



Vědecký program středa 23. 4. 2008

10.30

ZAHÁJENÍ

Ondřej Hrušák, děkan UK 2. LF

Sekce 1

10.40–12.10

Předsedající: O. Hrušák, J. Trka

**THE LEUKEMIAS OF DOWN SYNDROME AS A MODEL FOR
LEUKEMOGENESIS**

30´

Shai Izraeli

Sheba Medical Center and Tel Aviv University, Israel

1 TREATMENT WITH VALPROIC ACID RESTORES DIFFERENTIATION IN AML1/ETO-POSITIVE LEUKAEMIC CELLS

Zapotocky M. (1), Starkova J. (1), Mejstrikova E. (1), Smetana K. (2),
Trka J. (1)

1 – Department of Paediatric Haematology and Oncology, Charles
University, 2nd Medical School, Prague, Czech Republic; 2 – The Institute
of Haematology and Blood Transfusion, Charles University, 1st Medical
School, Prague, Czech Republic

Školitel: prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

2 VÝSKYT CHROMOSOMÁLNĚ INTEGROVANĚHO HHV6 U DĚTÍ LÉČENÝCH PRO ALL A AML

Petr Hubáček (1, 2), Kateřina Mužíková (1), Alena Hrdličková (2), Ondřej
Cinek (2), Hynčicová K (2), Sedláček P. (1), Starý J. (1)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, 2 –
Laboratoř molekulární genetiky, Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Petr Goetz





3 DETEKCE ETIOPATOGENETICKÝCH ZMĚN U DĚTSKÉ AKUTNÍ LYMFBLASTICKÉ LEUKEMIE (ALL): OD PRELEUKEMIE K DIAGNOSE A OD DIAGNOSY K RELAPSU ONEMOCNĚNÍ.

Prouzová Z. (1, 2), Kalina T. (1, 2), Mužíková K. (1, 2), Zemanová Z. (3), Rahmatová Š. (4), Trka J. (1,2) a Zuna J. (1,2)

1 – Childhood Leukemia Investigation Prague, 2 – Klinika dětské hematologie a onkologie, FNM a 2. lékařské fakulty UK, 3 – Centrum nádorové cytogenetiky VFN a 1. lékařské fakulty UK, 4 – Ústav hematologie a krevní transfúze

Školitel: MUDr. Jan Zuna, Ph.D.

4 DECREASED PERIPHERAL BLOOD DENDRITIC CELLS PREDICT THE ONSET OF ACUTE GRAFT VERSUS HOST DISEASE

Horváth, R. (1), Budinský, V. (1), Kayserová, J.(1), Kalina, T. (2), Formánková, R. (2), Starý, J. (2), Bartůňková, J. (1), Sedláček, P. (2), Spisek, R. (1)

1 – Institute of Immunology, 2 – Department of Pediatric Hematology and Oncology, Charles University, 2nd Medical School, University Hospital Motol

Školitel: MUDr. Radek Špíšek. Ph.D.

POSTEROVÁ SEKCE 1 (J. Zuna, B. Fišárková)

12.10–13.10

Postery – příspěvky č. 1–17

Sekce 2

13.10–14.30

Předsedající: J. Hort, M. Vízek

VYŠETŘENÍ PAMĚTI U ALZHEIMEROVY CHOROBY

15'

Jakub Hort

Neurologická klinika UK 2. LF a FN v Motole





5 ANALÝZA SPÁNKOVÝCH VIDEO-EEG A PSYCHOLOGICKÉHO PROFILU U DĚTÍ S VÝVOJOVOU DYSFÁZÍÍ

Neuschlová L. (1), Štěrbová K. (2), Žáčková J. (3), Komárek V. (4)
1 – Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol, 2 – Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol, 3 – Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol, 4 – Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol
Školitel: Doc. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

6 VYŠETŘENÍ GENU PRO LAMIN A/C U ČESKÝCH PACIENTŮ S CMT2 A AD EDMD.

Laššuthová P. (1), Baránková L. (2), Maříková T. (3), Kraus J. (1) a Seaman P. (1)
1 – DNA Laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2 – Neurologická klinika, 3 – Ústav biologie a lékařské genetiky
Školitel: Doc. MUDr. Pavel Seeman Ph.D.

7 PHOTOPERIODIC ENTRAINMENT OF THE CIRCADIAN CLOCK IN THE MICE SCN

S. Sosnienko, K. Mateju, M. Sladek, H. Illnerova and A. Sumova
Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague
Školitel: PharmDr. Šumová A, CSc.

8 IZOLACE LYMFOCYTŮ KOSTNÍ DŘENĚ PŘES HUSTOTNÍ GRADIENT NENÍ ÚČINNÁ.

Rozehnalová J. (1), Mužíková K. (1), Kalina T. (1), Hrušák O. (1)
1 – CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FNM
Školitel: Doc. Ondřej Hrušák, Dr. Tomáš Kalina

9 VLIV INTENZIVNÍ FYZICKÉ ZÁTĚŽE NA CÍRKULUJÍCÍ DENDRITICKÉ BUŇKY

Suchánek O. (1), Bočínská H. (2), Budínský V. (1), Kolář P. (2), Bartůňková J. (1)
1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol v Praze, 2 – Klinika rehabilitace 2. LF UK a FN v Praze
Školitel: prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

Přestávka 14.30–14.45





Sekce 3
Předsedající: J. Šimša, R. Špíšek

14.45–16.00

ČESKÝ LÉKAŘ V IRSKU. JÍT ČI NEJÍT?

15'

Jan Janota

Novorozenecké oddělení, Fakultní Thomayerova nemocnice
s poliklinikou

10 PENDRED SYNDROME AMONG PATIENTS WITH CONGENITAL HYPOTHYROIDISM DETECTED BY NEONATAL SCREENING-IDENTIFICATION OF TWO NOVEL *PDS/SLC26A4* MUTATIONS

Banghova K. (1), Al Taji E. (2), Cinek O. (1), Novotna D. (3), Zapletalova J. (4), Hnikova O. (2) and Lebl J. (1)

1 – Department of Paediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 2 – Department of Paediatrics, 3rd Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 3 – 2nd Department of Paediatrics, University Hospital in Brno, 4 – Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Palacky University in Olomouc

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

11 V MALFORMOVANÉ MOZKOVÉ KŮŘE U PACIENTŮ S FOKÁLNÍ KORTIKÁLNÍ DYSPLÁZIÍ JE SNÍŽENÁ DENSITA CALRETININ-IMUNOREAKTIVNÍCH NEURONŮ.

Barinka F. (1), Druga R. (1) a Zámečník J. (2)

1 – Anatomický ústav, 2 – Ústav patologie a molekulární medicíny,
2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.





**12 GENETICKÁ ASOCIACE CROHNOVY CHOROBY V ČESKÉ
POPULACI: VYSOKÁ FREKVENCE 1007FS VARIANTY V GENU
CARD15 A VLIV TÉTO VARIANTY NA VĚK V DOBĚ DIAGNÓZY**

Hradský O. (1), Leníček M. (2), Dušátková P. (1), Bronský J. (1),
Nevoral J. (1), Valtrová V. (1), Kotalová R. (1), Szitányi P. (1), Bortlík M. (3),
Vítek L. (2), Lukáš M. (3), Cínek O. (1)

1 – Pediatrická klinika Fakultní nemocnice Motol, UK 2. LF UK, Praha;

2 – Institut klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, 1.LF UK, Praha;

3 – IV. Interní klinika, Všeobecná Fakultní nemocnice, 1. LF UK, Praha

Školitel: MUDr. Ondřej Cínek, Ph.D.

**DENDRITICKÁ BUŇKA- KLÍČOVÝ KOORDINÁTOR IMUNITNÍ
REAKCE**

15'

Radek Špíšek

Ústav imunologie, UK 2. LF



POSTERY

P1 ARTÉRIO-VENÓZNE ROZDIELY U PACIENTOV SO SEPTICKÝM SYNDRÓMOM

Durila M. (1), Jurčenko S. (1), Příkladová Z. (1), Pelichovská M. (1), Hadačová I. (2), Pacáková Z. (3), Cvachovec K. (1)

1 – Klinika anesteziologie a resuscitace FN v Motole, 2 – Oddělení klinické hematologie FN v Motole, 3 – Provozně-ekonomická fakulta, Zemědělská univerzita, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec CSc. MBA

P2 JE INDEX NO₂/X UŽITEČNÝ PRO HODNOCENÍ OXIDAČNÍHO STRESU V KONDENZÁTU VYDECHOVANÉHO VZDUCHU U CYSTICKÉ FIBRÓZY?

Fila L. (1), Chládek J. (2), Průcha M. (3) a Musil J. (1)

1 – Pneumologická klinika UK 2. LF a FN Motol, 2 – Farmakologický ústav UK LF Hradec Králové, 3 – Oddělení klinické biochemie, hematologie, imunologie a molekulární diagnostiky, Nemocnice Na Homolce

Školitel: Doc. MUDr. J. Musil, PhD.

P3 HYPERKINETICKÝ SYNDROM/PORUCHA POZORNOSTI – STUDIUM GENETICKÝCH ASPEKTŮ

Kopečková Marta (1), Paclt Ivo (2), Zagatová Veronika (2), Petrášek Jan (3)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Psychiatrická klinika, 1. LF UK a VFN, Praha, 3 – IKEM, Praha 4, Vídeňská ul. 4, 140 00

Školitel: Prof. MUDr. Petr Goetz, CSc.

P4 OXYGEN-GLUCOSE DEPRIVATION REVEALS TWO ASTROCYTIC POPULATIONS IN THE CORTEX OF GFAP/EGFP MICE: IN SITU QUANTIFICATION OF CELL VOLUME CHANGES

Jana Benešová (1–3), Olena Butenko (1–3), Helena Neprašová (1–3), Iva Prajerová (1–3), Miroslava Anděrová (2, 4), Alexandr Chvátal (2–4)

1 – 2nd Medical Faculty, Charles University, 2 – Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, AS CR, 3 – Department of Neuroscience, 2nd Medical faculty, Charles University, 4 – Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University

Školitel: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.





P5 SANACE ZDRAVÉHO DĚTSKÉHO PACIENTA V CELKOVÉ ANESTEZII

Buček A., Stanková M.

Dětská stomatologická klinika 2. LF UK

Školitel: prof. MUDr. Tatjana Dostálová, DrSc., MBA

P6 KVANTITATIVNÍ SLEDOVÁNÍ MINIMÁLNÍ RESIDUÁLNÍ CHOROBY A PROLIFERAČNÍ AKTIVITY U PACIENTŮ S LYMFOMEM Z BUNĚK PLÁŠTĚ (MCL).

Břízová H. (1), Mrhalová M. (1), Neradová M. (1), Kodet R. (1)

1 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

P7 FIRST CHILD WITH MOLECULAR GENETICALLY PROVEN LOWE SYNDROME IN THE CZECH REPUBLIC

Malina M. (1), Dušek J. (1), Stará V. (1), Cinek O. (1), Ludwig M. (2),

Seeman T. (1)

1 – Department of Pediatrics, University Hospital Motol and 2nd Medical

Faculty, Prague 2 – Department of Biochemistry – Central Laboratory,

University Hospital, Bonn

Školitel: doc. MUDr. Tomáš Seeman, CSc.

P8 HODNOCENÍ VEDLEJŠÍCH ÚČINKŮ EXPERIMENTÁLNÍ LOKÁLNÍ APLIKACE KARBOPLATINY DO KRÁLIČÍHO BULBU

Darsová D. (1), Kodetová D. (2), Pochop P. (3), Vajner L. (4), Mališ J. (5),

Kukačka J. (6) a Uhlík J. (7)

1 a 3 – Oční klinika dětí a dospělých, 2 – Ústav patologie a molekulární

medicíny, 4 a 7 Ústav histologie a embryologie, 5 – Klinika dětské

hematologie a onkologie, 6 – Ústav klinické biochemie a patobiochemie FN

Motol

Školitel: prof. MUDr. D. Dotřelová, CSc.

P9 VYUŽITELNOST CMTNS ŠKÁLY PRO SLEDOVÁNÍ PROGRESE DĚDIČNÉ NEUROPATIE CHARCOT-MARIE-TOOTH TYP 1A V PRVNÍ DEKÁDĚ ŽIVOTA

Haberlová J. (1), Seeman P. (1)

1 – Klinika dětské neurologie, DNA laboratoř UK 2. LF a FN Motol, Praha

Školitel: Školitel: doc. MUDr. Pavel Seeman, Ph.D.





P10 ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY OF HESC (CCTL14)-DERIVED NEURAL PRECURSORS DURING DIFFERENTIATION INTO A NEURAL PHENOTYPE.

Butenko O. (1), Kozubenko N. (3), Anderova M. (1, 2), Sykova E. (2, 3)
1 – Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic, 2 – Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 – Department of Neuroscience, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic
Školitel: Ing. M. Anděrova, CSc.

P11 DYNAMIKA PRŮKAZU SPECIFICKÉ BORRELIOVÉ DNA U PACIENTŮ S NEUROBORRELIÓZOU

Šedivy K. (1), Pícha. D. (1), Holečková D. (1), Moravcová L. (1), Marešová V. (1)
1 – 1. infekční klinika 2. LF UK, Fakultní nemocnice Bulovka
Školitel: doc. MUDr. V. Marešová, CSc., MUDr. D. Pícha, CSc.

P12 ASSESSMENT OF THE CONCENTRATION OF CARBOPLATIN IN THE VITREOUS OF THE RABBIT'S EYE AFTER THE INTRAVITREAL ADMINISTRATION OR THE PERIOCLAR INJECTION.

Pochop P. (1), Kukacka J. (2), Darsova D. (3), Vajner L. (4), Malis J. (5), Uhlík J. (6) and Kodetova D. (7)
1 and 3 – Department of Ophthalmology for Children and Adults, 2 – Department of Clinical Biochemistry and Pathobiochemistry, 4 and 6 – Department of Histology and Embryology, 5 – Department of Paediatric Haematology and Oncology, 7 – Department of Pathology and Molecular Medicine, 2nd Medical School, Charles University and FH Motol
Školitel: MUDr. Josef Hycl, Ph.D.

P13 EXPRESE GENU CASP-3 V POVRCHOVÉM KARCINOMU MOČOVÉHO MĚCHÝŘE A JEJÍ MOŽNÁ ROLE V PROGNOSTICE

Reiterová M. (1), Svobodová E. (1), Szakácsová M. (2), Babjuk M. (2) a Mareš J. (1)
1 – Ústav biologie a lékařské genetiky, UK 2. LF, 2 – Urologická klinika, UK 1. LF
Školitel: doc. RNDr. Jaroslav Mareš, CSc.





P14 POLYMORPHISM OF THE DELTA SUBUNIT OF RNA POLYMERASE FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Hoffmanová H. (1), Šanderová H. (2), Nyč O. (1) and Krásný L. (2)
1 – Department of Medical Microbiology (of 2nd Medical Faculty), 2 – Institute of Microbiology/Inst of Mol Genetics of the Academy of Sciences of the Czech Republic: Laboratory of Molecular Genetics of Bacteria
Školitel: MUDr. O. Nyč, Ph.D., Mgr. L. Krásný, Ph.D.

P15 PORUCHA ČICHU JAKO JEDEN Z MOŽNÝCH ČASNÝCH MARKERŮ ALZHEIMEROVY CHOROBY

Magerová H. (1), Vyhnaněk M. (1), Varjassyová A. (1), Laczo J. (1), Bojar M. (1), Hort J. (1)
1 – Neurologická klinika UK, 2. LF a FN Motol
Školitel: doc. MUDr. Matin Bojar, CSc.

P16 INHIBITORY RHO KINÁZY INHIBUJÍ REAKTIVITU PLIC NA AKUTNÍ I CHRONICKOU HYPOXII V KRVÍ PERFUNDOVANÝCH IZOLOVANÝCH PLICÍCH POTKANA

Kafka P. (1, 2), Hergert J. (1)
1 – Ústav fyziologie 2. LF UK, 2 – Klinika anesteziologie a resuscitace 2. LF UK a IPVZ, FN Motol
Školitel: prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

P17 KEFALOMETRICKÁ ANALÝZA TELERENTGENOVÝCH SNÍMKŮ

Řeháček A. (1, 2), Janega M., (1, 2)
1 – Stomatologická klinika UK 2. LF, 2 – UK 1. LF
Školitel: prof. MUDr. Tatjana Dostálová, DrSc. MBA





Vědecký program čtvrtek 24. 4. 2008

Sekce 4

10.30–12.10

Předsedající: J. Uhlík, D. Hodyc

PROGRESÍVNÍ METODY ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE, ANEB JAK NAHLÉDNOUT DOVNITŘ BUŇKY

20'

Pavel Hozák

Ústav molekulární genetiky AV ČR

13 INHIBICE RHO/RHO-KINÁZOVÉHO SYSTÉMU BRÁNÍ VAZOKONSTRIKCI V POČÁTEČNÍM STÁDIU HYPOXICKÉ PLICNÍ HYPERTENZE

Koubský K.

Ústav fyziologie, 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

14 AKTIVACE NAPĚŤOVĚ ŘÍZENÉHO KANÁLU (KCNQ) BRÁNÍ HYPOXICKÉ PLICNÍ HYPERTENZI.

Gavendová H. (1), Mizera R. (1), Herget J. (1)

1 – Ústav fyziologie, UK 2. LF

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget DrSc.

15 VLIV CHRONICKÉ KONTINUÁLNÍ HYPOXIE NA VÝSKYT ISCHEMICKÝCH KOMOROVÝCH ARYTMÍÍ U POTKANA

Rozsypálek J. (1, 2), Neckář J. (2), Zemanová L. (2), Matyášek M. (1, 2), Kolář F. (2)

1 – 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, 2 – Oddělení vývojové kardiologie, Fyziologický ústav AV ČR a Centrum výzkumu chorob srdce a cév

Školitel: Prof. RNDr. František Kolář, CSc.





16 PODÁVÁNÍ AMLODIPINU V PRVNÍM TÝDNU CHRONICKÉ HYPOXIE NEZABRÁNÍ ROZVOJI PLICNÍ HYPERTENZE, OMEZUJE VŠAK HYPERTROFII PRAVÉ SRDEČNÍ KOMORY.

Vaněk P., Křesala V., Hodyc D. a Herget J.

Ústav fyziologie 2. lékařské fakulty UK

Školitel: MUDr. Daniel Hodyc

POKROKY V DIAGNOSTICE KANDIDÁTŮ CHIRURGICKÉ LÉČBY EPILEPSIE

15'

Pavel Kršek

Dětská neurologická klinika UK 2. LF a FN v Motole

Posterová sekce 2 (O. Cinek, P. Piťhová)

12.10–13.10

Postery – příspěvky č. 18–35

Sekce 5

13.10–14.35

Předsedající: L. Rob, J. Zuna

NOVÉ TRENDY V LÉČBĚ KARCINOMŮ DĚLOŽNÍHO HRDLA

15'

Lukáš Rob

Gynekologicko-porodnická klinika UK 2. LF a FN v Motole

17 STANOVENÍ PROLIFERACE POMOCÍ ANTIGENU CD71 MŮŽE ZPŘESNIT DIAGNOSTIKU FOLIKULÁRNÍHO A CD10+ DIFÚZNÍHO VELKOBUNĚČNÉHO B-LYMFOMU V PRŮTOKOVÉ CYTOMETRII.

Kamarádová K. (1), Mandáková P. (1), Šiftancová J. (1), Stránská E. (1), Kortánková H. (1), Forejtová V. (1)

1 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.





18 GENETICKÉ ZMĚNY BUNĚČNÉ LINIE NEUROBLASTOMU VYSOKÉHO RIZIKA (HR NBL) VYVOLANÉ KULTIVACÍ S ELLIPTICINEM

Procházka P. (1), Poljaková J. (1, 2), Vícha A. (1), Stiborová M. (2)
a Eckschlager T. (1)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie UK, 2. LF a FN Motol, Praha,
2 – Katedra biochemie PŘF UK, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

19 AUTOMATICKÁ DETEKCE METASTATICKÉHO POSTIŽENÍ PLIC MIMOHRUDNÍCH NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ U DĚTÍ A MLADISTVÝCH

Polovinčák, M. (1), Dolejší, M. (2), Kybic, J. (2), Tůma, S. (1),
Čumlivská, E. (1), Adla, T. (1)

1 – Klinika zobrazovacích metod FN Motol, 2. lékařská fakulta UK,
2 – Katedra kybernetiky, Centrum strojového vnímání, FELK, ČVUT

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Neuwirth, Csc

20 PŘÍPRAVA PROTINÁDOROVÉ VAKCÍNY PRO IMUNOTERAPII KARCINOMU OVÁRIA ZA PODMÍNEK SPRÁVNÉ VÝROBNÍ PRAXE

Fučíková J. (1), Budinský V. (1), Sochorová K. (1), Bartůňková J. (1),
Špišek R. (1)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol v Praze

Školitel: MUDr. Radek Špišek, Ph.D.

VAKCINACE PROTI HPV – CO VÍME V ROCE 2008

15'

Lukáš Rob

Gynekologicko-porodnická klinika UK 2. LF a FN v Motole

Přestávka 14.35–14.50





Sekce 6
Předsedající: Z. Šumník, J. Zámečník

14.50–16.00

PEDIATRIE ZA PRAHOU ANEB HIC SUNT LEONES?

15'

Josef Gut

Dětské oddělení NsP Česká Lípa

**21 SIGNALIZACE AKT KINÁZY A EXPRESE CYKLOOXYGENÁZY II
V ČASNÝCH FÁZÍCH DIABETICKÉ NEFROPATIE**

Ždychová J. (1), Kazdová L. (2), Pelikánová T. (1) a Komers R. (1)
1 – Centrum diabetologie, 2 – Pracoviště experimentální medicíny (PEM),
IKEM, Praha

Školitel: doc. MUDr. Radko Komers, CSc.

**22 THE CORRELATION BETWEEN GENOTYPE AND PHENOTYPE IN
AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE (ADPKD)
IN CHILDREN**

Fencel F., Štekrová J. *, Bláhová K., Janda J., Seeman T.
Department of Paediatrics, Charles University in Prague, 2nd Faculty of
Medicine, University Hospital Motol, *Institute of Biology and Department
of Medical Genetics, Charles University in Prague, 1st Faculty of Medicine
Školitel: Doc. MUDr. T. Seeman, CSc.

**23 URINARY TGF BETA 1 LEVELS IN CHILDREN WITH
HYDRONEPHROSIS**

Zieg J. (1), Bláhová K. (1), Seeman T. (1), Pechová M. (2), Janda J. (1),
Matoušovic K. (3)
1 – Department of Pediatrics, 2 – Department of Clinical Biochemistry and
Pathobiochemistry, 3 – Department of Internal Medicine
Školitel: prof. MUDr. K. Matoušovic, DrSc.

NOVOROZENECKÝ DIABETES

15'

Zdeněk Šumník

Pediatrická klinika UK 2. LF a FN v Motole





POSTERY

P18 IDENTIFIKACE MUTACÍ V GENU PRO CALCIUM-SENSING RECEPTOR (CASR) U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S PORUCHOU METABOLISMU KALCIA

Obermannová B., Šumník Z., Cinek O., Lebl J.
Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol
Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

P19 SLEDOVÁNÍ ZMĚN NA OBRAZECH MAGNETICKÉ REZONANCE PŘI DIFUSNÍM AXONÁLNÍM POSTIŽENÍ U DĚTÍ A DOSPĚLÝCH

Suchánek V. (1), Neuwirth J. (2)
1 – Klinika zobrazovacích metod FN motol, 2 – Radiologická klinika FN Hradec Králové
Školitel: prof. MUDr. Jiří Neuwirth, CSc.

P20 SELEKČNÍ VÝHODA NOSIČSTVÍ MUTACE F508DEL VE VZTAHU K LAKTÓZOVÉ INTOLERANCÍ

Balašáková M., Křenková P., Norambuena P., Fialová M., Štambergová A., Macek M Jr.
Ústav biologie a lékařské genetiky
Školitel: prof. M. Macek Jr., DrSc.

P21 REGULATORY CYTOKINES IL-10 AND TGF-BETA1 IN BREAST MILK IN RELATION TO ALLERGY.

Durilová M. (1), Flajšmanová K. (1), Štechová K. (1), Čepelková M. (2), Pacáková Z. (3), Nevoral J. (1)
1 – Department of Paediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 2 – Department of Gynaecology and Obstetrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 3 – Faculty of Management and Economics, Czech University of Agriculture, Pratur
Školitel: MUDr. Kateřina Štechová, Ph.D.





P22 PREFERENČNÍ ASOCIACE NONF508DEL MUTACÍ GENU CFTR S ALELOU M470 SEKVENČNÍ VARIANTY M470V.

Piskáčková T. (1), Ciminelli B. M. (2), Bonizzato A. (3), Bombieri C. (4), Pompei F. (2), Gabaldo M. (4), Ciccacci C. (2), Begnini A. (4), Holubová A. (1), Zorzi P. (4), Macek M. Jr. (1), Castellani C. (3), Modiano G. (2), Pignatti P. F. (4)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky FNM, 2 – Department of Biology, University of Roma-Tor Vergata, Italy, 3 – Cystic Fibrosis Centre, Hospital of Verona, Italy, 4 – Section of Biology and Genetics, University of Verona, Italy

Školitel: Prof. MUDr. Milan Macek Jr., DrSc.

P23 GENOTYPOVÁ DIVERZITA KMENŮ PSEUDOMONAS AERUGINOSA IZOLOVANÝCH OD NEMOCNÝCH S CYSTICKOU FIBRÓZOU V ČESKÉ REPUBLICE

Š. Vošahlíková (1), M. Maixnerová (2), O. Cinek (1), L. Dijkshoorn (3), A. Nemeč (1,2)

1 – Pediatrická klinika, 2. LF UK, 2 – Státní zdravotní ústav, Praha, 3 – Leiden University Medical Centre, Leiden, NL

Školitel: MUDr. Ondřej Cinek, PhD

P24 VÝZNAM MUTAČNÍ ANALÝZY GENŮ RECEPTOROVÝCH TYROSINKINÁZ KIT A PDGFRALPHA U PACIENTŮ S GASTROINTESTINÁLNÍMI STROMÁLNÍMI NÁDORY

Augustináková Alena, Krsková Lenka, Hilská Irena, Břízová Helena, Kodet Roman

Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN v Motole

Školitel: Prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

P25 ABERRANT CEACAM6 ENHANCES INTEGRIN-LIGAND INTERACTIONS ON LEUKEMIC CELLS

Kanderová V. (1, 2), Hrušák O. (1, 2), Kalina T. (1, 2)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, 2 – CLIP – Cytometrie

Školitel: MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.





P26 COGNITIVE DYSFUNCTION BEYOND MEMORY IMPAIRMENT IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY PATIENTS

Amlerová J., Marusič P., Krijtová H., Tomášek M., Javůrková A.

Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol

Školitel: MUDr. P. Marusič, Ph.D.

P27 TRANSPLANTACE LEDVIN U DĚTÍ: 30 LET ZKUŠENOSTÍ VE FN V PRAZE-MOTOLE.

Vondrák K. (1), Burkert J. (2), Dušek J. (1), Dvořák P. (1), Janda J. (1), Kreisinger J. (1), Krolupper M. (3), Morávek J. (3), Seeman T. (1), Špatenka J. (4).

1 – Pediatrická klinika FNM, 2 – Kardiochirurgie, Kardiovaskulární centrum pro dospělé FNM, 3 – Klinika dětské chirurgie FNM, 4 – Transplantační centrum FNM.

Školitel: prof. MUDr. Jan Janda, CSc.

P28 EFFECT OF MUCOSAL MICROBIOTA ON TUMORIGENESIS IN THE MOUSE MODEL OF COLORECTAL CANCER

Klimesova K., Rossmann P., Kverka M., Frolova L., Hudcovic T., Tlaskalova-Hogenova H.

Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Videnska 1083, 142 20 Prague

Školitel: Prof. MUDr. Helena Tlaskalova-Hogenova, DrSc.

P29 TERAPIE BLOKÁTOREM CA KANÁLŮ – AMLODIPINEM – BRÁNÍ SNÍŽENÍ ÚČINNOSTI HYPOXICKÉ PLICNÍ VAZOKONSTRIKCE, KTERÉ JE ZPŮSOBENÉ CHRONICKOU HYPOXIÍ

Křesala V., Vaněk P., Hodyc D. a Herget J.

Ústav fyziologie 2. lékařské fakulty UK

Školitel: MUDr. Daniel Hodyc

P30 VAZEBNÉ ANALÝZY NA ČIPECH U ČESKÝCH RODIN S AUTOSOMÁLNĚ DOMINANTNÍMI DĚDIČNÝMI NEUROPATIEMI CHARCOT-MARIE-TOOTH

Brožková D. (1), Zavadáková P. (2), Ivánek R. (3), Mazanec R. (4), Haberlová J. (1), Seeman P. (1)

1 – DNA laboratoř Kliniky dětské neurologie, UK 2. LF, 2 – Department of Medical Genetics, University of Lausanne, 3 – Ústav molekulární genetiky AVČR, 4 – Neurologická klinika dospělých UK 2. LF a FNM

Školitel: Doc. MUDr. Pavel Seeman Ph.D.





**P31 OBJEKTIVIZACE ŘETĚZENÍ MYOFASCIÁLNÍCH TRIGGER POINTŮ:
ZMĚNA SPONTÁNNÍ JEHLOVÉ EMG AKTIVITY V REAKCI NA
SEGMENTÁLNĚ VZDÁLENOU PRAHOVĚ ALGICKOU PRESSURU**

Čech Z. (1), Heřman P. (2), Kraus J. (3)

1 – Klinika rehabilitace FN Motol a UK 2 LF, 2 – Ústav informatiky 2 LF,

3 – Klinika dětské neurologie FN Motol a UK 2 LF

Školitel: Doc. PaedDr. Pavel Kolář

**P32 VLIV DEPRESE NA AXONÁLNÍ ZTRÁTU U ROZTROUŠENÉ
SKLERÓZY MOZKOMÍŠNÍ**

Cihelková Š. (1) a Bojar M. (1)

1 – Neurologická klinika dospělých 2. LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

**P33 VLIV ANALOGU VITAMINU D PARIKALCITOLU NA MORFOLOGICKÉ
A FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY DENDRITICKÝCH BUNĚK**

Budínský, V. (1), Sochorová, K. (1), Rožková, D. (1), Tobiášová, Z. (1),

Špišek, R. (1), Sulková, S. (2), Bartůňková, J. (1)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol v Praze, 2 – Klinika

gerontologická a metabolická, LF UK a FN Hradec Králové

Školitel: prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

**P34 KORELACE MEZI ULTRASONOGRAFICKÝMI PARAMETRY
VYŠETŘENÍ LEDVIN, RESISTIVNÍM INDEXEM A ODHADNOUTOU
GLOMERULÁRNÍ FILTRACÍ**

Š. Burgerová (1), M. Horáčková (1), O.Schüch (1), M. Pecková (1), J.

Forejt(1), J. Pafčugová (1)

1 – Interní klinika FN Motol

Školitel: Doc.MUDr.M.Horáčková, CSc.

**P35 VÝVOJ FUNKCE PLIC U DĚTSKÝCH PACIENTŮ S FUNKČNĚ
SPOLEČNOU KOMOROU PŘED A PO TOTÁLNÍ KOREKCI (TCPC)**

Lesná P. (1), Šulc J. (1), Pohunek P. (1)

1 – Pediatrická klinika UK 2. LF a FNM

Školitel: Doc. MUDr. Petr Pohunek, CSc.





ABSTRAKTA

PŘEDNÁŠKY

1. Treatment with valproic acid restores differentiation in AML1/ETO-positive leukaemic cells

Zapotocky M. (1), Starkova J. (1), Mejstrikova E. (1), Smetana K. (2), Trka J. (1)
1 – Department of Paediatric Haematology and Oncology, Charles University, 2nd Medical School, Prague, Czech Republic; 2 – The Institute of Haematology and Blood Transfusion, Charles University, 1st Medical School, Prague, Czech Republic

Školitel: prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

Úvod: In t(8,21) acute myeloid leukaemia (AML), the leukaemogenesis is supposed to be promoted by interference with AML1 target genes' expression. Repressor complex associated with AML1/ETO fusion protein recruits class I histone deacetylases (HDAC). Valproic acid (VPA) was found to have an extensive effect on AML blasts, via inhibition of class I HDAC. It was shown previously that VPA treatment disrupts the AML1/ETO-HDAC1 complex from AML1 promoter thus leading to apoptosis at different cell lines.

Cíl: However, there is still lack of in-depth morphological and immunophenotypical proof of the hypothesized restoration of differentiation after treatment with VPA. We aimed to characterize the differentiation effect of VPA on AML1/ETO-positive leukaemic cells.

Materiál a metody: Kasumi-1 (AML1/ETO-positive) cell line and MV4-11 (MLL/AF4-positive) cells were treated with VPA. The effect of VPA on cell cycle and differentiation was examined by flowcytometry. DNA, RNA and AgNORs staining of nucleus and nucleolus were used for morphological evaluation.

Výsledky: VPA treatment of Kasumi-1 cells resulted in decreased expression of early myeloid progenitor antigens (CD33, CD34, CD117) and increased expression of antigens typical for differentiated myeloid cells (CD11a, CD11b). Morphological evaluation revealed nucleus fragmentation without chromatin condensation in VPA-treated Kasumi cells. The nucleolar morphology and cytochemistry indicated that these cells entered the ageing process and decreased proliferation activity. VPA-treated Kasumi-1 cells exhibited accumulation in G1/G0 phase and decreased proliferation. Conversely, MV4-11 cell line did not show any statistically significant differences in immunophenotype after VPA treatment. VPA treated MV4-11 cells did not show accumulation in G1/G0 phase.

Závěr: We show that treatment with VPA restores differentiation of AML1/ETO positive cells as presented by both changes in immunophenotype and morphological analysis. This observed differentiation correlates with decrease in cell cycle. We demonstrate that the effect on differentiation is specific for AML1/ETO-positive cells as it is not noticeable in leukaemic cells of non-CBF origin.

Podpora projektu: GAUK 71/2006





2. Výskyt chromosomálně integrovaného HHV6 u dětí léčených pro ALL a AML

Petr Hubáček (1, 2), Kateřina Mužíková (1), Alena Hrdličková (2), Ondřej Cinek (2), Hynčicová K. (2), Sedláček P. (1), Starý J. (1)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LFUK a FN Motol, 2 – Laboratoř molekulární genetiky, Pediatriká klinika 2. LFUK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Petr Goetz

Úvod: Chromozomální integrace šestého lidského herpesviru (CHI-HHV6) je jednou z nepříliš známých variant výskytu HHV6 v běžné populaci. Šíří se vertikálním přenosem virové DNA z rodiče na potomka a proto je virová DNA přítomna ve všech buňkách organismu. Poměr lidské a virové DNA je u CHI-HHV6 1:1. Aktivní infekce s tvorbou nových virových partikulí zatím nebyla u CHI-HHV6 prokázána, a to in vitro, ani in vivo metodami. Z klinického hlediska je proto tento stav pro pacienta nebezpečný pouze zbytečným použitím virostatik s jejich potenciálně závažnými nežádoucími účinky.

Cíl: Cílem naší retrospektivní studie bylo otestovat výskyt CHI-HHV6 na vzorcích DNA od celkem 339 pacientů léčených pro ALL či AML v jednotlivých hematooonkologických centrech ČR v letech 1995-2007.

Materiál a metody: Náhodně vybrané vzorky jednotlivých pacientů určených původně ke stanovování minimální reziduální nemoci u leukémií jsme otestovali na přítomnost HHV6 pomocí kvantitativní PCR a virovou nálož jsme normalizovali na 10 000 lidských genomických ekvivalentů. U vysoce pozitivních pacientů jsme testovali i další vzorky z průběhu terapie léčebnými protokoly a ze vzorků vlasů a nehtů. DNA byla izolována pomocí Qiagen DNA Blood Mini Kitů a Qiagen DNA Micro Kit.

Výsledky: Přítomnost HHV6 DNA jsme prokázali ve 107 vzorcích od 91 pacientů (26,8%). Významně vysokou pozitivitu HHV6 (přibližně 10 000 normalizovaných kopií) jsme detekovali u 5 pacientů naší kohorty (1,5%). Následnou analýzou jsme u 4 z těchto pacientů určili variantu A, jeden pacient měl variantu B. Přítomnost CHI-HHV6 jsme si ověřili také ve vzorcích bezkrevné tkáně (vlasy a nehty). U žádného z pacientů léčených pro ALL/AML nebyly pozorovány komplikace, které by mohl způsobovat HHV6. Ve dvou případech pacienti prodělali také alogenní HSCT bez závažných komplikací způsobeným HHV6 v potransplantačním období.

Závěr: Zjištěný výskyt CHI-HHV6 i převaha varianty A u našich pacientů je v souladu s dosud publikovanými pracemi. Vzhledem k možnému iatrogennímu poškození pacienta při podávání virostatik je třeba CHI-HHV6 v případě vysoké positivity vždy vzít v potaz a při potvrzení jeho přítomnosti léčbu ukončit.

Podpora projektu: Podpořeno VZ FNM 00064203, MŠMT0021620813





3. Detekce etiopatogenetických změn u dětské akutní lymfoblastické leukemie (ALL): od preleukemie k diagnóze a od diagnózy k relapsu onemocnění.

Prouzová Z. (1, 2), Kalina T. (1, 2), Mužiková K. (1, 2), Zemanová Z. (3), Rahmatová Š. (4), Trka J. (1, 2) a Zuna J. (1, 2)

1 – Childhood Leukemia Investigation Prague, 2 – Klinika dětské hematologie a onkologie, FNM a 2. lékařské fakulty UK, 3 – Centrum nádorové cytogenetiky VFN a 1. lékařské fakulty UK, 4 – Ústav hematologie a krevní transfúze

Školitel: MUDr. Jan Zuna, Ph.D.

Úvod: ALL je nejčastější malignitou dětského věku a je známo, že může být iniciována již během intrauterinního vývoje. Možnost vyšetření hematopoetických buněk z předchorebí na pozitivitu leukemo-specifických změn přítomných v diagnóze a sledování těchto změn během léčby nebo progresu onemocnění poskytuje reálný model etiologie a vývoje ALL. Materiál z předchorebí je však k dispozici jen vzácně a obvykle pouze ve formě zaschlých kapek novorozenecké krve (Guthrieho kartičky). My máme k dispozici unikátní viabilní materiál pupečnickové krve dvou pacientů, u kterých se ve věku 4 let manifestovala ALL.

Cíl: Naším cílem je charakterisace leukemo-specifických genotypových změn u dvou případů dětské ALL a detekce možné přítomnosti těchto klonálních znaků v pupečnickové krvi (tedy dlouho před klinickou manifestací) a zároveň jejich možná změna během léčby nebo progresu onemocnění.

Materiál a metody: Pacient 1 měl ALL z T-řady a zemřel v prvním relapsu onemocnění 11 měsíců od diagnózy. Pacient 2 měl hyperdiploidní ALL a žije v první remisi onemocnění. V diagnóze jsme našli klonální cíle na chromosomální a genomické úrovni - u obou pacientů ≥ 5 znaků, vždy u 2 jsme dosáhli vysoké citlivosti detekce 0,003% až 0,001% ve specifickém PCR systému. Na přítomnost zjištěných znaků jsme vyšetřili obě pupečnickové krve, odběry kostní dřeně z průběhu terapie a relaps u pacienta 1.

Výsledek: U pacienta 1 byla pupečnicková krev pro všechny vyšetřené znaky negativní. U pacienta 2 jsme v jednom systému získali hraničně pozitivní výsledek. U pacienta 1 jsme popsali vznik mutace v Notch1 genu mezi diagnózą a relapsem, beze změny ostatních klonálních znaků.

Závěr: Přes to, že citlivost našich metodik odpovídá publikovaným datům o prenatalním původu ALL, nedosáhli jsme ani u jednoho pacienta nezvratného průkazu preleukemického klonu v pupečnickové krvi. Důvodem negativity může být vývoj klonálních znaků během předchorebí, velmi nízké zastoupení preleukemického klonu nebo jeho vznik až v průběhu postnatálního života.

Na konkrétním příkladu vzniku mutace v Notch1 genu jsme ukázali vývoj leukemického klonu během progresu onemocnění.

Vzhledem k unikátnímu materiálu živých buněk z předchorebí vidíme nadále význam ve snaze o detekci preleukemické populace. Chystáme se vyšetřit klono-specifické znaky v buněčných subpopulacích pupečnickové krve, predilekčních pro výskyt klonu. V případě pozitivního nálezu chceme studovat vznik leukemie v myším modelu pomocí transplantace preleukemické pupečnickové krve.

Podpora projektu: GA UK 65/2006/2.LF





4. Decreased peripheral blood dendritic cells predict the onset of acute graft versus host disease

Horváth, R. (1), Budinský, V. (1), Kayserová, J.(1), Kalina, T. (2), Formánková, R. (2), Starý, J. (2), Bartůňková, J. (1), Sedláček, P. (2), Spisek, R. (1)

1 – Institute of Immunology, 2 – Department of Pediatric Hematology and Oncology, Charles University, 2nd Medical School, University Hospital Motol

Školitel: Radek Špišek

Úvod: Dendritic cells (DCs) are highly specialized antigen presenting cells that initiate and regulate immune responses. Peripheral blood DCs represent the only DCs compartment, in humans, available for direct studies and recent technological advances enabled their identification and detailed characterization. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with myeloablative conditioning represents a unique opportunity to monitor the kinetics of reconstitution of DCs and their dynamics in distinct pathologies.

Cíl: In this study we extensively analyzed kinetics and pattern of circulating DCs subsets reconstitution after myeloablative HSCT from unrelated donor. As DCs play a major role in the pathogenesis of acute graft versus host disease (GVHD), we separately analyzed patients who developed acute GVHD and compared this cohort to group with uncomplicated post-transplant course.

Materiál a metódy: 13 patients undergoing allogeneic HSCT with complete myeloablative regimen were enrolled in the study. Myeloid DCs and plasmacytoid DCs were identified by 6-color flow cytometry and their absolute numbers calculated from the white blood count multiplied by the proportion of each subset within white blood cells.

Výsledky: Peripheral blood DCs were monitored from the earliest phase of hematopoietic reconstitution until day 365 after HSCT. Both myeloid DCs and plasmacytoid DCs appeared at earliest stages after engraftment and relative numbers within white blood cells compartment peaked between days 19-25 after HSCT. Their proportion then gradually declined and absolute numbers of both DC subsets remained lower for the whole follow-up period when compared to controls. Expression of costimulatory molecules, especially CD83 and CD86 transiently increased between days 15 and 35 and then went back to low steady state levels. Interestingly, patients who developed acute graft-versus-host disease (GVHD) had significantly lower numbers of circulating DCs. The decrease in DC counts preceded onset of clinical symptoms by at least 24h and was independent of corticosteroids administration.

Závěr: Together with recently published studies, this study provides further insight into the biology of DCs in the settings of allogeneic HSCT and reveals quantification of plasmacytoid and myeloid DCs as a potential biomarker for the prediction of acute GVHD development.

Podpora projektu: This study was supported by project MSM0021620812 from The Czech Ministry of Education, grant GACR 310/08/0838 and by VZ FNM MZ00064203.





5. Analýza spánkových video-EEG a psychologického profilu u dětí s vývojovou dysfázií

Neuschlová L. (1), Štěrbová K. (2), Žáčková J. (3), Komárek V. (4)

1 – Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol, 2 – Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol, 3 – Klinika dětské neurologie UK 2. LF a FN Motol, 4 – Klinika dětské neurologie UK 2.LF a FN Motol

Školitel: Doc. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Úvod: Předmětem studie je přítomnost epileptiformní aktivity na EEG u podskupiny dětí s vývojovou dysfázií bez současného výskytu epilepsie, negativní vliv této aktivity na vývoj řeči a možnost ovlivnění rozvoje verbálních dovedností pomocí antiepileptické medikace.

Cíl: 1) zjistit incidenci epileptiformních změn v našem souboru dětí s vývojovou dysfázií
2) zjistit, zdali se liší se psychologický profil u dysfaticů s výboji na EEG od dysfaticů s normálním nálezem na EEG
3) zjistit, zdali má podávání antiepileptické terapie pozitivní vliv na vývoj řeči u dětí s epileptiformním nálezem na EEG

Materiál a metody: Soubor: vstupní vyšetření – 37 dětí s vývojovou dysfázií, věk 39–112 měsíců.

Prospektivní 6-měsíční studie – 6 dětí na testovací terapii Diazepamem s dávkou 0,5–0,7 mg/kg, 6 kontrol bez léčby.

EEG – celonoční spánková video-EEG monitorace trvající 8–13 hodin.

Psychologické vyšetření: děti do 3 let mentálního věku – Gesellova vývojová škála, děti od 3 let mentálního věku

– Stanford–Binet, IV. revize (SB-IV).

Výsledky: Epileptiformní výboje byly nalezeny u 12 dětí (32,4 %).

Ve skupině dětí hodnocených podle Gesellovy vývojové škály nebyl nalezen rozdíl v hodnotě verbálního IQ, průměrné performační IQ bylo nesignifikantně nižší ve skupině dětí bez výbojů.

U dětí hodnocených podle škály SB-IV jsme našli tendenci k horším hodnotám verbálního IQ a performačního IQ u dětí s epileptiformním nálezem, avšak s výraznou interindividuální variabilitou.

U dětí na terapii Diazepamem jsme zaznamenali výrazný pokrok v rozvoji verbálních schopností pouze u jedné dívky.

Závěr: Naše studie potvrdila vyšší výskyt epileptiformní aktivity u dětí s vývojovou dysfázií.

Z výsledků však nevyplývá jednoznačný rozdíl verbálních a nonverbálních schopností v neprospěch dětí, u nichž jsou ve spánkovém EEG nalezeny epileptiformní výboje.

Neprokázali jsme pozitivní efekt antiepileptické terapie na vývoj řečových schopností u těchto dětí. Studie může v budoucnu ovlivnit přístup k podávání antiepileptik pacientům s kognitivním deficitem, kteří mají epileptiformní nálezy na EEG, avšak netrpí epileptickými záchvaty.

Podpora projektu: grant IGA MZČR 8287-3





6. Vyšetření genu pro Lamin A/C u českých pacientů s CMT2 a AD EDMD.

Laššuthová P. (1), Baránková L. (2), Maříková T. (3), Kraus J. (1) a Seaman P. (1)
1 – DNA Laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2 – Neurologická klinika, 3 – Ústav biologie a lékařské genetiky

Školitel: Doc. MUDr. Pavel Seeman Ph.D.

Úvod: Mutace v genu LMNA, který kóduje proteiny vnitřní jaderní membrány (laminy A a C), byly nalezeny u celé řady velmi odlišných genetických onemocnění.

Cíl: V naší práci jsme analyzovali gen LMNA u dvou z nich: 1. autosomálně recesivně dědičná axonální periferní neuropatie Charcot-Marie-Tooth 2 (AR CMT2); 2. autosomálně dominantně dědičná muskulární dystrofie typu Emery-Dreifuss (AD-EDMD).

Onemocnění Charcot-Marie-Tooth typ 2 je axonální variantou dědičné sensorimotorické neuropatie. Typickými klinickými příznaky jsou časný nástup, symetrická svalová slabost a atrofie svalstva.

Muskulární dystrofie typu Emery-Dreifuss je charakterizována časnými kontrakturami loktů a Achilových šlach, svalovou slabostí a postižením srdce.

Materiál a metody: Vyšetření genu LMNA jsme uskutečnili přímou sekvenací všech 12 exonů genu LMNA a následně u vybraných pacientů navíc metodou Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA). Tato metoda může detekovat větší delece nebo duplikace, které nejsou zachytitelné sekvenováním.

Výsledky: Ve skupině dědičných periferních neuropatií (AR CMT2) jsme vyšetřili pomocí sekvenování 96 pacientů. Patogenní bioelektrické mutace nebyly prokázány u žádného z pacientů. U jednoho pacienta s těžkou formou CMT jsme prokázali 1 dosud nepopsanou mutaci v exonu 11: c. 1869 C>T (p. Arg623Cys) v heterozygotním stavu, druhou kausální mutaci se však u tohoto pacienta prokázat nepodařilo, je tedy možné, že jde o náhodný nález bez souvislosti s CMT. Ze skupiny pacientů s AR CMT2 jsme dále vybrali 50 pacientů, kterých jsme vyšetřili metodou MLPA. Žádné přestavby v genu LMNA jsme u nikoho z vyšetřených nepotvrdili.

Ve skupině AD-EDMD jsme vyšetřili 5 pacientů, kausální mutaci jsme prokázali u jednoho z nich. Dosud nepopsaná mutace c. 1157 G>T vede k aminokyselinové záměně p. Arg386Met, ale protože se nachází v poslední bázi 6. exonu genu LMNA, ruší tzv. splice consensus site a vede i k abnormálnímu vystřížení LMNA mRNA.

Závěr: Z výsledků usuzujeme, že bodové mutace a větší přestavby v LMNA genu jsou velice vzácně příčinou onemocnění CMT2 v české populaci nebo se u nich vůbec nevyskytují. Naopak, vyšetření LMNA genu je přínosné a jediné potvrzující u pacientů s AD EDMD splňujících diagnostická kritéria.

Podpora projektu: Výzkum byl proveden s podporou grantu MZČR IGA NR 8330-3.





7. Photoperiodic entrainment of the circadian clock in the mice SCN

S. Sosnienko, K. Mateju, M. Sladek, H. Illnerova and A. Sumova
Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague

Školitel: PharmDr. Sumova A, CSc.

Úvod: Under natural conditions, circadian rhythms driven by a circadian clock located within the suprachiasmatic nucleus (SCN) are entrained to the 24-h day by the light-dark (LD) cycle, mostly by the light period of day. In temperate zones duration of daylight, i.e., photoperiod, changes with the season. The molecular core clock mechanism generating the SCN rhythmicity is entrained by the photoperiod.

Cíl: The aim is to characterize the effect of photoperiod on the molecular timekeeping system within the rostral, middle and caudal part of the mice SCN. The effect of a long (L) photoperiod and a short (S) photoperiod with artificial rectangular (RA) or natural-like twilight (TW) light/dark transition on daily profiles of clock gene *Per1* and *Per2* expression and clock proteins *PER1* and *PER2* levels within the different parts of the SCN was determined.

Materiál a metody: Mice were maintained under the L photoperiod, i.e., 18h of light and 6h of darkness or the S photoperiod, i.e., 6h of light and 18h of darkness with rectangular or twilight light/dark transition. On the day of the experiment, the mice were released into constant darkness and sacrificed every 2h throughout the whole circadian cycle. Daily profiles of *Per1* and *Per2* mRNA as well as *PER1* and *PER2* protein levels were determined in the SCN by in situ hybridization and immunohistochemistry, respectively.

Výsledky: 1. Under the L photoperiod with RA light/dark transition, but not under the S, the daily profiles of *Per1* and *Per2* mRNA levels in the caudal SCN were phase advanced as compared to the profiles in the rostral SCN. The profiles of *PER1* and *PER2* protein levels were in synchrony under both L and S photoperiods.
2. Under the L photoperiod, there was no significant effect of TW vs. RA on daily profiles of *Per1* and *Per2* mRNA and protein level. Under the S photoperiod with TW, the profiles of *Per1* and *Per2* mRNA were phase advanced as compared to RA.

Závěr: All the photoperiod models affected significantly the phase, waveform, and amplitude of the rhythmic profiles of clock gene and protein expression as well as the phase relationships between the profiles within the rostral, middle and caudal mouse SCN.

Podpora projektu: The work was supported by 6th Framework Project EUCLOCK # 018741





8. Izolace lymfocytů kostní dřeně přes hustotní gradient není účinná.

Rozehnalová J. (1), Mužíková K. (1), Kalina T. (1), Hrušák O. (1)
1 – CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FNM

Školitel: Doc. Ondřej Hrušák, Dr. Tomáš Kalina

Úvod: V bílé krevní řadě rozeznáváme tři základní buněčné typy – lymfocyty, monocytů (označované společně jako mononukleární buňky) a granulocyty. Potřebujeme-li tyto buňky vzájemně oddělit, můžeme je separovat na základě jejich rozdílné hustoty. Díky tomu lze mononukleární buňky oddělit od ostatních při centrifugaci vzorku přes roztok s hustotním gradientem. Jeden z nejčastěji používaných je Ficoll. Široce se využívá pro izolaci buněk krve i kostní dřeně pro potřeby různých dalších vyšetření (např. PCR) v hematologii, imunologii a dalších příbuzných oborech již od 50. let minulého století. Je dobře známá jeho separační účinnost při izolaci buněk krve. Přestože se ficollový gradient rutinně používá i pro izolaci buněčných populací v kostní dřeni, nebyla jeho účinnost dosud ověřena. Při úvahách, nakolik separace ovlivní např. kvantitativní výsledky PCR, se vychází z neověřeného předpokladu, že tato standardní metoda je v kostní dřeni stejně účinná jako v krvi.

Cíl: Naším cílem bylo ověřit účinnost separace buněk kostní dřeně přes Ficoll.

Materiál a metody: Použili jsme 10 vzorků periferní krve zdravých dospělých dobrovolníků a 9 vzorků kostní dřeně dětí s akutní leukémií v různém stádiu léčby. Každý vzorek jsme separovali podle protokolu přes ficollový hustotní gradient. Takto jsme získali dvě vrstvy buněk – tzv. prsteneček a peletu. Prsteneček, peletu i původní vzorek jsme analyzovali pomocí průtokové cytometrie se značenými protilátkami. Stanovili jsme frakce lymfocytů, monocytů a granulocytů v každém vzorku. Dále jsme vyšetřili účinnost ficollové separace u subpopulací těchto buněk.

Výsledky: Účinnost separace se významně lišila mezi kostní dřeně a periferní krví. V periferní krvi odpovídala údajům udávaných výrobcem. Kontaminace buněk prstenečku (vrstvy mononukleárních buněk) granulocytů v našem souboru činila $3,3 \pm 3,2\%$, přičemž výrobce udává hodnotu do 5%. Naproti tomu kontaminace prstenečku granulocytů při separaci kostní dřeně byla výrazně vyšší, v našem vzorku činila $51 \pm 20\%$. Detailní analýza navíc odhalila, že účinnost metody je rozdílná u buněk v různém stádiu diferenciaci.

Závěr: Velká část granulocytů při separaci buněk kostní dřeně přes ficollový hustotní gradient zůstává v mononukleární frakci. Tento fakt je potřeba brát v úvahu při interpretaci výsledků kvantitativního PCR z ficollovaných buněk.

Podpora projektu: GAČR – 301/06/P162





9. Vliv intenzivní fyzické zátěže na cirkulující dendritické buňky

Suchánek O. (1), Bočínková H. (2), Budínský V. (1), Kolář P. (2), Bartůňková J. (1)
1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol v Praze, 2 – Klinika rehabilitace 2. LF UK a FN v Praze

Školitel: prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

Úvod: Dendritické buňky (DC) jsou profesionální antigen prezentující buňky (APC) s unikátní schopností stimulace naivních T-lymfocytů a iniciace primární imunitní odpovědi. Maturace dendritických buněk spolu s přeměnou v účinné APC nastává po styku s molekulárními strukturami spojenými s patogeny, případně účinkem různých cytokinů. Zralé DC silně zvyšují expresi MHC proteinů, kostimulačních (CD80, CD83, CD86) a adhezivních molekul a cytokinů. Fyzická aktivita ovlivňuje imunitní systém organismu v závislosti na řadě faktorů, např. trvání, velikost a charakter zátěže, metabolické a neuroendokrinní změny. Časné změny počtu a funkce základních složek buněčné imunity po sportovní zátěži byly již popsány, chování cirkulujících DC však zatím studováno nebylo.

Cíl: Cílem studie je popsat změny v zastoupení jednotlivých subpopulací DC v periferní krvi (myeloidní a plasmacytoidní) po intenzivní fyzické zátěži a zhodnotit jejich aktivační stav.

Materiál a metody: Soubor 21 prvotigových hokejistů, jejichž průměrný věk byl v době měření $27,2 \pm 5,6$ let, byl podroben odběru periferní krve 30 minut před zahájením a 30 minut po skončení intenzivní tréninkové jednotky trvající 1 hodinu. Před odběrem byl formou anamnestického dotazníku proveden základní screening monitorující případné zkreslující faktory (onemocnění, alergie, medikace). DC v periferní krvi jsme identifikovali pomocí kombinace monoklonálních protilátek jako CD45+ / lineage neg. /HLA-DR+/CD11c+/CD123- (myeloidní, mDC) a CD45+ / lineage neg. /HLA-DR+/CD11c-/CD123+ (plasmacytoidní, pDC). Aktivace DC byla sledována podle exprese kostimulačních molekul.

Výsledek: Průměrné procentuální zastoupení obou subpopulací DC bylo po zátěži statisticky významně vyšší (mDC = $0,29\% \pm 0,11\%$; pDC = $0,20\% \pm 0,08\%$) než před ní (mDC = $0,24\% \pm 0,08\%$; pDC = $0,15\% \pm 0,05\%$; $P < 0,05$). Dále jsme pozorovali signifikantní zvýšení exprese CD86, u mDC po zátěži (MFI z 121 ± 105 na 140 ± 117 ; $P < 0,003$) a statisticky signifikantní pokles exprese CD80 u pDC (MFI z 26 ± 18 na 20 ± 15 ; $P < 0,03$). U ostatních kostimulačních molekul jsme nezaznamenali statisticky významný rozdíl.

Závěr: Výsledky studie ukazují na možnou rychlou mobilizaci DC vlivem intenzivní fyzické zátěže do krevní cirkulace, čímž se imunitní systém organismu zřejmě připravuje na poškození (trauma, infekce). Změny exprese kostimulačních markerů nebyly (s výjimkou nárůstu CD86+ u mDC) jednoznačné, k jejich přesnějšímu posouzení bude třeba provést další měření.

Podpora projektu: VZ MSM 002 162 0812





10. Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening-identification of two novel *PDS/SLC26A4* mutations

Banghova K. (1), Al Taji E. (2), Cinek O. (1), Novotna D. (3), Zapletalova J. (4), Hnikova O. (2) and Lebl J. (1)

1 – Department of Paediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague,

2 – Department of Paediatrics, 3rd Faculty of Medicine, Charles University in Prague,

3 – 2nd Department of Paediatrics, University Hospital in Brno, 4 – Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Palacky University in Olomouc

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Úvod: Pendred syndrome (OMIM274600) is an autosomal recessive disorder characterised by sensorineural hearing loss and thyroid dysmorphogenesis. It is caused by mutations in ***PDS/SLC26A4* gene** (OMIM 605646) encoding for **pendrin**, an anion transporter predominantly expressed in the thyroid and in the inner ear. Hypothyroidism in Pendred syndrome can be - although rarely - present from birth and therefore diagnosed by neonatal screening.

Cíl: The study was aimed to identify patients with Pendred syndrome among a historical cohort of patients with **congenital hypothyroidism** (CH) identified by neonatal screening, and to find their mutations in the *PDS/SLC26A4* gene.

Materiál a metódy: We investigated 197 Czech Caucasian children with CH detected by the neonatal screening between 1985 and 2005. The clinical diagnosis of Pendred syndrome was based on the laboratory and sonographic signs of thyroid dysmorphogenesis (low T4/fT4 and/or high TSH, normal or increased thyroid volume) in association with sensorineural hearing loss. In subjects clinically diagnosed as Pendred syndrome, we sequenced all 21 exons and exon-intron boundaries of the *PDS/SLC26A4* gene.

Výsledky: Hearing loss was present in 10/197 children with screening-detected CH. Of these, three fulfilled the diagnostic criteria of Pendred syndrome. Genetic analysis revealed that two patients were compound heterozygotes for *PDS/SLC26A4* mutations: patient 1 carried **c.2089+1G>A / c.3G>C**, patient 2 carried **p.Tyr530His / p.Val422Asp**. Two of the four identified mutations were novel (c.3G>C in patient 1 and p.Val422Asp in patient 2). The third patient was free of mutations in the *PDS/SLC26A4* gene, representing a **phenocopy**.

Závěr: Among 197 children with screening-detected CH, we found two cases of Pendred syndrome caused by mutations in the *PDS/SLC26A4* gene. This indicates the rarity of Pendred syndrome among the causes of CH.

Podpora projektu: Supported by grants of the Czech Ministry of Education (MSM 0021620814) and GAUK 2008/2007.





11. V malformované mozkové kůře u pacientů s fokální kortikální dysplázií je snížena densita Calretinin-imunoreaktivních neuronů.

Barinka F. (1), Druga R. (1) a Zámečník J. (2)

1 – Anatomický ústav, 2 – Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.

Úvod: Fokální kortikální dysplázie (FCD) představují skupinu poruch vývoje mozkové kůry. FCD jsou častým nálezem u pacientů s farmakorezistentní epilepsií. Léčebnou metodou je resekce. Tak vzniká jedinečná možnost histopatologického zkoumání lidského epileptogenního neokortikálního ložiska.

Přibližně 20 % korových neuronů patří mezi GABAergní inhibiční interneurony. Diverzita interneuronů je podstatně větší než u pyramidových neuronů, rozeznává se více jejich specifických tříd. Jednou z nich jsou interneurony imunopozitivní na Ca-vážíci protein Calretinin (CR+). Část těchto neuronů inhibuje ostatní interneuronální třídy a tím desinhibuje pyramidové neurony.

Cíl: Cílem práce bylo zhodnotit eventuální změny density CR+ neuronů v resekatétech lidských FCD a tak přispět k poznání procesů souvisejících s epileptogenezi v mozkové kůře. Jedním z mechanismů vedoucích k epileptogenezi je nepoměr mezi excitací a inhibicí v mozkové kůře. Navazujeme tu na naši předešlou práci, kde jsme prokázali pokles density jiné třídy inhibičních interneuronů - Parvalbumin pozitivních, u pacientů s farmakorezistentní epilepsií.

Materiál a metody: Použity byly vzorky s FCD typu IA od 8 pacientů, IB od 7, 2A od 4 a 2B od 5 pacientů. Jako kontroly jsme použili vzorky neokortexu resekovaného spolu se sklerotickým hipokampem od 18 pacientů s mesiotemporální epilepsií (nMTE) a vzorky získané post mortem od 6 lidí zemřelých na nemoc nepostihující CNS. Použity byly 4 μ m tlusté řezy barvené na CR a dobarvené hematoxylinem. Densitu CR+ elementů jsme hodnotili vždy v několika oblastech u každé vzorky a vyjádřili jako počet neuronů/mm² kůry, a to celkově i zvlášť pro jednotlivé korové vrstvy. Hodnotitel (F.B.) při hodnocení neznal diagnózu jednotlivých pacientů.

Výsledky: Průměrná celková densita CR+ neuronů byla téměř identická u post mortem kontrol a pacientů s nMTE (36 respektive 35 neuronů/mm²). U jednotlivých tříd FCD byly pozorovány poklesy density – FCD IA- 26n/mm², IB- 25n/mm², IIA i IIB- 16n/mm². U všech typů vzorků byla densita CR+ neuronů nejvyšší v II. a III. korové vrstvě.

Závěr: Prokázali jsme, že v FCD dochází k poklesu density CR+ interneuronů a tento pokles je výraznější u více malformovaného typu II. Mezi jednotlivými podtypy jsme nepozorovali žádné rozdíly v densitě CR+ neuronů. Získané poznatky mohou přispět k lepšímu pochopení změn vedoucích k rozvoji epilepsie a budou použité při detailnějším studiu disorganizace neuronálních okruhů u epilepsie.

Podpora projektu: Podpořeno grantem GA UK č.7354/2007.





12. Genetická asociace Crohnovy choroby v české populaci: vysoká frekvence 1007fs varianty v genu CARD15 a vliv této varianty na věk v době diagnózy

Hradský O. (1), Leníček M. (2), Dušátková P. (1), Bronský J. (1), Nevorál J. (1), Valtrová V. (1), Kotalová R. (1), Szitányi P. (1), Bortlík M. (3), Vítek L. (2), Lukáš M. (3), Cinek O. (1)
1 – Pediatrická klinika Fakultní nemocnice Motol, UK 2. LF UK, Praha; 2 – Institut klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK, Praha; 3 – IV. Interní klinika, Všeobecná Fakultní nemocnice, 1. LF UK, Praha

Školitel: MUDr. Ondřej Cinek, Ph.D.

Úvod: Crohnova choroba (CD) představuje jednu z hlavních forem zánětlivých střevních onemocnění. U tří variant v CARD15 genu (1007fs, p.G809R, p.R702W) byla potvrzena asociace s Crohnovou chorobou v dospělém i v dětské populaci. Frekvence stejně jako přenášovaná rizika se mezi jednotlivými populacemi výrazně liší.

Cíl: Cílem naší studie bylo najít a kvantifikovat asociaci kandidátních variant v genech CARD15, TNFA a PTPN22 u českých pacientů s Crohnovou chorobou a najít rozdíl mezi podskupinou těchto pacientů diagnostikovanou v dětském a dospělém věku.

Materiál a metody: Porovnali jsme genotypické, fenotypické a alelické frekvence mezi 345 pacienty (136 diagnostikovaných v dětském a 209 pacientů diagnostikovaných v dospělém věku) a 501 nepřibuznými kontrolami. Provedli jsme genotypo-fenotypovou analýzu.

Výsledky: Nejsilnější asociaci s CD jsme našli u varianty 1007fs (OR = 4.6, 95%CI 3.0 - 7.0), dále u varianty p.G908R (OR = 2.9, 95%CI 1.5 - 5.7) a u p.R702W (OR = 1.7, 95%CI 1.0 - 2.9). U dalších variant v CARD15 genu (p.P268S, p.V955I p.N289S), stejně jako u minoritní varianty p.R620W v genu PTPN22 a minoritní varianty g.-308G>A v genu TNFA jsme asociaci nenalezli. Frekvence nosičů 1007fs se výrazně lišila mezi pacienty diagnostikovanými v dětském a dospělém věku (42% vs. 25%). Potvrdili jsme asociaci ileální formy s 1007fs variantou (OR = 5.3, 95%CI 2.2 - 13).

Závěr: Nalezli jsme neobvykle vysokou frekvenci minoritní varianty 1007fs v genu CARD15 a dále jsme ukázali silný vliv této varianty na věk v době nástupu CD a potvrdili asociaci mezi touto variantou a ileální formou onemocnění.

Podpora projektu: Práce byla podpořena výzkumným záměrem ministerstva zdravotnictví (00064203), interním grantem Fakultní nemocnice Motol, grantem univerzity Karlovy (GAUK 7660/2007) a grantem ministerstva školství (2B06155).





13. Inhibice Rho/Rho-kinázového systému brání vazokonstrikci v počátečním stádiu hypoxické plicní hypertenze

Koubský K.

Ústav fyziologie, 2. LF UK

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.

Úvod: Rho/Rho-kinázy regulují citlivost cévního hladkého svalu k intracelulárnímu Ca^{2+} . Zvyšují fosforylaci lehkého řetězce myozinu, zejména inhibicí aktivity fosfatázy myozinu. Rho/Rho-kinázy mohou být inhibovány fasudilem. Hypoxie působí influx Ca^{2+} do cytoplazmy buněk cévního hladkého svalu a následnou vazokonstrikci.

Cíl: Cílem experimentu bylo zjistit vliv senzitivity cévního hladkého svalu k Ca^{2+} na vzestup periferního odporu plicních cév v počátečním stádiu vystavení laboratorních potkanů chronické hypoxii.

Materiál a metody: Experiment byl proveden na ventilovaných izolovaných plicích laboratorního potkana perfundovaných za konstantního průtoku. Jako perfuzní roztok byl použit solný roztok s albuminem a meklufenamátem.

Byly použity 2 skupiny potkanů – kontrolní skupina ($n=6$) a skupina, která strávila 7 dní v hypoxii s 10% O_2 ($n=7$). U obou skupin byla měřena závislost perfuzního tlaku na stupňovitě se zvyšujícím průtoku (P/Q) před a po podání fasudilu ($10\mu M$ do perfuzního roztoku).

Výsledky: Závislost P/Q byla lineární ($r>0.88$). Směrnice přímky P/Q nebyla fasudilem signifikantně ovlivněna ani u jedné skupiny. Hodnota průsečíku s osou perfuzního tlaku byla u hypoxické skupiny fasudilem signifikantně snížena, a to z 2.5 ± 6.8 torr na 1.1 ± 11.3 torr ($n=7$, $P<0.01$). U kontrolní skupiny nebyla tato hodnota průsečíku fasudilem signifikantně ovlivněna.

Závěr: Inhibice Rho/Rho kináz způsobila u potkanů, kteří strávili 7 dní v hypoxii, signifikantní pokles bazálního tonu plicních cév. Součástí vazokonstrikce při chronické hypoxii je nejen influx Ca^{2+} , ale i zvýšení citlivosti hladkého svalu cév ke změně intracelulárního Ca^{2+} .

Podpora projektu: GACR 305/08/0108, Centrum kardiovaskulárního výzkumu.





14. Aktivace napětově řízeného kanálu (KCNQ) brání hypoxické plicní hypertenzi.

Gavendová H. (1), Mizera R. (1), Herget J. (1)
1 – Ústav fyziologie, UK 2.LF

Školitel: Prof. MUDr. Jan Herget DrSc.

Úvod: Inhibice napětově řízeného K⁺ kanálu (KCNQ) vyvolá v izolovaných systémových cévách vazokonstrikci, aktivace způsobí vazodilataci (Yeung, 2007). V izolovaných arteriích plicního řečiště vyvolá blokátor kanálu výraznou vazokonstrikci (Joshi, 2006). Chronická hypoxie působí hypoxickou plicní hypertenzi, jejíž součástí je vazokonstrikce způsobená depolarizací hladkých svalových buněk plicních cév. Aktivace K⁺ kanálu bude působit proti této depolarizaci.

Cíl: Cílem pokusu je zjistit, zda podání aktivátoru KCNQ kanálu Flupirtine sníží tonus plicních cév u zvířat vystavených 5denní hypoxii.

Materiál a metody: Na preparátu izolovaných ventilovaných plic perfundovaných solným roztokem s albuminem jsme měřili změny perfuzního tlaku v závislosti na změnách průtoku perfuzátu u 4 skupin potkanů: a.skupina vystavená 5denní hypoxii (10%O₂), u níž byl podán Flupirtine; b.skupina hypoxických kontrol; c.skupina normoxická s Flupertinem; d.skupina normoxických kontrol. Byly sestaveny křivky závislosti mezi tlakem a průtokem (P/Q), které byly následně porovnány pomocí ANOVA.

Výsledky: Závislost P/Q byla lineární (medián r²=0,98). P/Q u hypoxické skupiny s Flupirtinem má signifikantně nižší sklon než přímka kontrolní hypoxické skupiny. Mezi skupinami normoxickými s Flupirtinem a skupinami normoxických kontrol nebyl ve sklonu P/Q přímky signifikantní rozdíl. V průsečíku s tlakovou osou nebyl statisticky významný rozdíl.

Závěr: Aktivátor KCNQ kanálu Flupirtine podávaný skupinám vystaveným 5denní hypoxii signifikantně snížil odpor plicního cévního řečiště proti kontrolním hypoxickým skupinám. Flupirtine podávaný skupinám normoxickým nevyvolá žádné změny v rezistenci plicních cév.

Podpora projektu: Podporováno grantem GAUK 200 063, 2419/2007





15. Vliv chronické kontinuální hypoxie na výskyt ischemických komorových arytmií u potkana

Rozsypálek J. (1,2), Neckář J. (2), Zemanová L. (2), Matyášek M. (1,2), Kolář F. (2)
1 – 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, 2 – Oddělení vývojové kardiologie,
Fyziologický ústav AV ČR a Centrum výzkumu chorob srdce a cév

Školitel: Prof. RNDr. František Kolář, CSc.

Úvod: Adaptace organismů na podmínky chronické hypoxie zvyšuje toleranci srdce k ischemicko-reperfučnímu poškození: snižuje velikost infarktu, zlepšuje obnovu kontraktilních funkcí v reperfuzi a omezuje výskyt život ohrožujících ischemických a reperfučních komorových arytmií. Kardioprotektivní účinky chronické hypoxie jsou závislé na typu hypoxie a adaptačním protokolu. Na rozdíl od hypoxie spojené s periodickou reoxygenací (intermitentní hypoxie), vliv chronické kontinuální hypoxie (bez reoxygenace) na ischemickou toleranci myokardu potkana nebyl dosud systematicky studován.

Cíl: Naším cílem bylo porovnat vliv chronické kontinuální hypoxie o různé době trvání na výskyt a závažnost ischemických komorových arytmií na experimentálních modelech srdce in vitro a in situ.

Materiál a metody: Dospělí samci potkana kmene Wistar (250–270 g) byli vystaveni kontinuální hypoxii (10 % O₂) v normobarické komoře po dobu 1, 5 a 15 dnů. Kontrolní zvířata byla chována po stejnou dobu za normoxických podmínek. Anestetizovaným potkanům (pentobarbital sodný, 60 mg/kg i.p.) bylo rychle vyjmuta srdce z hrudníku a perfundováno za stálého průtoku (10ml/min/g) živným roztokem (model srdce in vitro podle Langendorffa). Po 20-minutové stabilizaci byla provedena 30-min okluze sestupné větve (LAD) levé koronární artérie následovaná 10 min reperfuze. V experimentech na celém zvířeti (srdce in situ) byla anestetizovaným potkanům provedena tracheotomie, kanylace a. carotis a levostranná thorakotomie. Uměle ventilovaná zvířata byla podrobena 20-min okluzi LAD artérie a následně 10-min reperfuzi. Výskyt a závažnost komorových arytmií byla hodnocena ze záznamů EG nebo EKG u obou experimentálních modelů.

Výsledky: Zjistili jsme, že na modelu srdce in vitro se s prodlužující dobou adaptace zvyšuje celkový počet ischemických arytmií; po 15 dnech byl tento rozdíl statisticky významný (1033 ± 268 , $P < 0.05$) v porovnání s kontrolami (318 ± 58). Naproti tomu na modelu srdce in situ byl pozorován výrazný antiarytmický účinek hypoxie po 1 a 5 dnech (81 ± 38 a 32 ± 12 , $P < 0.05$) v porovnání s kontrolami (440 ± 106). Po 15 dnech hypoxie již nebyl rozdíl oproti kontrolám statisticky významný (247 ± 78).

Závěr: Vystavení potkanů chronické kontinuální hypoxii významně ovlivňuje citlivost myokardu k výskytu ischemických komorových arytmií. Sledované změny ischemické arytmogeneze jsou úzce závislé na zvoleném experimentálním modelu.

Podpora projektu: Podporováno granty GA ČR 305/06/P372 a GA ČR 305/07/0875





16. Podávání amlodipinu v prvním týdnu chronické hypoxie nezabrání rozvoji plicní hypertenze, omezuje však hypertrofii pravé srdeční komory.

Vaněk P., Křesala V., Hodyc D. a Herget J.
Ústav fyziologie 2. lékařské fakulty UK

Školitel: MUDr. Daniel Hodyc

Úvod: Bylo opakovaně prokázáno, že dlouhodobé podávání blokátorů Ca kanálů (nifedipin, amlodipin) omezilo rozvoj plicní hypertenze způsobené chronickou expozicí ventilační hypoxií. Z předchozích experimentů víme, že k zásadnímu poškození cévní stěny plicního řečiště a tím i rozvoji plicní hypertenze dochází v prvním týdnu pobytu v hypoxii. Např. podání scavengeru volných kyslíkových radikálů (tempol, N-acetyl cystein) v prvním týdnu třítydenní hypoxie zabrání rozvoji hypertenze a má stejný efekt jako podávání těchto látek po celou dobu pobytu v hypoxii.

Cíl: Cílem naší studie bylo ověřit hypotézu, že podání blokátoru Ca kanálů – amlodipinu – pouze v prvním týdnu chronické třítydenní hypoxie zabrání rozvoji plicní hypertenze.

Materiál a metody: Pokusy byly prováděny na samcích laboratorního potkana kmene Wistar. První skupina byla kontrolní normoxická (N), potkani z druhých dvou skupiny byli umístěni na 21 dní do hypoxické normobarické komory ($FI_{O_2} = 10\%$). Jedna hypoxická skupina zvířat (H) byla pouze vystavena hypoxii, zvířatům z experimentální skupiny (A) jsme podávali dva dny před umístěním do komory a první týden hypoxie amlodipin perorální gaváží v dávce 10mg/kg.

Pro hodnocení plicní hypertenze byl katetrizací měřen tlak v plicnici (PAP), minutový srdeční výdej (CO) a poměr hmotnosti pravé komory srdeční/levé komory a septa (RV/LV+S). Dále jsme na preparátu izolovaných perfundovaných a ventilovaných plic měřili cévní rezistenci vyjádřenou tlakově – průtokovou závislostí (P/Q – závislost změny perfuzního tlaku na měnícím se průtoku).

Výsledky: Chronická hypoxie (H) vedla k signifikantnímu rozvoji plicní hypertenze a pravostranné hypertrofii. Podání amlodipinu nezabránilo rozvoji plicní hypertenze, vedlo však k signifikantní redukci pravostranné hypertrofie RV/LV+S (p menší než 0,05; HxA). Plicní rezistence vyjádřená závislostí P/Q byla rovněž signifikantně zvýšená u hypoxické skupiny ve srovnání s normoxickými kontrolami (p menší než 0,05; HxN), toto zvýšení jsme však nezjistili u skupiny léčené amlodipinem (p = 0,15; AxN).

Závěr: Podávání amlodipinu v prvním týdnu chronické hypoxie tedy nezabrání rozvoji plicní hypertenze, omezuje však hypertrofii pravé srdeční komory.

Podpora projektu: MSMT 1M 0510, GAUK 7415/2007





17. Stanovení proliferace pomocí antigenu CD71 může zpřesnit diagnostiku folikulárního a CD10+ difúzního velkobuněčného B-lymfomu v průtokové cytometrii.

Kamarádová K. (1), Mandáková P. (1), Šiftancová J. (1), Stránská E. (1), Kortánková H. (1), Forejtová V. (1)

1 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Úvod: Skupina CD10 pozitivních B-lymfomů zahrnuje folikulární lymfom (FL), CD10+ difúzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL) a Burkittův lymfom. Zaměřili jsme se především na odlišení FL a CD10+ DLBCL v průtokové cytometrii, které je velmi obtížné. Jediným parametrem, kterým se tyto jednotky odlišují při vyšetření průtokovou cytometrií, je velikost nádorových lymfocytů. Diagnostika těchto jednotek se tak opírá především o morfologické a imunohistologické vyšetření z parafinových řezů.

Cíl: FL a DLBCL se imunohistologicky odlišují proliferační aktivitou stanovenou pomocí proliferačního antigenu Ki-67. V průtokové cytometrii lze ke stanovení proliferace využít antigen CD71.

Cílem práce bylo cytometrické stanovení antigenu CD71 na nádorových buňkách FL a CD10+ DLBCL, posouzení korelace s imunohistologickým stanovením proliferační aktivity (Ki-67) a dále posouzení možnosti odlišení těchto jednotek v průtokové cytometrii.

Materiál a metody: Nativní materiál od pacientů s FL (14 případů) a CD10+ DLBCL (19 případů) jsme vyšetřili pomocí průtokové cytometrie (FACS Cantoll, BD Biosciences) za použití protilátek proti antigenům typickým pro vybrané non-Hodgkinské lymfomy (NHL) a antigenu CD71. Cytometricky jsme, kromě procentuálního zhodnocení exprese molekuly CD71, stanovili také medián intenzity fluorescence (MFI) nádorových buněk CD71+CD19+, porovnali jej s MFI buněk klidových (CD71-CD19-) a určili tak index mediánu fluorescence (MFindex). Na řezech formalínem fixovaných, do parafinu zalitých tkání jsme rovněž vyšetřili znaky typické pro NHL a proliferační aktivitu určili pomocí průkazu antigenu Ki-67. Proliferační index (procento Ki-67+ nádorových buněk) bylo stanoveno semikvantitativně. Do sestavy byli zahrnuti pouze pacienti s morfologicky potvrzenou diagnózou.

Výsledky: Skupina 19 DLBCL byla obecně charakterizována vysokým MFindexem i proliferačním indexem (více než 75% nádorových buněk). Expresí Ki-67 a MFindexem CD71 rozdělila FL na dvě podskupiny korelující morfologicky s low grade FL (grade 1, 2 – 9 případů) a high grade FL (grade 3a/3b – 3 případy).

Závěr: Stanovení exprese antigenu CD71 a jeho MFindexu pomocí průtokové cytometrie může pomoci k odlišení low-grade FL a high-grade FL/DLBCL metodami průtokové cytometrie.

Podpora projektu: Projekt byl podpořen výzkumným záměrem MZO 00064203/6704.





18. Genetické změny buněčné linie neuroblastomu vysokého rizika (HR NBL) vyvolané kultivací s ellipticinem

Procházka P. (1), Poljaková J. (1, 2), Vícha A. (1), Stiborová M. (2) a Eckschlager T. (1)
1 – Klinika dětské hematologie a onkologie UK, 2. LF a FN Motol, Praha, 2 – Katedra biochemie PřF UK, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Úvod: HR NBL představuje jeden z nejhůře léčitelných dětských nádorů. Jednou z hlavních příčin selhání chemoterapie je vznik chemorezistence. Zaměřili jsme se na studium HR NBL rezistentního na ne zcela běžně používanému cytostatikum ellipticin (ELLI).

Protinádorová aktivita ELLI je popsána, ale existuje individuální variabilita v odpovědi pacientů na podané léčivo. Jedním z vysvětlení může být rozdílná enzymová výbava lidského organismu enzymy, důležitými pro biotransformaci ELLI: cytochromy P450, cyklooxygenáza, myeloperoxidáza (MPO).

Cíl: V naší práci jsme se zaměřili na studium rezistence NBL vůči ELLI s cílem popsat genetické změny testovaných linií. Vyšetřit možné změny exprese u genů odpovědných za vznik chemorezistence. Odhalit některý z mechanismů vzniku rezistence na ELLI.

Materiál a metody: Buněčné linie: UKF-NB-4 byla získána z relapsu HR NBL do kostní dřeně. Postupnou kultivací s ELLI byla získána linie UKF-NB-4 ELLI.

Komparativní genomová hybridizace (CGH): Byla porovnána intenzita fluorescence rozdílně značených DNA UKF-NB-4 a UKF-NB-4 ELLI hybridizovaných na metafazických chromozomech pro zjištění ztrát nebo zmnožení chromozomových oblastí.

Fluorescenční in situ hybridizace (FISH): Pro potvrzení změn na chromozomech byly použity specifické sondy.

RT PCR v reálném čase: Odečtením Ct kontrolního genu od Ct vyšetřovaného genu byla zjištěna relativní exprese.

Výsledky: Linie UKF-NB-4 i UKF-NB-4 ELLI vykazují změny odpovídající HR NBL: amplifikaci MYCN, zmnožení 17q a delecí 1p32-ter. Zajímavá změna proběhla na 7. chromozómu. UKF-NB-4 má trizomii 7. chromozómu se zmnožením genů MDR1 (produktem P-glykoprotein) a cytochromu P450 3A4. UKF-NB-4 ELLI ztratila nadbytečné kopie. Jedním z uváděných mechanismů rezistence je snížení aktivity topoizomerázy II alfa (TOP2A). UKF-NB-4 má gen TOP2A zmnožený, UKF-NB-4 ELLI zmnožení ztrácí. Dalším popsaným mechanismem je zvýšená exprese LRP. Linie UKF-NB-4 ELLI má gen deletovaný. Jedním z enzymů aktivujících eli je MPO. U UKF-NB-4 ELLI došlo ke ztrátě jedné kopie genu MPO, ale i přesto si linie zachovává zmnožení. Dalším mechanismem chemorezistence je zvýšená exprese antiapoptického proteinu Bcl-2. UKF-NB-4 ELLI má oblast s lokalizací genu Bcl-2 zmnoženou a expresi zvýšenou.

Závěr: UKF-NB-4 ELLI nemá zmnožené geny MDR1, LRP1 ani deletovaný gen TOPO2A charakteristické pro chemorezistenci. Jedinou změnou, odpovídající popsaným mechanismům, je zmnožení genu Bcl-2 a jeho zvýšená exprese což zabraňuje buňce vstoupit do apoptózy.

Podpora projektu: GAUK 7926/2007





19. Automatická detekce metastatického postižení plic mimohrudních nádorových onemocnění u dětí a mladistvých

Polovinčák, M. (1), Dolejší, M. (2), Kybic, J. (2), Tůma, S. (1), Čumlivská, E. (1), Adla, T. (1)
1 – Klinika zobrazovacích metod FN Motol, 2. lékařská fakulta UK, 2 – Katedra kybernetiky, Centrum strojového vnímání, FELK, ČVUT

Školitel: Prof.MUDr. Jiří Neuwirth, Csc.

Úvod: S širokým využitím víceřadých CT přístrojů (MDCT) v běžné praxi jsou radiologové postavení přes problém kvalitního a rychlého zhodnocení několikanásobně vyššího počtu dat. Při CT vyšetření plic jednoradým přístrojem v běžném provozu musí radiolog vyhodnotit cca 50-70 řezů, při vyšetření MDCT přístrojem a rekonstrukci vyšetření v tenkých řezech je těchto řezů 500-800. Jako slibným řešením tohoto problému se ukazuje využití systémů automatického zhodnocování obrazu (Computer-aided diagnosis software). Počítačové systémy automatického vyhodnocování obrazů už našly nebo nacházejí své místo v oboru CT angiografie či digitální mamografie. Další, velice slibnou, se jeví oblast CT vyšetření plic

Cíl: Vývoj vlastního prototypu CAD software pro detekci ložiskových změn parenchymu plic a ověření jeho funkčnosti.

Materiál a metody: Ve spolupráci s katedrou kybernetiky ČVUT jsme vytvořily program automatické detekce plicních uzlů. Tréninkovou skupinu tvořilo 74 juxta-pleurálních a 148 parenchymálních uzlů s mediánem velikosti 4,2 a 3,1mm. Testovací skupinu tvořilo 49 CT vyšetření plic, 171 uzlů s mediánem velikosti 4,6mm. Všechna vyšetření byly pořízené v běžném provozu jednořadým přístrojem Somatom Star AR s napětím na rentgence 110 kV, s proudem 63 mAs, s kolimací 5 mm a posunem stolu 10mm/rot. Vyšetření posoudili dva radiologové nezávisle a uzle byly ručně označeny jako konsensus těchto hodnocení. Následně byly zhodnoceny CAD softwarem a jeho úspěšnost posouzena jako míra shody s ručně značenými uzly

Výsledky: Program automatické detekce tvoří detektor pro parenchymové juxta-pleurální uzle a klasifikátor detekovaných kandidátů. V 48 CT vyšetřeních bylo označeno 172 uzlů, 41 velikosti do 3mm, 58 velikosti 3-5mm, 54 uzlů velikosti 5-10mm a 18 větších než 10 mm. Průměrná velikost uzlu byla 4,6 mm. Celkový počet CT řezů 12492. Automatický detektor pracoval se senzitivitou 87% s počtem 8,6 falešně pozitivních značení na řez. Automatický klasifikátor se senzitivitou 68% a 1,7 falešně pozitivních značení na řez. Automatický detektor odhalil 19 uzlů prohlédnutých při ručním značení.

Závěr: Prototyp programu automatické detekce pracuje s uspokojivou senzitivitou a lze jej využít pro automatickou detekci plicních uzlů z CT vyšetření – k detekci metastatického postižení plic při nádorových onemocnění dětí, či k detekci časných stadií onemocnění karcinomem plic u dospělých.

Podpora projektu: Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ NR 8314 – 3





20. Příprava protinádorové vakcíny pro imunoterapii karcinomu ovária za podmínek správné výrobní praxe

Fučíková J. (1), Budinský V. (1), Sochorová K. (1), Bartůňková J. (1), Špišek R. (1)
1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol v Praze

Školitel: MUDr. Radek Špišek, Ph.D.

Úvod: Dendritické buňky (DC) jsou jediné antigen prezentující buňky schopné aktivovat naivní T-lymfocyty. Aby byly schopné aktivovat imunitní odpověď musí DC projít procesem maturace. Nové techniky umožňují přípravu DC z monocytů a je tedy možné připravovat protokoly protinádorové imunoterapie založené na DC. Principem je podání velkého množství DC, které prezentují nádorové antigeny a následná aktivace specifické imunitní reakce proti nádorové tkáni. Pro zahájení klinických studií je nezbytný vývoj protokolů, které zaručují přípravu vakcíny za podmínek Správné výrobní praxe podle požadavků Státního ústavu pro kontrolu léčiv.

Cíl: Vývoj protokolu pro přípravu DC pro imunoterapii karcinomu ovária za podmínek Správné výrobní praxe. Definice optimálního maturačního stimulu, který zaručí nejlepší aktivaci antigen specifických T lymfocytů.

Materiál a metody: Z monocytů periferní krve zdravých dárců byly připraveny nezralé DC. Testovali jsme tři různá média, připadající v úvahu pro klinické použití, Cell Gro, RPMI s 10 % fetálního jehněčího séra a RPMI s 5 % lidského AB séra. V dalším kroku byly DC aktivovány třemi různými maturačními stimuly (směsí cytokinů, Poly I:C a lipopolysacharidem (LPS)). Po 24h byl vyhodnocen aktivační stav DC z hlediska fenotypu a produkce cytokinů. V poslední fázi jsme testovali schopnost zralých DC aktivovat antigen specifické T lymfocyty a regulační T lymfocyty.

Výsledky: Největší počet nezralých DC byl získán při kultivaci monocytů v médiu Cell Gro. Kultivace monocytů v RPMI+10 % FCS a v RPMI+5 % AB séra vedla k zisku nezralých DC v menším množství. Stimulace směsí cytokinů, Poly I:C i LPS indukovala u všech typů DC fenotypické změny spojené s maturací. Pouze DC aktivované Poly I:C a LPS ovšem produkovaly velká množství prozánětlivých cytokinů. V souladu s tím byly DC buňky aktivované Poly I:C a LPS účinnější v aktivaci specifických T lymfocytů. Zajímavým zjištěním je, že DC aktivované směsí cytokinů indukovaly více regulačních T lymfocytů, které suprimují imunitní reakci. Ve schopnosti indukovat antigen specifické T lymfocyty nebyl rozdíl mezi testovanými médii.

Závěr: Pro použití v klinických imunoterapeutických studiích se jako neoptimalnější protokol jeví příprava DC v bezsérovém médiu Cell Gro a aktivace DC pomocí Poly I:C. Směs cytokinů, používaná v dosavadních studiích vede k neúplné aktivaci DC a vyšší indukci nežádoucích regulačních T lymfocytů. Tento protokol byl schválen SÚKL pro použití v klinické studii.

Podpora projektu: VZ MSM 002 162 0812, GAČR 310/08/0838





21. Signalizace Akt kinázy a exprese cyklooxygenázy II v časných fázích diabetické nefropatie

Ždychová J. (1), Kazdová L. (2), Pelikánová T. (1) a Komers R. (1)

1 – Centrum diabetologie, 2 – Pracoviště experimentální medicíny (PEM), IKEM, Praha

Školitel: doc. MUDr. Radko Komers, CSc.

Úvod: Akt kináza (Akt) je součástí kaskád převádějících signály vasoaktivních a růstových faktorů. Akt-dependentní procesy se podílejí na regulaci mechanismů relevantních pro renální patofyziologii jako jsou syntéza proteinů, viabilita, produkce NO, reabsorbce sodíku atd. Poruchy regulace renálních isoforem cyklooxygenáz produkujících biologicky významné prostanoidy mohou rovněž přispět ke známým patofyziologickým mechanismům v rozvoji nefropatie a hypertenze jako důsledek molekulárních abnormalit při diabetu.

Cíl: Práce je zaměřena na studium aktivity Akt a jejích efektorů, proteinů „mammalian target of rapamycin“ (mTOR) a endoteliální NO syntázy (eNOS), spolu s expresí a aktivitou cyklooxygenázy 2 (COX2) v časných fázích diabetu a jejich úlohu v patofyziologii renálních morfologických a hemodynamických změn při diabetu.

Materiál a metody: Aktivita Akt v renálním kortexu byla měřena pomocí kinázové assay. Expresie proteinů byla zjišťována metodami immunoblottingu a imunohistochemie s využitím modelu DM1, streptozotocinová potkani s různou úrovní metabolické kompenzace (STZ0, STZ4, STZ12), a modelu DM2, potkani kmene Zucker (ZDF) ve věku 4 a 12 týdnů.

Výsledky: U STZ potkanů reflektovala aktivita a exprese Akt a mTOR míru metabolické kompenzace s poklesem aktivity u hyperglykemických STZ0 potkanů a obnovou aktivity s ohledem na intenzitu léčby insulinem. ZDF potkani demonstrovali nárůst aktivity Akt a mTOR spolu se zvýšenou expresí COX2 v závislosti na rozvoji metabolického syndromu na rozdíl od exprese aktivní eNOS, která byla za těchto podmínek snižena v porovnání s kontrolní skupinou. Akutní léčba wortmanninem (100 µg/kg) redukovala exkreci prostanoidů v moči spolu s renální aktivitou Akt a mTOR u ZDF, ale ne u skupiny kontrol.

Závěr: Pozorování u diabetických STZ potkanů ukazuje, že hodnota glykémie je spolu s intenzitou léčby insulinem důležitým modulátorem Akt/mTOR kaskády u DM1. Na rozdíl od alterace signalizace ve vasodilatační Akt/ eNOS kaskádě, nálezy nesvědčí pro přítomnost insulinové rezistence v hypertrofické kaskádě Akt/mTOR u ZDF. Zvýšená exprese COX2 pak rovněž naznačuje progradující endoteliální dysfunkci u tohoto DM2 modelu. Zmíněné mechanismy tak mohou přispět k objasnění strukturálních a hemodynamických abnormalit asociovaných s časnými fázemi diabetické nefropatie v závislosti na metabolické kontrole a rozvoji metabolického syndromu.

Podpora projektu: Výzkumný záměr IKEM, CEK: L17/98: 000230



22. The correlation between genotype and phenotype in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) in children

Fencel F., Štekrová J. *, Bláhová K., Janda J., Seeman T.

Department of Paediatrics, Charles University in Prague, 2nd Faculty of Medicine, University Hospital Motol, *Institute of Biology and Department of Medical Genetics, Charles University in Prague, 1st Faculty of Medicine

Školitel: Doc. MUDr. T. Seeman, CSc.

Úvod: ADPKD is the most frequent inherited renal disorder, the incidence is 1:500-1000. It is characterized by cyst development, which leads to renal failure in adults. Complications include macrohaematuria, urinary tract infections, hypertension, cardiac valve abnormalities, cerebral aneurysms, hepatic and pancreatic cysts. ADPKD is caused by mutation in PKD1 (85%), PKD2 (14%) or PKD3 gene (probably about 1%).

Cíl: The aim of this study was to compare disease progression and complications in children with genetically confirmed PKD1 or PKD2 mutation.

Materiál a metody: 60 children (50 PKD1, 10 PKD2) were investigated. All patients had positive family history, positive direct molecular genetic analysis or indirect molecular genetic analysis with positive ultrasound finding of renal cysts.

Výsledky: Anamnestic data. Subjective symptoms/ urinary tract infections/ macrohaematuria/ hypertension were present in 9 (18%)/ 6 (12%)/ 3 (6%)/ 7 (14%) PKD1 and in 0/ 1 (10%)/ 0/ 0 PKD 2 patients respectively.

Biochemistry. Pathological proteinuria (PU) had 20 (48%)/ 13 (65%) PKD1 and 4 (50%)/ 4 (67%) PKD2 children, mean PU in PKD1 group was higher by 38%/ 102% according to [mg/m² per day]/ [mg/mmol of creatinine]. 1 PKD1 patient had pathological GFR, no one had microhaematuria.

Blood pressure (BP). Occasional BP: No differences were proved. ABPM: PKD1 patients had significantly higher B/P index of day and night systolic BP, 9 PKD1 (27%) and 0 PKD2 patient were hypertensive.

Ultrasound findings. Highly significant relationships were between total number of cysts/ diameter of greatest cyst/ kidney length in SDS and genotype – all significantly higher in PKD1 group and between bilateral cysts/ enlarged kidneys and genotype – 43 (86%)/ 16 (32%) PKD1 and 3 (30%)/ 0 PKD2 patients. Prenatal ultrasound finding of cysts is highly specific for PKD1 (7 PKD1, 0 PKD2 patient). No one had hepatic/ pancreatic cysts.

Závěr: Many studies prove better prognosis of PKD2 patients (renal survival, BP, cyst number and volume), but only in adults. We demonstrate significant differences between PKD1/ PKD2 disease developments in children – especially in ultrasound findings.

Podpora projektu: VZ FNM 00064203/6403



23. Urinary TGF beta 1 levels in children with hydronephrosis

Zieg J. (1), Bláhová K. (1), Seeman T. (1), Pechová M. (2), Janda J. (1), Matoušovic K. (3)
1 – Department of Pediatrics, 2 – Department of Clinical Biochemistry and Pathobiochemistry,
3 – Department of Internal Medicine

Školitel: Matoušovic K.

Úvod: Obstructive nephropathies in childhood constitute one of the major causes of chronic renal insufficiency. Increased levels of angiotensin II in these patients upregulate the expression of several mediators. Transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) is considered to be the major fibrinogenic growth factor in patients with obstructive nephropathies and is linked to development of renal fibrosis. Recent studies indicate that local TGF beta 1 production and production of TGF beta 1 by macrophages invading the kidney tissue play a major role in kidney damage in patients with obstructive nephropathies.

Cíl: In our study urinary TGF beta 1 levels were measured in children with obstructive and nonobstructive uropathies. We presumed that children with obstructive uropathy would have higher urinary concentration of TGF beta 1 than children without urinary tract obstruction.

Materiál a metody: Subjects: This cross-sectional study involved 28 children with hydronephrosis, 23 unilateral and 5 bilateral with a mean (SEM, range) age of 1 year (0.08- .04 years). Group 1 included 19 children with obstructive hydronephrosis. Group 2 included 9 children with nonobstructive hydronephrosis. Group 3 involved 20 healthy children with a mean (SEM, range) age of 2.1 years (0.12-5.5 years) as the control group. Measurement of TGF beta 1 and other laboratory tests: Fresh voided urine samples were collected for measurement of human TGF beta 1 concentration. Renal functions were assessed using Schwartz formula from serum creatinine and by serum cystatin C. Urine sediment was examined, fresh voided urine was tested for proteinuria, microalbuminuria and renal tubular marker alpha 1 microglobulin.

Výsledek: Mean urinary TGF beta concentrations in patients with obstructive uropathies (3.71 +/- 2.62 pg/mmol creatinine) were significantly higher than those with nonobstructive uropathies (1.80 +/- 0.60 pg/mmol creatinine) $p < 0.05$ and healthy controls (1.23 +/- 1.62 pg/mmol creatinine) $p < 0.05$.

We found positive correlations of urinary TGF beta 1 concentrations with proteinuria ($P = 0.001$, $r = 0.9485$), microalbuminuria ($P = 0.0354$, $r = 0.5126$) and alpha 1 microglobulin ($P = 0.0012$, $r = 0.7163$) in group 1.

Závěr: Children with urinary tract obstruction have higher urinary TGF beta levels than children with nonobstructive uropathies and healthy children. TGF beta may be a useful noninvasive tool for the diagnosis of obstructive uropathies.



POSTERY

P1. Artério-venózne rozdiely u pacientov so septickým syndrómom

Durila M. (1), Jurčenko S. (1), Příkladová Z. (1), Pelichovská M. (1), Hadačová I. (2), Pacáková Z. (3), Cvachovec K. (1)

1 – Klinika anesteziologie a resuscitace FN v Motole, 2 – Oddělení klinické hematologie FN v Motole, 3 – Provozně-ekonomická fakulta, Zemědělská univerzita, Praha

Školitel: Prof. MUDr. Karel Cvachovec CSc. MBA

Úvod: Presné hodnoty laboratórných parametrov sú veľmi dôležité v hodnotení patofyziologických procesov v organizme. Kriticky chorí pacienti a pacienti so septickým syndrómom majú často zavedený centrálny venózný katéter ako aj artériálny katéter. Obidva vstupy sa v praxi používajú pre odber krvných vzoriek.

Cíl: 1 – zistiť či sa hodnoty získané z artériálnej krvi zhodujú s hodnotami získaných z venózne krvi
2 – zistiť či je potrebné dodržiavať to isté miesto odberu krvnej vzorky pre správne hodnotenie patofyziologických procesov v organizme

Materiál a metódy: Do štúdie bolo zaradených 21 pacientov, vo veku 26–80 rokov (median 60), ktorí spĺňali kritéria septického syndrómu podľa definície ACCP-SCCM konferencie z roku 1991 a boli rozdelení do viacerých poskupín podľa pohlavia, zdroja infekcie, štádia sepsy, s podporou a bez podpory obehu a podľa APACHE skóre. U týchto pacientov boli vyšetrené biochemické a hematologické parametre z artérie a centrálnej vény a zároveň bolo vykonané vyšetrenie tromboelastografie s heparinázou.

Výsledky: Zistili sme štatisticky významné rozdiely v nasledujúcich parametroch: vyšší počet erytrocytov v artérii (A) v porovnaní s vénou (V) ($A>V$, $p=0,03$) a vyššia hladina hemoglobínu v artérii ($p=0,035$). U mužov boli rozdiely v počte erytrocytov ($A>V$, $p=0,045$), v hladine antitrombínu ($A>V$, $p=0,025$) a v pomere počtu neutrofilov a lymfocytov ($A>V$, $p=0,048$). U pacientov s brušným zdrojom infekcie sme zistili rozdiely v D-diméroch ($A>V$, $p=0,042$) a v hladine CRP ($A>V$, $p=0,024$). U pacientov s hrudným zdrojom infekcie sme v artérii namerali vyššiu hladinu antitrombínu ($p=0,036$).

V skupine pacientov bez podpory obehu sa líšili výsledky v počte trombocytov ($A>V$, $p=0,044$) a v TMA (čas do maximálnej amplitudy-TEG) ($A>V$, $p=0,035$) a v hemoglobine ($A>V$, $p=0,031$). U pacientov s APACHE skóre do 10 sme našli rozdiely v počte trombocytov ($A>V$, $p=0,034$) a u pacientov s APACHE nad 10 sme našli rozdiely v počte erytrocytov ($A>V$, $p=0,006$), v INR ($A>V$, $p=0,006$) a v hladine antitrombínu ($A>V$, $p=0,029$). Ďalej sme pozorovali pozitívnu koreláciu rozdielu TMA so štádiom sepsy ($r=0,45$, $p=0,04$). Okrem toho sme našli individuálne rozdiely medzi artériou a vénou v mnohých parametroch TEGu, ktoré sa však nedajú zovšeobecniť.

Záver: Prítomnosť artériovenózných rozdielov u pacientov so septickým syndrómom si vyžaduje striktné dodržiavanie stáleho miesta odberu krvi pre správne hodnotenie patofyziologických procesov v organizme.



P2. Je index NO₂/X užitečný pro hodnocení oxidačního stresu v kondenzátu vydechaného vzduchu u cystické fibrózy ?

Fila L. (1), Chládek J. (2), Průcha M. (3) a Musil J. (1)

1 – Pneumologická klinika UK 2. LF a FN Motol, 2 – Farmakologický ústav UK LF Hradec Králové, 3 – Oddělení klinické biochemie, hematologie, imunologie a molekulární diagnostiky, Nemocnice Na Homolce

Školitel: Doc. MUDr. J. Musil, PhD.

Úvod: U nemocných s cystickou fibrózou (CF) dochází k poruše metabolismu oxidu dusnatého (NO) v důsledku oxidačního stresu. Nitrity (NO₂-) a nitráty (NO₃-) jsou produkty oxidačního metabolismu NO a lze je stanovit v kondenzátu vydechaného vzduchu (KVV). Běžně sledovaným parametrem oxidačního stresu v KVV je 8-izoprostan (8-IP).

Cíl: Index NO₂/X lze kalkulovat podle vzorce $NO_2/X = NO_2- / (NO_2- + NO_3-)$. Vzhledem k dvoustupňové oxidaci NO (na NO₂- a posléze na NO₃-) lze u nemocných s vyšším indexem NO₂/X uvažovat o nižší míře oxidačního stresu. Cílem práce bylo zhodnotit vztah indexu NO₂/X ke klinickým parametrům u CF, a to k plicním funkcím (FEV₁), stavu výživy (body mass index /BMI/ a sérový albumin) a parametrům zánětu (sérový C-reaktivní protein /CRP/) a rovněž k dalším parametřům v KVV, a to 8-IP jako markeru oxidačního stresu a pH a leukotrienu B₄ (LTB₄) jako markerům zánětu.

Materiál a metody: Bylo vyšetřeno 30 nemocných (14 žen) CF ve stabilní fázi onemocnění s těmito klinickými parametry (průměr a 95% CI): věk 25,0 (23,6-26,4) roku, FEV₁ 60,4 (50,8-70,1) % náležité hodnoty, BMI 21,4 (20,5-22,3) kg/m², sérový albumin 43,5 (42,5-4,5) g/l a sérový CRP 5,7 (3,7-8,8) mg/l. KVV byl odebrán pomocí přístroje ECoScreen (Jäeger, SRN). V KVV byly vyšetřeny NO₂- a NO₃- (metodou kapalinové chromatografie po derivatizaci s diaminonafalenem), pH (bez deaerace přístrojem Titan, sondou CupFet; Sentron, Nizozemí), 8-IP (ELISA, Cayman Chemical) a LTB₄ (ELISA, Cayman Chemical). Byl kalkulován index NO₂/X a jeho hodnota byla korelována pomocí Spearmanova koeficientu se zjištěným parametry. Hodnota $p < 0,05$ byla považována za signifikantní.

Výsledky: V KVV byly zjištěny tyto hodnoty vyšetřovaných parametrů (průměr a 95% CI): NO₂- 3,30 (2,63-4,14) umol/l, NO₃- 9,36 (7,99-10,96) umol/l, NO₂/X 0,274 (0,238-0,311), pH 5,82 (5,60-6,03), 8-IP 52,3 (34,4-79,6) pg/ml, LTB₄ 63,1 (49,6-88,8) pg/ml. Index NO₂/X koreloval s koncentrací 8-IP v KVV ($r_s = -0,679$, $p = 0,001$) a s koncentrací sérového albuminu ($r_s = 0,437$, $p = 0,016$). Dále byla zjištěna tendence ke korelaci s pH KVV ($r_s = 0,36$, $p = 0,051$). Žádná další významná korelace zjištěna nebyla.

Závěr: Na základě těchto výsledků lze výpovědní hodnotu indexu NO₂/X považovat za obdobnou 8-IP. Korelace indexu NO₂/X s koncentrací albuminu odráží skutečnost, že albumin je hlavním sérovým antioxidantem. Tendence ke korelaci indexu NO₂/X s pH KVV vyjadřuje vzájemný vztah oxidačního stresu a zánětlivé acidifikace dýchacích cest.

Podpora projektu: Grant IGA MZČR NR/8304-3.





P3. Hyperkinetický syndrom/porucha pozornosti – studium genetických aspektů

Kopečková Marta (1), Paclt Ivo (2), Zagatová Veronika (2), Petrášek Jan (3)
1 – Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol, Praha, 2 – Psychiatrická klinika,
1. LF UK a VFN, Praha, 3 – IKEM, Praha 4, Vídeňská ul. 4, 140 00

Školitel: Prof. MUDr. Petr Goetz, CSc.

Úvod: Hyperkinetického syndromu/porucha pozornosti postihuje 3-6% dětské populace a je klinicky charakterizován nepozorností, impulzivitou a hyperaktivitou. Je to onemocnění multifaktoriální a geneticky heterogenní a v současné době je známo více než 30 genů s možnou účastí na vzniku a vývoji onemocnění. Jednotlivé alely těchto genů mohou být v populaci relativně časté, protože nepředstavují klasické mutace, ale polymorfismy, které jsou příčinou arteficiální aktivity produktu. Studium jednotlivých transmitterových systémů, které jsou do patogeneze ADHD zapojeny, a poznání vlivu genetického podkladu na jejich funkční změny může v budoucnosti pomoci při volbě vhodného psychofarmaka vzhledem k tomu, že v léčbě hyperkinetické poruchy se uplatňují látky s různým mechanismem účinku.

Cíl: Pro pochopení multifaktoriální etiologie ADHD a komorbidních poruch je potřebné odhalit co největší počet genů, které se podílí na vzniku, vývoji a závažnosti onemocnění. Dále je potřebné v těchto genech identifikovat funkční polymorfismy asociované s fenotypem a sledovat rozsah jejich působení na vznik a klinickou heterogenitu ADHD.

Materiál a metody: Ke studiu byly proto vybrány geny systému dopaminergního (DRD2, DRD3 a DAT1), noradrenergního (DBH) a serotoninergního (5-HTT) u nichž byla provedena molekulárně-genetická analýza 11 polymorfismů se základní strategií založenou na asociačním studiu „případ-kontrola“. Přítomnost rizikových alel byla porovnána v souboru 100 dětí s ADHD a v kontrolní skupině 100 jedinců, u nichž byly příznaky ADHD vyloučeny testem Connersové.

Výsledky: Výsledky našeho výzkumu svědčí pro asociaci genů DRD2, 5-HTT, DAT1 a DBH s ADHD. Konkrétně po korekci výsledků na mnohočetné testování, korekci na pohlaví a po provedení power-analýzy platí: 1) riziko ADHD je signifikantně zvýšeno u nosičů polymorfni alely v genech DRD2 (O.R.= 7,5), 5-HTT (O.R.= 2,7) a DAT1 (O.R.= 1,6); 2) riziko ADHD je signifikantně zvýšeno u homozygotů pro polymorfni alely v genech DRD2 (O.R.= 54), 5-HTT (O.R.= 6,7) a DAT1 (O.R.= 6,6); 3) riziko ADHD je signifikantně zvýšeno u nosičů polymorfni alely DBH +444A, kteří jsou současně nosiči polymorfni alely DBH +1603T (O.R.= 14,9).

Závěr: Genetické přístupy ve výzkumu ADHD mají zásadní význam nejen teoretický, ale také praktický. Otevírají perspektivu volby farmaka podle genetické etiologie. Farmakologický přístup je v současnosti neúčinnější formou léčby a jeho včasná aplikace brání rozvoji sekundárních poruch.

Podpora projektu: Grant NR/95 34/3 MZ, CR, 2007-2009





P4. Oxygen-glucose deprivation reveals two astrocytic populations in the cortex of GFAP/EGFP mice: in situ quantification of cell volume changes

Jana Benešová (1–3), Olena Butenko (1–3), Helena Neprašová (1–3), Iva Prajerová (1–3), Miroslava Anděrová (2, 4), Alexandr Chvátal (2–4)

1 – 2nd Medical Faculty, Charles University, 2 – Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, AS CR, 3 – Department of Neuroscience, 2nd Medical faculty, Charles University, 4 – Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University

Školitel: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Úvod: Pathological states, such as ischemia or traumatic brain injury, lead to significant volume changes in astrocytes, followed by regulatory volume processes. The majority of studies to date have been performed in vitro and little information is available about the effect of pathological states on glial cells in acute brain slices.

Cíl: The aim of the study was to examine the changes in cell volume of EGFP-labelled cortical astrocytes during ischemia or acidification, and the role of chloride movement in volume regulation was studied.

Materiál a metody: Astrocytic volume changes during ischemia/reperfusion in situ were quantified in the cortex of 30-40-day-old GFAP/EGFP mice using confocal microscopy combined with 3D-reconstruction. Solutions simulating oxygen-glucose deprivation (OGD) was prepared by gassing the ACF with 5%O₂, without adding D-glucose. Solutions simulating acidification were prepared either by changing the HCO₃⁻/CO₂ ratio in ACF (ACFpH) or by the lactate addition into the ACF (ACFLactate). Contribution of chloride movement to cell volume changes was studied using inhibitors of chloride channels (DIDS, NPPB, tamoxifen) and the Na-K-Cl cotransporter (bumetanide).

Výsledky: Twenty minutes of OGD revealed the presence of two distinct astrocyte populations: low response (LR) and high response (HR) astrocytes. In LR-astrocytes, OGD led to a small volume increase of ~10%; subsequent 40-minute reperfusion led to a complete volume recovery. In HR-astrocytes, OGD evoked a marked volume increase of 41%; reperfusion led within the first 20 minutes to an additional volume increase with no apparent volume recovery. Conversely, ACFpH6.8 or ACFLactate application led to a volume decrease of 15-20% in all astrocytes; two differently responding populations were not detected during acidification. Immunostaining for Kir4.1 revealed strongly and weakly Kir4.1-positive cells, and the levels of intracellular taurine also markedly differed in the cortical astrocytes. During OGD the inhibition of Cl⁻ channels reduced the cell swelling in both, HR- and LR- astrocytes. During reperfusion, tamoxifen reduced the swelling in HR-astrocytes, in LR-astrocytes an additional volume increase was detected. Bumetanide markedly reduced cell swelling in HR-astrocytes during reperfusion.

Závěr: Knowledge of mechanisms leading to cell swelling and cell volume regulation during ischemia might be used for developing new therapeutic approaches for the treatment of cerebral ischemia, mainly edema.

Podpora projektu: GACR305/06/1316,LC554





P5. Sanace zdravého dětského pacienta v celkové anestezii

Buček A., Stanková M.
Dětská stomatologická klinika 2. LF UK

Školitel: prof. MUDr. Tatjana Dostálová, DrSc., MBA

Úvod: Ošetření dětského pacienta v zubní ordinaci není snadné. Dítě je jinak uzpůsobeno jak anatomicky, tak i fyziologicky a vnímá bolest oproti dospělému intenzivněji, s omezenou možností ovlivnit psychicky práh bolesti. Nedostatečná, spíše nárazová osvětla a preventivní programy, nepravidelné preventivní prohlídky, které záleží na spolupráci a informovanosti rodičů, neuspokojivá ústní hygiena, nevhodně volená frekvence a skladba stravy s neomezeným příivodem cukrů, slazených potravin a nápojů, i nedostatek zubních lékářů, kteří by se chtěli věnovat méně spolupracujícím dětem, často s dalšími tělesnými nebo duševními hendikepy, to jsou hlavní příčiny toho, že dramaticky stoupá počet dětských pacientů s mnohočetnými kazy, které musíme sanovat v celkové anestézii.

Cíl: Cílem studie je zhodnotit stav chrupu u dětských celkově zdravých pacientů, kteří byli sanováni v celkové anestézii na Dětské stomatologické klinice v letech 2006–2007.

Materiál a metody: Do studie jsme zahrnuli 586 dětí - ASA I do 30 kg váhy, kde jsme sledovali počet zubů, zastoupení jednotlivých typů určených k extrakci, typ a provedení konzervační sanace v závislosti na věku a pohlaví probandů.

Výsledky: Výsledky dokumentují nepříznivý vývoj stavu ošetření dětí a nárůst pacientů nejen hendikepovaných, ale především dětí anxiosních, s nálepkou „neošetřitelné dítě“. Demonstrujeme dále potřebu komplexnosti ošetření včetně zhotovení dětské zubní náhrady, případně další spolupráce s ortodontistou.

Závěr: Sanace v celkové anestézii je bezesporu výkonem, který značně zatěžuje dětský organismus. Je však vhodný tam, kde jsou mnohočetné kariézní léze a kde by trauma z opakovaných zákroků strach z ošetření ještě prohloubilo. Úprava hygieny i stravovacích návyků dítěte a navázání úzké spolupráce s rodiči jsou nezbytným završením celého terapeutického procesu.





P6. Kvantitativní sledování minimální residuální choroby a proliferační aktivity u pacientů s lymfomem z buněk pláště (MCL).

Břízová H. (1), Mrhalová M. (1), Neradová M. (1), Kodet R. (1)
1 – Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Úvod: Lymfom z buněk pláště (mantle cell lymphoma, MCL) je B buněčný non-Hodgkinovský lymfom (B-NHL). Molekulárním znakem je t(11;14), jejímž důsledkem je patologická aktivace transkripce genu pro cyklin D1, a overexprese cyklinu D1 je pak molekulárním markerem MCL. Z hlediska prognózy je onemocnění MCL charakteristické rychlou progresí a resistencí na konvenční terapii. Přesto existuje skupina pacientů s dlouhým přežitím bez nutnosti agresivní terapie. Nezávislý, statisticky významný prognostický faktor představuje u pacientů s MCL proliferační aktivita.

Cíl: Cílem práce je zavedení kvantitativního sledování minimální residuální nemoci (MRN) a proliferační aktivity u pacientů s MCL.

Materiál a metody: Zavedli jsme kvantitativní PCR umožňující přesně monitorovat: 1) expresi cyklinu D1, jako molekulárního markeru onemocnění a 2) expresi Ki-67, topoisomerasy II α a TPX2, jako proliferačních markerů v asociaci s prognosou pacientů s MCL.

Výsledky: Expresi cyklinu D1 jsem vyšetřili u 125 primárních nádorů MCL, 22 pacientů s jiným B-NHL a 5 pacientů s reaktivní lymfadenopatií. Stanovili jsme hraniční hodnotu exprese cyklinu D1 odlišující MCL (124/125). Získali jsme spolehlivý marker umožňující molekulárně sledovat pacienty s MCL. Dále jsme analyzovali 95 aspirátů kostní dřeně (KD) od pacientů s MCL, 39 od pacientů s jiným B-NHL a 10 od zdravých dárců. Zvýšenou hladinu cyklinu D1 jsme detekovali pouze u KD s infiltrací buňkami MCL (100% specifita). V průběhu onemocnění jsme sledovali dynamiku cyklinu D1 u 73 KD od 20 pacientů s MCL. Úbytek, případně nárůst hladiny cyklinu D1 odpovídal dosažení remise, případně relapsu onemocnění. Prokázali jsme prediktivní charakter vyšetření. Zavedli jsme nový přístup přesného kvantitativního stanovení exprese Ki-67, topoisomerasy II α a TPX2. Detekovaná heterogenní hladina proliferačních markerů může být ve vztahu k variabilní prognose onemocnění. Pozorovali jsme korelaci mezi proliferační aktivitou a klíčovou molekulou regulace buněčného cyklu, cyklinu D1.

Závěr: Kvantitativní stanovení hladiny cyklinu D1 poskytuje spolehlivý cíl pro molekulární sledování dynamiky MRN u pacientů s MCL a umožňuje tak lépe definovat léčebnou odpověď a kvalitu remise, případně včasný záchyt nárůstu onemocnění. Kvantitativní detekce proliferační aktivity umožňuje přesně a reprodukovatelně stanovit hladinu prognostických faktorů. Asociace hladiny proliferační aktivity s hladinou cyklinu D1 svědčí pro kvantitativní řízení buněčného cyklu.

Podpora projektu: Podpořeno granty GAUK 46/2006 a MZČR 00064203/6704.





P7. First child with molecular genetically proven Lowe syndrome in the Czech Republic

Malina M. (1), Dušek J. (1), Stará V. (1), Cinek O. (1), Ludwig M. (2), Seeman T. (1)
1 – Department of Pediatrics, University Hospital Motol and 2nd Medical Faculty, Prague
2 – Department of Biochemistry- Central Laboratory, University Hospital, Bonn

Školitel: doc. MUDr. Tomáš Seeman, CSc.

Úvod: Lowe syndrome (oculo-cerebro-renal syndrome of Lowe, OCRL) is a multisystem disorder characterized by congenital cataract, central nervous system abnormalities, mental retardation, hypotonia and proximal renal tubulopathy of Fanconi type. It is a rare X-linked disease, with the estimated prevalence in the general population of approximately 1:500 000. The OCRL gene responsible for Lowe syndrome resides at chromosome Xq25. It codes enzyme phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate-5-phosphatase, which is localized to trans Golgi network and is presumed to play a role in regulating membrane traffic.

Cíl: Patient with remarkable signs of the Lowe syndrome was regularly checked at our department. Clinical picture highly suspected for Lowe syndrome resulted in further molecular genetic examination.

Materiál a metody: Genomic DNA was isolated from peripheral blood. All 24 exons with flanking intron/exon junctions of the responsible OCRL gene were amplified from genomic DNA by polymerase chain reaction (PCR). All exons of the OCRL gene were directly sequenced using BigDye terminator kit on the automated sequencer Applied biosystems ABI 373.

Výsledky: We have found a novel frameshift mutation resulting in premature truncation of the protein. Protein is cut before the catalytic domain, so it is presumably nonfunctional. Position of the mutation according to database of mutations in the OCRL gene is at 212 codon and the stop codon follows 20 aminoacids later.

Závěr: Our patient showed fully developed clinical components of the Lowe syndrome. Phenotypical diagnosis was then proven by molecular diagnostics. The remarkable clinical signs correspond to the severe mutation that terminates protein synthesis before the first quarter.





P8. Hodnocení vedlejších účinků experimentální lokální aplikace karboplatiny do králičího bulbu

Darsová D. (1), Kodetová D. (2), Pochop P. (3), Vajner L. (4), Mališ J. (5), Kukačka J. (6) a Uhlík J. (7)

1 a 3 – Oční klinika dětí a dospělých, 2 – Ústav patologie a molekulární medicíny, 4 a 7 – Ústav histologie a embryologie, 5 – Klinika dětské hematologie a onkologie, 6 – Ústav klinické biochemie a patobiochemie FN Motol

Školitel: prof. MUDr. D. Dotfelová, CSc.

Úvod: Experimentální studie na 24 očích 12 novozélandských bílých králíků.

Cíl: Stanovit bezpečnost subkonjunktivální a intravitreální aplikace karboplatiny u králičích bulbů v závislosti na použité koncentraci.

Materiál a metody: Skupině A o 6 králičích byla aplikována do oka pravého karboplatina (15mg) subkonjunktiválně. Skupině B o 6 králičích byla podána do oka pravého karboplatina (0,05 mg v 0,1 ml) transkornálně intravitreálně. Levé oči obou skupin byly ponechány bez aplikace cytostatika a sloužily pouze ke třem kontrolním odběrům. Po uvedení králíků do anestézie disociativního typu (ketamin 50mg/kg, xylazin 5 mg/kg) byl vždy v 1., 2., 6., 24., 48. hodině a 7. a 14. den po aplikaci odebrán sklivce z pravého bulbu, ke stanovení koncentrace karboplatiny a oči jsme oftalmoskopicky vyšetřili. Po 14 dnech byli králíci usmrceni a enukleované oči vyšetřeny histologicky a imunohistochemicky.

Výsledek: Dosažené průměrné koncentrace karboplatiny ve sklivci u skupiny A se pohybovaly mezi 26,2 μ g/l – 512,2 μ g/l. U této skupiny jsme pozorovali následující tkáňové změny: přechodný periorbitální edémem, fokální edém chorioidey, čerstvé i starší hemoragie v iridokorneálním úhlu. Průměrné dosažené koncentrace karboplatiny ve sklivci u skupiny B se pohybovaly mezi 48 μ g/l - 40285 μ g/l. Byly zaznamenány následující změny ve strukturách pravých králičích bulbů: atrofie retiny s úbytkem gangliových buněk, cystická degenerace retiny, čerstvé krvácení se zbytky po starším krvácení ve sklivci, fokální edém chorioidey, ložisková hyalinizace a hemorrhagie řasnatého tělesa. U kontrolních levých očí byla koncentrace cytostatika ve sklivci neměřitelná, z vedlejších účinků jsme pozorovali edém chorioidey a překrvení corpus ciliare.

Závěr: Při studiu vedlejších toxických účinků karboplatiny na oční struktury v časovém horizontu 14 dnů se většina pozorovaných změn (fokální edém chorioidey, krvácení v iridokorneálním úhlu, v řasnatém tělese a ve sklivci) jeví jako následek opakovaných odběrů sklivce vedoucí k hypotonii bulbu. Dosažená průměrná koncentrace karboplatiny ve sklivci po intravitreální aplikaci byla prakticky 100násobná oproti průměrné koncentraci karboplatiny dosažené po subkonjunktiválním podání. Při těchto vysokých koncentracích byly pozorovány změny charakteru fokálních retinálních atrofí. Výsledky této studie by mohly být využitelné v léčbě retinoblastomu ke stanovení optimálního způsobu lokálního podání cytostatik.

Podpora projektu: Podpořeno grantem IGA MZ ČR NR9532-3/2007





P9. Využitelnost CMTNS škály pro sledování progresu dědičné neuropatie Charcot-Marie-Tooth typ 1A v první dekádě života

Haberlová J. (1), Seeman P. (1)

1 – Klinika dětské neurologie, DNA laboratoř UK 2. LF a FN Motol, Praha

Školitel: Školitel: doc. MUDr.Pavel Seeman, Ph.D.

Úvod: Dědičná periferní neuropatie neboli choroba Charcot-Marie-Tooth (CMT) je nejčastější geneticky podmíněné nervosvalové onemocnění. Podle nálezu na EMG se CMT dělí na dvě základní skupiny, CMT 1 tzv. demyelinizační typ a CMT 2 tzv. axonální typ. Nejčastějším geneticky definovaným podtypem je typ CMT1A, postihuje 60-70 % ze všech pacientů s CMT. Klinicky je u CMT1A typický počátek vzniku obtíží během první a druhé dekády věku. O projevech CMT1A v dětském věku a o počátečních příznacích a jejich časném vývoji je dosud málo známo.

Cíl: Zjistit využitelnost CMTNS škály (Charcot-Marie-Tooth neuropathy scale), která byla nedávno validována pro dospělé pacienty s CMT1A pro hodnocení progresu onemocnění u pacientů CMT1A v průběhu první dekády věku.

Materiál a metody: Z databáze pacientů DNA laboratoře při Klinice dětské neurologie FN Motol bylo vybráno 14 pacientů ze 13 rodin s geneticky prokázanou CMT1A ve věku do 10 let (průměrný věk 6,5 let). Všichni pacienti byli podrobně neurologicky vyšetřeni včetně funkčních svalových testů, u všech pacientů bylo provedeno EMG. Rodiče vybraných pacientů byli seznámeni s cíli a metodami testování a podepsali písemný souhlas s testy. 7 pacientů bylo vyšetřeno s odstupem 1 roku, 4 pacienti byli vyšetřeni s odstupem 2 let.

Výsledky: V klinickém obraze dětí s CMT1A do deseti let věku v uvedeném výběru dominuje jako první příznak hypo až areflexie na dolních končetinách (DK) a porucha stoje na patách. Typicky uváděná deformita DK typu pedes excavati se vyskytovala stejně často jako deformita typu pedes planovalgi. Atrofie DK do 10 let věku byly hlavně v oblasti drobných svalů nohou. V klinickém obraze během 2 let došlo jen k minimálním změnám, maximum změn bylo v EMG.

V hodnocení CMTNS škálou byl z 8 kategorií patologický nález jen ve 4 vždy stejných položkách, další 4 položky byly vždy normální. Maximální počet dosažených bodů byl 8 (v průměru 6 bodů), kdy maximum možných bodů je 32 (0 asymptomatická forma, 32 klinicky velmi těžký fenotyp). Během 1 roku došlo ke zhoršení CMTNS u 2/7 pacientů, během 2 let došlo ke zhoršení CMTNS u 3 /4 pacientů. Maximální zhoršení bylo o 1 bod.

Závěr: Pacienti s dg CMT 1A v první dekádě věku se při škálování dle CMTNS pohybují v pásmu mírného postižení. Progrese choroby je však škálou zachytitelná a to s maximem v intervalu 2 let. Délka klinických studií u dětí do 10 let věku by tudíž měla být minimálně 2 roky.

Podpora projektu: IGA MZNR/9517-3





P10. Electrophysiological study of hESC (CCTL14)-derived neural precursors during differentiation into a neural phenotype.

Butenko O. (1), Kozubenko N. (3), Anderova M. (1, 2), Sykova E. (2, 3)

1 – Department of Cellular Neurophysiology, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic, 2 – Center for Cell Therapy and Tissue Repair, Charles University, Prague, Czech Republic, 3 – Department of Neuroscience, Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Školitel: Anderova M.

Úvod: Human embryonic stem cells (hESC) demonstrate remarkable proliferative and developmental capacity. Culturing hESC has brought new opportunities for studying their basic properties and their usage in regenerative medicine. hESC are widely studied using immunocytochemical methods, but data about their functional characteristics are lacking. Therefore, the electrophysiological properties of hESC in vitro were investigated using the patch-clamp method.

Cíl: To study the electrophysiological properties of hESC-derived neural precursors (NPs) during in vitro differentiation.

Materiál a metody: To induce the differentiation of hESC into a neural phenotype, the cells were cultured in conditioned medium containing Noggin. For terminal differentiation cells were plated onto poly-lysine/laminin-coated coverslips and cultured in presence of B27, hrFGF, NT-3, BDNF, IGF-1 and AA for 3 weeks. Cell membrane currents were recorded using the patch-clamp technique in the whole-cell configuration. Current patterns were obtained by hyper- and depolarizing the cell membrane from a holding potential of -70mV to values ranging from -160 mV to +40 mV, at 10 mV intervals. Changes in the expression of voltage-dependent A type K⁺ currents (KA), delayed outwardly rectifying K⁺ currents (KDR), and tetrodotoxin-sensitive Na⁺ currents were studied (INa⁺). To characterize these channels specific channel inhibitors were used.

Výsledky: Immunohistochemical analysis of hESC-derived NPs revealed increased β III tubulin- and NG2 staining. β III tubulin-positive cells showed neuronal morphology with long processes positive for NF-160 and synaptophysin. Electrophysiological analysis revealed that β III tubulin-positive cells displayed K⁺ currents, including KA and KDR, sensitive to 2mM 4-amino-pyridine and 10mM tetraethylammonium. They also expressed tetrodotoxin-sensitive INa and GABA-sensitive currents, which were blocked by bicuculline, while no response to 100 μ M glutamate was observed. Ten β III tubulin-positive cells (from a total of 24 cells) fired repetitive trains of action potentials.

Závěr: Our data showed that 5 weeks after the induction of differentiation in vitro, functional KA, KDR and INa channels are present in hESC/ β III tubulin-positive cells, which generate an action potential (41%) and express functional GABAA receptors (32%). The data confirm the differentiation of hESC into a neural phenotype, an important step towards their utilization in CNS regeneration.

Podpora projektu: GACR 305/06/1316, 1M0021620803





P11. Dynamika průkazu specifické borreliové DNA u pacientů s neuroborreliózou

Šedivý K. (1), Pícha D. (1), Holečková D. (1), Moravcová L. (1), Marešová V. (1)
1 – 1. infekční klinika 2. LF UK, Fakultní nemocnice Bulovka

Školitel: Marešová V., Pícha D.

Úvod: Lymeská borrelióza je nejčastější klíštětem přenášená nemoc ve střední Evropě. Neuroborrelióza je velmi častou klinickou manifestací tohoto onemocnění. Diagnostika se hlavně opírá nepřímé metody detekce (průkaz specifických protilátek pomocí ELISA či WB), mezi přímé metody detekce nemoci patří v současné době molekulárně genetická metoda PCR (polymerázová řetězová reakce) .

Cíl: V naší studii jsme se snažili sledovat dynamiku poklesu PCR pozitivitu po léčbě u pacientů s neuroborreliózou a stanovit její klinickou aplikovatelnost v různých tělních tekutinách.

Materiál a metody: Skupinu tvořilo 53 nemocných (35 mužů a 18 žen), průměrný věk 47,3 roků . Podmínkou zařazení byly recentní klinické symptomy neuroborreliózy, přítomnost specifických protilátek v krvi, mozkomíšním moku (konfirmovaný Western blottingem) nebo průkaz DNA v tělních tekutinách. Přítomnost borreliové DNA byla testována před léčbou v plasmě, mozkomíšním moku a v moči, po léčbě, 3 měsících a 6 měsících v plasmě a v moči. K detekci bylo použito pět nově připravených primerů specifických pro borreliovou DNA (16SrDNA, flagellin ,OspA, Osp C a p66) . Všichni pacienti byli léčeni antibiotiky.

Výsledky: Před léčbou jsme detekovali borreliovou DNA u 41 (77,4 %) pacientů, mozkomíšní mok byl pozitivní 26x, moč 25x a plasma 16x. Po léčbě byla PCR pozitivita byla zjištěna u 22 (41,5 %) pacientů. Po 3 měsících zůstalo pozitivních 16 (32,7 %) pacientů a po 6 měsících 6 (14,3 %) pacientů. Počet pozitivních záchytů byl v různých tělních tekutinách rozdílný. V moči byla specifická DNA zachycena celkově 53x, v plasmě byla detekována celkově 41x. Na počátku léčby byly detekovány pozitivní specifické protilátky v mozkomíšním moku 48x, v plasmě 33x. U 5 pacientů byla detekovaná spirochetální DNA v mozkomíšním moku bez průkazu specifických protilátek.

Závěr: Před léčbou bylo PCR pozitivních celkově 77,4% pacientů. Po léčbě klesla PCR pozitivita na polovinu. U 6 pacientů byla detekována DNA 6 měsíců po léčbě. V naší studii se jeví moč více senzitivnější než plasma k průkazu specifické borreliové DNA. Při porovnání pozitivitu vyšetření DNA a specifických protilátek je zřejmé, že existují klinické formy Lymeské borreliózy, kde protilátky nejsou prokazatelné.





P12. Assessment of the concentration of carboplatin in the vitreous of the rabbit's eye after the intravitreal administration or the periocular injection.

Pochop P. (1), Kukacka J. (2), Darsova D. (3), Vajner L. (4), Malis J. (5), Uhlik J. (6) and Kodetova D. (7)

1 and 3 – Department of Ophthalmology for Children and Adults, 2 – Department of Clinical Biochemistry and Pathobiochemistry, 4 and 6 – Department of Histology and Embryology, 5 – Department of Paediatric Haematology and Oncology, 7 – Department of Pathology and Molecular Medicine, 2nd Medical School, Charles University and FH Motol

Školitel: MUDr. Josef Hycl, Ph.D.

Úvod: Retinoblastoma is the most common primary intraocular tumor in children. Carboplatin is currently used in most regimens for intraocular retinoblastoma. Local delivery of chemotherapy could potentially provide tumor control while minimizing the systemic risks.

Cíl: To observe the carboplatin concentrations in the vitreous cavity after the periocular injection or transcorneal intravitreal injection.

Materiál a metody: In vivo experiments were conducted, in which albino rabbits received 15 mg carboplatin (1,5 ml) by periocular injection (POI group: n=6) or 0,05 mg (0,1ml) by transcorneal intravitreal injection (TII group: n=6) to the right eyes. The plasma and vitreal carboplatin concentrations were analyzed during the 14 days (1st, 2nd, 6th, 24th, 48th hour and 7th and 14th day) after administration. Left eyes served as control.

Výsledky: The very low concentration (no more than 1000 fg/l) of the carboplatin in the vitreous cavity was detected after the peribulbar balloon administration. Concentrations of carboplatin after the intravitreal injection achieved the assumed concentrations (between 38384 – 48658 fg/l) in all cases. The relatively high concentrations were measured at 24 hours (between 2862 – 7697fg/l) and 48 hours (535 – 2378 fg/l) following the intravitreal administration of carboplatin.

Závěr: Although the peribulbar balloon administration of carboplatin resulted in the higher vitreous concentrations than after the intravenous administration, the levels stay relatively low. Our results suggest that the intravitreal carboplatin delivery helps us to achieve the assumed and relatively stable concentrations of carboplatin in the rabbit vitreous body. Local carboplatin therapy may enhance tumor control, while decreasing treatment-related morbidity.

Podpora projektu: Supported by Grant of the Ministry of Health NR9532-3/2007





P13. Expresie genu CASP-3 v povrchovém karcinomu močového měchýře a její možná role v prognostice

Reiterová M. (1), Svobodová E. (1), Szakácsová M. (2), Babjuk M. (2) a Mareš J. (1)
1 – Ústav biologie a lékařské genetiky, UK 2. LF, 2 – Urologická klinika, UK 1.LF

Školitel: doc. RNDr. Jaroslav Mareš, CSc.

Úvod: Stanovení prognózy povrchových nádorů močového měchýře je velmi obtížné a nedá se přesně určit z jeho histologické stavby, proto se hledají nové molekulárně biologické markery pro odhad dalšího vývoje tohoto nádorového onemocnění. V něm hrají důležitou roli proliferace a programovaná buněčná smrt (PBS), které se účastní udržování tkáňové homeostázy. Produkt genu CASP-3 patří mezi efektorové cystein-dependentní aspartát-specifické cysteinproteinázy, které v exekuční fázi PBS štěpí cílové proteiny. Jeho exprese ve tkáni tudíž koreluje s mírou PBS. V nádorové tkáni močového měchýře poskytlly imunohistochemické studie protichůdné výsledky exprese CASP-3.

Cíl: Cílem studie bylo proto zhodnotit míru exprese proapoptotického genu CASP-3 pomocí RT-PCR u pacientů s povrchovým nádorem močového měchýře a hledat možné asociace a korelace s klinickými parametry.

Materiál a metody: Expresie genu CASP-3 se určovala semikvantitativně ve 49 vzorcích nádorové tkáně a 8 kontrolních vzorcích pomocí metody RT-PCR (One Step RT-PCR Kit, Qiagen) a její hodnocení se provádělo srovnáním s expresí provozního genu GAD (glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenáza). Velikost exprese se měřila denzitometricky a pomocí dokumentačního programu Gel Quant (MiniBIS Pro).

Výsledky: Studie prokázala, že exprese genu CASP-3 v nádorové tkáni je nižší než v kontrolní nenádorové tkáni. Hodnota relativní exprese CASP-3 nekorelovala signifikantně s histopatologickými a klinickými parametry. V současné době se stanovuje korelace s délkou přežíváním pacientů za tříleté období. Je však pravděpodobné, že spolehlivější výsledky Kaplan-Meierovy metody se získají až po pětiletém nebo delším sledování pacientů.

Závěr: Předběžné výsledky poukazují na možný prognostický význam stanovení relativní exprese CASP-3.

Podpora projektu: Studie byla podpořena VZ 21620808 a grantem IGA MZ 8934-3.





P14. Polymorphism of the Delta Subunit of RNA Polymerase from *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*

Hoffmanová H. (1), Šanderová H. (2), Nyč O. (1) and Krásný L. (2)

1 – Department of Medical Microbiology (of 2nd Medical Faculty), 2 – Institute of Microbiology /Inst of Mol Genetics of the Academy of Sciences of the Czech Republic: Laboratory of Molecular Genetics of Bacteria

Školitel: Nyč O., Krásný L.

Úvod: Infections of bacterial origin are a serious medical and economical problem. Many bacterial strains are resistant to known antibiotics. Therefore, the development of new antibacterial drugs is most desired. The best targets of these structures (new antibiotics) are essential proteins. RNA polymerase is one such a protein. It is composed of several subunits (2 a, b, b', s). Gram positive bacteria contain, in comparison with gram negative bacteria, an additional subunit, the delta subunit. Little is known about its position on RNAP and its physiological role in the cell. Nevertheless, it was recently reported as important for the virulence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. Therefore, the delta subunit may be an attractive target for new antibacterial (anti G+) drugs. However, before the search for such structures starts, it is most informative to know whether such a candidate protein is prone to polymorphism. If yes, it would be a strong argument against the development of new drugs targeting such a protein because the already available pool of mutants would easily give rise to resistance (obtained information still can be useful in studies of the function of the delta subunit). If no, it is a green light for the development process.

Cíl: To assess the extent of polymorphism of delta in selected pathogenic species.

Materiál a metody: Selection of bacterial strains (hospital, animal, food sources), cultivation, DNA isolation, PCR, DNA isolation from gel, sequencing, bioinformatic analysis.

Výsledky: *S. aureus*:

- DNA polymorphism: I detected three types of polymorphism in the delta subunit (i) no polymorphism (in 13 strains) (ii) 4 nucleotide (nt) substitutions (7 strains) (iii) 31 nt substitutions (3 strains).

- amino acid (AA) polymorphism: Most of the DNA substitutions resulted in no change in AA sequence. Two adjacent DNA mutations (from the strains with 31 nt substitutions) resulted in one substitution in AA sequence (asparagine 53 was changed to threonine).

S. pneumoniae:

1 polymorphism in DNA sequence (in 2 Motol strains) with no effect on translation. Other strains showed no nt substitutions.

Závěr: The AA polymorphism of delta is not significant: only one AA substitution was detected. Therefore, the delta subunit appears to be highly conserved. This absence of extensive polymorphism is an important precondition for selecting the delta subunit as a target for the development of novel antibiotics.

Podpora projektu: Grant No NR9138-3/2007 from the Ministry of Health (to LK and ON)





P15. Porucha čichu jako jeden z možných časných markerů Alzheimerovy choroby

Magerová H. (1), Vyhnaněk M. (1), Varjassyová A. (1), Laczo J. (1), Bojar M. (1), Hort J. (1)
1 – Neurologická klinika UK, 2.LF a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Úvod: Alzheimerova choroba (ACH) je nejčastější příčina demence. Předchází jí stadium zvané Mírná kognitivní porucha (MCI). Pacienti s MCI již mají kognitivní deficit, který lze prokázat neuropsychologickými testy, jsou však stále plně soběstační. Na základě přítomnosti poruchy paměti se MCI dělí na amnestickou (aMCI) a neamnestickou (naMCI) formu. 15% pacientů s MCI (převážně s amnestickou formou) ročně konvertuje do ACH. Již ve velmi časných stádiích ACH dochází k atrofii mesiotemporálních oblastí, která je zodpovědná za poruchu čichových funkcí, která se u ACH vyskytuje.

Cíl: Cílem studie bylo porovnat postižení čichu u podskupin MCI jako potenciálního markeru progresu do ACH. Zároveň představujeme test čichové identifikace vyvinutý na naší klinice – Motol Hospital Smell Test (MHST).

Materiál a metody: Do souboru bylo zařazeno 23 pacientů s diagnózou pravděpodobné ACH dle NINCDS-ADRDA kritérií, 70 pacientů s MCI, kteří byli základě Petersonových kritérií rozděleni do podskupin amnestické (aMCI, n=53) a nemamnestické (naMCI, n=17) MCI a 20 zdravých, věkově odpovídajících kontrol. Všechny osoby podstoupily vyšetření čichové identifikace pomocí MHST, část souboru rovněž pomocí University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT)

Výsledky: Čichová identifikace byla významně postižena u ACH ($p < 0,001$) a aMCI ($p < 0,01$) v porovnání s kontrolní skupinou. Rozdíl mezi naMCI a kontrolní skupinou nebyl statisticky signifikantní ($p > 0,05$). Nalezli jsme silnou korelaci mezi výkony pacientů v testech čichové identifikace MHST a UPSIT ($r = 0,68$, $p < 0,0005$).

Závěr: Postižení čichové identifikace u pacientů s ACH a aMCI a neporušená čichová identifikace u pacientů s naMCI je ve shodě s hypotézou, že aMCI představuje prodromální stadium ACH, zatímco naMCI konvertuje v jiné typy demence. Zároveň ukazuje, že postižení čichu u pacientů s MCI představuje vyšší riziko jejich progresu do ACH. Výsledky získané pomocí MHST a UPSITu dokazují, že specifická a senzitivita obou testů je pro vyšetřování čichové identifikace u pacientů s kognitivním deficitem srovnatelná.

Podpora projektu: Podpořeno granty: GAUK 7910/2007, GAČR 309/05/0693, interní grant FN Motol





P16. Inhibitory Rho kinázy inhibují reaktivitu plic na akutní i chronickou hypoxii v krvi perfundovaných izolovaných plicích potkana

Kafka P. (1, 2), Herget J. (1)

1 – Ústav fyziologie 2. LF UK, 2 – Klinika anesteziologie a resuscitace 2. LF UK a IPVZ, FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA

Úvod: Důležitou roli v regulaci cévního tonu k Ca^{2+} hraje signální dráha Rho/Rho kináza.

Cíl: Cílem práce bylo zjistit, jak se aktivita Rho/Rho kinázy uplatňuje při vazokonstrikci vyvolané akutní a chronickou hypoxií plic. K inhibici Rho/Rho kinázového mechanismu byl použit fasudil.

Materiál a metody: Byly použity 4 skupiny potkanů – kontrolní normoxická (skupina N, n=6), normoxická s fasudilem (skupina NF, n=6), hypoxická (skupina H, n=6) a hypoxická s fasudilem (skupina HF, n=6). Potkani ze skupin H a HF byly vystaveni po dobu 6 dnů hypoxii v hypoxické komoře (FiO_2 0.1).

Pokus se prováděl na izolovaných plicích perfundovaných heparinizovanou krví (15 ml, heparin 5000 IU), která byla odebrána kardiální punkcí potkanů (dárce krve). Plice byly perfundovány konstantním průtokem 4 ml/100 g t.v./min a ventilovány pozitivním přetlakem 10 cm H_2O směsí 21% O_2 + 5% CO_2 + 74% N_2 .

Byla měřena závislost perfúzního tlaku na stupňovitě se zvyšujícím průtoku (P/Q) před vystavením hypoxii a v době trvání hypoxie. U skupin NF a HF byl podán fasudil (10 μ M) před měřením závislosti P/Q.

Výsledky: Bazální perfúzní tlak skupiny H v normoxii (17.0 mmHg) se významně lišil od kontrolní skupiny N v normoxii (12.7 mmHg, $P < 0.01$). Signifikantní byl i rozdíl bazálních perfúzních tlaků v expozici hypoxii (skupina H 17.5 mmHg, skupina N 25.9 mmHg, $P < 0.01$). Závislost mezi perfúzním tlakem a průtokem (křivka P/Q) se u skupin H a N významně nelišila. Naopak významný byl rozdíl v P/Q u skupin NF a HF ve srovnání se skupinami H a N.

Závěr: Podání fasudilu způsobilo pokles křivky P/Q k nižšímu perfúznímu tlaku u normoxických potkanů a u potkanů vystavených po dobu 6 dnů hypoxii (NF i HF). Fasudil inhibuje hypoxickou plicní vazokonstrikci u normoxických zvířat i u zvířat s chronickou hypoxií.





P17. Kefalometrická analýza telerentgenových snímků

Řeháček A. (1, 2), Janega M., (1, 2)
1 – Stomatologická klinika UK 2.LF, 2 – UK 1. LF

Školitel: prof. MUDr. Tatjana Dostálová, DrSc. MBA

Úvod: Kefalometrickou analýzu v telerentgenografickém obrazu lze definovat jako: diagnostickou metodu, která zprostředkovává informace o lokalizaci dysgnatie v lebce obličejce, o stavbě obličejového skeletu, o vztahu čelistníchází (HČ a DČ), růstové tendenci a směru růstu.

Je to ideální metoda popisující změny tvrdých a měkkých tkání s velkou přesností, umožňující detailní morfometrickou analýzu 2–3 D modelů.

Cíl: Cílem naší práce bylo stanovit: střední kefalometrické hodnoty a zrekonstruovat tvar skeletálního profilu metodami geometrické morfometrie u pacientů zdravých, tj. bez ortodontických či jakýchkoli jiných anomálií.

Tyto standardní hodnoty budou dále využity k výpočtu algoritmu změny profilu na 2-D (modely čelistí a telerentgeny – Kefalo 4) a 3-D modelech (modely pater a reliéfu obličejce).

Materiál a metody: Podařilo se shromáždit 88 tele-rtg snímků neortodontických pacientů, tzn. bez čelistních anomálií, z chirurgického oddělení.

Rtg snímky byly převedeny do počítače a digitalizovány.

V programu Kefalo 4.07 byla provedena analýza, kde jsme díky přesnému zadávání bodů jak na tvrdých, tak na měkkých tkáních získali potřebné hodnoty k závěrečným výpočtům.

Výsledky: Následuje tabulka výsledných hodnot proměřených kefalometrických bodů:

	SNA	SNB	SNPo	ANB	Wits	NS-ML	1+NS	1+NPo
průměr muži	80,48	78,55	80,30	2,29	3,01	28,49	104,09	5,23
SD muži	4,01	3,87	3,88	1,64	2,09	6,41	6,93	3,33
průměr ženy	81,29	78,83	80,31	2,93	2,68	28,57	101,86	5,91
SD ženy	4,48	4,08	4,18	2,00	2,12	7,08	6,65	3,33

	1+1-	1-ML	1-APo	SGo:NMe	NGoMe	NS-MT	ML-MT
průměr muži	129,69	97,82	2,69	71,48	71,33	31,49	3,06
SD muži	8,69	6,90	2,08	5,21	5,51	6,71	1,78
průměr ženy	133,70	95,96	2,08	69,91	69,79	32,51	3,96
SD ženy	9,95	9,04	1,46	5,80	6,03	6,93	1,86

Závěr: Neprokázali jsem statisticky významný rozdíl mezi evropským standardem a odnotami naměřenými u vzorku české populace. Podařilo se nám stanovit metodu, kterou bude moci být proměřen tzv. český standard.





P18. Identifikace mutací v genu pro calcium-sensing receptor (CASR) u dětských pacientů s poruchou metabolismu kalcia

Obermannová B., Šumník Z., Cinek O., Lebl J.
Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Úvod: Sekrece parathormonu je řízena calcium-sensing receptorem exprimovaným na povrchu buněk příštítných tělísek. Reaguje na změny koncentrace kalciových iontů v extracelulárním prostředí a udržuje hladiny sérového kalcia ve fyziologických rozmezích. Bylo popsáno více než 100 různých mutací v genu pro calcium-sensing receptor. Inaktivační mutace byly nalezeny v heterozygotní formě u pacientů s **familiární benigní hypokalcierickou hyperkalcémií (FBHH)**, kteří mají asymptomatickou hyperkalcémií s hypofosfatémií při většinou normální hladině parathormonu. V homozygotní, vzácně i v heterozygotní formě, se vyskytují inaktivační mutace u pacientů se **závažnou novorozeneckou primární hyperparathyreózou (NSHPT)**. Toto velmi vzácné onemocnění se manifestuje v novorozeneckém či časném kojeneckém věku těžkou symptomatickou hyperkalcémií, hypofosfatémií, hyperparathyreózou, frakturami skeletu, kostní demineralizací a respirační insuficiencí. Aktivační mutace CASR genu vedou k **autozomálně dominantní hyperkalcémií s hypokalcierií (ADHH)** a projevují se hypoparathyreózou, hypokalcémií, hyperfosfatémií a relativní hyperkalcierií.

Cíl: Ze souboru dětských pacientů s poruchou metabolismu kalcia jsme identifikovali jedince se suspektní poruchou calcium-sensing receptoru a provedli molekulárně genetickou analýzu CASR mutací.

Materiál a metody: Molekulárně-genetická analýza mutací v CASR genu byla provedena přímým sekvenováním PCR produktů šesti kódujících exonů CASR genu.

Výsledky: U novorozence s těžkou formou NSHPT jsme identifikovali heterozygotní mutaci ve čtvrtém exonu CASR genu (**R185Q**). Matka je zdravý homozygot, otec není známý. Tento typ mutace byl již popsán, nikdy však nebyl spojen s takto závažnou klinickou manifestací. Ta je pravděpodobně následkem intrauterinní hyperparathyreózy plodu vyvíjejícího se v normokalcemickém prostředí zdravé matky. U dívky s klinickou diagnózou ADHH a jejího otce léčeného pro primární hypoparathyreózu jsme identifikovali heterozygotní delecí 8 nukleotidů v sedmém exonu CASR genu kódující intracelulární část receptoru (**c.2703_2710del**). Tento typ mutace nebyl dosud popsán.

Závěr: Identifikace mutací v CASR genu u dětských pacientů vede k přesné diagnostice kalcium-fosfátové poruchy, významně ovlivňuje terapeutický postup a prognózu pacienta, umožňuje genetické poradenství v rodině i záchyt dalších asymptomatických rodinných příslušníků. Také napomáhá objasnění patofyziologie regulace metabolismu kalcia.





P19. Sledování změn na obrazech magnetické rezonance při difusním axonálním postižení u dětí a dospělých

Suchánek V. (1), Neuwirth J. (2)

1 – Klinika zobrazovacích metod FN motol, 2 – Radiologická klinika FN Hradec Králové

Školitel: prof. MUDr. Jiří Neuwirth, CSc.

Úvod: Kraniocerebrální poranění představují v současné době významný problém pro svou stoupající četnost, medicínskou a ekonomickou závažnost. Poranění mozku může vyústit v různé typy primárních poranění: kontuze mozku, intracerebrální hematom, komoče mozku, difúzní axonální poranění.

K difusnímu axonálnímu postižení (DAI – diffuse axonal injury) dochází nejčastěji při dopravních nehodách a pádech z výšky. Morfologickým základem je mikroskopické postižení axonů neuronů. Mechanismem poranění jsou tahové a střížné síly, které se uplatňují hlavně při akceleraci a deceleraci, někdy i bez přímého nárazu hlavou.

Magnetická rezonance (MR) v porovnání s výpočetní tomografií je spolehlivější a přesnější. Nejčastějšími nálezy na MR jsou subkortikální petechie, ložiskové změny v oblasti corpus callosum, změny v oblasti pontu.

Cíl: Naším cílem bylo porovnat změny obrazů na MR u pacientů s traumatickým postižením hlavy a klinickým podezřením na DAI. Porovnávali jsme četnost postižení jednotlivých anatomických struktur zvláště u dětí a dospělých.

Materiál a metody: Provedli jsme vyšetření MR mozku u celkem 116 pacientů na přístroji s intenzitou pole 1,5T. Použili jsme sekvence: T2 FSE, FLAIR, T2 GRE and T1SE. Zahrnuti byli pouze pacienti kterým bylo provedeno MR vyšetření do 60 dnů od úrazu. Jednalo se celkem o 49 dospělých (průměrný věk 32) and 38 dětí (průměrný věk 12,4).

Výsledky: Děti měli postižení v oblasti corpus callosum v 78 % v porovnání s 65 % u dospělých. Je statisticky signifikantní rozdíl mezi četností změn ve splenium corporis callosi u dětí a dospělých 71 % a 45 % ($p=0,015$). Pons cerebri byl postižen u 39 % dětí a 22 % dospělých.

Naproti tomu truncus corporis callosi a bazální ganglia byla postižena nejčastěji u dospělých (29 % resp. 29 %) než u dětí (18 % resp. 24 %).

Subkortikální krvácení mělo zhruba stejný výskyt 66 % u dětí a 69 % u dospělých.

Závěr: Frekvence postižení jednotlivých anatomických struktur mozku při DAI se liší mezi dětmi a dospělými. Je signifikantní rozdíl v četnosti postižení v oblasti splenia corporis callosi. Hlavní příčina je rozdílná pružnost měkkých tkání. Rozdíl v síle krčních svalů a v poměru hmotnosti hlavy a mozku k hmotnost celého těla.





P20. Selekční výhoda nosičství mutace F508del ve vztahu k laktóзовé intoleranci

Balašáková M., Křenková P., Norambuena P., Fialová M., Štambergová A., Macek M Jr.,
Ústav biologie a lékařské genetiky

Školitel: Macek M Jr.

Úvod: Cystická fibróza (CF) je nejčastější závažné dědičné onemocnění v Evropě, způsobené ztrátou funkce proteinu Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR). V souvislosti s tak vysokou incidencí v Evropě (~1:2500) se předpokládá, že nosičství mutace genu CFTR bylo v minulosti selektivní výhodou. Protein CFTR plní především funkci chloridového kanálu a tím i reguluje exkrece vody; v důsledku toho jsou CF nosiči více rezistentní na průjmová onemocnění.

Předpokládá se, že když se v Evropě rozšířil chov skotu a tím přijímání mléčné stravy, byly všichni jedinci původně „laktóзовé intolerantní“ (LI). Pouze nosiči CF mutace byli odolnější proti laktóзовou způsobeném průjmu, tzn. rychle se přizpůsobili dané dietní změně. Později jako adaptace vznikla a rychle se rozšířila „laktóзовá perzistence“ (P alela, LCT gene, C/T13910 SNP), která umožnila trávit laktóзу i po období kojení. Nedávná estonská studie prokázala korelaci mezi genotypem C/C13910 (LI) a výskytem nosičství mutace F508del.

Cíl: Ověření hypotézy o vztahu mezi nosičstvím mutace F508del a laktóзовou intolerancí. „Paleolitická“ mutace F508del je nerozšířenější v Evropě a vykazuje severojižní gradient, stejně jako výskyt P alely.

Materiál a metody: Bylo použito 648 (304 mužů/ 344 žen) vzorků DNA selektovaných ze Středočeského kraje. Dále bylo vyšetřeno 115 vzorků nosičů mutace F508del. U těchto vzorků byl testován genotyp C/T13910 SNP (rs4988234) pomocí nové metody HRMCA (High Resolution Melting Curve analysis). Vybrané pozitivní kontroly byly potvrzené sekvenací. Testování mutace F508del bylo provedeno stejnou metodou- HRMCA.

Výsledky: Bylo nalezeno 219 vzorků s C/C13910 genotypem (LI), výskytem mutace F508del ve 41 případech. U 200 vzorků s T/T13910 genotypem se mutace F508del vyskytla ve 38 případech. Dále bylo nalezeno 344 heterozygotů C/T13910, u nichž se mutace F508del detekovala v 51 případech.

Závěr: Frekvence C/C13910 genotypu (LI) je ve vyšetřované skupině 29%, což je v souladu s udávanými frekvencemi ze stejného pásma Evropy. Dosavadní výsledky nepotvrzují hypotézu o souvislosti nosičů s mutací F508del a genotypem C/C13910, nicméně pokračujeme v testování non-F508del mutací nepřímými metodami k průkazu jejich kominovaného efektu.

Podpora projektu: VZFNM00064203





P21. Regulatory cytokines IL-10 and TGF-beta1 in breast milk in relation to allergy.

Durilová M. (1), Flajšmanová K. (1), Štechová K. (1), Čepelková M. (2), Pacáková Z. (3), Nevala J. (1)

1 – Department of Paediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague,
2 – Department of Gynaecology and Obstetrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague,
3 – Faculty of Management and Economics, Czech University of Agriculture, Prague

Školitel: MUDr. Kateřina Štechová, Ph.D.

Úvod: Breast milk contains a broad spectrum of immunological substances, which passively and actively influence the infant

Cíl: The aim of our study was to compare levels of regulatory cytokines IL-10 and TGF-beta1 in breast milk of allergic and non-allergic mothers.

Materiál a metódy: Breast milk samples of mothers with and without positive history of allergic diseases were collected within 4 days postpartum (colostrum) and at 1 and 3 months after delivery. Positive history of allergic diseases included atopic eczema, bronchial asthma, pollinosis, and allergies to pollen, dust and mold. Concentrations of IL-10 and TGF-beta1 were determined by using commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits. Differences between the allergic and non-allergic group were analyzed using Mann-Whitney U test. Probability level of <0.05 was considered to be statistically significant.

Výsledky: Levels of IL-10 were significantly higher ($p<0.001$) in colostrum of allergic mothers ($n=48$, median 8, range 0-101 pg/ml), compared with their non-allergic counterparts ($n=27$, median 0, range 0-18 pg/ml). In the allergic group, significant decrease in the concentration of IL-10 was observed during lactation period ($p=0.0003$, $p=0.0003$, colostrum vs. 1st and 3rd month, respectively). TGF-beta1 was tested only in mature milk samples at the age of 1 and 3 months of child's age. Significantly higher concentrations were found in breast milk of non-allergic ($n=10$, median 592, range 418-762 pg/ml in 1st month; $n=10$, median 698, range 454-803 pg/ml in 3rd month) compared with allergic mothers ($n=10$, median 283, range 106-394 pg/ml in 1st month; $n=10$, median 417, range 209-620 pg/ml in 3rd month) in both types of samples ($p<0.001$, $p=0.002$).

Závěr: Allergic mothers had significantly higher levels of IL-10 in colostrum but significantly lower levels of TGF-beta1 in mature milk. Low levels of TGF-beta1 have been previously found in breast milk of allergic mothers and are considered a risk factor for further allergy development. High concentrations of IL-10 in colostrum of allergic mothers might suggest a compensatory activity of Th2-directed immune system of the allergic mother for balance in immune regulation. Infants enrolled in our study are followed-up for further allergy development.

Podpora projektu: IGA MZ NR/8310-5





P22. Preferenční asociace nonF508del mutací genu CFTR s alelou M470 sekvenční varianty M470V.

Piskáčková T. (1), Ciminelli B. M. (2), Bonizzato A. (3), Bombieri C. (4), Pompei F. (2), Gabaldo M. (4), Ciccacci C. (2), Begnini A. (4), Holubová A. (1), Zorzi P. (4), Macek M. Jr. (1), Castellani C. (3), Modiano G. (2), Pignatti P.F. (4)

1 – Ústav biologie a lékařské genetiky FNM, 2 – Department of Biology, University of Roma-Tor Vergata, Italy, 3 – Cystic Fibrosis Centre, Hospital of Verona, Italy, 4 – Section of Biology and Genetics, University of Verona, Italy

Školitel: Prof. MUDr. Milan Macek Jr., DrSc.

Úvod: Sekvenční varianta M470V (1540A/G) se nachází v 10. exonu genu CFTR. Alela M470 je asociována s přítomností mutace F508del genu CFTR, její vztah k dalším mutacím tohoto genu nebyl dosud upřesněn.

Cíl: Cílem studie bylo potvrzení hypotézy, že alela M470 sekvenční varianty M470V je asociována s přítomností dalších nonF508del mutací genu CFTR.

Materiál a metody: Ve spolupráci s italskými pracovišti bylo MG vyšetřeno 274 pacientů s cystickou fibrózou (201 Italů a 73 Čechů) a jejich rodičů, nikdo z pacientů nebyl homozygotem pro mutaci F508del. Všichni pacienti měli klinicky potvrzenou diagnózu cystické fibrózy. U italského a českého souboru byly vyšetřeny nejčastější mutace genu CFTR v dané populaci a sekvenční varianta M470V.

Výsledky: Z celkového počtu 358 nonF508del alel bylo 84 alel asociovaných s variantou 470V a 274 alel bylo asociovaných s méně častou variantou M470. Tato asociace byla prokázána v italském i českém souboru.

Závěr: Asociace varianty M470 s mutacemi genu CFTR by mohla být využita v mutačním screeningu u pacientů s cystickou fibrózou nebo nosičů mutace v rámci prekoncepční péče.

Podpora projektu: MZCR VZ FNM 0000064203





P23. Genotypová diverzita kmenů *Pseudomonas aeruginosa* izolovaných od nemocných s cystickou fibrózou v České republice

Š. Vošahlíková (1), M. Maixnerová (2), O. Cinek (1), L. Dijkshoorn (3), A. Nemeč (1, 2)
1 – Pediatrická klinika, 2 – LF UK, 2 – Státní zdravotní ústav, Praha, 3 – Leiden University Medical Centre, Leiden, NL

Školitel: MUDr. Ondřej Cinek, Ph.D.

Úvod: *Pseudomonas aeruginosa* je nejvýznamnějším patogenem u pacientů s cystickou fibrózou (CF), u nichž vyvolává infekce způsobující progresivní zhoršování respirační funkce plic. Epidemické šíření kmenů *P. aeruginosa* bylo nedávno prokázáno v několika evropských centrech pro CF. Epidemické kmeny bývají multirezistentní k antibiotikům a mohou nést specifické faktory patogenity.

Cíl: Cílem této práce bylo definovat genetickou strukturu a vlastnosti populace *P. aeruginosa* u českých pacientů s CF.

Materiál a metody: Studovali jsme 71 izolátů zachycených v roce 2004 od různých pacientů v pražském centru pro léčbu cystické fibrózy. Druhová identita byla potvrzena diagnostickou soupravou API 20NE a dvoukolovým PCR specifickým pro gen *oprL*. Izoláty byly typizovány pomocí AFLP fingerprintingu, makrorestrikční analýzy (*SpeI*) a určením serovarů. Podobnost profilů AFLP byla numericky vyhodnocena programem BioNumerics, makrorestrikční profily byly porovnány vizuálně. Kontrolní skupina pro definování epidemiologicky významné podobnosti AFLP profilů zahrnovala 10 izolátů reprezentujících epidemický kmen cirkulující u holandských pacientů s CF. Citlivost k 24 antibiotikům byla vyšetřena diluční mikrometodou.

Výsledky: Shlukovou analýzou AFLP profilů bylo na 80% hladině podobnosti (definované pomocí kontrolní skupiny) rozlišeno 39 jedinečných profilů a 12 shluků obsahujících po dvou až pěti izolátech. Výsledky makrorestrikční analýzy potvrdily vysokou rozmanitost genotypů studovaných izolátů. Serotypizací bylo 31 izolátů zařazeno do 8 serovarů, 40 izolátů bylo netytovatelných. Většina izolátů byla dobře citlivá k antipseudomonádovým antibiotikům.

Závěr: Genotypová a fenotypová analýza prokázala značnou genetickou rozmanitost izolátů *P. aeruginosa* u nemocných v ČR. Nepřítomnost epidemického kmene *P. aeruginosa* se nápadně odlišuje od nedávno prokázaného rozšíření epidemického kmene *Burholderia cenocepacia* v české populaci pacientů s CF (Dřevínek et al. *J Med Microbiol* 2005;54:655- 9).

Podpora projektu: GAUK 200-0-80, VZ MSM 0022160812, VZ FNM 64203 6405.





P24. Význam mutační analýzy genů receptorových tyrosinkináz KIT a PDGFRalpha u pacientů s gastrointestinálními stromálními nádory

Augustináková Alena, Krsková Lenka, Hilská Irena, Břizová Helena, Kodet Roman
Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN v Motole

Školitel: Prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Úvod: Gastrointestinální stromální nádory (GIST) tvoří nejpočetnější skupinu mesenchymálních nádorů GIT, charakterizovaných expresí transmembránového proteinu KIT (CD 117). GISTy mohou postihnout kteroukoliv část GIT, ale nejběžnější lokalizací je žaludek nebo tenké střevo. V patogenezi vzniku těchto nádorů hrají významnou roli aktivační mutace genů pro receptorové tyrozinkinázy KIT anebo PDGFR α (plateled derived growth factor receptor alpha). Následkem je aktivace receptorů a spuštění signálních drah vedoucích k buněčné proliferaci, diferenciaci, prodlouženému přežívání nebo programované smrti buňky bez přítomnosti specifického ligandu.

Cíl: Cílem je analýza genů c-kit (exony 9, 11, 13 a 17) a pdgfra (exony 12, 14 a 18). Jedná se o exony, ve kterých se mutace kumulují.

Materiál a metody: Ve vzorcích tkání od pacientů s morfologicky verifikovanou diagnózou GISTu jsme vyšetřili geny c-kit a pdgfra. Detekce mutací je prováděna pomocí asymetrické sekvenační PCR.

Výsledky: Naše pilotní výsledky ve shodě s publikovanými údaji potvrzují nejčastější výskyt mutací v exonu 11 genu c-kit. V proximální části exonu 11 byly detekovány delece (samotné, nebo ve spojení se substitucí či inzercí nukleotidů) nebo bodové mutace v 18 případech. Tandemová duplikace v distální části exonu 11 byla zjištěna v 1 případě. Rovněž u 1 pacienta byla detekována inserce 24 nukleotidů. Mutace v exonu 9 genu c-kit jsme zjistili ve 2 případech. Jednalo se o substituci a inserci nukleotidů. Doposud jsme nezjistili přítomnost mutací v exonech 12, 14 nebo 18 genu pdgfra.

Závěr: Význam analýzy mutací v genech c-kit a pdgfra nespočívá jen v poznání mechanismu vzniku nemoci a komplexní diagnostice GISTů. Má rovněž výrazný klinicko-terapeutický dopad, protože může predikovat chování nádoru vzhledem k terapii imatinib mesylátem. Obecně jsou na terapii primárně rezistentní nádory s nemutovaným geny c-kit nebo pdgfra, mutacemi v exonech 13, 17 genu c-kit a některými z mutací v exonu 18 genu pdgfra. Analýzou mutací bude možné získat více informací o nádorech primárně rezistentních a nádorech s vyvinutou sekundární rezistencí. Mechanizmy vzniku sekundární rezistence zahrnují vznik sekundárních mutací v genech c-kit a pdgfra, amplifikaci genu c-kit, nebo aktivaci jiných receptorových tyrosinkináz. Cílená protinádorová terapie u pacientů se zjištěnými mutacemi povede ke zlepšení indikace léčby, k analýze lékové rezistence a v konečném efektu přispěje ke zlepšení stavu nemocných.

Podpora projektu: Podpořeno VZ FNM MZO 00064203.





P25. Aberrant CEACAM6 enhances integrin-ligand interactions on leukemic cells

Kanderová V. (1, 2), Hrušák O. (1, 2), Kalina T. (1, 2)

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, 2 – CLIP – Cytometrie

Školitel: MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.

Úvod: Signal exchange between cell and its microenvironment is essential for proliferation, differentiation, survival, apoptosis or migration. Adhesion molecules of CEA (carcinoembryonic antigen) family initiate signaling pathways, which influence all above mentioned processes in malignant GI tissues and in nonmalignant granulocytes. Within the hematopoietic system, the expression of CEACAM6 - a GPI-linked CEA family molecule - is limited to granulocytes, where it serves homo/heterotypic adhesion and Ca²⁺ mediated signaling. In addition, CEACAM6 is the most frequent aberrant myeloid marker in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia (ALL). However, an evidence for its functional importance in leukemic cells has been missing.

Cíl: In our study, we examined the underlying molecular mechanism of CEACAM6 signaling and its effect to leukemic cells behaviour.

Materiál a metody: We used a model of antibody-mediated clustering of CEACAM6 molecules and cocultivation of leukemic blasts on a stromal feeder layer, which in vitro approximates bone marrow microenvironment. Surface expression of integrins was detected by flow cytometry. The phosphorylation changes of intracellular phospho-kinases involved in integrin and CEACAM6 signaling (Akt, p44/42 MAPK and p38 MAPK) were measured by flow cytometry. Apoptosis was measured by Annexin V./PI staining. Affinity/avidity changes of integrins were detected by Ligand-Complex-Based Adhesion Assay.

Výsledky: We demonstrated that clustering of CEACAM6 enhanced surface expression of beta1 (CD49e) and beta2 (CD11a, CD11b, CD11c) integrins (by 4% and by 20, 25, 40% resp, n=5, p<0.05). The capacity to bind their ligand VCAM-1 and ICAM-1 increased (by 47% and 26% resp, n=3, p<0.05). Next, we detected enhanced phosphorylation of anti-apoptotic kinase p44/42 MAPK (by 37%, n=5, p<0.05). Clustering of CEACAM6 triggered apoptosis of ALL blasts. When ALL blasts were cocultured on stroma and treated with imatinib (BCR/ABL inhibitor) CEACAM6 signaling rescued survival of blasts (n=3, p<0.05) probably through beta1 integrin-ligand binding.

Závěr: Thus, for the first time, we show that aberrant expression of myeloid CEACAM6 is functionally engaged in communication between ALL blasts and their microenvironment. CEACAM6 clustering enhanced integrin surface expression, integrin-ligand binding and activated downstream signaling molecule p44/42 MAPK. This can play at least a supportive role in malignant behavior of ALL blasts.

Podpora projektu: GAUK7539/2007, VZMŠMT0021620813, GAČR301/06/P162





P26. Cognitive dysfunction beyond memory impairment in temporal lobe epilepsy patients

Amlerová J., Marusič P., Krijtová H., Tomášek M., Javůrková A.
Neurologická klinika UK 2. LF a FN Motol

Školitel: Marusič P.

Úvod: Memory functions connected to temporal lobes are routinely assessed pre- and postsurgically in temporal lobe epilepsy (TLE) patients.

Cíl: The aim was to expand battery of neuropsychological tests and evaluate for other functions that may be associated with temporal lobes; and to compare results of patients and controls.

Materiál a metody: We included 22 left-speech dominant TLE patients, 11 left-sided (mean age 36,4 years, FSIQ 89) and 11 right-sided (mean age 40,6 years, FSIQ 104). Control group consisted of 10 subjects (mean age 36,5 years, FSIQ 109). Patients and controls were examined with standard neuropsychological battery expanded with Boston Naming Test (BNT), Face Recognition Test, Emotion Recognition Test and Faux-Pas Test. Scores were not correlated to intelligence level.

Výsledky: There was no difference between patients and controls in face recognition, however, right-sided patients had more false-positive answers. Patients scored worse in emotion recognition than controls, the impairment was more pronounced in left-sided. Left-sided patients had lower scores in BNT, right-sided patients scored similarly to controls. Patients differed from controls in Faux-Pas Test, left-sided had worse outcome than right-sided.

Závěr: Except from face recognition, patients scored worse than controls in all tests, right-sided were similar to controls in BNT. Tendency for more pronounced impairment in emotion recognition and Faux-Pas Test in left-sided patients compared to right-sided was observed. Intelligence level of left-sided TLE patients was lower than in right-sided and may possibly influence the difference in results, this need to be investigated in further studies.





P27. Transplantace ledvin u dětí: 30 let zkušeností ve FN v Praze-Motole.

Vondrák K. (1), Burkert J. (2), Dušek J. (1), Dvořák P. (1), Janda J. (1), Kreisinger J. (1), Krolupper M. (3), Morávek J. (3), Seeman T. (1), Špatenka J. (4).

1 – Pediatriká klinika FNM, 2 – Kardiochirurgie, Kardiovaskulární centrum pro dospělé FNM, 3 – Klinika dětské chirurgie FNM, 4 – Transplantační centrum FNM.

Školitel: prof. MUDr. Jan Janda, CSc.

Úvod: Transplantace (Tx) ledvin je metodou volby v léčbě dětí a adolescentů s konečným selháním ledvin. 1 a 3leté přežívání štěpů se udává 95% resp. 90%, 5leté přežívání pacientů 95% a 10leté 90%. V alokačním systému ledvin mají děti do 19 let přednost s cílem zkrátit dobu na dialýze a omezit růstovou a vývojovou poruchu. Chronická imunosuprese však vyvolává řadu komplikací. První Tx ledviny u dítěte v ČR byla provedena v r. 1977 a od r. 1980 se stala rutinní metodou. Pediatriká klinika FN Motol je jediným centrem transplantací ledvin u dětí v ČR.

Cíl: Cílem retrospektivní studie je analýza souboru dětských pacientů po transplantaci ledviny ve FN Motol, přežívání štěpů a pacientů, incidence rejekcí a komplikace ve vztahu k imunosupresivnímu protokolu.

Materiál a metody: Analyzovali jsme 204 Tx ledvin u 189 dětí provedených mezi roky 1977 a 2007. Průměrný věk pacientů byl 12,5 +/- 3,9 r. (1,89r.- 19 r.). Poměr dívky : chlapci = 1: 1,46. 198 Tx bylo od zemřelých dárců, 6 Tx od živých. 3 Tx byly preemptivní, u 15 dětí se jednalo o retransplantace. Nejčastější příčinou selhání ledvin byly vrozené vývojové vady v 62 %, dále chronická pyelonefritida (23 %) a glomerulonefritida (23 %). Průměrná shoda v HLA systému byla pro lokus A 0,8, pro B 0,5 a DR 0,9. Doba studené ischemie 20,07 +/- 4,99h.

V analyzovaném období se měnil režim imunosuprese. 1988–2002 107 dětí (56,6 %) léčených trojkombinací CyA+Prednison+Azathioprine a 1998–2007 60 dětí (31,7 %) trojkombinací Tacrolimus+Prednison+Azathioprine/MMF.

Výsledky: V porovnávaných souborech dětí s CyA a Tac bylo 5 leté přežívání pacientů 93 resp. 95%. 10leté přežívání ve skupině s CyA 92,6%. 1roční přežívání štěpů ve skupině s CyA 77%, 3leté 74%, ve skupině s Tac 91% resp. 85%. V prvních 6 poTx měsících se alespoň jedna rejekce v Tac skupině vyskytla u 25% pacientů (18 epizod/15 pac.), ve skupině s CyA u 53% pacientů ze 62 Tx s dostupnými daty (42 epizod/33 pacientů).

V obou skupinách nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi kortikosenzitivními a kortikorezistentními rejekcemi ani opožděným nástupem funkce štěpu. Nejčastějšími komplikacemi byla hypertenze u 87% pac., infekce u 85%, z toho závažné u 43% a mezi jednotlivými skupinami nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl.

Závěr: Ve skupině s tacrolimem byla zjištěna statisticky významně nižší incidence akutních rejekcí a významně delší přežívání štěpů než u CyA. Nejistili jsme signifikantní rozdíl v přežívání pacientů v obou skupinách, srovnatelný je i bezpečnostní profil mezi oběma léčebnými schémata.





P28. Effect of mucosal microbiota on tumorigenesis in the mouse model of colorectal cancer

Klimesova K., Rossmann P., Kverka M., Frolova L., Hudcovic T., Tlaskalova-Hogenova H.
Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Videnska 1083, 142 20
Prague

Školitel: Prof. MUDr. Helena Tlaskalova-Hogenova, DrSc.

Úvod: Colorectal cancer is one of the most common human cancers. Chronic inflammation has long been recognized as a risk factor for human cancer at various sites. Patients with ulcerative colitis in comparison with healthy individuals have a 2 – 8-fold increased risk of developing colorectal cancer through inflammation-related mechanisms.

Cíl: The aim of our work was to establish the animal model and to follow changes in intestine morphology and markers expression during carcinogenesis in conventional and germ-free conditions with the future potential to modulate the cancer development.

Materiál a metody: Two-month-old Balb/c mice reared in conventional and germ-free conditions were used in this study. To initiate carcinogenesis, the mice were given single subcutaneous injection of azoxymethane (AOM, 10 mg/kg). Then mice received 3% dextran sodium sulfate in their drinking water continuously for up to 5 days, starting 1 week after the AOM injection. To reduce the intestinal microbiota content in conventional mice, 1 group of animals was treated by antibiotics (ciprofloxacin and metronidazole) for the whole time of the experiment. Specimens were taken from distal colon and rectum in weeks 6 and 12 and macroscopic and microscopic changes of the colon mucosa were evaluated. In addition, immunohistochemical determination of beta-catenin and iNOS was performed. Serum level of aptoglobin was measured by ELISA (mg/ml).

Výsledky: Chronic colitis, low or high grade dysplasia or adenocarcinoma was visible in histological sections since the week 6; the incidence of colonic adenocarcinoma in conventional, antibiotic-treated and germ-free mice was 80%, 40% and 20%, respectively. At week 12 the histopathology findings were more extensive in conventional (87,5%) compared to antibiotic-treated (40%) mice. Strong nuclear and cytoplasmic staining of beta-catenin was observed in high grade dysplasia and adenocarcinoma cells. Intensity of iNOS in cytoplasm gradually increased with the grade of neoplasia. Serum level of haptoglobin increased with the alteration of intestinal mucosa.

Závěr: The present study is bringing a basic data about effect of intestinal microbiota on inflammation and cancer development. Our findings may help in identification of etiological agents and in development of novel preventive and therapeutic approaches.





P29. Terapie blokátorem Ca kanálů – amlodipinem – brání snížení účinnosti hypoxické plicní vazokonstrikce, které je způsobené chronickou hypoxií

Křesala V., Vaněk P., Hodyc D. a Herget J.
Ústav fyziologie 2. lékařské fakulty UK

Školitel: MUDr. Daniel Hodyc

Úvod: Hypoxická plicní vazokonstrikce (HPV) je regulačním mechanismem, který snižuje perfuzi špatně ventilovanými oblastmi. Tím omezuje podíl venózní příměsi a brání vzniku arteriální hypoxémie. V minulých pokusech jsme prokázali nepřímo úměrnou závislost mezi velikostí HPV a poklesem parciálního tlaku kyslíku měřeného ve výtokové plicní kanyle. Tyto výsledky jsme interpretovali tak, že v podmínkách celkové ventilační hypoxie plic brání HPV vzniku arteriální hypoxémie.

Rovněž jsme zjistili, že dlouhodobá expozice chronické hypoxií účinnost tohoto mechanismu snižuje.

Cíl: Cílem prezentované studie bylo zjistit, zda podání blokátoru vápníkových kanálů – amlodipinu – zabrání tomuto negativnímu efektu chronické hypoxie.

Materiál a metody: Pokusy byly prováděny na laboratorních potkanech Wistar. První skupina byla kontrolní normoxická (N), potkani z druhých dvou skupiny byli umístěni na 21 dní do hypoxické normobarické komory (FiO₂ = 10%). Jedna hypoxická skupina zvířat (H) byla pouze vystavena hypoxii, zvířatům z experimentální skupiny (A) jsme podávali dva dny před umístěním do komory a první týden hypoxie amlodipin perorální gavází v dávce 10mg/kg. Použili jsme preparát izolovaných plic perfundovaných konstantním průtokem (4ml/min/100g) solným roztokem s 4% albuminem, L-NAME (5x10⁻⁵M) a meklufenamátem (17x10⁻⁶M) a ventilovaných 21 % O₂ + 5 %CO₂. V průběhu pokusu byl kontinuálně registrován arteriální perfuzní tlak a měřen parciální tlak O₂ ve výtokové a vtokové plicní kanyle. Pro vyvolání vazokonstrikční odpovědi jsme plíce ventilovali hypoxickou směsí plynů 0 % O₂ + 5 %CO₂.

Výsledky: Měněním změny perfuzního tlaku jsme zjistili, že vazokonstrikční reaktivita je u obou hypoxických skupin (A, H) signifikantně vyšší ve srovnání s kontrolami (p je menší 0,005). Oproti tomu arterio – venózní diference parciálního tlaku kyslíku se v průběhu ventilační hypoxie mezi skupinami nelišila. Dále jsme hodnotili korelační vztah mezi velikostí vazokonstrikční odpovědi na akutní ventilační hypoxii a poklesem pO₂ ve výtokové plicní kanyle.

U normoxické skupiny jsme zde potvrdili mírnou korelaci (CC = 0,55), naopak u hypoxické skupiny hypoxická vazokonstrikce poklesu arteriální hypoxémie vůbec nebránila (CC = -0,1). U skupiny léčené amlodipinem jsme – stejně jako u kontrol – pozorovali opět mírnou pozitivní korelaci (CC = 0,40).

Závěr: Terapie amlodipinem tedy částečně brání snížení účinnosti hypoxické plicní vazokonstrikce, způsobené chronickou hypoxií.

Podpora projektu: MSMT 1M 0510, GAUK7415/2007,





P30. Vazebné analýzy na čípech u českých rodin s autosomálně dominantními dědičnými neuropatiemi Charcot-Marie-Tooth

Brožková D. (1), Zavadáková P. (2), Ivánek R. (3), Mazanec R. (4), Haberlová J. (1), Seeman P. (1)

1 – DNA laboratoř Kliniky dětské neurologie, UK 2. LF, 2 – Department of Medical Genetics, University of Lausanne, 3 – Ústav molekulární genetiky AVČR, 4 – Neurologická klinika dospělých UK 2. LF a FNM

Školitel: Doc. MUDr. Pavel Seeman Ph.D.

Úvod: Choroba Charcot-Marie-Tooth je dědičnou periferní neuropatií a nejčastějším dědičným nervosvalovým onemocněním vůbec. Jedná se o geneticky velmi heterogenní skupinu onemocnění s vazbou na nejméně 50 chromozomálních lokusů a přes 30 genů jejichž mutace způsobují onemocnění CMT. V DNA laboratoři KDN bylo shromážděno několik rodin s AD CMT, u kterých i po vyšetření nejčastějších genových poruch zůstává příčina CMT neznámá. Tyto rodiny mohou umožnit provedení vazebných analýz a přispět i k objevu nových kandidátních genových lokusů či genů spojených s CMT.

Cíl: Vazebné analýzy u vybraných rodin s autosomálně dominantním typem (AD) CMT dosud nejasné příčiny pomocí SNP čipů. Porovnání zjištěných lokusů s dosud známými lokusy a následně charakterizování případných nových lokusů spojených s CMT a následná analýza vybraných kandidátních genů uvnitř zjištěného lokusu.

Materiál a metody: Obě rodiny byly vyšetřeny a určeny fenotypy. V obou případech se jedná o rodiny s axonálním typem CMT (CMT2). Na analýzu byla použita genomová DNA od 2 rodin s AD CMT. Z rodiny „T“ 10 vzorků DNA (4 nemocní a 6 zdravých) a z rodiny „H“ 9 vzorků (4 nemocní a 5 zdravých). Teoretický výpočet maximálního LOD skóre byl 1,5 resp. 2,4. Vzorky byly genotypizovány pomocí SNP čipů 10 k array od firmy Affymetrix. Ze získaných genotypů bylo provedeno vyhodnocení za použití programu pro statistickou genetiku Merlin.

Výsledky: U rodiny „T“ ukázaly výsledky vazebné analýzy 5 lokusů na chromozomech: 2 p25.1, 6 q16.1-24.1, 9 q32, 11 p13-12, 21 q21.3-22.13 s maximálním LOD skóre 2,1. Dané oblasti obsahují 479 genů, ale žádný ze zjištěných lokusů neobsahuje gen pro AD typ CMT. Vazebná analýza u rodiny „H“ ukázala 7 oblastí na chromozomech: 3 p25.3-p26.3, 7 q11.22-p12.3, 10 q22.3-23.2, 11 q25 a p15.1-p15.4, 12 q24.31-24.33 a 17 q11.1-p13.2 s maximálním LOD skóre 1,5 obsahující celkem 740 genů. V těchto oblastech leží již známé geny pro CMT, a to gen HSP 27 (chrom.7), gen HSP 22 (chrom.12) a gen PMP22 (chrom.17). Sekvenování genů HSP 27 a HSP 22 neprokázalo patogenní mutaci. Mutace genu PMP22 byla vyloučena již před zahájením projektu.

Závěr: Vazebné analýzy provedené u 2 rodin s dědičnou neuropatií CMT umožnily u rodiny „T“ vyloučit 17 a u rodiny „H“ 14 dosud známých genů asociovaných s AD CMT. Dosavadní výsledky ukazují, že se u obou rodin může jednat o novou neznámou formu CMT. K dalšímu objasnění však bude nezbytné objevit další rodiny s podobným fenotypem a vazbou ke stejným oblastem.





P31. Objektivizace řetězení myofasciálních trigger pointů: změna spontánní jehlové EMG aktivity v reakci na segmentálně vzdálenou prahově algickou pressuru

Čech Z. (1), Heřman P. (2), Kraus J. (3)

1 – Klinika rehabilitace FN Motol a UK 2 LF, 2 – Ústav informatiky 2 LF, 3 – Klinika dětské neurologie FN Motol a UK 2 LF

Školitel: Doc. PaedDr. Pavel Kolář

Úvod: Myofasciální trigger point (MTrP) je specifická svalová dysfunkce, která je častým zdrojem myofasciální bolesti. Z řady klinických prací víme, že nejde pouze o lokální fenomén. Velmi často lze totiž sledovat typická zřetězení určitého počtu MTrP a jiných lokálních hypertonií. Tato úzká funkční vazba mnohdy výrazně přesahuje úroveň míšň segmentální organizace. I velmi lokálním zásahem (např. pressurou) je pak možné ovlivnit klinické znaky jiných MTrP, které náleží ke stejnému řetězci. Tyto vztahy mají velký diagnostický a terapeutický význam.

Vztahy v řetězcích byly dosud sledovány pomocí nepřímých metod – měření kožního odporu, dolorimetrickými studiemi a pomocí povrchové elektromyografie. Za přímou metodu je možné považovat záznam specifické jehlové EMG aktivity MTrP. Ta však dosud k objektivizaci řetězců MTrP použita nebyla.

Cíl: Pomocí specifické jehlové EMG techniky ověřit, zda dojde ke změně spontánní aktivity MTrP vlivem palpačního tlaku na jiný segmentálně vzdálený MTrP v souhlasném řetězci. Poté porovnat reakci při tlaku na další MTrP mimo příslušný řetězec a ověřit i vliv tlaku na normální svalovou tkáň v daném řetězci a mimo něj.

Materiál a metody: U skupiny 4 mužů a 11 žen ve věku 23-52 let, kteří vykazovali přítomnost latentní formy MTrP v paravertebrálním valu v úrovni Th11-12 jsme snímali specifickou spontánní jehlovou EMG aktivitu tohoto MTrP, jeho ekvivalentní lokus na straně kontralaterální a současně aktivitu příslušných úseků paravertebrálních svalů pomocí povrchové EMG. Byla sledována okamžitá odezva na prahově algický palpační tlak aplikovaný na jiný segmentálně vzdálený MTrP náležící ke stejnému řetězci jako sledovaný MTrP. Dále jsme sledovali vliv tlaku na další MTrP mimo příslušný řetězec a vliv tlaku na normální svalovou tkáň v řetězci a mimo něj.

Výsledky: U 80 % probandů (12) jsme dosáhli zvýšení jehlové EMG aktivity MTrP ThL erectoru pressurou jiného MTrP lokalizovaného paracoccygeálně na téže straně. U 20 % sledovaných (3) jsme docílili zvýšení aktivity pressurou MTrP v jiné lokalitě. Vždy se jednalo o MTrP v souhlasném řetězci. K méně výraznému zvýšení aktivity sledovaného MTrP došlo také při tlaku na MTrP mimo příslušný řetězec ve 26 % (4). Při tlaku na normální svalovou tkáň nedošlo ke zvýšení aktivity sledovaného MTrP ani v jednom z případů.

Závěr: Podařilo se ověřit klinicky známý vztah MTrP ve svalech pánevního dna a MTrP v ThL erectoru. Jde o součást zřetězení, které sledujeme jako součást klinického obrazu dysfunkce tzv. hlubokého stabilizačního systému.





P32. Vliv deprese na axonální ztrátu u roztroušené sklerózy mozkomíšni

Cihelková Š. (1) a Bojar M. (1)

1 – Neurologická klinika dospělých 2.LF UK a FN Motol

Školitel: doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Úvod: Na poškození mozku a míchy u roztroušené sklerózy mozkomíšni (RS) se podílejí tři procesy - zánět, demyelinizace a axonální ztráta. Podle nových poznatků není axonální ztráta důsledkem zánětu a demyelinizace, ale dochází k ní souběžně již v časných stádiích relaps-remitující formy RS (RR-RS). Axonální ztrátu lze hodnotit pomocí vyšetření titrů sérových IgM a IgG protilátek proti tubulinu beta III. třídy (anti**tbIII**). Experimentálně bylo ověřeno, že součástí patofyziologických procesů u deprese je neurodegenerace. Deprese u RS postihuje 40-60% všech pacientů. Pacienti s RS a depresí přecházejí dříve do progredujícího stádia choroby.

Cíl: Ověřit, zda pacienti s RR-RS trpící depresí, mají vyšší axonální ztrátu hodnocenou pomocí výše titrů protilátek IgM a IgG anti**tbIII**.

Materiál a metody: U 15 pacientů s RR-RS léčených léky modifikujícími průběh choroby (DMD's) bylo při nově diagnostikované depresi odebráno sérum na analýzu IgM a IgG anti**tbIII**. K těmto pacientům bylo do kontrolní skupiny přiřazeno 15 pacientů, přibližně odpovídajících věkem, dobou trvání onemocnění, pohlavím, způsobem léčby a mírou neurologického postižení (škála EDSS). Pacienti v kontrolní skupině neudávali příznaky deprese během choroby ani v předchorobí, v posledním roce prodělali maximálně 1 ataku. Všech 30 pacientů bylo diagnostikováno podle MacDonaldových kritérií. Do 3 měsíců od zařazení do studie neužívali více než 10mg Prednisonu denně, cyklofosfamid, metotrexát. IgM a IgG anti**tbIII** byly detekovány metodou Elisa sety Vidia, s.r.o. U obou skupin pacientů byly porovnány mediány titrů IgG a IgM anti**tbIII**.

Výsledky: Hladiny titrů IgM a IgG anti**tbIII** byly statisticky významně vyšší u skupiny pacientů s depresí ($p < 0,05$) než u pacientů v kontrolní skupině.

Závěr: U pacientů s RR- RS, kteří trpí depresí je zvýšená hladina sérových protilátek IgG a IgM anti**tbIII**. Uvedené výsledky jsou dokladem toho, že diagnostice a léčbě deprese u RR- RS je nutno věnovat odpovídající pozornost a měla by být součástí jak standardní klinické péče, tak výzkumných a klinických studií u pacientů s RR-RS.

Podpora projektu: Tento projekt byl podpořen grantem IGA NR ČR 8110.





P33. Vliv analogu vitamínu D paricalcitolu na morfologické a funkční charakteristiky dendritických buněk

Budínský, V. (1), Sochorová, K. (1), Rožková, D. (1), Tobiášová, Z. (1), Špišek, R. (1), Sulková, S. (2), Bartůňková, J. (1)

1 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol v Praze, 2 – Klinika gerontologická a metabolická, LF UK a FN Hradec Králové

Školitel: prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

Úvod: Kalcitriol, aktivní forma vitamínu D, je znám svými imunomodulačními účinky, avšak jeho použití v imunologii brání jeho výrazný hyperkalcemický efekt. Paricalcitol je analogem kalcitriolu, jehož hyperkalcemický efekt je výrazně omezen, avšak jeho imunomodulační vlastnosti nebyly dosud sledovány.

Cíl: V této studii jsme porovnávali vliv kalcitriolu a paricalcitolu na zastoupení dendritických buněk (DC) v periferní krvi a na morfologické a funkční charakteristiky DC kultivovaných z monocytů.

Materiál a metody: Z monocytů zdravých dárců byly v přítomnosti GM-CSF a IL-4 připraveny nezralé DC. Nezralé DC byly následně maturovány lipopolysacharidem (LPS). Buňky byly vystaveny působení kalcitriolu a paricalcitolu v průběhu diferenciaci, maturace, nebo v průběhu obou dějů. Následně jsme sledovali fenotypové (expresi kostimulačních molekul, molekuly CD83, CD14, MHC II. třídy a PD-L) a funkční (endocytární aktivitu, produkci cytokinů, schopnost stimulovat antigen specifické lymfocyty a schopnost indukovat regulační T lymfocyty) charakteristiky DC.

Výsledky: Po ošetření léčivou si sledované buňky i po aktivaci LPS uchovávaly fenotyp nezralých DC, a to zejména v případě, že byla léčiva použita při jejich diferenciaci. V porovnání s kontrolou byla výrazně snížena exprese CD80, CD86, CD83 a HLA-DR. Naopak byla vždy výrazně zvýšena exprese CD14, znaku typického pro prekurzory DC. Exprese PD-L1 a PD-L2, molekul zodpovědných za regulaci T buněčné odpovědi, byla srovnatelná u kontrolních i léčivou ošetřených DC. DC ošetřené léčivou si uchovaly vysokou endocytární aktivitu, ve srovnání s kontrolami produkovaly méně IL-12, klíčového cytokinu pro polarizaci Th1 imunitní odpovědi. DC ošetřené kalcitriolem nebo paricalcitem měly signifikantně sníženou schopnost indukce antigen specifických T lymfocytů. Schopnost indukovat vznik FoxP3 pozitivních T regulačních lymfocytů byla srovnatelná s kontrolními DC. V rámci in vivo studie jsme sledovali vliv podávání paricalcitolu na zastoupení populací DC v periferní krvi. Po čtrnáctidenním podávání léčiva jsme nezaznamenali rozdíl v zastoupení jednotlivých populací.

Závěr: Z našich výsledků vyplývá, že paricalcitol neovlivňuje zastoupení DC v periferní krvi, ale má vliv na jejich funkční charakteristiky ve smyslu snížené schopnosti indukovat antigen specifické T lymfocyty. Lze předpokládat, že by DC ošetřené analogy vitamínu D s omezeným hyperkalcemickým mohly být využity pro ovlivnění imunoregulačních dějů v organismu.

Podpora projektu: VZ MSM 002 162 0812, GAUK 7588/2007





P34. Korelace mezi ultrasonografickými parametry vyšetření ledvin, resistivním indexem a odhadnutou glomerulární filtrací

Š. Burgerová (1), M. Horáčková (1), O.Schüch (1), M. Pecková (1), J. Forejt(1),
J. Pařčugová (1)

1 – Interní klinika FN Motol

Školitel: Doc.MUDr.M.Horáčková, CSc.

Úvod: Ultrasonografické (USG) vyšetření ledvin v B-modu posuzuje velikosti dlouhé osy (DO) ledvin, která významně koreluje s velikostí ledvin a tloušťku parenchymové vrstvy (PV) odpovídající mase funkčního ledvinového parenchymu. Dopplerovským vyšetřením resistivního indexu (RI) v intraparenchymových tepénkách zjišťujeme průtokový odpor, který se zvyšuje u chronických nefropatií při arterioskleróze a fibróze intersticia.

Cíl: Porovnání těchto základních veličin zjišťovaných při USG vyšetření ledvin s glomerulární filtrací odhadnutou na podkladě MDRD (GFRMDRD).

Materiál a metody: Dlouhou osu ledviny, sílu parenchymové vrstvy a RI vyšetřeno konsekutivně u 150 pacientů (M:Ž=77:73), v průměrném věku 56 (19–88) let, doporučených k USG ledvin pro problematickou korekci hypertenze a/nebo podezření na vaskulární nefropatii a/nebo diabetickou nefropatii při poruše glomerulární filtrace. Ze studie byly vyřazeni jedinci s funkčně a/nebo anatomicky solitární ledvinou a stenózou jedné nebo obou renálních tepen neboť změny RI postupují v opačném směru než při parenchymových lézích. U všech byla ve stejné době určena GFRMDRD. Vztahy mezi DO a PV levé a pravé ledviny (DOsin a DOdx respektive PVsin a PVdx), součtem reciprokých hodnot RI pravé a levé ledviny (1/RI_{dx} +1/RI_{sin}) a GFRMDRD jsme prověřili metodou lineární regrese.

Výsledky: DOsin a DOdx významně korelovala s GFRMDRD ($R^2=0,073$, $p=0,0008$, respektive $R^2=0,157$, $p<0,0001$). Významná ale slabší korelace byla zjištěna pro vztah PVsin, PVdx a GFRMDRD ($R^2=0,042$, $p=0,0121$, respektive $R^2=0,034$, $p=0,0239$). Velmi těsná korelace zjištěna mezi RI (respektive 1/RI_{dx} +1/RI_{sin}) a GFRMDRD ($R^2=0,134$, $p<0,0001$).





P35. Vývoj funkce plic u dětských pacientů s funkčně společnou komorou před a po totální korekci (TCPC)

Lesná P. (1), Šulc J. (1), Pohunek P. (1)
1 – Pediatrická klinika UK 2. LF a FNM

Školitel: Doc. MUDr. Petr Pohunek, CSc.

Úvod: Diagnóza funkčně společná komora (F-SV) zahrnuje celý soubor anatomických diagnóz, těžkých komplexních srdečních vad, u nichž nelze srdce chirurgicky rozdělit na dvě funkční komory. Program péče o pacienty s F-SV je komplexní a klade důraz především na kvalitu života. Součástí tohoto programu je i posouzení vlivu korekce těžké srdeční vady na vývoj funkce plic.

Cíl: Analyzovat vliv kardiochirurgických výkonů na plicní funkce vybrané skupiny pacientů s diagnózou funkčně společné komory, operovaných v Kardiocentru FNM v letech 1993-2001.

Materiál a metody: Do studie jsme vybrali skupinu 30 dětí, vyšetřených před a $3,1 \pm 0,6$ roku (průměr \pm S.E.M.) po totální korekci (TCPC); skupinu jsme dále rozdělili na pacienty, kteří podstoupili předchozí paliativní anastomózuující operaci (bidirekční kavopulmonální anastomózu BCPA; skupina BCPA-TCPC) a pacienty, u kterých BCPA nebyla provedena (skupina TCPC). Všichni pacienti byli výborně či velmi dobře kardiopulmonálně kompenzováni (NYHA I-II) a nevyskytovala se u nich další onemocnění ovlivňující funkci plic. Naměřená data byla vyjádřena pomocí Z-skóre vycházejících z referenčních hodnot plicních funkcí (Zapletal a kol., 1997).

Výsledky: Po provedení totální korekce (TCPC) jsme naměřili u obou podskupin pacientů významné odchylky ve vitální kapacitě, tuhosti plic a indexech hyperinflace proti normě. Odlišnosti mezi skupinami jsme našli zejména ve změně tuhosti plic a indexů hyperinflace proti výchozí (předoperační) hodnotě. Retrakční tlak plic na úrovni 100 % celkové plicní kapacity u skupiny BCPA-TCPC vzrostl z $1,9 \pm 0,5$ (Z-skóre \pm S.E.M.) na $3,3 \pm 0,9$ a nepřímo úměrně závisel na délce intervalu mezi výkony, zatímco u skupiny TCPC nevýznamně poklesl z $2,5 \pm 1,2$ na $2,2 \pm 0,8$. V podskupině BCPA-TCPC dále nedošlo (na rozdíl od podskupiny TCPC) k normalizaci indexů hyperinflace: podíl mezi funkční reziduální kapacitou a celkovou plicní kapacitou u skupiny BCPA-TCPC poklesl jen nevýznamně (z $2,4 \pm 0,4$ na $2,2 \pm 0,4$), zatímco u skupiny TCPC poklesl významně z $2,7 \pm 0,4$ na $0,9 \pm 0,5$.

Závěr: Rozdíl mezi oběma podskupinami pravděpodobně souvisí jak s abnormální předoperační hemodynamikou, tak se zvolenou kardiochirurgickou strategií. Paliativní řešení pomocí BCPA mírně zvyšuje riziko změn plicního parenchymu. Samotné provedení korektivní operace (TCPC) včetně perioperačních vlivů nemá na pooperační plicní funkci nepříznivý dopad. K posouzení dalšího vývoje pacientů s F-SV je nutno doplnit další vyšetření v delším odstupu.





POZNÁMKY





POZNÁMKY





POZNÁMKY





POZNÁMKY





POZNÁMKY

