



**Studentská vědecká konference
3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze**

Program a sborník abstrakt

2012

www.trimed.cz

Za jazykovou a odbornou správnost textů odpovídají autoři.
Příspěvky neprošly redakční úpravou.

Editoři © Pavel Sekerka, Peter Ivák, Cecílie Šídlová

Název: Studentská vědecká konference 3. lékařské fakulty
Univerzity Karlovy v Praze: Program a sborník abstrakt ze
Studentské vědecké konference 2012

1. vydání

© 2012, 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze a
Trimed – sdružení studentů 3. LF UK
Ruská 87, 100 00 Praha 10

Tištěná verze: ISBN 978-80-260-2180-3

Elektronická verze: ISBN 978-80-260-2181-0

Elektronická verze je dostupná z: <http://www.lf3.cuni.cz/cs/veda-a-vyzkum/svk/2012/>

Tisk: Attractiva, a.s.

PROGRAM KONFERENCE:**08:00 ZAHÁJENÍ KONFERENCE**

08:15 – 09:00 VAKCÍNA PROTI LIDSKÝM PAPILOMA-
VIRŮM: CO JÍ PŘEDCHÁZELO, JAKÁ JE A CO
NÁS ČEKÁ V BUDOUCNOSTI
Prof. MUDr. Vladimír Vonka, DrSc.

09:15 – 14:30 TEORETICKÁ SEKCE (Jonášova posl.)

09:15 – 09:25 VLIV ENVIRONMENTÁLNÍCH TOXINŮ
NA METABOLIZMUS BUŇKY
Marek Haase

09:30 – 09:40 VPLYV MASTNÝCH KYSELÍN NA VIABILITU
A MITOCHONDRIÁLNE FUNKCIE
MYOBLASTOV C2C12
Jakub Žiak

09:45 – 09:55 PŮSOBENÍ NEFYZIOLOGICKÝCH HLADIN
ŽELEZA NA REDOX STAV SAVČÍCH BUNĚK:
VLIV OXIDATIVNÍHO STRESU NA INDUKCI
APOPTÓZY
Jiří Nepožitek

10:00 – 10:10 THERMAL PLACE PREFERENCE IN RATS WITH
CHRONIC CONSTRICTION INJURY
Kim Salte

10:15 – 10:25 ODLIŠENÍ LÉZE NERVŮ PŘEDNÍ KONČE-TINY
U POTKANA POMOCÍ SYSTÉMU CATWALK
Tibor Blaško, Adam Krátký

10:30 – 10:40 ELEKTROFYZIOLOGICKÉ DŮSLEDKY SVĚTELNÉ
STIMULACE KŮRY HEMISFÉR
Patrik Mad'a

- 10:45 – 10:55 THYROXINEM INDUKOVANÝ OXIDAČNÍ STRES
Kristýna Minářová, Ivana Formánková, Josef Kroupa, Patrik Maďa
- 11:00 – 11:15 **PŘESTÁVKA**
- 11:15– 11:25 OVLIVNÍ PRENATÁLNÍ EXPOZICE METAM-FETAMINU AKTIVITU ŘEZŮ Z HIPOKAMPU DOSPĚLÝCH POTKANŮ?
Simona Tomková
- 11:30 – 11:40 CORONA MORTIS - MÝTUS KLINICKÉ ANATOMIE
Kristýna Vymětalová
- 11:45 – 11:55 KLINICKÁ ANATOMIE ARTERIA ULNARIS
Helena Menšíková
- 12:00 – 12:10 VYBRANÁ TÉMATA LIDSKÉ ANATOMIE KRESBOU
Petra Šabatová
- 12:15 – 12:25 KLINICKÁ ANATOMIE MUSCULUS PLANTARIS
Jakub Štefela
- 12:30 – 12:40 ZASTOUPENÍ ENDOTELOVÝCH BUNĚK V ROHOVKOVÝCH TRANSPLANTAČNÍCH ŠTĚPECH V ZÁVISLOSTI NA PŘÍČINĚ SMRTI DÁRCE
Kristýna Strakošová, Martina Šajdíková
- 12:45 – 12:55 MAKROSKOPICKÉ MALFORMACE PÁTEŘE V OBLASTI L5 PŘECHODU
Martin Slepánek, Michal Stříž

- 13:00 – 13:30 **PŘESTÁVKA**
- 13:30 – 13:40 ABSOLUTE NUMBERS OF HAIR FOLLICLES
IN YOUNG FEMALE ARMPITS
Inge Marshall Trangsrud
- 13:45 – 13:55 SEXUÁLNÍ OBTĚŽOVÁNÍ PŘI VÝUCE
LÉKAŘSTVÍ
Jan Michálek, Tereza Grézlová
- 14:00 – 14:10 SEXUÁLNÍ OBTĚŽOVÁNÍ PŘI VÝUCE
NELÉKAŘSKÝCH ZDRAVOTNICKÝCH OBORŮ
Jan Vrabel
- 14:30 ZÁVĚR TEORETICKÉ SEKCE**

09:15 – 14:30 KLINICKÁ SEKCE (Burianova posl.)

- 09:15 – 09:25 NETESTUJ, ALE POBAV! TEST POJMENOVÁNÍ
OBRÁZKŮ A JEJICH VYBAVENÍ
Pavla Čermáková
- 09:30 – 09:40 ADDITIONAL MRI MEASUREMENTS AIDING
WITH THE DIAGNOSIS OF ALZHEIMER DISEASE
Dina Al-Kayssi
- 09:45 – 09:55 VLIV ANTIOTBEZITIK NA VÝVOJ PLODU
Tereza Králová
- 10:00 – 10:10 KATETROVÉ SEPSE VYVOLANÉ KOAGULÁZA
NEGATIVNÍMI STAFYLOKOKY U NOVORO-
ZENCŮ S VELMI NÍZKOU PORODNÍ
HMOTNOSTÍ
Vojtěch Fiala
- 10:15 – 10:25 DIAGNOSTICKÝ POTENCIÁL PLACENTÁRNĚ
SPECIFICKÝCH MIKRORNA PRO PREDIKCI
ONEMOCNĚNÍ SPOJENÝCH S PLACENTÁRNÍ
INSUFICIENCÍ
Eva Polaková
- 10:30 – 10:40 PŘEDOPERAČNÍ POUŽITÍ INTRAAORTÁLNÍ
BALÓNKOVÉ KONTRAPULZACE U POINFARK-
TOVÉHO DEFEKTU SEPTA KOMOR A AKUTNÍ
MITRÁLNÍ REGURGITACE- 15 LET ZKUŠENOSTÍ
V IKEM
Martin Holek
- 10:45 – 11:00 **PŘESTÁVKA**

- 11:00 – 11:10 DNA METYLÁCIA INHIBUJE EXPRESIU MRNA PROKASPÁZY-3 V BUNKÁCH NEMALOBUNKOVÉHO KARCINOMU PĹÚC
Petra Šašková
- 11:15 – 11:25 INHIBICE TRANSKRIPČNÍ EXPRESE PROKASPASY-9 MECHANISMEM DNA METHYLACE V BUŇKÁCH NEMALOBUNĚČNÉHO KARCINOMU PLIC
Michal Fišer
- 11:30 – 11:40 KOUŘENÍ PACIENTŮ PŘED A PO TRANSPLANTACI PLIC, ZAVEDENÍ SYSTEMATICKÉ VALIDIZACE
Miroslav Zmeškal
- 11:45 – 11:55 INVESTIGATION OF PHOSPHATE DEPLETION IN THE SETTING OF ACUTE COMPLICATIONS OF DIABETES MELLITUS
Navneet Ramlaul, Andreas Klofat
- 12:00 – 12:10 VLIV BIOMECHANIKY ROHOVKY NA EFEKTIVITU ROHOVKOVÝCH ASTIGMATICKÝCH INCIZÍ
Zbyněk Straňák
- 12:15 – 12:25 MOŽNÉ VYUŽITÍ NANOVLÁKEN V LÉČBĚ CHRONICKÝCH RAN
Jan Hugo
- 12:30 – 13:00 **PŘESTÁVKA**
- 13:00 – 13:10 SÉROVÉ HLADINY IL-21 NEJSOU ZVÝŠENÉ U PACIENTŮ S ČASNOU REVMATOIDNÍ ARTRITIDOU, NEMOCI BĚHEM LÉČBY, ALE KORELUJÍ S AKTIVITOU
Ondřej Sglunda

- 13:15 – 13:25 VLIV SVALOVÉ HMOTY NA SÉROVÉ HLADINY
KREATININU
Karolina Janovská
- 13:30 – 13:40 ZMĚNA SPEKTRA VÝSKYTU A OŠETŘENÍ
ZLOMENIN HLEZNA V POSLEDNÍCH 5 LETECH
Hana Bělehrádková
- 13:45 – 13:55 SROVNÁNÍ VÝSKYTU A ZPŮSOBU OPERAČ-
NÍHO OŠETŘENÍ ZLOMENIN TROCHANTE-
RICKÉHO MASIVU V LETECH 2007 A 2011
Michal Polášek, Dominik Macák
- 14:00 – 14:10 EXISTUJE POSUN VE VÝSKYTU A OŠETŘENÍ
ZLOMENIN PATNÍ KOSTI OD ROKU 2007?
Pavel Smetana

14:30 ZÁVĚR KLINICKÉ SEKCE

09:15 – 17:00 POSTGRADUÁLNÍ SEKCE (Syllabova posl.)

- 09:15 – 09:25 MECHANISMY REGULACE BUNĚČNÉ SMRTI A STRESU ENDOPLAZMATICKÉHO RETIKULA MASTNÝMI KYSELINAMI U PANKREATICKÝCH BETA BUNĚK
Vlasta Němcová
- 09:30 – 09:40 POLYMORPHISMS IN THE VITAMIN D RECEPTOR GENE AND PARATHYROID HORMONE GENE IN THE DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF DIABETES MELLITUS AND ITS CHRONIC COMPLICATIONS, DIABETIC NEPHROPATHY AND NON-DIABETIC RENAL DISEASE
Marcela Vedralová
- 09:45 – 09:55 POROVNÁNÍ CITLIVOSTI BUNĚK PRIMÁRNÍHO NÁDORU VE VZTAHU K CIRKULUJÍCÍM A DISEMINOVANÝM NÁDOROVÝM BUŇKÁM U MYŠÍHO MELANOMU
Marián Liberko
- 10:00 – 10:10 PREZENTACE NEOČEKÁVANÝCH VÝSLEDKŮ: ZAMÍTNUTÍ (POPŘENÍ) HYPOTÉZY
Kateryna Nohejlová
- 10:15 – 10:25 VLIV PSYCHOSTIMULAČNÍCH DROG NA UČENÍ A PAMĚŤ SAMCŮ A SAMIC LABORATORNÍHO POTKANA PRENATÁLNĚ EXPONOVANÝCH METAMFETAMINU
Eva Macúchová
- 10:30 – 10:40 STUDIUM ÚLOHY GHRELINU V MECHANISMECH OPIOIDNÍ ZÁVISLOSTI V MODELU MORFINOVÉHO RELAPSU U POTKANŮ
Pavel Jeřábek

- 10:45 – 10:55 POHLAVNÍ ROZDÍLY VE VAZBĚ D1 RECEPTORU VE STRIATU PO PODÁNÍ METAMFETAMINU
Monika Vrajevá
- 11:00 – 11:10 SROVNÁNÍ ELEKTROENCEFALOGRAFICKÉ AKTIVITY V SEROTONERGNÍM A GLUTAMÁTERGNÍM MODELU PSYCHÓZY
Filip Tylš
- 11:15 – 11:30 **PŘESTÁVKA**
- 11:30 – 11:40 VLIV 5-HT 1A/2A/2C ANTAGONISTŮ NA ZMĚNY ULTRASONICKÉ VOKALIZACE U POTKANŮ VYVOLANÉ PODÁNÍM MDMA A 2C-B
Anna Kubešová
- 11:45 – 11:55 SROVNÁNÍ HLADINY PROTILÁTEK PROTI LIDSKÉMU A BOVINNÍMU TAU PROTEINU U PACIENTŮ S ALZHEIMEROVOU NEMOCÍ
Michala Kolářová
- 12:00 – 12:10 INTERAKCE SEROTONINOVÝCH 1A RECEPTORŮ S N-METHYL-D-ASPARTÁTOVÝM RECEPTOREM: VÝZNAM V LÉČBĚ A PATOFYZIOLOGII SCHIZOFRENIE
Jana Puskarčíková
- 12:15 – 12:25 VYUŽITÍ SYSTÉMŮ POČÍTAČOVÉ ALGEBRY PŘI STANOVENÍ VAZEBNÝCH PARAMETRŮ NEZNAČENÝCH ORTHOSTERICKÝCH LIGANDŮ PŘI STUDIU ALOSTERICKÝCH INTERAKCÍ NA MUSKARINOVÝCH RECEPTORECH
Jan Proška
- 12:30 – 12:40 OPTICKÁ AGREGOMETRIE V DETEKCI ÚČINNOSTI ASPIRINOVÉ TERAPIE
Miroslava Faulnerová

- 12:45 – 12:55 ZÁVISLOST ÚROVNĚ KOLATERÁLNÍHO DĚLENÍ AXONŮ PO END-TO-SIDE NEUROTIZACI NA VYTVOŘENÍ PERINEURÁLNÍHO OKNA
Radek Kaiser
- 13:00 – 13:10 KYSELINA PALMITOVÁ INDUKUJE POŠKOZENÍ MITOCHONDRIÁLNÍ DNA A MITOCHONDRIÁLNÍ DYSFUNKCI U SVALOVÝCH BUNĚK
Jana Patková
- 13:15 – 13:25 EFEKT KRÁTKODOBÉHO ZVÝŠENÍ KONCENTRACE MASTNÝCH KYSELIN V KRVI NA PROZÁNĚTLIVÝ STAV ORGANISMU
Eva Czudková
- 13:30 – 14:00 **PŘESTÁVKA**
- 14:00 – 14:10 ROČNÍ A DVOULETÝ FOLLOW-UP PACIENTŮ PO PERKUTÁNNÍ NÁHRADĚ AORTÁLNÍ CHLOPĚNĚ SYSTÉMEM COREVALVE V KARDIOCENTRU FNKV
Jakub Sulženko
- 14:15 – 14:25 HODNOCENÍ MARKERŮ APOPTÓZY U AKUTNÍHO INFARKTU MYOKARDU
Elena Teringová
- 14:30 – 14:40 IDENTIFIKACE NOVÝCH MOLEKULÁRNÍCH MARKERŮ PRO SLEDOVÁNÍ MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE
Tereza Jančušková
- 14:45 – 14:55 NANOTECHNOLOGIE V INTENZIVNÍ PÉČI: INTRAVASKULÁRNÍ BIOKOMPATIBILITA UHLÍKOVÝCH NANOMATERIÁLŮ - UHLÍKOVÉ NANOTUBY A KREVNÍ DESTIČKY
Jana Šemberová

15:00– 15:10 MORFOLOGIE PŘEDNÍHO SEGMENTU OKA
PŘED A PO OPERACI KATARAKTY

Alina Dana Raileanu

15:15 – 15:25 ROLE NKT V IMUNITNÍ REAKCI PROTI
HERPETICKÝM VIRŮM

Lucie Nováková

15:30 ZÁVĚR POSTGRADUÁLNÍ SEKCE

TEORETICKÁ SEKCE

VLIV ENVIRONMENTÁLNÍCH TOXINŮ NA METABOLIZMUS BUŇKY

Marek Haase

Vedoucí práce: MUDr. Jan Trnka, Ph.D.

Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK

Úvod: Environmentální toxiny, jejichž vliv na buňky zkoumáme, jsou polybromované sloučeniny. Tyto látky se vyrábí ve velkém množství a přidávají se jako zpomalovače hoření do nejrůznějších výrobků. Příkladem jsou elektrická a elektronická zařízení, dopravní prostředky, podlahové krytiny, textilie, balící a izolační materiály, atd. Toxiny se však uvolňují do životního prostředí a akumulují se v tělech živých organismů. U mnoha těchto látek byl prokázán nepříznivý vliv na organismus a v důsledku tohoto, byla v mnoha zemích výroba a použití polybromovaných zpomalovačů hoření značně omezena nebo úplně zastavena. Nicméně se toxiny stále vyrábí ve velkém množství a to především ty, které nebyly doposud hlouběji prozkoumány.

Cíl: Prozkoumání vlivů konkrétního toxinu (decabromdifenyleher, DBDE) na viabilitu a metabolismus buňky. Zatím proběhlo měření akutní toxicity a měření subchronické toxicity právě probíhá.

Metodika: Vystavili jsme buňky prostředí, v němž byla toxická látka obsažena v 8 různých koncentracích. Buňky jsme nechali inkubovat 24h. Pracujeme s buněčnou kulturou myších myoblastů s označením C2C12. Pro měření toxicity (množství přeživších buněk) jsme použili metodu CellTiter 96® AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay. Princip metody je velmi jednoduchý. Do 96 jamkové destičky, kdy každá jamka obsahuje stejný námi zvolený počet buněk a médium (popř. médium + toxic. látku), po odstranění a vymytí média přidáme tekutou směs. Tato směs tvoří médium a v něm rozpustné reagens, které jsou schopné viabilní buňky metabolizovat na určitý produkt, konkrétně formazan. Množství formazanu je pak přímo

úměrné počtu živých buněk v dané jamce. Destičku pak necháme přečíst v kolorimetrickém přístroji, který měří absorbanci monochromatického světla. Absorbance je tím vyšší, čím větší je koncentrace formazanu v jamce. Z naměřených absorbcí pak dále usuzujeme o počtu přeživších buněk.

Výsledky: Při zkoumání akutní toxicity se počet přeživších buněk přepočítaný na procenta z kontrolního vzorku pohyboval průměrně okolo hodnoty 92,86 % s průměrnou odchylkou 10,56 %. Měření subchronické toxicity právě probíhá a výsledky budou prezentovány na konferenci.

Závěr: Z naměřených hodnot vyplývá, že DBDE není pro buňky akutně toxický.

VPLYV MASTNÝCH KYSELÍN NA VIABILITU A MITOCHONDRIÁLNE FUNKCIE MYOBLASTOV C2C12

Jakub Žiak

Vedúci práce: MUDr. Jan Trnka, Ph.D.

Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK

Úvod: Volné mastné kyseliny (FFA) majú v tele dôležité fyziologické úlohy, avšak ich zvýšená plazmatická koncentrácia má ďalekosiahle patofyziologické dôsledky. Dôležitým faktorom určujúcim účinok FFA je veľkosť molekuly (resp. dĺžka reťazca) a počet dvojitých väzieb. Vo vyšších koncentráciách (tj. 1 - 2 mM) v in vitro experimentoch poškodzujú nasýtené mastné kyseliny (SFA) bunky a dôsledkom tohoto poškodenia je ich apoptóza. Nenasýtené mastné kyseliny (UFA) tento účinok nemajú, niektoré (napr. kys. olejová) dokonca bránia škodlivému pôsobeniu SFA. Mechanizmus škodlivého pôsobenia SFA, rovnako ako protektívne vlastnosti niektorých UFA, nie je presne známy. Taktiež nie je známe, aké účinky má na bunky zmes troch kyselín, ktoré sa v ľudskej plazme vyskytujú v najvyšších koncentráciách, teda kyseliny palmitovej (PA), olejovej (OA) a linolovej (LA).

Ciel': Vyšetriť toxicitu zmesí PA, OA a LA v rôznych pomeroch a koncentráciách a následne stanoviť respiračné funkcie buniek po kultivácii s vybranou kombináciou FFA.

Metodika: Mastné kyseliny (každú osobitne) sme rozpustili v 0,1 mM NaOH a pri 50 °C sme výsledný roztok nechali reagovať s 15 % roztokom bovinného sérového albumínu (BSA). Výsledná koncentrácia bola stanovená použitím komerčného testu NEFA-Randox. V prvej fáze sme kultivovali bunky so zmesou PA:OA v pomere 1:1, 10:1 a 100:1 (koncentrácie 0,5 - 2 mM). V ďalšej fáze sme porovnávali protektívne účinky rôznych pomerov OA:LA pri konštantnom množstve PA (koncentrácie 0,65; 0,8; 1 mM). V tretej fáze sme vybrali dva špecifické pomery - PA:OA:LA = 4:3:4 resp. 3:1:2 (koncentrácie 0,5 - 2 mM). Ide o modelovú situáciu situácie v plazme zdravého človeka (4:3:4) a

pacienta s T2DM (3:1:2). Akútnu toxicitu sme zisťovali po 24 hodinovej expozícii, chronickú po 72 hodinovej. S pomerom 3:1:2 sme okrem toho previedli 120 hodinový experiment. Pre posúdenie viability buniek bol použitý test CellTiter 96 assay (Promega). Respiračné funkcie buniek, ktoré sme kultivovali 50 hodín s FFA (PA:OA:LA = 3:1:2) v koncentráciách 1,5 mM a 0,5 mM, boli testované pomocou XF cell mito stress test. Tento test umožňuje stanoviť základné parametre respirácie (bazálna respirácia, produkcia ATP, respiračná kapacita) za pomoci rôznych mitochondriálnych inhibítorov pridávaných bunkám počas merania.

Výsledky: Viabilita skupín buniek vystavených pôsobeniu PA:OA v pomere 10:1 resp. 100:1 bola bez signifikantného rozdielu. Oproti tomu bunky, kde bol pomer 1:1, vykazovali signifikantne zvýšenú viabilitu oproti obom predchádzajúcim skupinám. Pri porovnávaní protektívneho účinku OA alebo LA voči PA sme pozorovali len nesignifikantné a nepravidelné rozdiely (v niektorých koncentráciách je účinnejšia OA a v niektorých LA). Viabilita buniek u porovnaní zmesí FFA v pomere 4:3:4 aj 3:1:2 bola bez signifikantného rozdielu. Zvýšenú viabilitu sme však pozorovali pri koncentráciách väčších než 1 mM po 72 hodinovej expozícii. 120 hodinová expozícia neukázala žiaden signifikantný rozdiel oproti kratšiemu pôsobeniu FFA, no sledovali sme sfúzovanie buniek do bližšie neurčovaných štruktúr (s najväčšou pravdepodobnosťou do myotúb). Bazálna respirácia buniek kultivovaných s 1,5 mM zmesou bola signifikantne vyššia než u buniek kultivovaných s 0,5 mM zmesou. Rovnako maximálna respirácia bola u zmesi 1,5 mM vyššia než u 0,5 mM.

Záver: Potvrdili sme protektívne účinky OA a LA pred toxickým pôsobením PA. LA nie je účinnejšia ako OA. Aj v maximálnych koncentráciách myoblasty C2C12 prežívajú akútnu expozíciu mastným kyselinám, a to v modeli fyziologickom i diabetickom. Chronická expozícia zmesi PA:OA:LA nižšej ako 1 mM pôsobí zníženie viability buniek oproti kontrolám. Respiračné funkcie buniek boli lepšie pri koncentrovanejšej zmesi FFA.

PŮSOBENÍ NEFYZIOLOGICKÝCH HLADIN ŽELEZA NA REDOX STAV SAVČÍCH BUNĚK: VLIV OXIDATIVNÍHO STRESU NA INDUKCI APOPTÓZY

Jiří Nepožitek

Vedoucí práce: RNDr. Kamila Balušíková

Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK

Úvod: Železo je i přes jeho stopové množství v organismu pro buňky esenciální. Účastní se mnoha biochemických procesů včetně transportu kyslíku, buněčné respirace, citrátového cyklu, metabolismu lipidů, regulace genové exprese či syntézy DNA. Správně fungující regulace příjmu a výdeje železa buňkou je tudíž mechanismem, který významným způsobem ovlivňuje její vitalitu. Je-li homeostáza železa v buňce narušena, snadno dochází k jeho nedostatku nebo akumulaci. Akumulace železa postihuje především buňky parenchymových tkání, zejména jater a pankreatu, kde vede k omezení buněčných funkcí a případně až k smrti samotné buňky s následným vážným orgánovým poškozením. Nadbytek železa je pro buňky škodlivý především kvůli schopnosti železa produkovat reaktivní kyslíkové radikály (ROS). Oxidativní stres, který je důsledkem přítomnosti ROS v buňce, může mít za následek poškození DNA a buněčných membrán a způsobovat změny v expresi proteinů. Je chápán jako příčina mnoha akutních a chronických onemocnění a jako děj doprovázející přirozené stárnutí organismu.

Cíl: Cílem projektu bylo sledovat vliv uměle vytvořeného přetížení citrátem železitým na indukci oxidativního stresu a následné apoptózy u lidských hepatocytů a pankreatických beta-buněk.

Metodika: Pankreatickou buněčnou linii NES2Y a hepatocytární linii HEP-G2 jsme kultivovali v mediu při 37°C ve vlhčené atmosféře s 5% CO₂. Vhodnou koncentraci citrátu železitého v mediu jsme odvodili z „dose-response“ experimentů: 40 mM citrát železitý pro NES2Y, 20 mM citrát železitý pro HEP-G2.

Změny redox stavu buňky a indukci apoptózy jsme sledovali v časových odstupech prostřednictvím detekce hladin exprese příslušných proteinů pomocí metody western blot.

Výsledky: U obou buněčných linií vystavených působení citrátu železitého dochází k oxidativnímu stresu. Zároveň jsme zaznamenali zvýšení exprese proteinů sloužících jako markery stresu endoplazmatického retikula jako je např. protein BiP (binding immunoglobulin protein) a eIF2 (eukaryotic initiation factor 2). U obou linií jsme dále zaznamenali nárůst v expresi proteinu LC3B (microtubule-associated protein 1 light chain 3B) sloužícího jako marker autofagie. S dobou působení citrátu železitého docházelo ke změnám v hladinách exprese jednotlivých typů kaspáz svědčících pro jejich štěpení a tudíž aktivaci.

Závěr: Velké množství volného železa v kultivačním médiu má za následek jeho zvýšený příjem do buněk. Vysoké hladiny železa v buňce způsobují tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů (ROS) a oxidativní stres. Přetrvávající oxidativní stres rovněž vede ke stresu endoplazmatického retikula (ER), který pravděpodobně aktivuje procesy autofagie. Pokud není oxidativní stres a jeho prostřednictvím vyvolaný stres ER dostatečně kompenzován, buňky nejsou schopny se s tímto stavem vyrovnat a podstupují apoptózu.

THERMAL PLACE PREFERENCE IN RATS WITH CHRONIC CONSTRICTION INJURY

Kim Salte

Vedoucí práce: doc. MVDr. Šimon Vaculín, Ph.D.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie 3. LF UK

Abstract: Rats with neuropathic pain have allodynia and hyperalgesia to both heat and cold. Heat stimuli are traditionally used to confirm the development of neuropathic pain and the effect of treatment in animal models. However, little is known about cold stimulation and thermal preference in neuropathic rats.

Aim: The aim of the study was to evaluate the effect of neuropathic pain on thermal place preference and the effect of treatment.

Methods: Neuropathic pain was induced by chronic constriction injury of the left sciatic nerve (CCI group), the sham group underwent the same procedure, except the nerve ligation (sham group). The development of neuropathic pain was confirmed two weeks after the ligation. Then, the following combinations of temperatures were set at Thermal Place Preference Apparatus (Bioseb): 45C/22C, 45C/11C, 45C/1C and 33C/1C. Time spent on warmer and colder plates were measured and compared within the group (thermal preference) and between the groups (effect of neuropathic pain). The subsequent day the same parameters were measured and analogically compared after baclofen administration (10 mg/kg, effect of baclofen). Statistical difference was considered when $p < 0,05$.

Results: Effect of neuropathic pain at the combination 45C/11C, first, the CCI group spent more time at 45C than the sham group, and second, the CCI rats spent significantly more time on the warmer plate while in the sham group no such preference was found. At the combination 45/1 C, the CCI

group spent more time on the warmer plate than the sham, but both groups preferred the warmer plate. At both the combinations 33/1C and 45/22C there were no differences between the groups. At 33/1 both groups preferred the warmer plate, at 45/22C there was no thermal preference either in CCI or in sham. Effect of baclofen. At the combination 45/11C, the time spent on the warmer plate decreased in the CCI group after baclofen administration and no difference was found when compared to sham group (either treated with baclofen or not). Moreover, no thermal preference was found in CCI after baclofen. In the sham group, thermal preference remained unchanged after baclofen. For the 45/1C combination, the results obtained were analogical to those found at the 45/11C combination.

Conclusion: First, the neuropathic pain induced by CCI produces a weaker warm than cold allodynia and hyperalgesia. Second, baclofen selectively reduced the cold allodynia and hyperalgesia in the CCI rats.

ODLIŠENÍ LÉZE NERVŮ PŘEDNÍ KONČETINY U POTKANA POMOCÍ SYSTÉMU CATWALK

Tibor Blaško, Adam Krátký

Vedoucí práce:

doc. MVDr. Šimon Vaculín, Ph.D., MUDr. Otakar Raška;

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie 3. LF UK

Úvod: Léze periferních nervů horní končetiny u člověka patří mezi nejčastější traumatická poranění nervů vůbec. Nenahraditelnou součástí výzkumu této problematiky jsou animální modely, u kterých se ovšem naprostá většina experimentů provádí na zadních končetinách. Vzhledem k tomu, že u savců jsou odlišnosti v inervaci předních a zadních pletenců, rozhodli jsme se u potkana testovat projevy léze nervů na předních končetinách, a to pomocí automatizovaného systému hodnocení otisku tlapek (Catwalk).

Cíl: Cílem studie bylo zjistit, zda systém Catwalk dokáže odlišit lézi n. medianus a n. ulnaris u laboratorního potkana.

Metodika: Systém Catwalk automaticky zaznamenává a vyhodnocuje otisky tlapek potkana během průchodu metrovou chodbou. Potkani byli rozděleni do dvou skupin podle přerušenoého nervu na pravé přední končetině: n. medianus (MED) a n. ulnaris (ULN). Před operací a každý týden do dvou měsíců po operaci byly hodnoceny tyto vybrané parametry systému: Swing doba, při které se tlapka nedotýká podložky; Step Cycle doba mezi dvěma iniciálními dotyky stejné tlapy; Print Length specifická délka tlapy; Print Width specifická šířka tlapy. Parametry otisků pravé přední končetiny byly v rámci každé skupiny porovnány s kontralaterální končetinou a poté srovnány mezi ULN a MED skupinami.

Výsledek: U parametrů Print Width nebyl mezi skupinami MED a ULN rozdíl, avšak v obou skupinách byla šířka otisku menší než na kontralaterální končetině. Parametry Print Length a Swing

byly menší u MED jak oproti skupině ULN, tak oproti kontralaterální končetině. Parametr Step Cycle se nelišil ani mezi skupinami, ani mezi končetinami.

Závěr: Systém Catwalk je metoda, která dokáže rozeznat přerušení n. medianus a ulnaris pomocí parametru Print Length a Swing. Navíc poskytuje nové informace o zapojení jednotlivých nervů během chůze.

ELEKTROFYZIOLOGICKÉ DŮSLEDKY SVĚTELNÉ STIMULACE KŮRY HEMISFÉR

Patrik Mad'a

Vedoucí práce: doc. MUDr. Jan Mareš, CSc.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie 3. LF UK

Úvod: Zavádění metod konfokální mikroskopie a tvorby fototrombotických lézí na živé nervové tkáni otevírá celou řadu otázek o účinku vysokoenergetického osvětlení na neurony. V předchozích pracích bylo prokázáno, že kontinuální svícení v oblasti gyrus postcentralis vyvolá utlumení somatosenzorických evokovaných potenciálů (Krysl, Lambert). Nás zajímal fakt, zda je přítomna biologická odpověď na stimulaci laserovým paprskem.

Hypotéza: Stimulace kůry laserovým paprskem bude mít biologický účinek, který bude mít na elektroencefalografickém záznamu podobu evokovaného potenciálu.

Metodika: Se zvířaty bylo zacházeno v souladu s etickými pravidly 3. LF UK a zákona o ochraně zvířat České republiky a pravidly EU. Do experimentálního souboru bylo zařazeno 12 laboratorních potkanů. Zvířata byla v hluboké anestezii upevněna do stereotaktického přístroje ve Faradayově kleci, kde jim byla pomocí elektrod umístěných na kůře měřena mozková aktivita, nejdříve spontánně a následně s osvětlením. Laserová stimulace byla prováděna přes alobal, následně přes skalp a kalvu a nakonec přímo na kůru. Bylo použito jak kontinuálního tak přerušovaného osvětlení o různých frekvencích, který byl v pozdějších fázích experimentu kombinován s přímou elektrickou stimulací kůry. EEG záznamy laboratorních zvířat byly porovnány s EEG záznamy neživých fantomů (např. jablko, vlhká houba) kvůli možnému vzniku stimulačních artefaktů.

Výsledky: Došlo ke vzniku četných stimulačních artefaktů, ale i

přesto byla jednoznačně potvrzena biologická odezva na vysokoenergetický osvit. Svým záznamem ovšem vůbec neodpovídá evokovanému potenciálu. Při opakovaných vysokofrekvenčních pulzech emitovaného světla se po ukončení salvy na EEG záznamu objevují epileptoidní fenomény. Při kontinuální emisi světla došlo k utlumení odezvy na přímou elektrickou stimulaci.

Závěr: Přestože se naše hypotéza nepotvrdila, bylo jednoznačně prokázáno, že laserová stimulace kůry vyvolává biologickou odezvu, jejíž fyzikálně-chemický podklad bude třeba dále diskutovat. Při použití metod kofokální mikroskopie či vyvolávání fototrombotických lézí na živých nervových tkáních, bychom doporučovali uvažovat biologickou odezvu, aby nedošlo k možnému ovlivnění výsledků.

THYROXINEM INDUKOVANÝ OXIDAČNÍ STRES

Kristýna Minářová, Ivana Formánková, Josef Kroupa, Patrik Maďa

Vedoucí práce: doc. MUDr. Jan Mareš, CSc.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie 3. LF UK

Úvod: Pro hypertyreosu jsou charakteristické hypermetabolické příznaky. Jak v klinické praxi, tak i u experimentálních zvířat jsou popisovány poruchy různých tkání způsobené vysokou hladinou volných radikálů (VR), související se zvýšením oxidativního metabolismu. S hypertyreosou je také spojeno hubnutí. Existující klinická pozorování ukazují na důležitost výživy u tohoto onemocnění. Proto nás zajímala možnost ovlivnění důsledků působení VR pomocí scavengeru a antioxidantu melatoninu. V souvislosti s tím jsme chtěli sledovat i vliv podvýživy a realimentace.

Cíl: Cílem práce je ověřit platnost následujících hypotéz:

- 1) Kontinuální podávání melatoninu pomocí osmotické pumpy bude mít jiný efekt než podání v pití.
- 2) Hypertyreosa spolu s hladověním způsobí výrazné snížení hmotnosti a změnu hladin volných hydroxylových radikálů.
- 3) Zvýšení příjmu potravy umožní přežití a zároveň povede ke změně množství VR.
- 4) Snížení hladin VR melatoninem omezí morfologická poškození vyvolaná hypertyreosou.

Metodika: Pro experiment jsme použili mladé potkany kmene Wistar (ANLAB; samci 230 – 260 g). Každé zvíře mělo vlastní klec. Hypertyreosu jsme vyvolávali iniciální dávkou levothyroxinu SIGMA ČR 10 mg/kg s.c. a následnou udržovací dávkou 0,5 mg/kg s.c. ob den po dobu 28 dní. Model hladu vypadal následovně: v první polovině pokusu (1. - 14. den) 10g krmiva/den, v druhé polovině pokusu (15. - 28. den) 15g

krmiva/den. Před každou aplikací levothyroxinu byla zvířata vážena. Zvířata byla rozdělena do 8 skupin – kontrolní (KO, počet 10), s hypertyreosou (T4, počet 20), s melatoninem SIGMA ČR aplikovaným v osmotické pumpě (alzet®) v kontinuální dávce 15 mg/kg/den (KO melatonin, počet 10), s hypertyreosou a melatoninem (T4 melatonin, počet 10), SHAM kontroly, kterým byla zašita s.c. injekční stříkačka (KO sham, počet 10). Výše uvedené skupiny dostávaly potravu ad libitum. Dále kontroly hladovějící (KO hlad, počet 10), s hypertyreosou hladovějící (T4 hlad, počet 10), s hypertyreosou hladovějící a s melatoninem (T4 hlad melatonin, počet 10). Během čtvrtého týdne pokusu jsme měřili hladinu hydroxylových radikálů in vivo v ketaminoxylasinové anesthesii po aplikaci DMSO (dimethylsulfoxid). Poté byla zvířata usmrcena v etherové anesthesii a po dekapitaci byla odebrána krev pro stanovení hladin thyroxinu a melatoninu. Srdce a m. triceps surae byly odebrány pro další morfologickou analýzu. Statistická analýza výsledků byla provedena ANOVA testy v programovém balíku GraphPad PRISM®.

Výsledky: U zvířat ze skupin KO, T4, KO melatonin, T4 melatonin a KO sham jsme pozorovali váhový přírůstek. V hladovějících skupinách ztrácela zvířata hmotnost až do zvýšení dávky potravy. Ve skupině T4 hlad melatonin zemřela 4 zvířata ještě před zvýšením dávek potravy. Morfologické změny srdcí v jednotlivých skupinách při porovnání s kontrolami vykazovaly výrazné změny, které mohou korelovat s histologickými nálezy, které budou dokončeny v nejbližší době. Zvířata ze skupiny T4 a T4 melatonin, až na výjimky, nepřežila aplikaci DMSO. V opakovaných experimentech nebyla prokázána toxicita DMSO. Smrt těchto potkanů po aplikaci DMSO neumožnila kvalitní statistické porovnávání. Musíme vyslovit a testovat hypotézu, že celý systém vnitřních antioxidantních systémů je schopen natolik výrazné adaptace, že při plně kontinuální aplikaci melatoninu dokáže udržet jejich hladinu na fyziologické úrovni. Melatonin v pití (minulé experimenty) může mít kolísání hladin vzhledem k jeho biologickému poločasů.

Závěr: Opakovaně jsme ověřili funkční model hypertyreosy. Zvládli jsme metodiku práce s osmotickými pumpami včetně

chirurgických zákroků a potvrdili si jejich účinnost. Hladovějící zvířata s modelovou hypertyreosou narozdíl od zvířat s hypertyreosou a volným přístupem k potravě přežívala i další experimentální manipulaci. Předpokládáme, že potkani s hypertyreosou a volným přístupem k potravě mohli být náchylnější k úmrtí po DMSO díky prudkému snížení hladin VR na něž byla tato zvířata adaptována. To by ukazovalo na často diskutovaný význam VR v homeostáze. VR mohou totiž fungovat jako jak intracelulární, tak extracelulární signální látky.

OVLIVNÍ PRENATÁLNÍ EXPOZICE METAMFETAMINU AKTIVITU ŘEZŮ Z HIPOKAMPU DOSPĚLÝCH POTKANŮ?

Simona Tomková

Vedoucí práce: MUDr. Klára Bernášková, Ph.D.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie 3. LF UK

Úvod: Metamfetamin (MA) je nejčastěji zneužívaná droga v ČR. Je to silný psychostimulant, který zvyšuje hladiny excitačního mediátoru glutamátu (GLU) v savčím mozku a je prokázáno, že hipokampus je na MA obzvláště citlivý. Předchozí studie prokázaly, že důsledky prenatální expozice MA na centrální nervový systém přetrvávají až do dospělosti.

Cíl: Cílem práce bylo zjistit, jestli a jak ovlivní prenatální podávání MA spontánní výboje a výboje vyvolané snížením koncentrace hořčíku v žívném roztoku v řezech z hipokampu dospělých potkanů.

Metodika: Březím samicím laboratorního potkana kmene Wistar byl po celou dobu březosti denně (E1 - E22) aplikován subkutánně MA (5mg/kg), nebo fyziologický roztok (S). Jako absolutní kontrola byla použita mlád'ata samic, které nebyly exponovány žádnými injekčními aplikacemi. Mlád'ata byla rozdělena do klecí podle pohlaví a skupin (M - prenatální expozice metamfetaminem, S - prenatální aplikace fyziologického roztoku a C - bez prenatální aplikace) a ponechána tak do dospělosti. Testování byli dospělí samci (PD 60 - 80). Zvířata byla dekapitována v éterové anestezii. Po vynětí mozku byly hipokampy potkanů rychle zchlazeny, rozkrájeny na řezy o tloušťce 350 μm a okamžitě přeneseny do komůrek s oxygenovaným arteficiálním cerebrosinálním mokem (ACSF) o teplotě 35 - 36°C. Po hodinovém odpočinku byly jednotlivé řezy postupně přenášeny do snímací komůrky opět opatřené oxygenovaným ACSF. Pod mikroskopem byly do řezu zavedeny dvě mikroelektrody: skleněná snímací (plněná 2 molárním

roztokem NaCl, s odporem 200 - 1200 k Ω) do oblasti CA 1 a kovová stimulační do Schafferových kolaterál. Stimulací byla potvrzena vitalita řezu a po registraci spontánní aktivity byla zaznamenávána aktivita řezu v ACSF bez hořčiku (low magnesium epilepsy model). Na záznamu byla hodnocena latence do objevení prvního epileptiformního grafoelementu a doba od vzniku prvního epileptiformního grafoelementu do rozvoje pravidelné aktivity.

Výsledky: Hodnoceny byly 3 skupiny: M, S a C. Rozdíly v latenci prvního epileptiformního grafoelementu nebyly statisticky významné mezi žádnými skupinami. Doba přechodu jednotlivých epileptiformních výbojů do pravidelné aktivity byla statisticky významně delší ve skupině S a než skupině M, která se svou hodnotou blížila skupině kontrolní. Výsledky byly hodnoceny pomocí ANOVA a dvouvýběrového t-testu.

Závěr: Závěrem můžeme říci, že metamfetamin podávaný prenatalně neovlivnil aktivitu řezů z hipokampu v našem modelu. Nicméně v souladu s předchozími pokusy (odpověď sensorimotorické kůry na repetitivní elektrickou stimulaci) se statisticky významně lišila odpověď kontrolní skupiny S (s prenatalní aplikací fyziologického roztoku).

CORONA MORTIS - MÝTUS KLINICKÉ ANATOMIE

Kristýna Vymětalová

Vedoucí práce: doc. MUDr. David Kachlík Ph.D.

Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod: Průběhu arteria obturatoria bylo věnováno mnoho prostoru jak v anatomických učebnicích a atlasech, tak v odborných člancích. Podobné pozornosti ovšem nebylo dopřáno žilám doprovázejícím tuto tepnu. Rozhodli jsme se specifikovat výskyt žilní i tepenné varianty cévní anomálie známé jako corona mortis (Hesselbachi). Tento cévní svazek spojuje vnitřní a vnější cévní pánevní soustavu a přechází v kritické lokalizaci (ramus superior ossis pubis) linea terminalis.

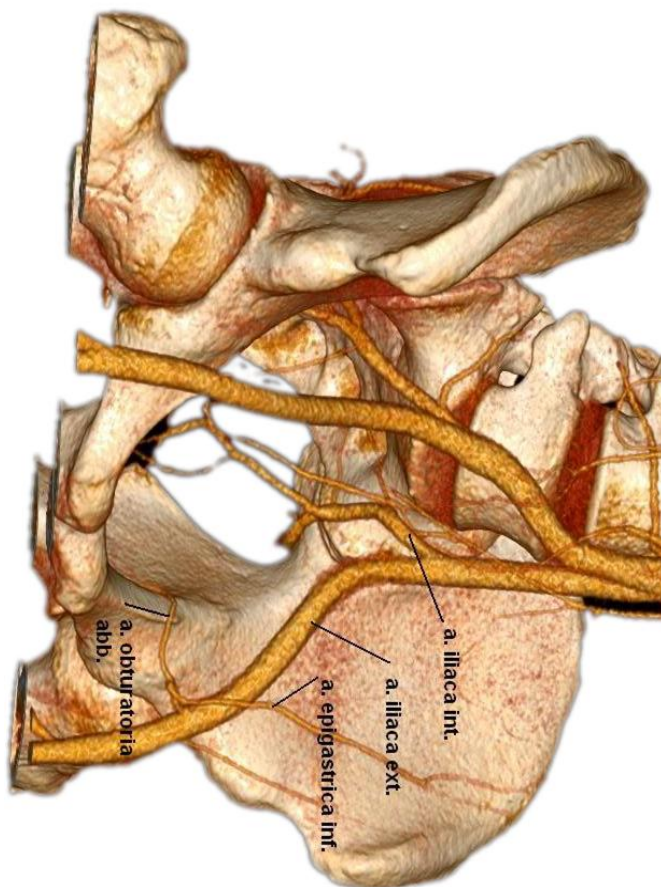
Cíl: Stanovit četnost výskytu a uspořádání corona mortis a určit průměrný průsvit těchto cév a jejich průměrnou vzdálenost od symphysis pubis. Dále provést meta-analýzu dat z dostupných vědeckých článků a shromáždit klinické jednotky, při kterých znalost uspořádání vasa obturatoria hraje roli.

Metodika: Byla provedena pitva vasa obturatoria na 70 anatomických a 60 patologických kadaverech. Zároveň jsme hledali tepennou variantu u 70 pacientů, kteří podstoupili CT angiografii na Radiologické klinice FNKV v posledním roce. Celkem jsme vyhodnotili 400 pŕlpanví. Meta-analýza výsledků námi shromážděných studií zahrnuje evaluaci asi 4500 pŕlpanví pro tepennou a téměř tisíce pro žilní variantu. Články jsme vyhledali na www.pubmed.com.

Výsledky: V kadaverózní části studie jsme zjistili incidenci abnormální tepny v 26,3 % případů, z toho v 21,2 % byly tepny širší než 2 mm. Žilní varianta se vyskytovala u 89,8 % pŕlpanví, výskyt žil širších 2 mm činil 59,7 %. Průměrný průsvit tepen byl 2,32 mm (medián 2,50 mm) a žil 2,71 mm (medián 2,00 mm). Vzdálenost těchto cév od symphysis pubis činila v

průměru 55,8 mm (medián 55,0 mm). Tepny obecně jsou většinou aberantní (odstup z jiného řečiště), žíly jsou naopak častěji akcesorní. Abnormální cévy jsou větve, resp. přítoky vasa epigastrica inferiora (příp. r. pubicus) nebo přímo vasa iliaca externa. CT angiografie odhalila 24% incidenci abnormální tepny a dá se tedy označit za spolehlivou metodu pro stanovení četnosti této tepenné variace. Dle dostupných informací z článků způsobuje poranění corona mortis život ohrožující stavy u zlomenin pánve a jejich chirurgickém řešení, operací kýly, prostatektomie a zavádění obturátorové pásky pro inkontinenci moči. Její výskyt komplikuje angiografickou embolizaci pro vnitřní krvácení v pánvi a je zmiňována v souvislosti s výskytem nežádoucích účinků při podání chemoterapeutik pro karcinom močového měchýře. Na druhou stranu v učebnicích gynekologie ani odborných člancích o poporodním krvácení, s nímž byla dříve dávána do souvislosti, jsme o tomto cévním svazku žádné zmínky nenašli. Žíly jsou oproti tepnám nebezpečnější pro jejich inaparentní krvácení při užití insuflace. Retropubický hematom se vytvoří až po uzavření operační rány a může být objeven až po tom, co pacient upadne do šoku.

Závěr: Incidence tepenné a především žilní corona mortis je vysoká a nezřídka dosahují tyto cévy i značných rozměrů. Zaslouhují proto pozornost chirurgů, intervenčních radiologů i studentů anatomie. Přítomnost tohoto cévního svazku lze velmi snadno ověřit pomocí CT angiografie. Domníváme se, že žilní corona mortis je minimálně stejně klinicky významná jako její tepenný protějšek a vzhledem k téměř konstantnímu výskytu by neměla být opomíjena.



KLINICKÁ ANATOMIE ARTERIA ULNARIS

Helena Menšíková

Vedoucí práce: doc. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod: Tepny horní končetiny se pomalu stávají metodou první volby pro katetrizační zákroky na věnčitých tepnách srdce, zejména z důvodů nižšího procenta komplikací, lepšímu komfortu pacienta a možnosti ambulantního provedení výkonu. Rovněž je lze využít jako stopkové cévy pro kožní laloky předloktí. Některé variace tepen horní končetiny však mohou značně ztížit nebo zcela znemožnit tyto zákroky.

Cíl: Práce se skládala z popisu variací hlavních tepenných kmenů horní končetiny, jejich četnosti, měření průsvitu a popis změn přímého průběhu těchto tepen (vlnění, kličky).

Metodika: Studie byla rozdělena na teoretickou část (rešerše moderních i historických anatomických literárních zdrojů a současných klinických studií) a praktickou (sběr dat z archívu angiografií a preparace na kadaverech). Bylo propitváno 205 horních končetin ze souboru Ústavu anatomie 1. a 3. LF UK v Praze, LF UK v Hradci Králové a Plzni, LF UP v Olomouci a LF UK v Bratislavě a prostudováno 25 angiografií arteria ulnaris z archívu Katlabu Kardiocentra v Liberci, Plzni a Hradci Králové (bez určení pohlaví, věkový rozptyl 31-96 let).

Výsledky: Ve 23 % případů byla nalezena variace některé z osových tepen horní končetiny. Nejčastějšími variacemi jsou arteria brachioradialis (14 %), arteria brachialis superficialis (5 %), arteria comitans nervi mediani manus (12 %), klinicky významná je obvykle slabá arteria brachialis accessoria (méně než 1 %). V povodí arteria ulnaris se vyskytuje arteria brachioulnaris superficialis (odstup arteria ulnaris na paži a průběh povrchově od ohýbačů předloktí) ve 4 %, arteria

brachioulnaris v méně než 1 %, ostatní variace (pravé zdvojení, chybění a arteria ulnaris superficialis jsou opravdu výjimečné). Průsvit arteria ulnaris byl průměrně 2,5 mm (1,9-2,9 mm). Změny přímého průběhu zahrnovaly zvlnění (tortuozity) ve vzdálenosti 0-16 cm od processus styloideus ulnae (o úhlech od 30° do 120° s výskytem 4 % na angiografiích, ale 35 % na kadaverech) a dále kličky (1 % na angiografiích a 0 % na kadaverech).

Závěr: Obvyklá anatomie tepen horní končetiny se vyskytuje v 77 % případů, přesto je skoro 96 % pacientů nakonec úspěšně katetrizováno radiální cestou. Ulnární cesta slouží jako možná alternativa (nevýhodou je horší komprese proti kosti, blízkost nervu, nepatrně užší průsvit, méně zkušeností lékařů; výhodami naopak jsou nižší výskyty variací větvení i průběhu). Přítomnost arteria brachioulnaris superficialis umožňuje výhodnější vystavění kožního laloku na této stopce.

VYBRANÁ TÉMATA LIDSKÉ ANATOMIE KRESBOU

Petra Šabatová

Vedoucí práce: doc. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Ústav anatomie 3. LF UK

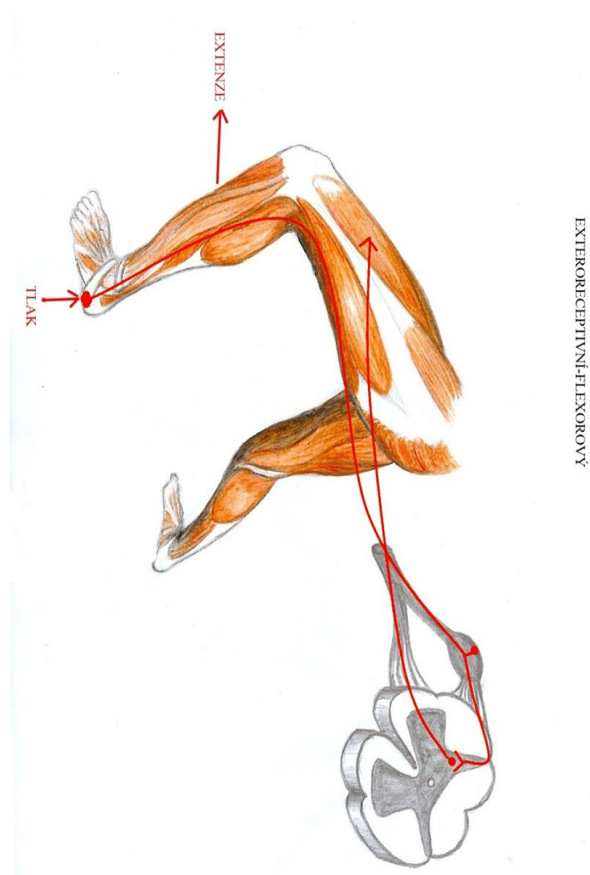
Úvod: Ve své práci jsem se snažila o vytvoření přehledných nákresů, které by usnadnily studium anatomie.

Metodika a použitý materiál: Vzhledem k povaze vybraných okruhů jsem využívala již publikovaných ilustrací, především z Anatomie 2, 3 (Čihák), Anatomického obrazového slovníku (Feneis), Lékařské fyziologie (Trojan) a učebnice Fyziologie (Rokyta), učebnice neurologie a rovněž z internetových zdrojů. Tyto ilustrace sloužily v první řadě k ověření faktické správnosti a vytvoření představy o topografickém uspořádání, hlavně u některých struktur a zapojení, která dosud nebyla ve formě obrázků vytvořena. Rovněž bylo třeba jít i do původních vědeckých prací (viz eponyma). Jako základní techniku pro schémata jsem zvolila kresbu tužkou, která umožňuje jednoduše a přehledně zobrazit zvolené struktury. Pro komplexnější, reálné malby jsem využila akvarel.

Výsledky: Prvním okruhem, kterému jsem se věnovala, bylo funkční zapojení struktur centrální nervové soustavy, především mozečku a bazálních ganglií (např. oko-hybná, asociační klička) Druhým okruhem bylo vytvoření schematických nákresů pro doplnění studijního materiálu týkajícího se exteroceptivních reflexů a reflexů hlavových nervů (pro společnou výuku anatomie a fyziologie s využitím v neurologii) - (např. flexorový, korneální) Třetím okruhem bylo vyobrazení struktur, které byly popsány anatomy a obvykle na jejich počest nesou jejich jména - eponyma. Tato budou sloužit jako součást vznikající databáze anatomických eponym. Dosud jsou zpracovány termíny pojmenované po českých velikánech, Václavu Treitzovi, Karlu Pawlíkovi a Vinzenci Bochdalkovi (např. angulus Treitzii, area

trigonalis Pawliki či foramen Bochdaleki). Čtvrtý okruh, který jsem zpracovala je lymfatická drenáž jednotlivých orgánů, kde jsem se soustředila na směr odtoku mízy i na topografické vztahy okolních struktur.

Závěr: Vytvořila jsem soubor nákresů, kde je zastoupena detailní reálná malba, schématické vyobrazení, i kombinace těchto dvou přístupů, která zachovává srozumitelnost a přehlednost nákresu na pozadí podrobné studie pro lepší zasazení do kontextu.



KLINICKÁ ANATOMIE MUSCULUS PLANTARIS

Jakub Štefela

Vedoucí práce: doc. MUDr. David Kachlík, Ph.D.

Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod: M. plantaris je rudimentární sval zadní skupiny svalů lýtka. Začíná na zadní ploše stehenní kosti, má velmi krátké bříško a je zakončen dlouhou úzkou a tenkou šlachou, která probíhá podél m. triceps surae a upíná se spolu s Achillovou šlachou na patní kost. Klinický význam m. plantaris u člověka je stále nejasný. Již dlouhou dobou je používán jako zdroj štěpu pro transplantace šlach, studie prokázaly jeho význam při ruptuře Achillovy šlachy. V posledních letech se objevily studie zabývající se možnou souvislostí m. plantaris a bolestí lýtky při tendinopatiích Achillovy šlachy.

Cíl: Cílem této práce bylo ověřit a zpřesnit stávající poznatky o m. plantaris, průběhu jeho šlachy s důrazem na sledování výskytu vazivových spojení, která by mohla být příčinou bolest vyvolávajících tendinopatií.

Materiál a metodika: Byla provedena podrobná rešerše anatomické i klinické literatury a následně pitva 45 dolních končetin fixovaných alkoholem z materiálu Ústavu anatomie 3. LF UK v Praze. Z toho bylo 29 samostatných končetin a 8 těl. Byla zkoumána incidence, způsob úponu šlachy m. plantaris a její vztah k Achillově šlaše. Zejména byly hledány možné vazivové srůsty mezi oběma šlachami. Byly odebrány a histologicky vyšetřeny vzorky šlachy m. plantaris a tendo calcaneus z místa 2-8 cm nad úponem obou šlach na patní kost, a to z těla bezprostředně postmortem a z kadaveru ze sbírek Ústavu anatomie. Dále byly prozkoumány možnosti využití zobrazovacích metod při vyšetřování m. plantaris. Jednalo se o analýzu 60 MRI hlezna a distálního bérce s cílem identifikovat m. plantaris, a pilotní vyšetření m. plantaris sonograficky s cílem určit rozlišovací schopnost US a jeho

případné využití v diagnostice.

Výsledky: M. plantaris probíhá v distální části lýtka podél m. triceps surae a jeho šlachy a nachází se zde mezi m. soleus a mm. gastrocnemii. Poté se 12-15 cm od úponu přesouvá ventrálně nebo mediálně od Achillovy šlachy a probíhá těsně vedle ní, zavzat ve společném vazivovém obalu (nejedná se šlachovou pochvu!). Anatomická pitva prokázala, že m. plantaris není přítomen v 6,5 % případů, což odpovídá dosavadním studiím. U 40 preparátů byl zkoumán způsob úponu m. plantaris a bylo zjištěno, že v 77,5 % případů se upíná na Achillovu šlachu v rozmezí 1-3cm nad úponem Achillovy šlachy na patní kost. Průběh distální části šlachy m. plantaris je nejčastěji ventrálně (37,5 %) či mediálně (32,5 %) od Achillovy šlachy. Úpon na šlachu má v 45 % případů podobu rozšíření, které Achillovu šlachu obalí. Mezi šlachou m. plantaris a Achillovou šlachou byly nalezeny srůsty v 12,5 % případů. Jednalo se o pevnou vazivovou strukturu mezi oběma šlachami, kterou nebylo možno rozdělit tahem rukou. Ve 20 % případů byly nalezeny rigidní úseky společného vazivového obalu, které však nebyly přímo spojené s m. plantaris. Analýza MRI prokázala absenci m. plantaris v 6,7 % případů. Sonograficky se podařilo identifikovat m. plantaris, Achillovu šlachu, společný vazivový obal a okolní řídkou vazivovou tkáň.

Diskuse: Výskyt a úpon m. plantaris odpovídá výsledkům již dříve provedených studií. Vazivové srůsty mezi oběma svaly byly nalezeny u 12,5 % případů. Metodou magnetické rezonance je možné identifikovat m. plantaris a jeho polohu, pro bližší vyšetření je však nevhodná. Ultrasonograficky je možné identifikovat m. plantaris a okolní vazivovou tkáň a pozorovat její případné změny, což může být užitečné v diagnostice tendinopatií. Souvislost mezi přítomností vazivových srůstů a tendinopatiemi Achillovy šlachy a konkrétní vztah m. plantaris k problematice tendinopatií bude předmětem dalšího výzkumu.

ZASTOUPENÍ ENDOTELOVÝCH BUNĚK V ROHOVKOVÝCH TRANSPLANTAČNÍCH ŠTĚPECH V ZÁVISLOSTI NA PŘÍČINĚ SMRTI DÁRCE

Kristýna Strakošová, Martina Šajdíková

Vedoucí práce:

MUDr. Tereza Báčová, doc. MUDr. Václav Báča, Ph.D.

Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod: Transplantace rohovky je v současné době nejčastěji prováděnou transplantací u člověka. Ve Spojených státech se ročně provede něco přes 30 000 transplantací, v České republice je to okolo 600 operací. Nejčastější příčinou selhání operace je rejekce. Šance na přežití štěpu stoupá s počtem endotelových buněk přítomných na dárcovské rohovce - u novorozence se hranice pro použití rohovky se udává okolo 500/mm², v naší oční bance je minimální počet endotelových buněk dárce 2000/mm². Pět let přežívá pouze zhruba 70 % rohovkových transplantátů, což je méně než u některých transplantovaných orgánů.

Cíl: Cílem studie bylo v letech 2008-2010 zhodnotit možnou souvislost mezi množstvím endotelových buněk dárcovských rohovek ve vztahu k dárcům, kteří byli rozděleni do skupin podle příčiny úmrtí.

Materiál a metoda: Byly hodnoceny dárcovské rohovky z materiálu Oční tkáňové banky Oftalmologické kliniky 3. LF UK v Praze a FNKV z let 2009 (457 dárců) a 2010 (415 dárců). Pro zjišťování počtu endotelových buněk byl použit konfokální mikroskop. Pacienti byli rozděleni do skupin podle příčiny smrti: náhlá smrt, ateroskleróza na základě chronické ischemické choroby a nádorové onemocnění. Byly sledovány také parametry: interval smrt/zpracování, věk a pohlaví dárců. K vyhodnocení byly použity popisné statistické metody: průměr a směrodatná odchylka.

Výsledky: V obou sledovaných letech bylo nalezeno největší množství endotelových buněk u dárců, kteří zemřeli náhlou smrtí (2847 v roce 2009, resp. 2889 v roce 2010), následovala skupina dárců s příčinou úmrtí na chronickou ischémii (2757 a 2821), a nejméně endotelových buněk bylo zastiženo u dárců, kteří zemřeli na diseminaci nádorového bujení (2647 a 2735). U mladších dárců byl nalezen vyšší počet endotelových buněk. Souvislost mezi množstvím endotelových buněk a časovým intervalem mezi smrtí a odběrem, stejně jako závislost na pohlaví se neprokázala.

Závěr: Příčina smrti dárce a jeho věk se jeví jako jedny ze základních důležitých parametrů majících vliv na počet endotelových buněk v rohovkovém štěpu a tedy na budoucí přežití štěpu. Sledování těchto parametrů bude mít význam pro větší úspěšnost operačního řešení při transplantacích rohovky a tím odstranění možných závažných pooperačních komplikací, zejména rejekce, které v konečném důsledku přinášejí obrovský ekonomický a sociální efekt v řešení problematiky onemocnění oka, zejména pak v oblasti postižení rohovky.

MAKROSKOPICKÉ MALFORMACE PÁTEŘE V OBLASTI L5 PŘECHODU

Martin Slepánek, Michal Stríž

Vedoucí práce:

doc. MUDr. Valér Džupa, CSc.¹, doc. MUDr. Václav Báča, Ph.D.²;

¹Ortopedicko-traumatologická klinika 3. LF UK a FNKV, ²Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod a cíl: Oblast lumbosakrálního přechodu je místem nejčastějšího výskytu vývojových malformací axiálního skeletu, literatura však neuvádí jejich výskyt. Mezi nejčastější vrozené morfologické změny patří megatransversus L5, jeho srůst s massa lateralis ossis sacri, sakralizace L5 nebo L6, lumbalizace S1, změna počtu sakrálních obratlů, výskyt spina bifida ve výšce S1 či S2 a skolióza sakra. Změny tvaru obratlů v této oblasti jsou způsobeny chybným vývojem processus neurales (neurapofýz), které fúzí párových základů dávají vzniknout obratlovému oblouku a přilehlým výběžkům. Cílem této studie bylo kvantifikovat výskyt těchto změn a tím zjistit, jak velká je variabilita této oblasti v naší populaci.

Metodika: Sledování bylo provedeno zhodnocením 1546 předozadních rentgenových snímků pánve u pacientů vyšetřených na Radiodiagnostické klinice 3. LF UK a FNKV v roce 2010 z různých indikací. Všechny RTG snímky byly posuzovány společně autory studie. Sledováno bylo 7 přesně definovaných a RTG hodnotitelných změn. Po zhodnocení souboru snímků byly znovu hodnoceny všechny zjištěné malformace z důvodu minimalizace falešně pozitivních nálezů. Ke zpřesnění výsledků byly využity i další dostupné snímky, a to především AP a boční projekce lumbálního, či sakrálního úseku páteře. Spina bifida od obratle S3 distálněji nebyla sledována. Jako nehodnocené byly označeny ty snímky, u kterých nedostatečná centrace nebo expozice zabránila jednoznačnému

popisu změn. Výsledky byly zapisovány do databázového souboru a následně vyhodnoceny popisně statistickými metodami.

Výsledky: Megatransversus L5 se vyskytl u 75 pacientů (5 %). Bilaterální megatransversus byl nalezen u 10 pacientů (0,7 %). Srůst megatransversu L5/L6 s horním okrajem massa lateralis ossis sacri se vyskytl u 77 hodnocených RTG snímků (5,1 %), oboustranně u 6 pacientů (0,4 %). Sakralizace posledního bederního obratle se vyskytla u 23 pacientů (1,5 %). Lumbalizace S1 byla zaznamenána jen na dvou snímcích (0,1 %). Změny počtu sakrálních obratlů byly patrné u 180 pacientů (12 %), ve všech případech šlo o 6 obratlů, 4 sakrální obratle nebyly nalezeny ani v jednom případě. Zatímco spina bifida od obratle L5 byla pouze u 5 pacientů (0,3 %), byla spina bifida obratlů S1 i S2 nalezena u 51 hodnocených snímků (3,4 %) a spina bifida jen od úrovně S2 v 61 případech (4 %). Skolióza sakra se vyskytla u 64 pacientů (4,2 %). Nález alespoň jedné ze sledovaných malformací byl zaznamenán u 461 pacientů (30,5 %), 75 pacientů (5 %) mělo více než jednu malformaci (2-3 celkem). Z 1.546 RTG snímků jich nebylo zhodnoceno pouze 33 (2,1 %).

Závěr: Studie potvrdila očekávaný vysoký výskyt vývojových morfologických změn lumbosakrálního úseku páteře. Veškeré zmíněné odchylky od fyziologického stavu mohou vést k více či méně transparentním klinickým projevům jako je omezení hybnosti z důvodu vlastní malformace skeletu nebo k různým typům neurologických projevů od bolestí po poruchu motorické či senzitivní inervace vývojově odvozených struktural přilehlých segmentů. Naše práce pomůže v klinické praxi přikládat těmto vývojovým vadám správnou váhu v diferenciaci diagnostice obtíží.

ABSOLUTE NUMBERS OF HAIR FOLLICLES IN YOUNG FEMALE ARMPITS

Inge Marshall Trangsrud

*Vedoucí práce: MUDr. Petr Zach, CSc.
Ústav anatomie 3. LF UK*

Goal: to estimate the range of individual differences in the number of hair follicles in female armpits as an aid to ethology studies of human pheromone systems.

Method: 16 female students of the South Bohemian University of the Czech republic were selected for the study (age 19 +/- 2 years). Prior to the photographing the students were asked not to shave their armpits for at least one week. Photographs of the axillae were obtained using an Olympus S-5500 camera fixed on a stand. The axillae were exposed by fully elevating their arms with clearly visible borders of m. pectoralis major and m. latissimus dorsi. Photos were taken with flash at a distance of 120 cm from the axillae. Pictures were then transferred into a PC and corrected for whiteness, balance, contrast, sharpness and color vividness using Adobe Photoshop software. The hair follicles were counted manually on the computer with 10x magnification, and their counts were rounded down to 50 or up to 100. Counting was done twice and averaged to exclude bias. The absolute number of the hair follicles were then analyzed by t-test with single means and the results were visualized by Box and Whisker Plot graph with median, min and max values.

Results: only the hair follicles of 10 students out of the total of 16 students were counted, due to similar color of the follicles as color of the skin in the background. The number of hair follicles differed significantly among students, ranging from 350 to 1000, with the median of 525 (450 occurred in 25% and 650 in 75% of cases). Although we did not measure thickness of the follicles, there are apparent differences in the width of the hair

follicles, visible even by the naked eye.

Conclusion: there are great differences in the number, color, and thickness of the axillary hair follicles among young female students. As our next step, we would like to compare axillary apocrine gland production by the axillary pads method to the number of the hair follicles in order to elicit linear or non-linear dependency between these two qualities. Also, we would like to obtain hairy follicles for histology analysis, in order to study differences in the structure of the hair follicles (thickness, color, fragility).

SEXUÁLNÍ OBTĚŽOVÁNÍ PŘI VÝUCE LÉKAŘSTVÍ

Jan Michálek, Tereza Grézlová

Vedoucí práce: MUDr. David Marx, Ph.D.

Kabinet veřejného zdravotnictví

Úvod: V amerických a západoevropských sociálních vědách se začala věnovat pozornost sexuálnímu obtěžování již v 70. letech 20. století. Výzkum se nejprve zaměřil na pracoviště, postupně byl specifikován i pro vysokoškolské prostředí. V zahraničí stále pokračuje akademická debata nad podrobnostmi, nicméně je již společensky přijímáno jako významné. Česká situace je odlišná. Jde o téma nové a ve veřejné debatě zlehčované. Dlouho převládaly argumenty opírající se např. o sociobiologii a zdůrazňovala se rizika zneužití konceptu sexuálního obtěžování (Škvorecký 1992, Komárek 2010). Systematický zájem se projevil až v poslední době s přijetím antidiskriminačního zákona, etablováním oboru genderová studia a realizací dvou původních výzkumů v českém prostředí. Právě těmito studiemi jsme se inspirovali.

Cíl: V této pilotní studii jsme formou dotazníkového šetření mezi studenty Všeobecného lékařství mapovali jednak četnost výskytu určitých typů chování a tolerance vůči nim. Teoretickým východiskem byla představa, že v konzervativním lékařském prostředí bude problematika sexuálního obtěžování a genderového přístupu výrazně nižší než zjistily výše zmíněné studie. Cílem práce bylo rovněž porovnat výsledky s paralelní anketou mezi studenty nelékařských zdravotnických oborů (Jan Vrubel).

Metodika: Pro dotazníkové šetření jsme použili dotazník založený na bázi standardizovaného dotazníku SEQ (Sexual Experiences Questionnaire), sestavený L. F. Fitzgerald et. al. [1995]. Pro naše potřeby jsme použili dotazník upravený pro české prostředí a již použitý [Smetáčková et al. 2009]. Ve

spolupráci s autory této studie byl dotazník dále upraven pro specifické prostředí lékařské fakulty. Dotazník byl převeden do podoby jednoduchého webové ankety. Odkaz spolu s prosbou o vyplnění byl rozeslán studentům prostřednictvím studijních oddělení.

Výsledky: O vyplnění dotazníku jsme požádali celkem 4767 mediků a mediček, zpět jsme obdrželi 959, získaná response tedy činí 20,12 %. Podíl žen tvoří 72,47 % a mužů 27,53 %. Z následné analýzy jednotlivých odpovědí vyplynulo, že 49,64 % studentů pocítuje rozdílný přístup podle příslušnosti k pohlaví. Až 56 % respondentů se setkala s alespoň jedním z typů chování, které patří k tzv. měkkým formám sexuálního obtěžování. Až 7,82 % respondentů se setkala s alespoň jedním z typů chování, které patří k tzv. tvrdým formám sexuálního obtěžování. Na bezprostřední dotaz, zda mají zkušenost se sexuálním obtěžováním, uvedla souhlasnou odpověď 5,94 % studujících.

Diskuse: Dané výsledky jsou srovnatelné s výsledky studie Sexuální obtěžování na vysokých školách [Smetáčková et al. 2009], statistická významnost nebyla stanovena. Na bezprostřední dotaz o osobní zkušenosti s obtěžováním uvedlo souhlasnou odpověď 5,94 % studujících, Smetáčková et al. 3 %. Tato relativně nízká čísla jsou v rozporu s tím, že až 56 % našich respondentů se setkala chováním, které je řazeno k tzv. měkkým formám sexuálního obtěžování [Fitzgerald et al. 1988]. Možným vysvětlením je nízké povědomí o problematice sexuálního obtěžování a vyšší míra tolerance vůči němu.

Závěr: Jsme si vědomi, že naše dotazníkové šetření bylo spíše anketou než plnohodnotnou studií. Přesto však naznačilo určité tendence a odhalilo jevy, které dosud v lékařském prostředí unikaly pozornosti. Tedy že významná část studentů má zkušenosti s některými formami sexuálního obtěžování a má smysl se tímto tématem dále zabývat.

SEXUÁLNÍ OBTĚŽOVÁNÍ PŘI VÝUCE NELÉKAŘSKÝCH ZDRAVOTNICKÝCH OBORŮ

Jan Vrubel

Vedoucí práce: MUDr. David Marx, Ph.D.

Kabinet veřejného zdravotnictví

Úvod: Sexuální obtěžování je nepochybně něco, co nemá ve vyspělé společnosti místo. Není tomu však tak dávno, co byla jistá míra pohlavím motivovaného chování společností více či méně tolerována. Zkušenosti z celého světa nasvědčují, že ani v dnešní době situace není zcela ideální. Velká většina vyspělých zemí včetně ČR sice má podobné chování zakázáno legislativně, je však patrné, že jistá rezidua tohoto obtěžujícího jednání nacházíme i dnes. V nedávné době byla provedena studie zaměřená na výskyt sexuálního obtěžování u studentů vysokých škol [Smetáčková et al. 2009]. Její výsledky nás přivedl k otázce, zda se sexuální obtěžování vyskytuje při studiu nelékařských zdravotnických oborů na vysokých školách.

Cíl: Naším cílem bylo zaměřit se specificky na ženy studující nelékařský zdravotnický obor na vysoké škole, tedy zjistit, zda a případně do jaké míry se tato skupina se sexuálním obtěžováním setkává. Následně získaná data porovnat s prací kolegů Terezy Grézlové a Jana Michálka, zaměřenou na sexuální obtěžování při studiu lékařství. Za tímto účelem byla stanovena nulová hypotéza kalkující s tím, že při studiu nelékařských oborů bude obtěžování čtenější.

Metodika: Pro dotazníkové šetření jsme použili dotazník založený na bázi standardizovaného dotazníku SEQ (Sexual Experiences Questionnaire), sestavený L. F. Fitzgerald et. al. [1995]. Pro naše potřeby jsme použili dotazník upravený pro české prostředí a již použitý [Smetáčková et al. 2009]. Ve spolupráci s autory této studie byl dotazník dále upraven pro specifické prostředí lékařské fakulty. Dotazník byl převeden do

podoby jednoduchého webové anketu. Odkaz spolu s prosbou o vyplnění byl rozeslán studentům prostřednictvím studijních oddělení.

Výsledky: Vzhledem k tomu, že některé námi oslovené vysoké školy nevedou záznamy o počtu studentů v závislosti na jejich pohlaví, není možné přesně vyjádřit respondenci. Zkušenost s tzv. pohlavím motivovaným přístupem při studiu udává 25,1 % odpovídajících. Překvapivé bylo, že původní předpoklad o vyšším výskytu obtěžování při studiu nelékařských oborů se nepotvrdil, skutečnost se dokonce ukázala být přesně opačnou oproti původnímu odhadu.

Diskuse: Vlastní zkušenost se sexuálním obtěžováním udává 6,27 % respondentek. Pro srovnání, práce Grézlové a Michálka došla k hodnotě 5,94 % a výzkum Sexuální obtěžování na vysokých školách [Smetáčková et al. 2009] udává poněkud nižší 3 % odpovídajících. Všechna tato čísla jsou poněkud nízká, vezmeme-li v potaz množství studentů udávajících zkušenost s tzv. měkkými formami sexuálního obtěžování. V tomto anketním šetření se až 43,73 % studentek setkalo s nějakou z měkkých forem sexuálního obtěžování. Výsledky Grézlové a Michálka hovoří v tomto ohledu dokonce až o 56 % oslovených studentů lékařství. Důvodem těchto rozporupných výsledků může být jistá tolerance k pohlavím motivovanému chování, či neznalost hranice, kde sexuální obtěžování začíná.

Závěr: Výsledky anketu odhalily, že problém se sexuálním obtěžováním je i při studiu nelékařských oborů na VŠ aktuální. Rovněž rozdíl incidence tohoto typu chování při studiu lékařských oborů a námi zkoumanými obory je velmi nečekaný a zajímavý. Celkově dávají získané poznatky jasný stimul k budoucímu prohloubenějšímu výzkumu dané tematiky.

KLINICKÁ SEKCE

NETESTUJ, ALE POBAV! TEST POJMENOVÁNÍ OBRÁZKŮ A JEJICH VYBAVENÍ

Pavla Čermáková

*Vedoucí práce: doc. MUDr. Aleš Bartoš, Ph.D.
AD centrum, Psychiatrické centrum Praha*

Úvod: Se stárnutím populace stoupá výskyt Alzheimerovy demence a ukazuje se problém nedostatečného rozpoznání nemoci v počátečním stádiu. Naším cílem bylo vytvořit jednoduše a rychle proveditelný test, který by byl náročný na paměť, nenákladný a vyžadoval by minimální účast administrátora. Zaměřili jsme se na detekci časných stádií Alzheimerovy demence.

Metodika: Test má dvě části - pojmenování obrázků a jejich vybavení (POBAV). V první části mají testovaní za úkol rozpoznat 35 obrázků a vepsat k nim jejich název. Ve druhé části jsou testovaní vyzváni, aby napsali názvy všech obrázků, na které si vzpomenou. Test jsme vytvořili ve dvou verzích (POBAV 1 a POBAV 2), které byly použity vždy u dvou skupin osob srovnatelného věku a vzdělání, a to u pacientů s pravděpodobnou Alzheimerovou demencí a u zdravých seniorů. Zdraví senioři byli vybráni na základě výsledku v jiných kognitivních testech. V krátkém testu mentálních funkcí, tzv. Mini-Mental State Examination MMSE (0-30 bodů), dosáhli minimálně 27 bodů nebo v testu kreslení hodin (0-7 bodů) získali minimálně 6 bodů. Testem POBAV 1 byli vyšetřeni 23 pacienti s pravděpodobnou Alzheimerovou demencí a 22 zdraví senioři (průměrný věk 81 ± 5 vs 78 ± 7 ; počet let vzdělání 13 ± 3 vs 13 ± 4 ; MMSE 22 ± 5 vs 29 ± 1). Testem POBAV 2 bylo vyšetřeno jiných 21 pacientů s pravděpodobnou Alzheimerovou demencí a 26 jiných zdravých seniorů (průměrný věk 82 ± 6 vs 79 ± 5 , počet let vzdělání 13 ± 4 vs 13 ± 4 ; MMSE 23 ± 5 vs 29 ± 1). K diagnostickému posouzení rozdílů mezi oběma skupinami byl použit Mann-Whitneyův test a plocha pod křivkou

receiving operating curve (AUC, 0-1), pomocí níž se vyhledávala optimální hraniční hodnota a k ní odpovídající senzitivita a specifická daného ukazatele.

Výsledky: Výsledky uvádíme nejdříve pro verzi POBAV 1 a poté pro POBAV 2. Vypsání názvů obrázků trvalo významně déle pacientům s lehkou Alzheimerovou demencí než zdravým seniorům (6 vs 3,5 minuty, 5 vs 3 minuty). Nemocní nepojmenovali nebo špatně pojmenovali významně více obrázků než zdraví senioři [medián (min-max): 5 (0-15) vs 0 (0-4); 4 (0-20) vs 0 (0-2)]. Ve druhé části testu si zdraví senioři vzpomněli na významně více obrázků než pacienti s lehkou Alzheimerovou nemocí [13 (6-22) vs 3 (0-12); 16 (9-23) vs 6 (0-17)]. Ve fázi pojmenování se při odlišování zdravých od nemocných jevil jako nejlepší ukazatel počet nepojmenovaných obrázků. Pro verzi POBAV 1 byla AUC 0,88; při hranici > 1 byla senzitivita 78 % a specifická 85 %. Pro verzi POBAV 2 byla AUC 0,90; při hranici > 2 byla senzitivita 71 % a specifická 99 %. Ve fázi vybavení se jako nejlepší ukazatel, který je schopen odlišit zdravé a nemocné, ukázal počet správně vybavených obrázků očistěný od chyb (např. konfabulací). Pro verzi POBAV 1 byla AUC 0,95; při hranici ? 9 byla senzitivita 89 % a specifická také 89 %. Pro verzi POBAV 2 byla AUC 0,96; při hranici ? 9 byla senzitivita 92 % a specifická rovněž 92 %.

Závěr: POBAV je nový a původní test pojmenování a paměti obrázků, pomocí něhož lze najít kognitivní poruchu v počátečních fázích Alzheimerovy nemoci. Mezi jeho přednosti patří především jednoduchost provedení a vyhodnocení, časová nenáročnost a minimální účast administrátora. Má tedy předpoklady snadného šíření různými způsoby do laické i odborné veřejnosti.

Tato studie byla podpořena grantem IGA MZ NT 13183 a Klubem Terryho Pratchetta.

ADDITIONAL MRI MEASUREMENTS AIDING WITH THE DIAGNOSIS OF ALZHEIMER DISEASE

Dina Al-Kayssi

Vedoucí práce: MUDr. Petr Zach, CSc.

Ústav anatomie 3. LF UK

Goal: to find out whether the measurements of any of the three selected easily visible lines connecting a) middle of genu and middle of splenium of callosal body (cc-cc), b) middle of genu of callosal body and mammillary body (fcc-cm) and c) middle of splenium of callosal body and mammillary body of the hypothalamus (cm-occ) could potentially be used in clinical neurology as a supportive marker of Alzheimer disease diagnosis, aside from known and already used hippocampal shrinkage.

Methods: 26 patients with confirmed diagnose of Alzheimer disease based on NINCDS-ADRDA criteria and 25 healthy controls were used. Both groups were tested with following neuropsychological tests: Mini-Mental State Examination (MMSE), Mattis Dementia Rating Scale (MDRS), Trail Making Test version A and B (TMT A, B), Disability Assessment in Dementia (DAD), 7 Minute Screen (7MST), verbal fluency tests and Edinburgh Handedness Inventory (EHI). Three-dimensional MR images were acquired on 1.5 T scanner Siemens Vision 1.5T by magnetization prepared rapid gradient echo (MP-RAGE) sequence in the sagittal plane, software version VB33G, scanning sequence IR, voxel size $1 \times 1 \times 1$ mm, number of layers 160, TE time echo 7 ms, TR time repetition 2130 ms, matrix 258×258 and folding angle 10° . All scans were performed at the Institute of Clinical and Experimental Medicine (IKEM), Prague, Czech republic. MR images were exported as multiple files data format into the standard PC. All MRI images of the brain were then converted into the DICOM stack files by MRlcro freeware. MRI images of the brains from the stack files were then analysed on Image J

freeware (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) on standard PC in sagittal plane and visually detected by maximal width of the Sylvius canal. For normalization purpose, area of the brain at the level of the anterior commissure (CA) was also measured. Each linear measurements (cc-cc, fcc-cm and occ-cm) were normalized to the area of the brain at the level of anterior commissure according to formula (linear measure/CA*100). For statistics 2-way ANOVA with repeated measures was selected to determine significant interactions between groups (control group and AD group) for three variables (cc-cc, fcc-cm and cm-occ). For significant main effects and interactions (post-hoc analysis) Newman-Keuls test was selected. Real usefulness of the results were analysed using web browser ROC curve analyser (<http://www.rad.jhmi.edu/jeng/javarad/roc/JROCFITi.html>).

Results: It was found that out of three designed linear measures of the brain (cc-cc, fcc-cm and cm-occ), cm-occ line differed significantly between control group and Alzheimer disease group ($p=0.0005$), but only after normalization. In non-normalized results these groups also differed, but only at the $p=0.06$. Other measures (cc-cc, fcc-cm) did not show statistical significant difference between both groups ($p=0.16$ and $p=0.27$). ROC curve analysis of the difference in cm-occ line between controls and Alzheimer disease group showed that area under fitted ROC curve = 0.71 with estimated std. error = 0.07.

Conclusion: cm-occ line seems to be a good candidate for additional supportive MRI based diagnostic measurements in patients with Alzheimer disease. According to the ROC curve analysis, real usefulness in distinguishing between controls and Alzheimer disease group fits into 71% chance category.

Study was supported by P304/12/G069 of the Grant Agency of the Czech Republic.

VLIV ANTI OBEZITIK NA VÝVOJ PLODU

Tereza Králová

Vedoucí práce: MUDr. Eva Maňáková, Ph.D.

Ústav histologie a embryologie 3. LF UK

Úvod: Cílem bylo ověřit, že užívání antiobezitik výrazně nezvyšuje riziko abortů, předčasných porodů, komplikací těhotenství, snížení porodní váhy a výskytu vrozených vývojových vad. Zapojení těhotných žen do randomizovaných klinických studií nelze provádět z etických důvodů, proto většina studií zabývajících se užíváním léků v těhotenství probíhá jako retrospektivní epidemiologická studie. Aby se však prokázalo, že dané látky neškodí, musí se prokázat riziko pod 1 % ze skupiny čítající nejméně 1000 případů. Proto se sbírají data ze všech publikovaných studií a provádí se kolaborativní studie, kde se porovnává vše, co již bylo publikováno. Redukční diety a užívání antiobezitik v těhotenství není doporučováno na základě žádné indikace. Ztráta váhy na začátku těhotenství je spojována s vyšším rizikem rozštěpových vad CNS stejně tak jako výrazná obezita před otěhotněním. Naší cílovou skupinou byly pacientky, které užívaly antiobezitika Phentermin, Sibutramin a Orlistat v 1. trimestru těhotenství. Vzhledem k tomu, že Sibutramin byl stažen z důvodu nežádoucích účinků (zejména kardiovaskulárních), mohly by se jevit jako léky potencionálně nebezpečné nebo teratogenní. Proto bylo naším cílem prokázat jejich bezpečnost.

Cíl: Cílem práce bylo vyhledat všechna data o uživatelkách antiobezitik během těhotenství a následně vyhodnotit výsledek těhotenství a vliv na vývoj plodu.

Metodika: Data o pacientkách jsme získali z databáze CZTIS (České teratologické informační služby) z let 1997 až 2011. Do souboru bylo zařazeno původně 42 pacientek, které byly v době těhotenství exponovány léky Phenterminem, Sibutraminem a Orlistatem. Pouze u 18 z těchto pacientek se však podařilo

vyhledat sledovaná data, zejména výsledek těhotenství. Tyto získané výsledky jsme porovnali s výsledky skupiny těhotných exponovaných ve stejném časovém období hormonální antikoncepci, očkování a antibiotikům, která nejsou považována za teratogenní. Do kontrolní skupiny bylo zařazeno 91 žen. Kontrolní skupinu vždy volíme větší, aby se vyloučil náhodný výskyt. Demografické charakteristiky (věk, kdy kontaktovaly CZTIS, kdy léky užívaly a kolikrát byly předtím těhotné) se významně nelišily, průměrný věk rodiček skupiny exponovaných antiobezitiky byl 32 let, průměrný věk kontrolní skupiny 30 let. Data jsme statisticky zpracovali pomocí programu Statistica.

Výsledky: Z celkového počtu 18 těhotenství byly zaznamenány 4 aborty (z toho 1 umělé přerušeni těhotenství z důvodu Downova syndromu) (22,2 %), 13 porodů zdravých novorozenců (72,2 %) a 1 porod novorozence s intrauterinní růstovou retardací (IUGR). Nebyl zaznamenán žádný výskyt vrozených vývojových vad u novorozenců. Srovnáním s kontrolní skupinou jsme pozorovali v našem souboru vyšší výskyt abortů a vyžádaných interupcí (2 samovolné aborty a 2 umělá přerušeni těhotenství) oproti kontrolní skupině (22,2 % × 8,8 %). Vyšší výskyt vzhledem k malé skupině nelze považovat za statisticky významný. Srovnání délky těhotenství exponované a kontrolní skupiny (39,7 × 39,9 týdnů), váhy novorozence (3442,1 × 3428,2 g), velikosti novorozence (50,2 × 49,7 cm) nenaznačuje teratogenní vliv.

Závěr: Naše studie neprokázala statisticky významný rozdíl ve výsledcích těhotenství u žen, které užívaly antiobezitika během 1. trimestru těhotenství. Jediná vývojová vada, která se ve sledované skupině vyskytla, byla u ženy, u které byl úbytek na váze v těhotenství o 8 kg, což je pravděpodobnější příčina než samotné účinky těchto léků. Tyto výsledky odpovídají závěrům již proběhlých rozsáhlejších studií.

KATETROVÉ SEPSĚ VYVOLANÉ KOAGULÁZA NEGATIVNÍMI STAFYLOKOKY U NOVOROZENCŮ S VELMI NÍZKOU PORODNÍ HMOTNOSTÍ

Vojtěch Fiala

Vedoucí práce: MUDr. Jan Smíšek

*Oddělení neonatologie s JIRP, Gynekologicko-porodnická klinika
1. LF UK a VFN*

Úvod: Katetrové sepse patří mezi závažné nozokomiální infekce u novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností (NVNPH) a jejich nejčastějšími vyvolavateli jsou Koaguláza negativní Stafylokoky (CoNS). Na novorozeneckých jednotkách intenzivní péče se běžně vyskytují kmeny CoNS rezistentní k oxacilinu, které jsou ve srovnání s kmeny citlivými častějšími nositeli faktorů patogenity.

Cíl práce: Srovnat klinický průběh a morbiditu NVNPH s CoNS katetrovou sepsí v závislosti na rezistenci vyvolavatele k oxacilinu.

Metodika: Retrospektivní analýza dat z let 2007 – 2011. U všech pacientů byly hodnoceny základní perinatální údaje, den vzniku sepse, počet pozitivních hemokultur, délka ATB terapie sepse, maximální hodnoty zánětlivých markerů a morbidita pacientů. Dále bylo zaznamenáno konkrétní etiologické agens sepse a podle jeho citlivosti k oxacilinu byli pacienti rozděleni do 2 skupin: se sepsí způsobenou kmenem rezistentním k oxacilinu do skupiny OxaR a se sepsí vyvolanou kmenem citlivým k oxacilinu do skupiny OxaC. Data byla statisticky hodnocena dvouvýběrovým t-testem a Fisherovým testem.

Výsledky: Ve sledovaném období mělo celkem 51 NVNPH celkem 54 infekčních epizod CoNS katetrové sepse, 14 ve skupině OxaC a 40 ve skupině OxaR. Základní perinatální data obou skupin byla srovnatelná. Ve skupině OxaR katetrová sepse vznikala statisticky významně později, byla charakterizována

vyšší hladinou CRP, vyšším I/T indexem a větším množstvím pozitivních hemokultur, pacienti byli častěji postiženi nekrotizující enterokolitidou a ve skupině došlo k celkem 6 úmrtím (viz Tabulka).

Tabulka – charakteristika souboru	OxaR (n = 40)	OxaC (n = 14)	p
Porodní hmotnost (medián ± 95%CL, g)	755	767,5	NS
Gestační stáří (medián ± 95%CL, týdny)	26	25,5	NS
Den vzniku (medián ± 95%CL, den)	20,38 ± 7,98	9,43 ± 2,39	0,01
Pozitivní hemokultury (medián ± 95%CL, počet)	2 ± 0,3	1 ± 0,14	0,006
ATB terapie sepse (medián ± 95%CL, počet dní)	9,18 ± 1,81	8,57 ± 2,05	NS
CRP (medián ± 95%CL, mg/l)	28 ± 15	21 ± 12	0,047
IT index (medián ± 95%CL)	0,23 ± 0,04	0,19 ± 0,05	0,051
Nekrotizující enterokolitida (medián, %)	38	14	0,078
Úmrtí (medián, %)	15	0	0,01

Závěr: Katetrová sepse způsobená nozokomiálními kmeny CoNS rezistentními k oxacilinu byla u NVNPH spojena vyššími hladinami zánětlivých markerů, vyšší morbiditou i mortalitou.

DIAGNOSTICKÝ POTENCIÁL PLACENTÁRNĚ SPECIFICKÝCH MIKRORNA PRO PREDIKCI ONEMOCNĚNÍ SPOJENÝCH S PLACENTÁRNÍ INSUFICIENCÍ

Eva Polaková

*Vedoucí práce: doc. RNDr. Ilona Hromadníková, Ph.D.
Gynekologicko-porodnická klinika 3. LF UK a FNKV*

Úvod: Placentární insuficience je jednou z nejčastějších příčin těhotenských komplikací jako jsou preeklampsie (PE) a intrauterinní růstová retardace (IUGR). Výsledek léčby je ve značné míře ovlivněn časnou diagnostikou. Placenta se v průběhu těhotenství aktivně remodeluje a uvolňuje do mateřské cirkulace apoptotická tělíška trofoblastu, která obsahují extracelulární nukleové kyseliny (DNA, RNA, microRNA). Je snaha charakterizovat jednotlivá onemocnění unikátním profilem up a down-regulovaných miRNA.

Cíl: Detekce charakteristických profilů exprese placentárně specifických miRNA v placentách žen s fyziologickou graviditou a s klinicky manifestní placentární insuficiencí a zhodnocení jejich potenciálního významu pro diagnostiku.

Popis metody: Celkem bylo testováno 15 miRNA v placentách žen s fyziologickým průběhem těhotenství (n=25) a klinickou manifestací placentární insuficience (7 IUGR, 14 PE, 8 PE+IUGR, 6 SGA a 2 gestační hypertenze). Z placent byla izolována celková RNA obohacená o krátké RNA molekuly (mikroRNA), které byly přepsány do cDNA a následně detekovány pomocí PCR v reálném čase. Výsledky byly zpracovány Ct komparativní metodou. Jako reference byla použita miR-16. Pacientky byly rozděleny do skupin podle diagnózy, závažnosti (lehká a těžká PE) a doby manifestace onemocnění (časné a pozdní patologie).

Výsledky: Byl prokázán statisticky významný rozdíl exprese miR-517* ($p=0,013$), miR-519a ($p=0,046$), miR-520a*

($p=0,026$) mezi skupinou pacientek s PE+/-IUGR a fyziologickými kontrolami.

Závěr: Je zřejmé, že placentární insuficienci je možné charakterizovat změněným profilem výše uvedených miRNA. Dále je potřeba ověřit, jak se aberantní genová exprese v placentární tkáni projeví v periferní krvi matek.

Tato práce byla podpořena grantem: GACR 304/12/1352

PŘEDOPERAČNÍ POUŽITÍ INTRAAORTÁLNÍ BALÓNKOVÉ KONTRAPULZACE U POINFARKTOVÉHO DEFEKTU SEPTA KOMOR A AKUTNÍ MITRÁLNÍ REGURGITACE - 15 LET ZKUŠENOSTÍ V IKEM

Martin Holek

*Vedoucí práce: MUDr. Jiří Kettner, CSc., FESC
Oddělení akutní kardiologie IKEM*

Úvod: Defekt septa komor (DSK) a akutní mitrální regurgitace (aMiR) způsobená dysfunkcí nebo rupturou papilárního svalu jsou obávané mechanické komplikace akutního infarktu myokardu (AIM). Operační léčba je indikována u většiny případů. Intraaortální balónková kontrapulzace (IABK) je široce akceptovaná metoda používaná k hemodynamické stabilizaci pacienta mezi diagnózou a chirurgickým řešením vady.

Cíl: V retrospektivní unicentrické studii objasnit vliv předoperačního zavedení IABK na 30 denní mortalitu mechanických komplikací AIM.

Metodika: Analyzovali jsme data 77 pacientů léčených v IKEM v letech 1997-2011 pro mechanickou komplikaci AIM - 51 pacientů s DSK, 24 s aMiR a 2 s kombinací obou vad. Dvě skupiny (DSK a aMiR) byly dále rozděleny do tří podskupin (A,B,C) na základě hemodynamického stavu - kardiogenní šok (A), hemodynamicky nestabilní kromě kardiogenního šoku (B) a hemodynamicky stabilní (C). V podskupinách A a B jsme analyzovali efekt předoperačního použití IABK na 30 denní mortalitu.

Výsledky: V podskupinách A a B pacientů s DSK a aMiR zavedení IABK před chirurgickým výkonem zlepšuje 30 denní mortalitu (viz tabulka). (tabulka - viz e-mail) Všichni pacienti v kardiogenním šoku bez použití IABK zemřeli před transportem na operační sál. Průměrný čas mezi diagnózou DSK a operací

byl 13,3 dne u přeživších a 6,3 dne u zemřelých. Stejně časy v případě aMiR byly 2,9 dne u přeživších a 4,7 dne u zemřelých.

	30 denní mortalita s IABK	30 denní mortalita bez IABK
DSK - podskupina A (n=22)	14/20 (70%)	2/2 (100%)
DSK - podskupina B (n=28)	3/16 (19%)	4/12 (33%)
aMiR - podskupina A (n=20)	9/17 (53%)	3/3 (100%)
aMiR - podskupina B (n=6)	0/2 (0%)	1/4 (25%)

Závěr: Operační řešení zůstává nadále základním kamenem léčby pohnfarktového DSK a aMiR. Na základě našich zkušeností by měla být IABK použita u všech hemodynamicky nestabilních pacientů s DSK a aMiR po AIM nejen u pacientů v kardiogenním šoku. Operace DSK může být s výhodou nižší 30 denní mortality provedena později alespoň 2-3 týdny od diagnózy - s výjimkou kardiogenního šoku. Na druhé straně časná operace aMiR (do 48 hodin) je spojena s lepší prognózou.

DNA METYLÁCIA INHIBUJE EXPRESIU mRNA PROKASPÁZY-3 V BUNKÁCH NEMALOBUNKOVÉHO KARCINÓMU PĽÚC

Petra Šašková

Vedoucí práce: MUDr. Evžen Křepela, CSc.

Klinika pneumologie a hrudní chirurgie 3. LF UK a NNB

Úvod: Apoptóza, programovaná bunková smrť, je veľmi dôležitá pre správny priebeh organogenézy a morfogénézy v embryonálnom a fetálnom období, ale zastáva dôležitú úlohu aj v postnatálnom období v bunkovej homeostáze tkanív. Na jej sprostredkovávaní sa mimo iných molekúl podieľa aj kaspáza-3, ktorá je v bunkách exprimovaná ako neaktívny zymogén prokaspáza-3 (PC-3). Pri vzniku zhubných nádorov však apoptóza často zlyháva, a práve zlyhanie významne prispieva k nádorovej progresii. Za poruchou apoptózy stoja rôzne zmeny nielen na posttranslačnej a posttranskripčnej úrovni, ale aj na transkripčnej a epigenetickej úrovni. Jednou z epigenetických zmien, ktorá významne určuje aktivitu transkripčnej expresie génov je stupeň metylácie génov, ktorá je uskutočňovaná DNA metyltransferázami.

Ciel': Pomocou inhibítora DNA metyltransferáz, 5-aza-2'-deoxycytidínu (decitabín) zistiť, či metylácia DNA významne ovplyvňuje hladinu expresie mRNA PC-3 v bunkách hlavných typov nemalobunkových karcinómov pľúc (NSCLC).

Metodika: Najprv bola pomocou programu MethPrimer zisťovaná prítomnosť potenciálnych oblastí metylácie (CpG ostrovčeky) a počet metylačných miest (CpG dinukleotidy) v proximálnej oblasti promótoru a 1. exónu génu CASP3. Na základe pozitívneho výsledku tejto prediktívnej analýzy bolo prevedené vlastné testovanie expresie mRNA PC-3. Skúmaných bolo 10 bunkových kolónií NSCLC, ktoré boli poskytnuté Laboratóriami molekulárnej a bunkovej biológie Kliniky pneumológie a hrudnej chirurgie 3. LF UK v Prahe a Nemocnice

na Bulovke. Študované boli všetky hlavné bunkové typy NSCLC - skvamózny karcinóm, adenokarcinóm a veľkobunkový karcinóm. Bunkové línie NSCLC boli kultivované v prítomnosti a neprítomnosti decitabínu po dobu 3 dní. Po izolácii a kvantifikácii celkovej RNA z nádorových buniek bola metódou spráženej real-time RT-PCR meraná expresia mRNA PC-3 a mRNA beta aktínu, ktorý slúžil ako endogénny referenčný transkript.

Výsledky: Po kultivácii v prítomnosti decitabínu došlo v 7 (CALU-1, SKMES-1, NCI-H520, SKLU-1, LXF-289, COR-L23 a NCI-H1299) z 10 testovaných bunkových línií NSCLC k významnému zvýšeniu expresie mRNA PC-3. Prítom v 5 bunkových líniách NSCLC (CALU-1, SKMES-1, NCI-H520, COR-L23, a NCI-H1299) bolo toto zvýšenie expresie mRNA PC-3 viac než dvojnásobné. Expresia mRNA beta-aktínu v testovaných NSCLC bunkových líniách kultivovaných v prítomnosti a neprítomnosti decitabínu nebola významne rozdielna.

Záver: Výsledky tejto štúdie ukazujú, že metylácia DNA významne znižuje expresiu mRNA PC-3 v bunkách NSCLC. Tieto výsledky naznačujú, že epigenetická DNA demetylačná terapia by mohla znižovať apoptotický prah v NSCLC bunkách zvyšovaním expresie CASP3 génu. NSCLC nádory by takto mohli byť senzitizedované k apoptózu indukujúcim modalitám chemoterapie a biologickej terapie.

INHIBICE TRANSKRIPČNÍ EXPRESE PROKASPASY-9 MECHANISMEM DNA METHYLACE V BUŇKÁCH NEMALOBUNĚČNÉHO KARCINOMU PLIC

Michal Fišer

Vedoucí práce: MUDr. Evžen Křepela, CSc.

Klinika pneumologie a hrudní chirurgie 3. LF UK a NNB

Úvod: Prokaspasa-9 (PC-9) je cysteinovou proteínasou, jejíž aktivace a aktivita má klíčový význam pro spuštění vnitřní apoptosomové apoptotické dráhy. Je lokalizována v cytoplasmě buněk a při buněčném stresu různého typu dochází k její aktivaci v bílkovinném komplexu zvaném apoptosom. K vytvoření apoptosomů v cytoplasmě buněk dojde oligomerizací Apaf-1 monomerů aktivovaných cytochromem-c (uvolněným z mitochondrií) a dATP nebo ATP. V apoptosomech se monomery prokaspasy-9 aktivují a proteolyticky autokonvertují na kaspasu-9, která je v asociaci s apoptosomem aktivní a proteolyticky aktivuje prokaspasu-3, což je zymogen hlavní efektorové apoptotické kaspasy. Expresí CASP9 genu, který kóduje PC-9, je regulována transkripčními (např. E2F transkripčním faktorem) i epigenetickými (např. DNA methylací) mechanismy. Úroveň exprese CASP9 genu je jedním ze stěžejních faktorů určujících predispozici či rezistenci buněk k apoptose.

Cíl: Pomocí 5-aza-2'-deoxycytidinu (decitabin), což je inhibitor DNA methyltransferas, zjistit, zda methylace DNA ovlivňuje expresi mRNA prokaspasy-9 v buňkách tří hlavních buněčných typů nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC).

Metodika: S použitím programu MethPrimer byla zjišťována přítomnost potenciálních oblastí methylace (CpG ostrůvků) a počet methylacních míst (CpG dinukleotidů) v proximální oblasti promotoru a 1. exonu genu CASP9. Na základě pozitivního výsledku této prediktivní analýzy pak bylo provedeno testování účinku decitabinu na expresi mRNA PC-9 v buňkách NSCLC.

Buněčné linie NSCLC (CALU-1, SKMES-1 a NCI-H520, pocházející z dlaždicobuněčných karcinomů, A549, SKLU-1, COLO-699 a LXF-289, pocházející z adenokarcinomů, a COR-L23, LCLC-103H a NCI-H1299, pocházející z velkobuněčných karcinomů) byly kultivovány in vitro v přítomnosti a nepřítomnosti decitabinu po dobu tří dnů. Pak byla z buněk izolována celková RNA s použitím TRizol Reagentu a její koncentrace byla stanovena fluorometricky pomocí soupravy RiboGreen RNA Quantification Kit. Poté byla metodou spřažené real-time RT-PCR kvantifikována exprese mRNA PC-9 (cílový transkript) a mRNA beta-aktinu (referenční transkript).

Výsledky: Po kultivaci v přítomnosti decitabinu nastalo u 6 (NCI-H520, A549, SKLU-1, LXF-289, COR-L23 a NCI-H1299) z 10 testovaných buněčných linií NSCLC významné zvýšení exprese mRNA PC-9, přičemž u 4 těchto buněčných liniích (NCI-H520, SKLU-1, COR-L23 a NCI-H1299) bylo zvýšení exprese mRNA PC-9 více než dvojnásobné. Exprese mRNA beta-aktinu v testovaných buněčných liniích NSCLC kultivovaných v přítomnosti a nepřítomnosti decitabinu nebyla významně rozdílná.

Závěr: Výsledky této studie ukazují, že methylace DNA významně inhibuje expresi mRNA PC-9 v buňkách NSCLC. Epigenetická DNA demethylační terapie by tedy mohla snižovat apoptotický práh v buňkách NSCLC indukci exprese CASP9 genu. NSCLC nádory by takto mohly být senzitivovány k protinádorové apoptosu indukující chemoterapii a biologické terapii.

KOUŘENÍ PACIENTŮ PŘED A PO TRANSPLANTACI PLIC, ZAVEDENÍ SYSTEMATICKÉ VALIDIZACE

Miroslav Zmeškal

Vedoucí práce: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc.

Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN a Centrum pro závislé na tabáku III. interní kliniky 1. LF UK a VFN

Další spolupracující pracoviště: prof. MUDr. Pavel Pafko, DrSc., doc. MUDr. Robert Lischke, Ph.D., MUDr. Jan Šimonek, III. chirurgická klinika 1. LF UK a FNM, MUDr. Libor Fila, MUDr. Lucie Valentová-Bartáková, Pneumologická klinika 2. LF UK a FNM; MUDr. Ivana Kurcová, CSc., Ústav soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK a VFN

Úvod: Nízký počet vhodných dárců, vysoké nároky na technické, organizační i personální zázemí transplantačního programu, úsilí velkého počtu lidí a finanční nákladnost transplantace plic kladou značný důraz na vhodný výběr příjemců. Kouření cigaret je podstatný rizikový faktor celé řady nemocí a negativně ovlivňuje zdravotní stav pacientů před a po transplantaci plic včetně průběhu hojení. Kouření je pro transplantaci plic absolutní kontraindikací. Na III. chirurgické klinice 1. LF UK a FNM se uskuteční 15-20 transplantací plic ročně, jinde v ČR se transplantace plic neprovádí. Do konce roku 2008 neexistoval systém biochemických kontrol expozice tabákovému kouři u těchto pacientů.

Cíl: Ověřit hypotézu, že určitá část pacientů před a po transplantaci plic kouří, pomocí jednoduchého a spolehlivého systému biochemických kontrol.

Metodika: Jako marker expozice tabákovému kouři jsme zvolili metabolit nikotinu - kotinin. Ten byl u pacientů stanovován v moči semikvantitativně enzymatickou imunoesejí, nebo analýzou GC-MS. Možným výsledkem testu byl buď „záchyt“ (aktivní kuřák),

„negativní výsledek“ (nekuřák), nebo „hraniční výsledek“ (nelze vyloučit pouze pasivní kuřáctví). Při hraničním výsledku se test opakoval či doplnil o měření hodnoty oxidu uhelnatého ve vydechovaném vzduchu. Kotinin v moči byl stanovován: 1) pacientům před zařazením na čekací listinu, 2) náhodně při kontrolách u pacientů, kteří již na čekací listině byli, 3) v rámci roční kontroly pacientů po transplantaci.

Výsledky: Systém kontrol jsme prováděli za období leden 2009 až duben 2012. Celkově jsme testovali 290 vzorků, z toho 27 (9,3 %) prokázalo záchyt kotininu, 25 (8,6 %) hraniční výsledek. U pacientů po transplantaci plic (n=54) byl záchyt prokázán u 8 (14,8 %), hraniční výsledek u 2 (3,7 %). Ve skupině pacientů na čekací listině (n=18) byl záchyt prokázán u 1 (5,6 %), hraniční výsledek u 1 (5,6 %). U pacientů před zařazením na čekací listinu (n=149) byl záchyt stanoven v 7 případech (4,7 %), hraniční výsledek v 9 (6 %). Nejvyšší procento exponovaných tabákovému kouři jsme našli v podskupině pacientů s diagnózou CHOPN, kde byl po transplantaci plic z celkového počtu 26 záchyt stanoven u 8 (30,8 %), hraniční výsledek u 2 (7,7 %). Kuřákům byla nabídnuta odvykávací léčba.

Závěr: Počet prokazatelně aktivních kuřáků ve všech vyšetřovaných skupinách značně převýšil předpoklady ošetřujících lékařů, i když je v souladu s literaturou. Domníváme se, že důsledné testování kotininu v moči u všech pacientů před zařazením na čekací listinu a náhodné testování pacientů na čekací listině, která jsou na těchto pracovištích zavedena od roku 2009, může výrazně zlepšit volbu správného příjemce.

INVESTIGATION OF PHOSPHATE DEPLETION IN THE SETTING OF ACUTE COMPLICATIONS OF DIABETES MELLITUS

Navneet Ramlaul & Andreas Klofat

*Vedoucí práce: doc. MUDr. Pavel Těšínský
II. interní klinika 3. LF UK a FNKV*

Abstrakt: Investigation of phosphate depletion in the setting of acute complications of diabetes mellitus Background: Diabetes mellitus may lead to severe acute complications if inadequately managed. These comprise diabetic ketoacidosis, hyperosmolar nonketotic coma and severe hypoglycemia. In this study, patients with diabetic ketoacidosis were taken into consideration. In these acute conditions, levels of phosphatemia can fluctuate in relation to the actual condition or to the prescribed treatment. Phosphate is largely an intracellular ion with intracellular phosphate level being around 75mM/L and extracellular level being around 4mM/L. Phosphate depletion typically occurs in ICU settings, in which oral nutrition is nonexistent and IV phosphate repletion inadequate, and in which diuretics and saline infusion accelerate renal phosphate losses. Appropriate therapy can significantly improve the overall condition of the patients. Hypophosphatemia can result from inadequate intake, excessive renal losses, excessive skeletal uptake, or from shifts of phosphate from extracellular compartment into cells.

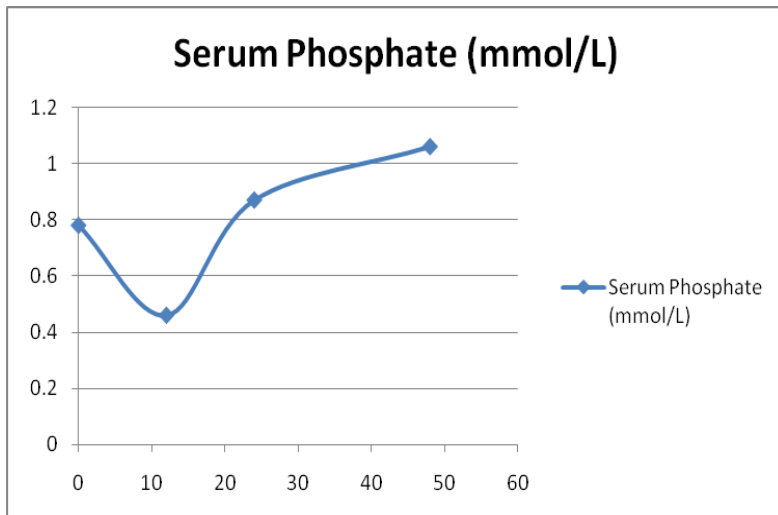
Objective: The question is whether phosphate depletion in patients with diabetic ketoacidosis is always reliably indicated by phosphatemia, i.e. should phosphate be routinely given only if there is hypophosphatemia, or also when there are clinical signs of phosphate depletion in normophosphatemic patients.

Methods: Being a retrospective study, this investigation was conducted with the help of the patient's documentation and biochemistry values (pH, glycemia, electrolytes levels, CRP, urinary ketone bodies). 17 patients admitted for diabetic

ketoacidosis at the metabolic ICU of the 2nd internal clinic of the FNKV were investigated and their biochemistry values taken into account were those measured over a period of 48h within hospitalization. The patients were divided into two groups, one comprising those with hypophosphatemia, the other consisting of those with normophosphatemia during the study period. The patients' data was then analyzed for clinical signs of Phosphate depletion. In addition, the treatment regimen was also taken into account, especially the administration of phosphate supplementation. To illustrate the assessment of phosphatemia over time, the graph (Figure 1) below visualizes the serum phosphate level of one sample patient belonging to the group with hypophosphatemia over the course of 48 hours upon admission.

Results: Regarding the group of patients with hypophosphatemia, 5 of them were symptomatic of phosphate depletion, one additional patient possibly so, and two were asymptomatic. In the group of patients with normophosphatemia, there were still three patients that showed clinical signs of phosphate depletion.

Conclusion: Even patients with normophosphatemia may show clinical signs of phosphate deficiency. This may be due to a relative lack of intracellular phosphate, which can occur even though the serum phosphate still lies within the normal range. So phosphatemia is not a reliable indicator of phosphate depletion in the setting of diabetic ketoacidosis. Therefore, it is probably advisable to give phosphate supplementation in the setting of diabetic ketoacidosis if the patient shows clinical signs of phosphate deficiency, even if the serum phosphate level appears to be normal. However, this study was conducted on too small a scale to give a clear answer. It should be regarded as an encouraging glimpse into a potential subject for further clinical study on a larger scale, from which treatment guidelines could then possibly be drawn.

**Legend:**

X-axis: time from admission in hours

Y-axis: phosphatemia in mmol/L

VLIV BIOMECHANIKY ROHOVKY NA EFEKTIVITU ROHOVKOVÝCH ASTIGMATICKÝCH INCIZÍ

Zbyněk Straňák

*Vedoucí práce: prim. MUDr. Pavel Studený
Oftalmologická klinika 3. LF UK a FNKV*

Úvod: Astigmatismus je velmi častou refrakční vadou, která je způsobena různým zakřivením optického aparátu oka ve dvou na sobě kolmých osách. Většinou se jedná o rohovkový astigmatismus. Tuto vadu prokážeme až u 95 % populace. Pouze u cca 10-20 % pacientů je astigmatismus vyšší než 1D, nad 2D se vyskytuje přibližně u 3-10 % populace. Pravidelný astigmatismus se může řešit nářezy rohovky, pomocí laseru či nitroočními čočkami. Největší výhodou řešení pomocí rohovkových incizí (LRI - limbus relaxing incisions) oproti nitroočním čočkám či laserovým zákrokům je cena, jednoduchost metody a možnost provádět tento zákrok v rámci operace šedého zákalu. Dosud je délka a hloubka incizí ovlivňujících astigmatismus určována podle tabulek na základě dioptrií, věku a pohlaví. Vlastnosti biomechaniky rohovky (hysteréze rohovky) se prozatím neberou v potaz.

Cíl: Statisticky prokázat, zda má hysteréze rohovky vliv na efektivitu astigmatických incizí.

Pacienti a metodika: LRI byly aplikovány na soubor pacientů k operaci katarakty s pravidelným astigmatismem vyšším jak 0,75D. Těmto pacientům byla před zákrokem měřena hysteréze rohovky na Ocular Response Analyseru (ORA), který byl zapůjčen. Pacientům byla přeměřena refrakce v 1. a 6. měsíci po operaci.

Výsledky: LRI bylo aplikováno na cca 70 očí, nicméně na pravidelné kontroly se dostavilo pouze 37 z nich. Průměrný astigmatismus před zákrokem byl -1.2121D a po zákroku -

1.0152D. Přestože se jedná o statisticky významný rozdíl, očekávání byla vyšší a vzhledem k rozložení dat nelze statisticky zhodnotit závislost hysteréze rohovky na efektivitu LRI.

Závěr: Závislost hysteréze rohovky na efektivitu LRI se nepodařilo zpracovat. Důvody jsou následující: 1) Možnost aplikovat LRI během operace katarakty je velice výhodná, nicméně vzhledem k absenci nutnosti dlouhodobého sledování pooperačního stavu pacientů po operaci katarakty se ke kontrole v 1. a 6. měsíci nedostavila téměř polovina pacientů. Pro noncompliance se tedy tato sdružená operace jeví jako méně šťastná. 2) Ocular response analyser jsme měli k dispozici pouze po omezenou dobu a nepodařilo se nám shromáždit dostatečný počet pacientů. 3) Astigmatické nářezy samy o sobě nebyly tak účinné, jak jsme očekávali a vzhledem k rozložení dat nebylo možné u našeho souboru pacientů statisticky zpracovat závislost hysteréze na LRI.

MOŽNÉ VYUŽITÍ NANOVLÁKEN V LÉČBĚ CHRONICKÝCH RAN

Jan Hugo

*Vedoucí práce: prof. MUDr. Petr Arenberger, Dr.Sc., MBA
Dermatovenerologická klinika 3. LF UK a FNKV*

Úvod: Polymerní nanovlákná se díky svým výjimečným vlastnostem začínají využívat jako nosiče pro léky, biosenzory či další chemické sloučeniny, včetně např. fotosenzitizátorů vykazujících mikrobicidní efekt po expozici světlu.

Cíl: Primárním cílem práce bylo stanovit antimikrobiální efekt světlem aktivovaných nanovláken s fotosenzitizátorem. Sekundárním cílem bylo zjistit efektivitu a bezpečnost terapeutické aplikace těchto nanovláken v léčbě chronických ran.

Metodika:

- a) *in vivo* experiment: Pacienti (celkem 161 osob) s chronickými ranami byli randomizováni do tří skupin. Skupina 1 byla ošetřována pomocí nanovláken s fotosenzitizátorem, které byly osvětčovány. Skupina 2 byla ošetřována pomocí nanovláken bez fotosenzitizátoru, které byly rovněž osvětčovány. Skupina 3 byla ošetřována pomocí nanovláken, které však nebyly osvětčovány. Pro hodnocení antimikrobiálního efektu byly pacientům během terapie pravidelně prováděny stěry z ran. Dále byly v průběhu terapie hodnoceny velikost rány, její hojení a zmírnění bolesti. Bezpečnost léčby byla monitorována dle European standards for testing medical devices on human subjects, všechny nežádoucí účinky byly nahlášeny buď spontánně pacienty, nebo ošetřujícím personálem.
- b) *in vitro* experiment: Antibakteriální efekt byl testován na 3 bakteriálních kmenech: *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955 a *Escherichia coli* CCM

3954. V experimentu byla použita nanovlákná v analogickém uspořádání do 3 skupin jako v experimentu in vivo (s fotosenzitizátorem + osvětlení, bez fotosenzitizátoru + osvětlení a bez osvětlení), na jejichž povrch bylo naneseno 100 μ l každé ze tří bakteriálních suspenzí. Následně byly u všech vzorků po daných časových intervalech inkubace – a případném osvětlení – pozorovány rozdíly v bakteriálním růstu.

Výsledky:

- a) in vivo experiment: Bakteriální nálož – typ a množství kolonizace – byla identifikována stěrem ze spodiny vředu. Semikvantitativní bakteriální kultivace byla kategorizována jako nulová (0), nízká (1), mírná (2), střední (3) a těžká (4). Ve skupině 1 byla ve 28. dni přítomna kolonizace kvadrantů o stupni 0-1 v 63 % a ve 42. dni v 90 % případů. Velikost rány se ve skupině 1 zmenšila v průměru z 12,5 cm² na 8,1 cm² ($p < 0,001$). Nadto, v této skupině pacientů se 11 vředů zhojilo kompletně. Hojení ran bylo testováno podle přítomnosti odumřelé tkáně, fibrinového pokrývání, epitelizace na spodině a zdravé granulační tkáně. Testování probíhalo 15., 28. a 42. den terapie. Ve skupině 1 byl do 42. dne zaznamenán úbytek odumřelé tkáně o 78 %, pokles pokrývání fibrinem o 92 % a naopak vzestup epitelizace spodiny o 71 % a zvýšení přítomnosti zdravé granulační tkáně o 65 %. Intenzita bolesti (hodnocena subjektivně pomocí VAS – 0 = žádná, 10 = velmi vážná) klesla ve skupině 1 ke 42. dni z hodnoty 6,2 na 1,8, tj. o 71 % ($p < 0,001$). Celkem se vyskytlo 19 případů nežádoucích účinků u 15 pacientů. Všechny nahlášené nežádoucí účinky byly pouze mírné intenzity a terapie proto nemusela být u pacientů přerušena.
- b) in vitro experiment: Test byl hodnocen po 5, 10 a 30 minutách. Osvícená nanovlákná bez fotosenzitizátoru, stejně jako neosvícená nanovlákná, nevykázala žádný vliv na bakteriální růst. Naproti tomu ze vzorků s nanovláknou s fotosenzitizátorem nebyly po 30 minutách osvětlení vykultivovány žádné živé kolonie, a to ani u jedné ze tří

použitých bakteriálních kultur.

Závěr: Zde popsaná metoda je vhodnou alternativou k topické aplikaci antibiotik a antiseptik, je účinná jak při použití in vitro, tak in vivo a způsobuje minimální nežádoucí účinky.

SÉROVÉ HLADINY IL-21 NEJSOU ZVÝŠENÉ U PACIENTŮ S ČASNOU REVMATOIDNÍ ARTRITIDOU, ALE KORELUJÍ S AKTIVITOU NEMOCI BĚHEM LÉČBY

Ondřej Sglunda

*Vedoucí práce: doc. MUDr. Ladislav Šenolt, Ph.D.
Revmatologický ústav, Revmatologická klinika 1. LF UK*

Úvod: IL-21 je jedním z cytokinů spojovaných s rozvojem revmatoidní artritidy (RA). Jeho hladiny v průběhu nemoci ale nejsou kompletně zmapovány. Cílem studie bylo určit sérové hladiny IL-21, zhodnotit jeho roli v revmatoidní artritidě a určit, zda by IL-21 mohl být použit jako prediktor klinického vývoje RA.

Metody: Sérové hladiny IL-21 byly analyzovány metodou ELISA u 51 pacientů s časnou RA před a 3 měsíce po započetí léčby. Jako kontrola sloužily hladiny IL-21 naměřené u 36 zdravých dobrovolníků. Aktivita nemoci byla hodnocena na základě sérových hladin CRP, standardizovaného výpočtu pro aktivitu nemoci (DAS28) a celkového počtu oteklých kloubů (SJC).

Výsledky: Počáteční hladiny IL-21 u pacientů před započtím léčby byly nesignifikantně zvýšené oproti zdravým kontrolám ($p=0.888$) ale signifikantně korelovaly s CRP, DAS28 a SJC (všechna $p<0.01$). Po třech měsících léčby se hladiny IL-21 signifikantně snížily (z 27.9 ± 39.79 na 8.84 ± 6.39 pg/ml, $p<0.0001$). Změny hladin IL-21 pozitivně korelovaly se změnami DAS28 a CRP (obě $p<0.019$). Použitím mnohonásobné regrese se ukázalo, že počáteční hladiny IL-21 nebyly signifikantním prediktorem změn SJC ($p=0.339$) ani DAS28 ($p=0.099$), zatímco počáteční hladiny CRP byly signifikantním prediktorem změn DAS28 ($p=0.048$).

Závěr: Naše data ukazují, že IL-21 není vhodným prognostickým markerem vývoje aktivity nemoci. Signifikantní korelace mezi

změnami IL-21 a změnami aktivity nemoci nicméně podporuje možnou roli IL-21 v rozvoji RA. Dále, počáteční sérové hladiny IL-21 nejsou zvýšené u pacientů ve srovnání s kontrolami, což znamená, že koncentrace IL-21 jsou v průběhu nemoci zvýšené pouze lokálně v synoviální tekutině nebo je role IL-21 dána up-regulací jeho receptoru bez změn jeho koncentrací v séru.

VLIV SVALOVÉ HMOTY NA SÉROVÉ HLADINY KREATININU

Karolina Janovská

*Vedoucí práce: MUDr. Jan Gojda
II. interní klinika FNKV a 3. LF UK*

Úvod: Množství svalové hmoty je extrarenální složkou hladiny sérového kreatininu (S-krea). Posuzování hladiny sérového kreatininu je užíváno jako jedno z nejuniverzálnějších vyšetření pro hodnocení renálních funkcí. Vzhledem k tomu, že kreatinin je tvořen biochemickými procesy přímo ve svaly, je empirickou zkušeností, že množství svalové hmoty určuje množství kreatininu přítomného v séru.

Cíl: Cílem naší studie bylo popsat vzájemnou korelaci hladiny S-krea a vybraných ukazatelů celkové tělesné hmoty kosterního svalstva a prokázat, že existuje přímá lineární závislost mezi množstvím svalové hmoty a S-krea u pacientů s fyziologickými renálními funkcemi.

Pacienti a metodika: Výzkumné subjekty byly rekrutovány převážně z řad mobilních pacientů hospitalizovaných na II. interní klinice FNKV a ambulantně ošetřovaných pacientů z nutriční ambulance FNKV, kteří souhlasili s užitím laboratorních parametrů (získaných během pobytu na oddělení, popř. během návštěv v ambulanci). Další subjekty byly rekrutovány post hoc z již proběhlých metabolických studií II. interní kliniky. Vylučovacím kritériem byla porucha renálních funkcí (glomerulární filtrace /GFR/ < 1,5ml/s). Námi vyšetřované subjekty podstoupily neinvazivní jednorázové vyšetření ve fyziologické laboratoři. Provedena byla antropometrie - obvody pasu, boků, stehna, lýtka a paže a kožních řas stehna, lýtka a paže. Dále byla provedena měření bioimpedanční analýzy (BIA) – rezistance, množství tělesného tuku (FM, fatty mass), celkové množství vody v organismu (TBW, total body water), množství libové hmoty (FFM, free fatty mass). Z těchto měření byly kalkulovány hodnoty

celkové svalové hmoty, které byly korelovány s laboratorními vyšetřeními.

Výsledky: Do studie bylo celkem zařazeno 95 subjektů (námi vyšetřovaní / $n^1=19$ /, z proběhlých metabolických studií / $n=76$ /). Popisná statistika skupiny je charakterizována proměnnými hodnotami: hmotnost $m=81,15\pm 22,35$ kg, S-krea= $70,03\pm 15,99$ $\mu\text{mol/l}$, urea přítomná v séru (S-urea)= $4,89\pm 1,63$ mmol/l, index tělesné hmotnosti (BMI, body mass index)= $28,03\pm 6,41$, věk: $50,48\pm 16,17$ let, poměr obvodu pasu a boků (WHR= waist hip ratio) = $0,95\pm 0,1$ cm. Hladina sérového kreatininu signifikantně korelovala s následujícími parametry: hmotnost $m: 0,3680$ ($p^2 < 0,001$), LBMBIA (lean body mass (=libová svalová hmota) změřená bioimpedancí): $0,4621$ ($p < 0,001$), TBMM (total body skeletal mass (=celkové tělesné kosterní svalstvo) kalkulované z bioimpedance): $0,2450$ ($p < 0,05$), SMOBV (skeletal mass (=kosterní svalovina) kalkulovaná z obvodů): $0,5148$ ($p < 0,001$), OSP (obvod svaloviny paže): $0,2052$ ($p < 0,05$).

Závěr: Výsledky studie potvrzují, že svalová hmota (resp. OSP, LBMBI, SMOBV, TBMM) a celková hmotnost u osob s fyziologickými renálními funkcemi vykazují signifikantní korelaci s hladinou sérového kreatininu.

¹n= počet jedinců

²p= síla signifikance

ZMĚNA SPEKTRA VÝSKYTU A OŠETŘENÍ ZLOMENIN HLEZNA V POSLEDNÍCH 5 LETECH

Hana Bělehrádková

Vedoucí práce:

MUDr. Jiří Marvan¹, doc. MUDr. Václav Báča, Ph.D.²;

¹Ortopedicko-traumatologická klinika 3. LF UK v Praze a FNKV;

²Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod: Zlomeniny v oblasti hlezenního kloubu představují svojí frekvencí a širokým spektrem poranění jednotlivých struktur významnou kapitolu traumatologie pohybového aparátu. Podle výskytu jim patří 3. místo za zlomeninami distálního radia a proximálního femuru. Zlomeniny v oblasti hlezna jsou závažná poranění s postižením kostních i ligamentózních struktur, s čímž souvisí užití různých typů osteosyntéz a možné široké spektrum poúrazových komplikací a trvalých následků.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnocení a porovnání pacientů operovaných na našem pracovišti pro zlomeninu v oblasti hlezna v roce 2007 a 2010. Analyzovali jsme věkovou strukturu, mechanismus úrazu, morfologii zlomeniny a typ osteosyntézy. Porovnáním obou souborů jsme chtěli zjistit, jaké jsou tendence vývoje sledovaných ukazatelů.

Materiál a metoda: Sledovaný soubor tvořilo 62 pacientů, 31 mužů a 31 žen, v roce 2007 a 123 pacientů, 55 mužů a 68 žen, v roce 2010. Zlomeniny byly rozděleny podle Weberovy a Lauge-Hansenovy klasifikace. Sledované parametry jsme v obou souborech analyzovali a porovnali, abychom získali přehled o jejich změně v časovém intervalu 4 let. Data byla zpracována metodami popisné statistiky, kategoriální data byla vyhodnocena pomocí T² testu na 5% hladině pravděpodobnosti.

Výsledky: Průměrný věk pacientů v roce 2007 byl 44 let u mužů a 59 let u žen. V roce 2010 byl průměrný věk 40 let u mužů a

56 let u žen. Při hodnocení průměrného věku všech pacientů došlo k poklesu z 52 let v roce 2007 na 47 let v roce 2010. Zlomeniny typu A podle Weberovy klasifikace tvořily 5 % případů v obou letech. Zlomeniny typu B tvořily 68 % v roce 2007 a 72 % v roce 2010. Zlomeniny typu C se vyskytly v 27 %, respektive v 23 %. Rozdíl mezi zlomeninami typu B a C nebyl statisticky významný ($p = 0.823$ resp. $p = 0.659$). Poranění byla zapříčiněna většinou nízkoenergetickým mechanismem, vysokoenergetický mechanismus (pády z výšky, dopravní nehody) nepřesáhl 6 %. Sportovní úrazy dominovaly u mužů (23 % a 16 %), jedná se o rozdíl na hranici statistické významnosti ($p = 0.050$). Při ošetření fibuly jsme většinou použili osteosyntézu dlahou, často v kombinaci s tahovým šroubem. Vnitřní kotník jsme převážně ošetřovali dvěma spongiózními šrouby nebo šroubem v kombinaci s K. drátem. Došlo k poklesu revizí mediálních struktur poraněného hlezna při nepřítomnosti zlomeniny vnitřního kotníku (68 % v roce 2007, 37 % v roce 2010). Osteosyntéza zadní hrany byla provedena u 7 % případů v roce 2007 a u 23 % případů v roce 2010.

Závěr: Zhodnocením údajů jsme zjistili rostoucí počet operačně řešených zlomenin oblasti hlezna s tendencí k primární osteosyntéze. Byl zaznamenán nárůst počtu osteosyntéz zadní hrany. Rozdělení pacientů podle Weberovy a Lauge-Hansenovy klasifikace bylo srovnatelné s literárními údaji. Zlomenina v oblasti hlezna se vyskytla převážně jako monotrauma. Výsledky práce ukazují na vývoj trendů v ošetřování zlomenin hlezna a tato práce přispěje k úpravám jak diagnostického, tak terapeutického schématu ošetřování zlomenin v této oblasti.

SROVNÁNÍ VÝSKYTU A ZPŮSOBU OPERAČNÍHO OŠETŘENÍ ZLOMENIN TROCHANTERICKÉHO MASIVU V LETECH 2007 A 2011

Dominik Macák, Michal Polášek

Vedoucí práce:

MUDr. Radek Bartoška¹, doc. MUDr. Václav Báča, Ph.D.²;

¹Ortopedicko-traumatologická klinika 3. LF UK a FNKV; ²Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod: Zlomeniny trochanterického masivu patří k velmi frekventním poraněním, která jsou ošetřována na ortopedicko-traumatologických pracovištích. Především vysoký věk pacientů a řada komorbidit determinují nutnost správného ošetření. V terapii jsou používány různé druhy implantátů založené na extramedulární či intramedulární fixaci. Správná volba operační metody a její technické provedení je pro pacienta zásadní. V řadě případů je reoperace pro zdravotní stav pacienta nemožná a užití nesprávného postupu může mít pro přežití pacienta následky až fatální.

Cíl: Cílem studie bylo komparativní zhodnocení souboru pacientů se zlomeninou trochanterického masivu, kteří byli ošetřeni na Ortopedicko-traumatologické klinice FNKV a 3. LF UK v roce 2007 a 2011. Záměrem analýzy obou souborů bylo zjistit, jaké jsou trendy ve sledovaných ukazatelích v horizontu pětiletého odstupu, a přispět tak k modernizaci schématu péče o pacienty se zlomeninou trochanterického masivu.

Materiál a metoda: Soubor byl rozdělen na 2 části. První část zahrnovala pacienty ošetřené na Ortopedicko-traumatologické klinice FNKV a 3. LF UK v roce 2007. Celkem se jednalo o 206 pacientů, 148 žen, 58 mužů. Druhou část tvořila skupina pacientů ošetřených zde v roce 2011 - 164 žen a 66 mužů. Pro třídění zlomenin byla použita klasifikace AO. Byly porovnány základní epidemiologické parametry, morfologie zlomeniny a

typ provedené operace. Získaná data byla statisticky zhodnocena užitím T^2 testu na 5% hladině pravděpodobnosti.

Výsledky: Průměrný věk pacientů v roce 2007 byl 78,3 roků, u mužů 71,4 u žen 80,9. V roce 2011 byl průměrný věk 81,4, u mužů 76,6 a 83,3 let u žen. Při hodnocení průměrného věku došlo k vzestupu ve všech parametrech. Rovněž došlo ke změně spektra zastoupení jednotlivých typů zlomenin. Zřejmý je pokles výskytu stabilní A1 z 64 v roce 2007 na 24 v roce 2011. Vzestup nestabilních zlomenin A2 ze 128 v roce 2007 na 187 v roce 2011. Nepatrná progrese je patrná u vysoce nestabilních zlomenin A3 z 14 v roce 2007 na 19 v roce 2011. Při zhodnocení terapie trochanterických zlomenin došlo k významné změně v užití jednotlivých typů implantátů. V roce 2007 bylo léčeno celkem 44 pacientů skluzným šroubem DHS oproti 21 pacientům v roce 2011. Intramedulární fixace (hřeb) byla v roce 2007 užitá celkem v 142 případech a v roce 2011 celkem v 195 případech.

Závěr: Analýzou souboru jsme zjistili vyšší průměrný věk ve všech sledovaných kategoriích. Byla popsána rostoucí tendence ve výskytu nestabilních zlomenin s odpovídajícím poklesem stabilních pertrochanterických zlomenin. Studie ukázala vzrůstající trend v užití biomechanicky stabilnější intramedulární fixace (hřeb) oproti v minulosti velmi často používané metodě skluzného šroubu DHS. Výsledky této práce pomohou vyhodnotit trendy v léčbě pertrochanterických zlomenin a jejich interpretace naznačí směr posunu v diagnostickém a terapeutickém schématu péče o pacienty s tímto druhem poranění.

EXISTUJE POSUN VE VÝSKYTU A OŠETŘENÍ ZLOMENIN PATNÍ KOSTI OD ROKU 2007?

Pavel Smetana

Vedoucí práce:

MUDr. Filip Svatoš¹, doc. MUDr. Václav Báča, Ph.D.²;

¹Ortopedicko-traumatologická klinika 3. LF UK a FNKV; ²Ústav anatomie 3. LF UK

Úvod: V posledních letech se významnou zájmovou skupinou pro ortopedy a traumatology stávají poranění patní kosti, která sice nemají vysokou frekvenci, literárně se udává četnost zlomenin patní kosti 2 % ze všech zlomenin, ale mají invalidizující pozdní následky pro pacienta z hlediska návratu do denních fyzických aktivit a zapojení do běžného života. Terapie zvláště u těchto zlomenin prodělala za posledních několik let významné změny od terapeutického nihilismu až k současnému trendu moderní osteosyntézy. Současné metody umožňují navrátit do běžných pracovních činností významně vyššímu počtu pacientů oproti době nedávno minulé, což vede ke zvýšení kvality života pacienta po závažném úraze s významnými socio-ekonomickými dopady.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnocení a porovnání pacientů operovaných na našem pracovišti pro zlomeninu v oblasti patní kosti v roce 2007, 2010 a 2011. Porovnáním 3 ročních souborů jsme chtěli zjistit, jaké jsou tendence vývoje sledovaných ukazatelů, a přispět tím k modernizaci schématu péče o pacienty se zlomeninou patní kosti.

Materiál a metoda: Sledovaný soubor tvořilo 65 pacientů, 50 mužů a 15 žen, v roce 2007, 59 pacientů, 39 mužů a 17 žen, v roce 2010 a 73 pacientů, 61 mužů a 12 žen v roce 2011. Zlomeniny byly rozděleny podle klasifikace Essex-Loprestiho. Byla analyzována věková struktura, mechanismus úrazu, morfologie zlomeniny a typ osteosyntézy. Sledované parametry

jsme ve všech souborech analyzovali a porovnali, abychom získali přehled o jejich změně v časovém intervalu 5 let. Data byla zpracována metodami popisné statistiky, kategoriální data byla vyhodnocena pomocí T^2 testu na 5 % hladině pravděpodobnosti.

Výsledky: Průměrný věk pacientů v roce 2007 byl 45 let u mužů a 51 let u žen. V roce 2010 byl průměrný věk 45 let u mužů a 49 let u žen. V roce 2011 byl průměrný věk 41let u mužů a 60 let u žen. Průměrný věk pacientů za rok 2007 a 2010 byl 46 let, za rok 2011 44 let. Zlomeniny typu joint depression podle klasifikace Essex-Lopresti tvořily v roce 2007 72 %, v roce 2010 46 % a v roce 2011 38%. Zlomeniny typu tongue type byly v roce 2007 zastoupeny 14 %, v roce 2010 29% a v roce 2011 40 %. Extraartikulární typ zlomeniny byl v roce 2007 zastoupen 14 %, v roce 2010 25 % a v roce 2011 22 %. Poranění byla zapříčiněna většinou nízkoenergetickým mechanismem. Ve všech uvedených letech bylo na prvním místě ošetření konzervativní metodou, tj. za rok 2007 52 %, za rok 2010 64 % a za rok 2011 58 %. Na druhém místě bylo pak ošetření LCP dlahou a to za rok 2007 36 %, za rok 2010 29 % a za rok 2011 34 %. Na třetím místě je ošetření transfixací, tj. 9 % za rok 2007, za rok 2010 5 % a za rok 2011 4 %. Ošetření K dráty bylo na posledním místě ve všech letech, tj. 3 % za rok 2007, za rok 2010 2 % a za rok 2011 4%.

POSTGRADUÁLNÍ SEKCE

MECHANISMY REGULACE BUNĚČNÉ SMRTI A STRESU ENDOPLAZMATICKÉHO RETIKULA MASTNÝMI KYSELINAMI U PANKREATICKÝCH BETA BUNĚK

Vlasta Němcová

Vedoucí práce: prof. RNDr. Jan Kovář, Dr.Sc.

Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK - oddělení buněčné a molekulární biologie

Úvod: Chronicky zvýšená hladina mastných kyselin (MK) v krvi přispívá k úbytku pankreatických beta buněk u nemocných s diabetem 2. typu, a to zejména mechanismem apoptózy. Na experimentálním modelu linie lidských pankreatických beta buněk NES2Y jsme již dříve ukázali, že nasycené MK (t.j. kyselina palmitová a stearová), indukují v koncentraci 1 mM a vyšších buněčnou smrt. Nenasycené MK kyseliny (t.j. palmitolejová a olejová) narozdíl od nasycených MK neindukují buněčnou smrt a dokonce ji v koncentracích 0,2 mM a vyšších inhibují.

Cíl: Cílem práce bylo popsat vliv nenasycených MK indukci stresu endoplazmatického retikula (ER) a apoptózy a objasnit úlohu JNK kinázy a kaspázy 2, které by dle literárních údajů mohly být klíčovými hráči v indukci apoptózy stresem ER.

Výsledky: Působením kyseliny stearové na buňky linie NES2Y vyvolává již po 3 h aktivaci všech tří signálních drah stresu ER (IRE1 alfa, PERK a ATF6 dráha) a tato aktivace přetrvává až do doby, kdy je možné detekovat aktivaci apoptózy. Současné působení kyseliny olejové velmi efektivně inhibuje aktivaci všech sledovaných markerů ER stresu i apoptózy. Inhibice aktivity JNK kinázy, účastníci se signalizace v rámci IRE1 dráhy, nevedla k inhibici apoptózy, ačkoliv došlo k mírnému snížení exprese proteinu BiP, obecného markeru stresu ER. Ani specifická inhibice exprese kaspázy 2 neměla vliv na rychlost indukce apoptózy kyselinou stearovou.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že inhibiční intervence nenasycených MK v dráze apoptózy pankreatických beta buněk indukované nasycenými MK se odehrává „upstream“ od indukce stresu ER a apoptózy, a že JNK kináza a kaspáza 2 nejsou klíčovými molekulami v těchto procesech.

POLYMORPHISMS IN THE VITAMIN D RECEPTOR GENE AND PARATHYROID HORMONE GENE IN THE DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF DIABETES MELLITUS AND ITS CHRONIC COMPLICATIONS, DIABETIC NEPHROPATHY AND NON-DIABETIC RENAL DISEASE

Marcela Vedralová

Vedoucí práce: Ing. Anna Katarzyna Kotrbová - Kozak, Ph.D., MUDr. Viera Železníková; II. interní klinika 3. LF UK a FNKV, prof. MUDr. Ivan Rychlík, CSc.; II. interní klinika 3. LF UK a FNKV, doc. MUDr. Marie Černá, CSc.; Ústav obecné biologie a genetiky 3. LF UK

Background: We chose to study polymorphisms of vitamin D receptor gene (VDR) and parathyroid hormone genes (PTH), whose protein products significantly affect calcium-phosphate metabolism in kidneys and are implicated in the pathogenesis of diabetes, which may also involve kidney damage.

Methods: Distribution of genotypes of four polymorphisms in VDR gene i.e. *TaqI* (rs731236), *BsmI* (rs1544410) *Apal* (rs7975232), *FokI* (rs2228570) and two polymorphisms of PTH gene, i.e. *DraIII* (rs6256), *BstBI* (rs6264), were studied using PCR-RFLP. Examined groups consisted of 147 patients with diabetes (DM), 47 patients with non-diabetic renal disease (NDRD), 132 patients with diabetic nephropathy (DN) and 118 healthy subjects.

Conclusion: Comparison of DN group and healthy subjects identified statistically significant difference for the *FokI* polymorphism in VDR gene ($P < 10^{-4}$) and also for the *BstBI* polymorphism in PTH gene ($P = 0,023$). Differences in *DraIII* polymorphism distribution in PTH gene were statistically significant in each group of patients compared to healthy subjects. In DN patients, the BBFFAATt combination of VDR gene was more frequent than in healthy subjects ($P = 0,046$), and the

BbFFAaTt variant was more frequent than in DM2 patients ($P=0,018$). The BBDD haplotype of PTH gene seems to be a predisposing factor for diabetes itself ($P=0,019$).

POROVNÁNÍ CITLIVOSTI BUNĚK PRIMÁRNÍHO NÁDORU VE VZTAHU K CIRKULUJÍCÍM A DISEMINOVANÝM NÁDOROVÝM BUŇKÁM U MYŠÍHO MELANOMU

Marián Liberko

Vedoucí práce: doc. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D.

Ústav lékařské biofyziky a informatiky 3.LF UK

Odborní konzultanti:

MUDr. Vladimír Bobek, Ph.D., Mgr. Katarína Kološťová, Ph.D.;

Gynekologicko-porodnická klinika 3. LF UK a FNKV - oddělení nádorové biologie

Úvod: Je známo, že hlavní příčinou úmrtí u nádorových onemocnění nebývá primární nádor, ale jeho sekundární - metastatická ložiska, které interferují s funkcí infiltrovaných orgánů. Nádorová diseminace je úzce spojena s populací nádorových buněk, které se dostávají z primárního nádoru do krevního řečiště, kde cirkulují. Cirkulující nádorové buňky (circulating tumor cells - CTCs) jsou jedním z potenciálních ukazatelů vzdálených metastáz a jejich místo v procesu stanovení prognózy u maligního onemocnění je nepopíratelné.

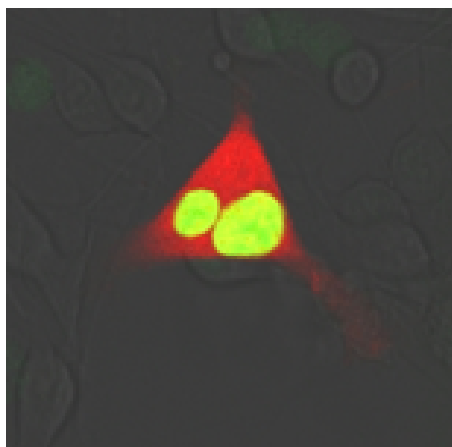
Cíl:

- 1 a. Izolace nádorových buněk z primárního nádoru (PT), CTCs a diseminovaných nádorových buněk (DTCs) u experimentálního metastatického modelu myšího melanomu B16
- 1 b. Kultivace CTCs a DTCs in vitro pro účely testování změn v citlivosti používané terapie (cisplatina)
- 1 c. Testování buněčné proliferace pomocí nově zavedeného real-time monitoringu růstu buněčné kultury.
2. Exponování buněk primárního nádoru B16 myšího melanomu singletovanému kyslíku za cílem porovnání účinku kombinace singletovaného kyslíku a cisplatinu.

Metodika:

1. Buňky buněčné linie myšního B16 melanomu (B16-GFP/RFP) byly implantovány do peritonea C57/B6 myši. 14 dní po peritoneální injekci byla myším odebrána krev za účelem analýzy přítomnosti CTCs. CTCs buňky byly izolovány pomocí imunomagnetické separace (ADNA Melanoma Test, Adnagen, Langenhagen, Německo) a/nebo krev byla kultivována s růstovým mediem. DTCs byly izolované z peritoneálního výplachu (ascitu podobné buňky) a peritoneální tukové tkáně. Po dosažení 70 – 80% buněčné konfluence in vitro byly tyto buňky (primární tumor – PT, cirkulující nádorové buňky – CTCs a diseminované nádorové buňky – DTCs [tuk - TUK, ascites - ASC]) testovány na citlivost k cisplatině v příslušných koncentracích ($c1 = 20 - 10 \text{ ug/ml}$). Po 8, 12, 18, 24, 42 a 72 hodinách kultivace bylo stanoveno procento přežívajících buněk (MTT test, xCELLigence (Roche))

2. Buňky primárního nádoru B16 melanomu byly exponovány singletovanému kyslíku v délce 2 - 30 minut. Po expozici byly buňky testovány na citlivost k chemoterapii (MTT, XCELLigence)



Obr. Cirkulující nádorová buňka (melanom B16)

Výsledky a závěry: Podařilo se nám izolovat CTCs, DTCs a kultivovat je v in vitro podmínkách pro další experimentální procesy. Výsledky opakovaně potvrzují, že různé populace nádorových buněk (PT, ASC, CTC, TUK) vykazují různou citlivost k terapii cisplatinou. Jako nejvíce rezistentní populace buněk byly vyhodnoceny ASC B16. Opakovaně jsme potvrdili, že v některých případech může cisplatina růst podpořit, a to i buněk exponovaných před aplikací chemoterapie singletovanému kyslíku. Rádi bychom do budoucna popsali taky změny, které nastali v jednotlivých buněčných kulturách na úrovni genové exprese v průběhu procesu nádorové diseminace a které můžou v budoucnu pomoci identifikovat cílové molekuly biologické protinádorové léčby.

PREZENTACE NEOČEKÁVANÝCH VÝSLEDKŮ: ZAMÍTNUTÍ (POPŘENÍ) HYPOTÉZY

Kateryna Nohejlová

Vedoucí práce: doc. MUDr. Jan Mareš, CSc.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie 3. LF UK

Úvod: Neočekávané, a ještě častěji, negativní výsledky pokusů nebývají zveřejněny. Totéž platí, i když dojde k popření původní hypotézy. Někdy je důležité varovat ostatní před slepou uličkou, jindy dokonce takové výsledky, které jsou pak označeny jako „překvapivé“ pomohou otevřít cestu k řešení jiného problému. Poškození mozku jsou spojena i se závažnými funkčními následky. Ty vznikají na základě různých mechanismů. Ve světové literatuře je u mnoha různých typů poškození uváděn vzestup hladiny volných radikálů (FR). Další práce dokládají, že FR samy o sobě mohou poškozovat tkáň. Kolísání hladin FR je v živé tkáni běžné, i když jejich hladiny normálně nedosahují úrovně, kdy by mohlo dojít k poškození tkání. Význam FR se však může prosazovat i za fyziologických stavů, protože existují doklady, že jsou důležitým intra- i extracelulárním signálem. Ochrana tkání před poškozením může probíhat i na základě takzvaného preconditioningu známějšího spíše z kardiologie. Předchozí vystavení zátěži totiž dokáže tkáň připravit na zátěž budoucí. Předpokládá se, že při aktivaci tohoto jevu hrají významnou úlohu i FR.

Cíle a metodika pokusu: Experiment byl zaměřen na působení hypoxického preconditioningu, spojovaného se zvýšením produkci FR a na důsledky ischemické léze pro prostorové učení. Byla zvolena repetitivní normobarická hypoxie (FiO_2 8% - 30s, FiO_2 21% - 30s; cyklus se opakoval 60x). Experimentální skupiny:

- 1) zvířata, která byla vystavena pouze normobarické repetitivní hypoxii 4 dny před testováním v Morrisově vodním

bludišti,

- 2) zvířata jen s ischemickou lézí a od dalšího dne testovaná a
- 3) zvířata s normobarickou repetitivní hypoxií 3 dny před způsobením ischemické léze a následným testováním.

Výsledky: Všechna zvířata prokázala schopnost učení. Proti naivním kontrolám a zvířatům, která byla vystavena pouze normobarické repetitivní hypoxii - preconditioningu, výkony zvířat s preconditioningem a ischemickou lézí se lišily. Byly významně horší.

Závěr: V tomto experimentu se nesplnil předpoklad, že po vystavení hypoxii dojde ke zlepšení výsledků učení jako v předchozím experimentu. Naopak, došlo k jejich zhoršení. To si vysvětlujeme tím, že jsme použili delšího působení laseru v kombinaci s jinými faktory, pravděpodobně v kombinaci ischemické léze se závažnějším typem hypoxie. Pro řešení tohoto problému bude nezbytné navrhnout další pokusy s jiným uspořádáním např. chronické s opakovanou repetitivní hypoxií. Na základě prezentovaných výsledků zhoršeného učení v souvislosti s interakcí ischemické léze a repetitivní hypoxie je možné o chronických pokusech v budoucnu uvažovat jako o možném modelu spánkové apnoe.

VLIV PSYCHOSTIMULAČNÍCH DROG NA UČENÍ A PAMĚŤ SAMCŮ A SAMIC LABORATORNÍHO POTKANA PRENATÁLNĚ EXPOZOVANÝCH METAMFETAMINU

Eva Macúchová

*Vedoucí práce: doc. MUDr. Romana Šlamberová, Ph.D.
Ústav normální, patologické a klinické fyziologie 3. LF UK*

Úvod: Jednou z nejužívanějších drog těhotných žen je metamfetamin (MA), neboli pervitin. Jde o silně návykovou látku, náleží do skupiny syntetických látek amfetaminů, které se vedle kokainu řadí mezi psychomotorická stimulantia. Droga proniká snadno placentární bariérou do organismu plodu, ovlivňuje jeho vývoj a vede ke změnám, které přetrvávají až do dospělosti. Studie zjistily, že má prenatální expozice MA negativní vliv na chování, kognici, bolest a záchvaty u dospělých potkanů v závislosti na pohlaví. Zároveň zvyšuje citlivost k akutní aplikaci stejné drogy v dospělosti. Tento jev se nazývá „senzitivace“.

Cíl: Cílem pokusu je pomocí testu na učení a paměť v Morrisově vodním bludišti stanovit jestli prenatální expozice MA zvyšuje citlivost ke stejným (MA) či příbuzným drogám: amfetamin (AMF), kokain (C) a MDMA (3,4-metylenedioxyamfetamin; extáze).

Metodika: Zvířatům byl prenatálně aplikován MA v dávce 5 mg/kg, zatímco kontrolní zvířata dostávala fyziologický roztok (FR). Dospělí samci a samice laboratorního potkana kmene Wistar byli vystaveni testu v Morrisově vodním bludišti (MWM). Plavání bylo prováděno v bazénu o průměru 2 metry s neviditelným ostrůvkem umístěným 1 cm pod vodní hladinou. Každé zvíře bylo testováno 8 x denně ze 4 různých startovacích pozic. Po dobu 6 dnů probíhalo učení, kdy potkani plavou po dobu 60 sekund, resp. do té doby, než naleznou ostrůvek. V případě, že nenaleznou ostrůvek, jsou na ostrůvek manuálně navedeni. 8. den následoval „Probe test“, tedy testování, zda se zvíře úlohu naučilo. Bez přítomnosti ostrůvku v bazénu je

zjišťován čas strávený v kvadrantu, kde byl původně ostrůvek umístěn. 12. den. bylo provedeno testování na paměť. Vždy po ukončení plavání, byla potkanům aplikována droga (MA 1, resp. 5 mg/kg, AMF 5 mg/kg, C 5 mg/kg, MDMA 5 mg/kg) nebo fyziologický roztok. Drogy jsou podávány každý den po celou dobu experimentu (den 1. - 12.). Plavání bylo zaznamenáváno pomocí automatického videosystému EthoVision 3.1 (Noldus Information Technology, Netherlands). V případě samic byl po dobu testování sledován estrální cyklus.

Výsledky: Z předešlých prací vyplynulo, že prenatální expozice MA sice neovlivňuje „učení“ v MWM, ale zlepšuje výkon v testu paměti. Na druhou stranu aplikace MA v dospělosti zhoršuje proces učení. Naše předchozí výsledky ukázaly, že MA (1 mg/kg) zvyšuje výskyt náhodného hledání, snižuje výskyt přímého plavání k ostrůvku a prodlužuje trajektorii. Akutně podaný MA rovněž zvyšuje rychlost plavání v MWM po aplikaci samcům prenatálně exponovaných MA, což svědčí o zvýšené senzitivitě potkanů prenatálně exponovaných MA (1).

Závěr: Očekáváme, že zvýšená citlivost vyvolaná prenatální aplikací MA nebude omezena jen na stejnou drogu, ale vyvolá zkříženou citlivost k jiným drogám, takzvanou „cross-senzitivitaci“. Očekáváme rovněž pohlavní rozdíly v účinku jednotlivých drog na učení a paměť.

(1) Schutová B, Hrubá L, Pometlová M, Deykun K, Šlamberová R. *Cognitive functions and drug sensitivity in adult male rats prenatally exposed to methamphetamine. Physiol Res 2009; 58(5): 741-750.*

Finanční podpora: grant GAUK 545212 a projekt 264709/SVV/2012 Univerzity Karlovy

STUDIUM ÚLOHY GHRELINU V MECHANISMECH OPIOIDNÍ ZÁVISLOSTI V MODELU MORFINOVÉHO RELAPSU U POTKANŮ

Pavel Jeřábek

Vedoucí práce: PharmDr. Magdalena Šustková, Ph.D.
Ústav farmakologie 3. LF

Úvod: Závislost na opiátech je stále aktuálním problémem ve společnosti. Při léčbě dochází k častým relapsům. Některá současná literární data potvrzují účast orexigenního hormonu ghrelinu i.v. mechanismech příjmu alkoholu a některých stimulací. V této prozatímní pilotní studii na malém počtu zvířat jsme simulovali morfinový relaps. Podáním ghrelinového antagonisty jsme chtěli ověřit účast ghrelinu i v mechanismech opioidní závislosti. Vedle změn v chování zvířat jsme zároveň pomocí CNS mikrodialýzy in vivo monitorovali hladiny neuromediátorů účastnících se závislostních procesů v nucleus accumbens shell (NACSh), struktuře důležité pro pocit odměny a žádostivosti po droze.

Cíl: Prozkoumat účast ghrelinu v modelu opioidního relapsu u potkanů pomocí premedikace antagonistou ghrelinového receptoru GHSR-1A (látky JMW2959).

Zvířata a metodika: Relaps jsme navodili opakovaným podáváním morfinu, jedenkrát denně po dobu pěti dnů ve zvyšujících se dávkách (10 -40 mg/kg s.c.), s následnou 10denní spontánní abstinencí. 10. den abstinence jsme v xylazinketaminové anestézii implantovali vodič promikrodialyzační kanylu do oblasti NACSh. 12. den abstinence jsme dovodiče vložili mikrodialyzační kanylu a provedli dialýzu Ringerovým roztokem (2 μ l/min). Dialyzáty jsme odebírali ve 20 min intervalech, ve kterých jsme vždy současně monitorovali chování zvířat (pozorovatel neznalý dávkovacího schématu). Po 60 min baseline jsme aplikovali morfin v „provokační dávce“ (5 nebo 10 mg/kg s.c.) nebo fyziologický roztok (FR) a dialýza pokračovala další 3 h. U jedné skupiny „relapsových“ zvířat jsme 20 min před

morfinem aplikovali JMW2959 (6 mg/kg i.p.) nebo FR. Dialýzu jsme provedli i při akutní aplikaci morfinu ve stejných dávkách. Chování jsme po celou dobu dialýzy hodnotili v pěti kategoriích (imobilita, katalepsie, lokomoce, stereotypie, abstinenci příznaky), v procentuálním zastoupení těchto prvků chování během intervalu. V dialyzátech jsme analyzovali: dopamin (DA), γ -aminomáselnou kyselinu (GABA), glutamát, 2-arachidonylglycerol (2-AG).

Výsledky: Morfin podaný akutně i během abstinence v obou dávkách významně zvýšil hladinu DA v NACSh, což potvrdilo DA senzitivizaci při morfinovém relapsu (po „provokační dávce“). Akutně podaný JMW2959 DA hladinu vůbec neovlivnil, avšak při relapsu významně snížil DA senzitivizaci. Extracelulární koncentrace glutamátu i GABA byly zvýšeny podáním morfinu akutně i při relapsu, podobně jako podáním antagonisty ghrelinu. JMW2959 při premedikaci spíše ještě zvýšil efekt provokační dávky morfinu. Opakované podávání morfinu zvýšilo bazální hladiny DA, glutamátu i GABA. Koncentrace 2-AG byly morfinem naopak vždy sníženy s náznakem výraznějšího účinku při relapsu. Bazální hladina 2-AG v NACSh byla opakovanou aplikací morfinu významně snížena. Monitorování chování zvířat potvrdilo psychomotorickou senzitivizaci vyvolanou „provokačními“ dávkami morfinu během abstinence a JMW2959 aplikovaný během relapsu tuto senzitivizaci snížil.

Závěr: Pozorovaná dopaminergní i behaviorální senzitivizace, vyvolaná provokační dávkou morfinu (opioidu) během morfinové abstinence představuje experimentální model opioidního relapsu. Ghrelinový antagonist JMW2959 v naší pilotní studii snížil jak DA senzitivizaci v NACSh tak i senzitivizaci k stimulačním prvkům v chování potkanů, což podporuje představu možnosti využití látky na bázi ghrelinového antagonisty v léčbě opioidního relapsu.

POHLAVNÍ ROZDÍLY VE VAZBĚ D1 RECEPTORU VE STRIATU PO PODÁNÍ METAMFETAMINU

Monika Vrajová

Vedoucí práce: prof. MUDr. Jiří Horáček, Ph.D.

Klinika psychiatrie a lékařské psychologie 3. LF UK - klinika psychiatrie

Abstrakt: Metamfetamin (MA) je silný stimulant s potenciálem vytvářet psychickou závislost a má neurotoxické vlastnosti. Opakované užití MA je závažným problémem zdravotnictví jak v ČR, tak ve světě. Ukazuje se, že v závislosti na MA existují rozdíly mezi oběma pohlavími. Kromě antagonistů N-methyl-D-aspartátového receptoru jsou amfetaminy jedinou známou skupinou návykových látek, která je spojena s deplecí dopaminu ve striatu. V naší práci nás zajímá vliv interakce prenatalního podání MA a chronického podání v dospělosti u potkanů kmene Wistar na dopaminergní systém (a to konkrétně na D1 a D2 receptory) ve striatu a případné pohlavní rozdíly v tomto vlivu. K hodnocení density dopaminových receptorů jsme použili vazbu radioligandů: pro D1 [3H]-SCH23390 a pro D2 zavádíme [3H]-spiperon. Dopaminergní systém hodnotíme u čtyř skupin zvířat:

- 1) s aplikací fyziologického roztoku prenatalně i postnatálně (S/S);
- 2) s aplikací fyziologického roztoku prenatalně a MA postnatálně (S/MA);
- 3) s aplikací MA prenatalně a postnatálně fyziologický roztok (MA/S);
- 4) s aplikací MA prenatalně i postnatálně (MA/MA). V tuto chvíli máme kompletní výsledky experimentů s izotopem [3H]-SCH23390.

Experimenty provedené s 0,6 nM radioligandem signalizovaly pokles ve specifické vazbě na 72% u samic (S/MA) a naopak zvýšení na 120% u samců (S/MA) oproti odpovídajícím kontrolám. Statisticky významný rozdíl byl dosažen při srovnání

aplikovaných samců s aplikovanými samicemi. Scatchardova analýza tyto výsledky potvrdila a dokázala, že u samic skupiny S/MA je pokles vazby vyvolán snížením B_{max} (tj. snížením počtu vazebných míst), zatímco u samců nárůst vazby souvisí s poklesem K_d (tj. se zvýšením afinity). Z našich výsledků vyplývá, že postnatální chronické podání MA má pravděpodobně odlišný vliv na D1 receptory ve striatu samců a samic. Tento závěr lze podepřít podobným výsledkem v dříve popsáném modelu chronického podání amfetaminu. U lidí chronicky užívajících MA byla post mortem nalezena zvýšená exprese proteinu D1. Po prenatálním podání MA jsme ve striatu potkanů nepozorovali významnou změnu D1 receptorů, ani rozdíly mezi pohlavími.

Práce byla podpořena projekty GA ČR P303/10/0580 a 264706/SVV/2012

SROVNÁNÍ ELEKTROENCEFALOGRAFICKÉ AKTIVITY V SEROTONERNÍM A GLUTAMÁTERGNÍM MODELU PSYCHÓZY

Filip Tylš

Vedoucí práce: MUDr. Tomáš Páleníček, Ph.D.

Klinika psychiatrie a lékařské psychologie 3. LF UK - klinika psychiatrie

Úvod: Psychóza je provázena charakteristickými změnami v humánním kvantitativním EEG, zejména zvýšením spektrálního výkonu v nižších frekvenčních pásmech (delta, theta) a snížením koherencí (funkční konektivity) mezi frontálními a temporálními oblastmi. V našich experimentech jsme studovali elektroencefalografické změny ve dvou hlavních farmakologických modelech psychózy, v modelu serotonerním (použili jsme halucinogeny psilocin, N,N-dietylysergamid (LSD) a mezkalin) a v modelu glutamátergním (použili jsme antagonisty N-metyl-D-aspartátového (NMDA) receptoru ketamin a dizocilpin (MK-801)) s cílem porovnat tyto modely mezi sebou a následně srovnat změny indukované v těchto modelech s nálezy u psychotických onemocnění.

Metodika: Potkanům bylo stereotakticky implantováno 6 párů elektrod bilaterálně nad frontální, parietální a temporální kortex. Týden po operaci bylo registrováno kortikální EEG u volně se pohybujících potkanů, kterým byly aplikovány výše vyjmenované látky. EEG spektra (lokální synchronizace) a EEG koherence (dlouhé projekce) byly následně analyzovány v programu Neuroguide Deluxe v. 2.6. Pro možnost srovnání s humánními daty (klidový záznam) jsme analyzovali pouze úseky EEG záznamu odpovídající behaviorální inaktivitě (klidu).

Výsledky: U všech serotonerních modelů jsme pozorovali celkové snížení EEG výkonu i EEG koherencí napříč spektrem. Psilocin a LSD způsobovaly signifikantní pokles výkonu ve všech

frekvenčních pásmech, zatímco pokles po mezkalinu byl výrazný pouze v nižších frekvencích (delta, theta). Nejnápadnější snížení EEG koherencí bylo pozorováno v delta a theta pásmu u všech serotonergních látek. V glutamátergních modelech ketamin i MK-801 zvyšovaly výkon v gama pásmu a MK-801 navíc indukovalo pokles v pásmu theta a beta. Obě látky způsobovaly signifikantní snížení EEG koherencí napříč spektrem, s maximem ve frekvenčních pásmech delta a theta.

Závěr: Pro oba farmakologické modely psychózy je charakteristická diskonekce dlouhých projekcí v mozku. Na druhou stranu, změny v lokální konektivitě byly skupinově specifické. Naše výsledky budou diskutovány ve srovnání s EEG nálezy u schizofrenních pacientů.

Tato studie byla podpořena granty IGA MZČR NT/13897, MVČR VG2VS/200 a VG2VS/271

VLIV 5-HT 1A/2A/2C ANTAGONISTŮ NA ZMĚNY ULTRASONICKÉ VOKALIZACE U POTKANŮ VYVOLANÉ PODÁNÍM MDMA A 2C-B

Anna Kubešová

Vedoucí práce: MUDr. Tomáš Páleníček, Ph.D.

Klinika psychiatrie a lékařské psychologie 3. LF UK - klinika psychiatrie

Cíl práce: Cílem práce bylo porovnat vliv 5-HT 1A/2A/2C antagonistů na změny v ultrasonické vokalizaci (USV) u potkanů (model úzkosti) indukované podáním drogy/entaktogenu 3,4-methylen-dioxymethamfetaminu (MDMA) a phenylethylaminového halucinogenu 4-bromo-2,5-dimetoxyfenetylaminu (2C-B). Naše předchozí experimenty ukázaly, že podání 2C-B a MDMA způsobuje pokles celkového trvání USV u potkanů na frekvenci 22kHz oproti kontrolám, což koresponduje se sníženou úzkostí. Vzhledem k serotonergní aktivitě obou látek se domníváme, že serotoninové receptory 5-HT 1A/2A/2C mohou významně přispívat k tomuto anxiolytickému účinku.

Metody: Experiment byl prováděn na přístroji ANL-937-1 Ultrasonic Vocalization Detector (Med Associates Inc.). První den pokusu byli potkani na 7 minut umístěni do "šokovacího boxu", kde každou minutu z prvních šesti dostávali 10 sekund trvající elektrošok do tlapek o intenzitě 1 mA. Druhý den byli potkani umístěni do "šokovacího boxu" na 1 minutu a dostali 10 sekund trvající elektrošok o stejné intenzitě. Následně byly subkutánně administrovány látky MDMA (2,5, 5, 10 mg/kg; 30 min před měřením) nebo 2C-B (10, 25, 50 mg/kg; 60 min před měřením) nebo kontrolní roztok. 15 minut před měřením byly administrovány selektivní antagonisté serotoninových receptorů 5-HT 1A (WAY 100635; 1 mg/kg i.p.), 5-HT 2A (MDL 100907; 0,5 mg/kg i.p.) nebo 5-HT 2C (SB 242084; 1 mg/kg i.p.).

Během měření byli potkani opět umístěni do "šokovacího boxu", kde probíhal 10 minut trvající záznam ultrasonické vokalizace na frekvenci 22kHz pomocí "bat detektoru" (během tohoto měření potkan již šoky nedostával).

Výsledky: Podání WAY 100635 vedlo ke zvýšení USV u zvířat se nižšími dávkami 2C-B (10 a 25 mg/kg) a střední dávkou MDMA (5 mg/kg). Podání MDL 100907 mírně snižovalo USV oproti kontrolám a potencovalo snížení USV u zvířat s 2C-B a MDMA. Podání SB 242084 vedlo ke zvýšení USV u kontrol a v nižších dávkách 2C-B (10 a 25 mg/kg), ale potencovalo snížení USV u zvířat s MDMA.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že anxiolytický účinek 2C-B i MDMA v tomto experimentu upravuje zejména antagonismus 5-HT 1A receptoru a v případě 2C-B i 5-HT 2C receptoru. Antagonismus 5-HT 2C receptorů navíc u kontrol v tomto modelu vyvolával výrazný anxiogenní účinek.

SROVNÁNÍ HLADINY PROTILÁTEK PROTI LIDSKÉMU A BOVINNÍMU TAU PROTEINU U PACIENTŮ S ALZHEIMEROVOU NEMOCÍ

Michala Kolářová

Vedoucí práce:

RNDr. Jan Říčný, CSc.¹; doc. MUDr. Aleš Bartoš, Ph.D.²

¹Psychiatrické centrum Praha, AD centrum; ²Neurologická klinika 3. LF UK a FNKV

Úvod: Tau protein je evolučně velmi konzervovaný protein. Aminokyselinové sekvence komplementárních DNA boviního a lidského tau proteinu jsou vysoce homologní. V této studii jsme testovali imunoreaktivitu lidských sér k bovinímu a lidskému tau proteinu u pacientů s Alzheimerovou nemocí (AN).

Pacienti a metody: Protilátky proti dvěma typům tau proteinu (bovinímu a rekombinantnímu lidskému) byly změřeny ELISA metodou u 70 vzorků séra od 34 kognitivně normálních starších kontrol (NK) a 36 pacientů s AN splňujících kritéria NINCDS-ADRDA.

Výsledky: Pacienti s AN měli významně nižší hladiny anti-tau protilátek jak proti bovinímu ($p=0,0004$), tak i lidskému tau proteinu ($p=0,005$). Průměrná imunoreaktivita u vzorků byla vyšší proti lidskému tau proteinu.

Závěr: Použitím odlišných antigenů byly získány podobné výsledky. Krevní séra vykazují vyšší imunoreaktivitu proti lidskému tau proteinu. Tato zjištění poukazují na souvislost mezi tau antigenem a humorální autoimunitou u AN.

Tato studie byla podpořena Projektem Excellence v základním výzkumu (P 304/12/G069) od Grantové agentury České republiky.

INTERAKCE SEROTONINOVÝCH 1A RECEPTŮ S N-METHYL-D-ASPARTÁTOVÝM RECEPTOREM: VÝZNAM V LÉČBĚ A PATOFYZIOLOGII SCHIZOFRENIE

Jana Puskarčíková

Vedoucí práce: Ing. Zdena Křištofiková, Ph.D.

Psychiatrické centrum Praha, Centrum neuropsychiatrických studií

Úvod: Schizofrenie je závažné psychické onemocnění postihující asi 1% světové populace. Serotoninové-1A (5-HT1A) receptory se nalézají na dendritech, v kterých jsou koncentrovány i N-metyl-D-aspartátové (NMDA) receptory. Současná léčba má mnoho nežádoucích účinků. Na základě hypoglutamátergní hypotézy schizofrenie je současnou strategií v hledání nových léků nepřímá aktivace NMDA receptorů. Přímá aktivace NMDA receptoru vede k poškození neuronů.

Cíl: Cílem této práce bylo zjistit, zda NMDA receptory interagují se 5-HT1A receptory jak na molekulární, tak na behaviorální úrovni.

Metodika: Molekulární úroveň: Imunoblotting (bendy hodnoceny pomocí Gel Doc Analysis Systému (Bio-rad, USA)). Všechny kvantitativní analýzy byly porovnávány s β -tubulinem. Behaviorální úroveň: Použili jsme dva testy: Prepulzní inhibice akustické úlekové reakce, PPI (test na senzomotorický gating) a Novel Object Recognition test, NORT (test na rozpoznávací paměť).

Statistika: Data z imunoblottingu a PPI byla hodnocena One-way ANOVOU s post-hoc Newman-Keulsovým testem. Na data z NORTu byl použit Kruskal-Wallisův test s post hoc Dunnsovým testem. Hladina významnosti byla ve všech případech $p < 0,05$.

Výsledky: Na molekulární úrovni jsme zjistili, že podání agonistů 5-HT1A receptorů (8-OH-DPAT, tandospiron) vede ke

zvýšení/snížení exprese podjednotek (GluN1, 2B) NMDA receptoru ve frontální kůře a hipokampu. Na behaviorální úrovni jsme v testu na senzomotorický gating (PPI) zjistili, že podání 8-OH-DPAT zhoršuje zpracování informací. Tandošpiron neměl na PPI vliv. Z testu na rozpoznávací paměť (NORT) vyplývá, že tandošpiron, v nižší dávce zlepšuje rozpoznávací paměť. 8-OH-DPAT neměl na úroveň rozpoznávací paměti vliv.

Závěr: Je tedy vidět, že NMDA receptory interagují s 5-HT1A receptory, proto nepřímé ovlivnění NMDA receptoru přes 5-HT1A receptory pomocí agonistů těchto receptorů by mohlo mít pozitivní přínos pro pacienty s neuropsychiatrickým onemocněním jako je schizofrenie, epilepsie atd.

VYUŽITÍ SYSTÉMŮ POČÍTAČOVÉ ALGEBRY PŘI STANOVENÍ VAZEBNÝCH PARAMETRŮ NEZNAČENÝCH ORTHOSTERICKÝCH LIGANDŮ PŘI STUDIU ALOSTERICKÝCH INTERAKCÍ NA MUSKARINOVÝCH RECEPTORECH

Jan Proška

Vedoucí práce: Ing. Zdena Křištofiková, Ph.D.

Psychiatrické centrum Praha, Centrum neuropsychiatrických studií

Úvod: Muskarinové acetylcholinové receptory jako jednovláknové, integrální membránové proteiny nespĺňujú pôvodnú striktnú podmienku alosterie: nejedná sa o oligomerné proteíny. Také proto pretrvávajú obtiaže s vysvetlením mechanizmu kooperatívnych vazebných interakcií na týchto receptorech. V minulosti sa podařilo ukázať, že hypotetická vazebná miesta pro ligandy modulující vazbu radioaktivně značeného orthosterického antagonisty N-methyl skopolaminu (NMS) splňujú podmienku saturovatelnosti a jsou odpovědná jak za negativní, tak pozitivní modulaci vazby NMS na receptor. Další studium je výrazně limitováno nedostupností orthosterických ligandů v radioaktivně značené formě.

Cíl: Nalézt vhodné experimentální uspořádání a odvodit příslušné matematické modely, pomocí kterých by bylo možné testovat neznámené ligandy, stanovovat rovnovážné a v některých případech také kinetické parametry jejich vazby na receptor. Vytvořit pomocí systému počítačové algebry (CAS - Computer Algebra System) softwarový nástroj k numerické analýze komplexních vazebných dat.

Metodika: Experimenty byly prováděny na homogenátech srdečních síní potkana, ve kterých je téměř čistá populace podtypu M2 muskarinového acetylcholinového receptoru. Použit byl radioligand [3H]NMS. Pomocí nástroje MATHEMATICA (Wolfram Research, Inc., USA) byly vytvořeny programy pro určení rovnovážných disociačních konstant, koeficientů

kooperativity a rychlostních konstant asociace, respektive disociace pro řadu neznačených orthosterických ligandů při interakci s alkuroniem, respektive strychninem na M2 podtypu muskarinového receptoru.

Výsledky: Bylo vytvořeno originální experimentální uspořádání pro stanovení vazeb-ných parametrů neznačených orthosterických ligandů v prostředí neznačeného alo-sterického modulátoru a radioaktivně značeného pomocného orthosterického ligandu [3H]NMS. Bylo nalezeno 10 ligandů kompetitivně inhibujících vazbu [3H]NMS a zároveň vykazujících pozitivně kooperativní vazbu na M2 podtyp muskarinového receptoru s alkuroniem, respektive strychninem. Dále byla vyvinuta původní metoda pro určení kinetických parametrů vazby neznačených orthosterických ligandů na receptory v přítomnosti značeného kompetitivního ligandu. Inverzní problém byl řešen numericky v prostředí software MATHEMATICA.

Závěr: Nasazení prostředků počítačové algebry umožnilo získat relativně snadno farmakologicky významná data z komplexních vazebných experimentů. Podařilo se nalézt několik nových, strukturně příbuzných kompetitorů vazby [3H]NMS do klasického vazebného místa, u kterých dochází k pozitivně kooperativní vazbě s alkuroniem, respektive strychninem, na M2 podtypu muskarinového receptoru.

OPTICKÁ AGREGOMETRIE V DETEKCI ÚČINNOSTI ASPIRINOVÉ TERAPIE

Miroslava Faulnerová

*Vedoucí práce: prof. MUDr. Pavel Kalvach, CSc.
Neurologická klinika 3. LF UK a FNKV*

Úvod: Kyselina acetylsalicylová (ASA) je stále široce používanou léčbou, jak v akutní fázi ischemické cévní mozkové příhody, tak v sekundární prevenci. Účinky této léčby se posuzují podle finálního úspěchu v omezení výskytu ischemických iktů za časové období. Omezené jsou možnosti individuální monitorace účinku ASA, tak jak ji známe například u antikoagulační terapie.

Cíl: Naším cílem je porovnání dvou agregometrických metod, jejichž princip spočívá ve změně propustnosti světla krví, v závislosti na míře agregace trombocytů.

Pacienti a metodika: U 30 pacientů, kteří dlouhodobě užívají po transitorní ischemické atace nebo ischemickém iktu 100 mg ASA denně byla porovnávána míra potlačení agregace dvěma metodami. První z nich VerifyNow měří agregaci v plné krvi po indukci kyselinou arachidonovou (AK), druhá Light transmission aggregometry (LTA) agregaci v plasmě po indukci 5 různými agonisty.

Výsledky: Metodou VerifyNow byla agregace snížena v průměru na 433 ARU (rozsah 590-350, SD 54), což znamená přibližně na 70% ve srovnání s neléčenými zdravými dobrovolníky. Pomocí LTA a při indukci stejným agonistou tedy AK byla agregace redukována na 37% (rozsah 73-4, SD 24). Po ristocetinu a ADP poklesla agregace pouze k 78% (rozsah 85-63, SD 5) respektive k 67% (rozsah 76-54, SD 5), zatímco po stimulaci kolagenem a epinefrinem byl pokles významnější k 33% (rozmezí 72-5, SD 15) a k 32% (rozsah 50-12, SD 24). VerifyNow našla dva aspirin rezistentní jedince, LTA po indukci AK, epinefrinem a kolagenem jednoho aspirin rezistentního

pacienta dvěma agonisty současně a 8 pouze jedním agonistou.

Závěr: Obě metody jsou schopny spolehlivě zachytit redukcí agregace trombocytů při ASA terapii. Při LTA byla zaznamenána překvapivě větší redukce agregace po indukci kolagenem a epinefrinem ve srovnání s AK. LTA nabízí lepší zhodnocení více parametrů agregace současně, zatímco VerifyNow se jeví jako metoda vhodná pro využití v klinické praxi.

ZÁVISLOST ÚROVNĚ KOLATERÁLNÍHO DĚLENÍ AXONŮ PO END-TO-SIDE NEUROTIZACI NA VYTVOŘENÍ PERINEURÁLNÍHO OKNA

Radek Kaiser

*Vedoucí práce: prof. MUDr. Pavel Haninec, CSc.
Neurochirurgická klinika 3. LF UK a FNKV*

Úvod: Mnoho experimentálních prací prokázalo existenci kolaterálního dělení intaktního axonu po end-to-side neurotizaci a její klinické využití. Stále však existují kontroverze v technice provedení sutury.

Cíl: Cílem studie bylo kvantitativně stanovit úroveň kolaterálního dělení motorických a senzitivních axonů po end-to-side neurotizaci s a bez perineurálního okna.

Metodika: Na zvířecím modelu byla provedena end-to-side anastomóza n. musculocutaneus na n. ulnaris s a bez perineurálního okna. Úroveň kolaterálního dělení byla kvantifikována počítáním motorických a senzitivních neuronů po jejich retrográdním nabarvení Fluoro-Ruby a Fluoro-Emerald aplikovaných do n. ulnaris, resp. n. musculocutaneus.

Výsledky: Naše výsledky ukazují na signifikantně vyšší úroveň kolaterálního dělení intaktních axonů v případě sutury s vytvořeným perineurálním oknem. Určité množství axonů bylo poraněno při vytváření okna a tyto axony reinervoaly do distálního úseku recipientního nervu a podílely se tak na výsledném funkčním efektu neurotizace.

Závěr: Pro úspěšné použití end-to-side neurotizace v klinické praxi je nutné vytvoření perineurálního okna. To platí zvláště při rekonstrukci větších nervů, jako v případě poranění plexus brachialis.

KYSELINA PALMITOVÁ INDUKUJE POŠKOZENÍ MITOCHONDRIÁLNÍ DNA A MITOCHONDRIÁLNÍ DYSFUNKCI U SVALOVÝCH BUNĚK

Jana Patková

Vedoucí práce: prof. MUDr. Michal Anděl, CSc.
II. interní klinika 3. LF UK a FNKV

Úvod: Vysoká hladina volných mastných kyselin (VMK) je spojována se vznikem inzulínové rezistence a dalšími patofyziologickými procesy ve svalu, např. mitochondriální dysfunkcí a oxidačním stresem. Lipotoxicky ve svalu působí především nasycené VMK s dlouhým řetězcem, jejichž nejčastějším zástupcem je kyselina palmitová. Mechanismus jejich účinku však není zcela znám.

Cíl: Cílem této studie bylo testovat toxicitu kyseliny palmitové a její vliv na integritu mitochondriální DNA a mitochondriální funkci u nediferencovaných a diferencovaných svalových buněk.

Metodika: Myší svalové buňky (myoblasty a myotuby) linie C2C12 byly exponovány 100 μM kyselině palmitové konjugované s bovinním sérovým albuminem (BSA) po dobu 18h. Viabilita buněk byla stanovena kolorimetricky pomocí MTS testu. Poškození mitochondriální DNA bylo detekováno metodou kvantitativní PCR. Mitochondriální respirace byla měřena na analyzátoru Seahorse XF24. Pro statistickou analýzu dat byla použita ANOVA a t-test.

Výsledky: Ve srovnání s kontrolní skupinou inkubovanou pouze s BSA docházelo při inkubaci s kyselinou palmitovou k buněčné smrti nediferencovaných myoblastů ($p < 0,001$), nikoliv však diferencovaných myotub. Inkubace s kyselinou palmitovou vedla v porovnání s kontrolní skupinou ke snížení relativní amplifikace mitochondriální DNA u myoblastů z $2,48 \pm 0,10$ na $2,12 \pm 0,11$ ($p < 0,01$) a u myotub z $8,43 \pm 0,38$ na $7,36 \pm 0,35$ ($p <$

0,01). U obou buněčných typů byla po expozici kyselině palmitové detekována mitochondriální dysfunkce, stanovená na základě hodnocení celé řady parametrů mitochondriální respirace.

Závěr: Kyselina palmitová je již při nízké koncentraci ($100\mu\text{M}$) toxická pro nediferencované myoblasty, nikoliv však pro diferencované myotuby. Tato rezistence myotub je zřejmě dána jejich větší odolností vůči apoptóze. U obou buněčných typů však dochází k poškození mitochondriální DNA a zhoršení mnoha parametrů mitochondriální respirace. Poškození mitochondriální DNA v buňkách kosterního svalu může být jednou z iniciálních událostí, vedoucích k narušení oxidačního metabolismu a je možným vysvětlením mechanismu působení nasycených VMK.

EFEKT KRÁTKODOBÉHO ZVÝŠENÍ KONCENTRACE MASTNÝCH KYSELIN V KRVI NA PROZÁNĚTLIVÝ STAV ORGANISMU

Eva Czudková

Vedoucí práce:

*doc. MUDr. Vladimír Štich, Ph.D., Mgr. Lenka Rossmeislová, Ph.D.;
Ústav tělovýchovného lékařství 3. LF UK*

Úvod: Obezita je spojena s prozánětlivým stavem organismu. Tento prozánětlivý stav je charakterizován zvýšením plazmatických hladin prozánětlivých cytokinů a proteinů akutní fáze. Ke zvýšení plazmatických hladin přispívá zvýšená sekrece těchto látek tukovou tkání (TT) obesních jedinců. Zdrojem prozánětlivých cytokinů v TT jsou nejen adipocyty a jejich prekuzory, ale i imunitní buňky, zejména makrofágy. Infiltrace makrofágů v TT je u obézních jedinců zvýšena. Řada studií prováděných na tkáňových kulturách, zvířecích i lidských modelech in vivo naznačuje, že zvýšená infiltrace makrofágů v TT může být iniciována vyšší hladinou mastných kyselin (MK) v krvi a v TT.

Cíl: Charakterizovat vliv krátkodobého zvýšení koncentrace MK v krvi - vyvolaného kontinuální infuzí Intralipidu - na aktivaci monocytů a T lymfocytů v krvi a jejich infiltraci do podkožní TT u obézních žen.

Metodika: Studie se zúčastnilo 9 obézních žen (věk 36,7 let $\pm 2,7$; BMI 32,0 kg/m² $\pm 1,0$) bez jiných zdravotních potíží a bez farmakoterapie. Zvýšení koncentrace MK v krvi bylo dosaženo infuzí 20% Intralipidu (Fresenius Kabi) rychlostí 60ml/hod trvající 7 hodin. Vzorky krve a abdominální podkožní TT byly odebrány před začátkem a na konci infuze. Odběry TT byly provedeny pomocí jehlové biopsie. Část TT (0,5-1g) byla použita pro okamžitou izolaci buněk stromo-vaskulární frakce

(SVF) kolagenasovou digescí. Krev a buňky SVF byly následně použity pro analýzu průtokovou cytometrií. Monocyty a makrofágy byly detekovány fluorescenčně značenými protilátkami proti CD45, CD14, CD16, TLR2, TLR4 a CD206 a T lymfocyty protilátkami rozeznávajícími CD45, CD3, CD4 a CD8. Další část TT (cca 0,15g) byla použita pro izolaci celkové RNA a následnou analýzu hladin mRNA pomocí Real Time PCR. Sledovány byly hladiny mRNA pro CCL5, CD3, CD14, CD36, MCP1 a TLR 4.

Výsledky: Vlivem krátkodobého zvýšení koncentrace MK nedošlo k významným změnám v procentuálním zastoupení CD45/14 pozitivních buněk (monocyty, makrofágy) v krvi ani v TT. Stejně tak se v krvi ani v TT nezměnilo zastoupení buněk exprimujících imunoaktivační markery (TLR2, TLR4). Zvýšení MK nicméně vedlo k významnému zvýšení počtu Th lymfocytů (CD45/CD3/CD4) v krvi ($p < 0,05$). Tento trend byl patrný i v TT, ale nedosáhl statisticky významné úrovně. Zastoupení Tc lymfocytů se neměnilo v krvi ani v TT. Pomocí RT-PCR byl zjištěn signifikantní vzestup hladin mRNA TLR 4 ($p < 0,01$), MCP1 ($p < 0,05$) a CD 36 ($p < 0,05$) v TT.

Diskuse a závěr: Výsledky nepodporují hypotézu o účinku krátkodobého zvýšení koncentrace MK v krvi na chemoatrakci makrofágů do TT. Intervence však vedla k nárůstu CD4 pozitivních Th lymfocytů v krvi, což by mohlo nasvědčovat tomu, že tato buněčná populace reaguje na vyšší hladiny MK jako první. Nelze vyloučit, že ke zvýšené infiltraci Th lymfocytů do TT stejně jako k aktivaci makrofágů v TT dochází při delší expozici vyšším hladinám MK. O tom, že zvýšená hladina MK iniciuje v TT změny, které mohou vést ke zvýšení infiltrace makrofágů do TT svědčí změny na úrovni transkripce: zvýšená hladina mRNA exprese chemoatraktantu MCP1 stejně jako zvýšená mRNA exprese TLR4 a CD36, tedy markerů přímo s MK interagujícími.

ROČNÍ A DVOULETÝ FOLLOW-UP PACIENTŮ PO PERKUTÁNNÍ NÁHRADĚ AORTÁLNÍ CHLOPNĚ SYSTÉMEM COREVALVE V KARDIOCENTRU FNKV

Jakub Sulženko

Vedoucí práce: MUDr. Petr Toušek, Ph.D.

III. interní-kardiologická klinika 3. LF UK a FNKV

Úvod: Aortální stenóza je nejčastější získanou chlopenní vadou, která se vyskytuje především u starších pacientů s dalšími komorbiditami. Až jedna třetina těchto pacientů je kontraindikována k chirurgické náhradě aortální chlopně vzhledem k velkému riziku operace. Přežívání konzervativně léčených pacientů se pohybuje pak okolo 2 let. Pro tuto skupinu pacientů se v poslední době nabízí možnost katetrizační - perkutánní implantace aortální chlopně (Transcatheter aortic valve implantation - TAVI). V současnosti dochází k rychle stoupajícímu počtu těchto výkonů. Přestože je tento výkon technicky proveditelný u více než 90% pacientů s poměrně dobrými krátkodobými klinickými výsledky, dat o jejich středně až dlouhodobém osudu je zatím pomálu.

Cíl: Zhodnotit osud pacientů jeden až dva roky po perkutánní náhradě aortální chlopně (TAVI) systémem CoreValve Medtronic v našem centru.

Metodika: V období od dubna 2009 do prosince 2011 bylo na našem pracovišti provedeno 56 TAVI systémem Medtronic CoreValve u pacientů s významnou aortální stenózou na základě rozhodnutí kardiotymu (44,6% mužů, průměrný věk 79+7 let, průměrné EuroScore 23,21+12). Pacienty jsme sledovali 1, 6, 12 a 24 měsíců po zákroku. Endpointy této studie jsme standardizovali dle definic Valve Academic Research Consortium (VARC) pro hodnocení komplikací u klinických studií TAVI.

Výsledky: Technická úspěšnost v celém souboru byla 98,2 %, celková 30-denní mortalita byla 1,8 %. V okamžiku sepsání

tohoto abstraktu máme k dispozici jednoletý follow-up u 40 pacientů a z toho u 15 i dvouletý follow-up. Celková jednoroční mortalita činila 7,5% (3 pacienti). Dvouletá mortalita u skupiny 15 pacientů s dvouletým follow-upem činí 20%. Z dalších sledovaných endpointů byl do 30-ti dnů zaznamenán jeden případ infarktu myokardu (2,5%), jeden případ embolizační neurologické příhody (2,5%), 2 případy život ohrožujícího krvácení (5%), 3 případy závažné vaskulární komplikace (7,5%) a 25% pacientům byl nově implantován kardiostimulátor. Od 30-ti dnů do jednoho roku od implantace pak byla zaznamenána u 5% pacientů TIA, u 2,5% pacientů IM, u 2,5% vaskulární komplikace a jeden případ (2,5%) endokarditidy. U pacientů s dvouročním follow-upem jsme žádné sledované endpointy v období od 1. do 2. roku sledování nezaznamenali. Na studentské vědecké konferenci budou prezentovány výsledky aktualizované k datu konference.

Závěr: Množství periprocedurálních komplikací a komplikací zaznamenaných během následného ročního a dvouletého sledování je poměrně nízké a ukazuje bezpečnost této procedury indikované u pacientů příliš rizikových k chirurgické náhradě aortální chlopně.

HODNOCENÍ MARKERŮ APOPTÓZY U AKUTNÍHO INFARKTU MYOKARDU

Elena Teringová

Vedoucí práce: MUDr. Petr Toušek, Ph.D.

III. interní-kardiologická klinika 3. LF UK a FNKV

Úvod: Ischemicko-reperfuzní postižení u akutního infarktu myokardu (AIM) vede vedle nekrózy i k procesu apoptózy myocytů. Podíl rozsahu apoptózy a nekrózy u pacientů po perkutánní koronární intervenci (PCI) pro AIM nebyl doposud v klinické praxi přesně objasněn.

Cíl: Analyzovat sérové hladiny pro-apoptotických markerů Fas a TRAIL u pacientů s ohledem na typ AIM (nonSTEMI vs STEMI) a zjistit korelaci mezi hodnotou markerů apoptózy a maximální hodnotou troponinu.

Metodika a výsledky: U 226 konsekutivních pacientů (průměrný věk 67+12) podstupujících PCI pro AIM byla stanovena sérová koncentrace Fas a TRAIL pomocí ELISA metody. Byly porovnány rozdíly u skupiny pacientů se STEMI a non-STEMI a byla provedena statistická analýza k učení korelace mezi hodnotou pro-apoptotických markerů a maximální hodnotou troponinu jako ukazatele nekrózy. Mezi oběma skupinami, které se v klinické charakteristice lišily věkem, pohlavím, zastoupením DM, art. hypertenze a clearance kreatininu (STEMI vs non-STEMI: věk 63+12 vs 70+11, $p < 0,001$; pohlaví – mužské 75% vs 63%; $p < 0,01$, DM 19% vs 31%, $p < 0,02$; hypertenze 42% vs 69%, $p < 0,001$; clearance kreatininu 1,7+0,7 vs 1,5+0,7, $p < 0,005$) byl zjištěn rozdíl v hladině sérových markerů Fas (STEMI 6515+2271 vs nonSTEMI 7720+2889 pg/ml, $p < 0,001$) i TRAIL (51+26 vs 65+42 pg/ml, $p < 0,002$). Ejekční frakce u STEMI a nonSTEMI v průběhu hospitalizace byla 48+12 vs 49+13%, $p = \text{NS}$, respektive. Byla zjištěna reverzní korelace mezi maximální hodnotou troponinu a sérovou koncentrací Fas (r

-0,304, $p < 0,001$) a TRAIL ($r -0,334$, $p < 0,001$).

Závěr: U pacientů po PCI pro akutní infarktu myokardu byla zjištěna reverzní korelace mezi hodnotami markerů apoptózy a maximálními hodnotami troponinu. Pacienti s nonSTEMI mají větší rozsah apoptózy než pacienti se STEMI. Vliv rozsahu apoptózy na dlouhodobou prognózu pacientů by měl být předmětem dalšího výzkumu.

IDENTIFIKACE NOVÝCH MOLEKULÁRNÍCH MARKERŮ PRO SLEDOVÁNÍ MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

Tereza Jančušková

Vedoucí práce: MUDr. Soňa Peková, Ph.D.

Laboratoř molekulární diagnostiky, Chambon s.r.o.

Úvod: Akutní myeloidní leukémie (AML) představují heterogenní skupinu maligních onemocnění krvetvorby s různou prognózou. Díky této různorodosti AML nelze s jistotou predikovat odpověď pacienta na léčbu. Proto je velmi důležité sledovat množství zbytkové maligní populace buněk po léčbě, tzv. minimální reziduální nemoc (MRN). K detekci MRN se běžně využívají rekurentní cytogenetické abnormality a mutace v hematologicky významných genech, které jsou rutinním screeningem zjišťovány přibližně u poloviny pacientů s AML. Z tohoto důvodu je velmi žádoucí identifikovat nové specifické markery leukemických blastů, které budou sloužit ke sledování MRN u pacientů, u nichž nebyla nalezena žádná ze standardně vyšetřovaných aberací.

Cíl: Naším cílem bylo vyvinout zcela jedinečný přístup, který bude sloužit nejen k identifikaci unikátních klon-specifických markerů, ale také k jejich převedení z cytogenetické úrovně (chromozomové) na úroveň molekulární (nukleotidovou). Finálním krokem je příprava Real-Time PCR eseje pro specifické monitorování MRN, která umožní s vysokou citlivostí sledovat dynamiku maligní populace buněk v odpovědi na léčbu pacienta.

Metodika: V rámci studie jsme testovali dva různé přístupy. Pro oba byla nutná identifikace derivovaného chromozomu, a to pomocí technik molekulární cytogenetiky, zejména mnohobarevné fluorescenční in situ hybridizace/mnohobarevného pruhování chromozomů (mFISH/mBAND). První přístup spočíval v mapování derivovaného chromozomu pomocí

multiplexní hybridizace fluorescenčně značených sond (BAC-FISH). Pro vyšší rozlišení byly naznačené sondy aplikovány na linealizovaná vlákna DNA (molecular combing, fiber-FISH). Druhým nástrojem byla mikrodisekce derivovaných chromozomů a následné sekvenování diskovaného materiálu na platformě GS Junior. Popsaná metodika byla použita na buněčné linii K562 nesoucí derivovaný chromozom 10, a také na buňkách kostní dřeně pacientů s AML.

Výsledky: S použitím cytogenetických a molekulárně-biologických přístupů jsme zamapovali unikátní chromozomovou translokaci der(10)t(3;10)(p21.3;q23) až na úroveň jednotlivých nukleotidů a identifikovali fúzané geny CDC25A (intron 2) a GRID1 (intron 4).

Závěr: Námi vyvinutý výše popsáný postup identifikace unikátního molekulárního markeru v leukemických blastech pacientů s AML lze využít pro sledování MRN v rutinní klinické praxi. Tento laboratorní přístup k nemocným zcela naplňuje naši představu o personalizované medicíně. Časová náročnost uvedené molekulární techniky umožňuje identifikovat unikátní klon-specifický znak leukemické populace buněk již za 6 týdnů od stanovení diagnózy, což je dostatečný časový úsek pro přípravu pacient-specifické Real-Time PCR eseje pro sledování MRN.

NANOTECHNOLOGIE V INTENZIVNÍ PÉČI: INTRAVASKULÁRNÍ BIOKOMPATIBILITA UHLÍKOVÝCH NANOMATERIÁLŮ - UHLÍKOVÉ NANOTUBY A KREVNÍ DESTIČKY

Jana Šemberová

*Vedoucí práce: doc. MUDr. Zbyněk Straňák, CSc., MBA
Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FNKV, Ústav pro péči o matku a
dítě v Podolí*

Uhlíkové nanotuby patří v současnosti mezi nejdůležitější nanomateriály využívané v biologii a medicíně. Vyznačují se unikátními mechanickými a fyzikálně-chemickými vlastnostmi, jako je vysoká pevnost, pružnost a výborná vodivost při minimálních rozměrech. To z nich dělá velmi atraktivní materiály pro použití v různých oblastech biomedicíny, z nichž mnohá zahrnují přímý kontakt s krví a přítomnost nanotub v intravaskulárním prostředí. V organismu se však mohou ocitnout i z jiné příčiny – po průniku tkáněmi z kontaminovaného okolního prostředí. Výzkum intravaskulární biokompatibility těchto materiálů je tedy klíčový pro zajištění bezpečnosti jejich dalšího praktického použití. V naší studii jsme se věnovali vlivu strukturálně odlišných uhlíkových nanotub na krevní destičky a porovnávali ho s efektem nanočástic amorfního uhlíku, fullerenu C₆₀, fullerenolu C₆₀(OH)₂₄ a polystyrenových nanokuliček o standardní velikosti. Agregací jsme prokázali, že uhlíkové nanotuby způsobují agregaci krevních destiček v lidské plasmě, přičemž míra agregace rostla s koncentrací nanotub. Polystyrenové nanokuličky a ani fulleren, jehož molekula má kulovitý tvar, agregaci krevních destiček nevyvolával. Analýza průtokovou cytometrií potvrdila, že kontakt s uhlíkovými nanotubami vede k aktivaci destiček, potvrzenou zvýšenou expresí aktivačních povrchových markerů CD62P a CD63 a dále uvolněním CD62P a CD63 pozitivních mikroparticulí. Elektronová mikroskopie (rastrovací a transmisní elektronová mikroskopie) potvrdila, že u krevních destiček po kontaktu s uhlíkovými

nanotubami dochází k morfologickým změnám typickým pro aktivaci. Jejich tvar se mění z klidového diskovitého na aktivovaný - kulovitý s pseudopodiemi, membránovými nerovnostmi a dochází k uvolnění membránových mikropartikulí. Fluorescenční mikroskopie za použití indikátoru FURA-2AM prokázala, že kontak destiček s uhlíkovými nanotubami vede k rychlému zvýšení hladiny nitrobuněčného vápníku. Pozorované zvýšení nitrobuněčné koncentrace vápenatých iontů bylo inhibovatelné blokátory kalciových kanálů SKF 96365 a 2-APB. To naznačilo, že zvýšení hladiny nitrobuněčného vápníku není způsobeno pouhým mechanickým narušením buněčné membrány krevních destiček nanotubami. Při dalším zkoumání tohoto jevu jsme byli schopni dokumentovat průnik uhlíkových nanotub plasmatickou membránou destičky bez jejího zjevného poškození a dále i interakci nanotub se strukturou densního tubulárního systému. Elektronová a imunofluorescenční mikroskopie prokázala, že tato interakce je zodpovědná za uvolnění nitrobuněčných zásob vápníku z densního tubulárního systému, které vede k otevření membránových vápníkových kanálů a aktivaci krevních destiček. Tento proces byl doprovázen shlukováním molekul STIM1 s molekulami proteinu Orai1 v cytoplasmatické membráně destiček, což prokázalo aktivaci mechanismu na zásobách závislého vstupu vápníku do buňky (store-operated Ca^{2+} entry (SOCE)). V předložené práci dokazujeme, že uhlíkové nanotuby způsobují aktivaci a agregaci krevních destiček a jsou tedy značně protrombogenní. Navíc se nám podařilo objasnit molekulární mechanismus aktivace krevních destiček uhlíkovými nanotubami. Tato zjištění mají zásadní význam pro hodnocení biokompatibility uhlíkových nanomateriálů s krví a jejich použití v biologii a medicíně.

MORFOLOGIE PŘEDNÍHO SEGMENTU OKA PŘED A PO OPERACI KATARAKTY

Alina Dana Raileanu

Vedoucí práce: MUDr. Jara Hornová, CSc.,
Oftalmologická klinika 3. LF UK FNKV

Cíl: Zhodnotit vliv operace katarakty na morfometrii předního segmentu oka (PS) a na výši nitroočního tlaku (NT).

Materiál a metodika: Na oční klinice 3. LF UK a FNKV Praha jsme měřili pomocí přístroje Pentacam 45 očí 45 pacientů, 27 žen a 18 mužů v rozmezí od 50 do 90 let. Soubor byl rozdělen do dvou skupin. V první skupině bylo 33 očí 33 pacientů, kteří měli pouze kataraktu. Druhou skupinu tvořilo 12 očí 12 pacientů s glaukomem. V této skupině bylo 7 očí 7 pacientů s glaukomem otevřeného úhlu (POAG) a 5 očí 5 pacientů s glaukomem úzkého úhlu (PACG). Hodnotili jsme tyto parametry PS oka: hloubku a objem přední komory, iridokorneální úhel, tloušťku rohovky a hodnoty NT před operací katarakty a 3 týdny po fakoemulsifikaci čočky.

Výsledky: Ve skupině pacientů, kteří měli pouze kataraktu, se průměrně přední komora prohloubila o 1,80 mm, objem se zvětšil o 55,73 mm³, iridokorneální úhel se rozšířil o 12,50°, CCT se zvětšila o 12,30 μm a NT klesl o 1,03 mm Hg. Ve skupině POAG se průměrně přední komora prohloubila o 2,11 mm, objem se zvětšil o 53,14 mm³, úhel se rozšířil o 10,20°, CCT se zvětšila o 9,86 μm a NT klesl o 2,71 mm Hg. Ve skupině PACG se průměrně přední komora prohloubila o 2,39 mm, objem se zvětšil o 65,40 mm³, úhel se rozšířil o 18,66°, CCT se zvětšila o 47,80 μm a NT klesl o 1,20 mm Hg.

Závěr: U všech pacientů měla operace katarakty vliv na prohloubení přední komory i na snížení NT. Z našeho měření vyplývá, že 3 týdny po operaci katarakty není ještě plně

stabilizován přední segment oka i výše NT. Proto naše pacienty sledujeme nadále.

ROLE NKT V IMUNITNÍ REAKCI PROTI HERPETICKÝM VIRŮM**Lucie Nováková***Vedoucí práce: MUDr. Jan Novák, Ph.D.**Ústav imunologie 3. LF UK*

Úvod: Imunitní reakce proti herpetickým virům je při primoinfektu vedena NK buňkami. Imunitní dozor nad viry perzistujícími v těle po primární infekci je zajištěn buňkami adaptivní imunity-především T lymfocyty. Zjišťovali jsme, jakou roli v těchto reakcích hrají NKT buňky. NKT buňky jsou relativně nově objevená buněčná populace, která díky svým schopnostem produkovat široké spektrum cytokinů a stimulovat a inhibovat imunitní buňky hraje pravděpodobně důležitou roli v mnoha typech imunitních reakcí.

Cíl: Zjistit, zda se NKT buňky uplatňují v imunitní reakci proti herpetickým virům.

Pacienti: Jedinci s opakovanou reaktivací herpes zoster (pásový opar) versus jedinci s jedinou infekcí herpes zoster (plané neštovice) a jedinci s opakovanými infekcemi herpes simplex.

Metody: Analýza počtu NKT buněk, jejich subpopulací a povrchových znaků. Analýza produkce cytokinů intracytoplazmatickou detekcí cytokinů po ex vivo restimulaci. Vše analyzováno průtokovou cytometrií.

Výsledky: Pacienti s často relabujícími infekty mají méně NKT buněk. Při akutních reaktivacích NKT buňky zvyšují produkci TNF- α a mění způsob exprese NK znaků. Zvyšují expresi NKG2D a CD158a, snižují expresi NKG2A. Všechny tyto jevy mají potenciál suprimovat herpetické infekce a byly již pozorovány u klasických NK buněk.

Závěr: NKT buňky: 1. se uplatňují v imunitní reakci proti

herpetickým virům; 2. hrají roli především v časných fázích imunitní odpovědi, tj. ve fázi imunitní reakce zajišťované vrozenou imunitou; 3. obranu proti herpetickým virům zajišťují produkcí TNF- α a hyperexpresí NKG2D.