

58 SCHOPNOST VNÍMÁNÍ PERSPEKTIVY V ČASNÝCH STÁDIÍCH ALZHEIMEROVY NEMOCI

Bláhová M., Laczó M., Švačková Z., Svatková R., Sedláková V., Vyhnálek M., Hort J., Laczó J.

Neurologická klinika, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Fakultní nemocnice Motol

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Úvod: Se stárnutím populace přibývá osob s kognitivním deficitem. Vzhledem k objevujícím se možnostem kauzální terapie Alzheimerovy nemoci (AN) je vzrůstající snaha nalézt spolehlivý test pro diagnostiku AN a její odlišení od ostatních neurodegenerativních onemocnění. Prostorová orientace je závislá na oblastech mozku časně postižených AN a její narušení je typické pro časná stadia onemocnění. Proto může narušení orientace v prostoru sloužit jako časný kognitivní marker AN. Jedním z typů orientace v prostoru je vnímání perspektivy, což je schopnost představit si určitá místa z jiné pozice pozorovatele.

Cíl: Naším cílem bylo zhodnotit potenciál testů zaměřených na schopnost vnímání perspektivy k odlišení kognitivního deficitu při časně AN od kognitivního deficitu jiné etiologie.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 66 účastníků: 22 s mírnou kognitivní poruchou (MCI) a pozitivními biomarkery AN (AN MCI), 15 s MCI a negativními biomarkery AN (non-AN MCI), 7 s lehkou demencí při AN (AN demence) a 22 starších kognitivně normálních osob. Všichni účastníci podstoupili klinické a neuropsychologické vyšetření, MRI mozku s automatickou volumetrií a vyšetření biologických markerů AN (vyšetření amyloidové PET a/nebo průkaz beta-amyloidu v mozkomíšním moku). Účastníci dále podstoupili dva testy schopnosti vnímání perspektivy: Standardized Road-Map Test of Direction Sense (RMTDS) a Perspective Taking/Spatial Orientation Test (PTSOT). V testu RMTDS účastníci následovali na mapě města vyznačenou trasu a určovali směr, kterým se vydají na každé křižovatce (vpravo nebo vlevo). Test PTSOT obsahoval obrázky různých objektů a účastníci si měli představit, že stojí na určitém místě, ze kterého měli určit směr mezi jinými vybranými objekty.

Výsledky: Skupiny AN MCI a AN demence měly v PTSOT nižší skóre než kognitivně normální skupina ($p < 0,05$). Stejně tak v RMTDS měla AN MCI skupina nižší skóre ve srovnání s kognitivně normální skupinou ($p < 0,05$). Kognitivně normální a non-AN MCI měli srovnatelný výkon v obou testech.

Závěr: Prokázali jsme horší schopnost vnímání perspektivy u pacientů s AN. Testy zaměřené na schopnost vnímání perspektivy mají proto potenciál stát se užitečnými nástroji pro screening časných stadií AN a tím napomoci v časně diagnostice nemoci a zahájení léčby.

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

4 SCOPING REVIEW OF THE PALMARIS PROFUNDUS MUSCLE: ANATOMY OF A RARE VARIANT AND ITS ROLE IN CARPAL TUNNEL SYNDROME

Zítek H.(1), Humhej I.(1,2), Kunc V. (2,3), Kachlík D. (1,2)

1 - Department of Neurosurgery, Purkinje University, Masaryk Hospital, Usti nad Labem, Czech Republic 2 - Department of Anatomy, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic 3 - Department of Trauma Surgery, Purkinje University, Masaryk Hospital, Usti nad Labem, Czech Republic

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

Introduction: The palmaris profundus muscle is a rare anatomical variation of a muscle belonging to the anterior group of the forearm muscles. It has been described in both cadaveric and clinical studies as an incidental finding and as a possible cause of carpal tunnel syndrome.

Aims: We observed three cases of this variant muscle in recent years during carpal tunnel surgery. and therefore we decided to perform a scoping review of this uncommon anatomical entity and possibly come with a recommendation for cases when the tendon is encountered during this procedure.

Materials and Methods: Major databases were searched to identify all relevant clinical and anatomical studies containing anatomical descriptions of the muscle, including its origin, insertion, and concomitant presence of the proper palmaris longus muscle or the bifid median nerve. In clinical cases, we studied the surgical approach.

Results: 62 articles met our inclusion criteria and contained 86 cases of palmaris profundus muscle. The most common origin was the ventral aspect of the radius in the area of insertion of the pronator teres muscle observed in 11 cases (12.8 %). We found 63 cases (73.3%) in which the tendon was inserted into the palmar aponeurosis or palmar fascia after entering the carpal canal. The concomitant presence of the proper palmaris longus muscle was described in 47 cases (54.7%). We identified 10 cases (11.6%) of the bifid median nerve. In 48 of 67 clinical cases (71.6%), the surgical approach was to resect the variant muscle.

Conclusions: The importance of this variant should not be underestimated due to its potential to compress the median nerve. We found a significant disparity in the muscle origin sites, but uniformity of muscle insertion. In cases where the muscle is found during carpal canal surgery, it should be partially resected to ensure complete nerve decompression.

6 CAN THE ADVERSE COMPLICATIONS OF FOOT DROP BE PREVENTED BY AN ENDOPROSTHESIS: DESIGN AND DEVELOPMENT OF A PROTOTYPE DEVICE

El-Osta Bassel

Second Faculty of Medicine, Charles University, V Úvalu 84, 150 06 Prague 5

Supervisor: Tomas Trc

Introduction: Foot drop is a very old problem since Jacob from the bible was limping when he was wrestling with the angels. Foot drop occurs very often, and it is a very common condition in trauma, after surgery, and neurological diseases.

Aims: The aim of this project is to identify an endo-prosthesis and test it bio-mechanically and bio-medically in order to resolve the problem.

Materials and Methods: This endo-prosthesis must improve the quality of life for patients suffering from foot drop due to the injury to the common peroneal nerve. The device that must be created should be small and surgically will be attached to the muscle internally and work as if the muscles and nerve were intact. The device would be tested outside the human body. It is important to throw light on that the device should be made of a material that is accepted by the human body and should have a stiffness that is close to the weight of the foot to ensure a normal motion. The intent of this bio-mechanical device is to help patients suffering from foot drop to restore normal motion.

Results: An endo-prosthesis that is implanted in the foot might be the solution to foot drop disease.

Conclusions: The endo-prosthesis has a major role to do the opposite movement and bring the foot into the dorsiflexion position and insure the plantar and lateral movement of the foot. Therefore, the device must be small to be implanted under the skin and adaptable to human tissue to avoid degradation and rejection.

Support: None

8 ULTRASENSITIVE BIONANOSENSORS FROM FUNCTIONALIZED NANOFIBERS FOR MUSCULOSKELETAL DISORDERS DIAGNOSIS

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

1 - Department of Biophysics, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, 2 - Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Sassari, Italy, 3 -Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Prague, Czech Republic, 4- Rudolph and Stephanie Hospital, Beneřov, Czech Republic, 5 - University Centre for Energy Efficient Buildings, Czech Technical University in Prague, Trinecka 1024, 27343 Bystehrad, Czech Republic

Supervisor: prof. RNDr. Evřen Amler, CSc.

Introduction: Biomarkers, bionanosensors, and molecular diagnostics are an integral part of personalized medicine, just as the combination of modern diagnostic methods with targeted therapies come together in the notion of theragnostics. However, new approaches provide a fresh perspective on long-established areas.

Aims: The main goal of the study was the development of nanofiber membranes and yarns for mechanically stable smart ultrasensitive sensors appropriate for ultra-sensitive detectors. These detectors functionalized with specific markers could be applicable for early-stage detection of severe diseases in medical offices. The aim was also development a nanofiber-based system for theragnostic applications.

Materials and Methods: The first experiment investigated the possibility of filtering the joint synovial fluid aspiration (punctate) and comparison with confirmed infectious inflammation of the joint. Our group reached increasing specificity using bionanosensors for the detection of different types of bacteria, such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in gases. In the current stage of development, experiments are transferred on fluids, such as a model of synovial fluid.

Results: The main result is a successful detection of bacterial pollution in gases on our functionalized nanomembrane. This novel technology-enabled detection of bacteria by binding of specific protein markers. Currently, our experiments are aiming at the preparation of nanobiosensor for highly sensitive detection of bioactive substances (like specific proteins, antibodies, or miRNAs) in liquids to open the possibility for early-stage disease diagnosis.

Conclusions: We have performed a first step towards the brand-new technology for the detection of severe diseases at general medical offices. However, several essential aspects must be considered in diagnosing and treating degenerative joint diseases, such as heterogeneity of symptoms in the early stages, indirect correlation of diagnostic findings using standard imaging techniques with patient complaints, and frequent low availability of imaging techniques. This brings us closer to answering the question: why is early diagnosis and staging of these diseases difficult? The answer to this question is the multifactorial nature of most degenerative diseases and a significant link between musculoskeletal system functionality and the patient's well-being in detecting pathological conditions.

Support: The research was supported by the Charles University Grant Agency (project no. 312123)

9 Kazuistika: *Kytococcus schroeteri*, původce subakutní infekční endokarditidy, zprvu považovaný za kontaminaci při odběru hemokultury

Marie Richterová, Jakub Hurych, Barbora Dratvová, Milena Antušková, Pavel Dřevínek

Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Fakultní nemocnice Motol, Praha

Pregraduální student

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

Úvod: *Kytococcus schroeteri* byl již dříve popsán jako vzácný původce infekcí protetických implantátů, zejména v souvislosti s chlopenními náhradami, což může vést k infekční endokarditidě.

Cíl: Dne 24. května 2022 byla do Fakultní nemocnice Motol v Praze přijata 88letá žena s horečkou neznámé etiologie. Tři měsíce předtím jí byla implantována umělá aortální chlopeň. Při přijetí byly odebrány hemokultury (HK) a jedna ze šesti lahvíček byla pozitivní na *K. schroeteri* (identifikováno pomocí MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Německo; při následné kultivaci kolonie vyrostly na krevním a na čokoládovém agaru). Paralelně prováděné panbakteriální PCR z plné krve však žádný mikroorganismus nedetekovalo. Na základě rozhodnutí ošetřujícího lékaře byla tedy antimikrobiální léčba zahájena empiricky – pacientce byl po dobu jedenácti dnů podáván ampicilin a gentamicin. Klinický stav pacientky se zlepšil a byla z nemocnice propuštěna.

O sedmnáct dní později však musela být pacientka znovu přijata, opět kvůli horečkám. Okamžitě byla zahájena empirická antimikrobiální léčba ampicilinem a gentamicinem. Tentokrát byla *K. schroeteri* identifikována hned v několika lahvíčkách odebraných při dvou různých odběrech (viz tabulka 1), což spolu s dalšími faktory (umělá chlopeň, pozitivita revmatoidního faktoru a horečka) splňovalo kritéria pro diagnózu subakutní infekční endokarditidy (1). 27. června byla další léčba z důvodu dalšího zhoršení stavu pacientky (horečka, elevace CRP, leukocytóza; viz tabulku 1), konzultována s klinickým mikrobiologem, který doporučil podávat kombinaci vankomycin, gentamicin a rofampicin. Citlivost *K. schroeteri* na zvolená antibiotika byla laboratorně potvrzena. Stav pacientky se začal postupně zlepšovat a po 57 dnech strávených v nemocnici mohla být propuštěna.

Materiál a metody: -

Výsledky: -

Závěr: Přestože je *K. schroeteri* vzácným původcem infekční endokarditidy, jeho nález by neměl být podceňován, a to obzvláště u pacientů s protetickými implantáty. Nedostatečná léčba totiž může, jako ve zde popsaném případě, vést k závažnému relapsu.

14 ENDOLEAK II TYPU A JEHO PROGNOSTICKÝ VÝZNAM

EL SAMMAN K. (1), ŠEDIVÝ P. (2), PŘINDIŠOVÁ H. (3), ŠNAJDROVÁ A. (3)

1 - Klinika jednodenní chirurgie Palas Athéna, Praha 1 - Chirurgická klinika, FN Královské Vinohrady, Praha 2 - Oddělení cévní chirurgie. Nemocnice na Homolce, Praha 3 - Radiodiagnostické oddělení. Nemocnice na Homolce, Praha

Školitel: MUDr. Petr Šedivý, Ph. D.

Úvod: Endoleak je nejčastější specifickou komplikací endovaskulární léčby výdutě břišní aorty (EVAR). Je definován jako přetrvávající tok krve ve vaku aneuryzmatu po EVAR. Podle místa vzniku se rozlišují 4 základní typy endoleaky. Nejčastějším typem je endoleak (EL) II typu, kdy dochází k perfuzi vaku přes volné větve výdutě (přes lumbální tepny, dolní mezenterickou tepnu, sakrální tepnu či akcesorní renální tepnu). U EL II typu ještě rozlišujeme dvě podskupiny: EL IIa, kdy je zpětný proud pouze z jedné arterie, a typ IIb, kdy je zpětný proud ze dvou a více arterií.

Cíl: Sledování EL II typu a jeho klinického významu

Materiál a metody: V posledních letech dochází ke změně strategie léčby EL II typu. Zatímco dříve byla snaha o preventivní řešení již při implantaci stentgraftu, v současnosti se většinou pacienti s EL II typu sledují a EL se řeší až při případné progresi velikosti vaku výdutě o 5 mm a více.

V našem souboru jsme retrogradně sledovali 126 nemocných po EVAR mezi lety 2011 a 2017. Ze souboru jsme vyloučili akutní, prasklé, zánětlivé a infekční výdutě. Doba sledování 15 – 128 měsíců (medián 77 měsíců)

Výsledky: EL II typu se při kontrole po jednom měsíci od výkonu vyskytl u 22 pacientů (17,5 %). Při kontrole 6 měsíců od operace EL II typu přetrvával u 12 pacientů (9,5 %).

Pět z těchto 12 pacientů mělo zmenšení velikosti vaku i při perzistujícím EL.

U tří pacientů byla velikost vaku stacionární.

U čtyř pacientů (3,2 %) byla nutná reintervence pro progresi velikosti vaku, u jednoho z nich byla nutná otevřená operace pro pokračující expanzi vaku, při výkonu bylo zjištěno i EL I typu.

Všichni tito řešení pacienti měli EL typu IIb, dva z nich byli trvale antikoagulováni Warfarinem a dva byli na duální antiagregační léčbě kvůli přidruženým chorobám. U žádného pacienta nedošlo k ruptuře aneuryzmatu

Závěr: Procento nutných reintervencí u EL II typu je malé, řešení je nutné častěji u pacientů s EL typu IIb, kteří současně užívají antikoagulační či duální antiagregační terapii. Dále je nutné myslet na možnou koexistenci i jiného typu EL

15 Neobvyklé genové fúze u pacientů s nodulární fasciitidou

Stanek M., Balko J., Krsková L., Zámečník J.

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

Pregraduální student

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

Úvod: Nodulární fasciitida je považována za benigní myofibroblastický nádor vznikající většinou u pacientů středního věku, typicky v povrchových fasciích horních končetin, hlavy a trupu. V posledních letech jsou stále častěji identifikováni noví fúzní partneři genu USP6 v případech tohoto mezenchymálního novotvaru. Většinou se však jedná pouze o jednotlivá kazuistická sdělení a zdrojů zabývajících se touto problematikou je celkově nedostatek.

Cíl: Cílem naší retrospektivní nerandomizované studie bylo identifikovat nové a raritní fúzní partnery genu USP6 v případech nodulární fasciitidy. Na molekulární úrovni je nodulární fasciitida ve většině případů charakterizovaná translokací t(17;22) s fúzním genem MYH9::USP6, nicméně bylo prokázáno, že gen USP6 může mít i jiné, leckdy raritní fúzní partnery. Již bylo prokázáno, že znalost nových fúzních partnerů s genem USP6 lze využít jak k diagnostice, tak ke stanovení biologického chování této choroby.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto celkem 19 případů nodulární fasciitidy, které jsme diagnostikovali mezi lety 2011-2022 na Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol. Kromě histopatologického vyšetření byly všechny případy analyzovány také pomocí imunohistochemie, RT-PCR a/nebo metodou NGS (Archer Anchored multiplex RNA methods). Kromě toho jsme sledovali základní demografické charakteristiky všech pacientů a analyzovali relevantní klinická data.

Výsledky: U 13 vyšetřených vzorků jsme prokázali rekurentní fúzi MYH9::USP6 a u zbývajících šesti jednoho nového (KIF1A) a pět raritních (TMP4, SPARC, EIF5A, MIR22, COL1A2) fúzních partnerů genu USP6. U všech vyšetřených pacientů měla nodulární fasciitida benigní biologické chování a byl zaznamenán pouze jeden případ recidivy tumoru u 40leté ženy, která měla nodulární fasciitidu na kůži s typickou fúzí MYH9::USP6.

Závěr: Identifikace a popis nových fúzních partnerů genu USP6 napomáhá k pochopení biologického chování nodulární fasciitidy. Navíc se může jednat o užitečný nástroj v diferenciální diagnostice měkkotkáňových nádorů.

33 MUTATED NEURONS IN MOUSE MODEL OF FOCAL CORTICAL DYSPLASIA DISPLAY DIFFERENT FIRING PROFILE THAN HEALTHY PYRAMIDAL CELLS.

Nguyenová M. T. (1), Procházková N. (1), Řehořová M. (1), Kylarová S. (1), Jiruška P. (1), Novák O. (1)
1 - Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

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

Introduction: Focal Cortical Dysplasia (FCD) is a localized malformation of the cerebral cortex, which is often associated with pharmaco-resistant epilepsy. FCD is characterized by abnormal proliferation, differentiation, and migration of neurons during cortical development. Although intensively studied, the mechanisms of cellular activity, which are responsible for the epileptogenicity of FCD still remain unknown.

Aims: In this work, we aim to characterize activity and role of cellular subtypes in FCD-related epilepsy with advanced optophysiological method of voltage imaging.

Materials and Methods: FCD was induced through in utero electroporation of cDNA carrying mTOR gene with p.Leu2427Pro mutation. Animals with FCD lesion underwent implantation of cranial window along with local injections of adeno-associated virus carrying genetically encoded voltage indicator VoltronST. In vivo recordings were performed five weeks after surgery with one-photon microscopy at 1kHz frame rate. Action potentials were extracted from averaged pixel brightness from manually labeled regions.

Results: We analyzed signals from 18 pyramidal cells in four control animals and signals from 24 mutated neurons from three animals with FCD. We have observed significantly lower spontaneous firing rate in mutated neurons (0.65 ± 0.12 Hz; 1.84 ± 0.54 Hz; SEM; $P < 0.05$). On the other hand, we have observed higher occurrence of bursts as well as significantly higher intra-burst frequency in mutated neurons compared to control neurons (169.4 ± 6.1 Hz; 113.2 ± 6.3 ; SEM; $P < 0.005$).

Conclusions: We have demonstrated that voltage imaging is a very effective method of studying physiological and pathological processes in vivo. Our pilot data show that mutated neurons in FCD lesion tend to generate spontaneous activity with characteristics of an epileptic neuron.

Support: This work was supported by grants from AZV CR, Ministry of Health, Czech Republic (NU21-08-00533, NU21-04-00601), Czech Science Foundation GACR (20-25298S, 21-17564S), Charles University Grant Agency (GA UK 254122), and Charles University Primus Research Programme (PRIMUS/21/MED/005).

38 DETEKCE PATOGENNÍCH EXPAZÍ KRÁTKÝCH NUKLEOTIDOVÝCH REPETIC ZVYŠUJE ÚSPĚŠNOST DIAGNOSTIKY VZÁCNÝCH NEUROLOGICKÝCH CHOROB

Musilová A.(1), Musová Z.(2), Laššuthová P.(1), Sedláčková L.(1), Uhrov Meszárosová A.(1), Šafka Brožková D.(1)

1 - Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2. LF UK a FN Motol, 2 – Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Dana Šafka Brožková, Ph.D.

Úvod: Krátké tandemové repetice (KTR) je označení DNA složené z repetice krátkých nukleotidových motivů. Délka KTR je polymorfní, ale jejich nadměrná expanze způsobuje různá onemocnění, především neurologická. Pro tyto choroby je typické, že s narůstající délkou expanze se stupňuje závažnost symptomů a dochází k dřívějšímu projevu nemoci u pacienta.

Z naší zkušenosti se až u 70 % pacientů se vzácnou neurologickou chorobou, poslaných na celomomové (WES) a celo-genomové (WGS) vyšetření, nepodaří najít kauzální genetickou příčinu pomocí hledání jednobodových záměn a krátkých inzercí a delecí. Odhalení kauzální aberace je přitom důležité nejen pro správnou diagnózu a sestavení léčebného protokolu, ale i pro prevenci znovuobjevení nemoci v rodině.

Cíl: Cílem výzkumu je využití detekce expanzí KTR k hledání příčiny onemocnění u pacientů se vzácnými neurologickými chorobami, u kterých nebyla odhalena kauzální genetická aberace standardními metodami.

Materiál a metody: Délku 42 lokusů KTR, které byly asociovány s neurologickým onemocněním, jsme analyzovali u 1001 WES a 70 WGS vzorků pomocí nástroje ExpansionHunter (Dolzhenko 2019). Metodu detekce jsme úspěšně otestovali na 3 WES a 3 WGS vzorcích s laboratorně ověřenou patogenní expanzí KTR.

Výsledky: Z analyzovaných 1001 WES a 70 WGS vzorků jsme u 5 z nich odhalili expanze KTR v patogenním rozsahu v genech AR, DMPK, NIPA1 a PHOX2B. Dalších 5 vzorků jsme identifikovali jako heterozygotní nepostížené přenašeče expanze KTR v patogenním rozsahu v genech DMD, PABPN1, PRDM12 a VWA1.

U 3 vzorků byla zachycena patogenní expanze v genu ATXN1, ale motiv byl přerušen jiným nukleotidem a tudíž expanze nezpůsobuje onemocnění.

Analýza také ukázala 2 WES a 17 WGS vzorků s jasně falešně pozitivním nálezem expanze s NGC motivem v genu RUNX2 a HOXA13. Je velmi pravděpodobné, že tyto vzorky mají dlouhou expanzi motivu NGC v oblasti, která nebyla mezi 42 zkoumanými a je třeba identifikovat jejich polohu jinou metodou.

Závěr: Analýza patogenních expanzí již známých KTR zvyšuje úspěšnost odhalení kauzální genetické aberace u vzácných neurologických chorob o 0.47 %. Metodu jsme úspěšně standardizovali jako nový diagnostický nástroj pro pacienty s WES a WGS vyšetřením.

Podpora projektu: Výzkum byl podpořen grantem NU22-04-00097.

46 Korelace hladin neurofilament v séru a klinických projevů u pacientů s Friedreichovou ataxií v České republice

Lucie Šťovíčková(1,7), Jitka Hanzalová(2), Martin Šimčík(3), Filip Kolman(3), Kateřina Stanzelová(3), Amika Židovová(3), Jaroslava Paulasová Schwabová(4,7), Zuzana Mušová(5,7), Pavel Kršek(6), Martin Vyhnálek(4,7), Alena Zumrová(1,7)

1 - *Klinika dětské neurologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy (2. LF UK), Fakultní nemocnice v Motole (FN Motol), Praha, 2 - Ústav imunologie, 2. LF UK, FN Motol, Praha; 3 - 2. LF UK, Praha, 4 - Neurologická klinika, 2. LF UK, FN Motol, Praha, 5 - Ústav biologie a lékařské genetiky, FN Motol, Praha, 6 - Klinika dětské neurologie, 2. LF UK, FN Motol, Praha, 7 - Centrum hereditárních ataxií (CHA), 2. LF UK, FN Motol, Praha*

Školitel: MUDr. Zumrová Alena, Ph.D.

Úvod: Friedreichova ataxie (FA) je vzácné dědičné onemocnění způsobené mutací v FXN genu (zmnožení GAA repeatů). Projevuje se zejména poruchami koordinace, kardiomyopatií, diabetem mellitem v důsledku mitochondriální dysfunkce z narušení tvorby Fe-S klastrů.

Neurofilamenta (lehké NFL a fosforylované těžké pNFH řetězce), strukturální proteiny axonů neuronů, jsou studovány jako možné biomarkery pro sledování neurodegenerativních procesů (progrese a odpovědi organismu na terapii).

Cíl: Cílem studie bylo sledovat a korelovat hladiny pNFH a NFL a klinických projevů onemocnění u skupiny pacientů s FA z České republiky a porovnat je s hladinami těchto markerů u zdravé kontrolní skupiny.

Materiál a metody: V období mezi 08/2021 a 05/2023 jsme vyšetřili 42 pacientů s FA (6 z toho <18 let) a 15 zdravých kontrol. Klinické hodnocení proběhlo na základě dat z EFACTS registru za využití následujících škál, testů a dotazníků: SARA, FARS-ADL, INAS, SCAFI, MoCA, EQ-5D, SF-10, SF-36v2 ad. Hladiny NFL a pNFH v séru byly kvantifikovány pomocí ELISA metody. Počet GAA repeatů byl změřen v externí laboratoři EFACTS v Miláně.

Výsledky: Byla identifikována korelace mezi hladinami NFL a průměrnou roční změnou v objektivní škále SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) i v dotazníku FARS-ADL (Activities of Daily Living) hodnoceném pacienty.

Další statisticky významnou korelaci s hladinami NFL vykazovala 7-bodová škála míry postižení Spinocerebellar Degeneration Functional Score (SCDFS).

Potvrzena byla negativní korelace mezi hladinami NFL a délkou trvání onemocnění a věkem pacientů. Rozdíly v hladinách NFL pacientů a zdravých kontrol byly statisticky významné.

Závěr: Získaná data ukazují statisticky významné rozdíly v hladinách NFL mezi dětskými i dospělými FA pacienty a zdravými kontrolami. Vyšší hladiny NFL v raných stádiích onemocnění postupně klesají s věkem a progresí choroby. V longitudinální studii budeme dále zkoumat vývoj hladin NFL u jednotlivých pacientů ve srovnání s jejich průběhem onemocnění (v rámci protokolu EFACTS) i patologickým počtem GAA. Hladiny NFL perspektivním biomarkerem FA, jehož absolutní hodnoty i dynamika změn v čase by mohly být prakticky využity nejen k predikci vývoje onemocnění, ale v rámci klinických studií i k hodnocení efektivity inovativních způsobů léčby, jak jsou nyní ve světě vyvíjeny.

Podpora projektu: Studie byla podporována GAUK 2021 (č. 309121), GAUK 2023 (č. 226423), EFACTS (NCT02069509), programem EXCELES (LX22NPO5107). Centrum hereditárních ataxií je členem ERN-RND.

75 INICIACE ZÁCHVATŮ U MYŠÍHO MODELU FOKÁLNÍ KORTIKÁLNÍ DYSPLÁZIE II. TYPU - JAKOU ROLI HRAJÍ RŮZNÉ TYPY NEURONŮ?

Čabounová P. (1), Řehořová M. (1), Nguyenová M. T. (1), Populová J. (1, 3), Olson C. V. L. (1), Kudláček J. (1), Procházková N. (1), Chvojka J. (1, 4), Weissová R. (2), Balaščík M. (2), Otáhal J. (1, 2), Jiruška P. (1), Novák O. (1)

1 - Ústav fyziologie, 2. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha; 2 - Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha; 3 - Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha; 4 - Katedra teorie obvodů, Fakulta elektrotechnická, České vysoké učení technické v Praze, Praha

Pregraduální student

Školitel: Mgr. Ondřej Novák, Ph.D

Úvod: Fokální kortikální dysplázie (FCD) je vývojová abnormalita kortexu silně asociovaná s rozvojem farmakorezistentní epilepsie. FCD dělíme na několik typů, typ II definuje přítomnost dysmorfních neuronů (DN) vyznačujících se abnormální velikostí, orientací a dendritickými výběžky. Možná role DN v epileptických záchvatech u pacientů byla již dříve zkoumána. Bylo zjištěno, že oblast s vyšší koncentrací dysmorfních neuronů je místem, odkud záchvat vychází, avšak přesný význam těchto neuronů zůstává nejasný. Pokud se podaří hlouběji proniknout do buněčných a molekulárních mechanismů FCD, otevrou se možnosti nových terapeutických postupů u pacientů s farmakorezistentní epilepsií.

Cíl: Cílem práce bylo porozumět vlivu změn elektrické aktivity DN na spuštění záchvatu. Využili jsme metod optofyziologie umožňujících pozorování aktivity neuronů in vivo, na jehož základě můžeme determinovat aktivitu jednotlivých typů neuronů během záchvatu. Zvýšená aktivita na začátku spontánního záchvatu může poukázat na populaci neuronů hrajících klíčovou roli v jeho iniciaci.

Materiál a metody: Během experimentu jsme použili myší model FCD vytvořený metodou in utero elektroporace mutovaného mTOR genu do progenitorových neurogliaformních buněk kortexu. Pět až šest týdnů po narození byla provedena kraniotomie s umístěním kraniálního okna nad místo léze. Při operaci byl injikován adeno-asociovaný virus nesoucí gen pro kalciový indikátor jGCaMP7f a implantovány platinové elektrody pro dlouhodobé měření EEG. Vybraná místa v rámci transdukované tkáně byla následně jednou týdně po dobu dvou měsíců monitorována pomocí dvoufotonového mikroskopu. Během těchto měření bylo u čtyř myší zachyceno celkem osm spontánních záchvatů, které jsme následně vyhodnotili.

Výsledky: U třech záchvatů jsme pozorovali zvýšení aktivity VIP+ inhibičních interneuronů 20-40 sekund před záchvatem. Role těchto neuronů, exprimujících vazoaktivní intestinální polypeptid, je předmětem dalších studií. U jednoho záchvatu se ve stejném období aktivovaly vedle VIP+ interneuronů také DN. U čtyřech záchvatů vykazovaly podobnou aktivitu jak VIP+ interneurony a DN, tak pyramidové neurony.

Závěr: Získaná data ukazují na roli dysmorfních neuronů a VIP+ inhibičních interneuronů na počátku záchvatu. Tyto výsledky nám umožňují být o krok blíže k odhalení principů fungování nervového systému a zároveň pomáhají určovat směr budoucího výzkumu. Naším dalším cílem je zachytit a vyhodnotit větší množství záchvatů a studovat elektrickou aktivitu na úrovni jednotlivých neuronů.

77 MOŽNOSTI NADSTANDARDNÍHO VYŠETŘENÍ LIKVORU A JEJICH ROLE V MANAGEMENTU TERAPIE ZÁNĚTLIVÝCH ONEMOCNĚNÍ CENTRÁLNÍ NERVOVÉ SOUSTAVY U DĚTÍ

Svěráková A. (1), Libá Z. (1), Toman T. (1)

1. - *Klinická dětské neurologie* 2. LF UK a FN Motol

Školitel: MUDr. Zuzana Libá, Ph.D.

Úvod: Zánět hraje klíčovou roli v patofyziologii velké části onemocnění centrální nervové soustavy (CNS) u pacientů v dětském věku. Základní parametry vyšetření mozkomíšního moku běžně dostupné částečně i ve statimovém režimu v klinické praxi jsou často nedostatečné. Proto vedle těchto parametrů v současnosti doplňujeme vyšetření mozkomíšního moku o experimentální molekulárně cytologické metody. Mezi tyto metody spadá průtoková cytometrie, ta rozšiřuje možnosti identifikace leukocytárních populací v mozkomíšním moku, i změna jejich zastoupení v mozkomíšním moku může být známkou zánětu v CNS a tím ovlivnit strategii terapie.

Cíl: 1. Srovnání vyšetření mozkomíšního moku metodou průtokové cytometrie v kontextu klinického obrazu a ostatních tradičních laboratorních biomarkerů zánětlivého onemocnění CNS.
2. Demonstrace významu monitoringu zánětu a sledování jeho dynamiky v čase v klinické praxi.
3. Seznámení širší veřejnosti s metodou průtokové cytometrie a jejím možným využitím pro vyšetření mozkomíšního moku.

Materiál a metody: Implementace průtokové cytometrie a chemo-cytokínového měření do vyšetření mozkomíšního moku u naléhavých případů vzácných zánětlivých onemocnění CNS dětského věku ve spolupráci s CLIP KDHO a Ústavem imunologie FNM. Zejména stanovení lymfocytárních subpopulací B a T lymfocytů včetně aktivačních markerů (HLA-DR) a prozánětlivých chemo-cytokinů (C-X-C ligand 13, interleukin-1,-6, -8 a tumor nekrotizující faktoru alfa). Demonstrace klinického využití těchto metod formou kazuistik pacientů Kliniky dětské neurologie 2.lékařské fakulty Univerzity Karlovy a FN Motol (KDN FNM) a jejich srovnání s běžně dostupnými laboratorními vyšetřeními mozkomíšního moku. Máme k dispozici soubor dat zaznamenávající zánětlivý proces CNS v akutní fázi onemocnění a jeho následující vývoj v průběhu několika let.

Výsledky: U pacientů se zánětlivým onemocněním CNS jsme ukázaly abnormální nálezy lymfocytárních populací v mozkomíšním moku ve srovnání s periferní krví a elevaci prozánětlivých chemo-cytokinů, které korespondovaly s rutinními biomarkery neurozánětu. Demonstrovali jsme dlouhodobý proces hojení a odlišnou normalizaci rutinních a nově vyšetřovaných parametrů. V jednom případě se díky sledování včas odhalil relaps zánětlivého onemocnění.

Závěr: Průtoková cytometrie se v rutinní praxi zatím nevyužívá zejména pro malé zkušenosti s interpretací výsledků. Má však významný potenciál pro management terapie a monitoring zánětlivých onemocnění CNS, což může vést ke zlepšení prognózy těchto pacientů.

Brajerová M.(1), Havlíková L.(2), Šus D.(3), Geigerová L.(4), Čurdová M.(5), Tejkalová R.(6), Ryšková L.(7), Šimečková E.(8), Skružná M.(9), Bartoníková N.(10), Kuchařová A.(11), Veselá D.(12), Laskafeldová K.(13), Nyčová E.(14), Medňanský M.(15), Vítková I.(16), Krejčí E.(17), Polívková S.(18), Nyč O.(1), Dřevínek P.(1), Krůtová M.(1)

1 – Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol, 2 – Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Krajská nemocnice Liberec, 3 – Laboratoř klinické mikrobiologie, Nemocnice České Budějovice, 4 – Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Plzeň, Univerzita Karlova v Praze, 5 – Oddělení klinické mikrobiologie, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha, 6 – Mikrobiologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy university a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, 7 – Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 8 – Oddělení klinické mikrobiologie, Nemocnice Strakonice, 9 – Oddělení klinické mikrobiologie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, 10 – Oddělení lékařské mikrobiologie, Krajská nemocnice Tomáše Bati, 11 – Oddělení lékařské mikrobiologie, Nemocnice Tábor, 12 – Oddělení lékařské mikrobiologie, Nemocnice Jindřichův Hradec, 13 – Laboratoř klinické mikrobiologie, Laboratoře AGEL a.s., Nový Jičín, 14 – Oddělení klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Bulovka, 15 – Laboratoř klinické mikrobiologie, Nemocnice Havlíčkův Brod, 16 – Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Fakultní nemocnice Brno, 17 – Laboratoř bakteriologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, 18 – Oddělení lékařské mikrobiologie, Oblastní nemocnice Kolín a.s.

Školitel: Mgr. Marcela Krůtová, Ph.D.

Úvod: Vankomycin rezistentní enterokoky (VRE) jsou významnými nozokomiálními patogeny. Vzhledem k jejich přenositelné rezistenci k vankomycinu, jedním z antibiotik poslední volby, je nutné výskyt těchto patogenů pečlivě monitorovat.

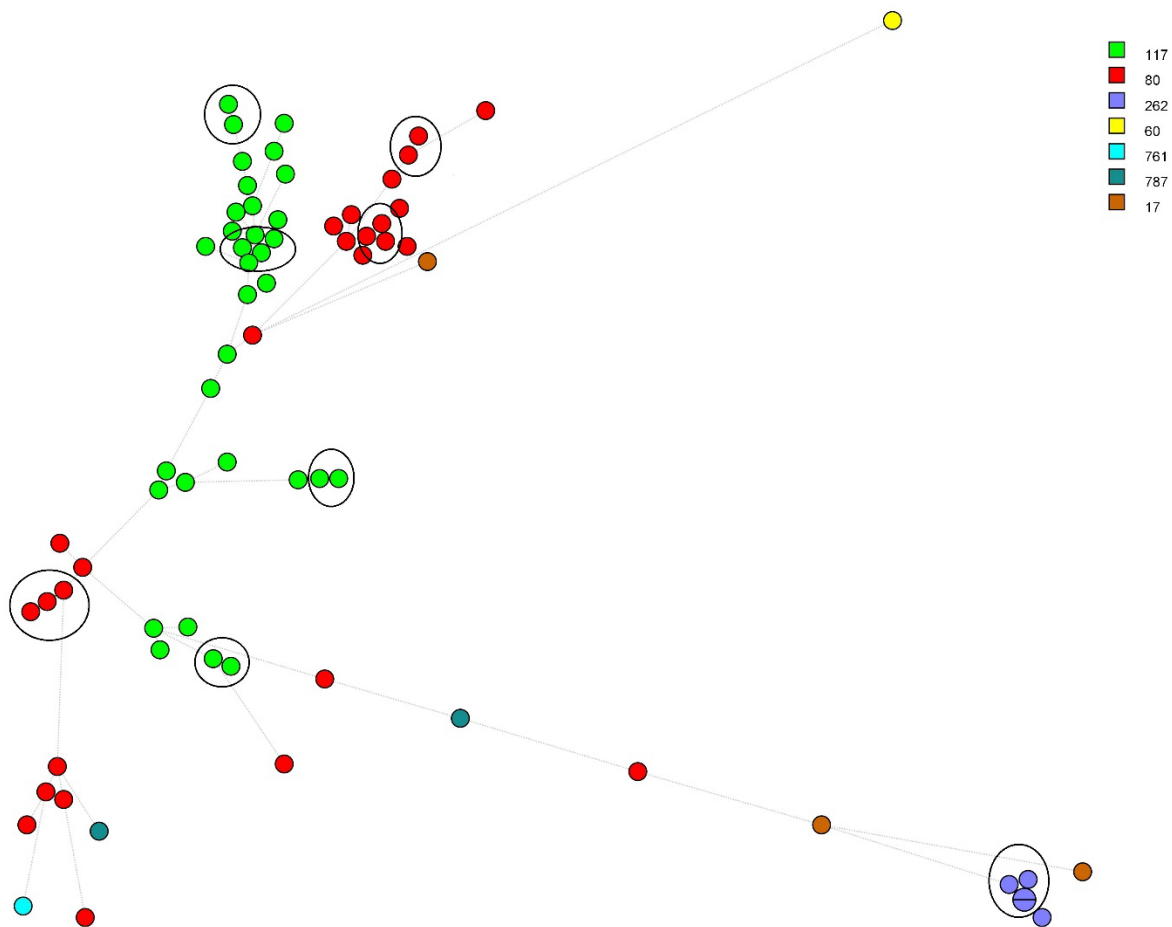
Cíl: Na základě chybějících dat o epidemiologii VRE v České republice jsme iniciovali multicentrickou studii s detailní charakterizací izolátů VRE.

Materiál a metody: Do studie bylo zapojeno 20 nemocnic pokrývajících území ČR. Od září do prosince 2022 bylo z každé nemocnice zasláno 10 po sobě jdoucích izolátů na charakterizaci pomocí celogenomového sekvenování (Illumina) a testování citlivosti k rozšířené řadě antibiotik pomocí diskové difuzní metody. Genetická příbuznost izolátů byla stanovena celogenomovou multilokusovou sekvenační typizací (wgMLST, 3964 loci, Bionumerics 8.1). Mechanizmy rezistence byly detekovány pomocí softwaru ResFinder a LRE-finder.

Výsledky: Celkem bylo zasláno 166 neduplikovaných izolátů rezistentních k vankomycinu (*Enterococcus faecium* n=164 a *Enterococcus faecalis* n=2). Průměrný věk pacientů byl 66,54 let a 39,8 % tvořily ženy. Do podání abstraktu bylo vyhodnoceno 45 % izolátů (n=75) z 16 českých nemocnic. Na konferenci budou prezentována data pro všechny izoláty. U všech izolátů *E. faecium* (75/166), které již byly analyzovány, byly detekovány geny rezistence pro vankomycin, erytromycinu, klindamycinu a gentamicinu. Mutace, které způsobují rezistenci k norfloxacinu a k ampicilinu byly detekovány u 74 izolátů (98,67 %). Geny rezistence k tetracyklinu byly detekovány u 35 izolátů. U šesti izolátů byla detekovány různé mechanismy rezistence k linezolidu. Nalezené mechanismy rezistence korelovaly s rezistenčním fenotypem. Alarmující je nález 2 izolátů, které byly z testovaných antibiotik citlivé pouze k tigecyklinu. Dominantními sekvenčními typy byly 117 a 80 (n=34, 45,3 %; n=27, 36 %). Pomocí wgMLST bylo detekováno 8 klastřů, kdy se jednotlivé izoláty mezi sebou lišily pouze od jedné do pěti alel (Obrázek 1), byly tedy klonálně příbuzné. Dva z těchto klastřů zahrnovaly izoláty z různých nemocnic.

Závěr: V naší multicentrické studii byla zjištěna klonální příbuznost izolátů VRE v rámci jednotlivých nemocnic a také mezi některými nemocnicemi. Ve dvou nemocnicích byly zachyceny multirezistentní izoláty s velmi omezenou možností léčby.

Podpora projektu: Podpořeno z projektu Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – NextGeneration EU.



Obrázek 1. Zobrazení genetické příbuznosti jednotlivých izolátů (Bionumerics 8.1). Jednotlivé ST jsou označeny barevně. Klastry, ve kterých se jednotlivé izoláty lišily pouze od jedné do pěti alel jsou ohrazeny kruhem.

81 VYUŽITÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROSKOPIE K TYPIZACI IZOLÁTŮ STREPTOCOCCUS PYOGENES

Vančura M.(1), Brajerová M.(1), Dratvová B.(1), Tkadlec J.(1), Štefan M.(2), Dřevínek P.(1) a Krůtová M.(1)

1 - Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF a FN Motol, Praha, 2 - Klinika infekčních nemocí a cestovní medicíny, 2. LF a FN Motol, Praha.

Pregraduální student

Školitel: Mgr. Marcela Krůtová, Ph.D.

Úvod: Od konce roku 2022 je v ČR podobně jako v jiných evropských zemích pozorován výrazný nárůst infekcí způsobených *Streptococcus pyogenes*. Tento nárůst je připisován rozšíření epidemické linie M1 (emm typ1) z Velké Británie, která se kromě vyšší přenosnosti vyznačuje také vyšší virulencí asociovanou s invazivními infekcemi.

Přístroj IR-Biotyper využívá infračervenou spektroskopii s Fourierovou transformací (FT-IR) k fenotypové analýze podobnosti kmenů stejného bakteriálního druhu v reálném čase. Spektrum se vytváří z molekulárních vibrací způsobených absorpcí infračerveného světla molekulami tvořícími bakteriální buňku jako jsou lipidy, proteiny a nukleové kyseliny.

Cíl: Evaluace diskriminační schopnosti FT-IR pro typizaci klinických izolátů *S. pyogenes*.

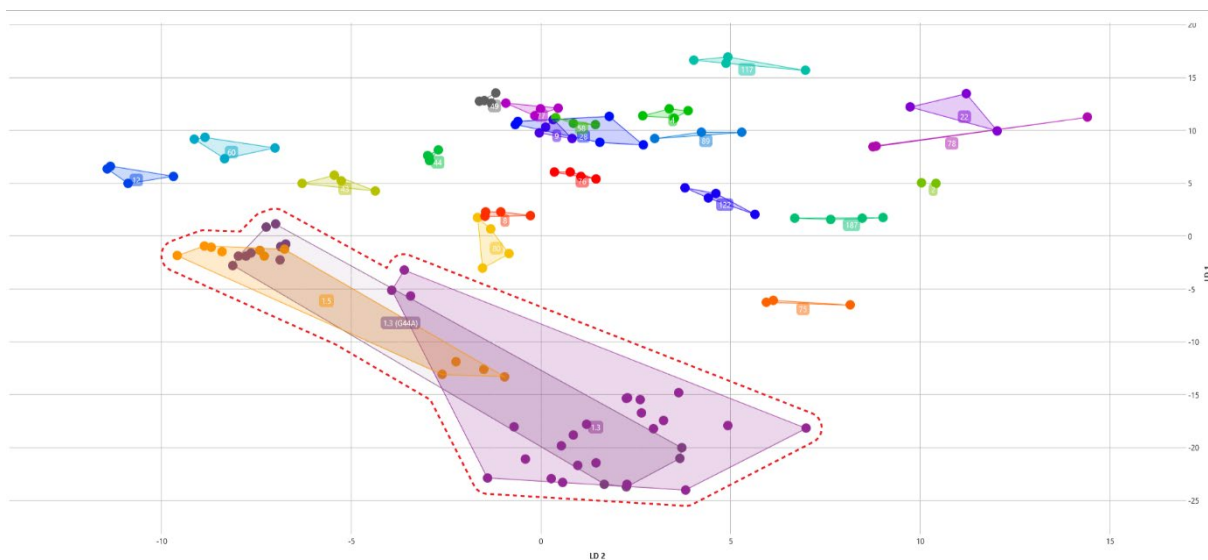
Materiál a metody: Do pilotního testování bylo vybráno 24 klinických izolátů *S. pyogenes*, různých emm typů (odlišnost sekvence povrchového M-proteinu) a dalších 11 klinických izolátů epidemického emm typu 1 (subtypy 1.3, 1.3 (G44A), 1.5) ze sbírky 460 izolátů ÚLM 2.LF a FNM. Tyto emm typy reprezentují kmeny cirkulující nyní v ČR.

Bakteriální suspenze (po 24 hodinové kultivaci na krevním agaru při 37°C v 5% CO₂ atmosféře) byla nanášena na křemíkovou destičku, vysušena a změřena přístrojem IR-Biotyper (Bruker Daltonics). Pomocí softwaru (v 3.1) byla analyzována spektra pro lipidy (3000-2800 a 1500-1400/cm), proteiny a karbohydráty (1800-900/cm) a také spektra defaultního nastavení (1300-800/cm). Každý izolát byl analyzován v technickém triplikátu nebo kvadruplikátu. Replikáty, které v rámci jednoho vzorku neklastrovaly v hierarchickém klastrování, byly z analýzy odstraněny.

Výsledky: Klastr izolátů emm typu 1 byl spolehlivě odlišen od ostatních emm typů *S. pyogenes* pomocí lineární diskriminační analýzy (LDA) spekter proteinů a karbohydrátů (obrázek 1). Některé z ostatních emm typů byly také odlišitelné, ale některé emm typy spolu klastrovaly. Podle defaultního a/nebo lipidového IR spektra se izoláty jednotlivých emm typů nelišily.

Závěr: FT-IR není schopná odlišit všechny nyní cirkulující emm typy, ale spolehlivě identifikuje epidemický *S. pyogenes* typ emm 1, což může představovat důležitou informaci pro ošetřujícího lékaře z pohledu péče o pacienta vzhledem k jeho popsání zvýšené virulenci.

Podpora projektu: Podpořeno z projektu Národního institutu virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – NextGeneration EU.



Obrázek 1: Lineární diskriminační analýza (LDA) klinických izolátů *S. pyogenes* patřících k různým emm typům (rozdíly v sekvencích povrchového M proteinu) s identifikovaným klastrem izolátů epidemického emm typu 1 (subtypy 1.3, 1.3 (G44A), 1.5), zvýrazněno šrafováním.

84 Kvantitativní studie nových anatomických struktur na kostech předloktí

Salavová Š. (1,2), Al-Redouan A. (1,2), Belbl M. (1,2), Jílková N. (1,2), Vála D. (1,2), Adla T. (3,4), Kachlík D. (1,2)

1 - Ústav Anatomie, 2. LF UK, Praha, Česká republika 2 - Centrum endoskopické, chirurgické a klinické anatomie (CESKA), 2. LF UK, Praha, Česká republika 3 - Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika 4 - Pracoviště radiodiagnostiky a intervenční radiologie, Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha, Česká republika

Pregraduální student

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

Úvod: Na kostech předloktí byly popisovány tři drsnatiny (tuberositas radii et ulnae a tuberositas pronatoria radii). Nedávno ale francouzský tým popsal 2 další drsnatiny: tuberositas interossea radii (TIR) et ulnae (TIU). Výzkum provedl na RTG a CT snímcích. Avšak nebyly vůbec prozkoumány suché kosti.

Cíl: Cílem výzkumu byla kvantitativní studie suchých kostí ozřejmující definici TIR a TIU.

Materiál a metody: Náš výzkum se skládal ze tří částí: osteometrické, pitevní a radiologické. Osteometrická část zahrnovala studium suchých kostí (kostí předloktí) dospělých jedinců bez známek patologií, které pocházely ze sbírek lékařských fakult Univerzity Karlovy, Katedry antropologie Filozofické fakulty Západočeské univerzity a z pohřebiště ve Šporkově ulice (Národním muzeum). Bylo zkoumáno 1125 vřetenních a 753 loketních kostí. Drsnatiny byly hodnoceny a měřeny posuvným měřidlem. Data se analyzovala v Microsoft Excel s kódem R a softwarovým balíkem GraphPad (verze 9.1.2.226).

Pitevní část obsahovala pitvu čtyři předloktí (dárcovský program Ústavu anatomie 2. lékařské fakulty UK) – kadaver ženského pohlaví (78 let) a kadaver mužského pohlaví (87 let). Cílem pitvy byla preparace svalů souvisejících s TIR a TIU, a prozkoumání membrana interossea antebrachii (MIA). Radiologická část zahrnovala sken a 3D rekonstrukci osmi suchých kostí (čtyři vřetenní a čtyři loketní kosti -Ústav anatomie 2. lékařské fakulty UK). CT skeny byly pořízeny na pracovišti radiodiagnostiky a intervenční radiologie v IKEM pomocí CT SIEMENS Somatom Definition Flash (řezy 0.2 mm). 3D rekonstrukce snímků byla vytvořeny v Naeotom Alpha, a následně měřeny v RadiAnt.

Výsledky: Výsledky ukazují, že TIR a TIU se nacházely ve 100 % případů. TIR a TIU se nachází na facies anterior i facies posterior, proto byly rozlišeny dvě části u obou struktur: pars anterior a pars posterior. Průměr celkové délky vřetenní kosti odpovídá 232.1 mm. Průměrná délka TIR pars anterior je 51.98 mm (22.4 % délky kosti) a TIR pars posterior pak 45.58 mm (19.64 % délky kosti). Průměrná délka loketní kosti odpovídá 248.86 mm. Průměrná délka TIU pars anterior dosahuje 93.40 mm (37.53 % délky kosti) a TIU pars posterior 102.27 mm (41.09 % délky kosti). Pitevní část studie odhalila přítomnost drsnatin ve 100 % případů. Obě části TIR a TIU slouží jako origo svalů: m. flexor pollicis longus, část m. abductor pollicis longus, m. extensor pollicis brevis, část m. flexor digitorum profundus, část m. abductor pollicis longus a m. extensor pollicis longus. MIA je přichycena na obě části TIR a TIU. Radiologická část prokázala možnost zobrazit a měřit tyto struktury na 3D CT rekonstrukcích.

Závěr: Vzhledem ke 100% incidenci drsnatin na kostech předloktí je lze označit za konstantní útvary se dvěma částmi (pars anterior a pars posterior) a lze je považovat za anatomické struktury. Je třeba je zahrnout do anatomických atlasů a učebnic.

86 AKTIVÁTOR FAKTORŮ INDUKUJÍCÍCH HYPOXII, ROXADUSTAT, ZVYŠUJE VASKULÁRNÍ PLICNÍ REZISTENCI U POTKANŮ

Novák T. (1) Žaloudíková M. (1) Smolková P. (1) Kaftanová B. (1) Edlmanová J. (1) Krása K. (1,2) Hampl V (1)

1 - Ústav fyziologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika 2 - Klinika interní medicíny, 1. lékařská fakulta, Karlova Univerzita a Ústřední vojenská nemocnice, Praha, Česká republika

Pregraduální student

Školitel: prof. RNDr. Václav Hampl, DrSc.

Úvod: Expresí řady genů odráží dostupnost O₂ prostřednictvím hypoxií indukovatelných faktorů (HIF). Regulaci HIF kyslíkem zajišťují enzymy prolylhydroxylázy, které pomocí O₂ ubikvitinují HIF- α podjednotky, čímž je označí k degradaci. Při hypoxii proto α podjednotka snáze přežívá, dimerizuje se stabilní podjednotkou β a tento heterodimer zahajuje transkripci příslušných genů. Farmakologická inhibice prolylhydroxyláz v normoxii tedy působí na HIF systém stejně jako hypoxie. Proto je takováto intervence testována jako možná terapie anémie (tvorba erytropoietinu je také řízena HIF). Slibné jsou z tohoto hlediska látky, které lze užívat perorálně (např. roxadustat). HIF ovšem zprostředkují také řadu změn plicních cév při plicní hypertenzi vyvolané chronickou hypoxií. Proto je na místě obava, že vedlejším účinkem léčby anémie látkami typu roxadustatu by mohla být plicní hypertenze.

Cíl: Cílem této práce bylo testovat na zvířecím modelu hypotézu, že podávání roxadustatu vede ke zvýšení plicního cévního odporu a plicní vazokonstrikční reaktivity.

Materiál a metody: Použili jsme izolované perfundované (bezbuňčným roztokem) plíce dospělých samců potkana léčených roxadustatem (10 mg/kg tělesné hmotnosti, i.p. každý druhý den) nebo rozpouštědlem (DMSO+PEG+TWEEN 80 ve vodě) po dobu 2 dnů nebo 2 týdnů. Pro srovnání se situací přirozeně zvýšených HIF byla navíc jedna skupina léčena stejně jako kontroly, ale v hypoxii (10% O₂ 2 týdny). Plicní vazorezistivní vlastnosti byly hodnoceny lineární regresní analýzou vztahu perfuzního tlaku a průtoku (P/Q). Vazokonstrikční reaktivita byla testována injekcí angiotenzinu II (0,15 μ g) a ventilační hypoxií (0 % O₂).

Výsledky: Chronické, ale ne akutní podávání roxadustatu zvýšilo ($P < 0.05$, ANOVA+Fisher LSD test) hematokrit (46.6 ± 1.8 a $41.8 \pm 2.3\%$, $n=9$ a 9) ve srovnání s kontrolami (39.7 ± 2.5 , $n=8$), ale ne tolik jako chronická hypoxie (49.8 ± 1.7 , $n=6$). Sklon regresních přímk P/Q se mezi skupinami nelišil. Průsečík s tlakovou osou byl ve srovnání s kontrolami ($2,6 \pm 1,4$ mmHg) roxadustatem zvýšen již po 2 dnech ($4,2 \pm 1,5$ mmHg) a dále se neměnil po 2 týdny ($3,9 \pm 1,5$). Po chronické hypoxii byl ještě vyšší ($7,6 \pm 1,1$). Vazokonstrikční reaktivita na angiotenzin II byla zvýšena chronickou hypoxií, ale nebyla signifikantně ovlivněna roxadustatem. Reaktivita na akutní hypoxické podněty se mezi skupinami nelišila.

Závěr: Roxadustat zvyšuje plicní cévní odpor, ale ne plicné vazokonstrikční reaktivitu. Z hlediska plicní cirkulace je obezřetnost při jeho klinickém použití na místě.

Podpora projektu: Financováno grantem Grantové agentury Univerzity Karlovy č. 438322.

92 ČASNÁ DIAGNOSTIKA TUBERÓZNÍ SKLERÓZY (TSC) A NÁVRH MOŽNÉHO ROZŠÍŘENÍ JEJÍHO FENOTYPU

Mamiňák M (1), Petrák B (1), Tomek V (2), Kršek P (1), Straka B (1), Vlčková E (3), Dvořáková M (4)

(1) *Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol* (2) *Dětské kardiocentrum 2. LF UK a FN Motol* (3) *Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol* (4) *Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol*

Školitel: MUDr. Bořivoj Petrák, CSc.

Úvod: Tuberózní skleróza (TSC) je vzácné vrozené onemocnění s multisystémovým postižením a s variabilními klinickými projevy. TSC je geneticky heterogenní onemocnění se zodpovědnými lokusy na chromozomech 9q34, typ 1 (gen TSC1) a 16p13.3, typ 2 (gen TSC2). Diagnostická kritéria TSC mají genetickou a klinickou část. Pro stanovení TSC je třeba najít alespoň 2 hlavní příznaky nebo 1 hlavní a dva nebo více příznaků vedlejších. Časná diagnostika TSC a s ní související časná detekce komplikací má pro pacienta velký význam. Fetálním ultrazvukem můžeme již od 20. týdne gravidity nalézt kongenitální rhabdomyom srdce (CR), který patří mezi hlavní diagnostická kritéria. Také další prenatální a perinatální příznaky mohou být nápomocné k časně identifikaci pacientů s TSC.

Cíl: Zhodnocení charakteru prenatálních nebo perinatálních klinických projevů TSC, které umožní rozšířit časnou diagnostiku o další příznaky.

Materiál a metody: V letech 2000 až 2021 bylo na Klinice dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol nově sledováno celkem 88 dětí s diagnózou TSC. V našem souboru pacientů jsme sledovali prenatální nebo perinatální nález CR, cystického postižení ledvin, lymfedému a pozdějšího postižení cév.

Výsledky: Novorozenců s prenatálním nebo perinatálním nálezem CR bylo v letech 2000 – 2021 celkem 49 a diagnóza TSC byla stanovena u 43/49(88%) z nich. Nález TSC u dětí sledovaných pro CR představoval téměř polovinu pacientů (43/88, 49%) tohoto období. Převažovaly zde nálezy vícečetných CR. Prenatálně detekované cystické postižení ledvin bylo zaznamenáno u 1/88 (1.1%) pacientů a časně nefrologické i neurologické komplikace byly závažné s potřebou terapie. Lymfedém končetiny byl nalezen také u 1/88 dětí s následným nálezem CR a diagnózou TSC. Postižení cév (aneurysma) se prenatálně či perinatálně v našem souboru nevyskytlo, ale jednalo se o příznak, který se rozvinul v časném průběhu TSC u pacienta s lymfedémem. Naše nálezy jsme porovnali s literárními daty.

Závěr: Diagnostika TSC musí bezprostředně navazovat na prenatální nebo perinatální nález CR. Nález CR (zvláště vícečetných) je nezbytné dát do souvislosti s rizikem manifestace TSC a jejích komplikací – především epilepsie. Novým prenatálním markerem možné přítomnosti TSC je také kongenitální lymfedém končetin a/nebo trupu a kongenitální polycystóza ledvin. Nález těchto klinických příznaků má vést k zařazení TSC do diferenciálně diagnostické rozvahy jejich etiologie. V případě průkazu TSC u pacienta s lymfedémem doporučujeme (pro riziko aneurysmat) sledovat možnou patologii velkých cév.

98 3D PRINTED INTERNAL FIXATION PLATES FROM COMPUTERIZED TOMOGRAPHY DATA OF ACROMION FRACTURES IN CADAVERS

Olson C.V.L. (1), Kachlík D. (1), and Al-Redouan A. (1)

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

Pregraduate student

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

Introduction: With the paradigm of tailored medicine on the horizon, clinicians and surgeons alike are ever increasingly in need to find individualized solutions for their patients. All patient histories and disease pathophysiologies are unique, with fracture fixation being no exception. Generalized approaches to procedures and surgeries are becoming only appropriate within the context of basic theories, but the practices are evolving to have specific approaches, tools, and equipment. Patient height, weight, sex, and preceding moments before injury will all determine the course and severity of fractures. And as such, the methods and materials with which surgeons repair damage must also be dynamic.

Aims: To develop a method for designing custom surgical fixation plates from CT scan data of acromion fractures for 3D printing applications.

Materials and Methods: In order to design custom fixation plates, 2 cadaver upper limbs—1 right, 1 left—were procured from the Department of Anatomy, 2LF, Charles University. The focus of our study was the acromion, so soft tissues around the scapulae were dissected as flaps to provide access to the bone. The limbs were then taken to Motol University Hospital, Prague, to undergo CT scans. The first pass was performed on intact limbs to establish a relative anatomical baseline. Following the first scan, fractures were induced in the acromions, simulating an Ogawa Type I fracture in the right and Type IIa in the left. The fractured limbs were subsequently imaged again.

CT data were analyzed and 3D models were reconstructed using 3D Slicer. Single plane images from Slicer were then imported into FIJI (ImageJ) for morphometric analysis, namely, scalar dimensions and curvature projections across all three planes. These parameters were then applied as boundaries for a surgical plate in FreeCAD, with the designed models printed on a Prusa SL1S 3D printer. Plates were attached to the cadaver scapulae with screws and a third CT scan was taken to assess anatomical position.

Results: Both acromions returned to pre-fracture anatomical positions within 5% deviation of baseline curvature and scalar dimensions. From CT scan to finished print: 24 hours.

Conclusions: Custom fixation plate design from CT data can be a way to noninvasively plan and solve fitment issues in bone fractures. In the case of acromion fractures, having the ability to both create 3D models of the fractured bone and leveraging software to extract vital curvature information, a scaffold for a custom plate is easy to design and each instance is uniquely tailored to a specific patient.

Support: Grant Agency of Charles University: GAUK No 2120319

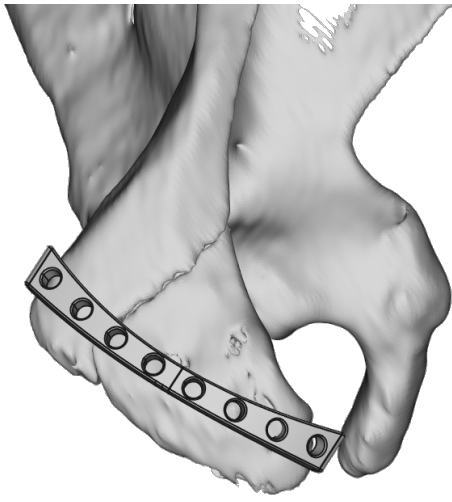


Figure: 3D reconstruction of acromion fracture with curvature-constrained surgical plate overlay in FreeCAD.

99 Durální venózní stenting pro léčbu idiopatické intrakraniální hypertenze

Bubeníková A. (1,2), Skalický P. (1), Haratek K. (1), Bradáč O. (1,2)

1 – Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol 2 – Neurochirurgická a neuroonkologická klinika 1. LF UK a ÚVN

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. RNDr. Ondřej Bradáč, Ph.D.

Úvod: Zatímco etiologie idiopatické intrakraniální hypertenze (IIH) zůstává nejasná, stenóza jednoho či více durálních splavů je považována za potenciální primární mechanismus vzniku tohoto onemocnění. Stentování durálních venózních splavů (DVSS) je přijímanou léčebnou alternativou u vybraných pacientů s farmakologicky refrakterní IIH, přičemž se jedná o velmi dobře literárně dokumentovanou intervenci u dospělých pacientů. Ovšem u pediatrických IIH se potýká s mnoha limitacemi, proto je i dat o efektivitě DVSS u těchto pacientů stále malé množství.

Cíl: Cílem je představit novinky a současná diagnostická hodnocení v oblasti DVSS u IIH s diskuzí léčebného algoritmu a indikací na základě systematického přehledu obohaceného o multidisciplinární výsledky s IIH v naší instituci.

Materiál a metody: Identifikovány byly články pojednávající o tématu DVSS u IIH, jež byly publikovány mezi lety 1990 and 2020 dle PRISMA guidelines a checklistu na databázích PubMed, EMBASE a ScienceDirect. Pomocí Newcastle-Ottawa Scale bylo zhodnoceno riziko zkreslení u jednotlivých publikací. Hodnoceny byly parametry léčby DVSS včetně efektivity, rizika komplikací, restenózy a reoperace. Porovnávány byly tyto parametry u dospělých a pediatrických pacientů.

Výsledky: Vážné komplikace spojené s DVSS jsou vzácné a vyskytují se pouze přibližně u 2 % intervencí. Klinického zlepšení stavu pacientů po stentování se dosahuje až u 95 % z nich, přičemž nejlepší klinické výsledky jsou zaznamenány v oblasti zlepšení papilárního edému, bolestí hlavy a poruch zraku. Riziko stenózy vně stentu je nízké během pooperačního sledování a dosahuje maximálních hodnot kolem 3 %. Míra restenózy je rovněž poměrně nízká, pouze přibližně 10 % pacientů s IIH podstupujících DVSS vyžaduje reoperaci. Analogické výsledky s ohledem na úspěšnost DVSS u dětí jsou srovnatelné s efektivitou u dospělých, s nízkou mírou stenózy v rámci stentu a restenózy během pooperačního sledování.

Závěr: Výsledky DVSS pro farmakologicky refrakterní IIH naznačují, že stentování u správně vybraných pacientů je spojeno s nízkou mírou komplikací, vysokou pravděpodobností klinického zlepšení a nízkou mírou reintervencí. Ačkoliv je dlouhodobých výsledků DVSS u dětí velmi omezené množství, ukazuje se pozitivní efekt DVSS u adekvátně indikovaných pacientů i v této populaci a měla by být více studována pro futuro.

100 THE MOLECULAR MICROSCOPE DIAGNOSTIC SYSTEM VERSUS HISTOLOGY IN THE EVALUATION OF ACUTE CELLULAR REJECTION IN LUNG TRANSPLANT RECIPIENTS

Zajacova A. (1), Mackova M. (2), Halloran K. (2), Balko J. (3), Rakita D. (1), Svorcova M. (4), Vachtenheim J. (4), Pozniak J. (4), Simonek J. (4), Fila L. (1), Lischke R (4), Halloran P. F. (2), Havlin J. (4)

1 - Prague Lung Transplant Program, Department of Pneumology, Second Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic 2 - Alberta Transplant Applied Genomics Centre, Edmonton, AB, Canada 3 - Department of Pathology and Molecular Medicine, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic 4 - Prague Lung Transplant Program, 3rd Department of Surgery, First Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Supervisor: MUDr. Jan Havlin, Ph.D.

Introduction: Histologic evaluation of allograft injury after lung transplantation has several limitations that may be aided by the Molecular Microscope Diagnostic System (MMDx).

Aims: We aimed to describe discrepancies between samples with no rejection (NR) and T-cell mediated rejection (TCMR) by MMDx compared to the histology and to analyze the relationship to response to treatment.

Materials and Methods: In this single-center cohort study, biopsy samples obtained from 43 lung transplant recipients (LTR) between December 2015 and January 2020 in Prague Lung Transplant Center were analyzed by both histology and MMDx. All samples with NR and TCMR by MMDx with available pre- and post-biopsy spirometry were included. Patients with histologically proven acute cellular rejection (ACR) grade ≥ 1 received antirejection treatment. Response to treatment was assessed in 4 weeks after the biopsy and defined as an increase in forced expiratory volume in 1 second (FEV1) $\geq 10\%$ compared to FEV1 before biopsy.

Results: In total 54 samples were included (surveillance biopsies $n=21$, 38.9%; indication $n=33$, 61.1%). In 25 (46.3%) samples MMDx was concordant with the histological diagnosis and discrepancies were present in 29 samples (53.7%). ACR grade 0 was present in 12 (22.2%) and grade $A1 \geq 1$ in 42 samples (77.8%). In the group with ACR grade A0, MMDx agreed in 11 samples (91.7%) and disagreed in 1 (8.3%). The group with ACR grade $\geq A1$ showed NR by MMDx in 28 (66.7%) and TCMR in 14 samples (33.3%). Response to treatment was present in 4 LTRs in the NR group (14.3%) and 7 LTRs in the TCMR group (50.0%). Five of the non-responders in $ACR \geq A1$ by histology and TCMR by MMDx had chronic lung allograft dysfunction present at the time of biopsy (71.4%).

Conclusions: Our findings suggest that histology overestimates the diagnosis of acute cellular rejection and that MMDx offers additional insights in biopsies from lung transplant recipients.

5 CORTICAL GLIA IN SOD1(G93A) MICE ARE SUBTLY AFFECTED BY ALS-LIKE PATHOLOGY

Filipi T.(1,2), Matusova Z.(3,4), Abaffy P. (3), Vanatko O.(1,2), Tureckova J.(1), Valihrach L.(3) and Anderova M.(1)

1 - Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences, Prague, 2 - 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, 3 - Laboratory of Gene Expression, Institute of Biotechnology CAS, BIOCEV, Vestec, 4 - Faculty of Science, Charles University, Prague

Supervisor: Ing. Miroslava Anderova, CSc.

Introduction: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is characterized by progressive muscle atrophy that eventually causes respiratory failure and death. The leading cause is degenerating motor neurons (MNs) in the motor cortex, brainstem and spinal cord, but MNs are not the only cell type involved. Glial cells also change during the disease and can affect the onset and progression.

Aims: We studied the pathological changes in cortical glia throughout the whole course of the disease with the aim to describe the cortical pathology in the SOD1 (G93A) mouse as not much is known about it.

Materials and Methods: Turning points of the disease were defined by two types of sensorimotor tests - the modified wire grid hang test and rotarod. In accordance with human pathology, there was a slightly different onset and progress in males compared to females, so we used both sexes in all following experiments to uncover possible gender-related differences. To see the changes in the gene expression profiles, a single-cell RNA-Seq was used as it allows distinguishing even small cell subpopulations represented by a limited number of cells in the sample. We sequenced cortical astrocytes, microglia and oligodendrocytes in each set timepoint - presymptomatic, onset, symptomatic and end-stage. Immunohistochemistry was done to see any morphological changes correlating with changes in gene expression.

Results: Analysis of differential expression surprisingly did not reveal any significantly deregulated genes in SOD1 glial cells, not even in the end stage. When we looked further, we were able to find several subpopulations within each cell type. However, they were either identified in both samples or the marker genes suggested only very slight activation. Immunohistochemical data corresponded with these results. The morphological changes were subtle and analyses confirmed an insignificant shift toward activated cell morphology.

Conclusions: Our results support the hypothesis that the SOD1(G93A) mouse cortex does not recapitulate the disease in patients and pathology is pronounced only in the spinal cord. Thus we would recommend using a different model for future studies of cortical ALS pathology.

10 ANALÝZA LÉKOVÝCH A POTRAVINOVÝCH INTERAKCÍ – RETROSPEKTIVNÍ ANALÝZA DAT

Mészáros V.(1), Paluch Z.(2), Helisová K.(3)

1. Farmakologický ústav, 2. LF UK, Praha 2. Oddělení klinické farmakologie a farmacie, VFN, Praha 3. ČVUT, Fakulta elektrotechnická, Katedra matematiky, Praha

Školitel: doc. MUDr. Zoltán Paluch, Ph.D., MBA

Úvod: Lékové a potravinové interakce při farmakoterapii způsobují nežádoucí reakce. Jejich výskyt i závažnost narůstá, dle údajů AIFP (Asociace inovativního farmaceutického průmyslu) jsou v ČR každoročně příčinou cca 3400 hospitalizací a více než 200 úmrtí. Jejich výskyt je spojen i s rostoucími finančními náklady. Správnými postupy by však bylo možné mnoha interakcím předejít.

Cíl: Cílem studie bylo prozkoumat četnost a typ lékových a potravinových interakcí v běžné klinické praxi. Sekundárním cílem bylo určit a statisticky vyhodnotit charakteristiky pacientů s vyšším rizikem nežádoucích interakcí.

Materiál a metody: Analyzovali jsme data o medikaci hospitalizovaných pacientů na interním lůžkovém oddělení z pohledu intervence klinického farmakologa. Data pocházela z 24měsíčního sledování a poté byla vyhodnocena programem Kompendium lékových interakcí verze 2005.1 (Infopharm a. s.). Identifikované možné lékové a potravinové interakce byly statisticky hodnoceny v souvislosti s charakteristikami pacientů (věk, pohlaví, počet užívaných léčiv).

Výsledky: Z analyzovaného souboru jsme pro nekompletnost údajů vyřadili všechny pacienty, u nichž údaje nebyly kompletní (celkem 9). Analyzovali jsme soubor 915 pacientů, statisticky hodnotili podle věku a pohlaví pacientů, počtu užívaných léků a počtu výskytu lékových a potravinových interakcí, zkoumali jsme závislosti proměnných a korelace mezi proměnnými. Potvrdila se vzájemná závislost věku pacientů a klíčových charakteristik mezi počtem užívaných léčiv a výskytem interakcí (léky, potraviny). Ověřili jsme závislost mezi počtem léčiv a počtem interakcí. Vše jsme ověřovali korelačním koeficientem Pearsonovým a koeficientem Spearmanovým. Z dat vyplývá, že kromě věku zkoumaných pacientů (ženy byly v souboru výrazně starší než muži) žádné další proměnné nezávisí na pohlaví, což u lékových interakcí uváděly některé práce zahraničních autorů v případě žen, vzhledem k vyšší úrovni jejich medikace.

Závěr: Výskyt interakcí byl vysoký v celé patientské populaci. Jednoznačně vykazoval souvislost s věkem a počtem užívaných léků, bez významného rozdílu mezi pohlavím pacientů. Standardní hodnocení lékových a potravinových interakcí klinickými farmakology nebo farmaceuty by využitím lékového záznamu pacienta (LZP) mohlo vést k růstu kvality farmakoterapie, poklesu nežádoucích interakcí, a tím i k významným úsporám finančních prostředků.

13 Úloha malých extracelulárních váčků v regeneraci nervové tkáně

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

1 - Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., 2 - 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Školitel: Mgr. Nataliya Romanyuk, Ph.D.

Úvod: Poranění míchy (SCI) je závažný úraz centrální nervové soustavy (CNS) s komplikovanou patologií a celoživotními následky. Po traumatickém primárním poranění následuje zánětlivá kaskáda sekundárního poranění. Dochází k demyelinizaci, buněčné smrti a tvorbě gliové jizvy. Tyto procesy jsou v kombinaci s omezenou regenerační kapacitou CNS hlavními důvody špatné prognózy po SCI. Navzdory nedávným pokrokům stále neexistuje účinná léčba. Mezi slibné terapeutické přístupy patří aplikace neurálních kmenových buněk (NSC), jejichž transplantace má potvrzené neuroprotektivní a imunomodulační účinky a podporuje funkční zotavení po SCI. Přesný mechanismus jejich působení však dosud nebyl uspokojivě vysvětlen. Na základě publikovaných prací a našeho předchozího výzkumu se domníváme, že pozitivní efekt je zprostředkován malými extracelulárními váčky (sEVs) odvozenými od NSC (NSC-sEVs), především molekulami miRNA obsaženými v těchto váčcích.

Cíl: Cílem práce je izolovat, charakterizovat a porovnat sEVs, odvozené z kultivačního média několika druhů kmenových buněk, a zkoumat jejich vliv na in vitro model míšního poranění.

Materiál a metody: Z kultivačních médií kultur NSC a mesenchymálních kmenových buněk (MSC) byly pomocí metodiky ultracentrifugace se sacharózovým polštářem izolovány NSC- a MSC-sEVs. Byla charakterizována jejich velikost (MADLS, SEM), exprimované exosomální markery (WB, IHC) a obsah miRNA (RT-qPCR). Pro vyhodnocení terapeutického potenciálu byla suspenze sEVs aplikována na in vitro model míšního poranění, organotypické řezy míchy, které byly následně analyzovány pro vyhodnocení terapeutického potenciálu sEVs.

Výsledky: Velikost izolovaných částic odpovídala hodnotám pro sEVs podle MISEV. Typické exosomální markery Alix, TSG101, CD9, CD63 a CD81 byly detekovány u NSC- i MSC-sEVs. NSC-sEVs obsahovaly neuroprotektivní miRNA: miR-20a5-p, miR-320a-5p, miR-24-3p a miR-21a-5p. Na buněčné kultuře byla demonstrována schopnost sEVs pronikat do buněk. Aplikace suspenze sEVs-NSCs na in vitro model SCI vedla ke snížení patologických markerů v porovnání s poraněnou tkání po SCI.

Závěr: Váčky izolované z kultivačních médií buněčných kultur měly odpovídající velikost a exprimovaly typické markery. NSC-sEVs obsahovaly miRNA s neuroprotektivním potenciálem. Aplikace sEVs na in vitro model SCI vedla ke snížení hladin proteinů účastnících se patofyziologických a apoptotických procesů ve srovnání s poraněnou tkání. NSC-sEVs mají silnější neuroprotektivní účinek v porovnání s MSC-sEVs při aplikaci na in vitro model SCI.

Podpora projektu: GAUK 409222

18 DOTAZNÍKY PROSTOROVÉ ORIENTACE JAKO POMOCNÉ DIAGNOSTICKÉ NÁSTROJE ČASNÝCH STADIÍ ALZHEIMEROVY NEMOCI

Svatková R., Laczó M., Švačová Z., Sedláková V., Vyhnálek M., Hort J., Laczó J.

Neurologická klinika, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy Fakultní nemocnice Motol

Pregraduální student

Školitel: prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Úvod: Alzheimerova nemoc (AN) je neurodegenerativní onemocnění, u kterého dochází ke zhoršování kognitivních funkcí a spolu s tím i schopnosti orientace v prostoru. Vyšetření prostorové orientace není v praxi běžně k dispozici, a proto je snahou vyvinout dotazníky, pomocí nichž bychom byli schopni zhodnotit prostorovou orientaci v každodenním životě.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnotit využití dotazníků prostorové orientace určených pro pacienty a jejich blízké osoby. Analyzovali jsme potenciál dotazníků odlišit pacienty se subjektivními stížnostmi na paměť (SCD), mírnou kognitivní poruchou (MCI) a lehkou demencí při AN od kognitivně normálních starších osob (CN). Dále jsme hodnotili vztah referovaných obtíží s výkonem v testu prostorové orientace – allocentrické (podle orientačních značek v okolí) a egocentrické (podle vlastní polohy).

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 262 účastníků: 76 SCD, 117 MCI, 28 s lehkou demencí při AN a 41 CN. Účastníci a jejich blízké osoby vyplnili dotazníky Santa Barbara Sense of Direction Scale (SBSOD), Dotazník každodenních navigačních schopností (QuENA) a Dotazník prostorové orientace (DPO), následně účastníci podstoupili test prostorové orientace Hidden Goal Task (HGT) v reálném prostředí. HGT testuje separátně allocentrickou a egocentrickou orientaci, kdy se účastníci pohybují v kruhovém stanu a hledají skrytý cíl.

Výsledky: Verze všech dotazníků pro blízké osoby odlišily CN od MCI a demencí ($p < 0,015$), navíc dotazníky DPO a SBSOD pro blízké osoby odlišily SCD od MCI a demencí ($p < 0,002$). Pacientské verze dotazníků jednotlivé skupiny neodlišily s výjimkou SBSOD, který odlišil pouze CN od MCI skupiny ($p = 0,004$). Nejsilnější vztah mezi výkonem v testech prostorové orientace jsme našli s dotazníky DPO ($\beta > 0,201$, $p < 0,001$) a SBSOD pro blízké osoby ($\beta > -0,201$, $p < 0,001$). Vztah mezi patientskými dotazníky a výkonem v orientaci jsme našli jen u SBSOD s allocentrickou úlohou ($\beta > -0,118$, $p = 0,023$).

Závěr: Dotazníky prostorové orientace pro blízké osoby odlišily kognitivně normální starší osoby od pacientů s kognitivním deficitem. Dotazníky DPO a SBSOD pro blízké osoby také odrážejí schopnost orientace v reálném prostředí. Výsledky studie dokazují, že tyto dotazníky reflektují každodenní obtíže s orientací v prostoru a mohou být součástí screeningu časných stádií AN.

Podpora projektu: GAUK č. 327821

20 Kryoprezervovaná amniová membrána u chronických nehojících se ran – série případů

Vojtěch Horváth 1 , Alžběta Svobodová 2 , Joao Victor Cabral 3 , Petr Štádl 1 , Jaroslav Lindner 2 , Lukáš Balogh 3 , Kateřina Jirsová 3,4

1 Oddělení cévní chirurgie, Nemocnice Na Homolce, Praha, Česká republika. 2 2. chirurgická klinika- Klinika kardiiovaskulární chirurgie 1. fakulty lékařství, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Praha, Česká republika. 3 Laboratoř biologie a patologie oka, Ústav biologie a lékařství Genetika, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika. 4 Klinika transplantací a tkáňové banky FN Motol, Praha, Česká republika.

Školitel: MUDr. Jan Burkert, PhD.

Úvod: V tomto sdělení demonstrujeme možnost použití amniové membrány (AM) u chronických nehojících ran na sérii pěti polymorbidních pacientů s celkem devíti chronickými nehojícími se ranami.

Cíl: Demonstrovat možnost použití AM v rámci série kazuistik.

Materiál a metody: Soubor pacientů tvořili čtyři muži a jedna žena s různými komorbiditami, ve věku 45 – 72 let s indexem tělesné hmotnosti 27,2 – 36,8. Střední počáteční velikost rány byla 15,8 cm², střední doba od začátku rány do první aplikace AM byla 122 týdnů (od 9 do 267 týdnů). Rány byly způsobeny jednak chronickou žilní insuficiencí a/nebo onemocněním periferních tepen. Rány byly ošetřeny dle dříve publikovaného standardizovaného protokolu- debridement rány, ochrana kůže a aplikace AM. Amniová membrána byla aplikována jedenkrát týdně v prvním měsíci a poté každé dva týdny. Fotodokumentace rány a mikrobiologický rozbor byl proveden při každé návštěvě.

Výsledky: U tří z pěti pacientů léčba AM účinně zmenšila velikost rány a podporovalo hojení až po úplné uzavření rány. Ve dvou případech se rány i přes opakované aplikace AM nezhojily. Úspěch léčby zdál být úzce svázán s faktory na straně pacienta, mezi které patřilo dodržování předepsaného léčebného režimu a komorbidity.

Závěr: Léčba AM má velký potenciál v léčbě chronických nehojících ran. Účinnost léčby však může být ovlivněna různými faktory pacienta a základní příčinou rány.

Podpora projektu: NV18-08-00106

27 PŮSOBNÍ DECELULARIZAČNÍCH ČINIDEL NA NATIVNÍ LIDSKÝ PERIKARD – JE RYCHLÁ DECELULARIZACE MOŽNÁ?

Laca B.(1), Straka F.(1), Koblížek M.(2), Kohutiar M.(3), Rohn V.(4)

1 - *Klinika kardiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol, Praha 2 - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha 3 - Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol, Praha 4 - II. chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie 1. LF UK a VFN, Praha*

Školitel: doc. MUDr. Vilém Rohn, CSc.

Úvod: Všechny v současnosti používané materiály pro náhrady srdečních chlopní (xenogenní náhrady, lidské homografty, biologické a syntetické matrice), ačkoli jsou upravovány decelularizačními a antikalcifikačními postupy, jsou v různé míře imunogenní, po určitém čase podléhají degenerativním změnám, což se projeví zhoršením jejich funkce. Bylo prokázáno, že lidský perikard má podobné ultrastrukturální vlastnosti jako tkáň srdeční chlopně. Lze proto předpokládat, že pokud by byl autologní (tělu vlastní) perikard zbaven nežádoucích buněk decelularizací, mohl by být ideálním podkladem pro rekolonizaci vlastními buňkami schopnými vytvořit funkční náhradu chlopní tkáně. Odběr autologního perikardu je však možný pouze během operačního výkonu, tudíž jeho příprava musí být dostatečně rychlá, aby mohl být použit ještě v průběhu operace.

Cíl: Cílem studie bylo prokázat, zda je možné tkáň nativního lidského perikardu decelularizovat v časovém intervalu 45 minut.

Materiál a metody: Odběr lidského perikardu byl proveden při kardiochirurgických operacích. Následně byla tkáň rozdělena na 26 vzorků (25 vzorků pro decelularizaci + 1 kontrolní vzorek). Decelularizace probíhala na třepačce po dobu 45 min. Po decelularizaci a proplachu v roztoku PBS (phosphate-buffered saline) byly vzorky uloženy do 10% formaldehydu a předány k histologickému vyšetření.

Bylo použito 5 činidel v 5 různých koncentracích:

1. Triton X-100 (TX-100) v koncentraci 0,25%_0,5%_1%_2%_3%
2. Sodium deoxycholate (SDC) v konc. 0,5%_1%_2%_3%_4%
3. Sodium dodecyl sulfate (SDS) v konc. 0,25%_0,5%_1%_2%_3%
4. CHAPS (3-[(3-cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate) v konc. 0,24%_0,48%_0,96%_1,44%_1,92%
5. Trypsin v konc. 0,1%_0,2%_0,3%_0,4%_0,5% + 0,1% EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)

Histologické hodnocení bylo semikvantitativní ve třech stupních:

Stupeň 0 – žádná decelularizace

Stupeň 1 – částečná decelularizace

Stupeň 2 – kompletní decelularizace

Výsledky: Byly hodnoceny vzorky od 20 pacientů. Činidlo SDS kompletně decelularizovalo všechny vzorky v koncentracích 0,5%, 1%, 2% i 3%. U SDC bylo dosaženo kompletní decelularizace při koncentracích 2%, 3%, 4%. Ostatní činidla nebyla schopna stabilně kompletně decelularizovat perikard ani při nejvyšších koncentracích.

Závěr: Výsledky studie prokázaly, že decelularizace tkáně lidského perikardu je dosažitelná i při relativně krátkém působení chemických činidel (45 min.). Jako nejefektivnější se ukázaly substance SDS a SDC.

29 INDUKOVANÁ OLIGOMERIZACE KALMODULINU

Zouharová M. (1,2), Vetýšková V. (2,3), Vondrášek J. (2), Boušová K. (2)

1 - 2. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha 2 - Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Praha 3 – Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha

Školitel: RNDr. Kristýna Boušová, Ph.D.

Úvod: Evoluce proteinů probíhala prostřednictvím kombinací stávajících strukturních či funkčních modulů – proteinových domén. Proteinové inženýrství umožňuje napodobit přirozený proces evoluce proteinů a prostřednictvím doménových fúzí získat proteiny s vylepšenými nebo novými vlastnostmi. Předpokladem pro úspěšnou biomedicínskou nebo biotechnologickou aplikaci proteinu může být vylepšení jeho stability, solubility, katalytické aktivity, pozměnění substrátové specifity či indukce tvorby oligomerních struktur.

Cíl: Cílem projektu byla příprava indukovaných oligomerů modelového monomerního kalciového senzoru kalmodulinu (CaM) prostřednictvím fúze s oligomerizační jednotkou (Ex) z proteinu ameloblastinu (AMBN).

Materiál a metody: S využitím analytické gelové chromatografie byla studována koncentrační a časová závislost oligomerizace nové molekuly ExCaM. Oligomery ExCaM byly z hlediska morfologie a velikosti charakterizovány prostřednictvím analytické ultracentrifugace (AUC) a vizualizovány transmisí elektronovou mikroskopií (TEM). PCR s mutagenními primery byl připraven konstrukt ExCaM_M1 s vnesenou substitucí klíčové aminokyseliny v oligomerizačním motivu podjednotky Ex.

Výsledky: Analytické gelové chromatografie prokázala tvorbu oligomerních struktur ExCaM. Poměr oligomerů a monomerů závisí na koncentraci proteinu a ustálení rovnováhy je časově závislé. Oligomerizace ExCaM je reverzibilní děj a jeho oligomery se po naředění pod přechodovou koncentrací rozpadají v monomerní molekuly. Morfologie oligomerů ExCaM odpovídá charakteru oligomerních molekul proteinu AMBN, obsahujícího oligomerizační doménu Ex. Analytická gelová chromatografie konstrukt ExCaM_M1 prokázala ztrátu oligomerizačních vlastností molekuly a potvrdila specifickou indukci oligomerizace ExCaM prostřednictvím oligomerizačního motivu v podjednotce Ex.

Závěr: Studium chimérického proteinu ExCaM prokázalo schopnost oligomerizační podjednotky Ex molekuly AMBN indukovat oligomerizaci monomerních proteinů. Vlastnost podjednotky Ex může být využita např. v modulaci intenzity imunitní odpovědi při vývoji nových podjednotkových vakcín.

32 ROBOTICKY ASISTOVANÁ LÉČBA JATERNÍCH LÉZÍ S POSOUZENÍM CELKOVÉ ODEZVY ORGANISMU NA OPERAČNÍ ZÁTĚŽ

Langer D., Pohnán R.

Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha

Školitel: doc. MUDr. Radek Pohnán, Ph.D.

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

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

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

Výsledky: Soubor pacientů operovaných s robotickou asistencí tvořilo 11 žen (73 %) a 4 muži (27 %) průměrného věku 62 let (38 - 72 let). Operační výkony jsme u všech nemocných dokončili miniinvazivní technikou s průměrnou dobou operačního výkonu 109 minut. V 8 případech byla jaterní cysta lokalizována v pravém laloku. U čtyř pacientů jsme současně provedli cholecystektomii. V hodnocené sestavě nemocných jsme zaznamenali časnou pooperační komplikaci u 1 operanta (biliární leak). Žádný nemocný nezemřel. Transfúzní přípravky jsme nepodali. Ve třech případech jsme potvrdili recidivu onemocnění.

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

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

Podpora projektu: MO 1012

39 RESPIRAČNÍ NEMOCNOST U PACIENTŮ PO OPERACI ATRÉZIE JÍCNU

Newland N. (1), Šnajdauf J. (1), Kokešová A. (1), Stýblová J. (1), Coufal Š. (2), Bartošová T. (3), Ekström J. (3), Rygl M. (1)

1 - Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol 2 - Mikrobiologický ústav AV ČR 3 - 2. Lékařská fakulta Univerzita Karlova

Pregraduální student

Školitel: MUDr. Alena Kokešová, Ph.D, MBA

Úvod: Pacienti s atrézií jícnu se i přes pokrok v chirurgické léčbě a intenzivní péči nadále potýkají se závažnou dlouhodobou morbiditou. Trpí vysokým výskytem respiračních infekcí, refluxní chorobou, poruchou motility jícnu, strikturami jícnu a ezofagitidami, což negativně ovlivňuje jejich celkový zdravotní stav a kvalitu života.

Cíl: Cílem této studie bylo porovnat vliv operačního výkonu (primární a odložená anastomóza) a věku na frekvenci a závažnost respiračních infekcí u pacientů po operaci atrézie jícnu.

Materiál a metody: Prezentujeme výsledky retrospektivní studie pacientů s atrézií jícnu s píštělí a bez píštěle operovaných v letech 2011 až 2020. Respirační infekce jsme klasifikovali podle WHO klasifikace pro akutní respirační infekce (ARI) do tří skupin: "no pneumonia" (lehká respirační infekce), "non-severe pneumonia" (nezávažná pneumonie vyžadující antibiotickou léčbu ambulantní cestou), "severe pneumonia" (závažná pneumonie vyžadující antibiotickou léčbu za hospitalizace). Rozdíly byly testovány mezi pacienty s primární a odloženou anastomózou a napříč třemi věkovými skupinami (0-3 roky, 3-7 let, 7-12 let) pomocí Fischerova exaktního testu. Rozdíly byly považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Výsledky: Za období 10 let bylo operovaných 222 pacientů s atrézií jícnu s píštělí a bez píštěle. Po vyloučení pacientů s náhradou jícnu, s přidruženým laryngotracheoezofageálním cleftem a pacientů bez záznamů o dlouhodobém sledování splnilo inkluzní kritéria studie 178 pacientů. 53 % pacientů prodělalo lehké respirační onemocnění, 26 % pacientů nezávažnou pneumonii a 21 % závažnou pneumonii. Odložená anastomóza byla provedena u 52 pacientů (29 %) a byla spojena s vyšší frekvencí výskytu závažné pneumonie ve srovnání se skupinou pacientů s primární anastomózou ($p = 0,0099$). Analýza věku prokázala signifikantně vyšší výskyt závažné pneumonie ve věkových skupinách 3-7 let a 7-12 let ve srovnání se skupinou 0-3 let ($p = 0,0004$, $p = 0,0008$). Kombinace typu anastomózy a věku prokázala negativní efekt odložené anastomózy ve věkové skupině 3-7 let ($p = 0,04$).

Závěr: Těžké respirační infekce ve smyslu závažné pneumonie vyžadující hospitalizaci jsou významně častější u pacientů s odloženou anastomózou jícnu a nejvíce trpí pacienti ve věkové skupině 3-7 let. Podobné výsledky studované na velkém souboru pacientů s raritní vrozenou vadou z jednoho pracoviště nebyly dosud v současné literatuře publikovány, což přináší originalitu prezentované práce. Výsledky přináší zejména nový pohled na pooperační péči o dané pacienty a podporuje nutnost dlouhodobého sledování.

43 SLEDOVÁNÍ A PŘEDPOVĚD ÚČINNOSTI NEOADJUVANTNÍ CHEMOTERAPIE U POKROČILÝCH KARCINOMŮ PRSU POMOCÍ CÍRKULUJÍCÍ NÁDOROVÉ DNA.

Tornikidis J.(1), Belšánová B.(2), Kroupová P.(2), Stolz A.(1), Minárik M.(1,2)

1 - Chirurgická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha 2 - Elphogene, s.r.o., Praha

Školitel: doc. RNDr. Marek Minárik, Ph.D.

Úvod: Pacientky s lokálně-pokročilým karcinomem prsu podstupují v rámci standardních léčebných postupů neoadjuvantní léčbu. Neoadjuvantní léčba však může z důvodu nežádoucích účinků způsobit komplikace a těž iniciovat časnou léčebnou rezistenci vedoucí k progresi nemoci před plánovaným chirurgickým výkonem.

Hladiny cirkulující nádorové DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) odrážejí celkovou nádorovou zátěž u onkologických pacientů a jejich změny mají vztah k odpovědi na zvolenou onkologickou léčbu [1].

Cíl: Nově publikované práce naznačují, že sledování hladin ctDNA může být přínosné v případech neoadjuvantní terapie pro odhad přežití i časný záchyt chemorezistence [2,3]. V našem projektu tuto hypotézu testujeme, provádíme vyšetřování hladin ctDNA u pacientek v období před a během neoadjuvantní terapie i v pooperačním období a vyhodnocujeme vztah ke klinickým parametrům léčby.

Materiál a metody: Klinický soubor

Do prospektivní víceleté studie jsou zahrnovány pacientky s lokálně pokročilým karcinomem prsu (stádia T3,T4 a N1 nebo N2) podstupující neoadjuvantní chemoterapii. V první fázi již bylo zahrnuto 12 pacientek. Pacientky podstupují minimálně 7 krevních odběrů v době diagnózy před zahájením léčby, před prvními třemi cykly chemoterapie a dále před absolvováním chirurgického výkonu, 5 - 7 pooperační den a následně v pooperačním sledování. V průběhu 24 - 48 hodin je provedena extrakce krevní plazmy. Do studie je též zahrnut vzorek nádorové tkáně získaný během úvodní biopsie.

Laboratorní vyšetření

Vzorky tkání jsou podrobeny detekci přítomnosti somatických DNA mutací. Vyšetřován je panel genů s nejvyšším výskytem u karcinomu prsu. U pacientek, u kterých je zachycena somatická mutace je tato následně sledována v ctDNA získané z plazmy.

Výsledky: Na úvodním souboru bylo do současné doby provedeno celkem 88 vyšetření, z toho bylo 12 mutačních vyšetření nádorové tkáně a 76 vyšetření plazmy na přítomnost ctDNA. Somatická mutace ve tkáni byla zachycena celkem u 4-ech pacientek, u kterých byla následně monitorovány ctDNA v plazmě.

Závěr: Na základě prvních výsledků byla vysledována souvislost mezi klinickým obrazem onemocnění dle TNM klasifikace a výskytem ctDNA jako biomarkeru. Neoadjuvantní terapie vedla vždy k vymizení ctDNA. Byla již zaznamenána i relativně časná progresie onemocnění u pacientky s dobrou odpovědí na neoadjuvantní terapii i úspěšným průběhem operačního zákroku. Toto potvrzuje negativní prognostický význam výskytu ctDNA v preoperačním období. Ověření klinické využitelnosti na základě těchto předbežných výsledků bude pokračovat s dalším průběhem projektu.

Podpora projektu: GAUK č. 256322

51 Horizontal transfer of mitochondria in vivo in a mouse model of glioblastoma

Vanatko O.(1,2), Brisudova P.(3,4), Zobalova R.(3), Kubiskova M.(1,4), Foltynova A.(1,2), Truksa J.(5), Kapaj K.(6), Ziolkowska N.(7), Jirak D.(7), Neuzil J.(3,4,8,9), Anderova M.(1)

1 - Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic; 2 - Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 3 - Laboratory of Molecular Therapy, Institute of Biotechnology, Czech Academy of Sciences, Vestec, Czech Republic; 4 - Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic; 5 - Laboratory of Tumour Resistance, Institute of Biotechnology, Czech Academy of Sciences, Vestec, Czech Republic; 6 - Department of Biotechnology, Agriculture University, Athens, Greece; 7 - Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic; 8 - First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; 9 - School of Pharmacy and Medical Science, Griffith University, Queensland, Australia

Supervisor: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Introduction: Glioblastoma is a malignant type of tumor characterized by fast progression, extreme recurrence rate, and poor prognosis. A recently described feature in tumors is horizontal transfer of mitochondria (HTM) - a process of exchange of mitochondria between tumor cells and surrounding non-malignant cells. HTM restores cellular respiration and proliferation, as these processes are negatively affected by accumulation of damage to mitochondrial DNA in tumor cells. Molecular mechanisms of HTM are yet to be better understood. Similarly, the involvement of individual brain cell types in HTM remains unexplored.

Aims: The aim of this work is to confirm the validity of our experimental model and elucidate whether and to which extent specific brain cell types (astrocytes, oligodendrocytes, microglia, NG2 glia, pericytes) participate in HTM in vivo in a mouse model of glioblastoma.

Materials and Methods: In order to explore cellular origin of mitochondria in HTM in glioblastoma, we developed and evaluated mouse glioblastoma cell lines devoid of mtDNA (GL261 rho0) expressing either cytoplasmic GFP or mito::mKate2. Total HTM is quantified by implanting rho0-GFP cells into mice expressing mito::mKate2. To determine donors of mitochondria in HTM, five different mouse cre strains are crossed with the MitoTag reporter strain, resulting in expression of GFP targeted into outer mitochondrial membrane, and orthotopically implanted with mito::mKate2-expressing rho0 cells. MtDNA sequencing, oxygraph, IHC and western blot analyses are used as the primary methods for evaluation of mitochondrial transfer.

Results: When orthotopically implanted, rho0 tumors show delayed onset of tumor formation compared to parental cells. MtDNA qPCR analysis shows mtDNA is absent in cultured rho0 cells but is present in tumor-derived rho0 cells; this is further supported by expression of mtDNA-encoded genes in tumor-derived rho0 cells. Analysis of mtDNA polymorphisms shows mtDNA isolated from rho0 cells is of host origin. Immunohistochemical staining shows presence of Mtco1 (mtDNA-coded) in rho0 tumors. These data are further supported by results from western blot and oxygraph.

Conclusions: Our results unequivocally support the occurrence of HTM in glioblastoma in vivo and confirm the validity of our model. Still, the involvement of individual cell types in HTM remains to be explored.

Support: This study is supported by the Czech Science Foundation (grants no. 20-05942S, 21-24674S and 21-04607X), the Charles University Grant Agency (grants no. 162322 and 408222) and the MEYS CR (LM2023050 Czech-Bioimaging).

54 THE ROLE OF ASTROCYTIC TRPV4 CHANNELS IN REGENERATION AFTER ISCHEMIC BRAIN INJURY

Heřmanová Z.(1,2), Turečková J.(1), Kriška J.(1), Jiráček D.(3), Pulpánová D.(3), Knotek T.(1,2), Anděrová M.(1)

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

Supervisor: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Introduction: Cerebral ischemia is a serious disability and mortality causing pathology, where astrocytes play a crucial role thanks to their involvement in the development of a brain edema and in subsequent regeneration and glial scar formation. Astrocytic Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) channels are suspected to be the key players in cellular volume regulation as well as in the neurovascular coupling or control of the vascular tone.

Aims: Our previous data demonstrated the protective role of TRPV4 channels in the early phases of ischemia (Butenko et. Al, 2012; Pivonkova et. Al, 2018) and in this project we aimed to describe the role of astrocytic TRPV4 channels also during the tissue regeneration in later phases after ischemic brain injury.

Materials and Methods: For this purpose we used conditional astrocyte-specific TRPV4 knock-outs and performed T2-weighted magnetic resonance imaging (MRI) after permanent middle cerebral artery occlusion (pMCAO). Additionally, we performed immunohistochemical (IHC) analysis, which we used for detailed characterization of the damaged tissue. Last, we tested the ability of cortical astrocytes from TRPV4 knock-outs and from controls to regulate their volume during oxygen-glucose deprivation (OGD).

Results: Our MRI results showed larger volume of the damaged tissue 1, 3 and 7 days after pMCAO in TRPV4 knock-outs, compared to controls. The damaged tissue we saw in MRI includes brain edema in the early phases of ischemia as well as the gliosis and glial scar formation in later time points. To better understand the extent and character of the damage, we used glial fibrillary acidic protein (GFAP), a marker of reactive astrocytes, to visualise astrogliosis. The staining showed similar area of the astrogliosis surrounding the ischemic core in TRPV4 knock-outs after pMCAO, compared to controls. The same GFAP staining however showed a larger ischemic core area (without GFAP signal) in TRPV4 knock-outs after pMCAO. Additionally, we detected strong microglial Iba1 signal in the damaged area of both mouse lines. At last, we found decreased astrocyte volume during OGD.

Conclusions: Taken together, deletion of TRPV4 leads to increased lesion volume without affecting astrogliosis or microgliosis. Additionally, deletion of TRPV4 prevents astrocytes from swelling after oxygen-glucose deprivation.

Support: This project was supported by Czech Science Foundation project n. 21-24674S, 23-06269S, 23-05327S.

56 Funkcionalizovaná nanovlákná pro chirurgii zažívacího traktu

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

1. Chirurgická klinika FN Motol a LF 2 UK 2. Univerzita Karlova, 2. Lékařská fakulta, Ústav biofyziky

Školitel: Prof.MUDr.Jiří Hoch

Úvod: Porucha hojení střevní anastomózy je závažnou pooperační komplikací, která zvyšuje morbiditu i mortalitu pacienta, zhoršuje jeho prognózu a negativně ovlivňuje kvalitu života. Důsledkem poruchy hojení střevní anastomózy je vznik anastomotického leaku, který může být různě klinicky závažný. U klinicky závažných AL je dutina břišní kontaminována střevním obsahem a pacient je ohrožen sepsí a možným mutliorgánovým selháním. Počty anastomotických komplikací v rizikových lokalizacích, jakými jsou např. anastomózy na dolním rektu, stále neklesají pod 10 %. Proto je pořád aktuální hledat cesty nebo způsoby podpory hojení anastomózy.

Cíl: Podpořit hojení anastomózy nanovlákněným materiálem

Materiál a metody: Nanovlákněná síť - chitosan+PVA
3D kryogenicky frakcionalizovaná nanovlákněná

Animální model - králík

Zhodnocení počtu AL

Histopatologické vyšetření anastomózy

Trhací zkouška

Výsledky: Histologická analýza – kvantitativní

Chitosan oproti PVA:

větší podíl aktin-pozitivních myofibroblastů (Mann-Whitney $p=0,003$)

větší podíl kolagenu (Mann-Whitney $p=0,003$)

větší hustota mikrovaskularizace (Mann-Whitney $p<0,001$)

PVA oproti skupině bez materiálu:

větší hustota mikrovaskularizace (Mann-Whitney $p<0,001$)

Trhací zkouška

digitální tenzometr MicroTester

(vyvinut na Katedře Anatomie a Biomechaniky FTVS UK)

střevní segment fixován do čelistí přístroje, snímán mikroskopem Olympus SZX-12

střevo „natahováno“ rychlostí 0,5 mm/s

Chitosan + PVA oproti skupině bez materiálu

vyšší maximální pevnost v tahu (Mann-Whitney, $p=0,009$)

Závěr: Frakcionalizovaná nanovlákněná:

histologie – větší podíl myofibroblastů, kolagenu a mikrovaskularizace

trhací zkouška - vyšší pevnost v tahu

aplikace frakcioanalizovaných nanovláken nevedla ke snížení počtu AL

frakcioanalizovaná nanovlákněná se jeví jako možná cesta podpory hojení rizikové anastomózy
je nutné pokračovat v další úpravě materiálu

Nezachrání technicky špatně provedenou anastomózu

59 OSTEOSYNTÉZA PATNÍ KOSTI ANTEROLATERÁLNÍ ÚHLOVĚ STABILNÍ DLAHOU

Bába V. (1,2), Kopp L. (1,2)

1 - *Klinika úrazové chirurgie FZS UJEP v Ústí nad Labem a Krajské zdravotní, a.s. - Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.* 2 - *Ústav anatomie 2. LF, Praha*

Školitel: MUDr. Lubomír Kopp, Ph.D.

Úvod: Aktuálním tématem v diskuzích na téma zlomenin patní kosti je správná indikace k jejich operační léčbě, s tím nedílně souvisí volba operačního přístupu a osteosyntetického materiálu. Stále populárnější je tzv. sinus tarsi přístup, především pro nižší riziko pooperačních komplikací. Autoři předkládají své první zkušenosti s anterolaterální úhlově stabilní dlahou pro patní kost implantovanou z tohoto přístupu.

Cíl: Zhodnocení a prezentování souboru pacientů operovaných pro zlomeninu patní kosti ze sinus tarsi přístupu, u kterých byla k osteosyntéze použita anterolaterální úhlově stabilní dlaho pro kalkaneus v kombinaci s bezhlavičkovými šrouby.

Materiál a metody: Soubor je tvořen 18 pacienty operovanými pro zlomeninu patní kosti v období od 1.2.2020 do 31.1.2022 na pracovišti autorů (3 ženy, 15 mužů). Klasifikačně byly zastoupeny zlomeniny: Sanders II. jedenáctkrát, Sanders III. pětkrát a dvě zlomeniny byly typu kachního zobáku dle Essex-Lopresti. Sledované faktory: abusus pacientů, komorbidity, odstup operace od úrazu, trvání operace, kvalita repozice (pooperační multiplanární CT kontrola), ranné a technické komplikace, retence repozice po kostním zhojení. Doba pooperačního sledování byla 12 – 36 měsíců (medián 17). Hodnocení funkčních výsledků bylo provedeno za pomoci dotazníku AOFAS pro zadonoží.

Výsledky: Abusus a komorbidity pacientů: devětkrát nikotinizmus, jedenkrát ethylismus, jedenkrát narkomanie a diabetes na inzulínoterapii. Kvalita repozice byla ve 12 případech hodnocena jako anatomická (dislokace < 1mm), v šesti jako dostatečná (dislokace < 2mm). Jedenkrát byla provedena revize pro malpozici materiálu, dvakrát bylo zaznamenáno prodloužené hojení rány bez rozvoje hlubokého infektu. Nebyla zaznamenána ztráta repozice či selhání materiálu. Střední hodnota AOFAS dotazníku byla 85 bodů hodnocená 12 měsíců od operace.

Závěr: Výsledky sledovaného souboru v souladu s již publikovanými pracemi potvrzují nízkou incidenci komplikací sinus tarsi přístupu. Při jeho užití je zachována možnost adekvátní repozice i komplikovanějších zlomenin patní kosti. K osteosyntéze lze využít anterolaterální úhlově stabilní dlaho, případně v kombinaci s bezhlavičkovými šrouby (HCS). Výskyt pooperačních komplikací byl nízký i u hůře spolupracujících pacientů.

60 IDENTIFIKACE MIKROBIÁLNÍCH PATOGENŮ V KŮŽI A PODKOŽÍ POSTIŽENÝCH LYMFATICKOU INSUFICIENCÍ.

Kotlářová A., Stolz A., Wald M.

Chirurgická klinika 2.LF UK a FN Motol

Školitel: prof.MUDr.Alan Stolz, Ph.D.

Úvod: Insuficience lymfatického systému je spojená s poruchou imunitní odpovědi organismu vedoucí k vyšší incidenci infekcí měkkých tkání, jejichž důsledkem je další progresse lymfatické insuficience. Incidence infekcí měkkých tkání u těchto pacientů může dosahovat až 40%. Při lymfostáze lze pozorovat změny v počtu zastoupení imunitních buněk, dysregulaci hladiny cytokinů a chemokinů oproti tkáním se zachovalou funkcí lymfatického systému. Léčba lymfedému liposukcí a založení lymfovenozní anastomózy vede k poklesu incidence erysipelu. Při lymfatické insuficienci dle vědecké práce prof. Olszewského dochází k bakteriální kolonizaci kůže a podkoží, která indukuje lokální zánětlivou reakci, jež může přejít v bakterémii a systémovou odpověď. U pacientů podstupujících chirurgický výkon pro lymfatickou insuficienci je doporučována profylaktická antibiotická terapie penicilinovými antibiotiky, v případě alergie se užívá klindamycin. Dle dostupných studií může být však až u 1/4 pacientů s lymfatickou insuficiencí nález multirezistentních bakterií.

Cíl: Cílem studie je identifikace mikrobiálního osídlení tkání postižených lymfatickou insuficiencí za účelem zpřesnění antibiotické profylaxe, resp. terapie u pacientů s lymfatickou insuficiencí a ozřejmění možné kolonizace patogenními bakteriemi odpovědnými za recidivující infekce měkkých tkání.

Materiál a metody: V rámci studie se zaměřujeme na pacientky s lymfatickou insuficiencí dolních končetin indikované k jednomu z následujících operačních výkonů – liposukce, resekcční výkon, lymfovenozní anastomóza. Stěry z kůže jsou provedeny před podáním antibiotické profylaxe z předem definovaného okrsku kůže. Současně je proveden stěr z kůže ze zdravé kontrolní končetiny. Stěry z kůže jsou zpracovány metodami molekulárně biologickými, kultivačními vč. stanovení ATB rezistence. Současně provádíme odběr tkáně z podkoží během operace. V daném časovém odstupu od operace je proveden kontrolní stěr.

Výsledky: Definitivní výsledky práce budou publikovány v následujících dvou letech.

Závěr: Riziko infekčních komplikací po plánovaných operacích měkkých tkání je i přes antibiotickou profylaxi nadále reálné. Rozsah ranné infekční komplikace může sahát od banální a snadno řešitelné komplikace až po život ohrožující septický stav. Riziko infekční komplikace po chirurgických výkonech prováděných na končetinách s lymfatickou insuficiencí/lymfedémem je z pohledu možné infekční komplikace významné. Zejména u liposukčních výkonů se jedná o cirkulární decollement od třísla až do supramaleolární oblasti, a pokud by došlo k infekci, jednalo by se o život ohrožující komplikaci.

Podpora projektu: RECETOX

62 Střevní mikrobiom jako možný predikční faktor odpovědi na neoadjuvantní léčbu u nádorů rekta

Kopriva T., Stolz A., Pazdírek F.,

Chirurgická klinika 2.LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Alan Stolz PhD, MBA

Úvod: Nejnovější studie ukazují na možnou korelaci určitého spektra střevních bakterií v patogenezi kolorektálního karcinomu. Vlivem alterace střevní sliznice může docházet u pacientů s kolorektálním karcinomem k znatelné změně spektra mikrobiomu, a to zejména v oblasti asociované s tumorem. Kolorektální karcinom je celosvětově třetím nejčastějším maligním onemocněním. Statisticky nejčastější formou je právě karcinom rekta.

Současná léčba lokálně pokročilých nádorů rekta je multimodální. Operaci předchází onkologická léčba spočívající v podání neoadjuvantní konkomitantní chemoradioterapie-NCHRT. Cílem této léčby je snížit riziko jak lokální, tak i vzdálené rekurence. NCHRT totiž přináší také mnohé nežádoucí účinky. U části nemocných dojde účinkem NCHRT ke kompletnímu vymizení nádoru, u další skupiny k částečné regresi. Pacienti s kompletní léčebnou odpovědí mají vynikající prognózu.

Naopak až u 40 % pacientů zůstane stav léčbou neovlivněn. U těchto tzv. nonresponderů by bylo vhodnější předoperační léčbu modifikovat či zcela vynechat, a tím eliminovat její nežádoucí účinky. Proto se hledají prediktivní markery, které by umožnily identifikovat skupinu nemocných s dobrou odpovědí na léčbu a na druhé straně skupinu nemocných s odpovědí minimální. Jedním z těchto prediktivních markerů může být právě střevní mikrobiom.

Cíl: Cílem práce je identifikovat bakteriální kmeny asociované s nádorem, které mohou být zodpovědné za minimální nebo naopak úplnou léčebnou odpověď na NCHRT.

Materiál a metody: V rámci počátku studie bude vyšetřeno 40 pacientů s lokálně pokročilými nádory rekta, u kterých je indikována NCHRT.

U všech pacientů bude odebrán stěr ze sliznice rekta z oblasti asociované s tumorem, stěr z bukální sliznice a vzorek krve před zahájením léčby, po jejím dokončení, dále před plánovanou operací a v odstupu 6 měsíců od operace.

Vzorky budou následně vyšetřeny pomocí 16S rRNA sekvenování. Bude provedena komparativní analýza vzorků s cílem asociovat bakteriom s odpovídavostí na terapii.

Výsledky: Momentálně probíhá studie s odběrem vzorků, definitivní výsledky práce budou publikovány v následujících dvou letech. Studie navazuje na práci z r. 2020, kde jako predikční faktor pro NCHRT byla sledována hladina volné nádorové DNA v krvi, a vychází s jejich výsledků.

Závěr: Mikrobiom a jeho vliv je do dnes dostatečně neprozkoumaná problematika. Naše práce má za cíl identifikovat bakteriální rody s potenciálem stát se predikčním faktorem odpovědi na neoadjuvantní terapii u pacientů s karcinomem rekta

Podpora projektu: Interní grant Fakultní nemocnice v Motole

64 MRI VOLUMETRIE HIPOKAMPU A ENTORHINÁLNÍHO KORTEXU U KOGNITIVNĚ ZDRAVÝCH SENIORŮ – SROVNÁNÍ AUTOMATICKÉ A MANUÁLNÍ SEGMENTACE

Martinkovič L., Lerch O., Laczó M., Marusič P., Laczó J.

Neurologická klinika 2.LF UK a FN Motol, Praha

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

Úvod: Hipokampus a entorhinální kortex patří mezi základní struktury podílející se na tvorbě paměťové stopy, jejich postižení pozorujeme v rané fázi Alzheimerovy choroby. Jejich přesná segmentace je proto rozhodující pro včasnou diagnostiku a sledování progresu onemocnění.

Cíl: Naším cílem bylo porovnat přesnost segmentace těchto struktur pomocí automatizovaných a manuálních postupů u kognitivně zdravých seniorů.

Materiál a metody: FreeSurfer 7.2 byl použit pro automatickou segmentaci hipokampu a entorhinální kůry u 26 kognitivně zdravých starších dospělých. Manuální segmentace byla provedena pomocí ITK-SNAP podle zavedených protokolů – hodnotitel byl zaslepený ke klinickým datům i výsledkům automatické segmentace. K porovnání výsledků byl použit T-test a Pearsonův korelační koeficient.

Výsledky: Intra-rater variabilita pro hipokampus byla 0,95 a pro entorhinální kortex 0,90. Objemy automatické a manuální segmentace silně korelovaly pro hipokampus ($r \geq 0,858$, $p < 0,001$), pro entorhinální kortex korelovaly středně ($r \geq 0,419$, $p \leq 0,033$). Objemy automatické segmentace byly větší než objemy získanou segmentací manuální (hipokampus: $3944 \pm 402 \text{ mm}^3$ vs. $2625 \pm 285 \text{ mm}^3$, $p < 0,001$; entorhinální kůra: $1982 \pm 343 \text{ mm}^3$ vs. $1099 \pm 125 \text{ mm}^3$, $p < 0,001$).

Závěr: Naše výsledky ukázaly silné a střední korelace mezi objemy manuální a automatické segmentace hipokampu a entorhinálního kortexu u kognitivně zdravých seniorů. Objemy obou regionů v našem souboru byly konzistentně větší při použití automatické segmentace. To může naznačovat, že metody automatické segmentace jsou náchylné k nadhodnocování regionálních objemů mozku. Manuální segmentace je časově náročná, ale výhodná, když je vyžadována anatomická přesnost.

Podpora projektu: Tato práce byla podpořena grantovým projektem GAUK 327821/2021.

83 TYPIZACE VANKOMYCIN REZISTENTNÍCH IZOLÁTŮ ENTEROCOCCUS FAECIUM POMOCÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROSKOPIE

Tomašovičová A., Tkadlec J., Dřevínek P., Krůtová M., Brajerová M.

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

Pregraduální student

Školitel: Mgr. Marie Brajerová

Úvod: Vankomycin rezistentní *Enterococcus faecium* (VREfm) je významným nozokomiálním patogenem. V současné době není pro VREfm dostupná rychlá typizační metoda, která by umožnila kontrolu efektivity protiepidemických opatření v nemocniční péči.

Metoda infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR) detekuje spektrum molekulárních vibrací způsobených absorpcí infračerveného světla molekulami v bakteriální buňce (lipidy, proteiny a nukleové kyseliny). Na základě spektra analyzuje fenotypovou podobnost mezi izoláty stejného bakteriálního druhu v reálném čase.

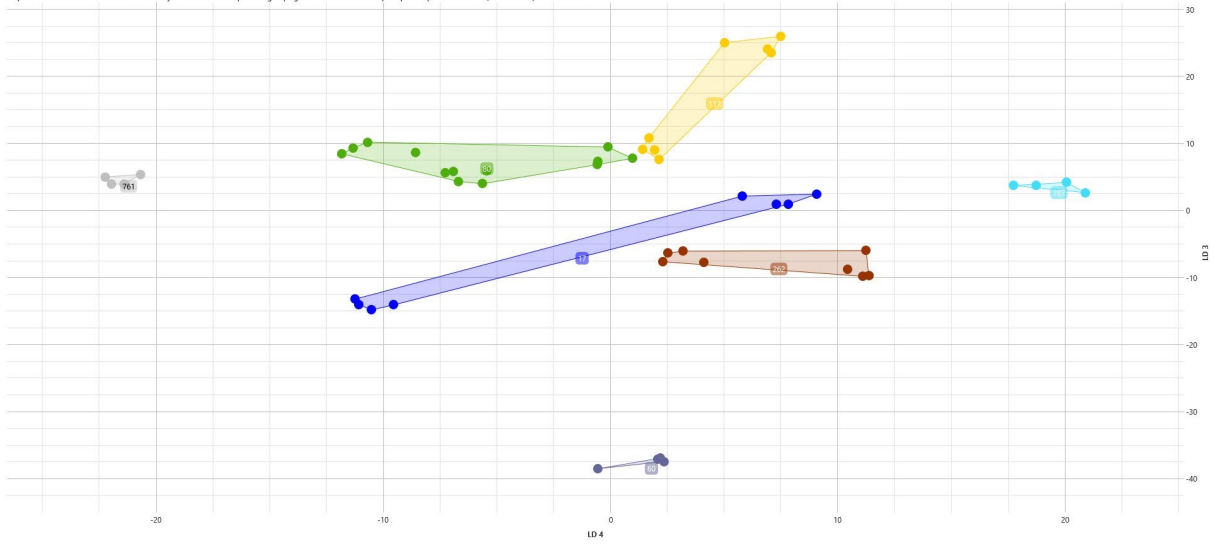
Cíl: Cílem této studie bylo zjistit diskriminační schopnost infračervené spektroskopie pro typizaci klinických izolátů VREfm.

Materiál a metody: Do pilotního testování byly vybrány klinické izoláty z multicentrické studie, provedené v roce 2022, reprezentující MLST sekvenční typy VREfm vyskytující se v akutní péči v ČR. Z této sbírky byly vybrány zástupci každého sekvenčního typu. Pro dominantní (epidemické) sekvenční typy identifikované v multicentrické studii bylo testováno více izolátů. Sekvenční typ byl určen z celogenomových dat (Illumina) pomocí softwaru MLST 2.0 (Center for Genomic Epidemiology). Vybrané izoláty byly kultivovány na krevním agaru ve 37 °C po dobu 24 ± 0,5 h. Následně byly zpracovány dle doporučeného postupu výrobce a analyzovány na přístroji IR Biotyper (Bruker Daltonics, software v3.1). Všechny izoláty byly testovány v technickém kvadruplikátu. Data byla vyhodnocena pomocí lineární diskriminační analýzy (LDA) v defaultním nastavení (vlnové číslo 1300–800/cm), pro spektra proteinů a karbohydrátů (vlnové číslo 1800–900/cm) a spektra lipidů (vlnové číslo 3000–2800 a 1500–1400/cm).

Výsledky: Celkem bylo analyzováno 12 izolátů reprezentující 7 sekvenčních typů (ST80 n=3, ST17 n=2, ST117 n=2, ST262 n=2, ST787 n=1, ST761 n=1 a ST60 n=1). Metoda LDA odlišila jednotlivé sekvenční typy pouze s použitím LDA pro spektra proteinů a karbohydrátů (Obrázek 1).

Závěr: Pilotní data ukazují, že na omezeném počtu izolátů lze sekvenční typy odlišit. Tuto skutečnost je nutné ověřit testováním většího počtu izolátů.

Podpora projektu: Podpořeno z projektu Národního institutu virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – NextGeneration EU.



Obrázek 1. Lineární diskriminační analýza (LDA) klinických izolátů *E. faecium* patřících k různým sekvenčním typům. Barevně jsou odlišeny jednotlivé sekvenční typy.

85 REVERZNÍ REMODELACE A PROGNÓZA PACIENTŮ SE SRDEČNÍM SELHÁNÍM NEISCHEMICKÉ ETIOLOGIE

Hnát T., Honěk J.

Kardiologická klinika 2. LF UK a FN Motol

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

Úvod: Průběh onemocnění ani dlouhodobá prognóza pacientů s fenotypem dilatační kardiomyopatie není uniformní. V současné době nelze pacienty s nově zjištěnou systolickou dysfunkcí levé komory (LK) srdeční spolehlivě rizikově stratifikovat.

Reverzní remodelace (RR) je proces, při kterém dochází k redukci objemu a normalizaci tvaru LK asociovaný se zlepšením (systolické i diastolické) funkce. RR může nastat spontánně, častěji k ní ale dochází pod vlivem farmakologické, resp. přístrojové terapie srdečního selhání (SS). Navzdory tomu ale susceptibilita k opětovnému rozvoji manifestního SS přetrvává.

Cíl: Cílem práce bylo identifikovat prediktory časné RR LK u pacientů s neischemickou kardiomyopatií (KMP) a zhodnotit její vliv na průběh onemocnění po recentní primomanifestaci SS.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto 114 pacientů s nově zjištěným SS s redukovanou ejekční frakcí levé komory (EFLK). Medián délky sledování byl 36 měsíců. RR byla definována jako zlepšení EFLK >10 % nebo EFLK \geq 50 % při kontrolním echokardiografickém vyšetření za 3 až 9 měsíců (medián 155 dní) od manifestace SS. Pacienti byli následně rozděleni do dvou skupin (RR+ a RR-). Klinické a echokardiografické prediktory RR byly hodnoceny v multivariantní analýze. Cílové ukazatele byly stanoveny následovně: smrt z jakékoliv příčiny (včetně odvrácené náhlé smrti adekvátním výbojem defibrilátoru), hospitalizace pro dekompenzaci SS a míra symptomatologie SS, charakterizována funkční třídou NYHA.

Výsledky: Celkem 56 pacientů (49,12 %) dosáhlo RR (RR+). Tachykardií indukovaná dysfunkce LK jako příčina KMP představovala nezávislý prediktor dosažení RR (41,17 % u RR+ vs 12,07 % u RR-, $p < 0.001$), naopak nemožnost identifikace specifické příčiny neischemické KMP negativně korelovala s RR (37,5 % u RR+ vs 75,86 % u RR-, $p < 0.0001$). End-diastolický rozměr LK v čase manifestace onemocnění predikoval RR (60,88 mm/m² u RR+ vs 62,70 mm/m² u RR-, $p = 0.018$). Pacienti, u kterých nedošlo k RR měli horší prognózu charakterizovanou zvýšenou mortalitou (8,93 % vs 25,86 %, $p = 0.03$), častější rehospitalizací pro dekompenzaci SS (10,71 % vs 31,03 %, $p = 0.01$) i horší NYHA třídou ($1,44 \pm 0,65$ vs $2,09 \pm 0,96$, $p = 0.001$).

Závěr: Absence RR u pacientů s neischemickou KMP byla asociována se zvýšenou mortalitou, častější hospitalizací pro dekompenzaci onemocnění i s horší kontrolou symptomů SS. Identifikace etiologie KMP a menší míra dilatace LK v čase manifestace onemocnění predikovala dosažení RR. Pravděpodobnost RR byla největší u pacientů s tachykardií indukovanou dysfunkcí LK.

88 CHANGES IN THE EXTRACELLULAR SPACE DIFFUSION PARAMETERS IN CEREBELLUM OF AGED MICE

Amlerová Z.(1), Chmelová M.(1,2), Vargová L.(1,2)

1 – Department of Neuroscience, 2. LF UK, 2 – Department of Cellular Neurophysiology, IEM CAS

Supervisor: doc. MUDr. Lýdia Vargová, Ph.D.

Introduction: Introduction: Brain aging is a natural process associated with complex brain tissue changes, such as atrophy and loss of brain volume, structural and morphological changes of cells as well as alterations in volume and content of the extracellular space (ECS). In our previous studies, we demonstrated that age-related changes in the ECS diffusion properties are attenuated in specific brain structures (e.g. thalamus or specific hearing nuclei), that are rich on protective perineuronal nets (PNNs) formed by specific extracellular matrix molecules. In the current study, we focused on aging processes in cerebellum and its nuclei, the part of the brain responsible for motor control.

Aims: The aims: Our aims were 1. to elucidate age-related changes in the ECS diffusion parameters in the cerebellar nuclei, 2. to reveal possible uneven (anisotropic) diffusion.

Materials and Methods: Materials and Methods: The values of the ECS volume fraction α (α = extracellular volume/total tissue volume) and tortuosity (λ = free/apparent diffusion coefficient) were determined by the real-time iontophoretic method using ion-selective microelectrodes in 400 μm thick slices from young adult (3-6 months) and aged (12-18 months) mice. To reveal anisotropy, diffusion measurements were performed in the mediolateral (x), rostrocaudal (y) and ventrodorsal (z) axes.

Results: Results: In cerebellar nuclei of young adult mice ($n = 6$, where n is the number of animals), we detected potential anisotropy with facilitated diffusion in y axis ($\lambda_x = 1,79 \pm 0,01$; $\lambda_y = 1,71 \pm 0,04$; $\lambda_z = 1,75 \pm 0,10$; expressed as means \pm SE). A scalar value of α was calculated from measurements in all axes ($\alpha = 0,19 \pm 0,01$). Tortuosity values in different axes in aged mice ($n = 5$) did not differ and were pooled ($\lambda = 1,73 \pm 0,02$). In addition to loss of anisotropy, we detected a decrease of α in aged mice ($0,17 \pm 0,01$).

Conclusions: Conclusions: Our data suggest that cerebellar nuclei undergo an age-related decrease in ECS volume and loss of anisotropy, that may diminish a specificity of extrasynaptic transmission. Smaller volume of the ECS in aged cerebellum impairs its ability to buffer concentration changes of neurotoxic substances and increases the vulnerability of aged tissue to ischemic or other insults. Altogether, these changes may result in signal transmission impairment and contribute to neuronal damage and functional loss that can be involved in age-related decline of cognitive and motor performance.

Support: Support: Supported by GAUK 238023.

90 VARIABILITY OF MAJOR FOREARM ARTERIAL TRUNKS: PREVALENCE AND IMPACT ON ARTERIAL LUMEN DIAMETERS

Novák H.(1), Belbl M.(2), Tang K.(1) and Kachlík D.(2)

1 – student of General Medicine 2.LF UK 2 – Department of Anatomy, 2.LF UK

Pregraduate student

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

Introduction: The forearm arterial system plays a vital role in delivering oxygenated blood to the muscles, bones, and tissues of the forearm and hand. The major arterial trunks of the forearm, comprising the brachial, radial, and ulnar arteries, exhibit anatomical variations in their branching patterns, origins, and courses. These variations can affect the accuracy of diagnostic procedures and the success of interventional treatments.

Aims: This study aimed to investigate the variability of the major forearm arterial trunks, assess their prevalence, and examine the influence of anatomical variations on arterial lumen diameters

Materials and Methods: A cross-sectional study enrolled 52 healthy volunteers from the Czech Republic, aged 18 to 74 (average 25.4 years). Ultrasound imaging was conducted using two machines: the Canon Aplio i800, equipped with a Toshiba i24LX8 linear array transducer, and the GE Vscan Air. The imaging aimed to assess the arterial trunks of the forearm, including the brachial, radial, and ulnar arteries. The analysis focused on variations in branching patterns, course, and diameter of these arteries

Results: Anatomical variations in the major forearm arterial trunks, specifically the radial artery with a high origin and the ulnar artery with a high origin, were observed. The prevalence of these variations was approximately 8.65% in the examined sample.

The radial artery with a high origin (a. brachioradialis superficialis) was identified in 6.7% (7/104) of the total arms examined. Bilateral occurrence was found in 1.9% (2/104), while unilateral occurrence was present in 2.9% (3/104). Specifically, one radial artery originated from the axillary artery, representing 0.96% (1/104), while in 5.8% (6/104) of the arms, the radial artery arose from the brachial artery.

The ulnar artery with a high origin (a. brachioulnaris superficialis) was observed bilaterally in one individual, representing 1.9% (2/104). Both of these ulnar arteries originated from the brachial artery. Additionally, the study assessed the influence of these variations on arterial lumen diameters.

Conclusions: This study highlights the prevalence of anatomical variations in the major forearm arterial trunks and emphasizes their potential impact on arterial lumen diameters. Understanding the variability of these arterial trunks is crucial for accurate diagnosis and effective interventions in clinical practice. Further research is necessary to explore the implications of these findings and establish standardized approaches for assessing and managing forearm arterial variations.

95 PREDIKCE ROZVOJE ISCHEMICKÉ KAVITY DLE SUBAKUTNÍHO MRI ZOBRAZENÍ ISCHEMICKÉ LÉZE

Petr Janský 1, David Kala 2,3, Yeva Prysiashniuk 2,5, Anna Olšerová 1, Magerová Hana 1, Vlastimil Šulc 1, Zuzana Holubová 4, Martin Kynčl 4, Jan Šanda 4, Petr Marusič 1, Jakub Otáhal 2,5, Aleš Tomek 1

1 - Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha 2 - Ústav patofyziologie 2. LF UK, Praha 3 - Fakulta elektrotechnická, ČVUT, Praha 4 - Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN Motol, Praha 5 - Fyziologický ústav AV ČR, Praha

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

Úvod: U pacientů po ischemické cévní mozkové příhodě se část ischemického ložiska v průběhu času může vyvinout v nekrotickou ischemickou kavitu.

Cíl: Cílem studie je identifikovat známky na subakutním MRI zobrazení ischemické léze, které by predikovaly následný rozvoj ischemické kavity.

Materiál a metody: Prospektivní monocentrická studie u pacientů se supratentoriální akutní ischemickou lézí s negativní anamnézou předchozí ischemické cévní mozkové příhody (iCMP). MRI zobrazení s kontrastní látkou bylo provedeno 7 až 12 dní a následně po roce od iCMP. Ischemická léze (oblast se signálovou alterací na FLAIR a DWI) a ischemická kavita (oblast hypointenzní na FLAIR a T1w) byly manuálně vyznačeny radiologem a následně analyzovány automatickým algoritmem.

Výsledky: Byla analyzována data 103 pacientů (63 % muži, medián věku 68 let, medián NIHSS 5, intravenózní trombolýza podána u 34 %, mechanická trombektomie provedena u 15 %). Medián objemu subakutní ischemické léze byl 9,8 ml (IQR 25,4 ml). Ischemická kavita byla po roce identifikována u 79 pacientů (77 %). Medián objemu ischemické kavity byl 3,1 ml. Byla prokázána korelace objemu subakutní ischemické léze s objemem ischemické kavity (Pearsonův koeficient 0,56, $p < 0,001$). Medián intenzity signálu na T2w, FLAIR, ADC, DWI a SWI sekvencích v oblasti subakutní ischemické léze, která se následně vyvinula v ischemickou kavitu, byl signifikantně vyšší oproti zbývajícím částem subakutní léze.

Závěr: Objem a intenzita ischemické léze na subakutním MRI zobrazení predikuje rozvoj ischemické kavity.

Podpora projektu: AZV NU21-02-00289

97 PREDICTORS OF POSTOPERATIVE COMPLICATIONS AND FUNCTIONAL OUTCOMES IN PEDIATRIC PATIENTS WITH SURGICALLY TREATED FOURTH VENTRICLE TUMORS

Haratek K.(1), Bubeníková A.(1,2), Entenmann CJ.(3), Tomášek M.(1,4), Zápotocký M.(4,5), Sumerauer D.(4,5), Kynčl M.(4,6), Koblížek M.(4,7), Libý P.(1,4), Tichý M.(1,4), Bradáč O.(1,2,4), Beneš V.(1,4)

1 - Department of Neurosurgery, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic, 2 - Department of Neurosurgery and Neurooncology, First Faculty of Medicine, Charles University and Military University Hospital, Prague, Czech Republic., 3 - Department of Neurosurgery, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany, 4 - Center for Pediatric Neuro-oncology, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic., 5 - Department of Pediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic, 6 - Department of Radiology, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic, 7 - Department of Pathology and Molecular Medicine, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

Pregraduate student

Supervisor: doc. MUDr. Vladimír Beneš Ph.D.

Introduction: Tumors of the fourth ventricle are frequently treated pathologies in pediatric neurosurgery. Data regarding predictors for permanent neurological deficits, long-term functional outcomes, cerebellar mutism (CM), the extent of resection (EOR), and oncological outcomes are scarce. We attempt to contribute to this topic with an analysis of our institutional cohort.

Aims: This study aims to explore the most common caveats regarding IVth ventricular tumor surgery in children and to search for factors causing postoperative sequelae.

Materials and Methods: A retrospective single-center study of patients aged ≤ 19 years who underwent primary surgical resection of a fourth ventricular tumor over a 15-year period (2006–2021). Predictors analyzed included: age, gender, surgical approach, anatomical pattern, tumor grade, EOR, tumor volume, and others as appropriate.

Results: 106 patients were included (64 males, mean age 7.3 years). The rate of permanent neurological deficit was 24.2%; lateral tumor extension ($p = 0.036$) and tumor volume greater than 38 cm³ ($p = 0.020$) were significant predictors. The presence of a deficit was the only significant predictor of reduced (less than 90) Lansky score ($p = 0.005$). CM occurred in 20.8% of patients and was influenced by medulloblastoma histology ($p = 0.011$), lateral tumor extension ($p = 0.017$), and male gender ($p = 0.021$). No significant difference between the transvermian and telovelar approach in the development of CM was detected ($p = 0.478$). No significant predictor was found for the EOR. EOR was not found to be a significant predictor of overall survival for both low-grade and high-grade tumors, however, gross total resection (GTR) was protective against tumor recurrence compared to near-total or subtotal resection ($p < 0.001$). In addition, survival was found to be better in older patients (≥ 7.0 years, $p = 0.019$).

Conclusions: The overall rate of postoperative complications remains high due to the eloquent localization. Older patients (>7 years) have been found to have better outcomes and prognosis. Achieving GTR whenever feasible and safe has been shown to be critical for tumor recurrence. CM was more common in patients with medulloblastoma and in patients with tumors extending through the foramen of Luschka. The telovelar approach uses a safe and anatomically sparing corridor,

however, it has not been associated with a lower incidence of CM and neurological sequelae in our series, showing that each case should be assessed on an individual basis.

101 FIXACE DĚTSKÝCH OSTEOCHONDRÁLNÍCH ZLOMENIN KOLENNÍHO KLOUBU BIODEGRADABILNÍMI IMPLANTÁTY Z HOŘČÍKOVÉ SLITINY

Hanák F.(1), Havlas V.(1)

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

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

Úvod: Implantáty z hořčíku jsou relativně novou generací vstřebatelných implantátů, jeví se jako nadějná alternativa oproti současně používaným materiálům z biodegradabilního polymeru. Implantáty z hořčíkové slitiny disponují výhodným biologickým chováním a optimálními mechanickými vlastnostmi. Práce shrnuje výsledky fixace osteochondrálních fragmentů v oblasti kolenního kloubu MAGNEZIX (MgYREZr) šrouby a piny u dětských pacientů.

Cíl: Cílem této práce bylo zhodnocení 1/ bezpečnosti a efektivnosti užití MAGNEZIX šroubů a pinů u refixace osteochondrálních fragmentů kolenního kloubu dětských pacientů, 2/ zhodnocení klinických a radiologických výsledků s odstupem 24 měsíců od operace.

Materiál a metody: Bylo zhodnoceno 18 pacientů s nestabilní nebo dislokovanou osteochondrální lézí

vzniklou na traumatickém podkladě nebo na podkladě disekující osteochondritidy v letech 2018 - 2021. Bylo provedeno klinické a RTG zhodnocení v pravidelných intervalech, MRI vyšetření bylo provedeno v odstupem 24 měsíců od operace. Klinická část studie se zaměřuje na hodnocení bolesti, funkce a rozsahu pohybu v kolenním kloubu, radiologická část je zaměřená na hodnocení hojení osteochondrálních fragmentů, kvality chrupavky, formaci radiolucentních zón, rychlost resorpce implantátů a potenciální novotvorbu kosti kolem implantátů.

Výsledky: Celkové funkční skóre 24 měsíců od operace u obou skupin bylo: Visual Analog Scale (VAS) skóre 1.38 ± 1.79 (rozsah 0 – 6), Lysholm skóre 84.11 ± 16.01 (rozsah 35 – 100), 84.11%, International Knee Document Committee skóre (IKDC) 73.94 ± 14.69 (rozsah 31 – 87), 84.99%. Žádné významné lokální komplikace nebyly zaznamenány. Všichni pacienti dosáhli dobrého obnovení funkce 6 měsíců od operace, v 24 měsících byl rozsah pohybu byl normální u 15 pacientů, 3 pacienti měli 10° deficit flexe ve srovnání s kontralaterální stranou. 6 pacientů pozorovalo transitorní otoky operovaného kolene v návaznosti na větší sportovní aktivitu, 2 pacienti reportovali otok operovaného kolene i po běžné aktivitě jako je delší chůze. Jeden pacient vyžadoval reoperaci pro dislokaci šroubu spojenou s poškozením kloubní chrupavky. Radiolucentní zóny byly pozorovány u všech případů, nejlépe viditelné v 6 týdnech od operace, MRI v 24 měsících od operace poukázalo na kompletní připojení fragmentů 12 pacientů, v různém stadiu resorpce implantátů s různým stupněm chondropatie.

Závěr: Fixace osteochondrálních fragmentů MAGNEZIX šrouby a piny poskytuje dostatečnou stabilitu a vede k uspokojivému hojení v oblasti dětských osteochondrálních fragmenů kolenního kloubu.

106 KLINICKÁ UTILITA ZRAKOVÝCH EVOKOVANÝCH POTENCIÁLŮ U DĚTÍ S ONEMOCNĚNÍM ASOCIOVANÝM S PROTILÁTKOU PROTI MYELINOVÉMU OLIGODENDROCYTÁRNÍMU GLYKOPROTEINU (MOGAD)

Toman T., Svěráková A., Valkovičová R., Libá Z.

Klinika dětské neurologie 2. LF a UK, FN Motol

Školitel: MUDr. Zuzana Libá, Ph.D.

Úvod: Onemocnění asociovaná s myelin-oligodendrocytárním glykoproteinem (MOGAD) jsou zánětlivá demyelinizační onemocnění centrální nervové soustavy, která často postihují optické nervy. Klinické a laboratorní nálezy charakterizují závažnost tohoto procesu a definují klinický fenotyp a prognózu. Mladší děti nicméně mohou mít obtíže s vnímáním a popisováním jejich symptomů. K objektivnímu určení poškození způsobeného zánětem zrakové dráhy můžeme změřit latence zrakových evokovaných potenciálů (VEP).

Cíl: Tato studie si klade za cíl ozřejmit senzitivitu vyšetření zrakových evokovaných potenciálů u pacientů s MOGAD v porovnání s referovaným zrakovým postižením a nálezem na magnetické rezonanci (MRI).

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 17 pacientů (Ž:M = 8:9, věk: medián 8 let, věkové rozmezí 0-15), kteří byli diagnostikováni s MOGAD na našem oddělení. Iničiální klinické fenotypy byly následující: akutní disseminovaná encefalomyelitida (7), optická neuritida (6), myelitida (2), onemocnění ze spektra neuromyelitis optica (1) a roztroušená skleróza (1). U všech pacientů proběhlo na začátku onemocnění vyšetření VEP, MRI, testování protilátek proti myelin-oligodendrocytárním glykoproteinu a vyšetření likvoru. Při vyšetření VEP byla u spolupracujících pacientů užitá metoda pattern-reversal stimulus (pVEP), u ostatních flash stimulus (fVEP). Následně jsme porovnali důkazy o patologii zrakové dráhy v objektivních metodách (VEP, MRI) s přítomností, či absencí referovaného zrakového postižení.

Výsledky: Zrakové postižení uvedlo 8 pacientů (47,1 %), 5 z nich na obou očích (62,5 %). Patologie optických nervů na MRI byla pozorována u 8 pacientů, z toho v 5 případech oboustranně. Jeden pacient se zrakovým postižením byl bez korespondující abnormality na VEP a jeden pacient s MRI nálezem patologie optického nervu byl bez subjektivní poruchy zraku. Ve srovnání abnormální hodnoty VEP byly přítomny u 12 pacientů (70,5 %), oboustranně u 10 z nich (83 %).

Závěr: Vyšetření VEP bylo senzitivnějším nástrojem k určení přítomnosti zánětlivého procesu zrakové dráhy u pacientů s MOGAD než MRI či samotné klinické testování. Výsledky VEP ukazují na přítomnost postižení optické dráhy i u pacientů bez odpovídajících symptomů. Nicméně případ pacienta s poruchou zraku a normálními hodnotami VEP demonstrují důležitost komplexního klinického a laboratorního zhodnocení v diagnostickém procesu.

Podpora projektu: realizace podpořena grantem GA UK, projekt č. 405822

109 EPILEPSY SURGERY AND LONG-TERM EPILEPSY ASSOCIATED TUMORS (LEATS) – A RETROSPECTIVE STUDY OF 73 CHILDREN

Ramos Rivera G.(1,2), Kudr M.(2), Jahodová A.(2), Bělohávková A.(2), Kynčl M.(3), Libý P.(4), Leško R.(4), Tichý M.(4), Kršek P.(2)

1 - Department of Pediatrics, University Hospital Martin, Slovakia, 2 - Department of Pediatric Neurology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Motol University Hospital, Prague, 3 - Department of Radiology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Motol University Hospital, Prague, 4 - Department of Neurosurgery, Second Faculty of Medicine, Charles University, Motol University Hospital, Prague

Supervisor: Prof. MUDr. Pavel Kršek, PhD.

Introduction: LEATs are low-grade tumors with high incidence of pharmaco-resistant epilepsy. They can be associated with other structural pathological findings, mainly with focal cortical dysplasias (FCD type IIIb). LEATs represent the second most common neuropathological finding in epilepsy surgery cohorts. However, there is a lack of data about correlations at clinical and histological level.

Aims: To assess clinical manifestations, surgical approach and outcome in patients who underwent epilepsy surgery and had histopathological finding of LEATs or FCD IIIb.

Materials and Methods: We analyzed age at seizure onset, pharmaco-resistance, findings of diagnostic tests, age at surgery, duration of epilepsy, use of invasive EEG and outcome (minimal follow-up 2 years) of 73 children with isolated LEATs or FCD type IIIb. who underwent epilepsy surgery in the Motol Epilepsy Center. We also compared histological findings (isolated LEATs vs. FCD IIIb.) in terms of the above-mentioned parameters.

Results: In the whole cohort of 73 children, median age at seizure onset was 6,0 years (range 0,12-16,8). 72,6% of patients were pharmaco-resistant. Median age at surgery was 10,08 years (2,01-18,96) and median duration of epilepsy before surgery was 1,87 years (0,02-16,13). Majority of LEATs resp. FCD IIIb. (56,8%) were localized in the temporal lobe, 39,2% were extratemporal, and in 4,1% multilobar including temporal lobe. We routinely use intraoperative ECoG; moreover, long-term invasive EEG was used in four cases (5,5%). Six patients (8,2%) underwent a reoperation. Of the total cohort, only two patients (2,7%) were classified as Engel II-IV two years after surgery and 97,3% were seizure-free. 39,7% of patients (29 children) had isolated LEATs and 60,3% (44 children) FCD IIIb. Median age at seizure onset was 7,5 years (0,8-16,0) in the first subgroup and 7,27 years (range 0,12-16,8) in the second one ($p=0,97$). 62,1% of children with isolated LEATs and 79,5% of children with FCD IIIb. were pharmaco-resistant ($p=0,10$). Extratemporal localization was more frequent in the subgroup of isolated LEATs (69% vs. 20,5% in the FCD IIIb. subgroup, $p<0,001$). Of the six reoperated patients, three had a FCD IIIb. and three an isolated LEAT. One child in each group was classified as Engel II-IV two years after surgery.

Conclusions: Epilepsy surgery is highly effective in children with LEATs, with no significant differences between isolated LEATs and cases associated with FCD IIIb. In terms of clinical presentation, we found more frequent extratemporal localization of isolated LEATs compared with FCD IIIb.

116 Klasifikace IDH genotypu u dospělých gliomů pomocí Arterial Spin Labeling a Dynamic Susceptibility Contrast MRI

Prysiashniuk Y. (1,2), Server A. (3), Bech-Aase Ø. (3), Helseth E. (4), Kala D. (1,2), Eijgelaar R.S. (5), Fuster-García E. (6), Brandal P. (7,8), Bjørnerud A. (3), Kynčl M. (1), Otáhal J. (1,2), Petr J. (9,10), Nordhøy W. (3)

1 Ústav patologické fyziologie, 2. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha 2 Klinika zobrazovacích metod, FN Motol, Praha 3 Oddělení fyziky a počítačové radiologie, Divize radiologie a nukleární medicíny, Oslo University Hospital, Norské království 4 Oddělení neurochirurgie, Oslo University Hospital, Norské království 5 Oddělení neurochirurgie, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, Nizozemsko 6 Instituto Universitario de Tecnologías de la Información y Comunicaciones, Universitat Politècnica de València, València, Španělsko 7 Oddělení onkologie, Oslo University Hospital, Norské království 8 Institute for Cancer Genetics and Informatics, Oslo University Hospital, Norské království 9 Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institute of Radiopharmaceutical Cancer Research, Německo 10 Oddělení radiologie a nukleární medicíny, Cancer Center Amsterdam, Amsterdam University Medical Center, Amsterdam, Nizozemsko

Školitel: Doc. MUDr. Martin Kynčl, Ph.D.

Úvod: Gliom je nejčastějším zhoubným primárním nádorem mozku u dospělých. Nejnovější klasifikace nádorů CNS Světové zdravotnické organizace (WHO) z roku 2021 zdůrazňuje význam molekulárních markerů pro klasifikaci nádorů, zejména genotypu izocitrátdehydrogenázy (IDH). Vyšší vaskularizace u IDH-wildtype gliomů je reprezentována zvýšeným cerebrálním průtokem krve (CBF) - perfúzí, což je potenciální neinvazivní marker klasifikace IDH-genotypu, jak bylo dříve prokázáno pomocí Dynamic Susceptibility Contrast (DSC) a s Arterial Spin Labeling (ASL).

Cíl: Vzhledem k obavám o bezpečnost kontrastních látek na základě gadolonia a vyšším nákladům a invazivitě DSC existuje velký zájem o ověření ASL jako alternativy k DSC v klinické diagnostice gliomů. Cílem této studie je zhodnotit a přímo porovnat schopnost DSC a ASL perfúzní MRI klasifikovat genotyp IDH.

Materiál a metody: Do studie bylo retrospektivně zařazeno 73 pacientů ($53,4 \pm 16,2$ let, 48 mužů) přijatých do Univerzitní nemocnice v Oslu v letech 2016-2021. Zařazovací kritéria byla: věk ≥ 18 let, histologicky potvrzený gliom, ASL a DSC pořízené během jednoho sezení a žádná předchozí onkologická léčba. Data byla získána na 3T GE MRI skeneru. Protokol zahrnoval T1w 3D FSPGR/BRAVO před a po aplikaci kontrastní látky, T2w 3D FLAIR (FSE/CUBE), T2w 2D Propeller, 3D FSE spirální pCASL s potlačeným pozadím a jednobolusový 2D GRE-EPI DSC. Nádor a edém byly segmentovány pomocí nnU-Net z T1wc, T1w, T2w a FLAIR.

Výsledky: Finální soubor dat zahrnoval 45 pacientů, z nichž 24/21 bylo IDH-mutant/wildtype a 31 mělo edém mozku. Průměrné ASL-nCBF nádoru vykazuje lepší výkonnost při klasifikaci IDH-genotypu než DSC. IDH-wildtype gliomy mají významně vyšší maximální nádorovou ASL-nCBF, DSC-nCBF, DSC-nCBV ($p = 0.0302, 0.0162, 3.2e-04$ resp.) a průměrnou nádorovou DSC-nCBF, DSC-nCBV ($p = 0.0128, 0.0015$ resp.). Analýza ROC křivek jednotlivých parametrů ukázala, že průměrné a maximální ASL-CBF v nádoru (AUC = 0.84, 0.80 resp.) má nejlepší výkonnost v klasifikaci IDH genotypu. Perfúzní ASL a DSC parametry mají signifikantní pozitivní korelaci v nádoru a edému ($p < 0.01$).

Závěr: Průměrná ASL-nCBF nádoru vykazuje lepší výkonnost při klasifikaci IDH-genotypu než DSC. Klasifikační výkonnost perfúzních ASL parametrů a jejich signifikantní pozitivní korelace s DSC perfúzí zdůrazňují použitelnost ASL v klinické diagnostice.

Podpora projektu: Táto studie byla financována grantem COST Action CA18206 Glioma MR Imaging 2.0 (www.cost.eu), projektem č. LX22NPO5107 (MEYS): Financed by EU – Next Generation EU a grantem č. NU21-08-00228 AZV ČR.

129 METICILIN REZISTENTNÍ STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) V ČESKU: ANALÝZA DOMINANTNÍCH LINIÍ, 1999 – 2017.

Rozsypálková A., Brajerová M., Melter O., Dřevínek P., Tkadlec J.

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

Pregraduální student

Školitel: Mgr. Jan Tkadlec, Ph.D.

Úvod: Epidemiologie MRSA je charakterizována výskytem epidemických linií. Vznik a šíření nových linií jsou doprovázeny změnou klinického obrazu infekce MRSA i změnou incidence infekcí MRSA.

Cíl: Určit genetické a fyziologické rozdíly mezi dominantními kmeny MRSA v Česku

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno šest izolátů hlavních epidemických klonů MRSA v České republice z let 1999 až 2019: i) iberský (ST247; izolován: 1999); ii) brazilský (ST239; 1999); iii) český (ST239Cz; 2003); iv) EMRSA-15 (ST22; 2003); v) rýnsko-hesenský (ST225; 2017); a vi) USA300 (ST8; 2019; šířící se kmen komunitní MRSA). U izolátů bylo provedeno celogenomové sekvenování (WGS, Illumina). Pomocí růstových křivek byl studován růst testovaných kmenů v přítomnosti subinhibičních koncentrací azitromycinu (0,016 mg/L) a oxacilinu (0,01 mg/L).

Výsledky: Mutace způsobující rezistenci k chinolonům (*gyrA*:S84L; a/nebo *grlA*:S80F) a geny způsobující rezistenci k makrolidům (*ermA*; *ermC*; nebo *msrA*) byly přítomny u všech izolátů, zatímco mutace/geny způsobující rezistenci k rifampicinu (*rpoB*: H481N), trimetoprimu (*dhfrB*:F99Y) a tetracyklinu (*tet(M)*) byly přítomny pouze u izolátů z let 1999-2003 (ST247; ST239; ST239Cz). Všechny izoláty nesly geny virulence *sak* a *scn* (Immune Evasion Cluster), ST22 a ST225 navíc obsahovaly klastr genů pro enterotoxiny (*seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo*, *seu*). Nejvyšší rychlost růstu bez přítomnosti antibiotik vykazoval kmen komunitní MRSA ST8 (doba zdvojení: DT= 29 minut). V přítomnosti azitromycinu rostly nejrychleji ST247, ST239, ST239Cz a ST22 (DT=29-30 min) naopak růst ST225 (DT=34min) a ST8 (DT=32 min) byl výrazně pomalejší. V přítomnosti oxacilinu byla DT všech kmenů v rozmezí 31 až 33 minut.

Závěr: Souhrnně, izoláty z období kolem roku 2000 (ST247; ST239; ST239Cz) obsahovaly více determinantů rezistence (genů a mutací) a méně genů virulence (zejména enterotoxinových genů) ve srovnání s novějšími izoláty (ST22; ST225). Nepřítomnost genů rezistence k trimetoprimu, tetracyklinu a rifampicinu u recentních kmenů MRSA reflektuje pravděpodobně omezení preskripce těchto antibiotik mezi lety 1999-2019. V případě rezistence k makrolidům, sdílené všemi kmeny, byla růstová rychlost v přítomnosti azitromycinu nižší u recentních kmenů (ST225 a ST8), zatímco bez přítomnosti antibiotika rostly tyto kmeny stejně rychle (ST225) nebo rychleji (ST8).

Podpora projektu: Podpořeno z projektu Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – NextGeneration EU; a z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU23-09-00080.

16 VÝSKYT HYBRIDŮ PATOGENNÍCH ESCHERICHIA COLI O111 V ČESKÉ REPUBLICE

Schlosserová K. (1,2), Klimešová P. (2), Kseničová J. (2), Havlíčková M. (2), Ileninová Z., Bielaszewska M. (1,2)

1 - 2. LF UK, 2 - Národní referenční laboratoř pro *E. coli* a shigely, Státní zdravotní ústav, Praha

Školitel: doc. MUDr. Martina Bielaszewska, CSc.

Úvod: Shiga toxin-produkující *E. coli* (STEC) vyvolává potenciálně smrtelný hemolyticko-uremický syndrom (HUS). Enteroagregativní *E. coli* (EAEC) je úspěšný kolonizátor střeva a původce dlouhotrvajících průjmů. V r. 2011 zasáhla Německo velká epidemie průjmových onemocnění s vysokou progresí do HUS. Původcem byl hybridní kmen *E. coli* O104:H4 nesoucí kombinaci virulenčních faktorů STEC a EAEC. Alarmující průběh epidemie svědčí pro vysokou virulenci patogena inicioval celosvětově monitoring výskytu hybridních patotypů *E. coli*.

Cíl: Cílem naší studie je detailní charakteristika faktorů virulence klinických izolátů *E. coli* O111. Séroskupina O111 je jednou z tzv. TOP5 séroskupin, které nejčastěji produkují Shiga toxin a působí lidská onemocnění, a jsou podle vyhlášky o epidemiologické bdělosti 473/2008 Sb. zasílány z celé České republiky do Národní referenční laboratoře pro *E. coli* a shigely (NRL/ECS) k další analýze. Na základě detekce virulenčních profilů si studie klade za cíl zjistit výskyt hybridů mezi kmeny *E. coli* O111 a popsat jejich vlastnosti.

Materiál a metody: Kmeny *E. coli* O111 byly izolovány v letech 1965-2022 a pocházejí ze sbírky NRL/ECS a Ústavu lékařské mikrobiologie FN Motol. Přítomnost markerových genů STEC (*stx1*, *stx2*), EAEC (*aggR*, *aaIC*, *aatA*, *aj*.) a EPEC (*eae*) byla detekovaná pomocí PCR. Dle informací z epidemiologických šetření byl zjištěn podíl importovaných infekcí, věkové a genderové složení pacientů. U vybraných kmenů byla dále testována citlivost k antibiotikům pomocí diskové metody a stanovení minimální inhibiční koncentrace. Část získaných výsledků byla konfirmována pomocí „next generation sequencing“ (NGS); tato analýza pokračuje na zbývajících izolátech.

Výsledky: Podíl séroskupiny *E. coli* O111 na celkovém počtu izolátů NRL ECS ročně nepřesáhl 11 %. Studie se zaměřila na 3 dominantní patoskupiny *E. coli* O111, konkrétně 16 izolátů STEC, 488 EPEC a 324 nonSTEC/nonEPEC. Pro účely studie byly vybrány výhradně české izoláty; většina pocházela od pacientů < 5 let (chlapci vs. dívky ca. 1:1). Data ukázala nárůst *E. coli* O111 EAEC v posledních 20 letech (podíl až 89% v r. 2013) včetně nových kombinací virulenčních faktorů. Celkem bylo detekováno 8 hybridů EPEC/EAEC a žádný hybrid STEC/EAEC. Zatímco u nehybridních kmenů EC O111, včetně STEC, byly prokázány ATB rezistenční profily; naopak EPEC hybridy O111 vykazovaly multispektrální citlivost.

Závěr: PCR výsledky prokázaly virulenční variabilitu séroskupiny *E. coli* O111. Tato variabilita zaznamenala od roku 1965 prokazatelné změny a další změny lze očekávat i v budoucnu; některé ze změn jsou predikovatelné. Hybridní patotyp EPEC/EAEC byl prokázán u ca.1 % analyzovaných kmenů. Systematické sledování výskytu hybridů *E. coli* O111 a jejich citlivosti k antibiotikům je důležité vzhledem k jejich patogennímu potenciálu.

Podpora projektu: NGS a analýza dat probíhá za finanční podpory SZÚ, Praha (projekt MZ ČR – RVO („Státní zdravotní ústav – SZU, 75010330“) a díky spolupráci s Ústavem Roberta Kocha, Wernigerode, Německo.