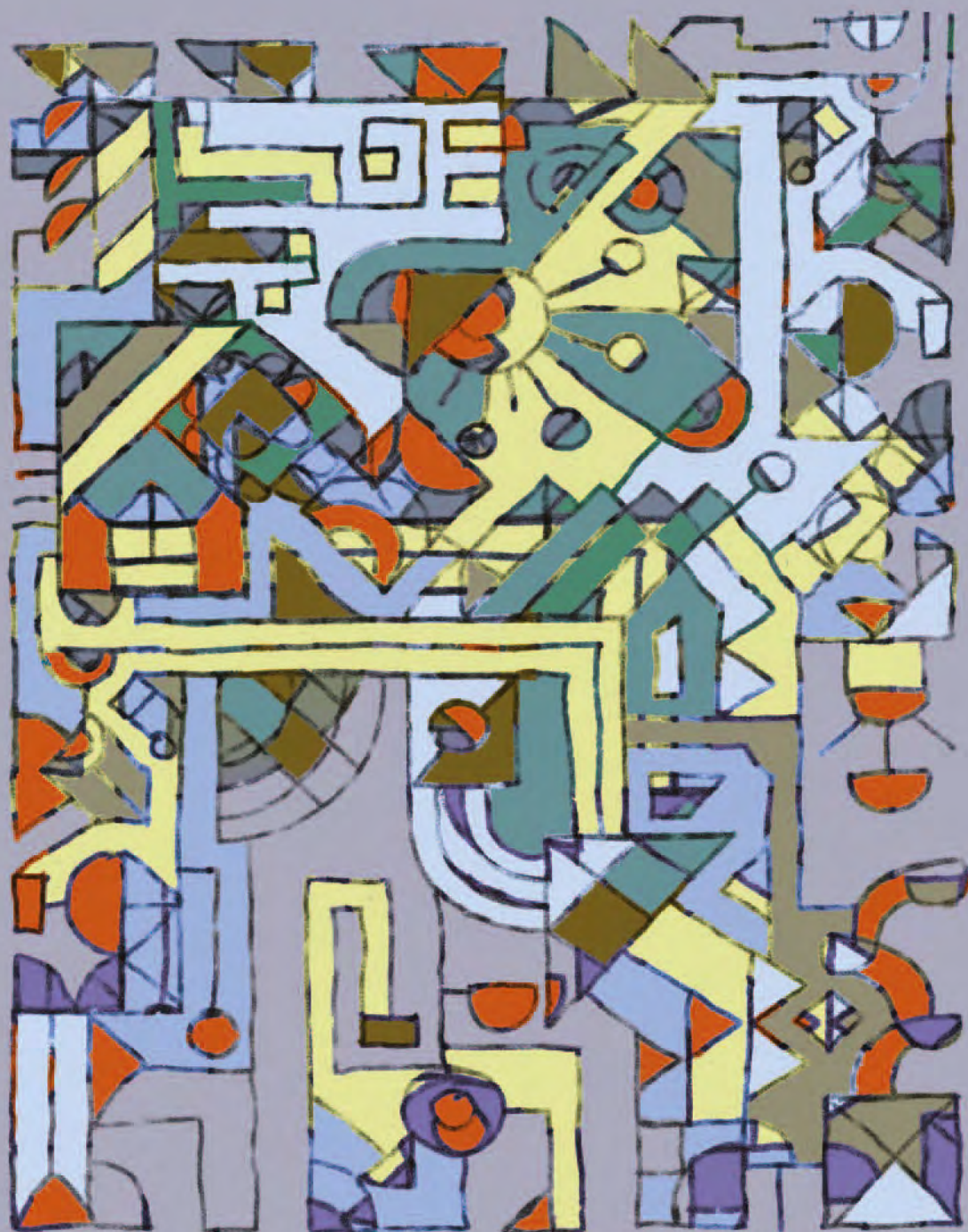


14. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE



KONANÁ DNE 23. KVĚTNA 2013
pod záštitou děkana 1. LF UK
prof. MUDr. Aleksiho Šeda, DrSc.

14. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE



KONANÁ DNE 23. KVĚTNA 2013
pod záštitou děkana 1. LF UK
prof. MUDr. Aleksiho Šeda, DrSc.

Pozvánka	3
Slovo úvodem.....	6
Seznam účastníků	8
Hodnotitelské komise.....	9

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

Sekce pregraduální – teoretická část	11
Sekce pregraduální – klinická část	16
Sekce pregraduální – hygiena a epidemiologie.....	20
Sekce postgraduální – teoretická část I.–IV.....	28
Sekce postgraduální – klinická část I.–II.	46
Sekce nelékařská – ošetřovatelství, adiktologie a další	56

VÍTĚZNÉ PRÁCE IN EXTENSO

Sekce pregraduální – teoretická část	62
Bc. Tereza Nedvěďová: Indukce kmenových znaků u melanomových linií in vitro	63
Eva Plaňanská, Jitka Hofrichterová, Kristýna Seidlová: Vliv jednorázového preventivního podání erythropoetinu na kognitivní funkce dospělých potkanů po experimentálně navozené cévní mozkové příhodě	64
Adam Tesař: Spektroskopické studium interakce antimikrobiálních peptidů s membránami	66
Sekce pregraduální – klinická část	68
Miroslav Důra: Pilotní studie porovnání cytogenetických přístupů vs. qRT-PCR v prediktivní diagnostice Her2/neu u karcinomu žaludku	69
Jaromír Hanuška: Postižení vergenčních pohybů očí u efedronového parkinsonismu	72
Sekce pregraduální – hygiena a epidemiologie.....	74
Kateřina Hrouzová, Tereza Košánová, Eva Přikrylová: Vodní dýmka – informovanost a užívání mezi studenty vysokých škol, hygiena jejího užívání	75
Veronika Indrová, Veronika Makajevová, Michal Žiga: Problematika pertuse v České republice	76
Adéla Valchová: Užívání tabákových výrobků a pozornost řidičů	77
Sekce postgraduální – teoretická část I.–IV.	79
MUDr. Monika Urbanová: Sérové koncentrace a mRNA exprese omentinu v podkožní tukové tkáni u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2.typu: vliv nízkokalorické diety, fyzické aktivity a laparoskopické tubulizace žaludku	79
Ing. Jakub Šuk: Molekuly uvolňující oxid uhelnatý – nový přístup k léčbě zánětlivých onemocnění.....	81
Ing. Ľubica Ďuďáková: Úloha lyzyl oxidázy a jej izoenzymov v patogenéze keratokonu	82
RNDr. Peter Gál: Odlišná úloha galektinů 1 a 3 ve vytváření mikroprostředí hojící se kožní ráně in vitro a in vivo	83
MUDr. Lucie Latečková: Kvantifikace subpopulací hematopoetických kmenových a progenitorových buněk u pacientů se zralými B-lymfoproliferacemi	86
MUDr. Zdeněk Fík: Kmenové buňky dlaždicových karcinomů hlavy a krku	87
Mgr. Tomáš Petrásek: Učení a paměť u Nogo-A deficientních transgenních potkanů	88
Mgr. Jana Česneková : Mitochondriální ATPáza Lacc1	91
Mgr. Paulína Valušková: The effects of restraint stress on heart M2 muscarinic receptors signaling	92
MUDr. Pavel Jůda: Rings&Rods, struktury tvořené enzymem inosin 5-mono-fosfát dehydrogenázou: popis ultrastruktury a dynamika tvorby	97
Mgr. Hana Kratochvílová: Nativní formy proteinu TMEM70 a jeho topologie ve vnitřní mitochondriální membráně	99
Mgr. Marcela Filipová: Toxicita uhlíkových nanočástic v kulturách endotelových a neuronálních buněk	101
Sekce postgraduální – klinická část I.–II.	102
MUDr. Pavel Trachta: Efekt laparoskopické sleeve gastrektomie na mRNA expresi prozánětlivě působících genů v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech obézních pacientů	103
MUDr. Michal Tomčík: Inhibition of Hsp90 targets canonical TGF-β signaling to prevent fibrosis in systemic sclerosis.....	104
MUDr. Hana Mrázková: Protektivní vliv hyperkapnie při ischemicko-reperfučním poškození plic, na zvířecím modelu Ex Vivo transplantace plic	106
MUDr. Petra Nytrová: Potenciální využití C3a složky komplementu jako markeru aktivity choroby u pacientů s neuromyelitis optica.....	110

Sekce nelekářských prací – ošetřovatelství, adiktologie a další	112
Mgr. Tomáš Nikolai: Figurální a prostorové komponenty vizuální paměti Rey-Osterriethovy komplexní figury jsou asociovány s atrofií hipokampů u stárnoucí populace	113
Mgr. Marek Macák: Psychodiagnosticky proces v hermeneutické perspektivě.....	115
Aneta Sadílková: Prediktor hmotnosti	117
MIMOŘÁDNÉ CENY	119
Mimořádná cena Zdravotnických novin: Michaela Namyslovová: Partnerské a sexuální vztahy v terapeutické komunitě pro drogově závislé	122
Mimořádná cena Medical Tribune: MUDr. Hana Mrázková: Protektivní vliv hyperkapnie při ischemicko-reperfuzním poškození plic, na zvířecím modelu Ex Vivo transplantace plic.....	122
Mimořádná cena Galén: MUDr. Petra Nytrová: Potenciální využití C3a složky komplementu jako markeru aktivity choroby u pacientů s neuromyelitis optica	122

Zpracovalo Oddělení vnějších vztahů 1. LF UK

Vydalo Nakladatelství Galén, s. r. o., Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5 jako účelovou publikaci 1. LF UK v Praze

Ilustrace, grafická úprava a návrh obálky ak. mal. Ivan Helekal

Fotografie Bc. Petr Heřman

Sazba Mgr. Alena Laňková

Tisk GLOS, Špindlerova 436, 513 01 Semily

ISBN 978-80-7492-071-4

14. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

1. lékařské fakulty

konaná pod záštitou děkana 1. LF UK
prof. MUDr. Aleksiho Šeda, DrSc.

dne 23. května 2013

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta





Slavnostní zahájení 14. studentské vědecké konference
proběhne dne 23. 5. 2013 v 8.00 hodin v posluchárně Stomatologické kliniky 1. LF UK a VFN, Kateřinská 32, Praha 2.

Studentská vědecká konference bude uspořádána v sekcích:

**SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ I.
SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ II.
SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ III.
SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ IV.
SEKCE POSTGRADUÁLNÍ KLINICKÁ I.
SEKCE POSTGRADUÁLNÍ KLINICKÁ II.
SEKCE PREGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ
SEKCE PREGRADUÁLNÍ KLINICKÁ
SEKCE PREGRADUÁLNÍ HYGIENA A EPIDEMIOLOGIE
SEKCE NELÉKAŘSKÝCH ZDRAVOTNICKÝCH OBORŮ**

Prezentace proběhne na základě hodnocení komise formou přednášky. Práce mohou být prezentovány v českém i anglickém jazyce. Doba přednášky bude maximálně 15 minut a prostor pro diskusi 5 minut. K dispozici bude dataprojektor a notebook.

K pozvánce je přiložen časový harmonogram a místo konání jednotlivých vystoupení.

prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.
proděkan 1. LF UK pro vědeckou činnost

prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc.
děkan 1. LF UK

Veškeré informace o konání SVK:

Oddělení pro vědeckou činnost
a zahraniční styky 1. LF
Mgr. Lenka Medová, tel. 224 964 372
e-mail: lenka.medova@lf1.cuni.cz

Přijměte prosím pozvání na slavnostní vyhlášení výsledků 14. studentské vědecké konference 1. LF UK, které se bude konat dne 4. června 2013 v 15.00 hodin v Akademickém klubu 1. LF UK, Faustův dům, Karlovo nám. 40, Praha 2.

prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc.
děkan 1. LF UK

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

předkládáme Vám další vydání sborníku již 14. studentské vědecké konference na 1. LF UK. Zapojení nejlepších pregraduálních a postgraduálních studentů do výzkumné práce je vyvrcholením činnosti každé fakulty. Jsem rád, že jsme v této oblasti úspěšní a že o studentskou vědeckou konferenci je stále zájem. Studenti by měli na tomto typu konferencí především získávat zkušenosti pro budoucí vědecké kongresy a sjezdy lékařských společností. I zapojení studentů nelékařských oborů má své opodstatnění.

Jsem rád, že máme studenty nadšené pro vědu, neboť v nich je budoucnost fakulty. Mezi nimi jsou nepochybně budoucí asistenti, docenti a profesori fakulty i noví přednostové. Vědecká činnost studentů je na fakultě od pedagogického procesu neoddelitelná a je zárukou rozvoje fakulty v budoucnosti. Těším se, že příštím rokem znovu počet studentů se zájmem o vědu naroste a že se počet účastníků konference dále zvýší. Byl bych ještě radši, pokud by se spojily síly a studenti by si mohli poměřit svoje znalosti v rámci jedné konference všech lékařských fakult. Ale to je věcí budoucích jednání a věcí upřednostnění společných zájmů.

*prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc.
děkan*

1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze



Prezentace studentských vědeckých prací.

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UK DĚKUJE SPONZORŮM KONFERENCE



SEZNAM ÚČASTNÍKŮ

SEKCE PREGRADUÁLNÍ – TEORETICKÁ ČÁST

Bc. Kateřina Kedrová
Bc. Tereza Nedvědová
Eva Plaňanská
Bc. Petr Příbyl (2. LF UK)
Martin Schwarz a Ivan Struk
Adam Tesař

SEKCE PREGRADUÁLNÍ – KLINICKÁ ČÁST

Miroslav Důra
Jaromír Hanuška
Petra Klusáčková
Lucie Pazderová

SEKCE PREGRADUÁLNÍ – HYGIENA A EPIDEMIOLOGIE

Barbara Daňková
Mariana Barros Fardilha
Kateřina Hrouzová, Tereza Košánová, Eva Přikrylová
Ioanna Ioannou
Veronika Indrová, Veronika Makajevová, Michal Žiga
Andreas Kaoullas
Benjamin Kukull
MUC Georgia Maragkou
Shrey Mathur
Kwarkai Quartey-Papaño
Bahareh Sianati
Adéla Valchová
Suresh Vijayananda

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – TEORETICKÁ ČÁST I.

Ing. Ľubica Ďudáková
Mgr. Jana Kubátová
Mgr. Miloslava Mrázová
Mgr. Jana Spáčilová
Mgr. Monika Šrámková
Ing. Jakub Šuk
MUDr. Monika Urbanová

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – TEORETICKÁ ČÁST II.

Mgr. Aleš Dvořák
MUDr. Zdeněk Fik
RNDr. Peter Gál
MUDr. Ondřej Kodet
MUDr. Lucie Latečková
MUDr. Petra Vočková

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – TEORETICKÁ ČÁST III.

Mgr. Jana Česneková
Mgr. Hana Hatalová
MUDr. Mighty Kgalalelo Kemelo
Mgr. Tomáš Petrásek
Mgr. Petr Škopek
Mgr. Paulína Valušková
MUDr. Eva Vařejková

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – TEORETICKÁ ČÁST IV.

Mgr. Marcela Filipová
Mgr. Viola Hausnerová
MUDr. Pavel Jůda
Mgr. Hana Kratochvílová
Ing. Dita Mušálková
Ing. Klára Novotná
Mgr. Barbora Váchová

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – KLINICKÁ ČÁST I.

MUDr. Zdeňka Chocová
MUDr. Hana Mrázková
MUDr. Eszter Maurovich Horvat
Mgr. Petra Kaválková
Mgr. Nina Ondrušková
MUDr. Michal Tomčík
MUDr. Pavel Trachta

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – KLINICKÁ ČÁST II.

Mgr. Ondřej Bezdíček
MUDr. Petr Kopecký
MUDr. Petra Nytrová
MUDr. Miloš Síbek
Mgr. Ing. Bc. Libor Staněk
MUDr. Jana Vašáková
MUDr. Filip Veselý

SEKCE NELEKÁŘSKÁ – OŠETŘOVATELSTVÍ, ADIKTOLOGIE A DALŠÍ

Nikola Chládková
Mgr. Marek Macák
Michaela Namyslovová
Mgr. Tomáš Nikolai
Aneta Sadílková

HODNOTITELSKÉ KOMISE

SEKCE PREGRADUÁLNÍ

TEORETICKÁ ČÁST

předseda: **prof. PhDr. Michal Miovský, Ph.D.**
členové: doc. MUDr. Petr Pohreich, CSc.
doc. MUDr. Ondřej Naňka, Ph.D.

KLINICKÁ ČÁST

předseda: **prof. MUDr. Miroslav Zeman, DrSc.**
členové: prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc.
doc. MUDr. Miroslav Zeman, CSc.
doc. Pavel Dundr, Ph.D.
as. MUDr. Jan Kunstýř, Ph.D.

HYGIENA A EPIDEMIOLOGIE

předseda: **doc. MUDr. Eva Králíková, CSc.**
členové: MUDr. Alexandra Kmeťová
MUDr. Ivana Holcátová, CSc.
MUDr. Mgr. Jolana Těšinová

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ

TEORETICKÁ ČÁST I.

předseda: **prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.**
členové: doc. MUDr. Jan Jiskra, Ph.D.
prof. RNDr. František Vítek, CSc.
doc. MUDr. Michal Vrablík, Ph.D.

TEORETICKÁ ČÁST II.

předseda: **prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.**
členové: doc. MUDr. Jan Živný, Ph.D.
doc. MUDr. Dana Marešová, CSc.
MUDr. Robert Pytlík

TEORETICKÁ ČÁST III.

předseda: **prof. MUDr. František Pytlík, DrSc.**
členové: prof. MUDr. Viktor Kožich, CSc.
prof. MUDr. Miloš Langmeier, DrSc.

TEORETICKÁ ČÁST IV.

předseda: **prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.**
členové: RNDr. Běla Použníková
doc. RNDr. Ján Bednár, Ph.D.
doc. MUDr. Martin Prázný, Ph.D.

KLINICKÁ ČÁST I.

předseda: **doc. MUDr. Ondřej Slanař, Ph.D.**
členové: MUDr. Michaela Dušková
MUDr. J. C. Mukonkole Lubanda, Ph.D.
prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.

KLINICKÁ ČÁST II.

předseda: **prof. MUDr. Jana Dušková, DrSc.**
členové: doc. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.
doc. MUDr. Robert Holaj, CSc.
MUDr. Jakub Závada

SEKCE NELEKÁŘSKÁ

předseda: **doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.**
členové: Mgr. Eva Marková
PhDr. Monika Nevalová



SEKCE PREGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Bc. Kateřina Kedrová
- Bc. Tereza Nedvědová
- Eva Plaňanská
- Bc. Petr Příbyl (2. LF UK)
- Martin Schwarz a Ivan Struk
- Adam Tesař

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **prof. PhDr. Michal Miovský, Ph.D.**
členové: doc. MUDr. Petr Pohreich, CSc.
doc. MUDr. Ondřej Naňka, Ph.D.



FUMARÁTHYDRATÁZA JAKO TUMOROVÝ SUPRESOR

Autorka: Kateřina Kedrová

Školitelka: Ing. Markéta Tesařová Ph.D., Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Východisko: Fumaráthydratáza (fumaráza, EC 4.2.1.2) katalyzuje reverzibilní hydrataci fumarátu na S-malát a je kódovaná genem *FH* lokalizovaným na chromosomu 1 (1q42.1). Zárodečné heterozygotní mutace genu *FH* byly nalezeny u dvou autozomálně dominantních syndromů: mnohonásobná kožní a děložní leiomyomatóza (MCUL1, MCL) a dědičná leiomyomatóza a rakovina ledvinných buněk (HLRCC). Gen *FH* se tedy v těchto případech chová jako tumor supresorový.

Cíl práce a metody: Cílem práce bylo v souboru 22 vzorků děložních leiomyomů od pacientek ve věku 21 – 31 let stanovit množství a aktivitu fumarázy. Jako kontrolní vzorek byl použit děložní leiomyom od pacientky, jejíž věk byl 38 let. Množství fumarázy a β -aktinu jako kontrolního proteinu bylo stanoveno pomocí elektroforézy v polyakrylamidovém gelu v prostředí dodecylsulfátu sodného s následným „Western blotem“ a imunodetekcí. Specifická aktivita fumarázy a kontrolního enzymu citrátsyntázy byla stanovena spektrofotometricky.

Výsledky: Ve třech vzorcích nebyla aktivita fumarázy a kontrolního enzymu citrátsyntázy vůbec detekována a dále množství fumarázy a kontrolního enzymu β -aktinu bylo velmi nízké nebo na hranici detekce použité metody. Ze zbylých 19 vzorků bylo nalezeno výrazné snížení množství fumarázy ve dvou vzorcích (9 a 10). Snížení poměru specifické aktivity fumarázy a citrátsyntázy nejméně na 60% kontroly bylo nalezeno ve vzorcích 8, 9, 16 a 20. Výrazné snížené množství i aktivity enzymu fumarázy bylo tedy nalezeno v jednom vzorku leiomyomu (leiomyom 9). V lymfocytech této pacientky byla také již dříve zjištěna snížená aktivita fumarázy. Pokud další genetická analýza potvrdí výskyt mutace genu *FH* ve vzorku 9 a vyloučí mutace ve zbylých vzorcích, bude se jednat o výskyt 5,2% (1 z 19).

Závěr: Výrazně snížené množství i aktivita enzymu fumarázy byla nalezena v jednom vzorku děložního leiomyomu (leiomyom 9).

Klíčová slova: fumaráthydratáza, deficit fumaráthydratázy, gen *FH*, leiomyom

INDUKCE KMENOVÝCH ZNAKŮ U MELANOMOVÝCH LINIÍ IN VITRO

Autorka: Tereza Nedvěďová

Školitelé: RNDr. Barbora Dvořánková, Ph.D., Anatomický ústav 1. LF UK;
MUDr. Ondřej Kodet, Dermatovenerologická klinika 1. LF UK a VFN

Úvod: Nádorové mikroprostředí hraje zásadní roli v biologii a chování nádorů, což je již dobře zdokumentováno např. u epitelových nádorů hlavy a krku. Podobné mechanismy lze očekávat i v maligním melanomu, jednom z nejzhubnějších nádorů vůbec. Studium chování nádorových buněk v adhezivním a neadhezivním prostředí může přispět k objasnění mechanismů metastatického procesu u nádorového klonu.

Metody: V rámci experimentu byly použity 4 nádorové linie melanocytů z kožní metastázy, uzlinové metastázy a nádorového ascitu a 1 linie stromálních fibroblastů z kožní metastázy melanomu. Nádorové linie byly vystaveny neadhezivnímu prostředí, a to jak samotné, tak i pod vlivem nádorově asociovaných fibroblastů. Byla sledována změna exprese znaků kmenovosti, znaků melanocytární diferenciaci a cytokkeratinů. Detekce specifických proteinů byla provedena pomocí nepřímé imunofluorescence.

Výsledky: U melanocytů byla pomocí neadhezivního prostředí a vlivu stromálních fibroblastů indukována exprese některých znaků dediferenciaci, a to především Oct4, Nanog a CD271. Naproti tomu exprese jiných znaků (Nestinu, β -III-tubulinu a HMB45) nebyla změnou podmínek postížena. Linie z uzlinové metastázy a nádorového ascitu nevykazovaly výrazné rozdíly v rámci ovlivnění kultivačním prostředím.

Závěry: Linie nádorových melanocytů mezi sebou vykazují velké rozdíly v chování, morfologii a expresi sledovaných znaků, což se shoduje s klinickými pozorováními. Některé buněčné linie pod vlivem nádorově asociovaných fibroblastů získávají znaky diferenciaci a kmenovosti, což poukazuje na jejich možnou plasticitu v rámci nádoru i organismu. Schopnost dediferenciaci nádorových buněk v neadhezivním prostředí je zásadní pro zakládání metastáz a získané výsledky ukazují, že komplexní nádorové mikroprostředí zde může hrát klíčovou roli.

Klíčová slova: maligní melanom, nádorové mikroprostředí, kmenové znaky

Práce byla podpořena z prostředků GAČR 204/12/1333 a PRVOUK 27-1.



VLIV JEDNORÁZOVÉHO PREVENTIVNÍHO PODÁNÍ ERYTROPOETINU NA KOGNITIVNÍ FUNKCE DOSPĚLÝCH POTKANŮ PO EXPERIMENTÁLNĚ NAVOZENÉ CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODĚ

Autorky: Eva Plaňanská, Jitka Hofrichterová, Kristýna Seidlová
Školitelé: MUDr. Michaela Hralová; doc. MUDr. Dana Marešová, CSc., Fyziologický ústav 1. LF UK

Východisko: Hematopoetický faktor erythropoetin (EPO) má mimo jiné také neuroprotektivní a neuroregenerační účinky. Proto jsme se rozhodly sledovat vliv EPO na změny kognitivních schopností u potkanů po experimentálně vyvolané cévní mozkové příhodě (CMP).

Metody: K pokusu jsme použily dospělé samce potkanů kmene Wistar. U první skupiny (n=45) jsme vyvolaly CMP aplikací vazokonstrikční látky endothelin-1 (ET-1) v dávce 4,6 µl do oblasti a. cerebri media dx. Druhé skupině (n=16) byl po stejném zásahu místo ET-1 aplikován fyziologický roztok (FR). Obě skupiny byly dále rozděleny na dvě podskupiny: první dvěma podskupinám jsme podaly EPO intraperitoneálně (i.p.) 10 minut před aplikací ET-1 v dávce 5000 IU/kg hmotnosti, druhým dvěma podskupinám byl stejným způsobem aplikován FR v dávce 1 ml/kg hmotnosti. Potkani byli testováni v Morrisově vodním bludišti. Absolvovali stejný 5denní trénink (nalezení skrytého ostrůvku) před vyvoláním CMP a podáním EPO/FR a dále testování v 1. a 3. týdnu po navození CPM. Jejich pohyb byl sledován videokamerou. K vyhodnocování výsledků (čas nutný k nalezení ostrůvku, délka uplavané trasy, aj) jsme použily program Any-maze. Na konci třetího týdne jsme testovaly pevnost paměťové stopy a schopnost přizpůsobení se novým podmínkám (odstranění skrytého ostrůvku). Ke statistickému zhodnocení jsme použily neparametrické testy (např Mann-Whitneyův aj.), hladinu významnosti $p < 5\%$.

Výsledky: Před navozením CMP byla schopnost učení u všech zvířat obdobná, dosažené výsledky se učením zlepšovaly. U zvířat s provedenou CMP jsme prokázaly statisticky významně lepší kognitivní schopnosti u skupiny s preventivně podaným EPO ve všech sledovaných parametrech.

Závěry: Preventivní podání erythropoetinu má u dospělých potkanů s experimentálně navozenou CMP statisticky významný pozitivní vliv na zlepšení jejich kognitivních schopností. Samotné podání EPO bez navození CMP neovlivňuje jejich schopnost učení.

Klíčová slova: cévní mozková příhoda, endothelin-1, erythropoetin, Morrisovo vodní bludiště, Any-maze

Podporováno grantem PRVOUK –P34/LF1/7.

ZÁVISLOST NA TABÁKU MEZI PACIENTY PSYCHIATRICKÉ LÉČEBNY BOHNICE

Autor: Bc. Petr Příbyl
Školitelka: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN

Východisko: Prevalence kouření mezi psychiatrickými pacienty je zhruba dvojnásobná než v populaci, vysoká je také psychiatrická komorbidita mezi kuřáky.

Metody: Během července 2012 byla metodou semistrukturovaného rozhovoru zjišťována prevalence kouření mezi smíšenými psychiatrickými pacienty Psychiatrické léčebny Bohnice (N = 215) a jejich související názory včetně případného využití léčby závislosti na tabáku. Expozice tabákovému kouři byla validizována měřením CO ve výdechu.

Výsledky: Současná prevalence kouření byla vysoká – 61 %, celoživotní prevalence pak 84 %, u schizofreniků 84 %. Mezi kuřáky si 89 % zapalovalo první cigaretu do hodiny po probuzení, což svědčí pro vysokou míru závislosti. Průměrná hodnota CO byla u kuřáků 37,6 ppm (40,1 ppm specificky u schizofreniků) a 2,4 ppm u nekuřáků. Kuřáci utráceli za kouření průměrně 28 % svého čistého příjmu, který byl průměrně 7323 Kč/měsíc. Většina z nich, 79 %, by raději nekouřila, 61 % to již neúspěšně zkusilo, 35 % při těchto pokusech volilo některou z forem náhradní terapie nikotinem, 8 % elektronickou cigaretu. Jeden pacient měl zkušenost s poradnou pro odvykání kouření, žádný však neužíval druhé dva léky první linie (vareniklin či bupropion). Léčba závislosti na tabáku byla zdravotníkem nabídnuta jen jednomu pacientovi, přitom by ji uvítalo 32 % kuřáků. Proti zákazu kouření v léčebně by bylo 53 % pacientů.

Závěry: Vysoký počet kuřáků mezi psychiatrickými pacienty je pro ně devastující zdravotně, ale i finančně zejména v souvislosti s jejich nízkými příjmy. Léčba závislosti na tabáku by měla být psychiatricky nemocným kuřákům intenzivně nabízena a dostupná.

Klíčová slova: kouření, psychiatrie, léčba závislosti na tabáku

MOŘSKÝ NEUROTOXIN KYSELINA DOMOOVÁ OVLIVŇUJE CHOVÁNÍ DOSPĚLÝCH POTKANŮ

Autoři: Martin Schwarz, Ivan Struk

Školitelé: MUDr. Kateřina Jandová, Ph.D.; MUDr. Vladimír Riljak, Ph.D., Fyziologický ústav 1. LF UK

Východisko: Kyselina domoová (DA) je rigidní analog glutamátu. Její zvýšená koncentrace v CNS vede k excesivní depolarizaci neuronů, což ve svém důsledku může vést až k jejich funkčnímu přetížení a zániku. Jedná se o epidemiologicky významnou látku, která je produkována mořskými řasami a následným potravinovým řetězcem (řasa-korýš-člověk) může ohrozit zdraví konzumentů (závratě, ztráta krátkodobé paměti). Naším cílem bylo popsat změny chování a morfologické změny v hipokampu po aplikaci subkonvulzivní dávky DA u dospělých potkanů.

Metody: K experimentu bylo použito celkem 12 samců potkanů kmene Wistar. Experimentální skupině byla i.p. podána DA (1mg/kg rozpuštěn v 1 ml fyziologického roztoku), kontrolním zvířatům byl aplikován fyziologický roztok. Zvířata byla celkem třikrát testována v automatizovaném systému LABORAS™ (open field test hodnotící pohyblivost, imobilitu a explorativní chování) vždy po dobu jedné hodiny, a to bezprostředně po aplikaci, týden po aplikaci a dva týdny po aplikaci. Po posledním testu byly mozky zvířat histologicky zpracovány.

Výsledky: Bezprostředně po aplikaci DA byla zvířata signifikantně imobilnější, po 30. minutě vykazovala naopak vyšší lokomotorii, pohybovala se vyšší rychlostí a urazila větší vzdálenost. Tento efekt odezněl do hodiny. 8. den po podání DA zvířata stále vykazovala odlišný vzorec chování (pomalejší nástup habituace). Efekt DA přetrvával i 15. den po aplikaci, vzorec habituace v open field testu se odlišoval od kontrol, zvířata strávila delší dobu panáčkovaním (explorativní chování). Histochemické metody prokázaly mírné změny v oblasti hipokampu (především oblast CA1 a CA3).

Závěry: Prokázali jsme, že DA i v nízké subkonvulzivní dávce významně a dlouhodobě ovlivňuje chování experimentálních zvířat.

Klíčová slova: kyselina domoová, glutamátové receptory, excitotoxicita, chování

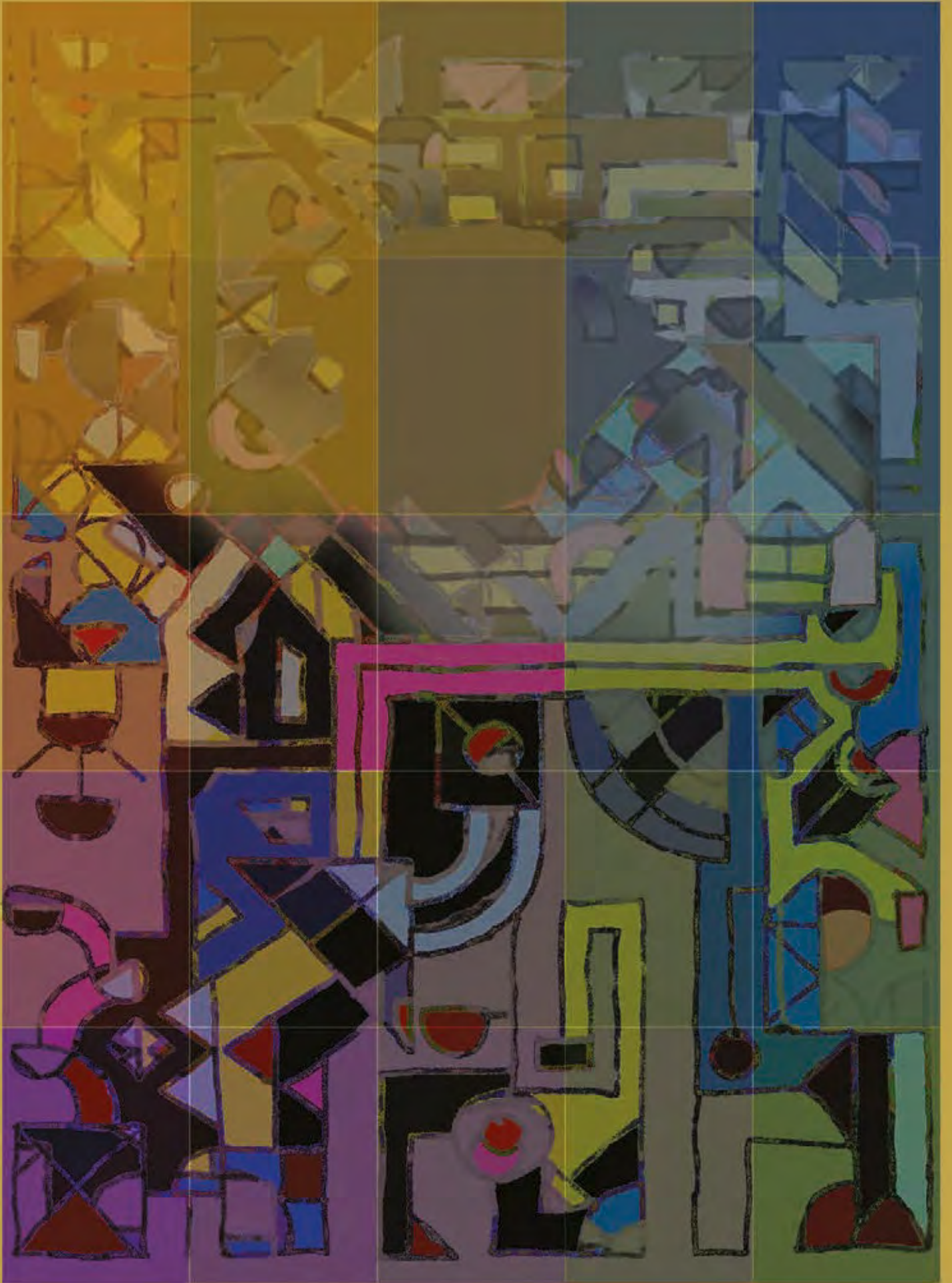
Spektroskopické studium interakce antimikrobiálních peptidů s modelovými membránami

Autor: Adam Tesař

Školitel: RNDr. Vladimír Kopecký, Ph.D., Oddělení fyziky biomolekul, Fyzikální ústav Univerzity Karlovy

Antimikrobiální peptidy (AMP) mají obrovský potenciál užití jako alternativa antibiotik díky vzniku minimální rezistence bakterií, ale je možné i jejich uplatnění v obraně proti maligním onemocněním, ochraně zdravotnických materiálů a k diagnostickým metodám. Také hrají podstatnou roli v patogenezi některých kožních a chronických onemocnění (cystická fibróza). Jejich účinek je založen na interakci s buněčnou membránou vedoucí k jejich penetraci. Tento mechanismus bohužel není stále plně pochopen, proto jsme se v práci zaměřili na interakci AMP HAL-1 izolovaného z jedu vosy *Halictus sextinctus* s modelovou membránou 100 nm lipozomů složených z fosfatidylcholinu a fostafatidylglycerolu. K popisu konformačních změn peptidu bylo užito cirkulárního dichroismu (CD) a Fourierovskey transformované infračervené spektroskopie (FTIR). Cirkulární dichroismus měří rozdílnou absorpci pravotočivě a levotočivě polarizovaného světla chirální molekulou, která se mění s konformačními změnami molekuly. Fourierovskey transformovaná infračervená spektroskopie v uspořádání na průchod měří vibrační spektra molekuly, která se mění při různé struktuře molekuly. Při měření ATR-FTIR (FTIR při zeslabeném totálním odrazu), kdy při totálním odrazu paprsku vzorkem prochází pouze evanescentní vlna, je možno pozorovat změny složení a struktury vzorku v tenké vrstvě na ATR hranolu. CD i FTIR prokázali přechod z neuspořádané struktury před interakcí na α -helikální po interakci s membránou. Dále jsme se zaměřili na přípravu lipidové dvojvrstvy na povrchu ATR hranolu, která by v budoucnu umožnila užití polarizované FTIR spektroskopie ke studiu AMP a modelových membrán. Poté jsme se věnovali studiu dynamiky vysychání lipozomů a jejich zpětné hydratace i za přítomnosti peptidu HAL-1 pomocí ATR-FTIR, kterou jsme zpracovali pomocí faktorové analýzy. Určili jsme stabilizaci systému, která byla nejlepší pro 2 μ l koncentraci a trvala až téměř 20 minut a klesala s ředěním lipozomů. Pozorovali jsme protektivní vliv peptidu na lipidovou dvojvrstvu a zpomalení jejího vysychání, což by nasvědčovalo vzniku kobercové struktury na povrchu membrány. Dále jsme pozorovali cyklickou hydrataci a dehydrataci membrány, která byla snížena interakcí s peptidem, což může souviset s nárůstem rigidity membrány a vést k jejímu následnému prasknutí.

Klíčová slova: antimikrobiální peptidy, buněčná membrána, dynamika vysychání, FTIR, cirkulární dichroismus



SEKCE PREGRADUÁLNÍ KLINICKÁ

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Miroslav Důra
- Jaromír Hanuška
- Petra Klusáčková
- Lucie Pazderová

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda:
členové:

prof. MUDr. Miroslav Zeman, DrSc.

prof. MUDr, Karel Šonka, DrSc.

doc. MUDr. Miroslav Zeman, CSc.

doc. Pavel Dundr, Ph.D.

as. MUDr. Jan Kunstýř, Ph.D.





STUDIE POROVNÁNÍ CYTOGENETICKÝCH PŘÍSTUPŮ VS. QRT-PCR V PREDIKTIVNÍ DIAGNOSTICE HER2/NEU U KARCINOMU ŽALUDKU

Autoři: Miroslav Důra, Libor Staněk, Pavel Dundr, Tomáš Rozkoš
Školitel: Mgr. Ing. Bc. Libor Staněk, Ústav patologie 1. LF UK a VFN

Východisko: asi u 20 % adenokarcinomů žaludku je prokázána overexprese receptoru Her2 korelující s horší prognózou. U těchto karcinomů bylo současně prokázáno signifikantní prodloužení celkové doby přežití při terapii Trastuzumabem (Herceptin®). Indikace léčby je podmíněna stanovením Her2 pozitivitu tumoru.

Cílem pilotní studie bylo u 35 pacientů s karcinomem žaludku (difúzního i intestinálního typu, resekovaného i endoskopického materiálu) porovnat různé cytogenetické (ISH) přístupy detekce amplifikace Her2/neu na podkladě přímé kvantifikace genu Her2/neu metodou qRT-PCR.

Metody: pro IHC vyšetření byly použity certifikované kity (HercepTest™, Dako) a (PATHWAY® HER2/neu (4B5) Ventana, Roche). Pro FISH byly použity sondy (PathVision HER-2 DNA Probe Kit Abbott molecular, USA), FISH ZytoLight® SPEC HER2/CEN 17 Dual Color Probe Gastric Cancer CytoVision, HER2IQFISH pharmDX™ Dako a robotické zpracování metodou SISH (HER2 Dual Color ISH, Ventana, Roche). U všech pacientů byla provedena kvantifikace genu Her2/neu vůči referenčnímu genu (LightMix Kit Her2/neu MOLBIOL), metodou qRT-PCR (LightCycler® 480 II, Roche).

Výsledky: ukázaly, že ve 20 % neodpovídá cytogenetická analýza kvantifikaci pomocí qRT-PCR, která korelovala s IHC vyšetřením v 95 %. Metoda SISH vs FISH vykazuje disbalanci v reprodukovatelnosti výsledků v 10 – 15 %. Z vizuálního hlediska a interpretace výsledků se však SISH jeví jako vhodnější u stanovení Her2/neu. Stejně tak endobiopsie vykazují horší diagnostické výsledky. Naopak typ nádoru nevykazuje nutnost rozdílného přístupu k molekulární diagnostice.

Závěr: Studie ukázala, že mezi jednotlivými cytogenetickými metodami při stanovení amplifikace Her2/neu jsou značné rozdíly a jako problematické pro molekulárně-prediktivní hodnocení se ukázaly být vzorky odebrané endoskopickou cestou.

Klíčová slova: karcinom žaludku, amplifikace Her2/neu, cytogenetika, qRT-PCR

Práce byla podpořena z projektu PRVOUK – P27

POSTIŽENÍ VERGENČNÍCH POHYBŮ OČÍ U EFEDRONOVÉHO PARKINSONISMU

Autoři: Jaromír Hanuška, Cecilia Bonnet, Marika Megrelishvili, Jan Ruzs a Evžen Růžička
Školitel: prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc., Neurologická klinika 1. LF UK a VFN

Východisko: Vergence (konvergence a divergence) je disjunktivní pohyb očí k získání nebo zachování jednotného binokulárního vidění při sledování předmětu v anteroposteriorní ose. Insuficience konvergence je častým důvodem vizuálního dyskomfortu u pacientů s Parkinsonovou nemocí. Vergenční pohyby, jejichž změny by mohly odrážet postižení mozkového kmenu a kortiko-subkortikálních okruhů, zatím však nebyly popsány u pacientů s parkinsonskými syndromy jiného původu. V naší práci jsme se zaměřili na efedronový parkinsonismus (EP), který je projevem toxického postižení bazálních ganglií manganem u uživatelů nelegální drogy efedronu, časté v zemích bývalého Sovětského svazu. Oční pohyby u EP se popisují jako zpomalené a omezené rozsahem ve vertikální i horizontální rovině, nicméně jejich systematická analýza dosud nebyla provedena. Cílem této práce je charakterizovat vergenční pohyby očí u pacientů s EP a přinést tak více poznání o patofyziologii tohoto postižení.

Metody: Výzkum probíhal za spolupráce Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze a Neurologické kliniky S. Khechinashviliho v Tbilisi (Gruzie). Vyšetřili jsme 27 EP pacientů (26 mužů a 1 ženu) ve věku od 28 do 48 let a 27 kontrolních osob odpovídajícího pohlaví a věku. Videookulografické (VOG) vyšetření očních pohybů zahrnovalo měření konvergence a divergence v horizontální a vertikální rovině. Měřili jsme latenci, průměrnou a maximální rychlost, „skewness“ a „gain“ odrážející časový profil a přesnost pohybů.

Výsledky: U pacientů ve srovnání s kontrolním souborem byla signifikantně zvýšena latence divergentního i konvergentního pohybu ($p < 0.0001$). Rychlost byla snížena u obou pohybů ($p < 0.0001$) a u konvergence byly navíc sníženy i parametry „skewness“ ($p = 0.0005$) a „gain“ ($p = 0.0061$), ukazující zpomalený náběh a hypometrii pohybu. Postižení vertikální složky vergenčních pohybů bylo významnější než postižení složky horizontální.

Závěry: Z našich výsledků vyplývá zřejmé postižení vergence u pacientů s EP. Prodloužení latencí a zpomalení vergenčních pohybů nasvědčují postižení frontálních kortiko-subkortikálních okruhů a mezencefalické retikulární formace u EP.

Klíčová slova: videookulografie, mangan, konvergence, divergence

SCREENING A DIAGNOSTIKA GESTAČNÍHO DIABETU: UMOŽŇUJÍ SOUČASNÁ ČESKÁ DOPORUČENÍ SPRÁVNOU DIAGNOSTIKU VŠECH PACIENTEK?

Autor: Petra Klusáčková
Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. Interní klinika 1. LF UK a VFN;
 MUDr. Kateřina Anderlová, Ph.D., Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN

Východisko: Gestační diabetes mellitus (GDM) je porucha metabolismu glukózy, která se objeví v těhotenství a spontánně odezní během šestinedělí. Neléčený GDM ohrožuje správný vývoj plodu a může vést k řadě komplikací těhotenství. Dle dosavadní literatury se udává výskyt ve 4% těhotenství. Screening ani diagnostická kritéria GDM však nejsou mezinárodně jednotná. V ČR je platný doporučený postup z roku 2008 vzniklý po dohodě České diabetologické společnosti (ČDS) a České gynekologicko-porodnické společnosti (ČGPD). V roce 2010 byl Mezinárodní asociací pro diabetes a těhotenství (IADPSG) vydán nový doporučený postup pro diagnostiku GDM vycházející z výsledků velké mezinárodní multicentrické studie HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes), která se zabývala přehodnocením diagnostických kritérií GDM na základě zjištěného rizika pro matku a plod. Tato nová kritéria nebyla zatím v ČR přijata.

Cílem naší studie bylo porovnat incidenci GDM při použití stávajících doporučených kritérií pro diagnostiku gestačního diabetu s novými mezinárodními kritérii dle IADPSG.

Metody: V naší studii byl proveden sběr výsledků OGTT provedeného u těhotných žen v Centrální laboratoři VFN v období od 1. 1. 2008 do 31. 12. 2012. V daném období test podstoupilo 1030 těhotných žen. Statistická analýza dat byla provedena pomocí programu SPSS.

Výsledky: V souboru 1030 těhotných žen bylo podle kritérií ČGPS diagnostikováno 13,01% žen s GDM. Při použití kritérií doporučených ČDS bylo diagnostikováno 21,55% s GDM. Rozdíl je statisticky významný na hladině významnosti 0,1% ($p < 0,00$). Při použití kritérií HAPO studie vzrostl záchyt GDM na 25,44%. Rozdíl je statisticky významný na hladině významnosti 5% ($p = 0,038$).

Závěr: Prevencí vzniku komplikací u žen s GDM a jejich plodů je včasná a správně provedená diagnóza GDM a její optimální léčba. Z výsledků naší studie vyplývá, že doporučení pro screening a diagnózu gestačního diabetu aktuálně platná v ČR již neodpovídá nejnovějším poznatkům zjištěným uznávanými recentními studiemi. Současně jsme zjistili, že výskyt GDM je nekolidanásobně vyšší, než bylo dosud v české literatuře udáváno.

Klíčová slova: gestační diabetes mellitus (GDM), orální glukózový toleranční test (OGTT), Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes (HAPO) study.

ZKUŠENOSTI S OPAKOVÁNÍM TESTU MNOHOČETNÉ LATENCE USNUTÍ PŘI PODEZŘENÍ NA NARKOLEPSII

Autoři: L. Pazderová, J. Bušková, D. Kemlink, J. Piško, S. Nevšímalová, D. Suchá, K. Šonka
Školitel: prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc., Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN

Východisko: Narkolepsie patří mezi nemoci s hlavním příznakem nadměrné denní spavosti. Mezi základní pomocné vyšetření k průkazu nadměrné denní spavosti (EDS) a k diagnostice narkolepsie patří MSLT (Multiple Sleep Latency Test). Klinická diagnóza je potvrzena, pokud má pacient v MSLT průměrnou latenci usnutí 8 minut nebo méně a ve dvou nebo více testech je přítomen REM spánek (SOREM). Při případném opakování MSLT se může výsledek i pozitivita testu z hlediska narkolepsie dle zkušeností a literatury u části vyšetřovaných změnit. Cílem studie bylo porovnat nemocné s opakovaně pozitivním MSLT s nemocnými s jedním negativním a jedním pozitivním MSLT a nemocné s prvním pozitivním MSLT, nalézt faktory predikující výsledek MSLT vyšetření a zhodnotit sensitivitu pouze 1. MSLT vyšetření ve vztahu k jeho druhému opakování.

Metody: Mezi lety 1999 a 2012 podstoupilo celkem 39 pacientů opakované vyšetření MSLT v intervalu menším než 1 rok. Byly porovnány následující skupiny nemocných. První skupinu tvořilo 19 pacientů se 2 MSLT, kdy první vyšetření bylo negativní a druhé pozitivní. Druhá skupina obsahuje 20 pacientů, u kterých obě provedená vyšetření MSLT nesplňovala kritéria svědčící pro narkolepsii. Třetí skupina zahrnovala 42 pacientů, u kterých se provádělo jen jedno vyšetření, z celkového počtu byly vybrány podle věku a pohlaví a u všech z nich vyšetření splňovala kritéria narkolepsie. Výsledky v jednotlivých skupinách byly statisticky porovnávány pomocí ANOVA, eventuálně ANOVA s opakováním. Výskyt kataplexií byl porovnáván chí-kvadrátovým testem s korekcí pro mnohočetná testování.

Výsledky: Všechny 3 vyšetřované skupiny se signifikantně liší v průměrné latenci usnutí v prvním MSLT testu ($p < 0,01$) a rovněž zastoupení pacientů s kataplexií se lišilo ($P < 0,05$). Jedno MSLT vyšetření vůči dvěma má 85% sensitivitu a 50% negativní prediktivní hodnotu (falešně pozitivní případy nebyly sledovány).

Závěr: Z této retrospektivní analýzy vyplývá, že nemocní s narkolepsií nemusí splnit kritéria narkolepsie při všech měřeních a v případě klinického podezření na tuto diagnózu a negativním nálezem na MSLT je důležité vyšetření MSLT opakovat.

Klíčová slova: Multiple Sleep Latency Test, polysomnografie, narkolepsie



SEKCE PREGRADUÁLNÍ HYGIENA A EPIDEMIOLOGIE

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Barbara Daňková
- Mariana Barros Fardilha
- Kateřina Hrouzová, Tereza Košánová, Eva Přikrylová
- Ioanna Ioannou
- Veronika Indrová, Veronika Makajevová, Michal Žiga
- Andreas Kaoullas
- Benjamin Kukull
- MUC Georgia Maragkou
- Shrey Mathur
- Kwarkai Quartey-Papafio
- Bahareh Sianati
- Adéla Valchová
- Suresh Vijayananda

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **doc. MUDr. Eva Králíková, CSc.**
členové: MUDr. Alexandra Kmeťová
MUDr. Ivana Holcátová, CSc.
MUDr. Mgr. Jolana Těšínová



FUKUSHIMA: PRINCIPLE ASPECTS AND POTENTIAL HEALTH RISKS

Author: Barbara Daňková

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Introduction: On March 11th, 2011, a 9.0 Richter earthquake shook the Japanese coast setting off a tsunami of extreme magnitude and causing extensive damage to the Fukushima Prefect, particularly to the Fukushima Dai-ichi nuclear power plant. Structural damage and loss of grid power, combined with suboptimal emergency response measures, lead to partial core meltdowns in several reactors, releasing radioactive debris into the atmosphere.

Aspects and Health Risks: The principle aspects of the accident include the spread of radioactive material throughout the region and beyond, through wet and dry deposition, and their subsequent persistence in the environment. The most important potential health risk involved is the dose of radiation received by the Japanese population as a consequence of the accident. Several dose estimates were made based on local air dose rates in a period several months following the accident. Psychological aspects of the disaster are also considered. The preventable aspects of the accident are summarized as being related to structural aspects of the power plant itself, the nuclear energy emergency response, and the legal structures that should ensure the safe use of nuclear power.

Conclusion: This accident highlights the importance of primary prevention as a principle of public health. It is essential that the most prudent practices be adopted for the use of nuclear power; otherwise we will surely suffer consequences to our health and our environment.

Keywords: Fukushima, nuclear fallout, ¹³¹I, ¹³⁴Cs, ¹³⁷Cs, radiation dose, primary prevention, stochastic effects

EVIDENCE-BASED PRIMARY PREVENTION OF HUMAN HEALTH

Author: Mariana Fardilha

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Introduction: Most people dream of living a happy and long life without any problems or diseases. However, what they do not know is that their lifestyles are killing them fast. Alcohol consumption, smoking, physical inactivity, inappropriate diet, overweight and obesity, along with other factors, raise the risk of chronic diseases, contributing for about 60% of cardiovascular deaths. What is important to realize is that, these diseases and deaths can be prevented if people change their habits. By doing so, they are raising life expectancy by 5 years.

Methods: Analysis of current literature.

Primary prevention: Evidence shows that most diseases are preventable, therefore, epidemiology, in collaboration with different agents and sectors, identify the causes of diseases and elaborate tactics and solutions to avert their onset. This can be achieved by focusing on health education and promotion; such as special designed programs that intend to clarify individuals and/or the whole population about health hazards and how to reduce its exposure and related health risks. Primary prevention, besides bringing health advantages, can also bring financial benefits. In fact, it is believed that prevention is one of the solutions for the high health care costs. Examples of primary preventive measures include: hand washing, sterilization and disinfection, vaccination, increasing the price of tobacco and alcoholic beverages, smoking bans in public places, among many others. This work is mainly focused on strategies seen in Portugal.

Conclusion: Evidence-based primary prevention results from the synergy between different sectors and actors in order to reach a common goal: global health. They do so by creating strategies to reduce risk factors. Having in mind that one hazard can lead to many diseases, we can deduce the impact that prevention has on health.

Keywords: Evidence-based medicine, preventive medicine, primary prevention, health promotion and education, risk factor.

VODNÍ DÝMKA – INFORMOVANOST A UŽÍVÁNÍ MEZI STUDENTY VYSOKÝCH ŠKOL, HYGIENA JEJÍHO UŽÍVÁNÍ

Autorky: Kateřina Hrouzová, Tereza Košanová, Eva Přikrylová

Školitelka: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN

Východisko: Užívání vodní dýmky (VD) je mezi vysokoškolskými (VŠ) studenty velmi rozšířená, zatímco informovanost o jejích zdravotních dopadech či hygienických zásadách je velmi nízká.

Metody: Na užívání VD, znalosti a hygienu jsme se dotazovali na sociální síti Facebook VŠ studentů (N = 179), osobně pak řízeným pohovorem návštěvníků (N = 40) a personálu 4 čajoven (2x Praha, 1x Písek, 1x Tábor), expozice tabákovému kouři byla validizována měřením CO ve výdechu.

Výsledky: Mezi sledovanými VŠ studenty lékařských (N= 76) i nelékařských (N = 95) oborů je prevalence užívání 89% (159/179), pravidelně ji užívá 7% (12/179). VD považuje za škodlivější než cigarety jen 42% (76/179), stejně škodlivou 37% (66/179), méně škodlivou dokonce 21% (37/179). O zdravotních dopadech vodní dýmky nebylo nikdy informováno 68% (122/179) studentů celkem, mezi mediky 42% (32/76). Možnost přenosu infekce VD nepřipouští 7% (13/179), chrání se čištěním celé VD před každým použitím 35% (62/179), naopak 16% (28/179) se nijak nechrání. Jen jedna z čajoven však VD před každým použitím čistí. Hodnoty CO ve výdechu u 7 návštěvníků, kteří VD kouřili, byly průměrně 27,43 ppm.

Závěry: Mezi VŠ studenty kouří VD 89%, znalosti o zdravotních dopadech včetně hygienických požadavků jsou malé u všech studentů, i když medicí měli znalosti lepší než ostatní. Expozice produktům spalování mezi kuřáky VD je podle hodnot CO vysoká.

Klíčová slova: kouření, vodní dýmka, vliv na zdraví, hygiena, vysokoškolští studenti

PROBLEMATIKA PERTUSE V ČESKÉ REPUBLICĚ

Autoři: Veronika Indrová, Veronika Makajevová, Michal Žiga
Školitel: MUDr. Alena Slámová, Ph.D., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK

Východisko: Pertuse je infekční onemocnění vyvolané *Bordetella pertusis*, které patří v České republice mezi povinně hlášená a dlouhodobě sledovaná infekční onemocnění. Podle sledovaných dat dochází v posledních deseti letech k pravidelným epidemickým cyklům (3 - 4 roky) nárůstu a poklesu počtu hlášených případů. Přestože v roce 2011 poklesl počet hlášených případů, trend stoupajícího počtu nakažených pokračuje, a to navzdory vysoké proočkovanosti českých dětí, která v roce 2009 podle pravidelné administrativní kontroly dosáhla téměř 99%. Podle údajů Státního zdravotního ústavu bylo v roce 2012 nahlášeno celkem 738 případů pertuse, tudíž došlo k více než dvojnásobnému zvýšení počtu onemocnění oproti předcházejícímu roku a incidence onemocnění se zvýšila z 3,1 na 7,0/100 000 obyvatel.

Metody: Na základě námi vytvořeného dotazníku jsme zjišťovali informovanost běžných obyvatel o rizicích nákazy černým kašlem, povědomí o možnostech prevence a proočkovaní dotazovaných. Sledovanou skupinu tvořilo 200 respondentů, oslovených náhodným způsobem v blízkosti nákupních center a stanic MHD hlavního města Prahy.

Výsledky: Většina dotázaných nepovažuje pertusi v České republice za problém a nemají informace o možnostech proočkovaní. Velká část respondentů se domnívá, že očkována nebyla nebo o tom neví. Z výsledku šetření tedy vyplývá, že informovanost o rizicích pertuse a její prevence je mezi lidmi nízká.

Závěry: V návaznosti na výsledky našeho šetření bychom doporučili zlepšení informovanosti populace o trojvakuině proti tetanu, diftérii a pertusi, dále povinné očkování jedinců, kteří jsou v kontaktu s rizikovou skupinou kojenců, změnu očkovacího schématu a zkvalitnění surveillance pertuse.

Klíčová slova: epidemiologie, pertuse, riziko, informovanost, prevence, očkování

NANOPARTICLE INHALATION – HEALTH RISK ASPECTS

Author: Ioanna Ioannou
Tutor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Introduction: Nanoparticles are particles at least one dimension smaller than 100 nm. Their extremely small size makes them able to cross freely through any biological membrane. Our organisms is able to eliminate them, for example, through the process of phagocytosis. In case they persist in lung tissue, they can trigger an inflammatory response and other sequelae may follow. In addition, some nanoparticles seem to be able to translocate from their site of deposition to distant sites like the brain via e.g. blood.

Health risk aspects: Nanoparticles are able to induce pro-inflammatory effects and it has been suggested that they create reactive oxygen species (ROS), and thereby modulate intracellular calcium concentrations, activate transcription factors, and induce cytokine production. As a result, they can influence basic cellular processes, such as proliferation, metabolism, and death. Many diseases can be associated with dysfunction of these basic processes. For example, cancer results from uncontrolled cell proliferation, while neurodegenerative diseases are caused in part by premature cell death. Oxidative stress has been implicated in many diseases, including cardiovascular and neurological disease, pancreatitis, and cancer. Severe inflammation is assumed to be the initiating step in the appearance of autoimmune diseases (systemic lupus erythematosus, scleroderma, and rheumatoid arthritis) associated with exposure to some nanoparticles.

Conclusion: No particles are completely inert, and even low concentrations of particles can have negative health effects. Consider that the simplest and very abundant nanoparticle is water molecule that can pass freely through biological barriers. Regarding the treatment of adverse health effects caused by nanoparticles cytotoxicity include antioxidants, anti-inflammatory drugs and metal chelators, which show promising effects.

Key words: nanoparticles, inflammation, oxidative stress, lung injury



PHENOMENON OF GEOPHAGY AND RELATED HEALTH RISKS

Author: Andreas Kaoullas

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Introduction: Geophagy is the intentional consumption of eating earthy or soil-like substances most frequently clay and chalk. From different viewpoints it has been regarded as a psychiatric disease, a culturally sanctioned practice or a sequel to poverty and famine. It is a specific type of the more general phenomenon that is commonly referred to as “pica” considered by some to be a psychiatric disorder, which is the purposive and compulsive consumption of non-food substances, such as ash, charcoal, chalk, earth (geophagia), ice (pagophagia) and laundry or cooking starch (amylophagia).

Risks and benefits of eating dirt: There are many reports of toxicities in children eating contaminated soils. There are obvious risks in the consumption of earth that is contaminated by animal or human feces; in particular, parasite eggs. Tetanus poses a further risk. Other dangers associated with geophagia include damage to tooth enamel, the ingestion of a variety of bacteria, various forms of soil contamination, and intestinal obstruction. High potassium content of soil may cause hyperkalemia, cardiac arrhythmia and cardiac arrest while soils with high CECs may cause iron deficiency anemia. Geophagy in pregnancy is considered to serve soothing stomach upset during morning sickness in the first trimester and supplementing nutrients especially calcium, during the second and third trimesters, when the fetal skeleton is forming.

Conclusion: At this point the health risks of practicing geophagy cannot be estimated satisfactorily. The inherent biologic danger of soil is difficult to assess. Evidence of soil as a major cause of disease in humans and other animals is limited and many reported diseases are the result of an abnormal situation, e.g. industrial pollution or untreated sewage. In any case the Health care community and doctors are obliged to warn and inform people about the risks of practicing geophagy and possible consequences until proven otherwise from further future studies.

Key words: geophagy, clay, pica, pregnancy, children, toxicity, heavy metals

THE IMPLICATIONS OF HAZARD IDENTIFICATION AND RISK ASSESSMENT IN ENVIRONMENTAL CANCERS

Author: Benjamin Kukull

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Introduction: Cancer is a leading cause of death worldwide, which includes diverse and complex set of diseases with a multifactorial etiology. Incidence of different cancers varies greatly worldwide and there are a number of risks factors linked to economic trends and industrialization. It is still in question how many environmental factors may contribute to the overall region-specific cancer incidence and how such exposures should be identified and characterized.

Hazard identification and risk assessment of current compounds in light of industry: Of the thousands of chemicals in products on the market, only a few hundred have been tested adequately for carcinogenicity. Industry has argued that evoking the precautionary principle may ban potentially useful compounds and deter innovation. On the other hand, public exposure to uncharacterized compounds should never be an inevitable part of industry development. Proper hazard identification and risk assessment is costly and time consuming but currently methods are being developed for these purposes. In such investigations, good molecular biomarkers, such as epigenetic markers (which include changes in DNA methylation patterns, histone modification and DNA remodeling), are promising candidates, because stereotypical post-exposure molecular changes can be evaluated from a sample that is easily collected and well-preserved. Prospectively, longitudinal cohort studies can best utilize these markers to establish causality.

Conclusion: There should always be an effort to practice primary prevention by *avoiding* the introduction of carcinogenic agents into the environment and *eliminating* exposure to agents already there. As our knowledge of the complex environment of chemicals that we are exposed to expands, so should our investigations to fully understand such exposures. We have more methods to measure these exposures, and studies should be developed to gather data to characterize less known exposures. In this case, the interest of public health should always precede the interest of industry. By strengthening our ability for proper risk assessment, both legislation and industry are more informed and the public protected.

Keywords: environmental cancers, hazard identification, risk assessment, industry regulation, epigenetics, cohort studies

ALCOHOL ABUSE AND UPPER AERODIGESTIVE TRACT MALIGNANCIES

Author: Georgia Maragkou

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Introduction: The incidence and mortality rates of upper aerodigestive tract (UADT) malignancies are among the highest in the world. UADT cancers account for 5.2% of all cancer cases worldwide and 6.4% of all cancer cases in Europe. The major risk factors are chronic excessive alcohol consumption, together with tobacco smoking.

Mechanisms in alcohol-associated UADT cancer: Multiple mechanisms are considered to be involved in alcohol-associated cancer of UADT. Alcohol itself may act locally as a solvent for tobacco carcinogens, although it is also possible that the primary carcinogen is acetaldehyde (AA). Recent evidence suggests that individuals who accumulate AA due to polymorphisms or mutations in genes coding for AA generation or detoxification enzymes, are associated with increased UADT cancer risk. These enzymes include alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in three genes related to ethanol metabolism (ADH-1B, ADH-1C, ALDH-2) were found to have an association with UADT cancers. Furthermore, in chronic heavy drinkers, various deficiencies of vitamins and trace elements contribute to alcohol-associated carcinogenesis.

Conclusion: The role of ethanol alone and AA in the etiology of alcohol-associated carcinogenesis is evident. However, the concentrations of ethanol and AA after alcohol consumption depend on the activity of ADH and ALDH, whose polymorphisms constitute a risk factor for cancer in the case of chronic alcohol consumption. Alcohol consumption, together with tobacco smoking, are the most important risk factors for UADT cancer, and especially spirits with high concentration of alcohol.

Keywords: UADT cancers, risk factor, alcohol, acetaldehyde, polymorphisms, ADH, ALDH

WASTEWATER RELATED RISK FACTORS

Author: Shrey Mathur

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Wastewater related risk factors are major contributors to the Global Burden of Disease. Access to safe drinking-water is especially limited in developing countries and rural areas. Wastewater can contain infectious agents such as bacteria, viruses, protozoa and helminths. Particularly important diseases caused by pathogens in wastewater are typhoid, cholera and schistosomiasis. Furthermore, many deaths in the developing world are caused by diarrheal disease resulting from waterborne infections.

In addition to infection agents, wastewater can contain many toxins. Risk factors for waterborne toxicity vary by source which can be municipal, industrial or agricultural. Municipal wastewater comprises of wastewater from households and hospitals. Household wastewater contains many compounds grouped as pharmaceuticals and personal care products. Though the levels of these compounds are known, the synergistic effects have not been elucidated. Hospital wastewater has the potential for the transfer of antibiotic resistance but the evidence for this occurrence is inadequate. While vancomycin and methicillin resistance genes were amplified in hospital wastewater, transfer of gentamicin resistance plasmids was not found. The fate of iodinated contrast materials has also not been proven. Similarly, the presence of estrogenic compounds in hospital wastewaters has been demonstrated, but their effect on humans as endocrine disruptors remains to be proven. Industrial wastewater from mining can contain heavy metals and cause diseases like Itai-Itai disease. Food and agriculture processing industries produce wastewater that is high in organic waste. Chemical industries generate many pollutants that need to be removed at the plant. Regulation of this activity is complex and failure to remove chemical toxins can result in poisonings such as Minamata disease. Increased food demand has led to the agriculture industry reusing wastewater and overusing nitrogen and phosphorus fertilizers. Therefore, bioaccumulation of toxins in food and eutrophication of water bodies are major problems faced in this sector. Rapid urbanization acts to exacerbate the effects and production of wastewater contaminants. Overcrowding and poor infrastructure amplify waterborne disease outbreaks in developing countries. Jakarta, Indonesian capital, can be illustrative of problems faced by rapidly growing urban settings.

Preventive efforts need to be cognizant of local socio-economic context. In the developing world, decentralized systems, improved industrial and irrigation technology as well as legislative intervention can be very effective measures to mitigate the risk factors related to wastewater.

Keywords: Eutrophication, Pharmaceuticals and Personal Care Products, Antibiotic Resistance, Iodinated Contrast Media, Endocrine Disruptors, Minamata disease, Cholera, Diarrheal disease, Urbanization



ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME (ARDS) IN THE COURSE OF INFLUENZA A/ H1N1 INFECTION

Author: Kwarkai Quartey-Papaio

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Background: Influenza A viral infection (H1N1) is an airborne disease spread by droplets. Most individuals who become infected with H1N1 have only mild symptoms and recover in 2 weeks without treatment. However children younger than 5 years, adults of 65 years and older, pregnant women and those with diseases are at increased risk of complications. Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) is the most important complication of H1N1 infection and has a mortality rate of 15 – 40%.

Methods: During the 2009 Mexican flu pandemic, many studies were done on individuals with H1N1 complicated by ARDS. Tests done on patients admitted to hospital to diagnose Influenza A included; Initial Rapid Influenza Antigen test which has a low sensitivity, Direct Fluorescent Antibody test (DFA) which has a sensitivity of 47 – 93%, Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) which has a sensitivity of 83 – 100% and Multitemperature Single Strand Conformation Polymorphism (MSSCP) genotyping. Patients with ARDS were treated with.

Results: Initial Rapid Influenza Antigen test gave false negativity with 83% of patients tested, who were later confirmed to have H1N1 infection. DFA test result was negative for the single patient tested and the RT-PCR and MSSCP genotyping both confirmed the presence of H1N1 infection in another patient. Nearly all patients given treatment died due to complications of ARDS, these patients were either pregnant or had chronic medical conditions.

Conclusion: The main test done to diagnose H1N1 infection should be RT-PCR as it is the most sensitive test. Pregnant women and those with chronic conditions are more likely to have a fatal outcome.

Keywords: Acute Respiratory Distress Syndrome; Real Time-Polymerase Chain Reaction; H1N1 infection

RISKS AND BENEFITS OF FISH IN THE FOOD-BASKET

Author: Bahareh Sianati

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Objective: This study is to explore the risks and benefits of fish in the food-basket, based on literature reviews.

Discussion: Fish is considered to be an excellent source of protein with low saturated fat, nutritious trace elements, long-chain polyunsaturated fatty acids and vitamins. Greater adherence to fish diet is associated with significant reduction in overall mortality from cardiovascular diseases, ischemic stroke, cancer, incidence of Parkinson's disease, Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.

Yet, some fish contain higher levels of mercury that may harm unborn or young children's developing nervous systems causing mental retardation, seizures and microcephaly, and even death as described in the case of e.g. Minamata disease.

Mercury is then converted to methyl mercury by microorganisms, taken up by marine life and concentrated in fish by the process of biomagnification, which is predatory fish eating other fish.

Certain other contaminants sometimes found in fish, such as dioxins and PCBs (polychlorinated biphenyl), have been linked to some cancers and reproductive problems.

The amount of raw sewage dumped into the waters is the reason for water pollution. One example of this water pollution is of The Great Lakes Basin, the largest system of fresh water lakes in the world. The Great Lakes Water Quality Agreement was signed in 1972 by United States and Canada to enforce secondary treatment of municipal sewage by major cities to greatly reduce the routine discharge of untreated sewage. Due to this act, discharge of toxic substances has been sharply reduced ever since.

Conclusion: Even though fish is important in a healthy diet, presence of pollutants such as mercury or PCB can outweigh fish's healthy effects. However, taking initiative for preventing further man-made pollution in the waters such as Great Lakes Water Quality Agreement has helped to take control of increasing toxicity in the waters and tainting the fish as a result.

Keywords: Fish, Pollution, Mercury toxicity, Methylmercury, PCBs, Cancer, Great Lakes Water Quality Agreement

UŽÍVÁNÍ TABÁKOVÝCH VÝROBKŮ A POZORNOST ŘIDIČŮ

Autor: Adéla Valchová, Ondřej Kopečný, Lenka Nevrlková

Školitel: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN

Východisko: Kouření za volantem jednak ovlivňuje pozornost řidiče mechanicky, jednak vlivem chemických látek, které kouř obsahuje.

Metody: Anonymní dotazník vyplnilo 100 řidičů motorových vozidel (z toho 48 řidičů z povolání) během října 2012.

Výsledky: Mezi řidiči bylo 87 % kuřáků, tedy více než dvojnásobek v porovnání s populací. Za jízdy kouří 77 % kuřáků, 41 % již někdy vypadla cigareta během jízdy z ruky, nehodu způsobenou kouřením uvedlo 44 % kuřáků. I když 75 % kuřáků si zapaluje cigaretu v autě autozapalovačem, 32 % používá také zapalovač a 26 % sirky (bylo více možných odpovědí), které během jízdy mohou způsobit oslnění. Kouření během jízdy s dítětem v autě uvedlo 15 %, se spolujezdcem 62 %.

Závěry: Kouření během řízení motorového vozidla je podceňovaným rizikem, a to jak z hlediska manipulace s hořící cigaretou, tak z hlediska oslnění při zapalování či potenciálně snížené pozornosti.

Klíčová slova: kouření, řízení motorového vozidla, nehoda

POTENTIAL HEALTH RISKS RELATED TO RAISING HUMAN EXPOSURE TO ENDOCRINE DISRUPTORS

Author: Suresh Vijayananda

Supervisor: prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

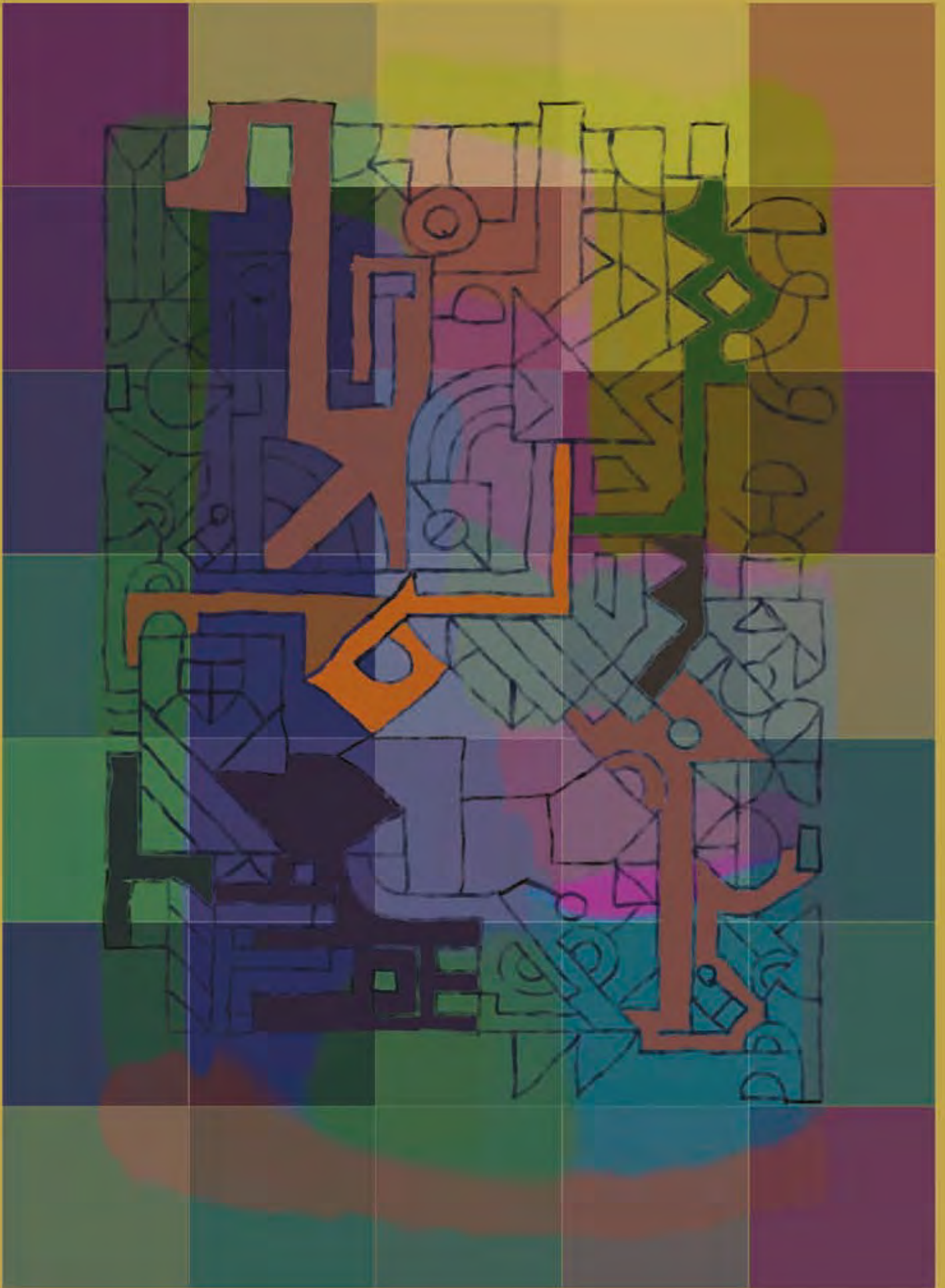
Introduction: An endocrine disruptor chemical (EDC) can interfere with the system in several ways; increase/decrease hormonal signal, affect tissue receiving hormone signal by blocking or mimicking the incoming hormone, alter body's synthesis of hormone or alter its transportation throughout the body. EDC are widely used and some are present in everyday objects such as food, drinking water, plastic food containers, toys, cosmetics and pesticides. Given their extensive use, there is considerable potential for exposure.

There are many chemicals that are present in our environment that have unknown impacts on children. Studies show that mostly neonates during critical developmental period and young children (breast-fed infants) are at greater risk of EDC exposure. It was shown that breast-fed infants were x40 times higher risk exposure to range of EDC compared to general population. Bi-national studies also support this evidence. Related research has shown dropping of sperm count, early puberty, increasing incidence of birth defects of the male genitalia (hypospadias, undescended testis) and increasing incidence of endocrine related tumors like breast cancer, testicular cancer, and prostate cancer.

Endocrine disruption raises some important issues and implications. Since most emphasis is put on reducing exposure of EDC as seen by the conclusive studies. Advancement in molecular and genetic research has provided better understanding of blastic cell transformation which has led to improving risk assessment for population exposed to EDC. However, we still need to question the chemical testing practices that undergo required tests for toxicity before being put out on the market for regular use. The required tests do not evaluate endocrine disrupting effects, so tested chemicals can have unidentified hazardous health effects.



Zahájení slavnostního předávání cen 14. SVK děkanem 1. LF UK profesorem Aleksim Šedem.



SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ I. - IV.

I.

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Ing. Ľubica Ďudáková
- Mgr. Jana Kubátová
- Mgr. Miloslava Mrázová
- Mgr. Jana Spáčilová
- Mgr. Monika Šrámková
- Ing. Jakub Šuk
- MUDr. Monika Urbanová

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.**
členové: doc. MUDr. Jan Jiskra, Ph.D.
prof. RNDr. František Vítek, CSc.
doc. MUDr. Michal Vrablík, Ph.D.

II.

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Mgr. Aleš Dvořák
- MUDr. Zdeněk Fík
- RNDr. Peter Gál
- MUDr. Ondřej Kodet
- MUDr. Lucie Latečková
- MUDr. Petra Vočková

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.**
členové: doc. MUDr. Jan Živný, Ph.D.
doc. MUDr. Dana Marešová, CSc.
MUDr. Robert Pytlík

III.

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Mgr. Jana Česneková
- Mgr. Hana Hatalova
- MUDr. Mighty Kgalalelo Kemelo
- Mgr. Tomáš Petrásek
- Mgr. Petr Škopek
- Mgr. Paulína Valušková
- MUDr. Eva Vařejková

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **prof. MUDr. František Pytlík, DrSc.**
členové: prof. MUDr. Viktor Kožich, CSc.
prof. MUDr. Miloš Langmeier, DrSc.

IV.

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Mgr. Marcela Filipová
- Mgr. Viola Hausnerová
- MUDr. Pavel Jůda
- Mgr. Hana Kratochvílová
- Ing. Dita Mušálková
- Ing. Klára Novotná
- Mgr. Barbora Váchová

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.**
členové: RNDr. Běla Použníková
doc. RNDr. Ján Bednár, Ph.D.
doc. MUDr. Martin Prázný, Ph.D.



ÚLOHA LYZYL OXIDÁZY A JEJ IZOENZÝMOV V PATOGENÉZE KERATOKONU

Autor: Lubica Ďudáková, Šárka Kalašová, Petra Lišková, Kateřina Jirsová
Školitel: Mgr. Kateřina Jirsová, Ph.D., Laboratoř biologie a patologie oka, Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN

Východisko: Rodina lyzyl oxidázy, zahrňující lyzyl oxidázu (LOX) a čtyři LOX-like enzymy, katalyzuje tvorbu vazeb mezi elastinovými a kolagenovými vlákny. Nedávno sme popísali nižšiu aktivitu a nepravidelnú distribúciu LOX v keratokonických (KC) rohovkách v porovnaní so zdravými kontrolami. Aby sme rozšírili vedomosti o tejto enzýmovej rodine, zamerali sme sa na detekciu ostatných členov tejto enzýmovej rodiny v zdravej a KC rohovke.

Metódy: Pomocou nepriamej fluorescenčnej imunohistochemie sme na kryorezoch ľudskej kontrolnej (KO) a KC rohovky sledovali expresiu LOX-like enzýmov za použitia myších protilátok anti-LOX-like 1 (Santa Cruz) a anti-LOX-like 2 (Abcam) a králičích anti-LOX-like 3 (Santa Cruz) a 4 (Abcam). Intenzita signálu bola hodnotená za použitia škály: 0: bez signálu, 1: slabý, 2: stredne silný, 3: silný signál.

Výsledky: Slabý signál LOX-like 1 sme pozorovali v KO ako aj KC vzorkách. Po použití LOX-like 2 protilátky sme pozorovali stredne silný až silný signál vo všetkých vrstvách KO rohoviek. Nepravidelný signál v epiteli a gradientové znižovanie intenzity signálu od stredne silného po slabý sme pozorovali v stróme KC rohoviek. Po použití LOX-like 3 protilátky sme pozorovali mierne až intenzívne farbenie epitelu a endotelu v KO i KC vzorkách. Intenzita signálu v stromálnej oblasti KO vzoriek bola slabá a takmer úplne chýbala vo väčšine KC vzoriek. Stredne silný až silný signál v epiteli a endoteli a stredne silný signál v stróme s bodkovaným vzorom sme pozorovali KO a KC rohoviek za použitia protilátky LOX-like 4.

Záver: Takmer žiadny rozdiel sme nenašli medzi KO a KC rohovkami vo farbení s protilátkami LOX-like 1 a 4. Pokles v intenzite signálu protilátok LOX-like 2 a 3 v KC vzorkách by mohol indikovať, že i ďalší členovia tejto enzýmovej rodiny sú zapojení v patogenéze keratokonu.

Kľúčové slová: keratokonus, lyzyl oxidáza, imunohistochemia

Tato práca vznikla za podpory grantu PRVOUK-P24/LF1/3 a SVV 266504.

VLIV VYBRANÝCH ENDOKRINNÍCH DISRUPTORŮ NA AKTIVITU 11 β HYDROXY-STEROIDNÍ DEHYDROGENÁZY V TESTES

Autoři: Jana Kubátová, Richard Hampl, Martin Hill, Jiří Heráček, Luboslav Stárka
Školitel: Ing. Martin Hill, DrSc., Endokrinologický ústav AV ČR

Východisko: Jedním z vysvětlení nepříznivých sekulárních trendů v počtu spermií, hladinách testosteronu a dalších reprodukčních poruch u lidí i volně žijících zvířat je expozice hormonálně aktivním látkám z prostředí – endokrinním disruptorům (ED). Mechanismus působení je nejčastěji vysvětlován vazbou na jaderné receptory. V naší studii předpokládáme, že ED by mohly snížit aktivitu enzymu 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy typu 2 (11 β HSD2) v testes, která přeměňuje aktivní stresový hormon kortisol (F) na neaktivní kortison (E). Snížením aktivity 11 β HSD2 se zvýší hladiny kortisolu a následkem dalších regulačních dějů dojde ke snížení hladin testosteronu, který je nezbytný pro správnou spermatogenezi.

Metodika: V naší předběžné studii jsme sledovali hladiny F a E v seminální plasmě u 4 skupin mužů: zdravých a mírně, středně a těžce neplodných. Muži byli rozděleni do skupin podle hodnot spermiogramu. Hladiny obou steroidů byly změřeny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV/VIS detektorem. U všech skupin mužů byly stanoveny i hladiny 6 kongenerů polychlorovaných bifenylnů v séru.

Výsledky: Pro zjištění aktivity 11 β HSD2 jsme porovnávali poměr F/E u 4 skupin mužů. Statistická analýza prokázala významný rozdíl mezi poměry u mírně neplodných a zdravých mužů. Aktivita 11 β HSD2 je tedy nižší u mírně a středně neplodných mužů v porovnání se zdravými kontrolami a skupinou těžce neplodných mužů. Nebyly nalezené statisticky významné rozdíly v hladinách PCB u skupin mužů.

Závěr: Výsledky ukazují, že aktivita 11 β HSD2 v testes je nižší u mírně a středně neplodných mužů oproti zdravé mužské populaci. Souvislost s expozicí PCB nebyla prokázána. Skupiny mužů budeme průběžně rozšiřovat a budeme zkoumat vliv dalších možných ED na aktivitu 11 β HSD2.

Klíčová slova: endokrinní disruptor, 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenáza, kortisol, kortison, kapalinová chromatografie, testes

Práce byla podpořena projektem IGA MZ ČR NT 13369.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY OF METABOLIC SYNDROME COMPONENTS IN THE RAT RECOMBINANT INBRED STRAIN PANEL PXO

Authors: Miloslava Mrázová, Lucie Šedová, Michaela Janků, František Liška, Drahomíra Křenová, Michaela Krupková, Ludmila Kazdová, Vladimír Křen, Ondřej Šeda
Supervisor: doc. MUDr. Ondřej Šeda, Ph.D., Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN

Background: Metabolic syndrome is a prevalent disease characterized by concurrent manifestation of 3 symptoms (elevated waist circumference, triglycerides, reduced HDL cholesterol, hypertension, elevated fasting glucose). We performed genome-wide association and linkage study of major metabolic syndrome components in recombinant inbred strain panel PXO.

Methods: Adult male rats of 14 PXO strains and two progenitor strains SHR-Lx a BXH2 (n=183) were subjected to one-week of high-sucrose diet feeding. We established morphometric and metabolic profile of the whole PXO panel including blood pressure values and triacylglycerol (TG) and cholesterol (C) concentrations in 20 lipoprotein fractions were determined. The association and linkage analyses utilizing > 20,000 SNPs were performed using MapManager, the significance validated by 2000 permutations per trait.

Results: In most of the phenotypes we identified substantial gradient among the strains. Using interval mapping, we have identified 14 loci showing suggestive or significant linkage to studied traits. Except for linkage signals of LDL-TG on chromosomes 3 and 12, PXO strains carrying the SHR allele displayed significantly higher values of the lipid linked traits, e.g. LDL-C (21.2±0.4 vs. 12.5±0.4 mg/dl in PXO strains with SHR allele vs. BXH2 allele in D3Rat50-D3Got19 block). C concentrations in large, medium and very small LDL particles were significantly associated to a single gene (*Lrp1b*).

Conclusion: Using genome-wide linkage and association we have identified new genetic determinants of blood pressure values, TG and C distribution into lipoprotein fractions.

Keywords: metabolic syndrome, recombinant inbred strain, metabolic profile

EXPRESSE PODJEDNOTEK ATP-SYNTÁZY V JATERNÍ TKÁNI V PRŮBĚHU PRENATÁLNÍHO VÝVOJE ČLOVĚKA (*HOMO SAPIENS*) A POTKANA (*RATTUS NORWEGICUS*)

Autoři: Spáčilová J., Hůlková M., Hansíková H. and Zeman J.
Školitelka: RNDr. Hana Hansíková, CSc., Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Východisko: Jedním z nejkritičtějších vývojových momentů u savců je adaptace na aerobní prostředí po narození, kdy dochází k aktivaci oxidativního řetězce (OXPHOS) a důležitou roli hraje efektivita mitochondriální biogeneze. F_0F_1 -ATP-syntáza je enzym OXPHOS katalyzující produkci ATP, hlavní makroergické sloučeniny v buňce.

Cílem práce bylo charakterizovat expresi podjednotek ATP-syntázy – genů *Atp5g2/ATP5G2* (potkan/ČLOVĚK), *Atp5o/ATP5O*, *Atp5a1/ATP5A1* a *Atp6/ATP6* v jaterní tkáni potkana a člověka v průběhu fetálního vývoje. Dále byla analyzována exprese dvou asembličních faktorů (*Tmem70/TMEM70* a *Atpaf2/ATPAF2*).

Metody: Proteiny i mRNA byly izolovány simultánně (TriReagent). Kvantifikace mRNA byla provedena metodou qPCR. Expresní profily byly zpracovány v programech Genex a STATISTICA 10. Proteiny byly kvantifikovány po imunodetekci v programu Quantity One.

Výsledky: Na základě expresních profilů byly sestaveny dendrogramy vyjadřující na úrovni mRNA vzájemný vztah mezi profily expresí jednotlivých genů. Byly tak identifikovány vzájemné shody mezi oběma organismy. V lidské tkáni byly definovány dva hlavní klastry genů - *ATP5G2*, *ATP5O*, *ATP6* a *ATP5A1*, *ATPAF2*, *TMEM70*. Dendrogram s expresními daty potkana ukazuje také dva hlavní klastry genů - *Atp5g2*, *Atp5o*, *Tmem70* a *Atp6*, *Atpaf2*, *Atp5a1*. V jaterní tkáni obou organismů se exprimují dvojice genů *ATP5G2/Atp5g2*, *ATP5O/Atp5o* a *ATP5A1/Atp5a1*, *ATPAF2/Atpaf2* podobným způsobem. V jaterní tkáni potkana bylo ověřeno, že se exprese podjednotky a ATP-syntázy (*Atp5a1*) v průběhu vývoje významně zvyšuje.

Závěr: Studií byly zjištěny shody ve změnách exprese sledovaných genů v průběhu vývoje člověka a potkana. Ty podporují hypotézu o existenci regulačního mechanismu na úrovni thyroïdních hormonů či dalších drah, který zajišťuje aktivaci OXPHOS.

Klíčová slova: mitochondriální biogeneze, ATP-syntáza, vývoj

Podporováno 1. LF UK v Praze GAUK667612, UNCE204011, IGA MZ ČR NT/11186-5/2010, SVV266504.



ÚLOHA ZMĚN STEROIDNÍHO METABOLOMU V PREDIKCI POPORODNÍ DEPRESE

Autoři: Michaela Mikešová, Roman Jirák, Marta Kalousová, Martin Hill, Andrea Pašková, Marta Velíková, Jana Kubátová, Lyudmila Kancheva, Karolína Maryšková, Monika Šrámková, Kateřina Šimůnová, Hana Hruškovíčová, Luboslav Stárka, Michaela Dušková, Antonín Pařízek
Školitelka: MUDr. Michaela Dušková, Ph.D., Endokrinologický ústav AV ČR

Východisko: Poporodní deprese postihuje 10–15 % žen po porodu. Existuje několik hypotéz, nicméně všeobecně přijímaná teorie o příčinách a mechanismu poporodních duševních poruch zatím není objasněna. Je velmi pravděpodobné, že se jedná o proces související s náhlými změnami produkce hormonů ovlivňujících nervovou soustavu matky a na druhé straně se schopností receptorových systémů se na tyto změny adaptovat.

Metodika: V naší studii jsme sledovali změny ve steroidogenezi v období kolem spontánního porodu, které by mohly predikovat rozvoj psychických změn v poporodním období. Steroidní metabolom byl stanoven pomocí plynové chromatografie s hmotově spektrometrickou detekcí (GCMS-QP2010 Plus firmy Shimadzu), toto stanovení bylo u některých steroidů doplněno RIA. Psychické změny žen v periparálním období byly sledovány pomocí Hamiltonova dotazníku skórující stupeň deprese. Byly provedeny tři odběry venózní krve po 10ml: první čtyři týdny před porodem; druhý po nástupu děložních kontrakcí; třetí ve třetí době porodní.

Výsledek: Nejsilnější predikce byla zjištěna ve vzorcích venózní krve odebraných matkám po narození dítěte; slabší predikce potom ve vzorcích venózní krve odebraných matkám 4 týdny před narozením dítěte. Hlavní roli zde hrál testosteron pravděpodobně mateřského původu a estrogény pocházející z fetálního kompartmentu. Testosteron z pupečnickové krve není prediktorem.

Závěr: Výsledky naznačují, že na rozvoji psychických změn v poporodním období se podílí jak změny steroidogeneze matky, tak i plodu. Popis změn steroidogeneze ve vztahu k poporodní depresi přispívá k objasnění příčin tohoto onemocnění.

Klíčová slova: steroidy, poporodní deprese, predikce, estrogény, testosteron

MOLEKULY UVOLŇUJÍCÍ OXID UHELNATÝ – NOVÝ PŘÍSTUP K LÉČBĚ ZÁNĚTLIVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Autoři: Jakub Šuk, Kateřina Váňová
Školitelka: MUDr. Lucie Muchová, Ph.D., Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

Oxid uhelnatý (CO), uvolňovaný při katabolismu hemu enzymem hemoxygenasou (HMOX), je dnes považován za cytoprotektivní a homeostatickou molekulu s významnými signalizačními schopnostmi při fyziologických a patofyziologických stavech v organismu. Jednou z možností dopravy CO do organismu je inhalace. Její využití je ovšem limitováno vazbou CO na hemoglobin. Alternativní volbou je aplikace komplexů přechodných kovů, které jsou schopné uvolňovat CO za fyziologických podmínek (CO-RM). Cílem studie je zjistit, zda je CO uvolněný z těchto látek distribuován do cílových tkání a zda má podání protektivní vliv u lipopolysacharidem (LPS) indukované endotoxemie.

Metody: In vivo experimenty byly provedeny na samicích potkana kmene Wistar, kterým byl podán CO (inhalace, CORM-A1 či CORM-3) v kombinaci s LPS či inaktivní molekulou CORM (kontroly). Vybrané orgány pro stanovení obsahu CO (játra, mozek, ledviny, slezina, plíce, srdce), aktivity a exprese HMOX (játra), a exprese mRNA vybraných cytokinů (játra) byly odebrány v několika časových intervalech. Krev byla odebrána pro stanovení karboxylhemoglobinu a markerů jaterního poškození.

Výsledky: Zvolená dávka CORM-A1 vedla ke zvýšení koncentrace CO ve vybraných orgánech, která byla nižší ve srovnání s inhalací. Podání CORM-3 nevedlo k významné změně koncentrace CO ve vybraných orgánech. Následné analýzy prokázaly přítomnost toxických nečistot (pyridinu) v CORM-A1, proto byla dále testována jen molekula CORM-3. Podání CORM-3 před aplikací LPS vedlo k významnému snížení aktivity AST a bilirubinu oproti LPS skupině. Expres *TNFα* v jaterní tkáni u CORM-3+LPS skupiny byla snížena již po 30 minutách oproti LPS skupině.

Závěr: Aplikace CORM-A1 vedla ke zvýšení obsahu CO v periferních tkáních s téměř trojnásobně nižší tvorbou COHb ve srovnání s inhalačním podáním. Přestože aplikace CORM-3 nevedla k měřitelnému zvýšení obsahu CO ve vybraných orgánech, výsledky poukazují na možný anticholestatický a protizánětlivý účinek již nízkých koncentrací CO u experimentálně vyvolané endotoxemie. Vzhledem k omezené tvorbě toxického COHb se molekuly CO-RM jeví jako vhodná aplikační cesta terapeutických dávek CO.

Klíčová slova: hemoxygenasa, oxid uhelnatý, CO-RM, lipopolysacharid, endotoxemie

Práce byla podpořena granty GAUK 251202 a IGA MZ ČR NR/11327-4.

SÉROVÉ KONCENTRACE A MRNA EXPRESE OMENTINU V PODKOŽNÍ TUKOVÉ TKÁNI U PACIENTŮ S OBEZITOU A DIABETES MELLITUS 2. TYPU: VLIV NÍZKOKALORICKÉ DIETY, FYZICKÉ AKTIVITY A LAPAROSKOPICKÉ TUBULIZACE ŽALUDKU

Autoři: M. Urbanová, I. Dostálová, J. Jahodová, R. Pavlovičová, M. Čechová, M. Matoulek, D. Haluzíková, M. Mráz, Z. Lacinová

Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika 1. LF UK a VFN

Východisko: Omentin je nový adipocytární hormon exprimovaný převážně ve viscerální tukové tkáni, který vykazuje příznivé účinky na inzulínovou senzitivitu. V naší práci jsme hodnotili sérové koncentrace omentinu a jeho mRNA expresi v podkožní tukové tkáni (SCAT) u obézních žen s a bez přítomnosti diabetes mellitus 2. typu za bazálních podmínek a po vybraných léčebných intervencích.

Metody: Do studie bylo zařazeno 11 obézních žen s diabetes mellitus 2. typu (T2DM), 37 obézních žen bez diabetes mellitus (OB) a 26 zdravých štíhlých žen (KO). Sérové koncentrace omentinu a jeho mRNA exprese v podkožní tukové tkáni byly stanoveny vstupně a po vybraných intervencích – 2 týdny nízkokalorické diety (VLCD, energetický příjem 600 kcal/den), 3 měsíce pravidelné fyzické aktivity (30 minut aerobního cvičení 3x týdně) a laparoskopická tubulizace žaludku (laparoscopic sleeve gastrectomy – LSG).

Výsledky: Ve srovnání s KO skupinou byly bazální sérové hladiny omentinu signifikantně sniženy jak u T2DM, tak u OB pacientek ($474,9 \pm 44,6$ a $397,6 \pm 30,4$ vs. $565,5 \pm 27,7$ ng/ml; $p < 0,05$), zatímco jeho mRNA exprese v SCAT se mezi sledovanými skupinami významně nelišila. Fyzická aktivita ani VLCD neměly zásadní vliv na sérové koncentrace ani na genovou expresi omentinu u OB nebo T2DM skupiny. U OB skupiny vedla LSG v průběhu 2letého sledování k perzistentnímu vzestupu sérových koncentrací omentinu ($455,7 \pm 34,8$ ng/ml; $p = 0,002$ po 1. roce a $449,7 \pm 44,8$ ng/ml; $p = 0,017$ po 2. roce), zatímco v SCAT došlo k poklesu jeho mRNA exprese. V kombinované populaci zahrnující všechny skupiny korelovaly sérové koncentrace omentinu negativně s BMI, hsCRP, inzulinem, LDL cholesterolem, triacylglyceroly a leptinem a pozitivně s HDL cholesterolem. mRNA exprese omentinu v SCAT nekorelovala se žádným ze sledovaných antropometrických nebo biochemických parametrů.

Závěry: Nižší sérové koncentrace omentinu mohou hrát úlohu při vzniku obezity a diabetes mellitus 2. typu. Jejich vzestup spolu se snížením exprese omentinu v SCAT se může podílet na zlepšení metabolického profilu navozeném bariatrickým výkonem.

Klíčová slova: obezita, diabetes mellitus 2. typu, omentin, laparoskopická tubulizace žaludku



Proděkan 1. LF UK pro vědeckou činnost profesor Aleš Žák a děkan 1. LF UK profesor Aleksi Šedo na slavnostním předávání cen 14. SVK v Akademickém klubu 1. LF UK.



METABOLISMUS NÁDOROVÝCH BUNĚK: REDUKTIVNÍ KARBOXYLACE A GLUTAMINOLÝZA

Autoři: Aleš Dvořák, Katarína Smolková, Jaroslav Zelenka, Libor Vítek a Petr Ježek
Školitel: RNDr. Petr Ježek, DrSc., Fyziologický ústav AV ČR, Odd. biofyziky membránového transportu

Reduktivní karboxylace (RK) je reverzní dráha Krebsova cyklu (KC), která se podílí na tvorbě důležitých prekurzorů, potřebných pro růst a přežití buněk v prostředí rychle proliferujícího nádoru (hypoxie, hypoglykémie, atd.) [1]. Významnou anaplerotickou dráhou RK je glutaminolýza, která přeměňuje Glutamin (Gln) na 2-oxoglutarát, který je reverzně, pomocí mitochondriální NADPH dependentní isocitrát dehydrogenázy 2 (IDH2), přeměněn na isocitrát a citrát nebo v případě bodové mutace IDH2 na 2-hydroxyglutarát (2-HG). V obou případech dochází k tvorbě NADP⁺ z NADPH, což může ovlivnit redoxní rovnováhu a schopnost regenerace oxidovaného glutathionu (GSSG).

Na buněčných liniích lidského neuroblastomu a karcinomu prsu se silencingem IDH2 byl studován vliv koncentrace O₂, glukózy (Glc) a Gln na míru RK, společně s významem IDH2. Pomocí GC-MS byla měřena inkorporace ¹³C z 1-¹³C Gln do specifických metabolitů, charakteristických pro RK nebo klasický KC. Dále byla měřena produkce superoxidu pomocí průtokové cytometrie, buněčná respirace pomocí oxygrafie, produkce ATP kitovou metodou a % GSSG v celkovém glutathionu pomocí kapilární elektroforézy.

Bylo zjištěno, že u buněk se silencingem IDH2 dochází k snížení inkorporace ¹³C do metabolitů RK a k snížení produkce superoxidu a GSSG, zároveň se zvýšila aktivita OXPHOS. Míra RK závisí na aktivitě buněčné respirace a koncentraci O₂, Glc i Gln.

Klíčová slova: reduktivní karboxylace, glutaminolýza, nádorové buňky, IDH2

Podporováno Grantovou agenturou UK, grant č. 426411

[1] Smolková K., Ježek P., IJBCB, Volume 2012 (2012), doi:10.1155/2012/273947

KMENOVÉ BUŇKY DLAŽDICOVÝCH KARCINOMŮ HLAVY A KRKU

Autoři: Fík Z., Chovanec M., Boucek J., Betka J., Kodet O., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Plzák J., Betka J.
Školitel: MUDr. Martin Chovanec, Ph.D., Klinika otorhinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FNM; Anatomický ústav 1. LF UK

Růst a šíření nádorů jsou řízeny malou subpopulací buněk, nazývaných nádorové kmenové buňky, které jsou schopné dlouhodobé sebeobnovy a generování fenotypově odlišných nádorových buněčných populací.

Expres markerů diferenciacce, endogenních galektinů, proliferčních znaků, adhezivních molekul a potenciálních znaků kmenových buněk, byla studována v podmínkách kultivace *in vitro* v liniích dlaždicového karcinomu FaDu (jednoduchá linie a kokultivace s lidskými fibroblasty a s fibroblasty izolovanými z dlaždicového karcinomu) a *in situ* v tkáních dlaždicových karcinomů, dysplastických epitelů a netransformovaných epitelů. Identifikace tzv. „side population“ byla provedena pomocí analytické cytochemie.

V tkáňové kultuře exprese řady studovaných znaků vykazovala vztah k délce kultivace a morfologii buněk. Expres znaků kmenových buněk byla nejvýraznější v malých vysoce nakupených buňkách v raných stádiích kultivace. V pokročilejších stádiích kultivace byl podíl buněk se známkami kmenovosti redukován. Byly-li nádorové buňky vystaveny vlivu fibroblastů, pozorovali jsme v okrajích kolonií zvýšenou expresi potenciálních znaků kmenových buněk. *In situ*, především v tkáních karcinomů, byla též prokazována přítomnost buněk se znaky kmenovosti.

Tato sledování nasvědčují významu studia kmenových buněk v biologii transformovaných a netransformovaných dlaždicových epitelů. Bližší pochopení a identifikace nádorových kmenových buněk představuje potenciální cíl směřované biologické léčby.

Klíčová slova: nádorová kmenová buňka, nádorový fibroblast, cílená léčba

Poděkování: GA UK No. 291811

ODLIŠNÁ ÚLOHA GALEKTINŮ 1 A 3 VE VYTVÁŘENÍ MIKROPROSTŘEDÍ HOJÍCÍ SE KOŽNÍ RÁNĚ *IN VITRO* A *IN VIVO*

Autoři: Peter Gál, Tomáš Vasilenko, Vlasta Perželová, Barbora Dvořánková
Školitel: prof. MUDr. Karel Smetana, DrSc., Anatomický ústav 1. LF UK

Galektiny patří mezi endogenní lektiny - bílkoviny specificky rozpoznávající cukerné motivy. Tyto lektiny hrají důležitou roli v procesu buněčné proliferace, diferenciaci, migrace a tvorby mezibuněčné hmoty. Jsou navíc schopny přenášet buněčné signály a účastnit se mezibuněčné interakce. Bylo prokázáno, že některé galektiny se významně podílejí na tvorbě mikroprostředí nádoru. V prezentované práci jsme ukázali, že galektin-1 a -3 mají odlišný modulační efekt na hojící se ránu a na vybrané buňky (fibroblasty a keratinocyty) zapojené do hojení ran. Galektin-1 vytvářel vhodné mikroprostředí na přítomnost slabě diferencovaných epitelových buněk a indukoval diferenciaci fibroblastů na myofibroblasty. Na druhou stranu galektin-3 podporoval zrání granulační tkáně a zvyšoval pevnost rány. Poznání daných procesů přispěje k porozumění komplexního charakteru biologie hojící se rány a její paralely k nádoru.

Klíčová slova: reparace, regenerace, glykobiologie, mezibuněčné interakce

ZMĚNY FENOTYPU NORMÁLNÍCH KERATINOCYTŮ POMOCÍ NÁDOROVÝCH MELANOCYTŮ A NÁDOROVĚ ASOCIOVANÝCH FIBROBLASTŮ Z MELANOMU

Autoři: Kodet, O., Lacina, L., Dvořánková, B., Kolář, M., Krejčí, E., Grim, M., Strnad, H., Smetana, K.
Školitelé: MUDr. Lukáš Lacina, Ph.D., Anatomický ústav 1. LF UK, Dermatovenerologická klinika 1. LF UK a VFN, Institute of Medical Biology, A*STAR, Singapore;
 prof. MUDr. Karel Smetana, DrSc., Anatomický ústav 1. LF UK

Úvod: Podobně jako u jiných nádorů může v případě maligního melanomu hrát významnou roli komplexní nádorové mikroprostředí. Tato studie byla zaměřena jak na vliv nádorových melanocytů (NM) na keratinocyty v okolí nádoru *in vivo*, tak i na ovlivnění fenotypu zdravých keratinocytů prostřednictvím NM *in vitro*.

Metody: Bioptické vzorky maligního melanomu jsme porovnali s *in vitro* modelem, kde lidské keratinocyty byly kokultivovány s NM, neonatálními melanocyty a kmenovými buňkami neurální lišty (prekursory melanocytů). Podobně jsme použili kokulturu keratinocytů s nádorově asociovanými fibroblasty z kožní metastázy melanomu (NAFM) a normální dermální fibroblasty.

Výsledky: Práce ukázala schopnost NM, kmenových buněk neurální lišty a NAFM indukovat expresi keratinu 8, 14 a 19 *in vitro*. Tato pozorování byla podobná i v případě analýzy bioptických vzorků melanomu, kde hyperplastický epitel v okolí nádoru vykazoval silnou suprabasální pozitivitu keratinu 14 a aberantní expresi diferenciačního znaku keratinu 10. Při analýze expresního profilu testovaných buněk byla nalezena zvýšená exprese cytokinů IL8 a CXCL1 a růstových faktorů FGF2 a VEGFA, které se na těchto změnách mohou podílet.

Závěr: NM včetně jejich prekurzorů a NAFM jsou schopny ovlivnit diferenciaci keratinocytů *in vivo*, stejně jako *in vitro*. Tato pozorování podporují význam mezibuněčných interakcí v biologii melanomu a komplexnost nádorového mikroprostředí.

Klíčová slova: nádorové mikroprostředí, melanocyty, nádorově asociované fibroblasty

Tato práce byla podpořena z grantových prostředků GAČR 304/121/333, univerzitního projektu PRVOUK 27-1, UNCE 204013 a SVV SVV 264510.

KVANTIFIKACE SUBPOPULACÍ HEMATOPOETICKÝCH KMENOVÝCH A PROGENITOROVÝCH BUNĚK U PACIENTŮ SE ZRALÝMI B-LYMFOPROLIFERACEMI.

Autoři: Lucie Latečková, Bokang Maswabi
Školitel: MUDr. Pavel Klener, Ph.D., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK

Východisko: Zralé B-lymfoproliferace jsou nádorová onemocnění, u kterých se předpokládá, že vznikají maligní transformací B-lymfocytu na různém stupni jeho vývoje od přeskupení imunoglobulinových genů v kostní dřeni, přes přepínání tříd imunoglobulinů a somatické hypermutace v zárodečných centrech lymfatických uzlin, až po terminální diferenciaci v plazmatickou buňku. Hematopoetické kmenové a progenitorové buňky by se podle tohoto paradigmatu neměly patogeneze účastnit. Kikushige et al. nedávno zjistili, že hematopoetické kmenové buňky u pacientů s chronickou lymfatickou leukémií (CLL) jsou mutované a u pacientů dochází ke zmnožení pro-B lymfocytů.

Metody: Kvantifikace hematopoetických kmenových a progenitorových buněk v kostní dřeni u pacientů se zralými B-lymfoproliferacemi oproti zdravým kontrolám pomocí vícebarevné průtokové cytometrie.

Výsledky: Zjistili jsme, že v kostní dřeni pacientů s CLL a s folikulárním lymfomem dochází ke zmnožení populací multilymfoidních progenitorů (MLP) a pro-B lymfocytů oproti zdravým kontrolám. U pacientů s lymfomem z plášťových buněk je populace MLP snížena a k akumulaci dochází na úrovni multipotentních progenitorů.

Závěry: U pacientů s některými podtypy zralých B-lymfoproliferací dochází ke zmnožení nezralých progenitorů. Předpokládáme, že tyto progenitory by mohly mít význam v patogenezi těchto onemocnění.

Klíčová slova: lymfom, kmenové buňky, progenitorové buňky

MYŠÍ MODELY LIDSKÉHO LYMFOMU Z PLÁŠŤOVÝCH BUNĚK S POUŽITÍM PRIMÁRNÍCH BUNĚK XENOTRANSPLANTOVANÝCH DO IMUNODEFICIENTNÍCH MYŠÍ

Autorka: MUDr. Petra Vočková

Školitel: MUDr. Pavel Klener, Ph.D., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK

Lymfom z plášťových buněk (mantle cell lymphoma, MCL) je agresivní typ B-nonhodgkinského lymfomu asociovaný s nepříznivou prognózou. Zavedli jsme myší modely MCL pomocí xenotransplantace (xt) primárních MCL buněk do imunodeficientních myší (NOD scid gamma, NSG).

Metody: Pro xenotransplantace jsme používali primární MCL buňky získané od pacientů s histologicky verifikovaným MCL (klasická, blastoidní, pleomorfní varianta). Primární MCL buňky byly izolovány z periferní krve, kostní dřene a lymfatických uzlin pacientů s MCL. Subletálně ozářeným (2,5 Gy) NSG myším jsme intravenózně aplikovali $10-80 \times 10^6$ primárních MCL buněk. Infiltrace myších tkání MCL buňkami byla analyzována imunohistochemicky pomocí protilátek proti lidskému cyklinu D1 a CD20 antigenu. Infiltrace periferní krve MCL buňkami byla stanovena průtokovou cytometrií.

Výsledky: Engraftment primárních MCL buněk (cyklin D1 pozitivních) v imunodeficientních myších byl pozorován u 7 z 11 primárních vzorků. Pouze u jednoho primárního vzorku (1/7) jsme detekovali difúzní infiltraci myších tkání (kostní dřeň, slezina, játra, ledviny) MCL buňkami. Ve většině případů (6/7) MCL buňky engraftovaly a proliferovaly pouze ve slezině. MCL buňky nepronikaly do centrálního nervového systému. U 2 z 11 primárních vzorků jsme pozorovali engraftment lidských (CD45 pozitivních, cyklin D1 negativních, CD20 pozitivních) EBV (Epstein-Barrové virus) pozitivních B lymfocytů.

Závěr: Zavedli jsme myší model lidského MCL pro studium biologie onemocnění in vivo a pro preklinické testování nových léčebných strategií.

Klíčová slova: lymfom z plášťových buněk (mantle cell lymfom), xenotransplantace, experimentální terapie



Mimořádné ceny studentům 14. SVK předali ředitel nakladatelství Galén, s. r. o. PhDr. Lubomír Houdek a PhDr. Jana Vytačilová za nakladatelství Grada Publishing, a. s.



Slavnostní předávání cen v Akademickém klubu 1. LF UK.



Student Adam Tesář při prezentaci své vědecké práce.



MITOCHONDRIÁLNÍ ATPÁZA LACE1

Autoři: Česneková J., Zeman J., Stibůrek L.

Školitel: RNDr. Lukáš Stibůrek, Ph.D., Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Východisko: Lace1 (Lactation elevated 1) s predikovanou molekulární hmotností 55kDa je lidský homolog kvasinkové ATPázy Afg1 (ATPase family gene 1) se sekvenční homologií od 41,5% H. sapiens a S. cerevisiae po 88,9% H. sapiens a M. musculus, kdy každý protein obsahuje ATP/GTP vazebný P-loop motiv a má společnou strukturu složenou z pěti domén. Lace1 je kandidátní adapterový protein mitochondriálních proteáz s atpázovou funkcí a s vysokou mírou exprese v aktivní mléčné žláze, myokardu, ledvinách a játrech.

Metody: Cílem naší práce bylo charakterizovat buněčnou funkci Lace1 použitím metod stabilní RNA interference (shRNA; Open Biosystem, USA), proteomiky a expresních studií na linii lidských embryonálních ledviných 293 buněk (HEK293).

Výsledky: Prokázali jsme, že Lace1 buněčné linie HEK293 je mitochondriálně lokalizovaný membránově asociovaný protein o zjevné molekulové hmotnosti 50 kDa. Připravená stabilní shRNA Lace1 RNAi buněčná linie HEK293 vykazovala sníženou expresi proteinu pod 20 % kontrolních hodnot. Doposud jsme prostřednictvím SDS-PAGE western blotu zjistili markantní zvýšení podjednotek ND1 a Ndufb6 komplexu I, SDHA komplexu II a Cox2, Cox3, Cox4, Cox5a a Cox6aL komplexu IV. Naopak hladina antiapoptotického faktoru Bcl-2 byla v těchto buňkách snížena. Dále jsme v těchto buňkách našli mírně zvýšené množství tumor supresorového proteinu p53. Kvantitativní 2D-PAGE analýza spojená s identifikací pomocí hmotnostní spektrometrie dále ukázala zvýšenou akumulaci proteinu F1 α komplexu V oxidační fosforylace.

Závěr: Naše dosavadní výsledky ukazují, že Lace1 pravděpodobně funguje na úrovni proteinového obratu podjednotek systému oxidační fosforylace, což potvrzuje původní hypotézu o jeho funkci jako adaptorového proteinu mitochondriálních proteáz.

Klíčová slova: ATPáza, Lace1, mitochondrie, mitochondriální proteázy

Podpořeno 1. LF UK v Praze a projekty GAUK č. 277511, GAČR č. 13-072235 a SVV 266 504.

COGNITIVE FLEXIBILITY IN AN ANIMAL MODEL OF OBSESSIVE COMPULSIVE DISORDER

Author: Mgr. Hana Hatalová

Supervisor: doc. RNDr. Aleš Stuchlík, Ph.D., Fyziologický ústav AV ČR

Introduction: The literature is consistent regarding the presence of cognitive impairment related to behavioral flexibility in patients with obsessive compulsive disorder (OCD). Patients with OCD display anomalies in D2 receptor density. In this experiment animal model of obsessive compulsive disorder was chosen to elucidate if the lowered cognitive flexibility was due to sensitization of D2 receptors.

Methods: Animal model of obsessive compulsive disorder OCD with high phenomenological and predictive validities induced by quinpirole sensitization, proposed by Henry Szechtman, was used to study behavioral flexibility. Rats repeatedly injected with quinpirole were to avoid a sector of the rotating arena. Rats were tested in one type of conditions, followed by testing reversal conditions.

Results: Chronically sensitized rats exhibited transient impairment in the reversal phase; contrarily, there was a trend to superior acquisition performance of the sensitized animals.

Conclusion: The study suggests deficient behavioral flexibility in an animal model of OCD and supports the concept of impaired flexibility in OCD.

RESVERATROL AS AN ANTIOXIDANT: RELATIONSHIP TO SIRT1 AND AMPK

Authors: MUDr. Mighty K. Kemelo, Mgr. Lea Wojnarová

Supervisors: prof. Dr. Hassan Farghali, DrSc.; MUDr. Nikolina Kutinová-Canová, Ph.D., Institute of Pharmacology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Background & Aims: Resveratrol is a natural polyphenolic compound that has anti-inflammatory and anti-oxidative properties. Our previous experimental studies have suggested it to be a potential hepatoprotective agent. However, the molecular mechanisms underlying its action are poorly understood. In this study, we investigated the role of Sirtuin1 (SIRT1) and AMP-activated protein kinase (AMPK) pathways in the production of its final cellular effects in the liver using the D-Galactosamine and Lipopolysaccharide (D-Gain/LPS) hepatotoxicity model.

Methods: Acute liver failure was induced in male Wistar rats by intraperitoneal injection of 400mg D-Galactosamine and 10 μ g Lipopolysaccharide per kg body weight respectively. Some groups of animals were concomitantly given resveratrol (SIRT1 activator), EX-527 (SIRT1 inhibitor) or Compound C (AMPK inhibitor). The extent of hepatocellular injury was assessed by conventional liver function tests and estimation of other markers of oxidative stress (nitric oxide, catalase) in plasma or liver homogenate. Furthermore, the expression of SIRT1 and AMPK was evaluated by Western blotting.

Results: D-Gain/LPS was able to induce hepatotoxicity, as evidenced by increase in TBARS, nitrates, catalase and ALT levels. Resveratrol attenuated hepatotoxicity by decreasing oxidative stress. SIRT1 and AMPK inhibitors modulated the relevant regulator with variable results.

Conclusion: SIRT1 activation or inhibition has a relationship to hepatocellular effects of resveratrol.

Keywords: SIRT1, AMPK, Resveratrol, Oxidative stress, Hepatoprotection

Supported by PRVOUK-P25/LF1/2.

UČENÍ A PAMĚŤ U NOGO-A DEFICIENTNÍCH TRANSGENNÍCH POTKANŮ

Autoři: Tomáš Petrásek, Iva Prokopová, Iveta Vojtěchová, Štěpán Bahník, Aleš Stuchlík
Školitel: RNDr. Aleš Stuchlík, Ph.D., Fyziologický ústav AV ČR

Východisko: Protein Nogo-A, náležející do skupiny inhibitorů axonálního růstu asociovaných s myelinem, je exprimován v neuronech i gliích a významně se podílí na nízkém regeneračním potenciálu lidské CNS. Zablokování funkce této molekuly má terapeutický potenciál v léčbě úrazů a degenerativních onemocnění mozku a páteřní míchy. Role Nogo-A pro normální fungování mozku je prozkoumána méně, je ale známo, že je důležitou regulační molekulou během ontogenetického vývoje, a také v dospělém mozku působí jako regulátor synaptické plasticity. Dosavadní výzkum na myších modelech i genetické asociční studie u lidských pacientů poukazují na možnou souvislost mezi sníženou expresí Nogo-A a psychiatrickými poruchami, jako je schizofrenie. Cílem této práce byla behaviorální charakterizace nového transgenního modelu, kterým je transgenní potkan s deficiencí Nogo-A (knock-down Nogo-A genu specifický pro neurony), se zaměřením na kognitivní funkce.

Metody: K hodnocení senzomotorických schopností byly použity jednoduché testy, jako je chůze po laťce (beam walking) a hledání viditelného ostrůvku v souboru úloh na Kolotočovém bludišti. Kognitivní schopnosti byly testovány s pomocí Morrisova vodního bludiště se skrytým ostrůvkem a souboru úloh na Kolotočovém bludišti (rotující suchá aréna).

Výsledky: Transgenní potkani nevykazují oproti kontrolám žádný senzomotorický deficit. Také učení a paměť v Morrisově vodním bludišti nejsou zhoršeny. V úlohách aktivního vyhýbání se místu na suché aréně se objevuje mírný deficit, patrný zejména v reversalovém učení.

Závěry: Snížená neuronální exprese Nogo-A neovlivní senzomotorické dovednosti ani prostorové učení a paměť jako takové. Objevuje se ale deficit v Kolotočovém bludišti, který indikuje zhoršenou segregaci prostorových rámců. Zvýraznění tohoto deficitu při změněných podmínkách (reversal) ukazuje také na nižší kognitivní flexibilitu transgenních zvířat. Tyto nálezy zřejmě souvisejí se změnou funkcí hipokampu.

Klíčová slova: Nogo-A, učení, paměť, prostorové úlohy

REGULAČNÍ ÚLOHA GALANINERGNÍHO SYSTÉMU V NEUROHYPOFÝZE POTKANŮ

Autor: Petr Škopek
Škopitel: doc. MUDr. Věra Klenerová, DrSc., Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

Východisko: Neuropeptidy, které mají v CNS regulační/modulační funkci, jsou v centru pozornosti pro možné terapeutické využití. Intenzivně je sledován galaninerní systém (GS) tvořený galaninem (Gal), galanin-like peptidem (GalP) a alarinem, které jsou široce distribuovány v centrálním nervovém systému i v řadě periferních orgánů. Gal je tvořen 29-30 aminokyselinami a působí prostřednictvím receptorů (R) spřažených s G-proteiny. Byly popsány 3 receptorové subtypy (GalR), které využívají odlišné transdukční mechanismy. GalR1 a GalR3 jsou spřaženy s G_i/o a vedou k inhibici adenylylcyklázy, GalR2 je spřažen s $G_{q/11}$ a vede k aktivaci fosfolipázy C. Tímto uspořádáním lze vysvětlit rozmanitost účinků Gal, mechanismus není zcela objasněn. Jednou ze tkání, kde úloha GS zůstává neobjasněna je neurohypofýza (NH), kde není ani objasněna úloha GS při uvolňování vasopresinu (AV) a oxytocinu (OT). Cílem této práce bylo prokázat expresi Gal a GalP v NH a určit jejich kolokalizaci s AV a OT, s neuronální tkání, jádry a glií, která je součástí pituicytů.

Metody: Pro imunohistochemické určení exprese neuropeptidů GS, AV a OT byly použity primární protilátky a k určení jejich lokalizace neuronální a gliální markery. Použití sekundárních protilátek různých barev umožnilo sledovat vzájemnou kolokalizaci neuropeptidů.

Výsledky: V NH jsme zjistili expresi Gal i GalP a všech tří Gal receptorů. Signál Gal a GalP, GalR2 a GalR3 kolokalizoval se signálem AV, avšak GalR1 kolokalizuje s AV pouze částečně. Se signálem gliálního markeru kolokalizuje pouze signál GalP; se signálem neuronálního markeru kolokalizuje signál Gal, GalR2 a OT.

Závěry: V NH jsme jako první prokázali expresi Gal a GalP a jejich kolokalizaci s jadernými elementy, neuronální tkání i pituicyty. GalP jsme prokázali pouze v pituicytech s kolokalizovaným AV, zatímco GalP téměř nekolokalizuje s OT. Jde o jednoznačný důkaz rozdílného zapojení Gal a GalP v sekreci vasopresinu a oxytocinu.

Klíčová slova: neurohypofýza, neuropeptidy, galanin, galanin-like peptid, galaninerní receptory GalR1,R2,R3, oxytocin, vasopresin, pituicyt, neuron, potkan



THE EFFECTS OF RESTRAINT STRESS ON HEART M₂ MUSCARINIC RECEPTORS SIGNALING

Authors: Paulina Valušková, Hana Tomanková, Jana Rotková, Eva Vařejková, Jan Beneš
Supervisor: doc. MUDr. Jaromír Mysliveček, Ph.D., Fyziologický ústav 1. LF UK

Introduction: The response of organism to stress is usually associated with activation of sympathetic nervous system and release of catecholamines – epinephrine and norepinephrine. However, we previously showed that stress regulates both principal classes of heart receptors - adrenoceptors and muscarinic receptors (MR). Therefore in the present work we focused on the changes in signaling pathways activated by MR (main cardioinhibitive receptors) in response to stress.

Methods: We compared changes in downstream signaling pathways and MR level elicited by acute (one time 120 minutes) or repeated (7 times 120 minutes) restraint stress in wild type (WT) mice and mice lacking muscarinic M₂ receptors (M₂KO), in left ventricles. We measured the activity of phospholipase C (PLC), adenylyl cyclase (AC) and nitric oxid synthase (NOS) using the commercially available assay kits. We also performed Western blot analysis to characterize protein expression of AC, proteinkinase A (PKA) and proteinkinase C (PKC). MR gene expressions were evaluated using Real-Time PCR. MR density was measured by direct radioligand binding studies.

Results: Stress (1 and 7 sessions) decreased M₂MR gene expression in WT. Density of MR were markedly reduced after one session of restraint both in WT and M₂KO mice, as a result of receptor internalization. AC activity was decreased significantly after 1 or 7 sessions of restraint in WT animals only in contrast to activity of PLC, where we observed the decrease after one session but after 7 sessions the activity returned to basal values. Protein expression was changed in different isoforms of PKC.

Conclusions: M₂ MR are important part of maintaining heart homeostasis during restraint stress.

Key words: restraint stress, M₂ KO, muscarinic signaling pathway, heart left ventricles

THE ROLE OF M₂ MUSCARINIC RECEPTORS IN HEART, RESTING STATE AND RESTRAINT STRESS

Author: Eva Vařejková
Supervisor: doc. MUDr. Jaromír Mysliveček, Ph.D., Fyziologický ústav 1. LF UK

Introduction: Heart function is modulated by the sympathetic and parasympathetic nervous systems which have opposing effects. M₂ muscarinic receptors are the main cardioinhibitory receptors, they slow down the heart rate while β-adrenoceptors stimulation results in cardiostimulatory effect including tachycardia. In order to maintain homeostatis and heart function is essential to achieve balance between sympathetic and parasympathetic stimulation. This becomes more difficult in response to stress, accompanied by sympathetic nervous system activation.

Methods: Mice lacking muscarinic M₂ receptors (M₂KO) and wild type mice (WT) were compared in signaling pathways (muscarinic and β-adrenergic receptors) by measuring of receptor binding sites (radioligand studies), receptor gene expression and adenylyl cyclase activity. Echocardiography, telemetric assessment of heart rate after exposition to sympathetic/parasympathetic receptors agonists or blockers and biorhythm analysis provided the data for heart function evaluation in resting state. Circulating catecholamines levels were determined by ELISA. Telemetric heart rate observation and biorhythm analysis were also observed in restraint stress condition (1×120 minutes or 120 minutes repeated stress on 7 subsequent days).

Results: β₁-, β₂-adrenergic and M₃ MR gene expression and β₁-, β₂-adrenergic and muscarinic receptor binding sites were diminished in M₂KO mice left ventricles to compensate the lacking M₂ muscarinic receptors. Therefore heart function remained almost unaltered in resting state (echocardiographic findings, biorhythm analysis, heart rate response to receptor agonists and blockers, circulating catecholamines levels). Heart rate response to stress and biorhythm analysis showed different changes in M₂ KO and WT animals.

Conclusions: M₂ KO mice is able to compensate the lacking M₂ receptors by the signaling pathways adaptation and preserve heart function in resting state but not in restraint stress condition.

Keywords: muscarinic and beta-adrenergic receptors, heart function, restraint stress



Slavnostní předávání cen v Akademickém klubu 1. LF UK.



TOXICITA UHLÍKOVÝCH NANOČÁSTIC V KULTURÁCH ENDOTELOVÝCH A NEURONÁLNÍCH BUNĚK

Autorka: Marcela Filipová

Školitel: Ing. Karel Holada, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN

Východisko: Nanočástice jsou považovány za jednu z možností, jak cíleně dopravit léky přes hematoencefalickou bariéru do mozku. Širšímu využití nanočástic brání nedostatečné znalosti o jejich toxicitě. Naše práce je zaměřena na studium mechanismu toxicity karboxylovaných uhlíkových nanotub (CNT-COOH) v buněčných neuronálních a endotelových kulturách *in vitro*.

Metody: Ke studiu toxicity jsme použili lidské endoteliální buňky umbilikální vény HUVEC a buňky myší katecholaminergní neuronální linie CAD5. Buňky byly inkubovány 24 hodin v přítomnosti různých koncentrací CNT-COOH (1 µg/ml – 100 µg/ml). Proporce živých buněk byla určena pomocí WST-8 eseje. Dále jsme studovali vliv inhibitoru autofágie bafilomycinu A1 na toxicitu CNT-COOH pro HUVEC.

Výsledky: Inkubace buněk HUVEC s 50 µg/ml CNT-COOH vedla ke snížení počtu živých buněk na 26 %. Naproti tomu kultivace buněk CAD5 v přítomnosti 100 µg/ml CNT-COOH způsobila pokles počtu živých buněk pouze na 74 %. Po inhibici autofágie bafilomycinem A1 došlo u HUVEC po inkubaci s 10 µg/ml CNT-COOH k dalšímu snížení počtu živých buněk, a to z 39 % v přítomnosti CNT-COOH na 25 % a 16 % v přítomnosti CNT-COOH s 10nM a 100nM bafilomycinem A1. Samotný bafilomycin A1 způsobil snížení pouze na 73 % (10 nM) a 63 % (100 nM).

Závěry: Primární buňky HUVEC jsou výrazně citlivější k toxicitě CNT-COOH než nádorová linie CAD5. Tento rozdíl není pravděpodobně způsoben odlišnou kinetikou růstu, protože buňky mají podobný poločas dělení. Pokles počtu živých buněk HUVEC v přítomnosti bafilomycinu A1 může naznačovat uplatnění autofágie při toxicitě CNT-COOH. Buňky HUVEC, na rozdíl od CAD5, představují citlivý model pro detailní studium mechanismu buněčné toxicity uhlíkových nanotub.

Klíčová slova: autofágie, bafilomycin A1, nanočástice, toxicita, uhlíkové nanotuby

LIVE CELL IMAGING OF TRANSCRIPTION ACROSS THE NUCLEAR LANDSCAPE

Authors: Viola Hausnerová, Christian Lanctôt

Supervisor: Christian Lanctôt, Ph.D., Institute of Cellular biology and Pathology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Genetic information is stored in the cell nucleus in the form of higher order structure which participates in the control of nuclear functions in space and time. This spatial arrangement involves various nuclear components, e.g. chromosomal territories, nuclear bodies, transcriptional factories. Despite recent advances in microscopy techniques, it remains unclear if there are any reproducible spatial and temporal patterns in the transcriptional activity across the cell nucleus. We have therefore devised a new cell biological method to probe transcriptional activity across the nuclear landscape. This method involves setting up a spatial “network” of transcription units in the nucleus through microinjection of fluorescent nanobeads coated with vectors expressing mRNAs which can be detected by the MS2 reporter system. After mitosis, the beads (n=10-25) distribute throughout the reforming nucleus. Their positioning and the activity of the bound expression vectors can be followed in living cells in real time, thereby allowing us to image transcription in space and time. This novel method will be applied to investigate putative intranuclear transcriptional patterns in undifferentiated and differentiated cells. Ultimately, the goal of the project is to reveal new levels of gene regulation.

Key words: nuclear architecture, transcription, patterns, gene regulation

RINGS&RODS, STRUKTURY TVOŘENÉ ENZYMEM INOSIN 5-MONO-FOSFÁT DEHYDROGENÁZOU: POPIS ULTRASTRUKTURY A DYNAMIKA TVORBY

Autor: Pavel Jůda

Školitel: doc. RNDr. Dušan Cmarko, CSc., Ústav buněčné biologie a patologie 1. LF UK

Východisko: Inosin 5-mono-fosfát dehydrogenáza (IMPDH), klíčový enzym *de novo* syntézy purinových nukleotidů, patří mezi nejstudovanější a klinicky nejdůležitější proteiny. Jeho inhibice je úspěšně využívána po desítky let v terapii virových onemocnění nebo pro imunosupresivní léčbu v transplantologii. V nedávné době bylo zjištěno, že IMPDH po inhibici specifickým inhibitorem, např. Ribavirinem, vytváří cytoplasmatické struktury o velikosti několika µm a počtu 1-10 na buňku, které byly podle svého vzhledu nazvány Rings and Rods (R&R). Cílem naší práce bylo zjistit ultrastrukturu R&R a dynamiku jejich tvorby.

Metody: Pro definování ultrastruktury R&R inkluzí jsme použili elektronovou mikroskopii s aplikací několika různých přístupů, hlavně pak metody fyzikální fixace zmrazením za vysokého tlaku (high pressure freezing, HPF) následované kryosubstitucí. Tato metoda představuje metodu volby pro co nejlepší zachování ultrastruktury blízké jejímu reálnému obrazu a zároveň dobré antigenicity vzorku. Pro lokalizaci hledaných struktur byla použita korelační světelná a elektronová mikroskopie (CLEM).

Pomocí metod světelné mikroskopie jsme popsali dynamiku formování R&R. Výsledky byli doplněny biochemickou technikou Western blotu.

Výsledky: V této práci jsme popsali ultrastrukturu R&R. Zjistili jsme, že se jedná o membránou neohraničené útvary sestávající z jednotlivých paralelně uspořádaných vláken o průměru přibližně 10 nm. Zároveň jsme prokázali jadernou subpopulaci IMPDH proteinu. Dále jsme ukázali, že vytváření R&R struktur je velice dynamický děj. K tvorbě R&R dochází již několik desítek sekund po přidání inhibitoru IMPDH. K vytvoření typických R&R struktur dojde po 60 minutách inhibice.

Závěry: Inhibovaný enzym IMPDH vytváří filamentární buněčné inkluze, jejichž tvorba je vysoce dynamická.

Klíčová slova: Inosin 5-mono-fosfát dehydrogenáza, inkluze, ultrastruktura

NATIVNÍ FORMY PROTEINU TMEM70 A JEHO TOPOLOGIE VE VNITŘNÍ MITOCHONDRIÁLNÍ MEMBRÁNĚ

Autoři: Hana Kratochvílová, Markéta Tesařová, Kateřina Hejzlarová, Tomáš Mráček, Marek Vrbacký, Vendula Karbanová, Adriána Gombitová, Dušan Cmarko, Josef Houštěk, Jiří Zeman
Školitelka: Ing. Markéta Tesařová, Ph.D., Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Úvod: Biogeneze lidské mitochondriální ATPsyntázy je složitý sekvenční proces závislý na přítomnosti několika specifických asamblančních faktorů (Atpaf1, Atpaf2, TMEM70). Protein TMEM70 (21kDa) je lokalizovaný ve vnitřní mitochondriální membráně, jeho deficit inhibuje biogenezi lidské ATPsyntázy a představuje jednu z nejčastějších mitochondriálních poruch komplexu V.

Cíl: Cílem této práce bylo objasnit membránovou orientaci proteinu TMEM70. Určit jeho nativní formu a interakčního partnera v buňce za využití značených forem proteinu exprimovaných v HEK293 buňkách (TMEM70-FLAG, TMEM70-GFP).

Výsledky: Pomocí analýz založených na přístupnosti trypsinu k proteinu TMEM70-FLAG v membráně a dále pomocí specifického zhasení signálu TMEM70-GFP bylo dokázáno, že protein má strukturu „hair-pin“ s oběma konci orientovanými do mitochondriální matrix. Při solubilizaci mírnými detergenty a následnou nativní elektroforézou bylo identifikováno, že protein TMEM70 je přítomen v mitochondrii ve vyšších oligomerních formách bez zjevného kontaktu s ATPsyntázou. Imunoprecipitační studie potvrdily nepřítomnost interakce proteinu TMEM70 s žádnou z vybraných podjednotek komplexu V. Na druhé straně se podařilo potvrdit vzájemnou interakci molekul proteinu TMEM70. Absence kontaktu TMEM70 s komplexem V byla ověřena následně pomocí immunogold značení proteinu TMEM70 a F₁- α podjednotky ATPsyntázy v buňkách HEK293.

Závěr: Protein TMEM70 je orientován oběma konci do matrix mitochondrie, není ve stabilní interakci s komplexem V a tvoří v buňce pravděpodobně homooligomerní formy. Nepřítomnost stále vazby s ATPsyntázou může naznačovat, že biologická funkce proteinu TMEM70 v procesu biogeneze komplexu V je zprostředkována vazbou s dalším proteinem.

Klíčová slova: TMEM70, mitochondriální membrána, ATPsyntáza, komplex V, biogeneze

Tato práce vznikla za podpory grantů SVV 266 504, IGA MZ ČR NT13114-4 a RVO-VFN64165/2012.

NÁVRH NOVÝCH METOD PRO STANOVENÍ ZEŠIKMENÍ INAKTIVACE CHROMOSOMU X

Autorka: Ing. Dita Mušálková
Školitel: MUDr. Martin Hřebíček, Ph.D., Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN

V důsledku náhodné inaktivace chromosomu X jsou ženy mozaikou dvou buněčných populací s aktivním paternálním nebo maternálním chromosomem X. Poměr těchto dvou populací bývá většinou 50:50, avšak může se i výrazně lišit – dochází k tzv. zešikmení inaktivace chromosomu X. Stanovení zešikmení je důležité, protože ovlivňuje klinické projevy u žen heterozygotních pro některá X-vázaná onemocnění. Nejpoužívanější metodou v současné době je metoda HUMARA, která pro odlišení maternálního a paternálního chromosomu X využívá vysoce polymorfni tandemové repetice (CAG)_n v genu AR, což ale omezuje její použití na cca 80% žen.

Protože neinformativní vzorky jsou běžným jevem, pokusili jsme se navrhnout alternativní metody fungující na stejném principu jako metoda HUMARA. Po provedení bioinformatické studie a pilotních experimentů bylo vybráno pět sad primerů poskytujících délkově variabilní, specifické produkty. Tyto primery byly použity pro stanovení zešikmení u 100 kontrolních vzorků žen. Jednotlivé sady (I, II, III, IV a V) byly vhodné pro hodnocení u 13, 18, 24, 61 a 55 vzorků (HUMARA u 67 vzorků). Získané výsledky byly porovnány s metodou AR-MSP využívající stejné místo na chromosomu X jako metoda HUMARA, ale místo methylačně senzitivního restričního štěpení založené na principu methylačně specifického PCR. Zatímco metody I a III nepodalys přesvědčivé výsledky pro jejich další používání, výsledky metody II velmi dobře odpovídaly srovnávací metodě. Metody IV a V měly širší interval 95 % limitů shody, nicméně po menší korekci u metody V je lze také doporučit pro vyšetření zešikmení inaktivace chromosomu X.



Nově vyvinuté metody lze používat místo metody HUMARA nebo jako doplněk pro potvrzení výsledků. Kombinace nových metod s HUMAROU umožnila vyšetřit zešikmení u výrazně vyššího počtu žen (96 %), než samotnou metodou HUMARA (67 %). Nové metody také umožnily vyšetřit zešikmení inaktivace u symptomatických žen s gonosomálně recesivními metabolickými onemocněními (Fabryho choroba, deficit OTC, aj.), které nebylo možné dříve vyšetřit.

MAPPING GENE EXPRESSION NETWORKS USING EPITOPE-TAGGING MUTAGENESIS APPLIED FOR THE GENUS OF *STREPTOMYCES*

Author: Klára Novotná
Supervisor: RNDr. Jan Bobek, Ph.D., Institute of Immunology and Microbiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Streptomyces are gram-positive, GC rich, soil-dwelling organisms. They undergo complex life cycle including morphological differentiation and secondary metabolite production that makes them major producers of bioactive compounds for the biomedical and biotechnology implementations. They synthesize more than 2/3 clinically used antibiotics. Their morphological differentiation includes processes of spore germination, substrate mycelium growth, aerial hyphae formation, and finally sporulation. Hence, their gene expression is rather complex and therefore highly regulated. The most important part of the regulatory mechanisms lies on sigma subunits of RNA polymerase. Due to their complex life cycle, *Streptomyces* possess, as known up today, an astonishing number of around 65 different sigma factors that are involved in a control of cellular differentiation, stress and various condition responses.

Epitope-tagging method is widely used for the analysis of function, interaction and subcellular localization of proteins, protein purification as well as monitoring protein expression. In order to study the interactions of sigma factors with promoter sequences, we have combined the epitope-tagging method with the PCR-targeting mutagenesis technique. The resulting approach involves a construction of cosmids carrying HA-tag, FLP recombinase target sites (FRT) and an apramycin resistance cassette attached to gene coding for the sigma factor of interest. By chromatin immunoprecipitation, this makes easier to isolate the tagged sigma factor that is subsequently verified by Western blotting. Co-immunoprecipitated nucleic acids, representing hardly predictable promoter sequences, will be detected either by next generation sequencing or microarray analyses.

Application of this method will allow successive bioinformatics modeling of gene expression networks directing metabolic and developmental transitions.

Key words: sigma factor, *Streptomyces*, epitope-tagging, chromatin immunoprecipitation, cosmid

This work is supported by Czech Science Foundation (No. P302/10/0468) and Charles University (No. SVV-2013-266508, PRVOUK 3513-280002).

INFEKTIVITA PRIONOVÉHO KMENE MYŠÍ VARIATNÍ CREUTZFELDT-JAKOBOVY NEMOCI PŘEDNOSTNĚ ZÁVISÍ NA PROTEÁZA-SENZITIVNÍCH KONFORMERECH PrP^{TSE}

Autorky: Barbora Váchová, Kristýna Hobzová
Školitel: Ing. Karel Holada, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN

Východisko: Prionová onemocnění jsou spojena s přeměnou buněčného prionového proteinu PrP^C v patologickou izoformu PrP^{TSE}. Charakteristickou vlastností PrP^{TSE} je rezistence k proteolýze. Nově byla prokázána existence proteáza-senzitivní formy PrP^{TSE} (PrP-sen), jejíž význam pro infektivitu není jasný. Cílem této studie bylo zjistit, jakou úlohu hraje PrP-sen v infektivitě vybraných prionových kmenů.

Metody: Ve studii byly použity mozkové homogenáty (m.h.) myši infikovaných adaptovanými kmeny scrapie (RML), GSS (Fukuoka-1, Fu) a variantní CJD (mvCJD). Množství celkového prionového proteinu (PrP) a jeho proteáza rezistentní formy (PrP-res) bylo stanoveno pomocí western blotu. Podíl PrP-res/PrP-sen byl měřen konformačně dependentní imunoesejí (CDI). M.h. byly štěpeny proteinázou K (PK) a použity k infekci CAD5 neuronálních buněk. Průběh infekce byl monitorován detekcí PrP-res metodou buněčného blotu.

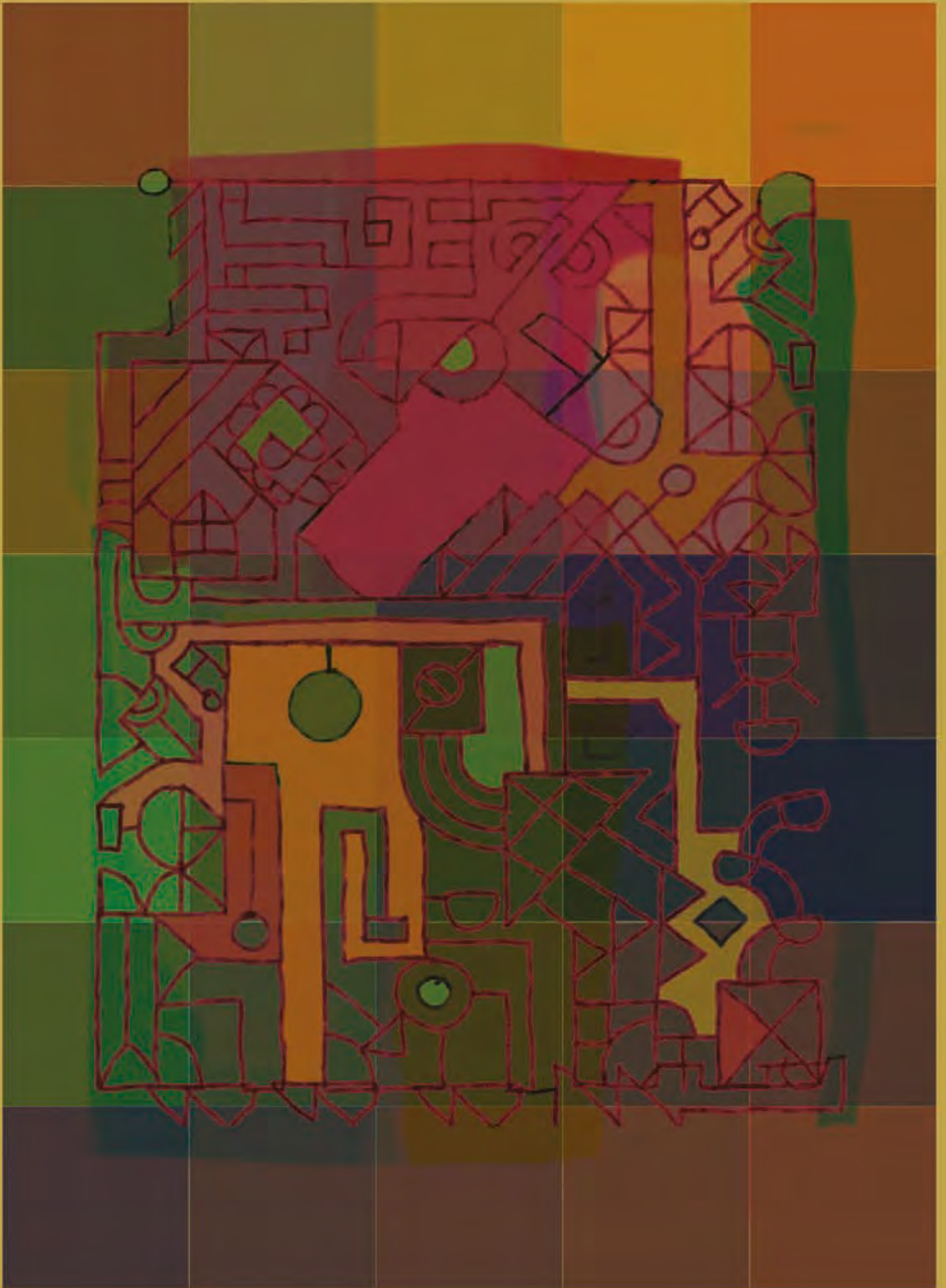
Výsledek: M.h. mvCJD obsahoval dvojnásobné množství celkového PrP oproti m.h. RML a Fu a zároveň měl nejnižší poměr PrP-res/PrP-sen. Všechny m.h. vykazovaly podobné množství PrP-res. CAD5 buňky propagovaly všechny kmeny i po štěpení PK, nicméně rozštěpení PrP-sen snížilo infektivitu m.h. mvCJD přibližně o řád více než u RML a Fu.

Závěry: M.h. infikované testovanými kmeny prionů obsahovaly podobné množství PrP-res. Oproti tomu množství PrP-sen bylo u m.h. mvCJD vyšší než u m.h. RML a Fu. Zároveň rozštěpení PrP-sen PK vedlo u mvCJD k nejvyššímu snížení infekтивности. Získané výsledky naznačují, že oproti kmenům RML a Fu je infektivita kmene mvCJD nesena především frakcí PrP-sen. Náš nález poukazuje na limity dosavadních metod detekce prionů opírající se o průkaz PrP-res.

Klíčová slova: prionové kmeny, infektivita, PrP-sen



Studenti vítězných prací 14. SVK na předávání cen v Akademickém klubu 1. LF UK ve Faustově domě.



SEKCE POSTGRADUÁLNÍ KLINICKÁ I. - II.

I.

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- MUDr. Zdeňka Chocová
- MUDr. Hana Mrázková
- MUDr. Eszter Maurovich Horvat
- Mgr. Petra Kaválková
- Mgr. Nina Ondrušková
- MUDr. Michal Tomčík
- MUDr. Pavel Trachta

HODNOTITELSKÁ KOMISE

- předseda: **doc. MUDr. Ondřej Slanař, Ph.D.**
členové: MUDr. Michaela Dušková
MUDr. J. C. Mukonkole Lubanda, Ph.D.
prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.

II.

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Mgr. Ondřej Bezdíček
- MUDr. Petr Kopecký
- MUDr. Petra Nytrová
- MUDr. Miloš Síbek
- Mgr. Ing. Bc. Libor Staněk
- MUDr. Jana Vašáková
- MUDr. Filip Veselý

HODNOTITELSKÁ KOMISE

- předseda: **prof. MUDr. Jana Dušková, DrSc.**
členové: doc. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.
doc. MUDr. Robert Holaj, CSc.
MUDr. Jakub Závada



RITUXIMAB IN ANCA-ASSOCIATED VASCULITIS: CLINICAL EFFICACY AND IMPACT ON IMMUNOLOGICAL PARAMETRES

Authors: Z. Chocová, Z. Hrušková, B. Svobodová, V. Tesař
Supervisor: MUDr. Zdenka Hrušková, Ph.D., Department of Nephrology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital

Background: Rituximab (RTX) has been reported as an effective therapeutic agent in (refractory) ANCA-associated vasculitis (AAV). We aimed to evaluate clinical efficacy of RTX in AAV along with its impact on humoral and cellular immunological parameters.

Methods: 18 RTX-treated patients with AAV (M/F 11/7; median age 37.5; 15x PR3-ANCA, 3x MPO-ANCA; 16x refractory disease, 2x first-line therapy) were enrolled. Clinical response, ANCA, total serum IgG levels and cellular immunity parameters were examined.

Results: The patients were followed-up (FU) for a median of 26 months (range 3-82), 15 for ≥ 6 months. All patients achieved B cell depletion that lasted 3-24 months but no significant increase was noted in T cell or NK cell subpopulations. At 6 months, partial remission was achieved in 5/15 patients (30%), and complete in 8 (53%). The median prednisone dose (30..10 mg/d) and ANCA levels (17.2..2.7 IU/mL) significantly ($p < 0.01$) decreased. Other immunosuppressives were withdrawn in all but 4 patients (78%). RTX retreatment was used in 9 (7x preemptive, 2x relapse). Six patients relapsed during FU, but none in the preemptively treated group. Three patients died of infectious complications. IgG levels at 3 months decreased compared to baseline (9.0 vs 5.7, $p < 0.01$). Despite B cell depletion, markers of T cell activity (higher percentage of HLA-DR+CD3+ cells and lower percentage of CD4+CD45RA+ naive T cells) persisted during the follow-up. IFN- γ production increased at 6 months compared to baseline (27.3 vs 41.5%) and no significant change was noted in the intracellular IL-10 and IL-12 production.

Conclusions: RTX is an effective induction and also maintenance therapy for AAV that helps to lower the glucocorticosteroids dose and withdraw cytotoxic drugs in most patients. Hypogammaglobulinaemia was common but well-tolerated. Peripheral circulating T cells remained activated despite B cell depletion. Our results suggest a favourable effect of RTX on immune system regulatory potential (e.g. no decrease in IL-10 production in remission).

Keywords: ANCA, vasculitis, rituximab, B cell depletion, T cells, outcome, cellular immunity

PROTEKTIVNÍ VLIV HYPERKAPNIE PŘI ISCHEMICKO-REPERFUZNÍM POŠKOZENÍ PLIC, NA ZVÍŘECÍM MODELU EX VIVO TRANSPLANTACE PLIC

Autor: MUDr. Hana Mrázková
Školitel: prof. MUDr. Robert Lischke, Ph.D., III. chirurgická klinika 1. LF UK a FNM

Východisko: Hlavním faktorem bránícím výraznějšímu nárůstu počtu transplantací plic je kritický nedostatek vhodných dárců. Tato skutečnost vede ke snaze využívat pro účely transplantace např. plíce získané od dárců zemřelých na srdeční zástavu mimo nemocniční zařízení (non-heart-beating donors) nebo využívat orgány od marginálních dárců po předchozí stabilizaci ventilačních parametrů při mimotělní oxygenii plíce (ex-vivo reconditioning). Z hlediska funkčního poškození plic je klíčové období teplé ischemie a období znovuobnovení perfuze, kdy se často rozvíjí ischemicko-reperfúzní (IR) poškození.

Metody: K experimentálnímu modelu IR poškození a jeho ovlivnění hyperkapnickou ventilací v různých fázích Ex Vivo modelu transplantace plic jsme použili 6 skupin laboratorních potkanů – 2 kontrolní skupiny, které nebyly podrobeny období teplé ischemie, a 4 experimentální skupiny ventilované hyperkapnickou směsí plynů v různých fázích experimentu. Hlavní sledované parametry hodnotící IR poškození byly: změna plicní hmotnosti, arterio-venosní diference a perfúzní tlak.

Výsledky: Hyperkapnická ventilace během reperfúze snižuje rozvoj plicního edému a má protektivní efekt na schopnost přenosu O₂ plicním parenchymem.

Hyperkapnická ventilace během teplé ischemie nemá žádný vliv na IR poškození plic.

Závěry: Protektivní efekt hyperkapnické ventilace pouze během reperfúze v experimentu NHBD transplantace lze aplikovat při Ex Vivo transplantaci plic při terapeutické hyperkapnické ventilaci štěpu = možná cesta navýšení množství vhodných plic k transplantaci.

METABOLIZMUS GLUKÓZY A OSA HYPOTHALAMUS-HYPOFÝZA NADLEDVINY U PACIENTŮ S NARKOLEPSÍ

Autoři: E. Maurovich Horvat, M. Keckeis, Z. Lattová, D. Kemlink, S. Nevšímalová, K. Šonka, T. Pollmacher
Školitel: prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc., Neurologická klinika 1. LF UK a VFN

Úvod: Narkolepsie je chronické onemocnění charakterizované nadměrnou denní spavostí, které je typicky spojené s kataplexiemi. Příčinou onemocnění je nedostatek neuropeptidu orexinu, jež kromě vlivu na příjem potravin, spánek a bdělost hraje úlohu i v regulaci vylučování hormonu hypofýzy

Metoda: Studie se zúčastnilo 11 pacientů s narkolepsií a kataplexií a 11 zdravých kontrolních osob. K zjištění vlivu orexinu na glukózový metabolismus a na aktivitu osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (HHN) jsme provedli test orální glukózové tolerance (OGTT) a dexamethason supresivní-CRH stimulační test (Dex-CRH test). Studie byla součástí projektu zkoumajícího poruchy metabolismu a osu HHN u pacientů s obstrukční apnoe, syndromem neklidných nohou a patofyziologickou insomnií.

Výsledky: Průměrný věk pacientů a kontrol byl $35,1 \pm 13,2$ a $41,0 \pm 2,9$, průměrný BMI $28,1 \pm 6,6$ a $25,5 \pm 4,7$. V porovnání mezi dvěma skupinami jsme nenašli signifikantně zvýšený výskyt poruchy glukózové tolerance u pacientů s narkolepsií.

Po tlumení osy HHN dexamethasonem se počet supresorů (hladina kortizolů $\leq 40\text{ng/ml}$) a non-supresorů mezi dvěma skupinami signifikantně nelišil, pacienti ale měli signifikantně nižší hladinu bazálního kortizolů než jakou měla kontrolní skupina. Rozdíly v bazální hladině ACTH, maximální hladině ACTH a kortizolu a v odpovědi nadledvin na ACTH nebyly statisticky významné.

Závěr: Naše výsledky nepotvrzují vyšší výskyt poruchy glukózové tolerance u narkoleptiků ani poruchu ve zpětné vazbě osy HHN.

Klíčová slova: narkolepsie, metabolismus, osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny

VLIV LAPAROSKOPICKÉ PLIKACE ŽALUDKU NA TĚLESNOU HMOTNOST, METABOLICKOU KOMPENZACI A HORMONÁLNÍ PROFIL U OBÉZNÍCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 2. TYPU: VÝSLEDKY PO 6 MĚSÍCÍCH SLEDOVÁNÍ

Autoři: P. Kaválková, M. Mráz, K. Doležalová, M. Urbanová, P. Trachta, M. Kosák, M. Čechová, J. Drápalová,
 Z. Lacinová, M. Fried, Š. Svačina
Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika – Klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

Úvod: Laparoskopická plikace žaludku (LGCP – laparoscopic greater curvature plication) představuje nový typ restriční bariatrické operace, při které se velká kurvatura zanořuje do prostoru žaludku, což vede ke zúžení žaludečního lumen obdobně jako při tubulizaci žaludku. Cílem naší práce bylo posoudit vliv laparoskopické plikace žaludku na antropometrické parametry, metabolickou kompenzaci a hormonální profil u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu v průběhu 6 měsíců po operačním výkonu.

Metodika: Do studie bylo zařazeno 11 obézních, diabetických pacientů podstupujících laparoskopickou plikaci žaludku. Antropometrická, biochemická a hormonální vyšetření byla provedena předoperačně, za 1 měsíc a za půl roku po LGCP. Dvouhodinový test s předdefinovaným jídlem (Fresubin Original 200 ml, Fresenius Kabi) byl použit k hodnocení postprandiálního inkretinového profilu.

Výsledky: LGCP vedla již po 1 měsíci od operace k významnému poklesu tělesné hmotnosti, který pokračoval po celou dobu sledování (BMI $42,25 \pm 2,25$ vs. $37,30 \pm 2,3$ vs. $36,62 \pm 2,2$ kg/m², $p < 0,05$). Kompenzace diabetu se po rychlém pooperačním zlepšení následně držela na stejné úrovni (glykémie $9,88 \pm 1,46$ vs. $6,58 \pm 0,62$ vs. $6,96 \pm 0,6$ mmol/l; HbA_{1c} $63,82 \pm 5,3$ vs. $53,55 \pm 3,58$ vs. $56,30 \pm 4,94$ mmol/mol). Za 6 měsíců po LGCP došlo také k úpravě lipidogramu (celkový cholesterol $5,48 \pm 0,32$ vs. $4,61 \pm 0,27$ mmol/l, $p < 0,05$; triglyceridy $3,05 \pm 0,82$ vs. $1,88 \pm 0,31$ mmol/l, $p < 0,05$) a snížení subklinického zánětu (hsCRP $4,11 \pm 0,86$ vs. $2,55 \pm 1,02$ mg/l). Inkretinový efekt byl obnoven 1 měsíc po operaci.

Závěr: Laparoskopická plikace žaludku vede v prvních 6 měsících k setrvalému poklesu tělesné hmotnosti a zlepšení glykemické a metabolické kompenzace u obézních pacientů s diabetes mellitus 2. typu. Na tomto zlepšení se může alespoň z části podílet i pooperační obnovení inkretinového efektu.

Klíčová slova: laparoskopická plikace žaludku, diabetes mellitus 2. typu, inkretinový efekt

Podporováno: RVO-VFN64165/2012, IGA NT 13299-4 a SVV264503.

VZÁCNÝ TYP DĚDIČNÉ PORUCHY GLYKOSYLACE PROTEINŮ ZPŮSOBENÉ MUTACEMI V GENU PRO FOSFOGLUKOMUTÁZU 1

Autoři: Nina Ondrušková, Hana Hansíková, Alžběta Vondráčková, Markéta Tesařová, Tomáš Honzík a Jiří Zeman
Školitel: RNDr. Hana Hansíková, CSc., Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Východisko: Dědičné poruchy glykosylace (CDG) jsou širokou (> 60 typů) skupinou multisystémových a klinicky heterogenních onemocnění, které jsou způsobeny deficitem enzymů/proteinů glykosylační dráhy. Prezентujeme zde případ 10letého pacienta (P1) nízkého vzrůstu, s obezitou, mentální retardací, hepatopatií, ketotickou hypoglykemií a cholecystolithiasou. Chlapec jevil známky intermitentní myopatie.

Metody: V séru byl proveden screening CDG pomocí isoelektrické fokusace (IEF) N/O-glykoproteinů transferínu (TRF) a apolipoproteinu C-III (ApoC-III) na přístroji PhastSystem (GE Healthcare). Profily sialovaných forem TRF a ApoC-III byly kvantifikovány v programu Quantity One (Bio-Rad). Aktivita fosfoglukomutázy (PGM1) byla měřena v kultivovaných fibroblastech spektrofotometricky. Gen *PGM1* byl po PCR amplifikaci exonů sekvenován na přístroji ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Výsledky: IEF prokázala přítomnost hyposialovaných forem TRF prokazující poruchu glykosylace N-glykoproteinů. Vzhledem ke klinickým příznakům u P1 typickým pro glykogenózu (deficit PGM1 byl označen také jako glykogenóza typu XIV) byla vyšetřena aktivita PGM1, která byla u P1 významně snížena (< 5 % kontrol). Sekvenování genu *PGM1* odhalilo přítomnost dvou doposud nepopsaných heterozygotních mutací c.1010C>T (p.T337M) a c.1508G>A (p.R503Q), jejichž patogenicitu byla potvrzena pomocí *in silico* analýzy. Jedinečným znakem u P1 bylo mírné neurologické postižení.

Závěry: Naše studie popisuje v pořadí čtvrtého pacienta na světě se syndromem PGM1-CDG, čímž rozšiřuje genotypové a fenotypové spektrum této vzácné poruchy.

Klíčová slova: PGM1, CDG, glykogenóza, transferín, apolipoprotein C-III

Podporováno: GAUK 638512 1.LF UK, IGA MZ NT/12166-5 a SVV266504.

INHIBITION OF HEAT SHOCK PROTEIN 90 (HSP90) TARGETS CANONICAL TGF- β SIGNALING TO PREVENT FIBROSIS IN SYSTEMIC SCLEROSIS

Author: MUDr. Michal Tomčík
Supervisors: doc. MUDr. Radim Bečvář, CSc.; doc. MUDr. Ladislav Šenolt, Ph.D., Institute of Rheumatology, Department of Rheumatology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Background: Systemic sclerosis (SSc) is a rare, chronic, potentially lethal connective tissue disease involving the skin and several internal organs. Targeted therapies for SSc and other fibrotic diseases are not yet available. Hsp90 has a crucial role in folding and conformational stabilization of TGF- β receptors and also of Src kinases, which are intracellular mediators of the pro-fibrotic effects of TGF- β . Here, we evaluated the efficacy of Hsp90 inhibition as a novel approach for inhibition of aberrant TGF- β signaling and for the treatment of fibrosis in several preclinical models of SSc.

Methods: The expression of Hsp90 was quantified by qPCR, Western Blot and immunohistochemistry. The effects of Hsp90 inhibition were analyzed in cultured fibroblasts, bleomycin-induced dermal fibrosis, tight-skin (Tsk-1) mice and in mice overexpressing a constitutively active TGF- β receptor I (T β RI).

Results: The expression of Hsp90 was increased in SSc skin and in murine models of SSc in a TGF- β dependent manner. Inhibition of Hsp90 by 17-Dimethylaminoethylamino-17-demethoxy-geldanamycin (17-DMAG) inhibited canonical TGF- β signaling and completely prevented the stimulatory effects of TGF- β on collagen synthesis and on myofibroblast differentiation. Treatment with 17-DMAG decreased the activation of canonical TGF- β signaling in murine models of SSc and exerted potent anti-fibrotic effects in bleomycin-induced dermal fibrosis, in Tsk-1 mice and in mice overexpressing a constitutively active T β RI. The dermal thickness, the number of myofibroblasts and the hydroxyproline content were all significantly reduced upon treatment with 17-DMAG. Toxic effects of 17-DMAG were not observed in anti-fibrotic doses.

Conclusions: Hsp90 is upregulated in SSc and is critical for TGF- β signaling. Pharmacological inhibition of Hsp90 effectively blocks the profibrotic effects of TGF- β in cultured fibroblasts and in different preclinical models of SSc. These results have translational implications, because several Hsp90 inhibitors are in clinical trials for other indications.

Key words: systemic sclerosis, TGF- β , fibrosis, Hsp90 inhibitors

EFEKT LAPAROSKOPICKÉ SLEEVE GASTREKTOMIE NA MRNA EXPRESI PROZÁNĚTLIVĚ PŮSOBÍCÍCH GENŮ V PODKOŽNÍ TUKOVÉ TKÁNI A PERIFERNÍCH MONOCYTECH OBÉZNÍCH PACIENTŮ

Autoři: Pavel Trachta, Ivana Dostálová, Zdeňka Lacinová, Denisa Haluzíková, Petra Kaválková, Mojmir Kasalický, Martin Haluzík

Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

Východisko: Cílem této studie bylo zjistit efekt laparoskopické sleeve gastrektomie (LSG) na parametry subklinického zánětu a prozánětlivě působící geny v podkožní tukové tkáni (SAT) a v periferních monocytech u obézních pacientů.

Metody: Do studie bylo celkem zařazeno 13 obézních nediabetiček a 18 zdravých štíhlých žen, jako kontrola. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry byly stanoveny bazálně a po 6, 12 a 24 měsících po sleeve gastrektomii. Relativní genová exprese prozánětlivě působících genů v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech byla stanovena metodou real-time PCR.

Výsledky: Bazálně měla OB skupina ve srovnání s kontrolní skupinou zvýšené sérové koncentrace hsCRP, inzulinu a prozánětlivě působících cytokinů. mRNA exprese CD68, cytokinů (IL-10, IL-18), chemokinů (CCL-3, -17, -22) a chemokinového receptoru CCR1 byla zvýšena. V PM mRNA exprese CD68, chemokinových receptorů (CCR-1, CCR-2, CCR-3) a jiných prozánětlivých receptorů (TLR-2, TLR-4, TNFRSF1A), faktoru inhibující makrofágy (MIF), ICAM-1, PPAR δ a ADIPOR2 byly signifikantně zvýšené ve skupině obézních.

Po 24 měsících od LSG došlo k poklesu tělesné hmotnosti (BMI 33.0 ± 2.1 vs. 42.3 ± 1.1 kg/m²; $p < 0.05$) a vylepšení lipidového spektra (LDL cholesterol 2.37 ± 0.39 vs. 2.76 ± 0.30 mmol/l; $p < 0.05$; TAG 0.95 ± 0.21 vs. 1.71 ± 0.24 mmol/l; $p < 0.05$). Výkon byl bez signifikantního vlivu na glykémii (5.18 ± 0.29 vs. 4.99 ± 0.22 mmol/l; $p < 0.05$) nebo parametry inzulinové rezistence (HOMA-IR 7.24 ± 1.76 vs. 8.51 ± 1.43 ; $p < 0.05$). V podkožní tukové tkáni LSG snížilo relativní genovou expresi up-regulovaných chemokinů, chemokinových receptorů a prozánětlivých faktorů (CCL-3, CCL-17, CCL-22, CCR-1, CCR-4, CD68, IL-1B, IL-18) s maximem změn ve 12 a 24 měsících od výkonu. Operace měla minimální vliv na zlepšení prozánětlivého profilu v PM s perzistentním zvýšením v mRNA expresi prozánětlivě působících faktorů MIF, TLR-2, TLR-4 a jiných prozánětlivě působících receptorů.

Závěry: V této studii prokazujeme, že obézní pacientky měly zvýšenou mRNA expresi chemotaktických a prozánětlivých faktorů v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech. LSG snížila prozánětlivý profil v SAT, ale nikoliv v periferních monocytech. Předpokládáme, že aktivace TLR stresové cesty a zvýšená exprese MIF v PM se může podílet na limitovaném efektu sleeve gastrektomie s persisterencí inzulinové rezistence a remanifestací metabolických komplikací u obézních pacientů.

Podporováno RVO-VFN64165, IGA NT13299-4 a SVV264503.



Děkan 1. LF UK profesor Aleksí Šedo předává cenu za vítěznou vědeckou práci studentce Evě Plaňanské.

PILOTNÍ STUDIE TESTU PAMĚTI PRO ZÁMĚRY U STARŠÍCH OSOB

Autoři: Bezdíček Ondřej, Michalec Jiří, Nikolai Tomáš, Raskin Sarah, Růžička Evžen

Školitel: prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc., Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN

Východisko: Úlohy na prospektivní paměť (PP) vyžadují komplexní mentální aktivitu, která se zakládá na následujících procesech: monitorování činnosti, uchování záměru v paměti, vnímání místa a času, vybavení záměru a jeho uskutečnění. PP tedy nepředstavuje unitární psychologický konstrukt. Cílem naší studie bylo ověřit hypotézu, že nový klinický test PP v české verzi, Test paměti pro záměry (Memory for Intentions Test, MIST), bude vhodný k měření paměťového výkonu zvláště u starších osob, kde předpokládáme poruchy prospektivní paměti zejména u osob s rizikem rozvoje neurodegenerativního onemocnění a bude mít významné souvislosti s ostatními měřítky paměti a exekutivních funkcí.

Metody: Dvacet zdravých osob vyššího věku (11 Ž, 9 M; průměrný věk 68 ± 5 , průměrné vzdělání 16 ± 2) bylo vyšetřeno anamnesticky a neuropsychologickou baterií. Zahrnovala MIST (celkový skóre prospektivní paměti PMT a chybové skóry), dále testy na pracovní paměť (Číselný a Prostorový rozsah; DS, SS z WMS-III); uložení v paměti (Paměťový test učení, RAVLT) a Obrázky rodiny (FP z WMS-III) a Test kapacity paměti (MCT); exekutivní funkce byly vyšetřeny Stroopovým testem (VST, skóre interference C/D), Testem cesty (TMT), verbální fluencí (COWAT), Wisconsinským testem třídění karet (WCST-64) a testem Londýnské věže (ToL).

Výsledky: Mezi věkem a vzděláním a výkonem v MIST jsme neprokázali významné vztahy. Korelace mezi celkovým skórem prospektivní paměti (PMT) z MIST byla významná pouze s DS a SS popředu, MCT a VST C/D ($\rho > 0,5$, všechna $p < 0,05$). Korelace retrospektivní komponenty MIST (2 a 15minutové oddálené vybavení záměru) byly významné pouze s MCT a COWAT ($\rho > 0,5$, $p < 0,05$). Chyby v MIST, jmenovitě ztráta obsahu záměru ($\rho = -0,6$, $p < 0,05$) a ztráta ponětí o čase ($\rho = 0,7$, $p < 0,05$) se významně vztahovaly ke COWAT.

Závěry: Naše výsledky ukazují, že výkon v testu na prospektivní paměť MIST v české verzi souvisí významně s dvěma základními psychickými schopnostmi: s odolností k interferenci a se zaměřenou pozorností. Retrospektivní komponenta MIST (zapamatování si záměru i chyby) se významně vztahuje k mentální flexibilitě. Výsledky tak podporují předpoklad o konstruktové validitě testu MIST. Výkon v MIST se tedy pravděpodobně zakládá na základních paměťových a exekutivních mechanismech (interference a flexibilita) a dále podporuje hypotézu, že prospektivní paměť je neunitární, komplexní psychologický konstrukt.

Klíčová slova: neuropsychologické vyšetření, prospektivní paměť, paměťový test

Podpořeno: GAUK 251196 118410.

PERIOPERAČNÍ ZAHÁJENÍ INTENZIVNÍ INZULÍNOVÉ LÉČBY SNIŽUJE POOPERAČNÍ KOMPLIKACE U PACIENTŮ PODSTUPUJÍCÍCH ELEKTIVNÍ KARDIOCHIRURGICKÝ VÝKON

Autoři: P. Kopecký, M. Mráz, M. Lipš, J. Lindner, Š. Svačina, J. Bláha, M. Haluzík

Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

Úvod: Intenzivní léčba hyperglykémie vede u kardiochirurgických pacientů podstupujících plánovaný výkon ke snížení celkové morbiditativy i mortality. Zatím však chybějí přesnější údaje o nejvhodnějším čase k jejímu zahájení. V naší prospektivní randomizované studii jsme proto porovnávali vliv perioperační (PERI) a postoperační (POST) iniciace protokolů pro těsnou kompenzaci glykémie na pooperační komplikace a délku hospitalizace u pacientů s plánovanou kardiochirurgickou operací.

Metodika: Do studie bylo zahrnuto 2393 pacientů (věk 18-90 let, 28,1 % diabetiků) podstupujících plánovaný kardiochirurgický výkon, kteří byly následně randomizováni buď do skupiny PERI (1242 pacientů, 26,9% diabetiků) nebo POST (1151 pacientů, 29,4 % diabetiků) podle okamžiku zahájení intenzivní intravenózní inzulínové terapie. Cílová glykémie se pohybovala v rozmezí 4,4 až 6,1 mmol/l. Počet komplikací jakéhokoliv původu v průběhu pooperačního pobytu představoval primární end-point, sekundárním end-pointem byla délka pooperační hospitalizace.

Výsledky: Perioperační iniciace těsné glykemické kompenzace významně snížila počet pacientů s pooperačními komplikacemi (23,8 vs. 31,4%, $p < 0,001$) a to i přes to, že parametry kompenzace se zlepšily jenom minimálně (průměrná glykémie $6,6 \pm 0,7$ vs. $6,7 \pm 0,7$ mmol/l, $p < 0,001$; doba strávená v cílovém rozmezí $42,1 \pm 13,7$ vs. $40,0 \pm 13,8$ %, $p < 0,001$). Tento efekt byl patrný především u nediabetických pacientů (20,3 vs. 31,7% jedinců s pooperačními komplikacemi, $p < 0,001$; průměrná glykémie $6,6 \pm 0,7$ vs. $6,5 \pm 0,6$ mmol/l, $p < 0,05$; doba v cílovém rozmezí $43,2 \pm 14,3$ vs. $43,0 \pm 13,3$ %, n.s.). U diabetiků naopak nedošlo v PERI skupině ke snížení výskytu pooperačních komplikací (33,2 vs. 30,5%, n.s.), přestože glykemická kompenzace dosahovala oproti POST skupině významně lepších hodnot (glykémie $6,6 \pm 0,7$ vs. $7,1 \pm 0,8$ mmol/l, $p < 0,001$; doba v cílovém rozmezí $39,2 \pm 11,7$ vs. $32,9 \pm 12,5$ %, $p < 0,001$).

Závěr: Perioperační zahájení intenzivní inzulínové léčby v průběhu plánovaného kardiochirurgického výkonu snižuje pooperační morbiditu u pacientů bez diabetes mellitus. Toto zlepšení je pouze částečně vysvětlitelné snížením glykémie a může být vyvoláno přímými pozitivními účinky inzulínu podávaného během operace.

Podporováno: RVO-VFN64165/2012 a SVV264503.

POTENCIÁLNÍ VYUŽITÍ C3A SLOŽKY KOMPLEMENTU JAKO MARKERU AKTIVITY CHOROBY U PACIENTŮ S NEUROMYELITIS OPTICA.

Autorka: MUDr. Petra Nytrová

Školitelka: MUDr. Dana Horáková, Ph.D., Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN

Východisko: Neuromyelitis optica (NMO) je invalidizující autoimunitní onemocnění s relaps-remitentním průběhem, které postihuje zrakový nerv a míchu. Diagnóza je stanovena na základě klinického obrazu, nálezů na MR mozku a míchy a stanovení sérových protilátek proti aquaporinu-4 (AQP4), které jsou schopny aktivovat komplement. Cílem této práce bylo porovnat koncentrace štěpných produktů komplementu a anti-C1q protilátek mezi pacienty s NMO, roztroušenou sklerózou (RS) a zdravotními kontrolami.

Metody: Plazmatické koncentrace C3a, C4a, sC5b-9 a anti-C1q protilátek byly stanoveny u 19 pacientů s NMO, 35 pacientů s RS a 40 zdravých kontrol pomocí ELISA kitů (Quidel, Bühlmann). Stanovení a titrace AQP4 protilátek byla provedena metodou nepřímé imunofluorescence na AQP4 transfekovaných HEK buňkách.

Výsledky: Koncentrace C3a je u NMO pacientů vyšší než u kontrol (medián 1071 ng/ml vs. 211,6 ng/ml; $p < 0,0001$; Kruskal Wallis). U NMO pacientů s ≥ 1 relapsem v šesti měsících před odběrem je C3a signifikantně vyšší ve srovnání s pacienty bez relapsů (medián 1480 ng/ml vs. 309 ng/ml; $p < 0,001$; Mann-Whitney U test). Použitím ROC křivky jsme stanovili hranici koncentrace C3a mezi těmito dvěma podskupinami na 500 ng/ml se senzitivitou 94,7% a specifitou 90,3%. Poměr C3a/C3 koreluje u NMO s neurologickou disabilitou ($p < 0,001$; Spearman R 0,68). U NMO pacientů nacházíme signifikantně vyšší koncentraci anti-C1q v porovnání s RS (medián 29,5 UI/ml vs. 4,0 UI/ml; $p < 0,00001$) nebo kontrolami (medián 29,5 UI/ml vs. 5,56 UI/ml; $p < 0,007$; Kruskal Wallis). Koncentrace C4a je u pacientů s NMO (medián 623 ng/ml) a RS (medián 1027 ng/ml) nižší než u kontrol (medián 2057 ng/ml) (oba $p < 0,001$; Kruskal Wallis). Solubilní C5b-9 u NMO (medián 247 ng/ml) a RS pacientů (medián 277 ng/ml) je vyšší než u kontrol (medián 142 ng/ml) (oba $p < 0,001$; Kruskal Wallis).

Závěry: Naše data podporují hypotézu, že NMO je komplementem zprostředkované onemocnění a naznačují možné užití C3a markeru k stratifikaci rizika relapsů u NMO.

Klíčová slova: neuromyelitis optica, komplement, anti-C1 protilátky

Podpořeno grantem GAUK 132010, výzkumným záměrem MŠM 0021620849 a projektem PRVOUK-P26/LF1/4. Stáž Petry Nytrové na University of Oxford byla podpořena z Fondu Mobility UK a Newsom-Davis Visiting Fellowship.

SEPTICKÁ KOXITIDA

Autor: Miloš Síbek

Školitel: prof. MUDr. David Jahoda, CSc., Ortopedická klinika 1. LF UK a FNM

Tato práce předkládá souhrn informací o septické koxitidě jako klinické jednotce a možnosti terapie.

Septická koxitida je nepříliš časté onemocnění, které ale může mít fatální následky. Důležitá je včasná diagnostika, která může zabránit nevratnému poškození kloubní chrupavky a i smrti pacienta. K potvrzení diagnózy slouží diagnostická punkce kloubu a další vyšetření punktátu (mikrobiologické, cytologické). Citlivými indikátory zánětu je sedimentace a CRP. V rámci terapie ze začátku aplikujeme širokospektrá antibiotika intravenózně, měníme je dle výsledků kultivace kloubního punktátu. Intravenózně podáváme antibiotika 7 – 14 dnů, dále perorálně ještě měsíc.

Je nezbytné odstranit hnisavý exsudát z kloubu. Snížíme tak nitrokloubní tlak, množství bakterií v kloubu a zamezíme tak dalšímu poškození kloubní chrupavky. Můžeme provést evakuační punkci, arthroscopickou revizi nebo otevřenou artrotomii. Při artrotomii používáme pulzní tlakovou laváž a poté zavádíme průplachovou drenáž nebo lokální nosič antibiotik. V závažnějších případech přistupujeme k dvoudobé primoinplantaci pomocí spaceru, fixovaném v kostním lůžku cementem s přidaným antibiotikem. Po zhojení zánětu v případě dobrého klinického stavu přistupujeme po nejméně 6 týdnech k implantaci totální náhrady.

Reference k této práci byly vyhledány pomocí vyhledávačů (PubMed, ScienceDirect, Google Scholar apod.). Součástí práce je také kazuistika pacienta, který se v nedávné době léčil s koxitidou na našem pracovišti a jehož léčby jsem se osobně účastnil.

Klíčová slova: septická artritida, bakterie, antibiotika, spacer

MOLEKULÁRNÍ ANALÝZA PRIMÁRNÍCH A SEKUNDÁRNÍCH GLIOBLASTOMŮ MULTIFORME V NÁVAZNOSTI NA ROZVOJ EDÉMU A PROGNÓZE ONEMOCNĚNÍ

Autoři: Libor Staněk, David Vajtr, Filip Šámal
Školitel: doc. MUDr. Pavel Dunder, Ph.D., Ústav patologie 1. LF UK a VFN

Východisko: Glioblastoma multiforme (GBM) je jeden z nej malignějších nádorů mozku s poměrně vysokou incidencí. Cílem naší pilotní studie byla molekulární a cytogenetická analýza u 6 pacientů (3/3) s diagnostikovaným primárním a sekundárním (GBM), u kterých MR vyšetření prokázalo jednak perifokální a jednak kolaterální edém. Analyzovány byly signální dráhy HER1, HER2 (EGFR, K-ras, B-raf; Her2/neu); angiogenní faktory (VEGF); apoptické dráhy (p53) a gen pro tyrosin-fosfatázu PTEN. Snahou bylo podat souhrnný obraz molekulární podstaty těchto dvou vývojových entit ve vztahu k celkové anamnéze, prognóze, přežívání pacientů a rozvoji edému.

Metodika: Studovaná nádorová tkáň byla fixovaná ve formalínu, zalitá do parafínu, prokrájena a obarvena HE. Imunohistochemicky byla provedena detekce NOS-I, p53, VEGF a nestinu. Molekulární a cytogenetická analýza pomocí qRT-PCR, reverzní hybridizace a FISH metod.

Výsledky: U primárních glioblastomů byla imunohistochemicky prokázána overexprese p53, exprese VEGF (50 %) a vysoká exprese neuronální NOS (80 %). Cytogeneticky byla prokázána amplifikace genu TP53 a ojedinělá amplifikace genu HER-2/neu. Neprokázali jsme polysomii CEP 17. Byla prokázána ztráta funkce genu PTEN. Molekulárně-biologická analýza ukázala na zvýšenou expresi (10x vyšší) VEGF oproti sekundárním glioblastomům. Mutace v genu EGFR byla detekována v exonech 18 a 19 (inzerce v exonu 18; delece v exonu 19), mutace v genu K-ras byla u jednoho případu (Gly12Cys (GGT>TGT)). Mutace v genu B-raf (V600E) nebyla detekována. U sekundárních glioblastomů byla imunohistochemicky prokázána nízká exprese p53 (<10 %), srovnatelná exprese neuronální NOS (70 %), zvýšená exprese VEGF (20 %) a exprese nestinu (prokazující progenitorové oligodendrogliomové buňky). Cytogeneticky nebyla nalezena amplifikace genu TP53 a genu HER-2/neu, ani změny ve funkci genu PTEN. Byla však prokázána polysomie CEP17. Molekulárně-biologická analýza ukázala nízkou expresi VEGFA oproti primárním glioblastomům. Mutace genu EGFR, K-ras a B-raf nebyla detekována. Klinické výsledky ukázaly, delší přežívání pacientů s molekulárně popsaným primárním GBM (medián 22,5 měsíců); MR vyšetření prokázalo rozvoj perifokálního edému. U pacientů s molekulárně popsaným sekundárním GBM (medián 11 měsíců) bez rozvoje perifokálního edému, ale s poměrně rozsáhlým kolaterálním edémem.

Závěr: U primárních glioblastomů jsme prokázali mutační změny genu EGFR, které mohou vyvolat zvýšení buněčné proliferace a angiogenezi, což jsme potvrdili zvýšenou expresí VEGF. Expres VEGF a také jeho různé formy jak jsme ukázali mají pravděpodobně přími vliv na rozvoj perifokálního edému. Expres a amplifikace PT53 u primárních glioblastomů by mohla mít protektivní účinek s následným delším přežíváním. Další zastížené genetické změny určitě nevylučují v budoucnu využití jako prediktivní markery v případě biologické léčby.

Klíčová slova: molekulární analýza, glioblastoma multiforme, edém, prognóza

Podpořeno projektem PRVOUK-P27/LF1/1.

STOMATOLOGOVÉ OČIMA PŘEDŠKOLNÍCH DĚTÍ

Autoři: Jana Vašáková, Zdeněk Broukal, Lia Navarová, Zuzana Teuberová
Školitel: prof. MUDr. Zdeněk Broukal, CSc., Ústav klinické a experimentální stomatologie 1. LF UK a VFN

Východisko: Cílem tohoto sdělení bylo zjistit pocity a postoje předškolních dětí ke stomatologickému ošetření, svým ošetřujícím a prostředí stomatologické ordinace.

Metody: Dotazník sestavený pro tyto účely obsahoval 3 otázky identifikující věk, pohlaví a bydliště dítěte a 17 uzavřených otázek, týkajících se pocitů a postojů ke stomatologickému ošetření, doplněných obrázky k volbě příslušných odpovědí. Dotazník byl testován v pilotní studii 44 dětmi ve věku 3-7 let docházejícími k ošetření na dětské oddělení ÚKES (Cronbachova alfa 0,72). Vlastní studie se zúčastnilo 439 dětí ve věku 3-7 let navštěvujících mateřské školy v Praze a ve třech mimopražských městech. Z pořízených dat byly propočítány četnosti jednotlivých odpovědí. Vztahy tří nezávislých proměnných (chlapci/dívky, dítě již ošetřované/neošetřované stomatologem, pražské/mimopražské bydliště) a závislých proměnných (strach z ošetření, charakteristika ošetřujícího a prostředí ordinace) byly kalkulovány χ^2 testem ($p=0,05$).

Výsledky: Soubor tvořilo 439 dětí (247 chlapců, 192 dívek), 312 pražských a 127 mimopražských, věk 5,1 let (SD 1,0) bez statisticky významných rozdílů pokud jde o věk a pohlaví ($p>0,05$). Z kalkulovaných vztahů vyplynulo, že ordinaci s obrázky preferují dívky, děti, které prodělaly ošetření u zubního lékaře a mimopražské děti; děti nezávisle na bydlišti preferují lékařku ve věku svých rodičů, v barevném oblečení a s obličejovou maskou a ochrannými brýlemi; mimopražské děti pak nemají výrazné preference, co se týče věku lékaře, ale volí lékařku v barevném oblečení s obličejem bez ochranných pomůcek; děti již ošetřované mají častěji strach z vrtání zubů oproti dětem pouze vyšetřovaným.

Závěr: Vzhled ordinace i samotného stomatologa se ukazuje jako možný faktor ovlivňující vztah dětí předškolního věku k zubní péči. Roli při vnímání vlastní péče pak hraje i předešlé ošetření.

Klíčová slova: stomatolog, zubní péče, dotazník, předškolní děti

DISTRIBUCE A POČTY OTĚROVÝCH ČÁSTIC V OKOLÍ KLOUBNÍCH NÁHRAD

Autor: MUDr. Filip Veselý

Školitel: prof. MUDr. Antonín Sosna, DrSc., Ortopedická klinika 1. LF UK a FNM

Východisko: Aseptické uvolnění způsobené otěrem polyetylenu patří mezi nejčastější komplikace kloubních náhrad vyžadující revizní operaci. Problematikou morfologie, kvantifikace a distribuce otěrových částic se zabývá řada prací. Málo těchto prací však spolehlivě kvantifikuje počty částic v jednotlivých periprotetických zónách.

Cílem této práce bylo zhodnotit korelaci mezi počtem otěrových částic a RTG a peroperačním nálezem periprotetické osteolýzy. Dalším cílem byl popis distribuce částic v okolí kloubních náhrad a popis dalších vlastností otěrových částic.

Metody: Otěrové částice byly izolovány z granulomu odebíraného při revizních operacích TEP coxae. Jejich počty byly stanovovány metodou IRc vyvinutou pro tento účel. Tyto nálezy byly korelovány s RTG a peroperačním nálezem. Pro popis distribuce otěrových částic v polyetylenovém granulomu a okolních periprotetických tkání byla použita metoda postupné enzymatické degradace tkání.

Výsledky: Výsledky potvrdily nerovnoměrný výskyt otěrových částic v okolí TEP. Tento výskyt koreloval s RTG a peroperačním nálezem. Byla popsána distribuce částic a další poznatky přispívající k objasnění mechanismu periprotetické osteolýzy. Dále byla popsána další nová a jednoduchá metoda kvantifikace otěrových částic kolorimetrickými metodami.

Závěry: Problematiku aseptického uvolnění se zatím nepodařilo zcela vyřešit. Polyetylen v kloubních náhradách se zatím nepodařilo zcela nahradit jiným materiálem. Lze předpokládat další intenzivní výzkum vedoucí ke zlepšení jeho vlastností a výzkum možného ovlivnění periprotetické osteolýzy.

Klíčová slova: náhrada kyčelního kloubu, aseptické uvolnění, polyetylenový otěr, kvantifikace otěrových částic, distribuce otěrových částic



Studentka Tereza Nedvěďová na slavnostním předávání cen 14. SVK.



SEKCE NELÉKAŘSKÁ

ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Nikola Chládková
- Mgr. Marek Macák
- Michaela Namyslovová
- Mgr. Tomáš Nikolai
- Aneta Sadílková

HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.**
členové: Mgr. Eva Marková
PhDr. Monika Nevoralová



UŽÍVÁNÍ STIMULANCIÍ STUDENTY VYSOKÝCH ŠKOL

Autorka: Nikola Chládková

Školitel: Mgr. Jan Jakub Zlámaný, ESET, Pražská vysoká škola psychosociálních studií

Anotace: Autorka bakalářské práce se zabývá problematikou užívání stimulantů a nootropních látek studenty vysokých škol. Zkoumá zkušenost studentů s těmito látkami a jak se liší užívání v běžných a zátěžových situacích. Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. Teoretická část vymezuje pojmy týkající se této problematiky. Sběr dat v praktické části proběhl pomocí triangulace. Dotazníků, hloubkového rozhovoru a fokusní skupiny. V praktické části jsou prezentovány výsledky studie a ověřovány hypotézy.

Metodologie: Provedla jsem výzkum užívání stimulantů u studentů vysokých škol v Praze. Věk studentů se pohybuje od 18 do 48 let. Výzkumnou metodu, kterou jsem si vybrala, je sběr dat pomocí triangulace. Rozdala jsem dotazník 379 respondentům. Dotazník zjišťuje věk, fakultu, ročník respondentů, dále pak míru užívání vybraných stimulantů, zejména pak v běžných a zátěžových situacích. V dotazníku převažují uzavřené otázky s výběrem alternativ. Dotazník je anonymní. Dále jsem provedla se studentkou medicíny hloubkový rozhovor a vytvořila jsem fokusní skupinu pěti lidí, kteří hodinu debatovali na téma stimulancia a hovořili o svých zkušenostech s nimi.

Závěry: Dílčími cíli práce bylo zjistit počet studentů, kteří za sebou mají zkušenost s kofeinem a taurinem, počet studentů, kteří za sebou mají zkušenost s doplňky stravy – ginko biloba, lecitin, guarana; počet studentů, kteří mají za sebou zkušenost s kokainem, crackem a MDMA; počet studentů, kteří za sebou mají zkušenost s amfetaminem, pervitinem a metylfenidátem a počet studentů, kteří mají za sebou zkušenost s nikotinem. Nejvíce studentů má zkušenosti s kofeinem a taurinem, je to 90,77 %. Nejméně studentů má zkušenost s amfetaminem, pervitinem a metylfenidátem, je to 6,33 %. V zátěžových situacích užívají studenti prokazatelně více kofeinu a taurinu, doplňky stravy a nikotinu. Kokain, crack, MDMA a amfetamin, pervitin a metylfenidát užívají studenti v podobné míře v běžných i zátěžových situacích. 62,53 % studentů se po užití stimulantu cítilo lépe.

Klíčová slova: droga, stimulancia, nootropní látky, závislost, vysokoškolští studenti

PSYCHODIAGNOSTICKÝ PROCES V HERMENEUTICKÉ PERSPEKTIVĚ

Autor: Mgr. Marek Macák

Školitel: PhDr. Pavel Harsa, Ph.D., Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN, psychologická laboratoř

Psychologická diagnostika se pohybuje na hranici abstraktní, exaktní vědy a velmi konkrétního příběhu člověka, jehož se diagnostický proces týká. Kvalitní práce s pacientem vždy zahrnovala schopnost vnímat i jiné než technické aspekty kontaktu. Kvalitní zdravotnický odborník nikdy není pouze technikem. Zredukování diagnostického procesu na čistě technický postup v práci s člověkem nezajišťuje skutečnou neutralitu ani benigní výsledek diagnostického snažení. V této práci chci poukázat na skutečnost, že při diagnostice je ve hře je více procesů, než můžeme zachytit v rámci čistě technických parametrů a vodítek. Důraz na porozumění technickým aspektům diagnostického procesu proto v praxi psychologa nestačí a nechává řadu aspektů práce s pacientem opomenutých a nezužitkovaných. Zvláště u psychologické diagnostiky existuje velký potenciál obohatit, případně poškodit pacienta, opomene-li se dostatečně opatrná práce na jeho asimilaci diagnostického procesu a následných výstupů.

Hermeneutika jakožto věda o interpretaci, tj. vztahu porozumění a vysvětlení v živém mezilidském kontaktu, umožňuje přínosnou a bohatou reflexi psychodiagnostického dění. Počítá s nutností abstrakce a práce s vědecky vymezenými pojmy a koncepty, zároveň však neopomíná reálnou, neredukovatelnou žitou zkušenost všech zúčastněných, která má zvláště v psychologické práci významný vliv na praktický dopad diagnostiky na života pacienta. V této práci se pokouším o analýzu dynamiky empatického porozumění a teoretické konceptualizace a o vztahování celého procesu diagnostiky k životnímu narativu pacienta, který je konfrontován s nutností asimilovat jak diagnostický proces, tak jeho výstupy. Navazují přitom na práci autorů, zabývajících se kolaborativní a terapeutickou psychodiagnostikou a jimi navrhovaný koncept rozšiřuji o specifický přínos kritické hermeneutiky Paula Ricoeura.

Cílem práce je nabídnout jakýsi alternativní „pohled ze strany“ na procesy, které se v diagnostickém kontaktu psychologa a pacienta odehrávají bez ohledu na míru reflexe těchto procesů. Kritické promyšlení diagnostického dění z hermeneutického hlediska může vést k bohatší reflexi složitosti psychodiagnostické praxe, ke zvýšení kvality diagnostického procesu a potenciálně i ke konkrétním změnám ve vedení diagnostiky a ve formulaci výstupů z vyšetření.

Klíčová slova: psychologická diagnostika, hermeneutika, porozumění, vysvětlení, kolaborativní diagnostika, terapeutická diagnostika

SEXUÁLNÍ A PARTNERSKÉ VZTAHY V TERAPEUTICKÉ KOMUNITĚ PRO DROGOVĚ ZÁVISLÉ

Autorka: Michaela Namyslovová

Školitel: doc. MUDr. PhDr. Kamil Kalina, CSc., Klinika adiktologie 1. LF UK a VFN

Jedním z tzv. kardinálních pravidel v terapeutických komunitách pro drogově závislé je zákaz navazování velmi blízkých vztahů, obvykle sexuálních nebo erotických, který je interpretován různými způsoby (např. jako „volba mezi léčbou a nadstandardním vztahem“ (TK Podcestný mlýn) a sankcionován individuálně v jednotlivých terapeutických komunitách. K porušování výše zmíněného pravidla pravděpodobně dochází od vzniku koedukovaných skupin v terapeutických komunitách pro drogově závislé.

Cílem této práce je popsat, jak klienti mající zkušenost se vztahem v terapeutické komunitě vnímají pravidlo zákazu navazování vztahů, co pro ně toto pravidlo znamená a zdali a na základě čeho se měnil jejich názor v průběhu léčby.

Použité metody jsou: semistrukturované interview, vlastní poznámky, redukce 1. řádu, barvení textu, vytváření trsů a metoda prostého výčtu. Výzkumný vzorek tvoří 8 klientů a 3 psychoterapeuti anonymní terapeutické komunity. Všichni respondenti s účastí ve výzkumu souhlasili, jsou plnoletí a mají se vztahem v terapeutické komunitě zkušenost.

Bylo zjištěno, že respondenti rozumí pravidlu a jsou si vědomi následků na skupinu i jednotlivce při jeho porušení. Respondentům se hůře odpovídalo na dotaz: „Jaký má pro Tebe to pravidlo význam?“, proto byla zvolena formulace tazající se respondentů na jejich názor, postoj a co si o pravidlu myslí. Polovina respondentů (n=6, z toho jeden terapeut) hodnotí pravidlo pozitivně, 3 klienti mají s pravidlem problém a dva respondenti a dva terapeuti mají k pravidlu ambivalentní postoj. Respondenti nebyli schopni konkrétně definovat přesné hranice tohoto pravidla. Byla nalezena souvislost mezi názorem a současným vztahem v léčbě, mezi změnou názoru a prožitým vztahem v léčbě v minulosti.

Klíčová slova: léčba závislosti, terapeutická komunita, kardinální pravidla, sexuální vztahy, partnerské vztahy

FIGURÁLNÍ A PROSTOROVÉ KOMPONENTY VIZUÁLNÍ PAMĚTI REY-OSTERRIETHOVY KOMPLEXNÍ FIGURY JSOU ASOCIOVÁNY S ATROFIÍ HIPOKAMPŮ U STÁRNOUCÍ POPULACE

Autoři: Nikolai T., Vyháněk M., Literáková E., Nedělská Z., Laczo J., Hort J.

Školitel: Roth J., Centrum klinických neurověd, Neurologická klinika 1. LF UK a VFN

Východiska: Rey-Osterriethova komplexní figura (ROCFT) je jedním z nejpoužívanějších nonverbálních testů, oddálené vybavení ROCFT je využíváno jako měřítko vizuální paměti. Skórovací systém reflektující figurální a prostorové komponenty ROCFT je relativně nově vyvinutým způsobem, jak postihnout aspekty vizuální paměti, které jsou považovány za specifické k funkcím levého hipokampu (figurální) a pravého hipokampu (prostorové). Cílem studie je zhodnotit schopnost skórovacích systémů rozlišit pacienty s poruchou paměti od zdravých osob a analyzovat asociaci figurálních a prostorových aspektů ROCFT s atrofií hipokampů.

Metody: 26 pacientů s amnestickou mírnou kognitivní poruchou (aMCI) a 22 věkově vázaných osob bez kognitivního deficitu absolvovalo komplexní neuropsychologické vyšetření včetně ROCFT-oddáleného vybavení. Jako skórovací systém jsme použili Meyersův systém skórování a metodu skórování figurálních a prostorových aspektů ROCFT podle J. I. Breiera a kol. Všechny osoby zároveň absolvovaly 1,5T MRI s volumetrií objemů levého a pravého hipokampu a celkového objemu mozku, který byl využit jako korekce výsledků. Pro analýzu výsledků byla použita neparametrická metoda Spearmanovy pořadové korelace.

Výsledky: Figurální i prostorový skór ROCFT i celkový skór oddáleného vybavení rozlišoval mezi pacienty s aMCI a skupinou osob bez kognitivního deficitu. Dále jsme našli středně významné korelace objemu hipokampů s prostorovým skórem ($r_R=.48$, $r_L=.51$, $p<0.001$, figurálním skórem ($r_R=.39$, $r_L=.46$, $p<0.001$) i celkovým skórem oddáleného vybavení ($r_R=.46$, $r_L=.50$, $p<0.001$).

Závěr: Všechny skóry oddáleného vybavení ROCFT rozlišovaly mezi pacienty s aMCI a skupinou osob bez kognitivního deficitu. Celkový skór oddáleného vybavení, figurální i prostorový skór reflektují atrofii hipokampů u stárnoucích osob.

Klíčová slova: mírná kognitivní porucha, prostorová paměť, hipokampus

PREDIKTOR HMOTNOSTI

Autoři: Aneta Sadílková, Jan Moskalyk

Školitel: MUDr. Martin Matoulek, Ph.D., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

Východisko: Konzervativní redukční režim představovaný snížením energetického příjmu a navýšením energetického výdeje stále tvoří základní článek terapie obezity. Cílem projektu je sestavení testovací databáze z nasbíraných dat a následná realizace webové aplikace Prediktor hmotnosti určené k predikci reálného poklesu hmotnosti u osob rozhodnutých zahájit redukční režim.

Metodika: Zkoumaný soubor zahrnoval 45 probandů, 31 žen a 14 mužů, navštěvující obezitologickou ambulanci 3. interní kliniky VFN. Prospektivní metodou byla shromažďována data dokumentující průběh redukce hmotnosti u těchto probandů v prvním měsíci redukčního režimu. Byly zaznamenávány změny tělesné hmotnosti a změny obvodu pasu a boků v přímé souvislosti s reálným energetickým příjmem a výdejem. Získaná data byla rozřazena podle kompletnosti a validity s cílem vybrat data použitelná pro testování aplikace Prediktor hmotnosti. Zároveň byla data statisticky zpracována, aby mohla být vyhodnocena celková úspěšnost redukčního režimu u probandů zapojených do projektu.

Výsledky: Konzervativní terapie obezity v rámci projektu Prediktor hmotnosti vykazuje procentuálně vyšší úspěšnost (67 %), než je běžná procentuální úspěšnost redukčních režimů v obezitologických ambulancích (přibližně 30 %). Třiceti pacientům z celkových 45 se minimálně v prvním měsíci spolupráce podařilo snížit tělesnou hmotnost. Použitelný soubor tvořila data 20 probandů, 17 žen a 3 mužů. Z nich byla sestavena základní databáze určená k testování aplikace Prediktor hmotnosti. Tato data byla současně použita pro vytvoření predikční rovnice, na základě které aplikace kalkuluje predikci vývoje hmotnosti u konkrétního individua plánujícího zahájit redukční režim.

Závěry: Nasbíraná data umožnila realizaci webové aplikace Prediktor hmotnosti, která uživateli poskytuje reálný odhad poklesu jeho tělesné hmotnosti na základě zadaných údajů (věk, výška, tělesná hmotnost, vstupní energetický příjem, plánovaný energetický příjem a výdej). Do budoucna bude třeba ještě rozšířit testovací databázi a aplikaci průběžně aktualizovat, aby byla predikce hmotnosti co nejpřesnější.

Klíčová slova: redukční režim, testovací databáze, webová aplikace, Prediktor hmotnosti, tělesná hmotnost, energetický příjem, energetický výdej



Studentky Kristýna Seidlová, Jitka Hofrichterová a Eva Plaňanská získaly ocenění za společnou vědeckou práci.

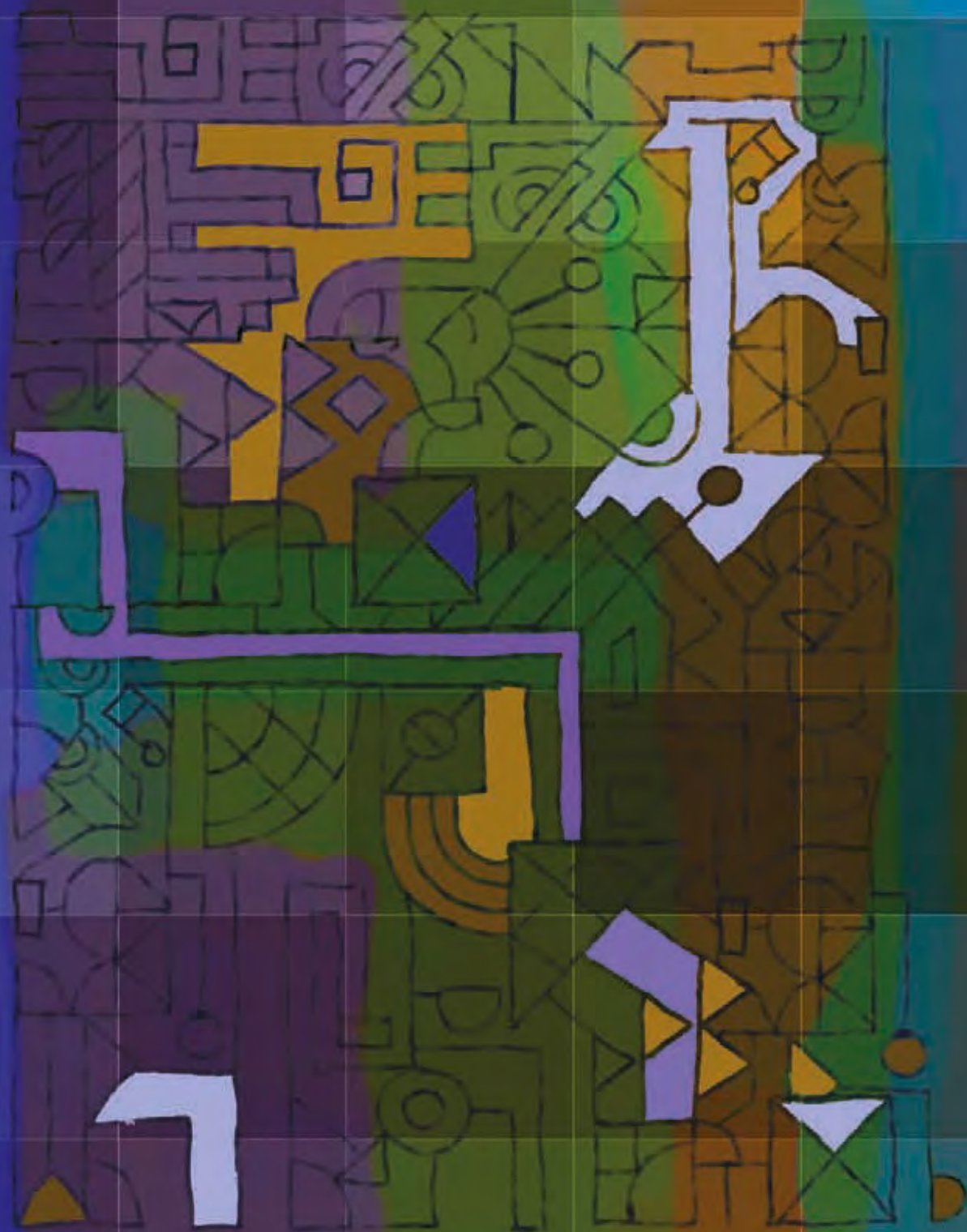


Vítěz 14. SVK Miroslav Důra.



Prezentace studentských vědeckých prací.

VÍTĚZNÉ PRÁCE IN EXTENSO



SEKCE PREGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ VÍTĚZNÉ PRÁCE

TEORETICKÁ ČÁST

Indukce kmenových znaků u melanomových linií in vitro

Autorka: Tereza Nedvědová

Školitelé: RNDr. Barbora Dvořánková, Ph.D., Anatomický ústav 1. LF UK; MUDr. Ondřej Kodet, Dermatovenetologická klinika 1. LF UK a VFN

Vliv jednorázového preventivního podání erythropoetinu na kognitivní funkce dospělých potkanů po experimentálně navozené cévní mozkové příhodě

Autorky: Eva Plaňanská, Jitka Hofrichterová, Kristýna Seidlová

Školitelé: MUDr. Michaela Hralová; doc. MUDr. Dana Marešová, CSc., Fyziologický ústav 1. LF UK

Spektroskopické studium interakce antimikrobiálních peptidů s modelovými membránami

Autor: Adam Tesař

Školitel: RNDr. Vladimír Kopecký, Ph.D., Oddělení fyziky biomolekul, Fyzikální ústav Univerzity Karlovy



INDUKCE KMENOVÝCH ZNAKŮ U MELANOMOVÝCH LINIÍ IN VITRO

Autorka: Tereza Nedvědová

Školitelé: RNDr. Barbora Dvořánková, Ph.D., Anatomický ústav 1. LF UK;
MUDr. Ondřej Kodet, Dermatovenetologická klinika 1. LF UK a VFN



ÚVOD:

Maligní melanom reprezentuje jeden z nejagresivnějších nádorů s velmi vysokou tendencí k metastazování do prakticky jakýchkoli lokalit. Jeho incidence stále roste a je dokonce považován za nejčastější nádor ve věkové skupině 25 až 29 let. Nádor jako takový je nicméně důležité vnímat jako komplexní strukturu. Již v roce 1889 zformuloval Stephen Paget „soil and seed hypothesis“, která říká, že stejně jako semeno potřebuje ke svému růstu úrodnou půdu, tak i nádorové buňky rostou pod vlivem okolního mikroprostředí. Jednu z nejdůležitějších komponent nádorového stromatu tvoří nádorově asociované fibroblasty. Jsou to buňky, které nemají maligní povahu, ale vykazují aktivovaný fenotyp a jsou schopny ovlivňovat nádorové buňky. Okolí nádorových buněk tedy hraje zásadní roli v biologii a chování nádorů, což je již dobře zdokumentováno např. u epitelových nádorů hlavy a krku. Podobné mechanismy lze očekávat i v maligním melanomu. Existují práce zabývající se vlivem nádorově asociovaných fibroblastů a vlivem média s extraktem z embryonálních buněk na melanocyty a také práce ukazující na velký význam neadhezivního prostředí spolu s médiem pro buňky neurální lišty. V naší práci jsme se snažili co nejvíce přiblížit modelu in vivo; zkoumali jsme tedy vliv stromálních fibroblastů simulujících nádorové mikroprostředí na nádorové melanocyty a také vliv neadhezivního prostředí jako modelu prostředí v procesu metastazování nádoru.

OTÁZKY A HYPOTÉZY:

Jak ovlivňují nádorově asociované fibroblasty fenotyp nádorových melanocytů?

Je potřeba přímý kontakt těchto buněk?

Je neadhezivní prostředí schopno indukovat změnu exprese v nádorových melanocytech a sloužit jako model prostředí, ve kterém dochází k zakládání metastáz?

Liší se mezi sebou nádorové klony v různém prostředí v rámci exprese znaků dediferenciace?

Lze chování nádorových linií jednotně interpretovat, nebo zde panuje nejednotnost odpovídající klinickým pozorováním?

Jak ovlivňují nádorové melanocyty fenotyp nádorově asociovaných fibroblastů?

METODY:

V rámci experimentu byly použity čtyři nádorové linie melanocytů z kožní metastázy, uzlinové metastázy a nádorového ascitu a jedna linie stromálních fibroblastů z kožní metastázy melanomu. Nádorové linie byly vystaveny neadhezivnímu prostředí, a to jak samotné, tak i pod vlivem nádorově asociovaných fibroblastů. Byla sledována změna exprese znaků různého stupně kmenovosti, znaků melanocytární diference a cytokeratinů. Detekce specifických proteinů byla provedena pomocí nepřímé imunofluorescence.

VÝSLEDKY:

U melanocytů byla pomocí neadhezivního prostředí a vlivu stromálních fibroblastů indukována exprese některých znaků dediferenciace – a to především Oct4, Nanog a CD271. Naproti tomu exprese jiných znaků (Nestinu, β -III-tubulinu a HMB45) nebyla změnou podmínek ovlivněna. Linie z uzlinové metastázy a nádorového ascitu nevykazovaly výrazné rozdíly v rámci ovlivnění kultivačním prostředím.

ZÁVĚRY:

Některé buněčné linie pod vlivem nádorově asociovaných fibroblastů získávají znaky dediferenciace a kmenovosti, což poukazuje na jejich možnou plasticitu a vyšší metastatický potenciál v rámci nádoru i organismu. Schopnost dediferenciace nádorových buněk v neadhezivním prostředí je zásadní pro zakládání metastáz a získané výsledky ukazují, že komplexní nádorové mikroprostředí zde může hrát klíčovou roli.

Linie nádorových melanocytů mezi sebou vykazují velké rozdíly v chování, morfologii a expresi sledovaných znaků. Důležitá je nicméně korelace výsledků in vitro kultivace s klinickým pozorováním, kde biologická agresivita nádoru odpovídala indukcii exprese kmenových znaků v neadhezivním prostředí. Studium chování nádorových buněk v adhezivním a neadhezivním prostředí tedy může přispět k objasnění mechanismů metastatického procesu u nádorového klonu.

KLÍČOVÁ SLOVA:

maligní melanom, nádorové mikroprostředí, kmenové znaky

Práce byla podpořena z prostředků GAČR 204/12/1333 a PRVOUK 27-1.

VLIV JEDNORÁZOVÉHO PREVENTIVNÍHO PODÁNÍ ERYTROPOETINU NA KOGNITVNÍ FUNKCE DOSPĚLÝCH POTKANŮ PO EXPERIMENTÁLNĚ NAVOZENÉ CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODĚ

Autorky: Eva Plaňanská, Jitka Hofrichterová, Kristýna Seidlová
Školitelé: MUDr. Michaela Hralová; doc. MUDr. Dana Marešová, CSc.,
 Fyziologický ústav 1. LF UK



VÝCHODISKO:

Hematopoietický faktor erythropoetin (EPO) má mimo jiné také neuroprotektivní a neuroregenerační účinky (Marti, 2004). Vzhledem k všeobecnému trendu stárnutí populace a zvyšující se incidenci cévní mozkové příhody (CMP) u pacientů nad 65 let věku, nabízí se možnost využití tohoto účinku erythropoetinu v terapii. Proto jsme se rozhodly sledovat vliv EPO na změny kognitivních schopností u dospělých potkanů po experimentálně vyvolané cévní mozkové příhodě.

METODY:

K pokusu jsme použily dospělé samce potkanů kmene Wistar. U první skupiny ($n = 45$) jsme vyvolaly CMP aplikací vazokonstrikční látky endothelin-1 (ET-1) v dávce 4,6 μ l do oblasti a. cerebri media dx. Druhé skupině ($n = 16$) byl po stejném zásahu místo ET-1 aplikován fyziologický roztok (FR). Obě skupiny byly dále rozděleny na dvě podskupiny: prvním dvěma podskupinám jsme podaly EPO intraperitoneálně (i.p.) 10 minut před aplikací ET-1 v dávce 5000 IU/kg hmotnosti, druhým dvěma podskupinám byl stejným způsobem aplikován FR v dávce 1 ml/kg hmotnosti.

Potkani byli testováni v Morrisově vodním bludišti. Bludiště, bazén, má průměr 180 cm a je pomyslně rozděleno na čtyři kvadranty (obr. 1).



Obr.1: Schema Morrisova vodního bludiště

Tyto kvadranty jsou pojmenovány podle světových stran a zároveň označují místa vložení zvířete do bludiště (N, E, S, W). Cílem je naučit potkana nalézt skrytý ostrůvek, který se nachází v severozápadním kvadrantu. Skrytý ostrůvek je skleněná platforma umístěná 2 cm pod vodní hladinou. Potkan se v bludišti může orientovat podle černobílých značek umístěných na zdech místnosti. Zvíře je z každého kvadrantu vloženo do bazénu dvakrát, celkem, během jednoho testovacího dne absolvuje 8 pokusů nalézt během jedné minuty ostrůvek. Po nalezení ostrova má potkan dvacet sekund čas k odpočinku a zároveň k zapamatování polohy tohoto ostrova. Pokud ostrůvek ve stanovenou dobu nenalezne, je pokus ukončen a po pauze znovu opakován.

Všechna zvířata absolvovala stejný 5denní trénink (nalezení skrytého ostrůvku) před vyvoláním CMP a podáním EPO/FR a dále byla testována v 1. a 3. týdnu po navození CPM. Pohyb v bludišti byl sledován videokamerou. K vyhodnocování výsledků (průměrný čas nutný k nalezení ostrůvku, délka uplavané trasy, čas strávený v zóně skrytého ostrova, efektivita zvolené cesty) jsme použily program Any-maze. Na konci třetího týdne jsme testovaly pevnost paměťové stopy a schopnost přizpůsobení se novým podmínkám (po odstranění skrytého ostrůvku). Ke statistickému zhodnocení jsme použily neparametrické testy (např. Mann-Whitneyův aj.), hladinu významnosti $p < 5\%$.

VÝSLEDKY:

Před navozením CMP byla schopnost učení u všech zvířat obdobná, dosažené výsledky se učním zlepšovaly. U zvířat s provedenou CMP, kterým jsme podaly EPO, jsme prokázaly statisticky významné dílčí zlepšení kognitivních schopností ve srovnání se zvířaty kterým byl podán FR.

Rovněž jsme prokázaly, že samotné podání EPO bez navozené CMP neovlivňuje proces učení.

DISKUZE:

Naše výsledky ukazují, že navození lokální ischemie v oblasti arteria cerebri media ovlivňuje kognitivní funkce experimentálních zvířat. Náš pokus rovněž potvrzuje již dříve v literatuře popisované neuroprotektivní účinky EPO, kdy po průchodu hematoencefalickou bariérou EPO prostřednictvím receptorů (EPO-r) působí na ischemizovanou tkáň a zlepšuje tak přežívání neuronů, astrocytů a dalších buněk (např. cévního endotelu) v postižené oblasti.

ZÁVĚRY:

Preventivní podání erythropoetinu má u dospělých potkanů s experimentálně navozenou CMP statisticky významný pozitivní vliv na dílčí zlepšení jejich kognitivních schopností. Samotné podání EPO bez navozené CMP neovlivňuje jejich schopnost učení.

KLÍČOVÁ SLOVA:

cévní mozková příhoda, endothelin-1, erythropoetin, Morrisovo vodní bludiště, Any-maze

Podporováno grantem PRVOUK – P34/LF1/7.

Literatura:

- MARTI HH: Erythropoietin and the hypoxic brain. *J Exp Biol* 207:3233-3242, 2004.



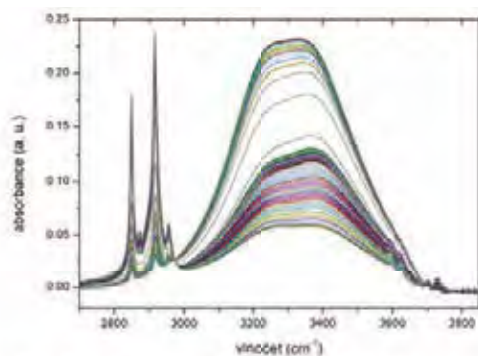
Paní PhDr. Jana Vytlačilová předává mimořádnou cenu za nakladatelství Grada Publishing, a. s. studentce Kristýně Seidlové.

SPEKTROSKOPICKÉ STUDIUM INTERAKCE ANTIMIKROBIÁLNÍCH PEPTIDŮ S MODELOVÝMI MEMBRÁNAMI

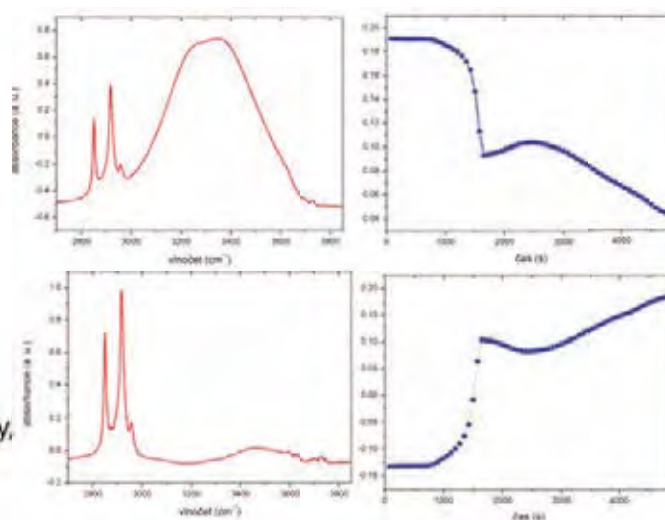
Autor: Adam Tesař
Školitel: RNDr. Vladimír Kopecký, Ph.D., Oddělení fyziky biomolekul,
 Fyzikální ústav Univerzity Karlovy



Antimikrobiální peptidy (AMP) mají obrovský potenciál užití jako alternativa antibiotik díky vzniku minimální rezistence bakterií, ale je možné i jejich uplatnění v obraně proti maligním onemocněním, ochraně zdravotnických materiálů a k diagnostickým metodám. Také hrají podstatnou roli v patogenezi některých kožních a chronických onemocnění (cystická fibróza). Jejich účinek je založen na interakci s buněčnou membránou vedoucí k jejich penetraci. Tento mechanismus bohužel není stále plně pochopen, proto jsme se v práci zaměřili na interakci AMP HAL-1 izolovaného z jedu vosy *Halictus sextinctus* s modelovou membránou 100 nm lipozomů složených z fosfatidylcholinu a fosfatidylglycerolu. K popisu konformačních změn peptidu bylo užito cirkulárního dichroismu (CD) a Fourierovskey transformované infračervené spektroskopie (FTIR). Cirkulární dichroismus měří rozdílnou absorpci pravotočivě a levotočivě polarizovaného světla chirální molekulou, která se mění s konformačními změnami molekuly. Fourierovskey transformovaná infračervená spektroskopie v uspořádání na průchod měří vibrační spektra molekuly, která se mění při různé struktuře molekuly. Při měření ATR-FTIR (FTIR při zeslabeném totálním odrazu), kdy při totálním odrazu paprsku vzorkem prochází pouze evanescentní vlna, je možno pozorovat změny složení a struktury vzorku v tenké vrstvě na ATR hranolu. CD i FTIR prokázali přechod z neuspořádané struktury před interakcí na α -helikální po interakci s membránou. Dále jsme se zaměřili na přípravu lipidové dvojvrstvy na povrchu ATR hranolu, která by v budoucnu umožnila užití polarizované FTIR spektroskopie ke studiu AMP a modelových membrán. Poté jsme se věnovali studiu dynamiky vysychání lipozomů a jejich zpětné hydratace i za přítomnosti peptidu HAL-1 pomocí ATR-FTIR, kterou jsme zpracovali pomocí faktorové analýzy. Určili jsme stabilizaci systému, která byla nejlepší pro 2 μ l koncentraci a trvala až téměř 20 minut a klesala s ředěním lipozomů. Pozorovali jsme protektivní vliv peptidu na lipidovou dvojvrstvu a zpomalení jejího vysychání, což by nasvědčovalo vzniku koberečkové struktury na povrchu membrány. Dále jsme pozorovali cyklickou hydrataci a dehydrataci membrány, která byla snížena interakcí s peptidem, což může souviset s nárůstem rigidity membrány a vést k jejímu následnému prasknutí.



Přerušené vysychání PC/PG lipozomů.
 V sérii spekter je znatelný pokles pásu vody, před přiložením krytky a pomalý pokles po přidání krytky



KLÍČOVÁ SLOVA:

antimikrobiální peptidy, buněčná membrána, dynamika vysychání, FTIR, cirkulární dichroismus



Slavnostní předávání cen 14. SVK v Akademickém klubu 1. LF UK ve Faustově domě se uskutečnilo dne 4. června 2013.

SEKCE PREGRADUÁLNÍ KLINICKÁ VÍTĚZNÉ PRÁCE

KLINICKÁ ČÁST

Studie porovnání cytogenetických přístupů VS. QRT-PCR v prediktivní diagnostice HER2/NEU u karcinomu žaludku

Autoři: Miroslav Důra, Libor Staněk, Pavel Dundr, Tomáš Rozkoš
Školitel: Mgr. Ing. Bc. Libor Staněk, Ústav patologie 1. LF UK a VFN

Postižení vergenčních pohybů očí u efedronového parkinsonismu

Autoři: Jaromír Hanuška, Cecilia Bonnet, Marika Megrelishvili, Jan Rusz a Evžen Růžička
Školitel: prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc., Neurologická klinika 1. LF UK a VFN





STUDIE POROVNÁNÍ CYTOGENETICKÝCH PŘÍSTUPŮ VS. QRT-PCR V PREDIKTIVNÍ DIAGNOSTICE HER2/NEU U KARCINOMU ŽALUDKU

Autoři: Miroslav Důra, Libor Staněk, Pavel Dundr, Tomáš Rozkoš
Školitel: Mgr. Ing. Bc. Libor Staněk, Ústav patologie, 1. LF UK a VFN



ÚVOD:

Karcinom žaludku je zhoubné nádorové onemocnění, které vzniká maligní přeměnou žaludeční sliznice s jejím postupným prorůstáním a častým metastazováním do plic, jater a dalších orgánů, za současné infiltrace lymfatických uzlin. Tento karcinom patří mezi malé procento nádorů, u nichž je zaznamenán pokles incidence. Dosavadní léčba spočívala v radikálním chirurgickém zákroku, avšak s velice častou recidivou.

Asi u 20 % adenokarcinomů žaludku je prokázána exprese receptoru Her2 korelující s horší prognózou. U těchto karcinomů bylo současně prokázáno signifikantní prodloužení celkové doby přežití při terapii Trastuzumabem (Herceptin®). Indikace léčby je však podmíněna stanovením Her2 pozitivivity tumoru.

CÍL PRÁCE:

Cílem pilotní studie bylo u 35 pacientů s karcinomem žaludku (difúzního i intestinálního typu, resekovaného i endoskopického materiálu) porovnat různé metodické přístupy v imunohistochemické a cytogenetické detekci amplifikace Her2/neu a na podkladě srovnání přímé kvantifikace genu Her2/neu metodou qRT-PCR vybrat nejhodnější metodu.

METODIKA:

Pro imunohistochemické (IHC) vyšetření byly použity certifikované kity (HercepTest™, Dako) (obr. 1) a (PATHWAY® HER2/neu (4B5) Ventana, Roche) (obr. 2) proti příslušnému epitopu receptoru Her2. Pro *in situ* hybridizaci (ISH) bylo použito fluorescenční ISH (FISH) (PathVision HER-2 DNA Probe Kit Abbott Molecular, USA) (obr. 3), (FISH ZytoLight® SPEC HER2/CEN 17 Dual Color Probe Gastric Cancer) (obr. 4) a robotické zpracování metodou SISH (HER2 Dual Colour ISH, Ventana, Roche) (obr. 5). U všech pacientů byla izolována DNA (QIAamp DNA MiniKit a MicroKit, Qiagen) a stanovena kvantifikace genu Her2/neu vůči referenčnímu genu (LightMix Kit Her2/neu, MOLBIOL) metodou qRT-PCR (LightCycler® 480 II, Roche) (obr. 6).

VÝSLEDKY:

Výsledky ukázaly, že ve 20 % neodpovídá cytogenetická analýza kvantifikaci pomocí qRT-PCR, která korelovala s IHC vyšetřením v 90 %. Metoda SISH (robotická) vs. FISH (manuální) vykazuje dysbalanci v reprodukovatelnosti výsledků v 10–15 % (tab. 1). Z vizuálního hlediska se však SISH jeví jako vhodnější u stanovení Her2/neu. Při použití této metody je plně zachována morfolgie tkáně a lze tedy velice dobře interpretovat výsledek. Stejně tak endobiopsie vykazují horší diagnostické výsledky. Naopak histologický typ nádoru nevykazuje nutnost rozdílného přístupu k molekulární diagnostice.

ZÁVĚR:

Pilotní studie provedená na skupině 35 pacientů ukázala, že mezi jednotlivými metodami používanými v procesu stanovení amplifikace Her2/neu jsou značné rozdíly, a to jak metodické (kvalita hybridizace oligonukleotidové sondy), tak i v hodnocení vyšetření a interpretaci výsledků. Bez ohledu na histologický typ nádoru (difúzní či intestinální typ) se jako problematické pro hodnocení ukázaly být vzorky odebrané endoskopickou cestou. Ke stanovení optimální metody pro toto vyšetření je nutné rozšířit soubor pacientů.

KLÍČOVÁ SLOVA:

karcinom žaludku, amplifikace Her2/neu, cytogenetika, qRT-PCR

Práce byla podpořena z projektu PRVOUK P27.

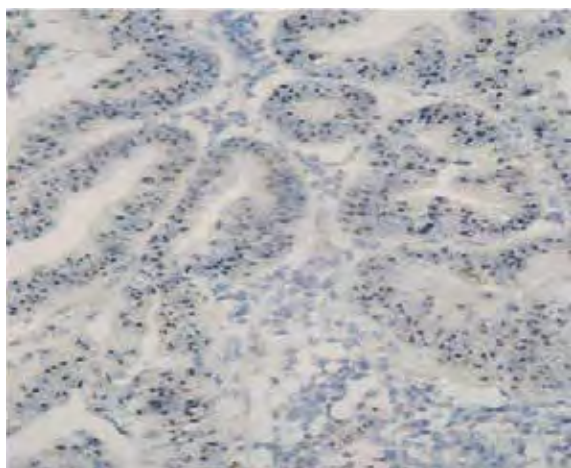
Tab. 1: Ukazuje na výšeči 10 pacientů diskrepanci u jednotlivých případů

Typ karcinomu	IHC	FISH	FISH Gastric	SISH	qRT-PCR
1. difúzní	0	-	-	-	-
2. difúzní	0	-	-	-	-
3. difúzní	0	++	nesvítí	-	-
4. difúzní	0	svítí 10 % jader	nesvítí	-	-
5. difúzní	0	-	-	nesvítí	-
6. intestinální	3+	++	+	-	+
7. intestinální	2+	nesvítí	nesvítí	+	-
8. intestinální	0	nesvítí	nesvítí	+	-
9. intestinální	3+	+	nesvítí	++	+
10. intestinální	3+	++	++	+	+

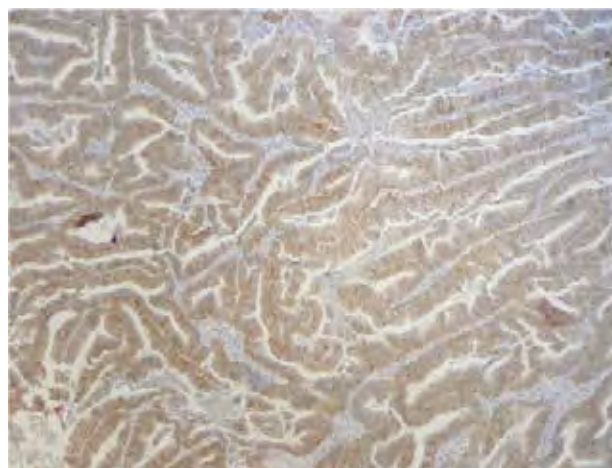
Legenda:

resekaty (klasicky, černě)

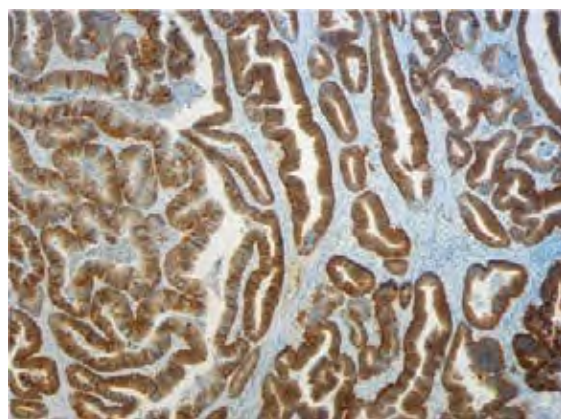
endobiopsie (kurzíva; červeně)



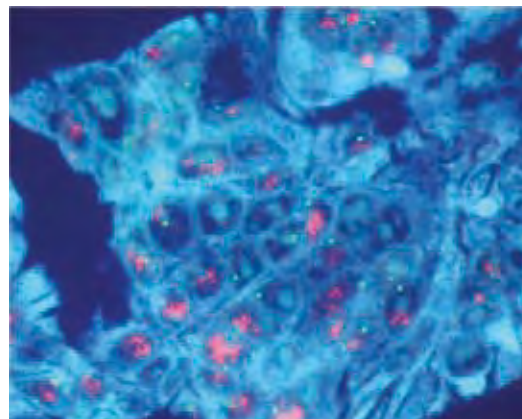
Obr. 1: Difúzní pozitivita, HercepTest™, Dako



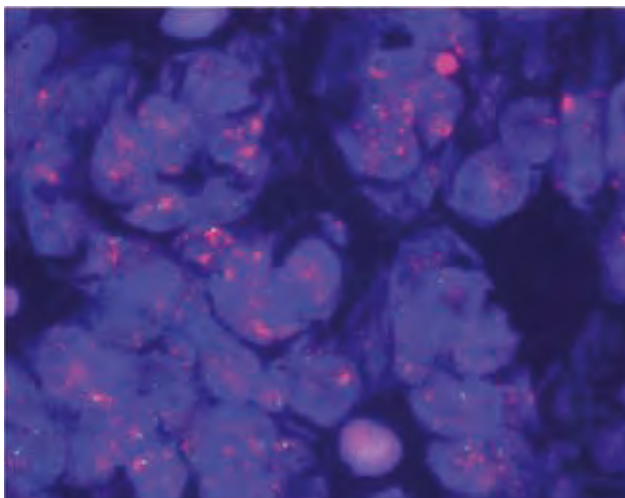
Obr. 2: Difúzní pozitivita, PATHWAY® HER2/neu (4B5) Ventana, Roche



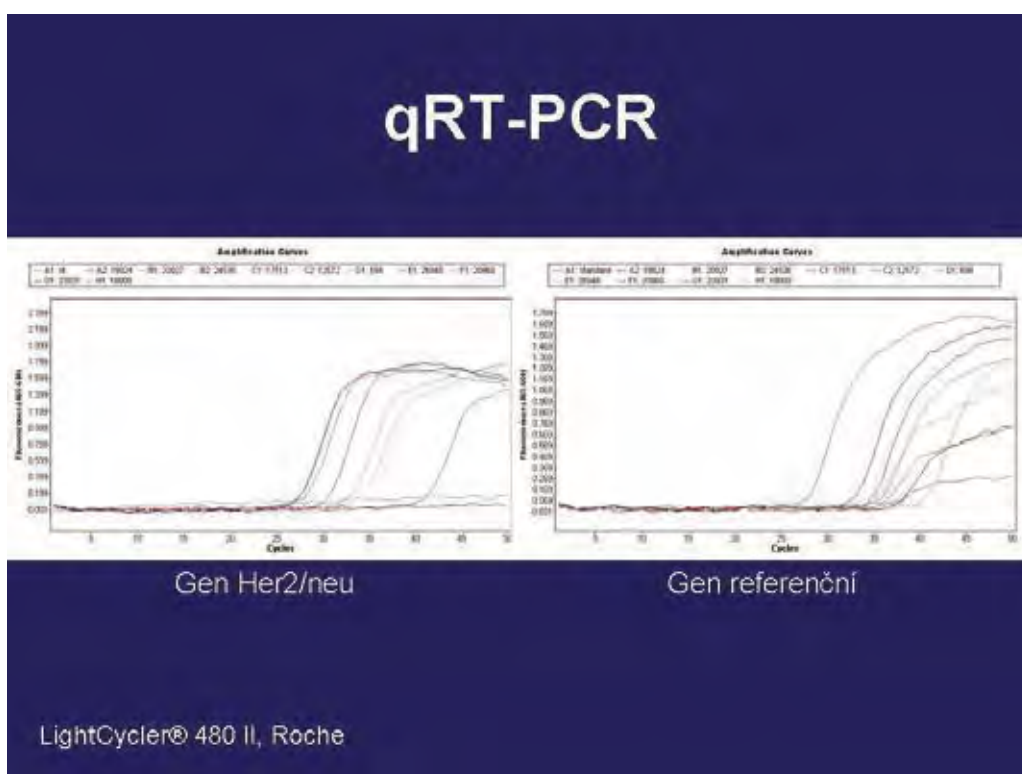
Obr. 3: Vysoká amplifikace, PathVision HER-2 DNA Probe Kit Abbott Molecular, USA



Obr. 4: Vysoká amplifikace, FISH ZytoLight® SPEC HER2/CEN 17 Dual Color Probe Gastric Cancer



Obr. 5: Vysoká amplifikace, HER2 Dual Colour ISH, Ventana, Roche



Obr. 6: QRT-PCR

POSTIŽENÍ VERGENČNÍCH POHYBŮ OČÍ U EFEDRONOVÉHO PARKINSONISMU

Autoři: Jaromír Hanuška, Cecilia Bonnet, Marika Megrelishvili, Jan Rusz a Evžen Růžička

Školitel: prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc., Neurologická klinika 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

Vergence (konvergence a divergence) je disjunktivní pohyb očí k získání nebo zachování jednotného binokulárního vidění při sledování předmětu v anteroposteriorní ose. Insuficience konvergence je častým důvodem vizuálního dyskomfortu u pacientů s Parkinsonovou nemocí. Vergenční pohyby, jejichž změny by mohly odrážet postižení mozkového kmene a kortiko-subkortikálních okruhů, zatím však nebyly popsány u pacientů s parkinsonskými syndromy jiného původu. V naší práci jsme se zaměřili na efedronový parkinsonismus (EP), který je projevem toxického postižení bazálních ganglií manganem u uživatelů nelegální drogy efedronu, zvláště časté v zemích bývalého Sovětského svazu. Oční pohyby u EP se popisují jako zpomalené a omezené rozsahem ve vertikální i horizontální rovině, nicméně jejich systematická analýza dosud nebyla provedena. Cílem této práce je charakterizovat vergenční pohyby očí u pacientů s EP a přinést tak více poznání o patofyziologii tohoto postižení.

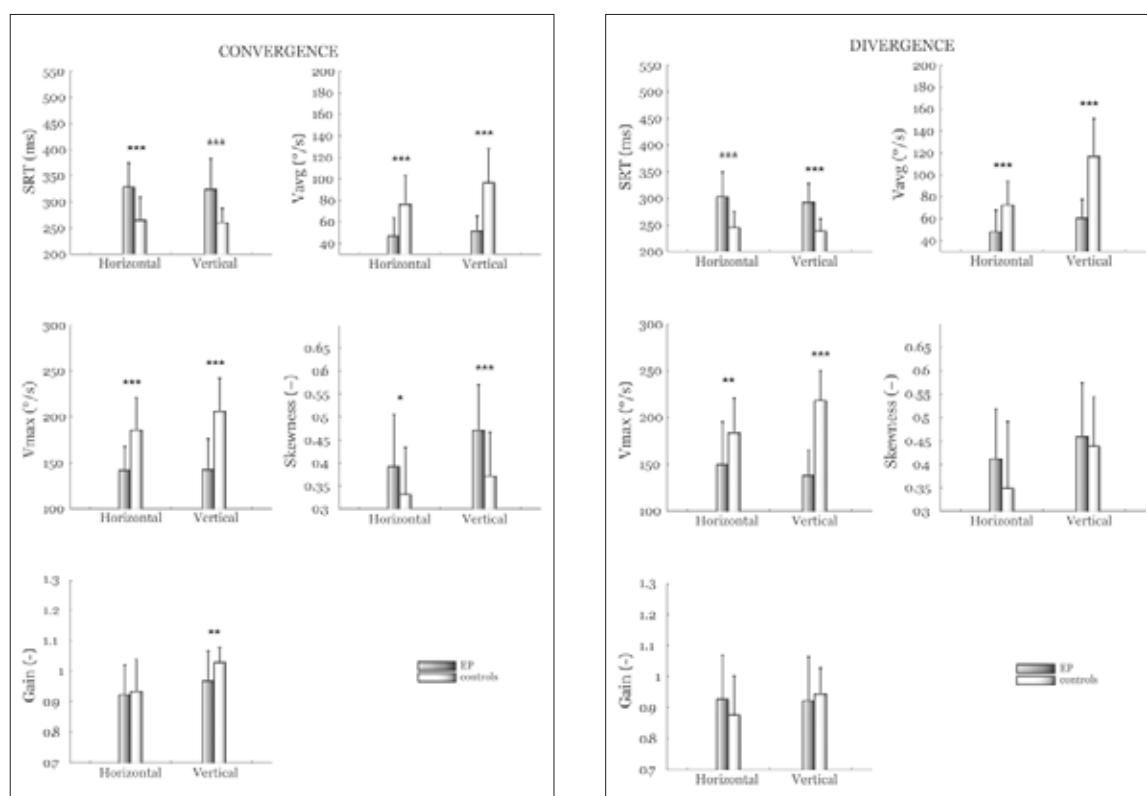
METODY:

Výzkum probíhal za spolupráce Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze a Neurologické kliniky S. Khechinashviliho v Tbilisi (Gruzie), kde pacienty vyšetřil společný tým. Vyšetřili jsme 27 EP pacientů (26 mužů a 1 ženu) ve věku od 28 do 48 let a 27 kontrolních osob odpovídajícího pohlaví a věku. Videookulografické (VOG) vyšetření očních pohybů zahrnovalo měření konvergence a divergence v horizontální a vertikální rovině. Měřili jsme latenci, průměrnou a maximální rychlost, „skewness“ a „gain“ odrážející časový profil a přesnost pohybů.

VÝSLEDKY:

U pacientů ve srovnání s kontrolním souborem byla signifikantně zvýšena latence divergentního i konvergentního pohybu ($p < 0.0001$). Rychlost byla snížena u obou pohybů ($p < 0.0001$) a u konvergence byly navíc sníženy i parametry „skewness“ ($p = 0.0005$) a „gain“ ($p = 0.0061$), ukazující zpomalený náběh a hypometrii pohybu. Postižení vertikální složky vergenčních pohybů bylo významnější než postižení složky horizontální.

Grafické vyjádření výsledků:



Graf: Výsledky konvergenčních (vlevo) a divergenčních (vpravo) pohybů očí u efedronového parkinsonismu

ZÁVĚRY:

Z našich výsledků vyplývá zřejmé postižení vergence u pacientů s EP. Prodloužení latencí a zpomalení vergenčních pohybů nasvědčují postižení frontálních kortiko-subkortikálních okruhů a mezencefalické retikulární formace u EP.

KLÍČOVÁ SLOVA:

videookulografie, mangan, konvergence, divergence



Jeden z vítězů 14. SVK studen Michal Žiga.

SEKCE PREGRADUÁLNÍ HYGIENA A EPIDEMIOLOGIE VÍTĚZNÉ PRÁCE

HYGIENA A EPIDEMIOLOGIE

Vodní dýmka – informovanost a užívání mezi studenty vysokých škol, hygiena jejího užívání

Autorky: Kateřina Hrouzová, Tereza Košánová, Eva Přikrylová

Školitelka: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN

Problematika pertuse v České republice

Autoři: Veronika Indrová, Veronika Makajevoová, Michal Žiga

Školitel: MUDr. Alena Slámová, Ph.D., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK

Užívání tabákových výrobků a pozornost řidičů

Autor: Adéla Valchová, Ondřej Kopečný, Lenka Nevrlíková

Školitel: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN

VODNÍ DÝMKA – INFORMOVANOST A UŽÍVÁNÍ MEZI STUDENTY VYSOKÝCH ŠKOL, HYGIENA JEJÍHO UŽÍVÁNÍ

Autorky: Kateřina Hrouzová, Tereza Košánová, Eva Přikrylová

Školitelka: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

Užívání vodní dýmky (VD) je mezi vysokoškolskými (VŠ) studenty velmi rozšířené, zatímco informovanost o jejích zdravotních dopadech či hygienických zásadách je velmi nízká

Metody: Na užívání VD, znalosti a hygienu jsme se dotazovali na sociální síti Facebook VŠ studentů (N=179), osobně pak řízeným pohovorem návštěvníků (N=40) a personálu 4 čajoven (2x Praha, 1x Písek, 1x Tábor), expozice tabákovému kouři byla validizována měřením CO ve výdechu pomocí přístroje Bedfont micro smokerlyzer.

VÝSLEDKY:

Mezi sledovanými VŠ studenty lékařských (N=76) i nelékařských (N=95) oborů je prevalence užívání 89% (159/179), pravidelně ji užívá 7% (12/179). VD považuje za škodlivější než cigarety jen 42% (76/179), stejně škodlivou 37% (66/179), méně škodlivou dokonce 21% (37/179). O zdravotních dopadech vodní dýmky nebylo nikdy informováno 68% (122/179) studentů celkem, mezi mediky 42% (32/76). Vodní dýmku vyzkoušelo celých 58% (103/179) už před 18. rokem. Možnost přenosu infekce VD nepřipouští 7% (13/179), chrání se čištěním celé VD před každým použitím 35% (62/179), naopak 16% (28/179) se nijak nechrání. Jen jedna z čajoven však VD před každým použitím čistí. Hodnoty CO ve výdechu u 7 návštěvníků, kteří VD kouřili, byly průměrně 27,43 ppm.

ZÁVĚRY:

Mezi VŠ studenty kouří VD 89%, znalosti o zdravotních dopadech včetně hygienických požadavků jsou malé u všech studentů, i když medicí měli znalosti lepší než ostatní. Expozice produktům spalování mezi kuřáky VD je podle hodnot CO vysoká.

KLÍČOVÁ SLOVA:

kouření, vodní dýmka, vliv na zdraví, hygiena, vysokoškolští studenti



Oceněná studentka postgraduálního studia MUDr. Monika Urbanová.

PROBLEMATIKA PERTUSE V ČESKÉ REPUBLICE

Autoři: Veronika Indrová, Veronika Makajevová, Michal Žiga
Školitel: MUDr. Alena Slámová, Ph.D., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK



VÝCHODISKO:

Pertuse je infekční onemocnění vyvolané *Bordatella pertusis*, které patří v České republice mezi povinně hlášená a dlouhodobě sledovaná infekční onemocnění. Podle sledovaných dat dochází v posledních deseti letech k pravidelným epidemickým cyklům (3–4 roky) nárůstu a poklesu počtu hlášených případů. Přestože v roce 2011 poklesl počet hlášených případů, trend stoupajícího počtu nakažených pokračuje, a to navzdory vysoké proočkovanosti českých dětí, která v roce 2009 podle pravidelné administrativní kontroly dosáhla téměř 99%. Podle údajů Státního zdravotního ústavu bylo v roce 2012 nahlášeno celkem 738 případů pertuse, tudíž došlo k více než dvojnásobnému zvýšení počtu onemocnění oproti předcházejícímu roku a incidence onemocnění se zvýšila z 3,1 na 7,0/100 000 obyvatel.

METODY:

Na základě námi vytvořeného dotazníku jsme zjišťovali informovanost běžných obyvatel o rizicích nákazy černým kašlem, povědomí o možnostech prevence a proočkovaní dotazovaných. Sledovanou skupinu tvořilo 200 respondentů, oslovených náhodným způsobem v blízkosti nákupních center a stanic MHD hlavního města Prahy.

VÝSLEDKY:

Výsledný vzorek obyvatelstva (N=200) se skládal ze 47% žen a 53% mužů ve věkové kategorii od 20 do 60 let. Většina dotázaných nepovažuje pertusi v České republice za problém a zároveň neznají nikoho, kdo černý kašel prodělal. Přesto si 55% lidí uvědomuje, že největší nebezpečí představuje černý kašel pro kojence a chránit se proti němu dá očkovaním. Informace o svém očkování, či přeočkování však často lidé nemají. Velká část respondentů se domnívá, že očkována nebyla nebo o tom neví, neslyšeli o kombinované vakcíně záškrt+tetanus+černý kašel ani o délce jejího účinku. O očkování by mělo zájem jen 35% dotazovaných a 39% by bylo ochotno za ni zaplatit více než 500 Kč. Výsledky terénního výzkumu ukázaly nízkou informovanost o onemocnění černým kašlem, jeho rizicích a možnosti prevence. Lépe jsou informovány ženy než muži, přičemž ochota nechat se očkovat byla nejvyšší ve věkové kategorii 35–54 let.

ZÁVĚRY:

Rostoucí trend v počtu nakažených černým kašlem v ČR je pravděpodobně způsoben součinností několika faktorů. V současnosti používaná acelulární vakcína má nižší imunogenicitu. Dochází k vyvanutí imunity po méně než deseti letech od posledního očkování. A v neposlední řadě se stále zvyšující migrací obyvatelstva dochází ke změně serotypu *Bordatella pertusis*. V návaznosti na výsledky našeho šetření bychom doporučili zlepšení informovanosti populace o trojvakcíně proti tetanu, diftérii a pertusi, dále povinné očkování jedinců, kteří jsou v kontaktu s rizikovou skupinou kojenců (cocoon strategií), zkrácení intervalu na přeočkování a zkvalitnění surveillance pertuse.

KLÍČOVÁ SLOVA:

epidemiologie, pertuse, riziko, informovanost, prevence, očkování

UŽÍVÁNÍ TABÁKOVÝCH VÝROBKŮ A POZORNOST ŘIDIČŮ

Autor: Adéla Valchová, Ondřej Kopečný, Lenka Nevrlková
Školitel: doc. MUDr. Eva Králíková, CSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

Kouření za volantem jednak ovlivňuje pozornost řidiče mechanicky, jednak vlivem chemických látek, které kouř obsahuje.

METODY:

Anonymní dotazník vyplnilo 100 řidičů motorových vozidel (z toho 48 řidičů z povolání) během října 2012. Otázky se týkaly kouření při řízení motorového vozidla, manipulace s cigaretou, kouření v přítomnosti dětí, názor spolujezdce na řidiče-kuřáka.

VÝSLEDKY:

Mezi řidiči bylo 87 % kuřáků, tedy více než dvojnásobek v porovnání s populací. Za jízdy kouří 77 % kuřáků, 41 % již někdy vypadla cigareta během jízdy z ruky, nehodu způsobenou kouřením uvedlo 44 % kuřáků. I když 75 % kuřáků si zapaluje cigaretu v autě autozapalovačem, 32 % používá také zapalovač a 26 % sirky (bylo více možných odpovědí), které během jízdy mohou způsobit oslnění, zhoršit schopnost ovládat vozidlo. Kouření během jízdy s dítětem v autě uvedlo 15 %, se spolujezdcem 62 %.

ZÁVĚRY:

Kouření během řízení motorového vozidla je podceňovaným rizikem, a to jak z hlediska manipulace s hořící cigaretou, tak z hlediska oslnění při zapalování či potenciálně snížené pozornosti a tím zvýšení rizika nehody.

KLÍČOVÁ SLOVA:

kouření, řízení motorového vozidla, nehoda



Oceněný student postgraduálního studia RNDr. Peter Gál.

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ I. - IV. VÍTĚZNÉ PRÁCE

I.

Sérové koncentrace a mRNA exprese omentinu v podkožní tukové tkáni u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu: vliv nízkokalorické diety, fyzické aktivity a laparoskopické tubulizace žaludku

Autoři: M. Urbanová, I. Dostálová, J. Jahodová, R. Pavlovičová, M. Čechová, M. Matoulek, D. Haluzíková, M. Mráz, Z. Lacinová
Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

Molekuly uvolňující oxid uhelnatý – nový přístup k léčbě zánětlivých onemocnění

Autoři: Jakub Šuk, Kateřina Váňová
Školitelka: MUDr. Lucie Muchová, Ph.D., Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

Úloha lyzyl oxidázy a jej izoenzymů v patogeneze keratokonu

Autor: Ľubica Ďudáková, Šárka Kalašová, Petra Lišková, Kateřina Jirsová
Školitel: Mgr. Kateřina Jirsová, Ph.D., Laboratoř biologie a patologie oka, Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN

II.

Odlíšná úloha galektinů 1 a 3 ve vytváření mikroprostředí hojící se kožní ráně *in vitro* a *in vivo*

Autoři: Peter Gál, Tomáš Vasilenko, Vlasta Perželová, Barbora Dvořánková
Školitel: prof. MUDr. Karel Smetana, DrSc., Anatomický ústav 1. LF UK

Kvantifikace subpopulací hematopoetických kmenových a progenitorových buněk u pacientů se zralými B-lymfoproliferacemi.

Autoři: Lucie Latečková, Bokang Maswabi
Školitel: MUDr. Pavel Klener, Ph.D., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK

Kmenové buňky dlaždicových karcinomů hlavy a krku

Autoři: Fík Z., Chovanec M., Boucek J., Betka J., Kodet O., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Plzák J., Betka J.
Školitel: MUDr. Martin Chovanec, Ph.D., Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FNM; Anatomický ústav 1. LF UK

III.

Učení a paměť u Nogo-A deficientních transgenních potkanů

Autoři: Tomáš Petrásek, Iva Prokopová, Iveta Vojtěchová, Štěpán Bahník, Aleš Stuchlík
Školitel: RNDr. Aleš Stuchlík, Ph.D., Fyziologický ústav AV ČR

Mitochondriální ATPáza Lace1

Autoři: Česneková J., Zeman J., Stibůrek L.
školitel: RNDr. Lukáš Stibůrek, Ph.D., Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

The effects of restraint stress on heart M₂ muscarinic receptors signaling

Authors: Paulina Valušková, Hana Tomanková, Jana Rotková, Eva Vařejková, Jan Beneš
Supervisor: doc. MUDr. Jaromir Mysliveček, Ph.D., Fyziologický ústav 1. LF UK

IV.

Rings&Rods, struktury tvořené enzymem inosin 5-mono-fosfát dehydrogenázou: popis ultrastruktury a dynamika tvorby

Autor: Pavel Jůda
Školitel: doc. RNDr. Dušan Cmarko, CSc., Ústav buněčné biologie a patologie 1. LF UK

Nativní formy proteinu TMEM70 a jeho topologie ve vnitřní mitochondriální membráně

Autoři: Hana Kratochvílová, Markéta Tesařová, Kateřina Hejzlarová, Tomáš Mráček, Marek Vrbacký, Vendula Karbanová, Adriána Gombitová, Dušan Cmarko, Josef Houšťek, Jiří Zeman.
Školitelka: Ing. Markéta Tesařová, Ph.D., Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Toxicita uhlíkových nanočástic v kulturách endotelových a neuronálních buněk

Autorka: Marcela Filipová
Školitel: Ing. Karel Holada, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN

SÉROVÉ KONCENTRACE A MRNA EXPRESE OMENTINU V PODKOŽNÍ TUKOVÉ TKÁNI U PACIENTŮ S OBEZITOU A DIABETES MELLITUS 2. TYPU: VLIV NÍZKOKALORICKÉ DIETY, FYZICKÉ AKTIVITY A LAPAROSKOPICKÉ TUBULIZACE ŽALUDKU



Autoři: M. Urbanová, I. Dostálová, J. Jahodová, R. Pavlovičová, M. Čechová, M. Matoulek, D. Haluzíková, M. Mráz, Z. Lacinová

Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

VÝCHODISKO:

Omentin je nový adipocytární hormon exprimovaný převážně ve viscerální tukové tkáni, který vykazuje příznivé účinky na inzulínovou senzitivitu. V naší práci jsme hodnotili sérové koncentrace omentinu a jeho mRNA expresi v podkožní tukové tkáni (SCAT) u obézních žen s a bez přítomnosti diabetes mellitus 2. typu za bazálních podmínek a po vybraných léčebných intervencích.

METODY:

Do studie bylo zařazeno 11 obézních žen s diabetes mellitus 2. typu (T2DM), 37 obézních žen bez diabetes mellitus (OB) a 26 zdravých štíhlých žen (KO). Sérové koncentrace omentinu a jeho mRNA exprese v podkožní tukové tkáni byly stanoveny vstupně a po vybraných intervencích – 2 týdny nízkokalorické diety (VLCD, energetický příjem 600 kcal/den), 3 měsíce pravidelné fyzické aktivity (30 minut aerobního cvičení 3x týdně) a laparoskopická tubulizace žaludku (laparoscopic sleeve gastrectomy – LSG).

VÝSLEDKY:

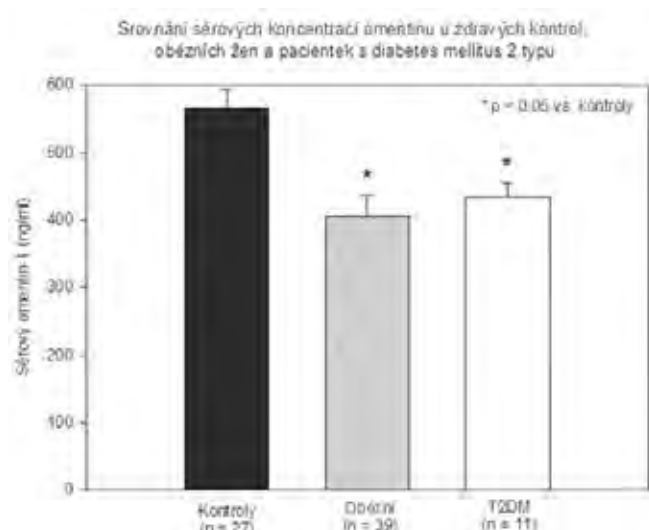
Ve srovnání s KO skupinou byly bazální sérové hladiny omentinu signifikantně sniženy jak u T2DM, tak u OB pacientek ($474,9 \pm 44,6$ a $397,6 \pm 30,4$ vs. $565,5 \pm 27,7$ ng/ml; $p < 0,05$, graf 1), zatímco jeho mRNA exprese v SCAT se mezi sledovanými skupinami významně nelišila (graf 2). Fyzická aktivita ani VLCD neměly zásadní vliv na sérové koncentrace ani na genovou expresi omentinu u OB nebo T2DM skupiny. U OB skupiny vedla LSG v průběhu 2letého sledování k perzistentnímu vzestupu sérových koncentrací omentinu ($455,7 \pm 34,8$ ng/ml; $p = 0,002$ po 1. roce a $449,7 \pm 44,8$ ng/ml; $p = 0,017$ po 2. roce, graf 3), zatímco v SCAT došlo k poklesu jeho mRNA exprese (graf 4). V kombinované populaci zahrnující všechny skupiny korelovaly sérové koncentrace omentinu negativně s BMI, hsCRP, inzulinem, LDL cholesterolem, triacylglyceroly a leptinem a pozitivně s HDL cholesterolem. mRNA exprese omentinu v SCAT nekorelovala se žádným ze sledovaných antropometrických nebo biochemických parametrů.

ZÁVĚRY:

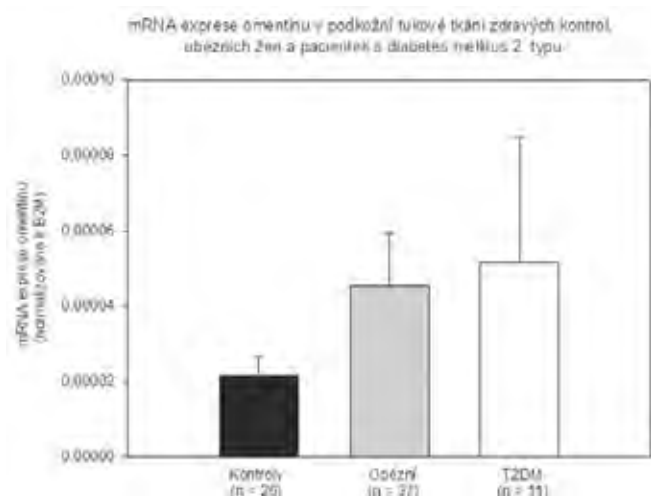
Nižší sérové koncentrace omentinu mohou hrát úlohu při vzniku obezity a diabetes mellitus 2. typu. Jejich vzestup spolu se snížením exprese omentinu v SCAT se může podílet na zlepšení metabolického profilu navozeném bariatrickým výkonem.

KLÍČOVÁ SLOVA:

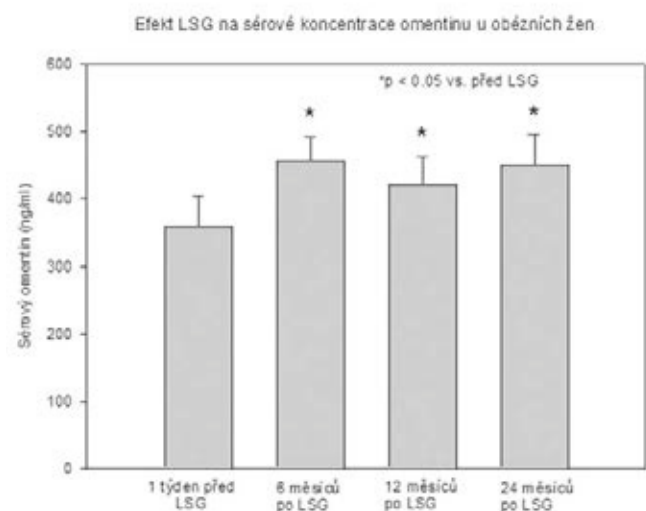
Obezita, diabetes mellitus 2. typu, omentin, laparoskopická tubulizace žaludku



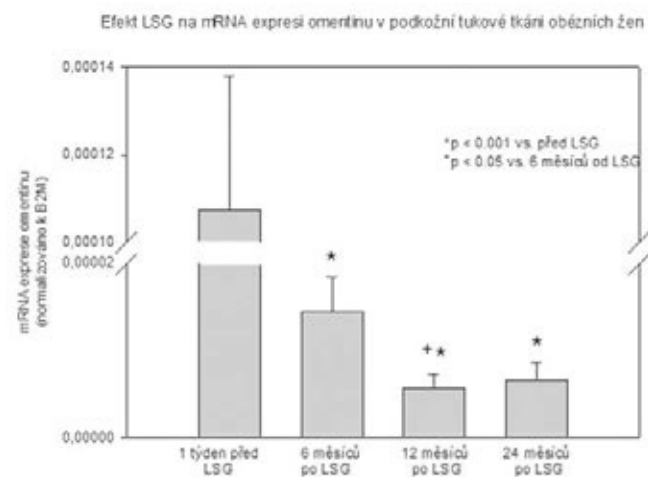
Graf 1: Sérové koncentrace omentinu u zdravých kontrol, obézních žen a pacientek s diabetes mellitus 2. typu za vstupních podmínek. * $p < 0,001$ vs. kontrolní skupina



Graf 2: mRNA exprese omentinu v podkožní tukové tkáni u obézních žen, pacientek s diabetem mellitus 2. typu a zdravých kontrol za vstupních podmínek.



Graf 3: Efekt laparoskopické tubulizace žaludku (LSG) na sérové koncentrace omentinu (ITLN1) u pacientek s obezitou (n = 13). Pacientky byly vyšetřeny před chirurgickým zákrokem a 6, 12 a 24 měsíců od operace. *p < 0.001 vs. před LSG



Graf 4: Efekt laparoskopické tubulizace žaludku (LSG) na mRNA expresi omentinu (ITLN1) v podkožní tukové tkáni u pacientek s obezitou (n = 13). Pacientky byly vyšetřeny před chirurgickým zákrokem a 6, 12 a 24 měsíců od operace. *p < 0.001 vs. před LSG; *p < 0.05 vs. v 6 měsíci od operace.

MOLEKULY UVOLŇUJÍCÍ OXID UHELNATÝ – NOVÝ PŘÍSTUP K LÉČBĚ ZÁNĚTLIVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Autoři: Jakub Šuk, Kateřina Váňová
Školitelka: MUDr. Lucie Muchová, Ph.D., Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN



Oxid uhelnatý (CO), uvolňovaný při katabolismu hemu enzymem hemoxygenasou (HMOX), je dnes považován za cytoprotektivní a homeostatickou molekulu s významnými signálními schopnostmi při fyziologických a patofyziologických stavech v organismu. Jednou z možností dopravy CO do organismu je inhalace. Její využití je ovšem limitováno vazbou CO na hemoglobin. Alternativní volbou je aplikace komplexů přechodných kovů, které jsou schopné uvolňovat CO za fyziologických podmínek (CO-RM). Cílem studie je zjistit, zda je CO uvolněný z těchto látek distribuován do cílových tkání a zda má podání protektivní vliv u lipopolysacharidem (LPS) indukované endotoxemie.

METODY:

In vivo experimenty byly provedeny na samicích potkana kmene Wistar, kterým byl podán CO (inhalace, CORM-A1 či CORM-3) v kombinaci s LPS či inaktivní molekulou CORM (kontroly). Vybrané orgány pro stanovení obsahu CO (játra, mozek, ledviny, slezina, plíce, srdce), aktivity a exprese HMOX (játra), a exprese mRNA vybraných cytokinů (játra) byly odebrány v několika časových intervalech. Krev byla odebrána pro stanovení karboxylhemoglobinu a markerů jaterního poškození.

VÝSLEDKY:

Zvolená dávka CORM-A1 vedla ke zvýšení koncentrace CO v orgánech, která byla nižší ve srovnání s inhalací. Podání CORM-3 nevedlo k významné změně koncentrace CO ve vybraných orgánech. Následné analýzy prokázaly přítomnost toxických nečistot (pyridinu) v CORM-A1, proto byla dále testována jen molekula CORM-3. Podání CORM-3 před aplikací LPS vedlo k významnému snížení aktivity AST a bilirubinu oproti LPS skupině. Expese *TNFα* v jaterní tkáni u CORM-3+LPS skupiny byla snížena již po 30 minutách oproti LPS skupině.

ZÁVĚR:

Aplikace CORM-A1 vedla ke zvýšení obsahu CO v periferních tkáních s téměř trojnásobně nižší tvorbou COHb ve srovnání s inhalačním podáním. Přestože aplikace CORM-3 nevedla k měřitelnému zvýšení obsahu CO ve vybraných orgánech, výsledky poukazují na možný anticholestatický a protizánětlivý účinek již nízkých koncentrací CO u experimentálně vyvolané endotoxemie. Vzhledem k omezené tvorbě toxického COHb se molekuly CO-RM jeví jako vhodná aplikační cesta terapeutických dávek CO.

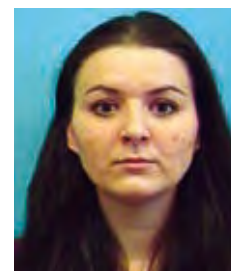
KLÍČOVÁ SLOVA:

hemoxygenasa, oxid uhelnatý, CO-RM, lipopolysacharid, endotoxemie

Práce byla podpořena granty GAUK 251202 a IGA MZ ČR NR/11327-4.

ÚLOHA LYZYL OXIDÁZY A JEJ IZOENZÝMOV V PATOGENÉZE KERATOKONU

Autor: Lubica Ďudáková, Šárka Kalašová, Petra Lišková, Kateřina Jirsová
Školitel: Mgr. Kateřina Jirsová, Ph.D., Laboratoř biologie a patologie oka, Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

Rodina lyzyl oxidázy, zahŕňajúca lyzyl oxidázu (LOX) a štyri LOX-like enzýmy, katalyzuje tvorbu väzieb medzi elastínovými a kolagénovými vláknami. Jednotlivé enzýmy sa od seba líšia v N-terminálnej oblasti, ktorá pravdepodobne určuje substrátovú a tkanivovú špecifitu (1). Nedávno sme popísali nižšiu aktivitu a nepravidelnú distribúciu LOX v keratokonických (KC) rohovkách v porovnaní so zdravými kontrolami (2). Aby sme rozšírili vedomosti o tejto enzýmovej rodine, zamerali sme sa na detekciu ostatných členov tejto enzýmovej rodiny v zdravej a KC rohovke.

METÓDY:

Pomocou nepriamej fluorescenčnej imunohistochemie sme na kryorezoch ľudskej kontrolnej (KO) a KC rohovky sledovali expresiu LOX-like enzýmov za použitia myších protilátok anti-LOX-like 1 (sc-166632, Santa Cruz, 1:25) a anti-LOX-like 2 (ab60753, Abcam, 1:125) a králičích anti-LOX-like 3 (sc-68939, Santa Cruz, 1:100) a 4 (ab88186, Abcam, 1:75). Hodnotených bolo 6 KO a 6 KC rohoviek. Na sklíčku boli vždy 4 kryorezy, pričom 3 boli použité na sledovanie expresie LOX-like enzýmov a jeden bol použitý ako negatívna kontrola. Experiment sme vždy opakovali dvakrát. Intenzita signálu bola hodnotená za použitia škály: 0: bez signálu, 1: slabý, 2: stredne silný, 3: silný signál.

VÝSLEDKY:

Slabý signál LOX-like 1 sme pozorovali v KO ako aj KC vzorkách. Po použití LOX-like 2 protilátky sme pozorovali stredne silný až silný signál vo všetkých vrstvách KO rohoviek. Nepravidelný signál v epiteli a gradientové znižovanie intenzity signálu od stredne silného po slabý sme pozorovali v stróme KC rohoviek. Po použití LOX-like 3 protilátky sme pozorovali mierne až intenzívne farbenie epitelu a endotelu v KO i KC vzorkách. Intenzita signálu v stromálnej oblasti KO vzoriek bola slabá a takmer úplne chýbala vo väčšine KC vzoriek. Stredne silný až silný signál v epiteli a endoteli a stredne silný signál v stróme s bodkovatým vzorom sme pozorovali KO a KC rohoviek za použitia protilátky LOX-like 4.

ZÁVER:

Takmer žiadny rozdiel sme nenašli medzi KO a KC rohovkami vo farbení s protilátkami LOX-like 1 a 4. Pokles v intenzite signálu protilátok LOX-like 2 a 3 v KC vzorkách by mohol indikovať, že i ďalší členovia tejto enzýmovej rodiny sú zapojení v patogenéze keratokonu.

KLÚČOVÉ SLOVÁ:

keratokonus, lyzyl oxidáza, imunohistochemia

Tato práca vznikla za podpory grantu PRVOUK-P24/LF1/3 a SVV 266504.

POUŽITÁ LITERATÚRA:

- Mäki JM., Sormunen R., Lippo S., Kaarteenaho-Wiik R., Soininen R., Myllyharju J. Lysyl Oxidase Is Essential for Normal Development and Function of the Respiratory System and for the Integrity of Elastic and Collagen Fibers in Various Tissues. *Am J Pathol.* 2005; 167(4): 927–936.
- Dudakova L, Liskova P, Trojek T, Palos M, Kalasova S, Jirsova K. Changes in lysyl oxidase (LOX) distribution and its decreased activity in keratoconus corneas. *Exp Eye Res.* 2012;104:74-81.

ODLIŠNÁ ÚLOHA GALEKTINŮ 1 A 3 VE VYTVÁŘENÍ MIKRO-PROSTŘEDÍ HOJÍCÍ SE KOŽNÍ RÁNĚ *IN VITRO* A *IN VIVO*

Autoři: Peter Gál, Tomáš Vasilenko, Vlasta Perželová, Barbora Dvořánková
Školitel: prof. MUDr. Karel Smetana, DrSc., Anatomický ústav 1. LF UK



ÚVOD:

Galektiny patří mezi endogenní lektiny – bílkoviny specificky rozpoznávající cukerné motivy. Tyto lektiny hrají důležitou roli v procesu buněčné proliferace, diferenciaci, migrace a tvorby mezibuněčné hmoty. Jsou navíc schopny přenášet buněčné signály a účastnit se mezibuněčné interakce. Galektin-1 je ve zvýšeném množství přítomen v buňkách a mezibuněčné hmotě stromatu různých lidských nádorů a v granulační tkáni hojící se rány (Thijssen et al. 2007; Thijssen et al. 2010; Klíma et al. 2009; Gál et al. 2011; Valach et al. 2012). Tento galektin hraje důležitou roli v nádorové angiogenezi i v samotném růstu a metastazování nádorů (Saussez et al. 2008; Saussez et al. 2009). Přesná biologická funkce galektinu-1 při tvorbě nádorového mikroprostředí a hojení ran, ale zůstává stále předmětem dalšího výzkumu. Dále je známo, že galektin-3 je významným induktorem tkáňové fibrózy (Henderson et al. 2006; Henderson et al. 2008; de Boer et al. 2009). Přes tyto dílčí informace podrobná data o účinku ostatních galektinů při tvorbě nádorového stromatu a granulační tkáně/jizvy nejsou známa. Cílem předložené práce bylo studium role galektinů-1 a -3 v hojení ran.

METODY:

Na zádech všech potkanů byly vytvořeny 2 rány: 1 x incizní rána a 2 x cirkulární excizní rána s 10 mm průměrem (kraniálně a kaudálně od rány incizní). Incizní rána byla suturována intradermálním stehem za použití atraumatického monofilního šicího materiálu (celý operační výkon probíhal v celkové anestéze a za aseptických podmínek). Potkani byli léčeni fyziologickým roztokem (kontrola) respektive příslušným galektinem (galektin-1 a -3 v koncentraci 20 ng/ml (Cao et al. 2002)) naředěným ve fyziologickém roztoku (negativní kontrola – Gal-1-E71Q bez biologické aktivity). Všechny roztoky byly připraveny sterilně a aplikované lokálně (za pomoci očního kapátka) přímo do rány v den operace a 3 pooperační dny. Zvířata byla před odběrem vzorků usmrcena dekapitací. Rány byly odebírány ve dvou časových intervalech: proliferační fáze – 7 dní a maturační fáze – 21 dní po operaci. Incizní rány byly odebírány za účelem měření pevnosti ran (Gál et al. 2009) a excizní rány byly odebírány na histologické vyšetření (včetně imunohistochemické analýzy, průkaz fibronektinu a α -SMA) a na měření kontrakce rány. Při *in vitro* pokusech byla studována interakce mezi ECM vyprodukovanou normálními fibroblasty (bez a po stimulaci s galektinem-1 a -3 v koncentraci 300 mg/ml (Dvořánková et al. 2011) a interfolikulárními keratinocyty. Vzorky byly zpracovány pro potřeby imunocytochemické analýzy a barveny pro průkaz vybraných keratinů (K19, K14, K10) a Ki67. Následně byl sledován účinek galektinů-1 a -3 na diferenciaci fibroblastů na myofibroblasty (průkaz α -SMA) a produkci ECM (průkaz fibronektinu).

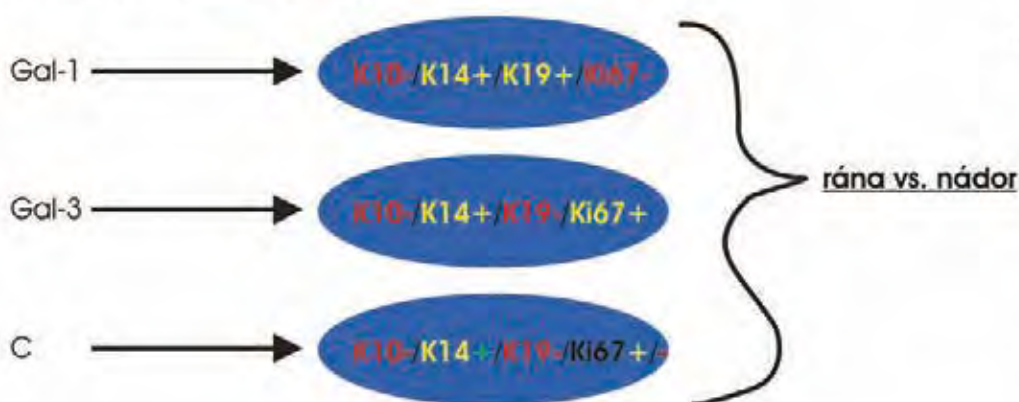
VÝSLEDKY A DISKuze:

Již dlouhou dobu se zdá, že existuje určitá paralela mezi hojením rány a růstem nádoru (Dvorak et al. 1986; Kolar et al. 2012). Terapeutické řešení obou patologických stavů vyvolává potřebu komplexního přístupu, v němž nelze opomenout vazivovou komponentu vytvářející vhodné mikroprostředí. Klíčovou roli při vytváření nádorového stromatu a granulační tkáně hrají fibroblasty (Strnad et al. 2010; Plzák et al. 2010; Dvořánková et al. 2011; Valach et al., 2012). Fibroblasty jsou potentním zdrojem růstových faktorů, stejně jako významnými producenty strukturních makromolekul tvořící ECM. Neopomenutelná je jejich schopnost diferencovat se v myofibroblasty, které mají významnou roli při kontrakci rány a významně ovlivňují biologické vlastnosti nádoru (Valach et al. 2012). Bylo prokázáno, že některé galektiny se významně podílejí na tvorbě mikroprostředí nádoru. V prezentované práci jsme ukázali, že galektin-1 a -3 mají odlišný modulační efekt na hojící se ránu a na vybrané buňky (fibroblasty a keratinocyty) zapojené do hojení ran. Galektin-1 vytvářel vhodné mikroprostředí (produkce fibronektinové sítě) na přítomnost slabě diferencovaných epitelových buněk (K19 pozitivních a Ki67 negativních) a indukoval diferenciaci fibroblastů na myofibroblasty (α -SMA pozitivních) a kontrakci rány. Na druhou stranu galektin-3 podporoval zrání granulační tkáně (organizaci kolagenu) a zvyšoval pevnost rány. Z tohoto hlediska by stálo za zvážení zvolit odlišný přístup k terapii excizní a incizní ráně. Obecně však můžeme konstatovat, že poznání daných procesů přispěje k porozumění komplexního charakteru biologie hojící se rány a její paralely k nádoru.

KLÍČOVÁ SLOVA:

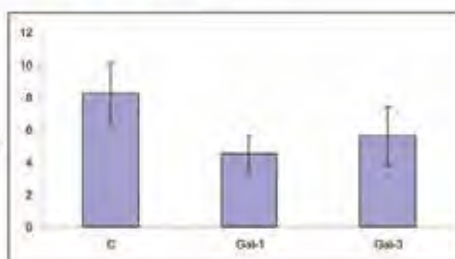
reparace, regenerace, glykobiologie, mezibuněčné interakce

Interakce ECM - keratinocyt

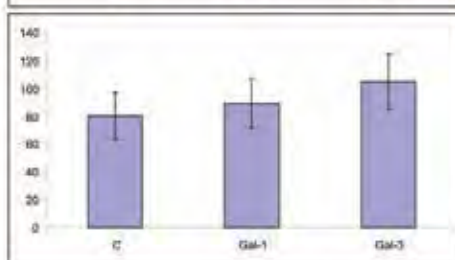


APLIKACE = ROZDÍLNÁ TERAPIE INCIZNÍ A EXCIZNÍ RÁNY

Vliv Gal-1 a -3 na kontrakci rány



Vliv Gal-1 a -3 na pevnost rány



Obr. 1: Rozdílný efekt galektinu-1 a galektinu-3 na fibroblasty a keratinocyty s přímým dopadem na kontrakci/pevnost rány.

LITERATURA

- de Boer RA, Voors AA, Muntendam P, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. Eur J Heart Fail. 2009 Sep;11(9):811-7.
- Cao Z, Said N, Amin S, Wu HK, Bruce A, Garate M, Hsu DK, Kuwabara I, Liu FT, Panjwani N. Galectins-3 and -7, but not galectin-1, play a role in re-epithelialization of wounds. J Biol Chem. 2002 Nov 1;277(44):42299-305.
- Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. N Engl J Med. 1986 Dec 25;315(26):1650-9.
- Dvořánková B, Szabo P, Lacina L, Gal P, Uhrova J, Zima T, Kaltner H, André S, Gabius HJ, Sykova E, Smetana K Jr. Human galectins induce conversion of dermal fibroblasts into myofibroblasts and production of extracellular matrix: potential application in tissue engineering and wound repair. Cells Tissues Organs. 2011;194(6):469-80.
- Gál P, Toporcer T, Vidinský B, Hudák R, Zivcák J, Sabo J. Simple interrupted percutaneous suture versus intradermal running suture for wound tensile strength measurement in rats: a technical note. Eur Surg Res. 2009;43(1):61-5.
- Gál P, Vasilenko T, Kostelníková M, Jakubco J, Kovác I, Sabol F, André S, Kaltner H, Gabius HJ, Smetana K Jr. Open Wound Healing In Vivo: Monitoring Binding and Presence of Adhesion/Growth-Regulatory Galectins in Rat Skin during the Course of Complete Re-Epithelialization. Acta Histochem Cytochem. 2011 Oct 26;44(5):191-9.
- Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Poirier F, Russo FP, Iredale JP, Haslett C, Simpson KJ, Sethi T. Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 28;103(13):5060-5. Epub 2006 Mar 20.
- Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Kipari T, Haslett C, Iredale JP, Liu FT, Hughes J, Sethi T. Galectin-3 expression and secretion links macrophages to the promotion of renal fibrosis. Am J Pathol. 2008 Feb;172(2):288-98.
- Klíma J, Lacina L, Dvořánková B, Herrmann D, Carnwath JW, Niemann H, Kaltner H, André S, Motlík J, Gabius HJ, Smetana K Jr. Differential regulation of galectin expression/reactivity during wound healing in porcine skin and in cultures of epidermal cells with functional impact on migration. Physiol Res. 2009;58(6):873-84.

- Kolář M, Szabo P, Dvořánková B, Lacina L, Gabius HJ, Strnad H, Sáčková J, Vlček C, Plzák J, Chovanec M, Cada Z, Betka J, Fík Z, Pačes J, Kovářová H, Motlík J, Jarkovská K, Smetana K Jr. Upregulation of IL-6, IL-8 and CXCL-1 production in dermal fibroblasts by normal/malignant epithelial cells in vitro: Immunohistochemical and transcriptomic analyses. *Biol Cell*. 2012 Dec;104(12):738-51.
- Plzák J, Lacina L, Chovanec M, Dvořánková B, Szabo P, Cada Z, Smetana K Jr. Epithelial-stromal interaction in squamous cell epithelium-derived tumors: an important new player in the control of tumor biological properties. *Anticancer Res*. 2010 Feb;30(2):455-62.
- Saussez S, Decaestecker C, Lorfèvre F, Chevalier D, Mortuaire G, Kaltner H, André S, Toubeau G, Gabius HJ, Leroy X. Increased expression and altered intracellular distribution of adhesion/growth-regulatory lectins galectins-1 and -7 during tumour progression in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. *Histopathology*. 2008 Mar;52(4):483-93.
- Saussez S, Decaestecker C, Cludts S, Ernoux P, Chevalier D, Smetana K Jr, André S, Leroy X, Gabius HJ. Adhesion/growth-regulatory tissue lectin galectin-1 in relation to angiogenesis/lymphocyte infiltration and prognostic relevance of stromal up-regulation in laryngeal carcinomas. *Anticancer Res*. 2009 Jan;29(1):59-65.
- Strnad H, Lacina L, Kolář M, Cada Z, Vlček C, Dvořánková B, Betka J, Plzák J, Chovanec M, Sáčková J, Valach J, Urbanová M, Smetana K Jr. Head and neck squamous cancer stromal fibroblasts produce growth factors influencing phenotype of normal human keratinocytes. *Histochem Cell Biol*. 2010 Feb;133(2):201-11.
- Thijssen VL, Poirier F, Baum LG, Griffioen AW. Galectins in the tumor endothelium: opportunities for combined cancer therapy. *Blood*. 2007 Oct 15;110(8):2819-27.
- Thijssen VL, Barkan B, Shoji H, Aries IM, Mathieu V, Deltour L, Hackeng TM, Kiss R, Kloog Y, Poirier F, Griffioen AW. Tumor cells secrete galectin-1 to enhance endothelial cell activity. *Cancer Res*. 2010 Aug 1;70(15):6216-24.
- Valach J, Fík Z, Strnad H, Chovanec M, Plzák J, Cada Z, Szabo P, Sáčková J, Hroudová M, Urbanová M, Steffl M, Pačes J, Mazánek J, Vlček C, Betka J, Kaltner H, André S, Gabius HJ, Kodet R, Smetana K Jr, Gál P, Kolář M. Smooth muscle actin-expressing stromal fibroblasts in head and neck squamous cell carcinoma: increased expression of galectin-1 and induction of poor prognosis factors. *Int J Cancer*. 2012 Dec 1;131(11):2499-508.



Děkan 1. LF UK profesor Aleksi Šedo předává cenu studentovi postgraduálního studia Mgr. Tomáši Petráškoví.

KVANTIFIKACE SUBPOPULACÍ HEMATOPOETICKÝCH KMENOVÝCH A PROGENITOROVÝCH BUNĚK U PACIENTŮ SE ZRALÝMI B-LYMFOPROLIFERACEMI.

Autoři: Lucie Latečková, Bokang Maswabi

Školitel: MUDr. Pavel Klener, Ph.D., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK



VÝCHODISKO:

Zralé B-lymfoproliferace jsou nádorová onemocnění, u kterých se předpokládá, že vznikají maligní transformací B-lymfocyty na různém stupni jeho vývoje od přeskupení imunoglobulinových genů v kostní dřeni, přes přepínání tříd imunoglobulinů a somatické hypermutace v zárodečných centrech lymfatických uzlin, až po terminální diferenciaci v plazmatickou buňku. Hematopoetické kmenové a progenitorové buňky by se podle tohoto paradigmatu neměly patogeneze účastnit. Kikushige et al. nedávno zjistili, že hematopoetické kmenové buňky u pacientů s chronickou lymfatickou leukémií (CLL) jsou mutované a u pacientů dochází ke zmnožení pro-B lymfocytů.

METODY:

Kvantifikace hematopoetických kmenových a progenitorových buněk v kostní dřeni u pacientů se zralými B-lymfoproliferacemi oproti zdravým kontrolám pomocí vícebarevné průtokové cytometrie.

VÝSLEDKY:

Zjistili jsme, že v kostní dřeni pacientů s CLL a s folikulárním lymfomem dochází ke zmnožení populací multilymfoidních progenitorů (MLP) a pro-B lymfocytů oproti zdravým kontrolám. U pacientů s lymfomem z plášťových buněk je populace MLP snížena a k akumulaci dochází na úrovni multipotentních progenitorů.

ZÁVĚRY:

U pacientů s některými podtypy zralých B-lymfoproliferací dochází ke zmnožení nezralých progenitorů. Předpokládáme, že tyto progenitory by mohly mít význam v patogenezi těchto onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA:

lymfom, kmenové buňky, progenitorové buňky



Studentka postgraduálního studia Mgr. Jana Česneková.



KMENOVÉ BUŇKY DLAŽDICOVÝCH KARCINOMŮ HLAVY A KRKU

Autoři: Fík Z., Chovanec M., Boucek J., Betka J., Kodet O., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Plzák J., Betka J.
Školitel: MUDr. Martin Chovanec, Ph.D., Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FNM; Anatomický ústav 1. LF UK



ÚVOD:

Dlaždicové karcinomy hlavy a krku jsou zhoubné epiteliální novotvary vznikající maligní transformací buněk epitelů sliznic horní části dýchacího a trávicího systému. Tvoří 85–90 % všech zhoubných nádorů hlavy a krku. Celosvětovou incidencí kolem 500 000 nových případů ročně se řadí na 5. místo v četnosti mezi lidskými malignitami.

I přes pokroky v diagnostice a zavedení nových kombinovaných léčebných postupů (chirurgie, radioterapie, chemoterapie, biologická léčba) nedošlo v posledních dekadách k výraznému zlepšení prognózy ve smyslu prodloužení dlouhodobého přežití.

V nádorové biologii je v posledních dvou dekadách studována role tzv. nádorových kmenových buněk (CSCs – *cancer stem cells*). Předpokládá se, že nejen růst, ale i šíření nádorů jsou řízeny malou subpopulací nádorových kmenových buněk, které jsou schopné dlouhodobé sebeobnovy a generování fenotypově odlišných nádorových buněčných populací. Nádorové kmenové buňky jsou pravděpodobně zodpovědné za resistenci nádorů vůči radioterapii či chemoterapii. Lze tedy předpokládat, že terapie cílená a eliminující tuto subpopulaci by mohla představovat novou a více efektivní strategii v protinádorové léčbě.

METODY:

Expresí markerů diferenciací, endogenních galektinů, proliferčních znaků, adhezivních molekul a potenciálních znaků kmenových buněk byla studována ve třech krocích. Zaprvé v podmínkách kultivace *in vitro* v liniích dlaždicového karcinomu FaDu, a to jednak v izolované linii, jednak v ko-kultuře s lidskými fibroblasty (HF - *human fibroblasts*) a nádorovými fibroblasty dlaždicového karcinomu (SCCF – *squamous cell carcinoma fibroblast*), s odečítáním výsledků 2., 7. a 9. kultivačního dne.

Druhým krokem bylo studium tkání dlaždicových karcinomů, chirurgických okrajů nádoru a netransformovaných epitelů *in situ*, odebraných peroperačně od pacientů, operovaných na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN v Motole. Identifikace tzv. „*side population*“, jakožto modelu chemoresistentních buněk, byla provedena pomocí analytické cytochemie, a to v den 0.

VÝSLEDKY:

V tkáňové kultuře vykazovala exprese řady studovaných znaků vztah k délce kultivace a morfologii buněk. Expresí znaků kmenových buněk byla nejvýraznější v malých vysoce nakupených buňkách v raných stádiích kultivace. V pokročilejších stádiích kultivace byl podíl buněk se známkami kmenovosti redukován. Byly-li nádorové buňky vystaveny vlivu fibroblastů, především pak nádorových, pozorovali jsme v okrajích kolonií zvýšenou expresi potenciálních znaků kmenových buněk. *In situ*, především v tkáních karcinomů, byla též prokazována přítomnost buněk se znaky kmenovosti, lokalizovanými do okrajů nádorových kolonií. Buňky *side population* též bohatě exprimovaly sledované znaky.

Tato sledování nasvědčují významu studia kmenových buněk v biologii transformovaných a netransformovaných dlaždicových epitelů. Bližší pochopení a identifikace nádorových kmenových buněk představuje potenciální cíl směřované biologické léčby.

KLÍČOVÁ SLOVA:

nádorová kmenová buňka, nádorový fibroblast, cílená léčba

Tato práce vznikla za podpory GAUK, číslo grantu 291811.

UČENÍ A PAMĚŤ U NOGO-A DEFICIENTNÍCH TRANSGENNÍCH POTKANŮ

Autoři: Tomáš Petrásek, Iva Prokopová, Iveta Vojtěchová, Štěpán Bahník, Aleš Stuchlík
Školitel: RNDr. Aleš Stuchlík, Ph.D., Fyziologický ústav AV ČR



ÚVOD:

Protein Nogo-A náležející do skupiny inhibitorů axonálního růstu asociovaných s myelinem je exprimován v neuronech i gliích a významně se podílí na nízkém regeneračním potenciálu lidské CNS. Zablokování funkce této molekuly má terapeutický potenciál v léčbě úrazů a degenerativních onemocnění mozku a páteřní míchy. Role Nogo-A pro normální fungování mozku je prozkoumána méně, je ale známo, že je důležitou regulační molekulou během ontogenetického vývoje, a také v dospělém mozku působí jako regulátor synaptické plasticity. Velmi vysoká je jeho koncentrace zejména v hipokampu, struktuře vyznačující se vysokou plasticitou a zachovanou schopností neurogeneze v dospělém věku, která je významná zejména pro prostorovou navigaci a vytváření paměťových stop.

Dosavadní výzkum na myších modelech i genetické asociační studie u lidských pacientů poukazují na možnou souvislost mezi sníženou expresí Nogo-A a psychiatrickými poruchami, jako je schizofrenie. K projevům schizofrenie přitom patří také zhoršení kognitivních funkcí, včetně těch závislých na hipokampu.

Cílem této práce byla behaviorální charakterizace nového animálního modelu, kterým je transgenní potkan s deficiencí Nogo-A (knock-down Nogo-A genu specifický pro neurony). Výzkum byl zaměřen především na hipokampálně závislé kognitivní funkce.

METODY:

Transgenní zvířata byla vyvinuta pracovišti ve Švýcarsku a Německu. Příprava transgenu a jeho neurofyziologické i základní behaviorální projevy jsou popsány ve studii Tews et al. (2013).

K hodnocení sensorimotorických schopností byly použity jednoduché testy, jako je chůze po laťce (*beam walking*) a hledání viditelného ostrůvku v Morrisově vodním bludišti. Kognitivní schopnosti byly testovány s pomocí Morrisova vodního bludiště se skrytým ostrůvkem a souboru úloh na Kolotočovém bludišti (rotující suchá aréna).

V Morrisově vodním bludišti byl použit test označovaný jako *delayed-matching-to-place* (DMP), popsán v práci Steele a Morris (1999). Potkani mají za úkol hledat v bazénku ostrůvek skrytý pod hladinou, jehož poloha je každý den jiná, ale v rámci jednoho dne zůstává stejná. Při první denní plavbě tedy zvířata najdou ostrůvek náhodně, při dalších plavbách mohou své hledání zefektivnit, pokud si jeho předchozí polohu pamatují. Nastavení délky intervalu mezi první a druhou plavbou umožňuje testovat dlouhodobou či krátkodobou paměť. V této práci byly použity intervaly 15 sekund, 20 minut a 2 hodiny, experiment probíhal celkem 8 dní. Jako měřítko efektivity nalezení ostrůvku byla použita uplavaná vzdálenost při druhé plavbě.

Kolotočové bludiště sestává z kovové arény s průhlednými stěnami umístěné v experimentální místnosti. Zvířata mají za úkol vyhybat se neoznačenému sektoru, který je definován počítačovým sledovacím systémem, vstup do sektoru je trestán mírnou elektrickou rankou. Kromě vyhybání zvířata také sbírala potravní pelety, aby byla motivována rovnoměrně prozkoumávat celý povrch arény.

Experiment sestával z habituace, při níž byla zvířata na aparaturu přivyknuta, a pěti stupňů testování, z nichž každý kladl odlišné nároky na prostorovou navigaci a kognitivní schopnosti (viz tabulka 1). Design experimentu byl upraven podle starších prací (Wesierska et al. 2005; Abdel-Bakí et al. 2009; Burghardt et al. 2012).

VÝSLEDKY:

Transgenní potkani nevykazují oproti kontrolám žádný sensorimotorický deficit. Také učení a paměť v Morrisově vodním bludišti nejsou zhoršeny (Graf 1). Zvířata obou skupin si polohu ostrůvku pamatovala signifikantně hůře ($p=0,016$) po delších prodlevách mezi první a druhou plavbou.

V Kolotočovém bludišti (Graf 2) byla transgenní zvířata signifikantně zhoršena v celkovém počtu chyb, tj. vstupů do zakázaného sektoru ($p = 0,07$). Rozdíl průměrů mezi skupinami se zvyšoval se zvyšujícími se nároky v jednotlivých stupních, tento trend však nebyl signifikantní ($p=0,17$). Zvláště výrazný byl deficit transgenních potkanů v posledním stupni testujícím reversalové učení ($p=0,03$).

ZÁVĚRY:

Snížená neuronální exprese Nogo-A neovlivní sensorimotorické dovednosti, ani prostorové učení a paměť jako takové, jak ukazují výsledky z Morrisova vodního bludiště. Objevuje se ale deficit v Kolotočovém bludišti, který indikuje zhoršenou segregaci prostorových rámců. Zvýraznění tohoto deficitu při změnách podmínek (reversal) ukazuje také na nižší kognitivní flexibilitu transgenních zvířat. Tyto nálezy zřejmě souvisejí se změnou funkcí hipokampu.

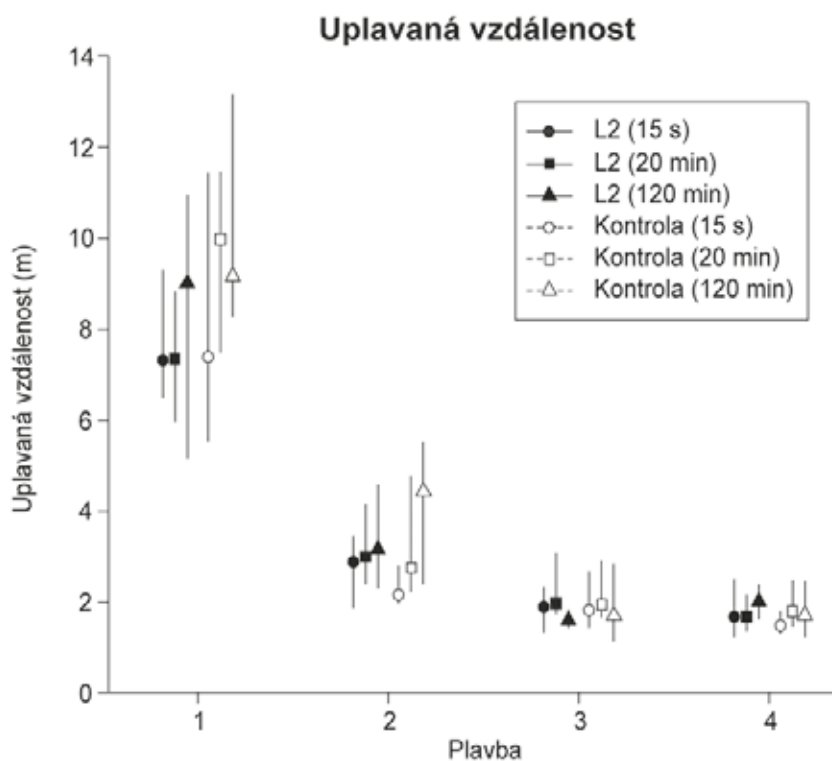
ODKAZY:

- Tews, B., Schönig, K., Arzt, M. E., Clementi, S., Rioult-Pedotti, M. S., Zemmar, A., Berger, S., Schneider, M., Weinmann, O., Kasper, H., Schwab, M. E., & Bartsch, D. (2013). Synthetic miRNA-mediated downregulation of Nogo-A in transgenic rats reveals its role as regulator of plasticity, learning and memory. PNAS, 110, 6583–8.

- Steele, R. J., & Morris, R. G. (1999). Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. *Hippocampus*, 9, 118–36.
- Wesierska, M., Dockery, C., & Fenton, A. A. (2005). Beyond Memory, Navigation, and Inhibition: Behavioral Evidence for Hippocampus-Dependent Cognitive Coordination in the Rat. *J Neurosci*, 25, 2413–2419.
- Abdel Baki, S. G., Kao, H. Y., Kelemen, E., Fenton, A. A., & Bergold, P. J. (2009). A hierarchy of neurobehavioral tasks discriminates between mild and moderate brain injury in rats. *Brain Res*, 1280, 98–106.
- Burghardt, N. S., Park, E. H., Hen, R., & Fenton, A. A. (2012). Adult-born hippocampal neurons promote cognitive flexibility in mice. *Hippocampus*, 22, 1795–808.

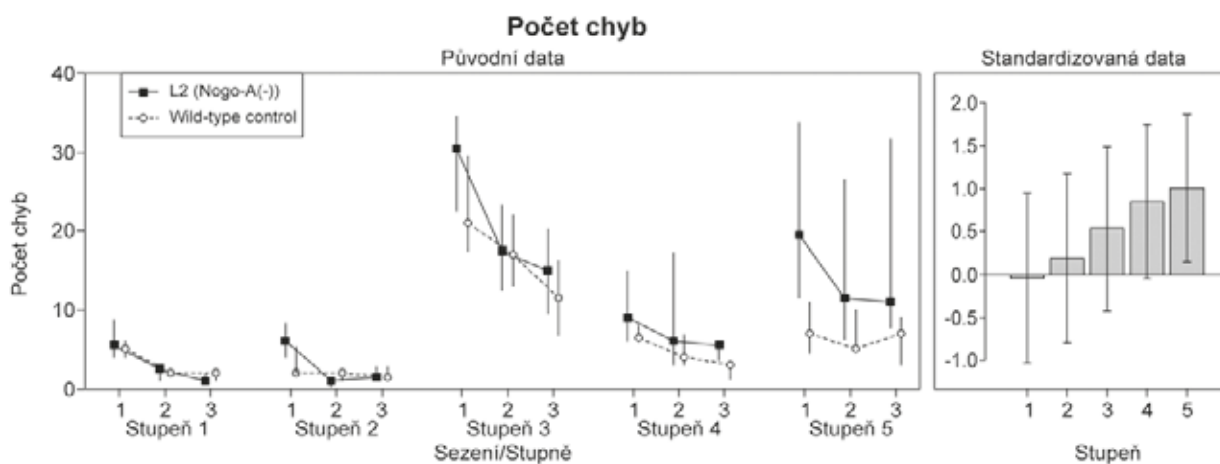
Tabulka 1

Stupeň	Habituace	1	2	3	4	5
Dny	d01-d04	d05-d07	d08-d10	d11-d13	d14-d15	d17-d19
Zakázaný sektor	Ne	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano
Rotace arény	Ne	Ne	Ano	Ano	Ano	Ano
Konflikt referenčních rámců	Ne	Ne	Ne	Částečně	Ano	Ano
Vnitroarénová vodítka	Ano	Ano, relevantní	Ano, relevantní	Potlačená, irrelevantní	Ano, irrelevantní	Ano, irrelevantní
Vzdálené orientační body	Ano	Ano, relevantní	Potlačené, irrelevantní	Ano, relevantní	Ano, relevantní	Ano, relevantní
Poznámka	Sběr pelet bez vyhýbání	Pasivní vyhýbání se místu	Pasivní vyhýbání se, vzdálená vodítka potlačena (tma)	Aktivní vyhýbání se, vnitroarénová vodítka skryta mělkou vodou	Aktivní vyhýbání se místu, pozice sektoru stejná jako ve stupni 3	Aktivní vyhýbání se místu, pozice sektoru změněna



Graf 1

Graf ukazuje uplavanou vzdálenost v bazénku do nálezu skrytého ostrůvku. Body ukazují mediánové hodnoty, chybové úsečky rozsah prvního a třetího kvartilu. Transgenní zvířata jsou označena jako L2.



Graf 2

Graf ukazuje počet chyb v kolotočovém bludišti. Vlevo je výkon v jednotlivých dnech. Body ukazují mediánové hodnoty, chybové úsečky rozsah prvního a třetího kvartilu. Vpravo jsou standardizovaná data (rozdíl průměrů obou skupin), chybové úsečky ukazují 95% konfidenční interval.



Oceněný student postgraduálního studia MUDr. Pavel Jůda.



MITOCHONDRIÁLNÍ ATPÁZA LACE1

Autoři: Česneková J., Zeman J., Stibůrek L.

školitel: RNDr. Lukáš Stibůrek, Ph.D., Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

Lace1 (Lactation elevated 1) je vysoce konzervovaný lidský homolog kvasinkové ATPázy Afg1 (ATPase family gene 1) se sekvenční homologií od 41,5% *H. sapiens* a *S. cerevisiae* po 88,9% *H. sapiens* a *M. musculus*. Lace1 má predikovanou molekulární hmotnost 55 kDa a strukturu složenou z pěti domén, kde každý protein obsahuje ATP/GTP vazebný P-loop motiv. Lace1 je kandidátní adapterový protein mitochondriálních proteáz s atpázovou funkcí a s vysokou mírou exprese v aktivní mléčné žláze, myokardu, ledvinách a játrech [Abrahams B.S. et al, Genomics. 2002].

U kvasinky *S. cerevisiae* bylo zjištěno, že atpáza Afg1 je lokalizována ve vnitřní mitochondriální membráně a funguje jako účinný supresor citlivosti na peroxid vodíku u kvasinkových kmenů s defektem v assemblaci komplexu dýchacího řetězce cytochrom c oxidázy (CcO). U kmene *S. cerevisiae* deficientního pro assemblační faktor CcO COX11 bylo zjištěno, že Afg1 řídí degradaci nesasemblovaných podjednotek Cox1, Cox2 a Cox3 CcO a dále, že při nadexpresi Afg1 dochází ke zvýšení degradace nově syntetizovaných podjednotek CcO [Khalimonchuk O. et al, J Biol Chem. 2007].

METODY:

Cílem naší práce bylo charakterizovat buněčnou funkci Lace1 použitím metod stabilní RNA interference (shRNA; Open Biosystem, USA), proteomiky a expresních studií na linii lidských embryonálních ledvinných 293 buněk (Human Embryonic Kidney 293 cell; HEK293).

VÝSLEDKY:

Prokázali jsme, že lidský protein Lace1 je v buněčné linii HEK293 mitochondriálně lokalizovaný do vnitřní mitochondriální membrány o zjevné molekulové hmotnosti 50 kDa. Připravená stabilní shRNA Lace1 RNAi buněčná linie HEK293 vykazovala sníženou expresi proteinu pod 10 % kontrolních hodnot.

Doposud jsme prostřednictvím SDS-PAGE a western blotu zjistili markantní zvýšení podjednotek ND1 a Ndub6 komplexu I, SDHA komplexu II a Cox2, Cox3, Cox4, Cox5a a Cox6aL komplexu IV. Naopak hladina antiapoptického faktoru Bcl-2 byla v těchto buňkách snížena. Dále jsme v těchto buňkách našli mírně zvýšené množství tumor supresorového proteinu p53. Pro zefektivnění screeningu mitochondriálních proteinů zasažených RNAi Lace1 byla zoptimalizována metoda 2DE (IEF/SDS) elektroforézy.

Metodou elektronové mikroskopie bylo zjištěno, že u buněčné linie RNAi Lace1 dochází ke změně ultrastruktury mitochondriálních krist z uspořádané lamelární na neuspořádanou.

ZÁVĚR:

Naše dosavadní výsledky ukazují, že Lace1 pravděpodobně funguje na úrovni proteinového obratu podjednotek systému oxidační fosforylace, což potvrzuje původní hypotézu o jeho funkci jako adaptorového proteinu mitochondriálních proteáz.

KLÍČOVÁ SLOVA:

ATPáza, Lace1, mitochondrie, mitochondriální proteázy

Podpořeno 1. LF UK v Praze a projekty GAUK č. 277511, GAČR č. 13-072235 a SVV 266 504.

THE EFFECTS OF RESTRAINT STRESS ON HEART M₂ MUSCARINIC RECEPTORS SIGNALING

Authors: Paulina Valušková, Hana Tomanková, Jana Rotková, Eva Vařejková, Jan Beneš
Supervisor: doc. MUDr. Jaromír Mysliveček, Ph.D., Fyziologický ústav 1. LF UK



SÚHRN:

Odpoveď organizmu na stres sa väčšinou spája s aktiváciou sympatikového nervového systému a uvoľňovaním katecholamínov – adrenalínu a noradrenalínu. Ako sme však už preukázali v prachádzajúcich prácach, v srdci stres reguluje oba typy GPCR receptorov - adrenoreceptory ako aj muskarínové receptory (MR). V predloženej práci sme sa preto zamerali na zmeny v signálnych kaskádach aktivovaných MR pri stresovej odpovedi.

KLÚČOVÉ SLOVÁ:

restraint stres, M2KO, signálna kaskáda aktivovaná MR, ľavá srdcová komora

ÚVOD:

Pri strese dochádza k aktivácii hypotalamo-hypofyzárno-adrenokortikálneho a sympatikoadrenálneho systému pričom sa zvyšuje uvoľňovanie katecholamínov (adrenalínu a noradrenalínu) a glukokortikoidov. Adrenalin a noradrenalin účinkujú na srdci prostredníctvom adrenoreceptorov (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3), ktoré patria do skupiny s G-proteínom spriahnutých receptorov (GPCR). Hlavný účinok na kardiomyocytoch je sprostredkovaný cez β_1 adrenoreceptory. Ich aktiváciou dochádza k zvýšeniu cAMP prostredníctvom adenylátcyklázy a k zvýšeniu proteínkinázy A (PKA). Výsledkom tejto signálnej kaskády je pozitívne inotropný a chronotropný účinok. Okrem adrenoreceptorov sú však pri strese aktivované aj opozitne pôsobiace muskarínové receptory, na kardiomyocytoch najviac zastúpené M2receptory. Tie pôsobia inhibíciou adenylátcyklázy, znížením množstva cAMP a PKA výsledkom čoho je negatívny ino- a chronotropný účinok.

My sme sa v našej práci zamerali práve na zmeny v signálnej kaskáde sprostredkovanej M2 muskarínovými receptormi. Pozorovali sme zmeny v množstve MR u WT zvierat v porovnaní s M2KO genetickým modelom, zmeny v aktivite adenylátcyklázy a proteínkinázy C.

MATERIÁL A METODIKA:

Zvierací model:

M2KO myši sú genetickým modelom s chýbajúcimi M2 muskarínovými receptormi, ktoré boli pripravené deléciou génu pre M2 receptor v laboratóriu prof. Wessa (Gomez et al., 1999) a neskôr boli chované v našom zverinci. Ako kontrolnú skupinu myši jsme použili jedince s rovnakým genetickým pozadím (WT), ktoré boli udržiavané pri bežných pomienkach (12/12 cyklus svetlo/tma, 22±1°C, svetlo od 8:00). V samotnom experimente sme použili samcov M2KO a ich WT kontroly (vážiace 20-25g, 11-13 týždňov staré).

Restraint stres

Kontrolná skupina zvierat a M2KO myši boli vystavené akútne (120 minút) a opakovanému (7-krát po 120 minút) stresu: myši boli umiestnené v 50 ml komôrke, v ktorej majú obmedzenú možnosť pohybu (dopredu/dozadu). Myši boli usmrtené dekapitáciou 180 minút po ukončení imobilizácie. Boli im odobraté ľavé komory, ktoré boli následne použité na jednotlivé merania.

Génová expresia muskarínových receptorov

Na izoláciu celkovej mRNA sme použili chloroformovo-isopropanolovú metódu (RNA Bee, TelTest, TX, USA) pričom sme postupovali podľa inštrukcií výrobcu. Množstvo RNA sme merali spektrofotometricky s použitím Tecan Infinite 200 Nanoquant (Tecan) pri vlnovej dĺžke A1=260 nm a A1/A2= 260/280 nm. Na ďalšie experimenty sme použili vzorky, ktorých pomer A1/A2 bol medzi 1.7 a 1.95. Celková RNA bola ďalej purifikovaná, aby sme eliminovali možnosť kontaminácie genómovou DNA s použitím recombinantnej DNAázy (Ambion). Po purifikácii sme následne zmerali finálnu koncentráciu purifikovanej mRNA opätovne s použitím Infinite 200 Nanoquant (Tecan). Následne sme prepísali 1000 ng purifikovanej mRNA do cDNA s použitím Ready-To-Go You-Prime First-Strand Beads (GE Healthcare) a pd(N)6 primer (GE Healthcare, USA). qPCR bola uskutočnená s použitím TaqMan sond (Applied Biosystems) a s Roche qPCR Mastermix (Roche) na základe nasledovného protokolu: 2 min pri 50°C, 10 min pri 95°C po 50 cykloch, 15 sec. pri 95°C a 1min pri 60°C v konečnom objeme 10µl. Všetky experimenty sme robili v duplikátoch. Génovú expresiu jednotlivých podtypov muskarínových receptorov (M1R-mRNA-M5R-mRNA) sme normalizovali za použitia housekeeper génu (18SrRNA) a výsledky sme vyhodnotili pomocou softvéru GraphPad (San Diego, USA).

Denzita muskarínových receptorov

Rádioligandové väzbové štúdie sme robili na homogenátoch a membránach ľavých srdcových komôr. Tkanivá sme zväžli a zhomogenizovali v ľadovo vychladenom Tris-EDTA buffer (Tris-HCl 50 mmol/l, EDTA 2 mmol/l, pH 7.4) (Myslive-

ček et al. 2007). Zhomogenizované vzorky sme rozdelili na 2 polovice. Prvú polovicu vzoriek sme dali centrifugovať pri 32000 g, teplote 4°C, po dobu 20 min – HOMOGENÁTY. Druhá polovica vzoriek bola zatiaľ umiestnená v chlade. Po zcentrifugovaní sme odstránili supernatant a sediment opätovne zhomogenizovali v TRIS-EDTA. Druhú polovicu vzoriek sme centrifugovali prvý-krát pri 600 g, teplote 4°C, po dobu 10 min., odobrali sme supernatant a ten následne centrifugovali druhý-krát pri 32000 g, teplote 4°C, po dobu 20 min – MEMBRÁNY. Množstvo muskarínových väzbových miest sme stanovovali v duplikátoch za použitia nasledovných podmienok: rádioloigand 20 nmol/l [3H]QNB, nešpecifická väzba bola stanovená s 500 nmol/l atropínom. Takto pripravené vzorky homogenátov aj membrán sme následne inkubovali po dobu 120 min. pri laboratórnej teplote (Mysliveček et al. 2007). Množstvo väzbových miest (Bmax) v prepočte na mg proteínu (stanovený pomocou BCA kitu; Sigma) a afinita (KD) bola vypočítaná na základe nelineárnej regresie za pomoci programu GraphPad Prism 5.01 (GraphPad Software).

Adenylát cyklázová aktivita

Aktivitu adenylátcyklázy v tkanivových homogenátoch sme merali pomocou Screen Quest™ cAMP kolorimetrického ELISA Assay Kit-u (AAT Bioquest, Inc., USA) podľa inštrukcií výrobcu. Zmrazené a odvážené tkanivá sme zhomogenizovali v 0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.4) spolu s 0.002M EDTA (50 mg tkanivo/ml). Homogenáty sme zcentrifugovali pri 32 000g, 10 min, pri teplote 4 °C a supernatant ihneď použili na stanovenie aktivity adenylátcyklázy. cAMP štandardy, kontroly a testované vzorky sme napipetovali (75 µl/jamka) do 96-jamkovej platne vyplnenej s anti-cAMP Ab. Po inkubácii (10 min pri laboratórnej teplote) sme pridali HRP-cAMP roztok (25 µl/jamka) a doštičku sme opäť inkubovali pri laboratórnej teplote 3 hodiny. Tanier sme následne 4-krát premyli s premyvacím roztokom (200 µl/jamka), pridali sme Amplitude™ Green (100 µl/jamka) a tanier sme nechali inkubovať pri laboratórnej teplote 3 hodiny, chránený pred svetlom. Absorbanciu sme merali pri 405 nm s použitím multi-detekčného microplate reader-u (Synergy HT). Na stanovenie agonistického účinku na muskarínové receptory, účinok karchacholu na adenylátcyklázovú aktivitu, sme supernatanty pre-inkubovali s karchacholom (50 nmol.l-1) 20 min pri laboratórnej teplote. Po inkubácii sme ihneď merali aktivitu adenylátcyklázy za použitia Screen Quest™ cAMP Colorimetric ELISA Assay Kit (AAT Bioquest, Inc., USA).

Aktivita fosfolipázy C

Aktivitu fosfolipázy C (PLC) v tkanivových homogenátoch sme merali pomocou EnzChek® Direct Phospholipase C Assay Kit-u (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA). Na stanovenie activity PLC sme použili farebne značený glycerol-fosfoetanolamín, ktorý je rozštiepený fosfatidylcholíň-špecifickou fosfolipázou za uvoľnenia farebne značeného diacylglycerolu. Množstvo proteínu (stanoveného metódou BCA, Pierce BCA Protein Assay Kit) v reakčnej zmesi (celkový objem 0.2ml) bol 150 µg. Koncentrácia karchacholu v inkubačnej zmesi bola 50nmol.l-1. Fluorescenciu (485 nm excitácia a 535 nm emisia) farebne znečného produktu sme merali po 100 min pomocou Synergy™ HT Multi-Mode Microplate Reader (BioTek Instruments).

Aktivita syntázy oxidu dusnatého

Stanovenie aktivity syntázy oxidu dusnatého (NOS) v tkanivových homogenátoch bolo uskutočnené pomocou Ultrasensitive Colorimetric NOS Assay Kit-u (Oxford Biomedical Research, Inc., USA), podľa už predtým popísaného postupu (Benes et al., 2012). Množstvo proteínu (stanoveného metódou BCA, Pierce BCA Protein Assay Kit) v reakčnej zmesi (celkový objem 0.26 ml) bol 100 µg. Na stanovenie účinku karchacholu na aktivitu NOS sme pre-inkubovali tkanivové homogenáty s karchacholom (10 µM) 20 min pri 37 °C (vo vodnom kúpeli). Dĺžka času pôsobenia (20 min) karchacholu na NOS bola vybraná podľa (Borda et al., 1998). Po inkubácii sme ihneď stanovovali aktivitu NOS s Ultrasensitive Colorimetric NOS Assay Kit-u (Oxford Biomedical Research, Inc.).

Proteínová expresia proteínkinázy C

Tkanivové lyzáty sme najskôr denaturovali s Laemmli Sample Buffer pri 95°C 5min. Na SDS-PAGE analýzu v 10% géle sme použili 75 µg proteínu na jeden riadok. Po ukončení migrácie cez gél, sme gél premiestnili na nitrocelulóзовú membránu (TE 77X Large Semi-Dry Transfer Unit) a bolotovali s protilátkami (PKC (H-300): sc-10800 (dilution 1:200, Santa Cruz Biotechnology Inc., California, USA) s použitím jedno-hodinového Western Basic Kit-u od GenScript, Piscataway, NJ, USA. Výslednú imunoreaktivitu sme následne vizualizovali pomocou chemiluminiscenčného žiarenia za pomoci Odyssey Fc systému (LI-COR Biosciences, Nebraska, USA), a výsledky sme kvantifikovali pomocou denzitometrie s MCID Core imaging softvérom. Stanovili sme tri izoformy PKC s MW=94.6 kDa, 87.8 kDa, 79.6kDa, ktoré prislúchajú PKCε (94.6 kDa), skupine PKCs: α, β, γ, η (87,8 kDa) and PKCι (79.6kDa). Ako housekeeper gén sme použili β-aktín (anti-beta aktín protilátka (ab75186), koncentrácia 1 µg/1ml, Abcam, Cambridge, UK) so štandardnou expresiou pre všetky vzorky.

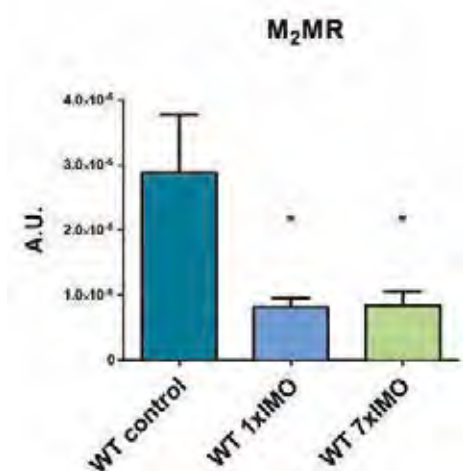
Štatistické spracovanie výsledkov

Štatistickú významnosť medzi skupinami sme určovali s 1-way ANOVA s Student-Newman-Keuls post-hoc analýzou. Pri porovnávaní dvoch skupín (v našom prípade WT and KO) sme použili Student t-test.

VÝSLEDKY:

Génová expresia muskarínových receptorov

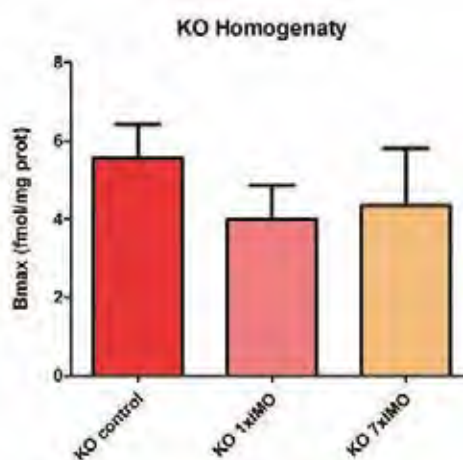
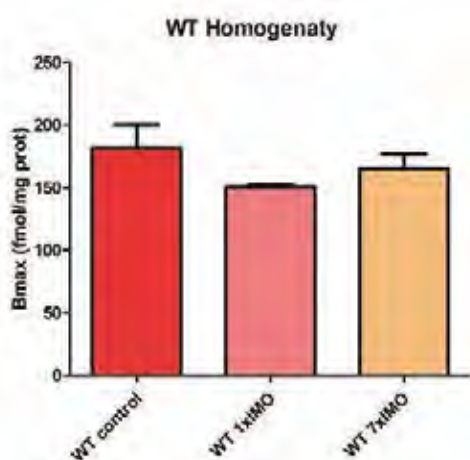
Génovú expresiu M2MR sme stanovovali len u WT myši. Tak akútna ako aj opakovaná imobilizácia zvierat spôsobila zníženie génovej expresie MR. Výsledky uvádza graf č. 1.



Graf č. 1: Génová expresia M₂ muskarínových receptorov po akútnom a opakovanom strese u kontrolnej skupiny myší.

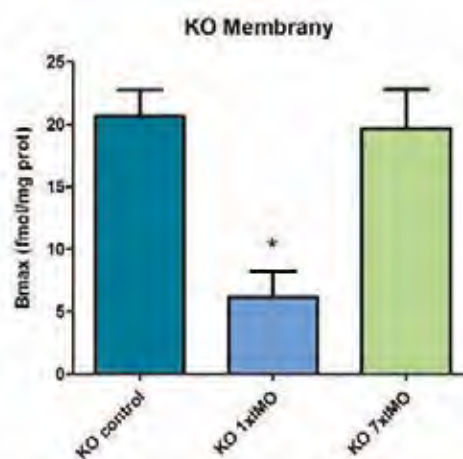
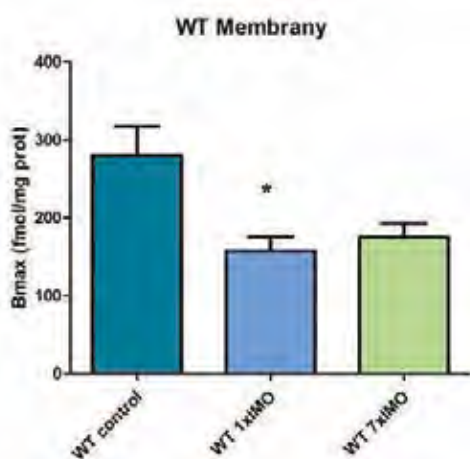
Denzita muskarínových receptorov

Pri stanovení väbovosti celkových MR v tkanivových homogenátoch sme nezaznamenali žiadne zmeny v množstve receptorov u WT ani u M2KO myší vplyvom jedno- ako aj sedemdňovej imobilizácie. Výsledky sú zaznamenané v grafe č. 2 a č. 3.



Graf č. 2 a 3: Stanovenie množstva celkových MR v tkanivových homogenátoch po akútnom a opakovanom strese u WT a M2 KO myší.

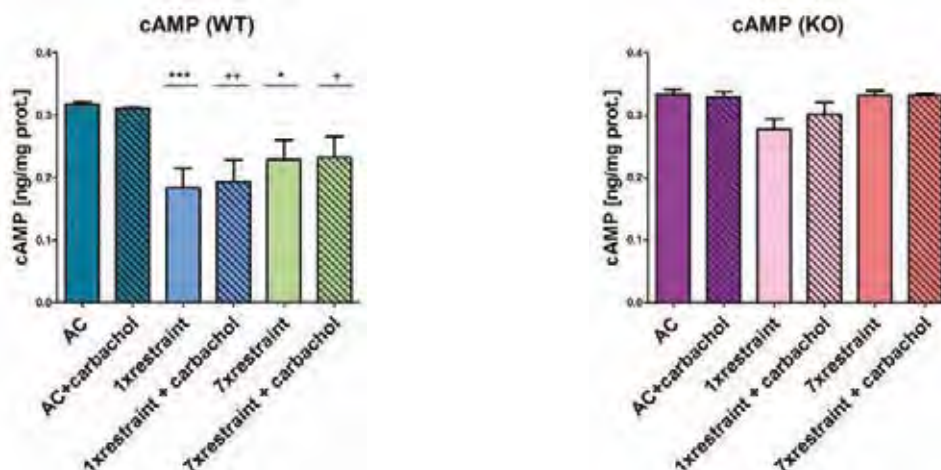
Pri stanovení množstva celkových MR na membránach sme pozorovali zníženie MR u WT ako aj M2KO myší po akútnej imobilizácii. Výsledky sú zhrnuté v grafe č. 4 a č. 5.



Graf č. 4 a 5: Stanovenie množstva celkových MR na membránach po akútnom a opakovanom strese u WT a M2KO myší.

Adenylátcyklázová aktivita

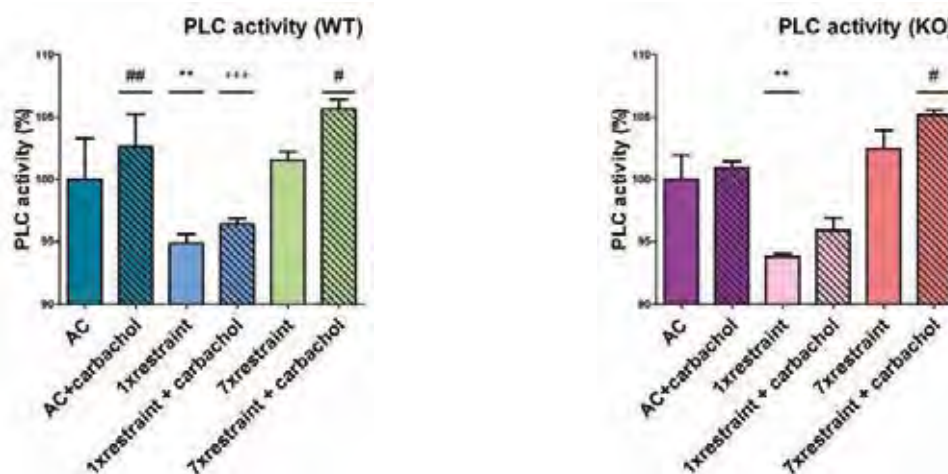
Karbachol (50 nmol.l⁻¹) nebol schopný inhibovať adenylátcyklázovú aktivitu. Avšak aktivita adenylátcyklázy bola u WT na rozdiel od M2KO zvierat znížená stresovým účinkom. Adenylátcyklázová aktivita klesla po 1 ako aj opakovanej 7-dňovej imobilizácii, zatiaľ čo u M2KO sme nepozorovali pokles v produkcii cAMP. Výsledky sú zhrnuté v grafe č. 6 a 7.



Graf č. 6 a 7: Stanovenie aktivity adenylátcyklázy po akútnom a opakovanom strese u WT kontrolnej skupiny a M2KO zvierat.

Aktivita fosfolipázy C

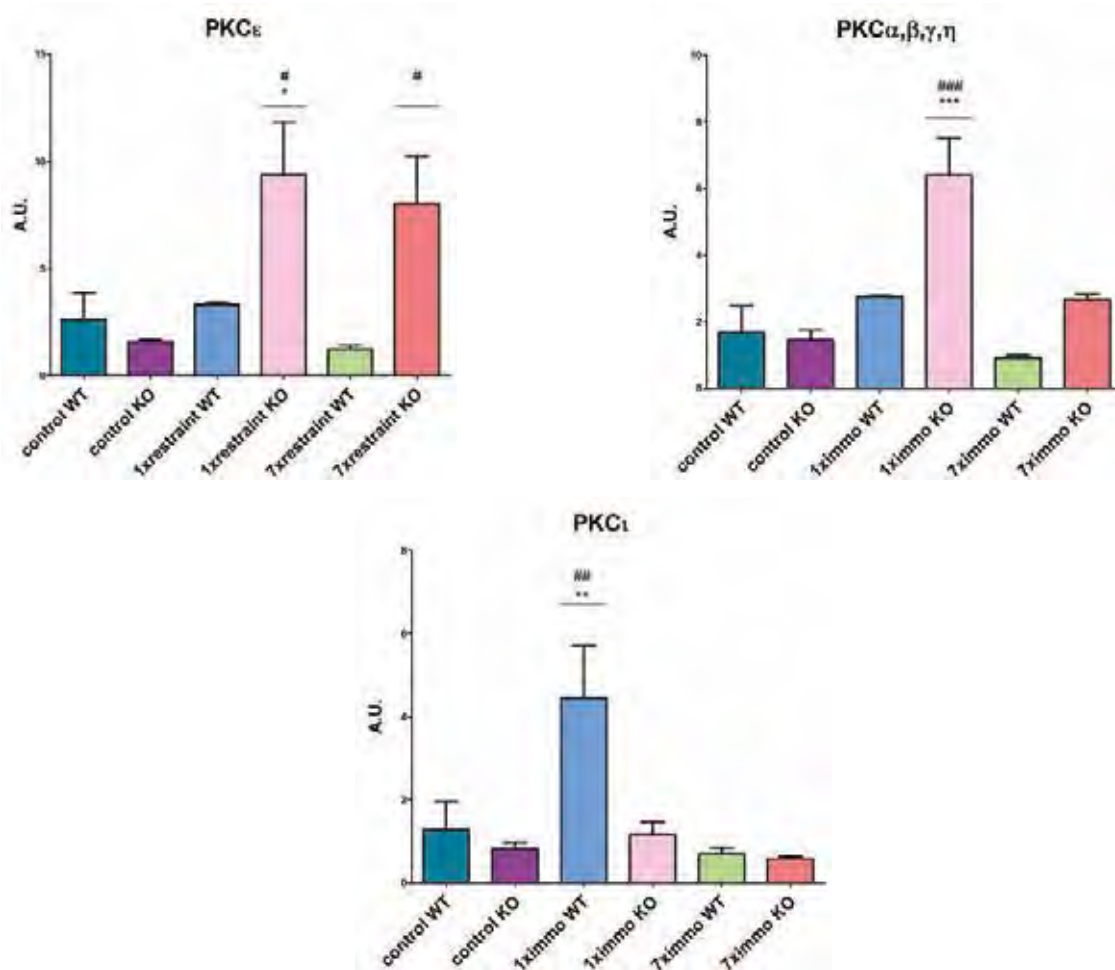
Karbachol (50 nmol.l⁻¹) zvyšoval účinok PLC u WT myší. Jednorázový účinok stresu spôsobil pokles aktivity PLC, na rozdiel od opakovanej imobilizácie kde mala aktivita PLC tendenciu návratu k pôvodným hodnotám. Navyiac akútny stres pôsobil ako ochrana stimulácie aktivity PLC pred účinkom karbacholu. Podobné zníženie aktivity PLC po jednorázovom účinku stresu sme pozorovali aj u KO zvierat. Karbachol však nebol schopný zvyšovať účinok aktivity PLC u kontrolnej ani u jeden-krát imobilizovanej skupiny zvierat, zatiaľ čo zvyšoval jej účinok u opakovaného stresu. Výsledky ukazuje graf č. 8 a 9.



Graf č. 8 a 9: Aktivita fosfolipázy C po akútnom a opakovanom strese u skupiny WT a M2KO myší.

Proteínová expresia proteínkinázy C

Ako môžeme vidieť na grafe č.10, 11 a 12 expresia PKC bola zmenená u M2KO stresovaných zvierat. PKCε sa zvýšila u jedenkrát stresovanej skupiny zvierat v porovnaní s kontrolnou skupinou KO myší. U WT kontrol sme nepozorovali žiadne zmeny. PKC PKCα, β, γ, η nebola opäť zmenená u skupiny WT zvierat, ale v prípade M2KO bola zvýšená po akútnom účinku stresu. PKCι bola zmenená po jednorázovom strese u WT zvierat.



Graf č. 10, 11 a 12: Stanovenie proteínovej expsie proteínkinázy C po akútnom a opakovanom strese u skupiny WT a M2KO myši.

ZÁVER

Naše výsledky potvrdzujú, že pri stresovej odpovedi dochádza k aktivácii nielen adrenoreceptorov, ale prostredníctvom heterológnej regulácie sú aktivované aj muskarínové receptory.

Pri stanovení množstva celkových MR na homogenátoch a membránových frakciách dochádzalo k zníženiu MR po akútnom ako aj opakovanom strese na membránach čo potvrdzuje internalizáciu M2 muskarínových receptorov. Pri stanovení aktivity adenylátcyklázy sme zistili, že účinkom jednorázového stresu dochádzalo k zníženiu jej aktivity a teda k zníženiu cAMP u WT, ale nie u M2KO myši. Aktivita PLC bola znížená v prípade akútneho jednorázového stresu v oboch skupinách zvierat WT aj M2KO. Proteínová expresia proteínkinázy C bola zmenená u jednotlivých podtypov PKC ϵ , PKC α , β , γ , δ , η , μ , kde dochádzalo k zvýšeniu expsie u M2KO myši a v prípade PKC ι bola zmenená u WT kontrolnej skupiny po jednorázovom strese.

REFERENCIE

- Benes J, Novakova M, Rotkova J, Farar V, Kvetnansky R, Riljak V, Myslivecek J (2012) Beta3 Adrenoceptors Substitute the Role of M2 Muscarinic Receptor in Coping with Cold Stress in the Heart: Evidence from M2KO Mice. *Cell Mol Neurobiol* 32: 589-869
- Benes J, Varejkova E, Farar V, Novakova M, Myslivecek J (2013 (in press)) Decrease in heart adrenoceptor gene expression and receptor number as compensatory tool for preserved heart function and biological rhythm in M2 KO animals. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*: 1-13
- Borda T, Genaro A, Sterin-Borda L, Cremaschi G (1998) Involvement of endogenous nitric oxide signalling system in brain muscarinic acetylcholine receptor activation. *Journal of Neural Transmission* 105: 193-204
- Gomeza J, Shannon H, Kostenis E, Felder C, Zhang L, Brodtkin J, Grinberg A, Sheng H, Wess J (1999) Pronounced pharmacologic deficits in M2 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 1692-1697
- Myslivecek J, Tillinger A, Novakova M, Kvetnansky R (2008) Regulation of Adrenoceptor and Muscarinic Receptor Gene Expression after Single and Repeated Stress. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1148: 367-376
- Novakova M, Kvetnansky R, Myslivecek J (2010) Sexual dimorphism in stress-induced changes in adrenergic and muscarinic receptor densities in the lung of wild type and CRH-knockout mice *Stress* 13: 22-35
- Pacak K, Palkovits M (2001) Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev* 22: 502-548

RINGS&RODS, STRUKTURY TVOŘENÉ ENZYMEM INOSIN 5-MONO-FOSFÁT DEHYDROGENÁZOU: POPIS ULTRA-STRUKTURY A DYNAMIKA TVORBY

Autor: Pavel Jůda

Školitel: doc. RNDr. Dušan Cmarko, CSc., Ústav buněčné biologie a patologie 1. LF UK



VÝCHODISKO:

Inosin 5-mono-fosfát dehydrogenáza (IMPDH), klíčový enzym *de novo* syntézy purinových nukleotidů, patří mezi nejstudovanější a klinicky nejdůležitější proteiny. Jeho inhibice je úspěšně využívána po desítky let v terapii virových onemocnění nebo v imunosupresivní léčbě v transplantologii. V nedávné době bylo zjištěno, že IMPDH po inhibici specifickým inhibitorem, např. Ribavirinem, vytváří cytoplasmatické struktury o velikosti několika μm a počtu 1-10 na buňku, které byly podle svého vzhledu nazvány Rings and Rods (R&R). Cílem naší práce bylo zjistit ultrastrukturu R&R a dynamiku jejich tvorby.

METODY:

Pro definování ultrastruktury R&R inkluzí jsme použili elektronovou mikroskopii s aplikací několika různých přístupů, hlavně pak metody fyzikální fixace zmražením za vysokého tlaku (high pressure freezing, HPF) následované kryosubstitucí. Tato metoda představuje dosud nejlepší metodu jak pro co nejlepší zachování ultrastruktury blízko jejímu reálnému stavu a zároveň dobré antigenicity vzorku. Pro lokalizaci hledaných struktur byla použita korelační světelná a elektronová mikroskopie (CLEM). Dále jsme pomocí metod světelné mikroskopie popsali dynamiku tvorby R&R. Výsledky byly doplněny biochemickou technikou Western blotu.

VÝSLEDKY:

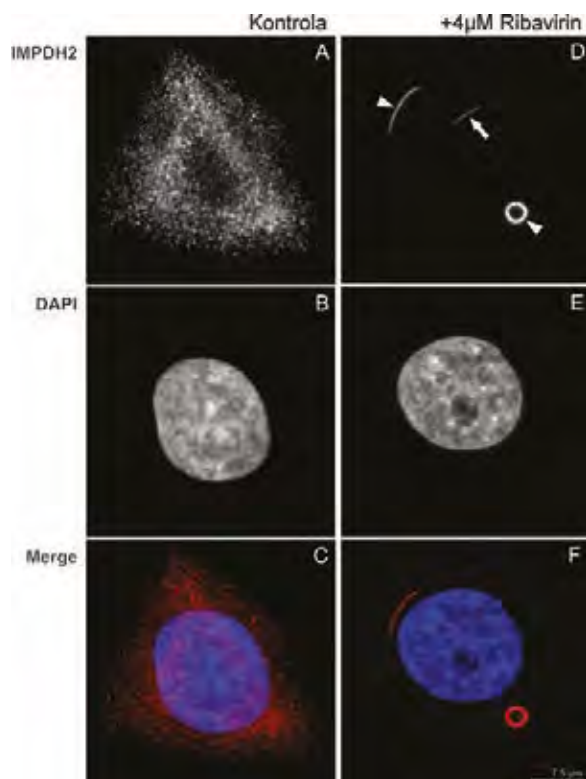
V této práci jsme popsali ultrastrukturu R&R. Zjistili jsme, že se jedná o membránou neohraničené útvary sestávající z jednotlivých paralelně uspořádaných filamentů o průměru přibližně 10 nm. Zároveň jsme prokázali jadernou subpopulaci IMPDH proteinu. Co se týká vytváření R&R struktur, zjistili jsme, že se jedná o velice dynamický proces. K tvorbě R&R dochází již několik desítek sekund po přidání specifického IMPDH inhibitoru. K vytvoření typických R&R struktur dojde po 60 minutách inhibice.

ZÁVĚRY:

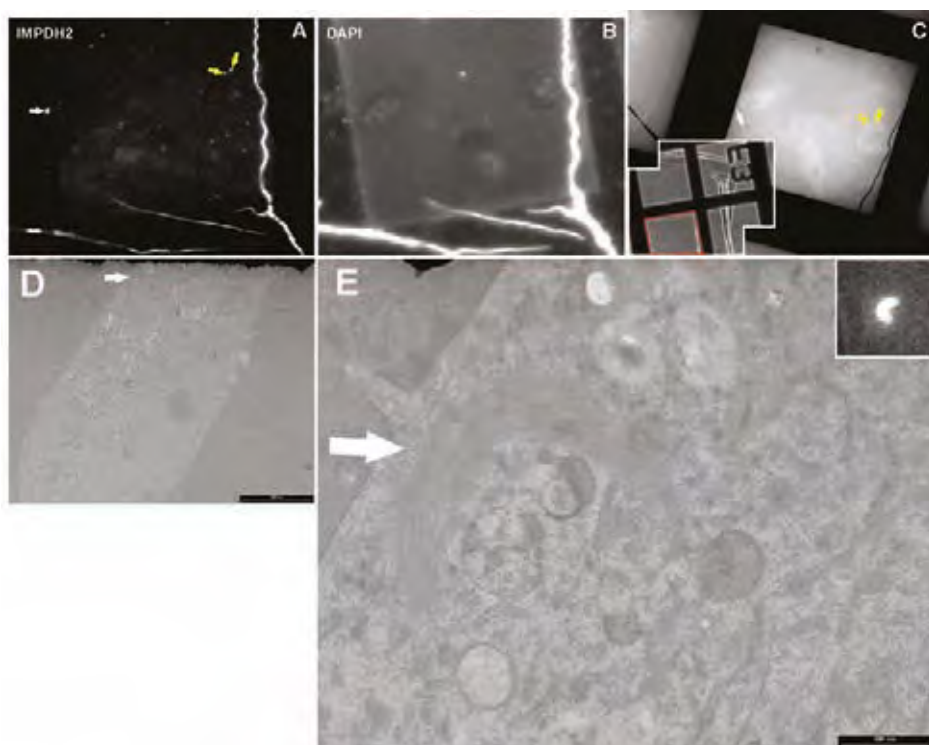
Inhibovaný enzym IMPDH vytváří filamentární buněčné inkluze, jejichž tvorba je vysoce dynamická.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Inosin 5-mono-fosfát dehydrogenáza, inkluze, ultrastruktura



Obrázek č. 1: Distribuce enzymu IMPDH v kontrole a po inhibici. Pomocí imunofluorescence jsme detekovali vznik R&R struktur po inhibici specifickým IMPDH inhibitorem. Neovlivněné buňky HEP-2 vykazují difúzní cytoplasmatický signál IMPDH (levý sloupec). Po inhibici IMPDH proteinu pomocí $4\mu\text{M}$ Ribavirinu (24h inkubace, pravý sloupec) dochází k vytvoření několika Rings a Rods struktur (zkrácené šípky) a zpravidla jedné jaderné Rod struktury (šípka).



Obrázek č. 2: Korelační světelná a elektronová mikroskopie značených R&R struktur na ultratenkých řezech. Hledané struktury byly identifikovány na ultratenkém řezu (60 nm) pomocí imunofluorescenčního značení proti IMPDH (A, šipky) a barvení DNA pomocí DAPI (B). Stejně místo při malém zvětšení v elektronovém mikroskopu (C) bylo nalezeno za pomoci lokalizační elektronmikroskopické sítě (inzert v C). Elektronmikroskopický obraz části Ring struktury při větším zvětšení (D a E, bílé šipky) odpovídající fluorescenčnímu obrazu (inzert v E).



Oceněná studentka postgraduálního studia Mgr. Hana Krtochvílová.

NATIVNÍ FORMY PROTEINU TMEM70 A JEHO TOPOLOGIE VE VNITŘNÍ MITOCHONDRIÁLNÍ MEMBRÁNĚ

Autoři: Hana Kratochvílová, Markéta Tesařová, Kateřina Hejzlarová, Tomáš Mráček, Marek Vrbacký, Vendula Karbanová, Adriána Gombitová, Dušan Cmarko, Josef Houštěk, Jiří Zeman

Školitelka: Ing. Markéta Tesařová, Ph.D., Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN



ÚVOD:

Mitochondriální F1Fo ATPsyntáza (komplex V, ATPsyntáza) je klíčovým enzymem energetického metabolismu buňky. Komplex V k syntéze až 90 % celkového buněčného ATP využívá elektrochemický potenciál vytvořený dýchacím řetězcem na vnitřní mitochondriální membráně v průběhu procesu oxidativní fosforylace. F1Fo ATPsyntáza (~ 650kDa) se skládá z 16 různých podjednotek, z nichž dvě jsou kódovány mitochondriální DNA a ostatní jadernou DNA. Biogeneze lidské mitochondriální ATPsyntázy je složitý sekvenční proces závislý na přítomnosti několika specifických asemblačních faktorů (Atpaf1, Atpaf2, TMEM70).

TMEM70 je specifický asemblačním proteinem lidské mitochondriální F1Fo ATPsyntázy. Jeho deficit inhibuje biogenezi lidské ATPsyntázy a představuje jednu z nejčastějších poruch komplexu V (Čížková et. al., 2008; Honzík et. al., 2010). Homozygotní mutace c.317-2A>G v genu *TMEM70* vedoucí k úplné ztrátě transkriptu byla nalezena u skupiny pacientů s těžkou encefalokardiomyopatií a izolovaným deficitem ATPsyntázy (ATP-hydrolytická i ATP-syntetická aktivita <30 %). Do dnešního dne bylo identifikováno 11 patogenních mutací v genu *TMEM70* (Cameron et. al., 2011; Spiegel et al., 2011).

Protein TMEM70 je přibližně 21 kDa velký integrální protein vnitřní mitochondriální membrány syntetizovaný jako 29 kDa prekursor (Hejzlarová et. al., 2011). V centrální oblasti proteinu byly predikovány dva oddělené transmembránové úseky (Jonckheere et al., 2011).

CÍL:

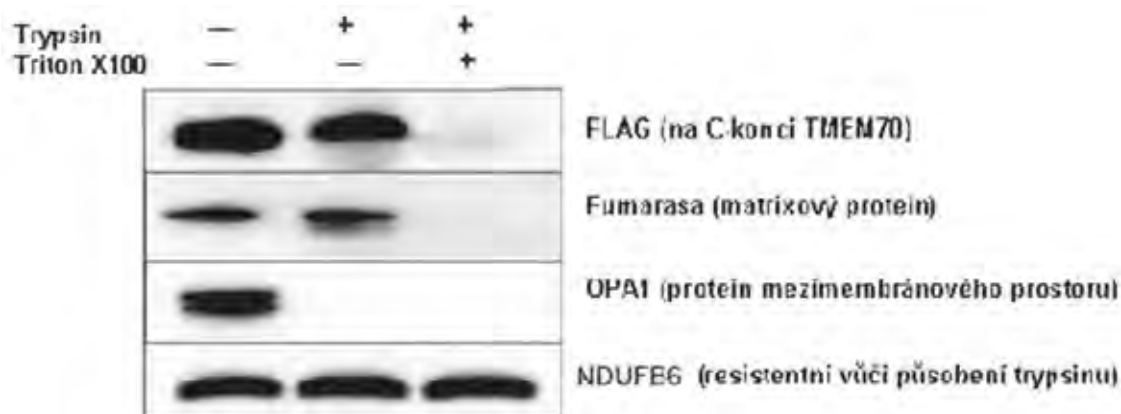
Cílem této práce bylo objasnit membránovou topologii proteinu TMEM70 a určit jeho nativní formu, vazebného partnera v buňce a možnou interakci s komplexem V.

MATERIÁL A METODY:

Jako materiál byly použity linie buněk HEK293 exprimující značené formy proteinu TMEM70: TMEM70-FLAG (fúzní protein, C-konec: FLAG epitop) a TMEM70_GFP (fúzní protein, C-konec: GFP epitop). Pro identifikaci topologie proteinu TMEM70 ve vnitřní mitochondriální membráně byla použita metoda trypsinového štěpení a metoda zhášení fluorescenčního signálu pomocí barvy Trypan blue. Pro určení nativní podoby proteinu TMEM70 a jeho interakčního partnera byly využity metody BN-PAGE, SDS-PAGE, BN/SDS-PAGE, anti-FLAG imunoprecipitace a immunogold značení.

VÝSLEDKY:

Ke stanovení orientace proteinu TMEM70 byly použity metody založené obecně na přístupnosti C-terminálního epitopu proteázám. Izolované mitochondrie z buněk HEK293 TMEM70-FLAG byly vystaveny hypotonickému šoku a následně vlivu trypsinu respektive trypsinu s Tritonem X-100 (obr. 1). Po inkubaci byl trypsin inhibován a jednotlivé vzorky byly separovány SDS-PAGE. Výsledný western blot byl imunodetekován protilátkami proti fumaráze (matrixový protein), OPA1 (protein mezimembránového prostoru), NDUFB6 (podjednotka komplexu I, která chráněna před trypsinizací strukturou komplexu I) a FLAG. Signál anti-FLAG byl detekován ve vzorku mitochondrií i vzorku po přidávku trypsinu stejně jako v případě fumarázy.

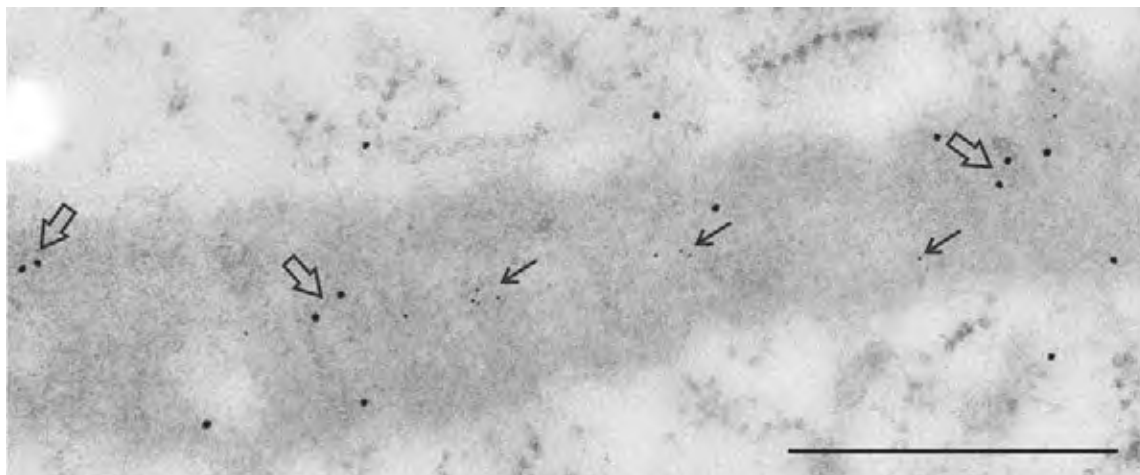


Obr. 1: SDS-PAGE/western blot - přístupnost C-terminálního FLAG epitopu trypsinu v mitochondriích buněk HEK293 exprimující TMEM70-FLAG.

Pro ověření orientace proteinu TMEM70 nezávislou metodou byl v průběhu celého pokusu v buňkách HEK293 TMEM70-GFP sledován fluorescenční signál. Cytoplazmatická membrána buněk byla rozrušena přidávkem digitoninu. Následně byla k buňkám přidána Proteináza K, která rozštípala všechny cytosolární proteiny. Dalším krokem byl přidavek barvy Trypan Blue, která zháší fluorescenční signál proteinů, které nejsou chráněny neporušenou kontinuální membránou. Následně byl k vzorku přidán detergent Triton X-100, který rozrušil veškeré membrány. Signál TMEM70-GFP zmizel až v poslední fázi experimentu. To naznačuje, že GFP epitop byl po celou dobu chráněn vnitřní mitochondriální membránou.

Při mírné solubilizaci mitochondrií z buněk exprimujících značené formy proteinu TMEM70 a jejich následném rozdělení pomocí BN-PAGE a BN/SDS-PAGE bylo zjištěno, že protein TMEM70 je přítomen v mitochondrii dimerních a vyšších oligomerních stavech a bez zjevného kontaktu s ATPsyntázou.

Imunoprecipitace pomocí anti-FLAG provedená na mitochondriích z buněk HEK293 exprimujících TMEM70-FLAG potvrdila nepřítomnost stabilní interakce proteinu TMEM70 s podjednotkami F1 části, ani s vybranými podjednotkami Fo části ATPsyntázy. Absence kontaktu proteinu TMEM70 s komplexem V byla ověřena následně i pomocí immunogold značení proteinu TMEM70 a F₁- α podjednotky ATPsyntázy v buňkách HEK293 (obr. 2).



Obr. 2: Immunoelektronová mikroskopie – dvojitě značení anti-TMEM70 (plně šipky) a anti-F1- α (prázdné šipky) buněk HEK 293. Měřítka, 0,5 μ m.

Vzájemná interakce molekul proteinu TMEM70 mezi sebou byla potvrzena anti-FLAG imunoprecipitací mitochondrií z buněk exprimujících TMEM70-FLAG a zároveň TMEM70-GFP.

ZÁVĚR:

Protein TMEM70 je orientován oběma konci do matrix mitochondrie, není ve stabilní interakci s komplexem V a tvoří v buňce pravděpodobně homoolegomerní formy. Nepřítomnost stále vazby s ATPsyntázou může naznačovat, že biologická funkce proteinu TMEM70 v procesu biogeneze komplexu V je zprostředkována vazbou s dalším proteinem.

KLÍČOVÁ SLOVA:

TMEM70, mitochondriální membrána, ATPsyntáza, komplex V, biogeneze

Tato práce vznikla za podpory grantů SVV 266 504, IGA MZ ČR NT13114-4 a RVO-VFN64165/2012.

LITERATURA:

- Cameron et. al., Complex V TMEM70 deficiency results in mitochondrial nucleoid disorganization. *Mitochondrion*. 2011;11(1): 191-9.
- Čížková et. al., TMEM70 mutations cause isolated ATP synthase deficiency and neonatal mitochondrial encephalocardiomyopathy. *Nat Genet* 2008; 40(11): 1288-90.
- Hejzlarová et. al., Expression and processing of the TMEM70 protein. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1807(1):144-9.
- Honzík et. al., Neonatal onset of mitochondrial disorders in 129 patients: clinical and laboratory characteristics and a new approach to diagnosis. *J Inherit Metab Dis*. 2012; 35(5): 749-59.
- Jonckheere et. al., Restoration of complex V deficiency caused by a novel deletion in the human TMEM70 gene normalizes mitochondrial morphology. *Mitochondrion*. 2011 ;11(6): 954-63.
- Spiegel et. al., TMEM70 mutations are a common cause of nuclear encoded ATP synthase assembly defect: further delineation of a new syndrome. *J. Med. Genet* 2011; 48(3): 177-182.

TOXICITA UHLÍKOVÝCH NANOČÁSTIC V KULTURÁCH ENDO-TELOVÝCH A NEURONÁLNÍCH BUNĚK

Autorka: Marcela Filipová

Školitel: Ing. Karel Holada, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

Nanočástice jsou považovány za jednu z možností, jak cíleně dopravit léky přes hematoencefalickou bariéru do mozku. Širšímu využití nanočástic brání nedostatečné znalosti o jejich toxicitě. Naše práce je zaměřena na studium mechanismu toxicity karboxylovaných uhlíkových nanotub (CNT-COOH) v buněčných neuronálních a endotelových kulturách *in vitro*.

METODY:

Ke studiu toxicity jsme použili lidské endoteliální buňky umbilikální vény HUVEC a buňky myší katecholaminergní neuronální linie CAD5. Buňky byly inkubovány 24 hodin v přítomnosti různých koncentrací CNT-COOH (1 µg/ml – 100 µg/ml). Proporce živých buněk byla určena pomocí WST-8 eseje. Dále jsme studovali vliv inhibitoru autofágie bafilomycinu A1 na toxicitu CNT-COOH pro HUVEC.

VÝSLEDKY:

Inkubace buněk HUVEC s 50 µg/ml CNT-COOH vedla ke snížení počtu živých buněk na 26%. Naproti tomu kultivace buněk CAD5 v přítomnosti 100 µg/ml CNT-COOH způsobila pokles počtu živých buněk pouze na 74%. Po inhibici autofágie bafilomycinem A1 došlo u HUVEC po inkubaci s 10 µg/ml CNT-COOH k dalšímu snížení počtu živých buněk, a to z 39% v přítomnosti CNT-COOH na 25% a 16% v přítomnosti CNT-COOH s 10nM a 100nM bafilomycinem A1. Samotný bafilomycin A1 způsobil snížení pouze na 73% (10 nM) a 63% (100 nM).

ZÁVĚRY:

Primární buňky HUVEC jsou výrazně citlivější k toxicitě CNT-COOH než nádorová linie CAD5. Tento rozdíl není pravděpodobně způsoben odlišnou kinetikou růstu, protože buňky mají podobný poločas dělení. Pokles počtu živých buněk HUVEC v přítomnosti bafilomycinu A1 může naznačovat uplatnění autofágie při toxicitě CNT-COOH. Buňky HUVEC, na rozdíl od CAD5, představují citlivý model pro detailní studium mechanismu buněčné toxicity uhlíkových nanotub.

KLÍČOVÁ SLOVA:

autofágie, bafilomycin A1, nanočástice, toxicita, uhlíkové nanotuby



Oceněná studentka postgraduálního studia Mgr. Marcela Filipová.

SEKCE POSTGRADUÁLNÍ KLINICKÁ I. - II. VÍTĚZNÉ PRÁCE

I.

Efekt laparoskopické sleeve gastrektomie na mRNA expresi prozánětlivě působících genů v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech obézních pacientů

Autoři: Pavel Trachta, Ivana Dostálová, Zdeňka Laacinová, Denisa Haluziková, Petra Kaválková, Mojmír Kasalický, Martin Haluzík

Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

Inhibition of Heat Shock Protein 90 (Hsp90) targets canonical TGF- β signaling to prevent fibrosis in systemic sclerosis

Author: MUDr. Michal Tomčík

Supervisors: doc. MUDr. Radim Bečvář, CSc.; doc. MUDr. Ladislav Šenolt, Ph.D., Institute of Rheumatology, Department of Rheumatology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Protektivní vliv hyperkapnie při ischemicko-reperfuzním poškození plic, na zvířecím modelu Ex Vivo transplantace plic

Autor: MUDr. Hana Mrázková

Školitel: prof. MUDr. Robert Lischke, Ph.D., III. chirurgická klinika 1. LF UK a FNM

II.

Potenciální využití C3a složky komplementu jako markeru aktivity choroby u pacientů s neuromyelitis optica

Autorka: MUDr. Petra Nytrová

Školitelka: MUDr. Dana Horáková, Ph.D., Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN

EFEKT LAPAROSKOPICKÉ SLEEVE GASTREKTOMIE NA MRNA EXPRESI PROZÁNĚTLIVĚ PŮSOBÍCÍCH GENŮ V PODKOŽNÍ TUKOVÉ TKÁNI A PERIFERNÍCH MONOCYTECH OBÉZNÍCH PACIENTŮ



Autoři: Pavel Trachta, Ivana Dostálová, Zdeňka Lacinová, Denisa Haluzíková, Petra Kaválková, Mojmír Kasalický, Martin Haluzík

Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN

VÝCHODISKO:

Cílem této studie bylo zjistit efekt laparoskopické sleeve gastrektomie (LSG) na parametry subklinického zánětu a prozánětlivě působících genů v podkožní tukové tkáni (SAT) a v periferních monocytech u obézních pacientů.

METODY:

Do studie bylo celkem zařazeno 13 obézních nediabetiček a 18 zdravých štíhlých žen, jako kontrola. Antropometrické, biochemické a hormonální parametry byly stanoveny bazálně a po 6, 12 a 24 měsících po sleeve gastrektomii. Relativní genová exprese prozánětlivě působících genů v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech byla stanovena metodou real-time PCR.

VÝSLEDKY:

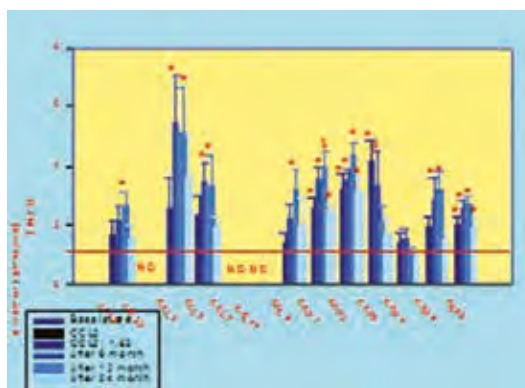
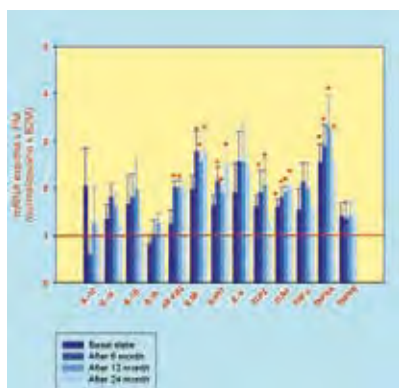
Bazálně měla OB skupina ve srovnání s kontrolní skupinou zvýšené sérové koncentrace hsCRP, inzulinu a prozánětlivě působících cytokinů. mRNA exprese CD68, cytokinů (IL-10, IL-18), chemokinů (CCL-3, -17, -22) a chemokinového receptoru CCR1 byla zvýšena. V PM mRNA exprese CD68, chemokinových receptorů (CCR-1, CCR-2, CCR-3) a jiných prozánětlivých receptorů (TLR-2, TLR-4, TNFRSF1A), faktoru inhibující makrofágy (MIF), ICAM-1, PPAR δ a ADIPOR2 byly signifikantně zvýšené ve skupině obézních.

Po 24 měsících od LSG došlo k poklesu tělesné hmotnosti (BMI 33.0 ± 2.1 vs. 42.3 ± 1.1 kg/m 2 ; $p < 0.05$) a vylepšení lipidového spektra (LDL cholesterol 2.37 ± 0.39 vs. 2.76 ± 0.30 mmol/l; $p < 0.05$; TAG 0.95 ± 0.21 vs. 1.71 ± 0.24 mmol/l; $p < 0.05$). Výkon byl bez signifikantního vlivu na glykémii (5.18 ± 0.29 vs. 4.99 ± 0.22 mmol/l; $p < 0.05$) nebo parametry inzulinové rezistence (HOMA-IR 7.24 ± 1.76 vs. 8.51 ± 1.43 ; $p < 0.05$). V podkožní tukové tkáni LSG snížilo relativní genovou expresi up-regulovaných chemokinů, chemokinových receptorů a prozánětlivých faktorů (CCL-3, CCL-17, CCL-22, CCR-1, CCR-4, CD68, IL-1B, IL-18) s maximem změn ve 12 a 24 měsících od výkonu. Operace měla minimální vliv na zlepšení prozánětlivého profilu v PM (Obr. 1 a 2) s perzistentním zvýšením v mRNA expresi prozánětlivě působících faktorů MIF, TLR-2, TLR-4 a jiných prozánětlivě působících receptorů.

ZÁVĚRY:

V této studii prokazujeme, že obézní pacientky měly zvýšenou mRNA expresi chemotaktických a prozánětlivých faktorů v podkožní tukové tkáni a periferních monocytech. LSG snížila prozánětlivý profil v SAT, ale nikoliv v periferních monocytech. Předpokládáme, že aktivace TLR stresové cesty a zvýšená exprese MIF v PM se může podílet na limitovaném efektu sleeve gastrektomie s persistencí inzulinové rezistence a remanifestací metabolických komplikací u obézních pacientů.

Poděkování: Podporováno RVO-VFN64165, IGA NT13299-4 a SVV264503.



Obr. 1: mRNA exprese v periferních monocytech Obr. 2: mRNA exprese v periferních monocytech

INHIBITION OF HEAT SHOCK PROTEIN 90 (HSP90) TARGETS CANONICAL TGF- β SIGNALING TO PREVENT FIBROSIS IN SYSTEMIC SCLEROSIS

Author: MUDr. Michal Tomčík
Supervisors: doc. MUDr. Radim Bečvář, CSc.; doc. MUDr. Ladislav Šenolt, Ph.D.,
 Institute of Rheumatology, Department of Rheumatology,
 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague



BACKGROUND:

Systemic sclerosis (SSc) is a rare, chronic, potentially lethal connective tissue disease involving the skin and several internal organs. Targeted therapies for SSc and other fibrotic diseases are not yet available. Hsp90 has a crucial role in folding and conformational stabilization of TGF- β receptors and also of Src kinases, which are intracellular mediators of the pro-fibrotic effects of TGF- β . Here, we evaluated the efficacy of Hsp90 inhibition as a novel approach for inhibition of aberrant TGF- β signaling and for the treatment of fibrosis in several preclinical models of SSc.

METHODS:

The expression of Hsp90 was quantified by qPCR, Western Blot and immunohistochemistry. The effects of Hsp90 inhibition were analyzed in cultured fibroblasts, bleomycin-induced dermal fibrosis, tight-skin (Tsk-1) mice and in mice overexpressing a constitutively active TGF- β receptor I (T β RI).

RESULTS:

The expression of Hsp90 was increased in SSc skin and in murine models of SSc in a TGF- β dependent manner. Inhibition of Hsp90 by 17-Dimethylaminoethylamino-17-demethoxy-geldanamycin (17-DMAG) inhibited canonical TGF- β signaling and completely prevented the stimulatory effects of TGF- β on collagen synthesis and on myofibroblast differentiation. Treatment with 17-DMAG decreased the activation of canonical TGF- β signaling in murine models of SSc and exerted potent anti-fibrotic effects in bleomycin-induced dermal fibrosis, in Tsk-1 mice and in mice overexpressing a constitutively active T β RI. The dermal thickness, the number of myofibroblasts and the hydroxyproline content were all significantly reduced upon treatment with 17-DMAG. Toxic effects of 17-DMAG were not observed in anti-fibrotic doses.

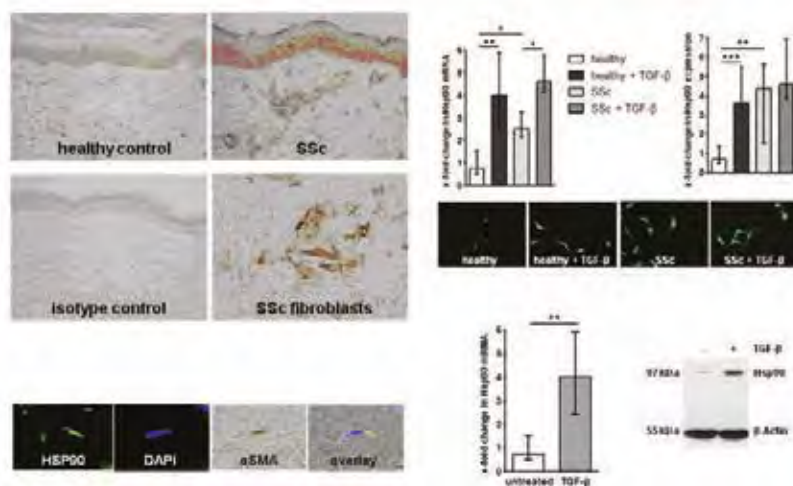
CONCLUSIONS:

Hsp90 is upregulated in SSc and is critical for TGF- β signaling. Pharmacological inhibition of Hsp90 effectively blocks the profibrotic effects of TGF- β in cultured fibroblasts and in different preclinical models of SSc. These results have translational implications, because several Hsp90 inhibitors are in clinical trials for other indications.

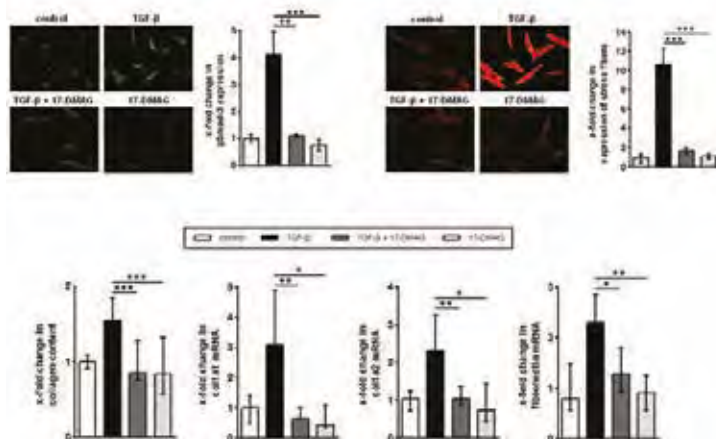
KEY WORDS:

systemic sclerosis, TGF- β , fibrosis, Hsp90 inhibitors

HSP90 is overexpressed in the SSc skin and fibroblasts



Inhibition of HSP90 by 17-DMAG inhibited TGF- β signaling and completely prevented the stimulatory effects of TGF- β on collagen synthesis and on myofibroblast differentiation



Oceněná studentka Adéla Valchová.

PROTEKTIVNÍ VLIV HYPERKAPNIE PŘI ISCHEMICKO-REPERFUZNÍM POŠKOZENÍ PLIC, NA ZVÍŘECÍM MODELU EX VIVO TRANSPLANTACE PLIC

Autor: MUDr. Hana Mrázková

Školitel: prof. MUDr. Robert Lischke, Ph.D., III. chirurgická klinika 1. LF UK a FNM

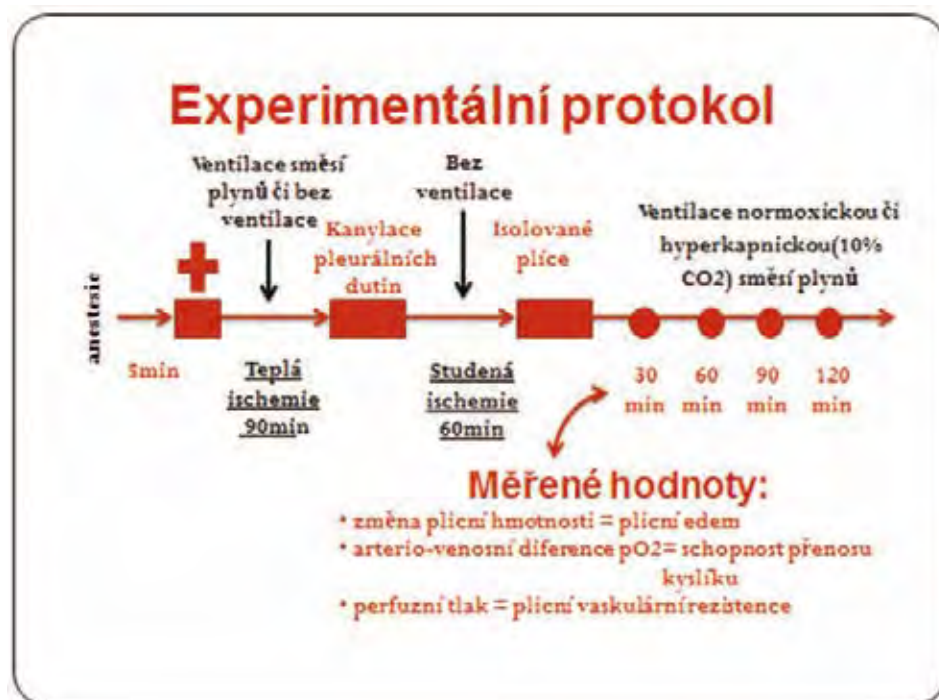


VÝCHODISKO:

Hlavním faktorem bránícím výraznějšímu nárůstu počtu transplantací plic je kritický nedostatek vhodných dárců. Tato skutečnost vede ke snaze využívat pro účely transplantace např. plíce získané od dárců zemřelých na srdeční zástavu mimo nemocniční zařízení (non-heart-beating donors) nebo využívat orgány od marginálních dárců po předchozí stabilizaci ventilačních parametrů při mimotělní oxygenii plíce (ex-vivo reconditioning). Z hlediska funkčního poškození plic je klíčové období teplé ischemie a období znovuobnovení perfuze, kdy se často rozvíjí ischemicko-reperfuční (IR) poškození.

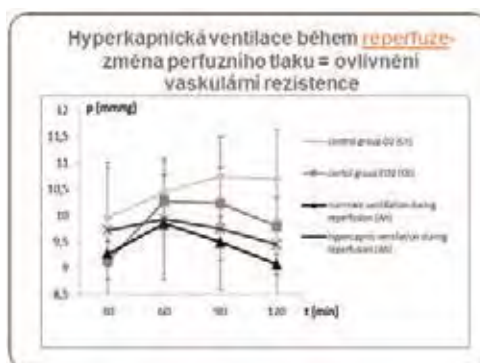
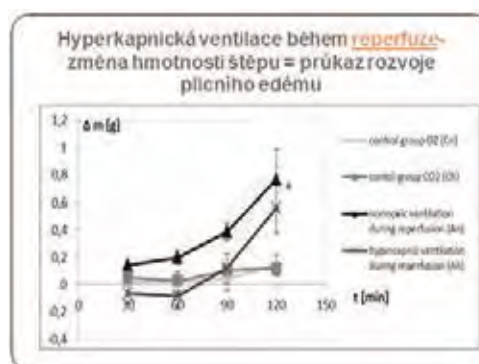
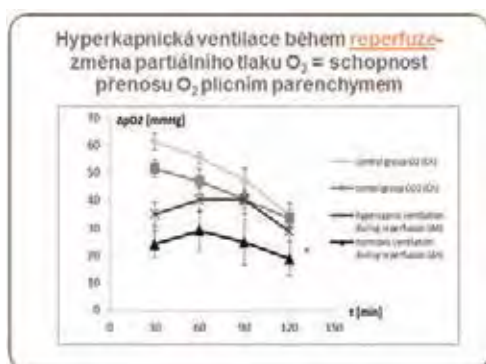
METODY:

K experimentálnímu modelu IR poškození a jeho ovlivnění hyperkapnickou ventilací v různých fázích Ex Vivo modelu rekondice plicního štěpu jsme použili 6 skupin laboratorních potkanů – 2 kontrolní skupiny, které nebyly podrobeny období teplé ischemie, a 4 experimentální skupiny ventilované hyperkapnickou směsí plynů v různých fázích experimentu. Hlavní sledované parametry hodnotící IR poškození byly: změna plicní hmotnosti, arterio-venosní diference a perfuzní tlak.



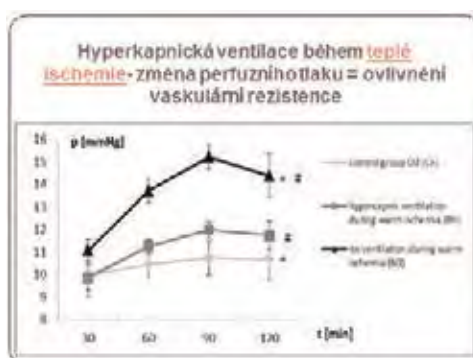
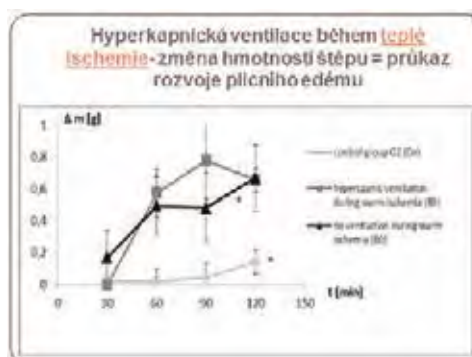
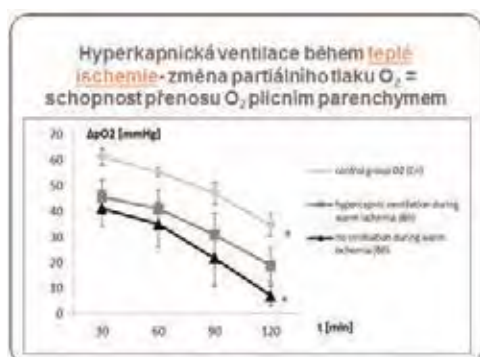
Experiment A: Ovlivnění IR poškození hyperkapnickou ventilací během reperfuze

Experiment	groups	warm ischemia 90 min		cold ischemia 60 min	reperfusion - 2 hours experiment	
		hypercapnic ventilation	without ventilation	no ventilation	normoxic ventilation	hypercapnic ventilation
controls	Cn				x	
	Ch					x
A	An		x	x	x	
	Ah		x	x		x



Experiment B: Ovlivnění IR poškození hyperkapnickou ventilací během teplé ischemie

Experiment	groups	warm ischemia 90 min		cold ischemia 60 min		reperfusion - 2 hours experiment	
		hypercapnic ventilation	without ventilation	no ventilation		normoxic ventilation	hypercapnic ventilation
controls	Cn				x		
	Ch						x
B	Bh	x		x	x		
	B0		x	x	x		



VÝSLEDKY:

1. Hyperkapnická ventilace během reperfuze snižuje rozvoj plicního edému.

Hyperkapnická ventilace během reperfuze má protektivní efekt na schopnost přenosu O_2 plicním parenchymem

- Nový/šší produkce surfaktantu a snížení jeho povrchového napětí na podkladě nastolené acidózy při ventilaci CO_2 během reperfuze

Hyperkapnická ventilace během reperfuze snižuje rozvoj plicního edému

- Přímý vliv CO_2 na snížení vzniku kyslíkových radikálů během reperfuze
- Kyslíkové radikály vedou k peroxidaci lipidových membrán a tím zvýšení jejich propustnosti

↓

vznik plicního edému

2. Hyperkapnická ventilace během reperfuze má protektivní efekt na schopnost přenosu O_2 plicním parenchymem
 3. Hyperkapnická ventilace během teplé ischemie nemá žádný vliv na IR poškození plic.

ZÁVĚRY:

Protektivní efekt hyperkapnické ventilace pouze během reperfuze v experimentu NHBD transplantace lze aplikovat při Ex Vivo reperfuzi a ventilaci plic při terapeutické hyperkapnické ventilaci štěpu
= možná cesta navýšení množství vhodných orgánů k transplantaci

GRANT SUPPORT:

- Supported by the project (Ministry of Health, Czech Republic) for conceptual development of research organization 00064203 (University Hospital Motol, Prague, Czech Republic)
- GACR 303/10/P343
- IGA MZCR NT/13358



Oceněný student postgraduálního studia MUDr. Michal Tomčík.

POTENCIÁLNÍ VYUŽITÍ C3a SLOŽKY KOMPLEMENTU JAKO MARKERU AKTIVITY CHOROBY U PACIENTŮ S NEUROMYELITIS OPTICA.

Autorka: MUDr. Petra Nytrová

Školitelka: MUDr. Dana Horáková, Ph.D., Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

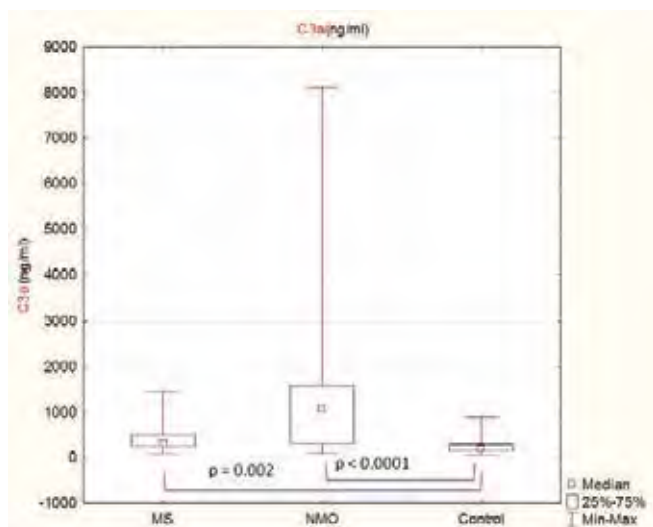
Neuromyelitis optica (NMO) je invalidizující autoimunitní onemocnění s relaps-remitentním průběhem, které postihuje zrakový nerv a míchu. Diagnóza je stanovena na základě klinického obrazu, nálezů na MR mozku a míchy a stanovení sérových protilátek proti aquaporinu-4 (AQP4), které jsou schopny aktivovat komplement. Cílem této práce bylo porovnat koncentrace štěpných produktů komplementu a anti-C1q protilátek mezi pacienty s NMO, roztroušenou sklerózou (RS) a zdravými kontrolami.

METODY:

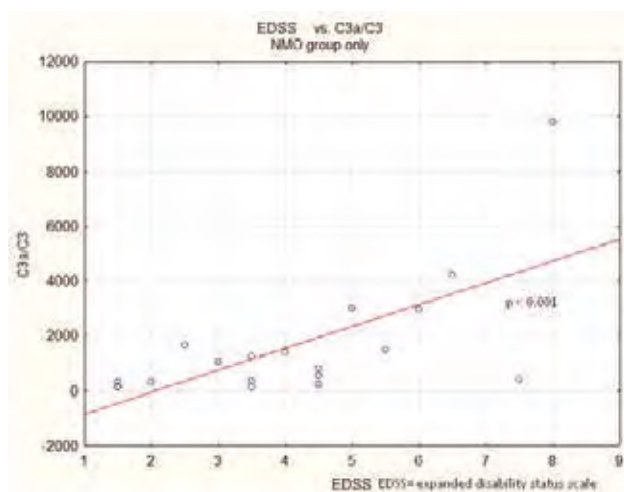
Plazmatické koncentrace C3a, C4a, sC5b-9 a anti-C1q protilátek byly stanoveny u 19 pacientů s NMO, 35 pacientů s RS a 40 zdravých kontrol pomocí ELISA kitů (Quidel, Bühlmann). Stanovení a titrace AQP4 protilátek byla provedena metodou nepřímé imunofluorescence na AQP4 transfekovaných HEK buňkách. Tíže neurologického deficitu byla hodnocena podle EDSS škály.

VÝSLEDKY:

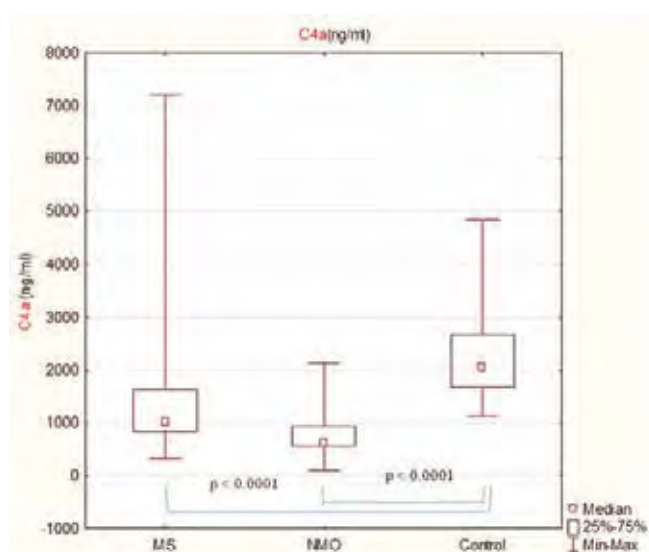
Koncentrace C3a je u NMO pacientů vyšší než u kontrol (medián 1071 ng/ml vs. 211,6 ng/ml; $p < 0,0001$; Kruskal Wallis (graf 1)). U NMO pacientů s ≥ 1 relapsem v šesti měsících před odběrem je C3a signifikantně vyšší ve srovnání s pacienty bez relapsů (medián 1480 ng/ml vs. 309 ng/ml; $p < 0,001$; Mann-Whitney U test). Použitím ROC křivky jsme stanovili hranici koncentrace C3a mezi těmito dvěma podskupinami na 500 ng/ml se senzitivitou 94,7 % a specifitou 90,3 %. Poměr C3a/C3 koreluje u NMO s neurologickou disabilitou ($p < 0,001$; Spearman $R 0,68$) (graf 2). U NMO pacientů nacházíme signifikantně vyšší koncentraci anti-C1q v porovnání s RS (medián 29,5 UI/ml vs. 4,0 UI/ml; $p < 0,00001$) nebo kontrolami (medián 29,5 UI/ml vs. 5,56 UI/ml; $p < 0,007$; Kruskal Wallis (graf 3)). Koncentrace C4a je u pacientů s NMO (medián 623 ng/ml) a RS (medián 1027 ng/ml) nižší než u kontrol (medián 2057 ng/ml) (oba $p < 0,001$; Kruskal Wallis). Solubilní C5b-9 u NMO (medián 247 ng/ml) a RS pacientů (medián 277 ng/ml) je vyšší než u kontrol (medián 142 ng/ml) (oba $p < 0,001$; Kruskal Wallis) (přehled výsledků v tabulce 1).



Graf 1: Srovnání koncentrací C3a složky komplementu mezi pacienty s NMO, RS (MS) a zdravými kontrolami (control)



Graf 2: Korelace mezi poměrem C3a/C3 komplementu a EDSS u pacientů s NMO



Graf 3: Srovnání koncentrací anti-C1 protilátek mezi pacienty s NMO, RS (MS) a zdravými kontrolami (control)

Tabulka 1: Srovnání koncentrací štěpných produktů komplementu mezi pacienty s NMO, RS a zdravými kontrolami.

	NMO vs RS	NMO vs kontroly	RS vs kontroly
C3a	n.s.	< 0.0001	0.002
C4a	0.037	< 0.001	< 0.001
sC5b-9	n.s.	< 0.001	< 0.001

ZÁVĚRY:

Naše data podporují hypotézu, že NMO je komplementem zprostředkované onemocnění a naznačují možné užití C3a markeru k stratifikaci rizika relapsů u NMO.

KLÍČOVÁ SLOVA:

neuromyelitis optica, komplement, anti-C1 protilátky

Podpořeno grantem GAUK 132010, výzkumným záměrem MŠM 0021620849 a projektem PRVOUK-P26/LF1/4. Stáž Petry Nytrové na University of Oxford byla podpořena z Fondu Mobility UK a Newsom-Davis Visiting Fellowship.

SEKCE NELÉKAŘSKÁ VÍTĚZNÉ PRÁCE

Figurální a prostorové komponenty vizuální paměti Rey-Osterriethovy komplexní figury jsou asociovány s atrofií hipokampů u stárnoucí populace.

Autoři: Nikolai T., Vyhnálek M., Literáková E., Nedělská Z., Laczo J., Hort J.

Školitel: Roth J., Centrum klinických neurověd, Neurologická klinika 1. LF UK a VFN

Psychodiagnostický proces v hermeneutické perspektivě

Autor: Mgr. Marek Macák

Školitel: PhDr. Pavel Harsa, Ph.D., Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN, psychologická laboratoř

Prediktor hmotnosti

Autoři: Aneta Sadílková, Jan Moskalyk

Školitel: MUDr. Martin Matoulek, Ph.D., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN



FIGURÁLNÍ A PROSTOROVÉ KOMPONENTY VIZUÁLNÍ PAMĚTI REY-OSTERRIETHOVY KOMPLEXNÍ FIGURY JSOU ASOCIOVÁNY S ATROFIÍ HIPOKAMPŮ U STÁRNOUCÍ POPULACE



Autoři: Nikolai T., Vyhňálek M., Literáková E., Nedělská Z., Laczo J., Hort J.
Školitel: Roth J., Centrum klinických neurověd, Neurologická klinika 1. LF UK a VFN

ÚVOD:

Rey-Osterriethova komplexní figura (ROCF) je jedním z nejpoužívanějších nonverbálních testů. ROCF bývá součástí neuropsychologických baterií a předpokládá se její citlivost pro zachycení kognitivního deficitu zejména v oblastech vizuokonstruktivních funkcí, exekutivních funkcí a vizuální paměti, se kterou je spojováno zejména oddálené vybavení figury (Albert, et al., 2011). Hodnocení ROCF bývá prováděno obvykle podle klasického skórovacího systému vyvinutého Osterrethem v roce 1944, který je ovšem zatížen relativně vysokou mírou subjektivity. Pro zpřesnění skórovacích kritérií byl vyvinut skórovací systém Myerse a Myerse (1995), který vykazuje vyšší reliabilitu než původní skórovací systém.

ROCF jako měřítko vizuální paměti byla dříve teoreticky asociována zejména k funkcím pravého hipokampu, v proběhlé studii však nenašly specifický vztah mezi oblastí pravého hipokampu a výkonem v ROCF. Breier, et al. (1996) postulovali předpoklad, že paměťový výkon v ROCF lze rozdělit na dva aspekty, figurální a prostorový. Zatímco figurální komponenta výkonnosti (tedy paměť na geometrické tvary, které tvoří celek ROCF) je asociována spíše s levým hipokampem, prostorové komponenty (umístění jednotlivých tvarů v prostoru) je vyjádřením prostorové paměti a tedy asociován spíše k funkcím pravého hipokampu. Byl vyvinut skórovací systém reflektující figurální a prostorové komponenty ROCF, ve studii u pacientů s temporální epilepsií (Breier, et al., 1996) výsledky naznačovali oprávněnost takového rozdělení. Další studie však toto rozdělení nepotvrdily a specifický vztah jednotlivých komponentů k funkcím pravého hipokampu neprokázali (Kneebone, Lee, Wade, & Loring, 2007), (McConley, et al., 2008). Cílem naší studie je zhodnotit schopnost skórovacích systémů rozlišit pacienty s poruchou paměti od zdravých osob a analyzovat asociaci figurálních a prostorových aspektů ROCF s atrofií hipokampů.

METODY:

26 pacientů s amnestickou mírnou kognitivní poruchou (aMCI) a 22 věkově vázaných osob bez kognitivního deficitu absolvovalo komplexní neuropsychologické vyšetření včetně ROCF-oddáleného vybavení. Pacienti s aMCI byli diagnostikováni podle Petersenových kritérií (Petersen, et al., 1999), výsledky v ROCF nebyly brány v potaz při vytváření diagnózy. Jako skórovací systém jsme použili Meyersův systém skórování a metodu skórování figurálních a prostorových aspektů ROCF podle Breiera, et al. (1996). Všechny osoby zároveň absolvovaly 1,5T MRI s volumetrií objemů levého a pravého hipokampu a celkového objemu mozku, který byl využit jako korekce výsledků. Pro analýzu výsledků byla použita neparametrická metoda Spearmanovy pořádkové korelace.

VÝSLEDKY:

Figurální i prostorový skór ROCF i celkový skór oddáleného vybavení rozlišoval mezi pacienty s aMCI a skupinou osob bez kognitivního deficitu. Dále jsme našli středně významné korelace objemu hipokampů s prostorovým skórem ($r_R=0,48$, $r_L=0,51$, $p<0,001$, figurálním skórem ($r_R=0,39$, $r_L=0,46$, $p<0,001$) i celkovým skórem oddáleného vybavení ($r_R=0,46$, $r_L=0,50$, $p<0,001$). Detailní přehled výsledků ukazuje tabulka.

Korelační tabulka (Spearmanova korelace)

		Figurální skór	Prostorový skór	Celkový skór	Pravý hipokampus	Levý hipokampus
Figurální skór	Korelační koeficient		0,93	0,93	0,40	0,47
	Sig. (1-tailed)	.	<0,001	<0,001	0,0025	<0,001
Prostorový skór	Korelační koeficient	0,93		0,96	0,48	0,5213
	Sig. (1-tailed)	<0,001	.	<0,001	<0,001	<0,001
Celkový skór	Korelační koeficient	0,93	0,96		0,47	0,51
	Sig. (1-tailed)	<0,001	<0,001	.	<0,001	<0,001
Pravý hipokampus	Korelační koeficient	0,40	0,48	0,47		0,80
	Sig. (1-tailed)	0,0025	<0,001	<0,001	.	<0,001
Levý hipokampus	Korelační koeficient	0,47	0,52	0,51	0,80	
	Sig. (1-tailed)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	.
	N (počet osob)	48	48	48	48	48

VYSVĚTLIVKY:

- Figurální skór: skór oddáleného vybavení figurálních aspektů ROCF po 3 minutách podle Breier, et al., 1996.
- Prostorový skór: skór oddáleného vybavení prostorových aspektů ROCF po 3 minutách podle Breier, et al., 1996.
- Celkový skór: skór oddáleného vybavení dle Myerse a Myerse, 1995

DISKUZE:

Výsledky našeho výzkumu prokazují schopnost paměťového skóru ROCF identifikovat pacienty s poruchou paměti (aMCI) ve všech použitých skórovacích systémech. Ačkoliv je tedy ROCF komplexní metodou, postihující různé kognitivní domény, v oblasti oddáleného vybavení je ROCF úzce asociována s paměťovou výkonností.

Výkonnost všech účastníků studie v ROCF středně silně korelovala s atrofií hipokampů u všech použitých skórovacích systémů. Vzhledem k očekávané symetrii atrofie hipokampální oblasti u pacientů s aMCI se nelze vyjádřit k asociaci jednotlivých skórů ať již k levému či pravému hipokampu, i přesto je zajímavým poznatkem, že figurální skór ROCF koreluje s oblastí pravého hipokampu nejméně z použitých skórovacích technik. U prostorového skóru ROCF byla nalezena středně silná korelace s oběma hipokampy která je prakticky shodná s běžným způsobem skórování.

Studie představuje pouze předběžná data, v dalším postupu bude nutné ověřit interrater reliabilitu zejména nově vyvinutých skórů Breiera et al., (1996), které mohou být zatíženy relativně vysokou mírou subjektivity vzhledem k omezeným zkušenostem s jejich použitím. Dalším záměrem výzkumu je analýza vztahu výsledků ROCF a výsledků testů verbální paměti, zejména Paměťového testu učení (AVLT) a testu vybavení s vodítky (Enhanced Cued Recall). Pro publikaci výsledků bude nezbytná reanalýza dat s ohledem na zjištěné hodnoty interrater reliability a s přihlédnutím k výsledkům použité neuropsychologické baterie.

ZÁVĚR:

Výsledky naší pilotní studie naznačují, že ROCF v oblasti oddáleného vybavení je schopné rozlišovat mezi skupinou pacientů s aMCI a skupinou jedinců bez kognitivního deficitu a to ve všech použitých způsobech skórování. Všechny skóry oddáleného vybavení ROCF rozlišovaly mezi pacienty s aMCI a skupinou osob bez kognitivního deficitu. Celkový skór oddáleného vybavení, figurální i prostorový skór reflektují atrofii hipokampů u stárnoucích osob. Výsledky naznačují užitečnost testu ROCF pro hodnocení paměťového deficitu i jeho asociaci k funkcím hipokampu v části oddáleného vybavení, výsledky však musí být dále analyzovány.

KLÍČOVÁ SLOVA:

mírná kognitivní porucha, prostorová paměť, hipokampus

LITERATURA:

- Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., et al. (2011). The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers & Dementia*, 7(3), 270-279.
- Breier, J. I., Plenger, P. M., Castillo, R., Fuchs, K., Wheless, J. W., Thomas, A. B., et al. (1996). Effects of temporal lobe epilepsy on spatial and figural aspects of memory for a complex geometric figure. *J Int Neuropsychol Soc*, 2(6), 535-540.
- Kneebone, A. C., Lee, G. P., Wade, L. T., & Loring, D. W. (2007). Rey Complex Figure: figural and spatial memory before and after temporal lobectomy for intractable epilepsy. *J Int Neuropsychol Soc*, 13(4), 664-671.
- McConley, R., Martin, R., Palmer, C. A., Kuzniecky, R., Knowlton, R., & Faught, E. (2008). Rey Osterrieth complex figure test spatial and figural scoring: relations to seizure focus and hippocampal pathology in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav*, 13(1), 174-177.
- Meyers, J. E., & Meyers, K. R. (1995). Rey Complex Figure Test and Recognition Trial: Professional manual. Odessa, FL: *Psychological Assessment Resources*.
- Petersen, R. C., Smith, G. E., Waring, S. C., Ivnik, R. J., Tangalos, E. G., & Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*, 56(3), 303-308.

PSYCHODIAGNOSTICKÝ PROCES V HERMENEUTICKÉ PERSPEKTIVĚ

Autor: Mgr. Marek Macák

Školitel: PhDr. Pavel Harsa, Ph.D., Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN, psychologická laboratoř



Psychologická diagnostika se pohybuje na hranici abstraktní, exaktní vědy a velmi konkrétního příběhu člověka, jehož se diagnostický proces týká. Kvalitní práce s pacientem vždy zahrnuje schopnost vnímat i jiné než technické aspekty diagnostického kontaktu. Zdravotnický odborník nikdy není pouhým technikem. Zredukování diagnostického procesu na čistě technický postup v práci s člověkem nezajišťuje skutečnou neutralitu ani benigní výsledek diagnostického snažení. V této práci chci poukázat na skutečnost, že při diagnostice je ve hře je více procesů, než lze zachytit v rámci objektivizovaných technických parametrů a vodítek. Důraz na porozumění technickým aspektům diagnostického procesu proto v praxi psychologa nestačí, a nechává řadu aspektů práce s pacientem opomenutých a nezužitkováných. Zvláště u psychologické diagnostiky existuje velký potenciál obohatit, případně poškodit pacienta, v závislosti na rozsahu a kvalitě aktivní práce na pacientově asimilaci diagnostického procesu a následných výstupů.

Hermeneutika jakožto věda o interpretaci, tj. věda o vztahu porozumění a vysvětlení v živém mezilidském kontaktu, umožňuje přínosnou a bohatou reflexi psychodiagnostického dění. Počítá s nutností abstrakce a práce s vědecky vymezenými pojmy a koncepty, zároveň však neopomíjí reálnou, neredukovatelnou žitou zkušenost všech zúčastněných, která má zvláště v psychologické práci významný vliv na praktický dopad diagnostiky na života pacienta. V tomto projektu se pokouším o analýzu dynamiky empatického porozumění a teoretické konceptualizace a o vztahování celého procesu diagnostiky k životnímu narativu pacienta, který je konfrontován s nutností asimilovat jak diagnostický proces, tak jeho výstupy. Navazuji přitom na práci autorů, zabývajících se kolaborativní a terapeutickou psychodiagnostikou a jimi navrhovaný koncept rozšiřuji o specifický přínos kritické hermeneutiky Paula Ricoeura.

Cílem práce je nabídnout psychologické diagnostice jakýsi alternativní „pohled ze strany“. Hermeneutické hledisko odhaluje procesy, které se v diagnostickém kontaktu psychologa a pacienta odehrávají bez ohledu na míru reflexe tohoto dění. Kritické hermeneutické promyšlení a tematizace psychologické diagnostiky může vést k bohatší reflexi složitosti diagnostické praxe, ke zvýšení kvality diagnostického procesu a potenciálně i ke konkrétním změnám v kontaktu s pacientem i ve formulaci výstupů z vyšetření.

Interpretace v diagnostickém procesu
1. Překlad klinické produkce pacienta do teoretického modelu
2. Vztahování teoretické formulace k reálným životním okolnostem klienta
3. Přivlastnění diagnostické formulace pacientem

Dialektické póly hermeneutického kruhu	
Póly hermeneutického kruhu (porozumění - vysvětlení) se navzájem předpokládají, přestože v klinické diagnostice můžeme jednu anebo druhou stránku opomíjet a nechávat netematizovanou. Nelze rozumět sobě ani druhým bez používání abstraktnějších vysvětlení a zároveň nelze psychické dění vysvětlovat bez zakotvení v konkrétní realitě, na kterou explikace nakonec vždy odkazuje a z ní vychází. Na straně pacientů dominuje pól neredukovaného konkrétního sebeporozumění (životní narativ), na straně diagnostiků spíše abstraktní formulace (teorie). Je potřeba pečovat o oba póly, které se v klinické situaci vzájemně podporují a opodstatňují. Disociace mezi žitou realitou pacienta a abstraktnějším porozuměním diagnostického pracovníka snižuje integritu a ucelenost diagnostiky a omezuje její možnosti, zejména vzhledem k jejímu praktickému dopadu na pacientovu asimilaci diagnostického výstupu i vzhledem k terapeutickým resp. iatrogenním vlivům diagnostického procesu.	
Porozumění	Vysvětlení
Konkrétní popis fenoménů	Abstraktní popis pacienta
Žitá subjektivní realita pacienta	Zachycení stavu v pojmech teorie
Neredukované vyprávění pacienta (tzv. thick description)	Redukce, zarámování do teorie (tzv. thin description)

Přínosy zohlednění hermeneutického hlediska v psychologické diagnostice

- přiblížení diagnostiky pacientově žité realitě (kontextualizace směrem k pacientově životní situaci, nikoliv pouze vzhledem ke zdravotnickým institucím a systémům)
- zvýšení jazykové a pragmatické citlivosti při formulaci a komunikaci diagnostických závěrů
- zohlednění reálného dopadu diagnostiky do pacientova života, včetně posílení psychotherapeutického potenciálu diagnostiky
- základ pro rozpracování konkrétních vodítek pro hermeneuticky informovanou práci s výstupy z jednotlivých diagnostických metod i pro integraci jednotlivých výstupů
- průběžná péče o zakotvení teoretických modelů a objektivních metodických postupů v realitě běžného života (kultivace zpětné vazby mezi odbornou praxí a kontextem života pacientů, ze kterého praxe vychází a kterému má odborná praxe v posledku sloužit)

KLÍČOVÁ SLOVA:

psychologická diagnostika, hermeneutika, porozumění, vysvětlení, kolaborativní diagnostika, terapeutická diagnostika



Oceněná studentka postgraduálního studia MUDr. Petra Nytrová.



PREDIKTOR HMOTNOSTI

Autoři: Aneta Sadílková, Jan Moskalyk
Školitel: MUDr. Martin Matoulek, Ph.D., III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN



VÝCHODISKO:

Konzervativní redukční režim představovaný snížením energetického příjmu a navýšením energetického výdeje stále tvoří základní článek terapie obezity. Cílem projektu je sestavení testovací databáze z nasbíraných dat a následná realizace webové aplikace Prediktor hmotnosti určené k predikci reálného poklesu hmotnosti u osob rozhodnutých zahájit redukční režim.

METODIKA:

Zkoumaný soubor zahrnoval 45 probandů, 31 žen a 14 mužů, navštěvující obezitologickou ambulanci 3. interní kliniky VFN. Průměrný věk probandů byl 50 let, průměrné vstupní BMI 40,56 kg/m². Prospektivní metodou byla shromažďována data dokumentující průběh redukce hmotnosti u těchto probandů v prvním měsíci redukčního režimu. Byly zaznamenávány změny tělesné hmotnosti a změny obvodu pasu a boků v přímé souvislosti s reálným energetickým příjmem a výdejem. Získaná data byla rozřazena podle kompletnosti a validity s cílem vybrat data použitelná pro testování aplikace Prediktor hmotnosti. Zároveň byla data statisticky zpracována, aby mohla být vyhodnocena celková úspěšnost redukčního režimu u probandů zapojených do projektu.

VÝSLEDKY:

Konzervativní terapie obezity v rámci projektu Prediktor hmotnosti vykazuje procentuálně vyšší úspěšnost (67 %), než je běžná procentuální úspěšnost redukčních režimů v obezitologických ambulancích (přibližně 30 %). Třiceti pacientům z celkových 45 se minimálně v prvním měsíci spolupráce podařilo snížit tělesnou hmotnost. Použitelný soubor tvořila data 20 probandů, 17 žen a 3 mužů. Z nich byla sestavena základní databáze určená k testování aplikace Prediktor hmotnosti. Tato data byla současně použita pro vytvoření predikční rovnice, na základě které aplikace kalkuluje predikci vývoje hmotnosti u konkrétního individua plánujícího zahájit redukční režim:

$$([EiX]/[EiO]-1*[K1]) - ([EoX]/[EiO]*[K2]*[m0])*[G]*[A] = [\Delta m]$$

$[\Delta m]$	Predikovaná změna hmotnosti v kg
$[EiX]$	Průměrný denní energetický příjem za daný týden
$[EiO]$	Vstupní energetický příjem
$[EoX]$	Průměrný denní energetický výdej za daný týden
$[m0]$	Vstupní hmotnost
$[G]$	Faktor pohlaví: jestliže pacient je muž, pak $[G] = 1+K3$; jestliže pacient je žena, pak $[G] = 1$, ($K3=0,1$)
$[A]$	Faktor věku: jestliže věk pacienta ≤ 25 , pak $[A] = 1$; jestliže věk pacienta > 25 a zároveň ≤ 65 , pak $[A] = (1-(K4/65*\text{věk})$ ($K4=1$); jestliže věk pacienta > 65 , pak $[A] = 1 - K4$ ($K4=0,87$)
$[K1] - [K4]$	Kalibrační konstanty získané na základě statistické analýzy nasbíraných dat ($K1 = 9,98$; $K2 = 0,173$)

ZÁVĚRY:

Nasbíraná data umožnila realizaci webové aplikace Prediktor hmotnosti, která uživateli poskytuje reálný odhad poklesu jeho tělesné hmotnosti na základě zadaných údajů (věk, výška, tělesná hmotnost, vstupní energetický příjem, plánovaný energetický příjem a výdej). Aplikace slouží ke stanovení reálných cílů při individuálním plánování redukčního režimu a představuje tak protivažnu v současnosti široce nabízeným prostředkům, které v krátké době slibují nereálný úbytek hmotnosti, většinou založený na neadekvátně sníženém, a tím dlouhodobě neudržitelném, energetickém příjmu. Vytvořená predikční rovnice predikuje výsledek platný v 72% případech, zbytek procento se vyznačuje určitou odchylkou. Do budoucna bude třeba rozšiřovat testovací databázi a aplikaci průběžně aktualizovat, aby byla predikce hmotnosti co nejpřesnější.

KLÍČOVÁ SLOVA:

redukční režim, testovací databáze, webová aplikace, Prediktor hmotnosti, tělesná hmotnost, energetický příjem, energetický výdej



Oceněný student postgraduálního studia Mgr. Tomáš Nikolai a studentka Aneta Sadílková.

MIMOŘÁDNÉ CENY



MIMOŘÁDNÉ CENY UDĚLILY



Sexuální a partnerské vztahy v terapeutické komunitě pro drogově závislé

Autorka: Michaela Namyslovová

Školitel: doc. MUDr. PhDr. Kamil Kalina, CSc., Klinika adiktologie 1. LF UK a VFN



Protektivní vliv hyperkapnie při ischemicko-reperfuzním poškození plic, na zvířecím modelu Ex Vivo transplantace plic

Autor: MUDr. Hana Mrázková

Školitel: prof. MUDr. Robert Lischke, Ph.D., III. chirurgická klinika 1. LF UK a FNM



Potenciální využití C3a složky komplementu jako markeru aktivity choroby u pacientů s neuromyelitis optica.

Autorka: MUDr. Petra Nytrová

Školitelka: MUDr. Dana Horáková, Ph.D., Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN

SEXUÁLNÍ A PARTNERSKÉ VZTAHY V TERAPEUTICKÉ KOMUNITĚ PRO DROGOVĚ ZÁVISLÉ

Autorka: Michaela Namyslovová

Školitel: doc. MUDr. PhDr. Kamil Kalina, CSc., Klinika adiktologie 1. LF UK a VFN



ÚVOD:

Jedním z tzv. kardinálních pravidel v terapeutických komunitách pro drogově závislé je zákaz navazování velmi blízkých vztahů, obvykle sexuálních nebo erotických, který je interpretován různými způsoby (např. jako „volba mezi léčbou a nadstandardním vztahem“ (TK Podcestný mlýn) a sankcionován individuálně v jednotlivých terapeutických komunitách. K porušování výše zmíněného pravidla pravděpodobně dochází od vzniku koedukovaných skupin v terapeutických komunitách pro drogově závislé.

CÍLE:

Cílem této práce je popsat, jak klienti mající zkušenost se vztahem v terapeutické komunitě vnímají pravidlo zákazu navazování vztahů, co pro ně toto pravidlo znamená a zdali a na základě čeho se měnil jejich názor v průběhu léčby.

METODY:

Použité metody jsou: semistrukturované interview, vlastní poznámky, redukce 1. řádu, barvení textu, vytváření trsů a metoda prostého výčtu. Výzkumný vzorek tvoří 8 klientů a 3 psychoterapeuti anonymní terapeutické komunity. Všichni respondenti s účastí ve výzkumu souhlasili, jsou plnoletí a mají se vztahem v terapeutické komunitě zkušenost.

VÝSLEDKY:

Bylo zjištěno, že respondenti rozumí pravidlu a jsou si vědomi následků na skupinu i jednotlivce při jeho porušení. Respondentům se hůře odpovídalo na dotaz: „Jaký má pro Tebe to pravidlo význam?“, proto byla zvolena formulace tážající se respondentů na jejich názor, postoj a co si o pravidlu myslí. Polovina respondentů (n=6, z toho jeden terapeut) hodnotí pravidlo pozitivně, 3 klienti mají s pravidlem problém a dva respondenti a dva terapeuti mají k pravidlu ambivalentní postoj. Respondenti nebyli schopni konkrétně definovat přesné hranice tohoto pravidla. Byla nalezena souvislost mezi názorem a současným vztahem v léčbě, mezi změnou názoru a prožitým vztahem v léčbě v minulosti.

PROTEKTIVNÍ VLIV HYPERKAPNIE PŘI ISCHEMICKO-REPERFUZNÍM POŠKOZENÍ PLIC, NA ZVÍŘECÍM MODELU EX VIVO TRANSPLANTACE PLIC

Autor: MUDr. Hana Mrázková

Školitel: prof. MUDr. Robert Lischke, Ph.D., III. chirurgická klinika 1. LF UK a FNM



Práce viz str. 106

POTENCIÁLNÍ VYUŽITÍ C3A SLOŽKY KOMPLEMENTU JAKO MARKERU AKTIVITY CHOROBY U PACIENTŮ S NEUROMYELITIS OPTICA

Autorka: MUDr. Petra Nytrová

Školitelka: MUDr. Dana Horáková, Ph.D., Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1. LF UK a VFN



Práce viz str. 110

2013

