Tool (LST), je open source skupina skriptů pro prostředí MATLAB (Schmidt et al., 2012) pro detekci lézí ve FLAIR MR obrazech.

Výsledky: Mezi všemi třemi hodnotícími navzájem byla prokázána silná statisticky významná korelace v hodnocení počtu lézí (0,94143 mezi hodnotiteli, 0,79882 a 0,82801 mezi jednotlivými hodnotiteli a LST). Zároveň byla u všech měření potvrzena vyšší interindividuální než intraindividuální variabilita.

Rozdíl v počtu lézí mezi hodnotiteli navzájem a mezi hodnotiteli a LST se ukázal ve všech případech statisticky významný (párový Wilcoxon test). Průměrný rozdíl mezi hodnotiteli byl však jen 4,13 léze, zatímco mezi jednotlivými hodnotiteli a LST až 10,73 a 14,87 léze. Průměrný počet lézí u hodnotitelů přitom byl 29,0 a 24,97, u LST jen 14,13.

Hodnoty zjištěny LST byly u všech pacientů statisticky významně nižší než hodnoty odečteny jednotlivými hodnotiteli, a tedy LST je možno považovat za systematicky podhodnocující.

Závěr: Na základě naměřených dat byla prokázána silná korelace v hodnocení počtu lézí mezi LST a hodnotiteli. LST však v porovnání s hodnotiteli systematicky počet lézí podhodnocoval. Dalším cílem bude původ této chyby zjistit a na základě toho zpřesnit měření pomocí LST.

P-52. DEFICIENCE MAXILY ZPŮSOBENÁ PŘEDČASNÝMI EXTRAKCEMI A JEJÍ ORTODONTICKÁ LÉČBA KOMBINACÍ HYRAXU A DELAIROVY MASKY

Ivanov I.Ch., Straková D., Dostálová T.

2. lékařská fakulta UK a Dětská stomatologická klinika FN Motol

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

Úvod: Etiopatogeneticky se na vzniku nedostatečnosti maxily podílí faktory genetické, environmentální nebo jde o jejich kombinaci. Jednou ze zevních příčin je předčasná ztráta dočasných zubů v horní čelisti. Následkem je omezení anterio-posteriorního růstu horní čelisti doprovázené zákusem řezáků, vznikem pseudoprogenie. Ortodontická léčba vady musí být plánována dle stavu chrupu, na který se ortodontický aparát kotví. Vzhledem k předčasným ztrátám zubů vyžaduje léčba úsilí specialisty i pacienta téměř jako u vad způsobených traumatem či u rozštěpových vad.

Cíl: Poukázat na důležitost prevence a včasné léčby kazivých lézí v dětském chrupu s cílem vyvarovat se vzniku ortodontických vad, které vyžadují následnou časově i finančně náročnou ortodontickou léčbu.

Materiál a metody: Tři pacienti ve věku 9 až 12 let, u kterých byly provedeny předčasné extrakce dvou a více dočasných zubů v horní čelisti. K léčbě vzniklého podvývoje horní čelisti a pseudoprogenie byl použit aparát hyrax po dobu minimálně 6 měsíců. Po ukončení aktivní fáze spočívající v roztáčení šroubu a uvolnění sutura palatina mediana byl použit Baccetiho protokol k rozvolnění i sutura palatina transversa. Ihned poté byla po dobu minimálně 3 měsíců použita Delairova maska k meziálnímu posunu maxily. Současně byl nalepen parciální fixní aparát (zámky ve frontálním úseku chrupu) k protrakci horních řezáků a úpravě obráceného skusu.

Výsledky: U všech pacientů bylo dosaženo úpravy obráceného a laterálně zkříženého skusu.

Závěr: Aplikace hyraxu a Delairovy masky je ortodontická metoda, která vede u pacientů s maxilární deficiencí k podpoře vývoje horní čelisti a úpravě postavení horních řezáků. Avšak je to jen jedna z prvních fází léčby této vady, která si žádá multidisciplinární přístup. Nejdůležitější je vyvarovat se předčasných extrakcí v horní čelisti a zabránit tím vniku vady samotné. Je na místě podpora osvěty rodičů, prevence a včasné ošetření již vzniklých kazivých lézí v chrupu dětských pacientů.

P-53. MODULACE EXCITAČNÍHO SYNAPTICKÉHO PŘENOSU V MNTB SK KANÁLY A POSTSYNAPTICKÝMI GABA-B RECEPTORY

Hrušková B. (1), Trojanová J. (1), Adelman J. P. (2), Klug A. (3), Bettler B. (4), Tureček R. (1)

1 - Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., Praha, ČR, 2 - Vollum Institute, Oregon Health & Science University, Portland, USA, 3 - Ludwig-Maximilians-University Munich, Mnichov, Německo, 4 - University of Basel, Bazilej, Švýcarsko

Školitel: RNDr. Rostislav Tureček, Ph. D.

Úvod: Mediální jádro trapézovitého tělesa (MNTB) je součástí sluchových jader mozkového kmene, která hrají důležitou úlohu v procesech lokalizace zdroje zvuku v prostoru. MNTB neurony zprostředkovávají vysokofrekvenční glutamatergní přenos vyznačující se vysokou spolehlivostí a správným načasováním. Mechanismy zajišťující tyto vlastnosti nejsou doposud zcela objasněny. Zaměřili jsme se na zkoumání vlivu Ca2+ aktivovaných K+ kanálů (KCa) na pravděpodobnost vzniku postsynaptických akčních potenciálů a na modulaci odpovědí KCa inhibičními GABA-B receptory.

Cíl: Nalézt mechanismus interakcí mezi postsynaptickými KCa kanály a metabotropními GABA-B receptory a zjistit, jak tyto interakce ovlivňují napěťové odpovědi hlavních neuronů MNTB.

Materiál a metody: Pokusy byly provedeny na řezech připravených z mozkového kmene kontrolních myší (WT) a myší s chybějícími KCa kanály typu SK (SK-/-), ve věku 18-28 dní. Membránové potenciály a proudy hlavních MNTB neuronů byly snímány pomocí techniky terčíkového a vodivostního zámku. KCa kanály na MNTB neuronech byly značeny specifickými protilátkami a jejich lokalizace byla sledována pomocí konfokální mikroskopie.

Výsledky: Akční potenciály (AP), vyvolané nadprahovými proudovými injekcemi (0.5nA/0.5ms@0.25Hz) do hlavních neuronů MNTB, zahrnovaly posthyperpolarizační fázi (AHP) o amplitudě 3.7±0.3 mV. AHP byla citlivá na apamin a necitlivá k iberiotoxinu a nimodipinu. To ukázalo, že byla selektivně zprostředkována Ca2+ závislými K+ kanály s nízkou vodivostí (SK). Imunohistochemické a elektrofyziologické pokusy provedené na SK-/- myších prokázaly přítomnost podjednotek SK1 a SK2 na tělech MNTB neuronů. V dalších pokusech jsme zjistili, že aktivace SK při postsynaptickém AP byla způsobena vtokem Ca2+ přes napěťově závislé vápníkové kanály (VDCC) typu N a P/Q. Odpovědi VDCC a SK kanálů byly inhibovány v přítomnosti baclofenu, specifického agonisty s G-proteinem spřažených GABA-B receptorů. Baclofen rovněž inhiboval amplitudy AHP u série AP stimulovaných s frekvencí 100-500Hz. To vedlo ke zvýšení pravděpodobnosti vzniku vysokofrekvenčních AP.

Závěr: Naše výsledky ukázaly, že spolehlivost synaptického přenosu v MNTB je regulována somatickými SK kanály. Tato regulace je pod kontrolou postsynaptických GABA-B, což představuje nový mechanismus disinhibice glutamáterního přenosu na synapsích centrálního typu.

P-54. VLIV HYPOXIE NA PRODUKCI REAKTIVNÍCH SLOUČENIN KYSLÍKU ALVEOLÁRNÍMI MAKROFÁGY

Rašková M. (1), Žaloudíková M. (1), Vytášek R. (1), Uhlík J. (2), Vízek M. (3), Herget J. (1)

1 - Ústav fyziologie 2. LF UK, 2 - Ústav histologie a embryologie 2. LF UK, 3 - Ústav patologické fyziologie 2. LF UK

Školitel: MUDr. Marie Žaloudíková, Ph.D.

Úvod: Oxidační stres je součástí mechanismu vzniku hypoxické plicní hypertenze (HPH). V plicích jsou významným zdrojem reaktivních sloučenin kyslíku (ROS) alveolární makrofágy (AM). Domníváme se tedy, že změny produkce ROS z AM vzniklé během expozice hypoxii mohou být významným faktorem ovlivňujícím rozvoj HPH. Protože produkce ROS závisí také na typu AM – je podpořena zvýšenou polarizací buněk do tzv. M1 typu, testovali jsme zároveň vliv hypoxie na jejich polarizaci.

Cíl: Zjistit vztah expozice hypoxii a tvorby ROS alveolárními makrofágy.

Materiál a metody: Produkce superoxidu AM byla měřena pomocí luminol-orthovanadičnanové chemiluminescence (LOCL). AM byly získány z bronchoalveolární laváže (BAL) 27 dospělých samců potkanů kmene Wistar. 6 zvířat bylo vystaveno 4-denní hypoxii v izobarické hypoxické komoře (FiO_2 0.1), 6 kontrolních zvířat žilo v normoxii. LOCL byla měřena bezprostředně po získání buněk. AM z 15 normoxických zvířat byly kultivovány 4 dny „in vitro" v normoxických nebo hypoxických podmínkách (FiO_2 0.1). LOCL byla měřena na konci kultivace. U vzorků ze všech skupin byla zjišťována míra polarizace buněk (imunohistochemickým značením CD80 pro typ M1 a mannosového receptoru pro M2). Vliv prostředí na chování AM byl testován na buňkách kultivovaných „in vitro" přidáním nebuněčné složky BAL, získané ze zvířat normoxických nebo vystavených hypoxii.

Výsledky: AM získané ze zvířat vystavených 4-denní hypoxii produkovaly signifikantně vyšší množství superoxidu ve srovnání s AM z normoxických potkanů. V „in vitro" podmínkách jsme však tento vliv hypoxie na produkci superoxidu nepozorovali. Zvýšená produkce však nebyla spojena se signifikantním nárůstem počtu M1 AM, vlivem hypoxie došlo k významnému nárůstu počtu M2 AM. Stejný vliv na polarizaci AM měla i hypoxie „in vitro". Přítomnost nebuněčné složky BAL získané z normoxických zvířat vedla u buněk kultivovaných v normoxii k signifikantnímu omezení produkce superoxidu. Tento efekt nebyl pozorován při použití nebuněčné složky BAL získané z hypoxických zvířat.

Závěr: Zjistili jsme, že aktivita AM je ovlivněna složením jejich prostředí, k jehož změně pravděpodobně dochází při expozici hypoxii. Hypoxie sama o sobě však u AM produkci ROS přímo neovlivňuje, ani ji nepodporuje polarizací do M1 typu. Přesto má hypoxie vliv na polarizaci těchto buněk. Oba tyto mechanismy se pravděpodobně podílejí na rozvoji HPH.

Podpora projektu: GAČR 13-01710S

P-55. MÉNĚ ČASTÉ VARIANTY HEREDITÁRNÍCH SPASTICKÝCH PARAPARÉZ U ČESKÝCH PACIENTŮ S NEKOMPLIKOVANOU FORMOU NEMOCI

Mészárosová A., Šafka Brožková D., Laššuthová P., Staněk D., Seeman P.

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

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

Úvod: Hereditární spastická paraparéza (HSP) je onemocnění centrálního motoneuronu s incidencí 3 – 10 : 100 000. Projevuje se progredující spasticitou a neurologickou slabostí dolních končetin, končící až ztrátou schopnosti samostatné chůze. Onemocnění je fenotypově i geneticky vysoce variabilní. Většina pacientů má takzvanou nekomplikovanou formu nemoci s výše popsanými příznaky. Asi 10 % pacientů trpí komplikovanou formou nemoci (další přidružené příznaky: mentální retardace, ataxie, atrofie optiku, aj.) U HSP byly popsány všechny typy dědičnosti. HSP může být způsobena variantami ve více než 70 dosud popsaných genech, s nekomplikovanou formou je v současnosti spojováno 39 z nich. Zdaleka nejčastěji jsou příčinou varianty v genu SPAST.

Cíl: Zmapovat genetické příčiny onemocnění u českých pacientů s nekomplikovanou formou nemoci, u nichž byla předem vyloučena varianta v genu SPAST.

Materiál a metody: U 72 českých pacientů s nekomplikovanou HSP a s vyloučenou variantou v genu SPAST jako příčinou nemoci (pomocí Sanger sekvenování i MLPA) bylo provedeno masivně paralelního sekvenování (MPS) panelu genů spojovaných s nekomplikovanou formou HSP. V souboru bylo zařazeno 43 pacientů s familiálním a 29 pacientů se sporadickým výskytem nemoci, z nichž u 16 byl popisován časný nástup nemoci (do 10 let). Do panelu genů bylo zařazeno 28 genů, později přidáno dalších 11 nově publikovaných. Pro MPS použity kity HaloPlex a SureSelect (Agilent Technologies) za použití vlastního designu DNA knihoven. Vyhodnocení dat za použití software SureCall (Agilent Technologies), NextGene (SoftGenetics), vcf soubory anotovány pomocí software AlamutBatch (Interactive Biosoftware).

Výsledky: V souboru 72 vyšetřovaných jsme nalezli u 16 pacientů pravděpodobně kauzální variantu (22.2% pacientů). Záchyt je vyšší u familiálních pacientů (11 z 43; 25.6 % pacientů) oproti pacientům se sporadickým výskytem (5 případů z 29; 17.2 % pacientů). Ve skupině pacientů s časným nástupem byla nalezena pouze u jedné pacientky nová varianta v genu ATL1. Ve skupině pacientů s familiálním výskytem choroby je převaha variant v AD genech (8 z 11; 72.7 %), nalezli jsme 3 nové varianty v genech KIF5A (SPG10), KIAA0196/Strumpellin (SPG8) a ATL1 (SPG3A). Popisujeme první české pacienty s patogenními variantami v genech NIPA1 (SPG6) a KIF5A (SPG10). Mezi objasněnými pacienty se sporadickým výskytem byly nalezeny varianty převážně v genech s AR dědičností. Mezi AR geny jsou nejčastěji zastoupeny SPG11 a SPG7, což jsou i nejčastěji publikované AR geny u HSP. Popisujeme prvního českého pacienta s SPG5, u něhož je příčinou homozygotní popsaná varianta s genu CYP7B1. Nalezli jsme též novou „founder" variantu v genu FA2H v homozygotní sestavě u pacienta pocházejícího z českého izolátu v Rumunsku, pacient je první český pacient s SPG35. Zajímavý je též nález tří nových nepopsaných variant v genu REEP1 (SPG31), který bývá uváděn jako třetí nejčastější příčina u familiálních pacientů, minimálně u jedné nonsense varianty je ale kauzalita zpochybněna přítomností u zdravého příbuzného.

Závěr: Pomocí MPS panelu genů bylo nalezeno celkem 9 genetických typů HSP mezi 72 českými pacienty s nekomplikovanou formou choroby. Mezi AD geny jsou varianty nejčastěji u typů SPG31 (REEP1) a SPG10 (KIF5A), mezi AR geny převažují typy SPG11 a SPG7. Nalezli jsme i vcelku vzácné typy HSP SPG10 (NIPA1), SPG5 (CYP7B1) a SPG35 (FA2H). Tyto výsledky budou mít velký přínos pro genetické poradenství v rodinách a také možnost cílené genetické prevence.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen grantem AZV 16-30206A.

P-56. PERIOPERAČNÍ HODNOCENÍ HEMOSTÁZY: ROTAČNÍ TROMBOELASTOMETRIE VERSUS STANDARDNÍ TESTY KOAGULACE

Jonáš J., Durila M., Vymazal T.

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

Školitel: MUDr. Miroslav Durila, Ph.D.

Úvod: Management perioperačního krvácení je obyčejně veden empiricky (podáním erymasy a čerstvě zmražené plasmy v poměru 1:1) a pomocí rutinních testů koagulace (PT, aPTT). Rotační tromboelastometrie (ROTEM) je viskoelastickou metodou, která testuje plnou krev a tedy lépe popisuje situaci in vivo. Toto vyšetření je možné provádět na operačním sále.

Cíl: Cílem naší práce je zjistit, zda výsledky metody ROTEM umožní časnou diagnostiku a terapii koagulopatie, než standardní testy koagulace, a zda se jejím použitím dá předejít "zbytečnému" podávání ČZP, jejíž použití je spojováno se zvýšenou morbiditou i mortalitou pacienta.

Materiál a metody: Prezentujeme 16 pacientů, kteří podstoupili korekční operaci skoliosy, u nichž ztráta přesáhla 20% objemu krve. U 8 pacientů byl management hemostázy peroperačně řízen pomocí ROTEM, výsledky byly porovnány se skupinou pacientů před zavedením ROTEM. Dále byl ve skupině „ROTEM" měřen čas od odběru vzorku krve po získání výsledků ROTEM, krevního obrazu a standardních koagulačních testů. Porovnávali jsme velikost krevní ztráty, množství podaných transfuzních přípravků peroperačně a 24 hodin pooperačně, dobu UPV, hospitalizace na ARO a celkovou dobu hospitalizace.

Výsledky: Ve skupině „non-ROTEM" byla průměrná krevní ztráta peroperačně 1375 ml (34 %), pooperačně 993 ml (25 %). Empiricky bylo podáno v průměru peroperačně 2,3 TU ČZP a 2,3 TU EM, pooperačně 2,9 TU ČZP a 1,3 TU EM. Průměrná doba hospitalizace na ARO byla 2 dny, z toho UPV 4,1 hod a celková doba hospitalizace 14,1 dní.

Ve skupině „ROTEM" byla průměrná krevní ztráta peroperačně 1287 ml (35 %), pooperačně 628 ml (18 %). Dle výsledků vyšetření ROTEM bylo podáno v průměru peroperačně 0,5 TU ČZP a 1,3 TU EM, pooperačně 2 TU ČZP a 1 TU EM. Průměrná doba hospitalizace na ARO byla 2 dny, z toho UPV 4,5 hod a celková doba hospitalizace 13 dní.

Výsledky ROTEM byly prezentovány anesteziologovi, který je porovnával s klinickým stavem pacienta a rozhodnul o indikaci podání ČZP (ČZP podána během výkonu pouze u 2 z 8 pacientů).

Výsledky vyšetření byly získány v průměru po 65 minutách u krevního obrazu, po 81 minutách u koagulačních testů a po 17 minutách u ROTEM (EXTEM A5 / FIBTEM A5).

Závěr: ROTEM je metoda, která v porovnání se standardními testy koagulace umožňuje včasnou diagnostiku a terapii koagulopatie. Díky jejímu použití došlo k významné redukci peroperačně podané ČZP i EM, bez zvýšení pooperační krevní ztráty, doby UPV, hospitalizace na ARO nebo celkové doby hospitalizace.

Podpora projektu: Podpořeno interním grantem FNM č. 00064203.

P-57. NEUROPROTEKTIVNÍ EFEKT 3α5β -PREGNANOLON GLUTAMÁTU V ANIMÁLNÍM MODELU FOKÁLNÍ CEREBRÁLNÍ ISCHEMIE V PERINATÁLNÍ PERIODĚ V ČASNÝCH I POZDĚJŠÍCH STÁDIÍCH POŠKOZENÍ

Kletečková L. (1,2), Vondráková K. (1), Uttl L. (2), Kubová H. (1), Tsenov G. (1,3), Druga R. (4), Kudová E. (5), Chodounská H. (5), Valeš K. (1,2)

1 - Fyziologický ústav AV ČR v.v.i., Praha; 2 - Národní ústav duševního zdraví, Klecany; 3 - Università degli Studi di Verona, Verona; 4 - Anatomický ústav 2. LF UK, Praha; 5 - Ústav organické chemie a biochemie AV ČR v.v.i., Praha

Školitel: RNDr. Karel Valeš Ph.D.

Úvod: Hypoxicko-ischemický inzult v perinatálním věku je život ohrožující stav s vážnými neurologickými následky. Neurobiologickým podkladem tohoto typu poškození je enormní uvolnění excitačního neurotransmiteru glutamátu. Tato nadměrná excitace později vede k patologickým změnám v zasažené nervové tkáni zahrnující neurodegeneraci a neuroinflamaci. Oba procesy zatím nejsou během perinatální periody zcela objasněné. Neurosteroidy jsou látky se steroidním skeletem ovlivňující neurotransmiterové systémy v CNS i PNS. Neuroaktivní steroid 3α5β-pregnanolon glutamát (PG) je syntetický analog přirozeně se vyskytujícího 3α5β-pregnanolon sulfátu. Podstatou účinku PG je inhibiční ovlivnění glutamátových NMDA receptorů a současně pozitivní ovlivnění GABAA receptorů. Vzhledem k těmto faktům jsme se zaměřili na experimentální zjištění možného neuroptotektivního efektu PG v animálním modelu ischemie v raném věku.

Cíl: Zhodnotit neuroprotektivní potenciál PG v animálním modelu fokální cerebrální ischemie nezralého mozku (12denní potkaní mláděte) v časných i v pozdějších fázích.

Materiál a metody: Fokální ischemie bylo dosaženo stereotaktickou infuzí vasokonstrikčního endothelinu-1 do pravého dorsálního hippokampu u 12denních mláďat laboratorního potkana. PG v dávce 1 mg/kg byl intraperitoneálně podán 5min od ischemického inzultu. Následně byla tkáň zpracována transkardiální perfuzí a navazujícími histologickými metodami pro zjištění míry patologických procesů neurodegenerace a neuroinflamace. Transkardiální perfuze byla provedena 24h po inzultu, 6 dní a 13 dní pro komplexní stanovení neuroprotektivního vlivu jednorázové aplikace PG. Současně byly použity i molekulárně-biochemické metodiky.

Výsledky: Po aplikaci PG jsme zaznamenali signifikantně redukované množství degenerujících buněk postiženého hippokampu v raných i pozdějších fázích poškození. Jeho administrace ovlivnila také parvalbumin pozitivní interneurony, neuroinflamaci a astrogliózu.

Závěr: Byl demonstrován neuroprotektivní vliv jednorázové aplikace PG v použitém modelu fokální ischemie v perinatálním období. PG potenciálně reprezentuje novou terapeutickou látku působící glutamátový i GABA neurotransmiterový systém.

Podpora projektu: Tato práce vznikla za podpory grantů GAČR P304/12/G069, P304/14/2016, TAČR-TE01020028 a institucioální podpory RVO (FGU, 679858523) a RVO (NUDZ, 00023752).

P-58. PREVALENCE A SHODA V HPV INFEKCÍCH V RIZIKOVÉ POPULACI MEZI HETEROSEXUÁLNÍMI PARTNERY

Rob F. (1), Tachezy R. (2), Pichlík T. (3), Rob L. (3), Škapa P. (4), Hamšíková E. (2), Šmahelová J. (2), Hercogová J. (1)

1 - Dermatovenerologická klinika 2.LF UK a Nemocnice Na Bulovce; 2 - Národní referenční laboratoř pro papillomaviry, ÚHKT, Praha; 3 - Gynekologicko-porodnická klinika 2.LF UK a FN Motol; 4 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2.LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc.

Úvod: Infekce humánními papilomaviry (HPV) je nejčastější virovou pohlavně přenosnou infekcí postihující v průběhu života až 80 % sexuálně aktivní populace. Genitální bradavice (GB) a karcinom děložního hrdla patří v populaci mezi nejčastější onemocnění způsobená HPV infekcí, přesto znalosti o transmisi a prevalenci HPV infekce v párech s těmito chorobami je stále limitované.

Cíl: Určení konkordance a prevalence HPV infekce přítomné v GB nebo lézích cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN) u žen a HPV infekce přítomné na genitálu jejich monogamních mužských partnerů, společně se stanovením séroprevalence HPV specifických protilátek. Identifikace faktorů asociovaných s prevalencí a konkordancí infekce. Na podkladě získaných výsledků odvození doporučení pro management párů s klinickými projevy HPV infekce.

Materiál a metody: Průřezová studie s postupným zařazováním párů provedená v období od června 2013 do prosince 2015 na 68 párech žijících v monogamních vztahu delším než 6 měsíců, ve kterých měly ženy histologicky recentně verifikovanou CIN či GB. Do analýzy mužské části souboru bylo navíc zahrnuto 15 partnerů z párů, které splnili všechna kritéria zařazení do studie, ale vzorky žen nebylo možné podrobit HPV DNA analýze. Přítomnost HPV DNA byla detekována metodou PCR s následonou hybridizací detekující široké spektrum HPV genotypů. HPV specifické protilátky byly detekovány metodou enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) s viru podobnými partikulemi specifickými pro X HPV typů, které byly využity jako antigen.

Výsledky: Typově specifická konkordance byla detekována u 32,4 % párů (32,5 % párů s GB a 32,1 % párů s CIN) a byla vyšší u párů, kde žena kouřila ($p < 0,05$). HPV infekce bez ohledu na HPV typ byla detekována na genitálu 69,0 % partnerů žen s GB a 68,3 % žen s CIN, spektrum HPV typů se v obou skupinách lišilo. HPV DNA pozitivita mužských partnerů byla signifikantne vyšší u mužů do 24 let ($p < 0,05$) a u mužů s 10 a více sexuálními partnerkami ($p = 0,01$). Séroprevalence sledovaných specifických protilátek (HPV-6, -11, -16, -18, -31 a -33) byla významně vyšší u žen ve srovnání s muži.

Závěr: Vysoká prevalence HPV infekce na genitálu mužských partnerů, společně s výsledky obdobně časté typově specifické konkordance přítomné v GB nebo lézích CIN potvrzují vzájemnou infekci společně žijících partnerů. To dále potvrzuje i vysoká séroprevalence HPV-specifických protilátek u partnerů žen s lézemi. Primární prevence vakcinací proti HPV by měla přinést efekt nejenom dívkám a ženám, ale i chlapcům a mužům.

Podpora projektu: Grantová Agentura Univerzity Karlovy (GAUK 480713). Interní grantová agentura ministerstva zdravotnictví (NT 13167).

P-59. SEMIAUTOMATICKÉ POČÍTAČOVÉ HODNOCENÍ KLIDOVÉHO EKG U SPORTOVCŮ: VALIDAČNÍ STUDIE

Slabý K. (1), Procházka M. (1), Hanuliak M. (2), Radvanský J. (1)

1 - Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství UK 2. LF a FN Motol, 2 - Medical Technologies CZ, s.r.o.

Školitel: doc. MUDr. Jiří Radvanský, CSc.

Úvod: Některá doporučení obsahují jako součást preventivního vyšetření sportovců také standardní 12svodové EKG, které musí být vyhodnoceno pomocí standardizovaných kriterií v mnoha ohledech odlišných od klinického hodnocení EKG u cévně rizikových nemocných. Prevalence jednotlivých abnormalit není přesně známa a výrazně závisí na vyšetřované populaci. Spolehlivost automatické detekce abnormalit také není známa.

Cíl: Cílem studie bylo A) provést validaci automatické diagnostiky proti referenčnímu hodnocení EKG křivek a B) stanovit prevalenci hraničních a abnormálních výsledků automatické diagnostiky celkově a u jednotlivých kriterií na neselektované cílové populaci.

Materiál a metody: A) soubor neselektovaných EKG křivek ze sportovní ambulance (N=330, 14–25 let, 27 % žen, 99 % běloši) + přidané EKG křivky od pacientů pro zvýšení prevalence abnormalit (N=170), anotace shodou dvou nezávislých expertů.

B) soubor neselektovaných konsekutivních EKG křivek ze sportovní ambulance (N=2263, 14–35 let, 29 % žen, 99 % běloši).

Oba soubory obsahovaly sporty (dle frekvence) hokej, fotbal, tenis, sportovní gymnastika, tance, florbal, motosporty, plavání.

Bylo hodnoceno standardní klidové 12svodové EKG, záznam BTL 08-LC, vyhodnocení v BTL CardioPoint 2.27 (Medical Technologies CZ, a.s.) dle Seattle kritérií (2013).

Výsledky: A) negativní prediktivní schopnost byla celkově vysoká (99,43 %). Sensitivita byla v rozmezí od 55 % (preexcitace) do 100 % (patologické Q kmity), specificita se pohybovala od 74 % (komorové extrasystoly) do 99 % (hypertrofie pravé komory). Celková specificita byla 50 %.

B) Celkem 44 % křivek hodnoceno jako normální, 25 % jako abnormální, zbytek jako hraniční či nehodnotitelné. Frekvence automaticky vyhodnocených abnormálních kriterií kolísala od 0,04 % (preexcitace) po 10 % (nitrokomorová převodní porucha).

Závěr: Automatická diagnostika vykazuje vysokou negativní prediktivní schopnost a vysokou míru falešné pozitivity. Přesnost automatické diagnostiky se u jednotlivých kriterií velmi liší a je zásadním způsobem závislá na kvalitě záznamu. Potenciálně abnormální křivku je nutné vyhodnotit ve všech kriteriích.

Podpora projektu: Podpořeno grantem FN Motol (00064203), TA ČR (TA2-1258) a PRVOUK P38.

P-60. VYUŽITÍ CD81+T-CATCH IMUNOAFINITNÍ MATRICE PRO SEPARACI MONONUKLEÁRNÍCH BUNĚK PERIFERNÍ KRVE PRO HMOTNOSTNÍ CYTOMETRII

Kužílková D. (1), Pelák O. (1), Stuchlý J. (1), Kiene M. L. (2), Stanar K. (2), Vášková M. (1), Stadler H. (2), Kalina T. (1)

1 - CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha; 2 - IBA GmbH, Goettingen, Germany

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

Úvod: Hmotnostní cytometrie je nová metoda kombinující průtokovou cytometrii a hmotnostní spektrometrii umožňující sledovat velké množství znaků (teoreticky až 100) najednou v jedné zkumavce. Kvůli nízké rychlosti nahrávání vzorku (oproti průtokové cytometrii) je vhodné připravit vzorek tak, aby obsahoval co nejvyšší možné zastoupení cílových buněk.

Cíl: Porovnali jsme dva postupy isolace mononukleárních buněk periferní krve (PBMC) – přes hustotní gradient pomocí Ficoll-Paque, což je metoda hojně používaná a lze ji označit za „zlatý standard", s námi navrženou CD81+ afinitní chromatografií (tzv. CD81+ T-Catch).

Materiál a metody: Pomocí obou postupů jsme isolovali PBMC zdravých dárců (n=7) a sadou 21 protilátek konjugovaných s isotopy kovů řídkých zemin jsme v jedné zkumavce identifikovali všechny základní subpopulace leukocytů spolu s kontaminujícími buňkami (erytrocyty, trombocyty).

Výsledky: Pomocí obou postupů jsme získali srovnatelné zastoupení CD81+ buněk ze všech nukleárních krevních buněk. Pomocí CD81+ T-Catch jsme získali produkt s nižší kontaminací nejaderných elementů, avšak s lehce nižšími výtěžky. Nahrání 100.000 nukleárních buněk získané pomocí CD81+ T-Catch trvalo v průměru 16min (12,9-23,5) zatímco pomocí Ficoll-Paque 56min (22,1-120,3). Dále jsme porovnali zastoupení jednotlivých leukocytárních populací v produktech získaných oběma postupy. Přestože všechny lymfocyty (T-, B- a NK buňky a jejich subpopulace) byly procentuálně podobně zastoupeny, CD3+ T-lymfocyty a eosinofilní granulocyty byly signifikantně více zastoupeny v produktech získaných pomocí CD81+ T-Catch. Naopak docházelo k větším ztrátám NK buněk. Také buňky vrozené imunity: neklasické a klasické monocyty, neutrofilní granulocyty, basofily i myeloidní a plasmacytoidní dendritické buňky byly lehce až výrazně sníženy v produktech získané pomocí CD81+ T-Catch. Tyto výsledky jsou v souladu s povrchovou expresí CD81. Největším rozdílem v produktech získaných oběma postupy se ukázaly být volné trombocyty - v průměru 93,1% ze všech změřených elementů v produktech získaných pomocí Ficoll-Paque versus 22,3% v produktech získaných pomocí CD81+ T-Catch.

Závěr: V porovnání se „zlatým standardem" separace PBMC pomocí Ficoll-Paque jsme pomocí inovativní metody separace přes CD81+ T-Catch získali čistší produkt z hlediska kontaminujících trombocytů a tím se výrazně snížil čas strávený vlastním měřením.

P-61. VLIV THYMICKÉ TKÁNĚ NA IMUNITNÍ TOLERANCI

Klocperk A. (1), Paračková Z. (1), Koubský K. (2), Bartoňová L. (3), Klein P. (4), Šedivá A. (1)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, 2 – Dětské kardiocentrum FN Motol, 3 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, 3 – Biomedicínské centrum Lékařská fakulta v Plzni

Školitel: prof. MUDr. Anna Šedivá, DSc.

Úvod: Thymus je klíčovou tkání v ontogenezi T-lymfocytů, v níž dochází k jejich maturaci z prekurzorů kostní dřeně. V průběhu svého vývoje prochází lymfocyty selekcí, která zaručuje jejich toleranci ke tkáním tělu vlastním, a tak předchází rozvoji autoimunitních chorob. Tato selekce je mediována thymickými epiteliálními buňkami, dendritickými buňkami a snad i v thymu se nacházejícími B-lymfocyty.

Tento mechanismus vzniku imunitní tolerance nabývá komplexnosti u pacientů, jimž je thymus transplantován v rámci kauzální léčby primárních imunodeficitů. Dochází tak k edukaci lymfocytů příjemce v donorském thymu tkáni a ustanovení chimerické tolerance.

Cíl: Naším cílem je analýza buněčných populací nacházejících se v thymické tkáni a posouzení jejich vlivu na imunitní toleranci in vitro.

Novou odvětví experimentů je in vivo analýza vlivu transplantace thymické tkáně na toleranci allogenních kožních štěpů na myších modelech. Hypotézou je ustanovení tolerančního chimerismu a zlepšené přežívání kožního štěpu.

Materiál a metody: Odběr thymické tkáně pacientům operovaným na dětském kardiocentru s thorakotomickým přístupem, při němž je rutinně část thymu odebírána k umožnění přístupu k velkým cévám.

Histologická analýza thymických řezů s imunohistochemickým značením buněk.

Cytometrická analýza buněk zastoupených v thymu a peripheral blood mononuclear cells (PBMC) kokultivovaných na thymickém stromatu se stanovením T-regulačních lymfocytů (T-regů), subpopulací B-lymfocytů a dendritických buněk.

Hodnocení vlivu transplantace thymu na rejekci allogenního kožního štěpu mezi inbredními myšími kmeny BALB/c a C57Bl6.

Výsledky: Thymus obsahuje srovnatelné zastoupení T-regů jako periferní krev, avšak s větším zastoupením Helios+ T-regů. Kokultivace autologních PBMC s thymickým stromatem vede ke zvýšeném zastoupení T-regů v kultuře, avšak u heterologních PBMC se tento rozdíl stírá a dochází i ve větší míře k apoptóze.

Překvapivým zjištěním je značná přítomnost B-lymfocytů v thymu (cca 0,25% všech buněk) a zvýšené zastoupení class-switched B-lymfocytů v porovnání s periferní krví.

Experiment s transplantacemi u myší zatím proběhl na 10 jedincích a je ve stádiu probíhající optimalizace protokolu.

Závěr: Přínos projektu spočítá v lepším porozumění vlivu thymu na imunitní toleranci. Zejména in vivo experimenty s tolerancí kožních štěpů dosud nebyly v literatuře popsány a pokud úspěšné, mohly by v budoucnu vést ke snížení potřebné imunosuprese u lidských pacientů po transplantaci solidních orgánů.

Podpora projektu: GAUK č. 127315. AZV č. 15-28541A

P-62. KOREKČNÍ ROVNICE PRO ODHAD CELKOVÉ ALBUMINURIE

Fořtová M., Sopko B., Klapková E., Průša R.

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

Školitel: prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

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

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

Materiál a metody: Zavedli jsme HPLC metodu pro stanovení albuminurie (kapalinový chromatograf Agilent 1200, kolona Zorbax 300 SB-C3 (Agilent Technologies, USA), UV detekce při 280 nm). Analyzovali jsme 2 směsné moči. První byla připravena ze vzorků 30 IT negativních močí. Do této směsi byl přidán standard albuminu, výsledná koncentrace stanovená IT byla 79,1 mg/l. Druhá byla připravena z 30 vzorků se středně zvýšenou albuminurií, výsledná IT stanovená koncentrace byla 79,5 mg/l. Soubor tvořilo 1092 pacientů (636 diabetiků, 456 nediabetiků; 595 mužů a 497 žen; věk 43,3 +/- 25,6 let).

Výsledky: Za uvedených analytických podmínek transferin, orosomukoid, α-1-antitrypsin, α-1-antichymotrypsin a hemopexin neinterferují s albuminem, zatímco eluční křivka prealbuminu se štěpí na několik píků, z nichž některé z nich s albuminem koeluují. Vzhledem k nízkým sérovým i močovým koncentracím prealbuminu lze usuzovat, že je tato interference klinicky nevýznamná. Ve směsi 1 jsme nezaznamenali významný rozdíl v hodnotách albuminurie mezi metodami, oproti tomu, ve směsi 2 byla HPLC zjištěná hodnota o 26 % vyšší. Tyto výsledky nasvědčují na existenci imunonereaktivního albuminu. HPLC metoda je lineárně závislá na IT metodě, závislosti se významně liší ve skupině diabetiků 1.typu, 2.typu a nediabetiků. Celkovou hodnotu albuminurie je možné odhadnout z IT stanovené albuminurie použitím korekčních rovnic: diabetici 1.typu: AU(HPLC) = 1,152 x AU(IT) + 6,101; diabetici 2.typu: AU(HPLC) = 1,070 x AU(IT) + 11,911; nediabetici: AU(HPLC) = 1,162 x AU(IT) + 0,164.

Závěr: Výsledky svědčí pro vyšší senzitivitu HPLC metody pro zachycení středně zvýšené albuminurie, nepotvrdili jsme nespecifičnost této metody. Vyvinuli jsme korekční rovnice pro odhad celkové albuminurie.

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

P-63. STANOVENÍ METABOLITŮ AZATHIOPRINU U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S CROHNOVOU CHOROBOU V KLINICKÉ PRAXI A JEJICH VZTAH K ÚČINNOSTI BIOLOGICKÉ LÉČBY

Potužníková K. (1), Široká J. (2), Karásková E. (3), Hradský O. (1), Mihál V. (3), Bronský J. (1)

1 - Oddělení dětské gastroenterologie, Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole, Praha; 2 - Laboratoř růstových regulátorů, Ústav experimentální botaniky AV ČR a Univerzita Palackého, Olomouc; 3 - Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, Olomouc

Školitel: doc. MUDr. Bronský Jiří, Ph.D.

Úvod: V pediatrii je jako základní imunosupresivní léčivo (IS) užíváné v terapii pacientů s Crohnovou chorobou azathioprin (AZA). AZA je po absorpci z gastrointestinálního traktu přeměněn na 6-merkaptopurin (6-MP), v dalším průběhu se na jeho metabolismu podílí několik enzymů, jejichž pomocí vznikají na jedné straně neaktivní metylované metabolity (6-mMP) a kyselina thiomočová a aktivní 6-thioguaninnukleotid (6-TGN) zodpovědný za terapeutický efekt. Předpokládá se, že účinnost AZA a některé jeho nežádoucí účinky jsou závislé na náloži jeho metabolitů, které je možné stanovit v erytrocytech pacienta pomocí vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC). Toto stanovení zhodnotí biologickou dostupnost AZA u konkrétního pacienta a navíc odhalí non-compliantní pacienty.

Při neúspěchu IS terapie je dle doporučení zahajována biologická léčba (BL) anti-TNF preparáty, nejčastěji infliximabem (IFX). Je známo, že podávání AZA zvyšuje efektivitu IFX, a snižuje tvorbu protilátek proti této terapii (antiIFX). Není však známo, zda je tento efekt primárně závislý na podávané dávce AZA nebo na hladině účinných metabolitů v séru pacienta.

Cíl: Primárním cílem této práce je posouzení vlivu individuálního metabolismu AZA na sérové hladiny IFX a antiIFX u dětských pacientů léčených kombinovanou terapií AZA+IFX pro základní diagnózu CD.

Materiál a metody: U dětských pacientů s CD léčených kombinovanou terapií AZA+IFX sledovaných ve Fakultní nemocnici v Motole a ve Fakultní nemocnici Olomouc prospektivně odebíráme vzorky ke stanovení metabolitů AZA (pomocí HPLC). Zároveň je u těchto pacientů stanovena koncentrace IFX a antiIFX (zavedená monitorace metodou ELISA). Pacienti jsou odebíráni v průběhu studie opakovaně při jejich návštěvách v centru BL.

Výsledky: Formou posteru budou prezentovány průběžné výsledky získané v průběhu prvního roku řešení projektu. Do studie bylo zatím zařazeno 52 pacientů, u nichž byly vyhodnoceny výsledky ze 133 odběrů, v 15% byla zaznamenána non-compliance v užívání AZA, v 6% odhaleno poddávkování. Mnohočetná lineární regrese neprokázala signifikantní vztah mezi koncentracemi metabolitů AZA a IFX či antiIFX. V dalším průběhu studie plánujeme pokračovat v laboratorní monitoraci stávajících pacientů a zařazení nových za účelem posílení souboru.

Závěr: Předpokládáme, že možnost stanovování metabolitů AZA umožní optimalizaci kombinované terapie dětských pacientů s nespecifickými střevními záněty.

Podpora projektu: Projekt je podporován VZ 64203/6001, GAUK 136215, 246216 a 364617.

P-64. CYKLIN D1 – POTENCIONÁLNÍ MARKER PRO SLEDOVANÍ MINIMALNÍ REZIDUALNÍ NEMOCI U PACIENTŮ S MCL

Lokvenc M. (1), Kalinová M. (1), Froňková E. (2), Perglová J. (1), Kokošková A. (1), Hilská I. (1), Kodet R. (1)

1 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK v Praze a Fakultní nemocnice v Motole; 2 - CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK v Praze a Fakultní nemocnice v Motole

Školitel: prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Úvod: Lymfom z buněk pláště (mantle cell lymphoma, MCL) patří mezi agresivní B-lymfomy a reprezentuje 6-8% všech non-Hodgkinských lymfomů. Charakteristickým znakem MCL je translokace t(11;14), jejíž výsledkem je transkripční deregulace genu CCND1 a zvýšení exprese proteinu cyklinu D1, který hraje klíčovou roli v regulaci buněčného cyklu. Minimální reziduální nemoc (MRN) je definována jako subklinická úroveň nemoci, kdy v průběhu terapie již maligní buňky nejsou běžnými cytologickými metodami detekovatelné. Sledování MRN poskytuje informace o dynamice nádorového onemocnění a umožňuje sledovat přírůstek či úbytek nádorových buněk v určitém časovém horizontu.

Cíl: Sledování hladin MRN pomocí klonálně specifických přestaveb genů pro imunoglobuliny (Ig), popřípadě charakteristické translokace t(11;14) a porovnání získaných dat s mírou exprese cyklinu D1. Zjistit, zda-li hladiny MRN korelují s mírou exprese cyklinu D1, porovnat tyto detekční metody a zjistit možnosti využití cyklinu D1 jako markeru pro sledování MRN u pacientů s MCL.

Materiál a metody: Pro sledování MRN na DNA úrovni jsme využili RQ-PCR Ig/t(11;14) systém, který byl optimalizován pro každého pacienta dle kritérií EuroMRD. Pro stanovení míry exprese cyklinu D1 jsme využili RT-qPCR s absolutní kvantifikací genu pro cyklin D1 a kontrolní gen β2-mikroglobulin.

Výsledky: Stanovili jsme míru exprese cyklinu D1 celkem v 265 vzorcích u 62 pacientů s diagnózou MCL. Na tomto souboru pacientů jsme paralelně provedli detekci MRN pomocí Ig/t(11;14) a u celkem 232 vzorků jsme získali data pro porovnání obou zmíněných metod. Z našich výsledků jsme zjistili, že exprese cyklinu D1 je v korelaci pouze při vyšších hladinách MRN. Ve vzorcích s nízkou hladinou MRN, stanovenou pomocí Ig/t(11;14), je exprese cyklinu D1 velmi heterogenní.

Závěr: Naše výsledky poukazují na význam sledování MRN pomocí Ig/t(11;14) u pacientů s MCL a prokazují, že detekce hladin MRN umožňuje sledovat dynamiku nádorového onemocnění. Z výsledků je patrné, že cyklin D1 není vhodným a spolehlivým markerem pro sledování dynamiky MCL během léčby, neboť při nízkých hladinách MRN vykazuje jeho exprese vysokou heterogenitu. Možným vysvětlením je, že cyklin D1 exprimují také jiné, nenádorové buňky, které zkreslují jeho detekci. Zjistili jsme, že je problematické srovnávat tyto odlišné metody a při absenci přesně stanovených limitů pro detekci cyklinu D1 je jeho využití pro sledování MRN velmi omezené.

Podpora projektu: Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze (projekt č.20214).

P-65. ROZDÍLNÝ DIABETICKÝ FENOTYP U PACIENTŮ S MUTACÍ V GENU ABCC8

Roženková K. (1), Zapletalová J. (2), Elblová L. (1), Dušátková P. (1), Obermannová B. (1), Lebl J. (1), Šumník Z. (1), Průhová Š. (1)

1 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Mofol, 2 - Dětská klinika FN Olomouc

Školitel: doc. MUDr. Štěpánka Průhová, Ph.D.

Úvod: KATP kanál lokalizovaný na membráně β-buňky pankreatu, tvořený podjednotkami SUR1 (gen ABCC8) a Kir6.2 (gen KCNJ11), hraje klíčovou roli v regulaci sekrece inzulínu a glukózové homeostázy. Inaktivační mutace v genu ABCC8 způsobují vrozený hyperinzulinismus. Naopak aktivační mutace v tomto genu vedou k fenotypicky širokému spektru projevů diabetu – od tranzientního novorozeneckého diabetu (ND) až k projevům diabetes mellitus 2. typu. Část těchto pacientů reaguje na terapii sulfonylureou.

Cíl: Popsat diabetický fenotyp u dvou rodin s mutací v genu ABCC8 z Registru českých pacientů s monogenním diabetem a zhodnotit efekt terapie sulfonylureou.

Materiál a metody: U dvou nepříbuzných pacientů s ND a pozitivní rodinou anamnézou diabetu jsme metodou přímého sekvenování vyšetřili geny ABCC8 a KCNJ11. Byl proveden test podáním sulfonylurey (glibenclamid v dávce 0.5 mg/kg).

Výsledky: Rodina 1: U chlapce s ND byla nalezena heterozygotní mutace F132V v genu ABCC8. Ačkoli se jednalo o již popsanou mutaci způsobující permanentní ND neodpovídající na terapii sulfonylureou, u našeho pacienta byl test s podáním glibenclamidu pozitivní a pacient byl úspěšně na tuto terapii převeden. U jeho matky, která nese stejnou mutaci a u které byl diagnostikován diabetes ve věku 13 let, byla následně také zahájena terapie glibenclamidem s dobrým efektem.

Rodina 2: Dívka s ND (nepopsaná heterozygotní mutace R933Q v genu ABCC8) byla úspěšně léčena glibenclamidem do věku 7 týdnů. Stejná mutace byla nalezena i u jejího otce léčeného sulfonylureou od 39 let věku.

Závěr: Identické mutace v genu ABCC8 můžou vést k různému diabetickému fenotypu a také různé klinické odpovědi na terapii sulfonylureou. Na příkladu našich pacientů prezentujeme, že stejná mutace v genu ABCC8 může vést k rozdílným projevům diabetu dokonce i u členů jedné rodiny. Navíc jsme ukázali, že mutace F132V, dříve v literatuře popisovaná jako neresponzivní na terapii sulfonylureou, může na tuto terapii reagovat.

Podpora projektu: Podpora: GAUK 248 213

P-66. ÚSPĚŠNOST ŘEŠENÍ HYPOGLYKÉMIÍ U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1 TYPU (DM1T) - ANALÝZA ZÁZNAMŮ KONTINUÁLNÍHO MONITORU GLYKÉMIE

Baloušková P. (1), Kousalová K. (1), Brož J. (2)

1 - Pregraduální studentky 2. lékařské fakulty, Univerzita Karlova; 2 - Interní klinika 2. LF UK a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: as. MUDr. Jan Brož

Úvod: Hypoglykémie je komplikací léčby inzulínem a některými perorálními antidiabetiky (především deriváty sulfonylurey) u onemocnění diabetes mellitus. Mezi její typické projevy patří bledost, bolesti hlavy, pocení, třes nebo nevolnost. Může vést až ke ztrátě vědomí a ohrožovat nemocného na životě. Léčba běžné hypoglykémie spočívá v požití určitého množství sacharidů (optimálně čisté glukózy). Pokud je dávka sacharidů nedostatečná, může se hypoglykémie opakovat. Pokud je naopak příliš vysoká, může se objevit hyperglykémie a rozkolísat hladinu glykémie na několik dalších hodin.

Cíl: Snahou projektu bylo ověřit, zda byli pacienti schopni při řešení hypoglykémie správně odhadnout množství přijatých sacharidů.

Materiál a metody: Při studii byly analyzovány hodnoty glykémie z kontinuálního monitorování glykémie holterovského typu (Guardien, Medtronic Inc), který poskytuje hodnoty každých 5 minut. Jako hypoglykémii jsme počítali každý pokles glykémie pod 3,9mmol/l. Soubor respondentů tvořilo 25 pacientů s DM1T (13 žen a 12 mužů), sledovaných v Diabetologické ambulanci Interní kliniky FN Motol. Průměrný věk pacientů byl 37,6±13,0 let, průměrné BMI 25,3±4,87 kg/m2. Studie probíhala v období od 23.2.2016 do 1.2.2017. Délka pořizovaného záznamu byla od 2 do 18 dnů. V záznamu jsme se zaměřili na dobu nástupu hypoglykémie a vývoj glykémie v následném 3hodinovém intervalu. Za správné řešení hypoglykémie považujeme situaci, kdy se hypoglykémie v následujících 3 hodinách nevrátí a hodnota glykémie nestoupne nad 10mmol/l.

Výsledky: Pacienti byli monitorováni po celkových 151 dní, během kterých nastalo 153 případů hypoglykémie.

V následném 3hodinovém intervalu došlo z celkového počtu hypoglykémií 47krát k jejímu opakování (tzn. v 30,7% případů). U tří epizod hypoglykémií došlo během jednoho sledovaného intervalu k opakování 2krát, a u dalších dvou dokonce 5krát.

Ve zbylých případech glykémie stoupala. V 87 případech (59,2%) nepřesáhla glykémie 10mmol/l, ve 23 (15,6%) došlo k jejímu maximálnímu zvýšení do rozmezí 10-12mmol/l, ve 24 případech (16,3%) do 12-15mmol/l, ve 12 případech (8,2%) do 15-20mmol/l a jen v jediném (0,7%) přesáhla hodnotu 20mmol/l.

Závěr: Téměř ve třetině případů došlo k opakování epizody hypoglykémie. Celkem 6okrát došlo k přesažení mezní hodnoty 10mmol/l. Z výsledků tedy vyplývá, že schopnost pacientů udržovat hladiny glykémie v mezích normy je nedostačující. Při každé návštěvě v odborné ambulanci by měl lékař nemocného opakovaně instruovat a diskutovat s ním vývoj a způsob řešení jeho glykémií.

P-67. DÉLKA A TÍŽE HYPOGLYKÉMIE U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU (DM1T) - ANALÝZA ZÁZNAMŮ KONTINUÁLNÍHO MONITORU GLYKÉMIE

Kousalová K. (1), Baloušková P. (1), Brož J. (2)

1 - Pregraduální studentky 2. lékařské fakulty, Univerzita Karlova; 2 - Interní klinika 2. LF UK a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: as. MUDr. Jan Brož

Úvod: Hypoglykémie je komplikací léčby inzulínem a některými perorálními antidiabetiky (především deriváty sulfonylurey) u onemocnění diabetes mellitus. Mezi její typické projevy patří bledost, bolesti hlavy, pocení, třes nebo nevolnost. Může vést až ke ztrátě vědomí a ohrožovat nemocného na životě. Léčba běžné hypoglykémie spočívá v požití určitého množství sacharidů (optimálně čisté glukozy).

Cíl: Studie se zabývá analýzou frekvence, délky trvání a hloubkou hypoglykémií u skupiny pacientů s DM1T.

Materiál a metody: Hodnocení záznamů kontinuálního měření glykémie systémy Guardien, Medtronic Inc, které zaznamenávají hodnoty glykémie každých 5 min, bylo provedeno u skupiny pacientů s DM1T čítající 25 jedinců (z toho 12 mužů, 13 žen). Jako hypoglykémii jsme počítali každý pokles hodnoty glykémie pod 3,9 mmol/l. Průměrný věk sledovaných byl 37,6 ± 13,0 let, průměrné BMI 25,3 ± 4,87 kg/m2. Data byla shromažďována v období od 23.2.2016 do 1.2.2017. Pacienti byli monitorováni po dobu 2 až 18 dnů. V hodnocení záznamu jsme se zaměřili na trvání jednotlivých epizod hypoglykémií a jejich tíži, tzn. na jakou hladinu glykémie klesla.

Výsledky: Analýzou záznamů jsme zjistili 153 případů hypoglykémie, z toho ve 128 případech se jednalo o hypoglykémie denní, v 25 o noční. 40krát klesla glykémie pod 3mmol/l. Pacienti byli monitorováni celkem 151 dní 20 hod a 51 min, celková doba trvání hypoglykémií byla 123 hod 15 min. Celkem 92krát hypoglykémie překročila 30min, nejdéle setrval nemocný v hypoglykémii 3 hod 30 min. Jednotlivé epizody hypoglykémie průměrně trvaly 48,3 minuty.

Frekvence hypoglykémií u sledovaných byla 28,3 / 4 týdny (tedy 1,0 / 1 den), denních 23,7 / 4 týdny, nočních 4,6 / 4 týdny. Těžká hypoglykémie (tzn. pokles glykémie pod 3,0 mmol/l) se vyskytla průměrně 7,4krát / 4 týdny.

Z celkového množství hypoglykémií probíhalo 110 během pracovního týdne a 43 o víkendu. Z epizod 110 hypoglykémií, jež nastaly v pracovním týdnu, proběhlo 54 v pracovních hodinách (tj. od 8 do 15 hod).

Závěr: Analýza výsledků studie ukazuje, že hypoglykémie se u diabetiků vyskytla v průměru 1x za den, v drtivé většině šlo o hypoglykémie denní. V jedné epizodě hypoglykémie pacienti setrvali průměrně 48,3 minuty. Jednou týdně pak glykémie poklesla pod hranici 3 mmol/l. Ve více než 2/3 případů hypoglykémie nastala během pracovního týdne a polovina z nich probíhala v pracovní době. Z těchto poznatků vyplývá, že pacientům se nejméně daří udržovat glykémii v průběhu dne v zaměstnání.

P-68. DETEKCE PROBÍHAJÍCÍ DESTRUKCE BETA BUNĚK POMOCÍ SPECIFICKY DEMETHYLOVANÉ DNA

Sklenářová J., Petruželková L., Koloušková S., Lebl J., Šumník Z. a Cinek O.

Pediatrická klinika 2.LF UK a FN v Motole

Školitel: prof. MUDr. Kateřina Štechová

Úvod: Přímá metoda detekce poškození a smrti β-buněk by byla cenným nástrojem v predikci diabetu 1. typu (DM1) a klinických studiích směřujících k prevenci tohoto onemocnění. Detekce specificky demethylované DNA uvolňující se z β-buněk během jejich destrukce imunitním systémem byla popsána několika skupinami na myším modelu i u pacientů s DM1. Dosud popsané postupy detekující demethylované sekvence insulinového genu (INS) ale nejsou dostatečně specifické.

Cíl: Cílem naší práce bylo zlepšit specifitu stanovení zacílením metody do tkáňově specifického neuroendokrinního promotoru glukokinázového genu (GCK).

Materiál a metody: Množství methylované a demethylované GCK DNA jsme měřili pomocí methylačně specifického digitálního PCR. Metoda byla testována pomocí syntetických plazmidů obsahujících methylovanou/demethylovanou sekvenci. Specificita methylace v cílové sekvenci byla ověřena v DNA izolované z Langerhansových ostrůvků, krve, mozku, plic, ledvin, jater, žaludku, tenkého a tlustého střeva. Následně jsme analyzovali cirkulující DNA ze séra dětí krátce po manifestaci DM1 (n = 25), protilátkově pozitivních prvostupňových příbuzných diabetiků (n = 14) a zdravých kontrol (n = 20). Novou metodu jsme porovnávali s již dříve publikovanou metodou cílenou do INS promotoru.

Výsledky: Cílová sekvence byla převážně demethylovaná v ostrůvcích (89% v GCK, 68% v INS genu), zatímco v ostatních tkáních převažuje methylovaná DNA. Míra methylace mimo ostrůvky byla vyšší pro GCK u všech tkání kromě ledvin. Z experimentů na methylovaných a demethylovaných plazmidech vyplývá, že zatímco INS specifické PCR vykazuje falešně pozitivní demethylovaný signál při vysokém pozadí methylované DNA, stanovení pomocí GCK specifického PCR tento problém eliminuje. Na rozdíl od předchozích studií jsme neprokázali signifikantní zvýšení demethylované DNA u pacientů s DM1 (Tukey HSD test, GCK : p = 0,06; INS: p = 0,9) ani u protilátkově pozitivních příbuzných (Tukey HSD test, GCK : p = 0,9; INS: p = 0,4) v porovnání se zdravými kontrolami.

Závěr: Ačkoli zacílením metody do specificky demethylované oblasti GCK se zlepšily analytické vlastnosti stanovení, množství cirkulující demethylované GCK DNA v 500 uL séra je příliš malé, aby umožnilo detekci probíhající destrukci β-buněk. Naše zkušenosti s INS specifickou metodou zpochybňují výsledky předchozích studií a naznačují, že detekovaná demethylovaná INS DNA nemusí pocházet z β-buněk.

P-69. VÝVOJ FUNKCE KARDIOVASKULÁRNÍHO SYSTÉMU U PACIENTŮ S FUNKČNĚ JEDINOU KOMOROU

Materna O., Chaloupecký V., Janoušek J.

Dětské kardiocentrum 2. LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Jan Janoušek, Ph.D.

Úvod: Pod diagnózou funkčně společné komory jsou sdruženy vrozené srdeční vady, u kterých nelze srdce operací rozdělit na dvě komory. Cílovou operací je úplné kavopulmonální spojení (TCPC), při které jsou duté žíly napojeny na plicnice. Průtok krve plícemi je pak závislý na transpulmonálním gradientu mezi centrálním žilním tlakem a tlakem v síni plicních žil. U pacientů s rizikovými faktory se vytváří v systému fenestrace (FEN), která umožní snížit centrální žilní tlak za cenu poklesu systémové saturace hemoglobinu (Sat Hb).

Cíl: Cílem práce je analyzovat vývoj výkonnosti kardiovaskulárního systému u pacientů v unikátní situaci absence subpulmonální komory a s plicním průtokem závislým téměř výhradně na odporu plicního řečiště. U zdravé populace dochází s narůstajícím věkem k mírnému zvyšování arteriolární pulmonální vaskulární rezistence a k zvyšování tlaku v síni plicních žil při případném vývoji dysfunkce systémové komory nebo atrioventrikulární chlopně. Očekáváme tedy postupné zhoršování funkce kardiovaskulárního systému i u pacientů s funkčně jedinou komorou.

Materiál a metody: V letech 1991 - 2011 bylo v Dětském kardiocentru dokompletováno TCPC u celkem 311 pacientů. U 199 pacientů bylo možné vytvořit TCPC bez FEN, u 112 s FEN. 86 pacientů bylo sériově vyšetřeno bicyklovou ergometrií.

Výsledky: Odstup mezi dvěma vyšetřeními byl průměrně 7,39 roku. 70 pacientů nemělo při prvním vyšetření FEN, 16 pacientů mělo FEN, u 8 pacientů došlo mezi vyšetřeními k uzavření FEN. Průměrná maximální spotřeba kyslíku (VO_2 max) byla při prvním vyšetření u pacientů bez FEN 36,0 ml/kg.min, průměrná klidová Sat Hb 95,3% a Sat Hb při maximální zátěži 91,4%. U pacientů s FEN byla VO_2 max 31,1 ml/kg.min, klidová Sat Hb 92,5%, Sat Hb při maximální zátěži 85,2%. Při druhém vyšetření u pacientů původně bez FEN byla VO_2 max 30,0 ml/kg.min, klidová Sat Hb 93,8%, Sat Hb při maximální zátěži 88,7%. U pacientů s přetrvávající FEN byla VO_2 max 26,3 ml/kg.min, klidová Sat Hb 86,7%, Sat Hb při maximální zátěži 82,1%. U pacientů, kde došlo k uzávěru FEN byla VO_2 max 32,7 ml/kg.min, klidová Sat Hb 92,2%, Sat Hb při maximální zátěži 90,1%.

Závěr: U pacientů bez i s FEN došlo ke zhoršení průměrných parametrů funkce kardiovaskulárního systému mezi dvěma vyšetřeními. Skupina pacientů, u které došlo k uzávěru FEN mezi prvním a druhým vyšetřením se nezhoršila v parametrech VO_2 max a klidové Sat Hb a zlepšila se v Sat Hb při maximální zátěži. Jedná se o předběžné výsledky, které ještě neprošly podrobnou statistickou analýzou.

P-70. CHARAKTERISTIKY HYPOGLYKÉMIÍ U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU – RETROSPEKTIVNÍ DOTAZNÍKOVÁ STUDIE

Brož J. (1), Janíčková Žďárská D. (1), Doničová V. (2), Brabec M. (3,4)

1 - Interní klinika 2 LF UK a FN Motol, Praha; 2 - Diabetologická a interní ambulance Košice; 3 - Ústav informatiky Akademie věd ČR, Praha; 4 - Český institut Informatiky, Robotiky a Kybernetiky, ČVUT, Praha

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

Úvod: Hypoglykémie je jednou z komplikací léčby diabetes mellitus 1. typu, které se nevyhne většina pacientů. Frekvence, míra rozpoznávání i způsob léčby hypoglykémie, jsou jedním ze základních faktorů, které komplexně ovlivňují výsledky terapie.

Cíl: Cílem studie bylo zjistit okolnosti spojené se vznikem hypoglykémií u pacientů s diabetes mellitus 1. typu a znalosti pacientů o jejich léčbě.

Materiál a metody: Retrospektivní dotazníkové šetření bylo provedeno mezi pacienty s diabetes mellitus 1. typu ve třech diabetologických ambulancích. Pacienti byli do studie zařazováni konsekutivně. Sledovanými parametry byla frekvence hypoglykémií, včetně nočních a těžkých hypoglykémií, jejich výskyt v zaměstnání a během řízení motorových vozidel, nejčastější příznaky hypoglykémií a míra jejich rozpoznávání (dle Goldovy škály). Šetřeny byly dále způsob léčby hypoglykémie a její úspěšnost, její vztah k přítomnosti komplikací diabetu, k fyzické a sexuální aktivitě.

Výsledky: Šetření bylo provedeno u 127 pacientů s diabetes mellitus 1. typu (doba trvání diabetu 15,7 ± 9,3), z toho u 42 žen a 85 mužů , 56 pacientů bylo léčeno CSII a 71 IIT.

Frekvence hypoglykémií byla 8,1 ± 6,8/4 týdny (nejvyšší počet reportovaných hypoglykémií byl 35/měsíc), nočních hypoglykémií 3,1 ± 3,2 /4 týdny a těžkých hypoglykémií 0,9 ± 1,3/1rok (nejvyšší udaná frekvence byla 30 těžkých hypoglykémií/rok). Mezi oběma typy terapie, ani mezi pohlavími jsme ve výskytu hypoglykémie neprokázali signifikantní rozdíl.

Nejčastěji používané množství sacharidů v léčbě hypoglykémie činilo 20g. Množství sacharidů potřebné ke zvládnutí hypoglykémie nedokázalo odhadnout 42,3% dotázaných pacientů. Průměrná hodnota glykémie dosažená jednu hodinu po zaléčení činila 9,8mmol/l.

Závěr: S hypoglykémií se v průběhu jednoho měsíce setkal každý z vyšetřovaných pacientů. Způsob její léčby a její výsledky naznačují, že řada pacientů v tomto ohledu nemá dostatečné vědomosti. Dotazník navíc identifikoval řadu pacientů s vysokou frekvencí hypoglykémií včetně hypoglykémií těžkých. Otázka na frekvenci hypoglykémií a následná edukace by měla být pravidelnou součástí návštěv v diabetologické ambulanci.

P-71. AUTOIMMUNE DISEASES IN TURNER SYNDROME: THE ROLE OF XP DELETIONS AND FOXP3 HAPLOINSUFFICIENCY

Stoklasova J. (1), Zapletalova J. (2), Frysak Z. (3), Hana V. (4), Cap J. (5), Pavlikova M. (6), Lebl J. (1)

1 - Department of Pediatrics, Motol UH Prague; 2 - Department of Pediatrics, UH Olomouc; 3 - Department of Endocrinology, UH Olomouc; 4 - Department of Endocrinology, General UH Prague; 5 - Department of Endocrinology, UH Hradec Kralove; 6 - Faculty of Mathematics and Physics, Charles University Prague

Supervisor: prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Introduction: Turner syndrome (TS) is a genetic disorder in females, which is characterized by the presence of one normal X chromosome and the absence or abnormal configuration of the second X chromosome. Females with TS have a higher risk to develop autoimmune diseases (AID) such as autoimmune thyroid disease (AITD) and celiac disease (CD). The reason for this phenomenon is still unknown. Previous studies tracking associations between distinct karyotypes and AID in TS brought inconsistent results.

Aims: We aimed to clarify the role of the karyotype for AID. Furthermore, we investigated whether common therapies for individuals with TS like growth hormone (GH) and sexual hormones (SH) impact the occurrence of AID.

Materials and Methods: We analyzed retrospective data on clinical course, AID, karyotype and therapy in a large cohort of 286 Czech females with TS (current age 2.8 - 43.4 years, median 18.7). Karyotypes were sorted according usual classifications and a novel FOXP3 classification. We tested the influence of karyotypes and medications on the occurrence of AID.

Results: The prevalence of AITD (25.5%) and CD (8.7%) in the whole cohort was similar to previous studies. Other AID occurred in single cases only. The prevalence of AITD was higher in females with an isochromosome Xq (46,XiXq, 41.0%, p=0.01) or a Xp deletion (46,XdelXp, 40.0%, p=0.01). The higher prevalence of CD in 46,XiXq (18.4%) and 46,XdelXp (10.0%) was not significant (p=0.35). Both karyotype variants lack the short arm of the X chromosome where the FOXP3 gene is located. As FOXP3 controls regulatory T cells, its haploinsufficiency may facilitate the development of AITD (and AID in general) in TS. A novel karyotype classification reflecting the number of FOXP3 copies showed a tendency to a higher occurrence of AITD (29.2%) in subjects with a single copy of FOXP3 (including the kayotypes: 45,X; 46,XiXq; 46,XdelXp; 46,Xmar; 46,XY-material; p=0.36).

Concerning the impact of therapy, we showed no link between the mean age at initiation of GH and/or SH administration and the occurrence of AID.

Conclusions: Absence of the short arm of the X chromosome is correlated with a significantly higher occurrence of AITD in females with TS. Haploinsufficiency of FOXP3 (which is located on the short arm of the X chromosome) may contribute to the development of AITD. Therapy with GH and SH seems not to increase the risk of AID in TS.

P-72. ÚČINNOST VÝLUČNÉ ENTERÁLNÍ VÝŽIVY RŮZNÉHO SLOŽENÍ V INDUKCI REMISE U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S CROHNOVOU CHOROBOU

K. Zárubová, O. Hradský, I. Čopová, L. Gonsorčíková, K. Potužníková, T. Dršková, J. Bronský

Pediatrická klinika FN Motol a 2. LF UK

Školitel: doc. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.

Úvod: Výlučná enterální výživa byla prokázána jako efektivní v indukci remise u dětských pacientů s Crohnovou chorobou. Většina publikovaných studií se soustředí na ověření účinnosti jednoho konkrétního přípravku enterální výživy bez možnosti výběru preferované chuti či složení pacientem.

Cíl: Cílem naší studie bylo porovnat účinnost léčby a compliance pacientů při možnosti výběru typu enterální výživy.

Materiál a metody: Retrospektivně jsme analyzovali data u 150 pacientů, kteří byli léčeni výlučnou enterální výživou. 94 pacientů absolvovalo tuto léčbu z důvodu indukce remise nově diagnostikované Crohnovy choroby, 58 z jiných důvodů (brigde k biologické léčbě - n = 30, kombinace s biologickou léčbou - n = 16, reindukce enterální výživou - n = 12). Z 94 pacientů 68 splnilo kritéria pro zařazení do studie (40 chlapců, medián věku 13,29 let (IQR 11,34 – 15,44)). Všichni pacienti si mohli zvolit typ enterální výživy, vč. formy podání (nasogastrická sonda (NGS), perorální podání). Medián délky léčby byl 6 týdnů (IQR 6 – 7). Všichni pacienti současně dostávali konkomitantní terapii azathioprinem. Hodnotili jsme laboratorní remisi (CRP <5 mg/l), odpověď na léčbu (CRP <5 mg/l nebo pokles CRP o 20 mg/l) a compliance (nutnost zavedení NGS).

Výsledky: Multikomponentní výživu si vybralo 59 ze 68 sledovaných pacientů. Medián CRP před zahájením léčby výlučnou enterální výživou byl 19 mg/l (IQR 8 – 33,7), po terapii došlo k poklesu na hodnotu - medián 1,9 mg/l (IQR 1 – 8,5), tento pokles byl statisticky významný (p= < 0,01). 66 % procent pacientů dosáhlo laboratorní remise, 80 % na léčbu odpovědělo. 8 pacientů potřebovalo k dodržení stanovené délky terapie zavedení NGS, z toho 12,5 % již při zahájení terapie. Nebyl zaznamenán rozdíl mezi dosažením remise či odpovědí na léčbu u pacientů léčených multikomponentní či monokomponentní výživou, stejně tak neměla vliv forma podání výživy.

Závěr: Ve skupině sledovaných pacientů, kterým byl umožněn volný výběr polymerní enterální výživy, došlo k remisi i odpovědi na léčbu ve srovnatelném počtu jako u pacientů léčených monokomponentní výživou v již provedených studiích. Typ výživy ani forma podání neměly vliv na dosažení remise či odpovědi na léčbu.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen z VZ 64203/6001, GAUK 136215, 246216 a 364617.

P-73. OPERAČNÍ LÉČBA JATERNÍCH CYST S POUŽITÍM DA VINCI ROBOTICKÉHO SYSTÉMU

Langer D., Ryska M.

Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha

Školitel: prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc.

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

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

Materiál a metody: Zhodnocení skupiny 14 nemocných, kteří na našem pracovišti podstoupili pro symptomatické cystické léze jater roboticky asistovanou operační léčbu. Porovnání získaných dat a výsledků - osobních a intraoperačních dat včetně ukazatelů hemodynamiky, biochemického vyšetření krve a údajů k hodnocení perioperační celkové zátěže pacienta vyjádřené hodnotami cytokinů, u skupiny roboticky operovaných pacientů s kontrolní skupinou nemocných, u kterých byla provedena laparoskopická cholecystektomie.

Výsledky: Soubor pacientů operovaných s robotickou asistencí tvořilo 10 žen (71 %) a 4 muži (29 %) průměrného věku 61 let (40 - 72 let). Operační výkony jsme u všech nemocných dokončili miniinvazivní technikou s průměrnou dobou operačního výkonu 115 minut. V polovině případů byla jaterní cysta lokalizována v pravém laloku. U tří pacientů jsme současně provedli cholecystektomii. V hodnocené sestavě nemocných jsme zaznamenali časnou pooperační komplikaci u 1 operanta (biliární leak). Žádný nemocný nezemřel. Transfúzní přípravky jsme nepodali. Ve třech případech jsme potvrdili recidivu onemocnění.

Při srovnání údajů stran věku, peroperační krevní ztráty, komplikací a délky hospitalizace nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi oběma skupinami nemocných ($p<0.05$). Robotická skupina pacientů nevykázala oproti kontrolní skupině statisticky signifikantní rozdíl, kromě hodnot hladin fibrinogenu třetí pooperační den ($p<0,05$). V hemodynamických parametrech (srdeční index, centrální žilní tlak, indexovaný tepový objem, indexovaná systémová vaskulární rezistence, dodávka kyslíku ke tkáním, střední arteriální tlak - MAP, laktát, intraabdominální tlak) jsme nezaznamenali signifikantní rozdíl mezi kontrolní a experimentální skupinou ($p<0,05$), kromě jedné hodnoty a to MAP s koncem operačního výkonu.

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

P-74. COMPARISON OF TWO METHODS OF LEFT VENTRICULAR GLOBAL STRAIN ASSESSMENT WITH MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN NORMAL SUBJECTS: FEATURE TRACKING VERSUS TAGGING

Adla T. (1), Suchánek V. (1), Riedlbauchová L. (2), Ložek M. (3), Tomis J. (2), Hozman J. (3), Janoušek J. (3), Roček M. (1)

1 - Department of Radiology, 2 - Complex Cardiovascular Centre for Adult Patients, Cardiology Clinic, 3 – Department of biomedical engineering, Motol University Hospital

Supervisor: prof. MUDr. Miloslav Roček, CSc.

Introduction: Beside measurement of the heart ventricular volumes and ejection fraction exist other parameters for assessment of ventricular function, e.g. evaluation of wall deformation. Tagging (TG) is older methods with many technical limitations with need of additional sequence usually with long breath-hold. Feature tracking (FT) is a newer method for this assessment derived from standard cine images, however there is a limited experience with this method and normal values are not available for our population.

Aims: Aim of the study is to compare global deformation parameters of the left ventricle (LV) in healthy volunteers assessed with feature tracking and tagging.

Materials and Methods: Ten healthy volunteers (46 +/- 12 years) underwent cardiac MRI examination including tagged images in 3 longitudinal axes (LA) and 3 short axes (SA). Standard cine images were acquired in the same planes. Measurements of global strains were performed with the Segment v2.0 R5270 (Medviso, Sweden) software. Global longitudinal strain (GLS) was measured in the LA images. Global circumferential strain (GCS) was obtained from the SA images. Global radial strain (GRS) was measured from both the SA and LA images. Each measurement was done twice for assessment of intra-operator agreement.

Results: Difference between global strain measures by FT and TG expressed as bias by Bland-Altman analysis was: -5% for GCS, -7% for GLS, and 31% for GRS derived from SA. GRS derived from tagged images in LA showed an unrealistic result close to zero. Correlation was statistically significant for GCS, GLS and GRS from SA. There was no statistically significant intra-operator difference between the 1st and 2nd measurement for both methods in any plane.

Conclusions: In small set of normal subjects LV global strains assessed by FT were more prominent as compared to those measured by TG, especially for GRS obtained from SA images. Except this bias, the results were well correlated and both methods. The study proved feasibility and good intra-operator agreement of FT for left ventricular global strain and basic set of normal values for our population measured with given software. This is the most important outcome of the study because FT using standard cine images, therefore measurement could be done retrospectively in all patients who have been examined with MRI during the last years.

Support: Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. 15-31398A.

P-75. TOLERANCE ZÁTĚŽE PACIENTŮ PO SENNINGOVĚ KOREKCI TRANSPOZICE VELKÝCH ARTERIÍ

Pokorný J. (1), Tomek V. (2), Slabý K. (1), Procházka M. (1), Illinger V. (1), Radvanský J. (1)

1 - Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství, UK 2. LF a FN Motol, 2 - Dětské kardiocentrum UK 2.LF a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Jiří Radvanský, CSc.

Úvod: Transpozice velkých arterií (TGA) patří mezi nejčastější cyanotické vrozené srdeční vady. Mezi roky 1984 a 1997, před zavedením anatomické korekce v novorozeneckém věku (arteriální switch), bylo v Dětském kardiocentru v Motole operováno 300 pacientů tzv. atriální korekcí podle Mustarda a poté dle Senninga. Funkci systémové komory plní u těchto pacientů anatomicky pravá komora, z čehož plynou nejčastější dlouhodobé komplikace – progrese trikuspidální regurgitace, dilatace a selhávání pravé komory a z povahy zákroku plynoucí supraventrikulární arytmie. Populace pacientů po Senningově korekci je stále kardiologicky dispenzarizována a lze tak dlouhodobě sledovat funkci pravé komory v systémové cirkulaci. V minulosti proběhly dvě velké průřezové studie této populace (2002-2003 Chaloupecký et al., 2012-2013 Tomek et al.). Standardní součástí dispenzarizace jsou i opakované zátěžové testy.

Cíl: Analýza dat dlouhodobě sledovaných pacientů a identifikace faktorů ovlivňujících prognózu nebo pozdní komplikace, zejména selhávání pravé systémové komory.

Materiál a metody: 87 pacientů z původního souboru (z toho 24 žen, prům. věk 23 let, prům. 22,6 let od operace) se v rámci druhé průřezové studie podrobilo zátěžovému testu kombinovaným protokolem (submaximální 3minutové stupně následované maximální kontinuálně zvyšovanou zátěží).

Zátěžový test byl vzhledem ke zmíněným nejčastějším anomáliím považován za patologický v případě 1) významného snížení zdatnosti (Z-skore maximální spotřeby kyslíku méně než -2, 2) abnormálního chování krevního tlaku (klidová hypertenze, hypertenzní reakce v zátěži, patologický pokles krevního tlaku v zátěži) 3) chronotropní inkompetence (méně než -2 SD tepové frekvence v maximální zátěži) nebo 4) klinicky významné dysrytmie.

Výsledky: Patologická nezdatnost v době druhé průřezové studie byla přítomna u 50 % pacientů, anomální reakce krevního tlaku u 41,4 % a chronotropní inkompetence u 45,7 % pacientů. Významné dysrytmie nebyly zaznamenány.

Při zpětné analýze dat pacientů z první průřezové studie byly uvedené parametry patologické v 56,9 %, 53,2 % resp. 39,2 % pacientů.

Se sníženou tělesnou zdatností významně koreluje neefektivní ventilace (sklon křivky VE/VCO_2 v zátěži).

Závěr: Tolerance tělesné zátěže jako jednoho z hlavních ukazatelů prognózy je v souboru snížená, ale od poslední průřezové studie nedošlo v průměru k dalšímu poklesu. Ostatní hemodynamické parametry jsou ve sledovaném souboru rovněž stabilní.

Jednoznačný parametr predikující zhoršenou prognózu pacientů nebyl vzhledem k relativní stabilitě souboru prokázán. Pozornost v dalším sledování bude směřována k relativní neefektivitě ventilace v zátěži, která se sníženou zdatností významně koreluje.

P-76. 3 HZ POSTURÁLNÍ TREMOR U PACIENTŮ SE SPINOCEREBELÁRNÍ ATAXIÍ

Danková M. (1), Vyhnálek M. (1), Čakrt O. (2), Funda T. (3), Jeřábek J. (1)

1 - Neurologická klinika 2.LF a FNM; 2 - Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství; 3 - Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT

Školitel: doc. MUDr. Jaroslav Jeřábek, CSc.

Úvod: Spinocerebelární ataxie tvoří heterogenní skupinu degenerativních onemocnění charakterizovanou progresivní instabilitou stoje a chůze, dysartrií, dyskoordinací končetin na podkladě degenerace mozečku. Přes velký pokrok v molekulární genetice je přesné určení diagnózy často problematické. Klinický nález může být zejména v úvodních stádiích onemocnění nespecifický. 3 Hz tremor by mohl být podle některých studií specifickým markrem onemocnění.

Cíl: Cílem studie bylo analyzovat posturografické nálezy, zjistit prevalenci 3 Hz posturálního tremoru u pacientů se spinocerebelární ataxií a porovnat tyto výsledky se skupinou pacientů s instabilitou nemozečkové etiologie (periferní vestibulopatie) a se zdravými kontrolami.

Materiál a metody: 30 pacientů se spinocerebelární ataxií (1 SCA-1, 5 SCA-2, 1 SCA-3, 1 SCA-8, 1 SCA-17, 1 SCA-28, 19 ILOCA, 1 FRDA), 30 pacientů s periferní vestibulopatií a 30 zdravých kontrol bylo vyšetřených posturografií, hodnocena byla spektrální analýza signálu působiště výsledné tlakové síly (Centre of foot pressure). Vestibulární reaktivita byla vyšetřena elektronystagmografií včetně rotačních testů a kalorizace. Klinická mozečková symptomatika byla objektivizována pomocí škály Scale for the assessment and rating of ataxia (SARA).

Výsledky: Vyšetření posturografií umožňuje odlišit pacienty s postižením mozečku od pacientů s vestibulárním postižením I zdravých kontrol. Nález 3 Hz byl pro pacienty s cerebelárním postižením specifický, jeho prevalence byla u pacientů s SCA 90%, včetně pacientů s lehkým klinickým postižením. 3 Hz tremor nebyl přítomný u pacientu s periferní vestibulopatií, ani u zdravých kontrol.

Závěr: Tento nález může sloužit jako objektivní korelát postižení mozečku.

P-77. VLIV DLOUHODOBÉ HYPERGLYKÉMIE NA PŘÍPRAVU A FUNKCI TOLEROGENNÍCH DENDRITICKÝCH BUNĚK PRO TERAPII PACIENTŮ S DIABETEM I. TYPU

Dáňová K. (1,2), Grohová A. (1,2), Strnadová P. (1), Funda D. P. (3), Šumník Z. (4), Lebl J. (4), Cinek O. (4), Průhová Š. (4), Kolouškova S. (4), Obermannová B. (4), Petruželková L. (4), Šedivá A. (2), Fundová P. (3), Buschard K. (5), Špíšek R. (1,2), Palová-Jelínková L. (1,2)

1 - SOTIO a.s., Praha, Česká republika; 2 - Ústav imunologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha, Česká republika; 3 - Oddělení imunologie a gnotobiologie, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky v.v.i., Praha, Česká republika; 4 - Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha, Česká republika; 5 - The Bartholin Institute, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark

Školitel: RNDr. Lenka Palová-Jelínková, Ph.D.

Úvod: Tolerogenní dendritické buňky (DC) představují slibný terapeutický nástroj pro navození antigenně specifické tolerance u pacientů s autoimunitními onemocněními, jako je diabetes mellitus 1. typu (DM1). DM1 vzniká v důsledku autoimunitního zničení β buněk slinivky břišní, což u pacientů vede k hyperglykémii, která následně významně ovlivňuje buňky imunitního systému.

Cíl: Cílem projektu bylo určit, jak hladina dlouhodobé glykémie (vyjádřená hodnotou glykovaného hemoglobinu, HbA1c) ovlivňuje možnost přípravy terapie založené na autologních tolerogenních DC u pacientů s DM1. Hodnocen byl vliv jak na fenotyp tolerogenních DC, tak na jejich funkci in vitro.

Materiál a metody: Tolerogenní DC byly připraveny z monocytů pomocí dexamethasonu a vitamínu D2 od 31 pacientů s uspokojivou kompenzací DM1 (HbA1c≤7,5%) a od 60 pacientů s neuspokojivou kompenzací DM1 (HbA1c>7,5%). Jako kontrola sloužily konvenčně připravené DC bez tolerogenních faktorů. U DC jsme pomocí průtokové cytometrie analyzovali fenotyp a pomocí multiplexové analýzy produkci cytokinů. Tolerogenní DC pulzované diabetogenním antigenem GAD65 (glutamát dekarboxyláza) byly následně kultivovány s autologními T buňkami, u kterých jsme pomocí průtokové cytometrie a multiplexové analýzy stanovili jejich proliferační aktivitu, produkci cytokinů a expresi vybraných znaků.

Výsledky: Ačkoli u obou skupin pacientů vykazovaly tolerogenní DC regulační fenotyp, u pacientů s uspokojivou kompenzací DM1 byla detekována vyšší povrchová exprese tolerogenních znaků IL-T3 a PD-L1 než u pacientů s neuspokojivou kompenzací DM1. Navíc u pacientů s uspokojivou kompenzací tolerogenní DC byly schopné navodit nižší Th1/Th17 odpověď, indukovat stabilní antigenně specifickou T buněčnou neodpovídavost a také byly schopné utlumit imunitní odpověď vyvolanou imunogenními DC. V neposlední řadě tolerogenní DC u pacientů s uspokojivou kompenzací DM1 indukovaly diferenciaci FoxP3 pozitivních regulačních T buněk s vyšší supresivní aktivitou než měly regulační T buňky indukované u pacientů s neuspokojivou kompenzací DM1. Na příkladu dvou pacientů jsme zároveň ukázali, že zlepšení kompenzace DM1 vede k obnovení regulačních schopností tolerogenních DC.

Závěr: Získaná data představují důležitý přínos pro nastavení parametrů případných klinických studií zaměřených na DM1. Výsledky práce byly publikovány v časopise The Journal of Immunology (IF=4.985).

Podpora projektu: Projekt byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze, GAUK 132215.

P-78. MORFOMETRICKÉ PARAMETRY LOPATKY A JEJICH KLINICKÁ RELEVANCE

Hudák R. (1), Koníček P. (2), Kachlík D. (1), Havlas V. (2)

1 - Anatomický ústav, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha; 2 - Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: doc. MUDr. Vojtěch Havlas, Ph.D.

Úvod: Lopatka tvoří společně s klíční kostí pletenec horní končetiny, který je svým anatomickým uspořádáním zásadní pro pohyby celé horní končetiny. Jedná se o kost s velkou morfologickou variabilitou, jejíž míra má velký význam při celé řadě ortopedických a traumatologických patologií (např. impingement syndrom rotátorové manžety, úžinový syndrom nervus suprascapularis apod.).

Cíl: Cílem měření morfometrických parametrů lopatky bylo srovnání údajů získaných z vlastního materiálu s již publikovanými vědeckými pracemi a zejména nalezení korelací mezi rozměry jednotlivých anatomických části lopatky, které by mohly mít klinický význam. Důraz byl kladen na měření rozměrů a tvarů akromia, vzdálenosti acromion – processus coracoideus, rozměrů cavitas glenoidalis a incisura scapulae.

Materiál a metody: Celkově bylo zkoumáno a morfometricky změřeno 254 suchých, nespárovaných lopatek (129 levých, 121 pravých) z kadaverů dospělých dárců europoidní rasy neznámého stáří a pohlaví. Lopatky pocházely ze sbírek anatomických ústavů 1. a 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a z Ústavu anatomie, histologie a embryologie Lékařské fakulty Semmelweisovy Univerzity v Budapešti. Měření na kostech bylo provedeno pomocí digitálního a mechanického posuvného měřidla, úhloměru a pravítek.

Výsledky: Acromion: Průměrná délka akromia byla naměřena 44,55 ± 6,59 mm, šířka 24,96 ± 3,37 mm a hloubka 8,37 ± 1,96 mm. Typ 1 (plochý akromion) jsme naměřili v 49,1 % případů, typ 2 (oblý akromion) v 42,9 % a typ 3 (hákovitý akromion) v 8 %. Průměrná vzdálenosti mezi akromiem a processus coracoideus měřila 28,27 ± 6,22 mm.

Cavitas glenoidalis: Průměrná výška cavitas glenoidalis byla 34,45 ± 3,69 mm, šířka 24,63 ± 3.33 mm, hloubka 1,38 ± 0,94 mm a obvod 91,42 ± 11.23 mm. Hruškovitý tvar jamky se vyskytoval v 85,8 % a oválný tvar ve 14,2 % případů.

Incisura scapulae: Průměrná maximální výška incisura scapulae byla 8,22 ± 3,00 mm a průměrná horní šířka byla 4,72 ± 2,37 mm. Typ I se vyskytoval v 8,33 %, typ II 12,3 % a typ III v 51,5 % případů. Typ IV, foramen scapulae, byl přítomny na 6,3 % lopatkách. Typ V, diskrétní insicura, se vyskytl v 21,4 %.

Závěr: Změřili jsme rozměry a tvary klinicky významných struktur lopatky od dárců v České republice a Maďarsku porovnali jsme je s ostatními studiemi. Naše výsledky poslouží jako základ pro další výzkumy, ale také pro lepší diagnostiku na zobrazovacích metodách a následnou ortopedickou nebo traumatologickou léčbu.

P-79. ROZDÍLNÝ IMUNITNÍ PROFIL U PACIENTŮ S ADENOKARCINOMEM A SKVAMÓZNÍM KARCINOMEM: VYUŽITÍ PRO IMUNOTERAPII NEMALOBUNĚČNÉHO KARCINOMU PLIC

Hradilová N. (1,2), Palata O. (1), Sadílková L. (1), Myšíková D. (3), Mrázková H. (3), Lischke R. (3),Špíšek R. (1,2), Adkins I. (1,2)

1 - SOTIO, Praha, Česká republika; 2 - Oddělení imunologie, 2. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN Motol, Praha, Česká republika; 3 - 3.chirurgická klinika, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN Motol, Praha, Česká republika

Školitel: Mgr. Irena Adkins, Ph.D.

Úvod: Karcinom plic patří k nejčastějším příčinám úmrtí na nádorové onemocnění na světě. Navzdory pokrokům v oblastech chirurgie, diagnózy a chemoterapie zůstává prognóza tohoto onemocnění velmi špatná. Porozumění úloze imunitní infiltrace a nádorového mikroprostředí je jednou z cest, jak vyvinout nové terapeutické přístupy pro toto onemocnění.

Cíl: Cílem této práce je porovnání imunitního infiltrátu v nádoru a ve zdravé plicní tkáni, analýza T buněčných odpovědí a sekretovaných cytokinů. Zaměřili jsme se také na detekci supresorových populací jako jsou T regulační lymfocyty (CD4+CD25+Foxp3+) a myeloidní supresorové buňky (MDSC) a na expresi inhibičních molekul PD-1, TIM3, LAG-3 a CTLA-4 na povrchu cirkulujících i intratumorálních T lymfocytů.

Materiál a metody: V této studii jsme doposud analyzovali více než 30 vzorků adenokarcinomu (AC) a 30 skvamózních karcinomů (SCC) nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), dále krev pacientů a zdravých dárců. Vzorky tkáně byly disociovány na buněčnou suspensi a populace imunitních buněk a jejich vlastnosti byly detekovány pomocí průtokového cytometru. Buňky byly nespecificky stimulovány PMA a ionomycinem a buněčné odpovědi byly měřeny pomocí průtokového cytometru a sekretované cytokiny metodou Luminex.

Výsledky: U obou typů nádoru jsme pozorovali shodně vyšší infiltraci B lymfocytů, paměťových T lymfocytů, dendritických buněk, monocytů/makrofágů, žírných buněk a T regulačních lymfocytů v porovnání s nenádorovou tkání. Avšak mezi typy nádorů nebyly pozorovány žádné rozdíly. Na druhou stranu jsme však detekovali nižší podíl IFNγ-produkujících T lymfocytů a nižší hladinu prozánětlivých cytokinů u SCC, což by naznačovalo vyšší supresivní prostředí u toho typu nádorů. Dále jsme pozorovali sníženou expresi PD-1 a LAG-3 molekul na cirkulujících T lymfocytech u AC pacientů v porovnání se SCC a zdravými kontrolami, dále vyšší hladinu PD-1 a CTLA-4 na CD8+ intratumorálních T lymfocytech u SCC. Zároveň jsme také detekovali vyšší množství MDSC u SSC, což koreluje s vyšší hladinou Arginázy 1 a se snížením CD3+ řetězce u T lymfocytů u SSC pacientů. Naopak u AC pacientů bylo detekováno zvýšené množství T regulačních lymfocytů v krvi.

Závěr: Naše výsledky naznačují, že v jednotlivých typech nádorů se zastoupení supresorových buněčných populací liší. Tato zjištění by mohla napomoci k vývoji cílené léčby a nových terapeutických postupů při léčbě jednotlivých subtypů nemalobuněčného karcinomu plic.

P-80. WEBOVÁ APLIKACE POSKYTUJÍCÍ PODPORU SPRÁVNÉHO VÝBĚRU A REALIZACE STATISTICKÉ METODY

Štěpánek l. (1, 2, 3), Štuka Č. (1), Vejražka M. (4)

1 - Oddělení výpočetní techniky a centrum podpory multimediálního vzdělávání, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova; 2 - Katedra biomedicínské informatiky, Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze; 3 - Ústav vědeckých informací, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova; 4 - Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

Školitel: MUDr. Jitka Feberová, Ph.D.

Úvod: Problematika výběru korektní statistické metody vhodné pro analýzu dat výzkumníka je kruciální součástí přípravy a realizace vědecké práce. Ve snaze zjednodušit celý proces jsme navrhli a implementovali webovou aplikaci, jež pomáhá badateli, který čelí otázce výběru a vypracování statistického modelu ve své práci.

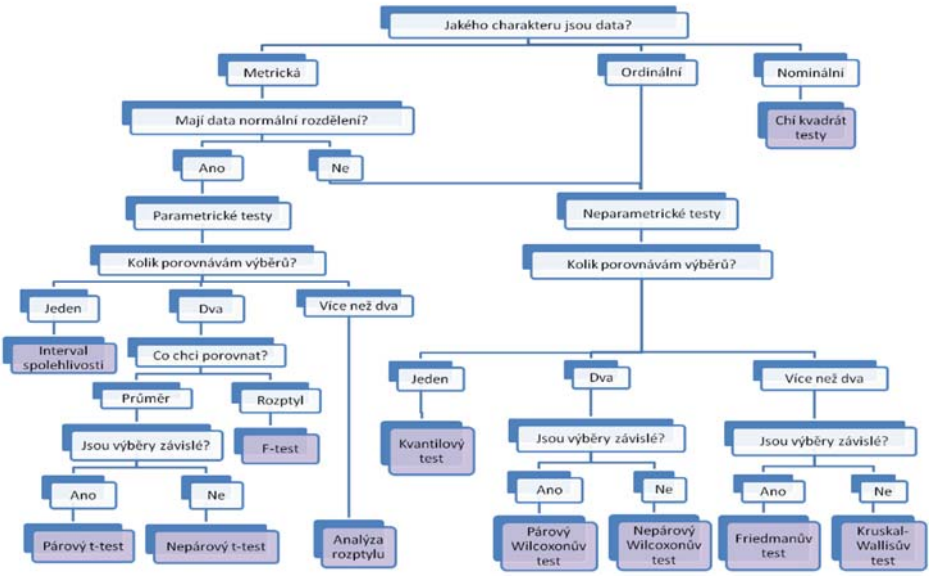
Cíl: Naším cílem je poskytnout nástroj pro co možná nejsnazší výběr a následnou aplikaci statistické metody vhodné pro výzkumný záměr a data badatele. Možnou cestou je dle autorů vývoj aplikace dostupné online tak, aby práce s aplikací byla intuitivní a nevyžadovala studium dlouhých manuálů.

Materiál a metody: Aplikace je volně dostupná online. Jádro aplikace je napsáno v jazyce R, což je programovací jazyk a prostředí pro statistické výpočty a grafiku. Kód napsaný offline v jazyce R byl s použitím balíčku Shiny nahrán online na server dedikovaný pro R výpočty. Aplikace je dostupná na R serveru 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy na http://shiny.statest.cz:3838/statisticke_nastroje/. Aplikace používá češtinu jako jazyk volby, překlad do angličtiny je plánován. Vývojový diagram integrovaný do aplikace pomáhá učinit správná statistická rozhodnutí v závislosti na použitých datech a zamýšlených hypotézách. Statistické metody, které jsou doposavad implementovány, pokrývají parametrické testy (t-testy, F-testy, ANOVA aj.) i neparametrické metody (Wilcoxonovy testy, Kruskal-Wallisův či Friedmanův test).

Výsledky: Klíčovou komponentou aplikace je zmíněný vývojový diagram (viz obrázek). Umožňuje výzkumníkovi vybrat statistickou metodu co možná nejvíce odpovídající jeho datům a hypotézám, a to tak, že výzkumník projde diagramem v naznačeném směru (shora dolů) na základě odpovědí na pokládané otázky. Když se postupným odpovídáním na otázky v diagramu dostane až k jeho koncovému bodu, je zde připraven odkaz na záložku, která vede k dané statistické metodě umožňující provést celou analýzu. Hlavní rozhodovací uzly vývojového diagramu vyžadují zodpovězení otázek týkajících se typů a struktur nasbíraných dat, empirického rozložení dat, počtu porovnávaných výběrů a srovnávání střední hodnoty, nebo míry variability dat.

Závěr: Prvním krokem každé statistické analýzy je volba správného statistického modelu. Tento krok je však trikový a mnohdy netriviální i pro zkušeného badatele. Uživatelsky přátelská, vyvinutá aplikace se snaží tento krok zjednodušit. Propojení mezi doporučením konkrétní statistické metody na základě diagramu a záložkou odkazující na danou metodu může zlepšit uživatelský komfort.

Poznámka: Link aplikace je http://shiny.statest.cz:3838/statisticke_nastroje/. An English version of this abstract is available at http://github.com/LStepanek/statistical_tools/blob/master/abstract_2016.pdf.



P-81. OUTCOMES OF SUPRACONDYLAR HUMERAL FRACTURES IN CHILDREN ACCORDING TO A TYPE OF FRACTURE AND TREATMENT METHODS – PILOT STUDY

Vlach M., Havlas V.

Department of Orthopaedics, 2nd Faculty of Medicine of Charles University and UN Motol

Supervisor: doc. MUDr. Vojtěch Havlas, Ph.D.

Introduction: Supracondylar humeral fracture (SCF) with a frequency of 4-5 % among all paediatric fractures is one of the most common fractures in kids in preschool and younger school age. It usually occurs as a result of a fall on a hyper-extended upper limb. To treat this injury several techniques might be used. In our department novel approach to SCF reduction was described and for past 20 years performed. The SCF is usually feared among physicians due to possible serious complications. Albeit widespread belief that the long term outcome of the SCF is good, there are only few works that investigate long term outcome, none of them comparing long-term functional results of various treatment methods.

Aims: As a pilot study to our planned prospective cohort study we have performed a measurement of set of clinical features of the elbow in patients who suffered from the operatively treated SCF in the past.

Materials and Methods: We measured the range of movement (ROM) in the elbow joint in terms of flection/extension and supination/pronation, carrying angle and the long term function. Carrying angle was measured by common goniometer, ROM was assessed by the Xsens system and the function was evaluated using the Quick-DASH questionnaire. As a control group we have measured the contra-lateral elbow joints of our patients. The ROM and carrying angle was measured on 3 patients and we obtained completed Quick-DASH questionnaires from 20 patients.

Results: From clinical point of view the output of the the Xsens measurements obtained was not easily evaluable and development of examiner-friendly application would have been necessary for wider clinical use. At the same time we comparatively assessed the ROM and found it symmetrical and normal in all 3 examined patients.

All patients achieved "0,0" Quick-DASH score, which means they experience neither difficulties nor pain in relation to suffered elbow trauma.

Conclusions: The Xsense system as it stands is not ready to wider clinical application because of the hostile basic output, unevenness of the output in regard of moving the sensors in different planes and problems with sensors not being installed in standardised positions on the arm and forearm.

Our plan is to design a device, which would affix the sensors on exact places of the forearm and arm respectively to obtain standardised data which then would be easily converted into clinically usable and interpretable figures by user-friendly software.

P-82. CELOGENOMOVÁ ANALÝZA SÉROTYPŮ ADENOVIRŮ U PACIENTŮ PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI HEMATOPOETICKÝCH KMENOVÝCH BUNĚK

Kramná L. (1), Briksí A. (2), Železná I. (1), Šumová J. (2), Veselá K. (1), Hubáček P. (2), Cinek O. (1)

1 - Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Motole; 2 - Ústav lékařské mikrobiologie, Fakultní nemocnice v Motole

Školitel: doc. MUDr. Ondřej Cinek PhD.

Úvod: Adenoviry představují závažný problém pro pacienty s imunosupresivní léčbou, jako jsou pacienti po různých druzích transplantací. Způsobuje u nich většinou průjmová onemocnění, ale mohou se objevit i těžké hepatitidy a pneumonie a infekce tak může vést k úmrtí pacienta. Přenos probíhá zpravidla kontaktem s kontaminovaným povrchem nebo osobou, ale mohou se rozvinout i v důsledku endogenní reaktivace viru. V letech 2011 až 2016 byly ve Fakultní nemocnici v Motole zaznamenány adenovirové infekce u 111 (65%) dětí po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby.

Cíl: Naším cílem bylo provést sekvenční analýzu těchto adenovirových genomů a porovnat jejich fylogenetickou příbuznost.

Materiál a metody: Pro celogenomové sekvenování adenovirů bylo vybráno 17 dětských pacientů (5 dívek) ve věku od 0.4 do 16.8 let (medián 6.6 let). Pacientům bylo odebráno 1 až 22 vzorků stolice, pokrývající období 1 až 719 dní (medián 19 dní). Celkem bylo sekvenováno 96 vzorků. Příprava vzorků spočívala v přepisu náhodných fragmentů virové DNA, jejich amplifikaci, opatření fragmentů indexy a sekvenování na přístroji MiSeq, Illumina. Výsledná data byla porovnána s rutinním testováním genu pro hexon protein virové kapsidy prováděném pomocí Sangerova sekvenování.

Výsledky: Z nalezených sérotypů převládal ve většině případů adenovirus 31, 12 pacientů (71%): z toho u 10 pacientů (53%) byl nalezen také subtyp, jehož 800 nukleotidů dlouhá koncová část genomu byla příbuznější adenoviru 18. U 5 pacientů (24%) byla nalezena směsná populace adenovirů 6 a 31. V naprosté většině případů nedošlo za zkoumané období ke změně sérotypu v rámci pacienta. Výjimku tvořil jeden pacient, u nějž došlo k výskytu dvou episod adenovirové infekce s ročním odstupem. Vliv adenovirového sérotypu ani jeho subtypu na mortalitu pacientů nebyl prokázán.

Závěr: Celogenomové sekvenování se ukázalo být dobrým a přesným nástrojem k rozlišování směsných populací virů ve vzorku. Možnost detekovat i virové subtypy by mohlo v budoucnu posloužit k lepší diagnostice virových infekcí.

P-83. VYUŽITÍ MULTIPOTENTNÍCH BUNĚK KOSTNÍ DŘENĚ V MODERNÍ LÉČBĚ PORANĚNÉ CHRUPAVKY

Neckař P.

Oddělení ortopedie a sportovní medicíny, Krajská zdravotní a.s, Masarykova nemocnice Ústí nad Labem o.z.

Školitel: doc. MUDr. V. Havlas, Ph.D.

Úvod: Léčba poraněné chrupavky je obtížná, ve většině případů dochází následkem poškození chrupavky k rozvoji artrózy, kde je implantace endoprotézy konečným chirurgickým zákrokem. Současné metody léčby defektů chrupavky jsou limitovány a vedou k hojení defektů méně kvalitní vazivovou tkání. Kostní dřeň obsahuje multipotentní buňky, jejichž sekreční faktory a diferenciace v chondrocyty (chrupavčité buňky) se v různé míře podílejí na regeneraci chrupavčité tkáně.

Cíl: Cílem je porovnat produkty získané z kostní dřeně a určit, který bude vhodnější pro plánovanou výrobu léčivého produktu k terapii poškozené chrupavky.

Materiál a metody: Od deseti dobrovolných dárců (pacientů v celkové anestezii během operace) je na základě podepsaného informovaného souhlasu odebrána kostní dřeň (40ml) z přední strany lopaty kosti pánevní. Získané buňky kostní dřeně od jednoho pacienta se porovnají z hlediska vhodnosti pro výrobu hodnocených léčivých přípravků moderní terapie (LP) jednak pro a) separované nukleární frakce (hAMNF) -produkt A a pro b) kultivované mezenchymální buňky (MSC, hAMSC) – produkt B. Pro výrobu produktu typu A (hAMNF) jsou separovány jaderné buňky z kostní dřeně a převedeny do finálního přípravku. Pro výrobu produktu typu B (MSC a hAMSC) jsou separovány jaderné buňky z kostní dřeně nasazeny na kultivační lahve, kultivovány cca tři týdny a ve třetí pasáži sklizeny do finálního přípravku. Vyrobené léčivé přípravky odběru jsou porovnány z hlediska požadavků specifikace pro daný typ LP (buněčnost, viabilita, sterilita, charakterizace povrchových markerů).

Výsledky: Léčivé přípravky vyrobené z odebrané kostní dřeně byly porovnány z hlediska viability, sterility a byly charakterizovány povrchové znaky, resp. zastoupení buněčných populací v produktu. Oba přípravky byly sterilní a vykazovaly srovnatelnou viabilitu a stabilitu. V testovaném souboru jsme nezjistili kvalitativní závislost buněčného přípravku na věku dárce.

Závěr: Oba produkty z kostní dřeně svými charakteristikami splňují podmínky pro hledaný léčebný produkt, s konstatováním faktu velmi odlišné časové a ekonomické náročnosti na výrobu obou produktů (hAMNF představují podstatně rychlejší a levnější variantu). Porovnání klinické účinnosti je cílem plánované klinické studie a v současné chvíli ze získaných laboratorních dat nelze jednoznačně říci, u kterého produktu lze očekávat vyšší klinickou účinnost.

P-84. STUDIUM VÝVOJE B-LYMFOCYTŮ POMOCÍ HMOTNOSTNÍ CYTOMETRIE

Stuchlý J. (1), Pelák O. (1), Wentink M. (2), Kužílková D. (1), van den Burg M. (2), Kalina T. (1)

1 - CLIP - Cytometrie, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta; 2 - Dept. of Immunology, Erasmus MC, Rotterdam, Netherlands

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

Úvod: Homotnostní cytometrie umožňuje měřit až desítky markerů na miliónech buněk v jednom vzorku a vytvořit tak obraz jejich dynamiky a vztahů v průběhu buněčného vývoje. Mnohodimenzionální charakter s sebou pak přináší potřebu návrhu a implementace nových metod pro samotnou analýzu.

Cíl: Cílem této studie je charakterizace vývoje B-lymfocytů v kostní dřeni a periferní krvi.

Materiál a metody: U 9-ti vzorků zdravých dárců (4x obohacené B-buňky z kostní dřeně, 2x mononukleární buňky z kostní dřeně, 3x mononukleární buňky z periferní krve) jsme měřili 37 extra- a intracelulárních markerů. Data byla analyzována v prostředí jazyka R, výpočetně náročné části byly implementovány v jazyce C++.

Výsledky: Vyvinuli jsme softwarový nástroj, který s použitím teorie grafů hledá v mnohodimenzionálním prostoru logické vývojové cesty mezi známými stádii vývoje B-buněk a převádí tak komplexní informaci na jednodimezionální popis změn a vztahů jednotlivých markerů v čase.

Závěr: Studie prokázala sílu hmotnostní cytometrie v komplexním popisu buněčného vývoje a nezbytnost pokročilé počítačové analýzy dat.

Podpora projektu: Agentura pro zdravotnický výykum - grant č. 15-26588A, OPPK cz.2.16/3.1.00/21540.

P-85. RETROSPEKTIVNÍ PREVALENČNÍ ANALÝZA NÁKLADŮ NA LÉČBU A PÉČI O PACIENTY S CYSTICKOU FIBRÓZOU V ČR A AKTUALIZACE NÁRODNÍHO REGISTRU CYSTICKÉ FIBRÓZY

Turnovec M. (1), Bílková A. (2), Dřevínek P. (3), Skalická V. (2), Mlčoch T. (4), Klimeš J. (5), Jirčíková J. (4), Doležal T. (4)., Macek M. jr. (1)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FNM, 2 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FNM, 3 – Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FNM, 4 – Institut pro zdravotní ekonomiku a technology assessment o. p. s., 5 – Farmaceutická fakulta v Hradci Králové UK

Školitel: prof. MUDr. Milan Macek jr., DrSc., MHA

Úvod: Cystická fibróza (CF) je chronické progresivní onemocnění vyžadující celoživotní péči, jejíž náklady stoupají s věkem. Existuje několik studií o nákladovosti této diagnózy z Evropy, Austrálie a USA, avšak pro Střední Evropu tyto údaje nejsou dostupné. Chyběla i snadno modifikovatelná verze registru, která by umožnila operativní rozšíření sbíraných dat pro další nákladové studie v souvislosti se vstupem nových terapií CF do našeho zdravotního systému.

Cíl: Cílem práce bylo retrospektivně určit celkové náklady na zdravotní péči o pacienty s CF v České republice (ČR) a aktualizovat registr cystické fibrózy (www.cfregistr.cz).

Materiál a metody: Pro prevalenční „cost of illness" analýzu byla vybrána reprezentativní skupina všech pacientů z CF centra FN Motol. Do studie bylo zařazeno celkem 330 CF pacientů, což představuje asi 65 % pacientů v ČR. Klinická a laboratorní data byla získána převážně z původního národního registru a z dalších klinických podkladů, které bylo třeba zpracovat „ručně". Data o nákladech byla získána z odboru pro styk se zdravotními pojišťovnami FN Motol. Náklady byly vztaženy k věku, pohlaví, genotypu mutací genu CFTR, BMI, závažnosti plicního postižení a kolonizace Pseudomonas aeruginosa (PA) a/nebo Burkholderia cepacia complex. Pro statistické vyhodnocení byly využity Kruskallův-Wallisův, Mannův-Whitneyho test a nelineární regresní analýza. Nová verze CF registru byla kompletně znovu vyvinuta v jazyce Python 3 s využitím frameworku Django a databáze PostgreSQL.

Výsledky: Průměrné celkové roční náklady na péči o jednoho pacienta byly 14 486 €, z čehož 69,7 % připadá na léky a zdravotní pomůcky, 18,0 % zdravotní výkony a 12,3 % na náklady spojené s hospitalizací. Náklady závisí na závažnosti onemocnění, jako nejvýznamnější prediktory nákladů se ukázaly parametr FEV1 a chronická infekce PA. Nová verze registru umožňuje snadné přidávání nových položek pro sledování nových terapií a snadnější získání dat pro další studie.

Závěr: Naše výsledky ve shodě se studiemi z jiných zemí potvrzují, že náklady na péči o pacienty s CF stoupají s věkem pacientů a závažností jejich postižení. Největší část nákladů připadá na léky a zdravotnické pomůcky. Aktualizovaná verze registru do budoucna umožní operativní a rychlé vyhodnocení nákladové efektivity moderních druhů terapie, například tzv. „CFTR modulating therapies" využívajících léčivých přípravků pro vzácná onemocnění.

Podpora projektu: Institucionální podpora FNM 00064203, NF-CZ11-PDP-3-003-2014, COST-LD14073 a CZ.2.16/3.1.00/24022.nstitucionální podpora FNM 00064203, projekty NT/13770-4, NF-CZ11-PDP-3-003-2014, COST-LD14073, CZ.2.16/3.1.00/24022.

P-86. VLIV STÁRNUTÍ NA FUNKCI VESTIBULÁRNÍHO SYSTÉMU

Rezlerová P. (1), Jeřábek J. (2), Čakrt O. (1)

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

Pregraduální student

Školitel: PhDr. Ondřej Čakrt, Ph.D.

Úvod: Jednou z možností vyšetření funkce vestibulárního systému je testování tzv. dynamické zrakové ostrosti (dynamic visual acuity; DVA). Toto vyšetření umožňuje kvantifikovat funkci vestibulo-okulárního reflexu a je jednoduše proveditelné v klinické praxi. V naší práci jsme testovali DVA během chůze a při izolovaných pohybech hlavou v sagitální a transverzální rovině u zdravých seniorů a mladých jedinců.

Cíl: Zjistit, zda existují významné rozdíly změny DVA mezi skupinou mladých a seniorů. Dále zjistit, jakým způsobem ovlivňují jednotlivé situace (chůze, izolované pohyby hlavou) změnu DVA. Navrhnout, který z testovaných postupů je pro běžné klinické vyšetření optimální.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme dvě skupiny probandů: 22 mladých jedinců, 23.8±3.1 (průměrný věk, SD), 4 M, 18 Ž; druhou skupinu tvořilo 22 seniorů, 70.4±5.5 (průměrný věk, SD), 3 M, 19 Ž. Hodnotili jsme statickou a dynamickou zrakovou ostrost pomocí optotypu vzdáleného 6 m a Jägerovy tabulky vzdálené 30 cm. DVA jsme testovali během chůze na chůzovém trenažéru při rychlostech 2, 4 a 5 km/h, a dále při pasivním pohybu hlavou v sagitální a transverzální rovině.

Výsledky: Statisticky významný rozdíl ve změnách DVA mezi skupinou mladých a seniorů byl zaznamenán ve všech měřených situacích ($p<0.05$) mimo chůze o rychlosti 2 km/h ($p=0.13$).

Ve skupině mladých jedinců nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl při vyšetření DVA v porovnání se statickou zrakovou ostrostí.

Ve skupině seniorů jsme nalezli statisticky významný rozdíl DVA oproti statické zrakové ostrosti ve všech testovaných situacích ($p<0.05$).

Závěr: U seniorů jsme zaznamenali statisticky významné zhoršení DVA v porovnání se statickou zrakovou ostrostí. Analýza výsledků ukazuje, že při izolovaných pohybech hlavou byl statisticky významnější rozdíl. Tento test se tedy jeví optimálním pro využití v klinické praxi, a to i z hlediska menší technické náročnosti a komfortu vyšetřované osoby.

P-87. VLIV RŮZNÝCH TYPŮ SENZORICKÉHO A KOGNITIVNÍHO DUAL-TASKINGU NA STABILITU STOJE U SPORTOVCŮ

Levínská K., Čakrt O.

Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole

Pregraduální student

Školitel: PhDr. Ondřej Čakrt, Ph.D.

Úvod: Je prokázáno, že pacienti po rekonstrukci předního zkříženého vazu při náročných posturálních situacích musí více zaměřit pozornost na udržení stability. Vrcholoví sportovci během výkonu však neustále věnují pozornost kognitivním i senzorickým stimulům. Dochází tak ke střetu podnětů na úrovni CNS a vzniku tzv. dual-task situací, které mohou ovlivnit pozornost, tím i stabilitu stoje, a vést ke zvýšenému riziku zranění.

Cíl: Cílem studie bylo zjisti, jaký vliv na stabilitu stoje má kognitivně-senzorický dual-tasking.

Materiál a metody: Čtyřicet probandů jsme rozdělili do 3 skupin dle sportovní zátěže a poranění ACL v anamnéze: sportovci nezranění, sportovci po rekonstrukci ACL (operovaná levá dolní končetina, sportují bez omezení) a nesportovci nezranění.

Probandi absolvovali vyšetření bipedálního i monopedálního stoje na stabilometrické plošině S využitím pěnové podložky. Při stabilometrickém měření byl zaznamenáván počet doteků ochranného zábradlí, počet pádů nebo doteků odlehčenou končetinou podložky. Pro hodnocení posturálních výchylek jsme zvolili tyto parametry CoP: délka křivky stabilogramu (L) a plocha stabilogramu (A).

Vybrali jsme tři typy sekundárního úkolu, které jsme nejprve u probandů testovali v klidu vsedě na židli. Následně jsme je postupně kombinovali s bipedálním i monopedálním stojem na pěnové podložce. Vytvořili jsme tak tři typy tzv. dual-task situací, a to situaci s visuálním (stroop test) a s auditivním vstupem (PASAT test) a s čistě kognitivním úkolem (test zpětného odečítání). U těchto testů byla měřena latence odpovědi a chybovost.

Výsledky: Námi naměřené výsledky prokazují, že spojení posturálně náročné situace se sekundárním úkolem se statisticky více významně projeví na výkonu v senzoricky-kognitivním úkolu než na parametrech stability, a to u všech tří skupin.

Nejmenší vliv na stabilitu měl souběžný úkol u vrcholových sportovců, naopak nejvíce se stabilita zhoršila u nesportujících probandů.

V porovnání vrcholově sportujících zdravých a vrcholově sportujících probandů po operaci ACL při stoji na operované (levé) končetině došlo ke statisticky významnému zhoršení výkonu ve vizuálním testu, statisticky významnému zvýšení počtu pádů při auditivním testu a statisticky významnému poklesu počtu odpovědí při souběžném úkolu zpětného odečítání.

Závěr: Přidáním sekundárního úkolu k posturálně náročně situaci nedojde ke statisticky významnému ovlivnění parametrů stability stoje, naopak se významně zhorší výkon probandů v sekundárním kognitivně-senzorickém úkolu.

P-88. LABORATORNÍ PRŮKAZ KMENE VIRU HSV1 REZISTENTNÍHO K ACYKLOVIRU U PACIENTKY S CHRONICKOU LYMFATICKOU LEUKÉMIÍ

K. Labská (1), H.Plodková (1), K. Benešová (2,3), M. Pumannová (1), M. Špaček (2,3)

1 - Národní referenční laboratoř pro herpetické viry, CEM, Státní zdravotní ústav; 2 - 1.Interní klinika – klinika hematologie, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze; 3 - 1.Interní klinika – klinika hematologie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Školitel: doc. MUDr. Vilma Marešová CSc.

Úvod: Acyklovir (ACV) je v terapii infekcí vyvolaných virem Herpes simplex (HSV) používán již od 80. let a je oblíbený pro svou nízkou toxicitu. Rezistence proti tomuto preparátu se vyskytuje jak přirozená (0,3%-0,7%), tak získaná. Riziko vzniku rezistence je vyšší u pacientů na dlouhodobé terapii (recidivující HSV1 keratitida 6,4%, recidivující HSV2 herpes genitalis 5%) a defekty buněčné imunity (HIV pozitivní 3-7%, pacienti po SOT 2,5-10%, pacienti po HSCT 4-11%).

Materiál a metody: Rezistence HSV se vyšetřuje kombinací molekulárně – genetických metod (sekvenace genů pro thymidinkinázu a DNA polymerázu) a fenotypových (kultivace na tkáňové kultuře, stanovení IC50 na podkladě redukce počtu plaků). Oba typy vyšetření je vhodné kombinovat pro velký počet polymorfismů zejména v genu pro DNA polymerázu.

Výsledky: Uvedenými metodami se podařilo zachytit rezistentní HSV1 u pacientky s CLL (13 q-, ZAP -70+, IgVH 6%(VH3-49*05) ve stádiu progrese. U pacientky byla prokázána mutace v genu pro thymidinkinázu (kodon 125, Gln/His) a kultivačně byla potvrzena rezistence k ACV s IC 50 >5µg/ml

Závěr: Pacientka trpěla rozsáhlými mukokutánními lezemi v orofaciální oblasti a stav se upravil po regresi základního onemocnění (3 cykly terapie bendamustin + rituximab). Alternativní antivirotika (Foscarnet, cidofovir) nebyla pacientce podána.

Od r.2016 je vyšetření rezistence HSV k ACV dostupné v NRL pro herpetické viry (sekvenace i plaque redukční assay) a plánujeme i rozšíření o další antivirotika (cidofovir, foscarnet).

P-89. VLIV GENOTYPU APOE ε4 NA VÝKON V TESTECH EPIZODICKÉ PAMĚTI U PACIENTŮ S MÍRNOU KOGNITIVNÍ PORUCHOU

Mokrišová I. (1,2), Laczó J. (1,2), Pařízková M. (1), Vlček K. (3), Vyhnálek M. (1,2), Sheardová K. (2), Kaplan V. (4), Maťoška V. (4), Anděl R. (5), Hort J. (1,2)

1 - Kognitivní centrum, Neurologická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole, Praha, Česká republika, 2 - Neurologická klinika, Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika, 3 - Oddělení neurofyziologie paměti, Fyziologický ústav AV ČR, Praha, Česká republika, 4 - Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie, Nemocnice Na Homolce, Praha, Česká republika, 5 - School of Aging Studies, University of South Florida, Tampa, Florida

Školitel: prof. MUDr. Jakub Hort, PhD.

Úvod: Genotyp apolipoproteinu E (APOE) ε4 je jedním z nejvýznamnějších genetických rizikových faktorů rozvoje Alzheimerovy choroby (ACH). Pacienti s amnestickou mírnou kognitivní poruchou (aMCI), kteří nesou alelu ε4, mají postižení paměti, které je podobné deficitu u pacientů s demencí při ACH, pravděpodobně v důsledku atrofie hipokampu.

Cíl: Cílem bylo prověřit vliv genotypu APOE ε4 na epizodickou paměť, pomocí specifického neverbálního testu epizodické paměti – Episodic-like Memory Test (EMT) a identifikovat tak pacienty s vyšším rizikem rozvoje demence při ACH v rámci heterogenní aMCI populace.

Materiál a metody: 64 aMCI pacientů rozdělených do dvou skupin ne základě APOE polymorfismu, pacienti s alelou ε4 (n=36) a pacienti bez alely ε4 (n=28), bylo testováno novým experimentálním počítačovým testem epizodické paměti - (EMT) a standardní neuropsychologickou baterií. Hodnoceno bylo správně určené pořadí a poloha prezentovaných položek a celkový skór (pořadí i poloha).

Výsledky: Jednotlivé skupiny pacientů se nelišily vzděláním, věkem ani neuropsychologickým profilem. Ve skupině pacientů s alelou ε4 bylo více mužů. Po korekci pro pohlaví pacienti s alelou ε4 dosahovali horších výsledků v testu EMT, a to jak pro pořadí (p=.02), tak pro celkový skór (p=.03). Dosažené výsledky v testu EMT nekorelovaly s počtem alel ε4.

Závěr: Pacienti s aMCI, nesoucí alelu ε4, dosahují v testech EMT horších výsledků než pacienti, kteří alelu ε4 nemají. Test EMT by tak mohl být používán jako jednoduchý nástroj k určení těch jedinců s aMCI, kteří jsou ve větším riziku rozvoje ACH a vyžadují tak větší pozornost v klinické praxi.

P-90. NOVÉ METODY IN VIVO MONITORACE A OŠETŘENÍ DEHISCENCE STŘEVNÍ ANASTOMÓZY NA EXPERIMENTÁLNÍM MODELU

Kalvach J. (1,2), Ryska O. (2,3), Martínek J. (2,4), Hucl T. (2,4), Juhás Š. (2), Juhásová J. (2), Doležel R. (1,2)

1 - Chirurgická Klinika 2. LF UK a ÚVN Praha, Česká republika; 2 - Ústav Živočišné Fyziologie a Genetiky, AV ČR, Liběchov, Česká republika; 3 - Royal Lancaster Infirmary, University Hospitals of Morecambe Bay, NHS FoundationTrust; 4 – Klinika Hepatogastroenterologie, IKEM, Praha, Česká republika

Školitel: prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc.

Úvod: Dehiscence anastomozy po resekci rekta představuje závažnou komplikaci. Konvenční chirurgické řešení klinicky významného anastomotického leaku(AL) vyžaduje ve většině případů operační revizi. Reoperace je zatížena vysokou morbiditou a mortalitou zapříčiněnou především pozdní diagnostikou AL.

Cíl: Cílem projektu je ověřit efektivitu nových metod monitorace střevní anastomozy (mokrodialýza, mikroendoskopie) v časné diagnostice dehiscence střevní anastomozy a vytvořit algoritmus časného ošetření anastomotického leaku pomocí minimálně invazivních technik (TAMIS – Transanal Minimal Invasive Surgery, NOTES – Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery) potenciálně použitelný v humánní medicíně.

Materiál a metody: V první fázi projektu jsme vytvořili na velkém laboraotrním zvířeti(prase) resekci rekta s provedením kolorektální anastomozy (skupina nonAL; n=8). Výkon jsme provedli laparoskopicky a střevní anastomozu vytvořili pomocí cirkulárního stapleru. Ve druhé fázi projektu jsme vytvořili model dehiscentní anastomozy (skupinaAL; n=10). Dehiscenci jsme provedli odstraněním svorek z cirkulárního stapleru v rozsahu poloviny cirkumference. Pooperačně jsme sledovali zánětlivé parametry a zejména intraabdominální septické komplikace při pitvě plánované 9. pooperační den. Další fáze projektu je určena k hodnocení metabolizmu a mikrocirkulace v oblasti střevní spojky a k porovnání technik ošetření anastomotického leaku.

Výsledky: Celkem u 8 zvířat byla provedena resekce rekta s intaktní anastomózou (skupina nonAL) a u 10 zvířat byl proveden model dehiscence anastomozy (skupina AL). Nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl (p>0,05) mezi váhou před operací a při pitvě 51,7(46,4-56,0) kg vs. 51,4(46,6-56,6) kg respektive 40,5(33,0-62,6) kg vs. 40,0 (34,0-53,0). Při pitvě jsme v nonAL a AL skupině zaznamenali nitrobřišní srůsty u 3 vs. 9 (p=0,043) patologický výpotek u 0 vs. 3 (p=0,22), viditelnou dehiscenci u 0 vs. 7 (p=0,04) zvířat. Celkový výskyt intraabdominálních septických komplikací byl 0 vs. 8(p=0,00015).

Závěr: V souladu s časovým harmonogramem jsme vytvořili experimentální model dehiscentní kolorektální anastomozy. Výskyt přímých i nepřímých známek dehiscence byl pozorován častěji ve skupině s AL. Model AL nebyl zatížen výrazným váhovým úbytkem ani mortalitou. Z těchto výsledků vyplývá, že model je použitelný pro další fázi projektu zaměřenou na minimálně invazivní ošetření dehiscentní anastomozy.

POZNÁMKY

Organizační výbor:

Jan Trka (předseda)

Petr Andreas

Tereza Kůstková

Aleš Lukš

Renata Bourahi

Filip Linx

Jan Matúška

Zdeněk Procházka

Květa Janoušková

Gabriela Vodičková

Vědecký výbor:

Jan Zuna (předseda)

Barbora Fišárková

Jakub Hort

Michal Rygl

Zdeněk Šumník

Lýdia Vargová

Josef Zámečník

Marie Žaloudíková