

2 - PROFOUND T LYMPHOCYTE AND DNA REPAIR DEFECTS CHARACTERIZE SCHIMKE IMMUNO-OSSEOUS DYSPLASIA

Vladyka O. (1), Zieg J. (2), Paračková Z. (1), Bloomfield M.(1), Šedivá A.(1), Klocperk A. (1)

1 - Department of Immunology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Motol, Prague, Czech Republic 2 - Department of Pediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: MUDr. Adam Klocperk PhD.

Introduction: Schimke immuno-osseous dysplasia is a rare multisystemic disorder caused by biallelic loss of function of the SMARCA1 gene that plays a pivotal role in replication fork stabilization and thus DNA repair. Individuals affected from this disease suffer from disproportionate growth failure, steroid resistant nephrotic syndrome leading to renal failure and primary immunodeficiency mediated by T cell lymphopenia, increasing patients' risk of infectious complications.

Aims: In this study we aim to elucidate the phenotypical and functional changes in the T cell pool which drive the immunodeficiency and to investigate the effect of induced DNA damage on the T cells.

Materials and Methods: We compared T cells and PBMCs of four patients with SIOD to those of age and sex matched healthy donors. We employed classical and spectral flow cytometry to assess the phenotypical and functional properties of T cells, both ex vivo and in IL-7 non/enriched cell culture. Furthermore, we used the NanoString Sprint for panel transcriptomic analysis of genes related to the immune system and compared native RNA expression in the PBMCs and RNA expression after UV light irradiation. Lastly, we assessed chromatin damage and apoptosis related to UV irradiation.

Results: T cells in SIOD are hallmarked by decrease in markers associated with naïvety and stemness (CD27, CD28, CD127, TCF1), and corresponding increase in markers of activation (HLA-DR, CD38) and exhaustion (CD57, FAS, PD1) with proinflammatory Th1 skew, increased production of IFN γ and lack of response to IL-7. The transcriptomic analysis revealed 65 differentially expressed genes in native state, which increased to 256 genes after UV irradiation. The irradiation caused irreparable amounts of double-strand breaks in the T cells of SIOD patients followed by apoptosis.

Conclusions: Our results highlight the exhausted and pro-inflammatory phenotype of T cells in SIOD which along with the lymphopenia causes impairment of immune reactions in SIOD patients. This phenotype cannot be simply attributed to the lymphopenia as it differs from other immunodeficiencies such as the 22q11DS. Further studies are necessary to describe the origin of T cell deficiency and whether it is intrinsic defect of T cells or more complex defect of their development in the thymus.

Support: The work was supported by AZV NU23-05-00097

9 - EFEKT EPIDURÁLNÍ MÍŠNÍ STIMULACE NA SENZOMOTORICKÉ A AUTONOMNÍ FUNKCE U PACIENTŮ S KOMPLETNÍ MÍŠNÍ LÉZÍ

Rybka V.(1), Špačková L.(1), Šedivá K.(1), Kříž J.(1)

1-Spinální jednotka při Klinice RHB a TV lékařství ve Fakultní nemocnici V Motole

Školitel: doc. MUDr. Jiří Kříž Ph.D.

Úvod: V České republice přibývá ročně 250-300 jedinců s akutně vzniklou míšní lézí. Tito pacienti mají obvykle značně nepříznivou prognózu, jejich léčba je často komplikovaná a přitom jim nabízí pouze mírné zlepšení celkového stavu. U jedinců s kompletní míšní lézí se navíc nejedná pouze o ztrátu volní hybnosti dolních končetin, ale také o dysfunkci autonomního nervového systému. To vše významně ovlivňuje kvalitu života pacientů s paraplegií. Jednou z možných perspektivních léčebných metod je míšní stimulace s prokázaným vlivem nejen na motoriku, ale také na vyprazdňování, sexuální funkce a kardiovaskulární systém.

Cíl: Cílem studie bylo prokázat možnosti epidurální míšní stimulace a spektrum účinků, kterých jsme schopni u paraplegických pacientů dosáhnout za 1 rok stimulace. Spektrum vyšetření jsme nastavili tak, abychom pomocí objektivních metod i subjektivních hodnocení pacienty co nejlépe zachytili posun v motorických i autonomních funkcích. Využití epidurální míšní stimulace u pacientů s míšní lézí je první studií tohoto typu v ČR.

Materiál a metody: Pacientům byl implantován stimulátor s 32 svodovou elektrodou zavedenou do páteřního kanálu v úrovni míšního konu, aby bylo možné stimulovat segmenty L1-S1. Byly nastaveny stimulační programy primárně pro stimulaci svalových skupin na dolních končetinách. Zároveň jsme sledovali možné ovlivnění spasticity, neuropatických projevů a autonomních funkcí. Výzkum byl veden jako pilotní intervenční studie prozatím na třech pacientech.

Výsledky: U všech pacientů se podařilo dosáhnout hybnosti dolních končetin při spuštění elektrostimulace. Po dvou měsících od operace byli pacienti schopni stoje s oporou. Délka stoje u prvního pacienta dosáhla v nízkém chodítku až 7 minut. Dalšími výsledky jsou signifikantní zlepšení v dotaznících, které hodnotí kvalitu života, sexuální a vyprazdňovací funkce a také neuropatické bolesti. Překvapivým nálezem u dvou pacientů bylo obnovení ejakulace během penilní vibrostimulace, což byl výsledek, který jsme publikovali jako první u pacientů s kompletní míšní lézí. U všech pacientů také došlo k zlepšení trofiky a zmírnění spasticity dolních končetin.

Závěr: Obnovení pohybu dolních končetin pomocí epidurální míšní stimulace u paraplegiků je významným posunem v experimentální léčbě míšního poranění. Zlepšení sexuálních funkcí může v budoucnu snížit potřebu asistované reprodukce. Vzhledem k těmto pozitivním výsledkům se domníváme, že epidurální míšní stimulace může být účinnou metodou ke zlepšení kvality života u pacientů s kompletním poraněním míchy.

14 - HODNOCENÍ MODIFIKOVATELNÝCH RIZIKOVÝCH FAKTORŮ DEMENCE V ČESKÉ REPUBLICE: ZJIŠTĚNÍ ZE STUDIE SHARE

Matej Kučera^{1,2,3}, Dominika Seblova¹, Judith E. Bosmans², Hana Marie Broulikova^{2,4}, Pavla Brennan Kearns¹

1) 2.LF, Ústav Epidemiologie, Praha, CZ 2) Department of Health Sciences, Faculty of Science, Amsterdam Public Health research institute, Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands 3) Health Economics, Policy and Innovation Institute, Faculty of Economics and Administration, Masaryk University, Brno, CZ 4) National Institute of Mental Health, Klecany, CZ

Pregraduální student

Školitel: Doc., MUDr. Pavla Brennan Kearns, PhD.

Úvod: Úloha modifikovatelných rizikových faktorů při vzniku demence ve střední a východní Evropě je stále nedostatečně prozkoumána.

Cíl: Cílem studie je prozkoumat roli těchto faktorů v kontextu České republiky.

Materiál a metody: Byly analyzovány údaje českých účastníků mezinárodní studie SHARE (n: 3 531, 58 % žen, průměrný věk: 70 let, medián 6 let sledování). Hazard ratios (HR) s 95 % intervaly spolehlivosti (CI) byly odhadnuty pomocí Coxových modelů pro vztah mezi self-reported rizikovými faktory (nízké vzdělání, užívání alkoholu, osamělost, obezita, kouření, fyzická neaktivita, vysoký krevní tlak, diabetes mellitus, ztráta sluchu, deprese) a demencí definovanou na základě upraveného Lang-Weirova algoritmu.

Výsledky: S výskytem demence bylo spojeno pět rizikových faktorů s nejvyššími váženými populačními atributivními podíly (wPAF): nízké vzdělání (HR 1,73; 95% CI 1,38-2,17; wPAF: 14 %), deprese (HR 1,44; 95% CI 1,14-1,81, wPAF: 12 %), diabetes mellitus (HR 1,65; 95% CI 1,29-2,09, wPAF: 11 %), osamělost (HR 1,42; 95% CI 1,12-1,81, wPAF: 9 %), fyzická neaktivita (HR 2,18; 95% CI 1,68-2,81, wPAF: 5 %). WPAF všech rizikových faktorů činil 47 %.

Závěr: Pokud by se odstranily všechny rizikové faktory demence, dalo by se v České republice zabránit 47 % případů demence. Pro zmírnění nepříznivého vlivu rizikových faktorů na výskyt demence je nezbytný systematictější přístup, např. zlepšení vzdělávání, prevence a léčba deprese a diabetu mellitu, podpora fyzické aktivity a prevence osamělého života.

18 - JAKÉ JSOU TERAPEUTICKÉ MOŽNOSTI U INFEKČÍ VYVOLANÝCH ENTEROBAKTERIEMI S PRODUKČÍ KARBAPENEMÁZY?

Gryndlerová A., Dratvová B., Brajerová M., Nyč O., Dřevínek P. a Krůtová M.

Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Mgr. Marcela Krůtová, Ph.D.

Úvod: Enterobakterie produkující karbapenemázy (KPE) jsou skupinou bakterií se schopností produkce enzymů štěpících rezervní antibiotika ze skupiny beta-laktamů – karbapenemy. V posledních letech nejen v České republice dochází k nárůstu jejich výskytu. Jelikož jsou terapeutické možnosti pro léčbu infekcí vyvolaných těmito kmeny omezené, je k nasazení empirické terapie vhodná znalost lokální epidemiologie KPE, vč. rezistenčního profilu kmenů, které se v současné době vyskytují.

Cíl: Zmapování rezistenčního fenotypu kmenů KPE vyskytujících se ve FN v Motole (FNM).

Materiál a metody: V naší studii jsme analyzovali kmeny ze sbírky klinických izolátů KPE od pacientů hospitalizovaných ve FNM v období 02/21–08/23. Genomy těchto izolátů byly sekvenovány (krátká čtení – Illumina) a metodou cgMLST byly vybrány nepříbuzné izoláty (n= 63) s produkcí různých typů karbapenemáz (NDM n=38, KPC n=6, OXA-48-like n=19). Dále byla stanovena antibiotická citlivost k až 31 antibiotikům stanovením minimální inhibiční koncentrace (MIC) bujonovou mikrodiluční metodou. Dále byla testována citlivost k cefiderokolu pomocí diskové difuzní metody (DDM), a stanovením MIC pomocí E-testu a mikrodiluce (ComASP® Cefiderocol). Mezi těmito testy byla hodnocena kategorická shoda.

Výsledky: Izoláty v naší studii byly citlivé k amikacinu (n=53/63, 84,1 %), kolistinu (n=60/61, 98,4 %), imipenemu (n=30/63, 47,6 %), meropenemu (n=18/63, 28,6 %), imipenemu/relebaktamu (n=40/63, 63,5 %), meropenemu/vaborbaktamu (n=57/63, 90,5 %). Citlivost k cefiderokolu byla detekována DDM (n=12/56, 21,4 %, v pásmu technické nejistoty n=9, 16,1 %) a mikrodilucí (n=27/30, 90,0 %). Diskrepance mezi mikrodilucí a DDM byla zjištěna u 22/30 kmenů.

Závěr: Jak je vidět i v našem souboru izolátů, terapeutické možnosti léčby infekcí vyvolaných KPE jsou limitované. Nejčastěji zjištěná citlivost ke kolistinu a amikacinu ne vždy představuje vhodné terapeutické řešení, a to i vzhledem k jejich nežádoucím účinkům. In vitro citlivost ke karbapenemům s inhibitory betalaktamáz byla zachována u 92,1 % NDM izolátů (meropenem/vaborbaktam) a 55,3 % NDM izolátů (imipenem/relebaktam). Překvapivá je častá rezistence k nově dostupnému antibiotiku cefiderokolu (n=35/56, 62,5 % dle DDM).

Podpora projektu: Výzkum byl podpořen projektem Národního institutu virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

28 - DOPAD FLUKTUACÍ MOTORICKÝCH A NON-MOTORICKÝCH SYMPTOMŮ NA KVALITU ŽIVOTA SPOJENOU SE ZDRAVÍM U PACIENTŮ S FUNKČNÍ PORUCHOU HYBNOSTI

Jirásek M.(1,4), Sieger T.(1,2), Chaloupková G.(1), Nováková L.(1), Sojka P.(1), Edwards M.J, (3), Serranová T.(1)

1. Neurologická klinika VFN Praha 2. Fakulta elektrotechnická ČVUT, Praha 3. Institut psychiatrie, psychologie a neurověd, King's College Londýn 4. Klinika rehabilitace a tělovýchovy 2.LF UK

Školitel: doc. MUDr. Tereza Serranová, PhD.

Úvod: FPH je komplexní stav charakterizovaný řadou motorických a non-motorických symptomů, které se vyskytují u jednoho jedince a typicky kolísají v čase. Předpokládali jsme, že fluktuace závažnosti příznaků u pacientů s FPH mohou negativně ovlivnit HRQoL.

Cíl: Cílem této studie bylo zhodnotit vliv celkových, vnitrodenních a mezidenních subjektivně hodnocených fluktuací motorických a non-motorických symptomů na kvalitu života spojenou se zdravím (HRQoL) u pacientů s funkční poruchou hybnosti (FPH).

Materiál a metody: Sedmdesát sedm pacientů (54 žen, průměrný věk $45,4 \pm 10,4$ let) s klinicky stanovenou diagnózou FPH, včetně slabosti, bylo požádáno o vedení deníků závažnosti příznaků, ve kterých třikrát denně po dobu sedmi po sobě jdoucích dnů hodnotili závažnost motorických (hybné obtíže) a non-motorických symptomů (bolest, únava, nálada a kognitivní obtíže). HRQoL byla hodnocena pomocí dotazníku SF-36. Pro analýzu jsme definovali fluktuace jako variabilitu skóre symptomů, hodnocených samotnými probandy na numerické škále od 0 do 10 (0 = žádné symptomy, 10 = extrémní symptomy), zaznamenaných v denících třikrát denně po dobu sedmi dnů. Celkové fluktuace symptomů byly definovány jako průměrné fluktuace napříč všemi doménami a časovými body. Mezidenní a vnitrodenní fluktuace zachycovaly variabilitu závažnosti symptomů mezi jednotlivými dny ve třech časových bodech, resp. denní rozdíly ve třech časových bodech.

Výsledky: Celkové fluktuace symptomů predikovaly mentální skóre SF-36 ($P < 0,001$), ale nikoli fyzické skóre SF-36. Jak mezidenní, tak vnitrodenní fluktuace predikovaly mentální skóre SF-36 ($P = 0,01$ a $P = 0,002$, resp.), ale nikoli fyzické skóre SF-36. Celkové mezidenní fluktuace byly větší než vnitrodenní fluktuace ($P < 0,001$). Při zohlednění jak celkových průměrných skóre napříč doménami, tak celkových fluktuací, bylo mentální skóre SF-36 spojeno s kombinovaným efektem obou faktorů ($P < 0,001$ a $P = 0,001$, resp.), zatímco fyzická kvalita života byla spojena pouze s celkovým průměrným skóre ($P < 0,001$), nikoli však s fluktuacemi ($P = 0,07$).

Závěr: Jedná se o první studii zabývající se tímto tématem. Výsledky této studie ukazují, že fluktuace motorických a non-motorických symptomů významně ovlivňují mentální, nikoli však fyzickou složku HRQoL u pacientů s Funkční poruchou hybnosti. Průměrné hodnoty závažnosti jednotlivých symptomů a celková fluktuace mají téměř rovnocenný vliv na mentální složku HRQoL. Tato zjištění mohou přispět k vývoji specifických škál pro hodnocení výsledků u pacientů s funkčními neurologickými poruchami.

Podpora projektu: AZV grant: NW24-04-00456

33 - CHEMOGENETIC INHIBITION OF NEURONS CARRYING mTOR MUTATIONS IN A MOUSE MODEL OF FCD

Biačková M.(1), Králíková M.(1), Kylarová S.(1), Kudláček J.(1), Weissová R.(2), Procházková N.(1), Balašík M.(2), Novák O.(1) and Jiruška P.(1)

1 - 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika; 2 - Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika

Pregraduate student

Supervisor: Mgr. Salome Kylarová, Ph.D.

Introduction: Focal cortical dysplasia type II (FCD) is among the leading causes of drug-resistant epilepsy. Somatic mutations in the mTOR signaling pathway have been linked to ictogenesis, yet the cellular mechanisms in FCD seizures remain unclear.

Aims: In our laboratory, we investigate the hypothesis that neurons with a mutated mTOR kinase gene act as triggers inducing seizures. We aim to prove that reducing the activity of these neurons will decrease the seizure frequency.

Materials and Methods: The first group of mice underwent in-utero electroporation to introduce a mutated mTOR gene (p.Leu2427Pro) and GFP. Postnatally, these mice were implanted with a cranial window and injected with a viral vector carrying hM4Di and mCherry (AAV-PHP.eB-hSyn-DIO-hM4Di-mCherry) directly into the lesion. Then, electrodes were implanted for EEG recording. Deschloroclozapine (DCZ, 100 µg/kg) (or saline control) was administered intramuscularly. The second group of mice electroporated with mutated mTOR with Cre recombinase originated from the B6.129-Gt(ROSA)26Sortm1(CAG-CHRM4*, -mCitrine)Ute/J line, with hM4Di gene already present in their genome. These mice were postnatally implanted with electrodes for EEG monitoring. DCZ (i.m. 100 µg/kg, s.c. 50 µg/kg/h) or saline was administered intramuscularly or subcutaneously.

Results: In the first group, activation of the hM4Di receptor by DCZ led to the inhibition of mutated neurons, causing a minor but desirable decrease in the daily seizure frequency and interictal discharge frequency. The limited reduction was attributed to the low expression of hM4Di within the lesion, covering only about 2% of the area. To target a larger number of mutated neurons, we used a line of mice with Cre-dependent hM4Di expression, ensuring the expression of the hM4Di receptor in all mutated neurons. After DCZ administration, we observed a short-term reduction in daily seizure frequency. However, long-term treatment led to an increase in the seizure frequency. This increase can be attributed to the hM4Di expression in astrocytes, in which the activation of hM4Di leads to the release of glutamate and subsequent depolarization of neurons. Furthermore, hM4Di desensitization within days of DCZ administration has been observed in several studies, which is consistent with our results.

Conclusions: Our findings suggest that neurons with mutated mTOR might trigger FCD-related seizures. This insight could aid in developing a causal treatment for FCD epilepsy. To further support this claim, in our future experiments, we will focus on more precisely targeted hM4Di expression.

34 - DIAPHRAGM RELAXATION CAUSES SEIZURE-RELATED APNOEAS IN AN ACUTE AND CHRONIC MODEL OF EPILEPSY IN RATS

Pant A.(1), Liška K.(1) Krajčovič B.(1), Jefferys J.(1)

Department of Physiology, Second Faculty of Medicine , Charles University, Prague

Pregraduate student

Supervisor: Mgr. Karolína Liška, Ph.D.

Introduction: Sudden Unexpected Death in Epilepsy is a devastating outcome for people with Epilepsy. While terminal respiratory failure leading to death in people with epilepsy has been observed, its precise mechanisms are still unknown. We study seizure-related apnoeas in two rat models of epilepsy, one chronic and one acute, to determine mechanisms of seizure-related apnoeas.

Aims: To investigate mechanisms behind peri ictal apnoeas in two rat models of epilepsy. Using advanced in vivo electrophysiology, we aim to elucidate the precise state of the diaphragm during seizure related respiratory arrest.

Materials and Methods: 18 adult Wistar rats received injection of tetanus toxin (TeNT) into one ventral hippocampus. In the same surgery, we implanted: intranasal thermocouple, and EEG electrodes. 6 rats additionally receive EMG leads to the diaphragm. All sensors were connected to a socket cemented to the skull.

A second group of 6 rats also received the implant as described above. Instead of TeNT they were injected with pentylenetetrazole (PTZ) following recovery from surgery after 4-7 days.

Continuous tethered video-EEG recordings were made through a preamplifier (Digitimer Ltd), wires and counterbalanced slip rings, and digitized by a 1401 signal acquisition system running SPIKE2 (CED Ltd).

Results: In both epilepsy models, apnoeas occurred during generalized tonic-clonic seizures (GTCS). They lasted 9.9 ± 5.3 s (mean \pm SD) and occurred in 331 out of 730 GTCS in TeNT rats. In 22 apnoeas from 6 TeNT rats with diaphragm EMG electrodes (dEMG), dEMG RMS during apnoea (median 10 ± 19.5 mV) differs from maxima and minima of baseline respiration (medians 27 ± 25.4 mV and 5.6 ± 13.3 mV respectively). The difference of dEMG from maxima is greater than from minima showing the diaphragm is closer to atonic than tonic (Wilcoxon Signed Rank Test, $T=3.3$, $P<0.001$). Likewise in animals injected with PTZ, dEMG in 27 of 35 apnoeas is 4.3 ± 6.0 mV, consistent with relaxation (maxima 11.6 ± 17.9 mV and minima 3.0 ± 1.0 mV). The remaining 8 apnoeas had an initial tonic phase (mean duration 14.4 ± 11.2 s) which progressed into an atonic EMG. In all but one rat, terminal apnoeas are caused by atonic diaphragm.

Conclusions: We observe seizure related apnoeas in the intrahippocampal tetanus toxin and PTZ model of epilepsy . In both models during apnoeas the diaphragm is significantly closer to atonic than tonic, thus we conclude that GTCS can lead to loss of central drive.

Support: Czech Health Research Council, Ministry of Health of the Czech Republic grant NU21-04-00601
The Charles University Grant Agency grant 171424

48 - EXTERNÍ PODPORA AUTOLOGNÍCH ŠTĚPŮ VNITŘNÍ JUGULÁRNÍ ŽÍLY POMOCÍ SÍTKY FRAME V OBLASTI KAROTICKÉ ARTERIE NA PRASEČÍM MODELU

Novák T. (1), Chlupáč J. (1,2), Frank J. (1), Sedmera D. (3), Fabián O. (4,5), Šimůnková Z. (6), Mrázová I. (6), Vaňourková Z. (6), Benada O. (7), Pulda Z. (8), Adla T. (8), Květoň M. (4,9), Lodererová A. (4), Voska L. (4), Pirk J. (10), Froněk J. (1,2,11)

1 - *Klinika transplantační chirurgie, IKEM*, 2 - *Ústav anatomie, 2. LF UK*, 3 – *Anatomický ústav, 1. LF UK*, 4 - *Pracoviště klinické a transplantační patologie, IKEM*, 5 - *Ústav patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN*, 6 - *Centrum experimentální medicíny, IKEM*, 7 - *Laboratoř charakterizace molekulární struktury, MBU AV ČR*, 8 - *Pracoviště zobrazovacích metod, IKEM*, 9 - *3. LF UK*, 10 - *Klinika kardiovaskulární chirurgie, IKEM*, 11 - *I. chirurgická klinika, 1. LF UK*

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Jaroslav Chlupáč, Ph.D.

Úvod: Autologní žilní štěpy jsou hojně využívány v podobě cévních náhrad a bypassů v kardiovaskulární chirurgii. Jejich průchodnost je však často negativně ovlivněna nemocí žilního štěpu. Ta je charakterizována především neointimální hyperplazií (NIH), jenž výrazně snižuje průtok cévní náhradou. Využití autologních arteriálních štěpů, u kterých se toto onemocnění nevyskytuje, je bohužel limitováno jejich dostupností. Řešením může být použití zevní sítky FRAME, která sníží napětí žilní stěny v tepenném řečišti. Důsledkem by mělo být snížení tvorby NIH a zachování průchodnosti cévního štěpu.

Cíl: V této preklinické studii jsme na prasečím modelu porovnali poslední generaci vnější podpory FRAME na žilním štěpu se skupinou, která vnější podporu neměla.

Materiál a metody: Zvolili jsme samice prasete domácího. Reverzně jsme implantovali část autologní vnitřní jugulární žíly do společných karotid oboustranně v celkové anestézii. Štěpy jsme sledovali po dobu jednoho měsíce. Perioperačně jsme podávali heparin a pooperačně kys. acetylsalicylovou. Na čtyři cévní náhrady jsme aplikovali externí stent FRAME, a porovnali je se sedmi kontrolami bez sítky pomocí: měření průtoku, angiografie, makroskopie a mikroskopie.

Výsledky: Průchodnost u FRAME graftů byla po jednom měsíci 100% (4/4), zatímco u graftů bez sítky byla 43% (3/7, $p = 0.071$). Explantační angiografie ukázala, že náhrady FRAME vykazovali více míst bez žádné či mírné stenózy (9/12) v porovnání s kontrolami (3/21, $p = 0.0009$). Průtok krve při explantaci byl vyšší u FRAME (145 ± 51 mL/min) oproti kontrolám (46 ± 85 mL/min, $p = 0.066$). Tloušťka NIH byla v oblasti proximálních anastomóz bez větších rozdílů. NIH ve střední části graftů byla významně nižší u FRAME (258 ± 49 $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$) než u kontrol (518 ± 36 $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$, $p = 0.0002$).

Závěr: Využití externí sítky FRAME zlepšilo průchodnost porcinního autologního štěpu vnitřní jugulární žíly přeneseného na karotidu v období jednoho měsíce. Cévní náhrady opatřené FRAME sítkou vykazovaly významně méně stenotických oblastí než kontroly bez FRAME sítky. Tloušťka neointimální hyperplazie byla při použití FRAME až o polovinu nižší v porovnání se štěpy bez FRAME sítky, a to hlavně ve střední oblasti cévních náhrad.

Podpora projektu: Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NV19-02-00068. Podpořeno projektem Národní institut pro výzkum metabolických a kardiovaskulárních onemocnění (Program EXCELES, ID: LX22NPO5104) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

67 - BASAL GANGLIA ARE COMPROMISED BY STATUS EPILEPTICUS INDUCED IN IMMATURE DEVELOPING ANIMAL EXPERIMENTAL MODEL OF MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY.

Al-Redouan A. (1), Salaj M. (1), Kubova H. (2) and Druga R. (1,2,3)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Department of developmental Epileptology, Institute of Physiology, The Czech Academy of Sciences, Praha. 3. Institute of Anatomy, First Faculty of Medicine, Charles University, Praha

Supervisor: prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.

Introduction: Experimental as well as clinical studies indicate that status epilepticus resulted in neurodegenerative changes not only in the hippocampus and other limbic structures but also in the thalamus and in the neocortex. Several clinical studies and isolated experimental data have reported atrophy, metabolic changes and neuronal degeneration also in the dorsal striatum.

Aims: This study investigated the striatopallidal complex involvement in status epilepticus caused morphological neurodegenerative changes in post-natal immature developing brain in lithium–pilocarpine male Wistar albino rats model of mesial temporal lobe epilepsy. 150 experimental pups were selectively grouped by age of 12, 15, 18, 21, and 25 days in correlation to human toddlers' developing age.

Materials and Methods: Status epilepticus was induced by lithium–pilocarpine (3mmol/kg, i.p.) was injected 24 hours before pilocarpine (40 mg/kg, i.p.). Brain sections were microscopically examined by Fluoro-Jade B fluorescence emitting staining at intervals of 4, 12, 24, 48 hours and 1 week after SE exposure. Each interval was composed of 3 induced status epilepticus pups and a control. Those detected Fluoro-Jade B neurons were plotted on stereotaxic rat brain maps with the aid of adjunct Nissl stained brain sections and computer-aided digitizing system.

Results: The dorsal striatum showed consistent neuronal damage at pups age of 18, 21 and 25. The peak of the detected damage was observed at pups age of 18 and the start of the morphological sequela was observed at 12 hours post status epilepticus. The neuronal damage in the dorsal striatum was distributed around its periphery extending medially. At survival interval 12 hours after status epilepticus the number of degenerated neurons in the shell subdivision of the nucleus accumbens significantly increased. The severity of damage of the shell subdivision of the nucleus accumbens reached peak at 24 h after status epilepticus. Isolated FJB-positive neurons were detected in the ventral, peripheral part of the core compartment. The 3rd layer of the olfactory tubercle exhibited more degenerated neurons than the 2nd layer. The FJB-positive cells in the young animals were higher than on the adult animals.

Conclusions: Status epilepticus neuronal damage was evidenced in the basal ganglia of the post-natal developing brain selectively in the dorsal striatum and was age dependent with differing morphological sequela.

Support: Grant Agency of Czech Republic: GAČR No.309/01/0285 and No. 304/07/1137.

68 - INVESTIGATION OF TRANSDIFFERENTIATION DYNAMICS OF LINEAGE SWITCHING LEUKEMIA IN SINGLE CELL MULTIOMICS DATA

Sadílek V., Cabalková B., Skotnicová A., Reiterová M., Vášková M., Žaliová M., Hrušák O., Trka J., Kalina T., Froňková E., Mejstříková E., Stuchlý J.

CLIP Laboratory centre, Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Praha

Supervisor: Mgr. Jan Stuchlý, PhD.

Introduction: Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is the most common pediatric malignancy. A heterogeneous set of genetic aberrations leads to the uncontrolled expansion of a lymphocyte (usually B-cell) precursor population. Infrequently, certain genetic aberrations give rise to a leukemic population that retains lineage plasticity and can, at different timepoints, change its phenotype from lymphoid to myeloid. This is termed switching Acute Lymphoblastic Leukemia (swALL).

Single cell multiomics offers a powerful way to investigate the mechanism of lineage switching. However, the unprecedented resolution still leaves us with only a static snapshot of the sample. Therefore, dynamic cell processes such as differentiation need to be inferred from the data via computational approaches.

Aims: The aim of our work is to understand the mechanism of phenotypic switching in swALL in samples with genetic aberrations that are most commonly associated with this disease course (DUX4r, ZNF384r, and PAX5 P80R) and to explore our hypothesis that cells can directly transdifferentiate between lineages.

Materials and Methods: We used 10x Genomics' Single Cell 5' v2 platform to simultaneously evaluate gene expression and cell surface protein expression at the single-cell level from three pediatric patients with different subtypes of ALL prone to phenotypic instability. Blasts from bone marrow (BM) or peripheral blood (PB) at diagnosis (Dx) were analyzed together with PB from day 8 (n=1) or day 5 (n=1) of a BFM-type treatment protocol.

We used state-of-the-art computational tools to analyze the topology, cell density and RNA splicing rates to capture the dynamics and pinpoint the switching subpopulation of cells.

Results: The lymphoid-to-myeloid switch had a different course in each representative sample. Crucially, however, a similar intermediate cell population could be found (sometimes already at Dx) in every sample.

The immunophenotype of the intermediate populations was typical of B-blasts, but a shared set of myeloid genes was upregulated in their transcriptomes (e.g., CSF2RA, CEBPD, CD86, CD68, CYBB, S100A4, TYROBP, SRGN). Computationally inferred dynamics were consistent with a transdifferentiation path through these intermediate populations in all samples, with an expected lag between transcriptomic and immunophenotypic alterations.

Conclusions: Single cell multiomics reveals a shared transdifferentiation mechanism involving intermediate populations across diverse subtypes of swALL.

Support: Supported by NU23-05-00353, NW24-07-0026, NU23J-03-00026, UNCE/24/MED/003, and LX22NPO5102.

69 - ABNORMAL CD4/CD8 RATIO PRIOR TO LUNG TRANSPLANTATION IS LINKED TO DECREASED CLAD-FREE SURVIVAL

Guney M.(1), Ferrao G(1), Rezac D.(2,3), Kotowski T.(3), Dutkova A.(3), Havlin J.(4), Lischke R.(4), Fila L.(3), Zajacova A.(3)

1- Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic 2- 7th Field Hospital of the Army of the Czech Republic, Hradec Kralove, Czech Republic 3-Prague Lung Transplant Program, Department of Pneumology, Second Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic 4- Prague Lung Transplant Program, 3rd Department of Surgery, First Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Pregraduate student

Supervisor: MD. Andrea Zajacová

Introduction: Chronic lung allograft dysfunction (CLAD) is the major limitation of long-term survival after lung transplantation (LuTx). Comprehensive understanding of the immunological factors contributing to its development remains elusive, and the susceptibility to immune dysregulation may begin even prior to LuTx.

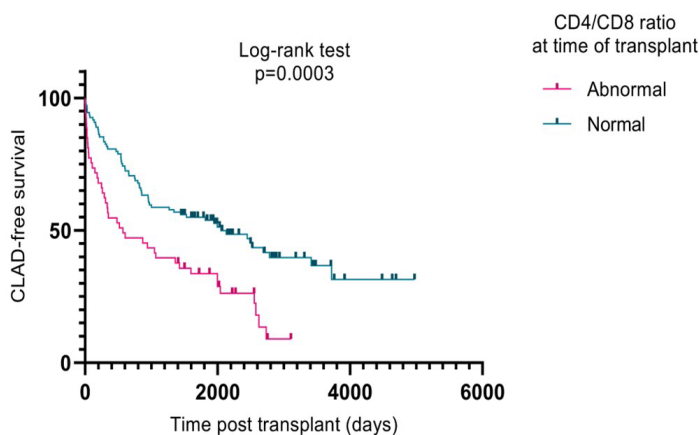
Aims: Our objective was to determine the impact of dysregulated CD4/CD8 lymphocytes ratio (rCD) prior to LuTx on CLAD-free survival.

Materials and Methods: Patients transplanted between 2010 and 2019, with an available rCD measurement within 24 hours preceding the LuTx procedure, and who were subsequently followed up at our centre, were included. LuTx recipients (LTRs) were divided according to rCD into normal (N-rCD; rCD 1.1 - 3.0) and abnormal rCD group (AN-rCD; rCD ≤ 1 or >3). CLAD onset was determined in accordance with the ISHLT 2019 consensus. Log rank survival analysis was performed.

Results: 163 LTRs were included. N-rCD consisted of 108 LTRs [66.3%; median rCD 1.7 (IQR 1.3-2.1)] and AN-rCD of 55 patients [33.7%; median rCD 0.7 (IQR 0.5 - 0.9) for rCD ≤ 1 and 3.9 (IQR 3.45-4.9) for rCD >3]. Median CLAD-free survival was 2130 days for N-rCD and 605 days for AN-rCD, $p=0.0003$ (Figure).

Conclusions: CLAD-free survival was significantly reduced in LTRs with abnormal CD4/CD8 ratio prior to LuTx. Dysregulation of T-lymphocytes prior to LuTx might substantially impact allograft immune tolerance and susceptibility to infections, which requires further investigation.

Figure: Log-rank analysis of CLAD-free survival of the lung transplant recipients with abnormal and normal CD4/CD8 ratio at time of transplant



70 - Geny v moči – nové potenciální onkomarkery karcinomu prostaty

Příman O., Zdobinská T., Babjuk M., Veselý Š.

Urologická klinika 2.LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Veselý Štěpán, PhD.

Úvod: Problematika diagnostiky karcinomu prostaty je denní chléb každého urologa. V současnosti máme jistě k dispozici celou řadu metod, kterými jsme do jisté míry schopni provádět kvalifikovanou diagnostiku. Nelze však zavírat oči před skupinou pacientů, kteří se i nadále pohybují v tzv. šedé zóně. Naše snahy tedy logicky vedou k tomu zúžit tuto šedou zónu na pomyslné minimum a být co nejpřesnější v určování správné diagnózy.

Cíl: Cílem naší studie bylo zhodnocení panelu genů v moči, které vycházely z naší předchozí pilotní studie. V předchozí pilotní studii jsme vyselekovali celkem 8 potenciálních genů v moči a na nich jsme nyní prováděli podrobnější analýzu. Naší snahou bylo verifikovat či vyvrátit výsledky těch genů v moči, u nichž docházelo k pozitivní korelaci s přítomností karcinomu prostaty.

Materiál a metody: Pro naši analýzu jsme hodnotili vzorky moči celkem 78 pacientů s biopticky ověřeným karcinomem prostaty oproti skupině 22 zdravých mužů z kontrolní skupiny, kteří prošli základním onkourologickým screeningem a nebylo u nich žádné podezření na karcinom prostaty. Celkem bylo testováno 8 různých genů. Ze vzorků moče byla izolována RNA pomocí Urine Total RNA Purification Maxi Kit Slurryformat (NorgenBiotek corp.). Následně byla provedena reverzní transkripce RNA do cDNA s využitím kitu High-Capacity RNA-to-cDNA Kit (ThermoFisherScientific) a relativní kvantifikace exprese jednotlivých genů s využitím komerčních expresních esejí na přístroji LightCycler 480 (RocheLife Science). Dále jsme výsledky této exprese genů kalkulovali pomocí Mann-Whitneyova testu.

Výsledky: Ačkoliv jsme hodnotili skupinu genů, u kterých nám v pilotní studii vyšla pozitivní korelace s karcinomem prostaty, došlo k potvrzení pouze u 5 z nich. Statisticky signifikantní rozdíl v expresi genů ($p < 0,01$) mezi skupinou pacientů s karcinomem prostaty a zdravými kontrolami byl potvrzen u genů Aktin a KRT-18. Dále jsem významný rozdíl ($p < 0,05$) zaznamenali u genů OR21E2, AMACR a PTEN. Oproti tomu se nepotvrdil rozdíl v expresi u genů KLK3, PCA3 a KRT19.

Závěr: Studie nám jasně potvrdila nutnost kontroly pilotních výsledků na větší kohortě. Výsledky nám dále ukazují potenciál některých genů v moči, u kterých bychom rádi pokračovali v dalších analýzách a vytvořili tak možnou alternativní či pomocnou metodu v rámci časně diagnostiky karcinomu prostaty.

73 - RISK STRATIFICATION AND CORONARY OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY FINDINGS IN ASYMPTOMATIC PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Roland Robert (1), Dubsky Michal (2), Wohlfahrt Peter (3), Marhefkova Natalia (2), Karmazin Vladimir (1), Haluzik Martin (2), Kautzner Josef (1), Pazdernik Michal (1)

1 - Department of Cardiology, Institute of Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czechia 2 – Diabetology Centre, Institute of Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czechia, 3 - Preventive Cardiology Centre, Institute of Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czechia

Supervisor: doc. MUDr. Michal Pazderník, Ph.D., FESC

Introduction: Regarding cardiovascular (CV) risk, patients with type 1 diabetes mellitus (T1D) represent a high risk population. Nonetheless, the real-world data show that this subgroup of patients is frequently overlooked.

Aims: The aim of this study was to utilize non-invasive diagnostic methods in prediction of the presence of significant, so far subclinical, coronary atherosclerosis diagnosed by optical coherence tomography (OCT).

Materials and Methods: Patients with T1D, duration of T1D for at least 10 years, without a prior history of atherosclerotic CV disease or target organ damage, and at high CV risk were examined non-invasively using carotid ultrasound to detect carotid plaques and to estimate coronary artery calcium (CAC) score on computer tomography. Patients with a CAC score of ≥ 400 and/or the presence of $2 \geq$ carotid plaques of ≥ 1.5 mm width were classified as very high risk (VHR). These VHR patients were subsequently evaluated using invasive coronary angiography (ICA) for the presence of obstructive coronary artery disease (CAD) as well as by OCT. Moreover, hemodynamic stenosis relevance was assessed by vessel fraction flow ratio (vFFR). OCT images were evaluated for the presence of thin-cap fibroatheroma (TCFA) and predefined very high-risk plaque.

Results: Sixty-two asymptomatic T1D patients with a mean age of 50 years at high CV risk were examined. The criteria of very high CV risk fulfilled 12/62 (19.4%) patients. The median CAC score of the VHR group was 606.3 (175.3-1515) and mean number of carotid plaques was 2.75 ± 1.06 . ICA showed obstructive CAD in 5/12 (41.7%) patients, 3/12 (25%) had vFFR positive lesions. TCFA was present in 7/12 (58.3 %) and very high risk plaque in 4/12 (33.3 %) patients.

Conclusions: This is to our knowledge the first OCT study of asymptomatic T1D patients. Asymptomatic very high risk T1D patients, stratified by CAC score and carotid ultrasound, frequently present with obstructive CAD and very high risk OCT features.

Support: This project was supported by research grants - MH-CZ DRO (IKEM-IN 00023001), and NIH (R01-EB004640).

84 - ANATOMIE VENAE INTERSAPHENAE NA BÉRCI: VARIABILITA, VIZUALIZACE VÝSKYTU A VZTAH K AKCESORNÍM ŽILÁM VENA SAPHENA MAGNA

Sedlák A.(1), Veselá M.(1,2), Kachlík D.(1)

1 - Ústav anatomie, 2. LF UK, Praha 2 - II. interní klinika – klinika kardiologie a angiologie 1. LF UK a VFN

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Úvod: Venae intersaphenae (VIS) jsou poměrně malé a nekonstantní žilní spojky spojující řečiště vena saphena magna (VSM) a vena saphena parva (VSP) na stehně a bérce. Kvůli výrazné variabilitě povrchového žilního systému dolní končetiny jejich anatomie dosud nebyla řádně zkoumána a popsána.

Cíl: Cílem práce je detailně popsat anatomii VIS na bérce. Nejprve je zkoumán samotný počet žilních spojek mezi VSM a VSP. Dále je provedeno detailní měření, na jehož základě je vytvořena mapa znázorňující hustotu výskytu spojek na bérce a jejich charakteristiky. Práce rovněž zkoumá výskyt akcesorních žil VSM a jejich vztah k VIS.

Materiál a metody: V průběhu zkoumání bylo pitváno šedesát pět kadáverů balzamovaných klasickou metodou s využitím formaldehydu. Jako vhodné body pro měření byly stanoveny apex malleoli medialis (AMM) a apex malleoli lateralis (AML). Dále byla změřena každá fibula a její délka byla vztažena k průměrné délce fibuly v námi zkoumaném vzorku tak, aby bylo možné sjednotit a přepočítat měřené hodnoty pomocí koeficientu.

Výsledky: Bylo popsáno pět variant – žádná spojka (22,22 %), jedna spojka (46,03 %), dvě spojky (19,05 %), tři spojky (11,11 %) a čtyři spojky (1,59 %). Průměrné místo komunikace mezi VIS a VSP se nachází $18,45 \pm 6,05$ cm od AML, pro VSM je to poté $21,50 \pm 9,64$ cm od AMM. Kvůli velké variabilitě jsme jako adekvátní grafické znázornění použili teplotní mapu. Dále bylo zjištěno, že pokud byly na bérce společně přítomny VIS a akcesorní žíly VSM (VSM accessoria posterior, VSM accessoria superficialis), v majoritě případů fungovaly jako zprostředkovatel spojení vedoucí mezi VSM a VSP (83,33 % pro VSMAp, respektive 82,35 % pro VSMAs). Zároveň byl vyvrácen původní předpoklad autorů o tom, že VIS vedou krev proximálně směrem od VSP do systému VSM. V případě jedné spojky směřovala krev proximálně k VSP v 21,43 %, v případě dvou spojek v 29,17 % a v případě třech spojek v 42,86 %.

Závěr: Tato studie poskytuje detailní pohled na anatomii povrchového žilního systému dolní končetiny, přesněji venae intersaphenae. Podle našeho nejlepšího vědomí téma spojek mezi VSM a VSP zatím nebylo v takové míře zkoumáno, a tudíž je naše práce cenným příspěvkem do vědecké obce. Téma venae intersaphenae rozšiřuje naše anatomické znalosti o lidském těle. Avšak zároveň přispívá novými informacemi k hlubšímu zkoumání žilní insuficience a dává možnost využití nové alternativy ke klasickým štěpům z vena saphena magna pro srdeční by-passy.

ČT - 34

3 - PROGRAM ČASNÉHO ZÁCHYTU KARCINOMU PLIC V ČESKÉ REPUBLICE Z POHLEDU PRIMÁRNÍ PÉČE

Černý V. (1), Koudelková M. (2)

1 - Váš praktik Ládví s.r.o., Urgentní příjem FN Bulovka, Nemocnice Roudnice n.L. s.r.o., 1. koronerská, s.r.o., Ústav všeobecného lékařství 1. LF UK 2 - Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, Národní screeningové centrum Praha, Institut biostatistiky a analýz LF MU Brno

Školitel: doc. MUDr. Bohumil Seifert, Ph.D.

Úvod: Karcinom plic patří mezi nejčastější zhoubné nádory a zároveň se jedná o nádor s největší mortalitou v české populaci. Většina karcinomů plic (více než 65 %) je diagnostikována ve stádiu III nebo IV. 5 leté relativní přežití pacientů léčených pro karcinom plic dosahuje u stadia III 19,3 % a u stadia IV dokonce jen 10,2 %. Velký význam pro prognózu pacienta má časný záchyt onemocnění. U stadia I je 5 leté přežití 65,2 %. Na základě výsledků významných studií (NELSON, NLST) byl od 1.1.2022 spuštěn v ČR národní populační pilotní program časného záchytu karcinomu plic.

Cíl: Cílem bylo shrnout a zhodnotit průběžné výsledky programu časného záchytu karcinomu plic v ČR.

Materiál a metody: Screeningový program spočívá v provádění nízkodávkového CT vyšetření plic (low-dose CT, LDCT) u definované rizikové skupiny populace. Indikačními kritérii jsou věk 55-74 let, aktivní či bývalé kuřáctví se zátěží minimálně 20 balíčkoroků, ochota vstoupit do programu a absence vážných komorbidit. Součástí je i krátká intervence k odvykání kouření. Podmínkou účasti v programu není nutnost přestat kouřit. Pacienti jsou oslovováni nejprve praktickými lékaři nebo pneumology a poté odesíláni na pneumologická pracoviště či přímo na radiologická pracoviště provádějící LDCT. Na základě výsledků pacienti podléhají dalšímu sledování. Low-dose CT je v rámci programu aktuálně prováděno na celkem 31 akreditovaných radiologických pracovištích napříč celou ČR. Byla zpracovávána data poskytnutá MUDr. Marcelou Koudelkovou z Národního screeningového centra Ústavu zdravotnických informací a statistiky, která byla čerpána jednak od zdravotních pojišťoven, ale také od radiologických pracovišť či z dotazníkového šetření pneumologů a pacientů.

Výsledky: Za prvních 21 měsíců trvání programu (1. 1. 2022 – 30. 9. 2023) bylo celkově osloveno 21 028 osob, a to jak praktickými lékaři, tak pneumology. Trend náběru osob do programu je rostoucí. Je evidováno zapojení 31 % zdravotnických zařízení s odborností praktický lékař a 96 % zdravotnických zařízení s odborností pneumologie. V období 1. 1. 2022 – 30. 6. 2023 bylo provedeno celkem 5 560 LDCT vyšetření. 3,8 % osob mělo rizikový (pozitivní) výsledek, jednalo se o 211 osob. 7,7 % mělo výsledek neurčitý a 88,5 % výsledků bylo hodnoceno jako negativní. Z 211 rizikových (pozitivních) pacientů na základě LDCT mělo 55 pacientů záznam v Národním onkologickém registru (NOR), ve kterém jsou evidováni onkologičtí pacienti. V NOR se jedná o předběžná data, poskytovatelé zdravotních služeb mohou záznamy dohlašovat i později. Dle nahlášených potvrzených výsledků v NOR (doposud se jedná o 55 osob, z čehož u pěti nebylo v době analýzy klinické stadium známo) mělo 28 osob onemocnění diagnostikováno v časném a dobře léčitelném stadiu 1, tři osoby ve stadiu 2 a 19 osob v pokročilých stádiích 3 a 4. V 62 % byl tedy karcinom plic diagnostikován ve stadiu I nebo II. V nadpoloviční většině (téměř v 60 % případech) se jednalo o muže.

Závěr: V období 1. 1. 2022 – 30. 6. 2023 bylo provedeno celkem 5 560 LDCT vyšetření. 3,8 % osob mělo pozitivní výsledek, 7,7 % mělo výsledek neurčitý a 88,5 % výsledků bylo hodnoceno jako negativní. Z předběžných dat z Národního onkologického registru byla zachycena onemocnění převážně v časných stádiích - 62 % diagnostikovaných karcinomů ve stadiu I nebo II.

ST - 35

29 - VYŠETŘENÍ NOCICEPČNÍHO FLEKČNÍHO REFLEXU: PRVNÍ NORMATIVNÍ HODNOTY V ČESKÉ REPUBLICCE

Lonek J. (1), Černý R. (1, 2)

1. Centrum pro léčení a výzkum bolestivých stavů FN Motol 2. Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: MUDr. Rudolf Černý, CSc.

Úvod: Vyšetření nocicepčního flekčního reflexu (NFR) je jednou z metod, které objektivizují intenzitu bolesti. Výbavnost NFR nás informuje o úrovni aktivity spinálních nocicepčních neuronů. Předpokládá se, že hypersenzitizace těchto neuronů je jedním z hlavních mechanismů neuropatické bolesti.

Cíl: Práh NFR je ovlivňován řadou fyziologických i technických vlivů. Doporučuje se, aby každá laboratoř vytvořila vlastní soubor norem pro spolehlivou interpretaci výsledků.

Cílem práce bylo proto vyšetření prahu NFR u souboru zdravých jedinců.

Materiál a metody: U 43 zdravých dobrovolníků (21 žen a 22 mužů, věkový průměr 37,9) byl NFR vyvolán elektrickou stimulací plosky nohy a odpověď zaznamenána povrchovou elektrodou na m. tibialis anterior. Měřili jsme intenzitu proudu v mA, intenzitu bolesti (numerical rating scale - NRS), elektrický šum v μV a impedanci v k Ω mech. Soubor byl vyhodnocen deskriptivní a korelační analýzou (JASP verze 0.18.3.).

Výsledky: Průměrná hodnota prahu NFR byla 9,75 mA (SD 4,8). Průměrná hodnota subjektivně vnímané bolesti byla 3,1/10 a korelovala s prahem nocicepčního reflexu ($r = 0,59$).

Nejsilnější zjištěná korelace je mezi kožní impedancí a prahem NFR ($r = -0,8$).

Naproti tomu pohlaví, věk a elektrický šum s prahem NFR nekorelují vůbec.

Závěr: Průměr hodnot prahu NFR odpovídá normativním hodnotám v zahraniční literatuře. Výsledky vyšetření NFR jsou ovlivněny variabilitou kožní impedance.

Podpora projektu: Tento projekt je podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy.

82 - INTRAHIPPOCAMPAL SLEEP SPINDLES IN PEDIATRIC EPILEPSY PATIENTS

Čabounová P. (1,2), Jacobs-LeVan J. (1,3), Maltseva M. (1), Lachner Piza D. (1)

1 - Pediatric Neurology Clinic, Alberta Children's Hospital, Calgary AB, Canada; 2 - Department of Physiology, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Czech Republic; 3 - Center for Pediatrics, Medical Center - University of Freiburg, Germany

Pregraduate student

Supervisor: Dr. Julia Jacobs-LeVan, MD, PhD

Introduction: Sleep spindles are events recorded by electroencephalography (EEG) predominantly during the N2 stage of non-rapid-eye-movement sleep. They are generated in thalamus and contribute to the consolidation of memory. Their presence and density is being investigated in patients with various encephalopathy-related diseases.

Aims: We aimed to investigate the presence and density of intrahippocampal sleep spindles in pediatric patients with epilepsy. So far the research in this field has mainly been focused on the adult population, and therefore the data from pediatric patients could bring interesting insight on this topic.

Materials and Methods: The patient group consisted of 32 pediatric epilepsy patients. We analyzed their intracranial EEG signals from depth electrodes placed in the hippocampus. In each patient, we assessed if their signal contained any sleep spindles. If so, we calculated the spindle rate per minute.

Results: We found sleep spindles in 29 out of 32 patients. The spindle rates were >2 spindles/min in three patients, 1-2 spindles/min in seven patients and <1 spindles/min in 20 patients. Sleep spindle density varied from 0,02 to 3,69 spindles per minute.

Conclusions: Sleep spindles are present in the majority of individuals from our patient group. As the next step of this study, we are currently evaluating clinical data of these patients in an effort to observe any links between their condition and EEG findings.

ČT - 2

1 - Velikost korunky jako možná příčina retence dolního stálého špičáku

Dana Kloudová

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

Školitel: MUDr. Ivana Holcátová, CSc.

Úvod: Retence dolních stálých špičáků je velmi vzácná, proto jí je ve vědeckém zkoumání věnována mnohem menší pozornost než retenci horních stálých špičáků. Kromě případových studií, kdy byla příčinou retence dolních stálých špičáků zcela zřejmá patologie (odontom, nadpočetný zub apod), se etiologii jejich retence věnují studie jen velmi málo.

Cíl: Cílem této retrospektivní studie je jako vůbec první změřit rozměry jednostranně retinovaných dolních stálých špičáků, porovnat je s dolními stálými špičáky z nepostižené kontralaterální strany a kontrolní skupiny. To nám umožňuje potvrdit nebo odmítnout velikost korunky jako další možnou příčinu retence dolního stálého špičáku s dosud neznámou etiologií

Materiál a metody: Celkem 39 CBCT skenů ze studijní skupiny bylo importováno do zobrazovacího SW InVivo6, dolní špičák byl vyříznut, okolní tkáň odstraněna. Byla měřena délka korunky, meziodistální a bukolingvální rozměr korunky a délka kořene. Poté byl vypočten objem korunky, kořene a celého zubu. Tato měření byla porovnána s rozměry špičáků z kontralaterální strany a kontrolní skupiny

Výsledky: Poměr muži: ženy je 23:16

Retinované dolní špičáky měly signifikantně větší rozměry korunky (M-D 6,802mm, B-L 7,35mm, Lc 10,43mm, Lr 12,98 mm) než špičáky z kontrolní skupiny (M-D 6,655mm, B-L 7,224mm, Lc 10,16mm, Lr 14,05 mm), ale měly téměř stejnou velikost jako špičáky z kontralaterální skupiny (M-D 6,842mm, B-L 7,39 mm, Lc 10,36mm, Lr 14,11 mm). Retinované dolní špičáky měly kratší a menší kořen než špičáky z kontralaterální a kontrolní skupiny. Objem jejich kořene (Vr 359,07mm³) byl přibližně stejný jako objem jejich korunky (Vc 359,28mm³). Špičáky z kontralaterální strany (Vr 391,9mm³) měly velmi podobný objem kořene jako špičáky z kontrolní skupiny (Vr 391,53mm³). Celkově tedy špičáky (korunka + kořen) z kontralaterální strany (Vt 753,73mm³) jsou větší než špičáky z kontrolní skupiny (Vt 718,89mm³).

Závěr: Vyšší prevalence se vyskytla u mužů než u žen.

Retinované špičáky měly větší rozměry jejich korunek než pacienti z kontrolní skupiny, na kontralaterální straně měly špičáky rovněž větší rozměry korunky, zde nebyl vývoj kořene ovlivněn. Rozměry korunky lze považovat za možný etiologický faktor retence.

Muži měli výrazně větší rozměry korunky a kořene než ženy, což by mohlo přispět k vysvětlení vyššího výskytu u mužů.

4 - Výber prístupu k orbitálnej lézii: stratégia definovaná bezpečnými anatomickými okrajmi

Kuniak M. (1), Koleják K. (1), Sameš M. (2)

1 - Neurochirurgické oddelenie Nemocnica Bory Bratislava 2 - Neurochirurgická klinika UJEP a MNUL Ústí nad Labem

Školiteľ: Prof. MUDr. Martin Sameš CSc.

Úvod: Mnohí neurochirurgovia bežne operujú nádory, ktoré sa nachádzajú intra/extrakonálne - v orbite. Okraje nádoru sú zvyčajne dobre vymedzené pred odstránením celého nádoru. Všeobecne záväzným pravidlom je pristupovať k týmto léziám čo najmenej invazívne. Najnovšie kazuistiky opisujú endoskopický prístup cez supraciliárne alebo obočnicové rezy. Sú tieto prístupy použiteľné v každom prípade intraorbitálneho nádoru? Prevažuje minimálna invazívnosť nad prínosom jasného rozpoznania anatómie a vnímania zdravého okrajového tkaniva, alebo je minimálne invazívny prístup stále vhodný iba pre vybrané prípady?

Cíl: V našej štúdii sa chceme podeliť o skúsenosti s gross - totálnym odstránením nádoru pomocou orbitozygomatického a supraciliárneho prístupu vo vybraných prípadoch. Základom výberu prístupu bola potreba dôkladne definovať anatómiu.

Materiál a metódy: 14 pacientov: 6 žien, 8 mužov, vo veku: 43-73 rokov. 6 nádorov bolo lokalizovaných extrakonálne, 8 nádorov bolo intrakonálnych. Medzi hlavné príznaky patrili - diplopia, exoftalmus, poruchy zraku a potvrdený rast nádoru (celková veľkosť - 20 mm alebo viac) na následných MRI orbity.

Nádory v skupine boli rozdelené na intrakonálne a extrakonálne na základe anatómie a vzťahu k periorbite.

Extrakonálne nádory boli rozdelené podľa vzťahu k bulbu: 1/ Ventrálne extrakonálne - vzhľadom k strednej čiare bulbu, 2/ Dorzálne extrakonálne - vzhľadom k strednej čiare bulbu. Skupina intrakonálnych nádorov bola rozdelená do kvadrantov (horný laterálny [UL], horný mediálny [UM], dolný laterálny [LL], dolný mediálny [LM]). Nádor optického kanála sa v súbore nevyskytoval.

Výber chirurgického prístupu bol založený na anatomickej lokalizácii nádoru:

1. Predná extrakonálna oblasť - bola sprístupnená supraciliárnym rezom.
2. Zadná extrakonálna oblasť - bola sprístupnená orbitozygomatickou kraniotómiou a laterálnou orbitotómiou.
3. Horné kvadranty intrakonálneho priestoru - boli sprístupnené pomocou orbitozygomatickej kraniotómie. Prístup prebiehal medzi horným priamym svalom a laterálnym priamym svalom.
4. Dolné kvadranty intrakonálneho priestoru - boli sprístupnené pomocou orbitozygomatickej kraniotómie. Prístupový koridor prechádzal medzi laterálnym priamym svalom a zrakovým nervom (CN II).

Výsledky: Histológia potvrdila: 3 intraoseálny meningeóm Gr.I, 1 veľkoobjemový difúzny lymfóm, 1 ochorenie spojené s IgG4, 1 metastáza karcinómu pľúc, 7 hemangiómov, 1 myopeicytóm.

13/14 nádorov bolo úplne odstránených z ich predchádzajúceho umiestnenia, pacienti boli sledovaní na MRI vykonanej 3 a 6 mesiacov po operácii. V prípade ochorenia spojeného s IgG4 bol zaznamenaný 1 relaps, keď nádor opäť narástol v inej intraorbitálnej lokalizácii, odlišnej od predoperačnej lokalizácie, vo veľkosti 3 mm za 6 mesiacov, čo je považované za prirodzený priebeh ochorenia. U 1 pacienta (metastáza karcinómu pľúc) došlo k včasnej rekurencii v blízkosti orbitálnej oblasti a podstúpil rádioterapiu. Exoftalmus ustúpil u 14/14 pacientov do 1 mesiaca po operácii.

Diplopia sa zlepšila u 12/14 pacientov do 3 mesiacov po operácii.

Poruchy zraku: 1/14 - predchádzajúca slepota operáciou nebola ovplyvnená, 3/14 - došlo k čiastočnému zlepšeniu videnia, 10/14 - došlo k výraznému zlepšeniu videnia.

Kozmetický efekt bol pacientmi dobre prijatý. S kozmetickým výsledkom bolo spokojných alebo veľmi spokojných 14/14 pacientov.

Záver: Spoľahlivé vymedzenie anatomických okrajov a hranica resekcie, ktorá presahuje okraje nádoru, predurčujú chirurgický zákrok na úspešnú celkovú resekciu nádoru. Anatomicky čistý - transkraniálny - prístup zároveň zaručuje bezpečnosť pri identifikácii dôležitých a životne dôležitých štruktúr, ako sú priame svaly, horná orbitálna štrbina a zrakový nerv. Opticko-vizuálne, okulomotorické, funkčné a kozmetické výsledky sú pri kraniotómii odhadnuteľné, priaznivé a vyhovujúce. Dospeli sme k záveru, že kraniálna orbitotómia je bezpečný, účinný a kozmeticky výborne tolerovaný postup, ktorý predurčuje operáciu k priaznivému výsledku.

5 - SPATIAL IMMUNOPROFILING OF THE TUMOR TISSUE IN PATIENTS WITH LEIOMYOSARCOMAS

Benešová I.(1), Ozaniak A.(2), Balko J.(3), Tovazhnianska V. (3), Rataj M.(1), Galová D.(2), Smetanová J.(1), Lischke R.(2), Bartůňková J.(1) and Ozaniak Střížová Z.(1)

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

2 Third Department of Surgery, First Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol

3 Department of Pathology and Molecular Medicine, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: doc. MUDr. Zuzana Ozaniak Střížová, Ph.D.

Introduction: Leiomyosarcoma (LMS) is an extremely rare cancer with a poor prognosis and very limited treatment options at metastatic stages. While immune checkpoint inhibitors (ICI) showed encouraging results for many cancers, their efficacy varies within LMS. The tumor microenvironment significantly affects patient prognosis and responsiveness to ICI in many solid cancers.

Aims: Our goal was to gain novel insights into the intratumoral heterogeneity and possible mechanisms of non-responsiveness to ICI in LMS. Retroperitoneal LMS might exhibit a large size.

Materials and Methods: Therefore, we investigated the intratumoral heterogeneity in four treatment-naive tumors (ten samples per tumor). We defined four regions: vital and necrotic centers, organ-adjacent and free margins, where we evaluated immune cells with emphasis on T cells, macrophages and immune checkpoint molecules using flow cytometry and immunohistochemistry. Moreover, we analyzed cytokine secretion after anti-CD3/CD28 stimulation at these tumor regions.

Results: The infiltration of immune cells and the expression of immune checkpoint molecules significantly varied between each patient and also within individual samples. The most profound discrepancy was observed within two distinct areas of the same tumor where CD8+TIM-3+ T cells ranged from 7% to 79%. Significantly higher expression of PD-1 and/or LAG-3 on non-T cells and almost significant LAG-3 expression on CD4+ T cells was detected in the free margin in comparison to organ-adjacent margin. In contrast to other analyzed cytokines, the stimulation increased IL-17 secretion in cells isolated from organ-adjacent margin compared to cells from free margin. Following the findings about LAG-3 expression, we tested the cells reactivity to anti-LAG-3 blockade. We have observed decreased cytokine secretion and similar reaction pattern across all analyzed locations. Interestingly, IL-8 production in necrotic center and PD-L1 secretion in organ-adjacent margin were enhanced compared to other locations.

Conclusions: These results highlight the intratumoral heterogeneity of LMS, potentially explaining response to ICI therapy despite low or absent expression of these molecules and vice versa. As the presence of immune checkpoint molecules affects patient's eligibility for ICI administration, our data suggest that multiple biopsies are suitable for analyzing tumor-infiltrating immune cells in large-scaled tumors. This approach may provide higher diagnostic value and better patient selection for the optimal treatment strategy.

Support: AZV NU23J-08-00031, GA UK 94323

6 - Prognostické faktory thalamických a thalamopedunkulárních nízkostupňových gliomů u dětí: systematická review

Jana Táborská, MD^{1,2}; Adéla Bubeníková^{1,3}; Petr Skalický MD, PhD¹; Jakub Táborský MD^{1,2}; David Horváth MSc, PhD⁵; Michal Zápotocký, MD, PhD^{2,4}; Ondřej Bradáč, MD, MSc, PhD^{1,2,3}; Vladimír Beneš 3rd, MD, PhD^{1,2*}

1. Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK A FN MOTOL 2. Centrum dětské neuroonkologie FNM 3. Neurochirurgická a neuroonkologická klinika 1. LF UK a ÚVN 4. Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol 5. Ústav vědeckých informací 1.LF UK a VFN

Školitel: Doc. MUDr. Vladimír Beneš, Ph.D.

Úvod: Pediatrické nízkostupňové gliomy vznikající z thalamu nebo thalamopedunkulárního spojení jsou vzácné. Prognostické faktory jsou tedy zřídka uváděny v literatuře.

Cíl: Tato systematická přehledová studie si klade za cíl definovat faktory ovlivňující prognózu dětských pacientů s thalamickými a thalamopedunkulárními nízkostupňovými gliomy.

Materiál a metody: Byla provedena rozsáhlá literární rešerše v souladu se zásadami PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), která zahrnovala Web of Science, Scopus a OVID interface (Medline a Embase). Původní články byly vybrány, pokud poskytovaly údaje o 10 nebo více pacientech mladších 18 let s oddělenými nebo dostupnými daty pro thalamické nebo thalamopedunkulární gliomy nízkého stupně, stejně jako alespoň jeden prognostický faktor a jeho odpovídající výsledek. Riziko bias a aplikability bylo hodnoceno pomocí QUAPAS (The Quality Assessment of Prognostic Accuracy Studies) kritérií.

Výsledky: Proces výběru studií vedl k zařazení 14 článků z počátečního souboru 876 odkazů. Těchto 14 článků zahrnovalo údaje od 446 pacientů. Uvedené prognostické faktory byly rozsah resekce v deseti studiích, věk a radioterapie ve čtyřech studiích, bilaterální zapojení a molekulární genetiky ve dvou studiích a pohlaví a diseminace v jedné studii. Významné prognostické faktory zahrnovaly rozsah resekce, bilaterální zapojení, histologii a radioterapii.

Závěr: Několik faktorů mohlo ovlivnit výsledky, především významné změny v klasifikaci mozkových nádorů v průběhu let a nízký počet článků uvádějících každý prognostický faktor. Uvedené faktory považované za významné pro prognózu jsou v souladu s dříve publikovanými údaji. Maximální bezpečná resekce jako potenciálně kurativní metoda pro thalamické gliomy nízkého stupně a multidisciplinární přístup ke každému pacientovi by měly být standardem péče.

7 - Hodnocení symetrie mandibuly u pacientů s jednostranným zkříženým skusem před a po rychlé palatinální expanzi: Přehledový článek

Lucie Šimůnková Vítová, Taťjana Dostálová, Lenka Kratochvílová

Stomatologická klinika dětí a dospělých 2.LK UK a FN Motol

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

Úvod: Jednostranný zkřížený skus je spojen s asymetrií dolní čelisti. Přestože jsou tyto změny malé, neléčená malokluze může mít závažný dopad nejen na růst mandibuly, ale také na funkci žvýkacího ústrojí, sluch a TMK. Terapie pomocí rychlé palatinální expanze (RME) se ukazuje jako úspěšná metoda pro korekci této vady.

Cíl: Cílem tohoto přehledu je podrobně shrnout a analyzovat současné poznatky o změnách na dolním zubním oblouku, dolní čelisti a v oblasti temporomandibulárního kloubu (TMK) u pacientů s jednostranným zkříženým skusem (UPCB) po léčbě pomocí rychlé palatinální expanze (RME). A následné využití těchto znalostí k rozvoji účinných preventivních strategií, zajištění včasné diagnostiky a správné plánování léčby této ortodontické anomálie.

Materiál a metody: V databázích Pubmed/Medline, Scopus a Embase bylo provedeno vyhledávání a průzkum literatury na základě použití následujících klíčových slov „RME“, „jednostranný zkřížený skus“, „mandibula“, „TMK“, „dentální, dentoalveolární a skeletální změny“ a „rostoucí pacient“. Kritériem výběru byly průřezové studie, prospektivní a retrospektivní klinické studie, randomizované kontrolované studie a systematické přehledy publikované v anglickém jazyce v letech 1999 až 2023.

Zahrnuty byly publikace splňující následující kritéria:

1. Účastníci: rostoucí pacienti se smíšeným nebo stálým chrupem s jednostranným zadním zkříženým skusem bez symptomatologie dysfunkce TMK
2. Léčba: RME
3. Srovnání: Hodnocení pacientů před a/nebo po RME
4. Výsledek: Lineární, úhlová a objemová měření dentálních, dentoskeletálních a skeletálních změn na mandibule a čelistním kloubu před a/nebo po RME pomocí OPG, Postero-anteriorní RTG (P-A RTG), CT a hodnocení dentálních nebo dentoalveolárních účinků na modelech

Výsledky: Kritéria pro zařazení splňovalo 49 publikací, z nichž 10 bylo systematic review. Největší statisticky prokazatelné změny na mandibule při využití různých vyšetřovacích metod jsou u pacientů s UPCB na straně zkříženého skusu v délce mandibuly, celkové výšce ramus mandibulae, ve výšce kondylů a v jejich pozici ve fossa glenoidalis. Při analýze modelů se větší část studií ztotožnila s výsledky, které poukazují na obecné tendence rozšiřování dolní čelisti v mezimolárové vzdálenosti.

Závěr: Statisticky nejvýznamnější změny na mandibule u pacientů s UPCB se projevují na straně zkříženého skusu v délce mandibuly, celkové výšce ramus mandibulae, výšce kondylů a jejich pozici ve fossa glenoidalis, což bylo zjištěno různými vyšetřovacími metodami.

Kontroverzní výsledky některých studií mohou být způsobeny použitím různých výzkumných metod, diagnostických vyšetření, rozdílů ve věku pacientů a absencí kontrolních skupin. Tento nesoulad ve výsledcích poukazuje na potřebu dalších randomizovaných kontrolovaných studií s dlouhodobým sledováním a přesně definovanými kritérii.

Podpora projektu: Výzkumný záměr 00064203 (FN Motol)

8 - LONG-TERM FATE OF AN UNSELECTED COHORT OF CONGENITAL LONG QT SYNDROME PATIENTS DIAGNOSED IN CHILDHOOD

Tavačová T. (1), Kubuš P. (1), Křebsová A. (2), Janoušek J. (1)

1. Children's Heart Centre, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic 2. Cardiology Department, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Jan Janoušek, Ph.D

Introduction: Congenital long QT syndrome (LQTS) is genetically heterogeneous disorder with type-specific risk for major arrhythmic event (MAE).

Aims: We aimed to perform a retrospective analysis of unselected cohort of LQTS patients diagnosed in childhood.

Materials and Methods: All paediatric patients (N=224, female 119, 53 %) diagnosed with LQTS (Schwartz score ≥ 1.5 points and/or presence of a pathogenic or likely pathogenic variant) between July 1985 and December 2021 at median age (IQR) 11.7 (6.5-14.2) years were included. Data were retrieved from medical records and cross-mapped with the National Death Registry. Patients were followed-up for a median (IQR) of 8.8 (2.8-16.7) years.

Results: Reasons for presentation were LQTS related symptoms (N=91, 40.6%), positive family history (N=66, 29.5%), incidental finding of prolonged QTc (N=37, 16.5%), positive pre-participation screening (N=30, 13.4%). QTc interval was median (IQR) 482 (460-516)ms, the median (IQR) Schwartz score was 4.0 (3.0–5.0) points. Likely pathogenic or pathogenic variants were found in 119/159 tested patients (74.8%). Betablockers (BB) were administered in 202 patients (90.2 %) with the proportion of non-selective BB increasing from 16.7 % to 58.5 % comparing periods 1985-2015 and 2016-2021 ($p < 0.001$). Twelve patients died from cardiovascular cause (5.4%) yielding a 5/10/20 years survival probability of 97.2/94.7/91.5%. Freedom from MAE defined as either sudden cardiac death/arrest or appropriate ICD therapy after diagnosis of LQTS was 92.9/87.7/83.5%. MAE was independently predicted by early presentation (HR 14.65, $p = 0.0013$), Schwartz score (HR 1.77, $p = 0.0022$), QTc (HR 1.018, $p < 0.001$) and presence of LQTS3 (HR 34.54, $p = 0.025$). MAE burden decreased significantly in patients on non-selective BB in comparison to selective BB (Fig. 1) regardless of other variables (gender: HR 0.15, $p = 0.0121$, early presentation: HR 0.11, $p < 0.0001$, Schwartz score: HR 0.16, $p < 0.0001$, LQTS3: HR 0.15, $p = 0.0169$ and QTc: HR 0.14, $p = 0.0096$).

Conclusions: Patients with LQTS diagnosed in childhood had a long-term survival probability about 91.5%. Early presentation, Schwartz score, genotype and QTc duration were major predictors of MAE. Genetic testing had a high diagnostic yield. BB therapy has shifted to non-selective BB over time, which significantly decreased MAE burden.

Support: Supported by MHCZ–DRO, Motol University Hospital, Prague, Czech Republic 00064203

ST - 2

10 - ROZDIELNY FENOTYP PRIMÁRNEJ CILIÁRNEJ DYSKINÉZY U MONOZYGOTICKÝCH DVOJIČIEK S DEFEKATOM GÉNU HYDIN

Pánska D. (1,2), Dvořáková P. (2,3), Uhlík J. (2)

1 - Katedra buněčné biologie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha, 2 - Ústav histologie a embryologie, 2. lékařská fakulta UK, Praha, 3 - Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta a FN Motol, Praha

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Jiří Uhlík, Ph.D.

Úvod: Primárna ciliárna dyskinéza (PCD) je autozomálne recesívne chronické ochorenie typické genotypovou i fenotypovou heterogenitou. Dnes je známych viac ako 50 génov podmieňujúcich PCD. Porušená ciliárna motilita vedie k opakujúcim sa infekciám dýchacích ciest vedúcim v najťažších prípadoch až k respiračnému zlyhaniu. Objavujú sa opakované otitis media, znížená fertilita a u niektorých genotypov i poruchy laterality. Konkrétny genetický variant štandardne koreluje s príslušným fenotypom.

Cíl: V kazuistike sa venujeme monozygotickým dvojičkám, mužom, ročník 1988. Diagnostika bola veľmi atypická. Jeden z pacientov pre podozrenie na neplodnosť navštívil reprodukčné centrum, kde mu bola zistená bialelická mutácia génu HYDIN spôsobujúca PCD s normálnou ultraštruktúrou a bez porúch laterality. Až potom i so svojím bratom kontaktovali naše PCD centrum. Naším cieľom bolo analyzovať vzorec ich ciliárneho pohybu a axonemálnu ultraštruktúru, overiť prítomnosť vybraných proteínov a zistenia korelovať s klinickým fenotypom a genotypom.

Materiál a metódy: Riasinkový epitel bol získaný z nazálneho brushingu a ciliárny pohyb analyzovaný pomocou vysokorýchlostnej videomikroskopie (HSVM). Imunocytochémia cieľila na vybrané axonemálne proteíny vrátane Sperm Flagellar Protein 2 (SPEF2), ktorý sa viaže s proteínom HYDIN. Ciliárna ultraštruktúra bola študovaná pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie (TEM). Podľa anamnestických údajov bol stanovený klinický index a boli merané hladiny nazálneho NO (nNO).

Výsledky: U pacienta 1 boli namerané hraničné hodnoty nNO, u pacienta 2 bola hladina veľmi nízka. Klinický index pacienta 1 je 6, čiže veľmi vysoké riziko PCD, u pacienta 2 len 4. Riasinky pacienta 1 vykazovali pri HSVM analýze pohyb do kruhu, u pacienta 2 pohyb dyskoordinovaný. Imunocytochémia u oboch potvrdila neprítomnosť proteínu SPEF2. TEM nález pacienta 1 ukázal výrazne vyšší výskyt mikrotubulárnych defektov ako u pacienta 2.

Záver: U pacienta 1 bolo prítomné zvýšené percento riasiniek s mikrotubulárnou dezorganizáciou a poruchami centrálného páru v porovnaní s pacientom 2, u ktorého bola pozorovaná takmer výhradne normálna ultraštruktúra. To sa prejavilo i v ich rozdielnom ciliárnom pohybe. Negativita signálu pre SPEF2 potvrdila jeho neprítomnosť u oboch pacientov, a teda i nepriamo genetickú diagnózu. Napriek tomu, že sa jedná o geneticky identických jedincov, vzorec ciliárneho pohybu a teda i miera riasiniek s pozorovateľnou narušenou ultraštruktúrou je rozdielna, čo koreluje i s ťažším klinickým fenotypom pacienta 1.

Podpora projektu: Práca bola podporená grantom GAUK č. 239123.

Zdobinská T.(1), Lukšanová H.(2), Veselý Š.(1)

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

Školitel: Doc. MUDr. Štěpán Veselý, Ph.D.

Úvod: Karcinom prostaty je jedno z nejčastějších onkologických onemocnění ve světě. V České republice je ročně diagnostikováno 8000 nových případů a 1400 pacientů následkem tohoto onemocnění zemře.

Genová i proteinová exprese nádorů je rozsáhle zkoumanou oblastí, která otevírá nové možnosti pro diagnostiku a léčbu karcinomu prostaty. Hlubší porozumění změnám v metabolismu proteinů by mohlo napomoci v odlišení agresivních forem karcinomu s rizikem progresu a metastáz. Hypotéza našeho výzkumu byla formulována na základě pilotní studie našeho centra z roku 2018.

Cíl: Naším cílem je identifikovat onkomarker karcinomu prostaty (CaP), který lze získat neinvazivním způsobem, tedy z moči.

Materiál a metody: Analýza byla provedena ze souboru pacientů s CaP indikovaných k roboticky asistované radikální prostatektomii (CaP n=60) a zdravých kontrol bez historie onkologického onemocnění či elevace PSA (K n=30). Průměrný věk pacientů byl 66 let (48-88 let). Pacienti odevzdali vzorek ranní moči v období od října 2023 do května 2024. Vzorky byly následně zmrazeny na teplotu -80°C do okamžiku analýzy, kdy byly rozmrazeny v pokojové teplotě. Pro stanovení amino a imonokyselin jsme použili kapalinovou chromatografii s fluorescenčním detektorem. Výsledky analýzy jsme standardizovali na koncentraci vnitřního standardu β -aminopropionitrilu. Následně jsme hodnoty přepočítali na koncentraci kreatininu v moči, který jsme stanovili enzymaticky.

Výsledky: Koncentrace volných aminokyselin v moči (nmol/nmol) jsme analyzovali pro glutamát(glu), serin(ser), glutamin(gln), glycin(gly), arginin(arg), methionin(met), leucin(leu), sarcosin(sar) a prolin(pro). Tabulka zobrazuje medián koncentrací aminokyselin jednotlivých skupin. Množství sarcosinu v moči v naší analýze je u pacientů s CaP signifikantně vyšší než u kontrol ($p < 0,001$) v souladu s výsledky předchozích studií. Dalším nadějným markerem se zdá být prolin ($p = 0,743$).

1000*c/krea	glu	ser	gln	gly	Arg	met	leu	sar	pro
CaP (n=60)	4,4	21,3	42,2	59,7	16,8	42,4	1,3	5	2,9
K (n=30)	6,6	17,7	38,3	52,1	25,8	59,4	1,2	3,1	2,5

Závěr: Samotná koncentrace jednotlivých aminokyselin v moči zatím není dostatečná pro diagnostiku či hodnocení agresivity CaP. V kombinaci s dalšími parametry by však sarcosin nebo prolin mohly být nadějnými neinvazivními biomarkery. Vztahy mezi koncentrací aminokyselin v moči a ostatními markery budou předmětem našich dalších studií.

12 - OPTICKÉ A ELEKTRICKÉ BIONANOSENZORY PRO DETEKCI STANDARDNÍCH A NÍZKOKONCENTRAČNÍCH BIOMARKERŮ ONEMOCNĚNÍ

Pashchenko A.(1,2,6), Varvařovská L.(3), Cruciani S.(2), Beznoska J(4), Sopko B.(1), Chupina A.(6) Jarošíková T.(3),Maioli M(2), Amler E.(1,5)

1 - Ústav biofyziky, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika 2 - Ústav biomedicínských věd, Univerzita v Sassari, Sassari, Itálie 3 -Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze, Praha, Česká republika 4 - Nemocnice Rudolfa a Stefanie, Benešov, Česká republika. 5 - Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, České vysoké učení technické v Praze, Třinecká 1024, 27343 Buštěhrad, Česká republika; 6 - Medianna Clinic s.r.o., Nepilova 903/3, 190 00 Praha, Vysočany

Školitel: prof. RNDr. Evžen Amler, CSc.

Úvod: Biomarkery hrají zásadní roli při včasné detekci, diagnostice a monitorování nemocí a nabízejí cenné poznatky o mechanismech a vývoji onemocnění. Přesná a citlivá detekce těchto biomarkerů je nezbytná pro účinný lékařský zásah a léčbu. Tradiční metody detekce biomarkerů se často potýkají s omezeními, pokud jde o citlivost, specifickou a schopnost analyzovat biomarkery ve velmi nízkých koncentracích.

Cíl: Naše skupina rozdělila tento výzkum do několika obecných komponentů:

- Identifikace a popis biomarkerů ve standardních koncentracích a identifikace biomarkerů v nízkých koncentracích, které mohou umožnit diagnostiku a charakterizaci onemocnění.
- Příprava vazebných systémů založených na chytrých nanovláčkách, zpracovaných s vybranými vazebnými činidly.
- Hodnocení procesu vazby a převod specifické vazby biomarkerů na signál.

Materiál a metody: Metody: Elektrochemické měření v elektrochemické impedanční spektroskopii (EIS) lze dosáhnout dvěma metodami:

- Horizontální zařízení s dvojitou elektrodovou konfigurací měřící navlhčenou membránu.
- "V kapalině" bez síly, vertikální komora.

Nanovláčka modifikovaná PAN (polyakrylonitril) byla použita jako stabilní platforma pro počáteční hodnocení optického nanosenzoru. Konkrétně byly navrženy interakce zahrnující nanovláčka modifikovaná PAN a fluorofory k posouzení citlivosti nanosenzoru. Naše skupina použila modelové roztoky s biotinem značeným fluoresceinem (FITC) k optimalizaci detekčního systému.

Výsledky: FluoroMax fluorospektrometr ukázal vysokou citlivost při měření nízkých koncentrací modelových kapalin s biotinem-FITC. Lineární regrese ukazuje dobrý výsledek ($R^2=0,99$) a bude použita v budoucích experimentech k výpočtu limitu detekce PAN-modifikovaných nanovláček použitých jako senzory.

Závěr: Předběžné výsledky naznačují, že:

- Kombinace standardních biomarkerů organizovaných v asociovaných skupinách (a/nebo korelovaných s antonymními markery) může být využita jako monitorovací marker a pro popis konečných bodů, v závislosti na zvoleném referenčním hodnotě. Korelované skupiny markerů by mohly charakterizovat rovnováhu a homeostázu procesů v tkáních.
- Nová generace markerů v nízkých koncentracích (miRNA, jiné tělesné tekutiny atd.) bude implementována v rámci synergického vývoje detekčních technologií a charakterizace nových markerů.
- Elektrochemické vlastnosti kapaliny mohou být charakterizovány v elektrické detekci, kde mohou být detekovány pikomolární koncentrace.

Podpora projektu: Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt č. 312123)

13 - TRPV4 CHANNELS IN NG2 GLIA AFFECT THE FORMATION OF GLIAL SCAR AFTER CEREBRAL ISCHEMIA

Marchetti V.(1,3), Hermanova Z(1), Ziolkowska N.(2), Jirak D.(2), Anderova M.(1)

1 - Institute of Experimental Medicine, CAS, Cellular Neurophysiology, Prague, Czech Republic; 2 - Institute of Clinical and Experimental Medicine, Diagnostic and Interventional Radiology, Prague, Czech Republic; 3 - Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Supervisor: Miroslava Anděrová, Ph.D

Introduction: Cerebral ischemic injury is a potentially fatal condition accompanied by the development of brain edema and the formation of glial scar. In this pathology, glial Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4) channels are suspected to play a crucial role and affect the outcome of the injury. Global deletion of TRPV4 showed increased size of the ischemic lesion (measured by magnetic resonance imaging – MRI). However, these results did not show which type of TRPV4-expressing glia is responsible for these changes. One of the possible candidates are NG2 cells: a dynamic population of glia displaying a strong proliferation and differentiation potential under both physiological and pathological conditions. Notably, we already proved that after ischemia, NG2 cells shift towards a more astrocyte-like gene expression profile, indicating their contribution in glial scar formation.

Aims: Therefore, we decided to utilize NG2 glia-specific TRPV4 knockouts (cTrpv4^{-/-}) to further elucidate the role of TRPV4 channels in post-ischemic NG2 cells

Materials and Methods: For this purpose, MRI analysis, immunohistochemistry and image processing tools were used.

Results: MRI show differences between the cTrpv4^{-/-} and controls in the volume of ischemic lesions 1 and 7 days after middle cerebral artery occlusion (MCAO) but not 3 days after. However, subsequent staining for Iba1 (a marker of microglia) and GFAP (a marker of reactive astrocytes and astrocyte-like NG2 cells) revealed an increase in the area of the gliosis around the lesion after MCAO.

Conclusions: These results indicate that even though TRPV4 channels in NG2 glia did not affect the development and extent of brain edema at all time points, they play a role in the formation of a glia scar and thus affect the outcome of the ischemic brain injury.

Support: This research was supported by Czech Science Foundation, grant number 20-05770S and by Marie Skłodowska-Curie Innovative Training Network ASTROTECH project (number 956325), included in EU Framework programme Horizon 2020. Microscopy was done at the Microscopy Service Centre of the Institute of Experimental Medicine CAS supported by the MEYS CR (LM2023050 Czech-Bioimaging).

15 - TERAPEUTICKÉ MONITOROVÁNÍ HLADIN VYBRANÝCH BETA-LAKTAMOVÝCH ANTIBIOTIK U KRITICKY NEMOCNÝCH PACIENTŮ

Halačová M. (1,2,3), Mieresová M. (1,3), Duška F. (2), Kubele J. (4), Klapková E. (5), Waldauf P. (2)

1 - Oddělení klinické farmacie, NNH, Praha 2 - Klinika anesteziologie a resuscitace 3. LF UK a FNKV, Praha 3 - Ústav farmakologie 2. LF UK, Praha 4 - Oddělení klinické mikrobiologie a antibiotická stanice, NNH, Praha 5 - Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol

Školitel: PharmDr. Milada Halačová, Ph.D.

Úvod: Beta-laktamy představují nejčastěji indikovaná antibiotika v intenzivní medicíně, jejich farmakokinetické parametry jsou však významně alterovány probíhajícími patofyziologickými změnami u kriticky nemocných. V literatuře doporučované podání jedné sytící dávky následované redukcí dle stavu renálních funkcí (RF) nemusí za těchto okolností vést k dosažení PK/PD cíle, kterým je u beta-laktamů udržení plazmatické koncentrace v průběhu celého dávkového intervalu nad hodnotami MIC infekčního agens.

Cíl: Cílem práce bylo optimalizovat dávkování vybraných beta-laktamových antibiotik (cefepim, meropenem, piperacilin/tazobaktam) u kriticky nemocných pacientů na základě stanovování jejich plazmatických koncentrací. Předpokládali jsme, že podávání plných dávek neadjustovaných na stav RF po dobu prvních 24 hod zvýší pravděpodobnost dosažení stanoveného PK/PD cíle ($C_{min} = 4-10 \times MIC$), zatímco riziko toxicity bude v iniciální fázi terapie minimální.

Materiál a metody: Práce byla koncipována jako retrospektivní observační studie realizovaná na 377 konsekutivních pacientech hospitalizovaných na jednotce intenzivní péče v Nemocnici Na Homolce. Údolní hladiny (C_{min}) uvedených beta-laktamů byly odebírány dle protokolu vždy po 24-hod plné terapie. Bylo hodnoceno dosažení definovaného PK/PD cíle a korelace vybraných vstupních charakteristik souboru (věk, pohlaví, BMI, GFR (glomerulární filtrace), dependence na CRRT) s nalezenou plazmatickou koncentrací.

Výsledky: Po 24 hod plné terapie dosáhlo definovaného terapeutického cíle ($C_{min} = 4-10 \times MIC$) pouze 142 (37,7 %) pacientů; subterapeutické hladiny ($C_{min} < 4 \times MIC$) byly nalezeny u 161 (42,7 %) pacientů, zatímco supraterapeutické ($C_{min} > 10 \times MIC$) u 74 (19,6 %). Hladiny všech studovaných antibiotik byly srovnatelně dependentní na stupni glomerulární filtrace (GFR). Ze sledovaných parametrů byla GFR jediným konzistentním prediktorem nalezené koncentrace; jako cut-off hodnota významně asociovaná s rizikem poddávkování bylo stanoveno 0,5 ml/s (piperacilin/tazobaktam), 0,6 ml/s (meropenem) a 0,7 ml/s (cefepim). V populaci se supramaximální plazmatickou koncentrací nebyly zaznamenány klinické známky toxicity (hematotoxicita, neurotoxicita, hepatotoxicita).

Závěr: Kriticky nemocní pacienti jsou vystaveni vysokému riziku subterapeutických plazmatických hladin beta-laktamových antibiotik i v případě plné terapie neadjustované na stav RF po dobu prvních 24 hod. Stanovování plazmatických koncentrací s následnou adjustací dávkového režimu představuje efektivní nástroj optimalizace účinnosti a bezpečnosti antibiotické terapie.

ČT - 9

16 - ZUBNÍ ANOMÁLIE POZOROVANÉ U OKULO-FACIO-KARDIO-DENTÁLNÍHO (OFCD) SYNDROMU PŘÍTOMNÉHO U DVOU ČESKÝCH RODIN

Bařková M. (1), Havlovicová M. (2), Nocar A. (1), Ďudáková L. (3), Macek M. (2), Lišková P. (3,4), Dostálová T. (1)

1 - Stomatologická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol Praha, 2 - Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol Praha, 3 - Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN Praha, 4 - Oční klinika 1. LF UK a VFN Praha

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

Úvod: Okulo-facio-kardio-dentální syndrom (OFCD) je velmi vzácná vrozená anomálie charakterizovaná zubní radikulomegalií, vrozenou kataraktou, obličejovým dysmorfismem a vrozenou srdeční vadou. Syndrom postihuje pouze ženy a předpokládá se, že u mužů je prenatálně letální.

Cíl: Tato studie popisuje klinické nálezy zaměřující se na dentální fenotyp u pěti molekulárně potvrzených případů ze dvou českých rodin.

Materiál a metody: Bylo provedeno zubní vyšetření u celkem 5 pacientů. U všech se vyfotografovala dutina ústní s chrupem, u tří pacientů se pořídil ortopantomogram. U obou probandů bylo provedeno exomové sekvenování. Výsledky byly ověřeny Sangerovým sekvenováním DNA, které bylo také použito ke sledování segregace variant u příbuzných prvního stupně.

Výsledky: Zubní anomálie společně s vrozenou kataraktou byly přítomny u všech pěti pacientů, zatímco ostatní příznaky byly variabilní a zahrnovaly obličejový dysmorfismus, mikroftalmii, srdeční onemocnění a kosterní abnormality. Dva jedinci měli rozštěp rtu a/nebo patra. Radikulomegalie se vyskytla u tří pacientů se stálým chrupem a byla diagnostikována na ortopantomogramech. Dva pacienti měli mnohočetné ageneze stálých zubů. Malokluze byla také přítomna u dvou pacientů: stěsnání zubů a obrácený skus. Byly identifikovány de novo nové patogenní varianty v genu BCOR; c.2382del p.(Lys795Argfs*12) a c.3914dup p.(Gln1306Alafs*20).

Závěr: OFCD syndrom má unikátní zubní fenotyp a zubní lékaři by si měli být vědomi příznaků této ultravzácné genetické poruchy. Všichni pacienti s vrozenou kataraktou a dentálními anomáliemi, včetně pacientů bez rodinné anamnézy, by měli být odesláni ke genetickému vyšetření a do specializované stomatologické péče.

Podpora projektu: ZD-ZDOVA2-001 (EEA Grants) a 00064203/6003 (FN Motol)

17 - THE ROLE OF VOLUME REGULATION OF GLIA AND AQP4/TRPV4 COMPLEX IN ISCHEMIA-EVOKED CHANGES IN THE BRAIN DIFFUSION

Sucha P.(1,2), Chmelova M.(1,2), Hermanova Z.(1,2), Kirdajova D.(2), Vorisek I.(2), Jirak D.(3,4), Anderova M.(1,2) and Vargova L.(1,2)

1 - Department of Neuroscience, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, 2 - Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine of the CAS, Prague, 3 - Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Institute of Clinical and Experimental Medicine, Prague, 4 - First Faculty of Medicine, Institute of Biophysics and Informatics, Charles University, Prague

Supervisor: Assoc. Prof. Lýdia Vargová, M.D., Ph.D.

Introduction: It has been shown that the interaction between aquaporin-4 (AQP4) and transient receptor potential vanilloid isoform 4 (TRPV4) channels play an important role in cell swelling/volume regulation in vitro, but it is still not fully elucidated how accurately the results from cell cultures reflect the situation in situ or in vivo.

Aims: Our aim was to clarify the role of AQP4, TRPV4 and AQP4/TRPV4 complex in cell volume changes in situ and in vivo models of acute cell swelling and ischemia in transgenic animals lacking these proteins.

Materials and Methods: We used the real-time iontophoretic method (RTI) in the acute brain slices to detect the values of the extracellular space (ECS) diffusion parameters, namely volume fraction ($\alpha = \text{ECS volume}/\text{total tissue volume}$) and tortuosity ($\lambda = (\text{free diffusion coefficient}/\text{apparent diffusion coefficient})^{0.5}$) in different in situ models of cytotoxic edema/ischemia, such as oxygen-glucose deprivation (OGD), hypoosmotic stress, or hyperkalemia. To assess the role of AQP4 and TRPV4 channels in brain edema formation in vivo, examination using magnetic resonance imaging (MRI) was performed to quantify the extent of brain lesions one day (D1) and seven days (D7) after permanent middle cerebral artery occlusion (pMCAO).

Results: Basal values of α and λ , obtained from the cortex before application at room temperature, did not differ between the control (CTRL) and transgenic mice, except from AQP4^{-/-} mice, where α was significantly higher. Hypoosmotic stress and hyperkalemia did not reveal different responses between the CTRL and transgenic strains. However, significant differences were detected during OGD, where the swelling was reduced in TRPV4^{-/-} mice as compared with the CTRL and absent in AQP4^{-/-}/TRPV4^{-/-} mice. MRI results showed that AQP4 or TRPV4 deficit exacerbates the acute tissue damage after pMCAO, while deletion of both channels mitigates this damage, as indicated by a smaller lesion volume in AQP4^{-/-}/TRPV4^{-/-} mice compared to CTRL at D1. However, this difference disappeared at D7.

Conclusions: The interaction between AQP4 and TRPV4 channels plays a crucial role in neuronal and non-neuronal swelling during the acute phase of ischemia although their simultaneous deletion did not improve the overall outcome. Various responses to ischemia induction in different transgenic strains indicate that AQP4 channel may collaborate also with other effector proteins and further investigation is necessary to reveal new potential therapeutic targets.

Support: The Czech Science Foundation (23-06269S), The Charles University Grant Agency (244223)

Kopriva J. (1) Rob F. (1)

Dermatovenerologická klinika 2. LF UK, Fakultní nemocnice Bulovka

Školitel: doc. MUDr. Filip Rob, Ph.D.

Úvod: Flegmóna a erysipel jsou lokální infekce měkkých tkání kůže, které vznikají z důvodu průniku bakterií porušenou kožní bariérou (nejčastěji streptokoky a stafylokoky). Jako flegmóna je označována bakteriální infekce s difúzním postižením dermis a hypodermis. Erysipel je specifickým podtypem celulitidy, který postihuje superficiální dermis a též lymfatika. Terapii dělíme na systémovou a lokální. V rámci systémové terapie jsou nejčastěji užívaná beta-laktamová antibiotika, při alergii na betalaktamová antibiotika jsou druhou volbou klindamycin, případně klarithromycin. Vzhledem k absenci komparativních studií se však doporučení pro léčbu v rámci jednotlivých regionů podstatně liší. Současně data o vhodnosti délky terapie u různě rizikových skupin pacientů jsou velmi omezená.

Cíl: Prospektivní srovnání účinnosti, výskytu komplikací a nežádoucích účinků při terapii flegmóny a erysipelu beta-laktamovými a linkosamidovými antibiotiky, na základě prospektivní randomizované studie.

Materiál a metody: Prospektivně sbíraná data hospitalizovaných pacientů Dermatovenerologické kliniky 2. LF UK, Fakultní nemocnice Bulovka, hodnocení senzitivity diagnostických metod a porovnání účinnosti terapie flegmóny a erysipelu beta-laktamovými a linkosamidovými parenterálními antibiotiky za hospitalizace. Sledovány byly klinické, laboratorní parametry a nežádoucí účinky v průběhu standardizované terapie parenterálním penicilinem a parenterálním klindamycinem.

Výsledky: Od ledna roku 2020 až do konce července roku 2024 splnilo kritéria zařazení do studie 202 pacientů, kteří neměli před hospitalizací zahájenou antibiotickou terapií. Z toho 35,6 % pacientů tvořily ženy, průměrný věk pacienta činil 65,5 roku, BMI (body mass index) činilo 33,1. Z celkového počtu pacientů bylo 41 (20,3 %) jedinců léčeno klindamycinem, 161 (79,7 %) pacientů penicilinem.

Průměrná délka antibiotické terapie v obou skupinách byla 10 dnů. Kromě klinické regrese nálezu byla účinnost terapie hodnocena dle dynamiky poklesu hodnoty C reaktivního proteinu (CRP) mezi vstupním vyšetřením a po 5. dnu antibiotické terapie.

V tomto sledovaném období byl pokles CRP u pacientů léčených penicilinem v průměru o 130 mg/l a ve skupině pacientů na parenterálním klindamycinu o 127 mg/l.

Celkově u 16 pacientů (7,9%) léčených penicilinem nedošlo k 5. dnu léčby k poklesu CRP a 14 pacientů (6,8%) bylo převedených na jinou skupinu ATB. U 4 pacientů (9,8%) léčených klindamycinem nedošlo k 5. dnu léčby k poklesu CRP a 7 pacientů (17%) bylo převedených na léčbu jinou skupinou ATB. Nežádoucí účinky spojené s léčbou nebyly zaznamenány v prvních pěti dnech u žádného pacienta léčených penicilinem a 6 pacientů (14,6 %) na terapii klindamycinem. Z toho u 2 pacientů došlo ke kardiální dekompenzaci, u 2 pacientů se rozvinul uroinfekt a 2 pacienti vyvinuli toxoalergický (polékový) exantém.

Závěr: V námi sledované kohortě byla účinnost parenterálního penicilinu shodná s léčbou parenterálním klindamycinem v prvních pěti dnech terapie. Ve skupině pacientů léčených klindamycinem se vyskytlo signifikantně více nežádoucích účinků. Tyto výsledky podporují využití penicilinové řady jako léku první volby v terapii erysipelu a flegmóny. Klindamycin je vhodnou možností u pacientů, u kterých nemůže být penicilin podán, např. z důvodu alergie.

20 - VZTAH PLASMATICKÉ HLADINY LEHKÝCH NEUROFILAMENT A PROSTOROVÉ ORIENTACE U PACIENTŮ S KOGNITIVNÍM DEFICITEM

Švačová Z., Jurášová V., Svatková R., Slivková K., Veverová K., Vyhnálek M., Hort J., Laczó J., Laczó M.
Neurologická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Martina Laczó, Ph.D.

Úvod: Neurodegenerativní onemocnění se v časných stádiích projevují jako mírná kognitivní porucha (MCI) a způsobují kognitivní deficit, při kterém je narušena schopnost orientace v prostoru. Nejčastějším neurodegenerativním onemocněním je Alzheimerova nemoc (AN), ale existuje celá řada dalších onemocnění způsobujících kognitivní deficit. U neurodegenerativních onemocnění dochází k atrofii mozku, která je podmíněna poškozením a úbytkem neuronů. Součástí neuronů jsou neurofilamenta, která představují podpůrnou strukturu v tělech i výběžcích neuronů. Při poškození neuronů dochází k uvolnění jednotlivých řetězců neurofilament do extracelulárního prostoru. Hladinu řetězců lehkých neurofilament (NfL) můžeme měřit v plazmě a ukazuje se, že jejich zvýšená hladina může sloužit jako marker neurodegenerace.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnotit, jestli hladina NfL v plasmě souvisí s výkonem v testech prostorové orientace u pacientů s kognitivním deficitem.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 82 účastníků: 32 s MCI při AN (AN MCI), 21 s MCI jiné etiologie (non-AN MCI) a 29 starších kognitivně normálních (CN) osob. Přítomnost AN byla stanovena průkazem patologického proteinu (beta-amyloidu) v mozkomíšním moku nebo vizualizací v mozku pomocí amyloidové PET. Všichni účastníci podstoupili odběr krve a analýzu NfL z plazmy a vyšetření orientace v prostoru pomocí lidské analogie Morrisova vodního bludiště. Byla testována prostorová orientace 1) egocentrická (závislá na vlastní poloze), 2) allocentrická (závislá na okolních značkách) a 3) kombinovaná egocentrická-allocentrická.

Výsledky: Účastníci s AN MCI měli horší výkon v egocentrické úloze než CN ($p=0,011$) a než non-AN MCI ($p=0,016$). Účastníci s AN MCI měli také horší výkon v allocentrické úloze než CN ($p<0,009$) a non-AN MCI ($p=0,005$). Hladina NfL byla vyšší u účastníků s AN MCI než u CN ($p=0,011$). U účastníků s AN a non-AN MCI byla vyšší hladina NfL spojena s horším výkonem v a egocentrické-allocentrické úloze ($p=0,008$), ale nesoúvisela s globálním kognitivním výkonem ($p=0,107$).

Závěr: Egocentrická i allocentrická úloha detekovaly narušení prostorové orientace u pacientů s AN MCI. Zvýšená hladina NfL může sloužit jako nadějný marker neurodegenerace, který lze detekovat z krve a který zároveň souvisí s tíží narušení prostorové orientace. Vyšetření prostorové orientace spolu s analýzou NfL může sloužit jako potenciální screeningový nástroj pro časná stadia AN.

Podpora projektu: grantová agentura Univerzity Karlovy (GAUK č. 327821)

22 - Pokročilé glykopolyмеры jako účinné inhibitory galektinů

Podhorská N.(1, 2), Chytil P.(2), Rodrigues Tavares M.(2), Filipová M.(2), Etrych T.(2), Bojarová P.(3)

1 - *Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova s fakultní nemocnicí Motol, Praha, ČR* 2 - *Ústav makromolekulární chemie, AV ČR, Praha, ČR* 3 - *Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR, Praha, ČR*

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Úvod: Je známo, že nadměrná exprese galektinů je spojena s několika život ohrožujícími poruchami, zejména s neoplastickými onemocněními. Při tumorigenezi se galektiny účastní buněčné adheze, invaze, angiogeneze a metastatických procesů. Většina studií se zaměřuje na dva nejběžnější galektin-1 (Gal-1) a galektin-3 (Gal-3), prospektivní cíle pro terapeutické intervence. Lidské Gal-1 a Gal-3 prokázaly afinitu k ligandům na bázi N-acetyllaktosaminu. Navíc multivalentní prezentace těchto ligandů často zvyšuje afinitu o několik řádů prostřednictvím klastrového glykosidového efektu (1).

Cíl: HPMA kopolyмеры s připojenými oligosacharidovými ligandy vykazují vysokou afinitou ke galektinům. Cílem je odhalit vztah mezi strukturou glykopolymeru a vazebnou účinností.

Materiál a metody: Tato studie představuje syntézu a charakterizaci různých glykopolymerů na bázi kopolymerů N-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu (HPMA) rozpustných ve vodě, které jsou známé svou biokompatibilitou, netoxicitou nebo imunogenitou (2). Glykopolyмеры, syntetizované pomocí řízené radikálové reverzibilní adičně-fragmentační řetězové-transferové polymerace (RAFT), se lišily strukturou a obsahem sacharidových ligandů, konkrétně N-acetylovaných laktosaminů nebo jejich glykomimetik. Glykopolyмеры byly *in vitro* testovány pomocí průtokové cytometrie - Annexin V; Tube Formation Assay; měření buňkové proliferace a migrace (Xcelligence, konfokální mikroskopie).

Výsledky: Hodnotili jsme vztah mezi strukturou a aktivitou glykopolymerů z hlediska jejich vazebné afinity ke galektinům. Vyladěním struktury glykopolymerů, konkrétně typu, obsahu a prezentace ligandů na polymerním nosiči, bychom mohli selektivně cílit a inhibovat galektin a navíc rozlišovat mezi Gal-1 a -3. Připravené glykopolyмеры vykazovaly významnou inhibici Gal-3-indukovanou angiogenezi a apoptózu T lymfocytů *in vitro* (3-5).

Závěr: Glykopolyмеры na bázi HPMA jsou atraktivní jako účinná bezléková nanomedicína podporující cílenou léčbu nádorů.

Podpora projektu: Děkujeme za podporu Grantové agentury ČR GAČR (projekt 22-00262S).

23 - ANALYSIS OF CRYSTALS IN URINE BY SPECTROPHOTOMETRIC, ELECTROCHEMICAL AND CHROMATOGRAPHIC METHODS

Werle J., Buresova K., Podhajsky J., Dunovska K., Klapkova E., Prusa R., Kotaska K., Kizek R.

Department of Medical Chemistry and Clinical Biochemistry, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague and Motol University Hospital, V Úvalu 84, 150 06 Prague 5, Czechia

Supervisor: doc. Ing. Karel Kotaška, Ph.D.

Introduction: The analysis of urinary stones has considerable diagnostic value and may confer benefits to the patient. The preferred methods of analysis are infrared spectroscopy and microscopy techniques. Rare cases associated with changes in serum and urinary creatinine and creatine levels have been described in the literature. Elevated creatinine concentrations and resulting formation of crystals occur primarily in the urine. The analysis of crystals was performed microscopically by bright-field and polarization microscopy. Further detailed study by UV/Vis, FTIR, electrochemistry and chromatography were conducted.

Aims: The objective of this study was to analyse unique urinary crystals of unknown origin.

Materials and Methods: For chemical analysis, the Atellica Solutions CH 930 analyser was used. The urine sediment was analysed using the Atellica Clinitek Novus UAS 800. A high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis was conducted using a diode array detector (DAD). The column employed was Zorbax SB-Aq C18 5 μm 4.6x250 mm injection, with an analysis time of 28 minutes, a flow rate of 1.5 mL/min, a column temperature of 22 $^{\circ}\text{C}$, and a detector wavelength of 210 nm. The ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrum was recorded using a UV-3100PC spectrophotometer with a 1 cm cuvette. The potassium bromide (KBr) pellet method was employed for the assessment of FTIR spectroscopy (Nicolet iS10 Spectrometer). For visualisation, the Olympus BX53 polarising microscope was used.

Results: At University Hospital Motol, approximately 300 urinary stone samples are analyzed annually. Typically, the analysis of urinary stones reveals a composition of 70% oxalates, 15% urates, 10% phosphates, and 5% atypical constituents. On routine microscopic analysis of urine the presence of crystals was revealed. The dried sample was of a whitish-orange colour, with no discernible odour, and demonstrated excellent solubility in water. Preliminary determination indicated the possibility of presence of either uric acid or creatinine. Polarisation effects and crystals of a cuboid shape, measuring between 50 and 150 μm , were observed to exhibit a violet and blue-violet colour. The FTIR bands obtained at 1113, 1238, 1305, 1447, 1616, 1657, 1698, 2815, 3338 cm^{-1} demonstrate clear overlaps between the urine sample and creatine, with a level of agreement exceeding 90%. Ultraviolet-visible (UV-Vis) analysis revealed a maximum peak at approximately 220 nanometres (nm), which corresponded to creatine. The protein concentration of the sample was found to be approximately 0.3 mg/mg DW urine. The zinc content of the studied sample was found to be approximately 660 $\mu\text{g}/\text{mg}$ DW, while the copper content was approximately 64 $\mu\text{g}/\text{mg}$ DW. Additionally, a lead signal of 10 $\mu\text{g}/\text{mg}$ DW sample was observed. The HPLC technique revealed the presence of creatine and creatinine at concentrations of $3128 \pm 15 \mu\text{g}/\text{mL}$ and $82 \pm 4 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectively.

Conclusions: The multi-instrumental approach permits the analysis of biological samples in order to elucidate their chemical composition. In the aforementioned case report, a combination of analytical techniques, including microscopy, FTIR, UV/Vis, electrochemistry, and HPLC, were employed to corroborate the presence of creatine/ creatinine in the biological sample.

Support: The project is being implemented under the grant project MZ \checkmark CR – RVO, FN in Motol 00064203.

Stanzelová K, Kajšová M, Krýsl D

1 - student 2LF, 2 - NEUROLOGICKÁ KLINIKA 2.LF UK A FN MOTOL 3 - NEUROLOGICKÁ KLINIKA 2.LF UK A FN MOTOL

Pregraduální student

Školitel: David Krýsl, Ph.D.

Úvod: Status epilepticus (SE) je nejzávažnějším projevem epileptických záchvatů s významnou morbiditou a mortalitou. Příčiny SE jsou heterogenní: vyskytuje se u pacientů s epilepsií, nicméně většina případů má akutní symptomatickou etiologii (tj. SE vzniká v těsné časové souvislosti s akutním mozkovým infarktem). Vyšetření likvoru pomáhá v etiologické diagnostice SE – zásadní význam má u zánětlivých příčin. Nicméně i nepřetržitá záchvatovitá aktivita sama o sobě může vést k významným změnám v likvoru. Analýza likvoru tedy může dále poskytnout i nový pohled na patogenezi SE a identifikovat potenciálně klinicky relevantní biomarkery.

Cíl: Cílem této retrospektivní studie bylo popsat kohortu pacientů s nekonvulzivním SE (NCSE), kteří podstoupili vyšetření likvoru, a porovnat ji s likvorologicky vyšetřenými pacienty bez NCSE.

Materiál a metody: Na základě popisů EEG vyšetření jsme retrospektivně identifikovali všechny dospělé pacienty, u nichž bylo mezi 1.1.2019 a 1.1.2023 EEG indikováno z důvodu podezření na NCSE. Tato kohorta byla rozdělena na pacienty bez NCSE a pacienty splňující kritéria pro elektrografický SE nebo iktální-interiktální kontinuum (IIC) podle American Clinical Neurophysiology Society (ACNS, 2021). Z dokumentace jsme získali výsledky likvorového vyšetření a klinická data všech pacientů, kteří toto vyšetření podstoupili. Následně jsme analyzovali a srovnali uvedené dvě skupiny pacientů

Výsledky: Retrospektivně bylo identifikováno 538 pacientů (949 záznamů EEG). Celkem 74 pacientů mělo EEG obraz SE nebo IIC (skupina NCSE). Vyšetření likvoru bylo provedeno u 25 z těchto 74 pacientů, u některých pacientů opakovaně (skupina NCSE-CSF). Dále byl likvor vyšetřen u 131 pacientů, kteří nespĺňovali EEG kritéria pro SE nebo IIC (skupina non-NCSE-CSF). Abnormální nález v likvoru byl celkově přítomen u 38,8 % pacientů (pleocytóza u 17,9 %, zvýšení celkové bílkoviny) u 20,9 %, zvýšený albumin u 29,8 %, IgG svědčící pro intrathekální syntézu IgG u 38,1 % a oligoklonální pásy v likvoru u 16,4 %. Skupiny NCSE-CSF a non-NCSE-CSF se významně nelišily stran věku a pohlaví – u obou skupin mírně převažovaly ženy. Mezi skupinami nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly v jednotlivých likvorových parametrech. Jedinou výjimkou byla hladina sérového IgG, které bylo ve skupině NCSE-CSF výrazně nižší ($p = 0,021$, CI 95 % [-1,82, -0,14]).

Závěr: Abnormální nálezy v likvoru jsou u pacientů se suspektním i potvrzeným NCSE časté. V této pilotní retrospektivní studii jsme nenašli žádné likvorové biomarkery, které by odlišovaly pacienty se SE nebo IIC od těch, kteří nespĺňují tato EEG kritéria. K objasnění možných etiologických a patofyziologických mechanismů plánujeme jednak další podrobnou analýzu klinických proměnných retrospektivní kohorty a dále též prospektivní studii likvorových nálezů u pacientů se SE.

25 - HLADINY NEUROGRANINU V CEREBROSPINÁLNÍ TEKUTINĚ JAKO BIOMARKER U ALZHEIMEROVY NEMOCI A FRONTOTEMPORÁLNÍ LOBÁRNÍ DEGENERACE

Jurášová V.(1), Andel R.(1,2,3), Katonová A.(1), Veverová K.(1), Zuntychová T.(1), Horáková H.(1,3), Vyhnálek M.(1,3), Kolářová T.(4), Maňoška V.(4), Blennow K.(5,6), Hort J.(1,3)

1 - Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 - Edson college of nursing and health innovation, Arizona State University, Phoenix, Arizona, USA, 3 – Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, 4 – Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie, Nemocnice na Homolce, Praha, 5 - Department of psychiatry and neurochemistry, Institute of neuroscience & physiology, Sahlgrenska Academy at the University of Gothenburg, Mölndal, Sweden, 6 - Clinical neurochemistry laboratory, Sahlgrenska University Hospital, Mölndal, Sweden

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

Úvod: Synaptická dysfunkce se vyskytuje v raných stádiích neurodegenerativních onemocnění a vede k rozpadu spojení v rámci neuronových sítí. Biomarkery odrážející tento proces, jako je neurogranin (Ng), by proto mohly být užitečné pro studium patofyziologie onemocnění a pomoci při diagnostice. Existují první důkazy naznačující, že Ng může odlišit Alzheimerovu nemoc (AN) od jiných neurodegenerativních onemocnění, včetně frontotemporální lobární degenerace (FTLD).

Cíl: Cílem této studie bylo zhodnotit a) diskriminační schopnost hladin Ng v cerebrospinální tekutině (CSF) rozlišit mezi AN a FTLD a mezi různými stádii v rámci daného onemocnění, b) vztah mezi hladinami Ng a kognitivní výkonností u AN a FTLD, a c) zda se hladiny Ng v CSF liší polymorfismem apolipoproteinu E (APOE) v kontinuu AN.

Materiál a metody: Účastníci se subjektivním poklesem kognitivních funkcí (SCD) (n=33), amnestickou mírnou kognitivní poruchou (aMCI) v důsledku AN (n=109), AN demencí (n=67), MCI v důsledku FTLD (n=25) a FTLD demencí (n=29) byli vybráni z České studie stárnutí mozku. Jednosměrná analýza kovariance (ANCOVA) hodnotila hladiny Ng v diagnostických podskupinách a lineární regrese byly použity k vyhodnocení vztahu mezi hladinami Ng, skóre paměti a polymorfismem APOE.

Výsledky: Hladiny Ng byly vyšší u pacientů s aMCI v důsledku AN ve srovnání s MCI v důsledku FTLD a u AN demencí ve srovnání s FTLD demencí. Kromě toho byly hladiny Ng vyšší u pacientů s FTLD demencí ve srovnání s MCI v důsledku FTLD, nižší u účastníků se SCD ve srovnání s aMCI v důsledku AN a AN demencí, a nelišili se mezi účastníky se SCD a MCI v důsledku FTLD nebo FTLD demencí. Statisticky významný byl také hlavní vliv diagnózy napříč diagnostickými podskupinami na poměr A β 1-42/Ng. Zjistili jsme statisticky nevýznamnou souvislost mezi hladinami Ng a paměťovým skóre celkově nebo v podskupinách AN a nesignifikantní rozdíly v této souvislosti mezi AN nosiči a nenosiči APOE ϵ 4.

Závěr: V této první studii, která posuzovala MCI a demence v důsledku AN nebo FTLD v rámci jedné studie jsme zjistili, že zvýšený Ng v CSF je časným biomarkerem poruchy související s AN, ale zdá se, že jeho role jako biomarkeru AN se po diagnóze demence snižuje, čímž základní procesy související s demencí u AN a FTLD se mohou začít slučovat. Poměr A β 1-42/Ng rozlišoval pacientů s AN od FTLD lépe než samotný Ng. Hladiny Ng v CSF nesouvisely s pamětí u AN nebo FTLD, což naznačuje, že Ng může být spíše markerem biologických příznaků chorobného stavu než kognitivních deficitů.

26 - ANATOMICKÉ VZTAHY A VARIACE LFCN K OKOLNÍM STRUKTURÁM PŘI NÁHRADĚ KYČELNÍHO KLOUBU METODOU ANTERIOR MINIMALLY INVASIVE SURGERY

Kohut P.(1,4), Mezera V.(2), Golas W.(3,4), Zajíc P.(4), Beneš M.(4), Kachlík D.(4,5)

1 - Klinika ortopedie a úrazové chirurgie, Diakomed Diakoniekrankehaus Chemnitzer Land gGmbH, Limbacher Str. 19b, 09232 Hartmannsdorf, Německo 2 - Geriatrické centrum, Pardubická nemocnice, Kyjevská 44, 530 03 Pardubice 3 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, V Úvalu 84, 150 06 Praha 4 - Ústav anatomie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Plzeňská 130/221, 150 06 Praha 5 - Centrum endoskopické, chirurgické a klinické anatomie (CESKA), 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Plzeňská 130/221, 150 06 Praha

Školitel: prof. MUDr. David Kachlík PhD.

Úvod: Rostoucí počet pacientů s koxartrózou vyžaduje minimálně invazivní operační techniku pro implantaci totální endoprotézy kyčelního kloubu. Jako všechny chirurgické přístupy a techniky má i technika AMIS své specifické komplikace. Jedním z nich je v literatuře popsán poranění nervus cutaneus femoris lateralis (LFCN). Tato komplikace je pacienty subjektivně vnímána jako velmi nepříjemná. Jedná se o stavy hypestézie a parestézie v oblasti inervace LFCN nebo meralgia paresthetica. Vzhledem k obtížnosti objektivizace problémů může být tato komplikace ze strany chirurga často podceňována.

Cíl: Přesný popis změn v topografické anatomii této oblasti může pomoci senzibilizovat chirurgy k těmto změnám a snížit výskyt výše uvedených a pro pacienty velmi nepříjemných komplikací. Podrobný popis umístění nervu pomůže určit bezpečnou oblast kožního řezu.

Materiál a metody: Mezi 12/2021 a 12/2023 jsme pitvali 13 těl. Těla patřila pacientům, kteří zemřeli v geriatrickém věku. Průměrný věk byl 71 let. Těla nebyla nijak upravována ani fixována, což by výrazně ovlivnilo elasticitu a vlastnosti tkáně. Na ležícím těle byla měřena poloha a průběh LFCN. Tělo bylo poté polohováno v různých fázích operace pomocí techniky AMIS. Byla měřena změna polohy LFCN vzhledem k předem definovaným strukturám.

Výsledky: Ve všech 22 stehnech probíhal nerv mediálně k spina iliaca anterior superior (ASIS) v průměrné vzdálenosti 17 mm (1–44 mm) na úrovni tříselného vazy. Vzdálenost ASIS od dělení nervu na přední straně stehna byla v průměru 62 mm (7–146 mm). Gluteální větev překročila přední hranici tensor fasciae latae (TFL) ve vzdálenosti 87,8 mm (30–187 mm) od ASIS. V jednom případě nepřesahovala okraj a pokračoval do mezisvalového prostoru. V 16 případech femorální větev nepřekročila přední okraj TFL a pokračovala v intermuskulárním prostoru mezi TFL a m. sartorius. Ve zbývajících 6 případech překročila femorální větev přední hranici TFL ve vzdálenosti 97,3 mm (60–122 mm) od ASIS. Následné polohování těla v operační poloze DK v lehké trakci s 10 stupni vnitřní rotace s následnou dorzální flexí, addukcí a 90 stupni zevní rotace nepřineslo žádné statisticky významné změny v průběhu nervu. Typ větvení LFCN byl identifikován jako Sartorius typ v 50 % případů, typ FAN ve 27 %, Posterior typ v 9 %.

Závěr: Samotné intraoperační polohování pacienta nemá významný vliv na polohu LFCN. Jeho pozice je však výrazně odlišná pna formalínem fixovaných tělech ve srovnání s nefixovanými těly. Další měření na nefixovaných tělech mohou pomoci určit polohu takzvané nebezpečné zóny.

27 - WNT SIGNALING AFFECTS THE INTRINSIC DIFFERENTIATION POTENTIAL OF NG2 GLIA IN THE ADULT MOUSE CORTEX

Knotek T.(1,2), Janeckova L.(3), Kriska J.(1), Hermanova Z.(1,2), Kirdajova D.(1), Kubovciak J.(4), Tureckova J.(1), Kolar M.(4), Korinek V.(3), Anderova M.(1)

1 - Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic, 2 - Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 - Laboratory of Cell and Developmental Biology, Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic, 4 - Laboratory of Genomics and Bioinformatics, Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

Supervisor: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Introduction: Focal cerebral ischemia (FCI) is followed by activation and proliferation of glial cells and by glial scar formation. Glia expressing NG2/CSPG4 antigen (NG2 glia), also known as oligodendrocyte precursor cells, contribute to these processes. After a stroke, however, the properties and differentiation potential of these cells remain unclear. In addition, Wnt signaling, a well-known regulator of proliferation and differentiation, is affected by ischemic stroke, but its role in NG2 glia is not fully understood.

Aims: Therefore, our goals were to study the differentiation potential of NG2 glia following FCI and to assess the effect of Wnt signaling modification in post-ischemic regeneration.

Materials and Methods: To study NG2 glia and their progeny, we employed the Cre-lox system in mice, allowing us to identify cells that expressed the *Cspg4* gene prior to ischemic injury via the presence of tdTomato fluorescent protein. In addition, similar transgenic mice with modified Wnt signaling in NG2-expressing cells were used. Single-cell RNA sequencing, immunohistochemical staining, RT-qPCR, and patch-clamp technique were performed on tdTomato-positive cells.

Results: The analysis of gene expression in NG2-expressing cells from animals with unmodified Wnt signaling revealed five distinct subpopulations of NG2 glia, including the previously described “astrocyte-like” subpopulation. Strikingly, this subpopulation expressed genes typical for neural progenitor cells, which was also supported by RT-qPCR and immunohistochemical staining. Moreover, 28 and 60 days after stroke, we observed NG2-expressing cells with a neuron-like morphology. These cells were positive for NeuN, a marker of mature neurons, further supporting the multipotent nature of NG2 glia. Interestingly, hyperactivation of Wnt signaling resulted in morphologically similar cells in non-ischemic animals.

Conclusions: Together, these data provide new insight into the differentiation capacity of NG2 glia and reveal their subpopulation with a progenitor-like potential. These findings might introduce new possibilities in the field of regenerative biomedicine.

Support: This study was supported by the Czech Science Foundation (21-24674S and 24-10912S); Ministry of Education, Youth and Sports (CZ.02.1.01/0.0/0.0/18_046/0016045, Czech-BioImaging-LM2023050, and ELIXIR CZ-LM2018131); Czech Academy of Sciences (Strategy AV21 – VP29) and Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences (RVO-68378050-KAV-NPU).

Heller S. ml (1), Zemánek D. (2)

1. - 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy 2. - II. Interní klinika VFN a 1.LF, klinika kardiologie a angiologie

Pregraduální student

Školitel: Doc. MUDr. David Zemánek, Ph.D

Úvod: Procedury na mitrální chlopni se v průběhu posledních let stále častěji provádějí u pacientů, jejichž zdravotní stav nedovoluje kardiochirurgický výkon. Při vhodných anatomických poměrech se přistupuje ke katetrizačnímu řešení mitrální regurgitace. V současné době na trhu existují systémy skládající se ze zavaděče a klipů, kterými je následně mitrální chlopeň zachycena a jednotlivé cípy spojeny. Následkem tohoto výkonu je kromě snížení závažnosti mitrální insuficience také vznik mírné mitrální stenózy.

Cíl: Cílem našeho sledování bylo ozřejmit rozdíly gradientů na mitrální chlopni před a po uvolnění jednotlivých klipů ze zavaděče a přesněji tak pochopit jeho vliv na výsledný gradient na chlopni, který je přímým ukazatelem hemodynamických změn způsobených výkonem. Zavaděč jakožto rigidní struktura může zkreslovat měření gradientů jícnovou echokardiografií během výkonu, otázkou však zůstává, jak významný je jeho vliv.

Materiál a metody: Zařazeno bylo 20 pacientů s mitrální regurgitací od ledna 2023 do července 2024, celkem bylo použito 27 klipů z nich každý byl zařazen jako vlastní měření. U všech byla provedena vstupní transezofageální echokardiografie a změřeny gradienty na mitrální chlopni. Toto měření bylo následně zopakováno periproceduálně před a po uvolnění každého klipu. Dále byly z jednotlivých příjmových zpráv doplněny informace definující populaci (tabulka 1).

Výsledky: Výsledné gradienty byly následně zanalyzovány ve statickém softwaru IBM SPSS (v 29.0.2.0) dle rozložení hodnot byl buď použit test Related-Samples Wilcoxon Signed Rank či Paired Samples Test s hodnotou signifikance nastavenou na 0.95. Výsledné rozdíly mezi maximálním gradientem před a po uvolnění nevyšly statisticky významné ($p=0.151$) kdežto rozdíly mezi středními gradienty statisticky významné byly ($p < 0.001$) (tabulka 2.).

Závěr: Výsledky našeho projektu jasně prokázaly vliv zavaděče na zvýšení středního gradientu na chlopni před uvolněním. Maximální gradient však ovlivněn nebyl, tento výsledek byl nejspíše ovlivněn malým vzorkem populace a přítomností tzv. outliers. Pochopení těchto souvislostí nám umožní lepší rozhodování v umístování klipu, jenž přinese optimální výsledky zákroku.

Tabulka 1.

Ženy	55% (11)
Diabetes	40% (8)
Kuřáci	15% (3)
Historie kouření	45% (9)
BMI	31 (SD=9.4)
NYHA třída	2.3 (SD=0.8)
Funkční MVR	44% (7)
Primární MVR	44% (7)
Smíšená MVR	12% (2)
Grade MVR	3.8 (SD=0.44)

BMI=Body mass Index, NYHA= New York Heart Asociation klasifikace
MVR= Mitrální regurgitace, SD= Standart deviation

Tabulka 2.

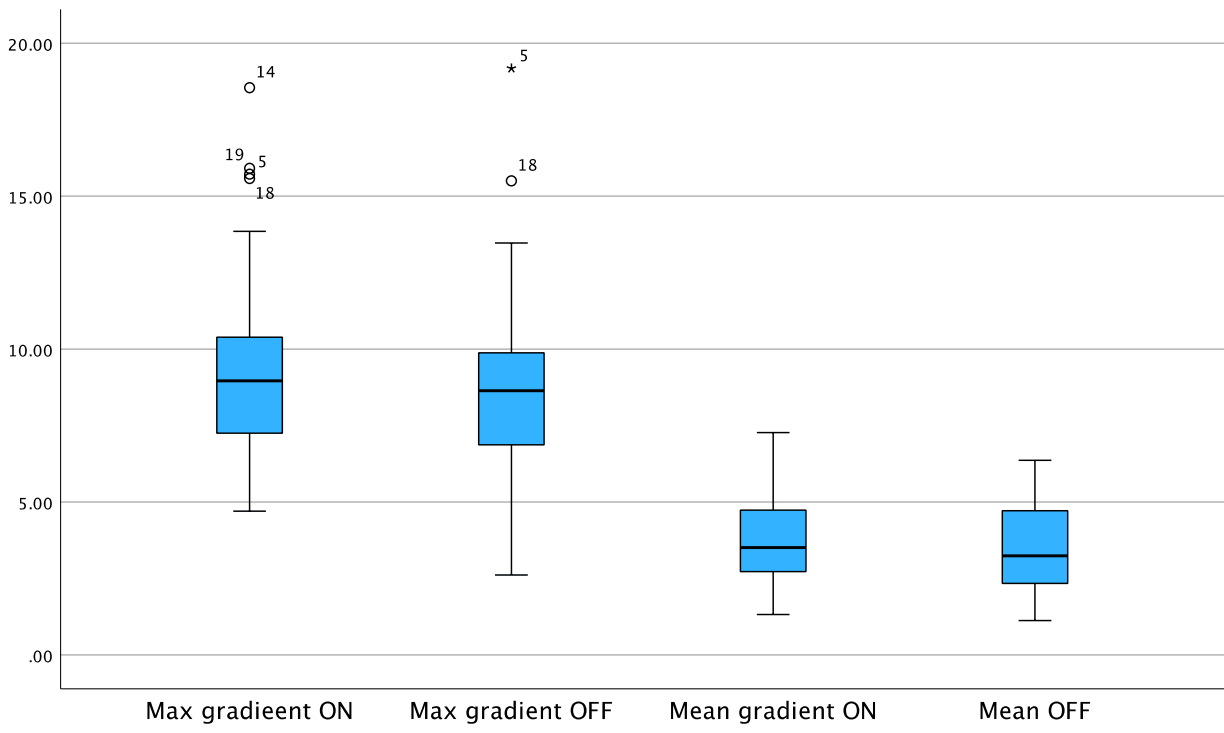
Výsledky analýzy

Null Hypothesis	Test	Sig. ^{a,b}	Decision
Maximální gradient na zavaděči a po uvolnění	Related-Samples Wilcoxon Signed Rank Test	.151	Retain the null hypothesis.

a. The significance level is .050.

b. Asymptotic significance is displayed.

	t	df	One-Sided p	Two-Sided p
Střední gradient na zavaděči a po uvolnění	4.328	26	<.001	<.001



31 - GENOMIC ANALYSIS OF SFP-HARBORING EHEC O172:H25 STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS WITH HUS IN THE CZECH REPUBLIC

Daniel O.(1,2), Havlíčková M.(1), Middendorf-Bauchart B.(3), Bletz S.(3), Mellmann A.(3), Bielaszewska M.(1,2)

1 - Department of Staphylococcal and Food-Borne Bacterial Infections, National Institute of Public Health, Prague, Czech Republic, 2 - Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 - Institute for Hygiene and the National Consulting Laboratory for Hemolytic Uremic Syndrome, University Hospital Münster, Münster, Germany

Supervisor: prof. MUDr. Martina Bielaszewska CSc.

Introduction: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) of serotype O172:H25 cause diarrhea and hemolytic uremic syndrome (HUS). In the Czech Republic, they were first identified as causes of HUS 15 years ago.

These strains belong, together with sorbitol-fermenting (SF) EHEC O157:H- and EHEC O165:H25, to a few EHEC serotypes that carry the *sfp* cluster encoding Sfp fimbriae which contribute to EHEC adherence to intestinal epithelial cells and are considered a potential virulence factor.

Aims: In the present study we performed sequence analysis of *sfp*-harboring plasmids of EHEC O172:H25 strains isolated from HUS patients in the Czech Republic. We compared these sequences with the sequences of *sfp*-harboring pSFO157 plasmids from German and Czech SF EHEC O157 strains. Moreover, we compared the whole genome sequences of the Czech *sfp*-harboring EHEC O172 strains with those of other EHEC O172 and SF EHEC O157 strains available in the EnteroBase to gain insight into their genetic similarity.

Materials and Methods: Six *sfp*-positive EHEC strains were sequenced using a long-read sequencing strategy. The SerotypeFinder was used for serotype prediction. The BLASTN, pMLST, and gview were used to analyze and visualize similarities amongst reference and analyzed plasmids. The ARIES server was used for cgMLST analysis. The genetic similarity results were visualized by GrapeTree.

Results: Czech O172:H25 strains carry 72 kb plasmids.

The Czech O172:H25 plasmids have 62 % sequence identity with the reference plasmid from German SF O157:H7 strain 3072/96.

The regions shared by 3072/96 and Czech O172:H25 are the *sfp* operon, *ehx* (EHEC-hly) operon, *ecf* operon, and conjugation-related genes (e.g., *traD*, *traI*, and *traX*).

The *katP* and *espP* genes were only found in Czech O172:H25 plasmids.

In cgMLST analysis Czech O172:H25 strains form a specific cluster. This cluster is distant from US O172:H25 strains and European O157:H7 strains selected from database.

Conclusions: Czech O172:H25 plasmids seem to be conserved.

Czech O172:H25 plasmids contain the *sfp* operon (encoding Sfp fimbriae), *ehx* (EHEC-hly) operon (encoding EHEC-hemolysin), *katP* and *espP* genes (encoding katalase-peroxidase and serine protease EspP), and *ecf* operon (four proteins involved in cell wall synthesis).

Czech O172:H25 strains are genetically linked but distant from such strains from the Europe and US.

Support: This research was supported by the European Union funding project Genomic surveillance of selected infectious diseases in the Czech Republic (Project: 101113387-HERA2CZ-EU4H-2022-DGA-MS-IBA-1).

32 - PSYCHOMETRICKÉ CHARAKTERISTIKY DOTAZNÍKU SUBJEKTIVNÍCH ZMĚN KOGNITIVNÍ VÝKONNOSTI (SCC-Q) U STARŠÍCH OSOB V RIZIKU KOGNITIVNÍHO DEFICITU

Zuntychová T (1), Vyhnálek M (1), Matušková V (1), Krejčová S (1,2), Laczó J (1), Hort J (1), Horáková H (1,2)

1 - Kognitivní centrum, Neurologická klinika, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha 2 - Oddělení klinické psychologie, Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Školitel: doc. MUDr. Martin Vyhnálek, Ph.D.

Úvod: Subjektivní kognitivní stížnosti (SKS) u starších osob mohou být časným markerem Alzheimerovy nemoci, přesto chybí zlatý standard pro jejich hodnocení. Dostupné dotazníky byly původně vyvinuty k identifikaci osob v pokročilejších stádiích kognitivního deficitu a jsou málo senzitivní k časným kognitivním změnám. V návaznosti na naše předchozí studie a doporučení mezinárodní Iniciativy pro subjektivní kognitivní pokles jsme vytvořili Dotazník subjektivních změn kognitivní výkonnosti (SCC-Q), který zahrnuje položky potenciálně citlivé pro velmi mírný kognitivní pokles.

Cíl: Cílem studie bylo ověřit reliabilitu jednotlivých položek, obsahovou strukturu a asociace jednotlivých komponent dotazníku s objektivně změřeným kognitivním výkonem.

Materiál a metody: 176 soběstačných pacientů, kteří vyhledali vyšetření pro SKS, a 35 kognitivně zdravých dobrovolníků bez klinicky významných SKS podstoupilo diagnostický protokol, včetně neuropsychologického vyšetření. Všichni účastníci vyplnili nový 26-položkový SCC-Q, ve kterém hodnotili změnu ve specifických kognitivních schopnostech v průběhu posledních 5 let na pětibodové Likertově škále. Struktura SCC-Q byla zkoumána pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) s varimax rotací. Kognitivní výkon byl vyjádřen pomocí kompozitní z-skóru pro hlavní kognitivní domény. Pro analýzu asociací mezi komponentami a kognitivním výkonem byly provedeny neparametrické korelace s kontrolou pro pohlaví, věk a vzdělání.

Výsledky: Analýza reliability položek ukázala, že všechny zahrnuté položky jsou vysoce spolehlivé (McDonaldovo $\Omega > 0,9$, Cronbachovo $\alpha > 0,9$). PCA identifikovala čtyři komponenty vysvětlující 57,6 % variance. Dvě z nich byly statisticky významně asociovány s objektivně změřeným výkonem v paměti, pozornosti a pracovní paměti, exekutivních a zrakově-prostorových funkcích (všechna $p \leq 0,048$). Komponenta nejsilněji asociovaná s objektivně změřeným kognitivním výkonem zahrnuje položky týkající se subjektivních změn v prostorové orientaci.

Závěr: Nově vyvinutý dotazník má potenciál stát se užitečným nástrojem pro měření SKS u starších osob v riziku kognitivního deficitu ve výzkumu i v klinické praxi. Výsledky studie potvrzují vysokou reliabilitu jednotlivých položek dotazníku a podporují jeho konstrukční i konvergentní validitu. Další analýzy jsou nezbytné pro potvrzení jeho schopnosti predikovat progresi kognitivního poklesu.

Podpora projektu: Podpořeno Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (GAUK), číslo projektu 87824, a grantovou agenturou České republiky (GAČR), projekt registrační číslo 22-33968S. Dále podpořeno projektem National Institute for Neurological Research (Program EXCELES, ID projektu č. LX22NPO5107) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

ST - 14

35 - ALPHA 9 INTEGRIN EXPRESSION ENABLES RECONSTRUCTION OF THE SPINAL CORD SENSORY PATHWAY

Smejkalová B.(1,2), Štěpánková K.(1,2), Jendelová P.(1,2), Machová Urdžíková L.(1,2), Kwok J.C.F(1,3) and Fawcett J.W. (1,4)

1 Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences, Videnska 1083, 14220 Prague, Czech Republic 2 Department of Neuroscience, Second Faculty of Medicine, Charles University, 15006 Prague, Czech Republic 3 Faculty of Biological Sciences, University of Leeds, Leeds LS2 9JT, UK 4 John van Geest Centre for Brain Repair, Dept. Clinical Neurosciences, University of Cambridge, Cambridge CB2 0PY, UK

Supervisor: Doc. RNDr. Pavla Jendelová Ph.D.

Introduction: Spinal cord injury (SCI) is a lifelong disability that remains an unsolved problem not only due to scar formation, but also due to the limited intrinsic ability of axon to regenerate through an inhibitory environment. The inhibitory ECM molecules upregulated after spinal cord injury include tenascin-C and osteopontin, but adult mammalian sensory axons lack suitable adhesion molecule to allow them to interact with them, integrin $\alpha 9$. Expressed $\alpha 9$ integrin associates with endogenous $\beta 1$ integrin to form $\alpha 9\beta 1$ adhesion receptor that is activated by kindlin 1 enabling regeneration.

Aims: The aim of our project was to achieve sensory axon regeneration across a C4 dorsal column tract lesion by expressing activated Integrin $\alpha 9$ in sensory neurons using a viral vector.

Materials and Methods: Animals underwent dorsal column crush injury with concurrent DRG injections of AAV1 viral vectors, which transduced sensory axons with integrin $\alpha 9$ and kindlin 1, followed by 12 weeks of behavioural testing. At the end of the testing period, we performed electrical stimulation for cFos expression and perfusion with PBS and 4% PFA. Collected samples were cut on cryostat and stained with IHC antibodies.

Results: Animals improved significantly in Von Frey and Plantar tests ($P < 0,001$). Staining for cFos showed increased positivity in treated group (32.656 \pm 3.305 % in I-K vs. 5.369 \pm 1.451 % in GFP; $P < 0.0001$) suggesting functional recovery. To examine which substrate supports axonal growth in the I-K group, immunolabeling for GFAP, laminin and tenascin-C was performed. In the lesion area, axons positive for both $\alpha 9$ -V5 and kindlin1-GFP appeared to regenerate preferentially through connective tissue structures positive for laminin and tenascin-C. Axons in the I-K group grew 1,2 cm past the C4 lesion reaching medulla oblongata. However, the regenerating axons did not enter the sensory nuclei.

Conclusions: Based on IHC staining, AAV-mediated gene therapy enhances growth of regenerating axons past spinal cord lesion. This leads to sensory improvement supported by c-Fos staining proving successful connection in levels past injury. Regenerated axons did not enter sensory nuclei which are rich in perineuronal nets which are inhibitory. In our current research we are trying to overcome this inhibition using Chondroitinase ABC to dissolve the CSPG-rich environment, enabling complete sensory regeneration.

Support: Supported by: GACR 24-11193S, GAUK 102122 and EXREGMED project

36 - KOMPLIKACE A NÁSLEDKY KLÍŠŤOVÉ MENINGOENCEFALITIDY; KORELACE S VĚKEM PACIENTA A ZÁVAŽNOSTÍ AKUTNÍ FÁZE INFEKCE - MULTICENTRICKÁ OBSERVAČNÍ STUDIE

Slížek M.(1), Chovanec L.(2), Pohludková K.(3), Prokopová D.(4), Smíšková D.(1)

1 - Klinika infekčních nemocí 2.LF UK a FN Bulovka 2 - Infekční oddělení Pardubické nemocnice 3 - Klinika infekčního lékařství FN Ostrava a LF OU 4 - Infekční oddělení Nemocnice České Budějovice

Školitel: as. MUDr. Dita Smíšková, Ph.D.

Úvod: Klíšťová meningoencefalitida (KME) je nejčastější aseptickou neuroinfekcí v ČR. Navzdory dostupnosti bezpečné a účinné vakcíny je proočkovanost české populace trvale nízká a incidence KME tak u nás patří k nejvyšším ze všech evropských zemí. Onemocnění i při nekomplikovaném průběhu vyžaduje několikátýdenní klidový režim a nezřídka zanechává dlouhodobé nebo trvalé následky v podobě paréz či postencefalitického syndromu (PES). Tato pro KME velmi typická postinfekční komplikace se projevuje dlouhodobými, obtížně objektivizovatelnými obtížemi (porucha spánku, soustředění, paměti, cefalea atd.), které pacienty limitují v návratu k běžným aktivitám.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnocení trvání a závažnosti postinfekčních následků KME a jejich případné korelace s věkem pacienta a závažností akutní fáze infekce.

Materiál a metody: V prospektivní observační multicentrické studii jsme hodnotili následky po prodělané KME u pacientů hospitalizovaných v roce 2023 na Klinice infekčních nemocí FNB a dalších 3 infektologických pracovištích v ČR. Šest měsíců po stanovení diagnózy byly sledovány zdravotní komplikace včetně tolerance fyzické, psychické a pracovní zátěže (s pravidelným hodnocením skórovacími systémy MoCA, mRankin a MEHM), délka pracovní neschopnosti a potřeba dalších specializovaných vyšetření. Kvalifikačním kritériem pro diagnózu PES byly nejméně 6 měsíců trvající obtíže omezující v dříve běžných aktivitách, bez objektivního neurologického deficitu.

Výsledky: Z 80 sledovaných pacientů byly dlouhodobé následky zaznamenány u 26 (32,5 %), z nichž 18 (22,5 %) mělo PES a 8 (10 %) motorický deficit. Věkový průměr všech pacientů byl 46,7 let (9-81 let), pacientů s parézou 51,8 let (41-72 let) a pacientů s PES 46,7 let (12-76 let). Riziko PES je zcela nezávislé na věku pacienta a nekoreluje ani se závažností akutní fáze infekce. I u pacientů s lehkým průběhem akutního onemocnění byla incidence PES 23,5% (12 z 51 případů).

Závěr: Vyšší riziko paretických komplikací u starších pacientů s KME je již dobře literárně zdokumentované. Postencefalitický syndrom, nevyhýbající se ani mladým osobám s lehkým průběhem akutní fáze nemoci však doposud není ve všeobecném povědomí a představuje zátěž jak pro pacienty samotné, tak pro sociální a zdravotní systém. Nezávislost jeho incidence na věku by mohla být argumentem pro zavedení plošného hrazení očkování proti KME i mimo kategorii 50+.

Podpora projektu: Grant v rámci IGS FN Bulovka, č. 23-IGS07-36

37 - DŮKAZ A VÝZNAM GENETICKÝCH ZMIEN U VYBRANÝCH NEUROEKTODERMALNÝCH NÁDOROV DETEKOVANÝCH POMOCOU MOLEKULÁRNE BIOLOGICKÝCH METÓD

VOSECKÁ T. (1), MUSIL Z. (1,3), ZELINKA T. (2), JENČOVÁ P. (1), VÍCHA A. (1)

1 - Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika; 2 - 3. interní klinika-Endokrinologická a metabolická klinika 1. LF UK v Praze a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze; 3 - Ústav biologie a lékařské genetiky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze;

Školitel: MUDr. Aleš Vícha, Ph.D.

Úvod: Neuroektoderm vzniká diferenciaciou ektodermu v rannom štádiu embryonálneho vývoja a je základom centrálného a periférneho nervového systému, vrátane niektorých gliových buniek. Zamerali sme sa na dva typy nádorov vznikajúcich z buniek neurálnej lišty, a to neuroblastomy (NBL) a feochromocytomy/paragangliomy (FEO/PGL). Na tumorigenéze týchto nádorov sa zúčastňuje viac ako 20 génov, ale podstatná časť kauzálnych genetických udalostí zostáva nevysvetlená.

Cíl: Cieľom našej práce bolo identifikovať chromozomálne zmeny u NBL a FEO/PGL a porovnať ich vzhľadom k odlišnému klinickému priebehu. Ďalej sme sa snažili zistiť frekvenciu UPD u oboch typoch nádorov a overiť frekvenciu výskytu mutácie génu BRAF V600E u FEO(PGL).

Materiál a metódy: Naša práca zahrnovala 89 pacientov s neuroblastomom a 164 pacientov s feochromocytomom (paragangliomom). Vzorky pacientov boli odobrané na Klinike detskej hematológie a onkológie 2. LF UK v Praze a na 3. internej klinike 1. LF VFN (iba FEO/PGL). Vzorky boli vyšetrené pomocou metódy FISH (určenie amplifikácie génu ALK a protoonkogénu MYCN), metódou MLPA (delécia ATRX) a metódou SNP array (určenie chromozómových aberácií a oblastí LOH). Mutácia génu BRAF V600E u FEO/PGL bola stanovená pomocou priameho Sangerova sekvenovania a QRT-PCR.

Výsledky: Najčastejšia zmena, ktorú sme identifikovali u pacientov s neuroblastomom bola duplikácia 17/17q (54%), ktorá je považovaná za tzv. „driver“ zmenu u NBL. Druhou najčastejšou zmenou bola delécia 1/1p u 43% pacientov. U takmer 36% pacientov sme detekovali amplifikáciu n-MYC onkogénnu. Ďalej sme sa zamerali na oblasti LOH, ktoré boli najčastejšie na chromozómoch 2 a 6.

Pri FEO/PARA bola najpočetnejšou zmenou delécia oblasti 1p (49%), nasleduje delécia 3p (35%) a delécia 11p (27%), ktorá je oblasťou množstva imprintovaných génov a tiež sa tu vyskytovalo najviac oblastí s LOH. U pacientov s FEO/PARA sme sa zamerali ešte na overenie výskytu frekvencie mutácie génu BRAF V600E. Tú sme však nedetekovali ani u jedného z našich pacientov.

Záver: V našej práci v ktorej sme vyšetřili 89 pacientov s NBL a 164 pacientov s FEO/PARA, sme odhalili najčastejšie a typické chromozomálne zmeny, ktoré sú vhodné a dôležité nielen prognostické ukazovatele ale aj ciele pre možnosti liečby. Naše výsledky tiež naznačujú, že mutácia génu BRAF V600E je extrémne vzácnou genetickou udalosťou u PHEO/PGL a preto nie je vhodná ako cieľ pre nové možnosti liečby u metastatického PHEO/PGL.

Podpora projektu: Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika 00064203

38 - VÝVOJ RADIOLOGICKÝCH MARKERŮ SUBKLINICKÝCH HEMORAGICKÝCH KOMPLIKACÍ U ANTIKOAGULOVANÝCH PACIENTŮ PO ISCHEMICKÉ CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODĚ

Šrámková T. (1), Vaňásek T. (2), Janský P. (1), Olšerová A. (1), Benešová K. (1), Paulasová-Schwabová J. (1), Šarbochová I. (1), Magerová H. (1), Mikšík L. (2), Šrámek M. (3), Tomek A. (1)

1 - Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha 2 - Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, Praha 3 - Neurologické oddělení ÚVN, Praha

Školitel: doc. MUDr. Aleš Tomek, Ph.D., FESO

Úvod: Pacienti po prodělané kardioembolizační ischemické cévní mozkové příhodě (iCMP) jsou indikováni k antikogulační terapii. Pro dlouhodobou léčbu používáme nejčastěji přímé inhibitory koagulačních faktorů a to dabigatran blokuující f. II nebo xabany blokuující f. Xa. Druhou možností je podávání nepřímého působícího warfarinu, který blokuje tvorbu koagulačních faktorů (f. II, VII, IX, X) v játrech. Obávanou komplikací antikogulační léčby je krvácení do mozku spojené s vysokou mortalitou (cca 45% v prvních 3 měsících). V případě záchytu časných, ještě subklinických známek hemoragických komplikací by bylo možné úpravou dávky či změnou přípravku zabránit vzniku fatálního krvácení. Mezi takové známky patří radiologické nálezy drobných krvácení do mozkového parenchymu (microbleeds) při vyšetření mozku magnetickou rezonancí (MR).

Cíl: Naše práce měla za cíl stanovit progresi počtu microbleeds (MB) u pacientů léčených antikoagulancii po prodělané iCMP ve skupinách pacientů rozdělených dle užívaného léčiva.

Materiál a metody: Subjektem výzkumu byli pacienti indikovaní k antikogulační terapii po prodělané iCMP dispenzarizovaní v cerebrovaskulární poradně naší kliniky. Všem byla provedena MR mozku vstupně a po 1 roce trvání léčby. Výskyt nových MB byl hodnocen při srovnání obou vyšetření zejména v sekvencích SWI (susceptibility weighted imaging). U MB jsme hodnotili jejich lokalizaci ve třech kategoriích: hluboké (hMB), lobární (lMB) a infratentoriální (iMB).

Výsledky: Do souboru bylo zařazeno celkem 79 pacientů, z toho 53 mužů (67,1%), medián věku byl 71 let (IQR 64-76). Největší skupinu tvořilo 50 pacientů (63,3%) léčených apixabanem, dále bylo 16 pacientů (20,3%) léčeno dabigatranem a 13 pacientů (16,5%) léčeno warfarinem.

Na vstupní MR byla MB přítomna u 17 pacientů (21,5%), z toho hMB u 2, lMB u 16 a iMB u 2 pacientů. Na kontrolní MR jsme MB detekovali u 23 pacientů (29,1%), z toho hMB u 2, lMB u 20 a iMB u 6 pacientů. K progresi počtu MB došlo u 8 pacientů (10,1%), u 1 hMB, u 5 lMB, u 4 iMB. Mezi skupinami dle užívaného antikoagulantia jsme neprokázali statisticky signifikantní rozdíl pro progresi celkového počtu MB ($p=0,912$), hMB ($p=0,745$), lMB ($p=0,466$) ani iMB ($p=0,839$).

Závěr: V průběhu jednoho roku antikogulační léčby došlo k progresi počtu MB u 10,1% pacientů a to v lobární a infratentoriální lokalizaci. Nezaznamenali jsme klinicky významné hemoragické komplikace. Neprokázali jsme rozdíl mezi jednotlivými skupinami dle používaného léčiva.

Marvanová Z.(1,2), Kachlík D. (1)

1 - Ústav anatomie 2.LF UK, Praha 2 - Ústav pro péči o matku a dítě, Praha

Školitel: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D

Úvod: Uspořádání cév v laterální části retropubického prostoru vykazuje velkou variabilitu. Vasa obturatoria mají často variabilní průběh, při němž přebíhají horní raménko stydké kosti a jsou pak historicky nazývána "corona mortis" (Hesselbachi). Vzhledem k častému variabilnímu průběhu a různě velkému průsvitu představují rizikový faktor cévních komplikací u širokého spektra gynekologických, chirurgických a urologických operací, svým průběhem v těsné blízkosti kostních struktur jsou pak vasa obturatoria častým zdrojem krvácení při traumatech pánevního kruhu.

Cíl: Systematicky zhodnotit dostupné informace o variantním průběhu vasa obturatoria, popsat jejich incidenci a průsvit a vytvořit přehlednou klasifikaci využitelnou anatomy i kliniky.

Materiál a metody: V online databázích bylo identifikováno 2689 studií, po zohlednění všech nastavených kritérií bylo vyhodnoceno 44 studií. Zahrnuty byly kadaverózní, CT angiografické i klinické studie. Hodnocen byl počet pŕlpánví, incidence jednotlivých variant a vzdálenost od symphysis pubica.

Výsledky: Soubor zahrnoval 6113 pŕlpánví. V hodnocených studiích byla popsána variantní arteria obturatoria v 26 % pŕípadů, nejčastějším typem byla arteria obturatoria aberrans s průsvitem 2,10 mm (SD = 0,35mm). Tepenná corona mortis se nacházela pŕměrně 55 mm od symphysis pubica. Celková incidence variantní vena obturatoria v souboru byla 55 %, se středním průsvitem 2,98 mm (SD = 0,56mm) a pŕměrnou vzdáleností od symphysis pubica 54 mm.

Závěr: Vasa obturatoria mohou být pŕítomné v několika variantách: jako aberantní céva/y, akcesorní céva/y nebo anastomóza mezi systémem vasa iliaca interna a vasa iliaca externa. Z hodnocených studií vyplývá, že variantní vasa obturatoria se vyskytují u velkého počtu pacientů a vzhledem k možnému průsvitu pŕesahujícím i 3 mm představují klinicky významnou strukturu.

40 - KLOTHO-VS HETEROZYGOSITY, ALPHA-KLOTHO PROTEIN LEVELS AND COGNITIVE PERFORMANCE IN ALZHEIMER'S DISEASE

Katonova A.(1), Andel R.(1,2), Jurasova V.(1), Veverova K.(1), Borovska S.(1), Horakova H.(1), Kolarova T.(3), Matoska V.(3), Vyhnalek M.(1), Hort J.(1)

1 - Memory Clinic, Department of Neurology, Second Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic 2 - Edson College of Nursing and Health Innovation, Arizona State University, Phoenix, Arizona, USA 3 - Department of Clinical Biochemistry, Hematology and Immunology, Homolka Hospital, Prague, Czech Republic

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

Introduction: KLOTHO-VS (KL-VS) heterozygosity, a variant of the KLOTHO gene, and its encoded protein, α -Klotho, are associated with brain health and show neuroprotective potential against Alzheimer's disease (AD).

Aims: We aimed to assess whether KL-VS heterozygosity, cerebrospinal fluid (CSF) and serum soluble α -Klotho levels, would be associated with reduced AD risk and better performance on memory and other cognitive domains in individuals with AD dementia, amnesic mild cognitive impairment (aMCI) due to AD, and cognitively unimpaired controls.

Materials and Methods: 296 participants from the Czech Brain Aging Study were classified as cognitively unimpaired controls (n=65) and individuals with aMCI due to AD (n=124) or AD dementia (n=107). Participants underwent genotyping for KLOTHO and APOE, a comprehensive neuropsychological assessment, and CSF and serum soluble α -Klotho measurement. Logistic regression assessed how KL-VS heterozygosity influenced the risk of aMCI or dementia due to AD. Linear regression investigated associations between cognitive performance and either KL-VS heterozygosity or CSF/serum soluble α -Klotho levels. Analysis of variance and analysis of covariance with post-hoc tests were used to compare soluble α -Klotho levels across study groups.

Results: KL-VS heterozygosity carriers showed a consistent trend towards a reduced risk of aMCI and dementia due to AD, with similar patterns in both Apolipoprotein E ϵ 4 (APOE ϵ 4) allele carriers and non-carriers, although none of the associations reached statistical significance despite moderate (rather than small) effect sizes, presumably due to low power. Among individuals with aMCI due to AD, KL-VS heterozygotes displayed better memory performance ($\beta=0.61$, $p=.008$), particularly those who also carried the APOE ϵ 4 allele ($\beta=0.64$, $p=.042$). Results with other cognitive domains were non-significant. No significant differences in soluble α -Klotho levels were found between study groups, and soluble α -Klotho levels did not associate with memory performance.

Conclusions: KL-VS heterozygosity may offer some protection against AD, and its effect on memory might be specific to the aMCI stage of AD and modulated by APOE ϵ 4 status.

Support: This study was supported by the project National Institute for Neurological Research (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5107), the Institutional Support of Excellence 2. LF UK (Grant No. 6980382), and by the Alzheimer Foundation Czech Republic.

Šprincl V. (1,2), Šintáková K. (1,2), Arzhanov I (1,2,) and Romanyuk N. (2)

1 - 2nd Faculty of Medicine, Charles University, 2 - Department of Neuroregeneration, Institute of Experimental Medicine of the CAS

Supervisor: Nataliya Romanyuk, Ph.D.

Introduction: Acute ischemic stroke is a leading cause of mortality and disability worldwide. The brain affected by ischemia undergoes complex pathophysiological changes, which are further exacerbated by oxidative stress during reperfusion, leading to disruption of the blood-brain barrier (BBB). Research has indicated that angiogenesis plays a critical role in neuroregeneration after reperfusion. Mesenchymal stem cells (MSCs) have been widely explored for their regenerative capabilities across various conditions, including angiogenesis. Their protective effects are largely believed to stem from their ability to create a supportive environment. Extracellular vesicles (EVs) have been proposed as key mediators of these properties.

Aims: We aimed to investigate the angiogenic properties of MSCs-derived EVs in vitro.

Materials and Methods: We isolated EVs from the conditioned media of human adipose tissue-derived MSCs using sucrose cushion ultracentrifugation. The EVs were characterized by size using dynamic light scattering and by the presence of specific protein markers (CD9, Alix, TSG101) via immunoblotting. To assess their therapeutic potential, we conducted a transwell uptake assay, scratch assay, and tube formation assay to evaluate their effects on endothelial cells.

Results: Dynamic light scattering revealed that the MSC-EVs had a diameter of 85 ± 40 nm. Immunoblotting confirmed the presence of EV markers CD9, Alix, and TSG101. MSC-EVs were effectively incorporated into endothelial cells, promoting wound closure and significantly increasing total tube length in vitro.

Conclusions: We successfully isolated and characterized EVs from MSC cultures and demonstrated their angiogenic potential in endothelial cells using three different in vitro assays. These findings suggest that MSC-derived EVs could be a promising tool for promoting neuroregeneration after stroke. Future experiments will focus on evaluating these effects in a static in vitro model of the BBB to explore their therapeutic potential in more complex systems.

Support: GAUK 409222, NU22-08-00124, OP JAK CZ.02.01.01/00/22_008/0004562

42 - EVALUACE NOVÝCH POVRCHOVÝCH ZNAKŮ BUNĚK DĚTSKÉ T-BUNĚČNÉ AKUTNÍ LYMFBLASTICKÉ LEUKÉMIE PRO MONITORACI MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI

Vávrová A. (1,2), Kužílková D. (1,2,3), Reiterová M. (1,2,3), Kalina T. (1,2,3)

1 - CLIP (Childhood Leukaemia Investigation Prague), Praha 2 - Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK, Praha 3 - FN Motol, Praha

Školitel: Mgr. Daniela Kužílková, Ph.D.

Úvod: Dětská T-buněčná akutní lymfoblastická leukémie (T-ALL) je agresivní onemocnění, které se vyznačuje výskytem maligních T lymfoblastů v kostní dřeni. Při diagnóze je prognóza porovnatelná s ostatními typy ALL, avšak část pacientů prodělá relaps s velice špatnou prognózou. Klíčovým prognostickým znakem je stanovení hladiny minimální reziduální nemoci (MRN) 15. den léčby. Detekce MRN pomocí průtokové cytometrie je založena na odlišném imunofenotypu maligních buněk, nicméně vzhledem k částečnému překryvu s nemaligními T lymfocyty je její přesná detekce stále složitá.

Cíl: Identifikace aberantně exprimovaných molekul na buňkách dětské T-ALL za účelem zpřesnění detekce MRN pomocí průtokové cytometrie.

Materiál a metody: Za použití fluorescenčně značených protilátek jsme metodami konvenční a spektrální cytometrie mapovali exprese povrchových znaků (n=307) v diagnostických vzorcích dětské T-ALL (n=34), které jsme porovnali s expresí u T lymfocytů zdravých dárců (n=12) a ve vývojových stádiích T lymfocytů izolovaných z dětských thymů (n=3). Pro přepočítání fluorescence na počet molekul protilátky navázané na buňce jsme použili BD PE Quantitation kit.

Výsledky: V rámci analýzy jednotlivých vzorků dětských pacientů s T-ALL jsme identifikovali 14-39 aberantně exprimovaných znaků (exprese min. 2x zvýšená či 2x snížená) oproti zdravým T lymfocytům, přičemž deset CD znaků (CD229, CD44, CD226, CD52, CD48, CD6, CD71, CD38, CD82 a CD26) bylo aberantně exprimovaných u minimálně 75 % vyšetřených vzorků. Dále jsme porovnali expresi těchto znaků mezi vzorky T-ALL a fyziologickými populacemi T lymfocytů vyskytujícími se v dětském thymu. Exprese sedmi CD znaků reflektovala jejich fyziologický vývoj. Exprese dalších třech CD znaků ve vzorcích dětské T-ALL nekorelovala s expresí na zdravých thymocytech a jejich zvýšená (CD38) či snížená (CD26 a CD52) exprese je tedy specifická pro nádorově změněné buňky dětské T-ALL.

Závěr: Celkem jsme identifikovali 10 potenciálních CD znaků, které jsou vhodné pro monitoraci MRN u min. 75 % dětských pacientů s T-ALL.

Podpora projektu: Práce byla podpořena granty AZV ČR (NU23J-03-00026), UNCE UK (UNCE/24/MED/003) a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (LX22NPO5102). PE-konjugované protilátky poskytly společnosti Exbio (Vestec, ČR) a Biolegend (San Diego, USA).

43 - A MISSENSE VARIANT IN THE AP1S1 GENE AS A CAUSAL GENETIC LESION OF MEDNIK SYNDROME

Rackova M. (1), Mattera R. (2), Svaton M. (1), Fencel F. (3), Kanderova V. (1), Spicakova K. (3), Park S.Y. (2), Fabian O. (4), Koblizek M. (4), Fronkova E. (1), Bonifacino J.S. (2), Skvarova Kramarzova K. (1)

1 - CLIP, Department of Pediatric Hematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic 2 - Section on Intracellular Protein Trafficking, Neurosciences and Cellular and Structural Biology Division, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA 3 - Department of Pediatrics, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic 4 - Department of Pathology and Molecular Medicine, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: RNDr. Karolina Skvarova Kramarzova, Ph.D.

Introduction: MEDNIK syndrome is a rare autosomal recessive multisystem disorder caused by variants in the AP1S1 gene. This gene encodes the $\sigma 1A$ protein, a key component of the AP-1 complex involved in intracellular protein trafficking. Previously, three AP1S1 variants were identified in MEDNIK patients that were predicted to result in truncated $\sigma 1A$ proteins and AP-1 dysfunction. Two AP1S1 missense variants (c.269T>C and c.346G>A) were recently identified in patients with isolated enteropathy, suggesting that missense mutations in AP1S1 cause a disease distinct from MEDNIK syndrome.

Aims: In this study, we report two patients with the c.269T>C variant (L90P), who, contrary to the previous cases, presented as complete MEDNIK syndrome. Our aim was to elucidate the impact of the L90P variant on molecular level and evaluate the differing clinical presentation.

Materials and Methods: Whole-exome DNA sequencing was conducted using the NextSeq 500 sequencer, followed by analysis through an in-house bioinformatics pipeline. Heterologous expression system involving transient expression of WT and $\sigma 1AL90P$ cDNA constructs in HeLa, HEK293T, and HAP1 cells, immunoprecipitation, and immunoblotting were used to assess the impact of the L90P variant on the AP-1 complex. AP subunit interactions were analyzed by Y3H assay. HAP1 knock-out cells were generated by CRISPR/Cas9. Immunofluorescence microscopy and immunohistochemistry were performed on fixed cells and tissue samples. mRNA level expression of $\sigma 1$ isoforms and GAPDH in RNA from patient FFPE biopsy samples was determined by qPCR.

Results: The same as previously described patients with the L90P variant, both our patients presented with severe neonatal onset enteropathy, however, they also exhibited other typical symptoms of MEDNIK syndrome (mental retardation, deafness, peripheral neuropathy, ichthyosis, and keratoderma). The functional experiments demonstrated that the $\sigma 1AL90P$ variant exhibits greatly decreased assembly into the AP-1 complex, reduces the amount of AP-1 associated with the TGN/endosomes, and completely abrogates the recognition of sorting signals by the AP-1 complex.

Conclusions: Our data substantially revise the presentation of disorders associated with AP1S1 gene variants and indicate that all the identified pathogenic variants result in MEDNIK syndrome.

Support: Supported by Charles University Research Centre program No. UNCE/24/MED/003.

44 - THE IMPACT OF EPILEPTIC NEURONAL ACTIVITY ON OLIGODENDROCYTE LINEAGE CELLS AND MYELINATION IN A MOUSE MODEL OF FOCAL CORTICAL DYSPLASIA

Bogdanovic A.(1), Hruskova B.(1), Vrskova N.(1), Pfeiferova D.(1), Rehorova M.(1), Kudlacek J.(1), Jiruska P.(1), Pivonkova H.(1)

1 - Department of Physiology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague 5, Czech Republic

Supervisor: MUDr. Helena Pivoňková, Ph.D.

Introduction: Focal cortical dysplasia (FCD) is a malformation of cortical development frequently associated with pharmacoresistant epilepsy. It is caused by somatic mutations affecting the mTOR signaling pathway in excitatory neurons. At the cellular level, FCD manifests as the emergence of dysmorphic neurons, disrupted neuronal migration, and consequent alterations in neuronal circuitry, accompanied by seizures. Previous studies suggested myelination changes in FCD which could contribute to seizure generation. Oligodendrocyte lineage cells (OLCs) respond to neuronal activity by proliferation, differentiation and increased myelination.

Aims: We hypothesize that aberrant neuronal activity associated with epilepsy may affect the OLC response. The aim of this study was thus to characterize OLCs in FCD including their proliferation capacity, differentiation and myelination, both during the development of the FCD lesion and after chronic seizures.

Materials and Methods: We have used a mouse model of FCD created by intrauterine electroporation of a plasmid carrying a mutated mTOR gene into neuronal progenitors, leading to hyperactivity of this cascade in cortical layer 2/3 excitatory neurons. Epileptic seizures were assessed by a video-EEG monitoring. We quantified the number of OLCs in grey matter (L2-L3) and white matter (corpus callosum) in dysplastic and contralateral cortical hemispheres in FCD mice. Myelination was quantified in grey matter. Mice electroporated with GFP plasmid were used as controls.

Results: We found increased mTOR activity in neurons in the lesion in seizing animals compared to the contralateral side and controls. In seizing animals there was a decrease in Olig2-positive cells but an increase in the relative number of NG2-positive/Olig2-positive cells in the lesion compared to the contralateral hemisphere and controls. In seizing animals we found an increase in the relative number of differentiated oligodendrocytes in the corpus callosum in both hemispheres compared to controls.

Conclusions: We have found that FCD is accompanied by a loss of OLC numbers in the cortical lesion. This might be attributed to non cell-autonomous signaling by neurons with increased mTOR activity rather than to the seizures themselves. Furthermore, our findings support the concept of activity-dependent myelination in the corpus callosum but not in the cortex.

Support: PRIMUS/21/MED/005; EU – Next Generation EU (LX22NPO5107); AZV (NU21-08-00533, NU21-04-00601); Czech Science Foundation (21-17564S);

ERDF-Project Brain dynamics (CZ.02.01.01/00/22_008/0004643); EXCITE (UNCE24/MED/021)

45 - SEX DIFFERENCES IN THE ASSOCIATION OF SELF-REPORTED STRESS AND MEMORY IN OLDER EUROPEAN ADULTS

Rizvi S.(1), Fischer M.(2), Chen R.(3), Wolfova K.(1,4), Kucera M.(1,5,6), Kearns PB.(1) and Seblova D.(1)

1 Department of Epidemiology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic 2 Department of Clinical Sciences/Faculty of Medicine, Lund University, Lund, Sweden 3 Department of Epidemiology, Boston University, Boston, USA 4 Department of Neurology, Columbia University, New York City, USA 5 National Institute of Mental Health, Klecany, Czech Republic 6 Amsterdam Public Health Research Institute, Faculty of Science, Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

Pregraduate student

Supervisor: Dominika Šeblová, Ph.D.

Introduction: Current research shows that stress can contribute to cognitive impairment in later life. Due to the increasing prevalence of cognitive decline, understanding the impact of stress on memory is crucial. Females generally report higher stress levels than males. These disparities can be attributed to individual factors such as biology and coping mechanisms, as well as broader contextual factors including sociocultural environment, which remain understudied.

Aims: To investigate sex differences in the relationship between self-perceived stress and memory, while also considering regional variations.

Materials and Methods: Data were obtained from the Survey of Health, Ageing, and Retirement in Europe. Respondents reported if they experienced a period of increased stress during their lifetime, and the duration of it. Our primary exposure variable was the proportion of life in stress. Scores on immediate and delayed recall tasks were standardised to z-scores and then combined into a memory composite. Using sex-stratified linear regression models, we analysed the relationship between stress and memory, adjusting for age, education (in years), and an indicator of childhood socioeconomic status. In secondary analyses, we stratified the data across five regions: Western Europe, Scandinavia, Eastern Europe, Southern Europe, and the Balkan region.

Results: Across Europe (n = 20,166 females; 14,707 males), females reported higher levels of stress (mean: 7.8 years, standard deviation (SD) 13.5) than males (6.2 years, SD 12.0). Longer stress duration was associated with better memory scores in males (B=0.010; 95% confidence interval (CI) 0.000, 0.020) but worse memory scores in females (B=-0.011; 95% CI: -0.019, -0.003). The strongest associations were observed in Eastern (B=-0.021; 95% CI -0.038, -0.003) and Western Europe (B=-0.012; 95% CI -0.025, 0.000) for females, and in Scandinavia (B=0.024; 95% CI -0.004, 0.052) and Western Europe (B=0.016; 95% CI 0.001, 0.031) for males.

Conclusions: Females exhibited increased stress perception as they report longer stress durations, which were associated with worse memory outcomes. This could be influenced by societal expectations and caregiving responsibilities placed upon them. Regional disparities highlight chronic stress in certain populations, such as in Eastern and Western Europe. Further research should be done on sex- and region-specific stress types and their underlying causes.

Support: PRIMUS Research Program (PRIMUS/22/MED, PI: Seblova)

46 - IDENTIFIKACE GENŮ PODÍLEJÍCÍCH SE NA ROZVOJI CHEMOREZISTENCE U NEUROBLASTOMU VYSOKÉHO RIZIKA POMOCÍ GENOMOVÉHO CRISPR/CAS9 SKRÍNINKU

Šoffrová K.(1,2), Matoušková L.(1), Bakardjieva-Mihaylova V.(1), Stuchlý J.(1), Boublíková L.(1,3), Vícha A.(2), Škvárová Kramarzová K.(1)

1 - Laboratorní centrum CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol, 2 - Laboratoř biologie solidních nádorů, Klinika dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol, 3 - Onkologická klinika 1. LF UK a Fakultní Thomayerovy nemocnice

Školitel: RNDr. Karolina Škvárová Kramarzová, Ph.D.

Úvod: Neuroblastom vysokého rizika (HR-NBL) je nádorové onemocnění dětského věku s velmi špatnou prognózou a pětiletým přežitím okolo 40 %. I přes intenzivní léčbu dochází přibližně u poloviny pacientů k relapsu onemocnění. Jednou z příčin selhání léčby je nedostatečná odpověď na cisplatinu (cDDP), klíčové cytostatikum používané v terapii HR-NBL. Mechanismus rozvoje rezistence HR-NBL na cDDP však zatím nebyl na molekulárně-genetické úrovni zcela objasněn.

Cíl: Cílem projektu je identifikace genů, jejichž aberace se podílejí na rozvoji rezistence HR-NBL na cDDP a odhalení nových potenciálních terapeutických cílů.

Materiál a metody: V neuroblastomové buněčné linii SK-N-AS jsme provedli CRISPR/Cas9 knockout (KO) skrínink, který umožňuje současně studovat individuální význam velkého množství genů v jediném experimentu. Do SK-N-AS buněk stabilně exprimujících Cas9 jsme transdukovali lentivirální knihovnu sgRNA (Addgene #101926), zacílenou na vybraných 3015 genů podílejších se na regulaci buněčného cyklu a karcinogenezi (dle PMID: 28474669). Takto připravené buňky byly kultivovány v médiu s 8 μ M cDDP nebo bez cDDP a sklizeny v dnech 0, 7 a 14 experimentu. Ze vzorků byla vyizolována DNA a pomocí NGS byly sekvenovány oblasti nesoucí lentivirální kazetu se sekvencemi jednotlivých sgRNA. Pomocí nástroje MAGeCK-Flute jsme následně porovnali počty jednotlivých sgRNA ve vzorcích kultivovaných 7 a 14 dní s cDDP oproti kontrole bez cDDP a oproti dni 0 – výchozímu stavu.

Výsledky: Identifikovali jsme geny s největším rozdílem zastoupení příslušných sgRNA po kultivaci s cDDP oproti kontrolním buňkám. Geny, jejichž sgRNA se v průběhu kultivace v cDDP obohatily (např. APAF1, BAX a BID zapojené do vnitřní cesty aktivace apoptózy), lze označit jako ty, jejichž inaktivační mutace se mohou podílet na rozvoji rezistence na cDDP. Zacílení terapie na tyto geny/buněčné dráhy (např. indukce apoptózy) by mohlo přispět k efektivnější léčbě nádorů rezistentních na cDDP. Geny s nejvýrazněji negativně selektovanými sgRNA by naopak mohly posloužit jako možné terapeutické cíle iniciálně zvyšující účinek cDDP – např. ERCC4, ERCC8, ERCC6 účastníci se opravných mechanismů DNA (konkrétně tzv. nucleotide excision repair).

Závěr: Pomocí CRISPR/Cas9 KO skríninku jsme identifikovali geny potenciálně významné pro rozvoj rezistence HR-NBL na cDDP a pro možnosti cílené terapie pacientů s HR-NBL neodpovídajících na cDDP. V další části projektu budeme experimentálně validovat identifikované kandidátní geny/buněčné dráhy.

Podpora projektu: GA UK 87024, UNCE/24/MED/003

47 - EFEKTIVITA TERAPIE 131I-mIBG U HIGH-RISK NEUROBLASTOMU

Zmek J. O.(1), Táborská K.(1), Vlček P.(1), Mališ J.(2)

1 - *Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2.LF a FN Motol* 2 - *Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol*

Školitel: prof. MUDr. Petr Vlček, CSc. MHA

Úvod: Terapie 131I-mIBG je již dlouhodobě zavedená součást algoritmu léčby pokročilého high-risk neuroblastomu, recentně aplikovaná v protokolu MATIN. Publikovaných výsledků této terapie je omezené množství, navíc konkrétní provedení se často liší.

Cíl: Cílem studie bylo na základě retrospektivní analýzy pacientů léčených na Klinice nukleární medicíny a endokrinologie FN Motol a 2.LF zhodnotit efektivitu této terapie a výskyt nežádoucích účinků.

Materiál a metody: Byla provedena retrospektivní analýza 17 pacientů léčených na KNME FNM 2.LF v letech 2012-2020 pro high-risk refrakterní či relabovaný neuroblastom v protokolu MATIN, kteří byli dále léčeni na Klinice dětské hematologie a onkologie FNM. Posuzováno bylo celkové přežití, scintigrafické semikvantitativní hodnocení efektu léčby, celková odpověď na terapii a výskyt nežádoucích účinků, především těžkých forem hematotoxicity.

Výsledky: 17 pacientů (z toho 10 mužů) průměrného věku 5,48 let (1,08-24,58) obdrželo terapeutickou aplikaci 131I-mIBG. Tříletého přežití dosáhlo 9 pacientů (53 %). Remise byla dosažena u 5 pacientů (29 %). Aspoň parciální regresi nálezu na diagnostickém mIBG vyšetření časně po terapii (2-3 měsíce) vykazalo 11 pacientů, z nich následně dosáhlo tříletého přežití 8 pacientů. Hematotoxicita se po terapii vyskytla u všech pacientů. K autologní transplantaci kostní dřeně posléze došlo u 15 pacientů (88 %), u zbylých 2 došlo k protrahovaným pancytopeniím.

Závěr: Relabovaný či refrakterní high-risk neuroblastom má špatnou prognózu, nicméně i z velmi omezených dat vyplývá velký přínos terapie 131I-mIBG v léčbě. Otázkou zůstává, zda je jeho potenciál v současném nastavení terapeutických algoritmů dostatečně využit.

49 - THE ROLE OF PARVALBUMIN-POSITIVE INTERNEURONS IN INITIATION, PROPAGATION, AND TERMINATION OF SEIZURES IN A PTZ MODEL OF EPILEPSY IN MICE

Populova J., Nguyenova J.T., Prochazkova N., Rehorova M., Olson C.V.L., Kudlacek J., Jiruska P., Novak O.

Department of Physiology, second Faculty of Medicine, Charles University, Prague 5, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Přemysl Jiruška, Ph.D.

Introduction: Epileptic seizures manifest with excessive and hypersynchronous activity of neurons. In theory, inhibitory interneurons (INs) should oppose seizures. According to the literature, INs have been shown to fail, or even contribute to the initiation of seizure onset. Interneurons consist of several types, with parvalbumin-positive interneurons (PV+ INs) constituting the largest fraction. Regarding the role of INs in seizures, there is a lack of comprehensive data from in vivo experiments. Here, we show the first results of cell-resolved PV+ IN activity in an awake mouse model of chemically induced epileptic seizures.

Aims: To elucidate the role of PV interneurons in all phases of seizing and to identify the reasons for why they are failing at seizure prevention.

Materials and Methods: For our experiments we used adult PV-IRES-Cre mice (6-10 weeks). We implanted the mice with a headbar, EEG electrodes, and a cranial window. We transduced the cortical neurons with a gene encoding fluorescent calcium indicator, jRCaMP8m, and PV+ INs were transduced with a gene for a red fluorescent protein, tdTomato. Two weeks after the surgery, we started a kindling protocol using PTZ (i.p.) until we observed seizures. Calcium signals from individual neurons during seizures were collected using two-photon microscope together with recordings of the EEG signal. Data were processed using Suite2p.

Results: We observe a large difference of the calcium activity of pyramidal neurons and PV+ INs at the end of seizures. PV+ INs were active (in terms of intracellular calcium) 5-10s after the seizure was over in the rest of the cells. PV+ INs are also activated before the seizures and their activity correlates with pre-ictal discharges seen in electrophysiological recordings.

Conclusions: We have found that calcium fluorescence of PV+ INs at the end of seizures last even after the pyramidal neurons become silent. This could mean that PV+ INs either get to the state of depolarization block (with opened voltage-gated calcium channels) and cannot fire action potentials, or they truly are massively active and possibly play a key role in termination of seizures. An alternative explanation could be the calcium buffering capacity of PV+ INs is saturated during such a high activity event. As calcium imaging is not fast enough to discern fast spiking from tonic calcium influx, we are now shifting to voltage imaging to differentiate between the aforementioned hypotheses.

Support: Grant of the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (EU – Next Generation EU: LX22NPO5107)

50 - INTRAKRANIÁLNÍ ANEURYSMATA: PORUŠENÍ ROVNOVÁHY MEZI MATRIXOVÝMI METALOPROTEINÁZAMI A JEJICH INHIBÍTORY – VÝSLEDKY PILOTNÍ STUDIE

Hundža Stratilová M.(1), Koblížek M. (2), Krsková L.(2), Sameš M. (1), Zámečník J. (2), Hejčl A. (1)

1 – Neurochirurgická klinika Univerzity J. E. Purkyně, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, 2 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: Doc. MUDr. A. Hejčl, Ph.D.

Úvod: Nejčastější příčinou spontánního subarachnoideálního krvácení je ruptura intrakraniálního aneurysmatu (IA). Pro pacienta znamená život ohrožující stav, mnohdy končící úmrtím nebo trvalým neurologickým deficitem. Na druhou stranu, neprasklá IA jsou poměrně často náhodně diagnostikována při vyšetření z jiných důvodů, ovšem je obtížné optimálně nastavit léčebný přístup (aktivní versus konzervativní postup), neboť nelze spolehlivě a přesně odhadnout riziko jejich ruptury. Ukazuje se, že v patogenezi IA hrají roli klíčové mechanismy jako aberantní hemodynamika a zánět, ve kterém významnou roli hrají makrofágy, prostřednictvím kterých dochází k vaskulární remodelaci cévní stěny taky cestou indukce matrixových metaloproteináz (MMP). V předkládané pilotní studii, která navazuje na naše předchozí histopatologické výsledky, jsme se proto zaměřili na expresi makrofágů, matrixových metaloproteináz, a to konkrétně MMP-2 a jejich inhibitorů TIMP-1 a TIMP-2.

Cíl: Pomocí metod molekulární biologie zmapovat aktivitu makrofágů v aneurysmatech, a jejich produkci matrixových metaloproteináz MMP-2 a jejich inhibitorů TIMP-1 a TIMP-2 ve stěně prasklých a neprasklých aneurysmat.

Materiál a metody: Do pilotní studie byly zařazeno 10 neprasklých a 6 prasklých vzorek sakulárních IA a 7 kontrolních vzorek. Metodou RT-PCR byla měřena exprese RNA housekeepingového genu pro beta2mikroglobulin a genů pro markery makrofágů (CD163), dále MMP-2, TIMP-1 a TIMP-2.

Výsledky: Ve vzorcích aneurysmat (prasklých i neprasklých) jsme prokázali signifikantně vyšší expresi CD163 svědčící pro zvýšené množství makrofágů oproti kontrolním vzorkům. Exprese MMP2 je výrazně zvýšená jak v prasklých, tak neprasklých aneurysmatech, ve srovnání s kontrolou a vyšší ve stěně neprasklých aneurysmat. Ve srovnání s kontrolou je exprese TIMP1 vyšší jak u prasklých, tak neprasklých aneurysmatech, vyšší u prasklých IA. V expresi TIMP-2 nepozorujeme signifikantní rozdíly.

Závěr: V předkládané pilotní studii pozorujeme jednoznačný rozdíl mezi kontrolními cévami a cévní stěnou intrakraniálních aneurysmat. V rozporu s naším předpokladem jsme pozorovali opačné trendy exprese metaloproteináz a jejich inhibitorů mezi prasklými a neprasklými aneurysmaty. Pro potvrzení a případné vysvětlení tohoto trendu je však potřeba rozšíření studie na větší počet vzorků a na další sledované geny.

Podpora projektu: grant NU22-08-00124, IG9-217111043

Těfr Faridová A. (1,2), Heřman H. (2), Otáhal J. (1)

1 - Ústav patologické fyziologie 2. FL UK 2 - Ústav pro péči o matku a dítě, Podolí

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

Úvod: Perinatální asfyxie je stále vedoucí příčinou významné perinatální mortality a morbidity. V klinické praxi nejsou k dispozici spolehlivé a dobře dostupné markery ke stanovení závažnosti hypoxicko-ischemického poškození mozku. Jedinou terapeutickou možností je i přes dobře prostudovanou patofyziologii hypoxie celotělová hypotermie, která by měla být zahájena do 6 hodin po hypoxii. V současnosti dostupné biomarkery mají značnou variabilitu ve specifitě a sensitivitě, a proto se v experimentu věnujeme modelu této situace a využití kombinací dvou markerů, jednoho vysoce citlivého k poškození (HMGB1) a druhého specifického k poškození buněk centrálního nervového systému (NSE).

Cíl: Cílem projektu je objasnit dynamiku dvou sérových biomarkerů neuronálního poškození u potkaních mláďat, neuron specifické enolázy (NSE) a High-mobility group box 1 (HMGB1). Hodnoty budou stanoveny z periferní krve potkaního mláděte v časových odstupech (čas 0, +1 hod, +2 hod, +4 hod, + 6 hod, + 12 hod, + 24 hod) pro objasnění jejich časového profilu a posouzení jejich validity.

Materiál a metody: V projektu byl použit model neonatální hypoxie. Hypoxicko-ischemická encefalopatie byla vyvolána dle Rice-Vannucciho, který využívá 7-denní potkaní mláďata tj. z pohledu vývoje CNS lidského plodu nezralá. V celkové anestezii (inhalačně isofluranem) byla operačně pod mikroskopem provedena jednostranná ligatura arteria carotis communis dextra s následnou 90-minutovou globální normobarickou hypoxií. Systémová hypoxie byla provedena v hypoxické komoře (expozice atmosférou s 8% kyslíkem). Aspirace krve byla provedena punkcí tenkou jehlou ze levé komory srdeční v krátké anestezii. Separované sérum bylo zmrazeno a skladováno v -70°C. Stanovení hladiny biomarkerů (NSE, HMGB1) bylo provedeno metodou ELISA.

Výsledky: ELISA analýza obou biomarkerů (NSE, HMGB1) byla provedena na 79 vzorcích séra potkaních mláďat s odlišným časem odběru od hypoxie (čas nula). Hladiny HMGB1 se pohybovaly mezi 786 a 2005 pg/ml, hladiny NSE 593 až 9086 pg/ml. Průměrná hladina NSE byla nejvyšší v 6. a 12. hodině, u HMGB1 byla průměrná hladina nejvyšší v 6. a 24. hod.

Závěr: Průměrné hladiny obou zkoumaných biomarkerů (NSE, HMGB1) byly nejvyšší v 6. hodině po experimentální modelu hypoxie potkaních mláďat. Kombinace těchto biomarkerů v 6. hodině po hypoxii se zdá z klinického pohledu nejvýhodnější, protože do 6 hodin lze zahájit terapeutickou systémovou hypotermii.

Podpora projektu: Projekt GAČR (21-17564S) a AZV (NU21-08-00228)

52 - IDENTIFYING POTENTIAL DIAGNOSTIC AND MRD MARKERS FOR CHILDHOOD B-CELL PRECURSOR ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA THROUGH SPECTRAL FLOW CYTOMETRY

Nino Palavandishvili (1,2) Adéla Vávrová (1,2,3) Michaela Reiterová (1,2,3) Tereza Podolská (1,2,3) Tomáš Kalina (1,2,3) Martina Vášková (1,2,3) Ondřej Hrušák (1,2,3) Eva Froňková (1,2,3) Markéta Kubričanová Žaliová (1,2,3) Jan Stuchlý (1,2,3) Daniela Kužilková (1,2,3) Ester Mejstříková (1,2,3)

1 CLIP - Childhood Leukemia Investigation Pragerague, Czech Republic; 2 Department of Paediatric Hematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 3 University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: Ester Mejstříková M.D., Ph.D.

Introduction: B-cell precursor leukemia is the most common childhood malignancy. Thanks to risk stratification, careful monitoring of treatment response, and advanced supportive care, BCP-ALL has become the most curable malignancy, with an overall survival rate of over 90%. However, relapses still occur.

Aims: The study aims to adapt approaches to find new markers for diagnosis and MRD to monitor the patients receiving targeted therapies, and those who undergoing a lineage switch to monocytic lineage during induction treatment.

Materials and Methods: Using full-spectrum cytometry, we evaluated CDmaps (Kužilková et al. Front Immuno 2022) - the expression of surface markers (n=305) on BCP ALL cells, obtained from thawed samples at diagnosis (N=15) and relapse (N=3). The following genotypes were included: DUX4r (6), ETV6::RUNX1 (11), and BCR::ABL (1). One sample of CD19 negative relapse was analyzed (ETV6::RUNX1). To achieve high-throughput screening, we barcoded individual samples using anti-HLA-I antibodies. We used backbone antibodies to distinguish blast cells from non-malignant B cells. The markers' expression was evaluated as a percentage of positivity and quantified as antibody bound per cell using the BD Quantitation kit.

Results: After comparing individual markers in CDmaps with markers from fresh material at diagnosis or relapse, we found no significant differences. Our analysis confirmed a specific expression signature in DUX4r (CD371pos, CD10 heterogeneous, CD34 bright) and ETV6:RUNX1 (CD27posCD44neg). In addition, DUX4r cases show statistically significant higher expression of CD112 (P=0.03), CD66b (P=0.03), CD84 (P=0.02), CD49c (P=0.01), and CD140a (P=0.01). Interestingly, for some markers, the statistically significant result was shown only in a percentage of positivity: CD57 (P=0.01), CD146 (P=0.01), CD108 (P=0.01, Mann-Whitney test). In a patient with CD19 negative relapse, we identified the expression of the following B cell-linked markers: CD22, CD24, CD72, and CD81. In ETV6::RUNX1, a statistically significant expression was observed.: CD31 (P<0.01), CD73 (P<0.01), CD49e (P=0.01), CD97 (P<0.002), CD99 (P=0.01), CD200 (P<0.01, Mann-Whitney test).

Conclusions: High-throughput flow cytometry is suitable for profiling proteins in childhood leukemias and identifying potential markers for MRD. To strengthen our findings, we plan to investigate a larger group and evaluate selected markers using fresh samples

Support: Supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant No. NU23-05-00353 and Co-funded by the European Union – Next Generation EU – program No. LX22NPO5102

53 - PREVALENCE KARDIÁLNÍ AUTONOMNÍ NEUROPATIE U VYBRANÝCH HEREDITÁRNÍCH NEUROPATIÍ - DÍLČÍ VÝSLEDKY

Prášil K., Potočková V., Mazanec R.

Neurologická klinika 2.LF UK a FNM

Školitel: MUDr. Radim Mazanec, Ph.D.

Úvod: Hereditární neuropatie jsou nejčastější vzácná geneticky podmíněná nervosvalová onemocnění s prevalencí 1:2500. Do roku 2023 bylo nalezeno > 100 genů, jejichž mutace způsobí některou formu nesyndromové hereditární neuropatie. Mutace postihují strukturální i funkční proteiny v různých částech periferního nervu. Vliv genotypu na fenotyp hereditární neuropatie je dobře známý, ale překvapivě nízká je evidence o výskytu kardiální autonomní neuropatie. Přitom kardiální autonomní neuropatie (KAN), která způsobuje poruchy srdeční frekvence, krevního tlaku (ortostatická hypotenze), významně zvyšuje riziko kardiovaskulárních příhod (tiché infarkty myokardu), čímž může významně ovlivnit délku a kvalitu života pacientů je při včasném záchytu režimově a léčebně ovlivnitelná.

Cíl: Cílem projektu je vyšetřit až 80 pacientů s vybranými hereditárními neuropatiemi baterií testů hodnotící autonomní regulaci kardiovaskulárního systému a zmapovat tak prevalenci KAN u těchto pacientů. Výsledky práce mohou přispět ke zkvalitnění dispenzární péče o tyto pacienty a zlepšit tak kvalitu a délku jejich života.

Materiál a metody: Pacienti jsou vybíráni ze stávající databáze ERN-Neuromuskulárního centra 2.LF UK a FN Motol rovnoměrně dle věku a pohlaví. Po podpisu informovaného souhlasu dále přistupujeme k fenotypizaci pacientů - využíváme standardní škály (CMTNSv2) pro hereditární neuropatie a SAS (The Survey of Autonomic Symptoms) pro autonomní dysfunkce. Normativní data pro funkční testy KAN jsou jednak literární a dále jsme otestovali zdravou kontrolní skupinu subjektů. Funkční vyšetření zahrnuje kondukční studie n. medianus a n. ulnaris (přístroj Synergy VIASYS, UK), kardiální autonomní reflexní testy (ortostatický test, test hlubokého dýchání a Valsalvův manévr) a hodnocení parametrů časové analýzy variability srdečního rytmu.

Výsledky: Budou prezentovány dílčí výsledky po vyšetření 46 subjektů. (28 pacientů s CMT 1A, 10 pacientů s CMT X, 5 pacientů s HSAN 1 a 3 pacienti s CMT 2, s mutací v SORD genu). Z dosavadních analýz se jeví, že nejčastější typ nemoci CMT (CMT 1A) nejeví známky kardiální autonomní neuropatie. Naopak u pacientek s CMT X se jeví vyšší prevalence subklinické KAN v porovnání s kontrolní skupinou. U pacientů s HSAN 1 (hereditární senzitivní autonomní neuropatie) jsme vyšší prevalenci KAN t.č. neprokázali.

Závěr: Z dílčích výsledků zatím vyplývá, že je vyšší prevalence KAN u CMT X nemoci v ženské populaci než u kontrolní skupiny pacientů, toto nebylo zatím nikde publikováno, nicméně je potřeba vyšetřit více pacientů.

Hadžić T., Iurchenko O., Kovanda J., Tomek V., Tavačová T., Kubuš P., Janoušek J.

Dětské kardiocentrum 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Jan Janoušek, Ph.D.

Úvod: Myokard pacienta s vrozenou srdeční vadou je vystaven objemovému či tlakovému přetížení, či neefektivitě kontrakce při elektromechanické dyssynchronii, což vede k jeho dysfunkci. Myokardiální práce je metoda hodnocení srdeční funkce, která dříve vyžadovala provedení invazivní katetrizace, proto byla její dostupnost omezená. Jiné metody hodnocení srdeční funkce mají své limity. Nově byla vyvinuta metoda měřící myokardiální práci pomocí echokardiografie a neinvazivního měření krevního tlaku.

Cíl: V tomto projektu se věnujeme měření myokardiální práce touto metodou u pacientů s vrozenou srdeční vadou. Dosud jsme měření provedli u 2 skupin těchto pacientů.

Materiál a metody: Měření bylo provedeno u 37 pacientů s Wolff-Parkinson-White (WPW) syndromem před a 24 hod. po katetrizační ablací a u 30 zdravých kontrol, a u 10 pacientů s vrozenou srdeční vadou s izolovaným významným levoprávním zkratem před a po provedení terapeutické intervence. Pomocí speckle-tracking echokardiografie a softwaru GE EchoPAC s integrovaným AFI modulem byl vypočítán global work index (GWI), global constructive work (GCW) a global wasted work (GWW). Global work efficiency (GWE) byla vypočítána jako poměr GCW ku součtu GCW a GWW. Aby byla u pacientů se zkratovou vadou zohledněna změna objemu po intervenci, GWI a GCW byly také indexovány na změnu end-diastolického objemu levé komory (LVEDV). U pacientů s WPW syndromem bylo provedeno také elektroanatomické mapování pomocí systému EnSite Precision™.

Výsledky: U pacientů s WPW syndromem byla před ablací ejekční frakce (průměr 55,3 vs 59,3%, $p=0,005$) a GWE (medián 93,0 vs 95,0%, $p<0,001$) nižší u pacientů než u kontrol. GWE korelovala negativně s mírou preexcitace vyjádřenou dobou trvání QRS ($R=0,519$, $p<0,001$) a intervalem od začátku delta vlny po kmit R ve svodu V6 ($R=0,705$, $p<0,001$). Po úspěšné ablací se GWE signifikantně zvýšila ($p=0,013$). U pacientů se zkratovou vadou došlo k poklesu LVEDV i EF. GWI i GCW klesly o přibližně 25% (neindexovaná data) a 50% (data indexovaná na změnu objemu).

Závěr: Komorová preexcitace je asociována se sníženou GWE, která negativně koreluje s mírou preexcitace a zlepšuje se po ablací. Množství GWW u asymptomatické preexcitace by mohlo být uváženo při indikaci profylaktické ablace. U pacientů se zkratovou vadou došlo k poklesu GWI po intervenci. Tato metoda se prokazuje být vhodnou k využití i u řady pediatrických pacientů a má potenciál s pomocí kardiovaskulárního modelování umožnit predikci úspěšnosti plánovaných intervencí a usnadnit tak indikaci intervence.

Podpora projektu: Institucionální podpora FNM projekt 64203.

55 - CHROMOZOMÁLNÍ ZMĚNY V OBLASTI 11P15.5 U NEFROBLASTOMŮ

Štolová L.(1), Jenčová P.(1), Belhajová M.(1), Krsková L.(2), Háček J.(2), Nováková-Kodetová D.(2), Švojr K.(1), Pýchová M.(3), Vícha A.(1)

1 - *Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, 2 - Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, 3 - Klinika dětské chirurgie, 2. LF UK a FN Motol*

Školitel: MUDr. Aleš Vícha, Ph.D.

Úvod: Nefroblastom je tumor ledvin vyskytující se převážně u dětí. Je s ním spojeno několik typických chromozomálních změn, z nichž některé jsou spojeny s horší prognózou (zisk 1q) či rizikem relapsu (delece 1p a delece 16q). Zaměřili jsme se na chromozomální změny a změny metylace v oblasti 11p15.5, ve které se vyskytují dvě imprintingová centra IC1 a IC2, zahrnující důležité onkogeny (IGF2) či tumor supresorové geny (H19, CDKN1C), jejichž pozměněná exprese přispívá tumorigenezi a změny v této oblasti byly potvrzeny i u jiných typů nádorů (feochromocytom, paragangliom, rabdomyosarkom).

Cíl: Cílem bylo zaznamenat chromozomální změny a jejich frekvence v oblasti 11p15.5. u nefroblastomů, kde dosud nebyli podrobněji prozkoumány a zároveň vyhodnotit tyto změny i z hlediska heterogenity v rámci tumoru.

Materiál a metody: Do analýzy jsme zahrnuli 88 pacientů s nefroblastomem, kteří byli léčeni na Klinice dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FNM v letech 2009 - 2024. Od těchto pacientů jsme měli k dispozici 1 - 3 vzorky histologicky ověřené nádorové tkáně (při vyšším množství byly odebrány z různých míst tumoru) a vzorky periferní krve. K vyšetření vzorků jsme využili metody MS-MLPA (SALSA MLPA Probemix ME030 BWS/RSS od MRC Holland) a SNP array (HumanCytoSNP-12 v2.1 BeadChip a Infinium CytoSNP-850K v1.2 BeadChip od Illumina). K vyhodnocení dat jsme použili programy Coffalyzer.net a BlueFuse Multi 4.3.

Výsledky: U 65 nefroblastomů byla zachycena některá ze změn v 11p15.5. Nejčastěji se jednalo o pUPD (n=34; 38,63%), dále hypermetylace genu H19 (n=28; 31,82 %), maternální delece (n=2; 2,27 %) a paternální zisk (n=2; 2,27 %). U 52 pacientů byly porovnány výsledky z různých vzorků jednoho tumoru (při odebrání 3 vzorků). U 17 (32,69 %) byla potvrzena pUPD ve všech vzorcích, u 12 (23,08 %) hypermetylace H19 ve všech vzorcích a u 1 (1,92 %) paternální zisk ve všech vzorcích. Dále u 5 (9,62 %) pUPD ve dvou vzorcích (a 1 negativní); u 2 (3,85 %) pUPD v jednom vzorku (a 2 negativní); u 2 (3,85 %) hypermetylace H19 ve dvou vzorcích (a 1 negativní); u 1 (1,92 %) maternální delece ve dvou vzorcích (a 1 negativní); u 1 (1,92 %) pUPD v jednom vzorku, hypermetylace H19 ve druhém (a 1 negativní vzorek).

Závěr: Nejčastější změnou zachycenou v oblasti 11p15.5 u nefroblastomů byla pUPD, těsně následována hypermetylací genu H19. Co se týče intratumorální heterogenity změn, potvrdili jsme ji u 11 nefroblastomů, nejčastěji v případě pUPD.

Podpora projektu: Ministerstvo zdravotnictví ČR - koncepční rozvoj výzkumné organizace, Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika 00064203

56 - VÝZNAM V-ATPÁZY PRO CHEMOREZISTENCI NÁDOROVÝCH BUNĚK A POTENCIACE ÚČINKU CYTOSTATIK INHIBITORY V-ATPÁZY

Rychlá M., Hraběta J., Jenčová P., Eckschlager T.

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

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Úvod: Neuroblastom (NB), maligní embryonální nádor vycházející z periferního nervového systému, je nejčastější solidní extrakraniální nádor u dětí. Jeho závažnost a často nepříznivá prognóza podtrhují naléhavou potřebu vývoje nových a účinnějších léčebných strategií v onkologii. Navzdory pokroku v onkologii zůstává léková rezistence významnou výzvou. Jedním z mechanismů přispívajících k lékové rezistenci je lysozomální sekvestrace. V tomto procesu se určitá léčiva, zejména slabé báze s hydrofobními vlastnostmi, akumulují v lysozomech, buněčných organelách s kyselým prostředím udržovaným protonovou pumpou V-ATPázou. Tato sekvestrace brání lékům v dosažení jejich cílů v buňce, nejčastěji jádru, čímž je činí neúčinnými.

Cíl: Cílem je charakterizovat expresi podjednotek V-ATPázy v buňkách NB, prozkoumat jejich potenciální dysregulaci a objasnit jejich příspěvek k chemorezistenci vůči ellipticinu a cisplatině (CDDP) a případnou roli v dalších biologických procesech.

Materiál a metody: Senzitivní NB linie (UKF-NB-4) a rezistentní k ellipticinu UKF-NB-4ELLI a CDDP UKF-NB-4CDDP byly vystaveny působení těchto cytostatik. QRT-PCR (detekce exprese podjednotek V-ATPázy), zobrazovací cytometr SpectraMax MiniMax (lysozomální kapacita), konfokální mikroskopie (subcelulární lokalizace ellipticinu), PrestoBlue (viabilita), xCELLigence (proliferační kapacita), průtoková cytometrie (buněčný cyklus). Bafylomycin A a siRNA (inhibice).

Výsledky: U NB buněk rezistentních k ellipticinu a CDDP byla pozorována zvýšená exprese podjednotky ATP6V0D1 V-ATPázy. NB buňky také vykazovaly zvýšenou lysozomální kapacitu. Jak celková inhibice Bafilomycinem A, tak snížení exprese ATP6V0D1 (siRNA), zvýšil citlivost buněk k ellipticinu a CDDP. Knockdown ATP6V0D1 dále potlačil proliferaci a migraci, snížil lysozomální vychytávání a zastavil buněčný cyklus ve fázi G2/M. Dále jsme zaznamenali, že ellipticin vyvolával vakuolizaci. Specifickým barvením jsme prokázali, že vakuoly pocházely z endoplasmatického retikula. Snížení exprese ATP6V0D1 tento jev potlačilo. Je pozoruhodné, že inhibice další podjednotky V-ATPázy, ATP6V1H, neměla na viabilitu, citlivost k cytostatikům ani vakuolizaci žádný účinek, což zdůrazňuje specifickou roli ATP6V0D1 v rezistenci na léky.

Závěr: Naše data ukazují, že podjednotka ATP6V0D1 V-ATPázy má u NB nejen strukturální a funkční roli, ale i další, dosud ne zcela prozkoumané funkce, které mohou přispívat k rozvoji rezistence vůči léčbě. Po další validaci lze předpokládat, že by ATP6V0D1 mohla představovat slibný terapeutický cíl.

Ryba L., Dvořáková L., Hedvičáková P., Mušová Z., Vlčková M.

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

Školitel: Doc. MUDr. Markéta Vlčková PhD

Úvod: V této retrospektivní studii jsme se zaměřili na analýzu geneticky podmíněné etiologie onemocnění u kohorty pacientů zejména s klinickou diagnózou intelektové nedostatečnosti (ID) či globálního opoždění psychomotorického vývoje (GDD). ID je neurovývojovým onemocněním charakterizovaným poruchou intelektuálních a adaptivních schopností s nástupem v raném dětství. Odhalení konkrétní příčiny onemocnění má významný přínos pro stanovení prognózy, reprodukčních rizik i k psychické úlevě rodiny. ID je klinicky i etiologicky výrazně heterogenní jednotkou a obvyklé diagnostické metody (karyotyp, arrayCGH, MLPA) často nejsou schopné odhalit její příčinu. V současné době se tak diagnostika ID opírá zejména o využití techniky sekvenování nové generace (NGS).

Cíl: Cílem této studie bylo zhodnotit výtěžnost sekvenování panelu genů asociovaných s ID (CID) na našem pracovišti.

Materiál a metody: Studie zahrnovala 609 pacientů (421 chlapců a 188 dívek), kteří byli indikováni k vyšetření panelem CID mezi lety 2019 a 2023. Pacienti byli vyšetřeni klinickým genetikem a před zařazením u nich bylo provedeno standardní vyšetření karyotypu, arrayCGH a syndromu fragilního X, a to s negativním výsledkem.

Sekvenování bylo prováděno v molekulárně genetické laboratoři ÚBLG. Původně bylo 299 vzorků analyzováno pomocí in-house panelu zaměřeného na 250 genů, který byl navržen ve spolupráci se SOPHiA, a sekvenováno platformou MiSEQ (Illumina). Od roku 2021 bylo analyzováno dalších 390 vzorků pomocí Clinical Exome Solution od SOPHiA a sekvenováno na platformě NextSeq (Illumina). Bioinformatická analýza probíhala pomocí softwaru SOPHiA DDM.

Varianty byly prioritizovány na základě jejich frekvence, funkčního dopadu a predikčních nástrojů. Výsledné varianty byly klasifikovány dle kritérií American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). V případech, kde to bylo možné, byla validace a segregace prováděna pomocí Sangerova sekvenování.

Výsledky: Ve studované kohortě byla ID diagnostikována u 77 % pacientů a GDD u 23 %. 51 % pacientů mělo diagnózu autismu, 16 % trpělo epilepsií a 61 % vykazovalo další behaviorální abnormality. Faciální dysmorfie byla popsána u 66 % pacientů, mikrocefalie u 8 % a makrocefalie u 10 %. Vyšetření vedlo k nálezu kauzální varianty u 80 pacientů (13 %).

Závěr: Tato data poskytují cenné informace pro lepší pochopení genetických příčin ID v české populaci a ukazují na efektivitu a výhody cíleného panelového sekvenování jako diagnostického nástroje.

Kraft M. (1,2)

1- Centrum následné péče FN Motol Praha, 2- Geriatrická interní klinika 2. LF UK a FN Motol Praha

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

Úvod: U diabetických pacientů zvláště v seniorském věku se mohou postupně rozvíjet symptomy incipientní dysfagie (poruchy polykání) či lehké dysartrie (motorické řečové poruchy).

Cíl: Cílem studie bylo v letech 2022-2023 zmapování potencionální prevalence těchto obtíží u pacientů v seniorském věku.

Materiál a metody: Celkem bylo vyšetřeno 189 pacientů na našem pracovišti (CNP a GIK FNM), kteří byli rozděleni do dvou skupin. Klinickou skupinu tvořilo 99 pacientů (průměrný věk 77,2±6,6 let) s diabetes mellitus, kontrolní skupinu tvořilo 90 pacientů (průměrný věk 76,3 ±5,7 let) bez diabetes mellitus. Vylučující kritéria pro obě skupiny byla přítomnost CMP, nadále neurodegenerativní či nervosvalové onemocnění, onkologická či chirurgická komorbidita v orofaryngeální oblasti jakkoliv ovlivňující polykání a motorickou řečovou realizaci.

Obě skupiny byly porovnávány skrze statistickou analýzu výsledných skóre ve standardizovaných diagnostických testech na přítomnost dysfagie (test GUSS) a dysartrie. Přítomnost/absence dysartrie u pacienta určil výsledný skóre v testové baterii TEST 3F, hodnotící tři hlavní oblasti: faciokineze (oromotorika), fonorespirace a fonetika (artikulace, prozódie). V případě dosažení skóre pro přítomnost dysfagie či dysartrie byl daný pacient dále kvalitativně vyšetřen klinickým logopedem.

Výsledky: V rámci analýzy byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi skupinami jak v přítomnosti dysfagie ($p < 0,01$ / $p = 0,004$), tak i dysartrie ($p < 0,01$ / $p = 0,007$). V klinické skupině pacientů ($n=99$) byla diagnostikována dysfagie u 30 pacientů (30,3 %), z toho u 22 pacientů dysfagie lehkého stupně a zbylých 8 středně-těžký stupeň dysfagie s vyšším rizikem aspirace.

U 22 pacientů (22,2 %) byla splněna kritéria pro udělení diagnózy dysartrie. Komorbidita dysfagie a dysartrie byla zaznamenána u 12 pacientů (12,1 %).

Závěr: Výsledky naší studie naznačují přítomnost dysfagických a dysartrických obtíží u geriatrických pacientů s diabetes mellitus. V rámci komplexní zdravotní péče u seniorských pacientů s diabetem je tedy přínosné zaměřit pozornost i na stav polykání a motorickou realizaci řeči.

Jenčová P. (1), Vosecká T. (2), Štolová L. (1), Rychlá M. (1), Zelinka T. (3), Musil Z. (4), Guha A. (5), Dušková J. (6), Brož P. (1,7), Vícha A. (1)

1 - Oddělení dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol, 2 - Ústav biologie a lékařské genetiky 2.LF UK a FN Motol, 3 - III. interní klinika - klinika endokrinologie a metabolismu 1.LF UK a VFN Praha, 4 - Ústav biologie a lékařské genetiky 1.LF UK a VFN Praha, 5 - Klinika otorinolaryngologie 3.LF UK a FNKV, 6 - Ústav patologie 1.LF UK a VFN Praha, 7 - BIOXSYS

Školitel: MUDr. Aleš Vícha Ph.D.

Úvod: Feochromocytomy a paragangliomy (feo/para) jsou vzácné neuroendokrinní nádory. Feochromocytomy pocházejí z dřene nadledvin a paragangliomy ze sympatických či parasympatických ganglií. Se vznikem těchto nádorů bylo spojeno více jak 20 různých genů. Podle patologického mechanismu, který vede ke vzniku nádoru v případě mutace v těchto genech, jsou tyto geny rozděleny do 3 clusterů. Tyto clustery jsou: pseudohypoxický, kináza-signalizační a Wnt cluster. U pseudohypoxického clusteru se uvádí možné methylační změny jako důsledek pseudohypoxického stavu.

Cíl: Cílem této práce je identifikovat genomické a somatické mutace u feo/para a tím je zařadit do genetických clusterů. Dále určit změny u těchto nádorů v oblasti 11p15.5 a porovnat frekvenci těchto změn v rámci jednotlivých clusterů.

Materiál a metody: K určení genomických a somatických mutací jsme použili metodu NGS, kde jsme sekvenovali námi designovanou knihovnu zájmových genů. Oblast 11p15.5 jsme zkoumali pomocí metody Me-MLPA, pomocí které jsme určili methylační i numerický stav této oblasti. Tyto výsledky jsme pro potvrzení srovnali s výsledky ze SNP Array metody. Celkem jsme vyšetřili vzorky od 150 pacientů. Genomická DNA byla izolována ze vzorků periferní krve a somatická DNA byla izolována ze vzorků nádorové tkáně.

Výsledky: Do pseudohypoxického clusteru jsme zařadili 18 pacientů. V tomto clusteru jsme rovněž u 13 pacientů našli maternální delecí oblasti 11p15.5 a 1 případ delecí této oblasti bez změny methylace. Do kináza-signalizačního clusteru jsme zařadili 64 pacientů. Změnu ve sledované oblasti 11p15.5 jsme prokázali u 17 z nich. Do Wnt clusteru jsme zařadili pouze 1 pacienta u nějž jsme prokázali maternální delecí sledované oblasti. Celkem 67 pacientů jsme nebyli schopni zařadit do genetických clusterů. Zajímavou nalezenou změnou v oblasti 11p15.5 je nález celkem 5 případů s pUPD této oblasti, což je změna, která dosud nebyla u feo/para popsána. Dle očekávání byla nejčastější změnou maternální delecí oblasti 11p15.5 u 45 pacientů.

Závěr: Celkem 83 pacientů se nám podařilo zařadit do genetických clusterů a 67 nikoliv. Tyto výsledky ukazují, že seznam genů, které podněcují vznik těchto nádorů ještě nemusí být kompletní. Změny v oblasti 11p15.5 se ukázaly být přítomné ve všech zmíněných clusterech i u vzorků, které se do clusterů zařadit nepodařilo. To ukazuje, že změny DNA methylace mohou mít i jinou příčinu než-li pseudohypoxický stav nádorů.

Podpora projektu: Projekt Národní ústav pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

60 - EVALUATION OF THE EFFECT OF SHORT-TERM EXTRACORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION (ECMO) SUPPORT ON PRIMARY HEMOSTASIS USING VON WILLEBRAND FACTOR ANALYSIS

Garaj M., (1), Francesconi A., (2), Hrachovinova I. (3) and Durila M. (1)

1 - Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Second Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic 2 - Faculty of Medicine and Surgery, University of L'Aquila, Italy 3 - Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Miroslav Durila, Ph.D.

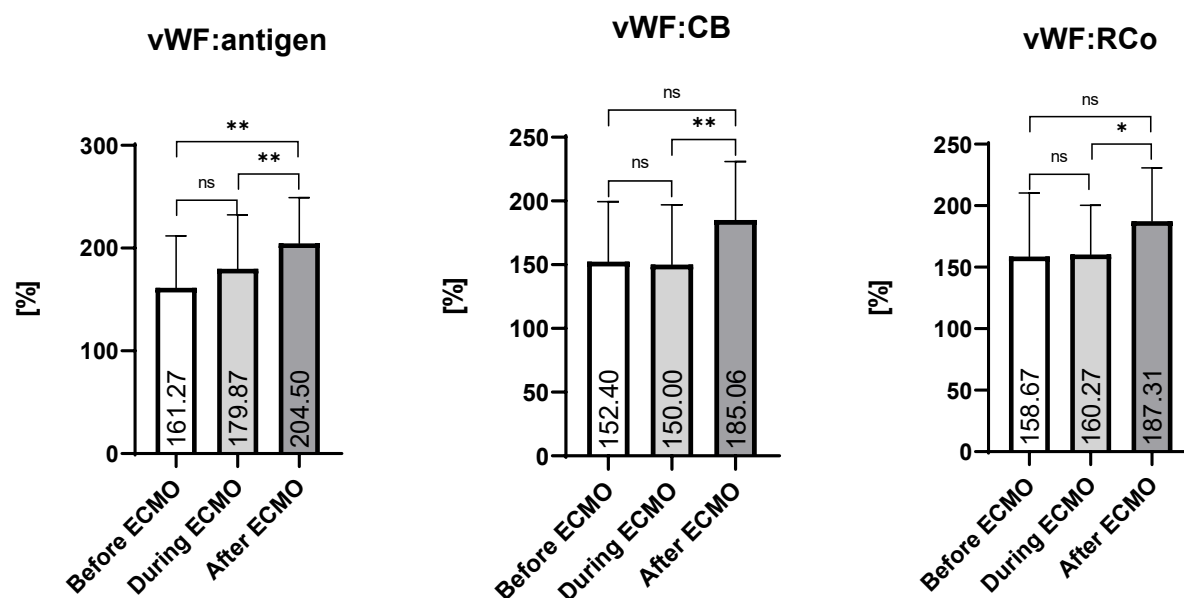
Introduction: Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) support is often associated with pathologies of primary and secondary hemostasis, which can lead to severe bleeding complications. To implement directed therapy, it is important to identify the specific disorders; however, detailed data analyzing primary hemostasis are limited.

Aims: The aim of this study was to assess primary hemostasis during short-term ECMO support through von Willebrand factor analysis using laboratory tests typically employed for the diagnosis of von Willebrand factor deficiency and comparison to the results of Platelet Function Analyzer.

Materials and Methods: Informed consent was obtained from every patient prior to blood sampling. In this study, blood samples from 16 patients undergoing lung transplantation with intraoperative ECMO support were analyzed. Samples were examined in a specialized laboratory for vWF deficiency and analyzed using a Platelet Function Analyzer (PFA). Levels of von Willebrand factor antigen (vWF), ristocetin cofactor (RCo) and collagen-binding protein (CB), as well as closure times (CT) in PFA COL/EPI and COL/ADP, were compared between the samples obtained before, during and after ECMO support.

Results: Non-significant changes were observed between the samples taken before and during ECMO. However, the results after ECMO showed a significant increase in all three tests (Figure 1). The ratios of vWF:RCo/vWF:Ag and vWF:CB/vWF:Ag showed different changes, both ratios decreased significantly between the before and during ECMO groups, while the increase between during and after ECMO group was not significant (Figure 1). Nevertheless, all these ratios remained above the pathological threshold of 0.7. In contrast, the PFA results showed different patterns (Figure 2). CT in both tests performed increased significantly in during ECMO group with rapid restoration after the cessation of ECMO support.

Figure 1 von Willebrand factor quantity and activity results



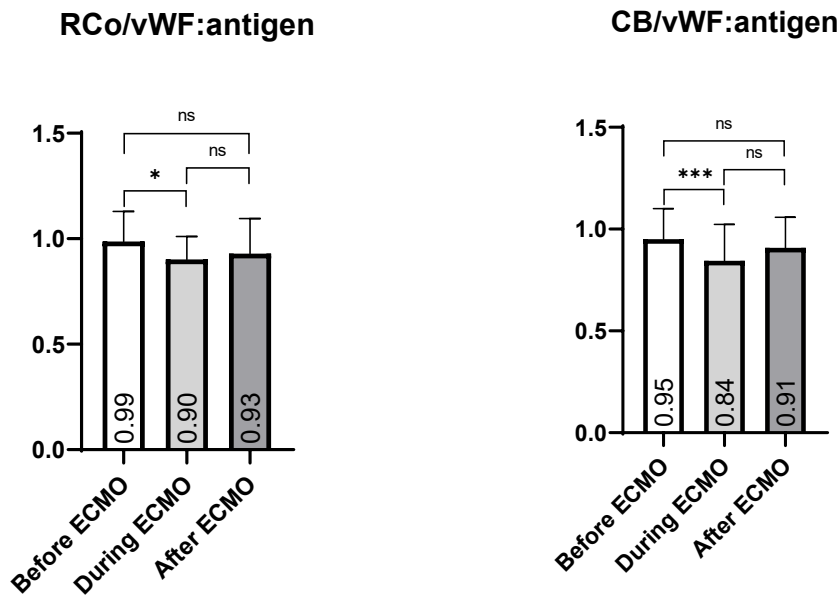
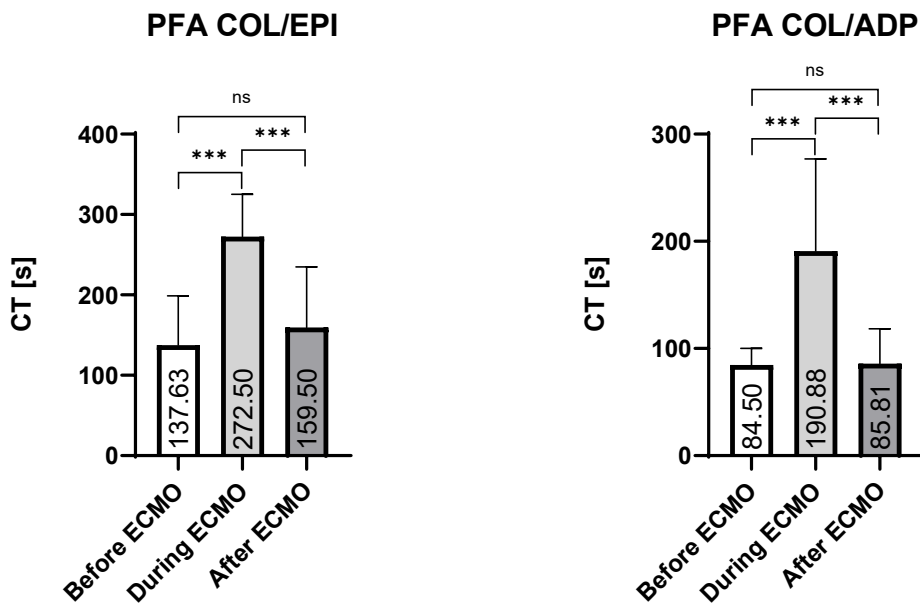


Figure 2 PFA results



Conclusions: Analysis of vWF does not fully explain the nature of primary hemostasis disorders in patients with short-term ECMO support. According to our results, increased levels of vWF antigen may indicate the development of endothelial dysfunction caused by shear stress or systemic inflammatory response syndrome due to the surgical procedure or an ECMO support. This phenomenon could explain the rapid restoration of primary hemostasis observed in the PFA results after ECMO support cessation. These findings may influence the treatment of ECMO-induced primary hemostasis disorders.

Support: The Ministry of Health of the Czech Republic – grant No.: 00064203.

61 - RENÁLNÍ POSTIŽENÍ U PEDIATRICKÝCH PACIENTŮ SE ZÁNĚTLIVÝM STŘEVNÍM ONEMOCNĚNÍM

Švábová E. (1), Zieg J. (1), Bauer D. (2), Gonsorčíková L. (2)

1 - *Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol*, 2 - *Pediatrická klinika 1. LF UK a FTN*

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

Úvod: Incidence zánětlivých střevních onemocnění celosvětově stoupá a to zejména v dětské populaci. Extraintestinální manifestace postihují různé orgány. Nejčastěji jsou kromě střev postiženy klouby, kůže, žlučové cesty a oči. Dalším orgánem, který může být v rámci základního onemocnění zasažen, jsou ledviny. Nejobvyklejší renální projevy zánětlivých střevních onemocnění zahrnují nefrolitiázu a dále také onemocnění renálního parenchymu - tubulointersticiální nefritidu, glomerulonefritidu a amyloidózu.

Cíl: Popsat frekvence jednotlivých typů renálního postižení u pacientů s IBD.

Stanovit koncentrace tubulárních markerů v moči u pacientů s IBD.

Provést metabolické vyšetření litogenních látek v moči a určit riziko tvorby litiázy ve skupině pacientů s IBD.

Materiál a metody: 139 pacientů se zánětlivým střevním onemocněním (IBD - Inflammatory Bowel Disease) - 80 s Crohnovou chorobou (CD - Crohn's disease), 54 s ulcerózní kolitidou (UC - ulcerative colitis) a 5 s neklasifikovatelným zánětlivým střevním onemocněním (IBD-U, unclassified).

Biochemické vyšetření krve a moči. Z moči kvantitativní stanovení bílkoviny, tubulárních markerů a určení koncentrace litogenních látek (oxalát) a protektivně působících metabolitů (citrát). Ultrazvuk ledvin.

Výsledky: V souboru 139 pediatrických pacientů s IBD jsme identifikovali 4 pacienty (2,88 %) s albuminurií, stejný počet pacientů s proteinurií. Incidence není vyšší než v běžné populaci.

Mikroskopická hematurie byla identifikována u 9 pacientů (6,47 %), což je lehce vyšší incidence než v běžné dětské populaci.

U více než poloviny pacientů (54,67 %) byly v moči zvýšené tubulární markery (alfa-1-mikroglobulin; N-acetyl-beta-D-glukosaminidáza), které značí poškození ledvinných tubulů. U 41 pacientů (29,49%) byla změřena odhadnutá glomerulární filtrace (s využitím koncentrace cystatinu C v krvi) nižší než 90 ml/min/1,73m² (odpovídá kategorii CKD 2. stupně dle KDIGO klasifikace).

U 1 pacienta s CD byla histologicky potvrzena IgA nefropatie.

Závěr: U pacientů s IBD je výskyt renální patologie (klinicky manifestní, subklinické) vyšší než v běžné populaci.

V našem souboru jsme ve významném procentu identifikovali elevaci markerů poškození ledvinných tubulů v moči, mikroskopickou hematurii, možné litogenní riziko a sníženou glomerulární filtraci.

Podpora projektu: grant MH CZ – DRO Thomayer University Hospital – TUH, 00064190

ČT - 25

62 - NOVÉ A NEOBVYKLÉ FÚZNÍ GENY V ANEURYZMATICKÉ KOSTNÍ CYSTĚ, JEJICH ROLE V PATOGENEZI A HISTOPATOLOGICKÁ EVALUACE TÉTO CHOROBY

Golas W.* (1), Balko J.* (1), Kašpar L. (1), Krsková L. (1), Strnadová M. (1), Kotiš J. (1), Zámečník J. (1)

1 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole *sdílené první místo

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. Josef Zámečník, PhD.

Úvod: Podrobná znalost genových přestaveb v aneuryzmatických kostních cystách je v diagnostickém procesu důležitá pro odlišení skutečné aneuryzmatické kostní cysty (ABC) a lézí (benigních i maligních), ve kterých jsou ABC-like změny sekundárně a tím zastírají původní patologický proces.

Přestavby genu USP6 (charakteristické pro ABC ale i další související nádory) jsou zajímavé i akademicky - v posledních letech dochází k objevům, které odhalují mechanismy patogeneze USP6-asociovaných lézí a nabízí nový způsob jak se na tyto diagnostické jednotky dívat.

Cíl: Popsat nové a neobvyklé fúzní partnery genu USP6 v aneuryzmatické kostní cystě (ABC) a v diskuzi rozvést, jak tyto geny zapadají do kontextu nejnovějších poznatků v patogenezi ABC a dalších nádorů, pro které jsou charakteristické přestavby genu USP6.

Materiál a metody: Kohorta sedmi pacientů diagnostikovaných s aneuryzmatickou kostní cystou mezi lety 2014 a 2023 ve FNM byla zařazena do této retrospektivní, nerandomizované studie. Všechny případy byly hodnoceny histopatologicky, imunohistochemicky a pomocí metod molekulární patologie. Demografické údaje a klinická data byla také analyzována.

Výsledky: Popisujeme jsme dva nové (ZFX a IP6K2), tři neobvyklé (MEF2A, EIF1 a COL1A2) a dva běžné (CDH11) fúzní partnery s genem USP6 v kohortě všech sedmi pacientů.

Závěr: Případy v naší studii byly diagnostikovány jako ABC pro charakteristické morfologické rysy a příznačnou klinickou prezentaci. Výsledky byly poté ověřeny i molekulárně. Avšak ne všechny případy jsou tak jednoznačné a molekulární testování je v takových případech nutností pro odlišení skutečné aneuryzmatické kostní cysty a řady benigních i maligních procesů. Nové genové přestavby z naší práce nejen přispívají k přesnější diagnostice, ale jsou zajímavé i v akademické rovině při výzkumu patogeneze USP6-asociovaných lézí.

63 - T-CELL RECEPTOR IMMUNOPROFILING FOR DIAGNOSIS AND MONITORING OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN PATIENTS WITH ALK-POSITIVE ANAPLASTIC LARGE CELL LYMPHOMA

Skotnicova A.(1), Kalinova M.(2,3), Šeferna K. (1), Mrhalova M.(4), Kabickova E.(1), Svaton M.(1), Prouzova Z.(2,8), Krenova Z.(5), Kolenova A.(6), Divoka M.(7), Kodet R.(4), Fronkova E.(1)

1 - CLIP, Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Charles University Prague, Czech Republic 2 - Department of Pathology, 3rd Faculty of Medicine Charles University Prague, Czech Republic 3 - Central Laboratories, Faculty Hospital Kralovske Vinohrady, Prague, Czech Republic 4 - Department of Pathology and Molecular Medicine, 2nd Faculty of Medicine Charles University Prague, Czech Republic 5 - Department of Pediatric Oncology, University Hospital Brno and Department of Pediatrics, Faculty of Medicine Masaryk University Brno, Czech Republic 6 - Department of Pediatric Hematology and Oncology, Faculty of Medicine, Comenius University Bratislava, Slovak Republic 7 - Department of Hematooncology, Faculty Hospital Olomouc, Czech Republic 8 - Department of Pathology, 1st Faculty of Medicine Charles University Prague and VFN, Czech Republic

Supervisor: prof. MUDr. Eva Froňková, Ph.D.

Introduction: Detection of immunoglobulin (Ig) and T-cell receptor (TR) rearrangements has long been used to determine clonality and minimal residual disease (MRD) in lymphoid malignancies, though it is methodologically challenging. A recent study demonstrated that a new method for Ig/TR detection is particularly effective in children with acute lymphoblastic leukemia, surpassing existing techniques (Svaton & Skotnicova, Blood 2023).

Aims: We aimed to assess whether this method is applicable to anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma (ALK+ ALCL) and to compare its performance with current standards. ALK+ ALCL, a T-lineage malignancy, is characterized by rearrangements of the ALK gene. TR analysis can reveal both the clonality of malignant cells and the repertoire of physiological T-cell clones.

Materials and Methods: We analyzed TR beta (TRB) and TR gamma (TRG) rearrangements using amplicon NGS and estimated potential antigen reactivity (e.g., against tumor neoantigens or viruses) based on TR sequences from existing databases. Quantitative RT-qPCR was employed to measure the expression of the translocated ALK gene.

Results: We studied 96 ALK+ ALCL patients. High expression of the translocated ALK gene segment, serving as a diagnostic and MRD marker, was found in all 93 analyzed samples. TCR testing was performed on 23 patients with available DNA, and at least one clonal TR rearrangement (ranging from 1-4) was identified in 18 patients (78%). In 59% of cases, clonal TCR junctions corresponding to ALCL cells had sequences previously observed in healthy donors or under pathological conditions (e.g., viral infections), suggesting they evolved from normal reactive T-cell clones. The residual TR repertoire was oligoclonal in some patients, and distinguishing between tumor and reactive rearrangements based solely on sequence and frequency, particularly for TG, was challenging. Reactive clones were private and did not occur across different patients.

Conclusions: RT-qPCR detection of ALK expression is a rapid and reliable method for diagnosing and monitoring treatment response in ALK+ ALCL patients, regardless of ALK gene translocation. The unique malignant and reactive TCR repertoires in ALK+ ALCL patients do not consistently appear across patients. The absence of consistent TR clonality and the presence of large reactive clones in some patients suggest that this assay may be more suitable for studying disease pathogenesis rather than serving as a reliable diagnostic marker.

64 - MOUSE EEG-MONITORING SETUP FOR STUDYING SPATIO-TEMPORAL PROFILES OF EPILEPTIC ACTIVITY

Scheibel M., Kylarová S., Králíková M., Biačková M., Doležal F., Chvojka J., Jiruška P., Kudláček J.

Department of Physiology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Pregraduate student

Supervisor: Ing. Jan Kudláček Ph.D.

Introduction: Epilepsy is a serious chronic disease affecting 0.5 to 1% of population. One of the main diagnostic and research tools is continuous long-term EEG. Additionally, valuable information can be obtained using active probing techniques such as electrical or optogenetic stimulation. However, recording from freely moving animals over months brings several challenges which we successfully dealt with.

Aims: Our goal was to create multichannel, long-term monitoring setup for mice, that will allow recording of EEG from different parts of brain for several months, electrical stimulation and optogenetic stimulation.

Materials and Methods: For EEG recording, we used a commercially available recording hardware (Intan Inc.). We further equipped the tether cable with a self-made motorized slip ring and balanced mechanical arm to enable full free movement of the animal and to prevent damage to the unit. To test the feasibility of long-term recording and resolving the spatio-temporal profiles of epileptic activity, we implanted 2 mice with 140µm silver wires in multiple brain regions and induced epileptic activity by electrical stimulation. The electrodes were implanted in the regions functionally close to the parietal cortex (parietal cortex and thalamus) and regions more distant (dorsal hippocampus, amygdala, entorhinal cortex and corpus callosum). For testing of the optogenetic stimulation, we used a different mice model with Channelrhodopsin2, which we activated by a 5mm blue LED through a chronic cranial window.

Results: We built 32 recording positions, 10 of them are capable of multichannel electrical stimulation or optogenetic stimulation. With this hardware, we were able to record continuous EEG data for up to 12 weeks. As a test of resolving the spatio-temporal profile of epileptic activity, we used electrical stimulation of the left parietal cortex by a 20 s pulse train at 8, 20 or 50 Hz, all of which induced epileptic afterdischarges. Analysis showed that the stimulated cortex and functionally close regions displayed higher amplitude of the afterdischarge than the distant regions (mean difference of 0.28 and 0.21 mV in the two mice). Optogenetic stimulation resulted in visible electrographic responses in the recorded signal.

Conclusions: We built a sophisticated unit for long-term EEG recording and brain stimulation. We showed that pulse train cortical stimulation induced epileptic afterdischarge with distinct spatio-temporal profile.

Support: Supported by grant from Charles University and the Czech Health Research Council (NU21-08-00533, NU21-04-00601).

65 - TINNITUS-RELATED CHANGES IN GABAB RECEPTOR EXPRESSION IN THE MOUSE DORSAL COCHLEAR NUCLEUS

Melichar A. (1), Hruskova B. (1), Rybalko N. (1), Suchankova S. (1), Janacek J. (2), Turecek R. (1)

1 - Department of Auditory Neuroscience, Institute of Experimental Medicine CAS, Prague 2 - Department of Biomathematics, Institute of Physiology CAS, Prague

Supervisor: RNDr. Rostislav Turecek Ph.D.

Introduction: Tinnitus is the phantom perception of sound in the absence of external stimuli, arising from yet unexplained processes. The typical neural correlate of tinnitus is hyperactivity of neurons in the dorsal cochlear nucleus (DCN), the first auditory processing station in the brainstem. This is thought to arise as a result of an adaptive reduction in GABA/glycinergic inhibition following sensorineural hearing loss, but the exact mechanisms have not yet been identified.

Aims: We aimed to demonstrate a causal link between changes in the distribution and function of inhibitory GABAB receptors in the DCN and the presence of tinnitus in mice. GABAB receptors are important regulators of cellular excitability, with a wide distribution in neural tissue, including the auditory system. We therefore expected that a decrease in GABAB function would accompany the development of tinnitus in mouse models.

Materials and Methods: Tinnitus was induced by acoustic trauma or deletion of the GABAB receptor auxiliary subunit, the KCTD12 protein, and its presence was assessed by behavioural methods based on gap pre-pulse inhibition of acoustic startle reflex. The distribution of GABAB receptor subunits was analysed by quantitative immunohistochemistry and functional changes were studied by electrophysiology.

Results: Consistent with previous studies, we found GABAB receptors in the pre- and postsynaptic parts of mouse DCN neurons. Induction of tinnitus resulted in decreased expression of core and auxiliary subunits and receptor dysfunction in somatodendritic but not axonal compartments. Cells showing these changes were identified as a subpopulation of DCN inhibitory neurons, cartwheel cells.

Conclusions: Tinnitus is accompanied by specific changes in GABAB receptor distribution and function in the mouse DCN. Based on the data, we proposed a plausible model of the pathophysiological consequences of impaired GABAB function for the activity of neural circuits in this nucleus. The model could help explain the hyperactivity of DCN neurons observed after tinnitus induction in mammals, including humans.

Žáková Š.(1), Pončáková K. (2), Kachlík D.(3)

1 - Ústav anatomie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, V Úvalu 84, Praha 5, 150 06, Česká Republika 3 - Centrum pro endoskopickou, chirurgickou a klinickou anatomii (CESKA), 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, V Úvalu 84, Praha 5, 150 06, Česká Republika

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Úvod: Vena jugularis externa vzniká soutokem vena auricularis posterior a zadní větve vena retromandibularis. Jedná se o žílu, která odvádí krev z povrchových oblastí temene, týlu hlavy a hlubokých oblastí obličeje.

Cíl: Tento výzkum byl proveden za účelem prokázání bezpečnosti katetrizace vena jugularis externa ke klinickému využití především v urgentní medicíně. Naší snahou bylo dokázat, že by se mohlo jednat o další možnou cévu, která by mohla být lékařem v případě potřeby využita.

Materiál a metody: Anatomie této žíly byla analyzována pomocí zobrazovacích metod a pitevní studie. Do retrospektivní studie bylo zahrnuto 110 dospělých anonymizovaných pacientů stredoevropského původu, u nichž byly provedeny počítačové tomografické (CT) skeny. K analýze CT snímků jsme používali program Syngovia. Měřili jsme parametry ve třech různých rovinách (axiální, koronární a sagitální). Axiální rovina byla využita zejména ke stanovení průměrů vena jugularis externa, tak abychom mohli potvrdit, že periferní žilní katetr se do dané žíly vejde.

Zároveň jsme určovali vzdálenost mezi vena jugularis externa a dalšími důležitými strukturami v její blízkosti (vena jugularis interna, arteria carotis communis, povrch těla, arteria a vena subclavia, plicní apex) k vyloučení rizika poškození. Na základě shromážděných dat jsme určili ideální oblast pro katetrizaci vena jugularis externa, kterou je polovina vzdálenosti mezi gonionem a začátkem klíční kosti. Abychom potvrdili výsledky našich CT skenů, provedli jsme stejná měření na 6 dospělých kadaverech taktéž evropského původu.

Výsledky: Počítačová tomografie odhalila několik abnormalit. Na námi určené axiální úrovni (polovina vzdálenosti mezi gonionem a začátkem klíční kosti) byla vena jugularis externa rozdvojena ve třech případech (2,73%). V 82 případech odtékala vena jugularis externa bilaterálně do terminální části vena subclavia. V 10 případech odtékala do terminální části vena jugularis interna (8,18%) a ve třech dalších případech se spojila s vena cephalica (2,73%). V 15 případech nebylo možné určit, kam vena jugularis externa odtéká.

Závěr: Dle výsledků studie je katetrizace vena jugularis externa pomocí standardně využívané techniky vzhledem ke zmapované anatomii dané oblasti a vzdálenosti k okolním strukturám bezpečná. Riziko poškození hrozí v 7,2%, kdy je vzdálenost mezi vena jugularis interna a externa menší nebo rovna 5 mm. V 5,45% nebyla vena jugularis externa vůbec přítomná.

Kantor J., Tkadlec J., Antušková M., Dřevínek P.

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

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

Úvod: Bakteriologická diagnostika je standardně založená na kultivaci na růstových médiích vyžadující dělení (růst) bakterií. Řada bakteriálních infekcí je však způsobena obtížně kultivovatelnými bakteriemi či bakteriemi, jejichž dělení je utlumeno antibiotickou (ATB) léčbou podávanou v okamžiku odběru biologického materiálu (BM). Senzitivita kultivace je rovněž omezená při nízké kvantitě bakteriálních buněk ve vzorku BM. Příkladem těchto infekcí jsou kloubní infekce (JI), infekce chlopní a chlopenních náhrad (IE) a infekce tkání (TI). Z tohoto důvodu se od přelomu tisíciletí dostávají do popředí metody molekulární mikrobiologie (MM) založené na PCR a sekvenování.

Cíl: Cílem projektu je vytvořit workflow molekulární diagnostiky kultivačně negativních bakteriálních infekcí s důrazem na JI, IE a TI.

Materiál a metody: Vzorky primárně sterilního BM, především tkáně a tělní tekutiny (krev, pleurální obsah, kloubní tekutina, mozkomíšni mok aj.) z klinik FN Motol, jsme vyšetřovali kultivačně a paralelně metodou broad-range 16S rDNA PCR (UMD-SelectNA, Molzym, Německo a CFX96, BioRad, USA) a následně Sangerovy sekvenace (ABI 3130xl, Applied Biosystems, USA). Vstupní kritéria byla: 1) kultivačně i broad-range PCR vyšetřený vzorek A odebraný před zahájením ATB léčby, 2) mikrobiologicky stejně vyšetřený vzorek B, což byl stejný typ BM odebraný stejnému pacientovi ze stejné lokalizace s odstupem jednoho týdne až tří měsíců a 3) bez ohledu na výsledek kultivace je metodou broad-range PCR pozitivní alespoň vzorek A.

Výsledky: Identifikovali jsme 559 dvojic vzorků splňujících vstupní kritéria studie. Žádný ze vzorků (A ani B) nebyl pozitivní pouze kultivačně. 106 (19 %) vzorků A bylo kultivačně falešně negativních. 77 případů (14 %) byly perzistentní infekce, tj. stejná bakterie byla detekována i ve vzorku B, přičemž falešná kultivační negativita vzorků B byla 88 % (68/77).

Závěr: Ačkoliv jsou metody MM v současnosti doplňkovými metodami rozšiřujícími možnosti bakteriologické diagnostiky, mají potenciál stát se primárními metodami pro detekci a charakterizaci agens některých bakteriálních onemocnění, jako jsou JI, IE a TI, především pro výše uvedenou kultivační falešnou negativitu. Výše uvedené vzorky, archivované ve formě izolátů DNA, podrobíme celogenomovému sekvenování za účelem stanovení klinicky významných genů, jako jsou geny virulence a rezistence vůči antibiotikům, jež mohly být příčinou selhání ATB léčby při pozitivitě vzorků B.

Podpora projektu: Výzkum je podporován Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt č. 116224).

vzorek	celkem	PCR+, K+	PCR+, K-	PCR-, K+	PCR-, K-
A	559	453 (81 %)	106 (19 %)	0	0
B	559	9 (2 %)	68 (12 %)	0	482 (86 %)

Legenda k tab.: PCR: 16S rDNA (broad-range) PCR, K: kultivace, +: pozitivní, -: negativní

72 - RELATIONSHIP BETWEEN DISCRIMINATION AND PERSECUTION AND MEMORY IN OLDER ADULTS IN CENTRAL AND EASTERN EUROPE

Koch-Hale B. (1), Fischer M.(2), Wolfova K.(1,3), Avila-Rieger J. (4), Kučera M. (1,5,6), Brennan Kearns, P. (1), Dominika Seblova, D. (1)

1 Department of Epidemiology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic 2 Department of Clinical Sciences/Faculty of Medicine, Lund University, Lund, Sweden 3 Department of Neurology, Columbia University, New York, USA 4 Department of Neurology, Vagelos College of Physicians & Surgeons Taub Institute for Research on Alzheimer's Disease & the Aging Brain, Columbia University, New York, New York, USA 5 National Institute of Mental Health, Klecany, Czech Republic 6 Amsterdam Public Health Research Institute, Faculty of Science, Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

Pregraduate student

Supervisor: Dominika Seblova, PhD

Introduction: Discrimination can adversely affect targeted groups including worsening of socioeconomic status (SES) and mental and physical health. Central and Eastern European countries (CEE) have a long history of discrimination and persecution, yet the effects on cognition remain largely unexamined in this demographic.

Aims: To explore the link between an index measure of discrimination or persecution and memory performance in countries situated in CEE.

Materials and Methods: Respondents from 11 countries were studied in wave 7 of the Survey of Health, Ageing, and Retirement in Europe. Our exposure was quantified by summing instances of reported discrimination or persecution and its impacts (e.g., job loss, property dispossession, etc.) (categories: one, two, three, four+ experiences). Memory performance was assessed by standardizing and combining immediate and delayed recall scores into a composite z-score. The relationship between our exposure and memory was evaluated using linear regression models that accounted for country-specific factors and adjusted for age, sex, and childhood SES. A secondary model adjusted for educational attainment, a potential confounder depending on the timing of discrimination.

Results: 13.7% of the sample (n = 24,339; 59% female; 67.2 mean age) reported at least one experience of discrimination or persecution. Those reporting at least one experience of discrimination or persecution were older (70.4 vs 66.7), had higher education (11.8 vs 11.1 years) and childhood SES compared to those who did not have these experiences. Experiencing discrimination three and four + was associated with 0.01 higher standard deviation (95% confidence interval (CI): 0.05 to 0.16) memory adjusted for age, sex, and SES. After adjusting for education, memory scores were higher by 0.07 and 0.08 standard deviations (95% CI: 0.02 to 0.13; 95% CI: 0.03 to 0.13) for three and four + experiences, respectively. Those with one or two experiences of discrimination, which were the most common categories, did not have higher memory scores compared to those who had no reported experiences.

Conclusions: Individuals who experienced repeated discrimination or persecution were more educated and performed better on memory tests in older age. This suggests they may have been dissidents who, despite ongoing challenges, remained engaged in intellectual pursuits that preserved their cognitive abilities. Further research should investigate why those with only 1-2 experiences of discrimination or persecution did not perform better on memory tests than those who has none.

Support: PRIMUS research program (PRIMUS/22/MED; PI Seblova)

ST - 32

74 - VISIBLE HUMAN PROJECT APPLICATIONS CAN PROMPT INTEGRATING CROSS-SECTIONAL ANATOMY INTO MEDICAL SCHOOL CURRICULUM COMBINED WITH RADIOLOGICAL MODALITIES

Al-Redouan A. (1,2), Dudin A. (1,2), Urbaneka AJ. (1,2), Olsson E. (1,2), and Kachlík D. (1,2)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: Cross-sectional anatomy is a challenging yet a vital foundation to clinical practice. Medical students at the Second Faculty of Medicine of Charles University in Prague, Czech Republic, joined optional courses and appended sessions during the academic years of 2020/2021 to 2023/2024 specifically to learn cross-sectional anatomy.

Aims: To provide an integrative approach utilizing the Visible Human Project based applications and basic radiological modalities.

Materials and Methods: Three consecutive courses were implemented: cross-sectional anatomy utilizing the virtual dissection table (Anatomage) interactively beside MRI and ultrasound; followed by two ultrasound anatomy courses (internal organs, musculoskeletal regions). The performance of 50 participants was evaluated in the form of a written test comprised of labeling of ten cross-sectional images and drawing of two cross-section schemes. The results of the written tests were compared to their results in the obligatory anatomy subject. The participants attitude toward the training lessons was assessed through a survey focused on satisfaction level, competence and ability to recognize structures on radiological images.

Results: The participants reported a high level of practical engagement. The test scores in the anatomy obligatory subject were positively influenced by this implemented practical course. Students showed improved test scores in the standardized labeling keyword questions, while the scheme questions showed discrepancy.

Conclusions: Recognizing anatomical structures and topographical spaces on cross-sectional images via CT/MRI DICOM viewer and real-time ultrasound is an essential practical skill that can be better equipped when trained from an early stage of the medical curriculum. Inevitably, cadaveric dissection and prosection remain the cornerstone of gross anatomy education. Integrating both modalities of teaching would excel students' practical skills in applied clinical anatomy.

Support: The 4EU+ European University Alliance; Grant number: 4EU+ 2021_F1_06.

75 - ULTRASOUND PROTOCOL TO VISUALIZE THE SUPRASCAPULAR NOTCH ANATOMY: A NOVEL ANTERIOR APPROACH

Al-Redouan A. (1,2), Kriskova P. (1,2), Theodorakioglou A. (1,2), Sadat M. (1,2), Shailesh D. (1,2), Dominguez Raposo da Fonte P. (1,2), and Kachlík D. (1,2)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: Visualizing the suprascapular notch on radiographic images is challenging. Ultrasound of the suprascapular notch had been performed only from a superior shoulder approach projecting a posterior view. Ultrasound anterior view has not been presented in the clinical practice and has been believed not to be possible.

Aims: We provide a shoulder maneuver giving anterior ultrasound visibility of the suprascapular notch with a protocol to evaluate the suprascapular notch space.

Materials and Methods: Sonography of the superior shoulder region was bilaterally experimented on ten young healthy (five females and five males) volunteers of age ± 21 , with prior written consent. The used ultrasound device was CANON APLIO i800, and the transducer was Aplio's i-series24 MHz Ultra-High Frequency iDMS Linear (i24LX8). We experimented scanning the superior and anterior area of the shoulder at differing angles with USP explorative manipulations. Different shoulder maneuvers were attempted in seated and lying positions. The protocol was then tested by the main observer followed by the other five observers under the main observer guidance on all the ten volunteers.

Results: Ultrasound anterior view of the suprascapular notch was achieved by four step maneuver: 1) Arm abduction in approximately 45° degrees lifting up the supraspinatus muscle and clavicle. 2) Arm external rotation with flexed forearm lowering the subscapularis muscle. 3) The probe was placed under the clavicle on the palpable base of the coracoid process, which is the lateral border of the suprascapular notch. 4) The medial border of the suprascapular notch was identified by locating the omohyoid muscle which was confirmed by neck rotation to the opposite side until visibly stretched on the screen. The visibility is BMI and shoulder size dependent.

Conclusions: We have provided an algorithm to assess the suprascapular notch stenosis in cases of suspected suprascapular nerve entrapment.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 266222.

76 - THE JUGULAR FORAMEN IS RATHER A CANAL WITH DISTINCTIVE MORPHOLOGICAL CONFIGURATION CONCERNING ITS CLINICAL ANATOMY AND SURGICAL IMPLICATIONS

Al-Redouan A. (1,3), Bacar Zl. (1,3), Oni OM. (1,3), Racanska M. (2), Oliveira IMC. (1,3), Vanatkova V. (2), Musilová B. (2,4), Salavova S. (1,3), Joukal M. (2), and Kachlík D. (1,3)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno. 3. Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic. 4. Department of Neurosurgery, České Budějovice Hospital, České Budějovice, Czech Republic.

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: The jugular foramen is rather a complex anatomical structure with internal configuration. Its osteomorphology was assessed and evaluated on MRI sections.

Aims: To redefine this rather long bony passage as a jugular canal based on its morphometric data.

Materials and Methods: The jugular foramen was endocranially and exocranially observed and measured by a digital Vernier caliper bilaterally in 402 dry skulls with opened cranial cavity. The following parameters were measured and analyzed statistically: 1) external and internal widths in the mediolateral dimension, 2) external and internal lengths in the anteroposterior dimension, 3) depth between the external and internal planes of the foramen. The jugular foramen/canal was classified based on its appearance and its morphometric features.

Results: The mean length of the jugular canal was approximately 12 mm (12.25 mm – right, 11.76 mm – left) and was longer on the right side ($p = .05$). Its external opening was found to be slightly larger than the internal opening ($p = .07$ – right, $p = .06$ – left). The jugular canal took three distinctive course patterns of straight (47.6%), curved (45.5%), and angulated (6.9%). Its openings exhibited three types based on their morphometric analysis: 14.4% Type-I (width = length ± 1 mm), 9.8% Type-II (width > length), and 75.9% Type-III (width < length). The size of the external opening into the jugular canal was larger than its internal opening (straight: $p = .08$ – right and $p = .07$ – left), (curved: $p = .03$ – right and $p = .03$ – left), (angulated: $p = .03$ – right and $p = .04$ – left).

Conclusions: The jugular foramen should be regarded clinically as a canal. It is composed of internal and external openings where the jugular fossa resides in between. The provided osteomorphological variations of the jugular canal would enhance the diagnostics and surgical planning in jugular foramen syndromes radioimaging and surgical interventions.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 266222.

Al-Redouan A. (1,2), Orujova S. (1,2), Mechael H (1,2), Lehto C. (1,2), Dudin A. (1,2), Kjirkovikj I. (1,2), Oliveira MCI. (1,2), Branca S. (1,2), Urbanek AJ. (1,2), and Kachlík D. (1,2)

1. *Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.* 2. *Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.*

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: The vertebrobasilar complex consists of paired vertebral and unpaired basilar artery arranged in a rather variable geometric configuration. Vertebrobasilar complex is the third contributor to the brain vascular supply dominating the posterior aspect of the brain base circulation. It's an arterial confluence with un-solidified understanding of its hemodynamic regulation. The morphology of the vertebrobasilar complex confluence is highly variable and this variability would affect the distal flow at the anastomosis site at the circle of Willis. The anatomical and pathological knowledge of the vertebrobasilar complex features some gaps.

Aims: To profile the vertebrobasilar complex anomalies.

Materials and Methods: Scoping review was conducted to survey the VBC configuration. a comprehensive list of reported anomalies concerning the vertebrobasilar complex was constructed and their incidence were analyzed.

Results: The literature review revealed several anomalies. The vertebral artery was found duplicated in 21 right and 27 left vertebral arteries with variable origins: One case originated from the internal carotid artery while 16 from the common carotid artery; four cases arose from the brachiocephalic trunk, five cases arose from the subclavian artery, three cases arose from the aortic arch, and nine cases from both subclavian and aortic arch. The basilar artery was found tortuous in 217 cases and the vertebral artery in 307 (19 unilateral tortuosity, 6 bilateral tortuosity). Atherosclerotic plaques were reported in 134 vertebrobasilar complex cases with tendency to be type associated with differing pattern in the walking type of vertebrobasilar complex than the lambda type. Congenital anomalies of 54 vertebral artery hypogenesis were reported with one case of associated persistent primitive hypoglossal artery.

Conclusions: The vertebrobasilar complex seems to be affected by certain types of anomalies. The vertebral artery could be duplicated in some variants. The vertebrobasilar complex is subjected to vascular tortuosity. The morphological type of the vertebrobasilar complex is likely associated with patterns of plaques localization and distribution.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 266222.

78 - VASCULAR TORTUOSITY CASE REPORT AND SCOPING REVIEW OF TORTUOSITY SEVERITY ASSESSMENTS METHODS

Al-Redouan A. (1,2), Kjikrovikj I. (1,2), Dudin A. (1,2), and Kachlík D. (1,2)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: Arterial tortuosity syndrome is a rare congenital connective tissue condition disorder characterized by widespread of tortuous and elongation vessels that carry risk of stenosis and aneurysms. Mainly medium-size arteries are affected. The aorta and retinal vessels are noticeably involved. The gross morphology of these syndromes seems to be highly variable and inconsistent.

Aims: To report the encountered vascular tortuosity syndrome and to evaluate the current morphological diagnostic methods.

Materials and Methods: This is an arterial tortuosity cadaveric specimens case report supplemented with a scoping review.

Results: All the major vessels were found to be tortuous. The arteries exhibited more apparent twists than their counterpart veins. The splenic artery was coiled with three turns and the splenic vein was tortuous. The scoping review revealed 27 relevant articles: ten case reports, five articles discussing diagnostic methodologies, nine vascular pathoanatomical studies, and three narrative review articles. Generalized tortuous vessels were reported and investigated in six articles, two of them were reporting neonatal incidence. Localized and isolated arterial tortuosity were reported and investigated in 15 studies in which the following arteries were the main focus: abdominal and thoracic aorta in two separated articles, common carotid artery in three articles, coronary arteries in one study, distal limbs in a case report, vertebrobasilar complex in two cases, one study assessed a patient's bulbar conjunctival vessels, and four studies concerned the retinal vessels tortuosity.

Conclusions: The severity of arterial tortuosity is measured by the number of twists and by measuring the peak of the kinged pointed deviated from the arterial baseline as a "parabola curve" coursing line.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 266222.

79 - CORACOID PROCESS OSTEOMORPHOLOGY IN CORRELATION TO SUB-CORACOID SPACE IMPINGEMENT

Al-Redouan A. (1,2), Shaji V. (1,2), Omprakash KH. (1,2), Benjamin R. (1,2), Wang S. (1,2), Nambiar K. (1,2), Kriskova P. (1,2), Bash SG. (1,2), Olson CVL. (1,2), Patel RS. (1), Itani MD. (1), Khalid J. (1), Salavova S. (1,2), and Kachlík D. (1,2)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: The coracoid process is a scapular structure composed of intervals, which includes the base of the coracoid, the angle of coracoid, the shaft, and ends at the apex of coracoid process. These are landmarks that demarcate in space the shift of the structure's curving pattern and are potentially the sites of fractures, which can be mapped into a morphological risk index. Opposite to the angle of coracoid process is the coracoglenoid notch. The curving acuity of the coracoglenoid notch governs the subcoracoid space and plays role in subcoracoid impingement syndrome.

Aims: To profile and classify the coracoid process morphology concerning its effect on the subcoracoid space.

Materials and Methods: In order to measure coracoid process morphometry, a digital library of 180 dry scapulae was constructed for image analysis. Each scapula was individually photographed with a focus on the coracoid process and photos were taken perpendicular to the plane of anterior projection with a tape measure for scaling. All photos were analyzed using FIJI (ImageJ) software (version 2.1.0/1.53c). Within the FIJI interface, each image of the coracoid process was scaled by a 10 mm straight line measurement of the in-photo tape measure for distance-dependent data to be reported as pixels/mm. Scalar measurements were taken of the coracoid process length, thickness (vertical, diagonal, and horizontal), width, and circumflex, and a curvature measurement was computed for the lateral projection of the coracoid process.

Results: Morphometric measurements (reported as median \pm IQR, n = 150): Length: 44.6 \pm 4.8 mm; Thickness: 11.0 \pm 3.0 mm (vertical), 12.3 \pm 2.5 mm (diagonal), 11.1 \pm 2.7 mm (horizontal); Width: 13.8 \pm 2.7 mm; Circumflex: 34.1 \pm 5.6 mm; Lateral Projection: 0.18 \pm 0.05 mm⁻¹. All data were lognormally distributed.

Conclusions: Paired with other scalar measurements, curvature can complete the picture of an anatomical structure's pattern. In the case of the coracoid process, curvature plus length and width measurements can describe both the size of the coracoid process along with its projection into a given plane, factors which affect subcoracoid impingement-related surgeries.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 266222.

80 - SUBCORACOID AND SUBSCAPULARIS TENDON TOPOGRAPHY: CADAVERIC STUDY

Al-Redouan A. (1,2), Benjamin R. (1,2), Wang S. (1,2), Nambiar K. (1,2), Shaji V. (1,2), Omprakash KH. (1,2), Kriskova P. (1,2), Bash SG. (1,2), and Kachlík D. (1,2)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: The subcoracoid space contains several soft tissues. The subscapularis tendon runs in this anatomical space and is surrounded by adipose tissue and two synovial bursae. The anatomical understanding of this topographical space is not yet sufficient. Several cases of subscapularis tendon impingement were reported. However, the anatomical mechanisms of the subcoracoid impingement is not yet understood.

Aims: To investigate the subcoracoid space topography as an anatomical basis for subscapularis tendon ultrasound in evaluating subcoracoid process impingement syndrome.

Materials and Methods: Ten bilateral cadaveric specimens were dissected. The subcoracoid space was exposed by reflecting pectoralis major and minor muscles laterally. The subscapularis tendon was exposed by clearing the surrounding soft tissue. The thickness of the subcoracoid tendon and the width of the coracoglenoid notch were measured by a digital Vernier caliper.

Results: The subcoracoid space is bounded cranially by the coracoid place, laterally by the glenohumeral joint capsule, and medially by the coracoglenoid notch. The subcoracoid space median width was 11.8 mm and the median length was 31.7 mm.

Conclusions: The subcoracoid space seemed to be governed by the curvature of the coracoid process and the size of coracoglenoid notch.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 266222.

81 - ULTRASOUND ANATOMICAL EVALUATION OF THE SUBCORACOID SPACE AT THE CORACOGLENOID NOTCH: PRELIMINARY STUDY

Al-Redouan A. (1,2), Nambiar K. (1,2), Omprakash KH. (1,2), Shaji V. (1,2), Benjamin R. (1,2), Wang S. (1,2), Bash SG. (1,2), Kriskova P. (1,2), Olson CVL. (1,2), and Kachlík D. (1,2)

1. Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha. 2. Centre for Endoscopic, Surgical and Clinical Anatomy (CESKA), Second Faculty of Medicine, Charles University, Praha.

Pregraduate student

Supervisor: prof. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Introduction: The subcoracoid space is a complex anatomical region containing the subscapularis tendon. Subscapularis impingement syndrome is not well understood in comparison to other well-known impingements such as subacromion impingement. There are standardized sonographic protocols to scan the shoulder with emphases on the rotator cuff tendons. However, there is not yet any established ultrasound clinical approach to the subcoracoid compartment.

Aims: This is an experimental study to create an optimal ultrasound protocol to visualize and evaluate the subscapularis tendon as it runs under the subcoracoid space.

Materials and Methods: The subcoracoid space was scanned by CANON APLIO i800 ultrasound device with Aplio's i-series24 MHz Ultra-High Frequency iDMS Linear (i24LX8) transducer in three seated positions with flexed forearm on ten volunteers after written consent. Position-one (neutral): the subscapularis muscle is in its relaxed position. Position-two (internal rotation): the subscapularis muscle is contracted. Position-three (external rotation): the subscapularis muscle is stretched. The following parameters were measured and their reliability were tested by simple linear regression test in R2 values and plotted by Bland-Altman plot: depth, superior width, middle width, and inferior width of the coracoglenoid notch; and the subscapularis tendon width at three sequential intervals. In additional the curvature of the coracoid process at the coracoglenoid notch was analyzed digitally by FIJI (Image-J) software (version 2.1.0/1.53c).

Results: Position-one (neutral) yielded higher intra-rater and inter-rater reliability. The coracoglenoid notch was found to be the most suitable sonographical anatomical landmark in estimating the subcoracoid space. The parametric measurements values of the coracoglenoid notch at position-one were as following: depth = 17.05 mm, the superior width = 21.00 mm, the middle width = 13.50 mm, the inferior width = 9.35 mm. The subscapularis tendon was 6.15 mm.

Conclusions: A seated position with forearm flexion gave better coracoglenoid notch ultrasound visibility than when contracting the subscapularis muscle by internal or external rotation. The subcoracoid space can be assessed by evaluating the coracoglenoid notch curvature, width and depth in vivo by ultrasound.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No. 266222.

83 - High CD4/CD8 Ratio prior to Lung Transplantation is Associated with an Increased Risk of Primary Graft Dysfunction at 48 hours

Ferrao G.(1)., Svorcova M.(2), Guney M.(1), Fila L.(3), Lischke R.(2), Havlin J.(2), Zajacova A.(3)

1- Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic 2 - Prague Lung Transplant Program, 3rd Department of Surgery, First Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic, 3 - Prague Lung Transplant Program, Department of Pneumology, Second Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Pregraduate student

Supervisor: Andrea Zajacová MD

Introduction: Primary graft dysfunction (PGD) represents a spectrum of early lung allograft alterations resulting in hypoxemia and lung edema. The precise pathophysiology of PGD remains unknown, however, imbalance in T-lymphocytes prior to lung transplantation (LuTx) might be a potential risk factor for subsequent immunopathological events.

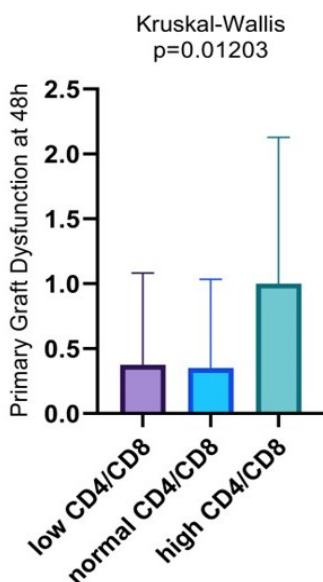
Aims: We aimed to investigate the relationship between dysregulation of T-lymphocytes CD4/CD8 ratio (rCD) prior to LuTx and risk of PGD development.

Materials and Methods: Patients transplanted between 2018-2022, with available both rCD measurement 24h prior to LuTx and PGD evaluation at 48 and 72h were included. Patients with severe pulmonary hypertension on protocolar prolonged ECMO after LuTx were excluded. LuTx recipients (LTRs) were divided according to rCD into low (L-rCD; rCD ≤1), normal (N-rCD; rCD 1.1 - 3.0) and high rCD group (H-rCD; rCD >3) and matched with their respective PGD grades. Analyses were performed using Kruskal-Wallis test.

Results: A total of 149 LTRs were included. The L-rCD comprised 32 patients [21%; median rCD 0.7 (IQR 0.5-0.9)], the N-rCD of 94 [63%; median rCD 1.7; IQR 1.3-2.2] and H-rCD of 23 [15%; median rCD 3.6 (IQR 3.35-4.7)]. At 48h, PGD ≥2 occurred in 6% of the L-rCD, in 7% of the N-rCD, and 35% of the H-rCD LTRs (p=0.012). At 72h, PGD ≥2 occurred in 9% of the L-rCD, in 8% of the N-rCD, and 17% of the H-rCD LTRs (p=NS).

Conclusions: A significantly increased risk of developing a higher grade of PGD at 48h was observed in H-rCD. We hypothesized that upregulated CD4-T cells might elicit a more potent immune response, which requires further investigation.

Figure: Kruskal-Wallis analysis of PGD incidence in lung transplant recipients with low, normal and high CD4/CD8 ratio at time of transplant



85 - 3D Facial Gestalt Analysis of Individuals with Mutated PKD1 Genes in Polycystic Kidney Disease Patients

M. Mihulová(1), K. Kočandrlová(1,2), V. Moslerová(1), M. Turnovec(1), J. Martinková(1), M. Macek(1), M. Havlovicová(1), D. Thomasová(1)

1 - Department of Biology and Medical Genetics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic; 2- Department of Anthropology and Human Genetics, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic

Supervisor: doc. MUDr. Dana Thomasová, Ph.D.

Introduction: Polycystic kidney disease (PKD) is predominantly caused by variants in PKD1 and PKD2 genes, affecting not only the kidneys but also other vital organs. Molecular genetic analysis of PKD patients is often intricate, necessitating innovative diagnostic approaches. The association of PKD1 pathogenic variants with 3D facial gestalt remains unexplored. Here, we present the results of 3D facial morphometry in a cohort of Czech PKD patients.

Materials and Methods: We enrolled 37 PKD cases and conducted facial scanning using the 3dMD Facial System based on stereophotogrammetry. Subsequently, scans were edited in Geomagic Wrap 2021 and analyzed using CPD-DCA in the Morphome3cs software, comparing patients to average 3D facial models of women and men. The study included 25 females (mean age 33 years) and 12 males (mean age 23 years), all with PKD1 mutations.

Results: Our analysis revealed distinctive 3D facial gestalt features in PKD1 patients compared to controls. In females, a more protrusive buccal area was observed. The facial profile exhibited increased convexity, accompanied by a more prominent chin. In males, more pronounced supraorbital arches, eyes, and infraorbital regions, along with a prominent lower jaw area was observed. Additionally, in both sexes notable prominence in the nose, particularly in the nasal bridge, was evident.

Conclusions: Our findings suggest the existence of a distinct 3D facial gestalt in PKD patients with PKD1 pathogenic variants, which may serve as a diagnostic aid or facilitate risk stratification, particularly in presymptomatic cases. Understanding typical facial gestalt patterns associated with mutated PKD1 gene could also contribute to improved differential diagnosis in clinical syndromology.

Support: Grant 44120 from The Charles University Grant Agency (GA UK) and grant NV19-06-00443 from the Czech Medical Research Council (AZV ČR)