

1 Žemličková- Moderní perspektivní markery v diagnostice a sledování nádorů močového měchýře

Žemličková B. (1), Brisuda A. (1)

1 – Urologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: MUDr. Antonín Brisuda, Ph.D.

Úvod: Nádory močového měchýře jsou 5. nejčastějšími nádory u mužů a 12. nejčastějšími nádory u žen v České republice. Velmi často se jedná o recidivující nádory s nutností celoživotního sledování, což z nich činí nádory s jednou z nejvyšších prevalencí v zemi. Základní diagnostickou a léčebnou metodou je transuretrální resekce, sledování je opřeno o provádění pravidelných cystoskopií. V obou případech tedy využíváme invazivní metody s nezanedbatelným rizikem komplikací. Jediným neinvazivním vyšetřením využívaným v diagnostice a sledování je cytologie moči, která má však své limitace, především v detekci low grade nádorů. Výzkum nových neinvazivních močových a imunohistochemických markerů má potenciál využití v diagnostice, stanovení prognózy a ve sledování nádorů močového měchýře s cílem zpřesnění diagnostiky a redukce invazivních vyšetření.

Cíl: V prospektivní studii se zabýváme možností využití neinvazivních diagnostických markerů detekovaných v moči (GeneXpert Bladder Cancer Detection) v diagnostice reziduálního nádoru po transuretrální resekci a v predikci recidivy nádorů močového měchýře.

Materiál a metody: Do studie jsou zařazeni pacienti s primozáchytem či recidivou nádoru močového měchýře po podepsání informovaného souhlasu se studií. Studie začíná endoskopickou resekci, po které je v odstupu 6 týdnů proveden odběr moče k dalšímu vyšetření - cytologie, močový sediment a vyšetření pomocí kitu GeneExpert Bladder Cancer Detection. Jedná se o real-time PCR vyšetření 5 mRNA (UPK1B, IGF2, CRH, ANXA10, ABL1), které jsou u nádorů močového měchýře overexprimovány. V odstupu 8 týdnů od endoskopické resekce je provedena první kontrolní cystoskopie.

Výsledky: Do studie bylo prozatím zařazeno 23 pacientů, z čehož u 14 pacientů jsou dostupné kompletní výsledky vyšetření moče. U 12 pacientů (85,7 %) vyšel GeneXpert Bladder Cancer Detection pozitivní, u 2 pacientů (14,2 %) negativní. Cytologie je pozitivní u 1 pacienta (7,14 %). Při první cystoskopii nebyl u sledovaných pacientů nalezen žádný tumor, při cystoskopii po 6 měsících jsme našli recidivu nádoru močového měchýře u 2 pacientů.

Závěr: Dle dostupných výsledků není vyšetření GeneXpert Bladder Cancer Detection vhodná metoda k detekci reziduálního tumoru po transuretrální resekci vzhledem k vysoké míře falešně pozitivních výsledků a nízké pozitivní prediktivní hodnotě. Ke zhodnocení využití v predikci recidivy nádorů močového měchýře je potřeba delší doba sledování.

Podpora projektu: Junior grant 6020

2 Horňák/Biskup - Potenciální možnosti využití MRI k určování stádia onemocnění

MUDr. Jakub Horňák, MUDr. Jan Biskup

1 - Urologická klinika 2. LF UK a FN Motol

Klíčovou roli při diagnostice a určování stádia nádorů močového měchýře sehrávaly a nadále sehrávají endoskopické metody. Standardní neinvazivní zobrazovací metody v podobě ultrasonografie či výpočetní tomografie je díky svým technickým limitacím nemohly nahradit. V posledních letech se však v této indikaci začalo uvažovat o využití multiparamaterické magnetické rezonance (mpMRI). Snahy podtrhuje i nově vzniklý systém standardizace a vyhodnocování tohoto vyšetření.

Cílem přednášky je posluchače v krátkosti seznámit s technickými možnostmi mpMRI v diagnostice nádorů močového měchýře a s potenciálními benefity, které by její úspěšná implementace mezi diagnostické metody přinesla.

3 - IMPLANTACE CÉVNÍCH NÁHRAD DO KAROTICKÉ TEPNY NA ZVÍŘECÍM MODELU

Novák T. (1,2), Šimůnková Z. (1), Mrázová I. (1), Matějka R. (3), Zapletal M. (4), Fabián O. (5,6), Koňářík M. (7,8), Chlupáč J. (2,9,10)

1 – Centrum experimentální medicíny IKEM Praha; 2 – Ústav anatomie 2. LF UK Praha; 3 – Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT Kladno; 4 – Pracoviště radiodiagnostiky a intervenční radiologie IKEM Praha; 5 – Pracoviště klinické a transplantační patologie IKEM Praha; 6 – Ústav patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN; 7 – Klinika kardiovaskulární chirurgie IKEM Praha; 8 – Fyziologický ústav 1. LF UK Praha; 9 – Klinika transplantační chirurgie IKEM Praha; 10 – Biomateriály a tkáňové inženýrství Fyziologický ústav AV ČR Praha

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Jaroslav Chlupáč, Ph.D., FESSR, FICS

Úvod: Kardiovaskulární chirurgie čelí nedostatku vhodných materiálů pro cévní náhrady a záplaty. Autologních štěpů je omezené množství, syntetické náhrady podléhají infekci a trombóze a allogenní transplantáty rejekci. Pro výzkum nových biomateriálů jsou potřebné a užitečné nové zvířecí modely.

Cíl: Cílem naší studie bylo zavedení chirurgické metody implantace cévních náhrad do karotické tepny laboratorního prasete a porovnání klinicky užívaných materiálů.

Materiál a metody: Jako model jsme použili samice českého plemene: prase přeštické. Implantace daného typu materiálu do karotické tepny byla prováděna oboustranně v celkové anestezii. Pro omezení srážení krve byl peroperačně podán heparin, pooperačně kyselina acetylsalicylová. Testované materiály byly implantovány jako cévní záplaty (patch plastika) nebo interpozitní tubulární náhrady. Ve formě záplaty jsme implantovali autologní materiály: tepenný a žilní autograft, syntetické materiály: expandovaný polytetrafluoroetylén (ePTFE, Propaten® Gore®) a polyetylén tereftalát (PET, Vasutek®), a biologické záplaty: stabilizovaný hovězí perikard (XenoSure®) a detoxikovaný prasečí perikard (Noreact®). Průchodnost byla ověřena průtokoměrem během implantace i explantace. Před samotnou explantací byla provedena selektivní angiografie. Doba pozorování po implantaci byla 1 měsíc. Explantáty byly vyšetřeny pomocí histologie a imunohistochemie.

Výsledky: Všechny cévní záplaty byly dobře průchodné a nejevily známky trombózy, stenózy ani aneuryzmatu. Rozdíly byly patrné pouze v mikroskopickém vyšetření. Endotelová výstelka se objevila u všech implantátů. Histologická analýza odhalila, že pouze tepenný autograft se podobal nativní tepně. U všech ostatních povrchů se rozvinul neo-adventiciální zánět a neo-intimální hyperplazie. Stupeň zánětlivé reakce a tloušťka hyperplázie byly nejvyšší na XenoSure® a nejmenší na Noreact®. Tubulární náhrady podléhaly často steno-okluzivnímu procesu.

Závěr: Vytvořili jsme model implantace cévních náhrad do karotické tepny u experimentálního zvířete. Všechny testované cévní záplaty autologní, syntetické i biologické byly dobře průchodné. Materiál Noreact® vykazoval nejpříznivější remodelaci v histologickém vyšetření. Uvedené povrchy slouží jako kontrolní implantace klinicky užívaných cévních náhrad pro porovnání s náhradami experimentálními, jako jsou decelularizované zvířecí nebo lidské tkáně. Tyto matice dále osídlujeme pomocí autologních či allogenních kmenových buněk.

Podpora projektu: Podpořeno grantem MZČR č. NV19-02-00068.

4 - IMATINIB-REZISTENTNÍ KLONY MODELU BLASTICKÉHO ZVRATU CML S RŮZNÝM SPEKTRUM MUTACÍ V BCR::ABL1 A JINÝCH GENECH SE LIŠÍ SVOU CITLIVOSTÍ K BH3-MIMETIKŮM

Láznička A. (1,2), Čuřík N. (1,3), Polívková V. (1), Koblihová J. (1), Burda P. (1,3), Dolníková A. (3), Pokorná E. (3), Šálek C. (1), Klamová H. (1), Srbová D. (1), Klener P. (3,4) a Machová Poláková K.(1,3)

1- Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha, Česká republika; 2- 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika; 3- Ústav patologické fyziologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika; 4- 1. interní klinika – klinika hematologie, 1. lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha, Česká republika

Školitel: doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Úvod: Blastický zvrát chronické myeloidní leukémie (BC-CML) zůstává i v éře tyrozin-kinázových inhibitorů (TKI) terapeuticky těžce ovlivnitelný.

Dysregulace apoptózy společně s přídatnými mutacemi vede k přežívání maligních buněk. BH3-mimetika (BH3M), inhibitory antiapoptotických proteinů, nachází aktuálně uplatnění v léčbě hematologických malignit. Práce předpokládá jejich léčebný potenciál na buňky BC-CML v kombinaci s TKI.

Cíl: Cílem práce je testovat sensitivitu odvozených imatinib-rezistentních (IR) klonů linie KCL-22, modelu BC-CML, k BH3M a analýzou BCL-2 proteinů popsat mechanismus účinnosti/rezistence s ověřením výsledků in vivo a na primárních buňkách pacientů.

Materiál a metody: IR-klony KCL-22 (n=10) a blasty pacientů s BC-CML (n=4) byly charakterizovány NGS a kultivovány s imatinibem (IM) a BH3M (inhibitor BCL-2 venetoclax, MCL-1 S63845 a BCL-XL A-1155463) pro stanovení IC50, resp. LC50. Proteinová analýza probíhala po kultivaci s IM s/bez BH3M. Imunodeficitním myším (n=16) byly podkožně aplikovány buňky klonu KCL-22 B8 (s mutací BCR::ABL1-T315I). Myši byly rozděleny do 4 skupin dle terapie.

Výsledky: IR-klony KCL-22 se liší senzitivitou k BH3M (*Tabulka 1*). Většina klonů (8/10) byla citlivá k anti-MCL-1. Snížená citlivost byla pozorována u klonů s mutacemi v BCR::ABL1 a jiných genech (GATA2, BCOR). K venetoclaxu byla citlivá polovina klonů, u všech se sníženou senzitivitou pak byly detekovány mutace v BCR::ABL1 a jiných genech. Pouze dva klony byly citlivé k anti-BCL-XL, ovšem rezistentní k venetoclaxu.

Proteinová analýza linie KCL-22IR a 4 vybraných klonů ukázala vysokou (a po vystavení BH3M neměnnou) expresi BCL-2 a BCL-XL. S výjimkou klonu B8 nebyl detekován protein MCL-1, po ovlivnění BH3M však došlo k výraznému zvýšení exprese. U klonu B8 sensitivního k anti-MCL-1 nebyl tento nárůst pozorován, navíc byla detekována aktivní forma apoptotického efektoru BAX. In vivo došlo ke snížení růstu podkožního tumoru při léčbě IM, venetoclaxem, nebo kombinací. Přídavný efekt kombinované terapie oproti monoterapii nebyl pozorován.

Analýza blastů pacientů s BC-CML zjistila nejnižší LC50 pro anti-MCL-1. Blasty s mutacemi v dalších onkogenech nebo aberacemi karyotypu vykazovaly vyšší LC50 pro venetoclax nebo anti-BCL-XL.

Závěr: Na základě pilotních dat se inhibitor MCL-1 jeví jako nejpotentnější z testovaných BH3-mimetik v cílení BC-CML. Kombinovaná terapie BH3-mimetiky a TKI by měla reflektovat přítomnost mutací BCR::ABL1 a dalších genů asociovaných s malignitami.

Podpora projektu: MZCR 00023736

Klon KCL-22IR	BCR::ABL1 mutace	Další detekované mutace (NGS panel)	Venetoclax	S63845	A-1155463
			IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
B8	T315I	-	0,21	0,45	>100
YC2	T315I	-	1,13	1,91	>100
LG4	T315I	CEBPA Q305X	2,63	1,12	>100
XE4I	T315I	KRAS G12V + RUNX1 G74R + ATRX K1933Kfs	7,09	0,46	1,41
LE5	T315I	GATA2 P27Q	16,58	7,51	1,85
XF4III	Y253H	EP300 S156G	6,23	0,28	27,70
YB4	Y253H	-	2,61	0,46	23,00
B10	Y253H	BCOR R1454Q	4,00	9,79	>100
F4	E255K	-	1,62	1,24	>100
E4	-	KRAS G12D + RUNX1 G74R + ATRX K1933Kfs	2,53	0,55	>100

Tabulka 1: Vypočtené IC₅₀ pro BH3-mimetika pro imatinib-rezistentní klony KCL-22IR rostoucí ve 4μM IM. Citlivost byla určena na základě snížení proliferace po vystavení 3μM BH3-mimetikům na 72 hod ku neléčené kontrole: citlivé (zelená; snížení proliferace >55 %), hraničně citlivé (žlutá; snížení proliferace o 40-55 %), rezistentní (červená, snížení proliferace <40 %).

5 - SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE LÉPE ROZLIŠUJE POZITIVITU MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI V RIZIKOVÉ STRATIFIKACI DĚTSKÉ ALL

Skotnicová A.(1#), Svatoň M.(1#), Řezníčková L.(1), Rennerová A.(1), Valová T.(1), Kotrová M.(2), van der Velden V.H.J.(3), Bruggemann M.(2), Darzentas N.(2,4), Langerak A.W.(3), Zuna J(1), Starý J(1), Trka J.(1#), Froňková E(1#)

1 - CLIP – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol Praha, Česká republika, 2 - Department of Hematology, University Hospital Schleswig-Holstein, Kiel, Německo, 3 - Department of Immunology, Erasmus MC, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Nizozemsko, 4 - Středoevropský Technologický institut, Masarykova Univerzita, Brno, Česká republika; #sdílené autorství

Pregraduální student

Školitel: doc. MUDr. Eva Froňková, Ph.D.

Úvod: Sekvenování nové generace (NGS) se v dnešní době již běžně využívá pro rutinní identifikaci přestaveb genů pro imunoglobuliny (IG) a T-buněčné receptory (TC) jako markerů pro monitorování minimální residuální nemoci (MRN) u akutní lymfoblastické leukémie (ALL). Pro kvantifikaci MRN je ovšem stále používáno kvantitativní PCR (qPCR). Detekce MRN pomocí NGS má oproti qPCR řadu výhod, ale dosud nebyla provedena větší studie, která by porovnávala výpovědní hodnotu obou metod.

Cíl: Hlavním cílem naší studie bylo porovnat výsledky kvantifikace MRN pomocí qPCR a NGS u dětských pacientů s B-prekurzorovou ALL léčených pomocí protokolu AIEOP-BFM ALL 2009 a zároveň posoudit použitelnost NGS metody pro stratifikaci těchto pacientů v den 33.

Materiál a metody: Do této studie bylo zahrnuto 432 dětí s B-prekurzorovou ALL, které měly alespoň jeden IG/TR marker detekovaný standardním qPCR s požadovanou senzitivitou 10⁻⁴. Sekvenační knihovny byly připraveny pomocí protokolů pracovní skupiny EuroClonality-NGS a byly sekvenovány na přístrojích Illumina NovaSeq a MiSeq. Celkově bylo pomocí bioinformatického nástroje ARResT/Interrogate analyzováno 780 IG/TCR markerů.

Výsledky: 639 z 780 (82 %) hodnocených markerů bylo konkordantních u obou metod (220 MRN pozitivních a 419 MRN negativních markerů). Z 104 markerů, které byly pozitivní pouze pomocí metody qPCR, jich 97 bylo pozitivních ale nekvantifikovatelných. Díky našemu souboru dat, jsme mohli porovnat a určit specifitu použitých IG/TR markerů. Zjistili jsme, že až 7% markerů, které byly použity pro stratifikaci pomocí qPCR, nedosáhlo dostatečné specificity, přestože teoreticky splňovaly všechna kritéria skupiny EuroMRD. Do budoucna lze tedy tento soubor dat využít prospektivně a při screeningu nově diagnostikovaných pacientů se nevhodným MRN markerům zcela vyhnout. NGS zařadilo 19 % pacientů díky eliminaci falešně pozitivních výsledků do nižší rizikové skupiny a 5 % do skupiny vyššího rizika.

Závěr: Výsledky NGS-MRN velmi dobře korelují s výsledky qPCR-MRN a mají srovnatelnou citlivost. Metoda NGS je zároveň méně laboratorně pracná a poskytuje specifitější výsledky. Kromě detekce MRN umožňuje také analýzu imunitního repertoáru kostní dřeně. Naše data ukazují zásadní význam volby markerů pro sledování MRN. NGS-MRN je vhodnou alternativou pro stratifikaci pacientů k běžně používané metodě qPCR-MRN v budoucích léčebných protokolech založených na kvantifikaci MRN.

6 - IDENTIFIKACE A FUNKČNÍ VALIDACE KAUZÁLNÍ MUTACE U PACIENTA S TĚŽKÝM STŘEVNÍM ZÁNĚTEM

Racková M.(1), Svatoň M.(1), Kanderová V.(1), Fencel F.(2), Fejtková M.(1), Špičáková K.(2), Fabián O.(3), Koblížek M.(3), Park S.Y.(4), Bonifacino J.(4), Trka J.(1), Froňková E.(1), Škvárová Kramarzová K.(1)

1 - CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika 2 - Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika 3 - Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika 4 - 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

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

Úvod: Rozvoj technologie sekvenování nové generace (NGS) výrazně usnadnil identifikaci kauzálních mutací u pacientů se vzácnými monogenními chorobami. Sekvenační data musí být ovšem interpretována opatrně, zejména pokud se jedná o nově popsané varianty, jejichž kauzalitu je nutné ověřit funkčními studiemi.

Cíl: Cílem studie bylo identifikovat a ověřit genetickou příčinu onemocnění u pacienta s těžkým střevním zánětem manifestujícím se již v novorozeneckého věku.

Materiál a metody: Celoxomové sekvenování DNA bylo provedeno pomocí sekvenátoru NextSeq 500, sekvenační data zanalyzována pomocí vlastní analyzační pipeline a nalezené varianty ověřeny Sangerovým sekvenováním. Buněčné modely s knock-outem genu TNFAIP3 byly připraveny v liniích THP-1 a 293T technologií CRISPR/Cas9. Plasmidy s cDNA mutovaných TNFAIP3 a AP1S1 byly získány cílenou mutagenezí wild-type plasmidů a vneseny lipofekcí do modelových linií. NF- κ B dráha byla aktivována ligandy TNFa či LPS v patientských i modelových buňkách a pomocí průtokové cytometrie a Western blotu byla určena fosforylace klíčových molekul dráhy (p65, I κ B, IKK, p38). Proteomické experimenty byly provedeny pomocí imunoprecipitace a Western blotu.

Výsledky: Po vyloučení nejčastějších monogenních enteropatií, primárních imunodeficitů a metabolických onemocnění bylo provedeno celoxomové sekvenování DNA pacienta. Na základě analýzy dat byla jako potenciálně kauzální aberace identifikována dosud nepopsaná varianta v genu TNFAIP3 (c.2183G>A), který kóduje negativní regulátor NF- κ B dráhy. Pacienti s jinými popsány mutacemi ve stejném genu vykazovali velmi podobný fenotyp. Pro patogenitu nalezené varianty svědčila i hyperaktivace NF- κ B dráhy pozorovaná v pacientových monocitech a T-lymfocytech v porovnání se zdravými kontrolami. Funkční testy na modelových liniích ovšem patogenitu mutace nepotvrdily. Proto jsme i s přihlédnutím na klinický vývoj pacientova onemocnění znovu zanalyzovali sekvenační data, kde byla tentokrát navíc nalezena varianta v genu AP1S1 (c.269T>C), recentně popsaná jako nová kauzální mutace způsobující tzv. MEDNIK syndrom. Kauzální charakter této varianty byl ověřen doplňujícími funkčními experimenty na proteinové úrovni, jejichž výsledky korelují s publikovanými daty.

Závěr: Tento případ poukazuje na význam multioborového přístupu v diagnostice i léčbě pacientů se vzácnými monogenními onemocněními. Zdůrazňuje také, jak nezbytná jsou dostatečně průkazná data pro potvrzení patogenity nově identifikovaných variant.

Podpora projektu: GAUK 502119, PRIMUS/19/MED/04

7 - SOT102, A NOVEL CLDN18.2-TARGETING ANTIBODY-DRUG CONJUGATE WITH STRONG THERAPEUTIC POTENTIAL IN SOLID TUMORS EXPRESSING LOW TARGET LEVELS

Valentova I.(1,2), Kyrych Sadilkova L.(1), Hoskova S.(1), Vopalensky P.(1), Ladinovic D.(1), Frantz Ch.(1), Praslicka J.(1), Moebius U.(1), Bammert L.(3), Beerli R.(3), Spisek R.(1,2)

1 - SOTIO Biotech a.s., Prague, Czech Republic, 2 - Department of Immunology, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic, 3 - NBE Therapeutics, Basel, Switzerland

Supervisor: Prof. MUDr. Radek Špišek, Ph.D.

Introduction: Antibody-drug conjugates (ADCs) consist of a target antigen-specific monoclonal antibody that is chemically or enzymatically linked to a potent cytotoxic agent. ADCs have the ability to bind to surface cancer cell antigens via their monoclonal antibody part, leading to internalization and delivery of the cytotoxic payload selectively to the cells of interest. This process leads to cancer cell death after the intracellular release of the toxin from the ADC complex. Unspecific toxicity and unintended activity of the toxin on target negative cells is minimized by the extracellular stability of the ADC complex.

Claudin (CLDN) 18.2, a member of a large family of tight junction proteins has a high prevalence in gastric and pancreatic cancer. SOT102 represents a CLDN18.2 targeting antibody-drug conjugate for the therapy of patients with CLDN18.2-positive solid tumors, mainly of gastric and pancreatic origin.

Aims: We aimed to develop an anti-CLDN18.2 ADC (SOT102) containing the anthracycline PNU159682, a potent metabolite of Nemorubicin recognizing selectively the CLDN18.2 splice variant, expressed on gastric and pancreatic adenocarcinoma cells. Patients suffering from these cancers are in an emergent need of new and efficacious therapeutic approaches.

Materials and Methods: In vitro and in vivo pharmacologic activities of SOT102 were evaluated and compared with a reference antibody-drug conjugate employing several CLDN18.2-positive cell lines and patient-derived xenograft (PDX) models. Pharmacokinetics and the safety profiles were assessed in selected species.

Results: SOT102 showed specific binding to target expressing cell lines followed by internalization and a potent cytotoxic effect. Single-agent therapeutic activity of SOT102 was demonstrated in several PDX models in vivo. Complete responses were observed in all models tested, independent of CLDN18.2 expression levels. A therapeutic window was defined, based on the minimum effective dose and tolerability investigated in separate toxicology studies. SOT102 showed favorable pharmacokinetic properties and stability of the mAb-payload conjugate.

Conclusions: SOT102 exhibited potent antitumor activity against a broad selection of CLDN18.2 positive models and demonstrated favorable pharmacokinetic and safety profiles. The results demonstrate that SOT102 has potential for the treatment of CLDN18.2-expressing gastric and pancreatic cancers. A first-in-human clinical study with SOT102 was initiated in Q1/2022.

Support: SOTIO Biotech a.s., Prague, Czech Republic

8 - POROVNÁNÍ GENOTYPU A FENOTYPU NEUROEKTODERMÁLNÍCH NÁDORŮ

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

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

Školitel: MUDr. Aleš Vícha, PhD

Úvod: Práce se věnuje feochromocytomům a paragangliomům (PPGL). Tyto, katecholaminy produkující nádory, jsou typické změnami na chromosomech 1, 3, 11 a 17. Oblast 11p15.5 je u PPGL často deletována. V této oblasti se nachází 2 imprintingová centra. První centrum řídí expresi genu H19 a IGF2, druhé centrum zase expresi genů CDKN1C, KCNQ1OT1 a KCNQ1. Změny v metylaci prvního imprintingového centra mohou vést k změněné expresi genů H19 a IGF2. Změny metylace druhého imprintingového centra mohou vést k změněné expresi genu CDKN1C, což je gen inhibitor cyklin-dependentní kinázy. Změny exprese těchto genů jsou prokazovány například v nefroblastomech a rhabdomyoblastomech.

Cíl: Cílem této studie je identifikovat změny v chromosomálním počtu a v metylačním stavu v oblasti 11p15.5 a zhodnotit význam těchto změn pro PPGL.

Materiál a metody: Vyšetřovaným materiálem je DNA zmražené nádorové tkáně pacientů s diagnostikovaným PPGL. Zvolenými metodami jsou SNP Array (HumanCytoSNP-12 v2.1 BeadChip a Infinium CytoSNP-850K v1.2 BeadChip - Illumina) a MS-MLPA (SALSA MLPA Probemix ME030 BWS/RSS - MRC Holland).

Výsledky: SNP Array technikou jsme vyšetřili 117 vzorků. Delece 1/1p je přítomna u 76 vzorků, delece 3/3p u 52 vzorků, delece 11/11p u 41 vzorků a delece 17/17p u 43 vzorků, přičemž u jednoho vzorku může být přítomno více změn. U 4 vzorků nebyly nalezeny změny žádné. MS-MLPA technikou jsme vyšetřili 137 vzorků. Nejčastější změnou je maternální delece oblasti 11.p15.5, nalezená u 39 vzorků (28%), u 5 pacientů (3,6%) jsme našli pUPD, u 4 vzorků (2,9%) jsme našli deleci 11p bez změn metylace, u 2 vzorků (1,4%) gain paternální alely a ojedinělými změnami byli delece H19, IGF2, KCNQ1 a delece KCNQ1, CDKN1C s hypometylací KCNQ1. U 85 vzorků (62%) nebyla nalezena žádná změna ve sledované oblasti. Nález pUPD v této oblasti je u PPGL velmi výjimečný jelikož je charakteristický pro Beckwith-Wiedemannův syndrom, Wilmsův tumor či rhabdomyosarkom, ale s PPGL prozatím spojen nebyl.

Závěr: Nejčastěji identifikovanou změnou je maternální delece (28%). Tato změna způsobuje sníženou expresi genu CDKN1C, což zřejmě podporuje vznik PPGL. Druhou nejfrekventovanější změnou je pUPD, které způsobuje zvýšenou expresi IGF2. Což ukazuje na to, že zvýšená exprese IGF2 není nejdůležitější změnou u PPGL.

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

2-1 - ČASNÁ MRI LOKALIZACE EPILEPTOGENNÍ ZÓNY U PACIENTŮ S TUBERÓZNÍ SKLERÓZOU

Ebel M.(1), Stevering C.(4), Holubova Z.(2), Lequin M.(3), Kyncl M.(2), Hulshof H.(4), Benova B.(1), Braun K.(4), Jahodova A.(1), Kudr M.(1), Jansen F.(4), Krsek P.(1)

1 - *Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol*; 2 - *Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol*; 3 - *Department of Radiology, University Medical Center, Utrecht, The Netherlands*; 4 - *Department of Pediatric Neurology, Brain Center University Medical Center, Utrecht, The Netherlands*

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

Úvod: Komplex tuberózní sklerózy (TSC) se řadí k AD dědičným neurokutánním onemocněním s incidencí 1:5000-10:000. Až 90% pacientů s TSC má fokální či multifokální záchvaty a farmakorezistence je popisována až v 50% případů.

S ohledem k tomu mohou být pacienti vhodnými kandidáty epileptochirurgické rozvahy. Morfologickým substrátem epilepsie pak bývají subkortikální tubery, které bývají obvykle vícečetné a součástí vyšetření pak je identifikace správné epileptogenní léze.

Cíl: Ozřejmit přínosnost časného (před 8 měsícem) zobrazení magnetickou rezonancí (MR) mozku u pacientů s TSC a epilepsií. Předpokládáme, že MR nemyelinizovaného mozku může sloužit jako cenné pomocné vyšetření lokalizující epileptogenní zónu.

Materiál a metody: Do studie byli zavzati pacienti s klinickou diagnózou TSC, kteří podstoupili resekční či diskonekční epileptochirurgický výkon. Podmínkou zařazení do studie byla dostupnost MR snímků, pořízených před 8 měsíci věku. Na prvním zobrazení byly označeny kortikální/subkortikální léze, které byly hypointenzní na T2 vážených sekvencích, největší léze, či léze vykazující dysplastické znaky (t.j. cortical thickening, transmante sign či kalficikace). Komplexně byl zhodnocen jejich vývoj porovnáním s předoperačním vyšetřením a určeno, zda byly součástí resekční zóny.

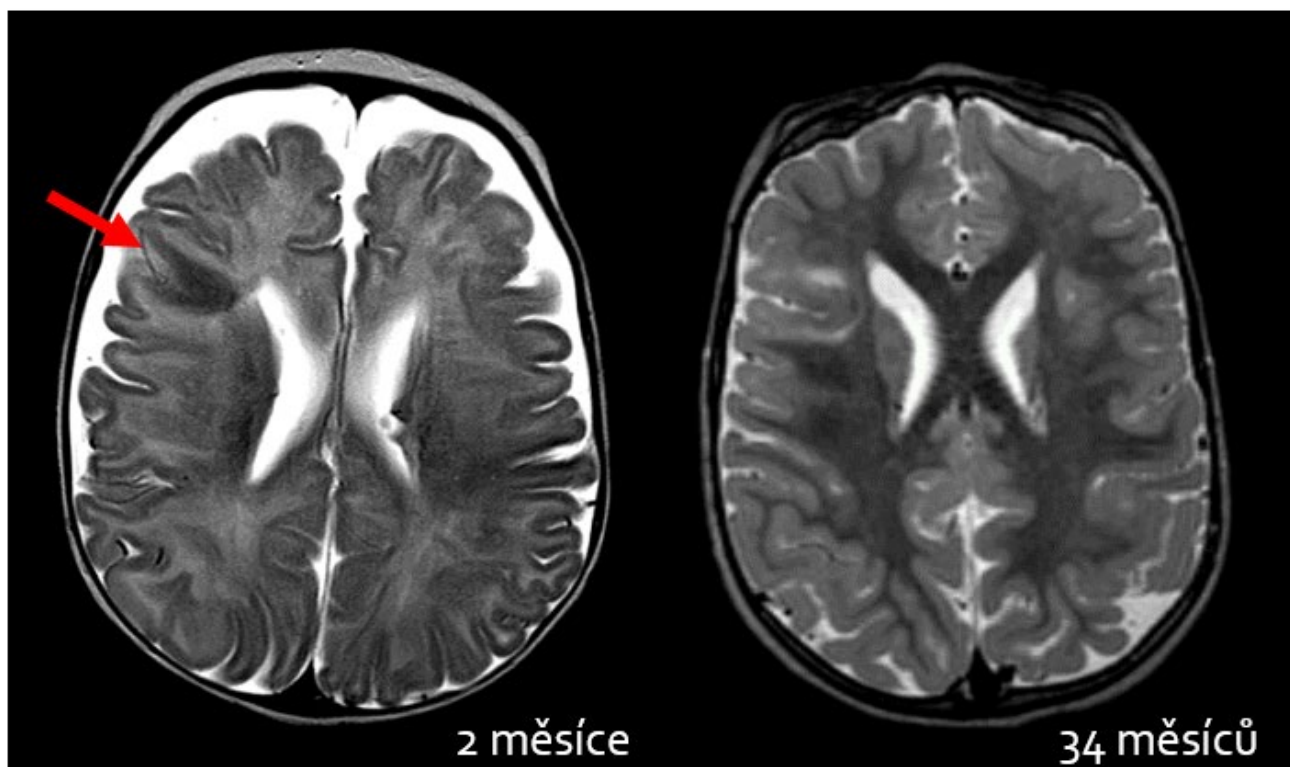
Výsledky: Celkem 27 pacientů bylo zařazeno do studie. Medián věku rozvoje epilepsie byl 2±2. Dva roky po provedené epileptochirurgii bylo 12 (44%) pacientů bez záchvatů. Iniciální MR zobrazila na T2 vážených sekvencích dohromady 51 hypointenzních lézí. Z dysplastických znaků byl na nich nejčastěji (v 45 případech) přítomen cortical thickening (ztluštění kortexu). Tento znak zůstává vždy přítomen i po dokončení myelinizace.

Ve skupině pacientů bez záchvatu byly popsány hypointenzní léze součástí resekční zóny u 10/12 pacientů. Zpravidla pak šlo o nejrozsáhlejší léze vykazující další dysplastický rys (typicky právě cortical thickening).

Nejlepším prediktorem bezzáchvatovosti po provedené epileptochirurgie je přítomnost solitární léze na prvním MR zobrazení.

Závěr: Studie ukázala přínos provádění časných, kvalitních neurozobrazení u pacientů s TSC a epilepsií tím, že precizovala popis MR vývoje tuberů s předpokládanou vyšší epileptogenicitou. S ohledem na narůst jejich celkového množství po ukončení myelinizace, může být takto snížen počet kandidátních lézí. Podrobná kvantifikace o kolik naráží na některé metodické i technické překážky. Postup by bylo vhodné verifikovat na prospektivním vzorku. Další výzvou zůstává objasnění mikroskopického strukturálního podkladu těchto změn.

Vývoj T2 hypointenzní léze na MR mozku pacienta s TSC



2-2 - KOMPLEXNÍ CHARAKTERISTIKA DĚTSKÝCH PACIENTŮ S FARMAKOREZISTENTNÍ EPILEPSIÍ NA PODKLADĚ FCD TYPU I – RETROSPEKTIVNÍ STUDIE

Heřmanovská B. (1), Straka B. (1), Kršek P. (1), Ebel M. (1), Krsková L. (2), Zámečník J. (2), Vlčková M. (3), Tesner P. (3)

1 - Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol 2 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol 3 - Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Pregraduální student

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Kršek, PhD.

Úvod: Malformace kortikální vývoje představují nejčastější příčinu fokální farmakorezistentní epilepsie v dětských epileptochirurgických souborech. Publikace zabývající se výhradně pacienty s FCD typu I jsou ale v literatuře nedostatečně zastoupené, etiologie a detailní průběh jejich onemocnění zůstávají neobjasněné.

Cíl: Detailně charakterizovat klinický průběh, elektrofyziologické a radiologické nálezy u pacientů s fokální farmakorezistentní epilepsií na podkladě FCD typu I.

Materiál a metody: Do studie byli zahrnuti pacienti ve věku do 19 let s fokální farmakorezistentní epilepsií, kteří podstoupili resekční / diskonekční epileptochirurgickou operaci s histopatologickým nálezem FCD typu I dle ILAE 2011. Předoperační vyšetřovací program zahrnoval anamnézu, klinické a neuropsychologické vyšetření, videoEEG monitoraci, MRI mozku ve specializovaném protokolu, dle potřeby SPECT a PET. Outcome byl hodnocen dle Engelovy klasifikace.

Výsledky: Celkem bylo vyšetřeno 28 pacientů s histologickou diagnózou FCD typu IA u 61%, FCD typu IB 21% a FCD typu IC u 18%. U 75% pacientů začala epilepsie před 6. rokem věku. Denní záchvaty mělo 78% pacientů, 14% prodělalo status epilepticus. Abnormální neurologický nález byl pozorován u 39% pacientů, zástava/regres ve vývoji či kognitivní zhoršení v průběhu epilepsie u 79% pacientů. U 6 pacientů s normálním kognitivním vývojem jsme pozorovali normální základní aktivitu na EEG anebo symetrické fyziologické spánkové transienty. Abnormální základní aktivita na EEG byla u 64%, kontinuální či intermitentní zpomalení u 92% pacientů. Interiktální abnormalita byla nejčastěji multiregionální (64%), u 14% hemisferální. Normální či nespecifický nález na MRI mělo 43% pacientů, 83% z nich podstoupilo invazivní stereo-EEG monitoraci pro upřesnění rozsahu epileptogenní zóny. „Tailored“ resekci podstoupilo 57% pacientů, multilobární 28% pacientů, hemisferotomii 14% pacientů, jeden podstoupil lobární resekci. Stavů bez záchvatů (Engel 1) dosáhlo po operaci 71% pacientů, u 14% pacientů byla vysazena trvalá antiepileptická terapie. Kognitivní status se po operaci zlepšit u 53% pacientů.

Závěr: Prezentujeme zde dosud největší soubor pacientů s fokální farmakorezistentní epilepsií na podkladě FCD typu I. Ačkoliv se jedné o pacienty s těžkou formou epilepsie, kteří s sebou nesou řadu diagnostických úskalí (např. negativní MRI), dosahujeme i u nich díky komplexní multimodální diagnostice a invazivní SEEG monitoraci příznivých pooperačních výsledků.

Podpora projektu: Práce byla podpořena z projektu GAUK, No. 2120293

2-3 - LONG-TERM DYNAMICS OF EPILEPSY – INTERPLAY BETWEEN SEIZURES AND INTERICTAL ACTIVITY

Kudláček J.(1), Chvojka J.(1), Búran P.(2), Pošusta A.(2), Ravi, T.(1), Novák O.(1), Procházková N.(1), Řehořová M.(1), Balašík M.(2), Otáhal J.(2), Jiruška P.(1,2)

1 - Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 2 - Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

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

Introduction: It has been known for more than a century that epileptic seizures do not occur fully randomly in time but tend to cluster, often quasiperiodically. Recently, implantable devices for recording the long-term EEG brought valuable data showing a specific relationship between the long-term fluctuations of interictal epileptiform discharges (IEDs) and seizures in people with refractory epilepsy. This fact was even speculated to be useful for forecasting of seizure risk. We explored whether a similar relationship can be observed in a highly realistic murine model of epilepsy based on focal cortical dysplasia (FCD).

Aims: We explored whether a similar relationship between IEDs and seizures can be observed in a highly realistic murine model of epilepsy based on focal cortical dysplasia (FCD).

Materials and Methods: Plasmids containing human mTOR mutation (p.Leu2427Pro) were injected into the lateral ventricle and electroporated in E14.5 mouse embryos which then developed the FCD. Twelve adult mice were implanted with epidural electrodes and video-EEG monitored for 36 ± 26 days (mean \pm SD).

Results: In all mice, we observed long-term fluctuations of IED rate and seizure rate and in 10/12 mice the seizures clustered in time. The IED rate fluctuations had periods of 3-9 days. During seizure clusters, the IED rate was increasing while during the seizure-free periods it took 2-4 days to decrease back to baseline levels, where it remained constant. No long-term fluctuations of IED rate were observed during prolonged seizure-free periods. Most seizures occurred when the IED rate was slowly increasing ($81 \pm 4\%$, N=12 mice, mean \pm SEM). We also analyzed possible changes in IED rate ahead of seizure clusters and did not find any consistent trend.

Conclusions: In the mouse model of FCD, the IED rate seems to increase following the seizures. Since we did not find any IED rate changes preceding the seizures, we propose that in this highly realistic epilepsy model the IED rate fluctuations are caused by the seizures and thus have a limited seizure-forecasting value compared to the IED rate of humans with refractory epilepsy.

Support: Supported by grants from the Czech Health Research Council of the Ministry of Health of the Czech Republic (NU21-08-00533, NU21-04-00601), Czech Science Foundation (20-25298S, 21-17564S), and Primus project of the Charles University (PRIMUS/19/MED/003).

2-4 - Vyhodnocování dat z NGS u NMD: Překážky a úskalí

MUDr. Barbora Lauerová^{1,2}

Doc. Petra Laššuthová, Ph.D.²

Doc. Jana Haberlová, Ph.D.¹

¹ Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol

² Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol

Existuje mnoho postupů pro filtrování dat z NGS a anotaci jednotlivých variant. Problémem zůstává korelace nalezených variant k fenotypu konkrétního pacienta. To se doposud dělalo výhradně manuálně. Tím vzniká velká mezera a také chybovost mezi téměř neomezenými možnostmi generování dat z NGS a velmi zdlouhavou klinickou analýzou.

Cílem projektu je digitalizace klinických dat od pacientů s neuromuskulárním onemocněním. Za tímto účelem použijeme HPO termíny, jejichž výhodou je kromě hierarchické struktury také napojení na mnohé algoritmy pro zpracování dat (např.: Exomiser). HPO termíny se stávají celosvětově akceptovaným standardem.

Vyhodnotili jsme data z NGS u 30 pacientů. U pacientů jsme provedli podrobnou fenotypovou analýzu. Fenotyp pacienta vyjádřený pomocí HPO termínů jsme použili pro analýzu dat s cílem přesnější prioritizace pravděpodobně kauzálních variant.

Možné překážky a úskalí interpretace výsledků genetického vyšetřování představujeme na dvou kazuistikách.

V první kazuistice se jedná o pacientku s fenotypem odpovídající facioskapulohumerální svalové dystrofii (FSHD), avšak bez průkazu příčiny tohoto onemocnění. Metodou NGS byla prokázána varianta nejasného významu v genu *SCN4A*: NM_000334.4: c.794C>T, p.(Ala265Val) v homozygotním stavu. Heterozygotní varianty v genu *SCN4A* jsou spojovány zejména s autosomálně dominantně dědičnou myotonií, paramyotonií nebo periodickou paralýzou, které neodpovídaly fenotypu pacientky. U malé kohorty pacientů byl popsán i fenotyp těžké fetální hypokineze a kongenitální myopatie s autozomálně recesivní dědičností na podkladě bíalelických loss-of-function (LoF) variant v genu *SCN4A*. Pomocí funkční studie v rámci mezinárodní spolupráce jsme prokázali, že u této pacientky se také jedná o LoF variantu a tím pádem o autosomálně recesivně dědičnou kongenitální myopatii.

Ve druhé kazuistice se jedná o pacientku s axonální periferní neuropatií. Na základě vstupně provedeného vyšetření CMT1A/HNPP pomocí 17 mikrosatelitových markerů bylo vysloveno podezření na delecii genu *PMP22* a tedy hereditární neuropatii s tendencí k otlakovým parézám (HNPP), což je demyelinizační typ neuropatie. Protože u naší pacientky se jedná o axonální typ neuropatie, byly výsledky revidovány a s časovým odstupem bylo doplněno vyšetření NGS s průkazem kauzální patogenní varianty v genu *HINT1*: NM_005340.5:c.110G>C, p.(Arg37Pro) v homozygotním stavu. Výsledek prvního testu byl tedy falešně pozitivní, zkreslený konsanguinitou u rodičů, což jsme zpětně prokázali.

Vzájemná korelace genotypu a fenotypu pacienta je při vyhodnocování dat z NGS klíčová. V případě nálezu variant nejasného významu je vhodné objasnit kauzalitu varianty za pomoci funkční studie či jiných doplňujících vyšetření. V případě, že obtíže pacienta neodpovídají již popsanému fenotypu, je potřebné hledat vysvětlení a někdy i pokračovat v dalším vyšetřování pomocí jiných vyšetřovacích metod.

Podpořeno z GA UK č. 388422

Neurofilamenta jako biomarker progresu a efektu terapie u spinální svalové atrofie

Markéta Jílková¹, Jitka Hanzalová², Jana Haberlová¹

¹ Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol

² Likvorová laboratoř Ústavu imunologie 2. LF UK a FN Motol a Neurologické kliniky 2. LF UK a FN Motol

Spinální svalová atrofie (SMA) je vzácné, autozomálně recesivní neurodegenerativní onemocnění periferních motoneuronů. Klinicky se onemocnění projevuje progresivní svalovou slabostí. V minulosti byla SMA nejčastější příčinou úmrtí na vrozené onemocnění v kojeneckém a batolecím věku. V posledních letech se díky novým znalostem patogeneze a dostupnosti nových technologií objevily možnosti inovativní léčby tohoto onemocnění. Jako první byla pro české pacienty dostupná léčba látkou nusinersen (Spinraza®). Lék moduluje sestřih RNA SMN2 genu a tím zvyšuje tvorbu SMN proteinu. Kromě této léčby je registrována i léčba látkami risdiplam (Evrysdi®) a onasemnogen abeparvovec (Zolgensma®). V příštích letech lze očekávat příchod dalších efektivních terapií SMA, ať již formou klinických studií nebo registrovaných léčebných postupů. Vzhledem ke zvyšujícímu se počtu možností kauzální léčby SMA narůstá i potřeba stratifikace pacientů s ohledem na volbu optimálního léčebného postupu u jednotlivých podskupin. Nezbytnou podmínkou této optimalizace terapie je dostupnost validních biomarkerů průběhu samotného onemocnění a efektivity podávané léčby. Aktuálně je efektivita léčby hodnocena pouze fyzioterapeutem pomocí speciálních motorických škál, které ale narážejí na mnoho limitací. Představujeme první výsledky našeho projektu ke zhodnocení validity biomarkerů. U 55 českých a slovinských pacientů léčených alespoň 1 rok nusinersenem jsme pomocí vyšetření ELISA stanovili hladiny těžkých řetězců neurofilament (pNFH) v séru a likvoru. Neurofilamenta jsou cytoskeletální proteiny uvolňující se do extracelulární tekutiny při neuronálním poškození. Vyšetřením byl prokázán statisticky významný pokles hladin pNFH v průběhu terapie a korelace hodnot hladin pNFH v likvoru a v séru. Námi prokázaná data podporují stanovení hladiny pNFH v séru jako prozatím nejcitlivější biomarker efektu kauzální léčby SMA.

2-5 - 4MU COMBINED WITH REHABILITATION PROMOTES ANATOMICAL PLASTICITY AND FUNCTIONAL RECOVERY IN THE CHRONIC STAGE OF SPINAL CORD INJURY

Štěpánková K.(1,2), Chudíčková M.(1), Kubinová Š.(1), Jendelová P.(1,2), Mareková D.(1), Hadraba D.(3), Sedláček R(4). Machová Urdzíková L.(1), Fawcett J.W.(1,5) and Kwok J.C.F.(1,6)

1 - Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences, Videnska 1083 Prague, Czech Republic; 2 - Second Faculty of Medicine, Charles University, V Uvalu 84, 150 06 Prague, Czech Republic; 3 - Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Videnska 1083 Prague, Czech Republic; 4 - CTU in Prague, Faculty of Mechanical Engineering, Technická 4 166 07 Prague; 5 - John van Geest Centre for Brain Repair, Dept. Clinical Neurosciences, University of Cambridge, Cambridge CB2 0PY, UK; 6 - Faculty of Biological Sciences, University of Leeds, Leeds LS2 9JT, UK

Supervisor: Lucia Urdzíková Machová, MD, PhD.

Introduction: Perineuronal nets (PNNs) are extracellular matrix (ECM) structures enwrapping certain types of neurons in the CNS, playing a crucial role in regulating the plasticity during postnatal development and posttraumatic regeneration. It has been shown that removing PNNs successfully enhances plasticity and functional recovery in spinal cord injury models. PNNs might be removed by the pharmaceutical drug 4-methylumbelliferone (4MU), which inhibits hyaluronan (HA) synthesis. HA is an ECM glycosaminoglycan (GAG) forming the structural backbone of PNNs.

Aims: We investigated the safety of the long-term treatment with a low dose of 4MU in non-injured Wistar rats. Subsequently, we evaluated the effect of 4MU on locomotor recovery after chronic spinal cord contusion injury (SCI).

Materials and Methods: Rats with chronic SCI were fed for 8 weeks with 4MU and underwent daily rehabilitation. The effect of 4MU in SCI-injured Wistar rats was assessed by behavioral tests and immunohistochemical and biochemical analysis.

Results: The biochemical and histological changes in spinal cord tissue after long-term 4MU treatment in rats showed significantly lowered intensity in HABP staining in the 4MU-treated group (74.323 ± 12.811 ; $n=3$) compared to the placebo group (114.527 ± 6.364 ; $n=3$). The long-term 4MU treatment significantly decreased the number of PNN-enwrapped cells in the ventral horns after the treatment (5.764 ± 0.7709 cells; $n=4$) compared to the placebo group ($13.4 \pm 3,538$ cells; $n=4$). Then we applied the low dose of 4MU to spinal cord injured rats. Oral application of the low dose of 4MU to rats with chronic SCI led to a reduction of glial scar area in the 4MU treated group ($0.5800 \pm 0.5717\%$; $n=4$) in the lesion epicenter compared to the untreated ($1.604 \pm 1.988\%$; $n=4$). We have not seen any functional effect. However, after increasing the 4MU dose, significant improvement was observed in BBB, ladder, and maximal speed tests.

Conclusions: The long-term 4MU treatment led to HA and CSPGs downregulation in healthy animals. The low dose of 4MU promoted anatomical plasticity but did not lead to functional recovery in the chronic stage of spinal cord injury. However, the higher dose of 4MU reopened a window of plasticity in chronic SCI, allowing rehabilitation to promote functional recovery.

Support: Supported by GACR 19-10365S; NEURORECON CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000419; Czech-Biolmaging LM2018129

2-6 - EPIDEMIOLOGICKÉ A KLINICKÉ CHARAKTERISTIKY PIMS-TS U DĚTÍ A MLADISTVÝCH

Pešková Š., Toni L., David J., Fencel F.

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole

Školitel: doc. MUDr. Filip Fencel, Ph.D.

Úvod: Na počátku května 2020 byla definována nová pediatrická nemoc – syndrom multisystémové zánětlivé odpovědi asociovaný s infekcí SARS-CoV-2 u dětí a mladistvých (Paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2, PIMS-TS). Jedná se o závažné akutní onemocnění vyskytující se v dětském či adolescentním věku, obvykle čtyři týdny po proděláním covid-19. Jeho podstatou je dysregulace imunitní odpovědi organismu na SARS-CoV-2 a vznik multisystémové zánětlivé reakce. Klinicky nejzávažnější je postižení kardiovaskulární aparátu. Může se však rozvinout až multiorgánové selhání. Etiologie onemocnění je multifaktoriální.

Cíl: Cílem studie bylo analyzovat epidemiologické a klinické charakteristiky pacientů s PIMS-TS.

Materiál a metody: Do retrospektivně-prospektivní observační studie byli zařazeni pacienti s PIMS-TS dle diagnostických kritérií Světové zdravotnické organizace, kteří byli hospitalizováni na Pediatrické klinice Fakultní nemocnice v Motole v období od 1. 11. 2020 do 30. 4. 2022. Anonymizovaná data těchto pacientů (demografické a klinické údaje) byla získána z lékařských zpráv.

Výsledky: V uvedeném období bylo diagnostikováno 93 pacientů s PIMS-TS s mediánem věku 8,5 let (rozmezí 0,5-18) s převahou chlapců (63 %). Snížená funkce levé komory byla prokázána u 34 pacientů (37 %), u jedné pětiny z celé kohorty bylo nutné podání farmakologické podpory oběhu. Dilatace koronárních arterií byla v akutní fázi detekována u šesti pacientů (6 %) s následnou normalizací šíře při dalších kardiologických kontrolách. Atrioventrikulární blok I. stupně byl popsán u osmi pacientů (9 %). Dva jedinci (2 %) se manifestovali cévní mozkovou příhodou. Nebyly zaznamenány žádné případy úmrtí. Nutnost použití blokátorů interleukinu-2 v terapii onemocnění byla u 12 pacientů (13 %).

Závěr: Nízkou morbiditu a nulovou mortalitu u PIMS-TS lze vysvětlit edukací pediatriů v celé ČR a sjednocením diagnostických a terapeutických postupů. Spekulovat lze o výhodnosti varianty kombinovaného použití intravenózních imunoglobulinů a systémových kortikosteroidů již od počátku terapie.

2-7 - EFEKT LÉČBY PREPARÁTY ANTI-TNF α NA FEKÁLNÍ BAKTERIOM U DĚTÍ S CROHNOVOU CHOROBOU V KONTRASTU S JUVENILNÍ IDIOPATICKOU ARTRITIDOU

Hurych J.(1,2), Vodolanová L.(2), Lerchová T.(2), Kubát Michal(2), Malcová Hana(3), Cebecauerová D.(3), Schwarz J. (4), Karasková E.(5), Hecht T.(6), Vyhnánek R.(6), Ťoukalková L. (7), Dotlačil V.(8), Kobrová K.(9), Horváth R.(3), Hradský O.(2), Bronský J.(2), Cinek O.(1,2)

1 - Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, ČR 2 - Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, ČR 3 - Klinika dětské a dospělé revmatologie, Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika 4 - Dětská klinika Lékařské fakulty v Plzni, Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice Plzeň, ČR 5 - Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého Olomouc a Fakultní nemocnice Olomouc, ČR 6 - Pediatrická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní Thomayerovy nemocnice, Praha, ČR 7 - Dětské oddělení Nemocnice Tomáše Bati, Zlín 8 - Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol, Praha, ČR 9 - Dětská klinika, Masarykova nemocnice, Ústí nad Labem, ČR

Školitel: prof. MUDr. Ondřej Cinek, Ph.D.

Úvod: Nejúčinnější terapeutickou modalitou Crohnovy choroby (CD) jsou protilátky anti-TNF α . Nicméně dosud publikované studie účinků této terapie na složení střevního mikrobiomu u CD mají určité designové nedostatky. Buď jim chybí longitudinální charakter a/nebo kontrolní skupina pacientů léčených sice inhibitory anti-TNF α , ale bez chronického střevního zánětu; právě takové srovnání by pomohlo odchytil průvodní efekt anti-TNF α na střevní mikrobiom a tím nalézt mikrobiální taxony spojené s restitucí střevní sliznice.

Cíl: Primárním cílem studie bylo systematicky charakterizovat fekální mikrobiom u dětí s CD léčených anti-TNF α a porovnat jej se změnami u stejně léčených dětí pro juvenilní idiopatickou artritidu (JIA) – systémové onemocnění, avšak bez chronického střevního zánětu. Sekundárním cílem bylo najít skupinu mikrobů, jejichž zastoupení se vlivem terapeuticky indukované remise anti-TNF α významně liší u CD, ale nikoliv u JIA.

Materiál a metody: Byly analyzovány vzorky stolice od 123 dětí ze šesti nemocnic v ČR (CD 56, JIA 18, zdraví 49). Celkem bylo analyzováno 536 vzorků stolice: 368 od dětí s CD (213 před léčbou a 155 po léčbě), 101 od dětí s JIA (79 před léčbou a 32 po léčbě) a 67 od kontrolních subjektů. Profilování bakteriomu bylo provedeno pomocí masivně paralelního sekvenování oblasti V4 genu pro 16S rRNA. Bioinformatická analýza používala redundanční analýzy, permutační analýzy rozptylu a víceúrovňové modelování alfa diverzity nebo četnosti taxonů.

Výsledky: U dětí s CD byla alfa diverzita (v rámci vzorku) snížena (počet pozorovaných taxonů a index Chaové $p < 10^{-4}$ v porovnání s kontrolními subjekty) a významně se měnila s časem, avšak nikoliv s anti-TNF α terapií. Analýza složení bakteriálních komponent ukázala též významnou interakci mezi časem a anti-TNF α terapií u CD ($p = 0,005$), ale nikoliv u JIA. V longitudinální observační analýze byla zjištěna významná souvislost s anti-TNF α terapií u zastoupení taxonů ve třídě Clostridia, které se zvýšily, na rozdíl od poklesu ve třídě Bacteroidia.

Závěr: Crohnova choroba u dětí je doprovázena sníženou diverzitou fekálního mikrobiomu a občasným přemnožením specifických taxonů. Bylo možné charakterizovat několik taxonů, jejichž četnost se změnila po terapii anti-TNF α u Crohnovy choroby, avšak nikoliv u JIA: to ukazuje na potenciální účinek anti-TNF α na obnovu zánětem poškozeného střeva. Budou-li tyto výsledky ověřeny i v jiných pracích, mohla by tato zjištění pomoci se zaměřit na antimikrobiální terapii nebo probiotickou suplementaci.

Podpora projektu: GAUK, č. 166119