

MUNI MED



SPOLEK
MEDIKŮ

63. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

BRNO 2019

MICHAL JURAJDA (ED.)

MUNI MED

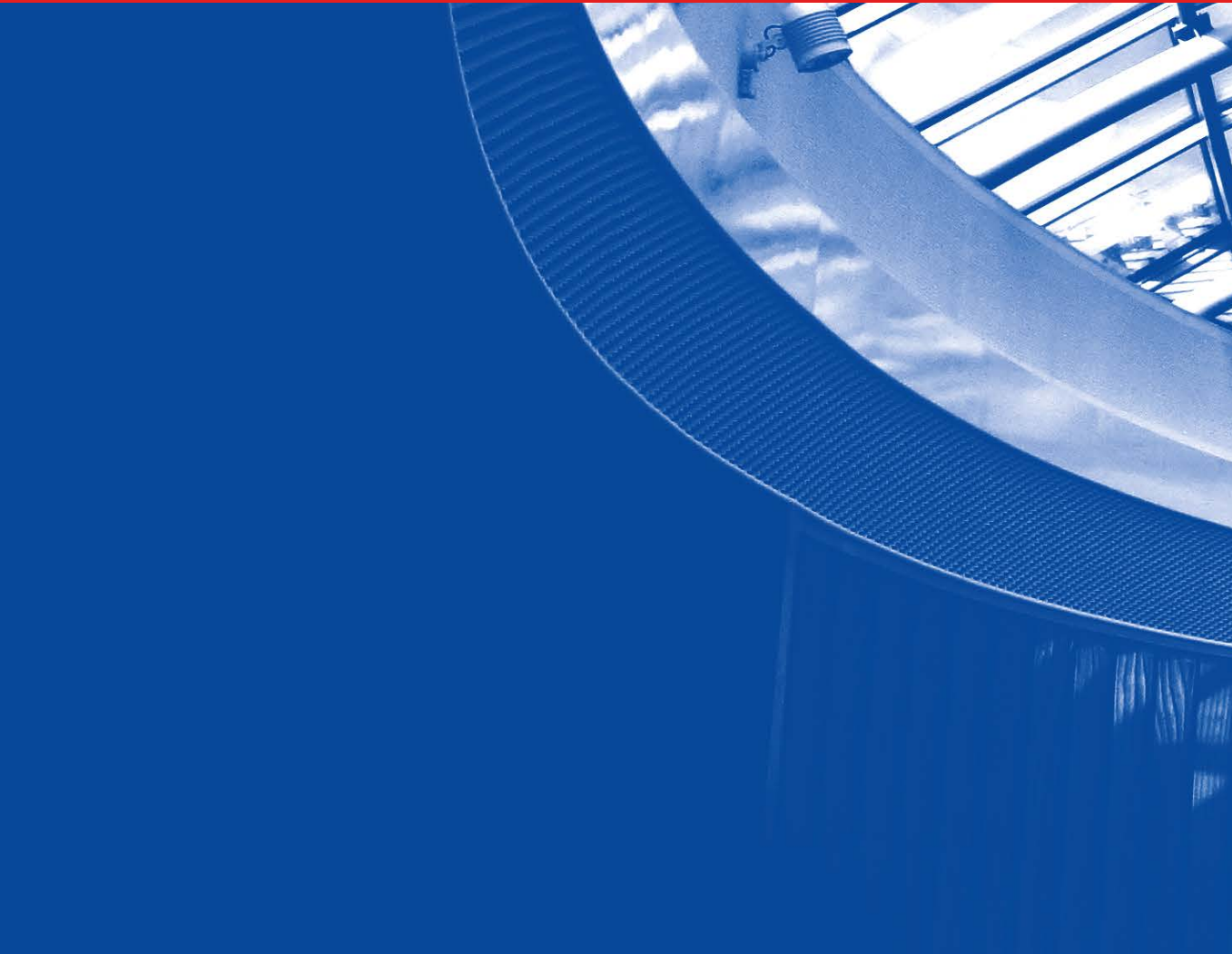


SPOLEK
MEDIKŮ

63. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

BRNO 2019

MICHAL JURAJDA (ED.)



ISBN 978-80-210-9285-3



9 788021 092853

MUNI
PRESS

Úvodní slovo

Organizátoři 63. ročníku SVK si dovolují 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. Martina Bareše, Ph.D., a organizované Spolkem mediků LF.

Na Studentské vědecké konferenci 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 se stávají stále důležitějším 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. a ROCHE s.r.o. za již tradiční podporu Studentské vědecké konference lékařské fakulty MU.

V Brně dne 21. 5. 2019

Za organizátory konference
MUC. Adam Čellár, Spolek mediků LF MU
MUDr. Michal Jurajda, Ph.D., koordinátor SVK 2019

Úvodní slovo děkana

prof. MUDr. Martin Bareš, Ph.D.
děkan Lékařské fakulty



Lékařská věda jde neustále kupředu. Aniž si tento fakt mnohokrát uvědomujeme, i v běžné klinické praxi jsme svědky prakticky každodenních inovací. V oblasti základního výzkumu čelíme doslova explozi nových vědeckých poznatků, jež mnohdy vedou k protichůdným závěrům, které si žádají další hlubší bádání, stanovování vědeckých hypotéz, plánování experimentů, kritickou diskuzi nad zdrojovými daty či studium nepřehledného množství literatury. Lékařská fakulta Masarykovy univerzity (LF MU) je nejen nejžádanější lékařskou fakultou v České republice (podle čerstvých dat o počtu podaných přihlášek ke studiu v akademickém roce 2019/2020), ale též významnou vědeckou základnou. Věda a výzkum mají stále větší vliv i na financování akademických institucí v České republice a otevírají cestu k větší mezinárodní viditelnosti.

Dovolím si na tomto místě citovat ze svého programového prohlášení z nedávné rektorské volby:

„Vzhledem k připravované státní metodice hodnocení výzkumu M17+ budou mít finance za kvalitní vědecké výstupy (publikace v prvním decilu či kvartilu, mezinárodní granty aj.) stále větší vliv na celkový rozpočet univerzity a její postavení v mezinárodních žebříčcích. Na MU je proto třeba napříč jejími součástmi podporovat rozvoj vědecké práce, posouvat podprůměr k průměru, průměr k nadprůměru a rozvíjet elitní vědecké týmy. Je nezbytné, abychom společně prosazovali kvalitu před kvantitou, propojovali vědecká témata a vědecké týmy. MU musí výsledky své práce více a lépe prezentovat odborné i laické veřejnosti. Považuji pro budoucnost MU a sílu jejích vědeckých výsledků za zásadní, aby byla místem intelektuálního původu objevů a řešení, jen zapojení do sítě vědeckých spoluprací nestačí, ačkoliv v bezprostřední budoucnosti nemusí být výše uvedené předmetem politiky státu a metodiky hodnocení výzkumu. Současně bychom měli více rozvinout spolupráci s externími subjekty v oblasti aplikačního výzkumu, jehož význam ve financování vědy a výzkumu poroste.“

Vše uvedené lze velmi jednoduše vztáhnout na LF MU, na všechny její ústavy, katedry a kliniky. O to více s obdivem sleduji práci studentů naší fakulty, kteří jsou ochotni při svém náročném studiu rozvíjet i tvůrčí činnost. Právě v těchto studentech – ve Vás – vidím budoucnost nejen LF MU, ale i důležitý intelektuální potenciál pro celou Českou republiku.

Za Vaši ochotu přispívat novými experimenty, inovativními projekty a kvalitními samostatnými pracemi bych Vám rád upřímně poděkoval. Svě poděkování bych rád vyjádřil také všem vedoucím a garantům studentských vědeckých prací, neboť

ti věnují nad rámec svých běžných povinností čas dobré a velmi prospěšné věci: investují do toho nejcennějšího, co na fakultě máme, tedy do mladé generace nadšených a zapálených studentů.

Po loňském úvodníku bude znít mé poděkování dlouholetým organizátorům SVK LF MU jako klišé, ale považuji za nutné je zopakovat: bez odborného asistenta MUDr. Michala Jurajdy, Ph.D. si již SVK nedovedu představit. Dr. Jurajda je v pravém slova smyslu dobrou duší celé akce a jejím precizním organizátorem.

Tedy Vivat SVK 2019! Vivat LF! Vivat MU!

Martin Bareš

Úvodní slovo proděkana

prof. MUDr. Tomáš Kašpárek, Ph.D.

proděkan pro vědu a doktorské studium



Jsem rád, že se koná další ročník Studentské vědecké konference LF MU. Je to významná událost, která by měla být pro mnohé zúčastněné vyvrcholením jejich úsilí obohatit naši komunitu i sebe samé o zážitky z originálních výsledků výzkumu a o radost z poznávání nového, ze zjišťování, že k této radosti je nutné rigorózní dodržování protokolu, postupů práce i svědomité nakládání se získanými daty – což jsou základy integrity vědecké práce, které jsou nejzásadnější obranou proti nejrůznějším formám plagiátorství, falšování výsledků či jiných projevů, které svět označuje termínem „academic misconduct“.

Jsem rád, že se na lékařské fakultě najdou lidé, kteří se starají o začátky vědecké kariéry studentů. Víím, že jsou zde týmy, které umožňují zapáleným studentům nastartovat velmi slušnou dráhu, která vede přímo na nejprestižnější světová vědecká pracoviště. Přestává být vzácností, že se studenti stávají prvními autory excelentních originálních prací, které jsou publikovány v mezinárodních časopisech s vysokým ohlasem. Věřím, že i bez těchto skvělých výsledků je praktická zkušenost s vědeckou prací významným zážitkem pro profesní život – ať už je to podporou motivace dokončit náročné studium a věnovat se dál zvolené oblasti nebo jen nahlédnutím „pod pokličku“ toho, jak vznikají základy pro inovace v medicíně, či pochopením toho, co je důkaz založený na datech, se schopností snadno odhalit nejrůznější marketingové triky, jak v medicíně, ale i v běžném životě.

Děkuji organizačnímu týmu konference, v čele s dr. Michalem Jurajdou, za úsilí, které konferenci věnují a že díky nim stále žije a vzkvétá a přeji všem aktivním účastníkům pěkné zážitky z konference!

Tomáš Kašpárek

Program konference

21. května 2019

- 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, A11/114, UKB, Kamenice 5**
Ing. Filip Plešinger, Ph.D.
Ústav přístrojové techniky AV ČR v Brně
Signály pod lupou
- 17.00 **Slavnostní zakončení konference**
A11/114, UKB, Kamenice 5
- vyhlášení tří nejlepších prací z každé sekce a předání diplomů oceněným studentům
 - následuje závěrečné neformální posezení s malým občerstvením pořádané Spolkem mediků v prostorách UKB, Kamenice 5 (kavárna „Na lávce“)
- Všichni zúčastnění jsou srdečně zváni!

Složení odborné komise

A22 Aula: Teoretická a preklinická sekce

- **doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D. (předseda)**
MUDr. Jan Máchal, Ph.D.
MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.
RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.

A11/334: Sekce chirurgických oborů

- **doc. MUDr. Petr Štourač, Ph.D. (předseda)**
MUDr. Milan Filipovič, Ph.D.
MUDr. Martin Ondrák, Ph.D.
MUDr. Robert Vlachovský, Ph.D.

A11/114: Sekce interních oborů

- **doc. MUDr. Lubomír Křivan, Ph.D. (předseda)**
doc. MUDr. Blanka Adamová, Ph.D.
MUDr. Darja Krusová, Ph.D.
doc. RNDr. Ladislava Bartošová, Ph.D.

A11/327: Stomatologická sekce

- **prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc. (předseda)**
prof. MUDr. Antonín Fassmann, CSc.
Mgr. Jan Křivánek, Ph.D.
MUDr. Hana Střeščíková, CSc.

A11/211: Sekce nelékařských oborů

- **PhDr. Natálie Beharková, Ph.D. (předseda)**
Mgr. Ondřej Wiewiorka

A11/234: Doktorandská sekce

- **prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D. (předseda)**
doc. MUDr. Julie Dobrovolná, Ph.D.
doc. PharmDr. Jan Juřica, Ph.D.
MUDr. Petr Lokaj, Ph.D.

Vyzvaná přednáška

Signály pod lupou

Ing. Filip Plešinger, Ph.D.

Ústav přístrojové techniky AV ČR v Brně

Analýza elektrické aktivity snímané z lidského těla je v klinické praxi běžná a to nejčastěji v podobě EKG či EEG. Nicméně rozvoj techniky v posledních dekádách umožňuje mnohem hlubší pohled, než je běžně využíván. V této přednášce si například ukážeme, jak je možné využít nové technologie k analýze vysokofrekvenční aktivity nad 500 Hz v EEG signálu pro lokalizaci epileptického ložiska v lidském mozku. Na nových výsledcích získaných s pomocí multicentrické studie MADIT-CRT si předvedeme, jaký vztah mají vysokofrekvenční složky EKG signálu (>150 Hz) k dlouhodobému přežívání pacientů s biventrikulárním stimulátorem. A okrajově si předvedeme nástroje, které je možné k takovým analýzám využít.

Ing. Filip Plešinger, Ph.D. (*1980) se věnuje výzkumu na Ústavu přístrojové techniky AVČR, v.v.i. v Brně v oddělení Medicínských signálů. Jeho zájmem jsou detekční algoritmy a strojové učení; v této oblasti získal řadu ocenění v zahraničí například 1. místo ve PhysioNET Challenge za algoritmy pro detekci život ohrožujících arytmií (Nice, Francie, 2015) či Clinical Translational Award (Rennes, Francie, 2017) od Evropské kardiologické společnosti (ESC) za software pro určení míry elektrické dyssynchronie srdečních komor.

Kontakt: fplesinger@isibrno.cz; tel.: 541 514 518

Program jednotlivých sekcí

1. Teoretická a preklinická sekce

Aula UKB (A22), Kamenice 5

8.30–9.45

- T1. Jan Mičan
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Loschmidtovy laboratoře, Ústav experimentální biologie a Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí RECETOX
Počítačový design mutantních halogenalkandehalogenas prodegradaci yperitu
Školitel: prof. Mgr. Jiří Damborský, Ph.D.
- T2. Akimasa Iijima
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Effect of sildenafil on expressed human cardiac inwardly rectifying K⁺ channel Kir2.1
Supervisor: doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.
- T3. Filip Šiška
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Vplyv modelu depresie a adolescentnej preexpozície ethanolom na konzumáciu ethanolu v dospelosti u potkana
Školitel: doc. PharmDr. Jana Rudá, Ph.D.
- T4. Viktória Kokošová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Vzťah aktivácie STAT3 a expresie CCL2 v axotomizovaných neurónoch spinálních ganglií laboratorneho potkana
Školitel: prof. RNDr. Petr Dubový, CSc.
- T5. Jan Alexander Mohr
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity CEITEC MU
Ovlivňují beta-blokátory toxicitu paclitaxelu?
Školitel: prof. MUDr. Marie Nováková Ph.D.

9.45–10.00 Přestávka

10.00 – 11.15

- T6. Michal Štefančík
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Vplyv Ni a TiO₂ nanočástic na adhéziu, cytoskelet a migráciu fyziologických a osteoartrótických osteoblastov
Školitel: doc. RNDr. Monika Pávková Goldbergová, Ph.D.
- T7. Nuno Ramalho
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Dual effect of aminophylline on inward rectifier potassium current
Supervisor: doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.
- T8. Lina Elrefae
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Tumor suppressor p53 regulates the differentiation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells
Supervisor: Mgr. Dáša Boháčiková, Ph.D.
- T9. Martin Macháček
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Prodloužený efekt sildenafilu na inward rectifier draslíkové proudy kardiomyocytů
Školitel: doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.
- T10. Asya Hansen, Ksenia Budinskaya
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Non-invasive estimation of arterial stiffness in healthy and asthmatic children: a pilot study
Supervisor: Ksenia Budinskaya

11.15–11.30 Přestávka

11.30–12.30

- T11. Jiří Martenek
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC Masarykova Univerzita
Optimalizace procesu izolace DNA z krevních nátěrů pomocí vybraných postupů a jejich modifikací
Školitel: prof. MUDr. Michael Doubek Ph.D., Mgr. Jiří Štika Ph.D.

- T12. Eva Opatřilová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Testování nových látek s potenciálními beta – blokačními účinky na vybraných biomodelech
Školitel: prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.
- T13. Jakub Sumbal, Tereza Vránová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Kritická role FGF v morfogenezi epitelu mléčné žlázy
Školitel: Mgr. Zuzana Koledová, Ph.D.
- T14. Gabriela Honová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Hodnocení polyneuropatie pomocí konfokální mikroskopie rohovky
Školitel: MUDr. Eva Vlčková, Ph.D.

2. Klinická sekce chirurgických oborů

UKB, posluchárna 334 (pavilon A11), Kamenice 5

8.30–9.30

- CH1. Barbora Musilová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Febrilní křeče jako prediktivní faktor rozvoje hipokampální sklerózy
Školitel: doc. MUDr. Eva Brichtová, Ph.D.
- CH2. Lukáš Mareček
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Laryngeální maska Unique™ u pediatrických pacientů podstupujících vyšetření magnetickou rezonancí: prospektivní observační studie
Školitel: MUDr. Jozef Klučka, doc. MUDr. Petr Štourač, Ph.D.
- CH3. Michaela Šoltysová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Porovnanie výsledkov dvoch najčastejších chirurgických postupov v terapii CVA
Školitel: prof. MUDr. Jan Poul, CSc.

- CH4. Barbora Čechová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC MU – výzkumná skupina Ondřeje Slabého
The Hebrew University of Jerusalem, Israel
Cirkulující mikroRNA jako markery časné progresu u onkologických pacientů podstupujících léčbu metodami intervenční radiologie – pilotní studie
Školitel: prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D., MUDr. Tomáš Andrašina, Ph.D.

9.30–9.45 Přestávka

9.45–11.00

- CH5. Nina Homolová, MUDr. Jakub Turek
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Hemiepifyzeodéza s použitím Blountových skob a osmičkových dláh v korekci genu valgum u dětí
Školitel: MUDr. Jakub Turek
- CH6. Vít Dvořák
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Výskyt pooperačních komplikací u pacientů s anastomózou GIT hodnocenou laserovou velocimetrií
Školitel: MUDr. Petr Vlček, Ph.D.
- CH7. Patrícia Mužlayová, doc. MUDr. Oldřich Coufal, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Oddělení chirurgické onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno, Česká republika
Fyloidné tumory prsníka – retrospektivny prehľad 83 klinických prípadov
Školitel: doc. MUDr. Oldřich Coufal, Ph.D.
- CH8. Nikola Dubovská
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Vyhodnocení spokojenosti pacientů s obrnou lícního nervu s reanimací obličeje
Školitel: MUDr. Libor Streit, Ph.D.
- CH9. Katsiaryna Abukhovich
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Okamžitá rekonstrukce prsu po mastektomii technikou fat graftingu
Školitel: MUDr. Libor Streit, Ph.D.

3. Klinická sekce interních oborů

UKB, posluchárna 114 (pavilon A11), Kamenice 5

8.30–9.30

11. Klára Staškov
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC MU
QSM: Časný MRI biomarker Parkinsonovy nemoci
Školitel: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.
12. Filip Gistl
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Retrospektivní analýza pacientů diagnostikovaných s chronickou rekurentní multifokální osteomyelitidou na PDM, LF MU Brno
Školitel: doc. MUDr. Jarmila Skotáková, CSc.,
MUDr. Marcel Schüller, Ph.D.
13. Vítězslav Dušek
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Prognostický či prediktivní potenciál vitamínu D a VDR receptoru pro léčebnou odpověď a přežití dětských onkologických pacientů – první výsledky
Školitel: prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D.
14. Dominika Kučerová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Neinvazivní hodnocení adrenergní závislosti komorových arytmií
Školitel: doc. MUDr. Tomáš Novotný, Ph.D.

9.30–9.45 Přestávka

9.45–10.45

15. Petr Tinka, Pavel Tinka
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
24hodinové EKG monitorování mladých dospělých osob
Školitel: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.,
doc. MUDr. Miroslav Novák, CSc.
16. Patrícia Klobušiaková, Mgr. Luboš Brabenec
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Efekt repetitivnej transkraniálnej magnetickej stimulácie na hypokinetickú dysartri u pacientov s Parkinsonovou chorobou
Školitel: prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

17. Albert Štěřba
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Mezinárodní centrum klinického výzkumu (FNUSA-ICRC)
**Prediktory krátkodobé a dlouhodobé
mortality po intracerebrálním krvácení: komunitní studie Brno**
Školitel: prof. MUDr. Robert Mikulík, Ph.D.,
MUDr. Mgr. Ing. Petra Šedová, Ph.D.
18. Eliška Honzírková
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
**Electrophysiological abnormalities of the brain in depression using
microstate analysis based on high-density EEG**
Supervisor: MUDr. Alena Damborská, PhD.

4. Stomatologická sekce

UKB, posluchárna 327 (pavilon A11), Kamenice 5

8.30–9.30

- S1. Tereza Lasotová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Retence ortodontické léčby
Školitel: doc. MUDr. Pavlína Černochová, Ph.D.
- S2. Juraj Gembeš
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Zlomeniny střednej tvárovej etáže
Školitel: MUDr. et MUDr. Ondřej Liberda, Ph.D.
- S3. Bc. Tereza Deissová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Mikrobiologický ústav AVČR, Praha
Stomatologická klinika, 1. LF, Karlova univerzita a VFN Praha
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF, Karlova univerzita, Praha
Význam epidermálního růstového faktoru v etiopatogenezi recidivující aftózní stomatitidy
Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.
- S4. Bc. David Novák
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Ústav biochemie, PřF, MU, Brno
Ústav klinické a experimentální stomatologie, 1. LF UK a VFN, Praha
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK a VFN, Praha
Ústav klinické imunologie a alergologie,
LF a Fakultní nemocnice u sv. Anny, MU, Brno
Asociace funkční varianty genu kódujícího receptor pro vitamín D s recidivující aftózní stomatitidou
Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

9.30–9.45 Přestávka

9.45–10.30

- S5. Veronika Tkáčová, Kristián Krotký
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Role genetických predispozic v chuťových a dietních preferencích u studentů zubního lékařství LF MU
Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

- S6. Nora Mohlerová, Jana Mrázková, Petr Šístek, Jan Lochman,
Lydie Izakovičova Hollá, Petra Bořilová Linhartová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity
**Efektivní metodika pro stanovení haplogenotypů lektinu vzájemného
manózu a role tohoto receptoru v etiopatogenezi onemocnění dutiny
ústní**
Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.
- S7. Rastislav Bielik
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
**Probiotiká v léčbě parodontopatií:
narrative review**
Školitel: MDDr. Filip Hromčík

5. Sekce nelékařských oborů

UKB, posluchárna 211 (pavilon A11), Kamenice 5

8.30–9.30

- N8. Bc. Petr Buček
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
**Dodržování základních zásad při měření objektivní a subjektivní
refrakce**
Školitel: Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.
- N9. Bc. Natália Antalová
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
**Faktory ovplyvňujúce recidívu
dekubitálnej lézie po plastickom
chirurgickom výkone**
Školitel: doc. PhDr. Andrea Pokorná, Ph.D.

6. Doktorandská sekce

UKB, posluchárna 234 (pavilon A11), Kamenice 5

8.30–9.30

- D1. Mgr. Milada Dvořáčková
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Výskyt kmenů MRSA diagnostikovaných v laboratoři MÚ ve FN u sv. Anny v Brně a problémy s terapií
Školitel: doc. MUDr, Filip Růžička, Ph.D.
- D2. MUDr. Peter Solár
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Studium zánětlivých změn v plexus choroideus po subarachnoidálním krvácení
Školitel: MUDr. Marek Joukal, Ph.D.
- D3. RNDr. Barbara Vonková, Mgr. Šárka Pavlová, Ph.D,
RNDr. Jitka Malčíková, Ph.D, Mgr. Jana Kotašková, Mgr. Jakub Hynšt,
MUDr. Anna Panovská, Ph.D, MUDr. Yvona Brychtová, Ph.D,
prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D, prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc,
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC
Srovnání počtu a alelické četnosti mutací genu TP53 u pacientů před první terapií a pacientů s relabující/refrakterní chronickou lymfocytární leukemií
Školitel: Mgr. Šárka Pavlová, Ph.D, RNDr. Jitka Malčíková, Ph.D
- D4. Mgr. Matěj Hrala, Mgr. Juraj Bosák, Ph.D., MVDr. Koláčková Ivana, Ph.D.,
prof. MUDr. David Šmajš, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Terapeutický potenciál Escherichia coli produkující bakteriociny v léčbě kolibakterióz
Školitel: prof. MUDr. David Šmajš, Ph.D.

9.30–9.45 Přestávka

9.45–10.30

- D5. Mgr. Lukáš Moráň
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Nová potenciální protinádorová léčiva, (1,10-fenantrolin)2Cu(II) komplexy, indukují buněčnou smrt zprostředkovanou ER stresem v buňkách ovariálního karcinomu
Školitel: RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.
- D6. Anas Rabata
Mgr. Zuzana Koledová, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Department of Cytokinetics, Institute of Biophysics of the Czech Academy of Sciences, Brno, Czech Republic
3D cell culture models demonstrate a role for FGF and WNT signaling in regulation of adult lung epithelial stem cell fate
Supervisor: doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.
- D7. MUDr. Michal Mahdal
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Efekt denosumabu na obrovskobuněčný kostní nádor
Školitel: MUDr. Tomáš Tomáš, Ph.D.
- D8. MUDr. Michal Hendrych, MUDr. Hana Valeková
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Přínos DWI pro vymezení hranic difúzně se šířících high-grade gliálních neoplázií
Školitel: doc. MUDr. Radim Jančálek, Ph.D., prof. MUDr. Markéta Hermanová, PhD

A B S T R A K T Y
S V K 2 0 1 9

1. Teoretická a preklinická sekce

Počítačový design mutantních halogenalkandehalogenas pro degradaci yperitu

Jan Mičan, Mgr. David Bednář, PhD., prof. Mgr. Jiří Damborský, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Loschmidovy laboratoře, Ústav experimentální biologie a Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí RECETOX

Školitel: prof. Mgr. Jiří Damborský, Ph.D.

Klíčová slova: yperit, proteinové inženýrství, halogenalkan dehalogenasy, bioremediace

Úvod:

Bis-1-chloro-2-[(2-chloroethyl)sulfanyl]ethan neboli yperit, je zpuchýřující látka a karcinogen způsobující alkylaci nukleotidů. Expozice vede k rozsáhlému podráždění kůže, dýchacích cest a očí. Enzymatická degradace yperitu nabízí řadu výhod oproti metodám jako spalování nebo neenzymatické chemické degradaci. Enzymy se dají použít k dekontaminaci materiálů které by jinak byly chemickou degradací zničeny, například vojenské nebo zemědělské techniky. Přirozené typy halogenalkandehalogenas, které byly na degradaci yperitu testovány, vykazují nízkou katalytickou efektivitu a pomalou degradaci. V této práci popisujeme výpočetní re-design tří z těchto enzymů k vyšší aktivitě s yperitem, jejich expresi, purifikaci a biochemickou charakterizaci.

Metody:

Reaktivní komplexy yperitu v aktivních místech vybraných krystalových struktur byly získány pomocí molekulového dokování. Tyto systémy byly následně podrobeny adiabatickému mapování podél reakční koordináty SN2 reakce s využitím hybridní kvantově mechanické/molekulově mechanické simulaci. Pomocí této metody byly získány konformace tranzitních stavů pro každý systém. Softwarem Rosetta Design jsme navrhli nové varianty enzymů, které stabilizovaly tyto tranzitní stavy. Pro nové varianty jsme výpočetně předpověděli stabilitu, výskyt reaktivních komplexů, aktivační energie SN2 reakce a porovnali je s parametry divokých typů. Nové varianty byly klonovány do E. coli, exprimovány a purifikovány pomocí metaloafinitní chromatografie. Mutantní enzymy byly testovány na jejich dehalogenasovou aktivitu pomocí Iwasakiho metody s analogem yperitu: bis(2-chloroethyl)etherem. Čistotu proteinů a jejich tepelnou stabilitu jsme testovali pomocí spektroskopie cirkulárního dichroismu.

Výsledky:

Pomocí výpočetních metod jsme navrhli 13 nových variant se zlepšenou stabilitou. Oproti korespondujícím divokým typům mají navržené varianty nižší aktivační energii a exotermní průběh $S_{N>2}$ reakce. Relativní výskyt reaktivního komplexu je u nich rovněž vyšší než u odpovídajících divokých typů. Šest z těchto nových variant jsme vybrali pro expresi a biochemickou charakterizaci. Všechny proteiny jsou dobře sbalené a stabilní. U jednoho z proteinů jsme docílili zvýšení termostability o 9 °C oproti divokému typu. Dva z proteinů vykazují významně vyšší dehalogenasovou aktivitu s analogem yperitu než divoké typy.

Závěr:

Varianty s prokázanou vyšší aktivitou k analogu yperitu budou dále otestovány na Univerzitě obrany se samotným yperitem. Aktivnější varianty mají vysoký potenciál pro efektivnější dekontaminaci a bioremediaci tam, kde je potřeba yperit šetrně degradovat.

Effect of sildenafil on expressed human cardiac inwardly rectifying K⁺ channel Kir2.1

Akimasa Iijima, Ing. Olga Švecová, Ph.D.,
doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Keywords: Sildenafil, Kir2.1, Ventricular arrhythmias, Ba²⁺

Background:

Sildenafil, a selective inhibitor of phosphodiesterase type 5, is the first approved oral drug for treatment of erectile dysfunction. Several cases of sudden death following ventricular arrhythmias were reported in patients treated with sildenafil. The inward rectifier potassium (IK1) channel is often argued to be a crucial component contributing to development of ventricular arrhythmias due to its ability to stabilize reentry circuits. In this study, we investigated potential role of Kir2.1, the prevailing α subunit forming the IK1 channels in ventricles, in the arrhythmogenesis associated with the use of sildenafil.

Methods:

Experiments were performed by the whole-cell patch clamp technique (in the voltage clamp mode) at 37 °C on Chinese hamster ovary (CHO) cells, approximately 48 hours after transient transfection of the cells with the human Kir2.1 channels. High-concentration of Ba²⁺ (100 μM), which exerts complete inhibition of the Kir2.1 channels, was applied at the end of each recordings to determine the specific current magnitude (so-called Ba²⁺ sensitive current).

Results:

We demonstrated that sildenafil inhibited the Kir2.1 channels at all tested concentrations between 0.1 and 10 μM. The inhibition was voltage-independent - no significant difference was observed between -110 mV (22.0±2.4 %; n = 12) and -50 mV (20.0±8.3 %; n = 10) at 1 μM sildenafil. Some cells exhibited the effect with two components - the rapidly developed transient inhibition (46.8±11.6 % at 1 μM sildenafil at -110 mV; n = 6) peaking at 18.3±3.1 s after initiation of the sildenafil exposure, and the slowly developed steady-state inhibition, which was maximal at 1 μM sildenafil (22.0±2.4 % at -110 mV; n = 12). The inhibitory effect of sildenafil was intensified synergistically in the presence of low-concentration (0.1 μM) Ba²⁺. The extent of inhibition was significantly higher ($P < 0.01$) in simultaneous application of 0.1 μM sildenafil and 0.1 μM Ba²⁺ (32.2±4.7 % at -110mV; n = 5) than in individual applications of each substance in the same cell (8.9±2.4 % and 7.9±1.6 %, respectively, at -110mV; n = 5).

Conclusion:

We conclude that sildenafil at clinically-relevant concentrations inhibits the human Kir2.1 channels. This effect may alter dynamics of the cardiac excitation and propagation. The sildenafil's effect is exaggerated in the presence of 0.1 μM Ba²⁺, which can occur in healthy human after ingestion of environmental contaminants. Synergistic effect of sildenafil and Ba²⁺ implies that Ba²⁺, when present at relevant concentration, can facilitate the proarrhythmic effect of sildenafil.

Acknowledgements:

Supported by the Specific University Research Grant number MUNI/A/1157/2017 and MUNI/A/1255/2018, as provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Vplyv modelu depresie a adolescentnej preexpozície ethanolom na konzumáciu ethanolu v dospelosti u potkana

Filip Šiška, Mgr. Petra Amchová, Ph.D., doc. PharmDr. Jana Rudá, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: doc. PharmDr. Jana Rudá, Ph.D.

Klíčová slova: adolescence, alcohol, NBQX, OBX, ethanol

Úvod:

Drogová závislosť patrí medzi psychiatrické poruchy charakterizované súborom behaviorálne-fyziologických stavov, ktorých hlavnou charakteristikou je craving po návykovej látke a vyvíjajúca sa tolerancia. Často zneužívanou látkou je alkohol, pričom jeho konzumácia začína už v adolescencii. Látková závislosť býva často v komorbidite s inými psychiatrickými ochoreniami, pričom jedným z najčastejších je depresívna porucha. Cieľom našej štúdie bol vplyv adolescentnej preexpozície nízkymi dávkami alkoholu a následne navodeným modelom depresie na priebeh závislosti v dospelosti u potkana. V závere experimentu sme aplikovali NBQX, ktorý je antagonistom AMPA/kainátových receptorov za účelom zhodnotenia jeho vplyvu na spontánny príjem alkoholu.

Metody:

V experimente sme obdržali 50 potkaních Wistar samcov v ich 25 postnatálny deň (PND). Počas experimentu boli vystavení konštantným podmienkam, pričom voda i jedlo boli dostupné ad libitum. Po 5 dňovej habituácii na laboratórne podmienky v ich 29 PND boli potkany náhodne rozdelené do 2 skupín, z ktorých jedna skupina mala v období 29-43 PND kontinuálne k dispozícii 10% roztok ethanolu (n=25, EE), zatiaľ čo druhá skupina mala k dispozícii len vodu (n=25, EN). Po ukončení adolescentnej ethanolovej preexpozície, v 59 PND boli rozdelené tieto 2 skupiny náhodne do ďalších 2 podskupín a to podľa modelu na jedincov, ktorí podstúpili olfaktorickú bulbektómiu (OBX, n=15) a kontrolných jedincov (SHAM, n=10). Na základe olfaktorickej bulbektómie vznikli 4 finálne podskupiny: EE-OBX (n=10), EE-SHAM (n=10), EN-OBX (n=9) a EN-SHAM (n=10). V 76 PND boli skupiny testované v teste otvoreného poľa na prítomnosť behaviorálnych charakteristík OBX modelu. V 80-126 PND boli všetky skupiny vystavené intermitentnej expozícii 20% alkoholu. Potkany mali prístup k alkoholu 24 hodín, každý druhý deň, pričom bola zaznamenaná konzumácia v prvých 30 minútach a po 24 hodinách. V danom období prebehlo 19 sedení. V predposledných 2 sedeniach sa všetkým jedincom pred sedením aplikoval i.p. fyziologický roztok a následne pred posledným sedením sme aplikovali i.p. NBQX. Po ukončení experimentu boli potkany usmrtené a bola vyhodnotená úspešnosť olfaktorickej bulbektómie na základe priamej examinácie mozgov.

Výsledky:

Pri behaviorálnom teste overujúcom účinnosť modelu depresie vyšiel štatisticky významný vplyv modelu na počet exkrementov. V analýze dát z kompletných 24h sedení preexpozícia ethanolom signifikantne znižovala priemernú i kumulatívnu konzumáciu alkoholu v oboch skupinách, zatiaľ čo vplyv modelu depresie sa významne nepotvrdil. Až ANOVA s opakovanými meraniami zaznamenala významnú interakciu medzi sedením a depresívnym fenotypom. Tento efekt však nebol potvrdený post-hoc testom. Naproti tomu pri analýze konzumácie alkoholu v prvých 30 minútach sme zistili signifikantný vplyv nielen preexpozície ethanolom, ale aj interakcie preexpozície a modelu, pričom post-hoc test identifikoval nižší príjem alkoholu v EE-OBX skupine v porovnaní s EN-OBX. Analýza vplyvu NBQX na spontánny príjem (trojfaktorová ANOVA: model, preexpozícia, liečivo) odhalila zníženie príjmu alkoholu po aplikácii NBQX vo všetkých experimentálnych skupinách. Tento efekt bol významný len pri analýze percentuálnej zmeny príjmu alkoholu v porovnaní s bazálnym príjmom behom celého experimentu, a to ako v prvých 30 min, tak po 24h. Naproti tomu absolútny príjem alkoholu v gramoch tento efekt nepreukázal po 24h, pričom v prvých 30 min bol zaznamenaný určitý trend ($p=0,061$).

Záver:

Adolescentná preexpozícia ethanolom znižuje množstvo konzumovaného alkoholu, čo môže byť spôsobené senzitivizáciou alebo averziou vzniknutou na podklade preexpozície, ktorá zasahuje do skorej adolescencie. Veľmi rozporuplná je úloha olfaktorickej bulbektómie, ktorá má zjavný vplyv na konzumáciu ethanolu v dospelosti, avšak sila efektu nie je štatisticky preukázaná a mal by byť predmetom ďalšieho výskumu. NBQX znižuje konzumáciu alkoholu a hoci sa výraznejšie uplatňuje tento efekt v prvých 30 minútach, je zjavný aj po 24 hodinách. Efekt sa preukázal najmä na percentuálnom porovnaní vzhľadom k bazálnemu príjmu a ie v absolútnom príjme, čo môže byť dané typickou variabilitou v konzumácii alkoholu medzi jednotlivými sedeniami.

PodĎakování:

Tato studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu číslo MUNI/A/1550/2018 podpořené z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2019.

Vzťah aktivácie STAT3 a expresie CCL2 v axotomizovaných neurónoch spinálnych ganglií laboratórneho potkana

Viktória Kokošová

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školiteľ: prof. RNDr. Petr Dubový, CSc.

Kľúčová slova: STAT3, CCL2, spinálne gangliá

Úvod:

V úspešnej regenerácii periférneho nervového systému hrajú dôležitú úlohu transkripčný faktor STAT3 a chemokín CCL2, ktoré sa zvyšujú v neurónoch spinálnych ganglií (SG) po poškodení periférneho nervu. Bolo dokázané, že v nádorových bunkách a v modele zvýšenej expresie CCL2 v neurónoch nepoškodených SG vedie tento chemokín k aktivácii a jadrovej translokácii STAT3. Po transekcii sedacieho nervu u CCL2^{-/-} myši ale dochádza v neurónoch SG k fosforylácii STAT3 napriek neprítomnosti CCL2. Z uvedených výsledkov je možné usudzovať, že aktivovaný STAT3 pravdepodobne ovplyvňuje expresiu CCL2 a zároveň CCL2 vedie k jeho aktivácii. Naša práca mala za cieľ prispieť k objasneniu vzájomného vzťahu týchto dvoch molekúl v axotomizovaných neurónoch SG.

Metody:

K experimentom boli použité potkany línie Whistar (samci, 250 – 300g). Všetky chirurgické výkony boli vykonané za aseptických podmienok. U zvierat sme vykonali transekcii sedacieho nervu (TNI) asi 1 cm od jeho výstupu a po siedmych dňoch (7D) sme im i.t. aplikovali 10 µl AG490 blokátoru kinázy JAK2, následne zvieratá tejto skupiny prežívala jeden deň (TNI+AG490). Kontrolnej skupine sme po 7D od TNI i.t. aplikovali 10 µl arteficiálnej cerebrospinálnej tekutiny (ACST) a zvieratá následne prežívali jeden deň (TNI+ ACST). U skupiny naivných zvierat (naive) nebol vykonaný žiaden zákrok. Po usmrtení vdychovaním CO₂ boli zvieratá perfundované Zamboniho fixačným roztokom a odobrané SG v úrovni L4 a L5 na ipsi- aj na kontralaterálnej strane boli fixované cez noc. Na longitudinálnych kryostatových rezoch (12 µm) bol za rovnakých podmienok nepriamou imunohistochemickou metódou detekovaný CCL2 a pSTAT3-Y705. Sekundárna protilátka bola v reakcii pre vizualizáciu CCL2 značená fluorescein-isothiokyanátom (FITC) a v reakcii pre vizualizáciu STAT3 tetramethyl-rodamin-isothiocyana- tom (TRITC). Jadrá buniek boli vizualizované farbením Hoechst 33342. Rezy boli nasmívané na fluorescenčnom mikroskope za rovnakých podmienok. Analýzou obrazu (NIS Elements, Nikon) sme hodnotili intenzitu imunofluorescencie (IF) CCL2 a pSTAT3-Y705 v neurónoch SG. Neuróny sme rozdelili podľa veľkosti do troch skupín: malé (<25µm), stredné (25-40µm) a veľké (>40µm).

Výsledky:

Pri porovnaní SG zvierat po prerušení NI a následnou i.t. aplikáciou AG490 (TNI+AG490) s kontrolnou skupinou po i.t. aplikácií ACST (TNI+ACST) sme v neurónoch SG potkanov so zablokovaním kinázy JAK2 namerali signifikantný pokles intenzity IF CCL2 v malých a stredných neurónoch ipsilaterálnych SG. V oboch experimentálnych skupinách sme zaznamenali signifikantne vyššiu IF CCL2 v neurónoch kontralaterálnych SG s výnimkou veľkých neurónov SG po TNI a aplikácií ACST. Intenzita IF CCL2 v neurónoch SG naivných zvierat bola bilaterálne u všetkých veľkostných skupín signifikantne nižšia než IF CCL2 v neurónoch SG skupiny zvierat TNI+AG490. Intenzita IF pSTAT3-Y705 v jadrách neurónov SG sa signifikantne znížila po TNI+AG490, pričom sme nezaznamenali signifikantné rozdiely medzi jednotlivými veľkostnými skupinami neurónov.

Záver:

Intenzita IF CCL2 po i.t. aplikácií AG490 signifikantne poklesla v malých a stredných neurónoch SG v porovnaní s neurónmi SG potkanov bez zablokovania kinázy JAK2. Rovnako po pôsobení AG490 došlo k zníženiu aktivácie a jadrovej translokácie pSTAT3-Y705. To ukazuje, že aktivácia STAT3 po axotómii prispieva k zvýšeniu expresie chemokínu CCL2 len v populáciách malých a stredných neurónov SG. Po NIT a i.t. aplikácií ako ACST, tak i AG490 bola intenzita IF CCL2 výrazne vyššia než v SG naivných potkanov. To naznačuje, že v indukcii expresie CCL2 v axotomizovaných neuronoch SG hrá dôležitú rolu nielen STAT3, ale i iné signálne dráhy a transkripčné faktory.

PodĎakování:

Experimenty boli podporené grantom 16-08508S Grantovej agentúry Českej republiky.

Ovlivňují beta-blokátory toxicitu paclitaxelu?

Jan Alexander Mohr, Dr. Vladimír Pekařík, MUDr. Tibor Stračina, prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity CEITEC MU

Školitel: prof. MUDr. Marie Nováková Ph.D.

Klíčová slova: paclitaxel, metoprolol, bisoprolol, kardiotoxicita

Úvod:

Paclitaxel je rostlinný alkaloid používaný v léčbě karcinomu prsu, ovarií a bronchů. Nezřídka působí kardiotoxicky – jednak přímým efektem na Purkyňova vlákna, jednak nepřímo uvolňováním histaminu. Kardiotoxicita se projevuje poruchami srdečního rytmu a může vést až k srdečnímu selhání. V terapii kardiovaskulárních poruch se často využívají blokátory beta-adrenergních receptorů.

Beta-blokátory kompetitivně inhibují vazbu katecholaminů na beta-receptory, a tedy blokují jejich působení na cílové tkáně. Cíle studie: Stanovit viabilitu buněčných linií H9C2 a MDA-MB-468 pod vlivem paclitaxelu a běžně užívaných beta-blokátorů. Optimalizovat měření mitochondriálního potenciálu a produkce reaktivních forem kyslíku pro buněčnou linii H9C2.

Metody:

Na buněčných liniích MDA-MB-468 a H9C2 byla testována viabilita pod vlivem paclitaxelu (expozice 72 h pro MDA-MB-468 a 96 h pro H9C2). Byla použita MTT assay s následným spektrofotometrickým vyhodnocením. Po úspěšném stanovení IC50 byla provedena optimalizace měření mitochondriálního potenciálu pomocí barviva JC-9 (pouze pro H9C2; jádra barvena pomocí Hoechst 33258) a optimalizace fluorimetrického stanovení produkce reaktivních forem kyslíku pomocí barvení dihydroethidiem. Dále bylo provedeno pilotní stanovení viability buněk linie H9C2 pod vlivem paclitaxelu v kombinaci s metoprololem a bisoprololem.

Výsledky:

Na základě MTT Assay byla stanovena hodnota IC50 pro paclitaxel (4 nM pro MDA-MB-468; 30 nM pro H9C2). Bylo optimalizováno barvení mitochondriálního potenciálu pomocí barviva JC-9. Jako optimální koncentrace barviva pro vyhodnocování fotografií s expozicí 800 ms se ukázala koncentrace 8 μ M. Rovněž bylo optimalizováno fluorimetrické stanovení produkce reaktivních forem kyslíku pomocí barvení DHE. Jako optimální koncentrace barviva byla stanovena koncentrace 10 μ M.

Závěr:

Prezentované výsledky v této fázi studie jsou základem pro další experimenty, které by měly vnést více světla do mechanismů ovlivnění kardiotoxicity paclitaxelu pomocí běžně užívaných beta-blokátorů.

Poděkování:

Tato studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu „Kardiovaskulární systém a jeho regulace a dysregulace pod vlivem farmak“ číslo MUNI/A/1255/2018 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum.

Vplyv Ni a TiO₂ nanočastíc na adhéziu, cytoskelet a migráciu fyziologických a osteoartrotických osteoblastov

Michal Štefančík

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: osteoblast, nanočastice, kĺbné náhrady

Úvod:

Zliatiny na báze titánu a nikel-titánu sú široko používané v oblasti implantológie ako materiály na výrobu kostných, kĺbných a dentálnych náhrad. Interakcia týchto materiálov s ľudským telom má dvojaký charakter – uvoľňovanie iónov niklu a titánu, a uvoľňovanie nanočastíc niklu (Ni) a oxidu titaničitého (TiO₂) v procese degradácie implantátu. Táto práca skúma interakciu ľudských fyziologických a osteoartrotických osteoblastov s nanočasticami, konkrétne ich aktívne vychytávanie a chemotaktický vplyv na bunecnú migráciu, cytoskeletárne zmeny aktínu a tubulínu a vplyv na adhezivitu pomocou sledovania zmeny expresie adhezívnych molekúl FAK a ICAM.

Metody:

Na experimenty boli použité ľudské fyziologické a osteoartrotické osteoblasty medzi 4. a 7. pasážou v štandardných podmienkach (teplota 37°C, pCO₂ = 5kPa, vlhkosť) a nanočastice niklu (Ni) a oxidu titaničitého (TiO₂) s veľkosťou <100µm. Na hodnotenie aktívneho vychytávania nanočastíc bunkami boli zhotovené 24-hodinové videozáznamy pomocou holografu. Bunecná migrácia a chemotaktický účinok nanočastíc boli pozorované pri rovnakej koncentrácii pomocou metódy XCELLigence v časovom úseku 48 hodín. Aktín a tubulín buniek boli nafarbené fluorescenčne značenými protilátkami a následne boli zhotovené fotky buniek s následnou analýzou. Z každej skupiny bolo nameraných a štatisticky zhodnotených 20 buniek. Na analýzu génovej expresie FAK, ICAM boli bunky inkubované po dobu 24 hodín. Nukleové kyseliny boli vyizolované pomocou RNAzolovej metódy, prepísané, a kvantifikované. Všetky merania prebehli v triplikátoch a boli štatisticky zhodnotené pomocou Mann-Whitney U testu.

Výsledky:

Holografické videomeranie preukázalo aktívne vychytávanie oboch typov nanočastíc ľudskými fyziologickými a osteoartrotickými osteoblastmi. Výsledky migračnej štúdie preukázali zníženie migrácie ako odpoveď na Ni nanočastice, a zároveň zvýšenú migráciu osteoblastov a možný chemotaktický účinok TiO₂ nanočastíc. Obrazová analýza fluorescenčného farbenia preukázala zmenu veľkosti a dĺžky fyziologických osteoblastov – zmenšenie sa vplyvom Ni nanočastíc a zväčšenie sa pri prítomnosti nanočastíc TiO₂. Osteoartrotické osteoblasty tento trend

nevykazovali. Vplyvom Ni nanočastíc došlo k zníženiu expresii aktínu u oboch bunečných línií, naopak, zvýšená expresia bola pozorovaná u fyziologických osteoblastov ako reakcia na TiO₂. Signifikantné zmeny v expresii tubulínu neboli pozorované. Štúdium expresie adhezívnych molekúl preukázalo výrazné zvýšenie expresie ICAM vo všetkých vzorkách, pričom osteoartrótické osteoblasty expri-movali signifikantne väčšie množstvo tohto génu v porovnaní s fyziologickými. Expresia FAK bola zvýšená u oboch línií vplyvom TiO₂ nanočastíc. Ni nanočastice zvyšovali expresiu FAK iba u fyziologických osteoblastov.

Záver:

Naše výsledky poukazujú na významný chemotaktický účinok a aktívne vychytávanie TiO₂ nanočastíc osteoblastami. Popísané cytoskeletárne zmeny spôsobené uvoľňovaním nanočastíc z materiálov kĺbných náhrad môžu prispieť k odhaleniu patofyziologického mechanizmu ich uvoľňovania a nestability. Zvýšená expresia ICAM-1 ako adhezívnej molekuly pre leukocyty vplyvom Ni a TiO₂ nanočastíc naznačuje možné zapojenie imunitného systému v reakcii na ich expozíciu.

PodĎakování:

Tento projekt bol podporený Grantovou agentúrou MU (MUNI/A/1553/2018), Grantovou agentúrou Českej republiky (15 16336S) a programom P-Pool.

Dual effect of aminophylline on inward rectifier potassium current

**Nuno Ramalho, doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.,
Ing. Olga Švecová, Ph.D.**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Keywords: inward-rectifier potassium current, aminophylline, electrophysiology

Background:

Aminophylline is a complex of theophylline and ethyldiamine. This methylxanthine is mainly used in the treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, particularly emphysema. It has been proved that aminophylline forms a substrate for cardiac arrhythmias, namely the atrial fibrillation (AF). The pathogenesis of AF (and also of the ventricular fibrillation) has been proven to result, among others, from modifications and/or heterogeneity of the inward rectifier potassium (Kir) channels. Therefore, we aimed to test if aminophylline at clinically relevant concentrations interacts with the Kir channels.

Methods:

The measurements were performed on enzymatically isolated right ventricular cardiomyocytes of Wistar rats at room temperature, using the whole-cell patch

clamp technique (in the voltage clamp mode; at -50 and -110 mV). To test the effect of aminophylline on the Kir current, concentrations of aminophylline between 3 and 100 μM were applied, as well as 100 μM Ba^{2+} to precisely identify the current (Ba^{2+} is a specific inhibitor of the Kir channels). The results are presented as mean \pm SEM of relative difference of the Kir current under aminophylline and in control conditions, from n cells. Statistical analysis of the aminophylline effects was performed using the paired t-test.

Results:

After applying 30 μM aminophylline in 9 particular cells, a dual effect was observed in the measured cells: the Kir current either increased, on average by $25.2 \pm 2.1\%$ ($n = 4$, $P < 0.01$), or decreased, on average by $18.1 \pm 8.5\%$ ($n = 5$, $P = 0.0594$) at -110 mV. The effects were analogical at -50 mV in the respective cells with the average activation by $28.4 \pm 12.9\%$ ($n = 4$) and inhibition by $28.6 \pm 10.7\%$ ($n = 5$); the effects were not statistically significant at -50 mV ($P = 0.0632$ and 0.1018 , respectively), likely due to high variability of the data in combination with low n. All these effects developed rapidly, within 67.4 ± 3.9 s on average. Other concentrations (3, 10 and 100 μM) were also tested, and the results showed the same duality of the effect of aminophylline. Average data are not provided because of low n in these groups. The aminophylline effects were fully reversible during the subsequent wash-out; the recovery was rapid, for example within 67.9 ± 3.7 s on average at 30 μM aminophylline.

Conclusion:

Aminophylline at a concentration below the therapeutic range (47.6 - 95.0 μM), significantly affected the Kir current in a dual way, independently on the membrane voltage. The dual effect on the Kir current was previously described in other drugs, such as ethanol, and may result in modified heterogeneity of the Kir current resulting in formation of a proarrhythmic substrate. More data are needed to fully characterize this dual aminophylline effect (including its mechanism) and its impact on the cardiac electrophysiology.

Tumor suppressor p53 regulates the differentiation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells

Lina Elrefae, Bc. Veronika Fedorová, Martin Barák,
doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc., Mgr. Dáša Bohačiková, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy university

Supervisor: Mgr. Dáša Bohačiková, Ph.D.

Keywords: p53, neural differentiation, stem cells

Background:

The physiological role of p53 as a crucial tumor suppressor has been well-established, however its contribution to other processes such as embryonal development has only recently been revealed. We aimed to address the role of p53 in neural differentiation using wild type (wt) and p53 knockout (p53KO) human embryonic stem cells (hESCs). Our specific aims were 1) to generate and characterize p53KO clones from hESCs to be used in following neural differentiation experiments; 2) to culture cerebral organoids from wt and p53KO hESCs and describe their phenotypical differences; 3) to culture neural rosettes and analyze which signalling pathways are involved during the differentiation of wt and p53KO rosettes.

Methods:

Firstly, we obtained p53KO hESCs using the CRISPR/Cas9 gene editing system. We then characterized the wt and p53KO cells in terms of growth rate and pluripotency. The crystal violet proliferation assay was used to evaluate the growth curves of our cells. In order to confirm that both our cell types retained pluripotency, we utilized the culture of embryoid bodies – 3D structures formed from spontaneous differentiation in vitro. Also, we screened the hESCs for pluripotency-maintaining proteins such as Oct4 and Nanog using Western Blot (WB) and indirect immunofluorescence microscopy (IF). Subsequently, we selected two renowned differentiation assays to model neural differentiation from wt and p53KO hESCs: neural rosettes, which are structures reminiscent of the embryological neural tube, and cerebral organoids. We cultured neural rosettes according to the standard protocol and sampled them at critical timepoints for analysis by WB and IF. We have thus tested markers of both neural differentiation efficiency as well as neuronal signalling pathways. Software quantification methods were also used to compare the density of successfully formed neural rosettes as well as their average diameter. The cultivation of cerebral organoids was then employed, where, within 30 days in culture, structures composed of mature neural tissue are obtained. We then compared the phenotype of the organoids cultured from wt and p53KO hESCs using real-time PCR (qPCR), and morphologically.

Results:

Our results from the crystal violet proliferation assay showed that p53KO cells have a faster doubling time in comparison to the wt, corresponding to a high proliferation rate. We confirmed the pluripotency of our cells in both conditions by the positivity of our IF staining and WB for Oct4 and Nanog. Additionally, we were able to successfully culture EB's from wt and p53KO hESCs, reaffirming pluripotency. We also quantitatively observed a higher average area of the EB's obtained from p53KO cells in comparison to the wt. Upon the culture of neural rosettes from wt and p53KO hESCs, we observed that p53KO's successfully produced a higher number of rosettes, which had an increased diameter on average. Additionally, we induced wt and p53KO hESCs to differentiate into cerebral organoids. We found that organoids cultured from the p53KO hESCs were significantly larger and had more prominent neuroectodermal morphology than those from the wt hESCs. Interestingly, qPCR results showed that p53KO hESC-derived organoids possess higher expression and faster upregulation of many neuronal markers such as SOX1, SOX2, β -3-Tubulin, NeuN, and Doublecortin. Markers of different signalling pathways such as ERK, Wnt, and TGF β /BMP were tested using neural rosette culture. However, our WB results have not yet suggested a significant difference between wt and p53KO rosettes in this regard.

Conclusion:

Collectively, our data suggest an enhanced tendency of p53KO cells to differentiate towards a neural fate. This has been supported by their more efficient formation of neural rosettes, as well as the significantly improved neuronal phenotype observed in p53KO cerebral organoids.

Acknowledgements:

GAMU-Rector's programme to L.R. (MUNI/C/1434/2017), M.B. (MUNI/C/1709/2016), funds from the Faculty of Medicine MU to junior researcher D.B. (ROZV/25/LF/2017), MUNI/A/1369/2016, GACR GJ15-18316Y, GJ18-25429Y, and LQ1605.

Prodloužený efekt sildenafilu na inward rectifier draslíkové proudy kardiomyocytů

Martin Macháček, Ing. Olga Švecová, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: sildenafil, inward rectifier draslíkové proudy, prodloužený efekt

Úvod:

Sildenafil je běžným léčivem používaným při terapii erektilní dysfunkce. Mezi vzácně se vyskytující nežádoucí účinky po požití sildenafilu se řadí i fibrilace

síní a komor. Na patogenezi fibrilací se mimo jiné významně podílí změny inward rectifier draslíkových proudů (IKir). Naše předchozí pokusy prokázaly akutní reverzibilní duální efekt sildenafilu na tyto proudy s nejasným klinickým významem. V několika případech jsme pozorovali významné aktivace IKir, které se objevovaly pouze při delších měřeních po opakované aplikaci sildenafilu. Tyto aktivace by mohly vysvětlit proarytmogenní působení sildenafilu u některých pacientů. V rámci naší současné studie se proto zabýváme prodlouženým efektem sildenafilu na IKir.

Metody:

Měření byla provedena při pokojové teplotě metodou whole cell patch clamp (v režimu vnuceného napětí na -50 a -110 mV) na enzymaticky izolovaných srdečních buňkách z pravé komory potkana kmene Wistar. IKir byl v této studii stanoven jako membránový proud citlivý na $100 \mu\text{M}$ Ba $^{2+}$. Jeden z Kir proudů, IK(ATP), byl v této studii specificky inhibován glibenklamidem, neboť není za fyziologických podmínek v aktivní. Buňky byly rozděleny na dvě skupiny. Kardiomyocyty označené jako skupina A byly suspendovány v kontrolním roztoku. Kardiomyocyty ve skupině B byly inkubovány s $10 \mu\text{M}$ sildenafilem po dobu 2 hod a poté centrifugovány a resuspendovány v kontrolním roztoku. Nejprve jsme srovnali kontrolní proud skupin A a B po jeho korekci na kapacitu membrány, neboť proud s kapacitou membrány koreloval a tato normalizace snížila rozdíly mezi buňkami způsobené rozdílnou plochou jejich buněčných membrán (odhadovanou na základě kapacity membrány). V obou skupinách byly aplikovány roztoky s 0,1, 1, 10 a 30 μM sildenafilu v náhodném pořadí. Udávané výsledky zahrnují jednotlivá provedená měření (n). Statistická analýza signifikance rozdílů byla provedena jednak pomocí párového t-testu (rozdíl mezi IKir v kontrolních podmínkách a v přítomnosti jednotlivých koncentrací sildenafilu) a dále pomocí nepárového t-testu (v případě srovnání procentuálních změn IKir mezi skupinami A a B a v rámci různých napětí).

Výsledky:

Kontrolní proud byl u buněk ve skupině B oproti skupině A navýšen v průměru o $39,8 \pm 7,1$ % při napětí -110 mV ($n=6$; $P < 0,05$). Při napětí -50 mV nebyl kontrolní proud rozdílný ($P > 0,05$). V obou skupinách docházelo po aplikaci všech měřených koncentrací sildenafilu k signifikantním inhibicím IKir ($P < 0,05$) s občasnými aktivacemi proudu. Změny IKir po akutní aplikaci sildenafilu nebyly u žádné skupiny významně rozdílné v rámci testovaných napětí ($P > 0,05$). V inkubované skupině B se po aplikaci $0,1 \mu\text{M}$ sildenafilu při napětí -50 mV objevily signifikantně ($P < 0,05$) výraznější inhibice IKir (v průměru $13,8 \pm 3,4$ %; $n=6$; $P < 0,05$) oproti neinkubované skupině A (v průměru $7,6 \pm 1,1$ %; $n=11$; $P < 0,05$). Po aplikaci $10 \mu\text{M}$ sildenafilu se však v inkubované skupině B při napětí -110 mV objevily signifikantně ($P < 0,05$) menší inhibice IKir (v průměru $6,6 \pm 1,1$ %; $n=12$; $P < 0,05$) oproti neinkubované skupině A (v průměru $16,0 \pm 2,2$ %; $n=20$; $P < 0,05$). V ostatních měřeních nebyl efekt mezi skupinami signifikantně rozdílný ($P > 0,05$). U neinkubovaných buněk skupiny A se v průměru po 45 minutách měření objevily masivní aktivace IKir. Průměrná velikost těchto aktivací byla $81,2 \pm 31,9$ % při -110 mV a $409,0 \pm 99,1$ % při -50 mV ($n=7$; $P < 0,05$). Tyto aktivace IKir byly významně vyšší při fyziologickém napětí -50 mV ($P < 0,05$).

Závěr:

Sildenafil u inkubovaných srdečních buněk způsoboval signifikantní navýšení kontrolního proudu při napětí -110 mV oproti buňkám neinkubovaným. Při fyziologickém napětí -50 mV vyvolala klinicky relevantní koncentrace 0,1 μM významnější inhibici IKir v inkubované skupině B oproti neinkubované skupině A. U neinkubovaných buněk skupiny A bylo pozorováno průměrně po 45 minutách extrémní navýšení IKir po aplikaci sildenafilu. U inkubovaných buněk skupiny B jsme tento efekt nepozorovali vzhledem k nedostatečné délce provedených měření. Masivní aktivace IKir by mohla být způsobena vytěsněním inhibitoru IK(ATP) glibenklamidu sildenafilem a aktivací tohoto kanálu. V následujících pokusech se pokusíme tuto hypotézu potvrdit.

Poděkování:

Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu Masarykovy univerzity MUNI/A/1255/2018 a v rámci programu P-Pool.

Non-invasive estimation of arterial stiffness in healthy and asthmatic children: a pilot study

Asya Hansen, Ksenia Budinskaya, MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Supervisor: Ksenia Budinskaya

Keywords: arterial stiffness, asthma, pulse wave velocity

Background:

Asthma is a chronic inflammatory disease that can have potential systemic impact on all organ systems, especially the cardiovascular system. The exact pathomechanisms causing asthma-related arterial alterations are not completely known. Phenomena occurring in asthma – such as inflammation, oxidative stress, leukotriene pathways, fibrinogen, and colony stimulating factors – can initiate pathological sequelae leading to future vascular complications such as arterial stiffness. The “golden” standard for arterial stiffness measurement is pulse wave velocity (PWV) measurement by sphygmography. The aim of our study is to evaluate functional and structural changes in cardiovascular system in asthmatic and healthy patients.

Methods:

We measured asthmatic children (group A: 52 participants, 23 boys) and control group (group C: 71 participants, 34 boys) of the same age (14 ± 2 years old), Body Mass Index (BMI, $21.1 \pm 4.6 \text{ kg/m}^2$). Asthmatic children were treated of the combination of blockers of H1 receptors with corticosteroid or agonist β_2 adrenal receptor, and keep a diet type 13 (for older children) or type 14 (selective diet). For each respondent we measured Systolic (SBP) and Diastolic Blood Pressure (DBP) as entry parameter (Omron, HEM-907-E, Japan). For estimation cardiovascular parameters we used aplanation tonometry (Sphygmocor device, AtCor Medical, Australia) and VaSera device (Fakuda Denshi, Japan). With Sphygmocor device were estimated vascular parameters such as Pulse Wave Velocity (PWV), Augmentation Pressure (AP), and Augmentation Index (AI) on the dominant side, and parameters of cardiac function: central tension time index (TTI), central diastolic time index (DTI), central Buckberg index (SEVR, [%]). Such vascular parameters as Cardio Ankle Vascular Index (CAVI) and Ankle Brachial Index (ABI) were measured on the both side with VaSera device. The Statistic 13 software was used for statistical analysis.

Results:

There were significant differences in PWV (6.6 ± 1.1 vs. 7.2 ± 1.4 m/s; $p < 0.05$), CAVI_r (4.4 ± 0.9 vs. 4.8 ± 0.6 ; $p < 0.05$), CAVI_l (4.5 ± 0.7 vs. 4.9 ± 0.6 ; $p < 0.01$), ABI_l (0.9 ± 0.1 vs. 0.95 ± 0.1 ; $p < 0.01$), TTI (1980 ± 282.0 vs. 1697 ± 334.8 ; $p < 0.01$), SEVR (135.5 ± 24.2 vs. 153 ± 37.7 %; $p < 0.01$) between A and C. There is no significant difference in SBP (107.5 ± 13.2 vs. 111 ± 12.4 mmHg; NS) and DBP (62 ± 8 vs. 61 ± 8.7 mmHg; NS) between A and C.

Conclusion:

We can conclude that asthma bronchiale and its treatment changed the properties of vessels in children comparing to the healthy group, as well as parameters of cardiac function.

Acknowledgements:

Supported by grant projects: MUNI/A/1255/2018; Research study of union SPA of Czech Republic. Grate thanks to everyone at the Miramonte Children`s Hospital, under the leadership of Jana Rýdlová.

Optimalizace procesu izolace DNA z krevních nátěrů pomocí vybraných postupů a jejich modifikací

Jiří Martenek

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC Masarykova Univerzita

Školitel: prof. MUDr. Michael Doubek Ph.D., Mgr. Jiří Štika Ph.D.

Klíčová slova: izolace DNA, krevní nátěr, fluorometrie, Real-Time PCR, TapeStation, normalizované DNA skóre integrity, DNA integrity number, Next-Generation sequencing (NGS)

Úvod:

Za poslední desetiletí došlo k markantnímu pokroku v oblasti technologií genového sekvenování. Nejedná se pouze o snížení nákladů, ale rovněž i díky rozvoji výpočetní techniky již není problém získat velmi rychle cenné informace s vyšší efektivitou. Bohužel, řada pacientů s různými hemato-onkologickými malignitami těmto onemocněním v minulosti podlehla. Využití zcela nových technik u takových pacientů nebylo možné, neboť absolutní většina odebraných vzorků nemá dlouhou životnost. Pro využití nových sekvenačních technik v případě, kdy pacient již nemůže poskytnout vhodný vzorek, se jako varianta jeví izolace DNA z krevních nátěrů u pacientů s hemato-onkologickými malignitami. Cílem práce je optimalizovat právě postup této izolace.

Metody:

Proces izolace DNA z krevního nátěru je vzhledem k množství vstupního materiálu problematický. V této práci je cílem optimalizovat postup izolace DNA pomocí kitu Qiamp DNA micro-kit a Gentra-Puregene Core kit b za účelem zisku adekvátního množství DNA s dostatečnou integritou. Množství izolované DNA se stanovovalo fluorimetrickou metodou, integrita izolované DNA se pak kvantifikovala na hodnoty normalizovaného DNA skóre integrity ($\Delta\Delta Cq$) a DNA integrity number (DIN), spočtenými na základě dat z Real-Time PCR a TapeStation. Celkem bylo izolováno

15 vzorků u nichž byl modifikován postup tohoto procesu, zejména z hlediska přidavků reagentů, doby inkubace, použitého kitu a protokolu k výrobcem doporučenému postupu.

Výsledky:

U všech 15 izolátů se stanovila koncentrace DNA, přičemž nejvyšší hodnoty 20,7 ng/ μ l, bylo dosaženo při použití Qiamp DNA micro-kitu s modifikací protokolu, dodaného výrobcem. V tomto případě se přidavek lyzačního pufru ATL ke vzorku snížil na 1/3 výrobcem doporučeného objemu a přidavek pufru AL, který zajišťuje vazbu DNA k silica částicím na povrch membrány, byl snížen na 1/2 objemu. Před samotným přenosem lyzátu na kolonku bylo přidáno 37,5 μ l 96% ethanolu na 200 μ l lyzátu pro dosažení vyšší efektivity vazby DNA na povrch membrány. Ostatní parametry zůstaly zachovány. U vybraných izolátů s vyšší koncentrací se stanovila integrita, potažmo fragmentace získané DNA. Tyto vlastnosti byly kvantifikovány do hodnot $\Delta\Delta Cq$ spočtených z výsledků Real-Time PCR a DIN získaných na základě dat z TapeStation. Pokud-li je $\Delta\Delta Cq$ nižší než 2, pak se integrita DNA považuje celkově za dostačující. U nejvíce koncentrovaného vzorku činila $\Delta\Delta Cq$ 1,11 a DIN 5,1, což odpovídá o nejvyšším zastoupení fragmentů velikosti 2,489 kbp. Oproti tomu druhý nejkonzentrovější vzorek (4,280 ng/ μ l) vykazoval hodnotu $\Delta\Delta Cq$ 1,58. Ostatní izoláty měly stanovenou koncentraci v průměru 1,550 ng/ μ l.

Závěr:

Z 15 vzorků izolované DNA z barvených i nebarvených krevních nátěrů, u nichž byl zároveň modifikován postup izolace (doba inkubace, přidavky činidel, použitý kit) se zatím jako celkově nejlepší jeví, vzhledem k množství vstupního materiálu, použití kitu Qiamp DNA micro-kit s modifikací přidavků, které činí 1/3 objemu pufru ATL a 1/2 objemového přidavku pufru AL, přičemž hodnoty ostatních přidavků jsou shodné s doporučenými objemy, uvedenými protokolem společnosti Qiagen (protokol Isolation of Genomic DNA from Dried Blood Spots) s přidavkem ethanolu v průběhu izolace. Je však stále nutné pokračovat v ověřování modifikovaných postupů pro confirmaci, získání více izolátů a navrhování nových potenciálně vhodnějších změn v používaných postupech.

Testování nových látek s potenciálními beta – blokačními účinky na vybraných biomodelech

**Eva Opatřilová, MUDr. Denis Lekeš, MUDr. Tibor Stračina,
prof. PharmDr. Petr Babula, Ph.D.**
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: beta-blokátory, karvedilol, H9c2, izolované srdce perfundované dle Langendorffa

Úvod:

Cílem práce je vyhodnocení míry toxicity a objasnění biologických účinků nových chemických látek ve vztahu k jejich chemické struktuře. Náš výzkum může podpořit a rozšířit poznatky v oblasti molekulového modelování nových léčiv a může vést k objasnění vztahu struktura-účinek léčiva in situ. Struktura našich látek byla navržena na základě knihovny znalostí interakcí molekul s receptory. U všech našich látek předpokládáme kompetitivní inhibici beta-adrenergických receptorů. Tento mechanismus účinku je vlastní léčivům první volby v terapii kardiovaskulárních chorob – beta-blokátorům. Tyto a další předpokládané účinky zkoumaných látek je nutné experimentálně potvrdit in vitro. Na Ústavu chemických léčiv VFU Brno byly namodelovány a syntetizovány nové látky s potenciálními beta-blokačními účinky. Na základě řady kritérií byla vybrána látka s pracovním názvem TP-1 pro pilotní biologické testování na Fyziologickém ústavu LF MU.

Metody:

Jako model pro in vitro experimenty byla zvolena buněčná linie H9c2, potkaní embryonální kardiomyoblasty. Jako pozitivní kontrola byl využit duální beta-blokátor karvedilol. Pro experimenty byly na základě literárních údajů zvoleny koncentrace 1 μM , 10 μM a 50 μM . Buňky byly TP-1 a karvedilolu exponovány po dobu 24 hod a poté byla vyhodnocena toxicita pomocí setu komerčně dostupných fluorescenčních barvení: akridinová oranž, fluorescein diacetát, propidium jodid, CellROX Green, DASPEI, Thioflavin T, DAPI a Oil Red O. Výsledky byly odečteny na fluorescenčním konfokálním mikroskopu a vyhodnoceny. Pro určení toxicity na orgánové úrovni byl vybrán model izolovaného srdce potkana perfundovaného dle Langendorffa. Na pilotní skupině 9 potkanů kmene Wistar byla provedena optimalizace testování. Potkani byli rozděleni do tří skupin: negativní kontrola, pozitivní kontrola (karvedilol) a experimentální skupina (TP-1). Látky byly aplikovány v koncentraci 40 nM. Samotný experiment probíhal ve 20 min fázích: stabilizace, podání látky, ischemie a reperfuze. Po celou dobu bylo registrováno EKG, které bylo následně off-line analyzováno.

Výsledky:

Semikvantitativní hodnocení obrazů z fluorescenčního mikroskopu prokázalo nižší toxicitu zkoumané látky TP-1 pro buněčnou linii H9c2 ve srovnání s karvedilolem. Všechny negativní kontroly byly v pořádku. U všech typů barvení karvedilol vykazoval vyšší toxicitu než TP-1 a v nejvyšší koncentraci (50 μ M) většinu buněk usmrtil. Naproti tomu TP-1 mělo v této koncentraci na viabilitu pouze malý vliv. Karvedilol vykazoval větší depozita lipidických látek v buňkách než TP-1 (barvení Oil Red O), což je ukazatelem většího buněčného stresu. Karvedilol také způsoboval vyšší stres endoplazmatického retikula (barvení Thioflavin T). Barvením CellROX Green bylo vizualizováno množství reaktivních kyslíkových radikálů, které ukazuje na úroveň oxidativního poškození buněk. I to bylo u karvedilolu vyšší, stejně jako autofagie vizualizovaná barvením akridinovou oranží. Výsledky analýzy EKG u modelu izolovaného srdce perfundovaného dle Langendorffa ukázaly i na malém vzorku již prokázané účinky karvedilolu na myokard – snížení srdeční frekvence a ochrana při ischemii. TP-1 vykazoval podobné účinky, zároveň se na EKG neprojevil žádný zřejmý negativní vliv této látky na myokard.

Závěr:

První výsledky ukazují, že zkoumaná látka nevykazuje vyšší toxicitu než v praxi užívaný beta-blokátor karvedilol. Výsledky studie pomocí fluorescenčního barvení ukazují, že TP-1 je pro H9c2 méně toxické než karvedilol. Tento fakt bude nutné potvrdit jinou metodou, která umožňuje kvantitativní vyhodnocení, např. flow-cytometrií nebo spektrofotometrií. Pilotní výsledky z experimentu na izolovaném srdci potkání potvrzují nižší toxicitu látky TP-1 i na orgánové úrovni. Beta-blokační účinek na srdce byl vyhodnocen na stejné úrovni jako u karvedilolu. Předpokládáme tedy potvrzení, že chemická struktura TP-1 vede k antagonismu beta-adrenergických receptorů.

Poděkování:

Tato studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu „Kardiovaskulární systém a jeho regulace a dysregulace pod vlivem farmak“ číslo MUNI/A/1255/2018 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum

Kritická role FGF v morfogenezi epitelu mléčné žlázy

Jakub Sumbal, Tereza Vránová, Anas Rabata, Zuzana Koledová

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: Mgr. Zuzana Koledová, Ph.D.

Klíčová slova: FGF, mléčná žláza, epitel, vývojová biologie, morfogeneze, organogeneze, organoid, signalizace, ERK

Úvod:

Mléčná žláza v pubertě prochází mohutným růstem, kdy se epiteliální dukty postupně prodlužují a větví, až zaplní celý okolní tukový polštář. V popředí větvící morfogeneze mléčné žlázy stojí koncové pupeny (terminal end buds, TEBs), což jsou struktury s několika vrstvami epitelu, obsahující dělivé kmenové buňky, jejichž potomstvo pak přispívá do prodlužujícího se duktálního systému. Pomocí genetických modelů bylo ukázáno, že pro vývoj mléčné žlázy je důležitá signalizace fibroblastovými růstovými faktory (FGF) a že FGF hrají roli právě ve funkci TEBs. Pro studium biologie mléčné žlázy se již dříve osvědčily 3D kultury a tak jsme se rozhodli s jejich využitím roli FGF signalizace ve vývoji mléčné žlázy dopodrobna prozkoumat.

Metody:

Stěžejní metodou této studie je 3D kultivace primárních organoidů myší mléčné žlázy. Organoidy byly získány z šestitýdenních myší kmene CD1, chovaných v souladu s platnou legislativou, a kultivovány v Matrigelu po dobu 9 dní v přítomnosti různých koncentrací růstových faktorů nebo inhibitorů dle potřeby daného experimentu. Pro navození trvalé stimulace FGF receptorů (FGFR) jsme využili stabilizovaný FGF2 (FGF2-STAB), se zvýšeným biologickým poločasem. Organoidy byly po dobu kultury sledovány časosběrnou mikroskopií a jejich morfologie prošla důkladnou obrazovou analýzou. Pro imunohistochemickou (IHC) analýzu byly organoidy zality do parafínu, nařezány na tenké řezy a značeny specifickými protilátkami. Přidáním Bromdeoxyuridinu před fixací a jeho následným IHC značením byly značeny proliferační buňky. Pro lokalizaci proteinů ve 3D byly celé zafixované kultury značeny protilátkami a snímány konfokálním mikroskopem. Ultrastrukturální změny epitelu byly studovány transmisní elektronovou mikroskopií. Kvantifikace kmenových buněk byla provedena mamosférovým pokusem. Genová exprese byla zjišťována pomocí RT-qPCR a množství proteinů pomocí western-blotu.

Výsledky:

Pomocí řady koncentrací a četnosti výměny média jsme nejprve ukázali, že různá intenzita FGF signalizace sice vede ke změnám v růstu i morfogenezi organoidů mléčné žlázy od vytváření, ale následně jsme za použití FGF2-STAB ukázali, že pouze trvalá FGF signalizace vede k výrazné akceleraci růstu epitelu a vytvoření masivního větvení. Toto masivní větvení jsme dále charakterizovali pomocí IHC a zjistili, že jde o struktury připomínající TEBs, vyskytující se *in vivo*. Dále jsme u masivně větvcích organoidů prozkoumali jejich funkční vlastnosti. Ukázali jsme zvýšenou proliferaci, sníženou apoptózu, obohacení populace kmenových buněk a intenzivnější metabolismus, čímž jsme dokázali, že masivní větvení nejen morfologicky, ale i funkčně připomíná TEBs. Následně jsme pomocí inhibitorů přidaných do kultur s masivně větvcími organoidy prozkoumali zapojení různých signálních drah, které navazují na FGF signalizaci. Ukázali jsme, že pro formování struktur připomínajících TEBs je zapotřebí povšechná aktivace FGFR i drah, jdoucích přes kinázy ERK, AKT, STAT3 i PLC γ . Jako nejdůležitější jsme identifikovali dráhu kinázy ERK a její hyperaktivaci jsme následně potvrdili western blotem a analýzou exprese genů, jejichž přepis ERK spouští.

Nakonec jsme prozkoumali dynamiku přenosu signálu v ose FGF-FGFR-ERK a identifikovali důležitost této dráhy zejména v počáteční fázi formování struktur připomínajících TEB.

Závěr:

Výsledky našeho bádání poukazují na kritickou roli dynamického řízení FGF signalizace ve vývoji mléčné žlázy a ukazují, že rozdíl mezi fluktuací a stálou koncentrací růstového faktoru v čase může vést k drasticky rozdílné morfologii tkáně. Dále jsme ukázali, že změny v morfologické odpovědi jsou podloženy změnou v signalizaci intracelulárních drah. TEBs jsou považovány za vývojový protějšek invadující rakovině prsu a mechanismy důležité pro biologii TEBs se v deregulované podobě vyskytují v nádorových buňkách. Naše zjištění tak nejenže objasňují mechanismy důležitého vývojového stádia, ale přináší i možnost dalšího bádání v kontextu nádorového onemocnění prsu.

Poděkování:

Děkujeme grantům MUNI/A/1565/2018, MUNI/G/1446/2018 a GJ16-20031Y a programu P-pool.

Hodnocení polyneuropatie pomocí konfokální mikroskopie rohovky

Gabriela Honová, MUDr. Aneta Rajdová, MUDr. Eva Vlčková, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Eva Vlčková, Ph.D.

Klíčová slova: konfokální mikroskopie rohovky, polyneuropatie, tenká vlákna

Úvod:

Konfokální mikroskopie rohovky (CCM) je relativně nová diagnostická metoda, umožňující morfologické hodnocení korneálních nervových vláken. Tato vlákna jsou prakticky bezvýhradně tenká, málo myelinizovaná či nemyelinizovaná. Metoda se proto jeví jako perspektivní nástroj pro diagnostiku neuropatie tenkých vláken (NTV) včetně diabetické (dNTV). Zlatým standardem pro diagnostiku NTV/dNTV je v současné době vyšetření intraepidermální hustoty tenkých nervových vláken (IENFD) z kožní biopsie. CCM může představovat neinvazivní alternativu IENFD, dosud je však k dispozici málo údajů o její spolehlivosti a reprodukovatelnosti. Cílem práce bylo stanovení spolehlivosti nálezů CCM při posuzování snímků více hodnotiteli (inter-rater reliabilita).

Metody:

Do studie bylo zařazeno 20 pacientů (12 mužů, 8 žen) s diabetickou polyneuropatií s postižením tenkých nervových vláken prokázaným prostřednictvím kožní biopsie s hodnocením IENFD. Všichni pacienti byli vyšetřeni pomocí

CCM a získané snímky byly následně hodnoceny nezávisle na sobě dvěma hodnotiteli (GH a AR). Během CCM vyšetření je vždy získán větší počet snímků (30-50), z toho jsou hodnoceny 3 vybrané snímky z různých vrstev rohovky, které hodnotitel zvolí jako nejreprezentativnější a technicky nej kvalitnější. Každý z hodnotitelů proto posuzoval (1) jím samostatně vybrané snímky a (2) společné snímky vybrané jiným hodnotitelem. V prvním případě tedy mohl každý z hodnotitelů hodnotit jiné snímky, zatímco ve druhém případě posuzovali oba hodnotitelé od daného pacienta tytéž snímky. Hodnocení probíhalo formou manuálního vyznačování jednotlivých nervových vláken pomocí počítačového programu CCMetrics s následným plně automatickým výpočtem hustoty (CNFD) a délky rohovkových nervových vláken (CNFL), hustoty jejich větví (CNBD) a míry jejich vinutosti (CNFT). Nálezy jednotlivých parametrů byly srovnány s publikovanými normativními daty, vytvořenými na souboru 71 zdravých dobrovolníků (Kovalova et al. 2017). Shoda nálezů mezi oběma hodnotiteli, odrážející spolehlivost a reprodukovatelnost CCM vyšetření, byla hodnocena prostřednictvím intra-class korelačního koeficientu (ICC), a to odděleně pro oba výše popsané způsoby výběru snímků. Sledována byla také celková časová náročnost.

Výsledky:

Výběr vhodných snímků trval hodnotiteli u každého pacienta přibližně 15 minut. Průměrná doba hodnocení souboru 3 snímků se pohybovala kolem 20 minut. Celková časová náročnost hodnocení CCM nálezů jednoho pacienta jedním hodnotitelem se pohybovala kolem 60 minut. Hodnoty všech sledovaných CCM parametrů (CNFD, CNFL, CNBD i CNFT) spadaly u všech vyšetřených pacientů do rozmezí, které je u pacientů s diabetickou neuropatií očekávatelné, a to při hodnocení kterýmkoli z obou hodnotitelů. U 70 % pacientů byla při použití publikovaných normativních dat prokázána abnormalita alespoň jednoho ze 4 hodnocených parametrů. Nejvíce abnormálních nálezů bylo zachyceno při hodnocení CNFT. Popsané nálezy tak potvrdily využitelnost a uspokojivou senzitivitu CCM vyšetření v diagnostice diabetické NTV a současně správnost způsobu hodnocení oběma hodnotiteli a validitu zjištěných dat. Intra-class korelační koeficient prokázal dle očekávání lepší shodu nálezů mezi oběma hodnotiteli při posuzování stejných snímků ve srovnání s hodnocením snímků vybraných individuálně každým z hodnotitelů (a tedy potenciálně odlišných). V obou případech však ICC pro většinu vyšetřovaných parametrů přesahoval hodnotu 0,800 a to s vysokou statistickou významností ($p < 0,001$). Nejhůře reprodukovatelným parametrem byla tortuozita, tedy míra vinutosti hodnocených nervových vláken, která je více než ostatní parametry závislá na přesnosti a důslednosti vyznačování jednotlivých vláken pomocí používaného grafického programu.

Závěr:

Provedená studie prokázala, že CCM je neinvazivní metodou využitelnou v diagnostice diabetické neuropatie tenkých vláken a to s uspokojivou validitou. Korelace nálezů mezi dvěma hodnotiteli prokázala jejich velmi dobrou shodu a to zejména při hodnocení stejných snímků. Poněkud horší je reprodukovatelnost výsledků vyšetření při individuálním výběru snímků, což naznačuje možnou vyšší variabilitu CCM nálezů např. mezijednotlivými diagnostickými centry. Hodnocení je poměrně časově náročné a je potřeba kvalitně zaškolený hodnotitel.

2. Klinická sekce chirurgických oborů

Febrilní křeče jako prediktivní faktor rozvoje hipokampální sklerózy

Barbora Musilová

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: febrilní křeče, hipokampální skleróza, mesiotemporální epilepsie

Úvod:

Vztah mezi výskytem febrilních křečí v dětství a rozvojem hipokampální sklerózy zůstává stále neobjasněný. Jedna z hypotéz popisuje primárně vzniklé febrilní křeče v dětském věku, které negativně ovlivňují mozkovou tkáň, a tak mohou přispívat k rozvoji hipokampální sklerózy. Další teorie se přiklání k myšlence již primárně poškozeného hipokampu vzhledem k perinatálnímu inzultu či genetickým predispozicím, který facilituje rozvoj febrilních křečí. Tímto způsobem dochází k dalšímu poškození mozkové tkáně. U pacientů s meiotemporální epilepsií bývá hipokampální skleróza potvrzena histopatologickým vyšetřením u 50 – 70 %.

Metody:

Naše studie zahrnuje pacienty, kteří byli hospitalizováni v letech 2008 až 2018 ve Fakultní nemocnici usv. Anny v Brně s diagnostikovanou farmakorezistentní epilepsií temporálního laloku. Pacienti podstoupili operační výkon – anteromesiální temporální resekci (AMTR) a resekovaná tkáň hipokampu byla odeslána na histologické vyšetření. U všech pacientů v našem souboru jsme sledovali základní demografická data – věk v době operace, věk při počátku epilepsie, pohlaví, výskyt febrilních křečí v dětství (tuto informaci jsme získávali z anamnézy či od praktických lékařů), lateralizaci postiženého hipokampu. Také jsme posuzovali rozdíl výskytu febrilních křečí u jednotlivých typů hipokampální skleróz – typ 1 a typ 2.

Výsledky:

Celkem jsme do studie zařadili 75 pacientů s histologicky verifikovanou hipokampální sklerózou (HS), 50 žen (66,7 %) a 25 mužů (33,3 %). Průměrný věk v době operace byl 39,2 (± 11,4) let, průměrný věk počátku epilepsie 11,2 (± 9,3) let. Častěji byl postižen pravý hipokampus – 41 případů (54,7 %) oproti levému – 34 případů (45,3 %). Přítomnost febrilních křečí (FK) v anamnéze byla zaznamenána u 24 pacientů (32,0 %), u zbylých 51 pacientů (68,0 %) se FK v dětství nevyskytly.

Statistické testy neprokázaly vliv lateralizace postiženého hipokampu na přítomnost FK ($p = 1$) ani typu HS ($p = 1$). Fisherův exaktní test neprokázal statisticky významný rozdíl výskytu FK mezi pohlavími ($p = 0,257$), typ HS se neukázal být závislý na pohlaví ($p = 0,6098$). S využitím Fisherova exaktního testu nebyl vztah mezi HS a přítomností FK statisticky prokázán ($p = 1$).

Závěr:

Testovali jsme přítomnost korelace mezi výskytem febrilních křečí v dětství a následným rozvojem hipokampální sklerózy u pacientů, kteří podstoupili MTLE. V našem souboru jsme neprokázali statisticky významnou korelaci mezi těmito dvěma entitami.

Poděkování:

Projekt byl finančně podpořen z grantu MUNI/C/1414/2017 Grantová agentura Masarykovy univerzity.

Laryngeální maska Unique™ u pediatrických pacientů podstupujících vyšetření magnetickou rezonancí: prospektivní observační studie

Lukáš Mareček, MUDr. Jozef Klučka, MUDr. Jan Šenkyřík, doc. MUDr. Jarmila Skotáková CSc., MUDr. Roman Štoudek, MUDr. Michaela Ťoukálková, MUDr. Ivo Kříkava Ph.D., Lukáš Mareček, RNDr. Tomáš Pavlík Ph.D., MUDr. Alena Štouračová Ph.D., doc. MUDr. Petr Štourač Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: laryngeální maska, pediatrická anestezie, radiologická malpozice, klinická malpozice

Úvod:

Laryngeální maska UNIQUE® (LMAU) je supraglotická pomůcka pro zajištění dýchacích cest s dobrými klinickými výsledky a nízkou incidencí selhání. Dosud není u pediatrických pacientů známa ideální pozice LMAU na zobrazení magnetickou rezonancí a zároveň nevíme, jestli může mít radiologicky definovaná malpozice význam v klinické anesteziologické praxi (malpozice se projeví například únikem vzduchu kolem manžety). Primárním cílem studie bylo zhodnotit incidenci radiologické malpozice LMAU v závislosti na velikosti masky.

Sekundárním cílem studie bylo srovnání klinických projevů a asociovaných komplikací (zavedení na první pokus, slyšitelný únik vzduchu kolem manžety) u pacientů s LMAU v korektní pozici a u pacientů s LMAU v malpozici.

Metody:

Do prospektivní observační studie byli zahrnuti všichni pacienti podstupující snímání mozku magnetickou rezonancí v celkové anestezii a se zavedenou LMAU v období 1.9. 2016 – 16.5. 2017. Radiologicky správná pozice LMAU byla definována: LMAU v hypofaryngu, proximální konec manžety na úrovni obratle C1 nebo C2, vzdálenost A (mezi proximálním koncem manžety a aditus laryngis) \leq vzdálenosti B (mezi distálním koncem manžety a aditus laryngis). Malpozice A byla definována jako: LMAU mimo hypofarynx. Malpozice B byla definována jako: proximální konec manžety mimo úroveň C1 - C2. Malpozice C byla definována jako: vzdálenost A $>$ vzdálenosti B. Vzdálenosti byly měřeny na snímcích z magnetické rezonance. Úspěšnost zavedení LMAU na první pokus u atestovaných a neatestovaných lékařů byla hodnocena pomocí Fisherova testu. Rozdíl mezi incidencí malpozice byl zhodnocen pomocí McNemarova testu a rozdíl v úniku v závislosti na radiologické pozici pomocí dvouvzorkového t-testu.

Registrace studie: www.Clinicaltrials.gov (NCT02940652)

Výsledky:

Do studie bylo zahrnuto celkem 202 pacientů. Incidence radiologicky definované malpozice byla přítomna ve 26,2 % (n = 53). LMAU byla správně zavedena na první pokus v 91,1 % (n = 184) případech. Slyšitelný únik vzduchu byl odhalen u 3,5 % (n = 7) pacientů. Radiologicky definovaná malpozice byla přítomna ve 42,9 % (n = 3) případech se slyšitelným únikem vzduchu. Přidružené komplikace (laryngospasmus, desaturace, kašel) se projevíly v 1,5 % (n = 3) případech. Ve 4,0 % (n = 8) případech byla LMAU znečištěna krví. Vyšší incidence radiologické malpozice se projevíla u velikostí LMAU 1,0; 1,5; 3; 4; v porovnání s velikostmi LMAU 2 a 2,5 ($p < 0,001$).

Závěr:

Malpozice LMAU nebyla spojena se zhoršenou klinickou výkonností (slyšitelný únik, komplikace) LMAU nebo nutnosti alternativního zajištění dýchacích cest.

Porovnanie výsledkov dvoch najčastejších chirurgických postupov v terapii CVA

Michaela Šoltysová, MUDr. Jakub Turek

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školiteľ: prof. MUDr. Jan Poul, CSc.

Klíčová slova: CVA, Kirschnerov drôt, skrutka

Úvod:

Slipped capital femoral epiphysis (SCFE) alebo coxa vara adolsecentium (CVA), je juvenilné poškodenie bedrového kĺbu spôsobené léziou proximálnej femorálnej fýzy, vedúce ku sklzu femorálnej metafýzy ventrálne. Femorálna hlavica v acetabule je umiestnená relatívne dorzálne vzhľadom na posunutú metafýzu. Ochorenie sa vyskytuje vo veku 10-15 rokov a je asociované s obezitou a viacerými endokrinnými poruchami. Cieľom tejto práce je porovnanie 2 metód používaných v chirurgickom riešení chronických sklzov 1. stupňa a akútnych sklzov, K-drôtov a skrutky, na ktorých použitie nie je v literatúre jednotný názor. V práci sledujeme aj komorbidity (BMI a prítomnosť endokrinného ochorenia), nutnosť repozície a výskyt pooperačnej nekrózy.

Metody:

V súbore 81 chirurgicky riešených sklzov (54 K-drôťmi, 27 skrutkou) z 3 rôznych chirurgických pracovísk, sme zaznamenali pohlavie, vek pacientov na začiatku terapie, dĺžku terapie, lateralitu a obojstrannosť poškodenia. RTG snímky vybraných pacientov analyzované v programe Marie Pacs-Diagnostic poskytli možnosť sledovania hodnoty Southwickovho uhlu, zmenu výšky epifýzy a správanie fixačného materiálu v kosti. Každý zo spomenutých parametrov bol zaznamenaný a porovnaný v projekcii predozadnej (APP) aj axiálnej (AXP), na začiatku a na konci terapie. Merali sme primárne zmenu polohy špičky fixačného materiálu v epifýze femuru. Hodnoty sme previedli aj do koeficientu presahu (definovaný ako pomer zmeny priemerného presahu fixačného materiálu ku zmene priemernej výšky epifýzy). Ten umožňuje presnejšie vyhodnotiť správanie fixačného materiálu a fýzy, vzhľadom na rozdielnosť veku ukončenia rastu medzi pohlaviami. K týmto meraným hodnotám sme pridali informácie o zdravotnom stave pacientov - hodnotu BMI a prítomnosť/nepřítomnosť endokrinného ochorenia. V súvislosti s vlastnou operáciou sme zadefinovali údaje o potrebe repozície a prípadnej pooperačnej nekróze.

Výsledky:

Pri terapii K-drôťmi bolo v súbore 54 kĺbov definovaných 46 pacientov s priemerným vekom 11,7 roka a priemernou dobou terapie 18,2 mesiacov. Posun vrcholu materiálu cez hranicu fýzy bol v oboch projekciách vyhodnotený ako významný (v AP projekcii na hladine významnosti 5 % ($p\text{-value} = 1.393 \times 10^{-6}$) < 0.05), v AX projekcii na hladine významnosti 5 % ($p\text{-value} = 0.0001652 < 0.05$)).

Pri terapii skrutkou bolo v súbore 27 kíbov definovaných 23 pacientov s priemerným vekom 12,4 roka a priemernou dobou terapie 14,4 mesiacov. Posun vrcholu materiálu cez hranicu fýzy bol v oboch projekciách vyhodnotený ako významný (v AP projekcii na hladine významnosti 5 % ($p\text{-value} = 9.41 \times 10^{-5}$) < 0.05), v AX projekcii na hladine významnosti 5 % ($p\text{-value} = 0.003557 < 0.05$)). V hodnotení koeficientu (zmena presahu materiálu: zmena výšky epifýzy) v AP projekcii po vnesení veku síce štatisticky významný rozdiel vyhodnotený nebol, avšak práve nižší vek dievčat v oboch terapiách (11,1 a 11,4 roka, oproti chlapcom, 12,1 a 13,5 roka), súčasne s priemerne nižšou zmenou presahu materiálu aj výšky epifýzy, poukazuje na skoršie ukončenie rastu u dievčat. Pri použití K-drôtov bola prevedená repozícia v 17 z 36 prípadov, nekróza sa vyskytla v 7 z 35 prípadov. Pri použití skrutky bola prevedená repozícia v 7 z 21 prípadov a nevyskytla sa žiadna nekróza pri rovnakom počte prípadov. Vzťah repozície a nekrózy nebol v danej vzorke preukázaný.

Záver:

Nami namerané hodnoty presahu fixačných materiálov cez hranicu fýzy sa v hodnotenom období pri oboch implantátoch menia. Výsledky ukazujú, že pri oboch zvolených metódach dochádza napriek transfixácii fýzy k rastu proximálneho femuru a táto zmena sa líši v súvislosti s vekom a pohlavím. Pri zvolení terapie K-drôtmí na jednej strane nenastáva problém s extrakciou, ale v našom prípade sa vyskytujú pooperačné nekrózy, ktoré sa pri použití skrutky nevyskytli. Potreba prevedenia repozície so vznikom nekrózy nesúvisí.

Cirkulující mikroRNA jako markery časné progrese u onkologických pacientů podstupujících léčbu metodami intervenční radiologie – pilotní studie

**Barbora Čechová, Mgr. Jaroslav Juráček, MUDr. Tomáš Andrašina, Ph.D.,
MUDr. Jan Zavadil, prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.,
prof. Nahum Goldberg, M.D.**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC MU – výzkumná skupina Ondřeje Slabého
The Hebrew University of Jerusalem, Israel

Školitel: prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D., MUDr. Tomáš Andrašina, Ph.D.

Klíčová slova: miRNA, transarteriální chemoembolizace, termální ablace

Úvod:

Přestože chirurgická resekce představuje primární terapeutickou volbu nádorového onemocnění jater, jen pětina pacientů může tento zákrok podstoupit.

Alternativou je využití miniinvazivních přístupů typu transarteriální chemoembolizace (TACE) nebo metody termální ablace (TA). Po zákrocích dochází k systémové odpovědi organismu, jejíž součástí je uvolňování miRNA do cirkulace, kde mohou být zapojeny do další progresu nádorového onemocnění. Vzhledem k rozdílné podstatě metod předpokládáme, že charakter a druh výkonu bude ovlivňovat spektrum a množství miRNA uvolněných do cirkulace, a proto by jejich detekce mohla sloužit k monitorování terapeutické odpovědi pacientů.

Metody:

Do studie byli zahrnuti pacienti z Fakultní nemocnice Brno (n = 51), u nichž bylo detekováno nádorové ložisko v játrech a kteří podstoupili TA nebo TACE - 24 pacientů s TA (19 mCRC, 1 GIST, 4 HCC), 18 pacientů s TACE (13 HCC, 5 mCRC). K posouzení rozdílu v dynamice cirkulujících miRNA u degradabilních a nedegradabilních částic použitých v rámci TACE bylo vybráno 9 dalších pacientů s aplikovanými degradabilními částicemi (9 HCC). Vzorky krve byly odebrány ve 4 sériových vzorcích získaných v různých časových intervalech – před zákrokem, po zákroku, 1 den, 1 týden. Absolutní koncentrace byla změřená pomocí specifické TaqMan™ MicroRNA Assay a metody qRT-PCR.

Výsledky:

U obou technik byl sledován nárůst hladin měřených miRNA v plazmě v souvislosti s provedeným výkonem, následovaný postupným poklesem. V rámci RFA došlo k statisticky významnému nárůstu hladiny miR-122 (FC = 55,7; P < 0,0001) a miR-200a (FC = 3,2; P = 0,0001) ihned po výkonu. U TACE byla statisticky významná změna všech měřených miRNA detekována 24 h po výkonu: miR-21 (FC = 5,1; P = 0,025); miR-210 (FC = 3,2; P = 0,0229); miR-122 (FC = 7,5; P = 0,0106); miR-200a (FC = 5,9; P = 0,0006); miR-34a (FC = 8,6; P = 0,0287). Nárůst hladiny miR-210 byl navíc významně nižší u pacientů s degradabilními částicemi ve srovnání s pacienty s aplikovanými nedegradabilními částicemi (P = 0,0147). U pacientů s mCRC podstupujících TA byla pozorována významná korelace změny hladiny miR-210 (P = 0,0095) a miR-200a (P = 0,0238) s odpovědí na provedení výkonu.

Závěr:

U pacientů s nádorovým onemocněním jater podstupujících termální ablacii a transarteriální chemoembolizaci byl pozorován signifikantní nárůst měřených miRNA v krevní plazmě. Rozdílná dynamika hladin specifických miRNA u TA a TACE, i v rámci použití degradabilních a nedegradabilních částic, koresponduje s předpokládaným biologickým efektem použitých metod. Korelace dynamické změny miRNA s terapeutickou odpovědí pacientů navíc naznačuje potenciální využití cirkulujících miRNA jako biomarkerů časné progresu minimálně invazivních metod v radiologii.

Poděkování:

Podpořeno z MUNI/A/1255/2017.

Hemiepifyzeodéza s použitím Blountových skob a osmičkových dláh v korekcii genu valgum u detí

Nina Homolová, MUDr. Jakub Turek
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Jakub Turek

Klíčová slova: hemiepifyzeodéza, genu valgum, Blountove skoby, osmičkové dlahy

Úvod:

Osové deformity dolných končatín rôznej etiológie patria medzi relatívne časté diagnózy v detskej populácii. V súčasnej dobe sa ku korekcii osových deformít u detí využíva relatívne technicky jednoduchá metóda dočasnej alebo trvalej epifyzeodézy pri prítomnosti rastových chrupaviek. K žiadúcej zástave sa používajú novšie implantáty, tzv. osmičkové dlahy (eight figure plates), ktoré podľa štúdií pôsobia na rastovú chrupavku tenziou a nie kompresiou, vďaka čomu by táto metóda mala predstavovať bezpečnejšiu a šetrnejšiu voľbu v porovnaní s tradičnými Blountovými skobami. Cieľom štúdie je porovnať korekciu idiopatických osových deformít u detských pacientov s neukončeným kostným vývojom za použitia oboch druhov implantátov.

Metody:

Retrospektívne bolo analyzovaných 59 pacientov, ktorí podstúpili temporárnu hemiepifyzeodézu distálneho femuru pre korekciu osovej deformity v zmysle idiopatických genua valga s použitím Blountových skob (skupina 1, 21 pacientov) a s použitím osmičkových dláh (skupina 2, 38 pacientov) na Klinike detskej chirurgie, ortopedie a traumatológie vo FN Brno. Zaznamenávané boli antropometrické parametre (BMI, vek, pohlavie, intermaleolárna dištancia (IMD)), dĺžka terapie, RTG parametre (anatomický laterálny distálny femorálny uhol (aLDFA), anatomický mediálny proximálny tibiálny uhol (aMPTA)) a komplikácie. Rýchlosť korekcie bola hodnotená ako rozdiel RTG parametrov pred operáciou a po operácii vzhľadom na časový interval terapie.

Výsledky:

Analyzované skupiny sú vzhľadom k antropometrickým parametrom (BMI ($p=.800$), IMD ($p=.334$), pohlavie ($p=.087$)) porovnateľné. Priemerné hodnoty antropometrických parametrov skupiny 1: BMI $26,4\pm 3,5$; IMD $14,7\pm 2,6$; zastúpenie pohlaví: 17 chlapcov, 4 dievčatá. Priemerné hodnoty antropometrických parametrov skupiny 2: BMI $26,3\pm 4,4$; IMD $14,0\pm 2,6$; zastúpenie pohlaví: 21 chlapcov, 17 dievčat. Jediný štatisticky významný rozdiel bol zistený vo vekovom zastúpení skupín ($p=.005$), pričom skupina 1 ($12,7\pm 0,7$) obsahovala pacientov s vyšším priemerným vekom než skupina 2 ($11,6\pm 1,5$). Skupiny sú porovnateľné aj v priemernej rýchlosti korekcie za časový interval 1 mesiac, pretože medzi nimi nebol nájdený štatisticky významný rozdiel (aLDFA $p=.393$; aMPTA $p=.831$). Priemerná rýchlosť

korekcie bola u skupiny 1: aLDFA $0,52^{\circ} \pm 0,20$ / mesiac, aMPTA $0,12^{\circ} \pm 0,08$ /mesiac; u skupiny 2: aLDFA $0,56^{\circ} \pm 0,28$ /mesiac, aMPTA $0,12^{\circ} \pm 0,20$ /mesiac. Jednotlivé implantáty sa líšili typom komplikácií, no medzi analyzovanými skupinami nebol nájdený signifikantný štatistický rozdiel vo výskyte komplikácií ($p=0,526$).

Záver:

Hemiepifyzeodéza s použitím osmičkových dláh je súčasným trendom v korekcii genu valgum u detí s neukončeným kostným vývojom. Výsledky tejto práce ukazujú, že ich použitie v porovnaní s Blountovými skobami nepredstavuje rýchlejšiu korekciu osovej deformity ani menší výskyt komplikácií. Môžeme preto tvrdiť, že Blountove skoby majú stále svoje miesto v tejto indikácii. Použitie osmičkových dláh predstavuje vhodné riešenie hlavne u detí mladších vekových skupín, kde ukotvenie skrutiiek osmičkových dláh bráni migrácii implantátov v epifýzach kostí, ktoré majú u mladším pacientov vysoký podiel chrupavčitej zložky.

Výskyt pooperačných komplikácií u pacientů s anastomózou GIT hodnotenou laserovou velocimetrií

Vít Dvořák

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Petr Vlček, Ph.D.

Klíčová slova: laserová velocimetrie, anastomóza, pooperační komplikace

Úvod:

Tato práce se zaměřuje na zhodnocení výskytu pooperačních komplikací u vzorku pacientů, kteří podstoupili resekci části střeva s následným vytvořením anastomózy, jejíž perfuze byla v této studii hodnocena pomocí laserové velocimetrie. Sledování kvality perfúze anastomózy by mělo korelovat se snížením pooperačních komplikací včetně závažné netěsnosti v anastomóze a zkrácením doby hospitalizace pacientů.

Metody:

Retrospektivní studie hodnotila kvalitu perfuze oblasti anastomózy GIT v souvislosti s pooperačním průběhem pomocí laserové velocimetrie (přístroj Moor-FLPI-2). V retrospektivní studii u 16 pacientů z období mezi srpnem 2018 až lednem 2019 na I. chir. klinice byl hodnocen výskyt pooperačních komplikací (s dominancí insuficience anastomózy), dále pak délka hospitalizace a rozvoj peristaltiky.

Výsledky:

Méně závažné komplikace ve formě paralytického ileu se vyskytly u dvou pacientů, v jednom případě bylo nutné provést operační revizi s nálezem intaktní anastomózy. S ohledem na sledování kvality perfúze nebyla nalezena u žádného pacienta ze souboru netěsnost anastomózy. Význam této práce je limitován zatím malým počtem pacientů při iniciálních zkušenostech.

Závěr:

Peroperační monitorování kvality perfúze anastomózy trávicího traktu by mělo vést ke snížení nejzávažnější a mnohdy i fatální komplikace, tj. netěsnosti v anastomóze. To odpovídá i kratší době hospitalizace. Cenná může být i komparace s ostatními metodami hodnotící perfúzi tkání i těsnost anastomózy. Metoda je pilotním projektem k hodnocení kvality perfúze tkání v jiných anatomických oblastech.

Fyloidné tumory prsníka – retrospektívny prehľad 83 klinických prípadov

Patrícia Mužlayová, doc.MUDr. Oldřich Coufal, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Oddělení chirurgické onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno, Česká republika

Školitel: doc. MUDr. Oldřich Coufal, Ph.D.

Klíčová slova: fyloidné nádory, biologická povaha, chirurgická terapia

Úvod:

Fyloidné tumory prsníka žien patria medzi zriedkavo sa vyskytujúce neoplázie fibroepiteliálneho charakteru. Fyloidné nádory sa navzájom líšia svojou biologickou povahou, od ktorej závisí prognóza a výsledok liečby. Tento typ nádoru je len ojedinele nájdený u adolescentov a mladých žien, častejšie postihuje pacientky vo veku od 40 do 50 rokov. Najčastejším chirurgickým spôsobom liečby je buď široká lokálna excízia s odporúčaným minimálne 1 cm širokým negatívnym lemom alebo simplexná mastektómia ako prevencia recidív. Cieľom našej práce bolo podať retrospektívny prehľad o pacientkách, ktoré boli operované kvôli nálezu fyloidného nádoru na Masarykovom onkologickom ústavu v období od marca 2004 do mája 2014.

Metody:

Do retrospektívnej štúdie bolo zaradených 83 pacientiek, ktoré podstúpili chirurgickú liečbu kvôli fyloidnému nádoru prsníka. Hodnotili sme predovšetkým údaje ako presnosť punkčnej predoperačnej diagnostiky, spôsoby chirurgickej liečby najmä typy chirurgických výkonov, resekčné okraje nádoru, množstvo včasných re-resekcí, veľkosť nádoru, histologické obrazy pri vyšetrení resekátov, biologické chovanie nádoru a s tým súvisiaci výskyt recidív a vzdialených metastáz.

Výsledky:

Vek pacientiek sa pohyboval od 19 do 89 rokov, pričom priemerný vek sa rovnal 47 rokov. V 50 prípadoch sa jednalo o nádory benígne (60,24 % všetkých tumorov), v 18 to boli malígne nádory (21,67 % všetkých tumorov) a zvyšných 15 prípadov zahŕňalo nádory hraničné (18,09 % všetkých tumorov). Recidíva tohto ochorenia sa vyskytla 9-krát. Počas sledovaného obdobia došlo k úmrtiu 12 pacientiek.

Záver:

Fyloidné nádory postihujú pacientky všetkých vekových kategórií, no najviac sú ohrozené ženy okolo 50. roku života. Biologická povaha nádoru, včasná diagnostika a terapia sú dôležité faktory, ktoré ovplyvňujú priebeh a prognózu ochorenia a výsledok liečby.

Vyhodnocení spokojnosti pacientů s obrnou lícního nervu s reanimací obličeje

Nikola Dubovská

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Libor Streit, Ph. D.

Klíčová slova: paréza, reanimace, FPD skóre

Úvod:

Komplexní chirurgická léčba paretického obličeje je založena na operacích, které obnovují postavení a funkci tváře případně i postavení koutku úst staticky nebo dynamicky. Chirurgická léčba, vedoucí k obnově pohybů paretického obličeje se nazývá reanimace. Cílem práce je představit výsledky reanimací technikou sesunu temporálního svalu, objektivizovat spojenost kvalitu života těchto pacientů pomocí nově vytvořeného dotazníku, a potvrdit, že dotazník s dostatečnou přesností koreluje s potížemi pacientů s obrnou lícního nervu.

Metody:

Do souboru bylo zařazeno 14 pacientů operovaných od 5/2016 do 3/2019 pro těžkou parézu lícního nervu (V. nebo VI. stupně dle House–Brackmannovy

klasifikace) technikou temporální myoplastiky. Konkrétně se jednalo o následující pacienty: 6 pacientů po exstirpaci neurinomu akustiku, 1 pacient po exstirpaci submandibulárně lokalizovaného lipomu, 1 pacient po exstirpaci astrocytomu vermiscerebelli, 1 pacient po překonání virové infekce, 1 pacient po flegmóně tváře po extrakci zubů, 2 pacienti s Bellovou obrnou a 2 pacienti s vrozenou obrnou. Principem operace je odpojení úponu svalu od processus coronoideus mandibuly a jeho sesun směrem k ústnímu koutku. U 8 pacientů byla současně provedena asymetrická tarsorafie pro lagophthalmus. Cílená rehabilitace s využitím principu „mirroreffect“ byla zahájena 4 týdny po operaci. Výsledky operací byly objektivizovány na základě standardizované fotodokumentace, HB skóre, FGS skóre a Facial Assessment Scale. Kvalita života byla hodnocena pomocí nově vytvořeného dotazníku FPD skóre.

Výsledky:

U všech pacientů bylo dosaženo do 3 měsíců od operace aktivního pohybu v koutku, zlepšení klidové symetrie a symetrie volního pohybu obličeje. Byl vytvořen nový dotazník pro objektivizaci kvality života pacienta po operaci nazvaný „Facial Pasy Disability“ skóre (FDP skóre). Pomocí dotazníku jsme potvrdili signifikantní zlepšení kvality života nejméně o 10%. Tohoto rozdílu jsme dosáhli u 100 % pacientů. Současně jsme potvrdili, že zlepšení v FDP skóre koreluje se zlepšením HB skóre, FGS a FAS.

Závěr:

Reanimace obličeje temporální myoplastikou představuje léčebnou alternativu, pomocí které lze účinně obnovit funkci paretického obličeje bez nutnosti odběru nervového štěpu nebo svalové jednotky na jiném odběrovém místě, a to i u starších nemocných. Ke zlepšení klidové symetrie a k obnově pohybu tváře dochází konzistentně a brzy po operaci.

Okamžitá rekonstrukce prsu po mastektomii technikou fat graftingu

Katsiaryna Abukhovich

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Libor Streit, Ph.D.

Klíčová slova: profylaktická, mastektomie, kůži šetřící, subkutanní, okamžitá rekonstrukce prsu, fat grafting, BRCA, BREAST-Q

Úvod:

Profylaktická mastektomie s okamžitou rekonstrukcí prsu je standardní a doporučovaný postup u pacientek s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu, mezi které patří pacientky s patologickou mutací v genech BRCA-1, 2 a dalších. Rekonstrukce fat graftingem je progresivní metodou autologní rekonstrukce prsu.

Jedná se o přenos tukové tkáně v injekční formě používaný zejména při sekundární rekonstrukci prsou. Cílem práce bylo vyhodnocení výsledků okamžitých rekonstrukcí prsou fat graftingem jako nové rekonstrukční metody, analýza chirurgických komplikací a určení míry spokojenosti pacientek s výsledkem.

Metody:

Do souboru bylo zařazeno 15 pacientek, u kterých byla v období od 5/2015 do 4/2019 provedena jednostranná nebo oboustranná profylaktická subkutánní nebo kůži šetřící mastektomie s okamžitou rekonstrukcí prsu přenosem tukové tkáně do mm. pectorales technikou fat graftingu. U 14 pacientek s hypertrofií prsu byly k rekonstrukci objemu použity také kaudálně stopkované dermální laloky. Pacientky byly s odstupem minimálně 3 měsíců po operaci vyšetřeny magnetickou rezonancí a ultrazvukem. Byla tak vyhodnocována četnost a velikost tukových nekróz, jejich rozložení a dále objemové změny mm. pectorales majores. Pomocí těchto zobrazovacích metod byla rovněž objektivizována radikalita provedené profylaktické mastektomie. K vyhodnocení kvality života pacientek před a minimálně 6 měsíců po operaci byly použity dotazníky BREAST-Q.

Výsledky:

Průměrný věk pacientek v souboru byl 47,3 let (od 33 do 70 let). Průměrný objem přenášeného tuku do mm. pectorales byl 140,9 ml (od 50 do 220ml). U 10 pacientek bylo dosaženo uspokojivé velikosti prsu po první operaci. U 4 pacientek byla provedena jedna následná etapa lipomodelace a u 1 pacientky byly provedeny dvě následné etapy. U žádné z pacientek se po operaci nevyskytl hematoma, u 1 pacientky byl detekován pooperační serom, ambulantně řešený punkcí. Pomocí ultrazvuku a magnetické rezonance byl detekován zcela ojedinělý výskyt malých tukových nekróz v mm. pectorales s velikostí do 10 mm. Velikost a četnost tukových nekróz byla signifikantně vyšší v dermálním laloku, do kterého ale nebyl tuk aplikován. Tukovou nekrózu bylo třeba chirurgicky odstranit u 3 pacientek. Pomocí dotazníku BREAST-Q jsme prokázali jednoznačné zlepšení kvality života pacientek po operaci ve smyslu vyšší spokojenosti s tvarem a vzhledem prsou, a také aspektů psychosociálních a tělesných.

Závěr:

Okamžitá rekonstrukce prsu fat graftingem je perspektivní operační technika, kterou lze dosáhnout uspokojivé velikosti a tvaru prsou bez nutnosti použití silikonového implantátu a bez morbidoty spojené s odběrem laloku. Výhodou je nízká invazivita a nízký počet chirurgických komplikací. Bylo prokázáno, že mm. pectorales jsou vhodnými recipienty pro přenos tukové tkáně. Operace má kromě svého preventivního charakteru ve smyslu odstranění rizikové mléčné žlázy pozitivní vliv na kvalitu života pacientek.

3. Klinická sekce interních oborů

QSM: Časný MRI biomarker Parkinsonovy nemoci

Klára Stašková, Ing. Marie Nováková, prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC MU

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

Klíčová slova: PD, Parkinsonova choroba, QSM, Quantitative Susceptibility Mapping, akumulace železa, MRI, biomarker

Úvod:

PD je neurodegenerativní onemocnění charakterizované poruchou hybnosti (třes, rigidita, bradykineze, posturální poruchy). Hybné symptomy vznikají na podkladě ztráty dopaminergních neuronů v substantia nigra. V současnosti je diagnostika PD klinická, staví na rozpoznání motorických příznaků. Patologické změny při PD se však mohou objevit již desítky let před manifestací prvních symptomů. Charakteristickým znakem nemoci je zvýšená akumulace železa ve specifických oblastech mozku. Nová metoda nazývaná Quantitative Susceptibility Mapping umožňuje zobrazování a kvantifikování železa ve tkáních in vivo. Je tedy snaha o její využití jako biomarkeru PD, který umožní časnou léčbu a urychlí výzkum nových molekul pro kauzální terapii PD.

Metody:

Ve studii byla použita nová MRI technika – QSM, která dokáže zobrazit distribuci železa ve tkáních. Metoda QSM řeší tzv. inverzní problém, kdy se ze znalosti magnetického pole snažíme sestavit prostorovou distribuci zdrojů susceptibility. Výsledkem je tedy mapa lokálních vlastností tkáně. Jelikož většina železa v buňkách je ukládána ve formě Fe³⁺ ve ferritinu (či patologicky v dopaminergních neuronech) a trojmocné železo je vysoce paramagnetické, vykazuje tak silnou susceptibilitu, zesiluje vnější magnetické pole a přispívá k vysokým QSM hodnotám. Do studie bylo zařazeno 21 PD (66±6 let) a 22 HC (67±5 let) dobrovolníků. U pacientské i kontrolní skupiny byly na MRI naměřeny 3D multiecho GRE susceptibilně vážené sekvence. Postprocessingem fázových obrazů mozkové tkáně metodou QSM bylo získáno kvantitativní rozložení zdrojů susceptibility v zobrazovaném mozku. Na výsledném obrazu byly manuálně vymaskovány pravé a levé oblasti substantia nigra (SN) a nucleus dentatus (DN).

Binární masky byly opět přeloženy přes mapu lokální susceptibility a byl vypočten medián hodnot susceptibility v oblastech zájmu. Získali jsme průměrný počet částic železa na milion v dané mozkové struktuře. Tyto hodnoty byly následně statisticky porovnány mezi skupinami.

Výsledky:

Ve výsledcích byla prokázána statisticky signifikantně zvýšená susceptibilita v SN ($p=0,046$, průměr hodnot z pravého a levého SN) u PD skupiny oproti HC skupině, což značí prokazatelně zvýšené ukládání železa u PD v SN. Pomocí ROC křivky jsme určili senzitivitu metody na 0,48 a specifickost na 0,82 při prahové hodnotě 0,18 ppm, což nám udává, že QSM je při hodnocení množství železa při PD metodou dostatečně specifickou, avšak ještě ne tak citlivou, aby se dala použít samostatně jako diagnostický marker onemocnění. Lze však prozatím v diagnostice uvažovat o její kombinaci např. se sledováním nemotorických příznaků, které se u PD pacientů projevují dříve, než se rozvinou hlavní motorické symptomy. Z výsledků měření susceptibility mozečkového jádra DN nebyla v naší studii prokázána zvýšená akumulace železa u PD pacientů oproti zdravým věkově vázaným kontrolám. Domníváme se, že je to dáno tím, že v naší skupině pacientů bylo minimum pacientů tremor-dominantních, jelikož jsme se snažili vyhnout pohybovým artefaktům při snímání v MR. Jak bylo již prokázáno v předchozích studiích, u tremor-dominantních pacientů ke zvýšenému ukládání železa v DN dochází.

Závěr:

Tato studie dokazuje, že zvýšená akumulace železa v substantia nigra je charakteristická pro Parkinsonovu chorobu, ačkoli příčina akumulace železa a nigrální degenerace je stále neznámá. QSM je nadějným nástrojem pro její zobrazování a kvantifikaci. QSM má velký potenciál stát se neinvazivním markerem PD již v prodromálních (nemotorických) stádiích této nemoci, kdy by mohl pomoci odhalit ty pacienty, kteří již mají výrazné degenerativní změny SN a budou v krátké době konvertovat do klinického stadia PD. Studie na prodromálních stádiích PD již probíhá.

Retrospektivní analýza pacientů diagnostikovaných s chronickou rekurentní multifokální osteomyelitidou na PDM, LF MU Brno

Filip Gistl

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: doc. MUDr. Jarmila Skotáková, CSc., MUDr. Marcel Schüller, Ph.D.

Klíčová slova: diagnostika, ložiska, terapie, CRMO, chronická rekurentní multifokální osteomyelitida

Úvod:

Chronická rekurentní multifokální osteomyelitida (CRMO) je vzácné nebakteriální zánětlivé kostní onemocnění, postihující primárně děti a adolescenty. Vyznačuje se intermitentní bolestí, otokem a zarudnutím v oblastech postižených kostí. Při CRMO nevznikají specifické protilátky či jasné indikátory v oblasti laboratorních vyšetření a výskyt potíží může být jak multifokální, tak unifokální. Pro tyto skutečnosti je stanovení diagnózy často velmi zdoluhavé. Cílem studie bylo shromáždění výsledků zobrazovacích metod vybraných laboratorních vyšetření a použité terapie u pacientů s diagnózou CRMO na Pracovišti dětské medicíny FN a LF MU Brno a určení nejčastějších oblastí výskytu ložisek a vhodných metod jejich průkazu.

Metody:

V rámci studie byla využita klinická retrospektivní analýza pacientů diagnostikovaných s CRMO na Pracovišti dětské medicíny FN a LF MU Brno, mezi roky 2008 až 2015. Jako zdroj byly využity lékařské zprávy a digitalizované snímky zobrazovacích metod z Kliniky dětské radiologie. U souboru 12 pacientů byly shromážděny údaje o pacientech, výsledky skiagramů, CT a MR vyšetření. Dále výsledky měření CRP, leukocytů a zastoupení neutrofilů, lymfocytů a monocytů. Nakonec byly sepsány údaje o terapii pacientů ze souboru.

Výsledky:

V poměru 9:3 převažovalo ženské pohlaví k mužskému. Věkové rozmezí bylo od 4 do 14 let, s nejvyšším výskytem prvních příznaků ve 14 letech. Dohromady bylo zobrazovacími metodami zaznamenáno 155 ložisek, z toho nejvíce na kostech dolních končetin (77), na páteři (38) a kosti pánevní (20). Ložiska dolních končetin byla tvořena převážně ložisky femuru (45 %), nejčastěji v oblasti proximální (16 %) a distální (13 %) metafýzy. Na páteři mj. os sacrum (42 %). Na kosti pánevní nejčastěji os ilium (30 %). Postižení klavikuly se vyskytlo u 42 % pacientů. Celotělové MR vyšetření bylo provedeno u 10 pacientů, s 100% senzitivitou. 10 pacientů podstoupilo scintigrafii, u 7 s pozitivním nálezem. 9 pacientů podstoupilo biopsii ložiska. Hodnoty CRP, při výskytu prvních potíží, se u souboru pohybovaly v rozmezí 1,7 až 34 mg/l, hodnoty leukocytů v rozmezí 6,07 až 15,72 leu x10⁹, z čehož neutrofily se pohybovaly mezi 41,1 až 72,4 %, lymfocyty mezi 19,6 až 49 % a monocyty mezi

4,38 až 10,2 %. V rámci terapie byly nejčastěji používanými preparáty nesteroidní antirevmatika (100 % pacientů). 3 pacienti užívali i opioidní analgetika (Oxykodon, Tramadol). 10 pacientů bylo léčeno bisfosfonáty (Pamidronát). 8 užívalo Methotrexát a 6 Prednison. 2 pacienti podstoupili anti-TNF terapii (Etanercept). Z 12 pacientů dostávalo 9 před stanovením diagnózy CRMO antibiotickou léčbu. Na základě klinických dat, laboratorních výsledků a závěrů zobrazovacích metod byla u těchto 12 pacientů stanovena diagnóza CRMO.

Závěr:

Výhodnou diagnostickou metodou bylo celotělové MR vyšetření, schopné prokázat i klinicky a radiologicky němá ložiska. Méně senzitivní alternativou byla scintigrafie. Nejčastěji postižené oblasti byly kosti dolních končetin, mj. proximální a distální metafýzy femuru, metatarzální kosti a proximální a distální metafýzy tibie, dále kosti páteře, nejčastěji os sacrum. Na třetím místě byla kost pánevní. Klavikula byla zasažena u 42 % pacientů. Laboratorní hodnoty sloužily pouze pro vyloučení jiných diagnóz. Kostní biopsii prodělalo 9 z 12 pacientů. 3 pacienti brali pro bolest opioidní analgetika a 10 pacientů prošlo aplikací Pamidronátu. 2 pacienti podstoupili anti-TNF terapii. 9 pacientů dostávalo antibiotickou terapii před stanovením dg. CRMO.

Prognostický či prediktivní potenciál vitamínu D a VDR receptoru pro léčebnou odpověď a přežití dětských onkologických pacientů – první výsledky

Vítězslav Dušek, prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., doc. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., RNDr. Martina Mrkvicová, Ph.D., doc. RNDr. Josef Tomandl, Ph.D., prof. RNDr. Ladislav Dušek, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D.

Klíčová slova: vitamin D, 25(OH)D, VDR, SNP, nádor, dětský nádor, přežití, prognóza

Úvod:

Literatura věnuje zvýšenou pozornost novým poznatkům o protinádorových účincích vitamínu D, který by měl dle mnohých publikací vykazovat prodiferenciační, proapoptotické, antiproliferační a antiangiogenní účinky na tkáň zhoubných nádorů. Autoři se nyní zaměřují především na polymorfismy genu pro jaderný receptor vitamínu D (VDR), u nichž se předpokládá, že by mohly ovlivňovat tyto účinky vitamínu D a tím i prognózu onemocnění. Stále však chybí dostatek podobných prací zaměřených na velmi specifickou pediatriickou onkologii.

Cílem práce je zjistit úroveň saturace vitamínem D a prevalenci variant VDR genu v reprezentativním souboru dětských onkologických pacientů v ČR a ověřit případnou asociaci těchto parametrů s jejich léčebnou odpovědí.

Metody:

Do práce bylo zahrnuto 230 pacientů Kliniky dětské onkologie FN Brno, kterým bylo mezi lety 2010 a 2013 diagnostikováno maligní nádorové onemocnění. Skupiny diagnóz odpovídají nejčastěji se vyskytujícím turomům dětského věku, jmenovitě: tumory CNS, neuroblastom, maligní lymfomy, leukemie, Ewingův sarkom, Wilmsův tumor a vybrané vzácnější diagnózy (podrobněji viz text). Věk pacientů při diagnóze se pohyboval mezi 0 a 21 lety. Pacienti byli sledováni od data diagnózy do 31.12.2017, průměrně 61,3 měsíců, a 50 z původních 230 za tuto dobu svému onemocnění podlehl. Všem 230 pacientům byla při diagnóze vyšetřena sérová hladina 25(OH)vitaminu D. U 208 pacientů bylo následně metodou restriční analýzy vyšetřeno 5 SNP v genu pro VDR - konkrétně lokusy Apal, TaqI, BsmI, FokI, Cdx2 - o kterých se literatura v souvislosti s nádorovými onemocněními zmiňuje nejčastěji. 48 pacientům s diagnózami neuroblastomů a maligních lymfomů byla nadto imunohistochemicky vyšetřena exprese receptorů vitamínu D v nádorových buňkách. Hladiny 25(OH)D byly statisticky vyhodnoceny a diskutovány s ohledem na věk i diagnózu pacientů a význam vitamínu D v současné onkologické léčbě. Pro jednotlivé diagnózy byly stanoveny četnosti variant vyšetřovaných SNP a tyto byly srovnány s rozložením běžným pro zdravou českou populaci. Je prováděna analýza přežití pacientů v závislosti na iniciační hladině 25(OH)D a variantě VDR, jejíž první výsledky, týkající se tumorů CNS, budou uvedeny.

Výsledky:

Sérové hladiny 25(OH)D pacientů potvrdily značnou hyposaturaci, kdy celkově na spodní hranici optima (75 mmol/l) nedosáhlo 70% sledovaných pacientů (medián hladiny 61 mmol/l). Tyto výsledky se zásadně liší podle věku, kde ve skupině <1 rok byla deficiencie významně méně častá ve srovnání se staršími dětmi. Nejnížší hladiny 25(OH)D vykazovali pacienti s tumory CNS, lymfomy a Ewingovým sarkomem, u neuroblastomů a leukemií byly relativně vyšší. Hladiny pod 75 mmol/l ovlivňovaly nepříznivě celkové přežití pacientů, efekt však není statisticky významný. Srovnání zjištěných četností alel v 5 vyšetřovaných lokusech s referenčními četnostmi pro evropskou populaci odhalilo v některých případech odchylky. Statisticky významný rozdíl oproti referenci byl pozorován u diagnóz neuroblastomu a Ewingova sarkomu v Apal, TaqI a BsmI. Genotypy FokI: TT a Cdx2: GA byly částečně asociovány s vyššími sérovými hladinami 25(OH)D. Z léčebné odpovědi a přežití u pacientů s tumory CNS vyplývá, že pacienti s kompletní remisí vykazovali vyšší hladiny 25(OH)D, naopak hladina pod 65 mmol/l byla asociována s kratší dobou přežití do relapsu/progrese. Tyto pozorované rozdíly však nejsou statisticky významné. Celkové přežití zde hladina 25(OH)D neovlivnila. Varianta Apal: CC rovněž zkracovala dobu do relapsu/progrese a byla asociována se zvýšeným rizikem opakovaných relapsů oproti jiným variantám Apal, významně při $p < 0,05$. Celkové přežití nebylo žádným SNP významně ovlivněno.

Závěr:

Byla potvrzena značná hyposaturace vitamínem D u většiny pacientů. Vzhledem k prokázaným benefitům optimálních hladin pro onkologickou léčbu je tak na místě diskutovat o vhodnosti a kvantitě suplementace. Zjištění odchylek v četnosti alel u některých VDR polymorfismů a diagnóz rozšiřuje prozatím ne příliš bohatá data o této problematice v dětské onkologii. Prověření jejich vlivu na prognózu pacientů bude předmětem budoucího pokračování práce. Provedená pilotní analýza přežití a odpovědi u pacientů s tumory CNS je patrně limitována jejich nízkými iniciačními hladinami 25(OH)D a morfologickou heterogenitou jejich nádorů. Pro exaktní zhodnocení rizikového vlivu zkoumaných faktorů bude analýza doplněna pro všechny pacienty ze souboru.

Neinvazivní hodnocení adrenergní závislosti komorových arytmií

Dominika Kučerová

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: komorové extrasystoly, katecholaminergní polymorfni komorová tachykardie, zátěžová ergometrie, adrenergní závislost

Úvod:

Komorové extrasystoly (KES) se v určité míře vyskytují u všech jedinců a v nepřítomnosti strukturálního onemocnění srdce nejsou považovány za marker zvýšeného rizika. Existuje však vzácné hereditární onemocnění - katecholaminergní polymorfni komorová tachykardie (CPVT, odhadovaný výskyt 1:10000) s výrazně zvýšeným rizikem náhlé srdeční smrti. U tohoto onemocnění dochází při zátěži (především fyzické) k výraznému nárůstu četnosti komorových arytmií polymorfniho charakteru až možností provokace maligních arytmií a oběhové zástavy. Cílem naší práce bylo posouzení adrenergní závislosti komorové ektopické aktivity při zátěžové ergometrii, přesná klasifikace formy KES a tím určení jejich klinické závažnosti.

Metody:

Soubor vyšetřených tvořilo 28 pacientů (14 žen, věk 50,5±13,9 let), kterým byl zachycen vyšší počet KES při Holterovském monitorování. Pacienti byli podrobeni základnímu kardiologickému vyšetření, včetně echokardiografie a všichni poté podstoupili zátěžovou bicyklovou ergometrii standardním protokolem. V průběhu vyšetření byla posuzována četnost a míra komplexnosti komorových arytmií. Jako adrenergní závislost byla hodnocena provokace komplexních forem (tzv. kuplet a více) na vrcholu zátěže a v časně restituci.

Výsledky:

Všichni pacienti měli dle echokardiografického vyšetření normální systolickou funkci levé komory, u 2 pacientů byla přítomna středně významná mitrální regurgitace. Celkem u 12 pacientů (42,9% celkového počtu) jsme pozorovali adrenergní závislost KES. Z toho u 8 byly přítomny bidirekční KES až v kupletech (14,3% souboru), tripletech (10,7% souboru) nebo i nesetrválých komorových tachykardiích (7,1% souboru). U těchto pacientů probíhá další došetřování k vyloučení ischemické choroby srdeční či jiné strukturální patologie. Adrenergní závislost byla pozorována u neočekávaně vysokého počtu pacientů, z nichž by řada splňovala diagnostická kritéria CPVT. Mírnější formy tohoto onemocnění mohou být tedy mnohem častější, než se dosud domníváme. Rozpoznání adrenergní závislosti a správné stanovení diagnózy umožní zavedení opatření k prevenci maligních arytmií a náhlé srdeční smrti.

Závěr:

Adrenergní závislost byla pozorována u neočekávaně vysokého počtu pacientů, z nichž by řada splňovala diagnostická kritéria CPVT. Mírnější formy tohoto onemocnění mohou být tedy mnohem častější, než se dosud domníváme. Rozpoznání adrenergní závislosti a správné stanovení diagnózy umožní zavedení opatření k prevenci maligních arytmií a náhlé srdeční smrti.

24hodinové EKG monitorování mladých dospělých osob

Petr Tinka, Pavel Tinka

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D., doc. MUDr. Miroslav Novák, CSc.

Klíčová slova: 24hodinové EKG monitorování, Holter monitoring, mladý dospělý, arytmie

Úvod:

24hodinové EKG monitorování (Holter) dnes patří k jednomu ze základních pilířů diagnostiky arytmií, poskytující cenné informace o elektrické aktivitě srdce během delší doby než konvenční 12 svodové EKG.

Metody:

Naší studie se zúčastnilo 16 mužů (M) a 15 žen (Z) ve věkovém rozmezí 22-26 let. Měřené osoby se doposud neléčily s žádným kardiologicky významným onemocněním a udávaly negativní rodinnou anamnézu arytmiologických onemocnění. Vstupně jsme zajistili základní antropometrické parametry (BMI mužů: $24,56 \pm 1,45$ kg/m² a BMI žen: $21,06 \pm 2,17$ kg/m²) a změřili systolický (STK) a diastolický (DTK) krevní tlak automatizovaným tonometrem (STK/DTK muži: $125 \pm 7/79 \pm 6$ mmHg; ženy: $116 \pm 6/77 \pm 8$ mmHg). Pro 24hodinové EKG monitorování jsme použili přístroj

SEER 1000 od firmy GE Healthcare, Německo (software: Mars) se standardizovaným umístěním elektrod a naprogramováním doby měření. Měřené osoby byly poučeny jak se chovat s přístrojem pro EKG-monitoring a jak do karty zaznamenávat denní činnost. Po ukončení 24hodinového monitoringu byly přístroje odebrány, získaná data byla zpracovávána a byla také se záznamem korelována denní aktivita. Při vlastní zpracování dat jsme se zaměřili na analýzu extrémů v délce RR intervalů, hodnot tepové frekvence (HR) a jejich kolísání ve dne i v noci. Dále jsme hodnotili přítomné základní poruchy rytmu a procentuální zastoupení tachykardie (HR > 100 tep./min.) a bradykardie (HR < 60 tep./min.) během záznamu. Pro statistické zpracování byl použit Mann Whitney test a základní popisná statistika v programu STATISTICA.CZ (StatSoft).

Výsledky:

V naší sledované skupině osob jsme jako náhodné nálezy diagnostikovali u 12% osob arytmie typu: AV I blok, Wenckebach, Mobitz, VTACH. V EKG záznamu jsme našli statisticky významné rozdíly v průměrné noční HR (M versus Z; HR noc: $53,31 \pm 4,48$ vs $60,4 \pm 10,36$ tep./min.; $p \leq 0,05$); celkový průměr HR ($70,06 \pm 4,82$ vs $80,27 \pm 11,83$ tep./min.; $p \leq 0,05$); minimální HR v celém záznamu ($41,13 \pm 3,39$ vs $46,73 \pm 7,8$ tep./min.; $p \leq 0,05$) a průměrná délka RR intervalu v noci ($1139,31 \pm 100,77$ vs $1039,40 \pm 208,86$ ms; $p \leq 0,05$).

Závěr:

Při porovnání výsledků z Holterovského monitorování mladých mužů a žen při běžné denní činnosti, vykazují muži v našem souboru nižší hodnoty srdeční frekvence, a to jak průměrně během celého dne, tak v noci. Na základě tohoto zjištění můžeme stanovit domněnku o zvýšeném vlivu parasympatického nervového systému na kardiovaskulární regulace u mladých zdravých osob mužského pohlaví.

Poděkování:

Podpořeno Specifickým výzkumem MUNI/A/1255/2018.

Efekt repetitívnej transkraniálnej magnetickej stimulácie na hypokinetickú dysartriu u pacientov s Parkinsonovou chorobou

Patrícia Klobušiaková, Mgr.Luboš Brabenec, Ing. Jiří Mekyska, Ph.D,
prof. MUDr. Irena Rektorová, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: hypokinetická dysartria, Parkinsonova choroba, rTMS, fMRI, akustická analýza

Úvod:

Hypokinetická dysartria (HD) je častým symptómom Parkinsonovej choroby (PD), ktorý je obtiažne liečiteľný dopamínergnou alebo chirurgickou terapiou. Repetitívna transkraniálna stimulácia je neinvazívna metóda, ktorá využíva rýchle zmeny magnetického poľa k modulácii neurónovej excitability. V tejto štúdii sme pomocou akustickej analýzy reči hodnotili okamžitý efekt rTMS na motorickú oblasť a oblasť pre sluchovú pre spätnú väzbu na hypokinetickú dysartriu u PD. Taktiež sme hodnotili dlhodobý efekt rTMS stimulácie nad vybranou oblasťou na dysartriu v rámci naväzujúcej štúdie.

Metody:

V pilotnej exploratívnej štúdii sme použili 10 Hz a 1 Hz stimulačné protokoly a rTMS sme aplikovali na ľavú primárnu motorickú kôru, pravý gyrus temporalis superior (STG) a na vertex (kontrolná stimulačná oblasť) u 16 PD pacientov s hypokinetickou dysartriou. Bol použitý cross-over design a miesta stimulácie a stimulačné protokoly boli randomizované. Na vyhodnotenie efektu rTMS na reč bola spočítaná akustická analýza na úlohe vykonávanej v magnetickej rezonancii (MR), počas ktorej subjekti čítali vety a ich reč bola nahrávaná. Krátkodobé zmeny v kludovej konektivite a aktivácie počas úlohy boli hodnotené pomocou funkčnej magnetickej rezonancie (fMRI). Na základe výsledkov exploratívnej štúdie sme ďalej skúmali dlhodobý efekt nízkofrekvenčnej rTMS aplikovanej na pravý STG počas desiatich sedení pomocou 3F testu.

Výsledky:

1 Hz stimulácia aplikovaná na pravý STG v exploratívnej štúdii viedla k významnému zvýšeniu relatívnej smerodatnej odchýlky druhého formantu ($p=0.019$) u PD pacientov s hypokinetickou dysartriou. Tento efekt bol významný aj v porovnaní s efektom stimulácie kontrolnej stimulačnej oblasti, a bol sprevádzaný zvýšením kludovej funkčnej konektivity medzi stimulovanou oblasťou a pravým gyrus parahippocampalis. Akustické zmeny navodené rTMS korelovali so zvýšením aktivácií stimulovanej oblasti počas úlohy v MR ($R=0.654$, $p=0.029$). V longitudinálnej štúdii preliminárne výsledky analýzy 14 PD pacientov s HD ukázali významné

zlepšenie v 3F teste po desiatich sedeniach s aktívnou stimuláciou ($p=0.008$) oproti baseline. Po štyroch a ôsmich týždňoch bolo 3F skóre opäť signifikantne vyššie, ako na baseline ($p=0.008$, $p=0.003$).

Záver:

Pilotná exploratívna štúdia ukázala, že rTMS aplikovaná na oblasť pre sluchovú spätnú väzbu (pravý STG) by mohla viesť k zlepšeniu reči u PD zlepšením konektivity mozgových oblastí zapojených do dorzálnnej rečovej dráhy. Na základe preliminárnych výsledkov longitudinálnej štúdie sa dá predpokladať, že tieto pozitívne efekty by mohli byť dlhodobé.

PodĎakování:

Podporené grantom 16-30805A českého Ministerstva zdravotníctva a grantom č. 734718 (CoBeN) programu Horizon 2020 Európskej únie. Ďakujeme core facility MAFIL CEITEC podporenej MEYS CR (LM2015062 Czech-Biolmaging).

Prediktory krátkodobé a dlouhodobé mortality po intracerebrálním krvácení: komunitní studie Brno

Albert Štěrba, MUDr. Mgr. Ing. Petra Šedová, Ph.D., Robert D. Brown jr., M.D., M.P.H., Albert Stehlík, MUDr. Miroslav Zvolský, Ph.D., Mgr. Michaela Volná, Jana Balúchová, Mgr. Silvie Bělašková, Ph.D., prof. MUDr. Josef Bednařík, CSc., prof. MUDr. Robert Mikulík, Ph.D.
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Mezinárodní centrum klinického výzkumu (FNUSA-ICRC)

Školitel: prof. MUDr. Robert Mikulík, Ph.D., MUDr. Mgr. Ing. Petra Šedová, Ph.D.
Klíčová slova: intracerebrální krvácení, prediktor, mortalita

Úvod:

Intracerebrální krvácení (ICH) je závažný stav s vysokou mírou morbidity i mortality, jehož riziko výskytu výrazně stoupá s věkem. Celková incidence ICH navzdory pokrokům v léčbě i diagnostice zůstává stabilní. S ohledem na zvyšující se průměrný věk populace i stále rozšiřující se užívání antikoagulačních preparátů představuje ICH rostoucí výzvu pro lékaře a zdravotní systémy jednotlivých zemí. Naše komunitní studie je první svého druhu, která si vzala za cíl určit celkovou incidenci ICH na území České republiky a identifikovat nejvýznamnější prediktory mortality pacientů po ICH.

Metody:

V Národním registru hospitalizovaných (NRHOSP) byli identifikováni všichni pacienti s diagnózou primárního ICH za rok 2011 ve městě Brně. Z nemocničních propouštěcích zpráv byly retrospektivně získány údaje o rizikových faktorech mozkového krvácení. Následně byly zhodnoceny snímky mozku pořízené počítačovou tomografií (CT). Pacienti z NRHOSP byli dále spárováni s Národním registrem zemřelých, aby bylo zjištěno přesné datum úmrtí. Po adjustaci na pohlaví a věk byla provedena univariátní analýza a analýza vícerozměrných modelů, abychom zjistili asociace rizikových faktorů a radiologických parametrů s mortalitou po ICH.

Výsledky:

V roce 2011 bylo v brněnských nemocnicích hospitalizováno celkem 134 pacientů, rezidentů Brna, s prvovýskytem ICH. Data byla v dostatečné míře dostupná u 115 z nich. Míra úmrtnosti byla měřena v 1. měsíci 35 %, v 1. roce 54 % a ve 3. roce 61 %. Z univariátní analýzy nám jako nejvýznamnější prediktory mortality vyšly následující parametry: objem ICH; celkový objem krvácení; komprese mozkových komor, mozkových cisteren, zářezů mezi závity; objem perihematomálního edému (PHE); objem relativního PHE; největší průměr ICH; National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) skóre při přijetí; NIHSS skóre při propuštění; věk; modifikované ICH skóre. Z multivariátní analýzy jsme zjistili, že rostoucí mortalita je v 1. měsíci i v 1. a 3. roce spojena s vyšším věkem a NIHSS skóre při přijetí. V 1. měsíci po ICH míra mortality navíc stoupá i se zvětšujícím se průměrem ICH.

Závěr:

Naše komunitní studie je první svého druhu, která takto komplexně zkoumala dlouhodobou mortalitu u pacientů s ICH ve střední a východní Evropě. Úmrtnost po ICH je v naší populaci vysoká – 1. rok přežívá méně než polovina pacientů. Uvedené výsledky dokládají význam věku a funkčního stavu pacienta po mozkové příhodě pro jeho následné přežití.

Electrophysiological abnormalities of the brain in depression using microstate analysis based on high-density EEG

Eliška Honzirková

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Supervisor: MUDr. Alena Damborská, PhD.

Keywords: major depressive disorder, microstate analysis, biomarkers

Introduction:

Major depressive disorder and bipolar disorder are among the most serious psychiatric disorders with high prevalence and illness-related disability. Electroconvulsive therapy (ECT) is effective for treating treatment-resistant depression, yet its mechanism of action is not fully understood. There is a growing evidence from neuroimaging studies for disrupted resting-state network dynamics in depression. The aim of the study was to investigate whether ECT therapy modifies brain network dynamics as revealed through high-density EEG technique.

Methods:

Three patients with moderate to severe depression and three healthy age- and gender-matched controls participated in the study. All subjects underwent 10 minute EEG recording using 128 scalp electrodes during eyes closed resting-state condition. In controls only one EEG recording was performed, in patients the EEG data were collected in three sessions. First session was performed within a week prior to the first ECT treatment, then 6 weeks and 6 months after the first session. The scores on the Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale (MADRS) and the Clinical Global Impression (CGI) tests were measured during each session in patients to assess the severity of the depressive episode. Microstate analysis was performed at individual and group levels. Microstate variants will be identified and their parameters such as duration, time coverage, and occurrence will be evaluated.

Results:

1) We expect differences in duration, time coverage and/or occurrence of microstates in patients versus controls; 2) We expect improvement in depressive symptoms following ECT therapy in patients as reflected with decrease of MADRS and CGI scores. 3) We expect change in temporal characteristics of microstates in patients following ECT therapy.

Conclusion: We would like to focus further on the effectiveness of using ECT instead of medicaments medication to ensure lower probability of return of depressive episodes and also find high – density EEG as a tool for objective diagnostic method.

4. Stomatologická sekce

Retence ortodontické léčby

Tereza Lasotová

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: retence, stabilita výsledku ortodontické léčby, recidiva

Úvod:

Stabilita a retence dosaženého výsledku ortodontické léčby je jedním z hlavních cílů ortodontické léčby. Cílem retence je udržet zuby v dosaženém postavení po potřebnou dobu, kdy působí destabilizující faktory, a umožnit okolním tkáním adaptovat se na nový stav jak funkčně, tak strukturálně. O nutnosti retenční fáze musíme pacienta obecně informovat již při plánu léčby. Cílem práce bylo zjistit typ a délku nošení retenčních zařízení, poukázat na subjektivní problémy pacientů při používání retenčních zařízení a zjistit míru recidivy a terciárního stěsnání z pohledu pacientů.

Metody:

Prostřednictvím hromadného emailu bylo osloveno 3912 respondentů z řad studentů české výuky a zaměstnanci Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně. Dotazník byl také sdílen na facebookové stránce Gymnázia Josefa Božka v Českém Těšíně. Odpovědi byly sbírány od 7. 10. do 30. 11. 2018. Odpovědělo 455 respondentů, vybráno bylo 432 respondentů. U 245 respondentů byla ortodontická léčba ukončena před 5 a více lety, u 99 respondentů před 3 až 4 lety; u 36 respondentů před 2 lety a u 52 respondentů před rokem. Z dotazníků byl zjišťován typ použitých retenčních zařízení, délka nošení, subjektivní potíže při používání retenčních zařízení, recidiva a stěsnání v dolním řezákovém úseku. Vyhodnocení výsledků dotazníku bylo provedeno pomocí programu Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft) a STATISTICA 12 (StatSoft). Pro zjištění statistické významnosti ($P < 0.01$) byl použit Pearsonův chí-kvadrát test.

Výsledky:

Nejčastěji používaným retenčním zařízením byl horní deskový aparát, který nosilo 223 pacientů. Po něm následoval fixní retainer převážně v rozsahu od špičáku po špičák. Nejčastější kombinaci, retainer s deskovým aparátem, mělo 27,8 % dotazovaných. Retainer byl nošen delší dobu než deskové a fóliové aparáty. Ze skupin pacientů, u kterých od léčby uplynulo více než 3 roky, přestalo po druhém roce nosit horní deskový aparát 62 % pacientů a dolní deskový aparát 57,7 %. Retainer mělo po druhém roce v horním zubním oblouku 84 % a v dolním zubním oblouku 81,6 % pacientů. Obtížné provádění ústní hygieny s fixním retainerem uvedlo 30,6 % pacientů, uvolnění retaineru 10,9 %. Nespolupráci v rámci pravidelnosti nošení snímacího aparátu přiznalo 26,8 % pacientů, obtíže při mluvení uvedlo 8,8 %.

Celkem bylo v době vyplňování dotazníků spokojených léčbou 75 % pacientů, z toho 59 % v době vyplňování dotazníku mělo stále nějakou formu retenčního zařízení. S výsledkem ortodontické léčby byli více spokojeni pacienti, u kterých byla ortodontická léčba ukončena před jedním nebo dvěma roky, než pacienti, u kterých od léčby uplynulo tři a více let ($P < 0.001$). Recidivu pozorovalo 68 % pacientů. Znatelné stěsnání v dolním řezákovém úseku zaznamenalo 18,1 % pacientů, přičemž se procento daných pacientů statisticky významně zvyšovalo s dobou, která uplynula od ukončení léčby ($P = 0.006$). Dvouletou retenci akceptuje 40,5 % pacientů. Pouze roční retenci by podstoupilo 17,8 %, celoživotní 16,2 %.

Závěr:

Nejčastěji používaným retenčním zařízením byl horní deskový aparát., nejčastější kombinací byl retainer s deskovým aparátem. Retainery byly nošeny delší dobu než deskové a fóliové aparáty. Procento pacientů, kteří zaznamenali terciární stěsnání, se statisticky významně zvyšovalo s dobou, která uplynula od ukončení léčby. S výsledkem ortodontické léčby byli více spokojeni pacienti, u nichž byla ortodontická léčba ukončena před dvěma a méně roky, než pacienti, u kterých od léčby uplynulo tři a více let. Recidivu pozorovalo 68 % pacientů, nicméně je potřeba vzít v úvahu, že pro pacienty je obtížné rozeznat recidivu od nově vzniklé anomálie a změn, které jsou dané přirozeným vývojem organismu.

Zlomeniny strednej tvárovej etáže

Juraj Gembeš

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. et MUDr. Ondřej Liberda, Ph.D.

Klíčová slova: zlomeniny strednej etáže, maxillofaciálna traumatológia, stredná tvárová etáž, Le Fort zlomeniny, NOE zlomeniny, ZMC zlomeniny, zlomeniny očnice, orofaciálny skelet

Úvod:

Počet úrazov orofaciálneho systému má rastúci trend. Rovnako aj stúpa závažnosť týchto úrazov (vysokoenergetické nehody, násilie..). Za cieľ sme si stanovili vytvoriť súbor pacientov, s vyhovujúcim počtom členov, ktorí boli ošetrení pre zlomeninu strednej tvárovej etáže. Následne v tomto súbore skúmať vhodné parametry- ich relatívne zastúpenie, rôzne príčinné vzťahy, vytvoriť štatistiku, zamyslieť sa nad výsledkami. Ďalej nás zaujímali komplikácie a pridružené poranenia. V tejto práci sa s našim vedomím nevenujeme traumatológii mäkkých tkanív a zlomeninám na úrovni dentoalveolárnej.

Metody:

Naša práca je založená na retrospektívnom štatistickom vyhodnotení. Vyhľadali sme pacientov, ktorí boli v roku 2017 ošetrení na KÚČOCH FN Brno a LF MU pod kódom S02.4. Súbor obsahoval 163 pacientov. Z toho sme 5 vyradili, pretože nespĺňali niektoré z kritérií (napr. úraz sa stal v roku 2016, v roku 2017 bola iba kontrola). Následne sme študovali lekárske záznamy, zapisovali sme a vyhodnocovali vek, pohlavie, etiológiu, typ zlomeniny, spôsob terapie a pridružené poranenie. Chceli sme sa zamyslieť nad rizikovými faktormi zlomenín strednej tvárovej etáže a stanoviť model typického pacienta s týmto poranením. Hľadali sme vzťahy medzi typom poranenia a pridruženým poranením. Pri spracovávaní dat sme používali klasifikáciu zlomenin AO.

Výsledky:

V súbore jednoznačne dominovali muži- až 78%. Detskí pacienti tvorili 2,5% zranených- tento súbor bol štatisticky nevýznamný a nemalo ho zmysel ďalej skúmať. Za najčastejšiu etiológiu pokladáme pád (39%), úraz na bicykli (23%) a násilie(18%). Priemerný vek pacienta bol $48,27 \pm 19,61$ roka, medián 46. Až 109 pacientov malo zlomený ZMC, na 2. mieste boli zlomeniny maxilly (21 pacientov), na 3. orbitálne fraktúry (13 prípadov). K zlomeninám sa pristupovalo prevažne konzervatívne- otvorená chirurgia bola iba v 24% prípadov. Najviac sa operovali zlomeniny LF I a LF II- v 75%. Štvrtina zranených mala pridruženú fraktúru- prevažne v maxillofaciálnej oblasti. 2/3 pacientov s comotio cerebri udávalo jazdu na bicykli a objektívne mali zlomeniu ZMC. Najčastejšia kombinácia zlomenín bola zlomenina ZMC a ossa nasalia. Našli sme koreláciu medzi etiologickými faktormi a pridruženom poranení- napr. poruchy vestibulokochleárneho aparátu sa v 75% združovali s brachiálnym násilím a zlomeninou ZMC; jazda na bicykli s commotio cerebri.

Záver:

Stanovili sme model typického pacienta- ide o muža vo veku 25-40 rokov, ktorý prichádza pre zlomeninu ZMC, kvôli pádu z rôznych príčin. Všimli sme si koreláciu medzi počtom úrazov a priemernými hladinami testosterónu v jednotlivých vekových kategóriách v mužskej populácii. Alkohol bol ďalším rizikovým faktorom pri zlomeninách. Z korelácie medzi etiologickým faktorom a pridruženom poranení usudzujeme, že pri vyšetrení takých pacientov je nutné dbať zvýšenej pozornosti vyšetreniu 'predilekčne postihnutých' orgánov (neurologické, oftalmologické, ORL vyšetrenie a pod). Zdokonalili sme sa v problematike maxillofaciálnej traumatológie a v práci s odborným textom a lekáorskými správami.

Význam epidermálního růstového faktoru v etiopatogenezi recidivující aftózní stomatitidy

**Bc. Tereza Deissová, RNDr. Zuzana Zákostelská-Jirásková, Ph.D.,
Mgr. et Mgr. Simona Slezáková, MUDr. Jiřina Bártová, CSc.,
MUDr. Mgr. Jitka Petanová, CSc., MUDr. Pavel Kuklínek CSc.,
prof. MUDr. Antonín Fassmann, CSc.,
prof. MUDr. Lydie Izakovičová Hollá, Ph.D.**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Mikrobiologický ústav AVČR, Praha

Stomatologická klinika, 1. LF, Karlova univerzita a VFN Praha

Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF, Karlova univerzita, Praha

Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

Klíčová slova: afta, hojení ran, epidermální růstový faktor, sérum, slina, polymorfismus

Úvod:

Recidivující aftózní stomatitida (RAS) je multifaktoriální onemocnění s významným podílem genetické složky. Onemocnění se manifestuje v podobě bolestivých orálních vředů (aft), které se mohou hojit i několik týdnů. Epidermální růstový faktor (EGF) má v procesu hojení významnou úlohu. Cílem naší studie bylo analyzovat varianty v genech EGF a jeho receptoru (EGFR) u pacientů s RAS a zdravých kontrol, zjistit sérové a slinné koncentrace EGF v různých fázích tohoto onemocnění a porovnat je s hodnotami u zdravých jedinců.

Metody:

Do studie kontrol a případů bylo zahrnuto celkem 335 jedinců: 87 pacientů s RAS a 248 zdravých osob. Genotypizace polymorfizmů +61A/G EGF (rs4444903) a +147531A/G EGFR (rs2227983) byla provedena pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) s využitím 5' fluorescenčně značených TaqMan® sond. Sérové a slinné koncentrace EGF byly zjištěny na základě imunoenzymatické reakce (ELISA) u 39 pacientů (v aktivní fázi nemoci – s aftami a/nebo klidovém stádiu nemoci – bez aft) a 21 zdravých jedinců.

Výsledky:

Alelové, genotypové a haplogenotypové frekvence polymorfizmů EGF a/nebo EGFR se mezi studovanými skupinami významně nelišily ($P > 0,05$). Ve srovnání s kontrolní skupinou, byl u pacientů s RAS zjištěn nižší medián sérové koncentrace EGF ($P < 0,05$). Mediány slinných koncentrací EGF se mezi skupinami pacientů a kontrol nelišily ($P > 0,05$). Sérová koncentrace EGF negativně korelovala se slinnou koncentrací EGF u pacientů s RAS v klidovém stádiu – bez aft ($P < 0,05$).

Závěr:

EGF je jedním z klíčových faktorů tkáňové regenerace a jeho snížené koncentrace se mohou podílet na zhoršeném hojení aft u pacientů s RAS.

Poděkování:

Studie byla podpořena ze specifického výzkumu MUNI/A/1546/2018 a z prostředků poskytnutých Lékařskou fakultou MU juniorskému výzkumníkovi Petře Bořilové Linhartové.

Asociace funkční varianty genu kódujícího receptor pro vitamín D s recidivující aftózní stomatitidou

Bc. David Novák, Natálie Mlčůchová, Jiřina Bártová, Jitka Petanová, Pavel Kuklínek, Antonín Fassmann, Lydie Izakovičová Hollá, Petra Bořilová Linhartová

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Ústav biochemie, PŘF, MU, Brno

Ústav klinické a experimentální stomatologie, 1. LF UK a VFN, Praha

Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK a VFN, Praha

Ústav klinické imunologie a alergologie,

LF a Fakultní nemocnice u sv. Anny, MU, Brno

Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

Klíčová slova: vitamín D, recidivující aftózní stomatitida, polymorfismus, haplotyp, nukleární receptor

Úvod:

Recidivující aftózní stomatitida (RAS) je chronické zánětlivé onemocnění s nejasnou multifaktoriální etiopatogenezí. Rozvoj onemocnění je výsledkem souhry exogenních faktorů a genetických predispozic jedince, ze kterých je pozornost soustředěna především na geny spojené s imunitou. Jedním z důležitých hormonů regulujících imunitní odpověď v našem těle je kalcitriol. V naší studii jsme se zaměřili na jeho biologický cíl – receptor pro vitamín D (VDR) a analyzovali jsme sedm jednonukleotidových polymorfizmů (SNPs) v jeho genu u pacientů s RAS a u zdravých kontrol.

Metody:

Celkem bylo do naší studie případů a kontrol zařazeno 257 jedinců, z toho 86 pacientů s RAS a 171 zdravých kontrol, u kterých byly genotypizovány polymorfizmy FokI (rs10735810), BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232), cdx2 (rs11568820), rs1989969 a rs2235135 s využitím fluorescenční TaqMan qPCR a klasické PCR-RLFP.

U 23 pacientů s RAS byla stanovena koncentrace 25-OH vitamínu D3v séru, a to ze vzorku získaného v pozimním období.

Výsledky:

Signifikanční rozdíly v genotypových frekvencích mezi pacienty s RAS a zdravými kontrolami byly pozorovány pouze u polymorfizmu Apal, kde pacienti s RAS měli statisticky nižší frekvenci genotypu AA v porovnání se zdravými kontrolami ($P < 0,05$; $OR = 0,47$; $95\%CI = 0,25-0,90$). Z haplotypové analýzy studovaných SNPs jsme zjistili signifikantně vyšší zastoupení haplotypu GGCTCTC u pacientů s RAS než u zdravých kontrol ($P < 0,01$; $OR = 2,38$; $95\%CI = 1,27-4,46$). Medián sérové koncentrace 25-OH vitamínu D3 u pacientů s RAS byl 59,7 nmol/l (31,3-72,3, 25%-75% kvartil, norma je nad 50 nmol/l).

Závěr:

Je známo, že přítomnost alely A polymorfizmu Apal je spojena se zvýšenou stabilitou mRNA a/nebo transkripční aktivitou VDR, tudíž s vyšší využitelností vitamínu D. Genotyp AA polymorfizmu Apal má protektivní efekt k rozvoji RAS, zatímco haplotyp obsahující alelu C tohoto polymorfizmu se jeví jako rizikový. Po zimním období byly zjištěny podprůměrné sérové koncentrace vitamínu D u většiny pacientů s RAS.

Poděkování:

Tato studie byla podpořena ze specifického výzkumu MUNI/A/1546/2018 a z prostředků poskytnutých Lékařskou fakultou MU juniorskému výzkumníkovi Petře Bořilové Linhartové.

Role genetických predispozic v chuťových a dietních preferencích u studentů zubního lékařství LF MU

Veronika Tkáčová, Kristián Krotký, Veronika Vitouchová, Dávid Kover, Dávid Novák, prof. MUDr. Lydie Izakovičová Hollá, Ph.D., RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D

Klíčová slova: genetické predispozice, dietní preference, jednonukleotidové polymorfismy, zubní kaz

Úvod:

Dietní preference a stravovací návyky jedince jsou faktory, které mohou ovlivňovat vznik zubního kazu. Některé fenotypy chuťových preferencí mají jednoduchou monogenní dědičnost, zatímco většina ostatních podléhá komplexní genetické

strukturu. Cílem této studie bylo stanovit vybrané varianty v genech, které se podílejí na chuťovém vnímání (glukózový transportér – GLUT, karboanhydráza – CA, sladké a hořké chuťové receptory – TASR) a analyzovat výsledky v kontextu se stavem chrupu studentů zubního lékařství (ZL) a s jejich dietními a chuťovými preferencemi.

Metody:

Do studie bylo zařazeno 101 studentů zubního lékařství druhého až pátého ročníku LF MU. Účastníci vyplnili dotazník, který zjišťoval mimo jiné faktory (např. orální hygienu) jejich chuťové a dietní preference. Provedli jsme klinické vyšetření (určení indexu KPE, zub s kazem/výplní nebo extrahován) a genotypizaci 11 jednonukleotidových polymorfizmů (SNPs): SLC2A2 (GLUT2, rs5400), CA6 (rs17032907, rs2274327, rs2274328, rs2274333, rs11576766), TAS1R2 (rs35874116, rs12033832, rs9701796), a TAS2R38 (rs713598, rs1726866) pomocí qPCR s využitím TaqMan fluorescenčních sond.

Výsledky:

Průměrný KPE index ve studované skupině byl 5,6 (\pm směrodatná odchylka 4,54). Úroveň orální hygieny studentů ZL byla vysoká (četnost čištění, pravidelné preventivní prohlídky, návštěva dentální hygienistky). Zjistili jsme významnou asociaci mezi CA6 rs2274333 SNP a preferencí sladké chuti ($P < 0,05$), TAS1R2 rs9701796 SNP a preferencí kyselé chuti ($P < 0,01$) a TAS2R38 rs1726866 SNP a preferencí slané chuti ($P < 0,05$). Dále byla prokázána významná pozitivní korelace mezi preferencí slané a hořké chuti a nízkým body mass indexem ($P = 0,01$). Nezjistili jsme vztah mezi stavem chrupu hodnoceným indexem KPE a jednotlivými SNPs ($P > 0,05$).

Závěr:

Naše data podporují zjištění, že komplexní genetické pozadí vnímání chuti jedince může ovlivnit jeho chuťové preference, a pravděpodobně i jeho stravovací návyky, příp. celkové zdraví. Při hodnocení stravovacích návyků a orální hygieny by měly být brány v úvahu nejenom socioekonomické a demografické vlivy, ale také chuťové preference, které jsou alespoň zčásti determinovány geneticky. Kohorta studentů zubního lékařství s dobrou úrovní orální hygieny se jeví jako vhodná pro studium genetických predispozic k zubnímu kazu.

Poděkování:

Tato studie byla podpořena specifickým výzkumem MUNI/A/1546/2018, u grantu NV17-30439A a z prostředků poskytnutých Lékařskou fakultou MU juniorskému výzkumníkovi Petře Bořilové Linhartové.

Efektivní metodika pro stanovení haplogenotypů lektinu vázajícího manózu a role tohoto receptoru v etiopatogenezi onemocnění dutiny ústní

**Nora Mohlerová, Jana Mrázková, Petr Šístek, Jan Lochman,
Lydie Izakovičova Hollá, Petra Bořilová Linhartová**
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

Klíčová slova: lektin vázající manózu, MBL2, jednonukleotidový polymorfismus, genotypizace, SNaPshot analýza, dutina ústní

Úvod:

Lektin vázající manózu (MBL) hraje důležitou roli v rámci vrozené imunity. Tento receptor rozpoznávající molekulární vzory na povrchu patogenů je studován a asociován s řadou chorob dutiny ústní (recidivující aftózní stomatitidou, parodontitidou, orálním lichen planus, zubním kazem). Cílem práce bylo navrhnout efektivní metodiku pro identifikaci funkčních polymorfizmů v MBL2 genu, jejichž alelické a genotypové kombinace ovlivňují expresi genu MBL2.

Metody:

Byly vybrány tři polymorfizmy v oblasti exonu 1 v kodonech 52, 54 a 57 (těm odpovídají alely D, B a C), dále dva polymorfizmy v promotoru 1 na pozicích -550 (alelová varianta H/L) a -221 (alelová varianta X/Y) a na pozici +4 v 5' nepřekládané oblasti (alelová varianta P/Q) na souboru 353 osob české národnosti. Byl navržen originální protokol pro stanovení variant všech šesti polymorfizmů v rámci jedné SNaPshot analýzy. Pro zpracování dat a následnou haplotypovou/haplogenotypovou analýzu byl vyvinut originální algoritmus. Validace SNaPshot analýzy byla provedena komparací získaných výsledků u 10 vybraných vzorků pomocí sekvenační analýzy a alelově specifické PCR, která se standardně používá pro genotypizaci MBL2.

Výsledky:

Optimalizovaný protokol byl nastaven na 100 ng vstupní genomové DNA pro analýzu všech šesti polymorfizmů. Spotřeba komerční SNaPshot reakční směsi je 5× nižší než je doporučeno v příloženém návodu při zachování stejné účinnosti. Genotypové rozložení u všech studovaných variant bylo v Hardy-Weinbergerově rovnováze ($P > 0,05$). Frekvence minoritních alel všech šesti polymorfizmů ve zvolené kohortě odpovídalo frekvencím v evropské populaci. Výsledné genotypy získané touto metodou byly ve 100% shodě s výsledky získanými dalšími dvěma metodickými přístupy.

Závěr:

Pro určení šesti polymorfizmů v genu MBL2 jsme vyvinuli metodiku, která je rychlá, spolehlivá, nenáročná na vstupní množství DNA a ekonomicky výhodná. Metodika a algoritmus pro sestavení haplotypů/haplogenotypů jsou nyní připraveny pro využití při genetických asociačních studiích, které jsou zaměřeny nejenom na choroby dutiny ústní, ale i na další onemocnění.

Poděkování:

Studie byla podpořena z grantu NV17-30439A, ze specifického výzkumu MUNI/A/1546/2018 a z prostředků poskytnutých Lékařskou fakultou MU juniorskému výzkumníkovi Petře Bořilové Linhartové.

Probiotiká v léčbě parodontopatií: narrative review

Rastislav Bielik

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MDDr. Filip Hromčík**Klíčová slova:** parodontální, probiotikum, narrative, review**Úvod:**

Cíľom práce bolo sumarizovať a zhodnotiť dostupné výsledky v doterajšom výskume v liečbe parodontopatií s pomocou probiotík. Možnosti v tejto oblasti sú všeobecne považované za pomoc pri bežnej terapii avšak pri niekoľkých druhoch baktérií sa nám podarilo zistiť výsledky porovnateľné aj lepšie s metódami považovanými za štandardné. Poznatky k danej problematike sú však stále nedostatočné a je potrebný výskum vyššej kvality a širšieho záberu.

Metody:

Vyhľadávanie prebehlo v databáze Medline PubMed s výsledkami od dňa 01.01.1980 do dňa 01.04.2018. Boli použité kľúčové slová „oral“, „probiotic“, „periodontal“. Z 84 citácií bolo 20 použitých v ďalšom procese. Mikroorganizmy používané ako probiotické preparáty sú rozdelené podľa rodov a druhov. Pri každom druhu sú uvedené údaje dostupné z vybratých štúdií. Koncentrácia mikroorganizmov v preparátoch je uvedená v CFU (colony forming unit) Parametre PI (plaque index), GI (gingival index), BOP (bleeding on probing), PPD (probing pocket depth) a CAL (clinical attachment level) sú považované za klinické. Okrem nich je často uvedený počet, resp. koncentrácia parodontálnych patogénov získaná PCR analýzou či GCF (gingival crevicular fluid).

Výsledky:

Probiotiká sa javia ako vhodná doplnková terapia k mechanickému subgingiválnemu ošetrovaniu pacientov s gingivitídou a pokročilým stupňom paradontitídy. Výsledky klinických štúdií ukazujú na vysokú účinnosť druhu *Lactobacillus reuteri*, taktiež na významné pozitívne zmeny u pacientov užívajúcich probiotiká s *L. salivarius* či usmrtenými baktériami *L. plantarum*. *L. casei* ukazuje účinnosť pri špecifických podmienkach s vysokým príjmom sacharidov. Ostatné druhy majú podľa dostupných údajov minimálny účinok na stav paradontu. Z rodu *Bacillus* je účinný druh *B. subtilis* a u ostatných druhov je potrebné ďalšie skúmanie. Rod *Streptococcus* ani *Bifidobacterium* neponúkajú významné pozitívne účinky.

Záver:

Terapia s použitím živých organizmov sa nám vo viacerých ohľadoch osvedčila, avšak niekoľko výsledkov je stále sporných. Doteraz môžeme povedať, že probiotiká sa javia ako dostupná a bezpečná alternatíva doplnkovej liečby, ktorá negatívne neovplyvňuje ďalšiu liečbu a prináša neutrálny až pozitívny efekt na zdravie ústnej dutiny. Hlbšie vedomosti by nám mohli otvoriť dvere ku kombináciám v liečbe a bližšiemu porozumeniu interakcií hosťiteľ-probiotikum alebo hosťiteľ-patogén. Len rozšírená a kvalitná práca v tomto odvetví nám dovoľí uvažovať o liečbe probiotikami bez ďalších pochybností.

5. Sekce nelékařských oborů

Dodržování základních zásad při měření objektivní a subjektivní refrakce

Bc. Petr Buček, Mgr. Petr Veselý, DiS., Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: refrakce, sféra, osa, cylindr, automatický refraktometr, optotyp

Úvod:

Ve studii nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi prováděným měřením správně, dle zásad správného měření a záměrně špatně. Bylo zde však prokázáno, že se studie zabývala reálným problémem a proto může mít přínos do běžné praxe. Také zde byl prokázán rozdíl v postupu práce mezi očními lékaři a optometry. Velmi důležité je však to, aby obě dvě metody dospěly ke stejnému závěru.

Metody:

Tohoto výzkumu se zúčastnilo celkem 186 osob. Z toho se 86 osob účastnilo dotazníkového šetření a 100 osob měření objektivní refrakce na autorefraktometru. Ze vzorku 100 osob bylo u 27 osob provedeno i měření subjektivní refrakce. Průměrný věk změřených osob byl 39 let v rozmezí 16 až 82 let. Výzkumu se zúčastnilo 67 žen a 33 mužů. Nejprve bylo prováděno měření objektivní refrakce na automatickém refraktometru správným (OK) a záměrně špatným způsobem (NOK). U vybraných klientů došlo i k měření subjektivní refrakce a to nejprve správným způsobem (OK) a poté znovu záměrně špatným způsobem (NOK). Dotazníkového šetření se účastnily osoby z řad očních sester, očních lékařů a optometrů. Byly jim předloženy jednoduché otázky s odpověďmi ANO či NE. Hlavní otázka se týkala odklonu čela měřené osoby od čelní opěrky a aktivního pracování s výsledkem objektivní refrakce při subjektivním měření. Výsledky výzkumu byly zaznamenány a statisticky vyhodnoceny v programu MS Excel. Jako statisticky významná hodnota byla zvolena hodnota T testu $p = 0,05$.

Výsledky:

Výsledky hodnot sféry a vrcholové lámavosti cylindrické složky jsou udávány u obou metod v absolutní hodnotě. Měření objektivní refrakce vyšlo následovně. U hodnoty sféry OK byl průměrný výsledek 1,57 D a NOK 1,55 D. Vrcholová lámavost cylindrické složky vyšla následovně, OK 0,68 D a NOK 0,67 D. Závěrečná hodnota osy cylindru vyšla OK 95° a NOK 101°. Výsledky T-testu zde neukázaly statisticky významný rozdíl ani v jednom případě ($p = 0,221$; $0,658$; $0,093$). U měření subjektivní refrakce vyšly výsledky následujícím způsobem. U hodnoty sféry OK byl průměrný výsledek 1,28 D a NOK 1,29 D. Vrcholová lámavost cylindrické složky vyšla následovně, OK 0,45 D a NOK 0,47 D. Závěrečná hodnota osy cylindru vyšla

OK 88° a NOK 88°. Výsledky T-testu ani zde neukázaly statisticky významný rozdíl ani v jednom případě ($p = 0,626; 0,439; 0,904$). Výsledky dotazníkového šetření dokazují, že problém odklonu čela je běžným problémem. Odpověď ano zde zodpovědělo více než 90 % dotazovaných osob. 100 % očních lékařů a 55 % optometristů udávají aktivní použití výsledku objektivní refrakce při subjektivním měření.

Závěr:

Ve studii nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi prováděným měřením správně, dle zásad správného měření a záměrně špatně. Bylo zde však prokázáno, že se studie zabývala reálným problémem a proto může mít přínos do běžné praxe. Také zde byl prokázán rozdíl v postupu práce mezi očními lékaři a optometry. Velmi důležité je však to, aby obě dvě metody dospěly ke stejnému závěru.

Poděkování:

Projekt vznikl za podpory programu rektora kategorie C - podpora vynikajících diplomových prací.

Faktory ovplyvňujúce recidívu dekubitálnej lézie po plastickom chirurgickom výkone

Bc. Natália Antalová, MUDr. Alica Hokynková, doc. PhDr. Lada Cetlová, Ph.D., MUDr. Jakub Turek

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: doc. PhDr. Andrea Pokorná, Ph.D.

Klíčová slova: dekubitus, preležanina, tlaková lézia, terapia, lalokoplastiky

Úvod:

Cieľom retrospektívnej deskriptívno-observačnej štúdie bolo zhodnotiť proces starostlivosti o pacientov s dekubitom (preležaninou), ktorí boli indikovaní k plastickej operačnej intervencii a zhodnotiť faktory ovplyvňujúce recidívu dekubitu.

Metody:

K realizácii prieskumu a zberu dát bola použitá retrospektívna analýza uzavretej dokumentácie pacientov indikovaných k plastickej operácii realizovanej na konkrétnej klinike fakultnej nemocnice (klinika plastickej chirurgie). Pacienti boli hospitalizovaní na danej klinike s hlavnou diagnózou L89 podľa medzinárodnej klasifikácie chorôb MKN-10 v priebehu jedného kalendárneho roku, teda počas 12 mesiacov (od 1. 1. 2016 do 1. 1. 2017).

Výsledky:

Analyzované boli dokumentácie od 46 pacientov s 55 dekubitmi. Štatisticky významnými faktormi, ktoré súviseli s výskytom recidívy dekubitu, boli index telesnej hmotnosti (body mass index; BMI) a telesná lokalizácia dekubitov. Tak tiež sme zistili, že absentujú niektoré dôležité údaje pre manažment starostlivosti o pacienta s dekubitom.

Záver:

V sledovanej populácii boli BMI a lokalizácia dekubitu identifikované ako štatisticky významné faktory súvisiace s recidívou dekubitov. Vyššie BMI bolo spojené s častejším výskytom recidívy. Dekubitus v ischiadickej oblasti bol spojený s častejšou recidívou, bez ohľadu na priemernú veľkosť dekubitu. Praktickým výstupom je taktiež odporúčanie pre sledovanie špecifických údajov v starostlivosti o pacienta s dekubitom indikovaného k plastickému operačnému výkonu. Štúdia pomohla odhaliť rizikové oblasti, ktoré je možno preventívne ovplyvniť.

6. Doktorandská sekce

Výskyt kmenů MRSA diagnostikovaných v laboratoři MÚ ve FN u sv. Anny v Brně a problémy s terapií

**Mgr. Milada Dvořáčková, doc. MUDr. Filip Růžička, Ph.D.,
Mgr. Monika Dvořáková Heroldová, Ph.D., Mgr. Lukáš Vacek**
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: fágová terapie, Staphylococcus, biofilm, MRSA, Stafal®

Úvod:

Kmeny *Staphylococcus aureus* patří mezi obávané bakteriální původce nozokomiálních infekcí, a to hlavně tehdy, jsou-li rezistentní k antibiotikům či mají-li významné faktory patogenity, jako je schopnost tvořit odolný biofilm. Hledání nových terapeutik, účinných na takové kmeny, je jednou z hlavních priorit medicíny a vědeckého výzkumu. Cílem studie bylo popsat výskyt *S. aureus* a podíl kmenů MRSA (rezistentních k methicilinu) diagnostikovaných v laboratoři Mikrobiologického ústavu FN u sv. Anny v Brně v letech 2011–2018. U vybraných kmenů *S. aureus* ověřit schopnost tvorby biofilmu a otestovat citlivost k antibiotikům a k fágovému přípravku Stafal®. Dále navrhnout metodu vhodnou pro jednoduché rutinní testování citlivosti bakterií

Metody:

U 867 klinických izolátů *S. aureus* a u 132 kmenů náležících k dalším druhům rodu *Staphylococcus* byla testována citlivost k fágovému preparátu Stafal® za použití metody dvouvrstevného agaru. U všech kmenů *S. aureus* byla testována schopnost tvorby biofilmu modifikovanou Christensenovou metodou využívající mikrotitrační destičky. U 97 kmenů *S. aureus* byla metoda dvouvrstevného agaru (MDA) porovnána s námi navrženou metodou, která je založena na úbytku optické denzity (MOD) bakteriální suspenze.

Výsledky:

Ve sledovaném období bylo v laboratoři FN u sv. Anny v Brně diagnostikováno průměrně 2856 kmenů *S. aureus* ročně. V hemokulturách a venózních katetrech s nálezem *S. aureus* byl podíl kmenů MRSA 8,8–15,2 %. Bylo potvrzeno, že kmeny *S. aureus* izolované z venózních katetrů a hemokultur byly silnějšími producenty biofilmu než kmeny z jiných klinických materiálů. Kmeny MRSA produkovaly biofilm silněji než kmeny methicilin citlivé (MSSA). K preparátu Stafal® bylo citlivých 90,4 % kmenů *S. aureus*. V souboru MRSA to bylo dokonce 99,0 % citlivých kmenů. Nebyla prokázána souvislost mezi citlivostí ke Stafalu® a schopností tvořit biofilm. Přesto, že jde o preparát zaměřený na *S. aureus*, byla určitá citlivost

(26,5 %) prokázána i u dalších druhů stafylokoků. Nová jednoduchá metoda navržená pro rutinní testování citlivosti k fágovým preparátům pomocí MOD byla sroventelně citlivá a spolehlivá jako běžně používaná metoda MDA.

Závěr:

Ukázalo se, že podíl diagnostikovaných kmenů MRSA odpovídá výskytu kmenů v celé České republice a že zjištění týkající se produkce biofilmu jsou v souladu s dosavadními vědeckými poznatky. Hostitelské spektrum přípravku Stafal® je v porovnání s jinými příbuznými fágy široké. Nejvyšší účinnost vykazují kmeny MRSA s další přidruženou rezistencí k antibiotikům (99,4 %). Na základě testování 867 kmenů *S. aureus* a 132 jiných stafylokoků in vitro bylo prokázáno, že fágový preparát Stafal® je vhodným kandidátem pro léčbu stafylokokových infekcí i tam, kde klasická antibiotika selhávají. Navíc byla navržena jednoduchá metoda, jak rutinně testovat citlivost k fágům u klinických bakteriálních izolátů.

Poděkování:

16-29916A (Ministerstvo Zdravotnictví České Republiky)

Studium zánětlivých změn v plexus choroideus po subarachnoidálním krvácení

MUDr. Peter Solár

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Marek Joukal, Ph.D.

Klíčová slova: subarachnoidální krvácení, plexus choroideus, nitrolební tlak, hydrocefalus, makrofágy

Úvod:

Subarachnoidální krvácení (SAK) je život ohrožující typ hemoragické cévní mozkové příhody způsobený rupturou vakovitého aneurysmatu. V průběhu SAK dochází k vylití krve do subarachnoidálního prostoru vyplněného mozkomíšním mokem a akutnímu zvýšení nitrolebního tlaku (ICP). Jednou z hlavních komplikací SAK je aseptický zánět centrální nervové soustavy spojený s rozvojem hydrocefalu. Prvním cílem naší studie bylo popsat buněčné a enzymatické změny v plexus choroideus (CP) indukované SAK. Druhým cílem bylo prokázat, zda zánětlivé změny v CP jsou způsobeny pouze degradačními produkty hemoglobinu nebo k nim také přispívá akutně zvýšený ICP po SAK.

Metody:

Experimenty byly provedeny na potkanech rodu Wistar (n=34; samci; 250-300g). V hluboké intraperitoneální anestézii (směs 100mg/kg ketamin a 8mg/kg xylazin)

bylo zvířatům aplikováno 200 μ l neheparinizované arteriální autologní krve odebrané z arteria caudalis (skupina SAK) nebo 200 μ l umělého mozkomíšního moku (skupina ACSF). Po 1, 3 nebo 7 dnech byla zvířata skupiny SAK a ACSF usmrcena inhalací CO₂ společně s intaktními potkany. Na kryostatových koronárních řezech mozku o tloušťce 20 μ m byla provedena nepřímá imunohistochemická detekce antigen prezentujících buněk (MHC II+), aktivovaných (ED1+) a rezidentních (ED2+) makrofágů, CCR7+ a CD206+ buněk, T-lymfocytů (CD3+), proliferačních buněk (Ki67+), enzymů hemoxygenázy-1 (HO-1) a biliverdin-reduktázy (BVR). Jednotlivé řezy byly vyhodnoceny ve fluorescenčním mikroskopu. Následně byla provedena kvantifikace imunopozitivních buněk a jejich počet byl převeden na jednotku plochy CP. Průměrná intenzita imunofluorescence enzymů HO-1 a BVR v místě ohraničené plochy CP byla vyhodnocena automatickou detekcí. K ověření exprese enzymů HO-1 a BVR v CP získané imunohistochemickou detekcí, byla použita analýza Western blotem. Výsledky byly vizualizovány denzitometricky. Získaná data byla statisticky vyhodnocena použitím Mann-Whitney U-testu.

Výsledky:

Imunitní buňky byly nalezeny převážně v epilexální pozici, v pozici Kolmerových buněk. Ve srovnání s naivními zvířaty byl počet antigen prezentujících buněk (MHC II+) v CP signifikantně zvýšen 3 a 7 dní po indukci SAK a 3 a 7 dní po aplikaci ACSF. Počet MHC II+ buněk se zvyšoval s délkou trvání SAK. Signifikantně zvýšený počet aktivovaných (ED1+) makrofágů byl nalezen 3 a 7 dní po indukci SAK stejně jako 3 a 7 dní po aplikaci ACSF ve srovnání s naivními zvířaty a měl zvyšující se tendenci. Imunohistochemické stanovení rezidentních (ED2+) makrofágů ukázalo signifikantně zvýšený počet 1,3 a 7 dní po SAK ve srovnání s naivními zvířaty a zvířaty po aplikaci ACSF. Počet CCR7+ buněk byl signifikantně zvýšen 1 a 3 dny po indukci SAK a 1 den po aplikaci ACSF ve srovnání s naivními zvířaty. Signifikantně zvýšený počet CD206+ buněk byl nalezen 1,3 a 7 dní po indukci SAK a 1 a 3 dny po aplikaci ACSF ve srovnání s naivními zvířaty. Imunohistochemické stanovení CD3+ buněk neprokázala T-lymfocyty v CP u žádné skupiny zvířat. Buněčná proliferace (Ki67+) byla signifikantně zvýšena 1,3 a 7 dní po indukci SAK a 1 den po aplikaci ACSF. Počet proliferačních buněk se zvyšoval s délkou trvání SAK. Imunohistochemickou detekcí a Western blotem bylo prokázáno, že ve srovnání s naivními a ACSF zvířaty byla signifikantně zvýšená exprese enzymu HO-1 a BVR 1, 3 a 7 dní po SAK. Exprese enzymu HO-1 měla klesající tendenci, zatímco exprese enzymu BVR se s časem zvyšovala.

Závěr:

CP po SAK a po aplikaci ACSF reaguje buněčnými imunitními změnami, které jsme sledovali v různých časových periodách po aplikaci krve nebo ACSF. Na základě těchto změn lze předpokládat, že CP reaguje nejenom na přítomnost krve a degračních produktů hemoglobinu v mozkomíšním moku, ale také na akutní zvýšení ICP. Buněčné imunitní změny v CP mohou vést k zánětlivému poškození hemato-likvorové bariéry v CP a přispívat tak k rozvoji hydrocefalu.

Na druhé straně přítomnost imunitních buněk v CP, především v epiplexální pozici, a zvýšená exprese enzymu HO-1 a BVR pravděpodobně přispívá k uklidové reakci a k znovuoobnovení homeostázy v centrální nervové soustavě po SAK.

Poděkování:

Výsledky byly získány za finanční podpory výzkumného záměru MUNI/A/1086/2018.

Srovnání počtu a alelické četnosti mutací genu TP53 u pacientů před první terapií a pacientů s relabující/refrakterní chronickou lymfocytární leukemií

RNDr. Barbara Vonková, Mgr. Šárka Pavlová, Ph.D, RNDr. Jitka Malčíková, Ph.D, Mgr. Jana Kotašková, Mgr. Jakub Hynšt, MUDr. Anna Panovská, Ph.D, MUDr. Yvona Brychtová, Ph.D, prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D, prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc, prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC

Školitel: Mgr. Šárka Pavlová, Ph.D, RNDr. Jitka Malčíková, Ph.D

Klíčová slova: chronická lymfocytární leukemie, TP53, minoritní mutace

Úvod:

I přes přibývající poznatky o patogenezi a zavedení nových léčiv patří chronická lymfocytární leukemie (CLL) stále mezi nevléčitelná onemocnění. Jedním z nejvýznamnějších prognostických a prediktivních ukazatelů je mutační status TP53, tento gen je doporučeno analyzovat před každou terapií. Je známo, že varianty s nízkou alelickou četností (VAF) mohou podléhat selekčnímu tlaku terapie a jejich expanze na úkor nemutované populace vede k progresi onemocnění. Sekvenování nové generace (NGS), které má limit detekce výrazně nižší než Sangerovo sekvenování, poukázalo na velkou heterogenitu a dynamiku v počtu a velikosti mutovaných klonů.

Metody:

Cílem je srovnání počtu a VAF mutací TP53 u pacientů (1) před započítáním 1. terapie a (2) v pokročilé fázi onemocnění před nasazením terapie BCR/bcl-2 inhibitory u pacientů relabujících či rezistentních na standardní chemo(imuno)terapii (R/R CLL). Srovnání počtu a VAF mutací TP53 u pacientů (1) před započítáním 1. terapie a (2) v pokročilé fázi onemocnění před nasazením terapie BCR/bcl-2 inhibitory u pacientů relabujících či rezistentních na standardní chemo(imuno)terapii (R/R CLL). Soubor tvoří dvě skupiny vzorků od pacientů s CLL léčených na IHOK FN Brno v období 4/2013 až 6/2018: (1) vzorky od 295 pacientů před vstupem do

1. terapie, (2) vzorky od 82 R/R pacientů před zahájením léčby inhibitory. Pro párové srovnání byly využity starší odběry nad rámec těchto skupin. Analýza TP53: Amplikonové NGS pokrývající kódující oblast genu (exony 2-11 + sestřihová místa) s využitím Nextera XT Library Preparation kitu na přístroji MiSeq. Vyhledávání variant $\geq 0,1$ % pomocí zavedených bioinformatických postupů. Část pacientů s TP53 mutací > 80 % byla vyšetřena pomocí Sangerova sekvenování. V obou skupinách byli pacienti rozděleni následovně: podskupina pacientů s mutací TP53 > 10 % VAF (dále pacienti nesoucí mutaci $> 10\%$), pacienti s mutacemi 0,1-10 % VAF (dále pacienti s minoritními mutacemi) a pacienti, u kterých nebyla mutace TP53 nalezena (dále wild-type pacienti).

Výsledky:

Mezi pacienty vstupujícími do 1. terapie (skupina 1) neslo 27 z 295 (9 %) pacientů mutací $> 10\%$ (medián mutace s nejvyšší VAF 50 %), 208 pacientů bylo označeno jako wild-type (70 %), 60 pacientů neslo minoritní mutace (20 %; medián mutace s nejvyšší VAF 0,4 %). Ve skupině pacientů s minoritními mutacemi převažovali pacienti s jedinou mutací (51 pacientů; 85 %), rozsah počtu mutací 1 až 27, medián 1/průměr 1,8 mutace na pacienta. Oproti tomu, skupinu R/R CLL (2) tvořilo 38 pacientů (46 %) s mutací $> 10\%$, 23 wild-type pacientů (28 %) a 21 pacientů (26 %) s minoritními mutacemi (medián mutace s nejvyšší VAF 2 %). Ve skupině s minoritními mutacemi převažovali pacienti s více mutacemi, jediná mutace byla nalezena u 8 pacientů (38 %), rozsah počtu mutací 1 až 36, medián 6/průměr 10 mutací na pacienta. Od 49 z 59 R/R pacientů s mutací $> 10\%$ či s minoritní mutací byl dostupný odběr z doby před 1. terapií. Ze 35 R/R pacientů nesoucích mutací $> 10\%$ byly před nasazením 1. terapie přítomny minoritní mutace u 8 pacientů (23 %) a žádná TP53 mutace nebyla nalezena u 5 pacientů (14 %). U zbylých 22 pacientů (63 %) byla přítomna mutace $> 10\%$ již před nasazením 1. terapie. Ze skupiny R/R pacientů s minoritními mutacemi (14 pacientů) nebyla u většiny pacientů před 1. terapií přítomná žádná mutace (11/14; 79 %), u 3 pacientů (21 %) byly minoritní mutace přítomny.

Závěr:

Ve skupině R/R CLL pacientů bylo ve shodě s publikovanými daty zjištěno signifikantně vyšší zastoupení pacientů s TP53 mutací ($P < 0,0001$). Pro mutace pod 10 % platí, že u R/R CLL jsme pozorovali jak výrazně vyšší počet mutací u jednotlivých pacientů ($P < 0,0001$), tak i jejich vyšší alelickou četnost. Toto pozorování odpovídalo vývoji mutačního statusu u individuálních pacientů. Zvyšující se podíl klonů s TP53 mutacemi v pokročilých fázích onemocnění koresponduje s všeobecně přijímaným předpokladem, že chemo(imuno)terapie zvyhodňuje buňky s inaktivním p53.

Poděkování:

MZCR-RVO 65269705 a MUNI/A/1105/2018, MZCR-AZV NV19-03-00091.

Terapeutický potenciál *Escherichia coli* produkující bakteriociny v léčbě kolibakterióz

**Mgr. Matěj Hrala, Mgr. Juraj Bosák, Ph.D., MVDr. Koláčková Ivana, Ph.D.,
prof. MUDr. David Šmajš, Ph.D.**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

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

Klíčová slova: bakteriocin, ETEC, STEC, kolibakterióza, probiotikum, *E. coli*

Úvod:

Bakteriociny jsou antimikrobiální proteiny či peptidy produkované různými druhy bakterií. Produkce bakteriocinů je považována za jeden z mechanismů, jimiž probiotika inhibují patogenní kmeny. Mezi nejčastější původce infekcí způsobené patogenní *E. coli* (kolibakteriózou) patří zejména patotypy ETEC (enterotoxigenní *E. coli*) a STEC (Shiga-toxigenní *E. coli*). Kvůli zvyšujícímu se počtu patogenů rezistentních k antibiotické léčbě je zvýšena i potřeba pro nacházení alternativních cest pro léčbu či předcházení těchto infekcí.

Metody:

Cílem této studie bylo otestovat soubor izolátů patogenní *E. coli* a zjistit jejich citlivost k různým typům bakteriocinů. Podle zjištěné citlivosti byly následně vybrány potenciálně probiotické komenzální *E. coli* s produkcí účinných bakteriocinů a jejich potenciál byl otestován v systému *in vitro* a *in vivo*.

Výsledky:

Nejvyšší inhibiční aktivita byla pozorována u mikrocinů B17 a J25, které inhibovaly 97 a 96 % testovaných patogenních kmenů. Následně byly vybrány tři komenzální *E. coli* s ohledem na jejich bakteriocinogenii a jejich inhibiční potenciál byl testován *in vitro*. Bakteriocinogenní kmeny eliminovaly počty patogenního kmenu ETEC do 48 hodin. Dále byly kmeny testovány proti experimentální infekci v selatech, kde dokázaly signifikantně snížit závažnost průjmu a také délku probíhajících průjmů selat.

Závěr:

Selekce komenzální *E. coli* na základě bakteriocinogenie je dobrou strategií pro selekci kmene s probiotickým účinkem při infekcích způsobených patogenní *E. coli*.

Poděkování:

Tato práce byla podpořena AZV č. 17-31333A.

Nová potenciální protinádorová léčiva, (1,10-fenantrolin)₂Cu(II) komplexy, indukují buněčnou smrt zprostředkovanou ER stresem v buňkách ovariálního karcinomu

Mgr. Lukáš Moráň, Prof. Tiziana Pivetta, Mgr. Kateřina Vašíčková, Ph.D.,
doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc., RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.

Klíčová slova: endoplazmatické retikulum, ER stres, měďnaté komplexy, ovariální karcinom, UPR

Úvod:

Endoplazmatické retikulum (ER) je hlavní organelou zajišťující proteosyntézu, posttranslační modifikace proteinů, biosyntézu membrán a hospodaření s Ca²⁺. ER také hraje podstatnou roli v udržování homeostázy buňky. Stres ER je významným mechanismem odpovědi buňky na řadu vnějších i vnitřních podnětů narušujících homeostázu buňky a hraje roli v řadě civilizačních onemocnění včetně rakoviny. Buněčná odpověď na stres ER je známa jako Unfolded Protein Response (UPR). Nedávno syntetizované (1,10-fenantrolin)₂Cu(II) komplexy jeví velký potenciál jako chemoterapeutika při léčbě nádorových onemocnění. V našem projektu se zabýváme mechanismem účinku těchto látek a buněčnou odpovědí na jejich působení.

Metody:

Pro experimenty byly použity buněčné linie A2780, SKOV3 a HEK293. Během této práce byla užitá řada detekčních metod, jako je Western blott, qRT-PCR a imunohistochemické metody. Pro studium buněčné ultrastruktury a morfologie, byla použita transmisní elektronová mikroskopie. Lokalizace značených proteinů byla provedena pomocí laserového skenovacího konfokálního mikroskopu a invertovaného konfokálního mikroskopu. Dále byl optimalizován protokol pro kultivaci 3-D struktur tzv. sféroidů pro linie karcinomu ovárií (A2780) a somatických buněk (HEK293), za účelem navození reálnějších podmínek mikroprostředí v rámci buněčné kultury. Tvorba sféroidů má význam zejména pro studium nádorových onemocnění, vyznačujících se specifickým mikroprostředím, jako je tvorba hypoxických oblastí, acidosa, upřednostňování anaerobní glykolýzy, atp.

Výsledky:

Nové (1,10-fenantrolin)₂Cu(II) komplexy jsou schopné již při nízkých koncentracích působit cytotoxicky a antiproliferačně na buněčné linie ovariálního karcinomu.

Tyto látky indukují v buňkách ER stres a ovlivňují dráhu UPR na úrovni genové exprese i proteinů a mají vliv na morfologii ultrastruktury buněk. V kombinaci s dalšími látkami ovlivňujícími dráhu UPR jsme schopni modulace cytotoxického působení těchto komplexů.

Závěr:

V tomto projektu jsme charakterizovali rámcový vliv nových komplexů cílicích na procesy spojené s ER stresem a regulací UPR, a odhalili buněčné struktury a zúčastněné molekulární cesty. Modulace dráhy UPR se zdá být ideálním cílem nových léčiv pro léčbu nejen nádorových onemocnění.

Poděkování:

Supported by the project no. LQ1605 from the National Program of Sustainability II (MEYS CR) and by Masaryk University (MUNI/A/1369/2016). We acknowledge the core facility Cellular Imaging (CELLIM), institution CEITEC MU supported by the Czech-Biolmaging large RI project (LM2015062 funded by MEYS CR) for their support with obtaining scientific data presented in this paper. We thank prof. J.H. Prehn from Royal College of Surgeons in Ireland for providing fluorescent reporters.

3D cell culture models demonstrate a role for FGF and WNT signaling in regulation of adult lung epithelial stem cell fate

**Anas Rabata, M.Sc., doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.,
Mgr. Zuzana Koledová, Ph.D.**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Department of Cytokinetics, Institute of Biophysics of the Czech Academy of Sciences, Brno, Czech Republic

Supervisor: doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.

Keywords: 3D culture, lungosphere assay, organoid, FGF signaling, Wnt signaling

Introduction:

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). However, our understanding of cellular hierarchy in adult lung and microenvironmental signals that regulate LSPC self-renewal and differentiation remains incomplete. Therefore, in this study, we developed an assay that enabled us to study the properties of LSPCs and demonstrate the effect of different FGFs and Wnt3a on their fate.

Methods:

We developed a protocol for isolation of LSPC that takes advantage of the unique abilities of stem cells to survive in non-adherent conditions and to self-renew without requiring FACS. Our 3D cell culture assays provide useful tools to assess stem/progenitor properties and a platform to study cell-cell interactions and the effect of different supplements and drugs as a part of tissues regeneration and diseases models in vitro.

Results:

In addition to defining the capacity of LSPCs to self-renew, proliferate and differentiate, we also described different phenotypes of lungospheres that formed from LSPCs. Thus, we have established a 3D cell model to support generating lung organoids from LSPCs or lungospheres that faithfully mimic the lung structures and include more differentiated lung progeny. Importantly, this vitro assay provides a powerful tool for identifying the signaling and factors that regulate stem/progenitor cells fate and specificity. Although the FGF signaling regulated the capacity of LSPCs and was an essential component during lung organoid formation process, the specific role of different FGF ligands still needs more investigating. Furthermore, the Wnt3a efficiently promoted lung organoids formation that was more compact and contained several layers of less differentiated cells, but in the presence of FGF10, the lung organoids organized alveolar-like and airways-like structures that included more differentiated lung progeny.

Conclusion:

Our lungosphere and 3D cell culture assay provide a functional application to determine stem/progenitor cells properties and to study epithelial-stromal cells interactions in vitro. Consequently, we can apply this assay to establish 3D models of tissues, diseases and tumors for regenerative medicine, drug testing and understanding oncogenesis.

Efekt denosumabu na obrovskobuněčný kostní nádor

MUDr. Michal Mahdal, doc. RNDr. Jakub Neradil, Ph.D., MUDr. Tomáš Tomáš, Ph.D., MUDr. Lukáš Pazourek

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: MUDr. Tomáš Tomáš, Ph.D.

Klíčová slova: denosumab, EGFR, obrovskobuněčný nádor

Úvod:

Obrovskobuněčný kostní nádor je semimaligní primární kostní nádor, který je charakterizovaný lokálně agresivním růstem a metastatickým potenciálem. Histologicky obsahují 2 typy buněk, obrovské vícejaderné buňky typu osteoklastů a vlastní

nádorové mononukleární buňky. Nádorové buňky exprimují na svém povrchu RANK ligandu a tím pomocí RANK receptoru aktivují osteoklasty. Denosumab je novou léčebnou možností v léčbě obrovskobuněčného kostního nádoru. Jedná se o monoklonální protilátku proti RANK ligandu a tím inhibuje obrovské vícejaderné buňky typu osteoklastů. Denosumab je indikován k léčbě metastatické nemoci, inoperabilních nádorů a neoadjuvantně s cílem umožnit končetinu nebo kloub zachovávající operační výkon.

Metody:

Vzorky nádorové tkáně byly získány od 4 pacientů, 2 vzorky od pacientů po léčbě denosumabem a 2 vzorky od pacientů, kteří nebyli léčeni denosumabem. Jednotlivé vzorky byly testovány na fosforylaci receptorových tyrosin kináz za použití soupravy Proteome Profiler Human Phospho-RTK Array Kit. Nádorové buňky získané ze vzorků tkáně byly kultivovány s denosumabem nebo erlotinibem (inhibitor receptoru epidermálního růstového faktoru) použitými o různých koncentracích včetně jejich kombinací. MTT test byl použit k analýze proliferace a životaschopnosti buněk po léčbě oběma inhibitory.

Výsledky:

Vzorky nádorové tkáně získané od pacientů po léčbě denosumabem vykazovaly zvýšenou fosforylaci receptoru epidermálního růstového faktoru ve srovnání se vzorky nádoru před léčbou denosumabem. Všechny buněčné linie při použití 10 uM erlotinibu však vykazovaly významný pokles životaschopnosti buněk, aniž by byl ovlivněn terapeutickými koncentracemi denosumabu.

Závěr:

Denosumab inhibuje obrovské buňky podobné osteoklastům a zvyšuje fosforylaci receptoru epidermálního růstového faktoru vlastními nádorovými mononukleárními buňkami. Léčba denosumabem v kombinaci s inhibítozem receptoru epidermálního růstového faktoru by mohla být účinným typem cílené léčby u inoperabilních nádorů a metastatického onemocnění.

Poděkování:

Podpořeno projektem MUNI/A/1477/2018.

Přínos DWI pro vymezení hranic difúzně se šířících high-grade gliálních neoplázií

MUDr. Michal Hendrych, MUDr. Hana Valeková, Barbora Musilová

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Školitel: doc. MUDr. Radim Jančálek, Ph.D., prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.

Klíčová slova: glioblastom, HGG, DWI, ADC, celularita, proliferační index, vaskulární densita, hranice infiltrace, peritumorózní zóna

Úvod:

Difúzně vážený obraz je specifickou sekvencí MR, která zobrazuje míru volnosti pohybu molekul vody ve tkáních. Naším cílem bylo zjistit, jestli DWI (diffusion weighted imaging) může pomoci v diagnostice invazivně se šířících gliálních mozkových nádorů, přesněji v určování hranice tumorózní infiltrace glioblastomu do mozkové tkáně. V našem projektu jsme spíše než DWI sekvenci využívali její kvantitativní vyjádření (ADC mapu, Apparent Diffusion Coeficient). V našem zkoumání jsme se zaměřili na mikroskopické známky invaze (perivaskulární a perineuronální infiltráty, patologická vaskularizace, zvýšený proliferační potenciál buněk) a jejich korelaci s DWI (s hodnotami ADC).

Metody:

V rámci projektu bylo zařazeno 24 pacientů s high-grade gliální neoplázií, u kterých byla provedena biopsie s využitím MR stereotaktické navigace. Bioptické vzorky byly odebrány z oblasti tumorózní masy (postkontrastního sycení v T1WI), peritumorózního edému (hyperintenzita v T2WI) a pokud byla součástí operačního přístupu i MR negativní tkáň v neelokventní oblasti mozku, byl odebrán i bioptický vzorek tkáně bez nádorové infiltrace. Vzorky tkání byly následně podrobeny imunohistochemické analýze exprese nestinu (marker tumorózních, stromálních progenitorových buněk a neoangiogeneze), proliferačního indexu Ki-67 a vaskulární denzity expresí endoteliálního antigenu CD31. Exprese nestinu byla hodnocena semikvantitativně: skóre 0 = histologicky zdravá tkáň (tkáň mozku s expresí nestinu limitovanou na endotelie), skóre 1 = peritumorózní zóna (disperzní pozitivita <50 % buněk), skóre 2 = centrum tumoru (pozitivita ve >50 % buněk). Exprese proteinu Ki-67 a vaskulární denzita byla hodnocena manuálně za použití systému Nikon NIS Elements Advanced Research. Proliferační aktivita Ki-67 byla hodnocena jako procento buněk s pozitivní expresí k celkové celularitě. Výsledky histologického a imunohistochemického vyšetření byly vztaženy k odpovídajícím nálezům na ADC mapě v lokalitách odběru biopsií.

Výsledky:

Zjistili jsme, že histologická stratifikace HGG dle nestinu neodpovídá zónaci tumoru na MR T1 a T2WI ($p > 0,05$). Infiltrace tumoru dosahuje až za hranici postkontrastního sycení na T1WI. Prokázali jsme významnou pozitivní závislost exprese nestinu k celularitě ($r > 0,85$), středně silná závislost exprese nestinu k proliferační aktivitě a vaskulární denzitě. Taky jsme prokázali pozitivní korelace

mezi vaskulární densitou a celularitou i proliferačním indexem. V našem souboru jsme sledovali závislost hodnoty ADC a histologických parametrů glioblastomu ($p=0,05$) - se stoupající hodnotou ADC klesá celularita, vaskulární denzita i proliferační index Ki67. Zároveň jsme prokázali signifikantní rozdíl ($p=0,05$) hodnoty ADC pro histologické oblasti peritumorózní zóny a oblasti bez histologických známek nádorové infiltrace.

Závěr:

ADC mapování může být přínosné při stanovení hranice infiltrace glioblastomu. Hranice tumorózní invaze se nachází v oblasti peritumorózního edému a je konvenčním MR zobrazením (T1 WI a T2 WI) neodlišitelná. Na našem souboru jsme pozorovali korelaci mezi histologickými parametry invaze tumoru a hodnotou ADC. Na základě hodnoty ADC je tedy možné pomýšlet na biologickou povahu tumoru. Cílem našich dalších analýz při větším množství vzorků bude najít cut-off hodnotu ADC, která by se slibnou senzitivitou a specificitou rozdělila zónu peritumorózního edému na oblast s invazí tumoru a oblast bez invaze.

Poděkování:

Práce byla podpořena grantovými projekty MUNI/A/1252/2017, MUNI/A/1562/2018. Statistika byla zpracována za pomoci Ing. Jany Hruškové.

Snadné monitorování
Vašich buněk



CO₂ inkubátor s vizí

Nový CO₂ inkubátor CellXpert® C170i.

Eppendorf nabízí nový model CO₂ inkubátoru s maximální flexibilitou použití, spolehlivým výstupem dat a poskytující optimální podmínky růstu pro citlivé buňky. Přístroj šetří náklady na provoz a poskytuje tradiční spolehlivost výrobků Eppendorf. Tímto Eppendorf představuje nového člena CO₂ inkubátorů — CellXpert C170i.

- > dovybavení stávající konfigurace např. o O₂ kontrolu, měděnou komoru
- > rychlé znovuoobnovení koncentrace CO₂ plynu a odchylky teplot
- > omezení kontaminace pomocí vnitřní komory s kulatými rohy
- > konstrukce bez ventilátoru — minimum vibrací a turbulence
- > robustní madla, pravé i levé otevírání



www.eppendorf.com/CellXpert

Kontakt: Eppendorf Czech & Slovakia s.r.o. · Voděradská 2552/16 · 251 01 Říčany u Prahy · e-mail: eppendorf@eppendorf.cz
Eppendorf®, Eppendorf Brand Design and CellXpert® are trademarks of Eppendorf AG, Germany.
All rights reserved, including graphics and images. Copyright © 2018 by Eppendorf AG.



ISBN 978-80-210-9285-3



9 788021 092853

MUNI
PRESS

NOVÁ GENERACE TECHNOLOGIE REVERZNÍ TRANSKRIPCE

EvoScript Master Mixes

Produkty EvoScript jsou vhodné pro vysoce specifickou a přesnou jednokrokovou RT-qPCR, zejména pro genovou expresi



Proč použít EvoScript Master Mixy

- Vynikající citlivost RT-qPCR, specifita, provedení genové exprese a detekce patogenu
- Robustní výsledky pro cílovou RNA izolovanou z různých vstupních materiálů
- Vynikající účinnost
- Časnější hodnoty Cq
- Vyšší citlivost
- Široký dynamický rozsah
- Práce s vysoce variabilním obsahem GC párů
- Variabilní délka cílové sekvence
- Vysoce termostabilní RT
- Kompatibilní UNG
- Vyšší fluorescence

Více informací najdete na stránkách:

www.lifescience.roche.com

Objednávky prosím posílejte:

E-mailem: prague.objednavkydia@roche.com

Tel.: +420 220 382 565

Roche, s.r.o.,

Diagnostická divize

Na Valentince 3336/4

150 00 Praha 5

**63. Studentská vědecká konference
Program a sborník abstraktů**

Editor: MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

Sazba: Institut biostatistiky a analýz, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Soutěžní abstrakty nebyly redakčně upravovány a za jejich obsah odpovídají
autoři příspěvků.

Vydala Masarykova univerzita, Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno

1. vydání, 2019

Náklad 200 výtisků

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

ISBN 978-80-210-9285-3