

Masarykova univerzita  
Lékařská fakulta

# 60. Studentská vědecká konference



SPOLEK  
MEDIKŮ

Brno 2016

Michal Jurajda (ed.)



## 96 jamek naráz?!

Eppendorf ep*Motion*® 96 – rychlé a přesné zpracování mikroděstiček 96ti kanály najednou.

Eppendorf ep*Motion*® 96 je poloautomatická elektronická pipeta pro přesné pipetování do 96 a 384 jamkových destiček. Bez změn na přístroji, pouze výměnou špiček, lze pipetovat či dávkovat objemy v rozsahu 0,5 až 300  $\mu$ l. Díky intuitivnímu a snadnému ovládání a rychlosti bude ep*Motion*® 96 velkým pomocníkem při zpracování mikroděstiček v laboratoři pro jakéhokoli uživatele.

[www.eppendorf.cz](http://www.eppendorf.cz)

- > Rozsah objemů 0,5 až 300  $\mu$ l bez změn na přístroji
- > Automatické rozpoznání vložených špiček
- > Intuitivní a jednoduchý SW, ovládání na dotykové obrazovce, viditelné všechny parametry určitého úkonu najednou
- > Přednastavené aplikace: pipetování, odsávání, ředění, dávkování, pipetování s následným mícháním pipetováním



**Masarykova univerzita  
Lékařská fakulta**

# **60. Studentská vědecká konference**



**SPOLEK  
MEDIKŮ**

**Brno 2016**

**Michal Jurajda (ed.)**



Organizátoři 60. ročníku SVK si dovolují srdečně přivítat všechny účastníky — přednášející, členy odborných komisí, vedení fakulty a hosty — na letošní jubilejní konferenci konané tradičně pod záštitou děkana lékařské fakulty MU prof. MUDr. Jiřího Mayera, CSc., a organizované Spolkem mediků LF.

V tomto roce se už po šedesáté scházejí studenti lékařské fakulty Masarykovy univerzity, aby prezentovali své odborné práce. Práce, na kterých se podílejí nad rámec svých běžných studijních povinností na ústavech a klinikách. Stejně jako v minulých letech vyjadřuje současné vedení fakulty hlubokou podporu studentským vědeckým iniciativám a poděkování všem teoretickým, laboratorním i klinickým pracovištím lékařské fakulty, která umožňují výzkumnou práci studentů a jejichž akademičtí pracovníci v roli školitelů věnují svůj cenný čas mimo jiné i vědecké výchově studentů. Věříme, že někteří z dnešních prezentujících budou v podobném úsilí pokračovat a výzkumná práce se stane nedílnou součástí jejich medicínské praxe.

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

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

V Brně dne 25. 5. 2016

Za organizátory konference

MUC. Peter Krkoška, viceprezident Spolku mediků

MUDr. Michal Jurajda, Ph.D., koordinátor SVK 2016

# ÚVODNÍ SLOVO DĚKANA

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

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

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



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

# ÚVODNÍ SLOVO PRODEKANA

Žijeme v době, která nám, v míře jako nikdy předtím, dává rozsáhlý prostor pro naplňování svých snů. Pro mnohé z nás jsou takovými sny, sny o velkých objevech, které posunou hranice lidského poznání a možností o další kus dopředu. Máme to velké štěstí, že jsme součástí akademické instituce, která jako celek po celou dobu svojí existence dbá na vytváření kvalitních podmínek a pozitivních stimulů k vědeckovýzkumné činnosti. Zejména v posledních 10 letech naše Lékařská fakulta a celá Masarykova univerzita dospěly do stavu, kdy tyto instituce mají desítky nadšených mentorů a zkušených výzkumníků s mezinárodním kreditem, stejně jako excelentní instrumentaci a rozsáhlý přístup k vědeckým informacím, které ve své celistvosti spoluvytváří solidní domov pro pěstování produktivní vědy. Současná medicína, se všemi svými klasickými disciplínami, ale také souvisejícími teoretickými a technickými obory, dávají nekonečné možnosti pro uplatnění invence a zhmotnění tužeb po nalézání nového. Není pochyb o tom, že tradice Studentské vědecké konference na naší fakultě je dobře viditelným dokladem této skutečnosti. Vědecká činnost realizovaná studenty nad rámec běžných studijních povinností ukazuje, že současnost přeje talentu a zapálení pro práci a že badatelská činnost studentů je chápána jako hmatatelný příspěvek k osobnímu rozvoji každého zúčastněného. Z pohledu instituce jakou je naše Lékařská fakulta, znamenají výzkumné aktivity studentů vedené jejich mentory příslib pro její budoucí prosperitu ve všech třech klíčových oblastech jejích aktivit, pedagogické, medicínské a vědecké. Velmi si proto cením mise Studentské vědecké konference, s radostí pozoruji její každoročně rostoucí vědeckou kvalitu, oceňuji vynaložené úsilí všech jejích účastníků a organizátorů, a přeji jí proto zasloužený úspěch i v roce 2016.



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

# PROGRAM KONFERENCE

- 8.00 Slavnostní zahájení konference za přítomnosti členů vedení lékařské fakulty MU.  
Aula LF MU (A22), UKB Kamenice 5
- 8.30 Zahájení jednání v sekcích, dle rozpisu poslucháren a pořadí příspěvků
- ▶ délka prezentace: 10 min + 5 min diskuze
  - ▶ k dispozici PC s projekční technikou (doporučený formát MS PowerPoint)
  - ▶ odborné komise vyberou k ocenění vždy 3 nejkvalitnější práce v každé sekci
- 16.00–17.00 Vyzvaná přednáška, Aula LF MU (A22), UKB Kamenice 5  
**RNDr. Martin Falk, Ph.D.**  
*Oddělení buněčné biologie a radiobiologie*  
*Biofyzikální ústav, Akademie věd České republiky, Brno*  
**Ionizující záření – dvousečný meč v biologii a medicíně**
- 17.00 Slavnostní zakončení konference, Aula LF MU (A22), UKB, Kamenice 5
- ▶ vyhlášení tří nejlepších prací z každé sekce a předání diplomů oceněným studentům
  - ▶ následuje závěrečný raut pořádaný Spolkem mediků v prostorách UKB, Kamenice 5 (kavárna „Na lávce“)
- Všichni zúčastnění jsou srdečně zváni!**



# SLOŽENÍ ODBORNÝCH KOMISÍ

## 1. Teoretická a preklinická sekce

Aula UKB (A22), Kamenice 5

**Předseda: doc. MUDr. Julie Bienertová Vašků, Ph.D.**

Členové: MUDr. Jan Máchal, Ph.D.

Mgr. Stjepan Uldrian, CSc.

PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.

## 2. Sekce chirurgických oborů

UKB, posluchárna 334 (pavilon A11), Kamenice 5

**Předseda: doc. MUDr. Oldřich Coufal, Ph.D.**

Členové: MUDr. Vít Weinberger, Ph.D.

MUDr. Vilém Juráň, Ph.D.

MUDr. Petr Štourač, Ph.D.

## 3. Sekce interních oborů

UKB, posluchárna 114 (pavilon A11), Kamenice 5

**Předseda: doc. MUDr. Tomáš Novotný, Ph.D.**

Členové: MUDr. Richard Barteček, Ph.D.

MUDr. Lenka Jakubíková, Ph.D.

MUDr. Darja Krusová, Ph.D.

## 4. Stomatologická sekce

UKB, posluchárna 211 (pavilon A11), Kamenice 5

**Předseda: prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc.**

Členové: doc. MUDr. Zdenka Halačková, CSc.

doc. MUDr. Lenka Roubalíková, Ph.D.

## 5. Sekce nelékařských oborů

UKB, posluchárna 234 (pavilon A11), Kamenice 5

**Předseda: Mgr. Petr Veselý, Dis., Ph.D.**

Členové: PhDr. Natálie Beharková, Ph.D.

Mgr. Hana Pinkavová

Mgr. Blanka Trojanová, Ph.D.

## 6. Doktorandská sekce

UKB, posluchárna 327 (pavilon A11), Kamenice 5

**Předseda: prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.**

Členové: doc. MUDr. Andrea Janíková, Ph.D.

doc. MUDr. Svatopluk Synek, CSc.

doc. MUDr. Pavel Štourač, Ph.D.

# VYZVANÁ PŘEDNÁŠKA

## IONIZUJÍCÍ ZÁŘENÍ – DVOUSEČNÝ MEČ V BIOLOGII A MEDICÍNĚ

**RNDr. Martin Falk, Ph.D.**

*Oddělení buněčné biologie a radiobiologie*

*Biofyzikální ústav, Akademie věd České republiky, Brno*

Ionizující záření se v současné době dostává opět do popředí zájmu odborníků i laické veřejnosti. Důvodů k této renesanci radiobiologie je hned několik. Zejména se jedná o obrovský pokrok v molekulární biologii a technice, který umožňuje výzkum účinků ionizujícího záření na zcela jiné úrovni než tomu bylo doposud. K obrovskému rozkvětu došlo v posledních letech i na poli radioterapie, kde se kromě již běžného záření X a gama začínají využívat také protonové a iontové svazky. Zároveň se objevují nové metody, jak zvýšit efekt ionizujícího záření v cílové oblasti (např. tumoru), a přitom lépe ochránit okolní zdravé buňky. Na druhou stranu si letos připomínáme 30. výročí černobylské katastrofy a v ještě čerstvé paměti máme i havárii jaderné elektrárny ve Fukušimě. Opomenout nelze ani stoupající riziko zneužití jaderného materiálu teroristy a problémy vyplývající z ozáření posádek během plánovaných extraterestriálních kosmických letů. Kritickou strukturou z hlediska radiačního poškození je molekula DNA, respektive chromatin. Jak tedy chromatin interaguje s různými druhy ionizujícího záření? Jak si dokáže či nedokáže buňky s poškozením chromatinu poradit? A jak se v tomto směru liší normální a nádorové buňky?

*RNDr. Martin Falk, Ph.D. (\*1976) je vedoucím Oddělení buněčné biologie a radiobiologie na Biofyzikálním ústavu AVČR, v.v.i., v Brně. Na Masarykově univerzitě tamtéž vystudoval genetiku a molekulární biologii. V rámci výzkumné činnosti se dlouhodobě věnuje zejména vztahům mezi strukturou buněčného jádra a jeho základními funkcemi, vlivu různých druhů ionizujícího záření na biologické objekty a reparaci DNA. Spolupracuje s významnými vědeckými pracovišti v ČR i ve světě, např. Evropským onkologickým institutem v Miláně, Kirchhoffovým institutem pro fyziku v Heidelbergu, Univerzitou Paříž-Jih, Spojeným ústavem pro jaderný výzkum v Dubně, Fyzikálním ústavem a Ústavem jaderné fyziky AVČR v Praze, atd. Za svůj výzkum byl oceněn např. Prémii Otto Wichterleho udělovanou vynikajícím mladým vědcům Akademií věd ČR, cenou Německé společnosti pro výzkum reparace DNA (DGDR), cestovním grantem na 15. mezinárodní kongres o radiačním výzkumu (ICRR 2015) pořádaný v japonském Kjótu a několika zvanými přednáškami na významných mezinárodních konferencích a institucích (např. Londýnské univerzitě, MIT v USA atd.).*

*e-mail: falkbp.cz, tel.: 541 51 71 16, [www.ibp.cz/cs/oddeleni/radiobiologie-a-bunecna-biologie/informace-o-oddeleni/](http://www.ibp.cz/cs/oddeleni/radiobiologie-a-bunecna-biologie/informace-o-oddeleni/)*

# PROGRAM JEDNOTLIVÝCH SEKCIÍ

## 1. TEORETICKÁ A PREKLINICKÁ SEKCE

Aula UKB (A22), Kamenice 5

08.30–10.00 h

### T1. Hándl Marek

*I. patologicko-anatomický ústav, Klinika dětské onkologie, Institut biostatistiky a analýz*

**KLINICKO-PATOLOGICKÉ KORELACE TUMOR-ASOCIOVANÝCH MAKROFÁGŮ  
V EWINGOVĚ SARKOMU**

Školitelka: prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.

### T2. Jůza Tomáš

*Biofyzikální ústav*

**BEZPROSTŘEDNÍ VLIV KONZUMACE ENERGETICKÝCH NÁPOJŮ  
NA HEMODYNAMICKÉ PARAMETRY V ARTERIA RADIALIS MĚŘENÉ  
POMOCÍ DOPPLEROVSKÉHO ULTRAZVUKU U MLADÝCH DOSPĚLÝCH:  
PRVNÍ VÝSLEDKY**

Školitel: Mgr. Daniel Vlk, CSc.

### T3. Traj Rudolf

*Fyziologický ústav*

**AKTUÁLNÍ STAV ZDATNOSTI STUDENTŮ MAGISTERSKÝCH  
A BAKALÁŘSKÝCH OBORŮ MASARYKOVY UNIVERZITY V BRNĚ**

Školitelka: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

### T4. Ignácová Terézia

*Ústav klinické imunologie a alergologie*

**DYNAMIKA B LYMFOCYTÁRNÍCH SUBPOPULACÍ V ČASE U PACIENTŮ  
S BĚŽNÝM VARIABILNÍM IMUNODEFICITEM (COVID)**

Školitelé: prof. MUDr. Jiří Litzman, CSc., Mgr. Pavla Kadlecová

### T5. Vávrová Eva

*Středoevropský technologický institut (CEITEC) Masarykovy univerzity Brno*

**SROVNÁNÍ NEJČASTĚJI VYUŽÍVANÝCH METOD DETEKCE HOTSPOT MUTACE  
GENU NOTCH1 U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ**

Školitelka: prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.

### T6. Strýčková Lucie

*Ústav patologické fyziologie*

**ID ACE POLYMORFISMUS U PACINETŮ S KOŽNÍM T LYMFOMEM**

Školitel: MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

10.00–10.15 h PŘESTÁVKA

10.15–11.45 h

**T7. Slaníková Adriana**

*Anatomický ústav*

**STUDIUM ZMĚN V PLEXUS CHOROIDEUS PO INTRAPERITONEÁLNÍ  
APLIKACI PACLITAXELU**

Školitel: MUDr. Marek Joukal

**T8. Karaffa Ján**

*Regionální centrum aplikované molekulární onkologie*

**CELOGENÓMOVÝ CRISPR-CAS KNOCKOUT SKRÍNING PRE IDENTIFIKÁCIU  
GÉNOV DÔLEŽITÝCH PRI REZISTENCII NA NUTLIN**

Školitel: MUDr. Petr Müller, Ph.D.

**T9. Beláň Ondrej**

*Biologický ústav*

**ÚLOHA MUTÁCIÍ V PROTEÍNE RAD51 PRI ROZVOJI NESTABILITY GENÓMU  
A VZNIKU NÁDORU**

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

**T10. Skotáková Anna**

*Ústav patologické fyziologie*

**MODIFIKOVANÉ FORMY CHEMOTERAPEUTIK JAKO PROSTŘEDEK CÍLENÉ  
PROTINÁDOROVÉ TERAPIE**

Školitel: RNDr. Michal Masařík, Ph.D.

**T11. Jelínek Jakub**

*Ústav patologické fyziologie*

**VARIABILITA GENU PRO MOZKOVÝ NEUROTROFNÍ FAKTOR (BDNF)  
U STŘEDOEVROPSKÉ OBÉZNÍ A NEOBÉZNÍ POPULACE**

Školitelka: doc. MUDr. Julie Bienertová Vašků, Ph.D.

**T12. Pekarová Romana**

*Farmakologický ústav*

**CONSUMPTION AND SALES OF HYPNOTIC DRUGS IN THE CZECH REPUBLIC**

Školitel: PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.

11.45–12.30 h PŘESTÁVKA

12.30–14.15 h

**T13. Kula Roman**

*Fyziologický ústav*

**VLIV ACETALDEHYDU NA INWARD RECTIFIER DRASLÍKOVÉ PROUDY IK1  
A IK(ACH) U IZOLOVANÝCH SRDEČNÍCH BUNĚK POTKANA**

Školitelka: doc. MUDr. Markéta Bébarová, CSc.

**T14. Vejmělek Adam**

*Fyziologický ústav*

**ZMĚNY DRASLÍKOVÉHO INWARD RECTIFIER PROUDU CITLIVÉHO  
NA ACETYLCHOLIN IK(ACH) POD VLIVEM NÁVYKOVÝCH LÁTEK:  
ETANOL A NIKOTIN**

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

**T15. Pieš Adrián**

*Biologický ústav*

**PRÍPRAVA A TESTOVANIE BUNKOVEJ LÍNIE PRE CHARAKTERIZÁCIU  
MOLEKULÁRNEHO MECHANIZMU INHIBÍTOROV MRE11**

Školitelé: doc. Mgr. Lumír Krejčí, Ph.D., Mgr. Fedor Nikulenkov, Ph.D.

**T16. Dvořák Aleš**

*Fyziologický ústav*

**ZMĚNY NUTRIČNÍCH A KARDIOVASKULÁRNÍCH PARAMETRŮ OBÉZNÍCH  
DĚTÍ PO MĚSÍČNÍM POBYTU V DĚTSKÉ LÉČEBNĚ KŘETÍN**

Školitelka: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

**T17. Puchnerová Veronika**

*Fyziologický ústav*

**ZMĚNY KARDIOVASKULÁRNÍCH PARAMETRŮ JAKO POZDNÍ NÁSLEDEK  
ONKOLOGICKÉ LÉČBY ANTRACYKLINY V DĚTSTVÍ**

Školitelka: MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

**T18. Janáková Michaela**

*Ústav patologické fyziologie*

**REGULACE IZOFOREM PYRUVÁTKINÁZY M1/M2 V DIABETOGENNÍCH  
PODMÍNKÁCH**

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

**T19. Hrala Matěj**

*Biologický ústav*

**CHARAKTERIZACE FAKTORŮ VIRULENCE U IZOLÁTŮ  
ENTEROHEMORHAGICKÉ ESCHERICHIA COLI A STANOVENÍ  
CITLIVOSTI IZOLÁTŮ K BAKTERIOCINŮM**

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

## **2. KLINICKÁ SEKCE CHIRURGICKÝCH OBORŮ**

UKB, posluchárna 334 (A11), Kamenice 5

08.30–09.45 h

### **CH1. Vinklerová Petra**

*Gynekologicko-porodnická klinika*

**EXTRAKČNÍ VAGINÁLNÍ OPERACE V SOUČASNÉM PORODNICTVÍ A JEJICH  
VLIV NA PERINATÁLNÍ TRAUMATISMUS NOVOROZENCŮ A RODIČEK**

Školitel: MUDr. Lukáš Hruban

### **CH2. Svobodová Karolína**

*Anesteziologicko-resuscitační klinika*

**ZMĚNY MIKROCIRKULACE U PACIENTŮ S OBSTRUKČNÍ SPÁNKOVOU APNOE**

Školitelé: MUDr. Ivan Čundrle, Ph.D., doc. MUDr. Vladimír Šrámek, Ph.D.

### **CH3. Arbet Martin Jakub**

*Radiologická klinika, Ústav histologie a embryologie*

**AKUMULACE LIPOSOMÁLNÍHO DOXORUBICINU V JATERNÍ TKÁNI  
OŠETŘENÉ RADIOFREKVENČNÍ ABLACÍ A IREVERZIBILNÍ ELEKTROPORACÍ  
V PORCINNÍM MODELU**

Školitel: MUDr. Tomáš Andrašina, Ph.D.

### **CH4. Madarászová Tereza**

*Neurochirurgická klinika, Ústav patologické fyziologie*

**ROLE ZÁNĚTU VE VZTAHU K ROZVOJI HYPOXIE MOZKOVÉ TKÁNĚ  
PO EXPERIMENTÁLNÍM SUBARACHNOIDÁLNÍM KRVÁCENÍ**

Školitel: prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., MBA

### **CH5. Holoubek Jakub**

*Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie*

**SPEKTRUM POTENCIÁLNĚ PATOGENNÍCH MIKROORGANISMŮ  
U INFEKČNÍCH KOMPLIKACÍ V ZÁVISLOSTI NA CHARAKTERU TERAPIE  
PACIENTŮ S TOXICKOU EPIDERMÁLNÍ NEKROLÝZOU**

Školitel: MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.

09.45–10.00 h PŘESTÁVKA

10.00–10.45 h

### **CH6. Žatecký Jan**

*Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie*

**ILEÓZNÍ STAVY U DĚTÍ**

Školitel: prof. MUDr. Ladislav Plánka, Ph.D.

### **CH7. Gorelíková Marcela**

*Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie*

#### **VÝSLEDKY LÉČBY PORANĚNÍ PROXIMÁLNÍ EPIFÝZY VŘETENNÍ KOSTI U DĚTÍ**

Školitel: prof. MUDr. Ladislav Plánka, Ph.D.

### **CH8. Antunes Ana**

*Ústav sociálního lékařství a veřejného zdravotnictví*

#### **AN AUDIT IN HAND HYGIENE AND DRESS POLICY COMPLIANCE IN A TEACHING HOSPITAL**

Školitelé: MUDr. Kräuff Rainer Schwanhaeuser Wulff, MBA, Ph.D. et Ph.D., M.A.

## **3. KLINICKÁ SEKCE INTERNÍCH OBORŮ**

UKB, posluchárna 114 (A11), Kamenice 5

08.30–10.00 h

### **I1. Mazúr Róbert**

*Klinika dětské onkologie, Centrum informatiky FN Brno*

#### **POZDNÍ NÁSLEDKY NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ DĚTSKÉHO VĚKU. WEBOVÁ APLIKACE PRO VKLÁDÁNÍ DAT V PLATFORMĚ MICROSOFT OFFICE SHAREPOINT.**

Školitelé: MUDr. Tomáš Kepák, Mgr. Kateřina Kepáková

### **I2. Mach Lukáš**

*Division of Cardiovascular Diseases, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA*

#### **ELEVACE SRDEČNÍHO TROPONINU T U PACIENTŮ S AMYOTROFICKOU LATERÁLNÍ SKLERÓZOU**

Školitelé: MUDr. Tomáš Konečný, M.D., Ph.D., Virend K. Somers, M.D., Ph.D.

### **I3. Kunst Jonáš**

*CEITEC MU, Skupina aplikovaných neurověd*

#### **ANALÝZA ÚBYTKU ŠEDÉ HMOTY U PACIENTŮ S ALZHEIMEROVOU A PARKINSONOVOU CHOROBOU**

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

### **I4. Wojnarová Kateřina**

*Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno*

#### **HUMORÁLNÍ SIGNALIZACE EPIKARDIÁLNÍ, PERIAORTÁLNÍ A SUBKUTÁNNÍ TUKOVÉ TKÁNĚ**

Školitel: MUDr. Marek Orban

**15. Pešlová Eva**

*I. neurologická klinika, CEITEC*

**HIPPOCAMPAL INVOLVEMENT IN PHYSIOLOGICAL DÉJÀ VU:  
SUBFIELD VULNERABILITY RATHER THAN TEMPORAL LOBE EPILEPSY**

Školitel: prof. MUDr. Milan Brázdil, Ph.D.

**16. Nováková Alica**

*I. interní kardiologická klinika*

**OVLIVŇUJE CHARAKTER ZÁNĚTLIVÉ INFILTRACE MYOKARDU VÝVOJ  
ECHOKARDIOGRAFICKÝCH PARAMETRŮ U PACIENTŮ SE ZÁNĚTLIVOU  
KARDIOMYOPATÍÍ?**

Školitel: MUDr. Jan Krejčí, Ph.D.

10.00–10.15 h PŘESTÁVKA

10.15–12.00 h

**17. Máchal Jan**

*Interní hematologická a onkologická klinika*

**REZISTENCE A INTOLERANCE K LÉČBĚ TYROZINKINÁZOVÝMI INHIBITORY  
U PH+ AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÉ LEUKEMIE DOSPĚLÝCH**

Školitelé: MUDr. František Folber, Ph.D., prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.

**18. Ščurek Martin**

*I. interní kardiologická klinika, Mezinárodní centrum klinického výzkumu (FNUSA-ICRC)*

**3D ROTAČNÍ ANGIOGRAFIE LEVÉ SÍŇE A JÍCNU: KRÁTKODOBÁ MOBILITA  
JÍCNU A STABILITA FÚZE 3D MODELU LEVÉ SÍŇE A JÍCNU BĚHEM KATÉTROVÉ  
ABLACE FIBRILACE SÍŇÍ**

Školitel: MUDr. Zdeněk Stárek, Ph.D.

**19. Křenek Pavel**

*Ústav patologické fyziologie, Neurologická klinika*

**VLIVY POLYMORFISMŮ V RECEPTORU PRO VITAMIN D NA VÝSKYT A PRŮBĚH  
ROZTROUŠENÉ SKLERÓZY**

Školitelka: prof. MUDr. Anna Vašků, CSc.

**110. Štěrba Albert**

*I. neurologická klinika*

**RIZIKOVÉ FAKTORY A INCIDENCE HEMORAGICKÝCH CÉVNÍCH  
MOZKOVÝCH PŘÍHOD. KOMUNITNÍ STUDIE, BRNO 2011**

Školitel: doc. MUDr. Robert Mikulík, Ph.D.



### **I11. Sklenárová Barbora**

*I. neurologická klinika*

#### **VÝSLEDKY CHIRURGICKEJ LIEČBY EPILEPSIE ALEBO NIE JE TO LEN O ZÁCHVATOCH**

Školiteľka: MUDr. Irena Doležalová, Ph.D.

### **I12. Boženková Eliška**

*I. interní kardioangiologická klinika, Mezinárodní centrum klinického výzkumu*

#### **OKLUZE VE STENTU JAKO PŘÍČINA AKUTNÍHO KORONÁRNÍHO SYNDROMU**

Školitel: MUDr. Ota Hlinomaz, CSc.

### **I13. Coufalová Dominika**

*I. neurologická klinika*

#### **VLIV RIZIKOVÝCH FAKTORŮ NA TÍŽI NEUROLOGICKÉHO DEFICITU U PACIENTŮ S CÉVNÍ MOZKOVOU PŘÍHODOU**

Školitel: doc. MUDr. Robert Mikulík, Ph.D.

## **4. STOMATOLOGICKÁ SEKCE**

UKB, posluchárna 211 (A11), Kamenice 5

08.30–09.15 h

### **S1. Kavánková Jana**

*Ústav patologickej fyziologie, Stomatologická klinika*

#### **VARIABILITA V GENU PRO RECEPTOR PRODUKTŮ POKROČILÉ GLYKACE (RAGE) U PACIENTŮ S CHRONICKOU PARODONTITIDOU S/BEZ DIABETES MELLITUS**

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

### **S2. Vranková Zuzana**

*Stomatologická klinika, Ústav patologickej fyziologie*

#### **POLYMORFIZMY V GÉNOCH PRE PURINERGNÝ RECEPTOR A OSTEOPROTEGERIN VO VZŤAHU K EXTERNEJ APIKÁLNEJ RESORPCII KOREŇA U PACIENTOV PO ORTODONTICKEJ LIEČBE**

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

### **S3. Sládek Martin**

*Stomatologická klinika*

#### **VLIV SKELETÁLNÍCH ZNAKŮ NA PROSTOR PRO DOLNÍ TŘETÍ MOLÁRY**

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

## 5. SEKCE NELÉKAŘSKÝCH OBORŮ

UKB, posluchárna 234 (A11), Kamenice 5

08.30–09.45 h

### **N1. Sedlářová Sabina**

*Katedra laboratorních metod*

**VYUŽITÍ VÝPOČTU KOEFICIENTU ENERGETICKÉ BILANCE  
PŘI VYŠETŘOVÁNÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU K URČENÍ TYPU  
ZÁNĚTLIVÉHO POSTIŽENÍ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU**

Školitelka: MUDr. Zdeňka Čermáková, Ph.D.

### **N2. Šuplíková Lucie**

*Biofyzikální ústav, I. neurologická klinika*

**IN VITRO MODEL ISCHEMICKÉ CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODY**

Školitelka: Mgr. Andrea Vítečková Wünschová, Ph.D.

### **N3. Patočková Lucie**

*Katedra optometrie a ortoptiky*

**SROVNÁNÍ METOD MĚŘENÍ A VALIDITA HODNOT POTŘEBNÝCH  
PRO PŘESNÝ ZÁBRUS BRÝLOVÝCH ČOČEK**

Školitel: Mgr. Pavel Beneš, Ph.D.

### **N4. Hašková Barbora**

*Katedra optometrie a ortoptiky*

**INFORMOVANOST NOSITELŮ MĚKKÝCH KONTAKTNÍCH ČOČEK O MOŽNÝCH  
ZDRAVOTNÍCH RIZICÍCH**

Školitel: Mgr. Pavel Beneš, Ph.D.

### **N5. Odvářková Zuzana**

*Katedra optometrie a ortoptiky*

**BAREVNÝMI FOLIEMI KE ZLEPŠENÍ ČTENÍ DYSLEKTIKŮ**

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

## 6. DOKTORANDSKÁ SEKCE

UKB, posluchárna 327 (A11), Kamenice 5

08.30–9.15 h

### D1. Kubaczková Veronika

*Ústav patologické fyziologie*

#### **DETEKCE MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ CHOROBY U MNOHOČETNÉHO MYELOMU POMOCÍ MIMOBUNĚČNÉ DNA**

Školitelka: RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.

### D2. Valová Simona

*Ústav patologické fyziologie*

#### **GASTROEZOFAGEÁLNÍ REFLUXNÍ CHOROBA A VARIABILITA V GENECH PRO CDX2 A RECEPTOR VITAMINU D**

Školitelka: prof. MUDr. Lydie Izakovičová Hollá, Ph.D.

### D3. Dovrtělová Gabriela

*Farmakologický ústav*

#### **VLIV HLAVNÍCH OBSAHOVÝCH LÁTEK CROCUS SATIVUS L. NA METABOLICKOU AKTIVITU VYBRANÝCH CYP ENZYMŮ U POTKANA**

Školitelka: PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.

**ABSTRAKTY  
SVK 2016**

# 1. TEORETICKÁ A PREKLINICKÁ SEKCE

---

## KLINICKO-PATOLOGICKÉ KORELACE TUMOR-ASOCIOVANÝCH MAKROFÁGŮ V EWINGOVĚ SARKOMU

**Marek Hándl, Markéta Hermanová, Sylva Hotárková, Iva Zambo, Peter Múdry,  
Jiří Jarkovský**

*I. patologicko-anatomický ústav, Klinika dětské onkologie, Institut biostatistiky a analýz*

**Školitelka:** prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.

**Klíčová slova:** Ewingův sarkom, tumor-asociované makrofágy, CD163

### Úvod:

Tumor-asociované makrofágy (TAM) hrají důležitou roli v rozvoji tumoru, migraci nádorových buněk, angiogenezi a schopnosti invaze. V případě Ewingova sarkomu (ES) dosud nebyl prokázán tumor-supresorový ani tumor-podporující efekt TAM. TAM jsou subklasifikovány do dvou základních funkčních fenotypů: prozánětlivé M1 a tumor-podporující M2 makrofágy. Cílem naší studie byla kvantifikace přítomnosti TAM ve tkáni ES a analýza jejich klinicko-patologických korelací.

### Metody:

Do studie bylo zahrnuto 24 pacientů s primárně diagnostikovaných ES (13 mužského pohlaví, 11 ženského pohlaví; ve věku 2-27 let). Imunohistochemicky byla vyšetřena exprese makrofagických markerů CD68 a CD163 na formolparafinovém materiálu tkání ES. Přítomnost CD68 a CD163 pozitivních makrofágů byla kvantitativně vyhodnocena v program NIS-Elements. Statisticky byly vyhodnoceny klinicko-patologické korelace.

### Výsledky:

Ve tkáni ES jsme zjistili kvantitativně vyšší zastoupení CD163+ TAM ve srovnání s CD68+ TAM (median 130 versus median 96). Nebyla prokázána statisticky signifikantní korelace mezi kvantitativním zastoupením CD68+ TAM a sledovanými klinicko-patologickými parametry. Vysoké zastoupení CD163+ TAM statisticky signifikantně korelovalo se stadiem onemocnění i přítomností metastáz (M statutem). Pacienti ve stadiích 3 a 4 ES měli statisticky signifikantně nižší zastoupení CD163+ TAM ( $p = 0,034$ ). U pacientů bez metastatického onemocnění byl zjištěn vyšší počet CD163+ TAM ( $p = 0,008$ ).

### Závěr:

Vysoké zastoupení CD163 pozitivních TAM ve tkáni ES negativně korelovalo se stadiem onemocnění ES. Výsledky studie ukazují, že marker CD68 pravděpodobně nepředstavuje marker specifický pro TAM. CD163 se jeví jako marker pro detekci TAM specifičtější, ale nespecifický pro tumor-podporující M2 makrofágy. Pro validní detekci subtypů TAM je třeba využít vícenásobné imunohistochemické značení.

### Poděkování:

Poděkování Nadačnímu fondu dětské onkologie Krtek.

# BEZPROSTŘEDNÍ VLIV KONZUMACE ENERGETICKÝCH NÁPOJŮ NA HEMODYNAMICKÉ PARAMETRY V ARTERIA RADIALIS MĚŘENÉ POMOCÍ DOPPLEROVSKÉHO ULTRAZVUKU U MLADÝCH DOSPĚLÝCH: PRVNÍ VÝSLEDKY

**Tomáš Jůza**

*Biofyzikální ústav*

**Školitel:** Mgr. Daniel Vlk, CSc.

**Klíčová slova:** energetický nápoj, rychlost proudění krve, doppler ultrazvuk, arteria radialis

## **Úvod:**

Současná obliba energetických nápojů především mezi dospívající populací a mladými dospělými podněcuje k dalšímu zkoumání jejich vlivů na lidský organizmus. Mezi hlavní a požadované účinky těchto potravinových doplňků patří zlepšení kognitivních funkcí a fyzické výkonnosti a také snížení únavy. Zásahy do oběhové soustavy jsou již důkladně studovány především s důrazem na případy úmrtí dávané do souvislosti s nadužíváním těchto nápojů. My jsme se zaměřili na pozorování hemodynamických změn vyvolaných požitím nápojů s definovaným obsahem kofeinu, taurinu a cukrů, konkrétně na změny průtoku krve ve vřetení tepně. Předpokládáme pozorovatelné změny oběhových parametrů hlavně díky vlivu vazoaktivních přísad jako jsou právě kofein a taurin.

## **Metody:**

Experimentu se prozatím zúčastnilo 12 mladých dospělých dobrovolníků (3 ženy a 9 mužů). Charakteristika skupiny: věk  $19 \pm 2$  let, výška 175 ( $\pm 12$ ) cm, hmotnost 73,6 ( $\pm 15,6$ ) kg. Každý subjekt byl před zahájením seznámen a souhlasil s náplní experimentu. Testovaná osoba byla usazena na židli s předloktím položeným na stůl dlaní vzhůru. V této pozici byly naměřeny 3 pětisekundové klidové záznamy rychlosti proudění krve. K měření byl použit dopplerovský přenosný ultrazvukový přístroj Hadeco Bidop ES-100V3 se standardní sondou s frekvencí 5 MHz a Smart-V-Link<sup>TM</sup> nahrávacím softwarem. Sonda byla umístěna manuálně pod úhlem okolo  $60^\circ$  k dlouhé ose předloktí mířící na průběh vřetení tepny v proximálně 1–3 cm od radiokarpálního kloubu. Po tomto měření se skupina rozdělila na dvě podskupiny s odlišnými protokoly. První skupině (3 ženy a 5 mužů) bylo podáno 250 ml energetického nápoje a protokol měření zde byl opakován po 15 minutách jen na pravé a. radialis. Zbylí 4 muži vypili 100 ml na 10 kg tělesné hmotnosti energetického nápoje a následně v desetiminutových intervalech byly stejným způsobem měřeny hemodynamické parametry na levé i pravé a. radialis. U obou skupin bylo měření ukončeno po 90 minutách od vypití příslušného objemu nápoje. Energetický nápoj obsahoval 32 mg kofeinu, 400 mg taurinu a 12,5 g cukru na 100 ml.

## **Výsledky:**

U obou výše uvedených skupin probandů byly hodnoceny změny střední rychlosti toku krve a pulsační index (PI).

U skupiny s vypitými 250 ml energetického nápoje jsme nenalezli statisticky významné rozdíly nebo pravidelné, nápadné změny hodnot střední rychlosti toku krve ani PI.

U skupiny, která požila 100 ml / 10 kg nápoje docházelo k postupnému snižování hodnot střední rychlosti, s výjimkou hodnoty získané po 40 minutách od konzumace. Za použití t-testu pro závislé

proměnné byl pozorován statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) mezi klidovými a všemi postex-pozičními hodnotami střední rychlosti. Maximální rozdíl byl po 80 minutách. Dále byly pozorovány významně nižší hodnoty střední rychlosti po 10 minutách ve srovnání s posledními třemi měřeními (70. až 90. minuta).

U PI byl pozorován rozdíl až od 40 minut po požití proti klidovým hodnotám. Následovalo postupné zvyšování hodnoty tohoto indexu, statistické maximum pak bylo po 70 minutách. Číselné rozdíly potvrdila i změna tvaru křivky závislosti rychlosti toku na čase. Oproti klidovému záznamu bylo po 80 minutách (doba nejvýraznějších změn) pozorovatelné zúžení a až dvojnásobné snížení systolického vrcholu následované pravidelnými propady do záporných hodnot.

Mezi levou a pravou a. radialis nebyly patrné statisticky významné rozdíly.

#### **Závěr:**

Vzhledem k dávkově závislé odpovědi lze přičíst pozorované změny požití energetického nápoje a nalézt příčinnou souvislost s farmakologickým efektem kofeinu a taurinu. Změny oběhových parametrů v čase jsou v souladu s farmakokinetickými vlastnostmi obou látek. První hlavní pokles střední rychlosti kolem 20. minuty odpovídá blízkosti času maximální plasmatické koncentrace kofeinu po perorálním podání a druhý významný propad rychlostních hodnot kolem 70. minuty též koreluje s T max pro alimentárně podaný taurin. Popisované změny hodnot a vzhledu křivek lze vysvětlit farmakologicky navozenou mírnou systémovou vazodilatací, vyžadující nadprahové množství účinných látek.

## **AKTUÁLNÍ STAV ZDATNOSTI STUDENTŮ MAGISTERSKÝCH A BAKALÁŘSKÝCH OBORŮ MASARYKOVY UNIVERZITY V BRNĚ**

**Rudolf Traj, Pavel Tinka**

*Fyziologický ústav*

**Školitelka:** MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

**Klíčová slova:** fyzická zdatnost, tělesný tuk, parametr W170

#### **Úvod:**

Fyzická zdatnost je podle definice WHO souhrnem předpokladů pro optimální reakci organismu na náročnou pohybovou činnost nebo na působení různých vlivů zevního prostředí. V naší populaci zatížené obezitou je optimální zdatnost závažným problémem. Dobrá fyzická kondice je předpokladem prevence tzv. civilizačních chorob, má pozitivní vliv ve zdraví i nemoci na morfolo-gické a funkční změny jednotlivých orgánových systémů a má svůj vliv i na stav dobré psychické pohody, která je také nedílnou součástí našeho zdraví.

#### **Metody:**

Naší studie se zúčastnilo celkem 26 mladých mužů ve věkovém rozmezí 18–25 let. Dle fyzické aktivity zjišťované při vstupním rozhovoru se skupina rozdělila na 2 podskupiny – pohybově aktivní (skupina T, věk:  $21,5 \pm 1,9$  let; BMI:  $23,1 \pm 1,4$  kg/m<sup>2</sup>; sportovní aktivita  $15,6 \pm 2,9$  hodin týdně), a pohybově méně aktivní (skupina N, věk:  $21,8 \pm 1,9$  let; BMI:  $23,9 \pm 2,4$  kg/m<sup>2</sup>; sportovní aktivita  $3,8 \pm 2,2$  hodin týdně).

Všem účastníkům studie byl zhodnocen stav výživy (hmotnost, výška, index tělesné hmotnosti – BMI, obvod pasu a boků, jejich poměr – WHR, tloušťka kožní řasy nad tricepsem – Ktr a pod lopatkou – Kscap, % tuku). Dále byl proveden zátěžový test na spiroergometrickém pracovišti

(PowerCube; Ganshorn, Medizin Electronic, Německo). Jednalo se o stupňovanou zátěž dle standardního protokolu, délka trvání jednoho stupně byla 1 minuta, zvýšení o 0,5 W/kg, do maxima 2W/kg. Hodnotili jsme následující parametry: spotřebu kyslíku a CO<sub>2</sub> (VO<sub>2</sub>/kg;VCO<sub>2</sub>/kg), ventilaci na vrcholu zátěže (VE/kg), pulzový kyslík (O<sub>2</sub> pulse), systolický a diastolický tlak na vrcholu zátěže (STK, DTK), index W170rel (výkon při tepové frekvenci 170/min/kg). Pro statistické zpracování byl použit Mann Whitney test a základní popisná statistika v programu STATISTICA.CZ (StatSoft).

### **Výsledky:**

Našli jsme statisticky významné zvýšení tloušťky kožních řas a procenta tuku u skupiny N (N versus T; Ktr: 11,1 ± 3,55 vs. 6,0 ± 1,50 mm; Kscap: 14,77 ± 5,45 vs. 8,38 ± 2,22 mm; tuk: 18,58 ± 4,59 vs. 10,96 ± 3,02 %; p ≤ 0,01). Ze spiroergometrického vyšetření se ukázal statisticky významný rozdíl u parametru W170rel (N vs. T: 2,32 ± 0,32 vs. 3,65 ± 0,58 W/kg; p ≤ 0,01).

### **Závěr:**

Studenti s nižší fyzickou aktivitou (1–8 hodin/týden) vykazují průměrnou hodnotu indexu W170 získanou v rámci měření české mužské populace, druhá podskupina s aktivitou 12–22 hodin/týden se zařazuje mezi trénovanou populaci. Výsledky poukazují i na vzájemný vztah složení těla (zastoupení tuku v organismu) a parametru všeobecné zdatnosti.

### **Poděkování:**

Podpořeno specifickým výzkumem MUNI/A/1365/2015 z prostředků MSMT v roce 2016.

## **DYNAMIKA B LYMFOCYTÁRNÍCH SUBPOPULACÍ V ČASE U PACIENTŮ S BĚŽNÝM VARIABILNÍM IMUNODEFICITEM (CVID)**

**Terézia Ignáčová, Karolína Jašková**

*Ústav klinické imunologie a alergologie*

**Školitelé:** prof. MUDr. Jiří Litzman, CSc., Mgr. Pavla Kadlecová

**Klíčová slova:** běžný variabilní imunodeficit, subpopulace B lymfocytů, lineární regresní analýza, průtoková cytometrie

### **Úvod:**

Běžný variabilní imunodeficit (common variable immunodeficiency – CVID) je nejčastější primární hypogamaglobulinémií dospělých. Laboratorně je charakterizován sníženými hladinami imunoglobulinů, špatnou odpovídavostí na proteinové a polysacharidové antigeny a odchylkami v počtu nebo funkci T a B lymfocytů, antigen prezentujících buněk i NK buněk. Při vyšetření B lymfocytárních subpopulací nalézáme pokles počtu paměťových B lymfocytů a plazmablastů a vzestup počtu B lymfocytů s nízkou expresí antigenu CD21.

Cílem práce bylo sledovat v čase subpopulace B lymfocytů, které jsou u pacientů s CVID abnormální, a zhodnotit jejich časovou stabilitu. Zároveň jsme chtěli posoudit tyto trendy u kontrolních zdravých osob.

### **Metody:**

Provedli jsme retrospektivní analýzu 36 pacientů (24 žen a 12 mužů, ve věku 21–75 let na počátku studie), všichni byli léčeni substituční terapií imunoglobuliny. Ke srovnání jsem použili skupinu 22 zdravých kontrolních osob (16 žen a 6 mužů ve věku 25–53 let na počátku studie). Sledování probíhalo 38–85 měsíců ve skupině pacientů a 62–99 měsíců u kontrolních osob. U těchto osob jsme pomocí metody průtokové cytometrie sledovali počty B lymfocytů a jejich subpopulací. V rámci



B lymfocytárních subpopulací jsme sledovali absolutní i relativní počty naivních (CD27-IgM+), tranzientních (CD24++CD38++), buněk marginální zóny (CD27+IgM+), izotypově přesmyknutých buněk (CD27+IgM-), CD21low (CD21lowCD38low) a celkových B lymfocytů (CD19+). K hodnocení jsme použili model lineární regrese, byl vypočítán sklon regresní přímky  $\beta$ . Za statisticky významné jsme považovali hodnoty  $p < 0,05$ .

### **Výsledky:**

Obě pozorované skupiny vykazovali snížení absolutních počtů leukocytů (u pacientů  $\beta = -0,010$ ;  $p = 0,002$ ; u kontrolních osob  $\beta = -0,009$ ;  $p = 0,002$ ), a také celkového počtu lymfocytů (u pacientů  $\beta = -0,020$ ;  $p = 0,045$ ; u kontrolních osob  $\beta = -0,004$ ;  $p = 0,001$ ). Pokles byl zaznamenán také u absolutního i relativního počtu naivních B-lymfocytů, u pacientů (absolutní  $\beta = -0,0003$ ;  $p = 0,019$ ; relativní  $\beta = -0,074$ ;  $p < 0,0001$ ) a u kontrolních osob (absolutní  $\beta = -0,001$ ;  $p = 0,003$ ; relativní  $\beta = -0,094$ ;  $p = 0,0003$ ). Relativní zastoupení transientních buněk vzrostlo (u pacientů  $\beta = 0,025$ ;  $p = 0,006$ ; u kontrolních osob  $\beta = 0,017$ ;  $p = 0,001$ ). Nárůst byl zaznamenán také v relativních počtech paměťových buněk (u pacientů  $\beta = 0,007$ ;  $p = 0,019$ ; u kontrolních osob  $\beta = 0,038$ ;  $p = 0,027$ ). Jen u kontrolních osob poklesl relativní počet lymfocytů ( $\beta = -0,032$ ;  $p = 0,035$ ) a absolutní počet celkových B lymfocytů ( $\beta = -0,001$ ;  $p = 0,027$ ) a vzrostl relativní počet buněk marginální zóny ( $\beta = 0,0334$ ;  $p = 0,049$ ). U pacientů došlo také k poklesu relativních hodnot subpopulace CD21low ( $\beta = -0,029$ ;  $p = 0,035$ ). Srovnání analýz obou skupin prokázalo, že subpopulace CD21low vykazuje u pacientů klesající tendenci a u kontrolních osob spíše nárůst ( $p = 0,021$ ). Relativní počet paměťových buněk měl u sledovaných skupin tendenci k růstu, avšak u pacientů k němu docházelo významně pomaleji ( $p = 0,019$ ).

### **Závěr:**

Většina z B lymfocytárních subpopulací vykazuje v čase obdobnou dynamiku u pacientů s COVID i u kontrolních osob. Jde o pokles počtu celkových leukocytů, lymfocytů a naivních buněk a nárůst počtu tranzientních buněk. Při srovnání sledovaných skupin pozorujeme významné rozdíly ve vývoji počtu CD21low buněk, u pacientů klesají, u kontrol vzrůstají. Paměťové buňky u obou skupin vykazují nárůst s různou dynamikou. Abnormalita těchto subpopulací je pro pacienty s COVID charakteristická. V průběhu času dochází k jejich změnám směrem k normálním hodnotám, avšak nikdy jich nedosahují. Zda mají naše zjištění patogenetický význam, nebo se jedná o laboratorní epifenomén bude muset potvrdit jiná nezávislá studie, jelikož jde o zatím prioritní zjištění.

# SROVNÁNÍ NEJČASTĚJI VYUŽÍVANÝCH METOD DETEKCE HOTSPOT MUTACE GENU NOTCH1 U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ

**Eva Vávrová, Barbara Kantorová, Barbara Vonková, Jitka Kabáthová, Jana Kotašková,  
Jitka Malčíková, Karla Plevová, Michael Doubek, Jiří Mayer**

*Středoevropský technologický institut (CEITEC) Masarykovy univerzity Brno*

**Školitelka:** prof. MUDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.

**Klíčová slova:** chronická lymfocytární leukemie, gen NOTCH1, přímé Sangerovo sekvenování, fragmentační analýza, alelově specifické PCR

## **Úvod:**

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) patří v České republice mezi nejčastěji diagnostikovanou leukemii dospělé populace. Toto onemocnění je charakterizované mimořádně heterogenním a těžko předvídatelným klinickým průběhem. Mezi významné nepříznivé markery CLL, mající vliv na léčebnou rezistenci a zkrácené přežívání pacientů, patří mutace transmembránového receptoru NOTCH1. Optimální metodika pro rutinní analýzu nejčastěji se vyskytující hotspot mutace genu NOTCH1 (c.7541\_7542delCT, 80 % NOTCH1 mutací) však nebyla dosud stanovena. Cílem této studie tedy bylo porovnat účinnost tří běžně využívaných molekulárně-biologických metod při detekci hotspot NOTCH1 mutace u pacientů s CLL.

## **Metody:**

Pro detekci mutace c.7541\_7542delCT genu NOTCH1 byly paralelně použity následující metody: přímé Sangerovo sekvenování, fragmentační analýza a alelově specifická PCR. V případě Sangerova sekvenování a fragmentační analýzy byl výskyt hotspot NOTCH1 mutace hodnocen na ABI PRISM 3700 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Při alelově specifické PCR byly výsledné amplifikační produkty analyzovány s využitím QIAxcel DNA screening kitu (Qiagen) nebo agarózové elektroforézy. S využitím kombinace všech zvolených detekčních přístupů byla přítomnost hledané NOTCH1 mutace vyšetřena na souboru 201 neléčených pacientů s CLL sledovaných na Interní hematologické a onkologické klinice Fakultní nemocnice Brno. Do souboru byli přednostně zařazeni pacienti s klinicky nepříznivým průběhem CLL a také nemutovaným stavem genů kódujících variabilní oblast těžkého řetězce imunoglobulinu (IGHV geny), u kterých lze předpokládat zvýšený záchyt NOTCH1 mutací. Výchozím materiálem pro všechny analýzy byla DNA izolovaná ze separovaných CD19+ lymfocytů popřípadě mononukleárních buněk periferní krve (RosetteSep kity; StemCell Technologies). Citlivost detekce zvolených metod byla určena na základě analýzy vzorků s různým zastoupením mutované DNA (5–100 %) připravených smícháním vzorku nesoucího mutaci ve 100 % DNA s odpovídajícím množstvím vzorku DNA bez hotspot mutace genu NOTCH1.

## **Výsledky:**

Pomocí kombinace všech zvolených metodik byla mutace c.7541\_7542delCT genu NOTCH1 detekována celkem u 14 % (28/201) pacientů s CLL. S užitím všech tří zvolených metodik bylo shodného výsledku dosaženo celkem u 197 pacientů; u 24 pozitivních a všech 173 negativních vzorků. U zbývajících čtyř pacientů byla přítomnost hledané mutace zaznamenána pouze s využitím přímého Sangerova sekvenování a fragmentační analýzy, zatímco alelově specifická PCR mutaci nedetekovala a označila příslušné vzorky jako negativní. Dá se předpokládat, že u těchto pacientů

bylo zastoupení mutace pod hranicí detekce alelově specifické PCR. Tato skutečnost koreluje s výsledky analýzy citlivosti jednotlivých metod, při níž byla alelově specifická PCR schopna detekovat přítomnost mutace ve vzorku DNA až při jejím minimálním 10% zastoupení. Naproti tomu s využitím fragmentační analýzy a také Sangerova sekvenování jsme byli schopni určit mutaci již na úrovni 5 % mutované DNA. Vysoká detekční citlivost Sangerova sekvenování byla v tomto případě zapříčiněna posunovým charakterem hotspot NOTCH1 mutace, kterou tak bylo možné detekovat v méně než běžně deklarovaném 10% zastoupení. Kromě zkoumané mutace c.7541\_7542delCT genu NOTCH1 bylo navíc pomocí tohoto přístupu možné současně detekovat další sekvenační varianty nacházející se v analyzované genové oblasti. Navzdory nižší citlivosti zůstává nespornou výhodou alelově specifické PCR její poměrně nízká laboratorní a finanční náročnost.

#### **Závěr:**

Mutace c.7541\_7542delCT genu *NOTCH1* byla díky použití kombinace přímého Sangerova sekvenování, fragmentační analýzy a alelově specifické PCR nalezena celkem u 14 % (28/201) pacientů s CLL. V důsledku nižší citlivosti nebyla pomocí alelově specifické PCR u 4 pacientů *NOTCH1* mutaci rozpoznána, zatímco Sangerovo sekvenování a fragmentační analýza byly schopné detekovat všech 28 *NOTCH1*-mutovaných vzorků. Díky srovnatelné detekční účinnosti může fragmentační analýza v rutinní praxi sloužit jako cenná náhrada nákladnějšího Sangerova sekvenování. Výsledky této studie mohou sloužit jako základ pro vytvoření koncepce screeningu hotspot mutace c.7541\_7542delCT genu *NOTCH1*, jenž by v budoucnu mohl být u pacientů s CLL běžně prováděn.

#### **Poděkování:**

Studie byla podpořena granty AZV-MZ-CR 15-31834A, MSMT CEITEC 2020 (LQ1601) a MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

## **ID ACE POLYMORFISMUS U PACINETŮ S KOŽNÍM T LYMFOMEM**

**Lucie Strýčková**

*Ústav patologické fyziologie*

**Školitel:** MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

**Klíčová slova:** maligní lymfom, genové polymorfismy, ACE, fototerapie

#### **Úvod:**

Kožní T-lymfom je heterogenní skupinou maligních onemocnění z T-lymfocytů, jejichž projevy se vyskytují primárně na kůži. Ačkoliv se tato nemoc intenzivně zkoumá, příčina ani faktory rozvoje onemocnění od benigních projevů (parapsoriáza) až po tumorózní stádium nejsou dosud jednoznačně objasněny. Protože propustnost cévní stěny pro proliferační T-lymfocyty zřejmě hraje roli v rozvoji zejména pozdních forem kožního T-lymfomu, dá se předpokládat, že geny ovlivňující stav cévní stěny mohou přispívat ke klinické manifestaci závažných forem tohoto onemocnění. Cílem této studie bylo proto analyzovat potenciální asociace mezi genetickým polymorfismem I/D ACE a fenotypovými charakteristikami nemoci u skupiny pacientů s kožním T-lymfomem.

#### **Metody:**

Do studie jsme zařadili celkem 114 pacientů s kožním T-lymfomem, diagnostikovaných a léčených na 1. dermatovenerologické klinice Fakultní nemocnice u sv. Anny a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity. Jednalo se o 70 mužů a 44 žen srovnatelného věku (medián 56 let, rozmezí 20–82 let).

U všech těchto pacientů byl vyšetřen genotyp v inzerčně delečním polymorfismu v genu pro angiotenzin konvertující enzym (I/D ACE). Genotypizace se prováděla na DNA izolované z periferní krve konvenční metodou polymerázové řetězové reakce. Protože inzerční a deleční alela se od sebe délkově významně liší, mohli jsme amplifikované úseky separovat na horizontální elektroforéze. Genotyp jsme stanovili v UV světle pomocí etidium bromidu.

Výsledky jsme statisticky zhodnotili pomocí programu Statistika 12. Použili jsme přitom neparametrické testy, jako je chí kvadrát, Fisher exact test, Kruskal-Wallis ANOVA.

### **Výsledky:**

Podle očekávání jsme prokázali, že polymorfismus I/D ACE je asociován s pozitivní rodinnou anamnézou kardiovaskulárních nemocí. Pacienti s kožním T-lymfomem a genotypem DD a ID mají v rodině 3× častěji kardiovaskulární onemocnění oproti pacientům s genotypem II (odds ratio 3,18; 95 % konfidenční interval 1,298–7,798;  $P = 0,01$ ). DD genotyp jsme dále asociovali s typem léčby (fototerapie). Ženy s genotypem DD byly 7× častěji léčeny fototerapií oproti pacientkám s genotypem II nebo ID (odds ratio 6,972; 95 % konfidenční interval 1,572–30,870;  $P = 0,008$ ). Neproklázali jsme rozdíl v distribuci genotypů ani ve frekvenci alel mezi muži a ženami s kožním T-lymfomem. Neproklázali jsme ani asociaci tohoto polymorfismu ze stádiem kožního T-lymfomu.

### **Závěr:**

Pacienti, zejména ženy, s kožním T-lymfomem a genotypem DD byly statisticky signifikantně častěji léčeny fototerapií. Fototerapie je obecně vybrána jako léčba spíše u pacientů s počátečními stádii onemocnění. Alela D se přitom prokazatelně častěji vyskytuje u pacientů s kardiovaskulárními nemocemi. V našem souboru jsme ji také častěji nacházeli u pacientů s kardiovaskulárním onemocněním v rodině. Závěrem můžeme konstatovat, že polymorfismus I/D ACE má u pacientek s kožním T-lymfomem farmakogenetickou asociaci s fototerapií.

### **Poděkování:**

Tato práce byla realizována na Masarykově univerzitě jako součást projektu MUNI/A/1423/2015 s podporou Specifického univerzitního výzkumu, kterou poskytlo Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v roce 2016.

## **STUDIUM ZMĚN V PLEXUS CHOROIDEUS PO INTRAPERITONEÁLNÍ APLIKACI PACLITAXELU**

**Adriana Slaníková, Michael Lujc, Rahul Cacodcar**

*Anatomický ústav*

**Školitel:** MUDr. Marek Joukal

**Klíčová slova:** paclitaxel, periferní neuropatie, plexus choroideus, hemato-likvorová bariéra, makrofágy, Kolmerovy buňky, imunohistochemie

### **Úvod:**

Paclitaxel je cytostatikum z třídy taxanů používané při léčbě solidních tumorů. Jedním z jeho vedlejších účinků je rozvoj periferní neuropatie na podkladě poruchy homeostázy kalcia a poškození mitochondrií v axonech periferních nervů. Současně dochází k buněčným a molekulárním změnám ve vyšších etážích centrální nervové soustavy. Jednou z cest šíření zánětové reakce může být hemato-likvorová bariéra v plexus choroideus (CP) mozkových komor. Předpokládáme, že paclitaxel může působit přímo na buňky CP nebo nepřímo uvolněním signálních molekul z axonů

poškozených nervů. Cílem naší práce bylo studium buněčných a molekulárních změn v CP po intraperitoneální aplikaci paclitaxelu.

### **Metody:**

Experimenty byly provedeny na 15 potkanech linie Wistar (samci, 250–300 g). Intaktní zvířata bez podání jakékoliv látky (naivní; n = 5) a skupina zvířat po podání vehikula (n = 5) tvořila referenční soubor. Experimentální skupině zvířat (n = 5) byl ve čtyřech dávkách intraperitoneálně aplikován paclitaxel v kumulativní dávce 8 mg/kg. Kontrolním zvířatům bylo ve čtyřech dávkách podáno vehikulum tvořené alkoholem a kremoforem. Zvířata experimentální a kontrolní skupiny byla usmrcena 7 dnů po poslední dávce inhalací CO<sub>2</sub>, perfundována přes aortu fyziologickým roztokem s heparinem a následně Zamboniho fixačním roztokem. Odebrané mozky zvířat byly ponechány tři dny v Zamboniho fixačním roztoku. Po oplachování v 10% sacharóze ve fosfátovém pufru byly zhotoveny kryostatové koronální řezy o tloušťce 20 μm v úrovni třetí a laterální komory. Na řezech mozkiem byly imunohistochemicky detekovány aktivované (ED1) a rezidentní (ED2) makrofágy a dendritické buňky (OX-42). Proliferační aktivita buněk CP byla sledována imunohistochemicky protilátkou proti antigenu Ki67. Toll-like receptor 9 (TLR-9) byl detekován nepřímou imunohistochemickou reakcí. Imunohistochemické reakce byly vyhodnoceny ve fluorescenčním mikroskopu a počet ED1+, ED2+, OX42+, Ki67+ buněk a intenzita TLR-9 imunofluorescence byly kvantifikovány analýzou obrazu a statisticky zpracovány.

### **Výsledky:**

Imunohistochemicky byly detekovány aktivované (ED1+) a rezidentní (ED2+) makrofágy a dendritické buňky (OX-42+). Všechny takto fenotypizované buňky byly pozorovány v CP převážně v epiplexální pozici, kde jsou popisovány Kolmerovy buňky. Po intraperitoneální aplikaci paclitaxelu nebo vehikula došlo v CP ke statisticky signifikantnímu zvýšení počtu aktivovaných (ED1+) a rezidentních (ED2+) makrofágů ve srovnání s intaktními potkany. Statisticky významný nárůst počtu ED1+ i ED2+ makrofágů byl zjištěn v CP zvířat po aplikaci paclitaxelu ve srovnání s aplikací vehikula. Při srovnání kontrolních skupin a experimentálních zvířat nedošlo k významné změně v počtu OX-42+ buněk v CP. Imunohistochemickou detekcí byla přítomnost TLR-9 prokázána na povrchu kuboidních buněk CP. Ve srovnání s intaktními zvířaty bylo v CP zvířat po podání paclitaxelu nebo jen vehikula prokázáno statisticky významné zvýšení TLR-9 imunofluorescence. Aplikace paclitaxelu však vyvolala statisticky významné zvýšení TLR-9 imunofluorescence ve srovnání se zvířaty, kterým bylo podáno pouze vehikulum. Ve srovnání s intaktními zvířaty i zvířaty po podání vehikula byla po aplikaci paclitaxelu prokázána zvýšená proliferace buněk převážně v epiplexální pozici CP.

### **Závěr:**

Intraperitoneální aplikace paclitaxelu vyvolala zvýšení počtu rezidentních i aktivovaných makrofágů v CP potkanů. Tyto buněčné změny mohou souviset se zvýšenou expresí TLR-9 v CP jednotlivých skupin po podání paclitaxelu. Je známo, že TLR-9 je specifickým receptorem pro molekuly, které se uvolňují z poškozené tkáně včetně poškozených axonů. Po aplikaci paclitaxelu dochází k uvolnění ligandů TLR-9 z poškozených axonů periferních nervů. Předpokládáme, že se tyto molekuly dostávají do krve a touto cestou přes TLR-9 mohou ovlivnit buněčné složení CP a propustnost hemato-likvorové bariéry.

### **Poděkování:**

Výsledky byly získány za finanční podpory výzkumného záměru MUNI/A/1268/2015.

# CELOGENÓMOVÝ CRISPR-CAS KNOCKOUT SKRÍNING PRE IDENTIFIKÁCIU GÉNOV DÔLEŽITÝCH PRI REZISTENCII NA NUTLIN

Ján Karaffa, Petr Müller

Regionální centrum aplikované molekulární onkologie

**Školitel:** MUDr. Petr Müller, Ph.D.

**Klíčová slova:** CRISPR-Cas, p53, p21, Nutlin, rezistence

## Úvod:

Proteín p53 má centrálnu úlohou pri bunkovom strese a ochrane pred malígnou transformáciou. Mutácia v géne pre p53 je najčastejšou mutáciou v nádorových bunkách. U časti nádorov, kde tento gén nachádzame neporušený, je však hladina p53 často potlačená trvalo zvýšenou expresiou proteínu MDM2, ktorý je ako E3 ubiquitin ligáza dôležitým negatívnym regulátorom p53. Inhibícia MDM2 a reaktivácia dráhy p53 tak vykazuje značný terapeutický potenciál. Medzi prvé aktívne molekuly patrí Nutlin-3, ktorý ruší interakciu medzi MDM2 a p53, čo vedie k stabilizácii a akumulácii p53 v jadre a následnej apoptóze rakovinovej bunky. Cieľom tejto práce bolo celogenómovým skríningom určiť gény, ktorých strata vedie k rezistencii na Nutlin-3.

## Metody:

Pre skríning bola využitá technológia CRISPR-Cas. Jej podstatou je endonukleáza navádzaná molekulou sgRNA (single-guide RNA) komplementárnou k vybranému génu. V cieľovom lokuse tak vznikajú dvojlákové zlomy, čo v dôsledku vedie k inaktivácii všetkých kópií príslušného génu. CRISPR-Cas systém je vnášaný do cieľovej bunky prostredníctvom lentivírusového vektora. Použitá bola knižnica sgRNA obsahujúca vyše 100 000 sekvencií pokrývajúcich vyše 15 000 génov. Transfekciou plazmidovej knihovne do produkčnej bunkovej línie 293TF boli vyprodukované lentivírusové vektory, ktoré boli následne použité k transdukcii bunkových línií senzitívnych na Nutlin-3. Celkovo bolo transdukovaných 3x10<sup>7</sup> buniek tak, aby každá bunka bola infikovaná maximálne jedným lentivírusom. Následne boli bunky selektované Nutlinom-3, tak aby bolo možné analyzovať prežívajúce bunky. Z týchto rezistentných klonov bola extrahovaná a sekvenovaná s použitím next-generation metódy. Takým spôsobom boli identifikované sgRNA pre knockout génov, čo viedli k prežitiu ich nositeľov.

## Výsledky:

Skríning ukázal, že v prítomnosti Nutlinu-3, prežívajú iba dve skupiny mutantov. Prvá je deficitná v samotnom TP53, čo je prirodzene predvídateľný výsledok. Druhá nesie knockout v géne pre proteín p21. Tento antionkogen je považovaný za hlavného spúšťača bunkovej senescencie a apoptózy v efektorovej dráhe p53. Zaujímavé v tomto prípade je, že už samotné vyradenie p21 ochránilo bunky pred účinkom Nutlinu-3 napriek tomu, že p53 by mal spúšťať tak isto aj iné dráhy vedúce k apoptóze. Možným vysvetlením je, že tieto dráhy vedú k efektívnej apoptóze len za prítomnosti imunitného systému. Ďalšou možnosťou je existencia pozitívnej spätnej väzby proteínu p21 na p53, ktorá je potrebná pre akumuláciu p53 a podmieňuje tak aktiváciu apoptotickej dráhy.

## Záver:

Táto práca ukázala, že celogenómový skríning za pomoci CRISPR-Cas umožňuje efektívne identifikovať gény, ktorých funkcia je potrebná pre pôsobenie špecifických aktivátorov p53. Výsledky tejto práce tak môžu v budúcnosti slúžiť k analýze mechanizmu účinku nových liečiv, alebo k identifikácii prediktívnych faktorov využiteľných v individualizovanej protinádorovej terapii.

# ÚLOHA MUTÁCIÍ V PROTEÍNE RAD51 PRI ROZVOJI NESTABILITY GENÓMU A VZNIKU NÁDORU

Ondrej Beláň, Karina Movsesjan, Mário Špírek, Lumír Krejčí

Biologický ústav

**Školiteľ:** doc. Mgr. Lumír Krejčí, Ph.D.

**Kľúčová slova:** nádorová transformácia, genomová nestabilita, homologická rekombinácia, replikačný stres, RAD51

## Úvod:

Dvojreťazcové zlomy (DSBs) sú jedným z najvážnejších poškodení DNA, ak neopravené – môžu viesť k smrti bunky alebo malignite. Za ich presnú opravu je zodpovedná homologická rekombinácia (HR), DNA opravná dráha, v ktorej centrálnu úlohu hrá proteín RAD51 a jeho regulátory. Mutácie v regulátoroch RAD51 (BRCA2/RAD51C) sú asociované s výskytom nádoru prsu, ovárií a Fanconiho anémiou (FA). Nedávne štúdie odhalili FA/tumor-asociované mutácie v RAD51 géne. Avšak ich vplyv na funkciu RAD51 a rola pri vzniku nádoru sú nejasné. Cieľom našej práce bolo detailne charakterizovať RAD51 mutant nájdený u nádoru uteru (RAD51 SY) a u FA-like pacienta (RAD51 TP) a navrhnúť mechanizmus, akým sa u buniek nesúcich mutant môže rozvinúť genomová nestabilita.

## Metody:

Do expresného vektoru pre produkciu RAD51 WT boli miestne cielenou mutagenézou vnesené vybrané bodové mutácie. Všetky proteínové konštrukty použité v práci boli exprimované v *E. coli* a purifikované pomocou chromatografických metód. Izolované proteíny boli testované na schopnosť viazať DNA gélovou retardačnou analýzou (EMSA). Pre overenie schopnosti interagovať s kľúčovými mediátormi HR poslúžila tzv. „pull-down“ analýza. Katalytická aktivita mutantov bola testovaná pomocou analýzy výmeny DNA reťazcov a analýzy tvorby D-loop štruktúry. Ďalšími otestovanými parametrami boli: disociácia RAD51-ssDNA vlákien v prítomnosti kompetičnej ssDNA (EMSA), hydrolýza ATP (kolorimetrická ATPázová assay), schopnosť chrániť DNA pred degradáciou nukleázami (nukleázová protekčná assay) a schopnosť oligomerizovať. Experimenty boli prevedené v triplikátoch a štatisticky vyhodnotené. Napokon bola vykonaná stopped-flow analýza predrovnovážnej kinetiky tvorby RAD51-ssDNA vlákien pre detailné pochopenie mechanistického vplyvu daných mutácií.

## Výsledky:

Tumor-asociovaný RAD51 SY mutant je schopný viazať DNA i napriek nižšej afinite v porovnaní s RAD51 WT. Taktiež si zachováva interakciu s BRC3 motívom BRCA2 proteínu. Rovnako ako RAD51 WT je rekombinačne aktívny a schopný invadovať ssDNA do homologického duplexu. Avšak RAD51 SY vlákno je výrazne nestabilné a náchylné k nukleolytickej degradácii. Pre porovnanie bol otestovaný aj FA-asociovaný RAD51 TP mutant, ktorý je rovnako neschopný zabrániť zvýšenej degradácii DNA. RAD51 SY a RAD51 TP sa však výrazne odlišujú spôsobom, ktorým k zníženiu ochrany DNA dochádza: zatiaľ čo RAD51 SY (vďaka na hydrolýze ATP-závislému mechanizmu) tvorí nestabilné a dynamické vlákna poskytujúce priestor pre nukleázové štiepenie DNA pri disociácii RAD51 SY podjednotiek, RAD51 TP vykazuje výrazne zníženú afinitu k DNA a tvorbu aberantne usporiadaných proteín-DNA komplexov pravdepodobne z dôvodu narušenia samotnej oligomerizačnej schopnosti proteínu.

**Závěr:**

Naše výsledky naznačují, že nádorová SY mutácia nemá vplyv na rekombinačnú aktivitu RAD51, avšak znižuje jeho schopnosť chrániť DNA pred štiepením nukleázami. Bunky s touto mutáciou by mohli byť stále schopné opravovať DSBs pomocou HR, avšak zostávať defektné v RAD51-sprostredkovanej ochrane zastavených replikačných vidlíc, ktorých degradácia by mala za následok rozvoj genómovej nestability podobne ako v prípade RAD51 TP mutácie u FA-like syndrómu. Biomolekulárny podklad zníženej ochrany DNA sa zdá byť u oboch mutantov odlišný. Pri terapii podobných nádorov by látky indukujúce DSBs nemuseli byť dostatočne účinné, zatiaľ čo zablokovanie replizómu by mohlo nádor selektívne preťažiť, a tým prispieť k účinnejšej liečbe.

**PodĎakování:**

Táto práca vznikla za podpory grantov GACR13-26629S a GACR207/12/2323.

## **MODIFIKOVANÉ FORMY CHEMOTERAPEUTIK JAKO PROSTŘEDEK CÍLENÉ PROTINÁDOROVÉ TERAPIE**

**Anna Skotáková, Michaela Fojtů, Monika Holubová, Radek Marek, Jan Chyba**

*Ústav patologické fyziologie*

**Školitel:** RNDr. Michal Masařík, Ph.D.

**Klíčová slova:** nanočástice, doxorubicin, cis-platina, cyklodextrin, cílená terapie

**Úvod:**

V dnešní době je snaha protinádorovou léčbu co nejvíce směřovat do postižené tkáně s cílem snížit nežádoucí účinky, které léčba přináší. Jednou z metod, jak léčivo cílit do nádorové tkáně, je uzavření do nanočástic. V této práci se zabýváme toxicitou anthracyklinového chemoterapeutika doxorubicinu uzavřeného do lipidových nosičů – liposomu (Lip-8-dox), do proteinového nosiče, v našem případě se jedná o apoferitin (Apodox) a srovnáváme s přípravkem Myocet (komerčně dostupný liposomální doxorubicin). Dále se zabýváme působením alkylačního činidla cis-platiny navázaného na sacharidové nosiče  $\beta$ -cyklodextriny. Cílem této práce je porovnat toxicitu chemoterapeutik uzavřených v různých typech nosičů s nemodifikovanými formami.

**Metody:**

Všechny analýzy byly prováděny samostatně pro volné léčivo, uzavřené v nosiči i pro samotný nosič. V případě léčiva Apodox a Lip-8-dox byly testy cytotoxicity prováděny na nenádorové prostatické buněčné linii PNT1A, linii 22RV1 odvozené z karcinomu prostaty a linii LNCaP z metastázy v lymfatických uzlinách. Toxicita byla hodnocena pomocí dvou metod: MTT testem, který odráží metabolickou aktivitu buněk, konkrétně enzymu sukcylnátdehydrogenázy, který katalyzuje redukci tetrazoliové soli na barevný formazan. MTT test je hodnocen spektrofotometricky. Dále metodou RTCA pomocí přístroje xCELLingence. Zde se vyhodnocuje viabilita buněk na základě změny impedance v reálném čase. Následně byly buňky léčené různými druhy doxorubicinu analyzovány průtokovou cytometrií pro analýzu buněčné smrti.

K analýzám toxicity cis-platiny byly využity nádorové buněčné linie A2780 (odvozeno od ovariálního epiteliálního karcinomu) a A549 (plicní karcinom). Srovnání cytotoxicity volné cis-platiny oproti formě vázané na  $\beta$ -cyklodextriny bylo prováděno pomocí MTT testu, RTCA a scratch testu (hodnocení migrační schopnosti buněk).



### **Výsledky:**

Hodnocení efektu jednotlivých forem léčiv bylo prováděno pomocí stanovení IC50, tedy koncentrace, při které je usmrceno 50% buněk. Při analýzách jsme zjistili, že formy doxorubicinu, uzavřené do liposomálního i proteinového nosiče vykazují nižší toxicitu pro všechny tři buněčné linie, než volný doxorubicin. Myocet je látkou nejméně toxickou, s malou toxicitou pro buněčnou linii odvozenou ze sekundárního nádoru. Při analýze liposomálního doxorubicinu Lip-8-dox jsme zjistili, že je nejméně toxický pro nenádorovou buněčnou linii, naopak pro buňky odvozené z metastázy vykazoval vysokou toxicitu.

Při analýzách platinových derivátů jsme potvrdili jejich výraznou toxicitu pomocí MTT testu. Zároveň jsme prokázali, že samotné  $\beta$ -cyklodextrinové nanonosiče nevykazují vůči nádorovým buněčným liniím žádný cytotoxický efekt.

### **Závěr:**

Tato studie se zaměřila na srovnání toxicity nových modifikovaných forem doxorubicinu a cis-platiny. Výsledky potvrdily nižší toxicitu komerčně dostupného Myocetu a také modifikovaných forem - Lip-8-dox a Apodox. Bylo rovněž prokázáno, že liposomální úprava doxorubicinu - Lip-8-dox, vykazuje vyšší toxicitu vůči nádorovým buněčným liniím než nenádorovým. Na základě této pilotní studie budou zjištěné poznatky ověřeny a doplněny experimenty na zvířecích modelech.

### **Poděkování:**

Podpořeno specifickým výzkumem MUNI/A/1426/2015 a projektem GAČR GA16-05961S.

## **VARIABILITA GENU PRO MOZKOVÝ NEUROTROFNÍ FAKTOR (BDNF) U STŘEDOEVROPSKÉ OBÉZNÍ A NEOBÉZNÍ POPULACE**

**Jakub Jelinek**

*Ústav patologické fyziologie*

**Školitelka:** doc. MUDr. Julie Bienertová Vašků, Ph.D.

**Klíčová slova:** *obezita, mozkový neurotrofní faktor, BDNF, SNP, adipokiny*

### **Úvod:**

Obezita, z definice nadměrná akumulace tuku, jež může vést k poškození zdraví, je celosvětovým problémem s rychle rostoucí prevalencí. Mezi regulační molekuly příjmu potravy můžeme zařadit i mozkový neurotrofní faktor (BDNF), přičemž jeho anorexigenní potenciál byl potvrzen při mnoha příležitostech. V současnosti neexistuje dostatek informací o vlivu polymorfismů (SNPs) genu BDNF u pacientů středoevropského původu. Celkem genotypizovány 4 SNP: rs6265, rs7124442, které byly vybrány na základě předchozích průkazů efektu na hladiny BDNF, a rs925946 a rs10501087 kvůli předchozím asociacím s obezitou u odlišných populací. Cílem této studie bylo prozkoumání vztahu mezi vybranými polymorfismy a fenotypem obézních a neobézních pacientů.

### **Metody:**

Celkem bylo vybráno 103 pacientů (46,3 ± 11,8 let; 78 žen), kteří byli rozděleni do skupin dle BMI. Do první skupiny se zařadilo 60 pacientů (BMI 45,0 ± 5,9; věk 50,8 ± 11,0), zbylých 43 pacientů vytvořilo kontrolní soubor (BMI 23,1 ± 2,1; věk 40,2 ± 10,1). Všem pacientům byly odebrány sliny, z nichž byla izolována DNA pomocí modifikované klasické proteinázové metody. Část pacientů podstoupila odběr krve, z jejíž plazmy byly stanoveny hladiny adipokinů (leptin, adiponektin 1,

adiponektin 2, AgRP, resistin, BAFF, adipsin, omentin, visfatin). Genotypizace SNP rs6265 C/T, rs7124442 T/C, rs925946 G/T a rs10501087 T/C byla provedena metodou qPCR na přístroji ABI PRISM 7000 s využitím TaqMan Genotyping assays. Pro analýzu dat byly použity T-test, Welchův test, Mann-Whitneyův test, Kolmogorovův-Smirnovův test, ANOVA a MEM.

### **Výsledky:**

V souboru jsme nepozorovali asociace mezi plazmatickými/sérovými hladinami sledovaných adipokinů a vybranými polymorfismy (rs6265, rs7124442, rs925946 a rs10501087). Potvrdili jsme očekávanou vazbu rs6265 s intronovým rs7124442 ( $p = 0,022$ ), který se vyskytoval společně s rs925946 ( $p < 0,001$ ). Překvapivě se u mužů vyskytovaly častěji minoritní alely (rs7124442 T/C,  $p = 0,02$ ; rs925946 G/T,  $p = 0,076$ ), aniž by byl signifikantní rozdíl v BMI pohlaví (muži  $36,6 \pm 11,8$ ; ženy  $35,6 \pm 11,9$ ;  $p = 0,442$ ). Zaznamenali jsme statisticky významný rozdíl v podílu tělesného tuku u rs7124442 (TT =  $42,2 \pm 11,8$ /TC+CC =  $36,3 \pm 14,6$ ;  $p = 0,042$ ) a u rs925946 (GG =  $42,9 \pm 12,1$ /GT+TT =  $36,8 \pm 14,2$ ;  $p = 0,029$ ). Výsledky nepotvrdily dříve nalezenou asociaci SNP rs6265 s obezním fenotypem. Exonový SNP rs6265, označovaný též Val66Met, byl v předchozích studiích asociován s obezitou a množstvím psychických poruch. Jeho efekt je vysvětlován změnou terciární struktury výsledného proteinu, jež vedla ke snížené vazbě k receptorům.

### **Závěr:**

Výsledky prokázaly vazbu polymorfismů (rs7124442, rs925946), opačného vlákna mozkového neurotrofního faktoru (BDNF-AS), s nižším procentem tělesného tuku. U transkriptu BDNF-AS, který se dále netranslatuje (BDNF-AS - ncRNA) bylo zjištěno, že tonicky brání transkripci mRNA BDNF pozměněním chromatinové struktury v oblasti BDNF, kterou váže. Sníží-li se vaznost BDNF-AS RNA transkriptu, zvýší se tvorba BDNF a tím pádem se prohloubí jeho anorexigenní potenciál. Domníváme se tedy, že minoritní alely způsobují zhoršení vazby BDNF-AS RNA transkriptu k chromatinu, která vede ke zvýšené expresi BDNF, což je v souladu s námi dokumentovaným výskytem minoritních alel rs7124442, rs925946 a nižším procentem tělesného tuku.

## **CONSUMPTION AND SALES OF HYPNOTIC DRUGS IN THE CZECH REPUBLIC**

**Romana Pekarová**

*Farmakologický ústav*

**Školitel:** PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.

**Klíčová slova:** *melatonin, insomnia, hypnotic drugs, consumption of hypnotics, prolonged-release melatonin*

### **Úvod:**

Melatonin plays a significant role in the regulation of sleep-wake cycle. Recently, its chronobiotic effects have been used in a treatment of various sleep disorders. However, benzodiazepines and Z-drugs are hypnotic drugs still commonly prescribed for a treatment of insomnia. Both carry a significant risk of adverse effects and are extremely overused and prescribed for a much longer time than indicated. The aim of this research is to point out an alternative treatment - melatonin, with a low toxicity level and a lack of side reactions and to analyze the consumption and sales of hypnotic drugs in the Czech Republic during the last 5 years.

**Metody:**

I analyzed the data about hypnotic drugs – their consumption, sales, and prices. The analysis was oriented on the medicines prescribed for the treatment of insomnia. Drugs registered and used lege artis in this therapeutic area in the Czech Republic are midazolam, oxazepam and cinolazepam – the preparations of short-acting benzodiazepines; zolpidem and zopiclone – the representatives of non-BZD drugs, and a prolonged-release melatonin preparation. All the values were extracted from the IMS sales database, they represent a five-year period – from 2011 up to date, periodically 4 times a year (divided into quarters). The consumption is expressed in standard units (SU) – the smallest drug dose available on the market, and the sales are expressed in thousands of euros. I summarized the data and processed them into graphs. All the results showed the most recent trends in prescription and sales of hypnotic type of drugs and determined the impact of the lately released melatonin analogues on the market changes of the other hypnotic preparations.

**Výsledky:**

The results of this analysis show a fluent development of the consumption and sales of single hypnotic drugs after the release of PR-melatonin to the Czech market.

- ▶ Benzodiazepines' usage is decreasing noticeably in all preparations, Z-drugs' consumption is falling down mildly, too. Midazolam has the steepest fall – 26.8 % decrease. Oxazepam has decreased milder – by 12.9 % and cinolazepam by 6.4 %. Zolpidem and zopiclone, the preparations of Z-drugs, also follow a descendent curve. Zolpidem falls by 21.8 % and zopiclone only by 1.6 %.
- ▶ Zolpidem is the most frequently prescribed hypnotic of all, its sales reach at least 5–6 times higher values than the other hypnotics'.
- ▶ PR-melatonin is after the primary peak descending the most markedly – up to 50 % fall.
- ▶ The average prices of the BZD drugs are slightly decreasing apart from cinolazepam's preparation and the prices of Z-drugs stayed almost the same for the whole 5-year period.
- ▶ The price of PR-melatonin is about 10 times higher than BZDs' and about 3 times higher than Z-drugs'. Its sales are descending rapidly.

**Závěr:**

The launch of PR-melatonin should have given a new alternative in a treatment of insomnia. But the development of situation in the Czech Republic does not seem to have proceeded as expected. Although the sales of BZD drugs are decreasing, PR-melatonin is not raising its sales, but contrary the consumption is descending the most rapidly and the Z-drugs are staying at a constant position on the market. The situation could be partially solved, if the price would not be that much higher than the price of the other hypnotics. One solution would be a strong reimbursement of melatonin analogues by the insurance companies as well as the price would decrease in case of more pharmaceutical companies which would produce PR-melatonin generics.

# VLIV ACETALDEHYDU NA INWARD RECTIFIER DRASLÍKOVÉ PROUDY IK1 A IK(ACh) U IZOLOVANÝCH SRDEČNÍCH BUNĚK POTKANA

**Roman Kula**

*Fyziologický ústav*

**Školitelka:** doc. MUDr. Markéta Bébarová, CSc.

**Klíčová slova:** *Acetaldehyd, inward rectifier, srdeční buňka, draslíkový proud*

## **Úvod:**

Konzumace alkoholu významně ovlivňuje elektrofiziologii srdce a může vést až k fibrilaci síní či letálním komorovým arytmiím. Cílem předložené práce bylo studovat vliv klinicky relevantní koncentrace acetaldehydu, primárního metabolitu etanolu, na inward rectifier draslíkové proudy IK1 a IK(Ach) u síňových srdečních buněk potkana. U IK1, který hraje významnou roli i v komorovém myokardu, bylo rovněž provedeno srovnání vlivu acetaldehydu u síňových a komorových buněk. Oba zmíněné proudy se významně podílejí na udržování klidového membránového napětí a na konečné fázi repolarizace srdečních buněk a jejich ovlivnění může být proarytmogenní.

## **Metody:**

Experimenty byly provedeny na enzymaticky izolovaných srdečních buňkách potkana metodou whole cell patch clamp, konkrétně technikou vnuceného napětí, a to při napětích  $-50$  a  $-110$  mV. Naměřená velikost proudu (nA) byla přepočítána na hustotu proudu (pA/pF), čímž byla korigována variabilita mezi buňkami různých velikostí. IK1 byl měřen jako proud citlivý na inhibici  $Ba^{2+}$  ( $100 \mu\text{mol/l}$ ), IK (Ach) jako proud citlivý na inhibici terciapinem-Q ( $300 \text{ nmol/l}$ ). Acetaldehyd byl aplikován v klinicky relevantní koncentraci  $3 \mu\text{mol/l}$ .

## **Výsledky:**

Při napětovém impulzu na  $-110$  mV nastala obdobná inhibice IK1 u síňových i komorových buněk, u síňového IK1 o  $12,0 \pm 2,0 \%$  a u komorového IK1 o  $13,2 \pm 5,0 \%$ . U síňových buněk byl srovnán efekt i při napětovém impulzu na  $-50$  mV, kdy byla inhibice mnohem výraznější (o  $26,0 \pm 5,0 \%$ ). Na IK(Ach) vykazoval acetaldehyd u většiny měřených buněk aktivační účinek, v průměru o  $37,5 \pm 31,0 \%$  při  $-50$  mV a o  $23,7 \pm 25,0 \%$  při  $-110$  mV. Všechny změny byly reverzibilní. Výsledky prokázaly významný vliv acetaldehydu na síňový IK1 a IK(Ach) při  $-50$  mV, tedy při napětí v konečné fázi repolarizace akčního napětí srdečních buněk. Síňový IK1 byl při  $-50$  mV téměř  $3\times$  větší než IK(Ach) ( $0,69 \pm 0,13 \text{ pA/pF}$ , resp.  $0,24 \pm 0,05 \text{ pA/pF}$ ). Z toho lze usoudit, že síňový IK1 se podílí větší mírou na konečné fázi repolarizace akčního napětí a že jeho inhibiční změny ovlivní výslednou délku akčního napětí více než aktivační změny IK(Ach).

## **Závěr:**

Předložená práce prokázala významný vliv primárního metabolitu etanolu acetaldehydu na inward rectifier draslíkové proudy IK1 a IK(Ach) v klinicky relevantní koncentraci. Změny těchto proudů byly protichůdné – aktivace u IK(Ach), avšak inhibice u IK1. Z průměrných velikostí proudu lze předpokládat převažující vliv inhibovaného IK1. Inhibiční vliv acetaldehydu na IK1 by mohl přispívat k prodloužení intervalu QT na elektrokardiogramu pozorovanému u osob po konzumaci alkoholu v klinické praxi.

## **Poděkování:**

Tato práce byla podpořena grantovým projektem Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví ČR číslo NT14301-3/2013.

# ZMĚNY DRASLÍKOVÉHO INWARD RECTIFIER PROUDU CITLIVÉHO NA ACETYLCHOLIN $I_{K(Ach)}$ POD VLIVEM NÁVYKOVÝCH LÁTEK: ETANOL A NIKOTIN

**Adam Vejmělek**

Fyziologický ústav

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

**Klíčová slova:** etanol, nikotin, inward rectifier, patch clamp

## Úvod:

Konzumace alkoholu a kouření cigaret má prokazatelný vliv na funkci kardiovaskulárního systému. Mimo jiné je diskutován jejich proarytmogenní účinek, který je podmíněn i přímým vlivem etanolu a nikotinu na funkci srdečních iontových kanálů. Tato práce se zaměřuje na objasnění vlivu klinicky relevantních koncentrací těchto návykových látek na kanál vedoucí draslíkový *inward rectifier* proud citlivý na acetylcholin  $I_{K(Ach)}$ . Tento proud významně ovlivňuje klidové membránové napětí a rovněž konečnou fázi repolarizace akčního napětí zejména u síňových srdečních buněk. Změna jeho funkce proto může výrazně ovlivnit elektrofyziologické vlastnosti těchto buněk.

## Metody:

Měření proudu bylo prováděno metodou *whole cell patch clamp* na enzymaticky izolovaných síňových srdečních buňkách potkana.

Pro aktivaci acetylcholinem aktivované složky  $I_{K(Ach)}$  byl aplikován 3  $\mu$ M acetylcholin. Pro změření velikosti konstitutivně aktivní složky  $I_{K(Ach)}$  (tj. složky aktivní stále, i bez přítomnosti acetylcholinu) byl použit specifický inhibitor  $I_{K(Ach)}$  kanálů tertiapin-Q v koncentraci 300 nM. Zkoumané látky byly aplikovány v klinicky relevantních koncentracích, etanol v koncentraci 20 mM (-0,9 ‰), nikotin v koncentraci 400 nM.

## Výsledky:

V kontrolních podmínkách byla velikost konstitutivně aktivní složky  $I_{K(Ach)}$  v průměru -0,79 pA/pF a velikost acetylcholinem aktivované složky  $I_{K(Ach)}$  -7,1 pA/pF.

Jak pod vlivem etanolu (20 mM), tak pod vlivem nikotinu (400 nM) došlo k významným změnám obou složek  $I_{K(Ach)}$ . Konstitutivně aktivní složka  $I_{K(Ach)}$  se v přítomnosti obou látek navýšila, pod vlivem etanolu o 101,4  $\pm$  6,8 % a pod vlivem nikotinu o 121,0  $\pm$  16,3 %. Naopak acetylcholinem aktivovaná složka  $I_{K(Ach)}$  se po aplikaci nikotinu snížila o 31,6  $\pm$  3,9 %. Vliv etanolu na acetylcholinem aktivovanou složku  $I_{K(Ach)}$  vykazoval dvojí efekt – u části měřených buněk bylo pozorováno zvýšení proudu (o 114,5  $\pm$  26,5 %), u jiných zase jeho snížení (o 33,6  $\pm$  7,4 %).

Aplikované látky vyvolaly menší procentuální změnu u acetylcholinem aktivované složky  $I_{K(Ach)}$ . Její absolutní hodnota v kontrole je ale o řád větší než u konstitutivně aktivní složky proudu. Proto lze předpokládat, že finální vliv změn acetylcholinem aktivované složky  $I_{K(Ach)}$  bude mít významnější dopad na elektrofyziologii síňové srdeční buňky.

## Závěr:

Z výsledků vyplývá, že etanol a nikotin při klinicky relevantní koncentraci ovlivňují funkční vlastnosti konstitutivní i acetylcholinem aktivované složky  $I_{K(Ach)}$ . Toto ovlivnění může přispívat k arytmogennímu účinku uvedených návykových látek.

## **Poděkování:**

Práce vznikla v rámci projektu „Kardiovaskulární systém: od modelu přes terapii k prevenci“ (MUNI/A/1365/2015) z prostředků na specif. vysokoškolský výzkum od MŠMT ČR (2016) a v rámci grantového projektu Interní grantové agentury MZČR(NT14301-3/2013).

# **PRÍPRAVA A TESTOVANIE BUNKOVEJ LÍNIE PRE CHARAKTERIZÁCIU MOLEKULÁRNEHO MECHANIZMU INHIBÍTOROV MRE11**

**Adrián Pieš**

*Biologický ústav*

**Školiteľ:** doc. Mgr. Lumír Krejčí, Ph.D., Mgr. Fedor Nikulenkov, Ph.D.

**Klíčová slova:** CRISPR/Cas9, oprava DNA, syntetická letalita, protinádorová terapia, génové inžinierstvo

## **Úvod:**

Pre bunku je oprava DNA veľmi dôležitá, denne vzniká v bunke vplyvom endogénnych faktorov okolo 100 000 poškodení, ktoré musia byť opravené. Bez opravy by dochádzalo k akumulácii mutácii, čo následne môže spôsobiť rad ochorení vrátane nádorového bujnenia. Preto si bunka vyvinula opravné mechanizmy, medzi ktoré patrí homológna rekombinácia, precízna oprava dvojreťazcových zlomov DNA. MRE11 je kľúčová nukleáza tohto mechanizmu. Zvýšená expresia MRE11 je častá u rakoviny prsníka, čo z neho robí dobrý marker pre toto ochorenie a jeho inhibítory majú terapeutický potenciál. Práve preto nás zaujímala príprava bunkovej línie s vyradeným génom MRE11, ktorú by sme následne použili pre charakterizáciu mechanizmu účinku našich MRE11 inhibítorov.

## **Metody:**

Pre prípravu bunkovej línie bol použitý CRISPR/Cas9 systém. Systém pozostáva z Cas9 nukleázy, ktorá spôsobí na konkrétnom mieste DNA dvojreťazcový zlom a z sgRNA (single-guide), RNA usmerňujúca Cas9 nukleázu ku cieľovej sekvencii DNA. Na návrh sgRNA bol použitý internetový nástroj <http://crispr.mit.edu/>. Vektor obsahujúci sgRNA, bol transfekovaný do CAL51 bunkovej línie. Cieľom bolo vyradiť samostatne každý z prvých troch transkribovaných exónov, tomu bol aj prispôsobený návrh sgRNA. Jednotlivé klony boli vytriedené na základe GFP (green fluorescent protein), ktorý priamo súvisí s prítomnosťou vektora. Hladina MRE11 narastených klonov bola testovaná metódou western blot. Klony s najmenšou mierou expresie MRE11 boli ďalej testované či naozaj prejavujú fenotyp buniek deficientných pre MRE11. Tie vykazujú citlivosť ku DNA poškodzujúcim látkam. Pre experiment bolo zvolené ošetrovanie buniek camptothecinom, látkou, spôsobujúcou dvojreťazcové zlomy, na ktorý by mali byť citlivejšie a bola sledovaná ich schopnosť proliferovať pri rôznych koncentráciach tejto látky.

## **Výsledky:**

Získali sme spolu 94 klonov pre tri rôzne exóny, ktorým hladina MRE11 bola overená western blotom. Klony s najmenším množstvom expresie proteínu MRE11 boli ďalej overované fenotypovo. Bolo identifikovaných viacero potenciálnych heterozygotných línii, ktoré budú ďalej poslané na sekvenačnú analýzu. Počet získaných klonov je však veľmi nízky oproti kontrole, veľa klonov prestalo rásť a na western blote pozorujeme iba redukciu, nie úplné vymiznutie MRE11 čo môže poukazovať na esencialitu tohto génu pre bunky CAL51.

## **Závěr:**

Je vysoko pravdepodobné, že MRE11 ovplyvňuje proliferáciu CAL51 buniek, čo potvrdzuje aj naša štúdia, preto sa ho úplne vyradiť nepodarilo. Boli identifikované potenciálne heterozygotné bunkové línie, ich genotyp je potrebné overiť pomocou sekvenačnej analýzy. Vzhľadom k výraznej citlivosti MRE11 deficientných buniek na DNA poškodzujúce látky by mohla heterozygotná bunková línia poslúžiť ako kontrola. Zároveň hľadáme inú cestu ako bunky bez expsie MRE11 pripraviť, nádejnou alternatívou sa zdá byť Cre-Lox rekombinačný systém.

# **ZMĚNY NUTRIČNÍCH A KARDIOVASKULÁRNÍCH PARAMETRŮ OBÉZNÍCH DĚTÍ PO MĚSÍČNÍM POBYTU V DĚTSKÉ LÉČEBNĚ KŘETÍN**

**Aleš Dvořák**

*Fyziologický ústav*

**Školitelka:** MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

**Klíčová slova:** baroreflex, dětská obezita, dětská léčebna Křetín

## **Úvod:**

Obezita se v současnosti stává velkým zdravotním problémem ve všech průmyslových zemích světa, a to nejen obezita dospělých, ale i dětí. Z lékařského pohledu se jedná o onemocnění s multifaktoriální podmíněností. Dle aktuální medicínské diagnostiky tvoří spolu se změnami v regulaci hladiny glukózy a vysokým krevním tlakem tzv. metabolický syndrom. V důsledku nerovnováhy mezi příjmem a výdejem energie v populaci dnešních dětí se uvádí až trojnásobný nárůst počtu obézních dětí za posledních 20 let. Rizika spojená s dětskou obezitou zasahují do všech orgánových soustav, včetně kardiovaskulárního systému a jeho regulací. Baroreflex a variabilita oběhových parametrů jsou jedním z prvních, které nás na blížící

## **Metody:**

Celkem jsme vyšetřili 49 dětí ve věkovém rozmezí 8–17let, které byly přijaty do léčebny s diagnózou alimentární obezita. U všech účastníků studie jsme změřili jak na vstupu, tak na výstupu neinvazivní kontinuální metodou dle Peňáze krevní tlak (přístroj Finometer, FMS, Nizozemí) a nutriční parametry (hmotnost [kg], index tělesné hmotnosti [BMI – kg/m<sup>2</sup>], procento tuku [%], poměr pas/boky [WHR], bazální metabolický výdej [BMV-kcal]) pomocí přístroje Inbody (InBody Co., Ltd., USA). Získali jsme následující parametry hodnotící stav kardiovaskulární soustavy: systolický a diastolický krevní tlak, tepový interval (STK, DTK [mmHg], TI [ms]); s využitím metody spektrální analýzy byly dále stanoveny parametry celkové variability STKSD, DTKSD [mmHg], TISD [ms]; variability při frekvenci 0,1 Hz v normalizovaných jednotkách [n.u.] – STKrel, DTKrel, TIrel a v absolutních jednotkách STKabs [mmHg<sup>2</sup>/Hz], DTKabs [mmHg<sup>2</sup>/Hz], TIabs [ms<sup>2</sup>/Hz]. Vzájemně spektrální analýzou byla stanovena citlivost baroreflexu (BRS [ms/mmHg]). Pro statistické zpracování byl použit program StatSoft.verze 12.1. a wilcoxonův párový test.

## **Výsledky:**

Našli jsme statisticky významné snížení nutričních parametrů mezi 1. a 2. měřením (hmotnost 77,6 ± 16,3 vs. 72,7 ± 15,4 kg; BMI 29,2 ± 4,0 vs. 27,2 ± 3,6 kg/m<sup>2</sup>; % tuku 38,2 ± 7,2 vs. 35,4 ± 7,7 %; voda 35,5 ± 8,2 vs. 34,6 ± 7,9 litrů; WHR 0,94 ± 0,1 vs. 0,92 ± 0,1; BMV 1415,1 ± 243,7 vs. 1392,4 ± 233,6 kcal). V kardio parametrech jsme zaznamenali statisticky významné prodloužení tepových

intervalů ( $743,0 \pm 120,8$  vs.  $813,0 \pm 126,6$  ms). Citlivost baroreflexu se významně zvýšila ( $8,5 \pm 3,6$  vs.  $10,5 \pm 4,7$  ms/mmHg).

#### **Závěr:**

Naše studie ukazuje na pozitivní vliv pobytu dětí s diagnózou alimentární obezita v dětské léčebně, a to jak na kardiovaskulární systém a posílení regulací z oblasti parasymptického nervového systému, tak na nutriční parametry.

#### **Poděkování:**

Tato studie vznikla v rámci projektu „Kardiovaskulární systém: od modelu přes terapii k prevenci“ číslo MUNI/A/1365/2015 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2016.

## **ZMĚNY KARDIOVASKULÁRNÍCH PARAMETRŮ JAKO POZDNÍ NÁSLEDEK ONKOLOGICKÉ LÉČBY ANTRACYKLINY V DĚTSTVÍ**

**Veronika Puchnerová, Zuzana Nováková**

*Fyziologický ústav*

**Školitelka:** MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

**Klíčová slova:** antracykliny, ALL, kardiotoxicita, baroreflex

#### **Úvod:**

Antracykliny lze charakterizovat jako významná protinádorová antibiotika s širokým spektrem využití, jak při léčbě solidních nádorů, tak hematologických malignit. V literatuře jsou popisovány pozdní následky kardiotoxické léčby, které se klinicky manifestují mnoho let po léčbě. Z toho důvodu je vhodné pacienty dlouhodobě sledovat. Náš výzkum je zaměřen na pacienty s diagnózou akutní lymfoblastické leukémie (ALL). Byly sledovány hodnoty základních parametrů kardiovaskulárního systému včetně citlivosti baroreflexu, který hraje důležitou roli v krátkodobé regulaci krevního tlaku a je výsledkem vzájemného působení autonomního nervového systému na tuto regulaci.

#### **Metody:**

Bylo vyšetřeno celkem 111 pacientů s diagnózou ALL (skupina ALL; věk:  $16,7 \pm 5,9$  let; M: 53; celková kumulativní dávka antracyklinů:  $232,8 \pm 42,6$  mg/m<sup>2</sup>, follow-up:  $9,2 \pm 5,6$  let od ukončení léčby). Srovnání bylo provedeno s kontrolním souborem 415 zdravých dětí (skupina KO). U 46 pacientů s ALL bylo provedeno více než jedno vyšetření pro porovnání intraindividuálních změn parametrů. Krevní tlak byl měřen kontinuálně Peňázovou metodou (fotopletysmograficky) při řízeném dýchání ( $f = 0,33$  Hz) přístrojem Finometer Pro (FMS, Nizozemí). Vzájemnou spektrální analýzou v oblasti frekvence 0,1 Hz byla z kolísání tepového intervalu (TI) a systolického krevního tlaku (STK) vypočítána hodnota citlivosti baroreflexu (BRS - ms/mmHg; BRSf - mHz/mmHg). Dále byly hodnoceny parametry celkové variability (STKsd, DTKsd[mmHg], TIsd[ms]) a variability při frekvenci 0,1 Hz v normalizovaných jednotkách STKrel [n.u.], DTKrel [n.u.], TIrel [n.u.] a v absolutních jednotkách STKabs [mmHg<sup>2</sup>/Hz], DTKabs [mmHg<sup>2</sup>/Hz], TIabs [ms<sup>2</sup>/Hz]. Statistické analýzy byly provedeny v software Statistica 12 (StatSoft ČR, s.r.o.).

#### **Výsledky:**

Při srovnání ALL a KO byla zjištěna statisticky významná snížení následujících parametrů: (ALL vs. KO: TIrel:  $0,03 \pm 0,03$  vs.  $0,04 \pm 0,03$  n.u.; TIabs:  $10848,75 \pm 12199,31$  vs.  $11803,63 \pm 9915$ ,



19 ms; STK:  $109,49 \pm 15,14$  vs.  $112,04 \pm 12,88$  mmHg; STKrel:  $0,02 \pm 0,02$  vs.  $0,03 \pm 0,02$  n.u.; STKabs:  $80,29 \pm 81,64$  vs.  $98,44 \pm 82,19$  mmHg; DTK:  $58,21 \pm 10,04$  vs.  $68,17 \pm 9,33$  mmHg; DTKrel:  $0,04 \pm 0,03$  vs.  $0,05 \pm 0,03$  n.u.; DTKabs:  $46,93 \pm 44,95$  vs.  $59,39 \pm 51,81$  mmHg; BRS:  $7,38 \pm 4,54$  vs.  $10,12 \pm 5,24$  ms/mmHg; BRSf:  $13,17 \pm 7,38$  vs.  $17,84 \pm 7,76$  mHz/mmHg;  $p < 0,03$ ). Při srovnání prvního a druhého měření u ALL s průměrným odstupem  $2,26 \pm 1,10$  roku mezi měřeními, bylo pozorováno statisticky významné zvýšení TI ( $751,37 \pm 115,67$  vs.  $775,67 \pm 105,83$  ms;  $p < 0,05$ ), STK ( $106,67 \pm 13,32$  vs.  $114,0 \pm 10,62$  mmHg;  $p < 0,01$ ) a DTK ( $57,24 \pm 9,85$  vs.  $62,02 \pm 8,42$  mmHg;  $p < 0,01$ ). Nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami BRS a BRSf. Byla nalezena korelace mezi dávkou léku a STK (Spearmanův korelační koeficient  $r = 0,313$ ;  $p < 0,05$ ), BRS ( $r = -0,342$ ;  $p < 0,03$ ) a BRSf ( $r = -0,361$ ;  $p < 0,02$ ).

### **Závěr:**

Výsledky naší studie poukazují na negativní důsledky předchozí léčby kardiotoxickými léky ve vztahu k námi sledovaným kardiovaskulárním parametrům u pacientů po onkologické terapii v dětství.

### **Poděkování:**

Tato studie vznikla v rámci projektu „Kardiovaskulární systém: od modelu přes terapii k prevenci“ číslo MUNI/A/1365/2015 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2016.

## **REGULACE IZOFOREM PYRUVÁTKINÁZY M1/M2 V DIABETOGENNÍCH PODMÍNKÁCH**

**Michaela Janáková, Anna Pleskačová, Kateřina Kaňková**

*Ústav patologické fyziologie*

**Školitelka:** prof. MUDr. Kateřina Kaňková, Ph.D.

**Klíčová slova:** pyruvátkináza, diabetes mellitus, hyperglykémie, HUVEC, myši tkáň

### **Úvod:**

Pyruvátkináza (PK) je klíčový enzym glykolýzy studovaný především ve vztahu k nádorovému bujení. Vyskytuje se ve 4 izoformách (PKL, PKR, PKM1 a PKM2) s rozdílným zastoupením v různých tkáních. Pouze PKM2 podléhá alosterické regulaci a je nutná pro intenzivní proliferaci nádorových a embryonálních buněk. Vzhledem k akumulaci meziproduktů glykolýzy v buňkách vystavených hyperglykémii by mohla aktivace PKM2 metabolicky „odlehčit“ těmto buňkám a mít tak protektivní efekt u diabetu. Cílem práce bylo ověřit výskyt PKM2 v různých tkáních laboratorní myši a sledovat vliv hyperglykemie na množství PKM2 mRNA a proteinu v lidských primárních endoteliálních buňkách.

### **Metody:**

Experiment byl proveden na buněčné linii HUVEC a na laboratorních myších kmene BALB/c. Buněčná linie byla kultivována 4 dny za podmínek normo- (5,5 mM glukóza) a hyperglykemie (25 mM glukóza). Myší tkáň (sval, aorta, bílá a hnědá tuková tkáň, kůra ledviny, slezina, játra, mozek, plíce a brzlík) byly odebrány po usmrcení zvířat ( $n = 5$ ). Proteiny byly vyizolovány pomocí RIPA pufru dle modifikovaného protokolu a následně analyzovány metodou Western blotting za použití specifických protilátek proti PKM1 a PKM2. RNA byla izolována a přepsána do cDNA pomocí komerčních kitů (Roche Diagnostics). Expresce izoform PKM1 a PKM2 (cDNA) byla analyzována pomocí qRT-PCR (Sybr Green) s využitím specifických primerů a kvantifikována absolutně.

### **Výsledky:**

Hladiny mRNA pro PKM1 se u buněčné linie HUVEC za normo- a hyperglykemických podmínek statisticky významně nelišily. Množství mRNA pro PKM2 bylo po vystavení hyperglykémii sníženo ( $P = 0,024$ , Studentův t-test). V buněčné linii HUVEC byly přítomny obě izoformy proteinu – PKM1 i PKM2. Obě izoformy PK jsou přítomné také v myších tkáních na úrovni mRNA i proteinu.

### **Závěr:**

Byl potvrzen výskyt PKM1 a PKM2 v primární lidské endoteliální linii HUVEC i ve všech zkoumaných myších tkáních. V podmínkách hyperglykemie došlo ke snížení množství mRNA pro PKM2 v buněčné linii HUVEC. Změny na úrovni proteinů PKM1 a PKM2 jsme za zvýšené hladiny glukosy nezaznamenali.

### **Poděkování:**

Práce byla podpořena grantem GAČR GA16-14829S.

## **CHARAKTERIZACE FAKTORŮ VIRULENCE U IZOLÁTŮ ENTEROHEMORHAGICKÉ ESCHERICHIA COLI A STANOVENÍ CITLIVOSTI IZOLÁTŮ K BAKTERIOCINŮM**

**Matěj Hrala**

*Biologický ústav*

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

**Klíčová slova:** EHEC, *E.coli*, bakteriocin, kolicin, mikrocin, virulenční faktor

### **Úvod:**

*Escherichia coli* je bakterie běžně se vyskytující ve střevě lidí i zvířat, kde žije jako komenzál. Některé kmeny nesou faktory virulence a mohou způsobovat intestinální i extraintestinální infekce. Takovou bakterií je enterohemorhagická *Escherichia coli* (EHEC), která způsobuje infekce projevující se krvavými průjmy a může způsobit další komplikace jako je např. hemolyticko-uremický syndrom. Tyto infekce se přenáší nejčastěji tepelně neopracovanou kontaminovanou potravou. Cílem studie bylo detekovat geny pro faktory virulence u 152 izolátů EHEC ze skotu a zjistit jejich citlivost k celkem 41 typům bakteriocinů.

### **Metody:**

Soubor izolátů byl charakterizován metodou multiplex PCR se specifickými primery a následnou agarózovou gelovou elektroforézou. Celkem bylo testováno 18 virulenčních faktorů vyskytujících se u *E. coli* (pCVD432, *ial*, *st*, *lt*, *eaeA*, *bfpA*, *ipaH*, *aer*, *fimA*,  $\alpha$ -*hly*, *afal*, *iucC*, *cnf1*, *sfa*, *pap*, *stx1*, *stx2*, *ehly*). Dále byla u izolátů stanovena citlivost na bakteriociny pomocí vpichového testu.

### **Výsledky:**

U izolátů byl detekován gen pro intimin (*eaeA*) a dále pak každý izolát měl přítomný gen pro produkci Shiga-toxinu 1 (*stx1*), Shiga-toxinu 2 (*stx2*) nebo kombinaci obou, což je jednoznačně řadí mezi EHEC. 4 izoláty, které postrádaly tyto základní geny pro faktory virulence, byly vyřazeny z dalšího testování. Dále byly u všech izolátů zjištěny geny pro tvorbu fimbrií (*fimA*), enterohemolysinu (*ehly*) a u 8 izolátů (5,3 %) byla zjištěna schopnost produkce termo-stabilního enterotoxinu (*st*). EHEC budou dále charakterizovány pomocí pulzní gelové elektroforézy.

**Závěr:**

Ze 41 testovaných bakteriocinů jich dokázalo inhibovat růst izolátů celkem 15. Jedná se o koliciny E4, E7, E8, E9, K, L, T, Q, 10 dále pak mikrocinů J25, H47, B17, C7 a dva nové necharakterizované bakteriociny (110A a B51). Účinnost těchto bakteriocinů vůči EHEC bude dále testována *in vivo*.

**Poděkování:**

Tato práce byla podpořena grantem GAČR P302/15-18521S.

## 2. SEKCE CHIRURGICKÝCH OBORŮ

---

### EXTRAKČNÍ VAGINÁLNÍ OPERACE V SOUČASNÉM PORODNICTVÍ A JEJICH VLIV NA PERINATÁLNÍ TRAUMATISMUS NOVOROZENCŮ A RODIČEK

**Petra Vinklerová**

*Gynekologicko-porodnická klinika*

**Školitel:** MUDr. Lukáš Hruban

**Klíčová slova:** *extrakční vaginální operace, forceps, vakuumextrakce, perinatální morbidita, kefalhematom*

#### **Úvod:**

Extrakční porodnické operace jsou nedílnou součástí moderního porodnictví, používají se ke zkrácení druhé doby porodní z indikace plodu či matky. Četnost extrakčních operací zůstává v posledních desetiletích stabilní (ve vyspělých západních zemích představuje 10–15 % všech porodů), změnila se ovšem frekvence použití jednotlivých metod. Z klinických studií vyplývá, že použití vakuumextraktoru je šetrnější k rodičce, zatímco vzhledem k novorozenci není mezi metodami signifikantní rozdíl.

Cílem vědecké práce bylo porovnat obě metody s ohledem na perinatální traumatismus novorozenců a rodiček a ověřit, případně vyvrátit, zda výše uvedené informace z publikovaných klinických studií odpovídají také skutečnosti na GPK FN Brno.

#### **Metody:**

Vědecká práce byla koncipována jako klinická retrospektivní studie. Studijní soubor zahrnoval všechny případy vaginálních extrakčních operací (celkem 1 573 případů) na obou pracovištích (Obilní trh a Bohunice) GPK FN Brno v letech 2007 až 2015. Zdrojem informací byly porodní knihy, nemocniční informační systém FN Brno a ročenky GPK. Mezi sledované parametry u rodičky patřil druh extrakční operace, gestační stáří, typ poranění, u novorozenců pak hmotnost, délka, Apgar skóre, pH, BE (odchylka báží), typ poranění.

Výsledky byly statisticky zhodnoceny chí-kvadrát testem na hladině významnosti 0,05.

#### **Výsledky:**

V letech 2007 až 2015 bylo na GPK FN Brno uskutečněno 1 573 extrakčních vaginálních operací, což je průměrně 2,9 % všech porodů, přibližně o 10 % méně než průměr v některých západních zemích. Rozdíl oproti použití extrakčních operací v zahraničí lze vysvětlit tím, že v řadě zemí se nepoužívá ke zkrácení druhé doby porodní metoda exprese plodu přidržením děložního fundu. Ve srovnání s celorepublikovým průměrem (2 %) je procento extrakčních operací na GPK FN Brno lehce vyšší.

U všech typů poranění rodičky (ruptura vaginae, ruptura perinei III, IV) kromě ruptury cervixu byl prokázán vyšší výskyt při porodu per forcipem. Rozdíly jsou statisticky významné ( $p \leq 0,001 - 0,023$ ) a odpovídají zahraničním studiím. Při pozorování poranění novorozenců byl ovšem zjištěn vyšší výskyt ve skupině porodů pomocí VEX a i tento rozdíl je statisticky významný ( $p \leq 0,001$ ), na rozdíl od literárních zdrojů. Nejčastějším typem poranění byl kefalhematom (13,6% porodů per forcipem 26,3% porodů pomocí VEX).

Děti narozené pomocí VEX jsou průměrně větší a těžší než děti narozené per forcipem, což je dáno především tím, že použití VEX je doporučeno až od 36. týdne gestace, zatímco forceps je možné použít i dříve. Z hodnocení Apgar skóre, pH a BE vyplývá, že po porodu pomocí VEX jsou děti v lepší kondici než při porodu per forcipem. To může být způsobeno tím, že po kleštích obvykle porodník sáhne, pokud je nutné plod z porodních cest extrahovat co nejdříve, jelikož je to metoda rychlejší.

#### **Závěr:**

Na GPK FN Brno je dlouhodobě stabilní, proti celorepublikovému průměru lehce vyšší výskyt extrakčních vaginálních operací. Pokud bychom se chtěli řídit doporučením WHO a snížit aktuální počet císařských řezů (25% v EU) na 15%, což je dle WHO optimální procento pro bezpečí rodiček i novorozenců, je zřejmé, že to bude na úkor navýšení vaginálních operací. Ačkoliv je v současnosti preferován porod pomocí VEX, nemělo by se zapomínat ani na kleštový porod. Je to metoda, která má stále své místo v moderním porodnictví a nelze ji žádnou jinou metodou zcela nahradit. Ze studie vyplývá, že způsobuje méně traumat u novorozence. Je nezbytné mladé lékaře vzdělávat a školit v obou metodách, aby si v nich byli jistí a mohli si zvolit správnou variantu.

## **ZMĚNY MIKROCIRKULACE U PACIENTŮ S OBSTRUKČNÍ SPÁNKOVOU APNOE**

**Karolína Svobodová, Lukáš Růžek**

*Anesteziologicko-resuscitační klinika*

**Školitelé:** MUDr. Ivan Čundrle, Ph.D., doc. MUDr. Vladimír Šrámek, Ph.D.

**Klíčová slova:** mikrocirkulace, OSA, SDF

#### **Úvod:**

Obstrukční spánková apnoe (OSA) je charakteristická opakovaným kolapsem horních cest dýchacích během spánku. Je odhadováno, že v normální populaci může výskyt OSA dosahovat až 24%. OSA je spojena se zvýšeným rizikem výskytu kardiovaskulárních chorob. Předpokladem vzniku kardiovaskulárních příhod u pacientů s OSA je cévní poškození. Mikrocirkulace je jedním z hlavních míst vzniku orgánového poškození. Naši hypotézou bylo, že u pacientů s OSA bude sublinguální mikrocirkulace porušena a závažnost bude korelovat s tíží OSA

#### **Metody:**

Prospektivně byli zařazeni pacienti, kteří v roce 2015 podstoupili diagnostické polysomnografické (PSG) vyšetření ve spánkové laboratoři Mezinárodního centra klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně. Vyřazovacím kritériem byla již diagnostikovaná spánková apnoe. Spánková apnoe byla definována podle typu (centrální/obstrukční/smíšená apnoe) a podle apnea-hypopnea indexu (událost/hodina;  $AHI < 5$  bez spánkové apnoe;  $5 \leq AHI < 15$  lehká apnoe;  $15 \leq AHI < 30$  středně těžká apnoe;  $AHI \geq 30$  těžká apnoe). Mikrocirkulace byla analyzována pomocí Sidestream Dark Field imaging. U všech pacientů bylo pořízeno vždy pět záznamů (20 sekund) a to z pěti náhodných míst sublinguální sliznice; vždy večer před spánkem a ráno po probuzení. Tyto záznamy byly dále analyzovány pomocí programu AVA 3.0. Hodnoceny byly parametry charakterizující denzitu kapilární sítě (total vessel density – TVD), kapilární perfuzi (microvascular flow index – MFI), kapilární funkci (perfused vessel density – PVD) a kapilární heterogenitu (DeBacker score, MFI a TVD heterogeneity). Pro statistickou analýzu byly použity: Shapiro-Wilk test, nepárový t-test nebo Mann-Whitney test pro porovnání parametrů mikrocirkulace

mezi pacienty s apneou a bez apnoe, párový t-test nebo wilcoxon pro porovnání parametrů mikrocirkulace před spánkem a po probuzení. Spearmanův korelační koeficient byl použit pro zhodnocení závislosti parametrů mikrocirkulace a AHI. Data jsou prezentována jako průměr ± SD.

### **Výsledky:**

Do studie bylo zařazeno celkem 33 pacientů. OSA byla diagnostikována u 16 pacientů, centrální spánková apnoe u 8 pacientů, smíšená apnoe u 2 pacientů a u 7 pacientů nebyla diagnostikována žádná z forem spánkové apnoe. Mezi pacienty s OSA a pacienty bez OSA nebyl signifikantní rozdíl v žádném z parametrů mikrocirkulace. Pouze při porovnání pacientů s těžkou OSA (AHI ≥ 30) a pacientů bez OSA byl pozorován signifikantní pokles MFI ( $-0,07 \pm 0,17$  vs.  $0,08 \pm 0,14$ ;  $p = 0,02$ ) a nárůst heterogenity MFI ( $0,06 \pm 0,15$  vs.  $-0,06 \pm 0,11$ ;  $p = 0,02$ ) během noci. Pokles MFI signifikantně koreloval s tíží spánkové apnoe ( $r = -0,45$ ;  $p = 0,01$ ), stejně jako nárůst heterogenity MFI ( $r = 0,43$ ;  $p = 0,02$ ). U pacientů s CSA byl v ranních hodinách pozorován signifikantně nižší parametr kapilární denzity (TVD) v porovnání s pacienty bez CSA ( $7,6 \pm 0,9$  vs.  $8,9 \pm 1,2$ ;  $p = 0,03$ ).

### **Závěr:**

Změny mikrocirkulace jsou patrné především u pacientů s těžkou OSA (AHI ≥ 30) a jsou charakteristické poklesem perfuze a nárůstem heterogenity mikrocirkulace během noci. Tyto změny korelují s tíží spánkové apnoe. Nárůst heterogenity mikrocirkulace může přispívat ke zvýšenému výskytu kardiovaskulárních chorob u pacientů s OSA.

## **AKUMULACE LIPOSOMÁLNÍHO DOXORUBICINU V JATERNÍ TKÁNI OŠETŘENÉ RADIOFREKVENČNÍ ABLACÍ A IREVERZIBILNÍ ELEKTROPORACÍ V PORCINNÍM MODELU**

**Martin Jakub Arbet, Tomáš Jůza, Tomáš Andrašina, Josef Jaroš**

*Radiologická klinika, Ústav histologie a embryologie*

**Školitel:** MUDr. Tomáš Andrašina, Ph.D.

**Klíčová slova:** radiofrekvenční ablace, RFA, ireverzibilní elektroporace, IRE, liposomální doxorubicin, porcinní

### **Úvod:**

Radiofrekvenční ablace (RFA) a ireverzibilní elektroporace (IRE) patří mezi miniinvazivní metody léčby nádorů především parenchymatózních orgánů, a to zejména jater. RFA funguje na principu lokálního tepelného účinku vysokofrekvenčního proudu, který vede ke koagulační nekróze buněk. Naproti tomu IRE je založena na bioelektrickém účinku vysokonapěťových pulzů elektrického proudu, které naruší stavbu buněčných membrán. Výhodou této non-termální metody je zachování extracelulární matrix. Naše práce se věnuje srovnání akumulace cytostatika v centrálních a periferních zónách lézí vytvořených těmito metodami. Významná akumulace cytostatika v rámci postablačních lézí může zabránit lokální recidivě, k níž dochází nejčastěji právě na okrajích léze.

### **Metody:**

Experimentálně byly využity tři porcinní modely, na každém byla provedena peroperační RFA a IRE v játrech. U dvou byla v průběhu intervence podána kontinuální infuze liposomálního doxorubicinu. Třetí model byl ponechán jako kontrolní bez aplikovaného chemoterapeutika.

Na játrech testovaných zvířat bylo vytvořeno celkem 5 lézí pomocí RFA a 5 lézí pomocí IRE, na játrech kontrolního zvířete 3 léze jak RFA tak IRE. Zvířata byla během intervencí v celkové anestezii a zákroky se prováděly při horní a dolní střední laparotomii na odhalených játrech. Na každém jaterním laloku byla vytvořena maximálně 3 ložiska. Byly provedeny magnetické rezonance jater v čase 2 hodiny a 3 dny po operaci. Po třech dnech byla zvířata utrácena za dodržení etických postupů a byly odebrány bloky tkáně jater s vytvořenými lézemi a kontrolní vzorky nezasaženého parenchymu. Každá léze byla ještě rozdělena na vzorek z periferní a centrální zóny.

K následnému laboratornímu zkoumání byla tkáň transportována v chladicím boxu s ledem. Analytická část experimentu vycházela z přirozené vlastnosti fluorescence molekuly doxorubicinu a sestávala z fluorescenční spektrofotometrie vzorků homogenizovaných v kyselém alkoholu, fluorescenční mikroskopie s počítačovou analýzou obrazu a klasické histologie ze zmrzlých vzorků.

### **Výsledky:**

Na vzniklých IRE lézích je možné makroskopicky i v histologickém obrazu pozorovat dvě zóny: centrální zónu charakteristickou apoptózou buněk při ireverzibilním poškození a periferní zónu, v níž se předpokládají reverzibilní změny. V RFA lézích lze pozorovat centrální část tvořenou koagulační nekrózou a periferní hyperemický okraj infiltrovaný granulocyty.

Oběma použitými fluorescenčními metodami jsme prokázali zvýšenou kumulaci liposomálního doxorubicinu v lézích vytvořenými RFA při peroperačním podání cytostatika. Za použití fluorescenční mikroskopie s analýzou obrazu byl navíc pozorován statisticky významně vyšší signál doxorubicinu v centrálních partiích RFA lézí oproti kontrole i periférii. Tyto lokálně výrazné změny nebyly patrné při použití spektrofotometrie homogenizátů vzorků.

Na rozdíl od radiofrekvenční ablace naměřené hodnoty intenzity fluorescence doxorubicinu u IRE lézí nevykazují statisticky významné zvýšení oproti nezasaženému parenchymu. Rovněž nebyly nalezeny rozdíly koncentrace cytostatika mezi periferní a centrální zónou IRE lézí za použití obou metod.

### **Závěr:**

Prokázaná zvýšená kumulace liposomálního doxorubicinu v lézích vytvořených radiofrekvenční ablací při peroperačním podání cytostatika je ve shodě s předešlými publikacemi jiných autorů. Tudiž tato kombinace miniinvazivní techniky s chemoterapeutikem má potenciál snížit riziko lokální recidivy tumoru.

Hlavním zjištěním této studie je, že ireverzibilní elektroporace nevede ke zvýšené kumulaci liposomálního doxorubicinu v takto ošetřeném jaterním parenchymu u porcinního modelu. Z tohoto důvodu nelze aplikaci chemoterapeutika při ireverzibilní elektroporaci toho času doporučit.

### **Poděkování:**

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-32484A.

# ROLE ZÁNĚTU VE VZTAHU K ROZVOJI HYPOXIE MOZKOVÉ TKÁNĚ PO EXPERIMENTÁLNÍM SUBARACHNOIDÁLNÍM KRVÁCENÍ

**Tereza Madarászová**

*Neurochirurgická klinika, Ústav patologické fyziologie*

**Školitel:** prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., MBA

**Klíčová slova:** subarachnoidální krvácení, SAK, early brain injury, EBI, zánět, cytokiny, IL-6, IL-11, MCP-1, hypoxie, HIF-1 $\alpha$

## Úvod:

Subarachnoidální krvácení (SAK) je závažný stav způsobený převážně rupturou aneuryzmatu mozkové tepny. Studium časně patofyziologie SAK (early brain injury – EBI) je předmětem výzkumu posledních let. Významnou roli v EBI hrají přechodná mozková ischemie vedoucí k hypoxii a zánět, přičemž zánět a hypoxie spolu souvisí, neboť se vzájemně potencují. Nejstudovanějším markerem hypoxie je HIF-1 $\alpha$ , jehož hladiny dle dosavadních studií dosahují maxima 24 hod po SAK. V tomto časovém intervalu je rozvinutá i zánětová reakce. Vztah a návaznost exprese markerů hypoxie a zánětu časně po SAK zatím nebyly popsány. Cílem naší práce je popsat dynamiku exprese mRNA mediátorů zánětu IL-6, IL-11 a MCP-1, který je spojovacím článkem mezi zánětem a hypoxií.

## Metody:

Do studie bylo zařazeno celkem 42 potkanů kmene Sprague Dawley (samci, 250–300 g). Zvířata byla rozdělena do pokusných skupin SAK a sham (kontrolní operace) a dále do podskupin dle času odebrání vzorků (15 min, 4 hod a 8 hod).

Byl použit endovaskulární model SAK, při kterém se krvácení indukuje perforací a. carotis interna v místě větvení na a. cerebri anterior a media pomocí silonového vlákna 4-0. U skupin sham byl proveden stejný operační výkon, vyjma samotné perforace cévy.

Pooperačně byly v pravidelných intervalech sledovány vitální funkce zvířat a v daných časových intervalech byla zvířata utracena za účelem odběru vzorků mozkové tkáně.

Hodnocena byla míra exprese mRNA zánětových cytokinů IL-6 a IL-11, chemokinu MCP-1 a markeru hypoxie HIF-1 $\alpha$  v čase 15 min, 4 hod a 8 hod po SAK/sham operaci.

Kvantitifikace jednotlivých mRNA byla provedena za pomoci real time PCR (TaqMan sondy). Exprese jednotlivých mRNA byla standardizována k housekeeping genům ( $\beta$ -aktin a HPRT1).

Normalita dat byla hodnocena pomocí KS testu a data byla následně hodnocena pomocí nepárového t-testu. Data jsou vyjádřena jako průměr a směrodatná odchylka. Za hladinu významnosti byla považována  $\alpha = 0,05$ .

## Výsledky:

U zkoumaného souboru nebyl mezi skupinami SAK a sham pozorován rozdíl v čase 15 min po SAK v případě IL-6 ( $1,66 \pm 0,49$  vs.  $2,54 \pm 1,02$ ,  $p = \text{NS}$ ), IL-11 ( $1,44 \pm 0,40$  vs.  $1,83 \pm 1,04$ ,  $p = \text{NS}$ ), MCP-1 ( $11,64 \pm 3,52$  vs.  $9,48 \pm 3,41$ ,  $p = \text{NS}$ ), zatímco HIF-1 $\alpha$  byl snížen u skupiny SAK ( $0,70 \pm 0,19$  vs.  $1,08 \pm 0,28$ ,  $p < 0,05$ ). V čase 4 hodiny po SAK byl pozorován signifikantní rozdíl mezi skupinami SAK a sham v případě IL-6 ( $25,97 \pm 20,72$  vs.  $1,37 \pm 1,10$ ,  $p < 0,05$ ), IL-11 ( $9,19 \pm 7,58$  vs.  $1,08 \pm 0,63$ ,  $p < 0,05$ ) a MCP-1 ( $229,10 \pm 136,30$  vs.  $2,50 \pm 2,00$ ,  $p < 0,05$ ), zatímco nebyl pozorován signifikantní rozdíl v expresi HIF-1 $\alpha$  ( $1,70 \pm 1,22$  vs.  $1,61 \pm 1,15$ ,  $p = \text{NS}$ ). V čase 8 hodin byl mezi skupinami SAK a sham pozorován signifikantní rozdíl v případě IL-6 ( $11,11 \pm 5,49$  vs.  $1,38 \pm 0,54$ ,  $p < 0,005$ ), IL-11



( $11,68 \pm 3,95$  vs.  $1,95 \pm 0,26$ ,  $p < 0,005$ ) a MCP-1 ( $114,40 \pm 36,81$  vs.  $6,44 \pm 5,25$ ,  $p < 0,005$ ), zatímco nebyl pozorován signifikantní rozdíl v expresi HIF-1 $\alpha$  ( $1,91 \pm 0,69$  vs.  $1,75 \pm 0,40$ ,  $p = \text{NS}$ ).

#### **Závěr:**

Prvotní výsledky ukazují, že časně po SAK dochází k výraznému nárůstu exprese mRNA markerů zánětu, zatímco dynamika exprese markeru hypoxie takový trend nevykazuje. Tyto výsledky naznačují, že zánět může hrát dominantní roli v poškození mozku časně po SAK a lze předpokládat jeho nemalý vliv na rozvoj hypoxie v pozdější fázi. Tuto hypotézu hodláme ověřit přidáním dalších časových intervalů, ve kterých budeme hodnotit dynamiku sledovaných parametrů. Dále hodláme vyhodnotit další markery, které by mohly objasnit provázanost zánětu a hypoxie v rámci EBI.

#### **Poděkování:**

GAČR 14-23773P

## **SPEKTRUM POTENCIÁLNĚ PATOGENNÍCH MIKROORGANISMŮ U INFEKČNÍCH KOMPLIKACÍ V ZÁVISLOSTI NA CHARAKTERU TERAPIE PACIENTŮ S TOXICKOU EPIDERMÁLNÍ NEKROLÝZOU**

**Jakub Holoubek**

*Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie*

**Školitel:** MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D.

**Klíčová slova:** toxická epidermální nekrolýza, cyklosporin A, infekční komplikace

#### **Úvod:**

Toxická epidermální nekrolýza (TEN) je nejzávažnějším syndromem ze skupiny polékových toxoalergických reakcí. Dominantně se projevuje v oblasti kůže různě rozsáhlou exfoliací, bývají také postiženy sliznice. Základním přístupem v terapii tohoto onemocnění je imunoprese, která může zastavit další propagaci onemocnění, představuje ovšem pro pacienta riziko z pohledu potenciálního rozvoje infekčních komplikací, zejména v oblasti exfoliovaných ploch. Jako původci se uplatňují nejrůznější potenciálně patogenní mikroorganismy (PPM), včetně oportunních zástupců. Znalost detailní mikrobiologické problematiky spolu s vhodně volenou terapií antiinfektivy může zvýšit pravděpodobnost přežití u takto postižených pacientů.

#### **Metody:**

Jedná se o monocentrickou retrospektivní studii, do které byli zařazeni všichni pacienti hospitalizovaní a léčení na Klinice popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno v letech 1996–2015 s diagnózou TEN.

U těchto pacientů byla posbírána následující data: demografické údaje (věk a pohlaví), vyvolávající příčina, klinický průběh, schéma terapie, přítomnost infekční komplikace a spektrum PPM. Pro hodnocení závažnosti stavu pacientů s TEN byl použit SCORTEN. Získaná data byla statisticky zpracována.

#### **Výsledky:**

Celkem bylo v souboru identifikováno 14 pacientů (11 žen) s diagnózou TEN, kteří byli hospitalizováni ve vybraném období. U všech pacientů bez výjimky došlo k rozvoji infekčních komplikací a u 11 z nich byla infekce prokázána multifokálně (78,57 %). Celkem bylo u pacientů vykultivováno 529 PPM. Přičemž dominantní zastoupení měl převážně koagulasa negativní *Staphylococcus* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Celkem v souboru zemřelo 8 pacientů (57,14 %). U pacientů s monoterapií kortikosteroidy byla mortalita 75 % (6/8), SCORTEN 3,13 (rozptyl 2–4), a celkový počet izolovaných PPM byl 224, nejvýznamnější PPM byli koagulasa negativní *Staphylococcus*, *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*. U pacientů s monoterapií cyklosporinem A byla mortalita 50 % (1/2) SCORTEN 3,5 (rozptyl 2–5), celkový počet izolovaných PPM byl 92, nejčastěji *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. U pacientů s řízenou imunomodulační terapií byla mortalita 0 % (0/4), SCORTEN 3,75 (rozptyl 2–5), celkový počet izolovaných PPM byl 213, nejčastěji koagulasa negativní *Staphylococcus*, *Proteus mirabilis* a *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **Závěr:**

Výsledky studie potvrzují, že koncept řízené imunomodulace za použití kombinace nízkodávkového kortikosteroidu, cyklosporinu A a intravenózního imunoglobulinu spolu s následnou imunostimulací vede k významné redukci mortality u pacientů s TEN, i přes vyšší riziko rozvoje infekčních komplikací.

## **ILEÓZNÍ STAVY U DĚTÍ**

**Jan Žatecký, Veronika Sněhotová**

*Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie*

**Školitel:** prof. MUDr. Ladislav Plánka, Ph.D.

**Klíčová slova:** *ileus, novorozenci, prokinetika, adheze*

#### **Úvod:**

Střevní neprůchodnost (ileus) patří mezi akutní stavy v dětské chirurgii. Specifikem dětského věku je její atypický průběh. Není-li tento stav okamžitě rozpoznán a urgentně řešen, je zatížen vysokou letalitou.

Cílem studie bylo nejprve zmapovat epidemiologii ileózních stavů u dětí, zvláště pak u novorozenců. Vzhledem k získaným výsledkům byla dále zvláště hodnocena skupina ileózních stavů *ex adhesionibus*, stanovovala se rizikovost časového odstupu od primární operace a vliv podávání prokinetik.

#### **Metody:**

Práce byla konstruována jako retrospektivní klinická studie. Sledování byli pacienti s diagnózou ileu, kteří byli operováni na Klinice dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie v letech 2010 až 2015. Ze souboru byli vyřazeni pacienti s invaginací bez operačního řešení, pacienti s vrozenými vývojovými vadami gastrointestinálního traktu (atrézie, stenóza, malrotace) a pacienti s operační diagnózou nekrotizující enterokolitidy, kdy dominují spíše příznaky sepse. Zdrojem dat byly operační knihy z let 2010 až 2015 a nemocniční informační systém Fakultní nemocnice Brno.

Sledované parametry byly věk, pohlaví, komorbidity, předchozí operace, doba od předchozí operace, pooperační komplikace, nutnost revize, a podání prokinetik.

Výsledky byly zpracovány dvěma statistickými metodami. Fisherovým exaktním testem byla stanovena souvislost mezi podáním prokinetik u pacientů s *ileus ex adhesionibus* a nutností revize, Fleming-Harringtonovým odhadem časový rozptyl revize a appendektomie.

#### **Výsledky:**

Do studie bylo zařazeno celkem 99 pacientů, z toho 64 chlapců (64,65 %) a 35 dívek (35,35 %), s věkovým průměrem 5,15 let a věkovým mediánem 2,3 let. Nejčastější příčinou ileózního stavu u dětí byly pooperační adheze (47,5 %) a invaginace (37,4 %), dále mekoniový ileus (7,1 %), obturační ileus (3 %), paralytický ileus (2 %), volvulus (2 %) a strangulace střevní kličkou (1 %).

Z celkového počtu pacientů bylo 11 novorozenců, 3 chlapci (27,3 %) a 8 dívek (72,7 %), s věkovým průměrem 13 dní a věkovým mediánem 12 dní. Nejčastější příčinou ileu u této věkové skupiny je mekoniový ileus (63,6 %), dále přítomnost adhezí (18,2 %), volvulus (9,1 %) a paralytický ileus (9,1 %).

Pacientů s diagnózou *ileus ex adhesionibus* bylo 47, z toho nejčastější výskyt adhezí byl po appendektomii 21 pacientů (44,7 %), po jiných operacích na střevě 17 pacientů (36,2 %), po ostatních operacích v peritoneální dutině 2 pacienti (4,3 %) a bez operační léčby 7 pacientů (14,9 %).

Četnější výskyt operační revize u skupiny pacientů s *ileus ex adhesionibus*, kterým nebyly podány prokinetika oproti pacientům, kterým podány byly, se nepotvrdil ( $p = 0,372$ ).

Počet pacientů, u kterých byla nutnost revize kvůli adhezím, byl nejvyšší do 12. dne po operačním zákroku na střevě (44,7 % pacientů), do 7. dne po appendektomii (52,4 % pacientů).

#### **Závěr:**

Souvislost nutnosti revize s podáním prokinetik u pacientů s *ileus ex adhesionibus* se neprokázala. Podání prokinetik nemá v této indikaci dle našich výsledků vliv na další průběh.

Nejvyšší incidence *ileus ex adhesionibus* po operačním zákroku na střevě je do 12. dne od operace, po appendektomii do 7. dne. Jedná se tedy v obou případech o nejrizikovější období a pacient by měl být po tuto dobu důsledně hospitalizován a monitorován.

## **VÝSLEDKY LÉČBY PORANĚNÍ PROXIMÁLNÍ EPIFÝZY VŘETENNÍ KOSTI U DĚTÍ**

**Marcela Gorelíková, Zuzana Gallová**

*Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie*

**Školitel:** prof. MUDr. Ladislav Plánka, Ph.D.

**Klíčová slova:** radius, epifyzární poranění, zlomenina, dětský věk

#### **Úvod:**

Poranění proximální epifýzy a metafýzy vřetenní kosti je závažný stav, který může po nesprávném terapeutickém a rehabilitačním postupu vést k řadě komplikací od omezení hybnosti až po předčasný uzávěr růstové chrupavky a poruchy tvaru loketního kloubu. Zlomeniny s dislokací od III. stupně (Judet klasifikace) se zpravidla léčí zavřenou repozicí a transfixací Kirschnerovým drátem (K-drát) nebo Prévotovým hřebem (P-hřeb). Jen výjimečně se přistupuje k otevřené repozici. Předmětem předkládané studie bylo zhodnotit výsledky obou metod miniinvazivní osteosyntézy, neboť neexistuje klinický podklad pro srovnání obou metod a není tak doporučení pro metodu první volby.

#### **Metody:**

Práce byla konstruována jako retrospektivní multicentrická klinická studie. Sledování byli pacienti s diagnózou epifyzární nebo metafyzární zlomeniny nebo separace proximální části vřetenní kosti, kteří byli ošetřeni na Klinice dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie (KDCHOT) Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a na Ortopedické klinice Fakultní nemocnice Plzeň v letech 2006 až 2015. Srovnání obou metod proběhlo na základě sledování stejných parametrů – časový odstup do plného zhojení kosti, časový odstup do plné zátěže končetiny, výsledek léčby (závažné pooperační komplikace) a potřebná délka fixace. Výsledky byly podrobeny statistickému hodnocení.

### **Výsledky:**

Soubor pacientů tvořilo 7 chlapců a 27 dívek ve věku 3–18 let. K-drát byl použit u 19 a P-hřeb u 15 pacientů. V délce fixace, délce hojení a v době, kdy bylo možné končetinu plně zatěžovat, se metody zásadně nelišily. Výraznější rozdíly se vyskytly v komplikacích po léčbě. Po léčbě K-drátem byla hybnost omezena celkem u 5 (26 %) pacientů. U P-hřebů se vyskytlo omezení u 3 (20 %) pacientů. Závažné komplikace se objevily pouze po léčbě K-drátem a to ve třech případech (2× radioulnární synostóza a 1× nekróza hlavičky vřetenní kosti). Ve skupině léčené P-hřeby se závažné komplikace nevyskytly, byly sledovány pouze 3 přechodné, které neovlivnily výsledek léčby (1× paraartikulární osifikace, 2× infekce).

### **Závěr:**

Metoda transfixace dislokované zlomeniny nebo epifyzární separace proximálního konce vřetenní kosti K-drátem se jeví jako rizikovější, zatížená vyšším výskytem závažných komplikací. Metoda zavedení P-hřebu se jeví jako bezpečná a je vhodné ji na základě této studie používat jako metodu první volby. Technika jejího provedení je však poměrně obtížná. Jako sloučení výhody obou metod se jeví použití techniky ESIN like, která bude předmětem další prospektivní klinické multicentrické studie a měla by přinést další zvýšení komfortu a bezpečnosti provedení osteosyntézy.

## **AN AUDIT IN HAND HYGIENE AND DRESS POLICY COMPLIANCE IN A TEACHING HOSPITAL**

**Ana Antunes, Chipo Madada**

*Ústav sociálního lékařství a veřejného zdravotnictví*

**Školitel:** MUDr. Kräuff Rainer Schwanhaeuser Wulff, MBA, Ph.D. et Ph.D., M.A.

**Klíčová slova:** *compliance, Teaching hospital, Healthcare associated infections, Infection control, Health care workers*

### **Úvod:**

This audit was carried out in order to observe the compliance of doctors, nurses and students in hand washing, dress policy and use of gloves in a teaching hospital. Current WHO guidelines in dress policy and optimal hand hygiene techniques, are measures that have been implemented and shown to be effective at minimising the spread of healthcare associated infections. Observations in this audit were based on these guidelines. Adherence to good healthcare practices should be observed and practiced by all, and in particular qualified personnel who are expected to lead by example to students at a teaching hospital.

### **Metody:**

The audit was conducted over a 12 week period, with 4 weeks spent in each of 3 different surgical wards of a teaching hospital in the Czech Republic. Observations were carried out for a length of 1 hour each in the morning and afternoon.

#### *Collection of data*

An observational tool was created consisting of 3 sections.

The 1st was of dress policy, subdivided into: short nails; clean nails; no nail polish; hands free of jewellery, wrists free of accessories; and bare below the elbow.

The 2nd section was of hand disinfection, subdivided into: before patient contact; after patient contact; before an aseptic procedure; after touching patient surroundings; after touching phones; after touching keyboards; after touching printers; after touching door handles; and after touching keys. The 3rd section was of wearing gloves, subdivided into: during procedures; when in contact with blood and other body fluids; changing gloves between patients; and changing gloves between different body parts. The result of each opportunity was recorded as to whether the HCW fully complied or not.

#### *Analysis of data*

Statistical tests were carried out in IBM SPSS version 22.

#### **Výsledky:**

Doctors demonstrated 73% compliance (N = 4127) to dress policy and students 74% (N = 719), which both were lower than for nurses (82%, N = 4110) ( $p < 0.01$ ). There was no evidence to suggest a significant difference in compliance between doctors and students ( $p = 0.42$ ) in following dress policy. Hand hygiene procedures were poorly adhered to by all Health Care Workers (HCWs). Lower levels of compliance were demonstrated by nurses (2%, N = 1939) and doctors (3%, N = 1901), as compared to students (11%, N = 156) ( $p < 0.01$ ). However, a significant difference in compliance between doctors and nurses was not evident ( $p = 0.17$ ).

When wearing gloves appropriately, nurses were the least compliant (57%, N = 317), followed by doctors (84%, N = 169) and students (97%, N = 71) ( $p < 0.01$ ).

#### **Závěr:**

At this teaching hospital, it appears the performance of students surpassed the performance of their teachers, the medical doctors. The very low performance in compliance to optimal hand hygiene is a major concern for the level of care patients are receiving and the further impact on medical services and resources. This therefore requires effective interventions to implement change in attitudes and behaviour towards better safe medical practices.

## 3. SEKCE INTERNÍCH OBORŮ

---

### POZDNÍ NÁSLEDKY NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ DĚTSKÉHO VĚKU. WEBOVÁ APLIKACE PRO VKLÁDÁNÍ DAT V PLATFORMĚ MICROSOFT OFFICE SHAREPOINT.

**Róbert Mazúr, Martina Blanářová, Tomáš Kepák, Kateřina Kepáková, Radek Kovařík**

*Klinika dětské onkologie, Centrum informatiky FN Brno*

**Školitelé:** MUDr. Tomáš Kepák, Mgr. Kateřina Kepáková

**Klíčová slova:** *pozdní následky, nádory dětského věku, PanCareLIFE*

#### **Úvod:**

Dnes dokážeme vyléčit více než 80 % dětí s nádory. Více než dvě třetiny z nich si však do dalšího života odnášejí nežádoucí následky léčby. Proto je stále důležitějším úkolem soustředit se nejen na samotné vyléčení, ale i na kvalitu života vyléčených pacientů a následnou péči v dětství i dospělosti. V reakci na tuto potřebu vznikla mezinárodní skupina PanCare. FN Brno se účastní projektu PanCareLIFE ([www.pancarelife.eu](http://www.pancarelife.eu)), který je v letech 2013–2018 zaměřen na výzkum možných poruch sluchu a plodnosti a s nimi spojenou kvalitu života u vyléčených pacientů. Podmínkou systematického sledování, vyhodnocování pozdních následků léčby a výzkumu v této oblasti je tvorba uživatelsky přátelského systému vkládání dat a výzkumné databáze.

#### **Metody:**

V projektu PanCareLIFE sledujeme genetické a negenetické rizikové faktory, které se mohou podílet na rozvoji neplodnosti a poruchy sluchu u dětských onkologických pacientů, a to u dvou výzkumných kohort pacientů Kliniky dětské onkologie LF MU a FN Brno. V retrospektivní kohortě oslovujeme pacienty starší 18 let, kteří jsou více než 5 let od diagnózy, v trvající remisi onemocnění. V prospektivní kohortě pak pacienty aktuálně léčené chemoterapií a/nebo radioterapií, které v budoucnu mohou vést k rozvoji sledovaných nežádoucích následků léčby. Získaná klinická, laboratorní a dotazníková data vkládáme od prosince 2015 do nově konstruovaného, pro projekt cíleně vytvořeného a zabezpečeného (chráněného heslem) webového formuláře. Systém je vytvořen na platformě Share Point, což je univerzálně dostupná platforma Microsoft Office umožňující vytváření internetových aplikací.

#### **Výsledky:**

V období 12/2015 až 03/2016 jsme již do databáze vložili výzkumná data od 406 aktuálně léčených a vyléčených pacientů z cílového počtu přibližně 600 plánovaných oslovených pacientů. Do 06/2016 budeme se sběrem výzkumných dat pokračovat a ve sdělení budeme prezentovat první výsledky naší studie v následujících oblastech: prospektivní studie znalostí léčených pacientů o možnostech uchování fertility (aktuální  $n = 34$ ); retrospektivní studie fertility u dospělých žen ( $n = 120$ ) a mužů ( $n = 130$ ); prospektivní studie ototoxicity ( $n = 30$ ) a retrospektivní studie ototoxicity ( $n = 115$ ).

#### **Závěr:**

Výzkum v oblasti pozdních následků léčby a poznání determinant jejich výskytu je nezbytným předpokladem jejich prevence, časné detekce a cílené léčby s cílem zvýšit kvalitu života vyléčených dětských onkologických pacientů. Webová aplikace v platformě Share Point umožňuje uživatelsky

příznivý, systematický sběr výzkumných dat a slouží jako vhodná základna pro dlouhodobou registraci a databázi pozdních následků dětských onkologických pacientů.

#### **Poděkování:**

Tato práce vznikla s podporou projektu PanCareLIFE, který je financován ze 7. rámcového programu Evropské unie pro výzkum, technologický rozvoj a demonstrace, pod registračním číslem 602030-2 a spolufinancován MŠMT ČR pod číslem 7E13061.

## **ELEVACE SRDEČNÍHO TROPONINU T U PACIENTŮ S AMYOTROFICKOU LATERÁLNÍ SKLERÓZOU**

**Lukáš Mach, Tomáš Konečný, Kateřina Helánová, Allan S. Jaffe, Eric J. Sorenson, Virend K. Somers, Guy S. Reeder**

*Division of Cardiovascular Diseases, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA*

**Školitelé:** MUDr. Tomáš Konečný, M.D., Ph.D., Virend K. Somers, M.D., Ph.D.

**Klíčová slova:** akutní koronární syndrom, neuromuskulární onemocnění, amyotrofická laterální skleróza, troponin T

This work has been published as an original research article in Acta Neurologica Belgica and the copyright belongs to the publisher which is Springer International Publishing AG, Part of Springer Science+Business Media. Hence, reproducing the abstract in the conference abstract book is not permitted.

Full citation details:

Mach L, Konecny T, Helanova K, Jaffe AS, Sorenson EJ, Somers VK, Reeder GS. Elevation of Cardiac Troponin T in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. Acta Neurologica Belgica. 2016 Jan 22. [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s13760-015-0596-8

## **ANALÝZA ÚBYTKU ŠEDÉ HMOTY U PACIENTŮ S ALZHEIMEROVOU A PARKINSONOVOU CHOROBOU**

**Jonáš Kunst, Radek Mareček, Irena Rektorová**

*CEITEC MU, Skupina aplikovaných neurověd*

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

**Klíčová slova:** Parkinsonova choroba, Alzheimerova choroba, magnetická rezonance, morfologická analýza

#### **Úvod:**

Neurodegenerativní onemocnění jsou jedním z nejzávažnějších problémů naší doby. Alzheimerova choroba (AD) je nejčastější příčinou demence v celosvětové populaci. Parkinsonova choroba (PD) je časté extrapyramidové onemocnění, jehož symptomem taktéž může být kognitivní deficit progredující až do demence. Pro zlepšení života pacientů postižených takovými onemocněními je důležitá včasná a správná diagnostika, která je prozatím založená především na klinickém neurologickém a případně neuropsychologickém vyšetření. Tento článek se zabývá analýzou úbytku šedé hmoty u jednotlivých skupin pacientů za účelem najít rozdíly, které by mohly pomoci v časně diagnostice a při odlišování jednotlivých stádií onemocnění.

## **Metody:**

Byly analyzovány výsledky kognitivního vyšetření a snímky z magnetické rezonance (MRI) od 144 subjektů – 58 zdravých dobrovolníků (HC), 27 pacientů s mírnou kognitivní poruchou při AD (AD-MCI), 12 pacientů s AD, 23 pacientů s PD s normálním kognitivním výkonem a 24 pacientů s mírnou kognitivní poruchou při PD (PD-MCI) dle platných klinických diagnostických kritérií. Kognitivní výkon byl hodnocen v jednotlivých kognitivních doménách pomocí z-skórů. V případě MRI hodnocení byly po předzpracování snímků použity dvě morfometrické metody zkoumající makroskopické rozdíly v rozložení šedé hmoty v mozcích subjektů. Morfometrie založená na voxelu (VBM) porovnává v každém voxelu rozdíl v lokálním objemu šedé hmoty mezi skupinami. Morfometrie založená na zdroji (SBM) sleduje meziskupinové rozdíly v lokálním objemu šedé hmoty pomocí analýzy nezávislých komponent (ICA), která shlukuje voxely, vykazující v dané skupině subjektů podobné hodnoty objemu šedé hmoty v takzvané komponenty. Statistická analýza je pak provedena na těchto komponentách. V obou případech byl při statistickém zpracování odstraněn efekt věku, pohlaví, délky vzdělání a depresivních symptomů dle klinické škály (Geriatric Depression Scale). Posledním krokem zpracování dat byla korelace s výsledky kognitivních testů za účelem nalezení souvislostí mezi úbytky lokálních objemů šedé hmoty (GMV) a úbytkem schopností v dané kognitivní doméně (paměť, pozornost, exekutivní funkce, zrakově-prostorové a jazykové funkce)

## **Výsledky:**

VBM analýza ukázala snížení GMV ve skupině AD v porovnání s HC v oblasti obou hippocampů a temporálních laloků. Úbytek GMV koreloval s výkonem v paměťové doméně. Skupina AD-MCI se lišila od HC v oblasti předního a zadního cingula bez korelace s kognitivním výkonem. Pacienti s AD oproti AD-MCI vykazovali snížení GMV v levém hippocampu s korelací s kognitivním výkonem ve všech doménách mimo zrakově-prostorové. PD-MCI se od HC lišili snížením GMV v levém cuneu a precuneu (bez korelace s kognitivními z-skóry), zatímco oproti PD se lišili snížením GMV v levé fronto-orbitální kůře, s korelací s paměťovou doménou.

SBM analýza byla hodnocena ve 3 samostatných kohortách: 1. HC vs. AD-MCI vs. AD (hodnoceny různé fáze AD ve srovnání s HC), 2. HC vs. PD vs. PD-MCI (hodnoceny různé fáze PD ve srovnání s HC) a 3. HC vs. AD-MCI vs. PD-MCI (hodnoceny MCI skupiny různé etiologie ve srovnání s HC). V první kohortě byly nalezeny 3 komponenty se signifikantním efektem: frontoparietální komponenta (FPC), okcipitální komponenta (OC, korelace s doménou pozornost) a temporální komponenta (TC, korelace se všemi kognitivními doménami). Post-hoc testy prokázaly, že FPC odlišuje AD-MCI od HC, zatímco TC a OC odlišují až AD od HC a AD-MCI. V 2. kohortě nebyl signifikantní výsledek. V případě 3. kohorty odlišila FPC pacienty s PD-MCI od HC.

## **Závěr:**

Zpracování MRI strukturálních dat pomocí dvou metod ukázalo, že se výsledky obou analýz vzájemně doplňují. Obě metody našly signifikantní rozdíly v GMV mezi AD-MCI a HC – odlišily skupinu pacientů s AD již v jejím časném stádiu před rozvojem demence. Rozdíly byly zejména v oblastech cingula (oblast časného ukládání  $\beta$ -amyloidu) a oblastech fronto-parietálních (zapojených do centrální exekutivní sítě). Pacienti s MCI při PD se lišili od PD s normálním kognitivním výkonem a HC kortikální atrofií v oblastech zapojených do paměťových, exekutivních a pozornostních procesů. Pacienti s AD se lišili od AD-MCI a HC atrofií rozsáhlejších korových oblastí a sítě zapojených zejména do paměťových procesů a zrakově-prostorových funkcí.



# HUMORÁLNÍ SIGNALIZACE EPIKARDIÁLNÍ, PERIAORTÁLNÍ A SUBKUTÁNNÍ TUKOVÉ TKÁŇ

Kateřina Wojnarová, Lukáš Mach, Hana Vitulová, Dana Sochorová, Petr Němec, Marek Orban

Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno

**Školitel:** MUDr. Marek Orban

**Klíčová slova:** ischemická choroba srdeční, epikardiální tuková tkáň, adipokiny

## Úvod:

Viscerální tuková tkáň v okolí srdce a velkých cév byla předmětem extenzivního výzkumu. Všeobecně se tato tkáň rozděluje dle anatomického uložení na 1) epikardiální, 2) perikardiální, 3) hrudní periaortální, 4) břišní periaortální a 5) tuková tkáň obalující malé cévy. Nicméně tuková tkáň v okolí ascendentní aorty a oblouku aorty nebyla až doposud zkoumána a zmínky o ní jsou v literatuře sporé. Proto jsme uskutečnili pilotní studii, která analyzovala vybrané cytokiny v tukové tkáni obklopující vzestupnou aortu (ascending aortic adipose tissue – AAAT) a porovnali jejich hladiny s těmi v epikardiální (EAT) a subkutánní tukové tkáni (SAT).

## Metody:

Vzorky SAT, EAT a AAAT byly odebrány pacientům, kteří podstoupili elektivní kardiochirurgický výkon na našem pracovišti. Tkáňové koncentrace TNF- $\alpha$ , IL-6, AFABP, leptinu a adiponektinu byly stanoveny metodou ELISA a korelovány na celkové množství proteinů ve vzorku. Výsledky byly porovnány pomocí párového t-testu s Bonferreniho korekcí.

## Výsledky:

Do studie bylo zařazeno 117 pacientů (věk:  $68,3 \pm 8,9$  let, počet žen: 28 (24 %)). Hladiny adiponektinu a AFABP v periaortálním tuku byly signifikantně nižší než v tuku epikardiálním (adiponektin:  $p < 0,0001$ , AFABP:  $p = 0,006$ ). Avšak nezaznamenali jsme signifikantní rozdíl mezi hladinami v tuku periaortálním a subkutánním. Koncentrace adiponektinu, AFABP, IL-6 byly významně vyšší v EAT oproti SAT (adiponektin:  $p = 0,0357$ ; AFABP:  $p = 0,0018$ ; IL-6:  $p < 0,0001$ ). U ostatních markerů jsme nezaznamenali významný rozdíl.

## Výsledky:

Výsledky naší studie naznačují, že AAAT má vlastní humorální aktivitu, která nebyla doposud studována, a která se jeví odlišná od aktivity EAT. Pro další výzkum humorální aktivity tukové tkáně je tedy nutné brát v potaz přesnou lokalizaci při odbírání vzorků, protože i relativně blízké anatomické kompartmenty mohou vykazovat odlišný humorální profil. Je třeba dalšího výzkumu k objasnění signifikance těchto rozdílů v patogenezi ischemické choroby srdeční, degenerativního poškození aortální chlopně, aterosklerotických změn aorty a dalších onemocnění.

# HIPPOCAMPAL INVOLVEMENT IN PHYSIOLOGICAL DÉJÀ VU: SUBFIELD VULNERABILITY RATHER THAN TEMPORAL LOBE EPILEPSY

Eva Pešlová, Radek Mareček, Daniel Joel Shaw, Tomáš Kašpárek, Martin Pail, Milan Brázdil

*I. neurologická klinika, CEITEC*

**Školitel:** prof. MUDr. Milan Brázdil, Ph.D.

**Klíčová slova:** *déjà vu, mesial temporal lobe epilepsy, schizophrenia, hippocampal subfields, voxel-based MR analysis*

## **Úvod:**

Morphological correlates of physiological déjà vu (DV) have been identified recently within the human brain. Specifically, significantly reduced gray matter volume (GMV) within a set of cortical and subcortical regions is reported in subjects experiencing DV that mirrors the distribution of GMV reduction in patients suffering from mesial temporal lobe epilepsy (MTLE). These patterns of GMV reduction vary in terms of the affected hippocampal regions, however. Another condition associated with hippocampal GMV reduction is schizophrenia (SCH). Here we tested the hypothesis that hippocampal involvement in physiological DV resembles more closely the pattern of GMV decrease observed in MTLE compared with that occurring in SCH.

## **Metody:**

We compared by Wilcoxon paired test the medians of GMV within distinct hippocampal subfields (cornu ammonis [CA] 1, CA2-3, CA4 dentate gyrus [DG], subiculum and presubiculum) in healthy individuals that do (DV+; N = 87) and do not report déjà vu experience (DV-; N = 26), and patients with MTLE (N = 47) and SCH (N = 29). By Spearman rank correlation, we then evaluated the resemblance of MTLE and SCH groups to DV+ group with respect to spatial distribution of GMV deviation from DV- group.

## **Výsledky:**

Significant GMV decrease was found in all hippocampal subfields except CA1 for the DV+, MTLE and SCH groups relative to the DV- group. Concerning the spatial distribution of GMV decrease, we found statistically significant correlations both between DV+ and SCH, and DV+ and MTLE groups. Higher correlations were observed between DV+ and SCH, however.

## **Závěr:**

Our findings reveal common structural features of hippocampal involvement in physiological DV, MTLE and SCH. Despite our primary expectations, the pattern of GMV reduction in the DV+ relative to the DV- group does not resemble the same pattern observed in MTLE any more than that observed in SCH. Nevertheless, the highly similar patterns of the three clinical groups suggest an increased vulnerability of certain hippocampal subfields; namely, CA4 DG, CA 2-3 and subiculum.

## **Poděkování:**

This research was carried out under the project CEITEC 2020 (LQ1601) with financial support from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic under the National Sustainability Program II.

# OVLIVŇUJE CHARAKTER ZÁNĚTLIVÉ INFILTRACE MYOKARDU VÝVOJ ECHOKARDIOGRAFICKÝCH PARAMETRŮ U PACIENTŮ SE ZÁNĚTLIVOU KARDIOMYOPATIÍ?

Alica Nováková

I. interní kardiologická klinika

**Školitel:** MUDr. Jan Krejčí, Ph.D.

**Klíčová slova:** zánětlivá kardiomyopatie, zánětlivá infiltrace, echokardiografie

## Úvod:

Zánětlivá kardiomyopatie (ZKMP) je definována jako histologicky a imunohistologicky potvrzený zánět myokardu asociovaný se srdeční dysfunkcí. Zlatým standardem pro potvrzení diagnózy ZKMP je endomyokardiální biopsie (EMB). V bioptickém vzorku je hodnocen počet mononukleárních leukocytů, tzv. LCA+ buněk (leukocyte common antigen) a T-lymfocytů (tzv. CD3+ buněk). Pro potvrzení diagnózy byl v minulosti potřebný nález  $> 7$  CD3+/mm<sup>2</sup> a/nebo  $> 14$  LCA+ buněk/mm<sup>2</sup>. Podle nové klasifikace je však nezbytný současný výskyt obou typů buněk nad uvedenou hranici. Není jasné, zda má současná přítomnost nadlimitního počtu obou typů buněk oproti izolované přítomnosti jen LCA+ buněk negativní vliv na průběh onemocnění.

## Metody:

Cílem práce bylo porovnání vývoje echokardiografických parametrů u pacientů se zánětlivou kardiomyopatií ve dvou skupinách s rozdílným typem buněčné zánětlivé infiltrace (současná pozitivita LCA+ a CD3+ buněk, vs. pozitivita jen LCA+ buněk) v šestiměsíčním sledování. Do studie byli zařazeni nemocní s čerstvě vzniklou biopticky potvrzenou ZKMP s ejekční frakcí levé komory (EF LK)  $< 40$  % hodnocenou echokardiograficky, u kterých byla vyloučena jiná příčina dysfunkce levé komory (především významná chlopenní vada, ischemická choroba srdeční či toxické vlivy). Vstupně bylo provedeno klinické vyšetření, EMB a echokardiografické vyšetření, kontrolní vyšetření proběhlo za 6 měsíců. Do studie bylo zařazeno 77 pacientů (60 mužů, 17 žen), průměrného věku  $45 \pm 12$  roků. Podle výsledku EMB byli rozděleni do dvou skupin: první skupina (skupina A, n = 28) s přítomností  $> 14$  LCA+ buněk a současně  $> 7$  CD3+ buněk v mm<sup>2</sup> bioptického vzorku; druhou skupinu tvořili pacienti s přítomností  $> 14$  LCA+ buněk, ale  $< 7$  CD3+ buněk v mm<sup>2</sup> (skupina B, n = 49).

## Výsledky:

Ve skupině A byla vstupní EF LK  $25 \pm 8$  %, ve skupině B  $24 \pm 7$  % (rozdíl mezi sk. p = 0,634). Zlepšení EF LK při kontrole bylo  $16 \pm 14$  % ve sk. A (p  $< 0,001$ ) a  $15 \pm 12$  % ve sk. B (p  $< 0,001$ ; rozdíl mezi sk. p = 0,663). EDV LK se snížil o  $21 \pm 38$  ml ve sk. A (p = 0,200) a o  $34 \pm 49$  ml ve sk. B (p = 0,005; rozdíl mezi sk. p = 0,200). U ESV LK ve sk. A došlo k snížení o  $41 \pm 44$  ml (p = 0,012) a ve sk. B o  $48 \pm 46$  ml (p  $< 0,001$ ; rozdíl mezi sk. p = 0,492). Diastolická funkce LK charakterizovaná poměrem E/e' se zlepšila ve sk. A o  $3,3 \pm 6,9$  a ve sk. B o  $4,3 \pm 6,7$  (rozdíl mezi sk. p = 0,572). Počet infiltrujících buněk ve sk. A byl  $28,5 \pm 19,0$  LCA+ buněk/mm<sup>2</sup> a  $12,3 \pm 9,8$  CD3+ buněk/mm<sup>2</sup>; ve sk. B  $17,6 \pm 2,8$  LCA+ buněk/mm<sup>2</sup> a  $4,0 \pm 2,3$  CD3+ buněk/mm<sup>2</sup> (p  $< 0,01$ ; resp. p  $< 0,001$ ). V 6. měsíci došlo ve sk. A k poklesu o  $16,2 \pm 17,6$  LCA+ buněk/mm<sup>2</sup> a o  $8,4 \pm 9,5$  CD3+ buněk/mm<sup>2</sup> (p = 0,01; resp. p  $< 0,001$ ); ve sk. B o  $6,7 \pm 6,8$  LCA+ buněk/mm<sup>2</sup> a  $1,4 \pm 2,6$  CD3+ buněk/mm<sup>2</sup> (p  $< 0,01$ ; resp. p  $< 0,001$ ), rozdíl mezi sk. byl významný pro LCA+ i CD3+ buňky (p  $< 0,01$ ; resp. p  $< 0,001$ ). Třída NYHA klasifikace

byla vstupně ve sk. A  $2,5 \pm 0,6$ ; po 6 měsících  $1,7 \pm 0,6$  ( $p < 0,001$ ); ve sk. B  $2,4 \pm 0,6$ ; po 6 měsících  $1,7 \pm 0,5$  ( $p < 0,001$ ), rozdíl ve zlepšení mezi skupinami nebyl statisticky významný ( $p = 0,737$ ).

### **Závěr:**

Ve skupině A byly zánětlivé změny v době diagnózy výraznější a také pokles počtu zánětlivých buněk v kontrolní EMB byl v této skupině větší. Změny echokardiografických parametrů i funkční třídy NYHA klasifikace se však v obou skupinách statisticky významně nelišily. Současná přítomnost obou typů buněk tedy neměla vliv na další vývoj sledovaných parametrů.

## **REZISTENCE A INTOLERANCE K LÉČBĚ TYROZINKINÁZOVÝMI INHIBITORY U PH+ AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÉ LEUKEMIE DOSPĚLÝCH**

**Jan Máchal, Lucia Azorová**

*Interní hematologická a onkologická klinika*

**Školitelé:** MUDr. František Folber, Ph.D., prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.

**Klíčová slova:** akutní lymfoblastická leukémie, léčba, tyrozinkinázové inhibitory, nežádoucí účinky

### **Úvod:**

Dospělí pacienti trpící akutní lymfoblastickou leukémií s pozitivitou filadelfského chromozomu (Ph+ ALL) jsou skupinou, jež je ohrožena vysokým rizikem relapsu. Metodou volby pro léčbu těchto pacientů dosud zůstává alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk. Zařazení tyrosinkinázových inhibitorů (TKI) do standardních protokolů pro léčbu tohoto onemocnění přineslo zlepšení v dosažených léčebných odpovědích i celkové délce přežití. Tyto léky jsou však zatíženy rizikem vzniku nežádoucích účinků, jež mohou vyžadovat snížení podávaných dávek.

Cílem naší práce bylo analyzovat léčebné strategie používané v léčbě dospělých pacientů s Ph+ ALL v klinické praxi a zjistit, jakým způsobem mohou redukce dávky TKI ovlivnit výsledek terapie.

### **Metody:**

Do retrospektivní studie byli zařazeni všichni dospělí pacienti s Ph+ ALL diagnostikovanou na Interní hematologické a onkologické klinice FN Brno v letech 2005 až 2015, kteří byli léčeni tyrosinkinázovými inhibitory. Získaná data byla analyzována se zaměřením na léčebnou odpověď, frekvenci relapsu a faktory ovlivňující přežití.

### **Výsledky:**

Do studie bylo zahrnuto 41 pacientů s Ph+ ALL ve věku 19–82 let (medián 58 let) v době diagnózy. U 33 pacientů (85 %) bylo dosaženo kompletní remise (CR) a 57 % z nich dosáhlo kompletní molekulární odpovědi (CMR). TKI použitým v první linii byl u všech pacientů imatinib v dávce 600 mg. U 18 pacientů musela být dávka v průběhu léčby snížena kvůli přítomnosti nežádoucích účinků. U 16 pacientů, kteří dosáhli CR, došlo k relapsu. Druhé CR dosáhlo jen 6 z nich. TKI použitým v druhé linii léčby byl buď dasatinib (12 pacientů), anebo imatinib v dávce 800 mg (3 pacienti). Dávka musela být dále snížena u 10 pacientů (83 %). U 5 pacientů po dosažení druhé CR došlo k dalšímu relapsu. Během sledování 27 pacientů (66 %) zemřelo, 14 pacientů (34 %) dosud žije v kompletní remisi. Pětileté celkové přežití (OS) bylo ve sledované kohortě 30 %. Statisticky významnými faktory prodlužujícími OS byly: věk pod 55 let (pětileté přežití u 57 % × 8 % u starších pacientů,  $p < 0,01$ ), CR (37 % × 0 %,  $p < 0,01$ ), CMR (54 % × 0 %,  $p < 0,01$ ), provedení alogenní transplantace (58 % × 8 %,  $p < 0,01$ ) a nepřítomnost relapsu (67 % × 0 %,  $p = 0,01$ ). Ve skupině ne-transplantovaných pacientů, kterým bylo nutné snížit dávku imatinibu, nebyla delká přežití

horší ve srovnání se skupinou, u níž ke snižování dávky nebylo třeba přistoupit. Překvapivě tito pacienti přežívali déle – dvouleté celkové přežití u pacientů s redukovanou dávkou bylo 38 % oproti 8 % ve skupině bez redukce ( $p < 0,01$ ).

#### **Závěr:**

Dospělí pacienti s Ph+ ALL jsou skupinou s velmi variabilní prognózou. Nejlepších léčebných výsledků je dosahováno u mladších pacientů, kteří podstoupí alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk v první hematologické a molekulární remisi. Z výsledků naší analýzy plyne, že redukce dávky imatinibu z důvodu výskytu nežádoucích účinků nemá negativní vliv na délku celkového přežití.

## **3D ROTAČNÍ ANGIOGRAFIE LEVÉ SÍNĚ A JÍCNU: KRÁTKODOBÁ MOBILITA JÍCNU A STABILITA FÚZE 3D MODELU LEVÉ SÍNĚ A JÍCNU BĚHEM KATÉTROVÉ ABLACE FIBRILACE SÍNÍ**

**Martin Ščurek**

*I. interní kardiologická klinika, Mezinárodní centrum klinického výzkumu (FNUSA-ICRC)*

**Školitel:** MUDr. Zdeněk Stárek, Ph.D.

**Klíčová slova:** angiografie, fibrilace síní, katéetrová ablace, jícen, srdeční síně

#### **Úvod:**

Cílem naší studie bylo posoudit pohyb jícnu a stabilitu jeho 3D modelu při katéetrové ablací pro fibrilaci síní. K objektivizaci bylo použito modelu levé síně a jícnu z 3D rotační angiografie, který byl automaticky fúzován s 2D fluoroskopií.

#### **Metody:**

Od října 2014 do září 2015 byla u 33 pacientů provedena 3D rotační angiografie levé síně a jícnu před katéetrovou ablací pro fibrilaci síní. Kontrolní esofagografie byla prováděna každých 30 minut po celou dobu katéetrové ablace. Pozice esofagogramů a modelu jícnu a levé síně srdeční byly opakovaně měřeny proti páteři a následně statisticky vyhodnoceny.

#### **Výsledky:**

Posun jícnu se v průběhu katéetrové ablace průměrně pohyboval v rozmezí od  $2,7 \pm 2,2$  do  $5,0 \pm 3,5$  mm. Průměrný aktuální posun jícnu oproti modelu jícnu z 3D rotační angiografie se pohyboval v rozmezí od  $2,7 \pm 2,2$  do  $3,8 \pm 3,4$  mm. Až do 90. minuty výkonu zde nebyl žádný statisticky významný posun jícnu. Průměrný posun 3D modelu levé síně a jícnu v průběhu vyšetření se pohyboval v rozmezí od  $1,4 \pm 1,8$  do  $3,3 \pm 3,0$  mm v levo-pravém směru a od  $0,9 \pm 1,2$  do  $2,2 \pm 1,3$  mm v kraniokaudálním směru. V průběhu dvouhodinového výkonu zde nebyl žádný statisticky významný posun modelu jícnu a levé síně.

#### **Závěr:**

V průběhu katéetrové ablace pro fibrilaci síní nebyl až do 90. minuty výkonu žádný statisticky významný posun jícnu. Rovněž v průběhu celého výkonu zde nebyl žádný statisticky významný posun modelu levé síně a jícnu získaného z 3D rotační angiografie.

#### **Poděkování:**

Tato práce byla podpořena specifickým výzkumným projektem MUNI/A/1270/2015.

# VLIVY POLYMORFISMŮ V RECEPTORU PRO VITAMIN D NA VÝSKYT A PRŮBĚH ROZTROUŠENÉ SKLERÓZY

**Pavel Křenek, Anna Vašků, Yvonne Benešová**

*Ústav patologické fyziologie, Neurologická klinika*

**Školitelka:** prof. MUDr. Anna Vašků, CSc.

**Klíčová slova:** roztroušená skleróza, vitamin D, receptor, polymorfismus, průběh, prognóza, rs4516035, rs2228570, EcoRV, FokI

## **Úvod:**

Cílem výzkumu bylo prokázat asociaci mezi genotypy danými dvěma jednonukleotidovými polymorfismy v promotoru receptoru pro vitamin D – rs4516035 (EcoRV) a rs2228570 (FokI) – a výskytem roztroušené sklerózy (RS) a jejími klinickými parametry (věkem v době diagnózy, délkou onemocnění, EDSS, MSSS a formou onemocnění).

## **Metody:**

Skupina pacientů se skládala z 307 nepříbuzných českých pacientů s roztroušenou sklerózou, kteří splňovali McDonaldova kritéria pro RS. Jednalo se o 221 žen a 86 mužů z RS centra Neurologické kliniky Fakultní nemocnice Brno. Kontrolní skupinu tvořilo 136 pacientů (87 žen a 49 mužů) bez neurologických onemocnění v anamnéze včetně rodinné anamnézy. Obě skupiny byly sestaveny MUDr. Yvonne Benešovou, Ph.D. Genotypizace byla provedena prostřednictvím PCR a restriční analýzy enzymy EcoRV a FokI.

## **Výsledky:**

V případě polymorfismu rs4516035 (EcoRV) byl s hraniční statistickou významností prokázán vliv na věk v době diagnózy u žen (Kruskal-Wallis ANOVA,  $p = 0,06$ ), vliv na délku onemocnění u žen (Kruskal-Wallis ANOVA,  $p = 0,002$ ), vliv na EDSS u žen (Kruskal-Wallis ANOVA,  $p = 0,04$ ) a vliv na formu onemocnění. U žen s primárně progresivní formou onemocnění (PPMS) se genotyp CT vyskytoval 4× častěji než u relabující-remitentní formy (RRMS) [Fisher exact test,  $p = 0,01$ ,  $P_{corr} = 0,04$ , OR = 3,889 (1,23–12,29), senzitivita: 0,78; specificita: 0,53; síla testu: 0,77]. Vliv na riziko onemocnění roztroušenou sklerózou bylo prokázáno u mužů, alela C se vyskytovala 1,7× častěji u mužů s RS [Fisher exact test, OR = 1,68 (1,02 to 2,779);  $p = 0,03$ ]. Genotyp TT byl u žen shledán jako prognosticky nejpříznivější, genotyp CC měl středně dobrou prognózu a genotyp CT měl u žen prognózu nejhorší. Alela C byla z hlediska RS prokázána rizikovým faktorem u mužů. V případě polymorfismu rs2228570 (FokI) byl prokázán vliv na MSSS u žen, genotyp AA měl oproti genotypům GA + GG významně nižší MSSS (Mann-Whitney U Test,  $p = 0,02$ ).

## **Závěr:**

Genotypy/alely obou vyšetřených polymorfismů byly asociovány s vnímavostí vůči RS u mužů a horší prognózou u žen. U žen byla signifikantní asociace s EDSS a MSSS jako fenotypovými kritérii závažnosti RS.

# RIZIKOVÉ FAKTORY A INCIDENCE HEMORAGICKÝCH CÉVNÍCH MOZKOVÝCH PŘÍHOD. KOMUNITNÍ STUDIE, BRNO 2011

Albert Štěrba, Petra Šedová

*I. neurologická klinika*

**Školitel:** doc. MUDr. Robert Mikulík, Ph.D.

**Klíčová slova:** cévní mozková příhoda, hemoragický, lokace, volum

## Úvod:

Cílem této neuroepidemiologické komunitní studie bylo identifikovat nejvýznamnější rizikové faktory ovlivňující výskyt krvácivých cévních mozkových příhod (hCMP). V druhém kroku jsme pátrali po incidenci jednotlivých subtypů cévních mozkových příhod napříč zkoumanou populací v Brně a okolí. Incidenci případů hemoragické cévní mozkové příhody u této populace jsme porovnali s výskytem v jiných zemích v různých letech.

## Metody:

Byla sesbírána data 169 pacientů s anamnézou prvního výskytu hCMP, hospitalizovaných v průběhu roku 2011 ve 4 brněnských nemocnicích (FN Brno, FN u sv. Anny, Nemocnice Milosrdných bratří, Vojenská nemocnice). Pacienti byli rozděleni podle diagnózy na pacienty s netraumatickým subarachnoidálním krvácením (I60) a na ty s netraumatickým intracerebrálním krvácením (I61). U pacientů bylo shromážděno více než 150 různých proměnných. Statistickou analýzou byly hledány korelace mezi hodnotami těchto proměnných a neurologickou závažností hCMP při příjmu (NIHSS skóre) s cílem najít nejvlivnější rizikové faktory hCMP.

Data o incidenci hCMP napříč věkovými skupinami u zkoumané brněnské populace byla porovnána s údaji incidence hCMP u jiných evropských a světových populací v různých obdobích (Evropa 1960, Evropská unie 2010, svět 1960, WHO 2010 aj.).

## Výsledky:

Mezi významné rizikové faktory patří věk pacienta. S rostoucím věkem byla tendence nárůstu neurologické závažnosti. Riziko negativnějšího funkčního výstupu bylo u pacientů provázeno zvýšenými hodnotami krevního tlaku (hypertenzí). Větší riziko také představovalo mužské pohlaví a pravidelný příjem zvýšeného množství alkoholu. Zvýšený krevní cholesterol byl svázan s nižším rizikem výskytu hemoragické cévní mozkové příhody. Nebylo možné určit, zdali se jedná o nezávislé rizikové faktory.

Incidence hCMP u brněnské (české) populace za rok 2011 je vyšší než odhad incidence u evropské populace za rok 2010. Incidence hCMP se také ukázala být vyšší ve vyspělých zemích. Na pozadí let, během nichž byla incidenční data v jednotlivých populacích sbírána, byla pozorována tendence růstu výskytu hCMP směrem do současnosti. Výše uvedené může souviset se zvyšující se průměrnou dobou dožití v průběhu let v těchto zemích.

## Závěr:

Získané poznatky o rozložení rizikových faktorů u pacientů s výskytem hCMP by měly najít uplatnění zejména v preventivních opatřeních vedoucích k snížení incidence hemoragických cévních mozkových příhod. Incidenční data nám umožňují vhled do výskytu hCMP v různých geograficky definovaných populacích v kontextu chronologického vývoje.

# VÝSLEDKY CHIRURGICKEJ LIEČBY EPILEPSIE ALEBO NIE JE TO LEN O ZÁCHVATOCH

**Barbora Sklenárová**

*I. neurologická klinika*

**Školiteľka:** MUDr. Irena Doležalová, Ph.D.

**Kľúčová slova:** *epilepsia, farmakorezistencia, chirurgická liečba, bezzáchvatovosť, kvalita života*

## **Úvod:**

Epilepsia je chronické neurologické ochorenie charakterizované opakovaným výskytom záchvatov. Tie obmedzujú človeka pri rôznych činnostiach a jednoznačne tak znižujú kvalitu jeho života. Vo väčšine prípadov sa darí dosiahnuť dobrú kompenzáciu tohto ochorenia farmakologicky, ale približne u tretiny pacientov to nie je možné a označujeme ich za farmakorezistentných. V týchto prípadoch je potrebné myslieť na operačné riešenie. Chirurgická liečba epilepsie, ako jediná možnosť kauzálnej terapie tohto ochorenia, má v prvom rade za cieľ eliminovať záchvaty, ale čoraz častejšie sa kladie dôraz na pooperačné zlepšenie kvality života.

## **Metody:**

Pre účely tejto štúdie bol použitý dotazník QOLIE-89, ktorý obsahuje 89 uzavretých otázok. Tie je možné rozdeliť do 17 oblastí, a to: celková kvalita života, emočný stav, limitácie z dôvodu emočných problémov, sociálna podpora, sociálna izolácia, energia/únava, obava záchvatu, účinky liekov, strata odvahy v súvislosti so zdravotným stavom, práca/riadenie motorového vozidla/sociálne fungovanie, pozornosť/koncentrácia, jazyk, pamäť, fyzické funkcie, bolesť, limitácie z dôvodu fyzických problémov a vnímanie zdravia. Pacienti vyplňovali tento dotazník dvakrát – pred operáciou a minimálne rok po operácií. Osobné údaje pacientov, hodnotu predoperačného IQ, iné ochorenia, informácie o epilepsii (typ, dĺžka trvania) a o chirurgickom výkone (typ, histopatologický nález, vek pacienta v dobe operácie, počet záchvatov pred a po operácií) boli doplnené z nemocničného informačného systému. Dotazník vyplnilo celkom 123 pacientov, ktorí podstúpili operačný výkon v rámci Centra pro epilepsie Brno. Získané výsledky boli následne štatisticky vyhodnotené u 95 z nich. Kritériá pre výber tejto skupiny boli podstúpený resekčný epileptochirurgický zákrok a kompletne vyplnený dotazník pred aj po operácií. Zber dát prebiehal v období rokov 2007 až 2015.

## **Výsledky:**

Až 79 (83 %) pacientov trpelo temporálnou epilepsiou, u zvyšných 16 (17 %) pacientov sa jednalo o extratemporálnu epilepsiu. Vek pacientov v dobe operácie sa pohyboval v rozmedzí 18–58 rokov. U 64 (67 %) pacientov došlo po operácií k úplnému odstráneniu záchvatov. Pre validne zhodnotenie výsledkov pacienti vyplňali dotazník minimálne 1 rok po operácií, bolo to tak u 63 (66 %) z nich, u zvyšných 32 (34 %) to boli až 2 roky od operácie. K štatisticky významnému zlepšeniu došlo v nasledujúcich oblastiach: vnímanie zdravia ( $p < 0,001$ ), zmena v zdraví ( $p < 0,001$ ), celkové zdravie ( $p < 0,001$ ), práca/riadenie motorového vozidla/sociálne fungovanie ( $p < 0,001$ ), obava záchvatu ( $p < 0,001$ ), strata odvahy v súvislosti so zdravotným stavom ( $p = 0,049$ ), účinky liekov ( $p = 0,002$ ), celková kvalita života ( $p = 0,001$ ) a nakoniec aj celkové skóre ( $p = 0,008$ ), ktoré bolo vypočítané z hodnôt zo všetkých 17 oblastí, ktoré boli v dotazníku obsiahnuté.



## **Závěr:**

Epileptochirurgická léčba vedie nielen k eliminácii epileptických záchvatov, prispieva taktiež k zlepšeniu kvality života našich pacientov. Z tohto dôvodu by každému pacientovi, ktorý splňuje kritériá farmakorezistencie mala byť ponúknutá možnosť chirurgickej liečby.

# **OKLUZE VE STENTU JAKO PŘÍČINA AKUTNÍHO KORONÁRNÍHO SYNDROMU**

**Eliška Boženková**

*I. interní kardioangiologická klinika, Mezinárodní centrum klinického výzkumu*

**Školitel:** MUDr. Ota Hlinomaz, CSc.

**Klíčová slova:** akutní koronární syndrom, akutní infarkt myokardu, stent, trombóza, restenóza

## **Úvod:**

Ischemická choroba srdeční (ICHS) je dlouhodobě nejčastější příčinou úmrtí v České republice i v Evropě, prevalence tohoto onemocnění navíc stále stoupá. Jedním z projevů ICHS je akutní koronární syndrom (AKS), do kterého řadíme zejména akutní infarkt myokardu (AIM) a nestabilní anginu pectoris. K většině případů těchto stavů dojde z důvodu progresu aterosklerotického plátu vzniklého de novo ve stěně věnčité tepny, jenž kriticky zúží její lumen. Někdy je ale příčinou trombóza nebo okluzivní restenóza v implantovaném stentu, který byl do věnčité tepny implantován dříve v rámci perkutánní koronární intervence (PCI). Cílem této studie bylo popsat pacienty právě s touto diagnózou a poukázat na možné determinanty tohoto stavu.

## **Metody:**

Do retrospektivní studie byli zařazeni všichni pacienti, kteří byli v letech 2011 až 2015 ošetřeni na 1. interní kardioangiologické klinice ve Fakultní nemocnici u sv. Anny v Brně (FNUSA) pomocí primární PCI s diagnózou AIM na podkladě okluze ve stentu. V daném období se jednalo celkem o 94 pacientů, z toho 74 s trombózou a 20 s okluzivní restenózou. Z elektronické zdravotnické dokumentace Nis-Amb FNUSA bylo u každého pacienta zjišťováno téměř 70 vybraných epidemiologických, klinických a laboratorních údajů. Získaná data byla analyzována pomocí tabulkového procesoru Microsoft Excel a statistického software Statistica 12.

## **Výsledky:**

Pacienti s AIM kvůli okluzi ve stentu představovali v daném období 5 % pacientů, u nichž byla provedena PCI v rámci diagnózy AKS. V 77 % to byli muži, ve 23 % ženy. Průměrný věk pacientů byl 65 let s nevýznamným rozdílem mezi pohlavími. Nejčastější formou AKS byl AIM s ST elevacemi (STEMI; u 82 %). V 79 % případů byla příčinou trombóza, ve 21 % okluzivní restenóza. Nejčastěji se jednalo o subakutní okluze (32 %), významný byl i podíl velmi pozdních okluzí (28 %). Okluze byly v 51 % přítomny v povodí r. interventricularis anterior levé věnčité tepny (RIA). Stenty, v nichž okluze vznikla, byly ze 72 % typu bare-metal. Celkem 34 % pacientů v době okluze ve stentu trpělo diabetes mellitus, 46 % dyslipidemií a 74 % hypertenzí, 69 % mělo vyšší než normální hmotnost. V 63 % se jednalo o aktivní nebo stop kuřáky. U 43 % z nich došlo k manifestaci ICHS v nižším věku (do 55 let u mužů, do 60 let u žen). 46 % pacientů bylo v době okluze ve stentu po předchozí koronární intervenci na duální antiagregační léčbě, 25 % užívalo jen jednu antiagregační látku, 27 % žádnou. Daný stent byl 74 % pacientům implantován z důvodu AKS, 26 % při elektivní PCI. Průměr stentu byl nejčastěji 3 až 4 mm, celková délka v nejvíce případech 11 až 20 mm, v 60 % případů nebyly stenty postdilatovány vysokotlakým balónkovým katetrem. 35 % pacientů již

někdy dříve před implantací daného stentu prodělalo infarkt myokardu, stejný podíl pacientů již někdy podstoupil PCI.

#### **Závěr:**

Většinu pacientů s AIM na podkladě okluze ve stentu tvořili muži, a to ve věku 55–65 let s mnohými významnými komorbiditami. Nejčastější formou manifestace okluze ve stentu byl STEMI, a to vícekrát na podkladě trombózy než restenózy. Okluze byla obvykle lokalizována v povodí RIA, přičemž častěji byla přítomna v bare-metal stentech. Přibližně stejně časté je zastoupení všech typů okluzí dělených dle časové vzdálenosti od implantace stentu, nejčastější byly okluze subakutní. Většina stentů byla pacientům implantována z důvodu AKS, a to za přítomnosti nemoci tří tepen. Okluze v implantovaném stentu je ojedinělou, ale život ohrožující komplikací PCI.

## **VLIV RIZIKOVÝCH FAKTORŮ NA TÍŽI NEUROLOGICKÉHO DEFICITU U PACIENTŮ S CÉVNÍ MOZKOVOU PŘÍHODOU**

**Dominika Coufalová**

*I. neurologická klinika*

**Školitel:** doc. MUDr. Robert Mikulík, Ph.D.

**Klíčová slova:** *Ischemická cévní mozková příhoda, rizikový faktor, tíže neurologického deficitu*

#### **Úvod:**

Cévní mozková příhoda (CMP) je jednou z hlavních příčin invalidity a mortality. Tíže neurologického deficitu je spolu s věkem hlavním faktorem, který ovlivňuje prognózu. V současné době není jasné, zda rizikové faktory jako např. diabetes, konzumace alkoholu, kouření nebo věk ovlivňují tíži neurologického deficitu. Na stav pacientů při přijetí má vliv především typ příhody, který poukazuje na příčinu jejího vzniku (kardioembolizace, onemocnění velkých tepen nebo onemocnění malých tepen – lakunární infarkt). Tato studie si klade za cíl zjistit, zda se na tíži neurologického deficitu pacientů při přijetí podílejí také rizikové faktory.

#### **Metody:**

Tento projekt je podstudii komunitní studie cévních mozkových příhod v Brně, do níž byli zahrnuti všichni pacienti z Brna a Brna-venkova, kterým bylo toto onemocnění diagnostikováno v roce 2011. Z propouštěcích zpráv všech pacientů byla získána epidemiologická data, včetně přítomnosti zkoumaných rizikových faktorů a hodnoty NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale), kterou je popisována tíže neurologického deficitu.

Vícečetnou regresní analýzou bylo následně zjišťováno, zda existuje významný vztah mezi přítomností rizikových faktorů a hodnotou NIHSS. Vliv jednotlivých typů cévní mozkové příhody byl eliminován stratifikací pacientů do 3 skupin dle typu CMP, analýza byla provedena u každé z těchto skupin zvlášť.

#### **Výsledky:**

Ve skupině, kde příčinou vzniku CMP bylo onemocnění velkých tepen, byl medián hodnoty NIHSS 5. Vícečetnou regresí byl prokázán vztah mezi neurologickým deficitem vyjádřeným hodnotou NIHSS a dvěma rizikovými faktory: věkem (Beta = 0,2021; p = 0,0007) a hyperlipidemií (Beta = -0,1736; p = 0,0036).

U pacientů s lakunárním infarktem byl medián hodnoty NIHSS 3 a statisticky významný vliv na tíži neurologického deficitu byl prokázán u kouření (Beta = 0,2604; p = 0,0004).

Skupina kardioembolizačních cévních mozkových příhod měla medián hodnoty NIHSS 7. Neurologický deficit u této skupiny byl ovlivněn pouze věkem (Beta = 0,143; p = 0,0187), přičemž horší stav při přijetí měli pacienti s vyšším věkem.

**Závěr:**

Studie prokázala, že rizikové faktory, které ovlivňují incidenci cévních mozkových příhod, se také podílejí na celkové tíži neurologického deficitu pacientů při přijetí. Eliminace těchto faktorů, zvláště kuřáctví a hyperlipidémie, by mohla vést nejen ke snížení celkové incidence CMP, ale také ke zmírnění jejích následků na pacienta.

## 4. STOMATOLOGICKÁ SEKCE

---

### VARIABILITA V GENU PRO RECEPTOR PRODUKTŮ POKROČILÉ GLYKACE (RAGE) U PACIENTŮ S CHRONICKOU PARODONTITIDOU S/BEZ DIABETES MELLITUS

Jana Kavánková, Simona Valová, Petra Bořilová Linhartová, Hana Poskerová,  
Veronika Dvořáková, Jan Vokurka, Antonín Fassmann, Lydie Izakovičová Hollá

Ústav patologické fyziologie, Stomatologická klinika

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

**Klíčová slova:** chronická parodontitida; diabetes mellitus; produkty pokročilé glykace; RAGE; genový polymorfismus

#### Úvod:

Konečné produkty pokročilé glykace (AGEs) hrají významnou roli v patogenezi mnoha chronických zánětlivých onemocnění a jejich komplikací, mezi které se řadí i diabetes mellitus (DM) a chronická parodontitida (CP). Ke změnám v buněčné signalizaci dochází po interakci AGE s receptorem (RAGE), kdy je ovlivněna exprese genů kódujících prozánětlivé molekuly a následně jejich uvolňování z buňky. Cílem naší studie bylo analyzovat šest polymorfizmů v RAGE genu u pacientů s CP systémově zdravých nebo s DM.

#### Metody:

Do studie kontrol a případů jsme zařadili 193 systémově zdravých jedinců bez CP a 457 pacientů s CP (z toho 334 systémově zdravých, 36 s DM 1. typu, 87 s DM 2. typu). Analyzovali jsme 3 polymorfizmy v promotoru RAGE: 63 bp delecí, -429A/G (rs1800625) a -374T/A (rs1800624), a dále 3 SNPs v genu pro RAGE: +555G/A (rs2070600, Gly82Ser), +1704G/T (rs184003) a +2184A/G (rs3134940) metodikami založenými na principu polymerázové řetězové reakce a digesce restriktázy endonukleázami.

#### Výsledky:

Nenalezli jsme významné rozdíly v alelických nebo genotypových frekvencích mezi pacienty s CP a zdravými kontrolami nebo při porovnání skupin diabetiků s CP a systémově zdravých pacientů se srovnatelným stavem parodontu. Pouze u diabetiků 1. typu s CP byla G alela v pozici -429 (rs1800625) RAGE genu spojena s vyšším rizikem rozvoje tohoto onemocnění ( $P = 0,04$ ). Specifické varianty RAGE genu byly statisticky významně ( $P < 0,05$ ) asociovány s vybranými klinickými parametry (především s diabetickými komplikacemi a lipidovým profilem pacientů s DM).

#### Závěr:

Variabilita v RAGE genu hraje roli v rozvoji diabetu a jeho komplikací. Promotorový SNP -429A/G (rs1800625), který ovlivňuje expresi RAGE proteinu a je spojován také se různou produkcí prozánětlivých mediátorů, může být jedním z rizikových faktorů rozvoje DM 1. typu s CP v naší populaci.

#### Poděkování:

Studie byla podpořena granty GAČR GB14-37368G, AZV ČR NV15-29336A a projektem MUNI/A/1258/2015.

# POLYMORFIZMY V GÉNOCH PRE PURINERGNÝ RECEPTOR A OSTEOPROTEGERIN VO VZŤAHU K EXTERNEJ APIKÁLNEJ RESORPCII KOREŇA U PACIENTOV PO ORTODONTICKEJ LIEČBE

Zuzana Vranková, Martina Sirotková, Petra Bořilová Linhartová, Pavlína Černochová, Jakub Kaštovský, Lydie Izakovičová Hollá

*Stomatologická klinika, Ústav patologickej fyziologie*

**Školiteľka:** Mgr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

**Kľúčová slova:** *génový polymorfizmus, P2RX7, TNFRSF11B, resorpcia koreňa, ortodontická liečba*

## Úvod:

Genetické predispozície jedinca zohrávajú dôležitú úlohu v rozvoji ortodonticky indukovanej zápalovej externej apikálnej resorpcii koreňa (EARR). Za „kandidátne“ sú považované gény, ktoré sú zapojené v modulácii zápalovej odpovede a kostnej remodelácie. Cieľom našej štúdie bolo analyzovať jednonukleotidové polymorfizmy (SNPs) v P2RX7 (kódujúci purinergný receptor) a TNFRSF11B (kódujúci osteoprotegerin) génoch s EARR u českých pacientov po ortodontickej liečbe.

## Metody:

Celkovo bolo do tejto štúdie kontrol a prípadov zahrnutých 99 ortodonticky liečených pacientov (69 zdravých a 30 s EARR). Stanovenie genotypov P2RX7 +489C/T (rs208294, Tyr155His) a +1068C/T (rs1718119, Thr348Ala), TNFRSF11B -163C/T (rs3102735) a +1181C/G (rs2073618, Lys3Asn) bolo založené na princípe TaqMan real-time polymerázovej reťazovej reakcie.

## Výsledky:

Hoci neboli pozorované signifikantné rozdiely vo frekvencii alel a genotypov u žiadneho zo štyroch SNPs, špecifické haplotypove a haplo-genotypove varianty P2RX7 (rs208294 a rs1718119) sme asociovali s nižším/vyšším rizikom rozvoja EARR ( $P < 0,04$  a  $P < 0,02$ ). Navyše, dĺžka liečby ortodontickým aparátom pozitívne korelovala s EARR ( $P < 0,05$ ).

## Záver:

Napriek tomu, že v českej populácii nebol efekt jednotlivých SNPs potvrdený v súvislosti s EARR, analýza alelových alebo genotypových kombinácií dvoch variantov v géne pre P2RX7 naznačuje, že variabilita v tomto géne, rovnako ako dĺžka liečby, by mohli byť významnými faktormi prispievajúcimi k vzniku post-ortodontickej EARR.

## PodĎakovanie:

Štúdia bola podporená grantom GAČR GB14-37368G a projektom MUNI/A/1258/2015.

# VLIV SKELETÁLNÍCH ZNAKŮ NA PROSTOR PRO DOLNÍ TŘETÍ MOLÁRY

**Martin Sládek**

*Stomatologická klinika*

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

**Klíčová slova:** dolní třetí moláry, prořezání, retence, boční kefalogram, ortopantomogram

## **Úvod:**

Retence dolních třetích molárů patří mezi úskalí stomatologické léčby. Jako klíčový faktor retence se předpokládá velikost retromolárového prostoru. Cílem této studie bylo zjistit, zda se vyskytují rozdíly skeletálních znaků u jedinců s prořezanými, retinovanými, extrahovanými nebo nezaloženými dolními třetími moláry.

## **Metody:**

Hlavním kritériem pro výběr pacientů byl věk. Soubor byl tvořen 30 pacienty ve věku 18–23 let ( $\pm 6$  měsíců) Ortodontického oddělení Stomatologické kliniky FN u sv. Anny v Brně před zahájením léčby fixními ortodontickými aparáty. U všech pacientů byl zhotoven boční kefalogram a ortopantomogram. Soubor byl rozdělen na kontrolní skupinu pacientů s prořezanými dolními třetími moláry, dále na skupinu s retencí, skupinu po extrakci dolních třetích molárů pro nedostatek místa a na skupinu s agenezí dolních třetích molárů.

Měření bylo prováděno ručně s použitím negatoskopu překreslováním na průsvitné fólie. Analýzou na jednotlivých bočních kefalogramech bylo měřeno celkem 14 parametrů. Na ortopantomogramu byly měřeny sklony všech dolních molárů k horizontální referenční rovině. Hodnocení významnosti rozdílů výběrových průměrů bylo provedeno pomocí t-testu.

## **Výsledky:**

Z hodnocených parametrů na bočních kefalogramech byly rozměry délky mandibuly a prostoru za druhými moláry k přednímu okraji ramene mandibuly signifikantně větší u kontrolní skupiny s prořezanými dolními třetími moláry než u ostatních sledovaných skupin. Větší délka těla mandibuly u skupiny s prořezanými oproti skupině s retinovanými dolními třetími moláry byla těsně před hranicí statistické významnosti. Na ortopantomogramech byly signifikantně větší pouze hodnoty sklonu třetích molárů u skupiny s prořezanými dolními třetími moláry (uloženy vzpřímeněji) oproti skupině s retencí (skloněny mesiálně).

## **Závěr:**

Jako hlavní faktory, které ovlivňují retenci dolních třetích molárů se jeví zmenšená celková délka mandibuly případně délka těla mandibuly a nedostatečný prostor mezi přední hranou ramene mandibuly a druhým molárem. Vliv jednotlivých faktorů může být jinými faktory kompenzován. Obdobné výsledky byly zaznamenány v pracích jiných autorů. Vyhodnocení určitých kefalometrických znaků ve věku kolem 18. roku může napomoci v indikaci extrakcí retinovaných dolních třetích molárů.

# 5. SEKCE NELEKAŘSKÝCH OBORŮ

---

## VYUŽITÍ VÝPOČTU KOEFICIENTU ENERGETICKÉ BILANCE PŘI VYŠETŘOVÁNÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU K URČENÍ TYPU ZÁNĚTLIVÉHO POSTIŽENÍ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU

**Sabina Sedlářová**

*Katedra laboratorních metod*

**Školitelka:** MUDr. Zdeňka Čermáková, Ph.D.

**Klíčová slova:** *koeficient energetické bilance, mozkomíšní mok, neuroinfekce, energetický metabolismus*

### **Úvod:**

Práce se zabývá koeficientem energetické bilance, novým parametrem v diagnostice zánětů CNS. Koeficient je odvozen od zákonitostí energetického metabolismu glukózy. Finální podobu koeficientu tvoří vzniklé ATP, koncentrace laktátu a glukózy v CSF. Při zánětlivé reakci v CNS dochází k aktivaci a kumulaci imunokompetentních buněk. U bakteriálních zánětů dominuje nespecifická imunitní reakce, v neutrofilech dochází k oxidačnímu vzplanutí, metabolismus glukózy je výrazně anaerobní. V případě serózních zánětů je imunitní reakce specifická, anaerobní metabolismus je mírně zvýšen, ale snížená tvorba ATP není výrazná. Cílem mé práce bylo u pacientů vypočítat KEB, určit senzitivitu a specifitu testu a výsledky porovnat s ostatními rutinními metodami.

### **Metody:**

Sběr dat probíhal na Úseku specifických proteinů a likvorologie, OKB FN Brno. Pacienti byli vybráni za časové období květen 2014 – listopad 2015. Podmínkou ke statistickému vyhodnocení byla diagnóza bakteriálního nebo serózního zánětu. Celkově jsem sledovala data 28 pacientů s bakteriálním zánětem a 123 pacientů se zánětem serózním. U všech pacientů byla stanovena koncentrace celkové bílkoviny, laktátu a glukózy v likvoru, počet mononukleárních a polymorfonukleárních leukocytů. Dále jsem sledovala glukózový a albuminový kvocient, koncentraci albuminu v likvoru a CRP v séru. V celém souboru pacientů jsem následně vypočítala koeficient energetické bilance, který byl společně s ostatními biochemickými a cytologickými parametry hodnocen prostřednictvím ROC analýzy a Mann-Whitney testu.

### **Výsledky:**

Koeficient energetické bilance dosáhl ve statistickém vyhodnocení velmi vysoké senzitivity (92,9 %) a specifity (95,5 %), plocha pod křivkou (AUC) je rovna 0,976. Dle stanovených mezí diagnostické efektivity lze zhodnotit, že je test vynikající. Kritická hodnota rozlišující bakteriální a serózní zánět je 12,55. Získaná kritická hodnota je v souladu s mezí typickou pro bakteriální zánět (KEB < 10). Koeficient jsem srovnávala především s koncentrací laktátu v likvoru a glukózovým kvocientem, jež jsou stěžejními parametry v diagnostice zánětů CNS. Koncentrace laktátu v likvoru (AUC = 0,968) i glukózový kvocient (AUC = 0,921) dosáhli velmi dobré diagnostické efektivity. Lze konstatovat, že je koeficient energetické bilance svou spolehlivostí roven výše uvedeným metodám.

## **Závěr:**

Na základě statistických výsledků považuji koeficient energetické bilance za spolehlivý parametr s vynikající senzitivitou a specifitou. Zavedení koeficientu do laboratorní praxe by dle mého názoru bylo přínosné a zvýšilo by přesnost v diagnostice neuroinfekcí. Přesto se domnívám, že rutinně vyšetřované parametry zůstanou i nadále parametry cennými a nezbytnými pro určení typu zánětlivého postižení v CNS.

# **IN VITRO MODEL ISCHEMICKÉ CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODY**

**Lucie Šuplíková, Andrea Vítečková Wünschová, Lukáš Kubala, Robert Mikulík**

*Biofyzikální ústav, I. neurologická klinika*

**Školitelka:** Mgr. Andrea Vítečková Wünschová, Ph.D.

**Klíčová slova:** *trombus, trombolýza, altepláza, in vitro model, kolaterální oběh*

## **Úvod:**

Tromboembolická onemocnění jsou celosvětově zásadní z hlediska mortality i morbidity. Mezi nejvýznamnější patří ischemická cévní mozková příhoda (iCMP). Standardní metodou léčby iCMP je intravenózní podání alteplasy. Ta má omezenou rekanalizační účinnost, proto je nutné vyvíjet novou léčbu. Základním prostředkem pro výzkum jsou *in vitro* modely. Proto první fáze práce byla soustředěna na tvorbu a optimalizaci modelu simulujícího vznik iCMP a následnou rekanalizaci. Zároveň byl zohledněn vliv kolaterálních cév, protože nové poznatky ukazují na jejich důležitou roli při léčbě iCMP. Druhou fází bylo ověřit hypotézu, zda při aplikaci alteplázy v modelu s kolaterální cévou dojde k rekanalizaci rychleji než v modelu bez kolaterální cévy.

## **Metody:**

Model byl připraven odlitím ze silikonu, tak aby odpovídal střední mozkové tepně s bifurkací (nejčastějšímu místu okluze). Dále byla připravena varianta modelu umožňující kolaterální cirkulaci. Tento model umožňoval stálý průtok (kromě části s okluzí) a napodoboval tep srdce.

Tromby bohaté na červené krvinky byly připraveny z plné venózní krve dobrovolných zdravých dárců ve věku 22–31 let ( $n = 6$ , z toho 83 % mužů), kteří podepsali informovaný souhlas. Krev (100  $\mu$ l) byla srážena ve skleněných zkumavkách o vnitřním průměru 0,6 cm při pokojové teplotě po dobu čtyř hodin a tyto tromby napodobovaly tromby bohaté na červené krvinky. Druhou variantou byla tvorba trombů za průtokových podmínek s přídatkem trombinu po dobu 1,5 hod. ( $n = 3$ ), které napodobovaly tromby bohaté na fibrin.

Po vyjmutí ze zkumavky byl každý trombus opláchnut 2 ml PBS a zaveden do modelu. Pozorování rekanalizace probíhalo po dobu 3 hodin při 37 °C. Altepláza (Actilyse, Boehringer Ingelheim) byla aplikována v koncentraci 1,3 mg/l. Tato koncentrace byla spočítána podle farmakokinetických dat a údajů Boehringer Ingelheim relevantních pro pacienty s iCMP. Rekanalizace byla zaznamenávána v minutách. Dále bylo měřeno množství uvolněných červených krvinek a celkový protein. Data byla zpracována pomocí programu QtiPlot. Statistická analýza byla provedena pomocí programu STATISTICA 12.

## **Výsledky:**

Tromby z krve jednotlivých dárců podléhaly trombolýze prostřednictvím alteplázy různou měrou. V principu bylo možné kvalitativní rozdělení na tři skupiny. V první skupině tromby nereagovaly na ovlivnění alteplázou. Ve druhé došlo během 180 minut působení alteplázy k rekanalizaci



pouze v modelu s kolaterálním oběhem. V poslední skupině proběhla rekanalizace jak v modelu s kolaterální cévou, tak i v modelu bez kolaterální cévy. Ve všech případech, kdy byly tromby citlivé na ovlivnění alteplázou, docházelo k rychlejší rekanalizaci v modelu s kolaterální cévou v porovnání s modelem bez kolaterální cévy (33 %).

#### **Závěr:**

*In vitro* model umožňuje napodobit situaci *in vivo* při iCMP včetně přítomnosti kolaterálních cév. Pomocí tohoto modelu byla ověřena hypotéza, že v přítomnosti kolaterální cévy dochází k rychlejší trombolýze. Zároveň je model schopný identifikovat jedince, jejichž tromby na alteplázu nereagují.

#### **Poděkování:**

Poděkování patří především školitelce Mgr. Andrei Vítečkové Wünschové, Ph.D. Tato práce byla podpořena projektem č. LQ1605 z Národního programu udržitelnosti II (MŠMT) a projektem FNUSA-ICRC č. CZ.1.05/1.1.00/02.0123 (OP VaVpI).

## **SROVNÁNÍ METOD MĚŘENÍ A VALIDITA HODNOT POTŘEBNÝCH PRO PŘESNÝ ZÁBRUS BRÝLOVÝCH ČOČEK**

**Lucie Patočková**

*Katedra optometrie a ortoptiky*

**Školitel:** Mgr. Pavel Beneš, Ph.D.

**Klíčová slova:** zábrus, brýlové čočky, pupilární distance, přesnost, software, pupilometr

#### **Úvod:**

Cílem práce je uvedení do problematiky přesného zábrusu brýlových čoček, vysvětlení základních principů oko – brýlový střed, uvedení základních metod měření vstupních údajů zábrusu a popsání důsledků nepřesně zhotovené brýlové korekce. Výzkum je zaměřený na četnost přesáhnutí hodnot decetrace optických středů brýlových čoček ku středům zornic nad hraniční hodnotu, u které by brýlová korekce nebyla u jedinců snášena. U zabroušených tórických čoček je zkoumáno, zdali nedošlo ke stočení osy cylindrické složky nad tolerovanou hranici. Práce je zakončena porovnáním vstupních hodnot měření, a to srovnáním hodnot pupilární distance, naměřené třemi metodami – přímou metodou, digitálním PDmetrem a softwarem Oculus smart mirror.

#### **Metody:**

Použitými metodami byly:

*Metoda značení na fólie – měření na nekonečno:*

Při této metodě fixuje vyšetřovaný předmět v minimální vzdálenosti 6 metrů. Poloha středů zornic je zakreslena na fólie v brýlové obroučce, nebo je pupilární distance změřena PD měřítkem.

*Metoda měření s digitálním PDmetrem NIDEK PM-60:*

Pupilární vzdálenost byla změřena přiložením PDmetru na kořen nosu a pomocí posuvných jezdců přístroje byly nalezeny středy zornic. Přístroj automaticky vypočítává pupilární vzdálenost. Přístroj umožňuje měření PD do dálky i do blízka.

*Metoda měření se softwarem Oculus smart mirror:*

Software spolu s násadou s referenčními značkami, která se umísťuje na brýlovou obrubu, změří pupilární distanci s přesností na milimetry. Také měří vzdálenost mezi dolním okrajem brýlové čočky a středem zornice. Software měří PD jak do dálky, tak i do blízka.

*Metoda měření s fokometrem NIDEK LM-600PD:*

Na fokometru jsou zjišťovány polohy optických středů brýlových čoček a také provádí kontrolu výsledného zábrusu. Pomocí fokometrů lze také zjišťovat vrcholová lámavost brýlové čočky. Výzkumu se účastnilo 192 osob, z toho 98 mužů a 94 žen ve věku od 3 do 87 let.

### **Výsledky:**

Decentrace optických středů nepřekročí pracovní toleranci (mm) v 95 % případů:

V této hypotéze je porovnávána metoda značení na fólie s metodou kontroly na fokometru (změření pravítkem a změření softwarem fokometru), metoda měření digitálním PDmetrem a kontrolou na fokometru a metoda měření softwarem zkontrolovaná fokometrem. Metoda se značením na fólie je prováděna pouze u měření PD do dálky. Vzhledem k rozdílným kritériím k různým vrcholovým lámavostem brýlové čočky bylo porovnáno 1624 naměřených vstupních a výstupních hodnot, kde 147, tedy 9 %, překročilo tolerovanou hranici.

Stočení osy u tórických čoček nepřekročí osovou toleranci dle SČOO v 95 % případů.

Kritéria povolené hranice jsou opět vztažena k vrcholové lámavosti brýlových čoček, nicméně k 198 případům tórických brýlových čoček pouze 2, tedy 1 %, překročily stanovenou pracovní hranici.

Naměřené PD (binokulárně) pomocí 3 metod (PD měřítko – značení na fólie, digitální PDmetr a software Oculus smart mirror) se od sebe nebude v průměru lišit o více jak 1,5 mm.

Programem Statistica jsou zpracovány data a vyhodnoceny grafem z více proměnných, ze kterého vyplývá, že vzájemný rozdíl metody Značení na fólie – PDmetr je rozdíl v 0,1937 mm, metodou Značení na fólie – Software Oculus smart mirror je 0,4853 mm a porovnáním metod PDmetr – Software Oculus smart mirror je rozdíl 0,2916 mm. Hypotéza je tedy splněna.

### **Závěr:**

K první hypotéze nejsou doposud provedené adekvátní výzkumy, jež jsou porovnatelné s výzkumem této práce. Z toho důvody jsou data vztažena na doporučené zásady posuzování brýlí jako korekční pomůcky, které vydalo Společenstvo SČOO v roce 2006. První hypotéza není potvrzená. Druhá hypotéza rovněž nemá porovnání s doposud provedenými výzkumy, a proto opět vycházela z doporučených zásad od SČOO. Hypotéza byla po vyhodnocení dat potvrzená.

Taktéž třetí hypotéza nemá doposud srovnatelný výzkum. Kritéria pro porovnání byla stanovena na 1,5 mm rozdílu mezi jednotlivými metodami měření. Dohromady byly porovnávány jak hodnoty PD do dálky, tak i do blízka. Průměry PD u jednotlivých metod jsou po srovnání v rozsahu stanovené hypotézy.

## **INFORMOVANOST NOSITELŮ MĚKKÝCH KONTAKTNÍCH ČOČEK O MOŽNÝCH ZDRAVOTNÍCH RIZICÍCH**

**Barbora Hašková, Marie Kodetová, Pavel Beneš**

*Katedra optometrie a ortoptiky*

**Školitel:** Mgr. Pavel Beneš, Ph.D.

**Klíčová slova:** měkké kontaktní čočky, edukace nositelů, správné hygienické návyky

### **Úvod:**

Měkké kontaktní čočky mají celou řadu využití. Nejčastěji se s nimi setkáváme při korekci refrakčních vad, nicméně své uplatnění nalézají i v případě léčby některých rohovkových afekcí. Mimo

jiné jsou využívány v kosmetickém průmyslu. V případě této indikace však nesmíme opomenout, že se stále jedná o zdravotní pomůcku. V současné době jsou k dispozici čočky z celé řady materiálů vyráběné v nejrůznějších parametrech. S ohledem na frekvenci výměny se pak nabízí doporučení, jak s konkrétními čočkami zacházet. Tato studie se zabývá hygienickými návyky nositelů měkkých kontaktních čoček a způsobem, jakým o čočky pečují. Monitoruje také četnost pravidelných kontrol u kontaktologa a povědomí veřejnosti o možných zdravotních rizicích.

### **Metody:**

Výzkum byl prováděn formou online dotazníku. Respondenti odpovídali na dvacet sedm otázek, které byly rozděleny do šesti základních okruhů: základní údaje, měkké kontaktní čočky (důvod nošení, výběr a nákup kontaktních čoček), nošení kontaktních čoček (režim, délka a frekvence nošení), péče o čočky (způsob dezinfekce čoček, frekvence výměny pouzdra na čočky), hygiena rukou a spolupráce s kontaktologem.

Dotazník byl rozeslán mezi širokou veřejnost, kdy jsme následně statisticky zpracovali pouze výsledky respondentů, kteří nejsou odborníky v dané problematice. Možnosti odpovědi jsme se snažili definovat co nejpřesněji, tak aby si každý respondent mohl vybrat odpověď, která by nejlépe vystihla jeho názory a postoje k dané problematice. U většiny otázek byla možnost otevřené odpovědi. Tu mohl dotyčný respondent využít v případě, kdy chtěl svou odpověď zdůvodnit nebo upřesnit.

Respondenti odpovídali na dotazník zcela anonymně. Zájemce o výsledky studie jsme požádali o emailové spojení, skrz které jim budou interpretovány výsledky. Jako zpětnou vazbu jsme pro respondenty vypracovali stručný návod, který shrnuje veškeré důležité informace pro nositele měkkých kontaktních čoček.

### **Výsledky:**

Sběr dat probíhal od ledna do dubna tohoto roku. Studie se zúčastnilo 231 respondentů. Naším kritériím vyhovovalo přesně 200 dotazovaných osob (154 žen a 46 mužů) ve věkové škále  $26 \pm 5$  let. První okruh otázek ověřil, že většina respondentů nosí čočky kvůli pohodlí, sportu a estetice. Nadpoloviční většina (60 %) nositelů dá při výběru čočky na doporučení kontaktologa. I přesto si u očního specialisty pravidelně zakoupí své nové měkké kontaktní čočky pouze 45 % lidí. Z ekonomického hlediska stále 54 % respondentů upřednostňuje nákup přes internet. Další sekce otázek odhalila, že 73 % upřednostňuje vícedenní kontaktní čočky. Z toho 45 % lidí nosí čočky každý den, což je důvodem volby vícedenních čoček. Perioda nošení je u 48 % dotazovaných 12 až 18 hodin a u 38 % 6 až 12 hodin za den. Okruh otázek zaměřených na péči o čočky odhalil, že pouze 53 % nositelů vícedenních čoček ví, jak často si měnit pouzdro na čočky. Větší poměr lidí (63 %) sice ví, jak často měnit čistící roztok v pouzdře, ale pokud si pouzdro pravidelně nemění, tak je výměna roztoku zbytečná. Odpovědi respondentů na otázky hygieny rukou byly uspokojivé – pouze 5 % respondentů si před aplikací vůbec neumývá své ruce a vystavují tím své oči možné infekci či kontaminaci kontaktních čoček. Závěrečný okruh otázek byl zaměřen na pravidelné kontroly u kontaktologa. V rámci prevence dochází na preventivní kontroly 64 dotazovaných. Nezanedbatelné procento lidí (27 %) nechodí na kontroly vůbec a 17 % pouz

### **Závěr:**

Bohužel ne všichni nositelé měkkých kontaktních čoček jsou dostatečně svědomití a neuvědomují si možná rizika spojená s nošením kontaktních čoček. Nedodržují správné hygienické návyky, nerespektují dobu nošení kontaktních čoček a vyhýbají se pravidelným kontrolám u kontaktologa.

Cílem našeho výzkumu je upozornit na neinformovanost veřejnosti a zlepšit tuto situaci. Snažit se poskytnout nositelům tu nejlepší péči a vybudovat si u nich důvěru, díky které se k nám, kontaktologům, budou rádi vracet.

## **BAREVNÝMI FOLIEMI KE ZLEPŠENÍ ČTENÍ DYSLEKTIKŮ**

**Zuzana Odvářková, Petr Veselý**

*Katedra optometrie a ortoptiky*

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

**Klíčová slova:** dyslexie, barevné folie, rychlost a správnost čtení

### **Úvod:**

S potřebou číst se dnes v běžném životě setkáváme velmi často, avšak někteří lidé mohou mít se čtením značné problémy, protože trpí specifickou poruchou učení, dyslexií. Dyslexie je komplexní porucha čtení, která se u jedinců může projevovat různými způsoby, převážně skoky písmen a celých slov na řádcích, různými odlesky, problémy s navázáním slov do vět a přechodem na další řádek apod. Mezi možnostmi optické korekce dyslexie se řadí barevné folie. Předložením folie před čtený text se upraví kontrast pozadí a chod paprsku přicházejícího do oka.

### **Metody:**

Vlastní měření probíhá deset až patnáct minut s jedním žákem. Výzkum je prováděn na základních školách v Brně a ve Svitavách. V první části měření jsou zaznamenány identifikační údaje, orientační zrková ostrost a pocíťované specifické příznaky dyslexie. V další fázi dochází k výběru barevné folie, objektivním a subjektivním testem. V návaznosti na objektivně vybranou folii probíhá měření na Základním testu s barevnou a bezbarvou folií. Základní test je tvořen pěti a čtyř písmennými slovy seřazenými za sebou bez nějaké souvislosti. Jedinec čte tento text po dobu 30 vteřin. Celé měření je opakováno 2× s barevnou a 2× s bezbarvou folií. Na úplný závěr jedinec zhodnotí subjektivní přínos použití barevné folie při čtení.

### **Výsledky:**

Dosažené výsledky měření jsou mezi sebou vzájemně srovnávány a hodnoceny. V současnosti se studie zúčastnilo 62 jedinců narozených od roku 1999 do roku 2007. Do výzkumné skupiny dyslektických dětí bylo zařazeno 31 jedinců, u kterých bylo zaznamenáno zlepšení ve čtení v průměru o 7,3 %. Téměř 70 % procent dyslektiků prokazovalo zrychlení čtení při používání barevných folií. V kontrolní skupině nedyslektických dětí, o počtu 31 jedinců, bylo také zaznamenáno zlepšení s použitím barevných folií, ale pouze o 4,2 %.

### **Závěr:**

Již v této fázi výzkumu je patrné, že přínos pro dyslektické děti je větší téměř o jednu třetinu oproti nedyslektickým dětem. Z nasbíraných výsledků vyplývá, že používání barevných folií zvyšuje rychlost čtení u dyslektických i nedyslektických dětí. I přesto můžeme říci, že u dyslektických dětí používání barevné folie vede k markantnějšímu zrychlení čtení než v případě nedyslektických dětí.

# 6. DOKTORANDSKÁ SEKCE

---

## DETEKCE MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ CHOROBY U MNOHOČETNÉHO MYELOMU POMOCÍ MIMOBUNĚČNÉ DNA

Veronika Kubaczková, Lenka Sedlaříková, Lenka Bešše, Martina Almáši, Sabina Ševčíková

Ústav patologické fyziologie

Školitelka: RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.

**Klíčová slova:** mnohočetný myelom, mimobuněčná DNA, minimální reziduální choroba

### Úvod:

Mnohočetný myelom (MM) je maligní onemocnění plazmatických buněk (PB). I přes výrazné pokroky v léčbě dochází u většiny pacientů k relapsu nemoci. Stanovení minimální reziduální choroby (MRD) je u MM možné pomocí PCR metod založených na detekci specifické přestavby genu pro těžký řetězec imunoglobulinu (IGH) z klonálních PB v kostní dřeni (KD). Bylo prokázáno, že nádorově odvozená mimobuněčná DNA (cf-DNA) ze séra periferní krve (PK) může být vhodným minimálně invazivním markerem v diagnostice a monitorování celé řady maligních onemocnění. Cílem studie bylo zaměřit se na možné využití cf-DNA pro sledování MRD a léčebné odpovědi u pacientů s MM. Hlavní potenciál tohoto přístupu tkví v nahrazení invazivních odběrů KD zatěžující pacienty.

### Metody:

Cf-DNA byla izolována ze vzorků sér PK pacientů s MM za použití Circulating Nucleic Acids Isolation Kit (Qiagen). Její celkové množství bylo kvantifikováno fluorimetrickým měřením pomocí Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen) a délka fragmentů byla hodnocena pomocí High Sensitivity dsDNA čipů (Agilent). Za účelem stanovení nádorové přestavby specifické pro každého pacienta z genomové DNA klonálních PB z KD v době diagnózy byla provedena PCR s degenerovanými primery a následně sekvenace hypervariabilní oblasti genu IGH, k níž byly navrženy alelově specifické (ASO) primery a sondy. Následně byla stanovena hladina MRD v době diagnózy a při dosažení kompletní remise pomocí kvantitativní real-time PCR (qPCR) a navržených ASO primerů a sond. Množství cf-DNA nesoucí sekvenci nádorově specifické IGH přestavby bylo hodnoceno qPCR ze séra pacientů v době diagnózy a různých časových bodech léčby. Výsledky byly vyjádřeny jako počet kopií na 1 µg celkové cf-DNA a interpretovány v souladu s pokyny EuroMRD.

### Výsledky:

Nádorový marker byl stanoven u 26 nově diagnostikovaných pacientů s MM. Celkem bylo na přítomnost cf-DNA nesoucí sekvenci nádorově specifické IGH přestavby analyzováno 115 vzorků sér, z toho 26 sér v době diagnózy a 89 sér odebraných v jednotlivých bodech léčby. Výtěžek cf-DNA byl v průměru 792,79 ng (1–2900) a nejvíce zastoupenou frakcí byla 180–220 bp (100 %), méně pak 350–400 bp (86 %), 500–700 bp (81 %) a 700–10000 bp (15 %). Hladina nádorově specifické cf-DNA byla detekována pomocí qPCR u 26 diagnostických vzorků. Pouze 13/26 vzorků bylo kvantifikovatelných a 22/26 vzorků bylo pozitivních, ale mimo kvantifikovatelný rozsah (PNQ). U následných odběrů bylo vyhodnoceno 13/89 vzorků kvantifikovatelných a 61/89 vzorků jako PNQ. U čtyř pacientů po dosažení kompletní remise byla stanovena hladina MRD z klonálních PB (CD138+)

v KD. Pouze jeden pacient byl pozitivní a zároveň kvantifikovatelný (243 nádorových buněk/106 normálních buněk) na přítomnost nádorové přestavby, druhý byl negativní, třetí PNQ a poslední pacient z důvodu odmítnutí odběru vzorku DNA nebyl vyšetřen. V současné době probíhá identifikace IGH přestavby a analýza cf-DNA u dalších pacientů s MM.

#### **Závěr:**

Naše dosud získané výsledky jsou velice předběžné a nelze z nich vyvodit jednoznačné závěry. Pro potvrzení potenciálních výhod a prediktivní hodnotu cf-DNA pro monitorování MRD u pacientů s MM je potřeba sledování pacientů po delší časové období a to do doby dosáhnutí kompletní remise. V analýzách nadále pokračujeme.

#### **Poděkování:**

Výzkum podpořen grantem Ministerstva zdravotnictví AZV 15-29508A.

## **GASTROEZOFAGEÁLNÍ REFLUXNÍ CHOROBA A VARIABILITA V GENECH PRO CDX2 A RECEPTOR VITAMINU D**

**Simona Valová, Petra Bořilová Linhartová, Tereza Deissová, Filip Marek, Jiří Dolina, Zdeněk Kala, Lydie Izakovičová Hollá**

*Ústav patologické fyziologie*

**Školitelka:** prof. MUDr. Lydie Izakovičová Hollá, Ph.D.

**Klíčová slova:** *CDX2, receptor vitamínu D, gastroezofageální refluxní choroba, Barrettův jícen*

#### **Úvod:**

Barrettův jícen (BE) s intestinální metaplazií, který může dále progredovat v adenokarcinom jícnu, se vyvine přibližně u 10 % pacientů s gastroezofageální refluxní chorobou (GERD). Za významný regulátor rozvoje BE je považován transkripční faktor CDX2, který je exprimovaný v intestinálních epiteliálních buňkách a slouží jako vysoce citlivý a specifický marker adenokarcinomů intestinálního původu. V promotoru genu pro receptor vitamínu D (VDR) se nachází vazebné místo pro CDX2. Cílem naší práce bylo prozkoumat asociace polymorfizmů v *CDX2* a *VDR* genech u pacientů s GERD a jeho komplikacemi.

#### **Metody:**

Do studie kontrol a případů jsme zařadili 136 zdravých osob a 333 pacientů s GERD (z toho 130 pouze s refluxem, 145 s refluxní ezofagitidou (RE) a 58 s BE), u kterých jsme pomocí TaqMan real-time PCR techniky analyzovali variabilitu v *CDX2* genu (rs3812863, rs4769585) a polymorfismus *VDR* *CDX2* (rs11568820). GERD jsme diagnostikovali na základě klinických symptomů, jako je pálení žáhy a/nebo regurgitace kyseliny s objektivizací pomocí 24h pH-metrie, ezofagogastroduodenoskopie, manometrie jícnu a histologického vyšetření.

#### **Výsledky:**

Frekvence alel a genotypů obou polymorfizmů v *CDX2* genu mezi jednotlivými skupinami pacientů a zdravými jedinci se statisticky významně nelišily. Mezi kontrolami a pacienty s BE jsme našli statisticky signifikantní rozdíly ve frekvenci alel ( $P = 0,01$ ) a AA+AG vs. GG genotypů ( $P < 0,05$ ) polymorfizmu v genu pro *VDR* *CDX2*. Prokázali jsme významné rozdíly i ve frekvenci alel ( $P < 0,05$ ) a AA+AG vs. GG genotypů ( $P < 0,05$ ) tohoto *VDR* polymorfizmu mezi skupinami pacientů s pouze refluxem oproti pacientům s BE. Při haplotypové analýze polymorfizmů v *CDX2* genu

byl haplotyp GC (rs3812863, rs4769585) asociován se zvýšeným rizikem RE ( $P = 0,01$ ; OR = 2,472; 95%CI = 1,164–5,248).

#### **Závěr:**

Naše výsledky naznačují, že polymorfizmy v genech pro CDX2 a VDR mohou ovlivňovat riziko rozvoje RE a BE u pacientů s GERD.

#### **Poděkování:**

Tato práce vznikla za podpory grantů GA ČR GB14-37368G, NV15-29336A a projektu MUNI/A/1258/2015.

## **VLIV HLAVNÍCH OBSAHOVÝCH LÁTEK CROCUS SATIVUS L. NA METABOLICKOU AKTIVITU VYBRANÝCH CYP ENZYMŮ U POTKANA**

**Gabriela Dovrtělová, Kristýna Nosková, Jan Juřica, Ondřej Zendulka**

*Farmakologický ústav*

**Školitel:** PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.

**Klíčová slova:** safranal, krocín, CYP, jaterní mikrosomální frakce

#### **Úvod:**

Cílem naší práce bylo zjistit, zda systémová aplikace safranal a krocínu ovlivňuje metabolickou aktivitu enzymů CYP3A, CYP2C11, CYP2B a CYP2A. Změny v metabolické aktivitě cytochromů P450 (CYP) mohou vést ke klinicky významným změnám v plazmatických koncentracích současně podaných látek. Safranal a krocín jsou jedny z hlavních obsahových látek izolovaných z šafránu setého (*Crocus sativus* L.). Obě látky jsou v posledních letech intenzivně studovány především pro jejich antidepressivní působení, což bylo klinicky potvrzeno u šafránového extraktu. S ohledem na možné budoucí terapeutické použití šafránu či jeho složek je žádoucí získat informace o jejich vlivu na CYP enzymy a predikovat tak možné interakce s jinými léčivými.

#### **Metody:**

Potkani kmene Wistar byli systémově premedikováni buď intraperitoneálně krocínem po dobu 9 dnů (v koncentracích 4, 20 a 100 mg/kg/den) nebo intragastricky safranalem po dobu 10 dnů (v koncentracích 4, 20 a 100 mg/kg/den). Kontrolní skupiny byly premedikovány analogickým objemem vehikula. Den po poslední aplikaci byla zvířata usmrcena dekapitací a z jater jednotlivých zvířat byla diferenciatní ultracentrifugací izolována mikrosomální frakce, v níž bylo stanoveno celkové množství proteinu a množství CYP enzymů. Metabolická aktivita vybraných CYP enzymů byla stanovena na základě rychlosti tvorby specifických metabolitů z markeru testosteronu, který byl přidán do inkubační směsi obsahující mikrosomální frakci a NADPH generující systém. Koncentrace testosteronu a jeho specifických metabolitů byly měřeny pomocí HPLC analýzy a rychlost CYP specifické reakce byla vyjádřena jako molární koncentrace specifického metabolitu/min/mg celkového množství proteinu v jaterní mikrosomální frakci.

#### **Výsledky:**

Systémové podání obou testovaných látek vede ke změnám v metabolické aktivitě vybraných CYP enzymů. Krocín signifikantně snížil metabolickou aktivitu CYP3A, CYP2A, CYP2B, CYP2C11 enzymů, zatímco safranal signifikantně zvýšil metabolickou aktivitu všech těchto enzymů

s výjimkou enzymu CYP2A. Zajímavá přitom zůstává skutečnost, že jak safranal tak i krocín významně zvýšil celkové množství proteinu, s čímž korelovalo i zvýšení celkového množství CYP enzymů.

**Závěr:**

Safranal i krocín prokázal schopnost měnit biotransformační aktivitu některých CYP enzymů, čímž stoupá riziko vzniku interakcí se současně podanými látkami metabolizujícími se stejnou cestou. Volně dostupné přípravky obsahující šafránový extrakt toto riziko ještě zvyšují i vzhledem k neznalostem vlivu těchto látek na lidské CYP enzymy.

**Poděkování:**

Práce byla podpořena z grantu MUNI/A/1284/2015.





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

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

***Looking for some medical books?***

*Come and visit the Oxford Bookshop on Novobranská 1,  
the only foreign language bookshop in Brno.*

*We offer student discounts and special prices on selected titles.*

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

Editor: MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

Sazba: Radim Šustr, DiS. (IBA MU)

Vydala Masarykova univerzita

1. vydání, 2016

Náklad 250 výtisků

Tisk: ASTRON studio CZ, a.s., Veselská 699, 199 00 Praha 9 - Letňany

ISBN 978-80-210-8257-1

## cobas® EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD)



*cobas® EGFR Mutation Test v2 identifikuje mutace v exonech 18, 19, 20 a 21 EGFR genu*



COBAS a LIFE NEEDS ANSWERS jsou ochranné známky společnosti Roche.

©2016 Roche

Roche s.r.o.,  
Diagnostics Division  
Karlovo náměstí 17  
120 00 Praha 2

[www.roche-diagnostics.cz](http://www.roche-diagnostics.cz)



*Představujeme nový produkt:*

### *cobas® EGFR Mutation Test v2, certifikovaný pro in vitro diagnostiku (CE-IVD).*

Nový **cobas®** EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD) identifikuje ve vzorku DNA izolovaném z plazmy nebo tkáně pacientů s nemalobuněčným plicním karcinomem (NSCLC) gen receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR). Test je rovněž užitečným nástrojem pro výběr pacientů s NSCLC vhodných k léčbě inhibitory EGFR tyrosinkinázy (TKI).

#### **Přednosti testu**

- **Široké pokrytí mutací** — **cobas®** EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD) je založen na PCR v reálném čase a identifikuje 42 mutací v exonech 18–21, včetně L858R, L861Q a mutace pro rezistenci na TKI, T790M.
- **Vhodný pro vzorky plazmy i tkáně** — **cobas®** test je určen jak pro testování vzorků plazmy, tak tkáně a umožňuje testovat současně oba druhy vzorků na jedné destičce. Firma Roche rovněž investovala do vývoje cell-free DNA (cfDNA) izolačního kitu optimalizovaného pro extrakci volné DNA z plazmy.
- **Kontinuální pracovní postup od izolace k výsledku** — Aby byla zajištěna plynulá integrace kitu **cobas®** EGFR Mutation Test v2 do již existujících laboratorních postupů, navázala firma Roche na úspěšný EGFR test první generace. Při testování DNA z plazmy trvá celý pracovní postup od izolace DNA k získání výsledku méně než čtyři hodiny. Při testování vzorku tkáně je celý proces hotový za méně než osm hodin.
- **Semi-Quantitative Index (SQI)** — pro testování vzorků plazmy jsme do výsledného reportu testu **cobas®** EGFR Mutation Test v2 zařadili novou hodnotu, tzv. semi-kvantitativní index (Semi-Quantitative Index — SQI). Tato hodnota vyjadřuje změnu množství mutované volné DNA (cfDNA) ve vzorku. Při opakovaném testování pomocí EGFR mutačního testu umožňuje hodnota SQI určit tendenci v progresi nádoru.

#### **Pro více informací o produktech na detekci EGFR mutace**

- navštivte <http://molecular.roche.com>,
- kontaktujte svého obchodního zástupce,
- napište nám na: [prague\\_marketing.propagace@roche-diagnostics.cz](mailto:prague_marketing.propagace@roche-diagnostics.cz).

**cobas®**  
Life needs answers

**muni**  
**PRESS**

ISBN 978-80-210-8257-1



9 788021 082571