

Masarykova univerzita
Lékařská fakulta

61.

Studentská vědecká konference



SPOLEK
MEDIKŮ

Brno 2017

Michal Jurajda (ed.)

Organizátoři 61. ročníku SVK si dovoluují srdečně přivítat všechny účastníky — přednášející, členy odborných komisí, vedení fakulty a hosty — na letošní konferenci konané tradičně pod záštitou děkana lékařské fakulty MU prof. MUDr. Jiřího Mayera, CSc., a organizované Spolkem mediků LF. V tomto roce začínáme již sedmou desítku v řadě konferencí, na kterých se scházejí studenti lékařské fakulty Masarykovy univerzity, aby prezentovali své odborné práce. Práce, na kterých se podílejí nad rámec svých běžných studijních povinností na ústavech a klinikách. Stejně jako v minulých letech vyjadřuje současné vedení fakulty hlubokou podporu studentským vědeckým iniciativám a poděkování všem teoretickým, laboratorním i klinickým pracovištím lékařské fakulty, která umožňují výzkumnou práci studentů a jejichž akademičtí pracovníci v roli školitelů věnují svůj cenný čas mimo jiné i vědecké výchově studentů. Věříme, že někteří z dnešních prezentujících budou v podobném úsilí pokračovat a výzkumná práce se stane nedílnou součástí jejich medicínské praxe.

Vědecké výsledky jsou stále zásadním kritériem hodnocení univerzit a fakult a zdrojem jejich prestiže. Masarykova univerzita si v tomto ohledu stojí velmi dobře jak v národním tak mezinárodním srovnání. Aby si udržela svou dobrou pozici i do budoucna, je potřeba zaujmout a inspirovat talentované studenty a dát jim prostor jak k vlastní práci, tak i k prezentaci jejich výsledků. SVK si klade za cíl být tímto fórem.

Organizátoři srdečně děkují všem akademickým pracovníkům, kteří se účastní letošní konference jako členové odborných komisí, za jejich čas a úsilí. Rádi bychom na tomto místě poděkovali také firmám Eppendorf Czech & Slovakia s.r.o., ROCHE s.r.o. a Oxford Bookshop Brno za již tradiční podporu Studentské vědecké konference lékařské fakulty MU.

V Brně dne 24. 5. 2017

Za organizátory konference

MUC. Peter Krkoška, viceprezident Spolku mediků
MUDr. Michal Jurajda, Ph.D., koordinátor SVK 2017

ÚVODNÍ SLOVO DĚKANA

Studiem na Lékařské fakultě se během relativně krátké doby obvykle získá nepřehledné množství informací. V mnoha případech však tyto informace nelze studentům sdělit v celém rozsahu současného poznání v dané oblasti a zejména pak ve všech významných souvislostech. V současném informacemi zahlceném digitalizovaném světě je proto obzvláště důležité vybírat správné informační zdroje a se získanými informacemi pak následně správně pracovat.

Mladým lékařům proto opakovaně zdůrazňuji, že to hlavní, co by se měli během studia naučit a celý profesní život pak trvale akcentovat je schopnost dávat si věci do souvislostí, všimnout si toho, co je neobvyklé, co „nesedí do tradičních schémat či nějakých škatulek“. Pokud si pak nejsou něčím zcela jisti, vyhledat si odpovědi v kvalitním informačním zdroji. Tento přístup je zcela zásadní, protože jen ten vychovává odborníky, kteří jsou schopni kontinuálního sebevzdělávání a kreativního přístupu ve všech sférách svého profesního života.

Ideálním tréninkem k tomuto způsobu vzdělávání a třídění informací je aktivní účast na vědeckovýzkumné činnosti. Tato činnost sebou navíc přináší také možnost užít si obohacujícího pocitu z vlastního přispění k odhalení něčeho dosud neznámého. Já sám jsem se takové aktivitě během svého vlastního studia věnoval a dodnes na to rád vzpomínám. Jsem si jist, že mi to přineslo mnohé zkušenosti a schopnosti, které bych jinak neměl šanci získat. Lékařská fakulta Masarykovy univerzity vědeckovýzkumnou činnost studentů podporuje všemi dostupnými prostředky a nesmírně si váží všech studentů i jejich učitelů, kteří takto kreativně obohacují vzdělávací proces. Tato aktivita není ani v nejmenším pouhou hrou, naopak, ve většině případů je jejím výsledkem posun v poznání a někdy dokonce i praktické aplikace s dopadem do klinické medicíny. Studentská vědecká konference je každoročním setkáním a odměnou těm, kteří se na vědecké činnosti studentů podílejí. Věřím, že někteří z nich po vědu zahoří v takové míře, že se stane náplní jejich budoucího života.



prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.
děkan LF MU

ÚVODNÍ SLOVO PRODĚKANA

Žijeme v době, která nám, v míře jako nikdy předtím, dává rozsáhlý prostor pro naplňování svých snů. Pro mnohé z nás jsou takovými sny, sny o velkých objevech, které posunou hranice lidského poznání a možností o další kus dopředu. Máme to velké štěstí, že jsme součástí akademické instituce, která jako celek po celou dobu svojí existence dbá na vytváření kvalitních podmínek a pozitivních stimulů k vědeckovýzkumné činnosti. Zejména v posledních 10 letech naše Lékařská fakulta a celá Masarykova univerzita dospěly do stavu, kdy tyto instituce mají desítky nadšených mentorů a zkušených výzkumníků s mezinárodním kreditem, stejně jako excelentní instrumentaci a rozsáhlý přístup k vědeckým informacím, které ve své celistvosti spoluvytváří solidní domov pro pěstování produktivní vědy. Současná medicína, se všemi svými klasickými disciplínami, ale také souvisejícími teoretickými a technickými obory, dává nekonečné možnosti pro uplatnění invence a zhmotnění tužeb po nalézání nového. Není pochyb o tom, že tradice Studentské vědecké konference na naší fakultě je dobře viditelným dokladem této skutečnosti. Vědecká činnost realizovaná studenty nad rámec běžných studijních povinností ukazuje, že současnost přeje talentu a zapálení pro práci a že badatelská činnost studentů je chápána jako hmatatelný příspěvek k osobnímu rozvoji každého zúčastněného. Z pohledu instituce jakou je naše Lékařská fakulta, znamenají výzkumné aktivity studentů vedené jejich mentory příslib pro její budoucí prosperitu ve všech třech klíčových oblastech jejích aktivit, pedagogické, medicínské a vědecké. Velmi si proto cením mise Studentské vědecké konference, s radostí pozoruji její každoročně rostoucí vědeckou kvalitu, oceňuji vynaložené úsilí všech jejích účastníků a organizátorů, a přeji jí proto zasloužený úspěch i v roce 2017.



doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.
proděkan pro výzkum LF MU

PROGRAM KONFERENCE

- 8.00 Slavnostní zahájení konference za přítomnosti členů vedení lékařské fakulty MU.
Aula LF MU (A22), UKB Kamenice 5
- 8.30 Zahájení jednání v sekcích, dle rozpisu poslucháren a pořadí příspěvků
- ▶ délka prezentace: 10 min + 5 min diskuze
 - ▶ k dispozici PC s projekční technikou (doporučený formát MS PowerPoint)
 - ▶ odborné komise vyberou k ocenění vždy 3 nejkvalitnější práce v každé sekci
- 16.00–17.00 Vyzvaná přednáška, Aula LF MU (A22), UKB Kamenice 5
doc. Ing. Milan Chmelař, CSc.
Ústav biomedicínského inženýrství, FEKT
Vysoké učení technické v Brně
Historie výuky lékařské elektroniky na FEKT VUT v Brně
- 17.00 Slavnostní zakončení konference, Aula LF MU (A22), UKB, Kamenice 5
- ▶ vyhlášení tří nejlepších prací z každé sekce a předání diplomů oceněným studentům
 - ▶ následuje závěrečný raut pořádaný Spolkem mediků v prostorách UKB, Kamenice 5 (kavárna „Na lávce“)
- Všichni zúčastnění jsou srdečně zváni!**

SLOŽENÍ ODBORNÝCH KOMISÍ

1. Teoretická a preklinická sekce

Aula UKB (A22), Kamenice 5

Předseda: doc. MUDr. Jan Šimůnek, CSc.

Členové: MUDr. Jan Máchal, Ph.D.
PharmDr. Jana Rudá, Ph.D.
Mgr. Stjepan Uldrian, CSc.

2. Sekce chirurgických oborů

UKB, posluchárna 334 (pavilon A11), Kamenice 5

Předseda: doc. MUDr. Pavel Smílek, Ph.D.

Členové: MUDr. Tomáš Novotný, Ph.D.
MUDr. Martin Ondrák, Ph.D.
doc. MUDr. Petr Štourač, Ph.D.

3. Sekce interních oborů

UKB, posluchárna 114 (pavilon A11), Kamenice 5

Předseda: doc. MUDr. Ondřej Ludka, Ph.D.

Členové: doc. MUDr. Marek Baláž, Ph.D.
MUDr. Richard Barteček, Ph.D.
MUDr. Lenka Jakubíková, Ph.D.

4. Stomatologická sekce

UKB, posluchárna 211 (pavilon A11), Kamenice 5

Předseda: prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc.

Členové: MUDr. Hana Poskerová, Ph.D.
MUDr. Hana Střeščíková, CSc.

5. Sekce nelékařských oborů

UKB, posluchárna 327 (pavilon A11), Kamenice 5

Předseda: doc. MUDr. Martin Huser, Ph.D.

Členové: PhDr. Natálie Beharková, Ph.D.
Mgr. Pavel Beneš, Ph.D.

6. Doktorandská sekce

UKB, posluchárna 234 (pavilon A11), Kamenice 5

Předseda: prof. RNDr. Petr Dubový, CSc.

Členové: doc. MUDr. Pavel Štourač, Ph.D.
Mgr. Petr Veselý Dis., Ph.D.
PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.

VYZVANÁ PŘEDNÁŠKA

HISTORIE VÝUKY LÉKAŘSKÉ ELEKTRONIKY NA FEKT VUT V BRNĚ

doc. Ing. Milan Chmelař, CSc.

Ústav biomedicínského inženýrství, FEKT

Vysoké učení technické v Brně

Před rokem 1967 nebyla na vysokých školách v tehdejší Československé socialistické republice výuka elektroniky pro lékařství nijak rozšířena. Jednalo se vždy jenom v podstatě o osamocené předměty, ale v žádném případě se nejednalo o systematickou výuku v oboru techniky pro zdravotnictví. To se výrazným způsobem změnilo, když na základě vzájemné dohody mezi koncernovým podnikem Chirana a tehdejší elektrotechnickou fakultou VUT vznikla dne 1. 5. 1967 Katedra lékařské elektroniky, která byla na dlouhá léta tenkrát první specializovanou katedrou v rámci naší republiky. Začátky nebyly lehké. Chyběly prostory i peníze. Postupem času se však vše postupně zlepšilo, takže srovnávat současný Ústav biomedicínského inženýrství s tím co bylo na počátku, není možné. Letos je to tedy 50 let od doby, kdy byly položeny základy k výuce v oblasti elektroniky pro zdravotnictví, bez které si není možné současné nemocnice představit. Není na škodu se s tímto vývojem seznámit.

*Doc. Ing. Milan Chmelař, CSc. (*1937)* pracoval do 31. 8. 2016 jako docent na Ústavu biomedicínského inženýrství Fakulty elektrotechniky a komunikačních technologií VUT v Brně. Dlouhodobě se zabýval otázkou přístrojové techniky pro zdravotnictví. Byl garantem tří předmětů. Současně s VUT měl pracovní poměr (částečný úvazek) ve Fakultní nemocnici Brno. Je autorem řady skript (z toho jedněch v angličtině), patří autorského kolektivu knihy o léčbě trvalé bolesti, napsal 80 hesel z oblasti techniky pro zdravotnictví do technického slovníku naučného. Navrhl řadu unikátních přístrojů. Má přijato celkem 14 zlepšovacích návrhů a rovněž podal (a byly mu uděleny) několik patentů a užitných vzorů.

e-mail: chmelar@feec.vutbr.cz

PROGRAM JEDNOTLIVÝCH SEKCIÍ

1. TEORETICKÁ A PREKLINICKÁ SEKCE

Aula UKB (A22), Kamenice 5

08.30–10.00 h

T1. Nejedlý Petr

Fyziologický ústav

**IDENTIFIKACE VISKOELASTICKÝCH VLASTNOSTÍ ARTÉRIÍ METODOU
VIBRAČNÍ FOTOPLETYSMOGRAFIE**

Školitelé: Mgr. Jana Svačinová, Ph.D., Ing. Jiří Moudr

T2. Stepperud Sigríd

Ústav patologické fyziologie

**PROINFLAMMATORY TNF ALPHA -238 A/G POLYMORPHISM IN PATIENTS
WITH CHRONIC HEART FAILURE**

Školitelé: prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., prof. MUDr. Lenka Špínarová, Ph.D., FESC

T3. Charwátová Daniela

Fyziologický ústav

VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA HOJENÍ RAN U POTKANŮ

Školitelka: prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

T4. Štěrba Martin

Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav

**ANALÝZA PROTINÁDOROVÉHO ÚČINKU NOVÝCH POLYMETHINIOVÝCH SOLÍ
ZA VYUŽITÍ CRISPR GENOME-WIDE SCREENING**

Školitel: MUDr. Petr Müller, Ph.D.

T5. Muttoni Elisabetta

Biochemický ústav

BIOCHEMICAL CHANGES DURING SLEEP DEPRIVATION

Školitelka: Mgr. Milena Matejovičová, Ph.D

T6. Muchová Pavlína

Mikrobiologický ústav

**TVORBA BIOFILMU JAKO FAKTOR VIRULENCE
U PROPIONIBACTERIUM ACNES**

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

10.00–10.15 h PŘESTÁVKA

10.15–11.45 h

T7. Hricko Samuel

Fyziologický ústav

**VPLYV OXIDU DUSNATÉHO NA KARDIOTOXICITU TYROZÍNKINÁZOVÉHO
INHIBÍTORU NILOTINIBU**

Školitel: doc. PharmDr. Petr Babula, Ph.D.

T8. Štefančík Michal

Ústav patologické fyziologie

**EPIGENETICKÉ ZMENY FYZIOLOGICKÝCH A ARTROTICKÝCH
OSTEOBLASTOV VYVOLANÉ PRÍTOMNOSTOU NITI ZLATÍN A ZÁPALU**

Školitelka: doc. RNDr. Monika Pávková Goldbergová, Ph.D.

T9. Parížek Dominik

Fyziologický ústav

**CIEVNA PODDAJNOSŤ A ANTROPOMETRICKÉ PARAMETRE U DETÍ
A DOSPIEVAJÚCICH Z BRNENSKÝCH ŠKÔL**

Školitelka: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

T10. Štětková Monika

Biologický ústav

**NOVÉ NÍZKOMOLEKULÁRNÍ AKTIVÁTORY DRÁHY NÁDOROVÉHO
SUPRESORU P53 A MECHANISMUS JEJICH ÚČINKU**

Školitel: Mgr. Stjepan Uldrijan, CSc.

T11. Kula Roman

Fyziologický ústav

**ZMĚNY DRASLÍKOVÉHO PROUDU CITLIVÉHO NA ACETYLCHOLIN
ZPŮSOBENÉ NIKOTINEM: MAJÍ ROLI V PATOGENEZI FIBRILACE SÍŇÍ
VZNIKAJÍCÍ V SOUVISLOSTI S KOUŘENÍM?**

Školitelka: doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.

T12. Kokošová Viktória

Anatomický ústav

**AKTIVÁCIA STAT3 FOSFORYLÁCIU NA POZÍCIÍ S727 V NEURÓNOCH
LUMBÁLNYCH AJ CERVIKÁLNYCH SPINÁLNYCH GANGLIÍ POTKANOV
PO POŠKODENÍ NERVUS ISCHIADICUS**

Školitel: prof. RNDr. Petr Dubový, CSc.

11.45–12.30 h PŘESTÁVKA

12.30–14.00 h

T13. Vejmělek Adam

Fyziologický ústav

**MUTACE T309I V PROTEINU KV7.1 ASOCIOVANÁ SE SYNDROMEM
DLOUHÉHO QT JAKO MOŽNÁ „FOUNDER“ MUTACE**

Školitelka: doc. MUDr. Markéta Bébarová, CSc.

T14. Kovaříková Lenka

Fyziologický ústav

**KARDIOVASKULÁRNÍ REGULACE U DĚTÍ S ALIMENTÁRNÍ OBEZITOU
A ASTHMA BRONCHIALE V POROVNÁNÍ SE ZDRAVÝMI DĚTMI**

Školitelka: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

T15. Sumbal Jakub

Ústav histologie a embryologie

**FIBROBLASTOVÝ RŮSTOVÝ FAKTOR JAKO DYNAMICKÝ REGULÁTOR
MORFOGENEZE MLÉČNÉ ŽLÁZY**

Školitelka: Mgr. Zuzana Koledová, Ph.D.

T16. Kulakovská Alina

Farmakologický ústav

**TESTOVÁNÍ KOGNITIVNÍCH FUNKCÍ S POUŽITÍM VÝVOJOVÉHO MODELU
SCHIZOFRENIE U POTKANA**

Školitelé: MUDr. Jana Pistovčáková, Ph.D., MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

T17. Beláň Ondřej

Biologický ústav

RAD51 REGULATORS: SHAPING THE FILAMENT

Školitel: doc. Mgr. Lumír Krejčí, Ph.D.

T18. Vrbová Eliška

Biologický ústav

**CELOGENOMOVÁ SEKVENACE TREPONEMA PALLIDUM
SUBSP. PALLIDUM KMENE HAITI B**

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

2. KLINICKÁ SEKCE CHIRURGICKÝCH OBORŮ

UKB, posluchárna 334 (A11), Kamenice 5

08.30–09.45 h

CH1. Musilová Barbora

Neurochirurgická klinika

KAZUISTIKA - FUNKČNÍ HEMISFEREKTOMIE U DĚTSKÉHO PACIENTA

Školitelka: doc. MUDr. Eva Brichtová, Ph.D.

CH2. Domonkos Andrej

II. chirurgická klinika

MALÉ ANEURYZMY BRUŠNEJ AORTY A PREDIKCIA ICH RUPTÚRY NA ZÁKLADE POČÍTAČOVÉHO 3D MODELOVANIA

Školiteľ: MUDr. Luboš Kubíček, prof. MUDr. Robert Staffa, Ph.D.

CH3. Klabusayová Eva

Klinika detskej anesteziologie a resuscitace

SVALOVÁ RELAXACE A KLINICKÁ PRAXE V PEDIATRICKÉ ANESTEZII: RETROSPEKTIVNÍ STUDIE

Školiteľ: MUDr. Jozef Klučka, doc. MUDr. Petr Štourač, Ph.D.

CH4. Janíčková Lucia

Klinika detskej chirurgie, ortopedie a traumatologie

ENTERÁLNI VÝŽIVA NOVOROZENCŮ PO PRIMÁRNÍ REKONSTRUKCI ROZŠTĚPU RTU

Školiteľky: MUDr. Olga Košková, MUDr. Jitka Vokurková, Ph.D., MUDr. Lia Elstnerová

CH5. Engelmanová Lucie

Anesteziologicko-resuscitační klinika

PARENTERÁLNI A ENTERÁLNI PODÁVÁNÍ VALPROÁTU U KRITICKY NEMOCNÝCH

Školiteľ: MUDr. Pavel Suk, Ph.D.

3. KLINICKÁ SEKCE INTERNÍCH OBORŮ

UKB, posluchárna 271 (A11), Kamenice 5

08.30–9.45 h

I1. Syrimi Zoe

I. interní klinika

ARTERIAL SPIN LABELLING DETECTS POSTERIOR CORTICAL HYPOPERFUSION IN NON-DEMENTED PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

Školiteľka: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

I2. Barátová Beáta

Ústav patologické fyziologie

RIZIKOVÉ FAKTORY PŘETRVÁNÍ PORUCHY GLUKÓZOVÉ TOLERANCE PO PORODU U ŽEN S GDM

Školiteľka: prof. MUDr. Kateřina Kaňková, Ph.D.

13. Janáčková Eliška

Gynekologicko-porodnická klinika

**VILV VYBRANÝCH CHOROB MATKY NA VÝSKYT INTRAPARTÁLNÍ
HYPOXIE PLODU**

Školitelé: MUDr. Lukáš Hruban, Ph.D., MUDr. Petr Janků, Ph.D.

14. Lukáčová Viktória

I. neurologická klinika

**TRANSKRANIÁLNA MAGNETICKÁ STIMULÁCIA U PACIENTOV
S PERZISTENTNOU AUROU**

Školitel: MUDr. Eduard Minks

15. Kočica Jan

Neurologická klinika

EVOKOVANÉ POTENCIÁLY VYVOLANÉ KONTAKTNÍM TEPEM (CHEPS)

Školitelka: MUDr. Eva Vlčková, Ph.D.

9.45–10.00 h PŘESTÁVKA

10.00–11.15 h

16. Štefáková Natália

Psychiatrická klinika

**FAKTORY OVPLYVNŮJUJÚCE DĚLŤKU HOSPITALIZÁCIE U PACIENTOV S
AFEKTÍVNÝMI PORUCHAMI**

Školitel: MUDr. Richard Barteček, Ph.D.

17. Klobušiaková Patrícia

CEITEC MU

**HODNOTENIE KLUDOVEJ KONEKTIVITY MEDZI FUNKČNÝMI SIEŤAMI
U PACIENTOV S PARKINSONOVOU CHOROBU: FMRI ŠTÚDIA**

Školitelka: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

18. Dziacky Adam

Klinika radiační onkologie

**RADIOTERAPIE U PACIENTŮ S GLIOBLASTOMEM:
TECHNIKY ZÁŘENÍ A VLIV NA LÉČEBNÉ VÝSLEDKY**

Školitel: MUDr. Tomáš Kazda

19. Nesteš Andrej

Ústav patologickej fyziologie

TIMP-2 POLYMORFIZMUS U PACIENTOV S KOŽNÝM T-LYMFÓMOM

Školitelé: prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., prof. MUDr. Vladimír Vašků, CSc.

I10. Thonová Martina

Ústav klinické imunologie a alergologie

IMUNOLOGICKÝ PŘÍSTUP K DIAGNOSTICE CELIAKIE

Školitel: prof. MUDr. Vojtěch Thon, Ph.D.

11.15–11.30 h PŘESTÁVKA

11.30–12.45 h

I11. Dinarkhail Shugufa

Dermatovenerologická klinika

BEXAROTENE USE IN THE TREATMENT OF CUTANEOUS T CELL LYMPHOMA

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Vašků, CSc.

I12. Grey Michael

CEITEC MU

VZŤAH LÉZIÍ BIELEJ HMOTY (WHITE MATTER LESIONS - WML)

S VASKULÁRNÝMI RIZIKOVÝMI FAKTORMI U PARKINSONOVEJ CHOROBY

Školitel: prof. MUDr. Ivan Rektor, CSc.

I13. Rudišínová Daniela

Psychiatrická klinika

**SROVNÁNÍ KLASICKÉHO A INOVOVANÉHO DESIGNU GO/NOGO TASK
NA ZDRAVÝCH DOBROVOLNÍČÍCH**

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

I14. Pižem Dominik

CEITEC MU

**OVPLYVŇOVANIE KOGNITÍVNYCH FUNKCIÍ POMOCOU REPETITÍVNEJ
TRANSKRANIÁLNEJ MAGNETICKEJ STIMULÁCIE U PACIENTOV S MIERNOU
KOGNITÍVNOU PORUCHOU PRI ALZHEIMEROVEJ CHOROBE**

Školitelka: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

I15. Trnka Ján

I. neurologická klinika

**EFFECTS OF PLAYING A COMPUTER GAME ON COGNITIVE FUNCTIONS
IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE**

Školitel: doc. MUDr. Marek Baláž, Ph.D.

4. STOMATOLOGICKÁ SEKCE

UKB, posluchárna 211 (A11), Kamenice 5

08.30–09.45 h

S1. Hegerová Dáša

Stomatologická klinika

VZNIK DEMINERALIZACÍ SKLOVINY PŘI LÉČBĚ FIXNÍM ORTODONTICKÝM APARÁTEM

Školitelka: doc. MUDr. Pavlína Černochová, Ph.D.

S2. Piklová Šárka

Stomatologická klinika

POHLED NA ORTODONTICKOU LÉČBU RŮZNÝCH VĚKOVÝCH SKUPIN OBYVATEL, A TÍM OVLIVNĚNÁ COMPLIANCE PACIENTA

Školitelka: doc. MUDr. Pavlína Černochová, Ph.D.

S3. Deissová Tereza

Stomatologická klinika

ANALÝZA POLYMORFIZMŮ V GENECH PRO PROTEINY ZAPOJENÉ DO VÝVOJE SKLOVINY U ČESKÝCH DĚTÍ SE ZUBNÍM KAZEM

Školitelka: Mgr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

S4. Masopustová Lucie

Stomatologická klinika

VARIABILITA GENU PRO NOD-LIKE RECEPTOR (NLRP3) U PACIENTŮ S RECIDIVUJÍCÍ AFTÓZNÍ STOMATITIDOU

Školitelka: Mgr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

S5. Jánoš Július

Stomatologická klinika

GENETICKÁ VARIABILITA VO VYBRANÝCH INTERLEUKÍNOCH VO VZŤAHU KU GENERALIZOVANEJ AGRESÍVNEJ PARODONTITÍDE V ČESKEJ POPULÁCI

Školitelka: Mgr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

5. SEKCE NELÉKAŘSKÝCH OBORŮ

UKB, posluchárna 327 (A11), Kamenice 5

08.30–09.30 h

N1. Staffová Eva

Katedra optometrie a ortoptiky

VLIV ANIZOMETROPIE NA KVALITU VIDĚNÍ

Školitel: Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.

N2. Langová Barbora

Katedra optometrie a ortoptiky

**VLIV ZMĚNY HODNOTY A OSY ASTIGMATISMU NA ZRAKOVÝ VÝKON
PŘI RŮZNÝCH POHLEDOVÝCH VZDÁLENOSTECH**

Školitel: Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.

N3. Kmeťová Anna

Katedra optometrie a ortoptiky

SCREENING REFRAKČNÍCH VAD A STRABISMU U DĚTSKÉHO PACIENTA

Školitelka: Mgr. Lucie Patočková

N4. Kamlerová Kristýna

Katedra porodní asistence

PODJAZYKOVÁ UZDIČKA NOVOROZENCŮ A KOJENCŮ

Školitel: Mgr. Blanka Trojanová, Ph.D.

6. DOKTORANDSKÁ SEKCE

UKB, posluchárna 234 (A11), Kamenice 5

08.30–10.00 h

D1. Stračina Tibor

Fyziologický ústav

**OVLIVŇUJE SCHIZOFRENNÍ FENOTYP U POTKANA PARAMETRY
ELEKTROGRAMU IZOLOVANÉHO SRDCE?**

Školitelka: prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

D2. Rabata Anas

Ústav histologie a embryologie

3D CELL CULTURE OF MOUSE LUNG STEM/PROGENITOR CELLS.

Školitel: doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.

D3. Sedláková Veronika

Ústav histologie a embryologie

**MODIFIKACE NANOVLÁKENNÝCH NOSIČŮ POMOCÍ FOSFAZENU PODPORUJE
ROZPROSTŘENÍ A RŮST BUNĚK**

Školitel: doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.

D4. Kovaříková Petra

Ústav histologie a embryologie

FUNCTIONS AND INTERACTIONS OF BASAL BODY COMPONENTS

Školitel: Mgr. Lukáš Čajánek, Ph.D.

D5. Patočková Lucie

Katedra optometrie a ortoptiky

VYŠETŘENÍ BARVOCITU V ČASNÉ DETEKCI ONEMOCNĚNÍ ŽLUTÉ SKVRNY

Školitel: Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.

D6. Štark Tibor

Farmakologický ústav

**EARLY PHARMACOLOGICAL INTERVENTION IN THE ENDOCANNABINOID
SIGNALING PREVENTS MOLECULAR AND BEHAVIORAL CHANGES
IN NEURODEVELOPMENTAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA**

Školitel: Dr. Vincenzo Micale, Ph.D.

**ABSTRAKTY
SVK 2017**

1. TEORETICKÁ A PREKLINICKÁ SEKCE

IDENTIFIKACE VISKOELASTICKÝCH VLASTNOSTÍ ARTÉRIÍ METODOU VIBRAČNÍ FOTOPLETYSMOGRAFIE

Petr Nejedlý

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií VUT

Školitelé: Mgr. Jana Svačinová, Ph.D., Ing. Jiří Moudr

Klíčová slova: arteriální compliance, vibrační fotopletysmografie, indukovaná ischemie končetiny

Úvod:

Hodnocení compliance (tj. schopnosti artérií zvětšit svůj průřez při změně tlaku) malých artérií je v současné době opomíjeným parametrem, ačkoliv výzkumy dokazují, že její snížení je signifikantním faktorem přispívajícím k hodnotě kardiovaskulárního rizika. Patofyziologické změny arteriální compliance přispívají k endoteliální dysfunkci, atherogenezi, hypertenzi a nárůstu srdečního afterloadu. Měření arteriální compliance může tedy přinášet značný klinický význam. Práce se zabývá neinvazivní metodou vibrační fotopletysmografie, která umožňuje odhadovat nelineární viskoelastické vlastnosti arteriální stěny. Současně si práce klade za cíl ověřit citlivost metody na skupině dobrovolníků pomocí dočasné indukované ischemie končetiny.

Metody:

Experimentální část práce se zabývá stanovením fyziologických parametrů arteriální compliance na skupině zdravých dobrovolníků (7 mužů a 11 žen s průměrným věkem 21 let) metodou vibrační fotopletysmografie. V druhé části experimentu byl simulován vliv ischemie na arteriální compliance, kdy je ischemie navozena pomocí nafouknutí pažní manžety nad systolický tlak na 10 minut a následně je experiment opakován. Cílem experimentu je určit hodnotu statické compliance za fyziologických a ischemických podmínek pomocí matematického modelu a statisticky interpretovat její vlastnosti.

Vibrační fotopletysmografie je neinvazivní metoda, umožňující hodnotit vlastnosti arteriální stěny. Základem metody je měření kontinuálního krevního tlaku a objemu krve obsaženého v arterii (měřící manžeta fotopletysmografu je nasazená na prst horní končetiny pacienta). Arteriální objem krve pod manžetou fotopletysmografu je určen na principu absorpce infračerveného záření v prstu a následně detekci prošlého záření fotoelektrickým detektorem. V měřeném prstu jsou indukovány malé změny objemu pomocí externě aplikovaných vibračních měřících manžet. Z měřených tlakově objemových závislostí je možné následně určit hodnotu arteriální compliance.

Výsledky:

Experimentálními měřeními byly identifikovány tlakově-objemové závislosti malých prstových artérií. Předpokládaná hypotéza, že ischemie horní končetiny povede k vazodilataci způsobené metabolickou autoregulací a tedy i ke změně arteriální compliance, byla na statistickém souboru potvrzena. V důsledku ischemie končetiny došlo k signifikantnímu poklesu compliance prstových artérií ($p = 0,0098$). Vysvětlující hypotézou poklesu compliance může být fakt, kdy při ischemii jsou artérie zcela dilatovány a nadále už nemají schopnost měnit svůj objem při změně tlaku.

Závěr:

Výzkumem bylo potvrzeno, že metoda měření arteriální compliance pomocí vibrační fotoplety-smografie je dostatečně citlivá a dokáže rozpoznat změny arteriální compliance při indukované ischemii končetiny. Popsaná metoda je tedy schopná odhalit změnu vlastností stěny prstové arterie vyvolané metabolickou autoregulací cévního tonu. Po vyrovnání se s technickými problémy měření může popsaná metoda vyšetření arteriální compliance napomoci v diagnostice poškození cévní stěny malých arterií.

Poděkování:

Práce byla podpořena grantem MUNI/A/1355/2016.

PROINFLAMMATORY TNF ALPHA -238 A/G POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

Sigríd Stepperud, Valteri Damski

Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelé: prof. MUDr. Anna Vašková, CSc., prof. MUDr. Lenka Špinarová, Ph.D., FESC

Klíčová slova: *Chronic heart failure, TNF α polymorphism, HDL, Digoxin, Per oral antidiabetic drugs*

Background:

The role of TNF α polymorphisms in chronic heart failure has been shown in multiple studies. However, the relation between genotype and received treatment (phenotype) has, as far as we have detected, not yet been established

Aim:

The objective of this study was to investigate the role of TNF α -238 A/G polymorphism in chronic heart failure, as well as the association between genotype and received treatment.

Methods:

The case-control study included 270 patients with chronic heart failure (213 men, 57 women) and 227 healthy controls (116 men, 111 women). DNA was isolated from peripheral blood samples with proteinase K. Each PCR reaction contained 2 μ l of DNA, 0,08 μ l of Taq polymerase, 0,3 μ l of dNTP, 0,8 μ l of both ADAM2 (CAAAGGAGAAGCTGAGAAGATGA) and ADAM3 (GCCAACAACCTGCCTTATATGTC), 1,5 μ l of 25mM MgCl₂, 1,5 μ l of 10 times concentrated buffer and 7,02 μ l of water for PCR. The PCR conditions were one cycle of 4 minutes in 96°C, followed by 30 cycles of 15 seconds in 96°C, 20 seconds in 59,8°C and 20 seconds in 72°C and finally one round in 72°C for 7 minutes and in 10°C for 5 minutes. The restriction analysis was done by 2 units of HpaII in 37°C for 12 hours, cleaving the 190bp long PCR product into fragments, which were visualized on 3% agarose gel. The AG genotype gives rise to fragments of 190bp, 169bp and 21bp, GG to 169bp and 21bp and AA to 190bp.

Results:

There were no statistically significant differences between frequencies of alleles or genotypes between patients and controls. However, there was a statistically significant difference between genotype and received digoxin treatment [odds ratio (OR) 2.184, p=0.04 (according Fisher's exact test), sensitivity 0.500, specificity 0.686, power test 0.444], as well as between genotype and received hypolipidemic treatment [OR 2.293, p=0.04 (according Fisher's exact test), sensitivity 0.679,

specificity 0.521, power test 0.393]. There was also a statistically significant difference between genotypes and levels of HDL in blood according to Mann-Whitney U Test ($p=0.02$).

Conclusion:

Proinflammatory TNF α -238 A/G polymorphisms influence the clinical characteristics determining pharmacological treatment in patients with chronic heart failure.

VLIV MASTNÝCH KYSELIN NA HOJENÍ RAN U POTKANŮ

Daniela Charwátová, Marie Nováková, Tibor Stračina, Petr Babula, Alica Hokynková

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

Klíčová slova: mastné kyseliny, hojení ran, zánět

Úvod:

Hojení je klíčový proces v regeneraci a reparaci poškozených tkání a setkáváme se s ním v lékařské praxi denně. Snížení komplikací a urychlení hojení ran je tedy žádoucím jevem v rámci rekonvalescence pacientů. V minulosti se několik studií věnovalo hledání vztahu mezi výživovými složkami potravy a hojením, hlavně vlivu mastných kyselin (MK). Je známo, že působky vznikající v organismu z MK řady n-3 mají protizánětlivý vliv, působky řady n-6 fungují naopak prozánětlivě. Cílem experimentu bylo studovat účinek směsí MK na proces hojení kožní rány u laboratorního potkana. Testované směsi obsahovaly různé poměry MK řady n-3 a n-6. Snahou bylo najít korelaci mezi poměry MK, hojením ran a indikátory zánětu.

Metody:

Potkani kmene Wistar ($n=30$, samci, $160,4 \pm 12,64$ g) byli náhodně rozděleni do 3 skupin ($n=10$): kontrola - K, experimentální skupiny - E, F. Po týdenním handlingu byla aplikována orogastrickou sondou směs MK (0,2g/kg) skupinám E a F a skupině K roztok NaCl o odpovídajícím objemu, a to až do ukončení pokusu. 15. den byla v hluboké i.p. anestezii (ketamin/xylazin) provedena na zádech kruhová excize kůže a ponechána k zahojení p.s.i.

Analýza velikosti rány byla provedena nekontaktně metodou digitální planimetrie. Rána byla každý den vyfotografována tabletem, provedena kalibrace, vnitřní okraj rány obtažen stylusem a dopočítán povrch rány (cm^2). Fotografování probíhalo vždy ve stejnou dobu ode dne operace do konce experimentu. Ze získaných hodnot bylo vypočteno zmenšení rány (%).

Poslední den experimentu byl v hluboké anestezii proveden odběr krve intrakardiální punkcí a vzorků rány, jater, sleziny a srdce.

Z plné krve byly stanoveny hematologické parametry (přístroj Mythic 18), z plazmy biochemické parametry spojené s oxidativním stresem (Cytation 3), 9-HNE (metodou HPLC) a spektra MK pomocí plynové chromatografie.

Vzorky tkání byly nakrájeny, zality kryomédiem a skladovány v -80 °C do dalšího zpracování. Vzorky rány byly zpracovány elektronovou mikroskopií a na fluorescenčním mikroskopu byly studovány parametry spojené s oxidativním stresem.

Dále byly porovnány hmotnostní přírůstky zvířat během experimentu.

Výsledky:

Hmotnost zvířat se mezi skupinami nelišila, potkani přibírali v souladu s růstovou křivkou pro kmen Wistar.

Největší průměrné zmenšení rány bylo zaznamenáno u skupiny K (o 57,9 %), nejmenší naopak u skupiny E (o 32 %), u skupiny F bylo zmenšení o 46,3 %.

Červený a bílý obraz krevní a počet trombocytů se mezi jednotlivými skupinami nelišil.

Biochemická analýza antioxidantních parametrů ukázala signifikantně snížené množství peroxidu vodíku a také poměru dusičnany/dusitany u skupin ovlivněných směsí MK, s nejnižšími hodnotami u obou parametrů ve skupině F. Produkce reaktivních forem dusíku a dusitanů byla signifikantně zvýšena pod vlivem směsí MK, opět s nejvyššími hodnotami ve skupině F. Reaktivní formy kyslíku, celková antioxidantní kapacita a produkce dusičnanů nebyly aplikací MK ovlivněny. Vyšetření antioxidantních parametrů pomocí fluorescenční mikroskopie potvrdilo výsledky získané analýzou krevní plazmy.

Závěr:

Testované směsi polynenasycených MK s různým poměrem n-3 a n-6 neměly v krátkodobém pokusu vliv na hmotnostní přírůstek zvířat a neurychlily ani hojení kožní rány. Jejich vliv na antioxidantní parametry krevní plazmy je nejednotný, což odpovídá faktu, že část MK v testovaných směsích může působit prozánětlivě a část naopak protizánětlivě. Nepotvrdily se tedy výsledky některých dřívějších studií, které prokázaly pozitivní vliv MK na rychlost hojení rány. Je nutné provést další experimenty, jejichž výsledky umožní detailnější vzhled do problematiky ovlivnění hojení kožní rány určitými skupinami MK.

Poděkování:

Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu MUNI/A/1355/2016 Kardiovaskulární systém očima molekulární fyziologie.

ANALÝZA PROTINÁDOROVÉHO ÚČINKU NOVÝCH POLYMETHINIOVÝCH SOLÍ ZA VYUŽITÍ CRISPR GENOME-WIDE SCREENING

Martin Štěrba

Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity

Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav

Školitel: MUDr. Petr Müller, Ph.D.

Klíčová slova: cílená léčba, TBMS-47, metabolický obrat, mitofagie, CRISPR-Cas9

Úvod:

Cílená léčba je jedním z nejslibnějších terapeutických přístupů v onkologii posledních let. Je založena na detailním poznání molekulárních mechanismů jak nádorové buňky, tak působící látky. Cílem této práce bylo popsat mechanismy protinádorového působení nově syntetizovaných polymethiniových solí s konjugovaným quinoxalinem. Tyto látky vykazují silnou fluorescenci a selektivní kumulaci v mitochondriích nádorových buněk. Přes prokázaný protinádorový efekt v preklinických testech, je přesný mechanismus působení těchto látek, 2) analýzu jejich účinku na mitochondrie, 3) nalezení genů určujících citlivost k těmto látkám pomocí CRISPR genome-wide screening.

Metody:

Pro analýzu cytotoxického účinku byla využita polymethiniová sloučenina s konjugovaným quinoxalinem nesoucí označení TBMS-47. Tato látka byla testována na stabilizované tkáňové kultuře maligního melanomu ARN8. Účinky TBMS-47 na buněčný metabolismus byly testovány

v závislosti na koncentraci glukózy a přítomnosti pyruvátu pomocí „resazurin viability assay“. Pomocí gelové elektroforézy SDS PAGE a western blottingu byla stanovena hladina a fosforylace proteinů hrajících důležitou roli v regulaci bazálního metabolismu a autofagie. Pro stanovení lokalizace TBMS-47 byla využita fluorescenční mikroskopie a „live cell imaging“. Pro sledování mitochondrií a jejich změn po působení TBMS-47 byla využita buněčná line ARN8, do které byl pomocí lentivirového vektoru vnesen mitochondriální protein SSBP1 fúzovaný se zeleným fluorescenčním proteinem EmGFP. Pro hledání genů ovlivňujících protinádorové působení TBMS-47 byl využit celogenomový screening založený na lentivirových knihovnách sgRNA a CRISPR/CAS9. Pro screening genů navozujících rezistenci k TBMS-47 byla využita knihovna sgRNA navozující aktivaci transkripce jednotlivých genů CRISPR/Cas9 Synergistic Activation Mediator (SAM). Pro screening genů zodpovědných za senzitivitu vůči TBMS-47 byla využita knihovna sgRNA inaktivující jednotlivé geny, Genome-Scale CRISPR Knock-Out (GeCKO).

Výsledky:

Pomocí live cell imaging jsme ověřili kumulaci látky v mitochondriích, které mění svou morfologii a centralizují se do perinukleární oblasti, což ukazuje na možné navození mitofagie. Důležitým zjištěním byla detekce fotodynamického efektu. Působení světla o vlnové délce 400–500 nm vyvolalo okamžitou destrukci mitochondrií a buněčnou smrt i při řádově nižších koncentracích TBMS-47. Efekt byl následně ověřen a kvantifikován testy viability. Fluorescenční mikroskopii jsme prokázali, že k detekci TBMS-47 dochází u buněk kultivovaných ve 37°C a nikoliv u buněk vystavených teplotě 4°C. Tyto výsledky zdůrazňují důležitost aktivního metabolismu pro transport TBMS-47. Vliv basálního metabolismu na cytotoxicitu TBMS-47 byl rovněž potvrzen při použití různé hladiny glukózy v médiu. Buňky ovlivněné TBMS-47 ve zvýšené míře využívají glukózu, což naznačuje, že zvýšení anaerobní glykolýzy může kompenzovat mitochondriální poškození. Hypotézu potvrzuje i analýza proteinů, kdy po působení TBMS-47 došlo k aktivaci AMPK kinázy a transkripčního faktoru ATF4. Navození autofagie a mitofagie bylo ověřeno detekcí aktivní formy proteinu LC3. Celogenomový screening ukázal, že aktivace genu pro pyruvát dehydrogenázu (PDHA2) zvyšuje rezistenci vůči TBMS-47, což zdůrazňuje význam regulace anaerobní glykolýzy pro kompenzaci účinku látky. Mezi geny, jejichž inaktivace vede k navození rezistence, byly identifikovány mitochondriální proteiny (TOMM70) a geny zodpovědné za regulaci mitofagie (PHB2).

Závěr:

Z výsledků vyplývá, že kumulace TBMS-47 v mitochondriích nádorových buněk je závislá na jejich zvýšené metabolické aktivitě. Stanovení zvýšeného bazálního metabolismu a utilizace glukózy u nádorů by tak mohlo v budoucnu sloužit jako prediktivní marker určující odpověď na léčbu těmito látkami. Dalším důležitým zjištěním z hlediska terapeutického využití TBMS-47 byla detekce jeho fototoxického působení, což by mohlo pomoci k ještě většímu zacílení na nádorovou tkáň. Identifikace genů zodpovědných za rezistenci nebo senzitivitu k těmto látkám pak může umožnit efektivní plánování klinických zkoušek a výběr nádorových onemocnění na základě genomového profilování.

Poděkování:

Práce byla finančně podpořena v rámci programu P-Pool.

BIOCHEMICAL CHANGES DURING SLEEP DEPRIVATION

Elisabetta Muttoni

Biochemický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity

Školitelka: Mgr. Milena Matejovičová, Ph.D.

Klíčová slova: Cortisol, sleep deprivation, physical health

Background:

The scope of this research is to analyze how cortisol levels change in saliva in medical students in examination period due to sleep deprivation. Saliva was chosen as the parameter because of the possibility of non-invasive sample collection and because cortisol in saliva can change as a consequence of different physiological and non-physiological states of the organism.

Methods:

Fourteen medical students were chosen for this experiment. These students vary in gender, age and study year (ranging from first to fourth). Saliva samples were collected during the spring time and during the summer time just before exam period. 10 ml of saliva were collected from each student. 1 ml of saliva (nearly full Eppendorf tube) was taken for storage from each sample, it was marked and then it was frozen at -80 C. The rest of the sample was stored in refrigerator at -4°C until analysis. Analysis of refrigerated samples was performed within the week from the collection. The samples underwent purification by SPE chromatography and measurement of cortisol was done by mass spectrometry.

Mass Spectrometry was performed using microTOF-QII instrument (Bruker), sample volume was 10 ul and APCI in positive mode was used. The data was processed using quantification software QuantAnalysis TM (Bruker).

Results:

The samples collected in the spring time were not viable due to obstacles in the isolation and preparation of the cortisol. The addition of methanol to the samples with the scope of isolating the cortisol could have in fact depleted it. The isolation and preparation of the cortisol in the summer samples was done differently to avoid cortisol depletion. This was done by the addition of stock solution of ZnSO₄ necessary for the extraction of proteins. The level of cortisol in the summer samples was also at the limit of detection but the spectrometry device was able to detect it. Because it was not possible to compare spring and summer cortisol levels as initially planned we decided to use descriptive statistics that allowed us to identify any differences in cortisol levels between the students. This was done by obtaining the mean cortisol level for each student and comparing the averages using descriptive statistics. This study found a significant increase in cortisol in students that slept less than six hours (having an average cortisol of 3.10 ng/ml) compared to the students that slept an abundance of eight (<2.50ng/ml). Furthermore a positive correlation was revealed between students stress level and level of cortisol. Students with higher the stress level had a cortisol average of 3.25ng/ml compared to <3.00ng/ml in those with least stress. Lastly males had a higher cortisol (3.25ng/ml) compared to females (2.60ng/ml).

Conclusion:

Sleep deprivation plays a crucial role in cortisol disturbance. Our study revealed the less a student sleeps the higher their cortisol level. Students sleeping less than six hours displayed the highest

level of cortisol while those who slept more than eight showed the lowest level. Alongside that, students with higher stress had higher cortisol.

Sleep deprivation not only affects cognitive functions but also physical health. Sleep deprivation has been linked to cortisol elevation, development of metabolic disorders such as insulin resistance, type II diabetes and obesity and lowering of fasting blood leptin.

TVORBA BIOFILMU JAKO FAKTOR VIRULENCE U PROPIONIBACTERIUM ACNES

Pavína Muchová

Mikrobiologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: *Propionibacterium acnes, biofilm, virulence*

Úvod:

Propionibacterium acnes je běžným komenzálem kůže. Všeobecně je tato bakterie známá kvůli svému podílu na tvorbě akné. Mimo jiné se však ukazuje jako nezanedbatelný původce systémových infekcí po lékařské intervenci (záněty chlopních náhrad, infekce po kloubních operacích a infekty jiných implantovaných materiálů). Podstatným faktorem virulence kmenů *Propionibacterium acnes* je schopnost tvořit biofilm. Tato vlastnost znamená pro bakterie výhodu, pevná adhezivní vrstva lépe snáší mechanické vlivy a rovněž biofilm lépe odolává antibiotické terapii.

Metody:

Testováno 48 kmenů od pacientů s invazivní infekcí *P. acnes* izolovaných z klinického materiálu na Mikrobiologickém ústavu Fakultní nemocnice u sv. Anny a stejný počet kmenů izolovaných z kožních stěrů zdravých dobrovolníků. Tvorba biofilmu byla zjišťována pomocí Christensenovy metody. Ze tří až pětidenních anaerobní kultivací na krevním agaru byly připraveny standardní suspenze o hustotě 1,5-10⁶ bakterií v ml, v mozko-srdcovém bujONU s přísadou pěti procent glukózy. Následně bylo 200 μ l suspenze přepipetováno do jednotlivých důlků 96 jamkové mikrotitrační desičky pro tkáňové kultury (Gama group) a inkubováno po dobu 5 dní za anaerobních podmínek. Po ukončení kultivace byla každá jamka promyta a obarvena 160 μ l krystalové violeti. Po promytí bylo ulpělé barvivo eluováno 33% kyselinou octovou a absorbance eluátu byla měřena při 595 nm. Rovněž byla sledována metabolická aktivita biofilmu pomocí redoxního indikátoru Resazurinu (Sigma Aldrich). Do propláchnutých jamek bylo napipetováno 200 μ l roztoku resazurinu o koncentraci 5 μ g/l. Následovaly 3 hodiny inkubace při 37°C. Měřila se fluorescence při excitační vlnové délce 530 nm a emisní vlnové délce o 590 nm.

Výsledky:

Tvorba biofilmu se prokázala u klinických izolátů (12/16), zatímco u vzorků u zdravých dobrovolníků se jednalo pouze o občasný nález (0/13). Mimo jiné, vzorky klinické mají pomalejší růst, rovněž lze vysledovat rozdílnou rychlost vzniku biofilmu. U kmenů izolovaných z klinického materiálu je předpoklad, že jsou původcem onemocnění, navíc se potvrdilo, že jsou biofilm formující. Tento výsledek podporuje hypotézu, že jsou patogenní. Dále se na krevním agaru vysledoval rozdíl v hemolyzačních vlastnostech jednotlivých vzorků, u vzorků od zdravých dobrovolníků převládala intenzivní hemolýza beta, zatímco u klinických izolátů se objevuje spíše hemolýza alfa nebo není žádná přítomná. Rozdíly v hemolýzách budou blíže zkoumány v dalším výzkumu.

Záver:

Kmeny izolované z klinického materiálu majú tendenciu k tvorbe biofilmu, čo sa u izolátov od zdravých dobrovoľníkov nepotvrdilo. Kmeny od zdravých dobrovoľníkov vykazujú na krevnom agaru beta hemolýzu, zatiaľ čo kmeny patogénnej hemolýzy alfa alebo gama. Tento výskum teda dokázal rozdielne vlastnosti patogénnych a kontrolných kmenov *Propionibacterium acnes* a tvorbu biofilmu ako virulentného faktora.

PodĎakovanie:

Práca bola podporená projektom MUNI/A/0955/2016 a v rámci programu P-Pool.

VPLYV OXIDU DUSNATÉHO NA KARDIOTOXICITU TYROZÍNKINÁZOVÉHO INHIBÍTORU NILOTINIBU

Samuel Hricko, Denis Lekeš, Michal Hendrych, Oľga Križanová, Petr Babula, Barbora Chovancová

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školiteľ: doc. PharmDr. Petr Babula, Ph.D.

Kľúčové slova: H9c2 bunková línia; kardiotoxicita; L-NAME; nilotinib; oxid dusnatý

Úvod:

Inhibitory tyrozínkináz (TKi) sa ako vysoko selektívne a účinné farmaká tešia veľkej obľube v modernej terapii mnohých onkologických ochorení, napr. chronickej myeloidnej leukémie. S postupom času sa však odhaľujú ich chronické nežiaduce vedľajšie účinky, hlavne kardiovaskulárna toxicita. U časti pacientov sa toto prejaví poruchou myokardiálnej funkcie vedúcou až k srdečnému zlyhaniu. V predchádzajúcich experimentoch bol odhalený význam ROS a ER stresu v kardiotoxicite TKi nilotinibu (Lekeš et al. 2016). Táto práca je zameraná na význam oxidu dusnatého ako možného kontribútora patogenézy kardiálnej toxicity v terapii nilotinibom a jeho ovplyvnenie inhibítorom syntézy NO, N-nitroarginín metylesterom (L-NAME).

Metody:

Experimenty boli vykonané na bunkovej línii H9c2 (potkanie kardiomyoblasty), pre porovnanie bola použitá bunková línia DLD1 (karcinóm hrubého čreva). Efekt inhibície syntézy NO na cytotoxicitu nilotinibu v koncentrácii 5 $\mu\text{mol/l}$ bol skúmaný co-treatmentom s L-NAME v koncentračnej rade (10–1000 $\mu\text{mol/l}$). Bunky boli inkubované 24 hodín, následne premyté a analyzované. Na vizualizáciu bunčných dejov boli použité fluorescenčné farbenia – fluoresceín diacetát/propidium jodid (viabilita), akridíniová oranž a dansylkadaverín (autofágia, resp. autofagozomy), DASPEI (mitochondriálny potenciál), Thioflavin T (ER stres), Oil Red (intracelulárne lipidové substancie). Vizualizované boli taktiež vybrané reaktívne formy kyslíku/dusíku. Pri farbeniach, ktoré vyžadovali fixáciu, bola na tento účel použitá zmes 4% paraformaldehydu a 1% glutaraldehydu v PBS. Všetky fluorescenčné farbivá boli zakúpené u ThermoFisher Scientific, USA, ostatné chemikálie u Sigma Aldrich, USA. Na sledovanie dynamiky autofágie bol aplikovaný komerčný kit Premo Autophagy Tandem Sensor RFP-GFP-LC3B (ThermoFisher Scientific, USA). Na kvantitatívnu analýzu viability bola použitá štandardná resazurínová esej. V nadväznosti na získané dáta bola ďalej hodnotená miera expresie génov spojených s ER stresom (*ATF4*, *CHOP*, *XBPI1*). Na porovnanie vplyvu kombinovaných treatmentov nilotinib-L-NAME na nenádorovú a nádorovú líniu bola použitá nádorová bunková línia DLD1.

Výsledky:

Aplikácia nilotinibu v koncentračnej rade viedla u H9c2 buniek k postupnému zníženiu viability, nárastu miery oxidatívneho stresu, ER stresu, a následne ku zvýšenej miere apoptózy. Na overenie významu NO v cytotoxicite nilotinibu bol použitý L-NAME, ktorý v koncentračnej rade 0-1000 $\mu\text{mol/l}$ nevykázal prakticky žiadnu cytotoxicitu na danej bunkovej línii. Spoločná aplikácia nilotinib (5 $\mu\text{mol/l}$)-L-NAME viedla k signifikantnému zníženiu cytotoxicity nilotinibu, súčasne taktiež k zníženiu produkcie ROS, zníženiu ER stresu a následne ku zníženiu percentuálneho zastúpenia autofagických a apoptotických buniek v porovnaní s aplikáciou samotného nilotinibu. Rovnako aj zmeny mitochondriálneho potenciálu boli v kombinácii nilotinib-L-NAME len zanedbateľné. V súlade s týmito výsledkami sú výsledky exprese génov spojených s ER stresom – *ATF4*, *CHOP* a *XBPI*. Aplikácia samotného nilotinibu viedla k signifikantnému zvýšeniu exprese týchto génov v porovnaní s kontrolou, v prípade kombinácie nilotinib-L-NAME bola ich expresia v porovnaní so samotným nilotinibom znížená (napr. relatívna expresia pre *CHOP* - kontrola - $1 \pm 0,09$, nilotinib - $1,9 \pm 0,07$, nilotinib-L-NAME (100 $\mu\text{mol/l}$) - $1,34 \pm 0,24$, nilotinib-L-NAME (1000 $\mu\text{mol/l}$) - $0,98 \pm 0,27$). Prekvapivé sú výsledky získané na nádorovej línii DLD1, kde spoločná aplikácia nilotinib-L-NAME vykázala vyššiu toxicitu a mieru indukcie ER stresu v porovnaní so samotným nilotinibom.

Záver:

Získané výsledky naznačujú význam NO a jeho tvorby v toxicite nilotinibu demonštrovanej na bunkovej línii H9c2. Vzhľadom na význam NO v rade fyziologických (spriahnutie excitácie s kontrakciou, regulácia tonu myokardu, funkcia endotelu) a patofyziologických procesov, pri ktorých dochádza ku zmenám v produkcii NO (myokardiálna dysfunkcia a srdččné zlyhanie, endoteliálna dysfunkcia), je žiadúce tento parameter ďalej skúmať, a na základe podrobnejších štúdií prípadne vyčleniť tie skupiny pacientov, u ktorých by kardiotoxicita (ale tiež vaskulotoxicita) nilotinibu mohli byť vyššie. Na základe získaných výsledkov možno taktiež poukázať na nutnosť ďalej skúmať súčasné podávanie nilotinibu a liečiv, ktoré ovplyvňujú tvorbu NO.

PodĎakování:

Práce byla finančně podpořena v rámci programu P-Pool.

EPIGENETICKÉ ZMENY FYZIOLOGICKÝCH A ARTROTICKÝCH OSTEOLASTOV VYVOLANÉ PRÍTOMNOSŤOU NITI ZLATÍN A ZÁPALU.

Michal Štefančík

Ústav patologickej fyziologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školiteľka: doc. RNDr. Monika Pávková Goldbergová, Ph.D.

Kľúčová slova: miRNA, NiTi, osteoblast

Úvod:

MicroRNA sú krátke nekódujúce RNA, ktoré sa podieľajú na regulácií génovej exprese. Regulácia prebieha prostredníctvom naviazania sa miRNA na komplementárny úsek mRNA, čo spôsobí represiu translácie alebo degradáciu danej mRNA. Cieľom tejto práce je stanovenie expresného profilu vybraných miRNA u fyziologických a artrotických osteoblastov a ich vzájomné porovnanie v závislosti na prítomnosti zliatin NiTi používaných v kĺboch náhradách.

Sledované miRNA sa podieľajú na riadení regenerácie kostného tkaniva, konkrétne miR-124 a miR-29 regulujú expresiu WNT proteínu, regulujúceho diferenciáciu MSC na osteoblasty, a miR-133, ktorá reguluje Runx2 riadenú osteogenézu.

Metody:

Fyziologické a artrotické osteoblasty boli pestované v prítomnosti zliatín NiTi s rôznym koncentračným pomerom Ni a Ti a rôznou povrchovou úpravou za fyziologického stavu a za podmienok zápalu. Z takto pripravených buniek bola vyizolovaná RNA TRizolovou metódou; špecifická RNA bola následne prepísaná do cDNA pomocou hexamerových primerov. Takto pripravené vzorky boli použité na real-time PCR analýzu, kde boli stanovené ich expresné profily. Expresie miR-29, miR-124 a miR-133 boli normalizované voči dvom endogénnym kontrolám RNU6B a RNU44 a hodnotené metódou $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Výsledky:

Zvýšená expresia miR-124 bola detekovaná u vzoriek fyziologických osteoblastov v porovnaní s artrotickými osteoblastami ($R = 590$) za podmienok zápalu vyvolaného pomocou opakovanej aplikácie LPS (1000 ng/ml). V prípade odpovede na samotný kov a kombináciu kov a zápal boli expresie up-regulované u fyziologických osteoblastov v porovnaní s artrotickými osteoblastami až desať-násobne, a to ako pri podmienkach zápalu ($R = 30,91$), tak pri prítomnosti kovu ($R = 58,89$). V prípade expresie miR-133 boli zistené podobné expresné profily u oboch línii, a to v prípade samotného zápalu, prítomnosti kovu, tak pri kombinácii oboch podmienok.

Pri hodnotení expresie miR-29 bola detekovaná up-regulácia expresie vo vzorke fyziologických osteoblastov v porovnaní s artrotickými osteoblastami ($R = 7,41$) s prítomnosťou kovu za podmienok zápalu vyvolaného pomocou LPS (2000 ng/ml).

Záver:

Nami získané výsledky naznačujú, že expresia miR-124 je up-regulovaná u fyziologických osteoblastov jednak pri prítomnosti zápalu tak aj v prítomnosti kovu. Pokiaľ sú bunky vystavené oboj faktorom, ich účinok sa vzájomne nemultiplikuje. U artrotických osteoblastov sú nárasty expresie miR-124 rádovo nižšie. miR-29 je up-regulovaná za prítomnosti kovu a zápalu, no opäť iba u fyziologických osteoblastov. Pri našich meraniach neboli detekované zmeny expresie miR-133. Naše výsledky naznačujú, že zápal a prítomnosť kovu menia expresiu nami vybraných miRNA u fyziologických osteoblastov v porovnaní s artrotickými osteoblastami. Tie vykazujú výrazne nižšiu odpoveď na prítomnosť kovu alebo zápalu.

Podĕkování:

Práce byla finančně podpořena v rámci programu P-Pool.

CIEVNA PODDAJNOSŤ A ANTROPOMETRICKÉ PARAMETRE U DETÍ A DOSPIEVAJÚCICH Z BRNENSKÝCH ŠKÔL

Dominik Parížek

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školiteľka: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

Kľúčová slova: *cievna poddajnosť, deti, mládež, antropometrické parametre, aplanačná tonometria, rýchlosť pulzovej vlny*

Úvod:

Popri klasickom vyšetrení rizika vzniku kardiovaskulárnych ochorení pomocou ultrazvuku, tlaku krvi, EKG, CT sa v posledných rokoch dostáva do popredia vyšetrenie cievnej poddajnosti pomocou **aplanačnej tonometrie**. Táto metóda ma veľký potenciál v možnosti určiť pomerne jednoduchým ambulantným vyšetrením riziko srdcovocievnych problémov (rozvoj aterosklerózy, hypertenzie) už v subklinickom štádiu. Metóda je štandardizovaná pre dospelú populáciu, štandardy pre **deti a dospievajúcich** nie sú dostatočne definované. Za cieľ sme si vzali stanoviť ukazovatele hodnotiace cievnu poddajnosť, metódou aplanačnej tonometrie pre potreby vytvorenia štandardov pre mladšiu vekovú kategóriu a zhodnotiť vývoj antropometrických parametrov u detí zo škôl v Brne.

Metódy:

Do štúdie sme vybrali deti zo **4 škôl** aglomerácie mesta Brna (s rôznou polohou: základné školy - vidiecka Rajhrad [R], sídlisková Chalabalova [Ch], mestská Antonínská [A], stredná škola mestská - Jaselská [J]) v počte **81** s klinickým statusom **zdravý** bez uvedeného akéhokoľvek závažnejšieho ochorenia (chlapcov 42). Deti i dospievajúcich sme podrobili meraniu ukazovateľov cievnej poddajnosti: pulzovej vlny (**PWV** [m/s]) augmentačnému tlaku štandardizovanému na tepovú frekvenciu 75/min (**cAP75**), periférnemu a dopočítanému centrálnemu krvnému tlaku systolickému a diastolickému (**pSTK**, **pDTK**, **cSTK**, **CDTK**), tepovej frekvencii (**TF**) pomocou prístroja Sfygmocor (AtCor Medical, Austrálie). U každého z nich sme ďalej zaznamenali základne antropometrické ukazovatele (index telesnej hmotnosti **BMI** [kg/m²], pomer pas/boky **WHR**, % telesného tuku, kožnú riasu nad tricepsom a pod lopatkou). Pre pozorovanie jednotlivých závislostí sme použili štatistickú analýzu a to neparametrický Man-Whitneyho test (program STATISTICA 13 ENG).

Výsledky:

Získali sme základné hodnoty pre stanovenie cievnej poddajnosti v detskej populácii v nasledujúcich vekových kategóriách : 13,5±0,5 rokov (CH), 13,96±0,72 rokov (A), 14,6±0,5 rokov (R), 18,7±1,78 rokov (J). V spoločnej vekovej kategórii 13-15 rokov sme našli štatisticky významné rozdiely A-CH-R u **BMI**, **% tuku** (p<0,05), **kožných rias** (p<0,01), medzi A-CH i **WHR** (p<0,05). Rýchlosť pulzovej vlny (**PWV**) ani v jednom porovnaní nevykazovala signifikantný rozdiel (R vs A, 6,68±1,64 vs 6,81±1,5 m/s, p=ns; R vs Ch, 6,68±1,64 vs 7,05±0,7 m/s, p=ns; A vs Ch, 6,81±1,5 vs 7,05±0,7 m/s, p=ns). Zaznamenali sme vývojový trend vekovej závislosti u hodnôt **cAP75** (CH: -1,63±3.1 vs. A: -0,846±3,3 vs R: 0,001±1,9 vs J: 0,105±3,6 mmHg) . Medzi dievčatami (F) a chlapcami (M) sme vypožorovali štatisticky významnú hodnotu **zvýšeného periférneho systolického tlaku u M** (F vs M, 103.74±8.9 vs 113.18±10.7 mmHg, p<0.01), **percentuálneho tuku u F** (F vs M, 25.67±4.9 vs 18.80±5.6 %, p<0.01).

Závěr:

Získali sme základné hodnoty ukazovateľov cievnej poddajnosti pre štandardy vo vekovej kategórii 13–15 rokov a 18–19 rokov. Zachytili sme aj zmeny antropometrických ukazovateľov (vo vzťahu k veku i pohlaviu) odpovedajúce fyziologickému vývoju organizmu.

PodĎakování:

Podakovanie projektu špecifického výskumu Masarykovej univerzity MUNI/A/1355/2016.

NOVÉ NÍZKOMOLEKULÁRNÍ AKTIVÁTORY DRÁHY NÁDOROVÉHO SUPRESORU P53 A MECHANISMUS JEJICH ÚČINKU

**Monika Štětková, Georgios Valianatos, Barbora Valčíková, Kateřina Growková,
Amandine Verlande, Jitka Mlčochová, Lenka Radová, Michaela Vyhňáková, Ondřej Slabý**
Biologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Mgr. Stjepan Uldrijan, CSc.

Klíčová slova: melanom, fluorochinolony, enoxacin, p53, MdmX, Mdm2, alternativní sestřih, CDKi, ISX-9

Úvod:

Maligní melanom náleží do skupiny nádorů, v jejichž formování hraje zásadní roli inhibice p53 zvýšenou produkcí proteinu MdmX, která je způsobena změnou v alternativním sestřihu mRNA pro MdmX. Látky schopné cílit na MdmX tak mohou představovat atraktivní terapeutickou strategii.

Fluorochinolon enoxacin je nádorově specifický inhibitor buněčné proliferace, jenž je schopný ovlivnit biogenezi miRNA. Cílem této práce bylo testovat účinek enoxacinu na melanom a posoudit, zda jeho vliv na maturaci miRNA může přispět k normalizaci hladiny MdmX a aktivaci p53 v nádorových buňkách. Jako alternativní přístup vedoucí k aktivaci p53 byly testovány látky ze skupiny inhibitorů CDK (CDKi) a isoxazol-9 (ISX-9).

Metody:

V experimentech byly využity lidské buněčné linie melanomu A375, RVH-421, COLO-679 a Mel-Juso. Do buněk byl vnesen plasmidový konstrukt pGL4.38 kódující luciferázu pod kontrolou promotoru řízeného p53 a po působení enoxacinu a strukturně podobných látek ciprofloxacinu a ofloxacinu byla stanovena transkripční aktivita p53 měřením aktivity luciferázy. Viabilita buněk po ovlivnění testovanými látkami byla měřena průtokovou cytometrií jako procento PI pozitivních buněk. MTT testy pak poskytly informaci o buněčné proliferaci. Následovala Western blot analýza změn hladiny proteinů MdmX, Mdm2, p53, p21, γ H2A.X (fosfo-Ser-139), fosfo-p53 (Ser-15) a PCNA. Změny v alternativním sestřihu MdmX byly sledovány pomocí semikvantitativní PCR. Affymetrix GeneChip miRNA 3.0 array byla využita k analýze exprese miRNA.

Také po působení CDKi dinaciclibu a roscovitinu a jejich kombinací s ISX-9 proběhlo měření transkripční aktivity p53, viability buněk a změn hladiny výše zmíněných proteinů. Pro kvantifikaci synergie při aktivaci p53 byl v programu CompuSyn proveden výpočet CI dle Chou-Talalaye. Za účelem zjištění, zda má ISX-9 vliv na celkovou úroveň transkripce, byly připraveny buňky A375 nesoucí plasmidový konstrukt pGL4.50 pro stálou expresi luciferázy a byla stanovena luciferázová aktivita ve vzorcích ovlivněných koncentrační řadou ISX-9. V klonogenním testu jsme

sledovali schopnost buněk A375 proliferovat a tvořit kolonie po působení CDKi a ISX-9 samostatně a v kombinacích.

Výsledky:

Provedené experimenty prokázaly koncentračně závislý negativní efekt enoxacinu na proliferaci a viabilitu melanomových linií. Nádorové buňky se po působení enoxacinu a ciprofloxacinu byly schopny vrátit ke schématu alternativního sestřihu běžnému ve zdravých tkáních, došlo ke zvýšení poměru MdmX-S/MdmX-FL (zkrácený transkript bez exonu 6/kompletní transkript) a analýza pomocí Western blotu potvrdila, že došlo ke snížení hladin obou klíčových regulátorů p53 - MdmX i Mdm2. U flurochinolonu ofloxacinu, který dle dosavadních poznatků není schopen ovlivnit biogenezi miRNA, nebyly výše popsané změny pozorovány. Transkripční aktivita p53 se po přidavku enoxacinu (50 µg/ml) zvýšila přibližně pětinašobně, ofloxacin opět obdobný efekt v melanomových liniích nevykazoval. Analýza exprese miRNA ukázala, že působení enoxacinu zvyšuje mimo jiné expresi miR-3154 a miR-4459, které dle databáze miRTarBase 2016 cílí na lidský transkript MdmX. Měření transkripční aktivity p53 po ovlivnění dinaciclibem a roscovitinem v kombinaci s ISX-9 odhalilo silný synergistický účinek těchto látek (CI<0,5), podíl mrtvých buněk A375 po 24 hodinách však nepřesáhl 25% a nebyla zde zjištěna synergie. V klonogenním testu se naopak ukázala synergie, zejména v kombinaci ISX-9 s CDKi roscovitinem buňky výrazně ztrácely schopnost dalšího růstu a tvorby kolonií. Z výsledků analýzy pomocí Western blotu je zřejmé, že jak ISX-9, tak použité CDKi jsou látkami snižujícími množství MdmX v melanomových buňkách.

Závěr:

Námi získaná data naznačují, že enoxacin je díky své schopnosti indukovat produkci některých miRNA schopen přimět melanomové buňky k úpravě dysregulované exprese MdmX. Tento mechanismus může přispívat k jeho inhibičnímu účinku na růst buněk melanomu.

Inhibitory CDK roscovitin a dinaciclib v kombinaci s ISX-9 se ukázaly být výraznými aktivátory proteinu p53 v melanomových buněčných liniích. Mechanismus účinku a zejména podstata synergie CDKi a ISX-9 však zatím nejsou zcela zřejmé. Zdá se, že ISX-9 je dosud neobjasněným způsobem schopen ovlivňovat transkripční profil buňky, a přispívat tak k výraznější aktivaci p53 v nádorových buňkách. Pro potvrzení této hypotézy je však nezbytný další výzkum.

Poděkování:

Tato práce vznikla za podpory GAČR (grant GA14-12166S) a v rámci programu P-Pool.

ZMĚNY DRASLÍKOVÉHO PROUDU CITLIVÉHO NA ACETYLCHOLIN ZPŮSOBENÉ NIKOTINEM: MAJÍ ROLI V PATOGENEZI FIBRILACE SÍNÍ VZNIKAJÍCÍ V SOUVISLOSTI S KOUŘENÍM?

**Roman Kula, Adam Vejmělek, Peter Matějovič, Olga Švecová, Milena Šimurdová,
Jiří Šimurda, Markéta Bébarová**

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.

Klíčová slova: nikotin, draslíkový proud, fibrilace síní

Úvod:

Fibrilace síní (FS) je nejčastější arytmií vznikající ve spojitosti s kouřením. Jejímu vzniku obvykle předchází kumulativní dávka nikotinu. Předpokládá se tedy, že patogeneze FS souvisí s přímým

vlivem nikotinu na elektrofyzilogii síňového myokardu. V patogenezi FS hrají významnou roli změny inward rectifier draslíkového proudu citlivého na acetylcholin ($I_{K(Ach)}$). Proto jsme se rozhodli prostudovat změny obou složek tohoto proudu, tj. konstitutivně aktivní složky ($I_{K(Ach),CONST}$) a acetylcholinem aktivované složky ($I_{K(Ach),ACH}$), v přítomnosti nikotinu v klinicky relevantních koncentracích.

Metody:

Měření byla provedena pomocí metody whole cell patch clamp (v režimu vnuceného napětí na -50 a -110 mV) na enzymaticky izolovaných síňových buňkách potkana kmene Wistar. Nikotin byl aplikován v koncentracích 4, 40 a 400 nM. $I_{K(Ach),CONST}$ byl měřen jako proud citlivý na specifický inhibitor $I_{K(Ach)}$ kanálů tertiapin-Q (300 nM). Efekt 40 nM nikotinu na $I_{K(Ach),CONST}$ byl rovněž stanovován v přítomnosti inhibitoru muskarinových receptorů atropinu (1 μ M). $I_{K(Ach),ACH}$ byl měřen jako proud aktivovaný 3 μ M acetylcholinem. Jelikož $I_{K(Ach),ACH}$ podléhá desenzitizaci, byla stanovena jeho velikost jak na začátku aplikace acetylcholinu, tak v ustáleném stavu.

Výsledky:

$I_{K(Ach),CONST}$ byl po aplikaci nikotinu v koncentracích 40 a 400 nM významně navýšen při obou napětích. Změny při -50 a -110 mV se od sebe významně nelišily. Podobný efekt vykazoval 40 nM nikotin i v přítomnosti atropinu. $I_{K(Ach),ACH}$ měřený v ustáleném stavu vykazoval pod vlivem 40 nM nikotinu duální charakter: u části buněk nastala inhibice proudu, u jiných aktivace proudu. Inhibice nastávala u buněk s velkým proudem v kontrolních podmínkách a aktivace u buněk s malým proudem v kontrolních podmínkách. Po aplikaci 400 nM nikotinu došlo převážně k inhibici tohoto proudu. Efekt nikotinu v obou koncentracích se významně lišil při -50 a -110 mV, při -110 mV převládala inhibice. Obdobné změny nastaly i u proudu na začátku aplikace acetylcholinu. Po aplikaci 4 nM nikotinu byly změny $I_{K(Ach),CONST}$ i $I_{K(Ach),ACH}$ zanedbatelné.

Závěr:

Nikotin významně aktivoval $I_{K(Ach),CONST}$ nejvýrazněji v koncentraci 40 nM. Analogický efekt byl pozorován i v přítomnosti atropinu, takže pozorované změny pravděpodobně nejsou zprostředkovány interakcí nikotinu s muskarinovými receptory. V případě $I_{K(Ach),ACH}$ vykazoval nikotin duální vliv včetně korelace s velikostí proudu v kontrolních podmínkách, což jsme rovněž pozorovali v našich předchozích pokusech s etanolem. Na základě získaných výsledků lze uzavřít, že vliv nikotinu na obě složky $I_{K(Ach)}$ by mohl vést k proarytmogenním změnám elektrofyzilogických vlastností síňového myokardu a tedy přispívat k patogenezi FS u kuřáků.

Poděkování:

Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu Masarykovy univerzity MUNI/A/1365/2015 a v rámci programu P-Pool.

AKTIVÁCIA STAT3 FOSFORYLÁCIOU NA POZÍCIÍ S727 V NEURÓNOCH LUMBÁLNYCH AJ CERVIKÁLNYCH SPINÁLNYCH GANGLIÍ POTKANOV PO POŠKODENÍ NERVUS ISCHIADICUS

Viktória Kokošová

Anatomický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: prof. RNDr. Petr Dubový, CSc.

Klíčová slova: pSTAT3-S727, spinálne gangliá, regeneračný program neurónov

Úvod:

Pre úspešnú regeneráciu poškodených axónov je nutné naštartovanie regeneračného programu neurónu, ktorý zahŕňa zmenu v syntéze a v axonálnom transporte mnohých proteínov. IL-6 je cytokín, ktorý sa viaže na receptorový komplex IL-6R/gp130. Aktivované Jak2 kinázy fosforylujú jeho cytoplazmatickú časť, kam sa napojí transkripčný faktor STAT3. STAT3 je tu fosforylovaný na tyrozíne 705 a následne je translokovaný do jadra, kde ovplyvňuje génovú expresiu s regeneráciou asociovaných génov (RAGs). STAT3 môže byť fosforylovaný tiež na seríne 727, ktorý môže zvýšiť, alebo aj znížiť transkripčnú aktivitu pSTAT3-Y705.

Metody:

K experimentom bolo použitých 16 potkanov línie Whistar (samci, 250–300g). Boli rozdelení do štyroch skupín. Všetky chirurgické zákroky boli vykonané za aseptických podmienok. U prvej skupiny potkanov (KNI, n=4) sme navodili kompresiu pravého nervus ischiadicus trojitou ligatúrou asi 1cm od jeho výstupu. V tejto úrovni bol druhej skupine (TNI, n=4) nerv preťatý, otočený a ligovaný o 180°, aby sa zabránilo spontánnej reinervácii. Tretia skupina podstúpila odhalenie nervu, ale bez poškodenia (sham-operácia). Potkani týchto troch skupín prežívali 7 dní (7D). Štvrtá skupina bez chirurgickej intervencie slúžila ako naivná kontrola. Po usmrtení vdychovaným CO₂ boli zvieratá perfundované Zamboniho fixačným roztokom a odobrané spinálne gangliá (SG) v úrovniach L4 a C6-C8 na ipsi- (SGi) aj na kontralaterálnej (SGc) strane boli fixované cez noc. Na longitudinálnych kryostatových rezoch hrúbky 12µm bol za rovnakých podmienok nepriamou imunohistochemickou metódou detekovaný pSTAT3-S727. Sekundárna protilátka bola značená tetramethyl-rhodamin-isothiocyanatom (TRITC) a jadrá boli vizualizované farbivom Hoechst 33342. Rezy boli nasnímané vo fluorescenčnom mikroskope Nikon Eclipse NI-E vybavenom kamerou Nikon DS-Ri1 za rovnakých podmienok. Analýzou obrazu v programe NIS Elements (Nikon) sme merali intenzitu imunofluorescencie (IF) pSTAT3-S727 v jadrách neurónov, ktoré sme rozdelili do skupín podľa veľkosti: malé (<25µm), stredné (25-40µm) a veľké (>40µm).

Výsledky:

V jadrách neurónov cervikálnych i lumbálnych SG u kontrolných zvierat bola nameraná nízka intenzita IF pre pSTAT3-S727. Medzi naivnými a sham-operovanými zvieratami nebol zistený signifikantný rozdiel v nameranej intenzite IF. V SG segmentu L4 u skupín TNI a KNI bola intenzita IF signifikantne zvýšená na ipsi- aj na kontralaterálnej strane. V oboch experimentálnych skupinách nie všetky neuróny SG lumbálnych segmentov vykazovali translokáciu pSTAT3-S727. Jadrá veľkých a stredných neurónov mali heterogénne rozloženie IF, na rozdiel od neurónov malej veľkosti, u ktorých bolo rozloženie IF homogénne. K zvýšeniu IF aktivovaného pSTAT3-S727 došlo po unilaterálnom TNI a KNI nielen v neurónoch SG na úrovni segmentu L4, ale i bilaterálne na úrovni segmentov C6-C8. Na rozdiel od SG lumbálnych segmentov bola translokácia pSTAT3-S727

takmer u všech neuronů SG C6-C8 segmentů, což naznačuje jiný způsob aktivace STAT3, než přímým poškozením axonů.

Závěr:

Aktivace STAT3 na pozicích Y705 je považována za molekulární znak naštartování regeneračního programu neuronů. Dokázali jsme, že po poškození periferního nervu dochází též k fosforylaci STAT3 na pozicích S727 a jeho translokaci do jader neuronů, a to v SG nejen lumbálních, ale aj v vzdálených cervikálních segmentech. Naše prioritní zistenie aktivácie STAT3 na pozicích S727 v neurónoch SG koreluje so skôr zisteným zvýšením IL-6, IL-6R a pSTAT3-Y705 v SG lumbálnych i cervikálnych segmentoch po poškodení nervus ischiadicus. To podporuje koncepciu šírenia zápalovej signalizácie subarachnoideálnym priestorom pozdĺž miechy, ktorý vytvára systémovú reakciu SG na poškodenie periferného nervu.

Poděkování:

Podporené grantom 16-08508S Grantovej agentury Českej republiky.

MUTACE T309I V PROTEINU KV7.1 ASOCIOVANÁ SE SYNDROMEM DLOUHÉHO QT JAKO MOŽNÁ „FOUNDER“ MUTACE

Adam Vejmělek

Fyziologický ústav, Interní kardiologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Oddělení lékařské genetiky, Pediatrická klinika, FN Brno;

Ústav molekulární biologie a farmaceutické biotechnologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Školitelka: doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.

Klíčová slova: LQTS1, „founder“ mutace, iontové kanály

Úvod:

Mutace srdečních iontových kanálů jsou podkladem různých typů arytmií. Mutace je obvykle pro každou rodinu jedinečná. Výskyt stejné mutace u nepříbuzných rodin pocházejících ze stejného regionu může představovat tzv. „founder“ mutaci. V našem regionu by se toto mohlo týkat mutace c.926C>T v genu KCNQ1 (p.T309I-Kv7.1), která byla identifikována u několika údajně nepříbuzných pacientů se syndromem dlouhého intervalu QT (*long QT syndrome*, LQTS). Gen KCNQ1 kóduje α -podjednotku kanálu vedoucího pomalou komponentu opožděného draslíkového proudu (I_{Ks}).

Metody:

Do studie bylo zahrnuto 5 nepříbuzných rodin: 11 nositelů mutace T309I (4 muži, 7 žen) a 12 jejich zdravých příbuzných (5 mužů, 7 žen). Každý podstoupil klinické vyšetření včetně hodnocení změn intervalu QT při ergometrii. Dále byla u nositelů mutace provedena mutační analýza genů, jejichž mutace se u pacientů s LQTS vyskytují nejčastěji. Elektrofyzilogické vlastnosti přechodně exprimovaných lidských I_{Ks} kanálů s mutací T309I i bez ní byly měřeny pomocí metody *whole cell patch clamp* při 37 °C.

Výsledky:

Klidová délka intervalu QT byla u pacientů s mutací podle očekávání signifikantně delší než u jejich zdravých příbuzných. U nositelů mutace T309I byly hodnoty délky intervalu QT ve 4. minutě zotavení po ergometrii signifikantně zvýšeny oproti klidu (z 470 ± 20 ms na 490 ± 20 ms; $P < 0,05$).

U zdravých příbuzných k významnému navýšení nedošlo (z 410 ± 30 ms na 420 ± 20 ms). U dvou nosičů mutace byla popsána synkopa nebo resuscitace oběhové zástavy.

Mezi sledovanými 5 rodinami probandů nebyla doposud analýzou rodokmenů nalezena žádná příbuznost.

Funkční parametry kanálu bez mutace odpovídají vlastnostem popsaným v literatuře. Ustálená aktivace kanálu dosahovala polovičních hodnot při $7,0 \pm 1,2$ mV (sklon křivky $16,4 \pm 0,9$). Velikost tzv. „tail“ proudu při -40 mV následujícím po 5 s při $+60$ mV byla $501,3 \pm 75,0$ pA; kapacita buněk byla $11,4 \pm 0,85$ pF ($n = 17$). Aktivace i deaktivace kanálů probíhala exponenciálně s časovými konstantami $2,6 \pm 0,3$ s u aktivace proudu na 0 mV ($n = 13$) a $191,6 \pm 23,6$ ms u deaktivace proudu na -80 mV ($n = 9$). U buněk exprimujících kanály s mutací nebyl proud měřitelný ($n = 8$).

Závěr:

Dosavadní výsledky podporují naši hypotézu, že mutace T309I by mohla představovat „founder“ mutaci LQTS v našem regionu. V rodinách nositelů mutace T309I bude dále provedeno zjištění geografické lokalizace původu předků v otcovské linii pomocí analýzy haplotypu mikrosatelitů (lokalizovaných v nonrekombinantní oblasti chromosomu Y). Z elektrofyziologické analýzy vyplývá, že kanál s mutací T309I je nefunkční (*loss-of-function* mutace). Zůstává otázkou, zda je tento kanál přítomen v membráně buněk či je jeho exprese blokována již během formování kanálu v buňce a také jaký je reálný funkční defekt I_{Ks} kanálů u heterozygotních pacientů. Obě otázky budou dále řešeny.

Poděkování:

Práce byla podpořena grantovým projektem NV16-30571A Agentury pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví České republiky a v rámci programu P-Pool.

KARDIOVASKULÁRNÍ REGULACE U DĚTÍ S ALIMENTÁRNÍ OBEZITOU A ASTHMA BRONCHIALE V POROVNÁNÍ SE ZDRAVÝMI DĚTMI

Lenka Kovaříková

Fyzilogický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

Klíčová slova: kardiiovaskulární regulace, baroreflex, alimentární obezita, asthma bronchiale, děti

Úvod:

Základní parametry kardiiovaskulární soustavy – krevní tlak a tepová frekvence – patří mezi neustále v čase se měnící parametry. Jejich kolísání je z velké části dáno vzájemným regulačním působením základních dvou částí autonomního nervového systému – sympatiku a parasympatiku. Snížená hodnota variability kolísání je ukazatelem dysbalance této regulace, stejně tak jako změny v krátkodobé regulaci zprostředkované baroreflexem.

Cílem studie bylo zjistit, jestli existují rozdíly v regulaci kardiiovaskulárních parametrů u skupin dětí s alimentární obezitou a diagnózou asthma bronchiale ve srovnání se zdravými dětmi.

Metody:

Vyšetřili jsme celkem 48 dětí ve věku 13-15 let. První skupina dětí byla s diagnózou asthma bronchiale z Dětské léčebny lázní Luhačovice (L, počet $n=15$), druhou skupinu tvořily děti s alimentární obezitou z Dětské léčebny Křetín (K, $n=18$) a třetí skupina byly zdravé děti z brněnských

základních škol (Z, n=15). U všech byly změřeny základní antropometrické ukazatele – výška, hmotnost, procentuální zastoupení tuku bioimpedanční metodou (váha Tanita, Japonsko), vypočítán index tělesné hmotnosti (BMI, kg/m²). Pro hodnocení kardiovaskulárních parametrů byl použit pětiminutový kontinuální záznam krevního tlaku podle Peňáze přístrojem Finometr Pro (FMS, Nizozemí) s řízeným dýcháním o frekvenci 20 dechů/min. Získané záznamy byly dále zpracovány metodou spektrální analýzy a vypočítána citlivost baroreflexu. Byly hodnoceny následující parametry: tepový interval a jeho směrodatná odchylka (TI, TIsd – ms), tepová frekvence (TF, TFsd – Hz), systolický a diastolický krevní tlak (STK, STKsd, DTK, DTKsd – mmHg) a citlivost baroreflexu (BRS – ms/mmHg, BRSf – mHz/mmHg). Ke statistickému zhodnocení byl použit software Statistica Soft verze 13 a neparametrický nepárový Mann-Whitney U test.

Výsledky:

Děti s alimentární obezitou měly zvýšené hodnoty všech antropometrických ukazatelů ($p \leq 0,01$), mezi L a Z jsme nenašli významné rozdíly. V parametrech kardiovaskulárních byly statisticky významně nižší hodnoty mezi L vs Z u TIsd ($40,8 \pm 16,17$ vs $54,1 \pm 17,1$ ms), DTK ($63,1 \pm 13,1$ vs $75,3 \pm 14,7$ mmHg) a DTKsd ($3,16 \pm 0,59$ vs $3,8 \pm 0,88$ mmHg; $p \leq 0,05$); stejně tak mezi skupinami K vs Z: TF ($1,39 \pm 0,22$ vs $1,44 \pm 0,24$ Hz), DTK ($60,1 \pm 15,12$ vs $75,3 \pm 14,7$ mmHg; $p \leq 0,01$) a BRSf ($13,3 \pm 4,9$ vs $19,8 \pm 8,2$ mHz/mmHg; $p \leq 0,05$). Skupiny nemocných L vs K vykazovaly rozdílnou variabilitu v kolísání tepové frekvence a systolického krevního tlaku (STKsd: $5,30 \pm 0,94$ vs $6,67 \pm 1,82$ mmHg; $p \leq 0,05$).

Závěr:

Výsledky této studie prokázaly dysbalanci v kardiovaskulární regulaci u dětí s alimentární obezitou i s diagnózou asthma bronchiale v porovnání se zdravými dětmi.

Poděkování:

Podpořeno specifickým výzkumem MUNI/A/1355/2016.

FIBROBLASTOVÝ RŮSTOVÝ FAKTOR JAKO DYNAMICKÝ REGULÁTOR MORFOGENEZE MLÉČNÉ ŽLÁZY

Jakub Sumbal, Veronika Štěpánková, Jiří Damborský, Aleš Hampl

Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Mezinárodní centrum klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně (FNUSA-ICRC)

Školitelka: Mgr. Zuzana Koledová, Ph.D.

Klíčová slova: *větvicí morfogeneze, FGF2, žláznový epitel, signalizace, 3D kultura, organoid, vývoj tkání*

Úvod:

Buněčná signalizace prostřednictvím fibroblastových růstových faktorů (FGF) představuje klíčový proces v řízení vývoje mléčné žlázy. Zejména pro větvicí morfogenezi je zcela zásadní. FGF signalizace je zprostředkována buněčnými i nebuněčnými komponentami mléčné žlázy a její de-regulace může zapříčinit vážné vývojové vady a vznik i progresi nádorového bujení.

Cílem projektu je podrobně prostudovat mechanismy, kterými signalizace FGF reguluje větvicí morfogenezi epitelu mléčné žlázy, popsat vliv intenzity a délky signalizace FGF2 na morfogenezi epitelu a identifikovat buněčné procesy zodpovědné za odpověď na signály FGF.

Metody:

Modelem pro tuto studii byly primární organoidy epitelu myši mléčné žlázy. Organoidy byly získány ze samic kmene ICRve věku 6-8 týdnů. Experimenty na myších byly prováděny v souladu se zákonem České národní rady na ochranu zvířat proti týrání (č. 246/1992 Sb.). Organoidy byly pěstovány ve 3D matrigelových kulturách po dobu 7-9 dní. Kultivační médium s různými FGF2 bylo periodicky vyměňováno v závislosti na typu experimentu. Pro navození hypersignalizace byly použity in-silico designované hyperstabilní varianty FGF2 (FGF2-CS2, FGF2-CS4). Tyto varianty vykazují při 37°C biologický poločas >24h oproti divokému typu (FGF2-wt) s šesti hodinami. Probíhající experimenty byly časově snímány a následně byla kvantifikována četnost větvení a fenotyp organoidů, dynamika růstu i výsledná velikost. Imunohistochemické metody byly použity ke zviditelnění specifických proteinů jednotlivých buněčných typů, odhalení proliferace a apoptózy a ke sledování aktivace signálních drah, navazujících na FGF receptor. Imunofluorescenční značení a konfokální mikroskopie byly prováděny za účelem porozumění distribuce značených molekul ve 3D.

Výsledky:

Kultivací s FGF2-wt (1 nM) bylo indukováno větvení organoidů s četnými drobnými větvemi, což plně odpovídá fenotypu organoidů ve dříve publikovaných studiích. Po navození hypersignalizace prostřednictvím FGF2-CS2 a CS4 (o stejné molární koncentraci jako FGF-wt) ale došlo ke dramatickým morfologickým změnám. U organoidů vystavených hyperstabilním FGF2 se s vysokou četností vyskytl zcela nový fenotyp, charakterizovaný méně početnými, ale zato masivními větvemi a hyperplazií. Takový fenotyp nebyl u kultur s FGF2-wt pozorován.

Pomocí IHC analýzy hyperplastického fenotypu byla jako podstata masivního habitu organoidů identifikována delokalizovaná stratifikace lumenální vrstvy epitelu. Lumen zůstalo vždy zachováno a bazální buňky zůstaly lokalizované v jedné vrstvě, přestože proliferace byla detekována v bazální i lumenální vrstvě organoidů.

Zvýšení koncentrace FGF2-wt v médiu přineslo známky hyperplazie až při extrémně vysokých koncentracích (20-40 nM). A zatímco FGF2-wt ztrácí schopnost indukovat větvení při 0,1 nM koncentraci, kultury s FGF-CS2 a CS4 si tuto schopnost ponechávají i při koncentraci 0,01 nM. Dále byla zvýšena frekvence výměny média, ale ani výměna každých 6 hodin nepřivedla u FGF2-wt výskyt hyperplazie. Hyperstabilní FGF jsou navíc schopny indukovat větvení i při krátkodobé expozici, zatímco FGF2-wt nikoliv. Objasnění buněčných a molekulárních mechanismů, zodpovědných za změny morfologie v reakci na hypersignalizaci FGF, je našim dalším cílem.

Závěr:

Naše výsledky ukazují, že hypersignalizace FGF indukovaná hyperstabilními FGF2 vyvolává změny v dynamice růstu epitelu mléčné žlázy. Prostřednictvím zvýšené proliferace je vytvářen dosud nepozorovaný fenotyp s masivním vzezřením a narušenou větvící morfogenezí.

Vymezením mezních koncentrací FGF2, potřebných k indukci normálního větvení a hyperplastických změn, jsme ukázali, že větvící morfogeneze je precizně a dynamicky regulována FGF signalizací. FGF2 prostřednictvím regulace proliferace buněk (především lumenální vrstvy) řídí indukci a intenzitu větvení epitelu.

Naše zjištění přispějí k pochopení vlivu FGF, jednoho ze signálů epiteliálně - stromálních interakcí, na vývoj mléčné žlázy i na biologii nádorových onemocnění.

Poděkování:

Práce byla podpořena granty 16-20013Y (GAČR), TH02010219 (TAČR) a Programem rektora na podporu vynikajících diplomových prací (GAMU).

TESTOVÁNÍ KOGNITIVNÍCH FUNKCÍ S POUŽITÍM VÝVOJOVÉHO MODELU SCHIZOFRENIE U POTKANA

Alina Kulakovská

Farmakologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelé: MUDr. Jana Pistovčáková, Ph.D., MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

Klíčová slova: schizofrenie, aripiprazol, zvířecí model poly IC, NOR test

Úvod:

Schizofrenie je závažné duševní onemocnění, charakteristické rozvratem osobnosti, behaviorálními poruchami a poruchami myšlení. Jedná se o psychiatrické psychotické onemocnění se sklonem k chronicitě. Etiologie je nejasná, avšak výzkumy se shodují na multifaktoriálních příčinách. Za jednu z hypotetických příčin je považována imunitní reakce gravidní matky v důsledku infekce v kritickém vývojovém stádiu nervové soustavy plodu. Tuto situaci se snažíme navodit u animálních modelů a nasimulovat tak symptomy psychotického onemocnění. V našem výzkumu jsme zvolili vývojový model schizofrenie založený na prenatální aplikaci poly IC gravidním potkaním matkám. Imitovali jsme akutní virovou infekci v daném období gravidity.

Metody:

Cíl: Zhodnotit vliv aripiprazolu (antipsychotika nové generace) na kognitivní funkce dospělých potkaních samců s modelem poly IC testem NOR (novel object recognition test). Metodika: Použili jsme potkany kmene Wistar, dospělé jedince, kterým byla v 17. dni jejich prenatálního vývoje aplikována látka poly IC ($D=8\text{mg/kg}$) (model schizofrenie) a kontrolní skupinu, bez aplikace poly IC gravidním matkám. Zvířatům byl opakovaně perorálně podáván aripiprazol (ARI) ($d=5\text{mg/kg/den}$) nebo vehikulum (VEH). Následně byl na dospělých jedincích proveden test NOR, používaný k posuzování kognitivních funkcí, které jsou u schizofrenie narušeny (model poly IC s vehikulem). Sledovali jsme účinky aripiprazolu u zvířat po aplikaci vehikula ve skupině kontrolní i poly IC. Při NOR testu byly do arény nejdříve umístěny dva stejné předměty (láhev/láhev, plechovka/plechovka), zvíře bylo vloženo doprostřed arény na dobu 5min. Poté bylo zvíře vráceno zpět do klece. Po 20min jsme zvíře opět vložili do arény na 5min, kde předtím došlo k randomizované výměně jednoho z předmětů (láhev/plechovka, tj. známý versus neznámý předmět). Explorační aktivitu zvířete v aréně (2x 5min) jsme zaznamenali na nahrávací zařízení a posléze využili k následnému zhodnocení času, který zvíře strávilo zájmem o předmět. K vyhodnocení behaviorálních dat z videozáznamů jsme použili stopky. Ke statistickému zpracování dat jsme použili program Statistica 12. Diskriminační indexy a časové parametry (čas věnovaný exploraci jednotlivých předmětů a okolí) jsme analyzovali pomocí Kruskal-Wallisova testu a dvojcestné ANOVY. Za statisticky významnou hladinu jsme zvolili $p<0,05$.

Výsledky:

Diskriminační index byl vyšší u zvířat s modelem schizofrenie (model poly IC) než u zvířat kontrolních a byl ovlivňován modelem nikoli medikací. Diskriminační index určuje procento času věnované danému předmětu z celkového času. Zvířata s modelem poly IC se věnovala více exploraci předmětů v aréně a navíc si vedla i lépe v poznávání nového předmětu při druhém pobytu v aréně (po výměně jednoho předmětu). Navíc byly již při prvním pobytu v aréně prokázány signifikantní stranové preference u všech skupin, které mohly narušit následný druhý pobyt v aréně po výměně předmětu, tzn. poznávání nového předmětu. Behaviorální rozdíly u skupin medikovaných aripiprazolem a skupin bez aplikace antipsychotika nebyly statisticky významné.

Závěr:

Možné příčiny selhání modelu schizofrenie v testu NOR jsou předmětem diskuse a jejich analýza může posloužit jako odrazový můstek v dalším výzkumu a při validaci tohoto modelu na našem pracovišti. Aripiprazol nevykazoval negativní účinky na kognitivní funkce v žádné ze skupin potkanů, což svědčí pro to, že je vhodný k použití u schizofrenických pacientů s kognitivní poruchou.

RAD51 REGULATORS: SHAPING THE FILAMENT

Ondrej Belán, Mário Špírek, Gareth Williams, Jarmila Mlčoušková, Lumír Krejčí,

Simon J. Boulton

Biologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

The Francis Crick Institute, London, UK

Školitelka: doc. Mgr. Lumír Krejčí, Ph.D.

Klíčová slova: RAD51, homologous recombination, genome instability, cancer

Background:

DNA double strand breaks (DSBs) are among the most toxic genome lesions. If unrepaired, DSBs can lead to extensive genome instability cell death or cancerogenesis. Homologous recombination (HR) accounts for an “error-free” repair of DSBs with RAD51 recombinase playing central role in this pathway. Recombination mediators such as BRCA2 and RAD51 paralogs promote HR, while antirecombinases inhibit rogue HR by disrupting RAD51 filament. Importantly, mutations in BRCA2 and RAD51 paralogs are associated with increased risk of developing breast or ovarian cancer and with Fanconi anaemia – a rare genetic disease. Nevertheless, the exact molecular mechanism of their action remains poorly understood.

Methods:

Using molecular biology, protein biochemistry and biophysical methods, we have characterised RAD51 paralogue complex *in vitro* and its effect on RAD51 filament. Proteins were expressed in *E. coli* and purified using chromatography methods. Protein-DNA interaction was monitored using electrophoretic mobility shift assay (EMSA) and capture assay. Colorimetric ATPase assay and D-loop formation assay were utilised to monitor protein activity. Fast filament assembly kinetics measurements were performed using stopped-flow methodology. Finally, structural data were obtained using negative stain electron microscopy imaging.

Results:

Our data indicate that RAD51 paralogue complex possesses only a weak affinity towards ssDNA and is incapable of stimulating RAD51-ssDNA association. However, our observations further reveal that RAD51 paralogs rapidly bind ends of RAD51 filaments in a manner dependent on ATP, but not its hydrolysis. RAD51 paralogs stabilise RAD51 filaments, but (unlike BRCA2) do not inhibit ATPase activity of RAD51. Finally, we demonstrate that RAD51 filaments are remodelled by RAD51 paralogs into more open, flexible and active conformation providing structural basis for RAD51 stimulation by these factors. Importantly, filament remodelling process seems to be dependent on ATP hydrolysis by RAD51 paralogue complex, but not by RAD51.

Conclusion:

Our findings provide novel insights into the molecular mechanism of RAD51 paralogue action and widen our understandings how deregulation of HR could contribute to tumorigenesis and/or be utilized in anticancer therapy. Several characteristics of the remodelling invoked by RAD51 paralogue complex, especially the dependence on nucleotide cofactor binding/hydrolysis, could shed

a new light on HR disruption by cancer/Fanconi anemia-associated RAD51 paralogue mutations – many of which are located near Walker boxes of RAD51C.

Acknowledgement:

This work was supported by GACR13-26629S, GACR207/12/2323 and GA17-17720S grants.

CELOGENOMOVÁ SEKVENACE TREPONEMA PALLIDUM SUBSP. PALLIDUM KMENE HAITI B

Eliška Vrbová

Biologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: *Treponema pallidum*, Haiti B, syfilis, sekvenace, genom

Úvod:

Bakterie *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (TPA) z kmene *Spirochaetae* je původcem venerického onemocnění syfilis, kterého se celosvětově vyskytuje až 10 miliónů nových případů ročně. Kmen Haiti B byl izolován v roce 1951 na Haiti. Jako jeden z mála referenčních kmenů nepochází z USA. Původně byl tento kmen zaměněn, vzhledem ke klinickým projevům, za kmen bakterie *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*, příbuzný poddruh způsobující onemocnění yaws.

Cílem práce bylo sestavení kompletní genomové sekvence pomocí metody PSGS (pooled segment genome sequencing), která umožňuje sestavení kompletní genomové sekvence, a následný detailní popis a analýza genomu, včetně srovnání s dalšími treponemálními kmeny.

Metody:

Genom byl rozdělen na čtyři části, které byly sekvenovány pomocí technologie Illumina a Sangerovým sekvenováním. Výsledná data byla porovnávána s referenčním kmenem TPA Nichols a analyzována bioinformatickými nástroji. Dále byla provedena fylogenetická analýza, která ukazuje postavení kmene Haiti B mezi dalšími kmeny poddruhu *pallidum* a mezi kmeny poddruhů *pertenue* a *endemicum*.

Výsledky:

Sekvence genomu TPA Haiti B má velikost 1 139 527 bp. Oproti kmeni TPA Nichols obsahuje 228 změn, z toho 199 SNV (single nucleotide variant) a 29 indelů. Významné odlišnosti byly zaznamenány v *tpg* genech a *rrn* operonech. Celkem bylo změnami zasaženo 76 protein-kódujících oblastí.

Závěr:

Fylogenetická analýza kmenů poddruhů *pallidum*, *pertenue* a *endemicum* jasně ukázala, že se kmen Haiti B řadí do poddruhu *pallidum*. TPA Haiti B vykazuje sekvenční příbuznost s Nichols-like kmeny.

2. KLINICKÁ SEKCE CHIRURGICKÝCH OBORŮ

KAZUISTIKA - FUNKČNÍ HEMISFEREKTOMIE U DĚTSKÉHO PACIENTA

Barbora Musilová

Neurochirurgická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: doc. MUDr. Eva Brichtová, Ph.D.

Klíčová slova: epilepsie, farmakorezistentní epilepsie, funkční hemisferektomie

Úvod:

Epilepsie je charakterizována jako chronické neurologické onemocnění. Projevuje se opakovanými epileptickými záchvaty. Příčinou je vznik abnormních výbojů neuronů z důvodu změny jejich dráždivosti. U 20–30 % epileptiků dochází k záchvatům i přes farmakologickou léčbu. Tento stav se nazývá farmakorezistentní (refrakterní, intraktabilní) epilepsie. U většiny pacientů lze dosáhnout operační léčbou snížení počtu či frekvence epileptických záchvatů. Speciálním zákrokem, který je využíván výlučně u dětí, je hemisferektomie. Výkon vyžaduje přísnou individuální spolupráci jednotlivých specialistů a značnou erudici operátora.

Metody:

Původní princip hemisferektomie zahrnoval odpojení a odstranění postižené hemisféry generující záchvaty. Nevýhodou této anatomické hemisferektomie byl vznik velké poresekční dutiny, která se vyplnila mozkomíšním mokem a mohla působit různé pooperační komplikace. V současné době se využívá funkční hemisferektomie, též nazývaná hemisferotomie. Cílem je odpojení postižené hemisféry a jen minimální resekce mozkové tkáně. Funkční hemisferektomie se provádí u dětí s katastrofickou epilepsií. Výběr pacienta je přísně individuální a samotný výkon vyžaduje erudovaného operátora. Před výkonem je nutné mít potvrzené, že výboje pocházejí pouze z jedné hemisféry. V opačném případě se efekt výkonu značně snižuje. Mezi nejčastěji využívané funkční hemisferektomie patří vertikální parasagitální dle Delalandeho, periinsulární dle Villmura a transsylvická dle Schramma.

Funkční hemisferektomie byla provedena u dětského pacienta s progresivní farmakorezistentní epilepsií s výraznými postmalatickými cystami FTP vpravo na podkladě perinatálního mozkového infarktu. Pacient byl operován v 8 měsících věku transsylvickým přístupem dle Schramma. V pooperačním období byla dále nutná dočasná drenáž pseudocyst FTP vpravo. Po extrakci zevní komorové drenáže přetrvávalo expansivní chování pseudocyst. Proto byl indikován a implantován pseudocysto-peritoneální shunt s programovatelným ventilem.

Výsledky:

Po operaci se u pacienta nevyskytují epileptické paroxysmy. Dochází ke zlepšení psychomotorického vývoje. Přetrvává levostranná hemiparéza s akcentací na levé horní končetině akrálně. Pacient dále užívá stávající antiepileptika a je sledován dětským neurologem. Pseudocysto-peritoneální shunt, který byl implantován, je vybaven programovatelným ventilem. Tento typ umožňuje snadné přeprogramování při změnách tlaku a je tak výhodný pro pacienta i chirurga.

Záver:

Tato kazuistika popisuje úspešné využití funkční hemisferektomie. Cílem zákroku bylo zlepšení psychomotorického vývoje u pacienta, kterého bylo dosaženo. Včasné provedení funkční hemisferektomie zabránilo postupnému šíření záchvatů na druhou hemisféru.

MALÉ ANEURYZMY BRUŠNEJ AORTY A PREDIKCIA ICH RUPTÚRY NA ZÁKLADE POČÍTAČOVÉHO 3D MODELOVANIA

Andrej Domonkos

II. chirurgická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školiteľ: MUDr. Luboš Kubíček, prof. MUDr. Robert Staffa, Ph.D.

Klíčová slova: aneurizma abdominálnej aorty, malé AAA, ruptúra, predikcia

Úvod:

Ruptúra aneuryzmy brušnej aorty (AAA) je urgentný chirurgický stav, ktorý priamo ohrozuje život pacienta. V kontraste oproti asymptomatickému priebehu tohoto ochorenia stojí viac ako 50% mortalita pri ruptúre. Podľa guidelines ESVS sú AAA s priemerom väčším ako 55 mm indikované k operačnej alebo endovaskulárnej intervencii. Menšie AAA zostávajú monitorované (tzv. malé AAA). Riziko ich ruptúry je menšie oproti tým, ktoré sú riešené elektívnymi výkonmi, avšak stále existuje. Prvým cieľom vedeckej práce bolo zhodnotiť ruptúry všetkých AAA na školiacom pracovisku a identifikovať potenciálne rizikové faktory pre prasknutie malého AAA. Následne táto práca skúmala využitie počítačovej 3D modelácie AAA, ako možnosť predpovede rizika ich ruptúry.

Metody:

Vedecká práca bola započatá retrospektívnou štúdiou pacientov školiaceho pracoviska. Skúmané boli všetky ruptúry aneuryzmy brušnej aorty v rokoch 2009 až 2016. V zdravotníckej dokumentácii bola skúmaná ich anamnéza, s kontrétnym zameraním na možné rizikové komorbidity pre ruptúru AAA s menším priemerom. Ohľad sme brali na pohlavie pacienta, vek v čase ruptúry, hypertenziu, fajčenie, chronickú obštrukčnú chorobu pľúc, diabetes mellitus, hyperlipidémiu a ischemickú chorobu dolných končatín. Sledovaná bola perioperačná a skorá mortalita pacientov. Na základe CT vyšetrenia, bol zistený najväčší priemer každej aneuryzmy. Všetky získané údaje sme následne štatisticky vyhodnotili. V druhom kroku vedeckej práce prebiehala počítačová modelácia AAA z CT snímok. Výpočet napätia jej steny následne predikoval miesto a riziko ruptúry. 3D modelácia prebiehala na princípe metódy konečných elementov, ktorá spočítala napätie steny brušnej aorty v mieste výdute. Peroperačne bol vykonaný odber prednej steny AAA v rozmere 4 cm krát 4 cm. Tkanivo bolo podrobené tzv. stretching testu, ktorý zhodnotil jeho reálnu rezistenciu voči fyzikálnym silám. Výstupom testu boli dáta odpovedajúce skutočným biologickým pomerom v tele pacienta. Vďaka nim bolo možné upraviť pôvodný teoretický model a priblížiť ho k realite.

Výsledky:

Mortalita pacientov na ruptúru AAA sa na školiacom pracovisku pohybovala na úrovni 44,4 %, výsledok je nižší ako svetový priemer, ktorý je viac ako 50 %. Zo všetkých 90 akútne operovaných bolo 16,7% malých AAA, čo predstavuje 15 pacientov. Údaje, ktoré porovnávali priemerný vek mužov a žien v čase ruptúry sa zhodovali so svetovými štúdiami a štatisticky významne uprednostnili ženy (81,2 rokov) oproti mužom (73,9 rokov). Predpoklad, že ruptúra AAA by u žien

mala nastat pri menšom priemere než u mužov sa v našom výskume nepotvrdil. Závislosť veku pacienta a priemeru AAA nepotvrdila teóriu, ktorá spája prežitie roky s veľkosťou AAA. Chronická obštrukčná choroba pľúc, ktorá by podľa literatúry mala byť ochranným faktorom voči ruptúre, a tým zväčšovať priemer prasknutej AAA, nenašla oporu v spracovaných dátach. Hypertenzia bola jasne potvrdená ako jeden z hlavných rizikových faktorov vzniku i ruptúry AAA (83,5% pacientov ju malo už liečenú). Aktívni alebo bývalí fajčiari tvorili najmenej 40% zo vzorky pacientov. Pri prihladnutí na mesiace, v ktorých dochádza k najväčšiemu výskytu ruptúr, jednoznačne do popredia vystupuje obdobie medzi aprílom až júlom. Výsledky druhého kroku vedeckej práce zdokonalili 3D model AAA a porovnali jeho teoretickú podobu, ktorá vzišla z CT záznamu s reálnym testom na ľudskom tkanive. Vyhodnotenie bolo úpravou pôvodného vzorca pre výpočet napätia v stene brušnej aorty a priblíženie sa skutočným výsledkom aplikovateľným v praxi.

Záver:

Táto vedecká práca sa zamerala na vytvorenie komplexnejšieho pohľadu na problematiku anuryziem brušnej aorty. Napriek množstvu poznatkov a odporúčaní svetovej medicíny zostáva otvorená otázka indikácie elektívneho operačného výkonu. Priemer, ktorý je menší ako 55 mm nezaručuje nulové riziko ruptúry. Vysoká šanca, že malá AAA praskne existuje a teda existuje aj priame ohrozenie života dispenzarizovaného pacienta (takmer jedna pätina pacientov s ruptúrou AAA mala priemer menší ako 55 mm). Počítačová modelácia na podklade konkrétnych CT vyšetrení môže byť cestou zaplnenia indikačnej medzery v tejto oblasti. Ďalší výskum v tejto oblasti môže viesť k personalizácii indikačného postupu a zachrániť ľudské životy.

SVALOVÁ RELAXACE A KLINICKÁ PRAXE V PEDIATRICKÉ ANESTEZII: RETROSPEKTIVNÍ STUDIE

Eva Klabusayová, Mária Moravská

Klinika detské anesteziologie a resuscitace, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelé: MUDr. Jozef Klučka, doc. MUDr. Petr Štourač, Ph.D.

Klíčová slova: *pediatrická anestezie, svalová blokáda, myorelaxancia, reziduální blokáda*

Úvod:

Myorelaxancia jsou standardní součástí doplňované celkové anestezie. Navozená svalová relaxace vede k vyšší úspěšnosti zajištění dýchacích cest tracheální kanylou a poskytuje výhodnější podmínky pro chirurgickou manipulaci během operace. V pediatrické anestezii je frekvence podání myorelaxancií nižší, a to obzvláště u kojenců a novorozenců. Reziduální svalová blokáda na konci operace je dle publikovaných dat velmi častá a je spojena s negativním ovlivněním pooperační morbidity a mortality. Cílem studie bylo popsat aktuální praxi týkající se indikací, typu a dávky svalových relaxancií, zhodnotit frekvenci monitorace svalové blokády a identifikovat procento pacientů s aktivní reverzí svalové blokády na konci operačního výkonu.

Metody:

Data z anesteziologických záznamů Kliniky detské anesteziologie a resuscitace FN Brno ve sledovaném období od 1. 1. 2016 do 31. 12. 2016 byla retrospektivně analyzována. Primárním cílem bylo zhodnotit četnost operačních výkonů, u kterých byla aplikována myorelaxancia a identifikovat výkony, u kterých byla měřena hloubka svalové blokády na konci operace, nebo u kterých byla podána aktivní farmakologická reverze nervosvalové blokády. Sekundárním cílem bylo identifikovat nejčastěji používaná myorelaxancia dle věku pacientů a dle délky operačních výkonů.

Výsledky:

Ve sledovaném období podstoupilo operační výkon v celkové anestezii celkem 8046 pacientů, z toho svalová relaxancia byla podána v 1650 případech (20,51%). Nejčastěji aplikovaným myorelaxanciem bylo mivacurium (48,18 %, n=795), dále cis-atracurium (36,42 %, n=601), suxamethonium (10,30 %, n=170) a rocuronium (6,97 %, n=115). Monitorace svalové blokády dle dokumentace proběhla pouze v 2,48 % (n=41) případech. Aktivní reverze blokády na konci operace byla podána celkem u 5,76 % (n=95) pacientů.

Závěr:

Frekvence podání myorelaxancií v pediatrické anestezii je ve srovnání s dospělou populací nižší. Nízce dokumentovaná míra monitorace svalové blokády společně s nízkou frekvencí aktivní farmakologické reverze blokády je vzhledem k možnému výskytu reziduální blokády riziková a může negativně ovlivnit celkový klinický výstup.

ENTERÁLNÍ VÝŽIVA NOVOROZENCŮ PO PRIMÁRNÍ REKONSTRUKCI ROZŠTĚPU RTU

Lucia Janíčková

Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie, Pediatrická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelé: MUDr. Olga Košková, MUDr. Jitka Vokurková, Ph.D., MUDr. Lia Elstnerová

Klíčová slova: rozštěp rtu, celkový rozštěp, neonatální sutura rtu, výživa po operaci

Úvod:

Rozštěpové vady patří mezi nejčastější vrozené vývojové vady orofaciální oblasti. V posledním desetiletí je v České republice pozorován trend posouvání timingu primární rekonstrukční operace rozštěpu rtu místo 3. měsíce věku do neonatálního období. Cílem studie bylo zhodnotit, jaký vliv má operace rtu u novorozence na příjem stravy v časném pooperačním období.

Metody:

Do studie bylo zařazeno 202 dětí operovaných pro jednostranný nebo oboustranný rozštěp rtu/rtu a patra v neonatálním období ve Fakultní nemocnici Brno v letech 2010–2015. Jediným exkluzivním kritériem pro nezařazení do studie byla potvrzená diagnóza syndromového postižení. Průměrný věk novorozenců při primární rekonstrukci rtu byl 7 dní (min–max 2–28 dní). Pacienti byli rozděleni podle tíže vady do 3 kategorií: pacienti s celkovým jednostranným rozštěpem tvořili 34,7% (n=70), s celkovým oboustranným rozštěpem 18,8% (n=38) a s izolovaným rozštěpem rtu 46,5% (n=94). Dále byli novorozenci rozděleni podle hodnoty porodní hmotnosti do dvou kategorií: novorozenci s porodní váhou ≤ 3000 g (n=60) a >3000 g (n=140); a podle dosaženého týdne gestace při porodu do 2 kategorií, kdy hranice mezi oběma kategoriemi byla určena 38. týdnem gestace (skupina <38 tg n=23, skupina ≥ 38 tg n=179). U všech kategorií byly porovnávány 1/ časové údaje představující první příjem stravy per os po operaci; 2/ nutnost využití nasogastrické sondy v pooperačním období.

Výsledky:

Novorozenci, kteří podstoupili časnou operaci rozštěpu rtu, přijímali stravu poprvé po operaci průměrně po 7,9 hodinách. Pacienti s celkovým oboustranným rozštěpem průměrně 12,1 hodin po operaci, s celkovým jednostranným 7,2 hodin a s izolovaným rozštěpem rtu pouze 6,8 hodin. Rozdíl mezi jednotlivými kategoriemi podle tíže vady byly statisticky významné ($p \leq 0,05$). Podávat

výživu po operaci nasogastrickou sondou bylo nutné pouze u 7,4% dětí. Novorozenci, kteří měli porodní hmotnost nižší než 3000g, přijímali první stravu per os po operaci průměrně po 7,7 hodinách, novorozenci s vyšší porodní hmotností než 3000g po 8 hodinách, rozdíl nebyl statisticky významný. Naopak využití nasogastrické sondy bylo častější u pacientů s nižší porodní váhou se statisticky významným rozdílem (Fisherův exaktní test, $p=0.013$), stejně jako u pacientů narozených před dosažením 38. týdne gestace (Fisherův exaktní test, $p=0.015$).

Závěr:

Byl zhodnocen způsob výživy u dětí po neonatální operaci rozštěpu rtu. Bylo zjištěno, že realimentace po operaci je u většiny dětí bezproblémová, použití nasogastrické sondy bylo nutné pouze v 7,4% případů. Jako rizikové skupiny byli identifikováni pacienti s celkovým oboustranným rozštěpem rtu, s porodní hmotností pod 3000g a děti narozené před ukončením 38. týdnem těhotenství.

PARENTERÁLNÍ A ENTERÁLNÍ PODÁVÁNÍ VALPROÁTU U KRITICKY NEMOCNÝCH

Lucie Engelmanová, Pavel Suk, Vladimír Šrámek, Adriána Ruzsíková

Anesteziologicko-resuscitační klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Pavel Suk, Ph.D.

Klíčová slova: valproát, kriticky nemocný, parenterální výživa, enterální výživa

Úvod:

Valproát je u kriticky nemocných podáván jako součást chronické medikace nebo nově nasazen především u pacientů s posthypoxickým poškozením mozku a epilepsií. Přestože enterální podání je spojeno s rizikem neúplné biodostupnosti, je často volbou v naší klinické praxi.

Metody:

Jde o retrospektivní studii hodnotící všechny pacienty období od ledna 2015 do června 2016, u nichž byl podán valproát. Primárním cílem je porovnat účinnost parenterálního (i.v.) a enterálního (nasogastrická sonda) podání valproátu. Dále byl hodnocen neurologický výsledek u pacientů s epileptiformními projevy po KPR.

Výsledky:

Studie zahrnuje 53 pacientů ve věku 65 ± 17 let. U 34 nemocných byl podáván valproát pro epileptiformní projevy po KPR, v 15 případech pro epilepsii. Jedenáct nemocných, u kterých byl valproát podáván chronicky, je z další analýzy vyloučeno. Léčba byla zahájena intravenózně u 34 pacientů a parenterální podání trvalo maximálně 6 dní. Vývoj hladin během léčby je na obrázku 1. V 15 % měření byla hladina $< 300 \mu\text{mol/l}$, nebyly naměřeny hladiny $> 700 \mu\text{mol/l}$. Nebyly pozorovány rozdíly v hladinách valproátu mezi enterálním 372 (324-448) $\mu\text{mol/l}$ a parenterálním 439 (322 až 509) $\mu\text{mol/l}$ podáním ($p = 0,16$). U 3 nemocných (9 %) z 34 po KPR došlo k obnově vědomí.

Závěr:

Enterálního a intravenózní podání vede k dosažení srovnatelných plasmatických hladin. Epileptiformní projevy po KPR jsou obecně prognosticky nepříznivé, ale v našem souboru došlo u 9 % pacientů k obnově vědomí.

3. KLINICKÁ SEKCE INTERNÍCH OBORŮ

ARTERIAL SPIN LABELLING DETECTS POSTERIOR CORTICAL HYPOPERFUSION IN NON-DEMENTED PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

Zoe Syrimi, Lubomir Vojtisek, Ilona Eliasova, Jana Viskova, Alena Svatkova, Jiri Vanicek, Irena Rektorova

I. neurologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

Klíčová slova: *Parkinson's disease, Arterial spin labelling, Perfusion, Cognitive performance*

Background:

While previous studies suggested that perfusion abnormalities in Parkinson's Disease (PD) are driven by dementia, our study aimed to identify perfusion changes underpinning cognitive alteration in non-demented PD patients.

Methods:

Cerebral blood flow was measured using arterial spin labelling (ASL) in 28 PD patients (age: 65 years \pm 9.9 SD) and 16 age-matched healthy controls (HC) (age: 65 years \pm 7.8 SD), who also underwent neurological and cognitive testing. The 3D pseudocontinuous ASL and T2-weighted scans from 22 PD patients and 16 HC were analysed in a voxel-wise manner using SPM8 software. Associations between the ASL values in volumes of interest (VOIs) and behavioural and cognitive measures were assessed by Spearman correlation analysis.

Results:

Posterior cortical hypoperfusion was found in PD patients compared to HC in the left supramarginal gyrus / superior temporal gyrus (VOI1) and left posterior cingulate / precuneus (VOI2). Positive correlation was revealed between perfusion in the VOI2 and Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R) scores after filtering out the effect of age, levodopa equivalent dose (LED), and total intracranial volume (TIV) ($R=0.51$, $p=0.04$). Conversely, negative correlation between VOI1 and ACE-R was detected ($R=-0.62$, $p=0.01$) after regressing out the effects of motor impairment, age, LED, and TIV.

Conclusion:

In non-demented subjects with PD, blood flow abnormalities in left precuneus/posterior cingulate were linked to the level of motor impairment and global cognitive performance. Oppositely, perfusion abnormalities in the left supramarginal gyrus might serve as a compensatory mechanism for brain degeneration and decreased cognitive performance.

Acknowledgement:

The study was supported by the project CEITEC 2020 (LQ1601) by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and the Ministry of Health Czech Republic (15-33854A)

RIZIKOVÉ FAKTORY PŘETRVÁNÍ PORUCHY GLUKÓZOVÉ TOLERANCE PO PORODU U ŽEN S GDM

Beáta Barátová, Vendula Bartáková, Veronika Tápálová, Kristýna Wágnerová

Ústav patologické fyziologie, Gynekologicko-porodnická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Školitelka: prof. MUDr. Kateřina Kaňková, Ph.D.

Klíčová slova: gestační diabetes mellitus, těhotenství, porod, postpartum, diabetes, konverze

Úvod:

Gestační diabetes mellitus (GDM) je jednou z nejčastěji se vyskytujících komplikací v těhotenství. Ženy s GDM mají nejen vyšší frekvenci porodnických komplikací, ale také vyšší riziko vzniku diabetu po porodu či kdykoliv v pozdějším věku. Cílem studie bylo (i) replikovat námi dříve zjištěnou incidenci konverze GDM do permanentní postpartum poruchy glukóзовé tolerance v české populaci, (ii) identifikovat faktory (antropometrické, biochemické), které mohou zvyšovat riziko konverze a být využitelné prediktivně, (iii) zjistit, jestli existovaly rozdíly v průběhu porodu („peripartal adverse outcomes“) u pacientek s přetrvávající poruchou glukóзовé tolerance po porodu a u těch, kde poruchy vymizí.

Metody:

Průřezová studie zahrnovala 244 pacientek s GDM sledovaných v období let 2011-2013, které podstoupily opakovaný oGTT test do jednoho roku po porodu. Pacientky byly sledovány v Diabetologickém centru FN Brno, kde byl proveden jak gravidní, tak poporodní oGTT. Léčba GDM zahrnovala výhradně režimová opatření u 62,7 % žen a 37,3 % žen mělo inzulinovou terapii. Sledovali jsme následující data: věk v době diagnózy GDM, paritu, DM v rodinné anamnéze, pre-gestační BMI, komorbiditu, kouření, biochemické parametry v době GDM diagnózy (glykémie během oGTT testu ve 2. trimestru gravidity, glykovaný hemoglobin), indukovaný a protražovaný porod, perinatální/neonatální parametry, použití instrumentária během porodu, periporodní a poporodní komplikace. V rámci skupiny žen s GDM jsme dále sledovali rozdělení dle nových kritérií ČGPS na ženy s vyšším a nižším rizikem z hlediska gynekologicko-porodnické péče.

Výsledky:

Ženy s GDM, u nichž se při opakovaném oGTT časně postpartum prokázala konverze do permanentního diabetu či prediabetu, bylo v prospektivní studii 9 % (n = 22), přičemž 7,8 % bylo identifikováno jako prediabetes a 1,2 % jako T2DM. U podskupiny s přetrvávající poruchou glukóзовé tolerance jsme identifikovali statisticky významně vyšší hladiny lačné glykémie během oGTT testu absolvovaném v 2. trimestru gravidity, glykovaný hemoglobin nad 42 mmol/mol, významně vyšší výskyt DM v rodinné anamnéze, vyšší výskyt obezity, některou z poruch funkce štítné žlázy (převážně hypothyreóza) a také kouření (recentní kuřačka či stopkuřačka). Zaznamenali jsme také vyšší incidenci protražovaných komplikovaných porodů u žen s přetrvávající poruchou glukóзовé tolerance po porodu.

Závěr:

Potvrdili jsme výsledky naší předchozí epidemiologické studie na jiné kohortě pacientek: (i) prevalence perzistence porušené glukóзовé tolerance po porodu opětovně dosahovala cca 9 %, (ii) vyšší lačná glykémie v oGTT testu a vyšší HbA1c ve 2. trimestru se jeví jako dva velmi důležité prediktory perzistující postpartum poruchy. Navíc byly identifikovány další parametry (obezita, výskyt DM v rodině, hypothyreóza, kouření), které se mohou stát vodítkem pro rozhodování o možné

rozšířené stratifikaci těhotných žen s GDM a důraznější doporučení sledování rizikových skupin postpartum, (iii) pacientky s vyšším rizikem z hlediska gynekologicko-porodnické péče mají vyšší incidenci peripartálních komplikací i riziko postpartum konverze.

Poděkování:

Práce byla podpořena AZV grantem Ministerstva zdravotnictví ČR č. 16-28040A. Poděkování patří programu P-Pool za možnost účastnit se na výzkumné činnosti.

VLIV VYBRANÝCH CHOROB MATKY NA VÝSKYT INTRAPARTÁLNÍ HYPOXIE PLODU

Eliška Janáčková

Gynekologicko-porodnická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelé: MUDr. Lukáš Hruban, Ph.D., MUDr. Petr Janků, Ph.D.

Klíčová slova: *nízké pH novorozence, diabetes mellitus typ I, esenciální hypertenze, preeklampsie, hypoxie plodu*

Úvod:

Intrapartální hypoxie plodu může být příčinou trvalých neurologických následků u novorozenců. Bezprostředně po porodu je popisována hypoxicko-ischemická encefalopatie, později dětská mozková obrna. Incidence těchto diagnóz zůstává řadu let stálá a to přes veškeré snahy o jejich redukci. Řada studií se zabývá rizikovými faktory intrapartální hypoxie. Výsledky jsou však nejednotné. Tato studie se zabývá vztahem mezi vybranými onemocněními matky a zvýšeným rizikem výskytu hypoxie plodu. Uznávaná kritéria pro stanovení intrapartální hypoxie plodu jsou nízké pH z arteria umbilicalis těsně po porodu (typicky $pH < 7,10$) a nízké skóre novorozence dle Apgarové v 5. minutě (typicky $AS5 < 7$).

Metody:

Z 13 551 termínových porodů, které byly odvedeny na Gynekologicko-porodnické klinice Fakultní nemocnice Brno v letech 2014–2016 bylo zaznamenáno 325 porodů (2,34%) s hodnotou $pH < 7,10$. Vybrány byly 3 diagnózy jejichž vliv na výskyt intrapartální hypoxie je dle literatury kontroverzní (diabetes mellitus typu I, potvrzená preeklampsie a esenciální hypertenze). Vaginálně vedené porody s výskytem těchto diagnóz byly podrobeny detailní analýze. Vyselektovány byly pouze případy s jednoznačně potvrzenou diagnózou (splněná kritéria pro preeklampsii, esenciální hypertenzi a DM I. typu) Hodnoceny byly perinatální výsledky (pH z a.umbilicalis, Apgar score). Byla využita retrospektivní case-control analýza. Pro závislost onemocnění a nízkého pH novorozence byl využit chi-kvadrát test na hladině významnosti 5%.

Výsledky:

Ve skupině pacientek s potvrzenou esenciální hypertenzí ($n=101$) se objevilo nízké pH u 2,02% ($n=2$) a odds ratio ($OR=0,821$) ani chi-kvadrát test ($p=0,7828$) neprokázali korelaci této diagnózy s nízkým pH . Taktéž u diagnózy potvrzené preeklampsie ($n=74$) nebyl potvrzen vztah nízkého pH s diagnózou ($OR=0,563$; $p=0,565$), nízké pH se objevilo u 1,37% ($n=1$). U pacientek s diagnózou diabetes mellitus typu I ($n=32$) se objevilo nízké pH u novorozence ve 24% případech ($n=5$). Odds ratio ($OR=7,638$) i chi-kvadrát test ($p<0,001$) potvrdil vztah mezi nízkým pH novorozence a diabetem typu I.

Závěr:

V případě preeclampsie a esenciální hypertenze nebyl zvýšený výskyt intrapartální hypoxie plodu potvrzen. Důvodem může být přísnější selekce rodiček pro vaginální vedení porodu a intenzivnější monitorování plodu za porodu v případě těchto diagnóz. V případě diabetu mellitu typu I byl vliv na nízké pH jednoznačně prokázán. Převedení tohoto poznatku do klinické praxe by mělo vést ke zlepšení péče o tyto pacientky. Je třeba trvat na intenzivnějším intrapartálním monitorování a přísnějším hodnocení možných známek hypoxie plodu. Takovýmto přístupem by bylo možné docílit redukce počtu novorozenců s výskytem intrapartální hypoxie.

Poděkování:

Práce byla finančně podpořena v rámci programu P-Pool.

TRANSKRANIÁLNA MAGNETICKÁ STIMULÁCIA U PACIENTOV S PERZISTENTNOU AUROU

Viktória Lukáčová, Eduard Minks, Jiří Mastík

I. neurologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Eduard Minks

Klíčová slova: *perzistentná aura, repetitívna transkraniálna magnetická stimulácia, excitabilita kortexu*

Úvod:

Perzistentná aura bez infarktu (PABI) sa radí medzi vzácne komplikácie migrény. Pretrvávajúca porucha videnia charakteru „visual snow“ pôsobí výraznú a dlhodobú disabilitu postihnutých. Prejavuje sa ako sneženie či zrnenie kombinované s farebnými efektmi a blikaním. Účinná liečba PABI nie je v súčasnej dobe známa. Valproáty a topiramát u našich pacientov ovplyvnili priaznivo iba výskyt migrenózných záchvatov, na „visual snow“ nemala medikamentózna liečba vplyv. *Repetitívna transkraniálna magnetická stimulácia (rTMS)* je neinvasívna terapeutická metóda založená na pôsobení magnetického poľa na kortex. Našou úlohou bude otestovať, či má rTMS pozitívny vplyv na stav pacientov s PABI.

Metódy:

Repetitívna transkraniálna magnetická stimulácia používa magnetické pole o veľkosti niekoľkých tesla, aby vyvolala elektrické pole v najbližšom vodiči, ktorým sú v tomto prípade neuróny kortexu. Týmto spôsobom sú pomocou cievky aktivované rôzne nervové dráhy. Vysokofrekvenčné rTMS má obecné na kortex zdravých jedincov excitačný účinok, zatiaľ čo nízkofrekvenčné rTMS má inhibičný účinok. Z predošlých elektrofyziologických štúdií je známe, že u pacientov trpiacich migrénami s aurou je prítomná hyperexcitabilita okcipitálneho kortexu (1) a zároveň sa okcipitálny kortex po rTMS správa opačne než u zdravých kontrol - nízkofrekvenčné rTMS má na vizuálny kortex migrénikov s aurou paradoxný excitačný efekt (2) a vysokofrekvenčné rTMS naopak hyperexcitabilitu môže normalizovať. Zároveň má 10 Hz rTMS pravdepodobne aktivačný vplyv na porušené inhibičné okruhy v zrakovom kortexe (3).

V našom súbore sú zahrnutí 3 pacienti s PABI. Organická príčina ťažkostí nebola podrobným vyšetrovaním objavená. V diagnostike sme vylúčili migrenózne infarkty a psychiatrické, oftalmologické a iné poruchy. Aplikovali sme 10 Hz rTMS nad ľavým a pravým pólom okcipitálneho kortexu. Na sledovanie efektu sme použili vizuálne evokované potenciály (VEP) aplikované pred aj po samotnom rTMS, kvantitatívne denné škálovanie ťažkostí typu visual snow (škála 1-5) a dotazníky

MIDAS (Migraine Disability Assessment), ktoré nám poslúžia pri hodnotení stavu pacientov po troch mesiacoch.

Výsledky:

Stimulovali sme každého pacienta dva dni – prvý deň ľavý a druhý deň pravý okcipitálny pól. Pred samotnou stimuláciou boli zamerané VEP a hodnota motorického prahu kortexu. Stimulácia následne prebehla na intenzite 90% z individuálneho motorického prahu každého pacienta a na frekvencii 10 Hz. Po siedmych dňoch od rTMS sa subjektívne hodnotenie pacientov líšilo. U pacienta A sa príznaky PABI zlepšili na škále 0-5 približne o jeden bod, u pacienta B došlo naopak k dvojdňovému zhoršeniu príznakov tiež o jeden bod. Treba podotknúť, že intenzita magnetického poľa musela byť u pacienta B znížená z 90% motorického prahu na menej, kvôli horšiemu znášaniu stimulácie. Taktiež VEP u pacienta B sa vychýľovali z normy, vlna P100 mala tvar písmena „W“, čo svedčí o jej patologickom charaktere. Pacientka C nezaznamenala žiadne zmeny v intenzite visual snow po stimulácii. VEP sme hodnotili bezprostredne po rTMS a u všetkých pacientov došlo k nárastu amplitúdy vlny P100 v hlavnom zvode. U pacienta B došlo tiež k zmene tvaru VEP – patologický charakter vlny P100 (tvar vlny „W“) sa po rTMS mení na normálny tvar vlny P100 (tvar vlny „V“).

Záver:

Limitáciou našej práce je počet pacientov. Z prvých výsledkov je pravdepodobné, že 10 Hz rTMS nad okcipitálnym kortexom mení spracovanie zrkovného signálu, dôkazom je pozitívna zmena VEP - nárast vlny P100 v hlavnom zvode všetkých troch pacientov, a zmena patologického charakteru vlny P100 u pacienta B. Avšak vzhľadom na odlišné subjektívne hodnotenie pacientov, otázkou naďalej ostáva, či môže byť rTMS v budúcnosti dobrou terapeutickou metódou pre pacientov s PABI. Pokúsime na túto otázku odpovedať, plánujeme do štúdie zaradiť viac pacientov.

Podĕkování:

Práce byla finančně podpořena v rámci programu P-Pool.

EVOKOVANÉ POTENCIÁLY VYVOLANÉ KONTAKTNÍM TEPLEM (CHEPS)

Jan Kočica, Jana Raputová, Tomáš Skutil

Neurologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

CEITEC MU, Středoevropský technologický institut

Školitelka: MUDr. Eva Vlčková, Ph.D.

Klíčová slova: *neurofyziologie, evokované potenciály, polyneuropatie, diabetická polyneuropatie, small fiber neuropathy, neuropathic pain, somatosensory evoked potentials, healthy volunteers*

Úvod:

Evokované potenciály vyvolané kontaktním teplem (Contact Heat Evoked Potentials, CHEPS) se řadí k novým neurofyziologickým metodám, umožňujícím **hodnotit funkci tenkých nervových vláken a navazujících spinothalamických drah**. Funkční stav uvedených struktur přitom v současnosti nelze validně hodnotit žádným jiným v České Republice dostupným objektivním neurofyziologickým testem.

Cílem práce bylo zhodnotit využitelnost publikovaných normativních dat, **zvolit vhodnou oblast** (HKK, DKK), **optimální algoritmus** tohoto vyšetření a **verifikovat možnost využití CHEPS v diagnostice** poškození tenkých nervových vláken u pacientů s diabetickou polyneuropatií.

Metody:

Projekt byl realizován v rozmezí let 2015-2017 na Neurologické klinice FN Brno. Do studie byly zařazeny 2 skupiny jedinců obdobného věku a pohlaví: **40 zdravých dobrovolníků a 25 pacientů s diabetickou polyneuropatií s postižením tenkých nervových vláken** verifikovaných klinicky a současně kvantitativním testováním senzitivity a kožní biopsií. Vyšetření bylo provedeno pomocí stimulátoru PATHWAY Sensory Analyzer System (Medoc, Israel), a to jednostranně v distribuci dermatomu C6 a L5 s použitím 2 různých teplotních algoritmů: při nižším algoritmu byla generována teplota mezi 35 a 50 °C, při vyšším algoritmu mezi 42 a 52 °C. Hodnocena byla výbavnost odpovědí, jejich latence, amplituda a také subjektivní nepříjemnost aplikovaných podnětů s využitím škály v rozsahu 0-10 (Numeric Rating Scale, NRS).

Výsledky:

Ve skupině zdravých kontrol byla naprostá většina zjištěných hodnot latencí i amplitud CHEPs v rozmezí publikovaných normativních dat (Jutzeler et al. 2016, Granovsky et al. 2016, Lagerburg et al. 2015). Ve skupině pacientů s diabetickou polyneuropatií byly CHEPs vybaveny lépe při vyšším teplotním algoritmu. **Latence odpovědí na HKK i DKK byly u těchto pacientů signifikantně prodlouženy oproti zdravým kontrolám.** Stejně tak amplitudy byly ve skupině pacientů s diabetickou polyneuropatií jednoznačně nižší, a to zejména při nižším teplotním algoritmu (v souvislosti s horší výbavností odpovědí). Vyšetření CHEPs bylo pro většinu vyšetřených jedinců obou skupin mírně až středně nepříjemné, a to bez ohledu na přítomnost diabetické polyneuropatie. Nepříjemnost vyšetření byla statisticky významně vyšší při vyšším teplotním algoritmu. Průměrná bolestivost, hodnocená NRS škálou 0-10, byla při nižším teplotním algoritmu 4 a při vyšším 5. Vyšetření bylo obecně lépe tolerované na DKK.

Závěr:

Provedená studie **prokázala využitelnost publikovaných normativních dat pro CHEPs.** Na skupinové úrovni **lze vyšetření CHEPs využít v diagnostice diabetické neuropatie tenkých vláken. Odpovědi jsou u pacientů s postižením tenkých nervových vláken hůře výbavné, mají nižší amplitudu a prodlouženou latenci ve srovnání s nálezy zdravých kontrol.** Uvedené změny jsou patrné při vyšetření horních i dolních končetin a u obou použitých algoritmů. S ohledem na nižší bolestivost pro pacienta je proto s výhodou používat nižší teplotní algoritmus (35–50 °C) a vyšetřovat spíše DKK.

Poděkování:

Práce byla podpořena z prostředků MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705), interními zdroji CEITEC MUNI a projektem specifického výzkumu č. MUNI/A/1028/2016 z programu podpory studentských projektů na Masarykově univerzitě.

FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE DĹŽKU HOSPITALIZÁCIE U PACIENTOV S AFEKTÍVNymi PORUCHAMI

Natália Štefáková

Psychiatrická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Richard Barteček, Ph.D.

Klíčová slova: *délka hospitalizácie, afektívne poruchy, komorbidity, farmakorezistencia*

Úvod:

Práca sa zaoberala faktormi ovplyvňujúcimi dĺžku hospitalizácie u pacientov s afektívnymi poruchami. Dĺžka hospitalizácie zvyšuje náklady na hospitalizáciu a príliš dlhá hospitalizácia môže izolovať pacientov z ich sociálnej siete. Zatiaľ existuje iba málo štúdií, ktoré sa zaoberajú faktormi ovplyvňujúcimi dĺžku hospitalizácie špecificky u pacientov s afektívnymi poruchami. Istým voľtíkom môžu byť infómácie o faktoroch, ktoré sa týkajú psychiatrických pacientov všeobecne. Cieľom štúdie bolo zistiť faktory dostupné pri príjme, ktoré môžu ovplyvňovať dĺžku hospitalizácie u pacientov s afektívnymi poruchami.

Metody:

Do štúdie boli zaradení všetci pacienti hospitalizovaní na oddelení s afektívnymi poruchami, prijatí od januára 2015 do januára 2016 s diagnózami: depresívna fáza, periodická depresívna porucha, bipolárna afektívna porucha. Vylučovacím kritériom bola iba hospitalizácia bez súhlasu pacienta. Išlo o naturalistické prospektívne sledovanie, pričom niektoré údaje boli získané retrospektívne z dokumentácie. Starostlivosť o pacientov nebola štúdiu žiadnym spôsobom ovplyvnená. Všetci pacienti pri príjme podpísali súhlas s hospitalizáciou, ktorého súčasťou je možnosť využitia údajov v anonymnej forme pre výskumné účely.

Skúmali sme sociodemografické a klinické faktory. Z klinických faktorov boli skúmané psychiatrická diagnóza podľa MKN 10, škála celkového klinického dojmu (CGI), psychiatrické komorbidity, súčet somatických komorbidít, počet predošlých hospitalizácií, výskyt psychických chorôb v rodine, hladina C- reaktívneho proteínu (CRP), farmakorezistencia. Sociodemografické faktory boli vek pacienta, pohlavie, zamestnanie, najvyššie dosiahnuté vzdelanie, bývanie, partnerský vzťah, spúšťacie faktory.

V štatistickom spracovaní bola najprv použitá viacnásobná lineárna regresia. Ďalej bol pomocou metódy parciálnych najmenších štvorcov (PLS) zostavený model. V oboch prípadoch bola závislá premenná dĺžka hospitalizácie v týždňoch. Premenné, javiace sa na základe týchto metód ako významne vysvetľujúce dĺžku hospitalizácie potom boli ďalej štatisticky hodnotené.

Výsledky:

Skúmaných bolo 54 pacientov, z toho 33 žien a 21 mužov. Priemerný vek bol 50,09 roka (SD= 13,91). Priemerná dĺžka hospitalizácie bola 45,87 dňa (SD= 24,86). Počet pacientov, ktorí dosiahli klinického zlepšenia- CGI 2 bol 37, priemerný čas do dosiahnutia CGI 2 bol 6 týždňov (SD= 3,13). Priemerný počet predchádzajúcich hospitalizácií bol 3,46. 22 pacientov bolo farmakorezistentných. 18 pacientov bolo zamestnaných, 22 poberalo invalidný dôchodok, 10 starobný dôchodok, 2 boli nezamestnaní. 20 pacientov bolo prijatých cez Krízové centrum. 31 pacientov malo duševne chorých príbuzných. Jeden pacient bol ako outlier vylúčený zo štatistického spracovania. Korelácia medzi dĺžkou hospitalizácie a časom do CGI2 bola 0,94 ($p < 0,001$), teda dĺžka hospitalizácie takmer úplne závisela na ústupe symptómov a nie na iných faktoroch. Viacnásobná lineárna

regresia ukázala, že štatisticky významne ovplyvnili dĺžku hospitalizácie: vek ($p = 0,01$), CGI pri príjme ($p = 0,02$), počet predchádzajúcich hospitalizácií ($p = 0,03$), farmakorezistencia ($p = 0,05$). PLS regresia ukázala, že dĺžku hospitalizácie najlepšie vysvetlil model so 4 komponentami, najviac sýtený premennými: vek, počet predchádzajúcich hospitalizácií, CGI pri príjme, komorbidity a CRP pri príjme. Štatisticky významné pri ďalšom spracovaní boli následovne: korelácia medzi dĺžkou hospitalizácie a CGI pri príjme bola 0,35 ($p = 0,02$), t-test dĺžok hospitalizácii medzi pacientmi s farmakorezistenciou a bez bol 3,32 ($p = 0,002$).

Záver:

Na základe viacnásobnej regresie a PLS regresie možno povedať, že dĺžku hospitalizácie u pacientov s afektívnymi poruchami štatisticky významne ovplyvňujú iba klinické premenné a to: CGI pri príjme a počet predchádzajúcich hospitalizácií. Nádejne potom vyzerá vek, farmakorezistencia, komorbidity a CRP pri príjme. Tieto faktory ale nezvládnu odhadnúť dĺžku hospitalizácie u pacientov s afektívnymi poruchami spoľahlivo. PLS model natrénovaný na 43 pacientoch dokáže uspokojuivo odhadnúť dĺžku hospitalizácie iba u 50 %. Sledovanie pacientov na PK FN Brno ďalej prebieha. V ďalšom sledovaní by bolo vhodné sústrediť sa na viac klinických parametrov, ktoré by umožnili zostaviť lepší model faktorov ovplyvňujúcich dĺžku hospitalizácie.

HODNOTENIE KLUDOVEJ KONEKTIVITY MEDZI FUNKČNÝMI SIEŤAMI U PACIENTOV S PARKINSONOVOU CHOROBOU: FMRI ŠTÚDIA

**Patricia Klobušiaková, Radek Mareček, Lubomíra Anderková, Nela Němcová Elfmarková,
Irena Rektorová**

CEITEC MU, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školiteľka: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

Kľúčová slova: Parkinsonova nemoc, fMRI, funkční sítě, kognitivní domény

Úvod:

Medzi prejavy Parkinsonovej choroby (PD) patrí aj narušenie kognitívnych funkcií. Prevalencia demencie dosahuje u PD pacientov v priemere až 30%. Vysoké riziko progresie do demencie majú pacienti s miernou kognitívnou poruchou (MCI). U pacientov s PD môže dochádzať k postupnému narušeniu pozornosti, exekutívnych funkcií, zrakovopriestorových funkcií a pamäte. Pomocou funkčnej magnetickej rezonancie (fMRI) je možné hodnotiť konektivitu hlavných kognitívnych funkčných sietí, ku ktorým patrí „default mode network“ (DMN), zadná pozornosťná sieť (DA), zraková sieť (VN) a frontoparietálna kontrolná sieť (FPN). Cieľom práce bolo zistiť, či sa kognitívne zmeny u PD pacientov odrážajú v zmenách konektivity medzi sieťami.

Metódy:

Naša kohorta subjektov pozostávala zo 80 subjektov: 48 zdravých kontrol (HC), 16 pacientov s PD bez kognitívneho deficitu (PD-NC) a 16 pacientov s PD s kognitívnym deficitom (PD-MCI). Všetci podstúpili klinické neurologické, neuropsychologické a MRI vyšetrenie. Pre každého subjektu boli vypočítané z-skóry v jednotlivých kognitívnych doménach. Funkčné MRI dáta boli analyzované pomocou softvérov SPM 12 a Matlab 2014a. Boli vybrané reprezentatívne seedy (gule s $r = 6$ mm) v štyroch zmieňovaných sieťach – DMN, DA, VN a FPN. Následne bola vypočítaná priemerná konektivita medzi seedmi jednotlivých sietí. Z dát bol odstránený vplyv veku, pohlavia, vzdelania

a dennej levodopa-ekvivalentnej dávky (LED). Hodnotili sa rozdiely v medzisieťovej konektivitě medzi skupinami a boli vypočítané Spearmanove parciálne korelácie s kognitívnym výkonom osobitne v každej skupine.

Výsledky:

Konektivita medzi FPC a VN a medzi FPC a DA bola signifikantne znížená u PD-NC v porovnaní s HC. PD-MCI mali signifikantne zníženú konektivitu medzi FPC a DMN oproti HC, PD-NC vykazovali oproti HC mierne zníženie. Parciálne korelácie ukázali pozitívne korelácie FPC/DMN konektivity s kognitívnym výkonom v skupine HC (exekutívne funkcie) a PD-NC (pozornosť). Tiež bola prítomná negatívna korelácia DMN/VN konektivity a exekutívnych funkcií. V skupine PD-MCI sa nachádzali záporné korelácie FPC/DA a FPC/VN konektivity s pozornostnými z-skórami. V HC skupine sa signifikantne líšila FPC/DMN a FPC/DA konektivita, a FPC/DMN a FPC/VN konektivita. V skupine PD sa líšila iba FPC/DMN a FPC/VN konektivita a v skupine PD-MCI iba FPC/DMN a FPC/DA konektivita.

Záver:

Znížená kľudová konektivita medzi FPC a VN a medzi FPC a DA je spôsobená ochorením, PD-MCI kompenzujú kognitívny deficit aktívnym zvýšením konektivity medzi týmito sieťami, avšak neúspešne. Pokles FPC/DMN konektivity je patologický, vykazuje klesajúci trend cez skupiny (HC>PD-NC>PD-MCI). FPC/DMN konektivita pozitívne koreluje s kognitívnym výkonom v skupinách HC a PD-NC, v PD-MCI skupine táto korelácia nie je prítomná, avšak sú prítomné negatívne korelácie kognitívnych z-skórov s niektorými medzisieťovými konektivitami, čo naznačuje snahu o kompenzačný mechanizmus. Kľudová fMRI ukazuje funkčné zmeny v prepojení kognitívnych sietí u pacientov s PD, ktoré sú asociované so zmenami najmä exekutívnych a pozornostných funkcií.

Podĕkování:

Podporené JPND grantom APGeM a grantom 15-33854A českého Ministerstva zdravotníctva. Ďakujeme core facility MAFIL CEITEC podporenej MEYS CR (LM2015062 Czech-BioImaging). Práca bola finančne podporená v rámci programu P-Pool.

RADIOTERAPIE U PACIENTŮ S GLIOBLASTOMEM: TECHNIKY ZÁŘENÍ A VLIV NA LÉČEBNÉ VÝSLEDKY

Adam Dziacky

Klinika radiační onkologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Tomáš Kazda

Klíčová slova: glioblastom, Stuppův režim, 3D-CRT, RapidArc

Úvod:

Glioblastom (GBM) je nejčastější a nej malignější primární mozkový nádor dospělých pacientů. I přes multimodální léčbu (pooperační konkomitantní chemoradioterapie a následná adjuvantní chemoterapie – tzv. Stuppův režim) však zůstává prognóza infaustní. Radioterapie (RT) je základní léčebnou metodou, která je indikována prakticky u všech pacientů s GBM. V současnosti jsou využívány především dvě techniky RT: 3D konformní radioterapie (3D-CRT) a pohybová terapie s modulovanou intenzitou ozařovacího svazku (RapidArc®). Cílem této retrospektivní studie je zhodnocení léčebných výsledků pacientů ozařovaných pro GBM a porovnání dvou zmíněných technik RT.

Metody:

Analyzována byla data pacientů ozařovaných v Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ) pro glioblastom v letech 2013-2015. Z elektronické dokumentace byla získána základní data včetně známých nezávislých prognostických faktorů jako je věk v době diagnózy, rozsah operačního výkonu (kompletní resekce – GTR, subtotální resekce – STR, biopsie), nebo celkový výkonnostní stav (vyjádřený Karnofskyho indexem 0-100%) v době zahájení radioterapie. Dále byla hodnocena doba do zahájení RT od operace, technika RT, konkomitantní a adjuvantní chemoterapie (CHT), progresse reziduální choroby na plánovacím MRI (před zahájením RT) a analýza celkového přežití a doby do progresse na MRI (PFS).

Výsledky:

Celkem bylo hodnoceno 97 pacientů (medián věku 61 let, 56,7 % muži). GTR podstoupilo 30,9 %, STR 49,5 % a biopsii 15,5 % pacientů. Karnofsky index $\geq 70\%$ byl u 79,4 %. Konkomitantní chemoradioterapii podstoupilo 47/97 pacientů (48,5 %), následnou chemoterapii (tedy léčba dle Stuppova režimu) celkem 31/97 pacientů (32 %). Techniky záření: 3D-CRT 21,6 %, RapidArc 64,9 % s mediánem doby do zahájení RT 7 týdnů.

Medián celkového přežití (mOS) u všech pacientů byl 6,7 měsíců. mOS byl signifikantně lepší u pacientů léčených Stuppovým režimem (16,9 vs. 4,2 měsíce, $p < 0,001$), u pacientů bez progresse na plánovacím MRI (14,9 vs. 5,2 měsíce, $p = 0,0047$) a u pacientů s ≤ 6 týdny do zahájení RT (10,1 vs. 5,6 měsíce, $p = 0,018$). Rozsah operace signifikantně koreloval s mOS. Rozdíl mOS mezi 3D-CRT a RapidArc nebyl významný (5,7 vs. 7,4 měsíce, $p = 0,11$). Korespondující mediány PFS: u všech pacientů 4,2 měsíce, u pacientů léčených dle Stuppova režimu 8,78 vs. 2,7 měsíce ($p < 0,001$), bez vlivu techniky RT: 4,09 měsíce u 3D-CRT a 4,09 u RapidArcu.

Medián doby do zahájení RT u pacientů bez progresse na plánovacím MR byl 6,6 týdnů vs. 7,5 týdnů u pacientů s progresí na plánovacím MR ($p = 0,057$).

Závěr:

Léčebné výsledky pacientů s plnou adjuvantní onkologickou léčbou jsou srovnatelné se zahraničními soubory (mOS 16,9 měsíce), u pacientů s paliativní léčbou je však přežití pouze několik měsíců s mOS 4,2 měsíce. Nepozorovali jsme zlepšení parametrů přežití s použitím moderních radioterapeutických technik, jejich hlavní výhodou tak nadále zůstává především menší riziko ozáření okolní mozkové tkáně a rychlejší provedení jednotlivé ozařovací frakce. Jako negativní prognostický faktor jsme validovali nález progredujícího rezidua na plánovacím MR vyšetření, které je, očekávaně, častější u pacientů s delší dobou do zahájení RT. Na základě tohoto zjištění byla v MOÚ přijata opatření, vedoucí ke zkrácení doby do zahájení RT po operaci.

TIMP-2 POLYMORFIZMUS U PACIENTOV S KOŽNÝM T-LYMFÓMOM

Andrej Nesteš, Eliška Langerová, Anna Vašků

Ústav patologické fyziologie, I. dermatovenerologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelé: prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., prof. MUDr. Vladimír Vašků, CSc.

Klíčová slova: maligní T-lymfom, genové polymorfismy, TIMP-2, parapsoriáza

Úvod:

Kožné T-lymfomy (CTCLs) tvoria heterogénnu skupinu malígnych ochorení. Príčina a faktory rozvoja ochorenia neboli doposiaľ jednoznačne objasnené. Zdá sa, že angiogenéza je dôležitá v rozvoji

ochorenia tak ako to dokladujú mnohé štúdie, v ktorých sa preukázala vyššia hustota mikrociev v ložiskách CTCL. Tiež bolo zistené, že u pokročilých štádií CTCL koreluje progresia ochorenia s expresiou a produkciou matrixmetaloproteináz. TIMP-y sú prirodzenými inhibítormi MMPs. Účelom našej štúdie bolo zistiť, či majú polymorfizmy génu pre TIMP-2 vzťah k prognóze, k veľkosti lézií alebo, či môžu byť použité ako marker pre odlišenie jednotlivých štádií CTCL.

Metody:

Celkový počet 135 pacientov s CTCL bolo klasifikovaných podľa Tumor Node Metastasis (TNM) Classification for Cutaneous T-Cell Lymphoma na základe Kashani-Sabet et al. 2001. V skupine bolo 23 pacientov s parapsoriasisou. Pacienti boli liečení lokálnou terapiou (63%), fototerapiou (49%), a systémovou terapiou (28%). DNA bola izolovaná z lymfocytov periférnej krvi pomocou štandardných metód. Na PCR reakciu sme použili primer-y: 5'-GCCCAGGGTGTCTGGATGG-3' a 5'-CTCCGGCTGATGGCCCCACT-3'. Produkt pre restriktívnu analýzu mal 221bp. Štiepený bol enzýmom BsrI 2,5U pri 65°C za 4 hod., pričom mohli vzniknúť fragmenty o dĺžke 221bp, 160bp a 61bp. V 2% agaróze s ethidiumbromidom sme potom pod UV lampou rozlišovali tri genotypy: GG (221bp) AA (160+61bp) AG (221,160,61bp).

Výsledky:

Podarilo sa nám preukázať, že pacienti s homozygotným genotypom GG a AA boli 4-krát častejšie liečení systémovou terapiou oproti pacientom s heterozygotným genotypom AG (odds ratio 4,04; konfidenčný interval 0,875-16,670; P=0,04; senzitivita 0,935; špecifita 0,218; sila testu 0,373). U pacientov s genotypom GG a AA sa vyššie štádia lymfómov vyskytovali takmer 3-krát častejšie v porovnaní s pacientmi s genotypom AG (odds ratio 2,785; konfidenčný interval 1,030-7,535; P=0,04; senzitivita 0,839; špecifita 0,348; sila testu 0,306). Pacienti trpiaci vyššími štádiami CTCL boli pritom liečení 12-krát častejšie celkovou liečbou (odds ratio 12,35; 95% konfidenčný interval 1,590-95,967; P=0,002; senzitivita 0,970; špecifita 0,278). Z výsledkov vyplýva výrazný rozdiel medzi pacientami s vyššími štádiami CTCL a tými s parapsoriasisou (benígne prejavy), pričom sa zdá, že heterozygotný model je pre svojho nositeľa výhodnejší.

Záver:

Pacienti trpiaci vyššími štádiami CTCL boli signifikantne častejšie liečení systémovou terapiou. V našom súbore sa homozygotný model vyskytoval častejšie u pacientov s vyššími štádiami ochorenia. Záverom môžeme konštatovať, že náš farmakogenetický výsledok, môže poskytnúť jeden z nástrojov k skorému rozlíšeniu pacientov, ktorí budú potrebovať radikálnejšiu liečbu.

IMUNOLOGICKÝ PŘÍSTUP K DIAGNOSTICE CELIAKIE

Martina Thonová

Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: prof. MUDr. Vojtěch Thon, Ph.D.

Klíčová slova: celiakie, tkáňová transglutamináza, gliadin, protilátky, alergie

Úvod:

Celiakie (synonyma celiakální sprue nebo glutenová enteropatie) je chronické zánětlivé onemocnění tenkého střeva, zejména jejunu, způsobené přecitlivělostí na lepek (gluten). Vyskytuje se u geneticky predisponovaných jedinců. V současnosti se považuje za systémové autoimunitní onemocnění. Protilátky jsou namířeny proti tkáňové transglutamináze (tTG), je zvýšená propustnost střevní sliznice a zřetelná genetická vazba na HLA antigeny. Tyto skutečnosti mají zásadní význam při klinickém a laboratorním vyšetření, diagnóze nemoci i diferenciální diagnostice.

Projevy se neomezuji pouze na potíže střevní, nýbrž mohou být extraintestinální. Kožní formu onemocnění představuje dermatitis herpetiformis Duhring.

Metody:

V průběhu dvouletého období sledování bylo provedeno komplexní imunologické vyšetření se zaměřením na celiakii u 1213 pacientů (věk 1 - 79 let, z toho do 18 let n = 585, nad 18 let věku n = 628). Hladiny celkového sérového IgA a IgG byly stanoveny nefelometricky. Protilátky proti tkáňové transglutamináze a proti deamidovanému gliadinu ve třídách IgA i IgG byly vyšetřeny metodou ELISA. Protilátky proti endomysiu byly vyhodnoceny nepřímou imunofluorescencí. Specifické sérové IgE protilátky byly změřeny na analyzátoru chemiluminiscenčně.

Výsledky:

V imunologicky komplexně vyšetřeném vzorku 1213 pacientů byla prokázána celiakie u 53 (4,2 %). U pacientů s prokázanou celiakií mělo 34 silně pozitivní IgA anti-tTG protilátky, 10 pacientů IgA anti-tTG protilátky v rozmezí 60-300 U/ml (středně vysoká pozitivita) a 9 pacientů v rozmezí 18-30 U/ml (nižší pozitivita). Z toho z nich 47 nemělo v době vyšetření bezlepkovou stravu (byli exponováni lepkem). Navíc bylo pozitivní vyšetření protilátek proti deamidovanému gliadinu (anti-DGP) ve třídě IgG u pacienta s dermatitis herpetiformis Duhring, u něhož však byly IgA anti-tTG negativní. Na druhé straně v diferenciální diagnostice jiného pacienta se suspektní Duhringovou dermatitidou bylo imunologické laboratorní vyšetření jak anti-tTG protilátek tak i anti-DGP protilátek ve třídách IgA i IgG negativní. Následným systematickým vyšetřením se u tohoto pacienta prokázala potravinová alergie, včetně pozitivivity IgE protilátek proti gliadinu ve II. třídě a pšeničné mouce ve III. třídě.

Závěr:

V procesu diagnostiky celiakie je významné vyšetření sérových IgA protilátek proti tkáňové transglutamináze (IgA anti-tTG) a stanovení celkových sérových imunoglobulinů IgA. V případě vysokých hladin IgA anti-tTG protilátek (nad 300 U/ml) je diagnóza celiakie velmi pravděpodobná. Imunologické laboratorní vyšetření sérového IgA a protilátek IgA anti-tTG je citlivé a specifické. Může být přínosné i pro screening celiakie, která je v ČR stále poddiagnostikována, pro její včasný záchyt, jakož i pro diferenciálně diagnostickou rozvahu v případě klinických nejasností.

BEXAROTENE USE IN THE TREATMENT OF CUTANEOUS T CELL LYMPHOMA

Shugufa Dinarkhail

Dermatovenerologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Vašků, CSc.

Klíčová slova: *Cutaneous T Cell Lymphoma, Bexarotene, Retinoid receptor, Retinoid*

Background:

Cutaneous T-cell lymphomas encompass a group of non-Hodgkin's lymphomas, characterised by a clonal proliferation of epidermotrophic malignant T lymphocytes. Common entities include Mycosis fungoides and its leukemic variant Sézary syndrome. Mycosis Fungoides can present as chronic eczematous or psoriasiform patches/ plaques, in late stages forming tumorous lesions. The staging system TNMB is dependant on the involvement of the skin, presence of disease in the lymph nodes, the viscera and finally detection of Sézary cells in the peripheral blood. Diagnosis of Cutaneous T cell Lymphomas are made on biopsy.

Methods:

For almost 2 decades clinicians have treated Cutaneous T-cell lymphomas with regimens that combine interferon alfa with retinoid compounds. Retinoids used in conjunction with systemic therapy such as interferon alfa have showed superior results and better response rates. Unfortunately, this is not always curative and thus patients develop advanced or ultimately relapsed disease that is often refractory to standard treatment options.

Results:

In late 2013 new manifestation presented on the patients arms. After excision of the lesions there was proved relapse of Mycosis Fungoides. Between May and November 2014 the patient was started on a combination therapy of Targretin and Interferon alfa. Finally in May 2015 the patient went into remission and has til date been stable.

Conclusion:

Previous studies with Bexarotene have shown its' effectiveness in the treatment of Cutaneous T cell Lymphoma in patients who have not had good clinical outcome on other therapies. Patients should realize however that they also have a key role in overcoming the disease. It is imperative that they also lead a healthy diet and lifestyle. The medical team should also ensure timely treatment of infections, maintaining a good skin barrier whilst using skin directed therapy to overcome the disease.

VZŤAH LÉZIÍ BIELEJ HMOTY (WHITE MATTER LESIONS – WML) S VASKULÁRNymi RIZIKOVÝMI FAKTORMI U PARKINSONOVEJ CHOROBY

Michael Grey, Ivan Rektor, Branislav Veselý, Martin Gajdoš

CEITEC MU, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: prof. MUDr. Ivan Rektor, CSc.

Klíčová slova: WML, terapia, homocysteín, biochémia

Úvod:

Lézie bielej hmoty – white matter lesions (WML) – sú často náhodné radiologické nálezy na T2-vážených MRI snímkoch mozgu. Súčasné vedecké poznanie o ich vplyve na zdravie, ako aj ich etiológii, je kontroverzné. Prevláda teória vaskulárneho poškodenia endotelu mozgových ciev s následnou ischemizáciou, axonálnou degeneráciou a vyhojením formou fibro-gliálnej jazvy. Tejto teórii by nasvedčovala závislosť množstva lézií WML, a ich zhoršenie v čase, od známych vaskulárnych faktorov. Význam WML u Parkinsonovej choroby je nejasný a je predmetom diskusií. Jednu z hypotéz je, že liečba L-dopou prostredníctvom zvýšenia plazmatickej hladiny homocysteínu prispieva k vzniku WML. Účelom našej práce bolo preskúmať túto závislosť.

Metody:

Do prospektívnej longitudinálnej štúdie sme zapojili kohortu 47 pacientov s diagnostikovanou Parkinsonovou chorobou. Týmto sme na začiatku štúdie a potom po dvoch rokoch znova zmerali objemy lézií bielej hmoty v mozgu (WML) a biochemické parametre: homocysteín, LDL-cholesterol, triacylglyceroly TAG, kyselinu močovú a HDL-cholesterol, vitamíny B9 a B12. Z anamnézy sme vyčítali vek, pohlavie a dávky liekov. Ďalej sme rozdelili pacientov do skupín ateroskleróza (áno/nie), hypertenzia (áno/nie), a typ liečby (1: L-dopa + agonista, 2: ICOMT, 3: samotný L-dopa agonista).

Lézie sme manuálne označili, nakoľko automatické označovanie je dnes ešte značne nepresné. Pomocou parcelačného atlasu sme lézie lokalizovali do 50 rôznych oblastí, ktoré sme potom spojili do dvoch superoblastí - subkortikálne a periventrikulárne. Vyhodnocovali sme kvantitatívne objem lézií aj semikvantitatívne dynamickú zmenu (na škále Prins et al.). Ostatné parametre sme získali štandardnými metódami.

Výsledky:

Zmena WML v periventrikulárnej aj subkortikálnej oblasti, a objem WML na začiatku a po 2 rokoch, medzi sebou silno korelovali. Okrem toho korelovala vážnosť a zhoršenie WML s vekom. Medzi pohlaviami sa líšili hodnoty urátov a lipidov ako je známe, po korekcii na pohlavie a vek nekorelovali žiadne biochemické parametre, ani sa významne nelíšili skupina s aterosklerózou/hypertenziou a bez nich. Typ ani dávky liečby nemali vplyv na WML.

Záver:

Vitamín B12 znižoval hladiny homocysteínu v sére, a homocystein pozitívne koreloval so zvýšenými urátmi. Hypertonici mali zvýšený homocystein aj LDL cholesterol. Ateroskleróza bola pozitívne asociovaná s LDL cholesterolom a negatívne s HDL, ako ukázali aj iné výskumy. Priamo na WML však žiadne z týchto faktorov významne nepôsobili. Negatívny vplyv liečby L dopou na WML alebo hladiny homocysteínu, ktoré boli v iných publikáciách naznačené, sme nepotvrdili.

PodĎekování:

Práce byla finančně podpořena v rámci programu P-Pool.

SROVNÁNÍ KLASICKÉHO A INOVOVANÉHO DESIGNU GO/NOGO TASK NA ZDRAVÝCH DOBROVOLNÍCÍCH

Daniela Rudišínová

Psychiatrická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: *impulzivita, behaviorální inhibice, inovovaný design Go/NoGo Task, klasický design Go/NoGo Task*

Úvod:

Impulzivitu definujeme jako jednání na základě momentálního popudu bez zvažování důsledků daného chování. Model impulzivity postaven na poruše neurobiologického podkladu rozlišuje dva podtypy poruch: narušení behaviorální inhibice a snížení tolerance čekání na odměnu. Test Go/NoGo Task je navržen pro detekci poruch v behaviorální inhibici, které testuje evokováním impulzivního chování. V klasickém designu může docházet ke zkreslení výsledků pro jeho vyšší kognitivní náročnost. Cílem inovovaného designu je snížit náročnost testu a zabránit aktivaci behaviorální inhibice po celou dobu trvání úkolu na dobu jenom pro aktivaci navrženou. Cílem studie je srovnání klasického designu testu s inovovaným designem vzhledem k jejich kognitivní náročnosti.

Metody:

Klasický test pozůstává ze dvou typů podnětů. Na Go podnět (písmeno A), který je ukazatelem pozornosti, vyšetřovaný odpovídá stlačením tlačítka co nejdříve po jeho zobrazení. Na NoGo podnět (písmeno B), který představuje ukazatel behaviorální inhibice, má vyšetřovaný reakci naopak potlačit. Porucha inhibice se projevuje sníženou schopností potlačit předčasné nebo nežádoucí chování, v našem případě stlačení tlačítka - porucha se projeví motorickou impulzivitou.

Do inovovaného designu byl přidán třetího podnětu tzv. Go Control podmínka (jistá podmínka), kdy vyšetřovaný předem ví, že následovat bude Go stimulus – předchází mu zelený fixační křížek. Nejistou podmínku, po které může následovat Go i NoGo stimulus předchází červený fixační křížek. Testování proběhlo na zdravých dobrovolnících ve čtyřech blocích měření, v každém po 54 podnětů ve programu E-Prime 2.0. Každý ze stimulů představoval třetinu z celkového počtu stimulů. Výstupem úkolu je počet chybných reakcí na NoGo stimul a reakční čas (dále RT) na Go a Go Control stimul.

Výsledky:

Testování bylo provedeno na zdravých dobrovolnících (N=32, věk 18-33 let, 59% mužů). Výsledky u inovovaného designu jsou následovné. Kontrola pozornosti během testu: RT na Go podněty: M=376,4; SD=47,2; RT na Go Control podněty: M=308,0; SD=47,1; párový t-test: $t(31) = 13,126$; $p < 0,001$; $d = 1,45$. Behaviorální výkon: NoGo chyby: M= 8,6%; SD= 6,7%. Výsledky u klasického designu pro Go stimulus: RT: M=340; SD=79,0 a pro NoGo chyby: M=30,2%, SD=16,8%.

Bylo dokázané signifikantně nižší zastoupení chyb v NoGo podmínce při inovovaném designu testu. I reakční čas mezi Go a Go Control podnětem byl u inovovaného testu nižší.

Závěr:

Ukazatele (RT a četnost chyb) zprostředkovali informaci, že inovovaný design Go/NoGo Task má schopnost vyloučit záměnu neurální aktivity spojené s behaviorální inhibicí za aktivitu spojenou s kognitivní náročností testu. Jelikož jsou testy s menší kognitivní náročností jsou vhodnější pro využití ve fMRI a EEG studiích, inovovaný design představuje vhodnou metodu pro detekci impulzivního chování. Nabízí tedy možnost hledání elektrofyziologických korelátů impulzivního chování, které v mozku vznikají vlivem zobrazení určitého typu podnětu a zpřesnění diagnostiky impulzivity u pacientů s dalším využitím v léčbě.

Poděkování:

Práce byla finančně podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví 15-30062A a v rámci programu P-Pool.

OVPLYVŇOVANIE KOGNITÍVNYCH FUNKCIÍ POMOCOU REPETITÍVNEJ TRANSKRANIÁLNEJ MAGNETICKEJ STIMULÁCIE U PACIENTOV S MIERNOU KOGNITÍVNOU PORUCHOU PRI ALZHEIMEROVEJ CHOROBE

Dominik Pižem, Lubomíra Anderková, Irena Rektorová, Martin Gajdoš, Patrícia Klobušiaková

CEITEC MU, Skupina aplikovaných neurověd, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

Klíčová slova: *repetitivní transkraniální magnetická stimulace, Alzheimerova nemoc, plasticita mozku, Stroop task*

Úvod:

Alzheimerova choroba je nejčastější příčinou demencie u lidí. Je sprevádžaná zhoršováním kognitivních funkcí, vedoucím k úplné strate samostatnosti při každodenných činnostech. Doposiaľ neexistuje žiadna neuroprotektívna či kauzálna liečba Alzheimerovej choroby. Predošlé štúdie ukazujú, že repetitívna transkraniálna magnetická stimulácia (rTMS) je sľubným nástrojom na štúdiu a moduláciu mozgovej plasticity, čo by mohlo znamenať jeho potenciálne využitie

na zlepšovanie kognitívnych funkcií. Naším zámerom bolo preskúmať účinok rTMS na kognitívny výkon pacientov s MCI-AD a taktiež ďalej objasniť, do akej miery môže byť mozgová plasticita ovplyvnená rTMS pri normálnom a patologickom starnutí.

Metody:

Protokol štúdie pozostával pre každého dobrovoľníka celkovo zo siedmich sedení. Pri prvom sedení prebehla akvizícia T1 a T2 štruktúrnych snímok, skúška kognitívnej úlohy a neuropsychologické vyšetrenie na ohodnotenie prípadného kognitívneho deficitu. Počas nasledujúcich 6 sedení bol každý dobrovoľník stimulovaný v randomizovanom poradí nad vertexom alebo oblasťami záujmu (ROI). ROI boli v našej štúdii pravý Gyrus frontalis inferior a ľavý Lobulus parietalis superior, obe podľa pilotných dát aktivované pri kognitívnej úlohe. Vertex bol vybraný ako kontrolné miesto stimulácie. Pre stimuláciu boli vybrané dva theta-burst protokoly. V prípade cTBS (continuous theta-burst stimulation) sa jednalo o 600 pulzov v súvislom 40-sekundovom bloku a v prípade iTBS (intermittent theta-burst stimulation) o 600 pulzov v dvojsekundových blokoch striedaných osemsekundovými pauzami. Intenzita stimulácie bola prispôbená na 80% aktívneho motorického prahu daného dobrovoľníka. Na navigáciu cievky bol využitý pokročilý systém bezrámovej stereotaktickej neuronavigácie. Akvizícia dát prebiehala pomocou 3T funkčnej magnetickej rezonancie (fMRI) pred a okamžite po každej stimulácii. Meraný fMRI protokol pozostával zo Stroopovho testu pre fMRI podmienky zameraného na kognitívny výkon meranej osoby kde sa sledovala rýchlosť a správnosť odpovedí a z merania kľudovej konektivity (resting state, RS). Každéj osobe bola odobraná vzorka krvi pre koreláciu výsledkov s prítomnosťou rizikovej alely APOE4.

Výsledky:

Priebežné výsledky pochádzajú z fMRI dát od prvých 20-tich mladých zdravých kontrol, ktoré boli spracované v prostredí MATLABu v toolboxe SPM12. Vykonali sme single subject GLM (general linear model) analýza, seed based analýza kľudovej konektivity, a ďalej boli pomocou párových t-testov vyhodnotené reakčné časy a chybovosť odpovedí pri Stroopovej úlohe.

Priebežné behaviorálne výsledky ukazujú, že reakčné časy po inkongruentných podnetoch boli všeobecne dlhšie ako reakčné časy po podnetoch kongruentných. Párový Studentov t-test preukázal signifikantné zníženie reakčných časov po stimulácii vertexu (pri oboch cTBS aj iTBS) oproti časom pred stimuláciou.

Výsledky z fMRI dát ukázali štatisticky signifikantný rozdiel v aktivácii IFG po cTBS stimulácii nad vertexom ako reakciu na konflikt pri inkongruentných stimuloch.

Seed based analýza resting-state konektivity preukázala na hladine významnosti $p=0,001$ zosilnenie konektivity medzi RIFG a ľavým Gyrus parahippocampalis po stimulácii RIFG protokolom iTBS. Ďalej po stimulácii RIFG pomocou cTBS sme zistili zosilnenie konektivity RIFG - RIPL (pravý Inferior parietal lobule). Pri použití LSPL ako seedu sme po iTBS stimulácii odhalili zvýšenú konektivitu medzi LSPL a pravým Superior temporal gyrus a medzi LSPL a ľavým Gyrus parahippocampalis. Po cTBS stimulácii sme zistili zvýšenie korelácie LSPL-Superior frontal gyrus obojstranne.

Záver:

Naše doterajšie výsledky nepreukazujú výrazné zlepšenie v kognitívnom výkone pri Stroopovej úlohe, čo však môže byť spôsobené stropným efektom u mladých zdravých dobrovoľníkov, obzvlášť ak vezmeme do úvahy 97 percentnú úspešnosť správnych odpovedí.

Čo však naše výsledky preukazujú, sú zmeny vo funkčnej konektivite ako počas vykonávania kognitívnej úlohy tak v kľudovom stave, čo dokazuje pôsobenie rTMS stimulácie na mozgovú plasticitu. Nasledujúcim krokom bude nábor skupín seniorov a pacientov, u ktorých očakávame, že

vzhľadom na známy fenomén funkčnej reorganizácie neurálnych systémov pri starnutí, prinesú významnejšie rozdiely v kognitívnom výkone v závislosti na rTMS stimulácii.

PodĎakování:

Riešitelia projektu ďakujú core facilitate MAFIL CEITEC podporovanej Ministerstvom školstva, mládeže a telovýchovy českej republiky (LM2015062 Czech-bioimaging) a grantom 1631868A Ministerstva zdravotníctva Českej republiky.

EFFECTS OF PLAYING A COMPUTER GAME ON COGNITIVE FUNCTIONS IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

Ján Trnka, Marek Baláž

I. neurologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: doc. MUDr. Marek Baláž, Ph.D.

Klíčová slova: *Parkinson's disease, computer game, cognitive functions, P300*

Background:

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder with symptoms caused mainly by loss of dopamine-containing neurons in substantia nigra. PD is one of the most common neurodegenerative diseases among people older than 50 and is probably the neurodegeneration with the widest range of available therapeutic methods and interventions. PD symptoms include a whole range of non-motor and motor deficits including an increased risk of tripping, falls and slips. Despite a wide range of available therapeutic methods, there still remain many unmet needs for PD patients that especially include postural instability and cognitive dysfunction. Previous studies indicate that computer games are able to improve various symptoms of PD.

Methods:

Participants were selected by using MDS Unified Parkinson's disease rating scale (MDS-UPDRS). All participants must own a computer and they had to know how to control it, otherwise they were excluded. Our analysis is based on 7 participants, all of them playing the same computer game called Trackmania Nations Forever for 15 - 20 minutes four times a week for a period of four weeks. Trackmania Nations Forever is a racing game where players control a car on various tracks. Players try to reach the finish line in the shortest time and they avoid crashing into the walls around the track. The main reason why Trackmania Nations Forever was selected as a game for our research is that it can be controlled with one hand. Patients with PD usually have problems with coordination when they do something with both hands. The second reason was that the game is free and has low system requirements, so participants didn't have any problems to run the game on their computers. The P300 wave was used to compare effectiveness and the reaction time of participants before and after an intervention. The P300 wave is an elevated related potential component elicited in the process of decision making and is recorded from the scalp from EEG electrodes.. It is a positive reflection in voltage, it is called P300 because it usually appears around 300 milliseconds after the stimulus. Additionally, the participants were asked if they enjoyed playing the game.

Results:

Our results revealed many problems with the use of this particular computer game as a research tool. Most of the participants didn't finish the intervention, they had problems controlling it

(arrows on the standard PC keyboard) or they found the game too complicated. In addition, there was no control from our side if participants really played the game as they should and some participants abandoned playing quite shortly. Additionally, we found out that P300 was not an easy tool to assess the effect of computer games.

Conclusion:

We are of the opinion that more research is needed until computer games can be recognized as a viable research or treatment method for patients with PD.

Acknowledgement:

Práce byla finančně podpořena v rámci programu P-Pool.

4. STOMATOLOGICKÁ SEKCE

VZNIK DEMINERALIZACÍ SKLOVINY PŘI LÉČBĚ FIXNÍM ORTODONTICKÝM APARÁTEM

Dáša Hegerová

Stomatologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: doc. MUDr. Pavlína Černochová, Ph.D.

Klíčová slova: demineralizace, fixní ortodontický aparát, bílé skvrny

Úvod:

Vysoká úroveň dentální hygieny v průběhu ortodontické léčby je základním předpokladem pro její úspěšný výsledek. Bílé skvrny jako projev demineralizace skloviny jsou častým vedlejším efektem při léčbě fixním ortodontickým aparátem. Jedná se o iniciální kazivé léze, které jsou patrné hlavně po sejmutí fixního aparátu. Terapie demineralizací skloviny zahrnuje metody vedoucí k remineralizaci skloviny a metody překrývající léze, u kterých již není možná jejich remineralizace. Cílem práce bylo za pomoci dotazníku zjistit prevalenci, prevenci a terapii bílých skvrn v ordinacích zubních lékařů ortodontistů v České a Slovenské republice a srovnat výsledky s jinými studii.

Metody:

Pro získání odpovědí byl vytvořen krátký elektronický dotazník sestávající z 27 otázek. Dotazník byl rozeslán na e-mailové adresy zubních lékařů ortodontistů volně přístupných na stránkách České ortodontické společnosti. Dále byl dotazník prostřednictvím Slovenské ortodontické společnosti rozeslán jejím členům. Dotazník byl také umístěn na sociální síti Facebook ve skupině pro ortodontisty a postgraduální studenty.

V dotazníku byli zubní lékaři rozděleni podle oboru na ortodoncii a ortodoncii a praktické zubní lékařství. Byla dotazována délka praxe v oboru ortodoncie a velikost města, kde lékaři pracují. V první části byly otázky na přítomnost bílých skvrn, jejich prevalenci, lokaci a zaznamenávání přítomnosti bílých skvrn před léčbou. Druhá část byla věnována otázkám dentální hygieny, předčasnému ukončení ortodontické léčby, antimikrobiálním preparátům a možnostem terapie bílých skvrn. Ve třetí části byly otázky na kontrolu bílých skvrn po léčbě a jejich remineralizaci.

Výsledky:

Dotazník zodpovědělo 156 ortodontistů za dobu 30 dní. Podle očekávání se téměř všichni ortodontisté setkali s výskytem bílých skvrn u svých pacientů. Většina ortodontistů (90,07 %) zaznamenává vznik bílých skvrn u méně než 30% svých pacientů. U jednoho pacienta lékaři pozorují bílé léze na 3–4 zubech, nejčastěji pak na horních řezácích. Téměř všichni dotázaní lékaři vyšetřují přítomnost bílých skvrn přítomných před ortodontickou léčbou. Dle výsledků vyplývá, že pouze 25–50 % pacientů má při vstupní konzultaci vyhovující úroveň hygieny pro ortodontickou léčbu. Služeb dentální hygieny využívají téměř všichni dotázaní ortodontisté. Většina dotázaných lékařů (90,73 %) někdy předčasně ukončuje ortodontickou léčbu. Pouze polovina dotázaných lékařů doporučuje svým pacientům antimikrobiální preparáty, nejčastěji fluoridové (83,75 %) a chlorhexidinové preparáty (63,75 %). Pro terapii demineralizací skloviny doporučují lékaři nejčastěji CPP-ACP, nízké dávky fluoridů, kompozitní dostavby a infiltraci (ICON). Téměř tři čtvrtiny ortodontistů pozorují úplnou remineralizaci u méně než 25 % skvrn. U 25–50 % lézí lékaři pozorují

jejich částečnou remineralizaci (změnění). Remineralizaci u pacientů po sejmutí fixního aparátu kontroluje 81,46 % respondentů.

Závěr:

Demineralizace skloviny jsou závažnou komplikací, která ztěžuje průběh ortodontické léčby a znehodnocuje její výsledek. K preventivním opatřením patří především dobrá úroveň orální hygieny pacienta a vhodná volba antimikrobiálních preparátů. Bohužel méně než polovina pacientů odeslaných k ortodontické léčbě má vyhovující úroveň orální hygieny. Také pouze polovina lékařů doporučuje svým pacientům antimikrobiální preparáty. Vzhledem k tomu, že většina bílých skvrn je ireverzibilních, je důležité, aby ortodontisté věnovali stavu hygieny dutiny ústní maximální pozornost.

POHLED NA ORTODONTICKOU LÉČBU RŮZNÝCH VĚKOVÝCH SKUPIN OBYVATEL, A TÍM OVLIVNĚNÁ COMPLIANCE PACIENTA

Šárka Piklová

Stomatologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: doc. MUDr. Pavlína Černochová, Ph.D.

Klíčová slova: spolupráce, ortodontický aparát, nošení aparátu, stydlivost, reakce okolí, operace, extrakce, doba léčby, finance, spokojenost s výsledkem

Úvod:

Ortodontická léčba je nedílnou součástí dnešní péče o chrup. Mnoho pacientů ji sice podstupuje pouze z hlediska estetiky, tato léčba je však velmi důležitá i z hlediska funkce mastikační a fonační. Vůči ortodontické léčbě existuje také mnoho předsudků spojených především s posměchem. Cílem práce bylo zjistit, jak tuto léčbu obecně populace vnímá, jak ji vnímají jednotlivé věkové skupiny a jaký vliv na spolupráci pacienta při léčbě mají ortognátní operace, extrakce zubů, doba léčby, finance či reakce okolí.

Metody:

Téma je zpracováno formou průzkumu, který byl zaměřen na okres Šumperk v Olomouckém kraji. Byl provedený ve věkových kategoriích 10-14 let, 15-19 let a 20 a více let. Jelikož první dvě kategorie zahrnují interval pouze pěti let, byla i třetí kategorie adekvátně přepočítána na toto rozmezí. Při výběru vzorku byla použita kvótní metoda, kdy musíme znát strukturu základního souboru, neboť vzorek by měl mít stejnou strukturu. Údaje o struktuře obyvatel města Šumperka a jeho okolí v jednotlivých věkových skupinách byla získána z Českého statistického úřadu. Relevantní počet respondentů vzhledem k velikosti okresu, který byl i dosažen, je 850. Ze známého počtu obyvatel s ohledem na věk a pohlaví a známého nutného počtu respondentů bylo trojčlenkou dopočítáno, komu je potřeba dotazník předložit. Dotazníky byly zpracovány elektronickou formou přes webovou stránku www.vyplnto.cz a rozeslány prostřednictvím sociálních sítí a e-mailů. Díky osloveným učitelům bylo získáno mnoho respondentů z řad studentů, kteří dotazník vyplnili v rámci výuky. Dotazník byl také umístěn na webové stránky týkající se města. Respondenti byli rozděleni do čtyř skupin: zda ortodontickou léčbu právě podstupují, podstoupili v minulosti, nepodstoupili a potřebují ji nebo nepodstoupili a ani ji nepotřebují. Data byla graficky zpracována a vyhodnocena.

Výsledky:

Skupina podstupující léčbu: Nošení snímacího aparátu nedodrží 9% mužů a 20% žen. Za aparát se stydí průměrně 22%, méně viditelný aparát by z nich volilo 55% mužů a 42% žen. S negativní kritikou se setkala 14% mužů a 8% žen. Operaci odmítlo 12,5% a extrakce 16%. Co nejkratší dobu léčby požaduje 9% mužů a 27% žen.

Skupina po léčbě: Léčbu snímacím aparátem nedodržívalo ve skupině 20+ 32% mužů a 18% žen, ve skupině 15-19 let 22% mužů a 8% žen. Stydlivější byli muži než ženy a to ve skupině 20+ 46 ku 42% a ve skupině 15-19 let 34 ku 19%. Méně viditelnou variantu by ze starších volilo 81%, z mladších 64%. S negativní kritikou se setkala 5,5%. Operaci odmítlo 8,5% a extrakce 4%. Urychlit dobu léčby chtělo 12% mužů obou skupin, z žen 3% mladších a 9% starších. Vliv financí u starších je 19%. Spokojenost s výsledkem je přes 80%.

Skupina potřebující léčbu: Léčbu odmítá 30%. Za aparát by se stydělo 13% mužů a 21% žen, méně viditelný aparát by z nich volilo 79%. Negativní kritiky se obává až 25%. Operaci by odmítlo 38% mužů a 29% žen, extrakce by odmítlo 30%. Co nejkratší dobu léčby by vyžadovalo 27% mužů a 17% žen. Cenově nedostupná léčba je pro 16%.

Skupina nepotřebující léčbu: Léčbu by odmítlo 3,5%. Více se stydí ženy 30% než muži 18%, z těchto by 72% mužů a 47% žen volilo méně viditelnou variantu. 20% by se obávalo negativních reakcí. Operaci by odmítlo 25% a extrakce 29,5%. Doba léčby by chtělo co nejkratší 16% mužů a 10% žen. Finančně nedostupná by byla léčba pro 15%.

Závěr:

Zhruba 15% respondentů nosí snímací aparát tak, jak uznají sami za vhodné. Za aparát se stydí asi čtvrtina respondentů a stydlivost paradoxně stoupá s věkem. Frekvence upřednostnění méně viditelné varianty koreluje se stydlivostí. Negativní kritika se vyskytuje průměrně pouze ve 3% případech. Vliv financí narůstá s věkem. Z předešlých výsledků vyplývá, že u 80% respondentů netvoří žádnou překážku ve spolupráci potřeba nošení aparátu, doba léčby, finance ani potřeba operací či extrakcí. S negativními reakcemi vůči ortodontické léčbě se setkáváme opravdu spíše výjimečně. Z tohoto pohledu se tudíž není čeho obávat a za co se stydět a předsudky o negativních reakcích se jeví neopodstatněné.

ANALÝZA POLYMORFIZMŮ V GENECH PRO PROTEINY ZAPOJENÉ DO VÝVOJE SKLOVINY U ČESKÝCH DĚTÍ SE ZUBNÍM KAZEM

Tereza Deissová

Ústav patologické fyziologie, Stomatologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: Mgr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

Klíčová slova: sklovina, genový polymorfismus, zubní kaz, studie kontrol a případů, dočasná dentice, stálá dentice

Úvod:

Bakterie zubního plaku přeměňují cukry na organické kyseliny, jejichž přítomnost v dutině ústní vede k narušení struktury zubní skloviny a ke vzniku zubního kazu. Struktura a morfologie skloviny je dána nejenom působením vnějších vlivů, ale může být ovlivněna i geny kódující proteiny zapojené do jejího vývoje, jako jsou enamelin (ENAM), kalikrein 4 (KLK4) a tuftelin (TUFT). Cílem

naší studie bylo analyzovat variabilitu v těchto „kandidátních“ genech se zubním kazem u českých dětí s dočasným nebo stálým chrupem.

Metody:

Studie kontrol a případů zahrnovala 817 českých dětí: 109 dětí ve věku 2-6 let s dočasnou denticí se zubním kazem raného dětství (ECC) s $kpe \geq 1$ (zub kariézni, s výplní nebo extrahován) a 708 dětí ve věku 13-15 let [175 jedinců bez kazu ve stálé dentici s $KPE=0$ a 533 dětí se zubním kazem s $KPE \geq 1$] ze studie ELSPAC. Stanovení genotypů polymorfizmů ENAM (rs12640848), KLK4 (rs198968) a TUFT (rs3790506) jsme provedli real-time PCR TaqMan metodou s využitím fluorescenčně značených sond.

Výsledky:

Nepozorovali jsme významné rozdíly v alelických nebo genotypových frekvencích sledovaných genů mezi dětmi bez zubního kazu a těmi, které trpí zubním kazem, a to jak u dočasných, tak i ve stálé dentici. Také mezi dětmi s nízkou a vysokou kazivostí nebyly patrné signifikantní rozdíly ve frekvencích ENAM, KLK4 a ani TUFT variant.

Závěr:

Ačkoliv jsou geny pro proteiny zapojené do vývoje skloviny považovány za kandidátní pro rozvoj zubního kazu, variabilitu ve studovaných polymorfizmech ENAM (rs12640848), KLK4 (rs198968) a TUFT (rs3790506) nemůžeme považovat za rizikový faktor pro toto multifaktoriální onemocnění v české populaci.

Poděkování:

Studie byla finančně podpořena z projektu MUNI/A/0948/2016, Recetox RI (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_013/0001761) a z grantů AZV 17-30439A a GAČR GB14-37368G

VARIABILITA GENU PRO NOD-LIKE RECEPTOR (NLRP3) U PACIENTŮ S RECIDIVUJÍCÍ AFTÓZNÍ STOMATITIDOU

Lucie Masopustová, Petra Bořilová Linhartová, Simona Valová, Jiřina Bártová,

Jitka Petanová, Pavel Kuklínek, Antonín Fassmann, Lydie Izakovičová Hollá

Ústav patologické fyziologie, Stomatologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: Mgr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

Klíčová slova: aftózní stomatitida, RAS, kandidátní geny, NLRP3

Úvod:

Recidivující aftózní stomatitida (RAS) je multifaktoriální onemocnění s nejasnou etiopatogenezi; je výsledkem souhry genetických a vnějších faktorů. Při rozvoji RAS může hrát roli dysregulace imunitního systému. Jako jeden z kandidátních genů pro RAS byl navržen gen pro NOD-like receptor (NLRP3), který je součástí inflamazomu. Cílem naší studie bylo vyšetřit tři jednonukleotidové polymorfizmy (SNPs, rs4612666, rs10754558, rs3806265) v genu pro NLRP3 u pacientů s RAS a zdravých osob v české populaci.

Metody:

Do studie případů a kontrol jsme zařadili celkem 200 osob. U 143 zdravých kontrol a 57 pacientů s RAS byly analyzovány vybrané varianty v NLRP3 genu metodou založenou na polymerázové řetězové reakci s využitím TaqMan® sond.

Výsledky:

Ačkoliv jsme nenašli statisticky významné rozdíly v alelických a genotypových frekvencích polymorfizmů *NLRP3* (rs10754558 a rs3806265) mezi pacienty s RAS a kontrolami, nositelé *NLRP3* (rs4612666) TT genotypu měli vyšší riziko rozvoje RAS ve srovnání s osobami s CT+CC genotypy (OR=16.71, 95% CI=1.96-142.14, P=0.0024). Při multilokusové analýze jsme nepozorovali signifikantní asociace mezi *NLRP3* haplotypy a RAS.

Závěr:

Při srovnání našich výsledků s nálezy recentní studie v iránské populaci (Bidoki a kol., 2016) můžeme konstatovat, že původní asociace mezi *NLRP3* polymorfizmem (rs3806265) a RAS nebyla v české populaci potvrzena. Avšak varianta *NLRP3* (rs4612666) může ovlivňovat riziko vzniku RAS u našich pacientů.

Poděkování:

Tato studie byla podporována grantem AZV 15-29336A, GAČR GB14-37368G a projektem MUNI/A/0948/2016.

GENETICKÁ VARIABILITA VO VYBRANÝCH INTERLEUKÍNOCH VO VZŤAHU KU GENERALIZOVANEJ AGRESÍVNEJ PARODONTITÍDE V ČESKEJ POPULÁCI

Július Jánoš, Petra Bořilová Linhartová, David Novák, Ivo Dřížhal, Antonín Fassmann, Lydie Izakovičová Hollá

Ústav patologické fyziologie, Stomatologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: Mgr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

Klíčová slova: *parodontitída, interleukín, polymorfizmus, štúdia kontrol a prípadov*

Úvod:

Generalizovaná agresívna parodontitída (GAgP) je zápalové ochorenie závesného aparátu zubov. Okrem vplyvu externých rizikových faktorov je študovaná aj genetická predispozícia pre toto ochorenie, predovšetkým v génoch kódujúcich proteíny zapojené do zápalovej odpovede a remodelácie kosti, ako sú napr. cytokíny interleukíny (IL). Cieľom našej štúdie bolo porovnať variabilitu polymorfizmov v génoch IL-6, IL-6 receptoru (IL-6R), IL-10 a IL-17A medzi pacientmi s GAgP a zdravými kontrolami v českej populácii.

Metody:

V rámci našej štúdie kontrol a prípadov bolo klinicky vyšetrených 309 osôb: 219 zdravých kontrol a 90 pacientov s GAgP. Stanovenie genotypov v polymorfizmoch vo vybraných génoch bolo založené na princípe metódy polymerázovej reťazovej reakcie s následným štiepením reštrikčnými endonukleázami (PCR-RFLP) alebo na real-time PCR s využitím fluorescenčne značených TaqMan sond.

Výsledky:

Nenašli sme štatisticky významný rozdiel v alelických ani genotypových frekvenciách u variant IL-6 (rs1800795), IL-6R (rs2228145), IL-10 (rs1800871, rs1800872) a IL-17A (rs2275913) medzi kontrolami a pacientmi s GAgP. Pacienti s genotypom GG v IL-10 (rs1800896) mali oproti nositeľom genotypov AA+AG vyššie riziko vzniku a rozvoja GAgP (P=0,011, OR=2,16, 95%CI: 1,17-4,01).

Závěr:

Hoci sme nepotvrdili asociácie variant v kandidátnych génoch IL-6 a IL-17A s GAgP nájdených v iných populáciách, zistili sme, že polymorfizmus IL-10 (rs1800896) môže hrať rolu v etiopatogenéze GAgP u českých pacientov.

Poděkování:

Štúdia bola finančne podporená z projektu MUNI/A/0948/2016 a z grantu GAČR GB14-37368G.

5. SEKCE NELÉKAŘSKÝCH OBORŮ

VLIV ANIZOMETROPIE NA KVALITU VIDĚNÍ

Eva Staffová

Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.

Klíčová slova: anizometropie, aniseikonie, stereoskopické vidění, binokulární vidění, size lens

Úvod:

Anizometrií nazýváme stav, kdy se refrakce obou očí liší. Důležitým a nepříjemným projevem korigované anizometropie je vznik aniseikonie. Aniseikonie znamená stav, kdy jsou na sítnici obou očí přiváděny obrazy o různé velikosti, které potom také vnímáme jako nestejně velké. Cílem výzkumu bylo zjistit jaký vliv na kvalitu vidění má nejčastější důsledek korigované anizometropie, tedy aniseikonie. Zjišťovali jsme subjektivně pocívané příznaky při navození aniseikonii a hledali jsme hranici subjektivních obtíží. Dále jsme zkoumali vliv aniseikonie na stereoskopické vidění.

Metody:

V našem výzkumu jsme stanovili dvě hypotézy. První hypotéza vychází z tvrzení, že 5 % aniseikonie, tedy asi 2,5 D anizometropie, znamená hranici binokulárního vidění a zní, že 6 % aniseikonie bude již narušovat binokulární vidění. Zkoumaný vzorek zahrnoval 56 subjektů (průměrný věk 32 ± 18 let). Pacientům byla pomocí size lens navozena aniseikonie a formou dotazníku byly zjišťovány jejich subjektivní potíže. Druhá hypotéza se týká stereoskopického vidění a zní takto: největší míra zhoršení stereoskopického vidění bude mezi navozením 4 % a 6 % aniseikonie. Výzkumu se účastnilo 27 subjektů s průměrným věkem 43 ± 20 let. Pomocí Randot testu bylo testováno stereoskopické vidění.

Výsledky:

V první části výzkumu jsme pomocí dotazníku zjistili, že hodnota 6 % aniseikonie bude již rušit binokulární vidění. Zatímco hodnota 4 % aniseikonie by pro většinu subjektů ještě rušivá nebyla. Dá se tedy předpokládat, že hranice binokulárního vidění bude v oblasti 5 % aniseikonie (tedy asi 2,5 dioptrie anizometropie), jak uvádí většina literatury. V druhé části výzkumu se nám potvrdilo největší zhoršení stereoskopického vidění při nárůstu z 4 % aniseikonie na 6 %.

Závěr:

Studie potvrdila, že navození 6 % aniseikonie již bude rušivé pro binokulární vidění. 4 % aniseikonie ještě binokulární vidění neruší. Stereoskopické vidění je také závislé na hodnotě aniseikonie. Studie nám potvrdila největší zhoršení stereopse mezi navozením 4 % a 6 % aniseikonie. Z výsledků obou částí výzkumu lze tedy odvodit hranici binokulárního vidění při navození 5 % aniseikonie, tak jak uvádí většina dostupné literatury.

VLIV ZMĚNY HODNOTY A OSY ASTIGMATISMU NA ZRAKOVÝ VÝKON PŘI RŮZNÝCH POHLEDOVÝCH VZDÁLENOSTECH

Barbora Langová

Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.

Klíčová slova: brýlové čočky, astigmatismus šikmých paprsků, vady optického zobrazování, sférické brýlové čočky, asférické brýlové čočky, distorze, chromatická aberace, koma

Úvod:

V dnešní době můžeme korigovat refrakční vady několika způsoby, avšak za nejběžnější a historicky nejstarší korekční členy řadíme brýlové čočky. Při pohledu pacienta přes brýlovou čočku nacházíme ideální zobrazení v jejím optickém středu. Při stranových pohledech již začnou působit vady optického zobrazování, které degradují sítnicový obraz a redukují zorné pole. Právě astigmatismus šikmých paprsků se zklenutím pole výrazně ovlivňuje kvalitu vidění. Hlavním účelem stále nově se vyvíjejících designů je potlačit již zmiňované vady optického zobrazení při pohledu mimo optický střed. Tento výzkum se bude zabývat porovnáním kvality vidění a zrakového výkonu při stranových pohledech se sférickými versus asférickými brýlovými čočkami.

Metody:

Výzkumu se podle předpokládaných očekávání bude účastnit 30 osob s refrakční vadou vyšší $\pm 3,0$ D. Věková hranice je stanovena v rozmezí 20–35 let, jedná se tudíž o nepresbyopy. Po provedené refrakci a náležitém výběru brýlových obrub jsou subjektům zabroušeny 2 páry brýlových čoček (BČ): sférické a asférické. Jako první nošený pár BČ je zvolen ten, na který není daný klient zvyklý. Měření stanovených hodnot probíhá celkem 4x – bez/po adaptaci na první typ BČ, bez/po adaptaci na druhý typ BČ. Stanovená doba nošení každého páru BČ je čtrnáct dní. Měřenými parametry jsou: vyšetření zrakové ostrosti do blízka pomocí čtecí tabulky na pracovní vzdálenost 40 cm, subjektivní stanovení astigmatismu pro pohledový úhel 30° pomocí Jacksonových zkřížených cylindrů a Brokova testu do blízka, změření navozeného astigmatismu pro úhel 30° na digitálním fokometru a vyšetření distorze obrazu pro úhel 30° pomocí vlastního testu. Na závěr pacient vyplňuje dotazník obsahující 6 otázek, které se týkají subjektivního pocitu pacienta při porovnání obou typů BČ, zhodnocení adaptace na asférické designy, porovnání vnímání distorze či barevné vady u sférických/asférických designů. Pacient se posléze rozhodne, který typ BČ si zvolí definitivně do svých brýlí.

Výsledky:

Z naměřených výsledků vyplývá následující tvrzení. Z naměřených hodnot centrální ZO bez adaptace vyplývá, že u 50 % pacientů je ZO stejná, u 33 % dokonce lepší a u 17 % horší o jeden řádek se sférickými BČ v porovnání s asférickými BČ. Při porovnání centrální ZO se sférickými a asférickými BČ po 14denní adaptaci je ZO u obou typů BČ stejná (visus 1,0). Co se týče ZO pro pohledový úhel 30° vychází hodnoty ZO bez adaptace u 50 % pacientů lepší, u 33 % stejně a u 17 % hůře se sférickými BČ oproti asférickým BČ. ZO pro pohledový úhel 30° po adaptaci vychází stejně (visus 1,0) se sférickými i asférickými BČ. Porovnáním naměřeného zkreslení obrazu po 14denní adaptaci měly asférické BČ u 67 % pacientů menší vliv na deformaci obrazu oproti sférickým BČ, a u 33 % pacientů byla deformace obrazu se sférickými a asférickými BČ stejná. Porovnáním hodnot zkreslení obrazu naměřených u asférických BČ byla u 84 % pacientů nutná 14denní adaptace

pro zlepšení zrakového výkonu. Naproti tomu u sférických designů nebyla až na jednoho pacienta adaptace nutná. Polovina pacientů zodpověděla v dotazníku, že asférické BČ jim vyhovují více a zvolili si je definitivně do svých brýlí.

Závěr:

Asférické BČ patří mezi výsledky zlepšení technologie výroby BČ a oproti sférickým designům jsou tenčí, plošší, mají nižší váhu, umožňují přirozený vzhled očí a svou konstrukcí by měly vylepšovat zobrazování na okraji BČ. Z výsledků tedy vyplývá, že je nutná určitá adaptace na asférické BČ pro zlepšení zrakového výkonu oproti sférickým plochám. Centrální ZO i ZO pro pohledový úhel 30° byla naměřena po adaptaci stejná u 100 % pacientů s oběma typy BČ. Asférické designy měly ve více než polovině případů menší vliv na deformaci obrazu. Finálně si do svých brýlí zvolila asférické BČ polovina subjektů, což poukazuje na nutnost individuálního přístupu.

SCREENING REFRAKČNÍCH VAD A STRABISMU U DĚTSKÉHO PACIENTA

Anna Kmetřová, Lucie Patočková, Zuzana Štěrbová

Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Mgr. Lucie Patočková

Klíčová slova: refrakce, screening, ortoptika, amblyopie

Úvod:

Diagnostika a léčba amblyopie se řadí mezi nejobtížnější odvětví oftalmologie nejen z toho důvodu, že vyžaduje znalost fyziologie monokulárního a binokulárního vidění, ale rovněž i vzhledem k velmi ranému věku a odlišné schopnosti dítěte navázat kontakt s lékařem. Jakákoliv patologie v průběhu růstu dítěte může negativně ovlivnit celý vývoj zrakového systému a kvalitu života pacienta. Podstatou optimální léčby amblyopie je především časná diagnostika a následně vhodně zvolená terapie oftalmologem a ortoptistou. Jednou z možností časné diagnostiky. Mezi nejčastější přístroj používaný při screeningových vyšetřeních patří Plusoptix, nově je však na trhu v České republice Vision Spot Screener, který měří i objektivní úchylnu očí.

Metody:

Při měření je využíván přístroj Plusoptix a Vision Spot Screener firmy WelschAllyn. Vlastní měření s jedním dítětem trvá deset až patnáct minut. Výzkum je prováděn na poliklinice v Hradci Králové u paní Mgr. Štěrbové. Mezi zaznamenané parametry patří sférická hodnota, cylindrická hodnota, osa astigmatismu. Při měření Vision Spot Screenerem jsou rovněž zaznamenány hodnoty objektivní úchylny. Naměřené hodnoty jsou porovnány s fyziologickými hodnotami sférické a cylindrické hodnoty dle dosaženého věku, rovněž jsou porovnány hodnoty z obou přístrojů a naměřená hodnota objektivní úchylny očí s výslednou úchylnou naměřenou na troposkopu.

Výsledky:

Získané výsledky měření jsou mezi sebou srovnávány a hodnoceny. V současné době je ve studii naměřeno 57 dětí. Z přístroje jsou odečteny hodnoty pro každé oko zvlášť. Komparací fyziologických hodnot refrakce dle věku je pak až u 47 % dětí naměřena patologická hodnota, u 53 % pak hodnoty fyziologické. Měřením pomocí přístroje od firmy WelchAllyn je zaznamenáno celkově 47 patologických hodnot z celkových 114 naměřených očí, Plusoptix zachytává 27. Tento značný rozdíl je způsoben i větším rozsahem měřených hodnot a schopností WelchAllynu změřit refrakci za binokulárních podmínek i při heterotropiích. Dle naměřených hodnot a porovnání

obou přístrojů vychází statisticky nevýznamný rozdíl při porovnání sféry u Plusoptixu a Wech-Allynu $p < 0,05$ a rovněž při porovnání osy cylindru. Statisticky významný rozdíl však vychází při porovnání hodnoty cylindru $p > 0,05$.

Závěr:

Celý výzkum vzniká z vlastní iniciativy s cílem odhalit rané patologie v dětském věku, které by mohly mít za následek trvalé snížení visu a tedy i snížení kvality života. Cílem je včas odhalit především amblyopii a strabismus včas a každý záchyt odeslat na podrobnější vyšetření k dětskému oftalmologovi, který již doporučí následnou léčbu. Dle výsledků je patrné, jak důležitý je screening dětských pacientů, abychom mohli včas předejít komplikacím v následujících letech, které mohou negativně ovlivňovat kvalitu života a limitovat pacienta např. při výběru povolání.

PODJAZYKOVÁ UZDIČKA NOVOROZENCŮ A KOJENCŮ

Kristýna Kamlerová

Katedra porodní asistence, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: Mgr. Blanka Trojanová, Ph.D.

Klíčová slova: *podjazyková uzdička, zkrácená podjazyková uzdička, ankyloglosie, kojení, laktace, frenulotomie*

Úvod:

Zkrácená podjazyková uzdička může vzhledem ke svému umístění ovlivňovat hned několik okolních struktur. S ohledem na kojení novorozenců a kojenců se může stát překážkou ve kvalitní a bezbolestné laktaci.

Hlavním cílem mé závěrečné práce je sběr a analýza informací o problematice zkrácené podjazykové uzdičky ve vztahu ke kojení novorozenců a kojenců do jednoho roku. Mezi dílčí cíle patří posouzení pravdivosti obecné informace, že kojení je zkrácenou podjazykovou uzdičkou negativně ovlivněno, analyzování míry informovanosti matek s dětmi do jednoho roku o problematice zkrácené podjazykové uzdičky a zjištění povědomí o chirurgickém řešení zkrácené podjazykové uzdičky, o tzv. frenulotomii.

Metody:

Teoretická část práce se zaměřuje na anatomii této oblasti, na patofyziologický průběh přísávání a sání dětí a na následné řešení problematiky.

Praktická část obsahuje tři celky, a to analýzu internetových diskuzních fór pro laickou veřejnost, konkrétně pro matky. Průzkum proběhl na devíti nejznámějších serverech. Dále zahrnuje dotazníkové šetření zaměřené na množství informací, které matky s dětmi se zkrácenou uzdičkou pod jazykem o problematice ví. Celkem se ho účastnilo 56 žen. A třetí celek popisuje formou rozhovorů zkušenosti matek, jejichž děti podstoupily tzv. frenulotomii a názory odborníků na dané téma.

Výsledky:

Výstupem práce je kombinace dat získaná od matek a zdravotníků. Informovanost žen vůči nízkému výskytu ankyloglosie je překvapivě kladná. Zájem o řešení problematiky má přes 85% respondentů. A to především díky všeobecnému názoru žen, že střížení uzdičky lze považovat za preventivní či výhodné do budoucna. Čím později ženy daný problém objeví, tím důsledněji ho chtějí eliminovat. Dle mého názoru se pro tyto ženy frenulotomie stává ideální volbou v řešení. Komunitní odborníci se více přiklání k vyčkávání než personál většího zdravotnického zařízení. To může být zapříčiněno mírou zkušeností. Rychlost zákroku, bolestivé kojení a doporučení zdravotníků jsou nejčastější důvody pro střížení uzdičky pod jazykem. Objektivizace míry přirostění

je obtížná. Tento fakt již zmiňují i někteří zahraniční autoři ve svých studiích, které byly zdrojem informací pro teoretickou část práce.

Závěr:

Zkrácená podjazyková uzdička má na kojení novorozenců a kojenců vliv ve vybraných případech. Informovanost žen o problematice uzdičky je pozitivní. Frenulotomie je považována za pohotové řešení a největší využití má jako preventivní opatření.

6. DOKTORANDSKÁ SEKCE

OVLIVŇUJE SCHIZOFRENNÍ FENOTYP U POTKANA PARAMETRY ELEKTROGRAMU IZOLOVANÉHO SRDCE?

**Tibor Stračina, Marina Ronzhina, Tibor Štark, Jana Rudá, Oto Janoušek, Denis Lekeš,
Vincenzo Micale, Petr Babula, Marie Nováková**

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitelka: prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

Klíčová slova: schizofrenie, potkan, izolované srdce, QT interval, haloperidol

Úvod:

Schizofrenie je psychické onemocnění, které se obvykle manifestuje u mladých dospělých a vyžaduje si doživotní farmakoterapii. Antipsychotika jsou léčiva často užívaná k léčbě schizofrenie. Některá antipsychotika patří mezi léky prodlužující QT interval, čímž zvyšují riziko vzniku závažných srdečních arytmií. Nicméně i u neléčených pacientů se schizofrenií byly popsány změny EKG. Tato práce se zabývá studiem elektrofyziologických parametrů u izolovaného srdce methy-lazoxymethanol acetátového (MAM) modelu schizofrenie potkana. Rovněž byly studovány změny těchto parametrů pod vlivem klasického antipsychotika haloperidolu. Na buněčné linii H9c2 byl ověřen přímý vliv MAM na kardiomyocyty.

Metody:

Bylo použito 9 samců MAM modelu schizofrenie (skupina MAM) a 6 kontrolních samců (skupina CON) potkanů kmene Sprague-Dawley. Zvířata byla ustájena v prostředí s monitorovanou teplotou, tlakem a vlhkostí vzduchu, se světelným cyklem 12/12 (světlo/tma). Srdce potkanů bylo izolováno a perfundováno dle Langendorffa Krebs-Henseleitovým roztokem za stálého perfuzního tlaku (75 ± 5 mmHg) a teploty ($37,0 \pm 0,1$ °C). Po 20 minutové stabilizaci byl aplikován haloperidol (10 nmol/l, 40 min). Následně byl proveden washout (40 min). Během celého experimentu byl kontinuálně zaznamenáván elektrogram izolovaného srdce (vzorkovací frekvence 5 kHz, 12-bit rozlišení). Manuální analýzou byla vyhodnocena srdeční frekvence, délka QT intervalu a výskyt arytmií. Délka QT intervalu byla korigována dle Bazzeta (QTc). Pro analýzu variability srdeční frekvence (HRV) byl elektrogram každého experimentu rozdělen do 10 deset minutových intervalů. Bylo analyzováno celkem 95 parametrů HRV v časové, frekvenční, geometrické i nelineární doméně.

Pro studium přímého efektu MAM na kardiomyocyty byla použita buněčná linie potkaních kardiomyoblastů H9c2. Buňky byly pěstovány v standardních podmínkách. Po dobu 24 hodin byly vystaveny různým koncentracím MAM (10 nM - 100 uM). Byla stanovena viabilita (barvení fluorescein diacetátem a propidium jodidem), produkce reaktivních forem kyslíku (ROS; barvení CellROX Green) a lipoperoxidace (barvení BODIPY).

Výsledky:

Srdeční frekvence se mezi skupinami na konci stabilizace výrazně nelišila. Ke změně srdeční frekvence nedošlo ani po expozici haloperidolu. Na konci stabilizace vykazovala skupina MAM statisticky významné prodloužení QTc ($69,5 \pm 4,8$ ms u MAM vs. $64,8 \pm 1,9$ ms u CON; $p < 0,05$). Tento rozdíl se ještě zvýraznil po podání haloperidolu ($72,7 \pm 5,4$ ms u MAM vs. $63,2 \pm 2,5$ ms u CON v poslední minutě perfuze haloperidolem; $p < 0,01$). Po washoutu se délka QTc vrátila k hodnotám

na konci stabilizace. Ve výskytu srdečních arytmií nebyl mezi skupinami nalezen signifikantní rozdíl. Haloperidol ovlivnil HRV pouze u skupiny CON. Došlo k poklesu parametrů SDNN (48%) a NN20 (97%). Během washoutu již nedošlo k změnám HRV. MAM v aplikovaných koncentracích nesnížil viabilitu buněčné linie H9c2. U vyšších koncentrací (100 uM) došlo k zvýšení produkce ROS a zvýšení úrovně lipoperoxidace.

Závěr:

U neurovývojového MAM modelu schizofrenie potkana bylo na modelu izolovaného srdce prokázáno signifikantní prodloužení QT intervalu. U skupiny MAM se po podání haloperidolu QTc ještě více prodloužilo. Haloperidol výrazně ovlivňuje HRV u kontrolních zvířat, ale nemá žádný vliv na HRV parametry MAM modelu schizofrenie. Efekt haloperidolu na HRV je ireverzibilní. MAM v relevantních koncentracích neovlivňuje viabilitu buněk srdečního svalu.

Další výzkum neurovývojového modelu schizofrenie může přinést nový náhled na mechanismy prodloužení QT intervalu a změny HRV u pacientů se schizofrenií.

Poděkování:

Práce byla podpořena z projektů: MUNI/A/1355/2016, MUNI/A/1063/2016, SoMoPro II No. 291782

3D CELL CULTURE OF MOUSE LUNG STEM/PROGENITOR CELLS

Anas Rabata, Aleš Hampl, Zuzana Koledová

Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Biofyzikální ústav AV ČR

Školitel: doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.

Klíčová slova: lung epithelial stem / progenitor cells, 3D culture, lungosphere assay

Background:

The ability of adult lung tissue to maintain itself, remodel, regenerate and repair after injury is dependent on the activity of resident adult lung stem/progenitor cells (LSPCs). In adult lung epithelium different populations of lung stem and progenitor cells have been identified. They reside in different anatomical regions throughout the respiratory tree and can give rise to multiple epithelial lineages of proximal and/or distal airways of the lung. However, our understanding of cellular hierarchy in adult lung and microenvironmental signals that regulate LSPC self-renewal and differentiation remains incomplete. To properly address these questions in vitro, development of physiologically relevant 3D models has been necessary.

Methods:

We developed a protocol for isolation of LSPCs that takes advantage of the unique abilities of stem cells of survive in non-adherent conditions and to self-renew. We have isolated the adult lung epithelial cells from the lung of the mice, then the adult lung epithelial cells were cultured in non-adherent plates.

Results:

In this assay, LSPCs form spheroids (lungospheres) of several distinct phenotypes, which most likely correspond to distinct parental LSPC types. Lungospheres can be serially passaged and their proliferation, self-renewal and differentiation is regulated by FGF signalling. Furthermore, lungospheres can be embedded in 3D ECM, such as Matrigel, and cultured in submerged or ALI culture.

When embedded into 3D Matrigel, lungospheres proliferate and form large cystic or branched structures in response to FGF signalling.

Conclusion:

Our lungosphere and 3D cell culture assays provide useful tools to assess stem/progenitor properties of distinct lung epithelial cell populations and to study lung epithelial-stromal interactions in vitro.

MODIFIKACE NANOVLÁKENNÝCH NOSIČŮ POMOCÍ FOSFAZENU PODPORUJE ROZPROSTŘENÍ A RŮST BUNĚK

Veronika Sedláková, Zbyněk Voráč, Josef Jaroš, Radka Bačovská, Michaela Kloučková, Michal Svoboda, Libor Streit, Jana Dumková, Kateřina Vašíčková, Milan Alberti, Aleš Hampl

Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Mezinárodní centrum klinického výzkumu, FNUSA v Brně

Ústav fyzikální elektroniky, PřF MU

Ústav chemie, PřF MU

Institut biostatistiky a analýz, LF a PřF MU

Klinika plastické a estetické chirurgie, LF MU

Školitel: doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.

Klíčová slova: fosfazen, nanovlákná, elektrospinning, viabilita, morfologie

Úvod:

Tkáňové inženýrství si klade za cíl vytvořit umělé tkáně a orgány s využitím různých buněčných typů, signálních molekul a nosičů. V současnosti se pro tvorbu nosičů používají polymery jako polykaprolakton (PCL), polymléčná kyselina (PLA) a další. I přesto, že PCL a PLA našly uplatnění v klinické praxi jako komponenty pro šicí materiál, kostní hřeby, atp., mají pro tkáňové inženýrství nevýhodu v absenci bioaktivních skupin pro potenciální vazbu buněk, stejně jako nepříliš vhodnou smáčivost svého povrchu. Tyto dva polymery, PCL a PLA, byly proto modifikovány přídatkem fosfazenu, který ve své molekule obsahuje amino skupiny vhodné pro vazbu buněk, s cílem vytvořit bioaktivní nosiče podporující interakci buněk s povrchem nosiče.

Metody:

Nanovláknenné nosiče byly připraveny metodou elektrospinningu, kdy fosfazen byl přidán do roztoku polymeru před jeho zvlákněním. Získány byly fosfazenem modifikované nosiče, jako kontrolu jsme použili nosiče bez přídatku fosfazenu. Fyzikálně-chemické vlastnosti fosfazenu a připravených nanovláken byly posouzeny pomocí nukleární magnetické rezonance, energiově disperzní spektroskopie (EDX), skenovací (SEM) a transmisní (TEM) elektronové mikroskopie a měření kontaktního úhlu. Ke studiu bioaktivních vlastností nanovláknenných nosičů in vitro byly zvoleny dva buněčné typy, buňky lidského plicního papilárního adenokarcinomu (H441) a lidské mesenchymální kmenové buňky (MSC) izolované z lipoaspirátu. Buňky byly na nanovláknenných nosičích kultivovány šest dní a analyzovány třetí a šestý den kultivace. Viabilita buněk rostoucích na nosičích byla posuzována pomocí fluorescenční eseje (akridinová oranž/ethidium bromid). Následně byla studována morfologie buněk a jejich interakce s nanovláknennými nosiči pomocí fluorescenční mikroskopie (vizualizace jader, aktinového cytoskeletu a Ki-67) a skenovací

elektronové mikroskopie. Ultrastruktura buněk byla analyzována transmisní elektronovou mikroskopií. Pro kvantitativní zhodnocení růstu buněk na nosičích byly použity MTT esej, sledující metabolickou aktivitu buněk rostoucích na nosičích, a proliferační esej s využitím krystalové violeti, posuzující celkovou buněčnou masu na nosičích. Výsledky byly statisticky analyzovány.

Výsledky:

Identita fosfazenu byla ověřena pomocí nukleární magnetické rezonance. Po navláknění nosičů byla inkorporace fosfazenu do nosičů potvrzena metodou EDX spektroskopie, a to průkazem atomů dusíku a fosforu ve fosfazenem modifikovaných nosičích, zatímco v nosičích z nemodifikovaných polymerů tyto atomy nenalezneme. Pomocí elektronové mikroskopie bylo prokázáno, že nanovlákněné nosiče jsou homogenní, s průměrem nanovláken od 95 do 370 nm (dle chemického složení). Měřením kontaktního úhlu bylo zjištěno, že přídavek fosfazenu nemění výrazně smáčivost povrchu vzhledem k nosičům bez přídavku fosfazenu. In vitro analýzy ukázaly, že H441 i MSC buňky rostoucí na nosičích byly viabilní a jevily pro dané buňky normální morfologické i ultrastrukturní znaky (fluorescenční mikroskopie, SEM, TEM). Co je však nejdůležitější, lišila se míra interakce buněk s fosfazenem modifikovanými a nemodifikovanými nosiči. Fluorescenční i elektronová mikroskopie potvrdily větší rozprostření buněk a větší rozsah kolonií buněk na fosfazenem modifikovaných nosičích, zároveň byla vyšší přítomnost proliferačního markeru Ki-67 v H441 buňkách kultivovaných na fosfazenem modifikovaných nosičích než na nosičích bez fosfazenu. Kvantitativní metody odhalily zvýšení metabolismu a větší míru proliferace na fosfazenem modifikovaných nosičích, přičemž konkrétní míra zvýšení závisela jak na typu buněk, tak na typu polymeru. Obecně měly buňky větší užitek z přídavku fosfazenu, pokud byl základním polymerem PCL.

Závěr:

Prokázali jsme, že fosfazen inkorporovaný do nanovlákněných nosičů na bázi polykaprolaktonu a polymléčné kyseliny podporuje interakci H441 a MSC buněk s nanovlákněnými nosiči. Buňky rostoucí na fosfazenem modifikovaných nosičích jsou více rozprostřené, kolonie buněk pokrývají větší plochu nosiče, zároveň mají buňky na fosfazenem modifikovaných materiálech vyšší metabolismus a míru proliferace. Tento pozitivní efekt byl výraznější při přidání fosfazenu k polykaprolaktonu než k polymléčné kyselině, což může být vysvětleno nejen absencí bioaktivních vazných skupin, ale i silnou hydrofobicitou polykaprolaktonu. Fosfazen se proto jeví jako atraktivní aditivum pro modifikaci nosičů určených pro aplikaci v budoucím tkáňovém inženýrství.

Poděkování:

Práce vznikla za podpory MZ ČR (grantu 16-31501A), MŠMT ČR (projektu LQ1605 Národního programu udržitelnosti II), MU (projektu Tkáňové inženýrství 7, MUNI/A/1369/2016) a MPO ČR (projektu FR-TI1/413). Použití buněk bylo schváleno Etickou komisí FNUSA.

FUNCTIONS AND INTERACTIONS OF BASAL BODY COMPONENTS

Petra Kovaříková

Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Mgr. Lukáš Čajánek, Ph.D.

Klíčová slova: cilia, basal body, Cep164, BioID

Úvod:

Primary cilia (PC) are sensory organelles that also modulate the activity of signaling pathways that play key roles in embryonic development. Ciliogenesis is a process of PC formation, starting from basal body, mother centriole-derived template, anchored to the plasma membrane. Cep164 (Centrosomal protein of 164 kDa) and TTBK2 (Tau Tubulin Kinase 2) are key components of basal bodies crucial for ciliogenesis. Aim of our project is to reveal interactions involved in regulation of primary cilia formation.

Metody:

My experimental strategy is based on two main experimental approaches: co-immunoprecipitation and proximity-dependent biotinylation (BioID) in HEK293 (human embryonic kidney) or RPE-1 (retinal pigment epithelium) cells, followed by identification of candidates by mass spectrometry and subsequent validation of promising candidates.

Výsledky:

Here I present my ongoing work on identification of interactors of Cep164, which includes optimization of workflows, validation of stably transfected inducible cell lines, and some preliminary data on potentially novel interactors. These are mainly Kif7 (kinesin family member 7) and Kif14 (kinesin family member 14). We tested effect of their knockdown in RPE-1 cell line on ciliogenesis and validated their interaction with Cep164.

Závěr:

I believe that my ongoing project will contribute to reveal of the molecular mechanisms of primary cilia formation and their functional consequences. We show panel of novel potential interacting partners of Cep164 and preliminary data of their validation process.

VYŠETŘENÍ BARVOCITU V ČASNÉ DETEKCI ONEMOCNĚNÍ ŽLUTÉ SKVRNY

Lucie Patočková, Petr Veselý

Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.

Klíčová slova: makula, barvocit, patologie, detekce, sítnice, VPMD, makulopatie

Úvod:

Se stárnutím lidského organismu postihují makulu onemocnění, které snižují visus, ovlivňují kontrastní citlivost, zkreslují obrazy, ale mají vliv i na vnímání barev. Velmi časté je onemocnění, které je diagnostikováno až u 500 000 Čechů, je věkem podmíněná makulární degenerace. V globálním měřítku je nejčastější příčinou zaznamenaných případů praktické slepoty v průmyslově vyspělých zemích u pacientů starších 65 let. V důsledku stárnutí populace se předpokládá,

že se VPMD více rozšíří a věková hranice jejího výskytu se bude snižovat. Druhým onemocněním, kterým trpí 30 až 40 % diabetiků, je diabetický makulární edém. Nemocní mají rozostřený obraz do dálky i do blízka a zamlžené vidění. Neléčením hrozí úplná ztráta zraku.

Metody:

Studie účastní 29 pacientů (42 očí) s průměrným věkem 73 let a 22 lidí (33 očí) v kontrolním vzorku s průměrným věkem 65 let. Každému vyšetřovanému je prvně změřen visus s korekcí a následně předložen seřadovací test Lanthony D15 se saturovanými i desaturovanými barvami. Testování probíhá monokulárně a následně je vyhodnoceno kvantitativní analýzou dle Vingryse a King-Smitha. Dle analýzy je rozdělen deficit barvocitu dle typu na poruchu modré, zelené nebo červené barvy, dále také na závažnost, popř. je-li porucha vrozená, či získaná. Test trvá přibližně 5 minut a je vyhodnocen výpočetním algoritmem, ze kterého jsou získány hodnoty úhlu anomálie, TES, S-indexu, C-indexu a FTS.

U každého vyšetřovaného je po testu barvocitu změřena denzita oční čočky na Pentacamu, z důvodu vyloučení možného vlivu katarakty na barvocit. Přístroj zobrazuje 25 řezů odpovídajících jednotlivým meridiánům, přičemž jsou ve studii zprůměrovány výsledné hodnoty z 1., 5., 10. a 20. meridiánu.

Každému vyšetřovanému je lékařem stanovena diagnóza, podle které jsou data rozřazeny do deseti skupin dle onemocnění postihující makulu. Jedná se o suchou a vlhkou formu VPMD, diabetickou retinopatii v neproliferativním a proliferativním stádiu, cystoidní makulární edém, membrana epiretinalis bez trakce a s trakcí, makulární díra bez progresu a s progresí a odchlípení sítnice.

Výsledky:

Hodnoty po otestování parametrickým t-testem vykazují statisticky vysoce významný rozdíl $p < 0,01$ u Σ TES (Total Error Score = celkové chybové skóre), $p < 0,01$ u Σ C-indexem (Confusion Index = index záměny) a $p < 0,01$ Σ FTS (Farnsworth Total Score) mezi makulopatiemi a kontrolním souborem očí. Statisticky vysoce významný rozdíl $p < 0,01$ je též u visu, což je logické vzhledem k diagnostikovanému onemocnění.

Závěr:

Současný výstup studie nyní vykazuje patrné statisticky významné rozdíly v barvocitu (Total Error Score, Confusion Index, Farnsworth Total Score) mezi oběma skupinami.

EARLY PHARMACOLOGICAL INTERVENTION IN THE ENDOCANNABINOID SIGNALING PREVENTS MOLECULAR AND BEHAVIORAL CHANGES IN NEURODEVELOPMENTAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA

Tibor Štark

Farmakologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Dr. Vincenzo Micale, Ph.D.

Klíčová slova: schizophrenia, animal model, MAM, endocannabinoid system, cannabidiol

Background:

According to neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia subtle prenatal stressors interacting with genetic predisposition may lead to schizophrenic phenotype in adulthood. Growing evidence also supports involvement of endocannabinoid system (ECS) in pathophysiology of schizophrenia. Given that preventive treatment with antipsychotics seems to reduce the risk of

transition to psychosis in vulnerable individuals, we investigated 1) effects of methylazoxymethanol acetate (MAM) prenatal administration on behavioral phenotype and molecular level at both neonatal and adult age 2) effects of pre/peripubertal pharmacological modulation of the ECS to evaluate its potential to counteract schizophrenia-like phenotype in adulthood.

Methods:

Timed-pregnant Sprague Dawley rats were treated intraperitoneally with MAM (22 mg/kg) or vehicle (CTR) on gestational day 17 (GD17). Neonatal reflexes were scored as index of brain maturation from postnatal day (PND) 1 to PND 11. From PND 19 to PND 39 separate groups of rats were treated intraperitoneally with 2 dosages of non-psychotropic cannabinoid cannabidiol (10 or 30 mg/kg/day), CB1 antagonist/inverse agonist AM251 (0.5 mg/kg/day), dopamine D2 antagonist haloperidol (0.6 mg/kg/day) used as positive control, or vehicle. Negative-like symptoms and cognitive-like deficits were evaluated using social interaction test (SIT) and novel object recognition test (NOR), respectively. After the testing, animals were sacrificed in order to prepare brain samples for further analysis. Levels and gene expression of ECS elements (namely endogenous ligands, their enzymes of biosynthesis and degradation and CB1 and CB2 receptors) were evaluated using GC-MS, methylation analysis, qPCR and Western blot.

Results:

At birth, neonatal reflexes had a delayed onset (i.e. percent of appearance) in prenatally MAM exposed rats, as compared to the control group ($P<0.05$; $P<0.01$; $P<0.001$). At adulthood, model rats spent less time interacting with their congener in the social interaction test, compared to the control group ($P<0.001$). No difference in locomotor activity was found, as number of interactions did not differ among the groups. Moreover, early treatment with cannabidiol (30 mg/kg) or AM251 was able to reverse the social deficit ($P<0.001$), while maintaining motor activity intact. Cognitive performance was also impaired in MAM model, described as decreased discrimination index ($P<0.001$) in NOR. Again, the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol (30 mg/kg), but neither AM251 nor haloperidol, was able to reverse the cognitive deficit in the NOR test ($P<0.05$). Observed behavioral alterations in prenatally MAM exposed animals coincided with changes in levels of ECS components in different brain regions ($P<0.05$), while cannabidiol early intervention was able to successfully reverse them ($P<0.05$).

Conclusion:

Our results suggest that the delayed onset of innate neonatal reflexes as an index of impaired brain maturation could represent a predictive factor for late arisen abnormalities resembling schizophrenia phenotype. Furthermore, early pharmacological intervention and modulation of the endocannabinoid signaling could reverse MAM-induced behavioral and molecular alterations which mimic schizophrenia phenotype in adulthood.

Acknowledgement:

This work was financed from the SoMoPro II Programme, co-financed by European Union, the South-Moravian Region and the specific research at the Masaryk University (MUNI/A/1063/2016).

61. Studentská vědecká konference
Program a sborník abstraktů

Editor: MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

Sazba: Institut biostatistiky a analýz, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Publikace neprošla plnou jazykovou a typografickou korekturou.

Vydala Masarykova univerzita

1. vydání, 2017

Náklad 250 výtisků

Tisk: Tiskárna Knopp s.r.o., U Lípy 926, 549 01 Nové Město nad Metují

ISBN 978-80-210-8572-5



Oxford Bookshop,
*zahraniční literatura na Novobranské 1 — vaše prodejna
cizojazyčné literatury.*

Najdete u nás širokou nabídku zahraničních lékařských titulů, učebnic, slovníků, četby a dalšího, nejen v angličtině, němčině, francouzštině, španělštině a ruštině. Poskytujeme slevy pro studenty a speciální akce na vybrané tituly.

Looking for some medical books?

Come and visit the Oxford Bookshop on Novobranská 1, the only foreign language bookshop in Brno. We offer student discounts and special prices on selected titles.