

MUNI MED



SPOLEK
MEDIKŮ

66. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

**Program
a sborník abstraktů**

MASARYKOVA UNIVERZITA
BRNO 2022

Michal Jurajda (ed.)

MUNI MED

66. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

Program a sborník abstraktů

MASARYKOVA UNIVERZITA
BRNO 2022



SPOLEK
MEDIKŮ

Michal Jurajda (ed.)

Složení odborných komisí

Teoretická a preklinická sekce A20/207

Zdenka Fohlerová – předseda

Zuzana Nováková

Stjepan Uldrijan

Jan Balvan

Sekce chirurgických oborů F37/346

Robert Vlachovský – předseda

Martin Helán

Beáta Hemmelová

Ladislav Mitáš

Sekce interních oborů F37/366

Radek Kroupa – předseda

Marek Baláž

Karel Lábr

Ondřej Výška

Doktorandská sekce A21/112

Marie Nováková – předseda

Ondřej Zendulka

Jaromír Gumulec

Jan Máchal

Program jednotlivých sekcí

8:00–8:15

Zahájení konference distanční formou (dr. Jurajda)

Sekce teoretických a preklinických oborů A20/207

8:30–9:30

Česnek Jan

Development of microfluidic platform for screening drug candidates against Alzheimer's disease

Slonková Veronika

Fibrin selective alteplase with improved thrombolysis and inhibition resistance engineered by rational design

Brázdil Dominik

Lékařská genetika – prekoncepční vyšetřovací projekt

Žembová Klára

Vliv stimulace nervus vagus na imunomodulaci u laboratorního potkana

Přestávka 9:30–9:45

9:45–10:45

Szabó Zoltán

Štúdium stresovej odpovede nádorovej bunky

Hohl Adam

Varianta Y4734C-RyR2 asociovaná s idiopatickou fibrilací komor a její dopad na elektrickou aktivitu pacient-specifických kardiomyocytů

Školiaková Katarína

Mesdopetam: challenging antipsychotics effects of a novel psychomotor stabilizer

Menšíková Klára

CD8 T-cells do not show age-related defects in cytokine expression

Přestávka 10:45–11:00

11:00–12:00

Žák Ondřej

Efekt aminofylinu na elektrickou aktivitu kardiomyocytů derivovaných z lidských indukovaných pluripotentních buněk

Rafčíková Julie

Vliv časně sociální izolace na dobutaminem indukovanou tachykardii u samců a samic laboratorního potkana

Váňa František

Indukce feroptózy a její evaluace pomocí biochemických a optických zobrazovacích metod

Zbožek Petr

Uvolňování monomerů a derivátů bisfenolu A z materiálů používaných v ortodoncii

Sekce chirurgických oborů F37/346

8:30–9:45

Bohušová Michaela

Bilateral prophylactic mastectomy with immediate breast reconstruction in BRCA+ patients: Retrospective evaluation of Early and late complications

Pur Jiří

Porovnání výtěžnosti CT angiografie a digitální subtrakční angiografie při detekci mozkových aneurysmat

Macek Jan

Evaluace nového dotazníku pro vyhodnocování kvality života v hodnocení úspěšnosti operační reanimace obličeje

Urban Adam

Využití modalit MRI pro indikaci a techniku provedení operace mozkových tumorů

Šácha Tom

Mechanické vlastnosti jednotlivých struktur m. flexor pollicis longus

Sekce interních oborů F37/366

8:30–9:30

Bartko Lubomír

Parametry pulzové vlny u pacientů s bikuspidální chlopní – pilotní studie

Ondráček David

EEG microstates in dementia with Lewy bodies: 1 year follow up

Horáček Michal

Funkční mozkové mikrostavy při léčbě pacientů s depresí

Zimovjanová Anna

Uptake and effectiveness of risk-reducing strategies in healthy BRCA1 and BRCA2 carriers in the Czech Republic

Přestávka 9:30–9:45

9:45–10:45

Garncarz František

CT sizing u pacientů před výkonem TAVI

Ševčíková Iveta

Role neurodegenerativních procesů ve farmakorezistentní temporální lobární epilepsii

Kalinayová Klaudia

Diabetes mellitus 1. typu a denzita očnéj šošovky

Koňářiková Veronika

Korelace mezi refrakčními vadami a migrénou

Sekce doktorandská A21/112

8:30–9:30

Smolková Karolína

A new reporter system for high-throughput identification and validation of eIF4F inhibitors

Vadovičová Natália

eIF4F reguluje aktivitu AMPK v maligním melanomu

Medappa Monica

A novel Multi-locus Sequence Typing scheme (MLST) identified three *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* strain types in Namatanai, Papua New Guinea, during the WHO-initiated yaws eradication program

Kittová Patrícia

Kolaterálna cirkulácia zlepšuje rekanalizáciu pôsobením alteplázy: in vitro štúdia

14:00–15:00**B11/234 vyhlášení nejlepších prací a zakončení konference prezenční formou (Jurajda)**

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

Sekce teoretických a preklinických oborů

Development of microfluidic platform for screening drug candidates against Alzheimer's disease

Česnek Jan^{1,2}, Legrand Anthony^{1,3}, Song Chao⁴, Kunka Antonín¹, Havlásek Martin¹, deMello Andrew⁴, Damborský Jiří^{1,3}, Stavrakis Stavros⁴, Prokop Zbyněk^{1,3}

¹Loschmidt Laboratories, Department of Experimental Biology and RECETOX, Faculty of Science, Masaryk University

²Faculty of Medicine, Masaryk University

³International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital

⁴Institute for Chemical and Bioengineering, Department of Chemistry and Applied Biosciences, ETH Zürich

Nowadays, dementia afflicts approximately 50 million people all over the world, two thirds of them with Alzheimer's disease (AD). A major factor behind this disease is a self-aggregating, membrane-permeating peptide: amyloid beta 42 (A β 42). Although perturbing the aggregation process of A β 42 is a promising concept for drug development, we lack a robust, time- and cost-effective method to monitor A β 42's aggregation and membrane permeation activities in vitro, delineate its oligomerization mechanism, and screen for candidate drugs. Here, we are developing a microfluidic platform to perform high-throughput monitoring of A β 42 aggregation in a native-like membrane environment.

A β 42 was heterologously expressed in E. Coli BL21-DE3 cells and purified by anion exchange and size exclusion chromatography. Fibril formation kinetics were measured using the fluorescent dye Thioflavin T (ThT), and membrane toxicity was monitored by leakage assay using Giant Unilamellar lipid Vesicles (GUVs) loaded with 8-Hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonic acid (HPTS). GUV lipid composition will mimic the composition of a neuron plasma membrane's outer leaflet. Several PDMS microfluidic chips were fabricated: (1) to create GUVs by double emulsion (water – octanol – water); (2) to separate octanol from the GUVs; (3) to encapsulate GUVs together with A β 42, its known protein partners (e.g. ApoE), and/or candidate drugs (e.g. tramiprosate, a promising drug currently undergoing phase III clinical trials, and candidates from in silico screening), in oil droplets; and (4) to trap the droplets for fluorescence monitoring and imaging.

Several factors affecting A β 42 aggregation kinetics and pore formation were measured using conventional methods (i.e., micropipette mixing and monitoring with a plate reader). This

data matched with literature and can serve as a gold standard for the development of our high-throughput microfluidic platform. We optimized chip fabrication, surface modification of microchannels and GUV generation, to obtain stable, high-quality, homogenous GUVs with specific lipid compositions to mimic neuronal cell plasma membranes. These GUVs were successfully encapsulated in oil droplets, paving the way for future droplet manipulation (e.g., trapping in a microfluidic chip) and fluorescence imaging.

In conclusion, we developed a microfluidic system to generate, encapsulate, trap and image GUVs. The technology is currently being used to perform a detailed, combinatorial analysis of A β 42's aggregation and membrane permeation activities, as a function of lipids, protein partners and potent drugs. The outlook of this project is the *in silico* and *in vitro* (on-chip) identification of new A β 42 aggregation inhibitors, to reveal potent drug candidates against AD.

The authors would like to express their thanks for financial support to the European Regional Development Fund – Project INBIO (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008451).

Fibrin selective alteplase with improved thrombolysis and inhibition resistance engineered by rational design

Slonková Veronika^{1,2}, Toul Martin^{1,3}, Mičan Jan^{1,3}, Marek Martin^{1,3}, Bednář David^{1,3}, Mikulík Robert^{2,3}, Vítěček Jan^{3,4}, Thalerová Sandra^{3,4}, Scheer Petr^{3,5}, Hložková Jana^{3,5}, Prokop Zbyněk^{1,3}, Damborský Jiří^{1,3}

¹Loschmidt Laboratories, Department of Experimental Biology and RECETOX, Faculty of Science, Masaryk University

²Faculty of Medicine, Masaryk University

³International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital

⁴Institute of Biophysics of the Czech Academy of Sciences

⁵Masaryk University, Department of Pharmacology and Toxicology

Cardiovascular diseases are the leading cause of all deaths worldwide, with stroke being the second most common cardiovascular disease. Since 1996, the only FDA-approved drug for the treatment of stroke remains alteplase. However, alteplase still has many limitations, including limited ability to achieve complete recanalization, risk of intracranial hemorrhage, short half-life, and neurotoxicity.

We implemented a comprehensive multidisciplinary workflow to develop an improved thrombolytic with increased safety and efficiency. We employed a rational protein engineering approach and computational design. The designs comprised alteplases with mutations suppressing the side effects, reconstructed ancestral alteplases, and database-mined sequences related to alteplase or a vampire bat thrombolytic desmoteplase. These candidates were biochemically characterized for the following properties: (i) enzymatic activity; (ii) stimulation by fibrinogen

and fibrin; (iii) selectivity; (iv) fibrin affinity; (v) inhibition resistance (vi) clot penetration (vii) biological half-life.

One of the candidates, denoted as Alt04, showed fascinating properties. The improvements included (i) remarkable stimulation by fibrin, (ii) 1,000-times improved selectivity towards fibrin clots, (iii) five times increased inhibition resistance, and (iv) improved clot penetrability by decreased fibrin affinity. Subsequent testing of blood clots lysis and recanalization in vitro and in vivo in rat models confirmed retained thrombolytic activity, while simultaneously improving useful properties of Alt04 compared to the wild-type alteplase.

Collectively, our results provide a new modified drug candidate with a promising therapeutic potential of becoming a safer and more effective thrombolytic.

The authors would like to express their thanks for financial support to the European Regional Development Fund – Project INBIO (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008451). Computational resources were supplied by the project „e-Infrastruktura CZ“ (e-INFRA CZ LM2018140) supported by the ELIXIR-CZ project (LM2018131).

Lékařská genetika – prekoncepční vyšetřovací projekt

Brázdil Dominik¹, Valášková Iveta²

¹Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

²Ústav lékařské genetiky a genomiky, Dětská nemocnice Brno

Prekoncepční screening přenašečů je definován jako detekce statusu přenašečů recesivních onemocnění u dvojic nebo osob, které nemají a priori zvýšené riziko na základě osobní nebo rodinné historie, že budou přenašeči. Cílem screeningu přenašečů je identifikovat páry, u kterých existuje zvýšené riziko postižení dítěte, a usnadnit tak informované rozhodnutí o reprodukci. V předchozích dekádách byl screening přenašečů obvykle prováděn pro jednu nebo několik relativně běžných recesivních poruch spojených s významnou morbiditou, sníženou délkou života a často kvůli vyšší frekvenci přenašečů v určité populaci u některých onemocnění. Nové technologie genetického testování umožňují rozšíření screeningu více chorob, genů nebo sekvenčních variant.

Byl vytvořen seznam genů a variant, které jsou testovány a interpretovány, tedy strategie testování a vykazování variant, která je optimální pro maximalizaci klinické citlivosti, ekonomické efektivity a informativnosti výsledků screeningu při minimalizaci kontraproduktivních efektů. Jsou pečlivě zváženy charakteristiky testovaných chorob a samotný rozsah prekoncepčního screeningového programu. Prekoncepční screening pomocí masivně paralelního sekvenování s využitím panelu analyzovaných genů provedený v rámci tohoto projektu umožňuje zpřesnění populačně specifické frekvence variant v medicínsky relevantních genech. Tento test nahradil různé laboratorní metody, které jsou používány pro prekoncepční testování pacientů,

a slučuje je do jednoho laboratorního vyšetření. Mým úkolem je zhodnocení klinické relevance nalezených variant a jejich interpretace.

V rámci projektu bylo analyzováno 6 koncipujících párů. Byly u nich nalezeny patologické varianty. Ty byly klinicky interpretovány. Byla hodnocena kompatibilita u těchto 6 párů.

Využití masivně paralelního sekvenování substituovalo různé laboratorní postupy aplikované pro prekoncepční screening a umožňuje jejich sjednocení.

Rád bych poděkoval a vyjádřil svou vděčnost své školitelce RNDr. Ivetě Valáškové, Ph.D. za její ochotu, vstřícnost a čas, který mi věnovala. Díky ní se mohu na tomto projektu podílet.

Vliv stimulace nervus vagus na imunomodulaci u laboratorního potkana

Žembová Klára¹

¹Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Sepse a její léčba je předmětem zájmu mnoha studií. Některé studie se sepsi snaží řešit pomocí imunomodulace cestou stimulace nervus vagus. Nyní plánovaný experiment navazuje na předchozí studii, která prokázala, že efekt stimulace nervus vagus není v případě plně rozvinutého zánětu efektivní. Tato studie obsahovala i pilotní experimenty, v rámci kterých se ukázalo, že by stimulace nervus vagus mohla být účinná k potlačení zánětu o nižší intenzitě. V rámci nyní plánovaného experimentu hodláme ověřit imunomodulační působení přímé stimulace na mírnou sepsi, která bude navozena u laboratorních potkanů podáním nízké dávky bakteriálního lipopolysacharidu. V současné době je zvládnutý model experimentu a plánuje se přechod na samotný experiment.

Jako modelový organismus jsme použili samce laboratorního potkana ve variantě Sprague-Dawley s hmotností 235–365 gramů.

Pro experiment byli potkani anestetizováni pomocí isofluranu, následně byli zaintubováni kanylou a napojeni na umělou plicní ventilaci. Pro anestezii byl použit isofluran ve směsi kyslíku a medicínského vzduchu v poměru 30 % / 70 %. Iniciálně byla použita 5% koncentrace isofluranu, následně byla kontrakce snížena na 3 %.

Následovalo rozstříhnutí kůže mezi bradovým výběžkem a manubrium sterni. Následně byla odhalena svalová vrstva. V první fázi experimentu bude podán lipopolysacharid v množství 0,2 mg/kg. Svalovou vrstvu jsme preparovali tupou preparací pomocí mikrochirurgických pinzet pod kontrolou chirurgického mikroskopu. Tato preparace má za úkol zpřístupnit nervus vagus. Preparací se dostaneme do trigonum caroticum, kde se nervus vagus nachází. Nervus vagus zde probíhá podélně podél arteria carotis communis. Pomocí preparace je potřeba tyto dva útvary od sebe oddělit bez toho, aniž by došlo k jejich poškození. Vypreparovaný nerv

je následně zavěšen na dvě hákovité bipolární elektrody, pomocí kterých bude probíhat přímá stimulace. Na vypreparování nervus vagus je vyhrazeno 15 minut. Po dokončení nácviku preparace nervu byla rána uzavřena pomocí pokračujícího stehu. Nácvik modelu experimentu je ukončen podáním terminální anestezie o koncentraci 5 % isofluranu. Ve experimentu budou v tuto chvíli ještě odebírány vzorky krve pro určení hodnot markerů zánětu.

V této chvíli máme naučené experimentální postupy – podání anestezie laboratornímu potkanovi, intubace a následné připojení na umělou plicní ventilaci. Zvládnutou máme i preparaci nervus vagus za asistence chirurgického mikroskopu ve stanoveném patnácti minutovém čase a také správné vyvěšení nervus vagus na hákové bipolární elektrody. V této fázi bude následně možné provést přímou stimulaci nervus vagus. Zároveň jsme zvládli ukončení experimentu. Ukončení experimentu bude provedeno pomocí uzavření operační rány pokračujícím stehem a následně bude podána terminální anestezie.

Zvládnutí operačního modelu je zásadní k provedení experimentů. V tuto chvíli se dojde k dořešení posledních technických detailů týkajících se experimentů a k naučení se podávání lipopolysacharidů a měření EKG. Posléze proběhnou samotná experimentální měření.

Data získaná z experimentálních měření budou vyhodnocena a dojde k rozhodnutí, zda má přímá stimulace nervus vagus při nízkých hodnotách lipopolysacharidů pozitivní imunomodulační efekt nebo jestli byl jev pozorovaný v pilotní studii způsobem pouze malým množstvím měření. Pozitivní výsledek by naznačoval možné využití stimulace nervus vagus k potlačení rozvoje zánětu v samotném počátku při vědomí skutečnosti, že na plně rozvinutý zánět již stimulace nervus vagus efekt nemá.

Ráda bych poděkovala mému školiteli MUDr. Kamilu Ďurišovi, Ph.D. za jeho pomoc při výzkumu, odborné rady, předání teoretických i praktických znalostí a podporu při výzkumu. Dále bych chtěla poděkovat mému kolegovi Josefu Antesovi za spolupráci na modelu experimentu a za pomoc v průběhu nácviku. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat MUDr. Karlu Mácovi, Ph.D. za zprostředkování tohoto výzkumu.

Štúdium stresovej odpovede nádorovej bunky

Szabó Zoltán^{1,2}

¹Masarykova univerzita

²Regionální centrum aplikované molekulární onkologie

Udržovanie proteínovej homeostázy aktiváciou stresovej odpovede umožňuje nádorovej bunke kompenzovať stres spôsobený genetickou nestabilitou a nadmernou proteosyntézou. Stresová odpoveď – Heat shock response (HSR) je umožnená traskripčným faktorom HSF1 a ním exprimovanými molekulárnymi chaperonmi. Závislosť nádorových buniek na HSF1 a chaperonoch, ich činí terapeutickými cieľmi.

Zo známych mikrotubulárnych inhibítorov sa v protinádorovej liečbe osvedčili len vinca alkaloidy a taxany. Tieto inhibítory stabilizujú mikrotubuly, prirodzene dynamické štruktúry, a tým ich agregujú v bunke.

Cieľom tejto práce je ukázať, či mikrotubulárnymi inhibítormi vyvolaný stres vedie k aktivácii HSF1, a či táto odpoveď má vplyv na prežívanie nádorových buniek.

Experimenty sa uskutočňovali na geneticky modifikovaných tkanivových kultúrach ľudského nemalobunkového karcinómu pľúc línie H1299.

Na sledovanie dynamiky bunkového cyklu bol použitý fluorescenčný senzor PIP-FUCCI so stálou expresiou. Tieto bunky boli využité aj k určeniu miery špecifickej toxicity daných látok.

Experimenty prebehli ošetrením bunkových línií koncentračnou radou vincristinu, paclitaxelu, kolcemidu, nocodazolu a AUY ako pozitívnej kontroly.

Na hodnotenie významu stresovej odpovede mikrotubulárnych inhibítorov boli použité bunky s inaktivovanými génmi pre HSF1 a HSF2. Toxicita látok aj ich účinok na bunkový cyklus boli pozorované technikou snímania buniek a analýzy obrazu v reálnom čase.

Aktivácia HSF1 po pôsobení mikrotubulárnych inhibítorov bola detekovaná pomocou fluorescenčnej mikroskopie a natívnej gélovej elektroforézy. Pomocou real time PCR sa zhodnotila génová expresia sprostredkovaná HSF1. Overenie prebehlo aj pomocou izolácie proteínov z bunecnej kultúry a následnou kvantifikáciou HSF1, Hsp70, Hsp90 pomocou Western blotu.

Vinca alkaloidy a taxany, na bunkových kultúrach s fluorescenčne značeným HSF1, vyvolávajú aktiváciu HSF1, ktorú sme pozorovali ako Nuclear stress bodies a potvrdili menovanými metódami. Stresová odpoveď spustená HSF1 vedie k zvýšeniu expresie molekulárnych chaperonov Hsp70, Hsp90 a iných. Antiagregačný efekt chaperonov, ktoré prispievajú k skladaniu a nadobúdaniu správnej konformácie proteínov, chráni bunky pred proteotoxickým stresom.

Toxicita vinca alkaloidov a taxanov bola významne vyššia v bunkách s knock-out HSF1 a HSF2. Koreluje to s faktom, že tieto bunky možnosť spustenia popisovaného HSR nemajú.

Podobne boli otestované aj mikrotubulárne inhibítory (kolcemid a nocodazol) vedúce k depolymerizácii mikrotubúl. Toxicita na kultúrach so značeným HSF1 a bez HSF1, HSF2 bola porovnateľná. S tým korelujú aj dáta získané ostatnými metódami. Tieto inhibítory zjavne nevyvolávajú proteotoxický ani iný druh stresu vedúci k aktivácii HSR.

Vinca alkaloidy a taxany, na rozdiel od iných mikrotubulárnych inhibítorov, vyvolávajú proteotoxický stres vedúci k aktivácii HSF1 a expresii molekulárnych chaperonov ako Hsp70 a Hsp90. Toxicita zmiených tubulínových inhibítorov závisí na schopnosti buniek aktivovať HSF1, a tým spustiť proces stresovej odpovede. Tento fakt načrtáva možnosť v budúcnosti použiť zároveň inhibítory dráhy HSR a vinca alkaloidy, prípadne taxany, k potenciácii protinádorového efektu liečby. Vhodných kandidátov na ovplyvnenie dráhy HSR je zatiaľ málo, ale ostáva len dúfať, že sa táto situácia čoskoro zmení. Schopnosť zasiahnuť do fylogeneticky

konzervovanej a významnej dráhy HSR by mohla znamenať výrazný pokrok v liečbe mnohých, nielen nádorových ochorení.

Najväčšie poďakovanie patrí môjmu školiteľovi MUDr. Petrovi Müllerovi PhD. za jeho mentor-skú prácu. Ďakujem tiež všetkým pracovníkom RECAMO. Na záver by som chcel poďakovať aj pracovníkom LF MUNI, ktorí sa podieľajú na programe P-pool.

Varianta Y4734C-RyR2 asociovaná s idiopatickou fibrilácií komor a její dopad na elektrickú aktivitu pacient-spezifických kardiomyocytů

Hohl Adam¹, Zelenák Štefan², Švecová Olga¹, Bébarová Markéta¹

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

²Ústav experimentální fyziologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

Ryanodinové kanály typu 2 (RyR2), nacházející se v membráně sarkoplazmatického retikula, jsou klíčovým proteinem vazby excitace s kontrakcí u kardiomyocytů. Mutace v genu RyR2 jsou obvykle podkladem tzv. katecholaminergní polymorfní komorové tachykardie (CPVT), onemocnění charakterizovaného fyziologickým klidovým EKG a vznikem polymorfní či bidirekční komorové tachykardie během fyzické zátěže. Mutace v genu RyR2 mohou být asociované i s tzv. idiopatickou fibrilací komor (VF), tj. VF u pacienta bez strukturálních i funkčních změn v srdci. V rámci této pilotní studie jsme se zabývali vlivem mutace Y4734C-RyR2 na elektrickou aktivitu kardiomyocytů derivovaných z lidských indukovaných pluripotentních buněk (hiPSC) pacienta s idiopatickou VF.

Měření probíhala za teploty 37 °C technikou multielectrode array (MEA 60 – 6 well 200/30 iR, Multichannel Systems) na pacient-spezifických diferencovaných srdečních buňkách. Konkrétně jsme využili 3 klonů s mutací Y4734C-RyR2 (C11, C14 a C17), u kterých jsem z pořízeného záznamu vyhodnocoval délku cyklu (CL z angl. cycle length), jako vzdálenost mezi dvěma po sobě následujícími depolarizačními signály, která je analogická intervalu RR na EKG a jejíž převrácená hodnota udává frekvenci spontánních výbojů měřených buněk. Rovněž jsem odečítal tzv. field potential duration (FPD), který poskytuje podobnou informaci jako interval QT na EKG. Vše jsme porovnávali s nepříbuznou kontrolní hiPSC kulturou (klon M67). Měření vždy začínalo v kontrolním Tyrodově roztoku (v mM: NaCl 140, KCl 5, MgCl₂ 1, CaCl₂ 1,8, NaH₂PO₄ 1, HEPES 5, glukóza 10; pH 7,4 nastaveno pomocí NaOH) a posléze byly testované buňky vystaveny působení 1 μM isoprenalinu s cílem imitovat in vitro podobný stav, k jakému dochází při fyzické zátěži. Analýza měla 2 hlavní cíle. V první řadě srovnat CL a FPD u pacient-spezifických klonů Y4734C-RyR2 a nepříbuzných kontrolních buněk za kontrolních podmínek (tj. v Tyrodově roztoku). Následně byly srovnávány změny po aplikaci 1 μM isoprenalinu. Normální distribuce dat byla ověřena pomocí Shapiro-Wilk testu. Ověření signifikance

pozorovaných rozdílů bylo provedeno s využitím nepárového t-testu nebo one-way ANOVA testu s Bonferroniho post-testem.

Analýza srovnání nepříbuzné kontrolní skupiny kardiomyocytů (M67) a klonů s mutací Y4734C-RyR2 v Tyrodově roztoku poukazuje na snížení hodnoty CL a v některých případech i FPD u kardiomyocytů s mutací Y4734C-RyR2. CL, která byla u kontrolních buněk v průměru $1,62 \pm 0,07$ s ($n = 26$), se snížila na $0,78 \pm 0,03$, $1,25 \pm 0,16$ a $0,99 \pm 0,07$ s u CI1, CI4, resp. CI7 s mutací Y4734C-RyR2 ($P < 0,001$, $P > 0,05$, resp. $P < 0,001$; $n = 5, 9$, resp. 14). U FPD byla průměrná hodnota v kontrolních podmínkách $0,548 \pm 0,108$, $0,435 \pm 0,029$ a $0,518 \pm 0,024$ s u CI1, CI4, resp. CI7 s mutací Y4734C-RyR2; $P > 0,05$ u všech; $n = 5, 9$, resp. 14). Po přidání $1 \mu\text{M}$ isoprenalinu se dle očekávání CL napříč měřenými vzorky buněk nesignifikantně zkrátila např. z $1,62 \pm 0,07$ s ($n = 26$) na $1,47 \pm 0,07$ s ($n = 24$) u kontrolního klonu M67 a z $0,99 \pm 0,07$ s ($n = 14$) na $0,84 \pm 0,05$ s ($n = 12$) u CI7 s mutací Y4734C ($P > 0,05$ v obou případech). U FPD nedošlo u kontrolní linie M67 k žádné změně po aplikaci $1 \mu\text{M}$ isoprenalinu, u CI1 a CI4 mutovaných hiPSC jsme zaznamenali nesignifikantní zvýšení FPD, zatímco u CI7 došlo k mírnému, signifikantnímu snížení FPD z $0,518 \pm 0,024$ s na $0,453 \pm 0,015$ s ($P < 0,05$ $n = 14$, resp. 12).

Pilotní data ukázala tendenci pacient-specifických kardiomyocytů s mutací Y4734C-RyR2 k rychlejší frekvenci spontánních výbojů u většiny testovaných klonů. Naopak nebyla nalezena významná změna FPD a rovněž nebyly pozorovány významné změny elektrické aktivity všech testovaných souborů během b-adrenergní stimulace isoprenalinem. Pokusy prozatím neprokázaly jasnou proarytmogenní aktivitu pacient-specifických kardiomyocytů, což není vzhledem k obvykle fyziologické elektrické aktivitě pacienta s idiopatickou VF překvapivé (fyziologické EKG v klidu a po zátěži). Kromě doplnění dalších měření pro dosažení vhodné velikosti jednotlivých souborů se budeme zabývat zejména hledáním podmínek, které by mohly vést u našeho pacienta k iniciaci VF.

Podpořeno z projektu č. NU22-02-00348 poskytnutého Ministerstvem zdravotnictví ČR a z projektu č. MUNI/A/1133/2021 specifického vysokoškolského výzkumu, který poskytlo Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

Mesdopetam: challenging antipsychotics effects of a novel psychomotor stabilizer

Školiaková Katarína¹, Salholm Kristoffer¹

¹Umeå Universtität

Psychosis occurs as either a constant or a transient symptom of different neurological disorders, e.g., Parkinson's disease (PD). Understanding and treatment of psychosis have developed rapidly in recent decades, but the development of pharmacological approaches to treat this phenomenon remains an important task to tackle. Current antipsychotic drugs mainly affect the dopamine system of the brain and, in particular, the dopamine D2 receptor (D2R). Use of these drugs often leads to the aggravation of motor symptoms associated with PD. The need

for both psychosis and dyskinesia management in PD has led to the development of drugs preferentially targeting the dopamine D3 receptor (D3R), with relatively lower affinity for D2R.

Prepulse inhibition (PPI) of the startle response can provide an operational index of sensorimotor gating disruption (i.e., a reduction of PPI) under psychosis-like conditions, such as in animals treated with NMDA receptor blockers. We used this behavioural paradigm to explore the antipsychotic-like effect of IRL-790 (mesdopetam), a new D3R-preferring drug from a family of so-called psychomotor stabilizers.

We found IRL-790 to significantly counteract PPI deficits in rats treated with the psychotomimetic NMDA receptor blocker MK-801 independently to prepulse amplitude.

Our findings suggest that mesdopetam displays antipsychotic-like effects in the PPI paradigm.

I would like to express my special appreciation and thanks to my advisor Kristoffer Salholm (Assistant professor at Department of Integrative Medical Biology IMB), Umeå University) for his kind and patient and supportive guidance.

Efekt aminofylinu na elektrickou aktivitu kardiomyocytů derivovaných z lidských indukovaných pluripotentních buněk

Žák Ondřej¹, Zelenák Štefan², Švecová Olga¹, Bébarová Markéta¹

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

Aminofylin (směs teofylinu a etylendiaminu) je látkou využívanou v terapii respiračních onemocnění, konkrétně k potlačení dušnosti vyvolané chronickou obstrukční plicní nemocí či astmatem. Víme, že teofylin, a tedy i aminofylin působí neselektivní inhibicí adenosinových receptorů a fosfodiesteráz, což může vysvětlit vznik vedlejších kardiovaskulárních účinků těchto látek. Jak se zdá, na indukci arytmií u pacientů léčených teofylinem/aminofylinem se však může podílet i jejich vliv na srdeční iontové proudy, který již byl u některých proudů prokázán. V této práci jsme se zaměřili na studium vlivu aminofylinu v klinicky relevantních koncentracích na elektrickou aktivitu kardiomyocytů derivovaných z lidských indukovaných pluripotentních buněk.

Měření byla provedena metodou multielectrode array (MEA) na hiPSC-derivovaných kardiomyocytech při teplotě 37 °C. Připravené kardiomyocyty vykazovaly minimální elektrickou aktivitu v kulturačním médiu, a proto měření probíhala v tzv. Tyrodově roztoku (v mM: NaCl 140, KCl 5, MgCl₂ 1, CaCl₂ 1,8, NaH₂PO₄ 1, HEPES 5, glukóza 10; pH 7,4 nastaveno pomocí NaOH). Po nasnímání kontrolního záznamu byla postupně zvyšována koncentrace aminofylinu v měřicí komůrce (30 μM, 100 μM, 300 μM a 1 mM) a následně byl proveden výplach základním Tyrodovým roztokem. Takovýmto způsobem bylo získáno celkem šest záznamů.

Vyhodnocena byla jednak frekvence spontánních výbojů těchto buněk a rovněž tzv. field potential duration (FPD), který je přibližnou analogií intervalu QT na elektrokardiogramu; všechna hodnocení proběhla v ustáleném stavu, konkrétně během poslední minuty každé aplikace. Zjištěné hodnoty FPD byly navíc korigovány na aktuální frekvenci výbojů pomocí běžných korekčních rovnic (Bazett, Fridericia) a všechna získaná data byla následně statisticky zpracována.

Získané záznamy elektrické aktivity hiPSC-derivovaných kardiomyocytů vykazují pravidelné střídání velmi rychlých depolarizačních a pomalejších repolarizačních komplexů připomínající klasický elektrokardiografický záznam. Kontrolní hodnoty frekvence a FPD byly $1,68 \pm 0,27$ Hz, resp. $0,407 \pm 0,061$ s. Ani u jednoho z těchto parametrů nedošlo k signifikantním změnám při působení aminofylinu v rozmezí koncentrací $30 \mu\text{M}$ a 1 mM ($P > 0,05$). Poměrně velká a statisticky signifikantní změna frekvence výbojů nastala při vymývání aminofylinu základním Tyrodovým roztokem; původ tohoto jevu je nejasný. Hodnoty FPD korigované na frekvenci výbojů byly mírně nižší než nekorigované hodnoty FPD, ale rovněž jsme u nich nezaznamenaly signifikantní změny při aplikaci aminofylinu. Lze zde pozorovat jen zkrácení po vymytí aminofylinu, což je ale jen artefakt vznikající v důsledku výše zmíněného významného navýšení frekvence výbojů u této skupiny dat.

Získaná data nepotvrdila jakýkoli významný vliv klinicky relevantních koncentrací aminofylinu na základní parametry popisující elektrickou aktivitu hiPSC-derivovaných kardiomyocytů. Zůstává otázkou, zda absence změn svědčí pro absenci přímého účinku aminofylinu na srdeční buněčnou elektrofyziologii. Vzhledem ke značné nezralosti dostupných hiPSC-derivovaných kardiomyocytů (spontánní elektrická aktivita, odlišná exprese srdečních iontových kanálů) se jedná o sice atraktivní, ale také problematický model. Tato nezralost může modifikovat odpověď při aplikaci farmak. Bude tedy zřejmě nezbytné ověřit získané výsledky u lidských či zvířecích dospělých kardiomyocytů, ať už na enzymaticky izolovaných kardiomyocytech či na myokardiálních řezech.

Podpořeno z projektu č. MUNI/A/1133/2021 specifického vysokoškolského výzkumu, který poskytl Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

Vliv časně sociální izolace na dobutaminem indukovanou tachykardii u samců a samic laboratorního potkana

Rafčíková Julie¹, Nádeníček Jaroslav¹, Nováková Marie¹, Stračina Tibor¹

¹Laboratoř experimentální kardiologie, Fyziologický ústav LF MU

Absence sociálních vztahů je asociována se zvýšeným rizikem morbidity a mortality, a to do stejné míry jako například konzumace alkoholu anebo občasné kouření. Sociální izolace jako taková je dnes již známým zdrojem chronického stresu a řadí se také k rizikovým faktorům vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Časná sociální izolace navíc ovlivňuje vyžívání centrálního nervového systému, a proto může mít vliv na projevy chování i na řízení mnohých autonomních funkcí organismu. Cílem této studie bylo zjistit, zda časná sociální izolace u potkanů ovlivní reakci jejich kardiovaskulárního systému na sympatickou stimulaci a zda v této reakci existují mezipohlavní rozdíly.

Do studie bylo zařazeno 12 samců a 12 samic potkana kmene Wistar ve věku 3 týdnů, rozdělených do dvou skupin: izolovaně ustájení jedinci (n = 6 samců, n = 6 samic) umístění v chovných nádobách samostatně a bez přímého zrakového kontaktu s okolními zvířaty; kontrolní skupina (n = 6 samců, n = 6 samic) tvořena jedinci ustájenými v sociálních skupinách. V ustájení byla zvířata ponechána 13 týdnů. Během pokusu bylo pomocí standardizovaných behaviorálních testů hodnocena lokomoce a anxiální chování. Po 13 týdnech byla zvířata uvedena do celkové anestezie směsí ketaminu a xylasinu (i.p.) a byl proveden dobutaminový test. Dobutamin (0,2 mg/ml, i.v.) byl podáván infuzní pumpou do jugulární žíly ve dvou dávkách D1 (6 ml/h, 2 min) a D2 (12 ml/h, 2 min), následovaných vždy fází zotavení (2 min). Podávání dobutaminu předcházela fáze stabilizace (4 min). Elektrická aktivita srdce byla registrována v jednom bipolárním svodu. Během dobutaminového testu byla pomocí rektální sondy kontinuálně měřena tělesná teplota. Po ukončení testu byla zvířata usmrcena a byly odebrány vzorky srdeční tkáně pro stanovení exprese vybraných genů. Získaná data byla analyzována off-line. Proběhla automatická analýza EKG s manuální korekcí R kmitů. Byla stanovena srdeční frekvence a hodnoceny poruchy srdečního rytmu: počet supraventrikulárních a komorových extrasystol v jednotlivých fázích a klasifikace závažnosti arytmií. Výsledky jsou prezentovány jako průměr \pm SD. Jako signifikantní bylo hodnoceno $p < 0,05$.

Hmotnost potkanů se u obou pohlaví zásadně neodlišovala od standardní růstové křivky pro daný kmen. Zajímavý se jeví trend patrný u obou pohlaví v posledních týdnech ustájení: sociálně izolovaní jedinci vykazují o něco vyšší průměrnou hmotnost než skupinově ustájená zvířata (ve 12. týdnu ustájení u samců $513,2 \pm 25,1$ g vs. $497,0 \pm 34,8$ g; u samic $314,0 \pm 18,9$ g vs. $291,8 \pm 9,7$). Tyto rozdíly ale nejsou statisticky významné. Signifikantní rozdíl mezi pohlavími byl nalezen v tělesné teplotě. Průměrná rektální teplota na počátku dobutaminového testu byla u samic signifikantně vyšší než u samců. Tento trend byl zachován po celou dobu měření. Při porovnání srdeční frekvence na konci stabilizace byla patrná tendence k vyšší frekvenci u samic než u samců. Tento rozdíl ale nebyl statisticky významný. Rovněž nebyl nalezen signifikantní rozdíl v srdeční frekvenci mezi pohlavími ani v dalších fázích dobutaminového testu. U obou pohlaví byla pozorována očekávaná reakce srdeční frekvence na podávání

dobutaminu – na dávce závislý nárůst frekvence srdce během aplikace a její pokles během fáze zotavení. Při porovnání srdeční frekvence sociálně izolovaných a skupinově ustájených zvířat bylo zjištěno, že sociální izolace nemá povšechný vliv na reaktivitu srdeční frekvence v dobutaminovém testu (two-way ANOVA). Počet a závažnost arytmií se rovněž mezi pohlavími ani mezi experimentálními skupinami nelišily.

Časná sociální izolace u laboratorního potkana nevykázala žádný statisticky významný vliv na srdeční frekvenci a výskyt arytmií v dobutaminovém testu. Teplota těla, která byla signifikantně nižší u samců, však mohla do jisté míry ovlivnit elektrickou aktivitu srdce. U izolovaně ustájených samců i samic byl pozorován trend k vyšší hmotnosti, což je možné vysvětlit zvýšeným příjmem potravy či sníženou fyzickou aktivitou způsobenou sociální izolací.

Ráda bych poděkovala svému školiteli MUDr. Tiborovi Stračinovi, Ph.D. za vedení a cenné rady. Dále chci poděkovat všem členům teamu Laboratoře experimentální kardiologie z Fyziologického ústavu LF MU za spolupráci. Práce byla podpořena projektem Specifického výzkumu MU „Od buňky k medicíně“ MUNI/A/1133/2021 a studentským vědeckým programem P-Pool.

Indukce ferroptózy a její evaluace pomocí biochemických a optických zobrazovacích metod

Váňa František¹, Balvan Jan¹, Kratochvílová Monika¹, Navrátil Jiří¹, Hánělová Klára¹

¹Masarykova univerzita

Ferroptóza je jedna z modalit regulované nekrotické buněčné smrti charakterizovaná poprvé roku 2012 v práci Dixona a jeho týmu. Je hlavním typem buněčné smrti v odpovědi na nezvladatelný oxidační stres v důsledku lipoperoxidace polynenasycených mastných kyselin (dále jen PUFA). V důsledku lipoperoxidace dochází k ruptuře membrány a vylití intracelulárního obsahu, které může vést k rozvoji zánětu. Na rovnováhu redoxního prostředí buňky má význam řada aspektů čítající jak různé antioxidační systémy (obzvláště glutathionperoxidasa GPX4), tak i metabolismus přechodných kovů prostřednictvím Fentonovy reakce. Z terapeutického hlediska je proto důležité vědět, které látky dokážou vyvolat ferroptózu.

K experimentům byly použity buňky z linie PC-3, kultivované v RPMI s ATB (pen/strep) a PBS. Ferroptóza byla indukovaná pomocí hematitu (dále jen HEM), FeCl₂ a ZnCl₂. Pozitivní kontrola byla provedena pomocí RSL3, inhibitoru GPX4. Stanovení CD50 bylo provedeno pomocí MTT.

Buňky byly následně analyzovány pomocí fluorescenční mikroskopie, kterou byla sledována peroxidace mastných kyselin po působení použitých látek (Image IT lipid peroxidation kit). Buňky byly poté zobrazeny pomocí holografické mikroskopie, která nám umožňuje v reálném čase zaznamenat dynamiku buněčné hmoty a jejího rozložení. Následně jsme pak pomocí western blotu sledovali negativní a pozitivní markery autofagie p62, LC3 a dále pak GPX4, aktin a štěpený PARP3.

Fluorescenční mikroskopie i western bloty ve všech případech prokázaly intenzivně probíhající lipoperoxidaci a zvýšenou aktivitu GPX4. Holografická mikroskopie zachytila nekrotický fenotyp umírajících buněk a bude podrobena strojovému učení ve snaze umožnit nezávislé rozeznání feroptózy pomocí této zobrazovací metody. Na western blotu byla patrná zvýšená hladina p62 u hematitu, ZnCl₂, FeCl₂.

Pomocí hematitu a chloridových solí zinku a železa lze pravděpodobně vyvolat feroptózu doprovázenou autofagií.

Chtěl bych poděkovat svým školitelům doktoru Janu Balvanovi a doktorce Monice Kratochvílové za skvělé vedení a možnost se podílet na tomto projektu.

Práce proběhla za podpory grantu MUNI/11/05202109/2021

Uvolňování monomerů a derivátů bisfenolu A z materiálů používaných v ortodonticii

Zbožek Petr¹

¹Masarykova univerzita

V posledních letech se v zubním lékařství věnuje stále větší pozornost bisfenolu A (BPA). Výjimkou není ani ortodontická oblast. BPA se používá jako prekurzor při výrobě monomerů obsažených v ortodontických adhezivech, zámcích a dlahách. Navzdory rostoucí popularitě těchto materiálů existují obavy ohledně nežádoucích účinků na zdraví, které souvisejí s jejich používáním. Materiály jsou v ústech vystavovány degradačním faktorům, což může způsobit uvolňování monomerů. Touto problematikou se zabývá značné množství výzkumů. Cílem tohoto systematického přehledu bylo přinést přehled aktuálních poznatků z mezinárodní odborné literatury týkajících se uvolňování monomerů a derivátů BPA z materiálů používaných v ortodonticii.

V rámci práce bylo provedeno vyhledávání v zahraničních vědeckých databázích prostřednictvím předem zvolených klíčových slov. Nejhojněji používaným zdrojem byla databáze PubMed. Další informace byly doplněny pomocí databází Web of Science a Scopus. Aby bylo zajištěno, že práce bude obsahovat co nejaktuálnější poznatky, bylo vyhledávání omezeno na články NE starší než 15 let (tedy publikace od roku 2007 do roku 2022). Studie, které byly nalezeny v rámci zmíněných kritérií, byly následně protříděny. Celkově bylo nalezeno 853 studií. Po odstranění duplikátů, prostudování abstraktů a celých textů splnilo kritéria pro zařazení do analýzy pouze 27 studií. Data ze všech relevantních studií zabývajících se ortodontickými materiály byla shromážděna a analyzována. Zkoumáno bylo zejména množství uvolněných látek za odlišných podmínek i v různých časových intervalech a jejich potenciální zdravotní rizika.

Nejčastěji analyzovanou sloučeninou, která byla detekována z měřených vzorků, je bisfenol A. Další monomery a jiné složky ortodontických materiálů byly v publikacích zaznamenány méně často. Ve studiích zahrnutých v této práci existovaly rozdíly v postupu při měření, což přineslo odchylky ve výsledcích. Tyto rozdíly učinily kvantitativní srovnání výsledků studií neproveditelné. Jednotlivé studie se shodují v tom, že nejvyšší množství složek se z materiálů uvolňuje během prvních několika hodin až dní, protože materiály v klinických podmínkách nelze nikdy vytvrdit v plném rozsahu. V důsledku toho se mohou nezpolymerizované látky vyluhovat. Studie prokázaly, že správným výběrem, použitím a povrchovým ošetřením materiálu lze riziko inerciálního uvolňování monomerů snížit na minimum. K množství složek vyluhovaných z důvodu nedostatečného vytvrzení se později přidávají molekuly, které se uvolňují působením degradačních faktorů v dutině ústní. To může z dlouhodobého hlediska vést k znásobení negativních účinků na zdraví. Výzkumy bylo dokázáno, že při dostatečných koncentracích uvolňovaných monomerů a BPA v těle mají tyto látky zejména alergické, cytotoxické a mutagenní účinky.

Navzdory rozdílům mezi jednotlivými studiemi kvalitativní analýza ukázala určité korelace. Většina studií prokázala přítomnost BPA uvolňovaného ortodontickými materiály. Pozorované koncentrace však zůstávají nižší, než je tolerovatelný denní příjem, což ale nevylučuje možná zdravotní rizika. Materiály používané v ortodoncii tedy mohou představovat celkovou zátěž pro pacienta na základě orálně přijímaného BPA. Nejvyšší hladiny BPA byly detekovány krátce po aplikaci vzorku kvůli uvolňování nevytvrzených složek materiálu. Nežádoucí vystavení BPA je možné eliminovat dodržováním zásad práce s materiály a pomocí ošetřování materiálů po aplikaci. Pro klinickou praxi bylo navrženo několik doporučení pro práci s potenciálně rizikovými materiály.

Obrovský dík patří v první řadě vedoucí mé studentské práce doc. MUDr. Pavlíně Černochové, Ph.D. za vedení, vstřícnost a cenné rady, které mi velmi pomohly tuto práci zkompletovat. Dále bych rád poděkoval MDDr. Nele Sarteur Ph.D. za pomoc s výběrem tématu a sběrem materiálů. Nakonec mnohokrát děkuji také své rodině a přítelkyni za neustálou podporu i trpělivost.

Sekce chirurgických oborů

Bilateral prophylactic mastectomy with immediate breast reconstruction in BRCA+ patients: Retrospective evaluation of early and late complications

Bohušová Michaela^{1,2}, Feiková Kateřina^{1,2}

¹Klinika plastické a estetické chirurgie - Společná pracoviště s Fakultní nemocnicí u sv. Anny v Brně - Lékařská fakulta

²Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Prophylactic mastectomy with immediate breast reconstruction is an effective risk reducing procedure for women with BRCA 1 and 2 mutations, who are more endangered by developing breast carcinoma. Due to its significantly invasive character, this procedure represents a wide spectrum of associated risks for the patient. The aim of this study was to evaluate the number of early and late complications and also the number of total failures of the reconstruction after bilateral prophylactic mastectomy (BPM) with immediate breast reconstruction in BRCA positive patients.

From 1/1990 to 11/2019 113 women with mutations in the BRCA1 and BRCA2 underwent BPM with immediate breast reconstruction at the Department of Plastic and Aesthetic Surgery, St. Anne's University Hospital Brno. Relevant data from these patients were selected and retrospectively assessed. Patients were divided into 8 specific groups considering 1) type of mastectomy, when subcutaneous mastectomy (SCM), areola sparing and skin-sparing mastectomy (SSM) were performed; 2) presence of breast ptosis before mastectomy and 3) technique of reconstruction, using either abdominal free flap or breast implants.

Data about surgical complications from medical records about ambulant and hospitalized patients were included in the study and particular complications (for early complications: hematoma, mastectomy flap necrosis, failure of circulation, donor site complications,

for late complications: mastectomy flap necrosis, rotation of the implant, rupture of the implant, PIP exchange, capsule contracture, partial necrosis of the flap) were assessed and statistically analyzed along with separate analysis of incidence of complete reconstruction failure (total flap necrosis or infection of implant).

Among 113 patients included in the study, the total number of complicated patients related to 113 reconstructions performed were 41. The most significant difference in the number of early and late complications was found to be dependent on the technique of reconstruction.

Number of early complications was significantly higher in groups with abdominal flaps (17%) compared with the groups with implant reconstruction (13%). Contrary, in the case of late complications, the incidence of complications in patients with breast implants was 45% but only 8% in patients with abdominal flap.

Considering breast ptosis correction, no significant difference was detected neither for abdominal flap nor breast implants.

The total abdominal flap failures were demonstrated in 2 % of all patients and 6 % of the patients experienced failure of the reconstruction within the groups with implant reconstruction.

With respect to mastectomy technique, SSM seemed to be associated with slightly higher success when 74 % patients experienced no complication on average. In contrast, only 51% of patients with SCM did not develop any complication.

If reconstruction is performed using abdominal flap, patients are more endangered with early complications. The risk of late complications is rare. In case of reconstruction using breast implants, a higher chance of developing late complications is expected, while early complications are not so frequent. Additionally, the total number of complications is higher among patients with breast implants reconstruction. There are no significant differences referring to more complications aligned with mastopexy. The results may be distorted due to the limited number of patients in some specific groups and also due to PIP implants removal, therefore further research is suggested.

Warmest thanks to our supervisors Assoc. Prof. Streit and Dr. Berkeš whose kind guidance and precious advice enabled this project to be realized.

Porovnání výtěžnosti CT angiografie a digitální subtrakční angiografie při detekci mozkových aneurysmat

Pur Jiří¹

¹Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Chirurgické (clipping) i endovaskulární (coiling) ošetření mozkových aneurysmat se opírá o zobrazovací metody, které detekují lokalizaci a charakter výdutě v tepenné cirkulaci mozku. Využití nachází CT angiografie (CT AG), digitální subtrakční angiografie (DSA) a MR angiografie (MRA). Nejpřesnější a anatomicky nejdůležitější je DSA, která je však spojena s větší radiační zátěží pro pacienta a je invazivním chirurgickým zákrokem. CT AG vyžaduje jedinou invazi – intravenózní aplikaci kontrastní látky, je rychlejší a u akutních stavů přinese rychlou a většinou dostatečnou informaci o přítomnosti eventuálního zdroje krvácení. Cílem bylo zjistit, jestli je nutné provádět DSA k detekci zdroje krvácení u pacientů s negativním CT AG nálezem.

Ke studii byl využit soubor pacientů, u kterých bylo diagnostikováno subarachnoidální krvácení s nebo bez průkazu zdroje, pacientů s incidentálním mozkovým aneurysmatem, případně jinými cévními onemocněními mozku, kteří byli hospitalizováni na Neurochirurgické klinice Fakultní nemocnice u sv. Anny v období od 1.1.2015 do 12.9.2022. Celkem bylo zařazeno 195 pacientů. Byl zaznamenán typ aneurysmatu, případně jiné krvácející patologie (např. arteriovenózní malformace, karotidokavernózní píštěl atd.), načasování a výsledek iniciálních vyšetření CT AG a DSA. Byla hodnocena i vyšetření CT AG z jiných pracovišť, veškeré DSA byly provedeny v našem centru.

Získaná data byla retrospektivně hodnocena. Byla stanovena míra shody výsledků CT AG a DSA a hodnocena efektivita následně provedeného DSA.

V souboru nebyl nalezen žádný pacient, u kterého by DSA odhalila novou patologii nezachycenou na CT AG. V několika případech DSA potvrdilo správně vyslovenou suspekci dle CT AG, případně blíže určilo charakter cévní patologie.

Příkladem je pacient po SAK, u kterého bylo při vyšetření CT AG diagnostikováno fusiformní aneurysma na vrcholu arteria basilaris. Při verifikaci tohoto výsledku na DSA byla nalezena aneurysmata dvě, jedno na pravé arteria cerebri posterior a druhé na arteria basilaris při odstupu arteria cerebelli anterior inferior. Chybnost výsledku CT AG je diskutabilní vzhledem k faktu, že obě aneurysmata se nacházela ve vertebrobasilárním povodí, a tedy v těsné blízkosti arteria basilaris, na které bylo detekováno aneurysma při iniciálním CT AG. Pravděpodobně tak bylo CT AG chybně interpretováno kvůli snížené přehlednosti snímku a zdánlivému splynutí struktur aneurysmat na obraze.

Získané výsledky naznačují, že použití DSA po zcela negativním vyšetření CT AG k detekci eventuálních nedetekovaných lézí má limitovaný přínos. Zátěž pro pacienta i ekonomická zátěž pro systém posouvá poměr cost/benefit výrazně v neprospěch provádění DSA v těchto případech.

Nezastupitelnou roli si DSA ponechává v případech suspektních nálezů na CT AG i při nutnosti bližší anatomické investigace před zvažovanou intervencí.

Individualizovaný přístup s racionální indikací DSA pouze v nutných případech by mohl znamenat odlehčení systému i úsporu prostředků. Je nutno připomenout, že nezanedbatelný vliv na výsledek vyšetření může mít i zkušenost radiologa, výkonnost přístroje a kvalita provedeného vyšetření (kvalita vytvořené 3D rekonstrukce).

Tímto bych chtěl poděkovat prof. MUDr. Radimu Jančálkovi, Ph.D., MBA za vedení této práce a umožnění získání potřebných dat od pacientů. Chci poděkovat MUDr. Haně Valekové za cenné rady a pomoc při zpracování této studie stejně jako za její obrovskou ochotu a lidský přístup. Můj dík patří také MUDr. Martinu Barákovi a MUDr. Matúšovi Nosálovi za jejich vstřícnost při odběru dat.

Evaluace nového dotazníku pro vyhodnocování kvality života v hodnocení úspěšnosti operační reanimace obličeje

Dubovská Nikola², Macek Jan², Bayezid Cadir Can², Streit Libor¹

¹Klinika plastické a estetické chirurgie Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

²Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Mimika hraje klíčovou roli v sociálních interakcích a nonverbální komunikaci. Nemocní s obličejovou obrnou jsou o tuto formu komunikace částečně připraveni, což má negativní dopad na jejich kvalitu života (QOL). Zvýšení QOL je jedním z hlavních kritérií hodnocení úspěšnosti reanimačních operací obličeje, je proto nutné mít validní nástroje pro její hodnocení.

Facial palsy disability questionnaire (FPD-Q) je novým nástrojem vytvořeným na KPECH FNUSA a LF MU.

Cílem této studie byla evaluace dotazníku a vyhodnocení jeho citlivosti pomocí korelace s klinickými škálami (HB skóre, eFACE).

Od roku 2015 do roku 2021 bylo do studie zařazeno 34 pacientů, kteří podstoupili reanimační operaci. Pacienti byli požádáni o vyplnění dotazníku před operací a následně v rámci pooperačních kontrol, nejméně 3 měsíce po operaci.

Pacienti byli rozděleni do tří skupin dle typu operace: temporální myoplastika (n = 22), přenos volné svalové jednotky m. gracilis (n = 7) a reinervací lícního nervu prostřednictvím dvou cross-face nervových štěpů a n. V-> n. VII neurotizace (n = 5).

Dotazník byl upravován na základě zpětné vazby kliniků a pacientů. Dotazník má 4 části: FPD-EYE, zabývající se funkčními problémy spojenými s okem. FPD-FACE je zaměřena na problémy úst a mimických svalů, včetně maskování. FPD-SYNK zjišťuje rozsah a lokaci synkinéz a FPD-SOCIAL se zabývá pacientovým vnímáním sama sebe a sociálním začleněním.

Výstupem dotazníku je numerické skóre vypočtené jednak pro každou jednotlivou sekci následujícím způsobem: $FPD-S-FACE = 100 - \text{průměrná hodnota zodpovězených otázek v dané sekci} \times 25$, a dále vypočtené jako celkové skóre: $FPD-S = 100 - (\text{průměrná hodnota všech zodpovězených otázek} - 1) \times 25$. Skóre je vyjádřeno v procentech, kde 100 % odpovídá neporušené funkci obličeje.

Současně v obdobných intervalech (před i po operaci) byla u každého pacienta pořízena standardizovaná foto a video dokumentace, na základě, které byla závažnost obrny hodnocena pomocí House Brackmannova skóre a skórovacího systému eFACE. Hodnocení bylo prováděno simultánně trojicí vyškolených pracovníků.

Všech 34 pacientů, vyplnilo pre i post operační FPD-Q a zároveň byly pořízeny jejich fotografie a videa pro hodnocení pomocí HB skóre a nástroje eFACE. Postoperační vyplnění proběhlo

po 17 (12–22) měsících (pacienti po dvojité reinervaci), 9 (4–14) měsících (transferu volného gracilisu) a 18 (5–31) měsících (pacienti po myoplastice). 64,7 % souboru tvořily ženy a 35,3 % muži. Věkové rozmezí pacientů bylo 32–66 let.

Hlavní metodou hodnocení byla korelace pre- a post operační změny hodnot FPD-Q a klinických, semi-objektivních, hodnotících metod eFACE a HB skóre. Získaná data ukazují, že dotazník byl schopen zachytit rozdíl pre a post operačně (průměrné zlepšení o 31,2 % (18,3–44.1 %) což koreluje se zlepšením klinických ukazatelů eFACE (průměrné zlepšení 0 31,6 % (16,8–46,4 %) a HB (průměrný pokles o 1,5 (0,9–2,1 bodu).

V tabulce 1 jsou uvedeny rozdíly hodnot (FPD-S, HB a eFACE) ve smyslu zlepšení před a po operaci. Signifikantnost změny byla vypočítána pomocí Wilcoxoova párového testu.

	All patients (N = 34)			
	Průměr	StatOd	Medián	P
HB	1,5	0,6	1,0	< 0,001
eFACE*	31.6	14.8	31,0	< 0,001
FPD-S**	3,2	12,9	29,4	< 0,001

Tabulka 1: Změna vybraných parametrů u všech pacientů před a po operaci (*eFACE statické skóre, **FPD-S korigováno na počet zodpovězených otázek)

Naše studie ukázala, že FPD-Q je schopen citlivě rozeznat změnu QOL před a po zákroku, a to ve všech skupinách pacientů. Změna hodnoty FPD-S navíc korelovala se změnami hodnot eFACE a HB skóre.

Dotazník tohoto druhu je v češtině jedinečný a poskytuje univerzální hodnotící nástroj v porovnání s cizojazyčnými QOL dotazníky (FACE, FDI). Dotazník současně umožňuje vyhodnocení jednotlivých oblastí QOL, které korespondují s cíli individualizované chirurgické léčby (okuloplastické operace, obnova postavení a pohybu tváří, apod).

FPD-Q je komplexní a přesný nástroj pro měření QOL u nemocných s obrnou lícního nervu, reflektuje cíle individualizované chirurgické léčby a má šanci stát se jedním ze standardních nástrojů hodnocení úspěšnosti léčby.

Rád bych poděkoval vedoucímu práce panu doc. MUDr. Liboru Streitovi, Ph.D. za možnost pracovat na tomto projektu, stejně jako za všechny cenné rady a odbornou pomoc. Stejně tak děkuji svým spolupracovníkům MUDr. Nikole Dubovské a MUDr. Can Bayezid za trpělivost a spolupráci.

Využití modalit MRI pro indikaci a techniku provedení operace mozkových tumorů

Urban Adam¹, Neuman Eduard¹

¹Masarykova univerzita

MRI je v současnosti standardní zobrazovací metodou využívanou v neuroonkologii. Kromě diagnostického využití se však nyní stále více uplatňuje i využívání tzv. funkčních modalit MRI (fMR), které nabízejí širokou škálu způsobů zobrazení aktivity mozku, prostorové zobrazení nádorů či vizualizaci průběhu nervových drah (traktografii) a jejich rozdělení. Rozsáhlejší soubor anatomicko-fyziologických informací umožňuje přesnější a účinnější plánování operací mozkových nádorů. Cílem práce je zhodnocení funkčního výsledku operační léčby primárních mozkových nádorů s využitím možností komplexních předoperačních modalit MR.

Pacientům byly před operací kromě standardního MRI provedeny taktéž fMR a sMR, které byly následně využity pro vyhotovení traktografie. Získané obrazy byly poté využity preoperačně k plánování operace a lokalizaci ohrožených struktur a přilehlých nervových drah s důrazem na centra řeči a motoriky. Během operace samotné pak sloužily jako podklad pro navádění pomocí neuronavigace. Navazující součástí bude zhodnocení neurologického stavu pacienta s delším časovým odstupem od provedení operace a následné porovnání s neurologickým stavem před zákrokem.

MRI modalita přinesly značný užitek v přípravě operačních výkonů. Díky nim bylo možné lépe připravit operační plán a zároveň snížit riziko poškození center, která mají zásadní dopad jednak na kvalitu života pacienta a jednak na samotnou účinnost primární léčby. V návaznosti na očekávané zlepšení kvality života, zejména komunikačních a motorických schopností, bude nutné posoudit aktuální stavy pacientů s dostatečným odstupem.

Využití MRI modalit v neuroonkologii má pozitivní vliv na zdárný průběh operačního výkonu a celého léčebného procesu. Zároveň poskytuje operatérům širší možnosti při plánování zákroků a ochraně center pacientova mozku.

Rád bych poděkoval MUDr. Ing. Eduardu Neumanovi, Ph.D. za odborné vedení projektu a prof. MUDr. Martinu Smrčkovi, Ph.D., MBA z NCHK FNB za záštitu projektu.

Mechanické vlastnosti jednotlivých struktur m. flexor pollicis longus

Šácha Tom¹, Menoušek Jan², Dvořák Zdeněk², Návrat Tomáš³, Vosynek Petr²

¹Masarykova univerzita

²Fakultní nemocnice U svaté Anny v Brně

³Vysoké učení technické v Brně

Palec je beze sporu nejdůležitější prst ruky zajišťující úchopovou funkci. Právě na této funkci se spolu s dalšími svaly z velké části podílí m. flexor pollicis longus. Při uzavřené traumatické avulzi dlouhého flexoru palce se šlacha trhá nejčastěji při úponu šlachy na kost, přičemž vytržení ze svalu je velmi vzácné, díky podporné funkci okolních tkání. Takové avulze vznikají nejčastěji při držení předmětů (např. dres soupeře) v distálních článcích prstů. Naopak při sevření celého palce (nejčastěji ve výrobních procesech, kdy je palec sevřen mezi dva rotující válce), dochází k traumatické amputaci palce nejčastěji ve svalu flexorového aparátu.

Při anatomické pitvě na Anatomickém ústavu LF MU bylo odebráno celkově 19 vzorků z čerstvě rozmražených kadáverů. Ve 13 vzorcích se jednalo o kompletní vzorky flexorového aparátu musculus flexor pollicis longus (šlacha s úponem v distálním článku palce na distální straně horní končetiny a se svalovým úponem na kosti vřetenní na proximální straně horní končetiny). Další 6 vzorků mělo poškozený svalový úpon ke kosti vřetenní, ale distální úpon k distálnímu článku palce byl intaktní. Flexory byly na Anatomickém Ústavu LF MU ihned po vyjmutí z kadáverů jednotlivě označeny štítky s identifikačním číslem a do přiloženého protokolu zapsány hodnoty průměru šlach. Poté byly poskytnuty výzkumné laboratoři Ústavu mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky, FSI VUT v Brně, kde následovalo před provedením zkoušky pevnosti přeměření. Naměřené hodnoty byly navzájem porovnány a v případě většího rozdílu než 1 mm došlo k přeměření vzorků. Následovalo zjišťování tahové křivky a mezi pevnosti flexorového aparátu palce na trhacím stroji.

V rámci první části tahových zkoušek se podařilo vyhodnotit všech 13 kompletních flexorových aparátů, kdy u všech došlo k roztržení ve svalu, přičemž průměrná síla potřebná k roztržení svalu byla 32,9 N. Dále byly z těchto vzorků odstraněny zbytky svalů a šlachy zkráceny tak, aby další zkoušky tahu nebyly ovlivněny případným předešlým poškozením šlacho-svalového přechodu. Následně jsme otestovali 19 nekompletních vzorků (bez svalové a kostěné složky). Z čehož se podařilo vyhodnotit celkem 16 vzorků, kdy v 50 % došlo k roztržení v místě úponu šlachy v upevňovacích čelistech při průměrné síle 359,5 N. V dalších 50 % došlo k roztržení v místě úponu šlachy na kost distálního článku palce, přičemž průměrná síla činila 262,4 N. Těchto 8 vzorků bylo následně zkráceno v distální části šlachy tak, že vzniklo 8 vzorků čisté šlachové složky aparátu, které následně opět podstoupily tahovou zkoušku, při které se trhaly při průměrné síle 313,6 N.

Z následujících dat vyplývá, že jednoznačně nejslabší složkou kompletního flexorového aparátu palce ruky je sval. Dále bylo zjištěno, že druhým predilekčním místem ruptury aparátu je šlacha v místě úponu na kost v distálním článku. Jako nejsilnější složka aparátu vzešla šlacha samotná. Tato zjištění pomáhají ozřejmit fakt, že přesto, že nejslabší složkou flexorového aparátu palce je sval, při úchopovém mechanismu úrazu, kdy jsou primárně zaklesnuty

distální články prstů (např. držení za dres), nejčastěji vzniká ruptura v místě úponu šlachy na kost. A to díky vazivovým obalům a strukturám obklopujícím dlouhý flexor palce v předloktí. Naopak při mechanismu úrazu, kdy je palec zachycen a následně amputován, vzniká ruptura nejčastěji ve svalu.

Děkuji doc. MUDr. Markovi Joukalovi, Ph.D., za poskytnutí kadáverů k výzkumu a doc. Ing. Tomášovi Návratovi, Ph.D., za provedení mechanické části studie a její vyhodnocení. Práce byla podpořena GSV 2021 č. FNDN_IP21IPV16AXA_PN, 01699800.

Sekce interních oborů

Parametry pulzové vlny u pacientů s bikuspidální chlopní – pilotní studie

Bartko Lubomír¹, Budinskaya Ksenia¹, Nováková Zuzana¹, Žáková Daniela²

¹Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity

²Klinika kardiovaskulární a transplantační chirurgie, LF MU a CKTCH

Bikuspidální aortální chlopeň (BAV) patří mezi nejčastější vrozené abnormality srdce. Prevalence v populaci je udávána v rozmezí 0,5–2 %. BAV je tak významným rizikovým faktorem pro vznik patologie v oblasti aortální chlopně a ascendentní aorty. Nejčastěji se u těchto pacientů rozvíjí aortální regurgitace nebo stenóza, dilatace kořene aorty či ascendentní aorty, nebo nemocní prodělají epizodu infekční endokarditidy.

Cílem naší studie bylo zjistit vliv BAV a patologií s ní spojených na cévní systém, a to na základě analýzy parametrů karotido-femorální pulzové vlny pomocí aplanační tonometrie.

Ve spolupráci s Centrem kardiovaskulární a transplantační chirurgie jsme vyšetřili soubor 27 pacientů s diagnózou BAV (průměrný věk \pm směrodatná odchylka: 42 \pm 11 let; index tělesné hmotnosti BMI: 27,1 \pm 5,2 kg/m²).

Dle patologie jsme soubor pacientů rozdělili do třech skupin: BAV s regurgitací nebo s regurgitací spojenou s dilatací kořene aorty (skupina BR+k: 9 pacientů, věk 38 \pm 11 let), BAV s regurgitací a dilatací ascendentní aorty (skupina BRa: 10 pacientů, 43 \pm 12 let) a BAV s regurgitací, dilatací kořene i ascendentní aorty (skupina BRka: 8 pacientů, 42 \pm 9 let). U všech pacientů byla provedena analýza karotido-femorální pulzové vlny. Přístrojem Sphygmocor (AtCor Medical, Australia) byly stanoveny následující parametry: systolický tlak (STK), diastolický tlak (DTK), rychlost pulzové vlny (PWV), augmentační tlak (AP), augmentační index standardizovaný na tepovou frekvenci 75/min (Alx75). Pro statistickou analýzu byl použit program STATISTICA, v. 13.0 (StatSoft, Inc.), a data byla hodnocena pomocí neparametrického Man-Whitneyho testu.

Našli jsme následující hodnoty základních parametrů pulzové vlny u jednotlivých skupin:

BR+k: STK 137 \pm 11 mmHg, DTK 79 \pm 12 mmHg, PWV 4,7 \pm 1,2 m/s, AP 10,2 \pm 6,3 mmHg, Alx75 18,6 \pm 13,6; BRa: STK 129 \pm 25 mmHg, DTK 78 \pm 9 mmHg, PWV 3,8 \pm 1,1 m/s, AP 15,6 \pm 11,0 mmHg, Alx75 27,9 \pm 13,2. BRka: STK 130 \pm 15 mmHg, DTK 74 \pm 7 mmHg, PWV 4,7 \pm 0,8 m/s, AP 8,8 \pm 5,5 mmHg, Alx75 11,5 \pm 15,3. Statisticky významné rozdíly jsme zjistili u PWV (BR+k vs. BRa i BRa vs. BRka; $p < 0,01$); AP (BRa vs. BRka; $p < 0,05$); Alx75 (BR+k vs. BRa; $p < 0,05$ a BRa vs. BRka; $p < 0,01$).

Při porovnávání parametrů pulzové vlny (karotido-femorální) u jednotlivých skupin pacientů s BAV se v našem pilotním souboru vyčlenila skupina s problematikou dilatace ascendentní části aorty, která vykazuje statisticky významně odlišné hodnoty od skupin ostatních. Vzhledem k určitým limitacím našeho souboru, lze jen spekulovat, zda by to mělo negativní dopad na prognózu pacientů této skupiny.

Poděkování patří paní dr. Daniele Žákové a jejímu kolektivu za spolupráci a všem pacientům, kteří se studie účastnili.

Poděkování také patří studentům medicíny Tomáši Fordinálovi a Františku Garncarzovi za pomoc v začátcích studie a v prvotním zpracování anamnestických dat.

Studie byla podpořena Specifickým výzkumem MUNI/A/1133/2021.

EEG microstates in dementia with Lewy bodies: 1 year follow up

Ondráček David^{1,2}, Lamoš Martin¹, Morávková Ivona^{1,3}, Rektorová Irena^{1,3,4}

¹Neuroscience Programme, Central European Institute of Technology, CEITEC, Masaryk University, Brno, Czech Republic

²Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

³First Department of Neurology, St. Anne's University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

⁴International Clinical Research Center, ICRC, St. Anne's University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Biomarkers for mild cognitive impairment with Lewy bodies (MCI-LB) were proposed, but the evidence is limited. EEG microstates (MS) represent transient, quasi-stable patterns of EEG. Results of our previous work revealed that probable MCI-LB subjects as compared to healthy controls (HC) had increased occurrence of all MS. In this one year follow up (FU) study we aimed at addressing changes of MS dynamics with the disease progression in a slightly larger population of drug naïve probable MCI-LB. Source imaging of MS was additionally performed.

Altogether, 24 probable MCI-LB (16 female, age 66.1 ±5.1 years) and 24 HC (12 female, age 63.5 ±4.4 years) were assessed at baseline and at 1 year FU using validated scales and questionnaires. All subjects underwent 5 minutes of eyes-closed resting-state evaluation with 256-channel scalp EEG at baseline and at FU. T1 MRI was performed at baseline. The microstates analysis was based on the clustering of EEG topographies, using a k-means approach. Mean MS occurrence (MS-occ) was used as our temporal parameter of interest and correlated with behavioural outcomes. Temporal segments of scalp EEG labelled by particular microstate were reconstructed into the source space using LAURA inversion.

MCI-LB subjects did not progress with regard to cognitive, motor and other behavioural symptoms, none of the subjects converted into DLB. Five typically occurring MS were identified, reflecting visual (MS1), cingulo-opercular (MS2), fronto-temporal (MS3), default mode (MS4), and frontoparietal control (MS5) brain networks. At baseline, mean occurrence of all MS was significantly increased in MCI-LB as compared to HC. At FU visit, results were either less significant or lost significance as compared to HC. Significant correlations were found between baseline MS1-occ and dominant α frequency and variability ($R=-0,47$ and $0,63$, respectively), MS3-occ and geriatric depression scale ($R=0,48$), MS4-occ and excessive sleep scale ($R=0,58$), while these correlations were less pronounced or insignificant at FU visit. Eight and six out of 24 MCI-LB subjects revealed significant drop in MS1-occ and MS2-occ, respectively.

We were able to identify 5 MSs that reflect major brain networks. Overall, the MS occurrence was increased in MCI-LB at baseline which was correlated with core and supportive symptoms of the disease. The MS occurrence tended to drop after 1 year FU which may reflect decreases in network hyperconnectivity with prodromal DLB progression. This was particularly prominent in the visual and cingulo-opercular networks.

Chtěl bych poděkovat všem pacientům a kontrolním skupinám, které se studie účastnily. Především však své školitelce Prof. MUDr. Ireně Rektorové, Ph.D., dále Ing. Martinu Lamošovi, Ph.D. a MUDr. Ivoně Morávkové za pomoc, kterou mi poskytli.

Funkční mozkové mikrostavy při léčbě pacientů s depresí

Horáček Michal¹, Bartečková Eliška^{1,2}, Hořínková Jana^{1,2}, Křenek Pavel^{1,2}, Dambroská Alena^{1,2,3}

¹Psychiatrická klinika, Lékařská Fakulta Masarykovy Univerzity, Brno, Česká republika

²Psychiatrická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Brno, Česká republika

³CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

Afektivní poruchy patří mezi časté a velmi závažné psychiatrické poruchy. Výsledky nedávných neurovizuálních studií dokládají narušení aktivity klidových mozkových sítí u deprese. Aktivitu mozkových sítí je možné studovat pomocí analýzy funkčních mozkových mikrostavů. Mikrostav je asi 100 ms trvajícím globálním stavem mozkové aktivity charakterizovaný stabilní topografií potenciálového rozložení na skalpu. Cílem studie je zjistit, zda má antidepresivní farmakoterapie vliv na změnu aktivity klidových mozkových sítí u pacientů s depresí.

Do studie se zapojilo osm zdravých kontrol a osm pacientů s diagnózou alespoň středně těžké fáze deprese. Tíže deprese byla stanovena pomocí dotazníku Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale (MADRS). Analyzovali jsme pětiminutový záznam klidové mozkové aktivity snímáný pomocí 128-kanálového EEG systému. Data u pacientů byla snímána před stabilizací antidepresivní farmakoterapie (T1), 6 týdnů po prvním měření (T2), 6 měsíců po prvním měření (T3). U zdravých kontrol proběhlo měření jednou. Segmentace a clustrová

analýza topografií byla provedena napříč všemi subjekty a měřeními. Posuzovali jsme trvání a časové pokrytí mikrostavů. Časové pokrytí udává, jaká část celkové délky EEG záznamu (v %) je pokryta daným mikrostavem.

Farmakoterapie vedla alespoň dočasně ke klinickému zlepšení u všech pacientů. Průměrná tíže deprese dle dotazníku MADRS byla v jednotlivých měřeních následující: 27,1 ±7,7; 8,4 ±7,8; 13,5 ±11,5. Bylo identifikováno pět mikrostavů (A-E) vzájemně se lišících potenciálovým rozložením na skalpu. Průměrné trvání mikrostavů u zdravých kontrol: A – 102 ±7 ms; B – 97 ±8 ms; C – 110 ±13 ms; D – 93 ±9 ms, E – 99 ±10 ms. Průměrné trvání mikrostavů u pacientů ve třech časech (T1, T2, T3): A – 99 ±9 ms, 106 ±14 ms, 104 ±19 ms; B – 101 ±9 ms, 103 ±10 ms, 100 ±13 ms; C – 136 ±34 ms, 141 ±38 ms, 133 ±33 ms; D – 96 ±14 ms, 108 ±27 ms, 106 ±35 ms; E – 95 ±8 ms, 96 ±8 ms, 98 ±18 ms. Časové pokrytí mikrostavů u zdravých kontrol: A – 20 ±5 %; B – 18 ±6 %; C – 24 ±5 %; D – 15 ±5 %; E – 19 ±6 %. Časové pokrytí mikrostavů u pacientů ve třech časech (T1, T2, T3): A – 16 ±5 %, 17 ±8 %, 18 ±8 %; B – 16 ±6 %, 14 ±6 %, 14 ±4 %; C – 37 ±12 %, 35 ±12 %, 33 ±9 %; D – 17 ±12 %, 18 ±16 %, 18 ±17 %; E – 13 ±7 %, 12 ±6 %, 15 ±10 %.

Analýzou klidového EEG záznamu jsme identifikovali pět funkčních mozkových mikrostavů (A-E). Všechny svou topografií připomínaly již dříve v literatuře popsané mikrostavu. U mikrostavu C jsme pozorovali vyšší přítomnost (delší trvání i větší časové pokrytí) u pacientů s depresí než u zdravých kontrol, a byla naznačena normalizace těchto parametrů vlivem farmakoterapie. Pro obecnější závěry bude potřeba statistické zpracování na více subjektech a studium těchto změn ve vztahu ke klinickému průběhu a intenzitě farmakoterapie. Analýza mikrostavů se jeví jako slibný nástroj k posouzení vlivu farmakoterapie na dynamiku klidových rozsáhlých mozkových sítí u pacientů s depresí.

Uptake and Effectiveness of Risk-Reducing Strategies in Healthy BRCA1 and BRCA2 Carriers in the Czech Republic

Zimovjanová Martina¹, Bielčíková Zuzana¹, Zimovjanová Anna^{2,3}, Novotný Jan^{1,4}, Rybář Marian⁵, Miškovičová Michaela¹, Vočka Michal¹, Petruželka Luboš¹

¹Department of Oncology, First Faculty of Medicine Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic

²Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic.

³International Clinical Research Center (ICRC), St Anne's University Hospital (FNUSA) Brno, Brno, Czech Republic.

⁴Department of Surgery, Sunderby Hospital, Sweden

⁵Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Kladno, Czech Republic

Healthy women with BRCA1 and BRCA2 gene pathogenic alterations are at higher risk of breast cancer (BC) and ovarian cancer (OC). Healthy BRCA carriers participate in a specific

surveillance program and should consider prophylactic procedures such as risk-reducing mastectomy (RRM) or risk-reducing salpingo-oophorectomy (RRSO). The rate of prophylactic procedure uptake has been changing in past years.

In the retrospective study, we analyzed the rate, longitudinal trends, and effectivity of RRM and RRSO uptake in healthy 496 BRCA carriers from 2000 to 2020 in the Czech Republic, Europe.

The study included 496 healthy female BRCA 1,2 carriers. The median follow-up was 6.8 years. The primary endpoint of our study was to analyze uptake and the effectiveness of surveillance of prophylactic surgeries for female healthy BRCA 1,2 carriers in the Czech Republic. RRM was performed in 163 healthy BRCA carriers (32.9 %, mean age 39.3 y, range 22–61 y). RRSO was performed in 242 healthy BRCA carriers (48.9 %, mean age 43.2 y, range 28–64 y). From 2005 to 2012, 12 % of newly recruited healthy BRCA carriers underwent RRM and 29 % RRSO. From 2013 to 2020, 31 % of newly recruited healthy BRCA carriers underwent RRM and 42 % RRSO. A statistically significant increase in the rate of RRM and RRSO uptake was reported between the periods 2005–2012 and 2013–2020 ($p < 0.001$). During the surveillance, 0.6 % of BRCA carriers with RRM and 15.3 % of BRCA carriers without RRM were diagnosed with BC. 0 % of BRCA carriers with RRSO and 4.3 % of BRCA carriers without RRSO were diagnosed with OC. Statistically significant differences were observed in incidence of BC in between groups without and with RRM (HR 20.18, $p < 0.001$) and in incidence of OC in between groups without and with RRSO ($p < 0.001$).

The authors describe the uptake of the prophylactic procedures (RRM and RRSO) in BRCA carriers from 2000 to 2020 in the Czech Republic. A significant increase in prophylactic procedures were described after 2013 (Angelina Jolie effect, progress in the health care system). The study's results clearly demonstrate the effectiveness of RRM on the incidence of BC and the effectiveness of RRSO on the incidence of OC in healthy BRCA carriers.

I would like to thank all other researchers involved in the study who gave suggestions during the research and the final review process.

CT sizing u pacientů před výkonem TAVI

Garncarz František^{1,2}, Sikora Jiří¹

¹Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie

²Masarykova univerzita, Lékařská fakulta

Aortální stenóza je nejčastější chlopenní vadou dospělosti postihující až 3–5 % osob starších 75 let. V současné době máme k dispozici dvě terapeutické možnosti. Jedná se o chirurgickou náhradu chlopně a o katetrizační implantaci nové chlopně, tzv. TAVI (transcatheter aortic valve implantation), o které pojednává tato práce. Pro proceduru TAVI využíváme několik standardizovaných velikostí chlopní.

Rozhodování o použité velikosti chlopně probíhá na základě CT angiografického vyšetření a následného zhodnocení a měření rozměrů aortálního anulu, kdy nás zajímá zejména jeho perimetr a plocha. Výsledky tohoto měření se u jednotlivých lékařů liší, s variabilitou se můžeme setkat při určení správné roviny aortálního anulu, která prochází dnem Valsalvových sinů, posouzení kalcifikací v měřené oblasti a v neposlední řadě je důležitá také kvalita CT zobrazení, ať už jde o kvalitu náplně ascendentní aorty kontrastní látkou nebo o přítomnost pohybových artefaktů. Tato práce se zabývá srovnáním výsledků měření 5 lékařů a zhodnocení, zda se více shodují v měření plochy anulu, či jeho perimetru a tedy, který parametr je vhodnější pro výběr velikosti chlopně.

Průměrná variabilita na skupině 195 pacientů byla v případě měření perimetru 2,1%, v případě měření plochy aortálního anulu pak 4,2%.

Pro výběr chlopně se jako použitelnější jeví pracovat s naměřenými hodnotami perimetru, které i při méně kvalitnějším CT vyšetření poskytují reprodukcibilnější výsledky.

Chtěl bych poděkovat MUDr. Jiřímu Sikorovi za odborný dozor, umožnění stáže, poskytnutí dat a vedení této práce. Rád bych také poděkoval všem lékařům i nelékařskému personálu katetrizačních sálů CKTCH, se kterým jsem se během stáže setkal, za možnost přímo se výkonů TAVI účastnit a zodpovězení všech dotazů na dané téma.

Role neurodegenerativních procesů ve farmakorezistentní temporální lobární epilepsii

Ševčíková Iveta¹

¹I. neurologická klinika Fakultní nemocnice u sv. Anny a LF MU, Brno

Epilepsie temporálního laloku (TLE) patří mezi jednu z nejméně frekventovaných forem farmakorezistentní epilepsie, velmi často s přidruženou hipokampální sklerózou. Jedná se o závažné onemocnění nejen s ohledem na nepředvídatelné záchvaty, ale též kvůli jejímu dopadu na kognici a psychiku pacientů. V poslední době se ukazuje možná spojitost s proteiny tradičně asociovanými s neurodegenerativními onemocněními jako je například Alzheimerova choroba. Tyto proteiny by mohly být potenciálním cílem v léčbě a novými prognostickými biomarkery TLE.

Resekovaná tkáň temporálního laloku získaná při chirurgické léčbě epilepsie 93 pacientů trpících TLE byla imunohistochemicky analyzována stran výskytu proteinů spojených s procesem neurodegenerace, konkrétně amyloidu β ($A\beta$) a tau proteinu. Stupeň zátěže těmito proteiny byl kvantifikován pomocí modifikovaného Braakova skóre pro analýzu tkáně z temporální lobektomie. Dosažené výsledky byly porovnány s rozsáhlou studií neselektované populace z literatury.

Z 93 analyzovaných vzorků pacientů s TLE byl pozitivní hyperfosforylovaný tau protein u 88 z nich. Ve věkové skupině 11–30 let v době operace (25 pacientů) v porovnání s 85 zdravými pacienty stejné věkové skupiny byla nalezena signifikantně zvýšená zátěž tau patologií ($p < 0.001$). Aβ patologie byla prokázána u 21 z 93 vzorků (23 %).

Naše studie dokazuje, že zátěž tau patologií u mladých pacientů s farmakorezistentní TLE je výrazně větší v porovnání s běžnou populací. Díky tomu se dá usuzovat, že neurodegenerativní procesy hrají u farmakorezistentní epilepsie svou roli. Do budoucna je k verifikaci těchto závěrů třeba rozšíření souboru (jak početně, tak na další studované proteiny) a zahrnutím kontrolní skupiny.

Především bych chtěla poděkovat MUDr. Evě Zatloukalové, která mi je po celou dobu mé spolupráce na studii skvělou mentorkou. Dále také celému týmu, který se na studii podílel, a díky němuž mohla má práce vzniknout.

Diabetes mellitus 1. typu a denzita očnej šošovky

Kalinayová Klaudia¹, Veselý Petr¹

¹Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Práca sa zaoberá problematikou ochorenia diabetes mellitus 1. typu a jeho vplyvom na denzitu očnej šošovky. Hlavné ciele výskumu sú: (1) objektívne odmeranie denzity očnej šošovky na oboch očiach v skúmanej (pacienti s T1DM) a kontrolnej (pacienti bez T1DM) skupine probandov, (2) štatistické spracovanie denzitometrických hodnôt šošovky u pacientov s T1DM a u pacientov bez T1DM, (3) stanovenie štatistickej odchýlky v hodnotách denzity šošovky medzi výskumnými skupinami.

Výskumu sa zúčastnilo celkovo 40 probandov (80 očí), ktorí boli rozdelení do 2 výskumných skupín. Praktická časť práce sa venuje objektívnemu meraniu denzity očnej šošovky pomocou prístroja Pentacam HR Oculus v skúmanej a kontrolnej skupine. Pre následnú štatistickú analýzu boli zaznamenávané aj hodnoty glykovaného hemoglobínu a dĺžka trvania ochorenia. V práci boli stanovené 3 hypotézy.

Probandi s ochorením diabetes mellitus 1. typu majú vyššie hodnoty denzity očnej šošovky v porovnaní s kontrolnými subjektami ($p < 0,001$). Dĺžka trvania ochorenia a hodnota glykovaného hemoglobínu má na denzitu očnej šošovky pozitívny, ale slabý vplyv ($r = 0,2$, $r = 0,19$; $r = 0,15$, $r = 0,07$).

Ochorenie diabetes mellitus 1. typu výrazne vplyva na zvýšenie denzitometrických hodnôt očnej šošovky u pacientov trpiacich týmto ochorením.

Podakovanie patrí predovšetkým školiteľovi mojej diplomovej práce, Mgr. Petrovi Veselému, Dis., Ph.D., za jeho profesionálny prístup a rady.

Korelace mezi refrakčními vadami a migrénou

Koňářiková Veronika¹, Beneš Pavel¹

¹Masarykova Univerzita

Výzkum je zaměřen na problematiku výskytu refrakčních vad a jejich možný vztah na přítomnou bolest hlavy. Ve výzkumu pracuji s klienty, u nichž je přítomna refrakční vada, která bývá špatně nebo vůbec korigována a může takto vyvolávat bolesti hlavy – migrény.

Cílem studie je zjistit, zda používání správné korekce vede ke zmínění a zároveň snížení incidence obtíží. U těchto jedinců byl dále stanoven předpoklad výskytu astigmatismu $\geq 0,5$ D a rovněž nestejný refrakční stav mezi pravým a levým okem tzv. anizometropie $\geq 0,75$ D.

Do studie bylo doposud zapojeno 25 jedinců v průměrném věku 25,8 let. Korekci aktivně používá 21 z celkového počtu a výsledky jsou zpracovány na základě dat u 14 probandů. Je tomu tak vzhledem 3 měsíční adaptace na optickou korekci, kdy až po této době je možno získat objektivní posouzení adekvátního účinku korekce.

Stanovený předpoklad týkající se stanovení odpovídající korekce brýlemi nebo kontaktními čočkami a jejího vlivu na frekvenci a intenzitu migrén z dané skupiny probandů se potvrdil. Incidence migrén poklesla u všech klientů a nastalo zlepšení průměrně o $44,81 \pm 6,38$ %. V případě problematiky intenzity bolesti hlavy došlo ke zmírnění obtíží u 8 pacientů ze 14 (57 %). Pacienti udávali zlepšení o $14,6 \pm 3,75$ %. Druhá část výzkumu je zaměřena na hodnocení refrakční vady. Korekce astigmatismu, který nabývá hodnot větších nebo rovno 0,5 dioptrií je přítomna u 13 klientů (52 %). V neposlední řadě posouzení rozdílu korekce mezi pravým a levým okem, který nabývá hodnot větších nebo rovno 0,75 D je přítomen u 5 jedinců z celkového počtu 25.

Poznatek týkající se vlivu korekce refrakční vady na frekvenci a intenzitu migrén může mít velký dopad na řešení problematiky léčby bolesti, který uplatňují také v ambulancích neurologů. Intenzita bolesti je vždy velmi subjektivní pocit a je zaznamenávána pomocí dotazníku MIDAS. Pacienti většinou přicházejí k optometristovi s tím, že potřebují korekci do dálky nebo na blízko. Až při anamnestickém dotazování se setkáváme s udáváním obtíží včetně častých bolestí hlavy.

Chtěla bych poděkovat doc. Mgr. Pavlovi Benešovi, Ph.D., vedoucímu mé diplomové práce, za jeho vstřícné vedení, spolupráci a cenné informace. Dále bych chtěla poděkovat všem účastníkům dotazníkového šetření, kteří se ho doposud zúčastnili, a tím mi pomohli v empirické části práce.

Sekce doktorandská

A new reporter system for high-throughput identification and validation of eIF4F inhibitors

Smolková Karolína^{1,2}, Valčíková Barbora^{1,2}, Vadovičová Natália^{1,2}, Uldrijan Stjepan^{1,2}

¹Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

²St. Anne's University Hospital, International Clinical Research Center, Brno, Czech Republic

The eIF4F translation initiation complex has a critical role in cancer. The complex enhanced activity was identified as a nexus of drug resistance and a promising therapeutic target in melanoma. However, the spectrum of available eIF4F inhibitors is limited, and none of them is in clinical use. One of the reasons could lie in the relative complexity of techniques used to identify such inhibitors. Here we report a unique cell-based reporter system suitable for the high-throughput identification of novel eIF4F inhibitors in small-molecule compound libraries.

We identified several eIF4F-regulated pathways controlling melanoma cell proliferation in a proteomic screen. Then we used a promoter of one of the eIF4F-controlled genes to build a reporter system, responding to eIF4F inhibition by changes in luciferase expression in a dose-dependent manner. Subsequently, we validated the system in a panel of cancer and non-cancer cell lines, determining the impact of eIF4F inhibition on luciferase activity.

We assessed the performance of the luciferase-based reporter system and confirmed its high sensitivity to eIF4F inhibition. The current state-of-the-art eIF4F inhibitor screening assays, such as the proximity ligation assay (PLA), have several limitations in the high-throughput mode. Our new technique is not only highly specific and suitable for high-throughput screening; it is also less cost-intensive, significantly faster, and does not require expensive fluorescent microscopy/image analysis equipment.

Our new eIF4F activity reporter system is sensitive and suitable for high-throughput drug library screening for novel eIF4F inhibitors. Furthermore, as the translation initiation complex eIF4F appears to be a promising therapeutic target for overcoming drug resistance in melanoma, our approach may help increase melanoma patient survival rates by identifying new treatment options.

This research was supported by the European Regional Development Fund - Project ENOCH (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000868), Masaryk University grants No MUNI/11/ACC/2/2022, MUNI/IGA/1108/2021, and MUNI/A/1418/2021, and project Brno Ph.D. talent.

eIF4F reguluje aktivitu AMPK v maligním melanomu

Vadovičová Natália^{1,2}, Valčíková Barbora^{1,2}, Koždoňová Kateřina^{1,2}, Potěšil David³, Zdráhal Zbyněk³, Uldrijan Stjepan^{1,2}

¹Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

²Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

³CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita

Onkogenní mutace proteinů signální dráhy RAS-RAF-MEK-ERK jsou známými příčinami vzniku maligního melanomu. Inhibitory BRAF/MEK patří mezi nejefektivnější formy terapie, nicméně vůči těmto léčivům se často vyvine rezistence. Jako centrální aktér této rezistence v melanomu byl identifikován komplex eukaryotického iniciačního translačního faktoru eIF4F. Souběžná inhibice BRAF a eIF4F vykazovala synergický efekt při usmrcování nádorových buněk. Z tohoto důvodu jsme se rozhodli charakterizovat vzájemné působení signálních drah ERK a eIF4F v melanomu pomocí proteomického skríningu.

Ve spolupráci s CEITEC proteomics core facility jsme provedli proteomický skrínig na buněčných liniích maligního melanomu s mutacemi v genech BRAF a NRAS. V buněčných liniích A375 (BRAFV600E-mutantní) a MelJuso (NRAS-mutantní) jsme takto sledovali změny po působení inhibitorů eIF4F a MEK. Identifikovali jsme několik regulátorů AMPK jako potenciální cíle eIF4F a ERK, které byly následně validovány pomocí westernového přenosu. Dále jsme pomocí westernového přenosu sledovali hladinu vybraných proteinů v buňkách melanomu po ovlivnění nízkomolekulárními inhibitory eIF4F v kombinaci s umlčením exprese LKB1 a PP2A pomocí siRNA. Pro inhibici PP2A byla použita kyselina okadaová.

Analyzovali jsme změny v buňkách melanomu s mutacemi BRAFV600E a NRAS po inhibici MEK a eIF4F a objevili několik regulátorů AMP-dependentní protein kinázy (AMPK), které by mohly být společným cílem ERK i eIF4F. V následujících experimentech jsme se soustředili na MO25, jakožto součást komplexu aktivujícího AMPK (LKB1-STRAD-MO25), a na PP2A α , fosfatázu inhibující AMPK.

Po inhibici eIF4F jsme pozorovali aktivaci AMPK, která přetrvávala i po snížení exprese LKB1 pomocí RNA interference. Dále jsme potvrdili tuto aktivaci v buňkách melanomu s mutací BRAFV600E, které neexprimují LKB1. Inhibice eIF4F tedy vede k aktivaci AMPK nezávisle na LKB1, která je považována za kanonický aktivátor AMPK.

Další výsledky ukazují, že snížení hladiny PP2A α hraje důležitou roli v aktivaci AMPK, jelikož jak po snížení exprese PP2A α s využitím RNA interference, tak po působení nízkomolekulárního inhibitoru PP2A α , kyseliny okadaové, došlo ke zvýšení aktivity AMPK.

Bylo zjištěno, že dráhy ERK a eIF4F spolupracují na regulaci AMPK a inhibice eIF4F podněcuje nekanonickou aktivaci AMPK nezávislou na LKB1, při které hraje klíčovou roli snížená exprese PP2A.

Dřívější studie popisují negativní zpětnou vazbu mezi ERK a LKB1 v buňkách melanomu s mutací BRAFV600E. ERK a RSK fosforylují LKB1, čímž potlačují její schopnost aktivovat AMPK. Nicméně naše výsledky ukazují důležitou roli nekanonické kontroly AMPK v buňkách melanomu s mutací BRAFV600E, která je zprostředkována eIF4F a PP2A α , a zároveň nezávislá na negativní zpětnovazební regulaci ERK-RSK-LKB1.

Tento projekt vznikl za podpory Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt ENOCH (reg.č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000868) a grantů Masarykovy univerzity MUNI/A/1418/2021 a MUNI/IGA/1113/2021.

A novel Multi-locus Sequence Typing scheme (MLST) identified three *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* strain types in Namatanai, Papua New Guinea, during the WHO-initiated yaws eradication program.

Medappa Monica¹, Pospíšilová Petra¹, Šmajš David¹, John Lucy N^{2,3}, G. Beiras Camila³, Mitjà Oriol⁴

¹Masaryk University

²National Department of Health, Aopi Centre, Port Moresby, Papua New Guinea

³Faculty of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain

⁴STI and Skin NTDs Unit, Department of Infectious Diseases and Fight AIDS and Infectious Diseases Foundation, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain

The etiological agent of yaws, *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* (TPE), causes exudative ulcers largely in the children population of Papua New Guinea (PNG). The WHO-initiated pilot study for yaws eradication was conducted between June, 2018 to December, 2019, and discerned the effects of mass drug administration (MDA) at 1 round of baseline (control arm) followed by subsequent rounds of targeted treatment contrary to three rounds of baseline (experimental arm) followed by subsequent rounds of targeted treatment.

Patient samples originated from Namatanai region of Papua New Guinea. The samples were procured during the WHO-initiated yaws eradication campaign that was held between June 2018 to Dec 2019. A total of 1,081 swab samples were tested.

The whole DNA was extracted using QIAamp DNA mini kit as per the manufacturer's instructions.

Treponema pallidum subsp *pertenue* (TPE) positivity was assessed by PCR amplifying *poIA* (TP0105). Multi-locus sequence typing (MLST) was performed using three typing targets namely TP0548, TP0488, and TP0858. According to whole-genome analyses of TPE strains these three genes displayed sufficient genetic polymorphisms to distinguish between TPE strains. A total of 255 samples were fully typed TPE positives from 1.081 patient samples.

Additionally, macrolide resistance that confers A2058G and A2059G base substitutions in the 23s rRNA gene were detected. Nested PCR was employed for MLST. Sanger sequencing was employed for allelic variant determination.

Fully typed samples included 32% (n = 163) 6.3% (n = 7), 18.8% (n = 35) and 17.9% (n = 50) from round 1 (baseline), round 2 (6 months after MDA), round 3 (12 months after MDA) and round 4 (18 months after MDA), respectively. Sequence-based MLST was performed using TP0548, TP0488, and TP0858. All three typing loci encode outer membrane treponemal proteins.

Based on the allelic variant information derived from each loci, we determined that our clinical isolates comprised of 3 allelic profiles namely J11, T13, and S22. The most predominant strain was J11 followed by S22 and T13.

Three patient samples displayed A2058G mutation in the 23s rRNA gene conferring antibiotic resistance.

The novel MLST scheme was successfully utilized for the WHO-yaws eradication program in PNG to distinguish TPE strains. It assisted in ascertaining low levels of genetic diversity in TPE strains over time. The predominant strain type in both arms and also strain type that showed antibiotic resistance mutation was J11.

Kolaterálna cirkulácia zlepšuje rekanalizáciu pôsobením alteplázy: in vitro štúdia

Kittová Patrícia^{1,2,3}, Thalerová Sandra^{2,3,4}, Vítečková Wünschová Andrea^{2,5}, Vašátková Lucie³, Pešková Michaela^{2,3,4}, Volný Ondřej², Mac Gillavry Danylevska Anna^{2,6}, Víteček Jan^{2,3}, Kubala Lukáš^{2,7}, Mikulík Robert²

¹Biochemický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity

²Mezinárodní centrum klinického výzkumu ve Fakultní nemocnici u sv. Anny

³Biofyzikální ústav Akademie věd ČR

⁴Ústav biochemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity

⁵Anatomický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity

⁶Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity

⁷Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Centrum biomolekulárního a buněčného inženýrství ve Fakultní nemocnici u sv. Anny

Ischemická cievna mozgová príhoda patrí celosvetovo medzi najčastejšie príčiny mortality. Prioritou liečby je rekanalizácia uzatvorenej cievy. Najčastejšou liečbou je intravenózna trombolýza (IVT) alteplázou. Výhodou IVT je veľmi jednoduchá aplikácia, účinnosť alteplázy je však obmedzená. Jedným z nezávislých determinantov klinického výsledku u pacientov je prítomnosť kolaterálnej cirkulácie. Vplyv kolaterál na mieru rekanalizácie nie je dodnes objasnený. Možné hypotézy sú zvýšená trombolýza kvôli retrográdnemu plneniu cievy alebo zmenšenie zhrutnenia trombu kvôli zníženého tlaku cez tromb. Naším cieľom bolo objasnenie

mechanizmu vplyvu kolaterál na zvýšenú rekanalizáciu pomocou (pato)fyziologicky relevantného prietokového in vitro modelu.

Bol zostavený in vitro prietokový model strednej mozgovej s alebo bez prítomnosti kolaterálnej cievy. Model bol zostrojený z priehľadného materiálu, ktorý umožňuje sledovanie priebehu experimentu v reálnom čase. Tento model odráža dôležité anatomické rysy strednej mozgovej tepny, vrátane bifurkácie, ktorá umožnila cirkuláciu média (ľudská plazma) za oklúziou v systéme. Oklúzie bolo dosiahnuté pomocou trombov bohatých na červené krvinky pripravených z plnej ľudskej krvi. Altepláza bola aplikovaná o koncentrácií odpovedajúcej klinicky relevantnej dávke pri liečbe mŕtvice. Rekanalizácia uzatvorenej cievy bola hodnotená meraním času rekanalizácie. Účinok trombolýzy bol stanovený meraním dĺžky trombov a množstvom uvoľnených červených krviniek. Zhutnenie trombu bolo hodnotené obrazovou analýzou.

Prítomnosť kolaterálnych ciev znížila rekanalizačný čas (98 ± 23 min) v porovnaní s modelom bez kolaterálnej cievy (130 ± 35 min). Relevantná redukcia dĺžky trombov a množstvo uvoľnených krviniek bolo zhodné u oboch modelov ($3,8 \pm 14,9\%$ vs $30,3 \pm 13,2\%$; $0,30 \pm 0,07$ vs $0,27 \pm 0,09$). Prítomnosť kolaterálnych ciev znížila tlakový gradient cez tromb a počiatkové zhutnenie trombu o 5%.

Podobne ako u pacientov, prítomnosť kolaterálnej cievy zlepšila rekanalizáciu. Kolaterálna cieva skrátila rekanalizačný čas, znížila zhutnenie trombu, ale nezvýšila trombolýzu. Vplyv kolaterálnej cievy na rekanalizáciu bol pravdepodobne sprostredkovaný pôsobením hemodynamických mechanizmov, konkrétne znížením tlaku cez tromb, čo viedlo k menšiemu zhutneniu a následnému ľahšiemu odstráneniu v dôsledku čiastočnej trombolýzy.

Štúdia bola podporená Európskym fondom pro regionálny rozvoj – projekt INBIO (CZ.02.1.0 1/0.0/0.0/16_026/0008451) a MZ ČR, grant NU21-08-00510. PK bola podporená projektom špecifického výskumu LF MUNI (MUNI/A/1090/2021). ST bola podporená štipendijným programom Brno PhD Talent (financované štatutárnym mestom Brno). JV a AVW získali ďalšiu podporu od MZ ČR, granty NV19-04-00270 a NU22-08-00124.

**66. 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., elektronické vydání, 2022;

ISBN 978-80-280-0163-6

MUNI
MED