

# 2. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Konaná 14. 5. 2001 pod záštitou děkana 1. LF  
doc. MUDr. Štěpána Svačiny, CSc.

## OBSAH

Slovo úvodem .....	3
Pozvánka .....	4
Seznam účastníků 2. studentské vědecké konference 1. lékařské fakulty .....	5
Hodnotitelské komise .....	6
<b>Abstrakta prací účastníků 2. studentské vědecké konference podle umístění v sekcích .....</b>	<b>7</b>
Sekce prací pregraduálních studentů - část teoretická .....	8
Sekce prací pregraduálních studentů - část klinická .....	11
Sekce přednesených prací v doktorském studijním programu .....	15
Sekce posterů v doktorském studijním programu .....	26
<b>Vítězné práce 2. studentské vědecké konference - in extenso .....</b>	<b>31</b>
<b>Sekce prací pregraduálních studentů - část teoretická .....</b>	<b>32</b>
David Kemlík, Václava Jeřábková - Analýza teratogenního účinku retinové kyseliny u rekombinantních inbredních kmenů laboratorního potkana .....	32
Aleš Hejčl - Amygdala v histologických řezech a její změny v průběhu života .....	35
Štěpán Havránek, Jan Kolařík - Disperze intervalu QT a projekce vektoru vlny .....	38
<b>Sekce prací pregraduálních studentů - část klinická .....</b>	<b>40</b>
MUC. Martin Tomeček - Zánět zubního lůžka u kuřáků - incidence a mikrobiální obraz .....	40
Jan Moravík - Bilirubin v krvi a některé rizikové faktory ICHS .....	45
Štěpán Gála, Jitka Hrachová - Cariogram - moderní metoda predikce zubního kazu .....	54
<b>Sekce přednesených prací v doktorském studijním programu .....</b>	<b>59</b>
MUDr. Ondřej Šeda, L. Šedová, L. Kazdová, D. Křenová, V. Křen - Metabolic profile of PD/Cub chromosome 8 congenic strains SHR-Lx and BN-Lx .....	59
Mgr. Markéta Čapková, H. Hansíková, C. Godinot, H. Houštková, J. Houštek, J. Zeman - Biochemical and molecular studies in five children with leigh disease and cytochrome c oxidase deficiency .....	64
Mgr. Lenka Šindelářová, Z. Zemanová, P. Smíšek, J. Starý, K. Michalová - Použití interfázické fish při detekci hyperdiploidií u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) .....	67
MUDr. Petra Benešová - Vliv kainátu na počet NADPH-diaforáza pozitivních neuronů v hippocampu u potkanů vystavených chronické hypoxii .....	70
MUDr. Radek Jirman - Analýza napjatosti hlavice temporomandibulárního kloubu .....	73
<b>Práce oceněna zvláštní cenou Zdravotnických novin .....</b>	<b>78</b>
MUDr. Jiří Pešina - Prevalence kuřáctví a znalosti týkající se tabáku zjištěné mezi novináři českých deníků .....	78

## SLOVO ÚVODEM

Fakultní 2. studentská vědecká konference 2001, se konala v prostorách děkanátu dne 14. května 2001. Vzhledem k tomu, že jiné fakulty mají studentskou vědeckou konferenci v jarním termínu, po kterém následuje celostátní kolo, musela fakulta zkrátit termín a uspořádat konferenci již pouhý půlrok po konání minulé. Velmi příjemně nás proto překvapil počet přihlášených sdělení. Zejména pak stomatologická pracoviště připravila řadu kvalitních prací, jak v přednáškové, tak v posterové sekci. Naopak některá pracoviště s tradičně dobrou vědeckou základnou nebyla letos zastoupena.

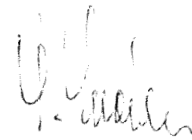
Atmosféra studentských konferencí je desítky let neměnná. Kontrastuje vysoká kvalita některých prací s nervozitou studentů, kteří vystupují často poprvé na veřejnosti a mají v pár minutách zasvětit posluchače do problematiky, vysvětlit cíl své práce a uvést její výsledky. Každý z nás, učitelů fakulty, si v tu chvíli vzpomene, jak za podobných podmínek sám začínal svou dráhu vysokoškolského pedagoga. Každý si jistě také vzpomene na své učitele a vedoucí práce, kteří již často nejsou mezi námi. I já si vždy připomenu, jak jsem začínal jako pomocná vědecká síla na Biologickém ústavu a jak pod vedením nedávno zemřelého doc. MUDr. Františka Soukupa, CSc. jsem přednášel svou první studentskou práci.

Studentská vědecká konference rozhodně mezi fakultními akcemi není akcí opomíjenou. Při ní se rozhoduje o tom, kdo ze studentů bude získán pro vědu a kdo v budoucnosti bude vývoj fakulty ovlivňovat.

Hodnotící komise i letos vybrali řadu prací k ocenění. Nejlepší studenti budou oceněni sponzorskými firmami a zároveň nás budou reprezentovat na celostátní úrovni. Rád bych jim touto cestou poděkoval za skvělou práci.

Za precizní přípravu a organizační zajištění konference bych velmi rád poděkoval prof. MUDr. Vladimíru Tesařovi, DrSc., proděkanovi pro vědeckou práci a výzkum, vedoucí oddělení pro vědeckou práci a výzkum paní Jitce Buczkové, pracovníci tohoto oddělení paní Ivaně Růžičkové a paní Mgr. Vlastě Helekalové, vedoucí oddělení vnějších styků.

Přípravy příštího třetího ročníku konference, který se uskuteční na jaře 2002, byly samozřejmě již zahájeny. Přiji studentům, aby připravili práce minimálně stejně kvalitní jako byly ty letošní.



doc. MUDr. Štěpán Svačina, CSc.  
děkan fakulty



## 2. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

1. lékařské fakulty  
konaná pod záštitou děkana 1. LF  
doc. MUDr. Štěpána Svačiny, CSc.

14. KVĚTNA 2001

Univerzita Karlova v Praze  
1. lékařská fakulta

*2. studentskou vědeckou konferenci zabývá děkan 1. lékařské fakulty  
doc. MUDr. Štěpán Svačina, CSc. dne 14. 5. 2001 v 8.00 hodin  
v zasedací místnosti děkanátu 1. LF, Na Bojišti 3, Praha 2.*

Studentská vědecká konference bude uspořádána ve dvou sekcích. Sekce postgraduálních prací a sekce pregraduálních prací, která je rozdělena na část teoretickou a preklinickou.

**Sekce pregraduálních prací** bude probíhat 14. května 2001, a to:

**klinická část:** od 8.15 hodin v posluchárně Stomatologické kliniky 1. LF, Kateřinská 32, Praha 2

**teoretická část:** od 13.00 hodin v posluchárně Stomatologické kliniky 1. LF, Kateřinská 32, Praha 2

**Sekce postgraduálních prací** bude probíhat 14. května 2001

od 8.15 hodin v zasedací místnosti děkanátu 1. LF, Na Bojišti 3, Praha 2

Práce mohou být prezentovány v českém i anglickém jazyce.

Doba přednášky bude maximálně 10 minut a prostor pro diskusi 5 minut.

K dispozici bude dataprojektor, zpětný projektor a diaprojektor s možností dvojprojekce.

Účastníky konference žádáme, aby si přinesli svůj osobní notebook.

Pro zpracování sborníku z této konference žádáme, aby abstrakt byl zpracován v následující formě a předán na disketě při prezenci.

### **Forma abstrakt:**

**1. řádek:** Název práce bez zkratk

**2. řádek:** Jméno a příjmení autora nebo autorů

**3. řádek:** Školitel (jméno, příjmení, titul) a název pracoviště

**4. - 30. řádek:** Abstrakt práce (úvod, metodika, výsledky, závěr)

**Abstrakta pište:** velikost písma 12, řádkování 1, 5, počet úderů v řádku 60, maximální počet řádků 30, typ písma Times New Roman.

K pozvánce je přiložen časový harmonogram jednotlivých vystoupení.

**prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.**  
**proděkan pro vědeckou práci a výzkum**

**doc. MUDr. Štěpán Svačina, CSc.**  
**děkan 1. LF**

Veškeré informace o konání SVK:

Oddělení pro vědeckou činnost  
a zahraniční styky 1. LF

Ivana Růžicková, tel. 249 643 58

e-mail: ivana.ruzickova@lf1.cuni.cz

### Sekce prací pregraduálních studentů - část teoretická

- 1. Štěpán Havránek
- 2. Aleš Hejčl
- 3. Václava Jeřábková
- 4. David Kemlink
- 5. Jan Kolařík
- 6. Martin Leníček

### Sekce prací pregraduálních studentů - část klinická

- 1. Ing. Magdalena Fořtová
- 2. Eszter Horváth
- 3. Jitka Hrachová, Štěpán Gála
- 4. Adéla Kalabisová
- 5. Karel Kučera
- 6. Jan Moravík
- 7. Štěpán Podzimek
- 8. Irena Sinecká, Jiřina Vachková
- 9. Martin Tomeček
- 10. Stsiapan Vinakurau

### Sekce posterů v doktorském studijním programu

- 1. MUDr. Simona Dostálová
- 2. MUDr. Karin Kormanová
- 3. Mgr. Zuzana Krátká
- 4. Mgr. Zuzana Krátká
- 5. Mgr. Martin Krátký
- 6. Ing. Lenka Mrázová
- 7. MUDr. Sergej Romaniv
- 8. MUDr. Olga Veselá

### Sekce přednesených prací v doktorském studijním programu

- 1. MUDr. Petra Benešová
- 2. Mgr. Klára Benetková
- 3. MUDr. Nikolína Canová
- 4. Mgr. Markéta Čapková
- 5. MUDr. Jan Černý
- 6. MUDr. Hana Fikáčková
- 7. MUDr. Roman Fraško
- 8. MUDr. Eva Houžvičková
- 9. MUDr. Michaela Jakoubková
- 10. MUDr. Kateřina Jandová
- 11. MUDr. Martin Janeček
- 12. MUDr. Radek Jirman
- 13. MUDr. Monika Kolská
- 14. MUDr. Barbora Komárková
- 15. MUDr. Jana Kučerová
- 16. MUDr. František Liška
- 17. MUDr. David Melechovský
- 18. MUDr. Jiří Pešina
- 19. MUDr. Ondřej Šeda
- 20. Mgr. Lenka Šindelářová
- 21. MUDr. Iveta Valkounová
- 22. MUDr. Jitka Vaňková
- 23. Mgr. Marek Vecka
- 24. Mgr. Kamila Zálišová

Hodnotitelské komise 2. studentské vědecké konference 1. LF konané dne 14. 5. 2001

### Sekce pregraduálních studentů

#### klinická část

**předseda:** prof. MUDr. Jan Škrha, DrSc.

**člen:** prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.

#### teoretická část

**předseda:** prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.

**členové:** prof. MUDr. Petr Zvolský, DrSc.

prof. MUDr. Pavel Petrovický, DrSc.

### Sekce postgraduálních studentů

**předseda:** prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.

**člen:** prof. RNDr. František Vítek, DrSc.

**ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ  
2. STUDENTSKÉ VĚDECKÉ KONFERENCE  
PODLE UMÍSTĚNÍ V SEKČÍCH**



## 1. místo

**ANALÝZA TERATOGENNÍHO ÚČINKU RETINOVÉ KYSELINY U REKOMBINANTNÍCH INBREDNÍCH KMENŮ LABORATORNÍHO POTKANA**

Autoři: David Kemlink, Václava Jeřábková

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Křen, DrSc. - Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF a VFN

■ Retinová kyselina (RA) patří k derivátům vitamínu A - retinoidům, které se používají při léčbě kožních chorob, v onkologii a hematologii. Teratogenní účinek RA na vývoj končetin byl popsán u myši, laboratorního potkana a v poslední době je prokazován v epidemiologických studiích i u člověka.

Cílem této farmakogenetické studie je pomocí asociační analýzy nalézt oblasti potkaního genomu, které ovlivňují interakci s RA. Ve studii používáme novou sadu rekombinantních inbredních kmenů PXO, které vykazují kontinuální distribuci projevů modelového syndromu poruchy vývoje končetin (PLS). Samci vybraných kmenů PXO byli kříženi se samicemi progenitorního kmene SHR. Lx, protože modifikátory SHR genomu snižují embryotoxický efekt RA a je pak možné kvantitativní hodnocení kosterních změn. Březím samicím bylo 13. den gravidity podáno 100 mg/kg all-trans-retinové kyseliny (Tretinoin), plody byly odebrány 22. den, zváženy a obarveny diferenciatně na kost a chrupavku. Jako kontroly sloužily březí samice, kterým byl podán pouze rozpouštěcí roztok. Na obarvených plodech je hodnocen počet prstů předních a zadních končetin a provádí se morfometrická digitální analýza parametrů auto-, zuego-, a stylopodia zadních končetin, jejíž výsledky budou podkladem pro asociační analýzu. Výsledky analýzy počtu prstů zadních končetin vykazují signifikantní rozdíly mezi jednotlivými PXO kmeny po podání RA.

## 2. místo

**MORFOLOGIE AMYGDALY V HISTOLOGICKÝCH ŘEZECH**

Autor: Aleš Hejčl

Školitel: prof. MUDr. Pavel Petrovický, DrSc. - Anatomický ústav 1. LF

■ Amygdala je struktura CNS zapojená do systému drah souvisejících s emocemi, pamětí, sexuálním chováním atd. Z těchto důvodů, ale hlavně pro nové možnosti zobrazení v NMR, se dostává do popředí zájmu kliniků. Dnes je na klinikách častou metodou posuzování amygdaly volumetrie v obraze NMR. V těchto obrazech je však dobře určitelná pouze její laterální a mediální hranice. Klinická literatura ukazuje značné rozdíly v určování hranic amygdaly, dané většinou možnostmi a zaměřením klinického pracoviště. Přesnou hranici amygdaly může určit pouze morfologická metodika a měření.

Cílem této práce je proto vytvořit morfologický podklad corpus amygdaloideum pro její hodnocení v „řezech“ vzniklých metodou NMR a to hlavně ve vztahu k věku. Naše práce vychází z měření amygdaly na histologických řezech mozků ve frontální rovině získaných post mortem. Většina těchto mozků je před morfologickým zpracováním vyšetřena magnetickou rezonancí pro následnou korelaci mezi anatomii a NMR. Po fixaci mozku ve formolu jsou řezy oblastí amygdaly, o tloušťce 100  $\mu\text{m}$  v sérii po 0,5 mm, nabarveny kresylvioletí, zobrazeny pomocí zvětšovacího zařízení a měřeny planimetrem. Do současné doby bylo zpracováno a změřeno 12 mozků ve věkovém rozmezí od 38 do 89 let, u nichž byla měřena velikost amygdaly, jak absolutní tak i poměrná. Získané hodnoty byly vztaženy k objemu celého řezu mozku v úrovni commissura anterior o tloušťce 1 cm. Tento vztah byl vybrán proto, aby usnadnil při klinickém hodnocení v NMR vyhodnocení individuální variability velikosti amygdaly u různých pacientů. Dosavadní měření vykazují hodnoty absolutních velikostí amygdaly mezi 1,1 až 2,3  $\text{cm}^3$ . Velikostí pravé a levé amygdaly se u jednotlivých mozků liší, stejně jako se liší velikosti pravé a levé hemisféry, přičemž ani pravá ani levá amygdala není statisticky větší. Relativní velikosti amygdaly vztažené na objem řezu mozku v úrovni commissura anterior se pohybují od 2,3 % do 4,4 %. Při vztažení těchto hodnot k věku mozku je zřejmý pokles objemu amygdaly v průběhu 50 let (38 roků - 89 roků), a to jak v absolutních tak i relativních hodnotách, až o 50 %.

## 3. místo

**DISPERZE INTERVALU QT A PROJEKCE VEKTORU VLNYT**

Autoři: Jan Kolařík, Štěpán Havránek

Školitel: doc. MUDr. Otomar Kittnar, CSc. - Fyziologický ústav 1. LF

■ Vedle klasického vysvětlení disperze intervalu QT (QTd) jako projevu regionální heterogenity repolarizace myokardu se nyní pro tento fenomén prosazuje ještě další možná interpretace. Ta vysvětluje existenci QTd rozdílnou projekcí



sumárního repolarizačního vektoru do příslušného svodu. To, že se v některém ze svodů objevila nulová amplituda dříve než v jiném, znamená, že svod mohl být v daném okamžiku kolmý na vektor elektrického pole. U intervalu QT to tedy prakticky znamená, že na osu svodu by byla kolmá poslední část T-smyčky vektorkardiogramu.

Z těchto důvodů jsme zkoumali morfologii smyčky T na vektrokardiografických záznamech souboru zdravých těhotných žen, na nichž byla již dříve nalezena statisticky významná QTd. Záznamy byly pořízeny na přístroji CARDIAG 112.2 u souboru 10 těhotných před a po porodu a u kontrolní skupiny 15 dobrovolnic. Na smyčce T jsme hodnotili ve třech na sebe kolmých rovinách (frontální, sagitální i transverzální) tyto parametry: amplitudu a úhel vektoru T, úhel smyčky T v první a poslední čtvrtině trvání vlny T a úhel šířky smyčky.

Ve frontální rovině jsme u těhotných našli významně nižší amplitudu vektoru T ( $375 \pm 163$ ) oproti kontrolám ( $586 \pm 42$ ) a především rozdíl v jeho orientaci, konkrétně menší úhel osy T k horizontální rovině ( $11 \pm 19$  vs.  $31 \pm 13$ ) a také větší šířku smyčky T ( $10,3 \pm 5,3$  vs.  $6,1 \pm 2,4$ ). Tyto změny korespondují se zvýšením QTd podle výše uvedené hypotézy a naznačují, že mezi QTd a konfigurací smyčky T existuje úzký vztah, jeho případnou kauzalitu však bude třeba ještě ověřit.

## BEZ OCENĚNÍ:

### INTRACELULÁRNÍ ZNAČENÍ HIPPOCAMPÁLNÍCH BUNĚK

**Autor:** Štěpán Havránek

**Školitel:** prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc. - Fyziologický ústav 1. LF

■ Analýza morfologie dendritů nervových buněk je velmi důležitá při klasifikaci neuronů, hodnocení jejich stavu či úrovně jejich vývoje. Jednou z možností, jak získat kvalitní informace o dendritech neuronů, je metoda využívající plnění neuronu vhodnou látkou intracelulární injekcí pod přímou zrakovou kontrolou.

V našem případě se intracelulární injekce provádějí na mikroskopu pracujícím v oblasti infračerveného světla (IR) se sledováním preparátu na obrazovce. U tohoto mikroskopu máme pevný stolek s pohyblivým objektivem. K mikroskopu je připojeno mikromanipulační zařízení, umožňující pohyb skleněné mikroelektrody různými rychlostmi v osách x, y a v ose p svírající s osou x úhel  $45^\circ$ . Je nutno zdůraznit, že k orientaci pod mikroskopem v ose z (osa z je kolmá k rovině stolku) užíváme jako jednotek vzdálenosti počet otočení mikrošroubem o  $360^\circ$ . Nejprve se elektrodou přiblížíme na vzdálenost jednoho otočení mikrošroubu nad zajímavou oblast preparátu a pak po vybrání příslušné buňky v IR se pomocí dvou jednoduchých přesně vyměřených pohybů v osách x a p umístí hrot elektrody do cytoplasmy buňky. Vlastní látka (metylenová modř, Evansova modř, Lucifer yellow) je do buňky vpravena elektroforeticky pomocí stejnosměrného proudu. Preparát je následně pozorován ve viditelném světle a ve fluorescenci.

Největším problémem se zatím zdá být únik injikované látky do okolí plněné buňky, který velmi ztěžuje následné pozorování ve fluorescenci.

### GENETICKÁ ANALÝZA REKOMBINANTNÍCH INBREDNÍCH KMENŮ PXO LABORATORNÍHO POTKANA

**Autoři:** Václava Jeřábková, David Kemlink

**Školitel:** prof. MUDr. Vladimír Křen, DrSc. - Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF a VFN

■ Rekombinantní inbrední (RI) kmeny PXO jsou fixovaná (imortalisovaná) F2 populace vzniklá křížením polydaktylního kmene SHR.Lx a oligodaktylního kmene BXH2, který je rovněž RI kmenem vzniklým z vysoce inbredních kmenů SHR a BN.Lx a také nese alelu Lx podmiňující syndrom polydaktylie - luxace (PLS). PXO kmeny nově doplňují stávající sady RI kmenů, které slouží jako zvířecí modely některých lidských onemocnění (malformace končetin - PLS a hypertenze). Všechny PXO kmeny jsou homozygotní v alele Lx a nesou různé kombinace modifikátorů původu SHR nebo BN. Společně s ostatními RI kmeny vykazují kontinuální distribuci projevů PLS. Genetická mapa popisující genotyp inbredního kmene (strain distribution pattern - SDP) umožňuje porovnávání fenotypu a genotypu - asociační analýzu. SDP vhodné k asociační analýze má jednotlivými markery pokrývat rovnoměrně celý genom.

Cílem této práce je určení genotypů u jednotlivých PXO kmenů a sestavení SDP. DNA izolovaná od jednotlivých kmenů je metodou PCR analyzována pomocí anonymních mikrosatelitních markerů a některých známých genů. Pořadí markerů a jejich zařazení na příslušné chromosomy je přebíráno ze stávající mapy ostatních RI kmenů a veřejně přístupných zdrojů pro mapování genomu potkana. V současné době je nejpodrobněji zpracována mapa potkaního chromosomu 10 (RNO 10), kam mapuje několik kandidátních (modifikujících) genů.

## PURIFIKACE REKOMBINANTNÍ PODJEDNOTKY B VEROTOXINU ESCHERICHIE COLI SE SPECIFICITOU PRO GLOBOTRIAOSYLCERAMIDOVÝ RECEPTOR

**Autor:** Martin Leníček

**Školitelé:** MUDr. Martin Hřebíček, RNDr. Jana Ledvinová - Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF a VFN

■ **Úvod:** podjednotka B verotoxinu E. coli specificky rozpoznává globotriaosylceramid (Gb3), který je (mimo jiné) hlavní střídanou molekulou u pacientů s Fabryho chorobou. Právě značné specifity této vazby lze využít při průkazu Gb3 při diagnostice, výzkumu a monitorování účinnosti léčby Fabryho choroby. Oproti protilátkám zde očekáváme vyšší citlivost. Vzhledem k tomu, že se Gb3 jako molekula CD 77 vyskytuje v plazmatických membránách buněk a významně se podílí na vzniku hemolyticko uremického syndromu a hemoragické kolitidy při infekci E. coli, lze očekávat i použití v této oblasti.

■ **Metodika:** podjednotku B verotoxinu (SLT 1B) jsme připravili ve formě fúzního proteinu s „maltose binding protein“, který jsme přečistili na amylosové koloně a rozštěpili faktorem Xa. Ze vzniklé směsi jsme se pokusili odstranit MBP a nerozštěpený fúzní protein opět pomocí amylosové kolony. Nikdy však nedošlo k dostatečnému vyčištění. Ani na iontoměničové koloně (DEAE Sephadex), se nepodařilo proteiny oddělit - pravděpodobně pro nespecifické interakce MBP a SLT 1B. Další použitou metodou byla filtrace přes membránu „millipore“ (cut off 10 kDa), využívající rozdílné velikosti MBP (42 kDa) a SLT 1B (5 kDa). Nezabránili jsme tvorbě pentamerů (25 kDa - v této formě se SLT 1B vyskytuje), a tak ani tuto metodu nelze použít. Nakonec jsme připravili afinitní kolonku (Gb3 hydrofobně vázaný na silanizované skleněné kuličky), na kterou jsme směs proteinů nanесли. Po promytí jsme analyzovali zachycené proteiny na elektroforézou (SDS PAGE). Došlo prakticky ke kvantitativnímu záchytu SLT 1B. Pokusy o uvolnění této vazby nebyly úspěšné ani při použití pH v rozmezí 2.5 - 8, NaCl o konc. až 0.9 M, laktózy či galaktózy o konc. 0.5 M či 0.2 M resp., částečné denaturace guanidiniem či SDS. Pouze 1 M Tris pH 9.6 dokázal vazbu rozrušit. Efektivita však byla velmi malá.

■ **Výsledky a závěr:** podařilo se nám prokázat specifitu vazby SLT 1B na Gb3. Nepodařilo se ale najít dostatečně účinnou metodu purifikace. Proto zkoušíme přípravu VT jiným expresním systémem, kde lze při čištění využít samoštěpící vlastnosti inteinu.

## 1. místo

**MIKROBIÁLNÍ OBRAZ ZÁNĚTU ZUBNÍHO LŮŽKA U KUŘÁKŮ**

Autor: Martin Tomeček

Školitel: as. MUDr. Hana Staňková - Stomatologická klinika 1. LF a VFN

■ Hojení extrakční rány a případný vznik zánětlivých komplikací ovlivňuje řada faktorů: ze strany pacienta jsou to predisponující onemocnění (např. diabetes mellitus, hypertenze, poruchy koagulace aj.), úroveň ústní hygieny a závažným faktorem je pravděpodobně i kouření. Dalšími faktory jsou okolnosti vlastní extrakce (vasokonstrikční přísady anestetik), technické provedení chirurgického výkonu a jeho délka, profylaktické podání antibiotik.

Předložená prospektivní studie hodnotí skupinu nemocných ošetřených posluchači stomatologie 1. LF v Praze. Klade si za cíl ověřit:

1. vliv kouření na incidenci zánětu zubního lůžka;
2. vliv kouření na mikrobiální obraz zánětu zubního lůžka (poměr aerobní a anaerobní flóry).

Obě závislosti jsou sledovány ve standardizovaných skupinách (s vyloučením jiných predisponujících vlivů) a s ohledem na množství vykouřených cigaret: a) před extrakcí; b) v den extrakce; c) v následujících dnech po extrakci.

*Klíčová slova: zánět zubního lůžka, mikrobiální obraz, kouření.*

## 2. místo

**BILIRUBIN V KRVI A NĚKTERÉ RIZIKOVÉ FAKTORY ICHS**

Autor: Jan Moravík

Školitelé: MUDr. Ladislav Novotný - Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF a VFN

prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc. - přednosta ústavu hygieny a epidemiologie 1. LF a VFN

■ Bilirubin v krvi (BIL) patří mezi endogenní antioxidanty a je indikátorem celkové antioxidační kapacity krve. Tato vlastnost se nyní zvažuje při vysvětlování pozorovaného nižšího výskytu ischemické choroby srdeční (ICHS) u mírné hyperbilirubinémie. Na souboru 165 mužů, manažérů, bez manifestované ICHS a/nebo cévní mozkové příhody, vyšetřených rutinní preventivní prohlídkou, demonstrujeme vztah celkového bilirubinu k rizikovým faktorům ICHS a dalším parametrům, které ovlivňují hladiny BIL a které je nutno vzít v úvahu při interpretaci vztahu BIL k ICHS. Celkový bilirubin (průměr 15.4, SD 6.2  $\mu$ M, 75 % percentil 18.0, min 5.0, max. 42.0) negativně koreloval ( $r$ , hladina významnosti  $p < 0.05$ ) s trombocyty (-0.14), s počtem vykouřených cigaret za den (-0.08, nevýznamně (NS), věkem (-0.13, NS) a dále, ale také nevýznamně, s celkovým a HDL cholesterolem, triglyceridy, glykemií, systolickým krevním tlakem a body mass indexem. Pozitivním korelátorem bilirubinu byl střední objem destiček (0.27, významně) a koncentrace LDL (0.11, NS.). Významná souvislost počtu a středního objemu destiček byla patrná i při multivariační analýze a oba parametry byly významně ovlivněny kouřením cigaret. Práce naznačuje, že při zkoumání předpokládaného ochranného vlivu bilirubinu jako endogenního antioxidantu, je nutno zvážit jeho možnou spotřebu v přítomnosti pro-oxidativních situací a počítat s tímto fenoménem při analýzách asociací bilirubinémie u chronicky nemocných pacientů.

## 3. místo

**CARIOGRAM I. - MODERNÍ METODA PREDIKCE ZUBNÍHO KAZU**

Autoři: Štěpán Gála, Jitka Hrachová

Školitel: doc. MUDr. Jan Handzel, CSc. - Stomatologická klinika 1. LF a VFN

■ Cariogram je počítačový program pocházející ze Švédska. Jeho cílem je na základě objektivně zjištěných údajů od pacienta stanovit riziko vzniku zubního kazu. Cariogram vychází z 10 faktorů podílejících se na vzniku zubního kazu - množství plaku, dosavadní kazivost, složení a frekvence příjmu potravy, množství vyprodukované sliny a její pufrovací schopnosti, fluoridový program, množství Streptococcus mutans ve slině a také osobní dojem vyšetřujícího.

Cariogram zpracovává těchto 10 faktorů. Výsledkem je graf vyjadřující procentuální pravděpodobnost, že nevznikne zubní kaz v následujícím roce a procentuální podíl potravy, orální flóry, vnímavosti skloviny a okolností na vzniku zubního kazu.

Vyšetřili jsme 21 studentů 3. ročníku stomatologie. Stanovili jsme individuální Cariogram u každého z nich. Riziko, že nevznikne kaz se u studentů pohybovalo od 19 % do 70 %. Při zpracování výsledků jsme porovnávali dvě skupiny studentů. Podle Cariogramu, pravděpodobnost, že nevznikne kaz u studentů ze stomatologických rodin je 43,3 % a u studentů z rodin nestomatologických 37,3 %.

V závěru pro názornost srovnáváme 2 studenty, jednoho s nízkým a jednoho s nejvyšším rizikem vzniku kazu podle výsledků Cariogramu.

Cariogram je dobrou pomůckou pro zubního lékaře. Ozřejmuje pacientovi multifaktoriální podklad vzniku zubního kazu. Cariogram je cestou jak motivovat pacienta k prevenci a péči o vlastní chrup a ukázat pacientovi jak ovlivnit rizika kazivosti.

## BEZ OCENĚNÍ:

### KONCENTRACE METABOLITŮ VITAMINU D V KREVNÍM SÉRU PŘI SNÍŽENÉ FUNKCI LEDVIN

**Autor:** Ing. Magdalena Fořtová

**Školitelé:** doc. MUDr. Sylvie Sulková, CSc. - Interní oddělení Strahov 1. LF a VFN

prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc. - Ústav klinické biochemie 1. LF a VFN

■ V dřívějších sledováních jsme zjistili častý výskyt nízkých hladin aktivních metabolitů vitamínu D u pacientů se sníženou funkcí ledvin. Cílem této studie bylo sledovat odezvu parametrů fosfokalciového metabolismu na individualizovanou suplementační terapii.

Do studie bylo zařazeno 57 pacientů z 6 nefrologických středisek ČR (A = 38 dosud nedialyzovaných, Ccr  $0,42 \pm 0,22$  ml/s, věk  $62,4 \pm 10,8$  let; B = 19 hemodialyzovaných, věk  $61,5 \pm 16,4$  let). U pacientů byly sledovány parametry kostního metabolismu: Ca, P<sub>i</sub>, ALP (rutinní metody); kalcitriol, kalcidiol, PTH (imunochemické metody).

U více než 70 % pacientů byly nalezeny snížené výchozí koncentrace kalcitriolu (a u 40 % kalcidiolu). Na podkladě těchto výsledků byla léčba individuálně upravena. Kontrolní stanovení bylo provedeno po 2 až 3 měsících léčby. Výchozí a výsledné hodnoty kalcitriolu (1,25D, ng/l), kalcidiolu (25D, ug/l) a PTH (pmol/l) v obou skupinách udává tabulka (\*p < 0,01, #p < 0,05).

	A-před	A-po	B-před	B-po	Fyz. meze
1,25D	18,2 ± 8,3	24,62 ± 11,5*	11,22 ± 8,1	23,22 ± 10,1*	19,9 - 67,0
25D	13,82 ± 7,4	14,02 ± 5,6	10,02 ± 5,9	14,52 ± 4,3#	8,9 - 46,7
PTH	10,52 ± 6,1	11,02 ± 8,1	20,02 ± 13,8	15,12 ± 13,0	1,0 - 6,8

Výsledky ukázaly, že vyšetření koncentrací metabolitů vitamínu D představuje významný přínos pro včasnou a individualizovanou úpravu hladin, což může přispět k prevenci pozdních pokročilých forem poruchy kostního metabolismu.

### NOČNÍ POLYSOMNOGRAFIE U AMYOTROFICKÉ LATERÁLNÍ SKLERÓZY (ALS)

**Autoři:** Eszter Horváth, Karel Šonka, Jan Fiksa, Michaela Jakoubková, Jana Sussová, Soňa Nevšimalová

**Školitel:** doc. MUDr. Karel Šonka, CSc. - Neurologická klinika 1. LF a VFN

■ ALS při své progresi vede k ventilační insuficienci. Předpokládá se, že první příznaky ventilační insuficience u ALS se projeví během spánku a že spánek je u ALS nekvalitní. Vyšetřili jsme 7 pacientů s ALS (průměrný věk  $61,1 \pm 6,9$  let, trvání choroby  $1,8 \pm 0,5$  roku, Norrisovo skóre  $71,7 \pm 12,3$ ). U všech byla provedena celonoční polysomnografie (EEG, EOG, EMG mm. mentales a tibiales anteriores, EKG, ventilace a saturace hemoglobinu kyslíkem). Byly sledovány počty respiračních událostí za 1 hodinu spánku (RDI), trvání jednotlivých spánkových stádií a přítomnost další patologie ve spánku.

#### ■ Výsledky:

Efektivita spánku	67,5 ± 8,9 %
Latence usnutí	26,1 ± 24,6 min
Trvání 3 + 4 NREM	13,2 ± 6,2 %
Trvání REM spánku	12,0 ± 4,4 %
Trvání bdělosti po usnutí	25,5 ± 8,7 %
RDI celkem	7,6 ± 7,8
RDI REM	13,4 ± 21,5
RDI NREM	5,2 ± 5,6

U 3 pacientů byly nalezeny výrazné apnoické pauzy v REM spánku. 6 nemocných mělo zhoršenou architekturu spánku. Periodické pohyby končetinami ve spánku (PLMS) byly u 44,4 % pacientů.

■ **Závěr:** spánek u ALS je nekvalitní, má špatnou architekturu a nedostatečné zastoupení 3 a 4 NREM a REM spánku. Časté jsou apnoe v REM spánku a PLMS.

## CAD-CAM SYSTÉM PŘI OŠETŘOVÁNÍ DEFEKTŮ ZUBŮ A SLEDOVÁNÍ ÚSPĚŠNOSTI OŠETŘENÍ LASEROVOU FLUORESCENCÍ

**Autor:** Adéla Kalabisová

**Školitel:** MUDr. Jana Dušková, CSc. - Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN

■ Systém CAD/CAM (Computer Aided Design and Computer Aided Manufacturing) představuje jeden z moderních postupů při ošetřování defektů zubů v postranním úseku, při kterém se využívá počítačového zobrazení situace v ústech pomocí intraorální kamery a následného robotického zhotovení keramické inlaye, resp. onlaye. Tímto technologickým postupem lze ošetřit rozsáhlé defekty zubu inlayi nebo onlayi připravenou z materiálu s dobrými mechanickými i barevnými vlastnostmi. Hlavní předností tohoto způsobu je též možnost ošetření v jedné návštěvě.

Tento systém je plně využíván např. při zhotovování inlayi přístrojem **Cerec**<sup>®</sup>Siemens (**Ceramic Reconstruction**).

V průběhu naší studie jsme tímto postupem ošetřili šest defektů zubů a úspěšnost ošetření jsme hodnotili po půl roce. Pro klinické hodnocení úspěšnosti, tj. sledování kvality okrajového uzávěru, jsme použili neinvazivní metodu laserové fluorescence (Kavo Diagnodent). V průběhu dosavadního sledování jsem nezaznamenali subjektivní obtíže spojené s ošetřením rozsáhlých defektů a při kontrole po půl roce jsme nezjistili žádná poškození okrajového uzávěru keramických inlayi.

## MĚŘENÍ HEMODYNAMICKÝCH PARAMETRŮ, REGIONÁLNÍHO PARCIÁLNÍHO TLAKU OXIDU UHLÍČITÉHO A INTRAMUCOSÁLNÍHO PH

**Autor:** Karel Kučera

**Školitel:** MUDr. Martin Stříteský - II. chirurgická klinika - klinika kardiiovaskulární chirurgie 1. LF a VFN

■ **Úvod:** cílem práce je pomocí měření hemodynamických parametrů, gastrického pCO<sub>2</sub> a pHi ověřit pozitivní vliv vysoké epidurální anestezie na celkový stav nemocných v peri i postoperačním období u pacientů podstupujících kardiochirurgický výkon v MO.

■ **Metodika:** v prospektivní randomizované studii porovnááme rozdílný vliv vysoké hrudní anestezie ve srovnání s celkovou anestézií na hemodynamické parametry a splanchnickou oblast u pacientů podstupujících kardiochirurgický výkon v MO. K měření reg. perfuze používáme údajů reg pCO<sub>2</sub> a pHi metodou gastrické tonometrie. Zároveň jsou monitorovány veškeré hemodynamické parametry. Biochemický monitoring sestává z parametrů ACB, minerálů, KO, koag. parametrů a lab. markerů orgánových dysfunkcí.

■ **Výsledky:** charakteristika souboru se nelišila v obou zkoumaných skupinách. Ve skupině s epidurální anest. jsme museli pro dislokaci katetru jednoho pacienta ze studie vyloučit. Mezi skupinami celkové anestezie a kombinované anestézie byl signifikantní rozdíl v TF a hodnotách Sys TK v perioperačním období. Rozdíl byl patrný i v CO a SVR. V pooperačním období byl patrný největší rozdíl v době probuzení a době extubace. Epidurální anestezie se ukázala také jako nejsilnější analgetikum.

■ **Závěr:** v této prospektivní studii jsme porovnávali dva různé způsoby anestezie u kardiochirurgických operací. Zatímco balancovaná anestezie je standartní metodou v kardiochirurgii, kombinovaná anestezie (epidurální + inhalační) se stala moderní metodou v kardiochirurgii až s příchodem nových operačních technik. Dle našich poznatků se jedná o bezpečnou metodu, jež odpovídá novým trendům v anestezii - rychlá probuditelnost, snížení pooperačních komplikací, kratší doba hospitalizace, velký pooperační komfort pacienta a hemodynamická stabilita. Jedna z jejich nevýhod je invazivnost této metody.

## REAKCE NA TĚŽKÉ KOVY U PACIENTŮ S PROTILÁTKAMI PROTI SPERMIÍM

**Autoři:** Štěpán Podzimek, Lenka Příbylová

doc. MUDr. Z. Ulčová-Gallová, DrSc. - Gynekologicko-porodnická klin. LF a FN, Plzeň

**Školitel:** MUDr. Jarmila Procházková, CSc. - Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN

■ **Úvod:** součástí dentálních materiálů jsou biologicky aktivní látky, které i přes deklarovanou biokompatibilitu mohou u citlivých jedinců vyvolat zdravotní obtíže. Při žvýkacím procesu se abrazí zubních výplní, korunek a můsteků uvolňuje nezanedbatelná část těžkých kovů do organismu. Většine osob nečiní tyto kovy z dentálních materiálů žádné zdravotní problémy, existuje však skupina pacientů, u kterých se díky jejich sensitivitě projevuje nežádoucí reakce na kovy. Rtuť, která je společně s dalšími kovy součástí zubního amalgamu, byla v literatuře označena jako jeden z možných etiologických faktorů při mužské neplodnosti. Cílem naší studie bylo proto zjistit, zda u pacientů prokázanými protilátkami proti spermiím existuje nežádoucí reakce na rtuť a další těžké kovy, které jsou obsaženy v dentálních materiálech.

■ **Materiál a metodika:** vyšetřovaný soubor pacientů tvořilo 21 mužů a 22 žen s prokázanými protilátkami proti spermiím v séru. Kontrolní soubor byl sestaven z 13 dobrovolníků bez protilátek proti spermiím v séru a bez problémů s plodností.



Všechny osoby byly vyšetřeny anamnesticky, stomatologicky a jejich reakce na kovy byla testována imunologickou metodou Melisa (test blastické transformace modifikovaný pro kovy). Principem metody je měření syntézy DNA v buňkách stimulovaných mitogeny či roztoky kovů a v buňkách nestimulovaných. Výsledkem testu je stimulační index (SI), představující poměr míry proliferace buněk stimulované a nestimulované kultury. Jako nežádoucí reakci hodnotíme  $SI > 1,5$ .

■ **Výsledky:** z anamnestických údajů jsme zjistili, že všichni vyšetření mají chrup sanován amalgamem a dalšími kovovými dentálními materiály a dále, že většina našich pacientů trpí alergiemi. U pacientů byla zjištěna nežádoucí reakce především na anorganické formy rtuť, železo, stříbro a hliník. Mononukleární buňky 72 % našich pacientů silně proliferovaly po stimulaci  $HgCl_2$  ( $SI > 2$ ), zatímco u kontrol byla tato reakce nižší ( $SI < 1,5$ ).

■ **Diskuse a závěry:** z našich šetření vyplývá, že rtuť je jedním z kovů, který může přispívat u disponovaných osob k vážnému poškození imunitních reakcí, což se může obrazit nejen v celkovém zdravotním stavu organismu, ale i v takové oblasti jako je reprodukce.

## STAV CHRUPU A ÚROVEŇ PĚČE O DUTINU ÚSTNÍ U STUDENTŮ 1. ROČNÍKU OBORU STOMATOLOGIE 1. LF - rozdíly mezi dětmi stomatologů a dětmi, v jejichž rodinách stomatolog není

Autoři: Irena Sinecká, Jiřina Vachková

Školitel: doc. MUDr. Jan Handzel, CSc. - Stomatologická klinika 1. LF a VFN

■ Námětem naší práce byla finská studie MUDr. Taly (1989), uvádějící velké rozdíly v kazivosti chrupu u potomků stomatologů ve srovnání s ostatními. Kazivost u potomků stomatologů byla téměř nulová. Zajímalo nás, zda u nás nalezneme podobné rozdíly.

Vyšetřily jsme 30 studentů 1. ročníku oboru stomatologie 1. LF, které jsme rozdělily do 2 skupin - potomky stomatologů a ty, jejichž rodiče stomatologové nejsou. 14 z těchto 30 studentů má stomatologa v rodině. Nejprve jsme pomocí dotazníku zjišťovaly, jakou péči věnovali a věnují účastníci našeho průzkumu svému chrupu z hlediska preventivního a ortodontického. Dále jsme u každého z nich vyšetřily kazivost chrupu, krvácivost dásní a množství přítomného zubního plaku. Zjišťovaly jsme také úroveň stimulované salivace a pufrovací kapacitu sliny. Z nasbíraných vzorků sliny jsme kultivovaly na specifických půdách *Streptococcus mutans* a *Lactobacilli*, neboť jsou jedním z rizikových faktorů tvorby zubního kazu.

Výsledky vyšetření jsme zpracovaly pro každou skupinu zvlášť a vzájemně jsme je porovnály. Očekávaly jsme, že u dětí stomatologů zjistíme nižší kazivost, vyšší úroveň prevence a podstatně lepší ústní hygienu než u jejich kolegů, kteří nejsou ze stomatologických rodin. Získané hodnoty však naše předpoklady nepotvrdily. Při porovnání průměrných hodnot se ukázalo, že v daném vzorku studentů je situace opačná. Zjistily jsme, že u potomků stomatologů je více dbáno pouze na ortodontickou léčbu.

Stav chrupu a ústní hygiena jedinců, které jsme vyšetřily, jsou převážně špatné, ač by právě oni, jako budoucí stomatologové, měli o svůj chrup pečovat mnohem lépe než ostatní. Jakou situaci pak lze očekávat v naší populaci? Nebylo by tedy vhodné věnovat mnohem větší pozornost prevenci a hygieně ve všech věkových skupinách, rodiny stomatologů a stomatology samé nevyjímaje?!

## KVALITATIVNÍ A KVANTITATIVNÍ VYHODNOCENÍ STRAVY U STUDENTŮ LÉKAŘSKÉ FAKULTY POMOCÍ JÍDELNÍČKOVÉHO PROGRAMU PROGANA

Autor: Stsiapan Vinakurau

Školitel: doc. MUDr. Zdeněk Vilikus, CSc. - Ústav tělovýchovného lékařství 1. LF a VFN

■ **Úvod:** Česká republika byla koncem 80. let v ukazatelích rizikových faktorů ICHS na předních místech evropského žebříčku. Po roce 1989 došlo k významnému snížení mortality na kardiovaskulární onemocnění. Podle studie MONIKA se na tomto příznivém trendu podílejí zejména změny ve kvalitě a kvantitě stravování.

■ **Cíl:** cílem naší práce bylo zjistit, jak se stravují studenti lékařské fakulty a v čem se jejich strava liší (pokud se liší) od doporučených výživových dávek publikovaných v Kajabou et al. (1992).

■ **Metody:** údaje o kvalitě a kvantitě stravy jsme zjišťovali u 30 studentů 4. ročníku 1. LF (ženy: 20, věk 23,5 +/- 0,5; muži: 10, věk 23,8 +/- 0,5) pomocí standardizovaného dotazníku. Vyhodnocení jsme prováděli pomocí speciálního programu PROGANA určenému k vyhodnocování výživy.

■ **Výsledky:** energetický příjem byl přiměřený. Studenti přijímali stravu s menším podílem rostlinných bílkovin a tuků a naopak s vyšším podílem živočišných bílkovin a tuků. Strava obsahovala málo kyseliny linolové, málo draslíku a hrubé vlákniny. Vitamínu C obsahovala strava dostatek. Vitaminy skupiny B a zejména vitamin E byl ve stravě obsažen v nedostatečné kvantitě. Příjem cholesterolu byl mírně vyšší než doporučuje norma.

■ **Závěry:** ve stravě studentů jsme zjistili určité nedostatky. Autor studie zjistil přiměřenou kvantitu stravy, avšak zastoupení jednotlivých složek výživy ukazuje na významné kvalitativní nedostatky.

## 1. místo

**METABOLIC PROFILE OF PD/CUB CHROMOSOME 8 CONGENIC STRAINS SHR-*Lx* AND BN-*Lx***

Autor: MUDr. Ondřej Šeda

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Křen, DrSc. - Institute of Biology and Medical Genetics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Insulin resistance is often considered a link between attributes of the metabolic syndrome X, i.e. hyperinsulinemia, dyslipidemia, essential hypertension and obesity. Due to complex nature of this frequent disorder, precisely defined animal models are used in its study. The PD/Cub inbred rat strain has recently been established as a model of metabolic syndrome X as it showed hypertriglyceridemia, hyperinsulinemia, increased adiposity index, increased levels of non-esterified fatty acids (NEFA) and insulin resistance of adipose and muscle tissues.

Two congenic strains, BN-*Lx* and SHR-*Lx*, were established, both carrying the differential segment of chromosome 8 of PD/Cub origin on BN (normometabolic) and SHR (spontaneously hypertensive) genetic backgrounds, respectively. The metabolic profile of these congenic strains was determined under conditions of standard, high-sucrose and high-cholesterol diets. In summary, the levels of triglycerides, NEFA and cholesterol were significantly higher in BN-*Lx* and SHR-*Lx* congenic strains compared to their BN and SHR progenitors, but still significantly lower compared to PD/Cub strain in most cases. The difference is more pronounced between BN and BN-*Lx* strains under the conditions of standard and high-sucrose diets. After high-cholesterol diet there is no significant difference between metabolic profile of BN and BN-*Lx* strains. Thus, it can be concluded that the differential segment of RNO8 carries genes involved in regulation of carbohydrate and lipid metabolism. As indicated from human studies, more genes and gene-gene and gene-environment interactions are definitely involved in determination of such complex trait, so a more detailed genetic dissection is needed.

Therefore, we derived a segregating intercross population between PD/Cub and BN progenitor strains in order to identify possible candidates for particular attributes of metabolic syndrome X.

## 2. místo

**BIOCHEMICAL AND MOLECULAR STUDIES IN FIVE CHILDREN WITH LEIGH DISEASE AND CYTOCHROME C OXIDASE DEFICIENCY**

Autoři: Mgr. Markéta Čapková - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

H. Hansíková - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

C. Godinot - UCB, Lyon, France

J. Houštěk - Institute of Physiology and Centre for Integrated Genomics ASCR, Prague

J. Zeman - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Školitel: doc. MUDr. J. Zeman, DrSc. - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Leigh disease, subacute necrotizing encephalopathy associated with cytochrome c oxidase (COX) deficiency, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, is one of the most common mitochondrial disorders in childhood. A large number of Leigh disease patients with COX deficiency have been shown to belong to a single complementation group with mutations in SURF1 gene. SURF1, located on chromosome 9q34, is homologous to the yeast SHY1 gene, which encodes an inner mitochondrial membrane protein involved in the biogenesis and assembly of COX complex. As a result of mutations in SURF1 gene the activity of COX and mitochondrial respiration are impaired.

**Materials and methods:** typical clinical symptoms of Leigh disease were found in five children from the group of over 120 patients with various mitochondrial disorders of energy generating metabolism diagnosed on biochemical or molecular levels in our laboratory. Here we present the results of biochemical and molecular analyses in these 5 children. The activity and protein composition of respiratory chain complexes were studied in isolated lymphocytes and/or trombocytes, cultured fibroblasts, and muscle biopsies. The presence of Surf1 protein in mitochondria or mitoplasts isolated from cultured fibroblasts was analysed by Western blot using specific anti-hSurf1 antibodies (generous gift of Dr. E. A. Shoubridge).

**Results:** generalised decrease of specific activity of COX was observed in all children. Two-dimensional electrophoresis of mitochondrial proteins showed severely decreased amount of COX and all its subunits. Western blot analyses in cultured fibroblasts demonstrated the absence of Surf1 protein in all affected children. Molecular analyses are in progress, mutations in the SURF1 gene were found in two patients up to now.

■ **Conclusions:** Elucidation of molecular etiopathogenesis of the mitochondrial disorders in childhood fully depends on co-operation of clinicians and specialists in biochemistry and molecular biology.

*This study was supported by grants VZ 111100003 and GAUK 8/2000/C.*

### 3. místo

#### POUŽITÍ INTERFÁZICKÉ FISH PŘI DETEKCI HYPERDIPLOIDIÍ U DĚTÍ S ALL

**Autoři:** Mgr. Lenka Šindelářová - Centrum nádorové cytogenetiky III. interní kliniky 1. LF a VFN

Z. Zemanová - Centrum nádorové cytogenetiky III. interní kliniky 1. LF a VFN

J. Březinová - Ústav hematologie a krevní transfuze

J. Starý - 2. dětská klinika FN Motol; Praha

K. Michalová - Centrum nádorové cytogenetiky III. interní kliniky 1. LF a VFN,

Ústav hematologie a krevní transfuze

**Školitel:** doc. Ing. Kyra Michalová, DrSc. - Centrum nádor. cytogen. III. int. klin. 1. LF a VFN

■ U více než 40 % dětských pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) nacházíme v kostní dřeni hyperdiploidní buněčné klony s vyšším počtem chromozómů než 46. Časná detekce hyperdiploidie má diagnostický a prognostický význam a je důležitá pro zařazení pacienta do odpovídajícího léčebného protokolu. Použití molekulárně-cytogenetické metody FISH buněk v interfázi umožňuje odhalit i skrytou hyperdiploidii u pacientů s neúspěšným nebo normálním výsledkem klasického cytogenetického vyšetření.

Během posledních tří let jsme metodou FISH vyšetřili 70 dětí s ALL (45 chlapců a 25 dívek, průměrný věk 8, 4 let). Použili jsme postupnou hybridizaci centromerických a lokus-specifických sond pro chromozómy X, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 20 a 21, nejčastěji zmnoužené v hyperdiploidních kloněch.

U každého pacienta bylo hodnoceno 200 interfázických jader a rozsah hyperdiploidních klonů byl 2,5-95 %. Hodnota cut-off level 2,5 % byla testována na zdravých kontrolách. Na základě molekulárně-cytogenetických výsledků lze pacienty rozdělit do podskupin s různou prognózou. Nalezli jsme 33 pacientů (47,1 %) s vysokou hyperdiploidii (> 50 chromozómů), 10 (14,3 %) s nízkou hyperdiploidii (47-50 chromozómů), 2 (2,9 %) s téměř triploidii/tetraploidii a 4 (5,7 %) s nespecifikovanou hyperdiploidii.

Ve sdělení budou prezentovány metodika a výsledky interfázické FISH.

*Tato práce byla podporována granty IGA MZ ČR 4744-3, GAČR 302-98-0071 a 301-01-2000.*

### 4. místo

#### VLIV KAINÁTU NA POČET NADPH-DIAFORÁZA POZITIVNÍCH NEURONŮ V HIPPOCAMPU U POTKANŮ VYSTAVENÝCH CHRONICKÉ HYPOXII

**Autor:** MUDr. Petra Benešová

**Školitel:** doc. MUDr. Miloš Langmeier, CSc. - Fyziologický ústav 1. LF

■ Histochemickou analýzou (stanovením NADPH-diaforázy) jsme testovali vliv kainátu podaného intraperitoneálně 1 den po skončení působení chronické hypoxie na jednotlivé oblasti hippocampu. NADPH-diaforáza, enzym kolokalizovaný s nitric oxide syntázou (NOS), tj. enzymem produkujícím oxid dusnatý (NO), je nepřímým průkazem poškození mozku.

Experimentálními zvířaty byli samci laboratorního potkana kmene Wistar vlastního chovu. Od 2. do 17. dne věku byla mláďata, společně s matkou, vystavena vlivu chronické hypoxie v hypobarické komoře v simulované výšce 7000 m, vždy 8 hodin denně. 18. den, tedy 1. den po skončení působení hypoxie, byl zvířatům i.p. aplikován kainát (2,5 mg/kg).

K experimentům byly použity 4 skupiny zvířat:

1. mláďata vystavená hypoxii,
2. mláďata vystavená hypoxii, kterým byl 18. den věku aplikován kainát,
3. mláďata nevystavená hypoxii,
4. mláďata nevystavená hypoxii, kterým byl 18. den věku aplikován kainát.

22. den věku, tj. 4 dny po aplikaci kainátu byla zvířata usmrcena v pentobarbitalové narkóze transaortální perfuzí 4% pufrovaného paraformaldehydu. Po nakrájení 40 µm tlustých řezů na kryostatu byly tyto řezy obarveny na průkaz NADPH-diaforáza pozitivních neuronů. Poté byly NADPH-diaforáza pozitivní neurony kvantifikovány v jednotlivých částech hippocampu (CA 1, CA 3, hilus, dorzální a ventrální list gyrus dentatus).

Z výsledků je patrné, že chronická hypoxie zvyšuje počet NADPH-diaforáza pozitivních neuronů v oblastech CA 1,



CA 3 a v hilu gyrus dentatus v porovnání s kontrolní skupinou. V dorzálním a ventrálním listu gyrus dentatus jsou rozdíly oproti kontrole nevýznamné. Kainát aplikovaný normoxickým zvířatům počet NADPH-diaforáza pozitivních neuronů v oblastech CA 1, CA 3 a v hilu gyrus dentatus rovněž zvyšuje a v dorzálním a ventrálním listu gyrus dentatus nemění. Naproti tomu, kainát aplikovaný hypoxickým zvířatům počet NADPH-diaforáza pozitivních neuronů v hilu, dorzálním a ventrálním listu gyrus dentatus snižuje, v oblastech CA 1 a CA 3 je rozdíl oproti kontrole zanedbatelný. Hypoxie pravděpodobně zvyšuje produkci NO ovlivněním genové exprese NOS. Kainát pak zřejmě vede k zvýšení produkce NO vazbou na kainátové kanály (subpopulaci non-NMDA receptorů). Naše výsledky svědčí pro to, že hypoxie současně snižuje densitu kainátových receptorů a tím nepřímo produkci NO po následovné aplikaci kainátu.

*Tato práce je podporována grantem UK 32/2001/C/1. LF, GAČR 305/99/0976 a MSM 1111 00001.*

## 5. místo

### ANALÝZA NAPJATOSTI HLAVICE TEMPOROMANDIBULÁRNÍHO KLOUBU

**Autor:** MUDr. Radek Jirman

**Školitel:** prof. MUDr. Jiří Mazánek, DrSc. - Stomatologická klinika 1. LF a VFN

■ Vytvoření reálného matematického modelu, kterékoli části lidského těla napomůže správně porozumět fyziologii, patofyziologii, ale i funkčnosti dané partie těla. Cílem této práce bylo vytvořit matematický model hlavičky čelistního kloubu pomocí metody konečných prvků, na kterém jsme posléze simulovali vliv maximálního zatížení při skusu na hlavičku čelistního kloubu. Pro získání maximální přesnosti tvaru byla geometrie kloubní hlavičky zpracována použitím dat z počítačové tomografie.

Vzniklý trojrozměrný model byl následně zpracován metodou konečných prvků tj. byla vytvořena síť hexagonálních elementů takzvaným mapováním a posléze staticky zatížen silami od žvýkacích svalů, které odpovídaly jejich maximálním hodnotám při skusu.

Výsledkem bylo získání polí povrchové napjatosti-kontaktních tlaků dolní čelisti, ukazující na nejkritičtější místo čelistního kloubu pro přenos zatížení.

## BEZ OCENĚNÍ:

### IMUNITNÍ MECHANISMY V PATOGENEZI ČASNÉ PARODONTITIDY

**Autoři:** Mgr. Klára Benetková, Z. Krátká, J. Procházková, O. Krejsa, J. Bártová

**Školitel:** MUDr. J. Procházková, CSc. - Oddělení ústní biologie, Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN

■ **Úvod:** parodontitida je chronické zánětlivé onemocnění závěsného aparátu zubů - parodontu, které je v současné populaci středního věku nejčastější příčinou ztráty zubů. Onemocnění začíná často již v dorostovém věku nebo v rané dospělosti - časná parodontitida (Early Onset Periodontitis - EOP). Parodontitida je multifaktoriální onemocnění, jehož průběh ovlivňují faktory vnějšího prostředí, především některé druhy bakterií zubního povlaku i vnitřního prostředí parodontu (imunitní reakce). Důležitý je podíl genetické predispozice.

■ **Metodika:** longitudinální studie zahrnuje 24 pacientů s diagnózou EOP a 14 zdravých osob. Všem osobám bylo odebráno 20 ml nesrážlivé krve do stříkaček Vacuette s heparinem. Mononukleární a polymorfonukleární buňky (PMN) byly izolovány na Ficoll - Paque gradientu. Chemotaktická a metabolická funkce PMN byla testována testem chemotaxe pod agarózou a INT testem. Tvorba IL-4 (Th2) a IFN- $\gamma$  (Th1) po stimulaci mitogeny (PWM, PWM+ConA), buňkami bakterií (*A. actinomycetemcomitans*, *E. coli*) a jejich šokovými proteiny (HSP64, HSP70) byla sledována v plně periferní krvi ředěné 1/10. Produkci imunoglobulinů IgA, IgG a IgM jsme sledovali metodou ELISA po polyklonální stimulaci izolovaných mononukleárních buněk PWM. Inhibici polyklonálně tvořených imunoglobulinů jsme stanovili současnou kultivací buněk s PWM+ConA.

■ **Výsledky:** chemotaktickou a metabolickou funkci PMN jsme srovnávali na začátku studie, 5 a 7 let po zahájení terapie. Zjistili jsme stále přetrvávající nižší funkci těchto buněk. Tvorba cytokinů potvrzovala naše předchozí výsledky, pacienti tvořili v porovnání s kontrolními osobami více IL-4 a méně IFN- $\gamma$ . U 15-ti pacientů přetrvávala po 7-mi letech terapie porucha inhibice polyklonálně tvořených IgA a IgG.

■ **Závěr:** rozvoj zánětlivé reakce v parodontu i u mladých jedinců je výsledkem poruchy v souhře vnějších a vnitřních faktorů. Domníváme se, že porucha funkce PMN vede k rychlejšímu nástupu chronických zánětlivých změn v parodontu. U pacientů s poruchou inhibice polyklonální tvorby imunoglobulinů lze předpokládat zhoršenou prognózu onemocnění.

*Práce byla vypracována v rámci grantů MZ č. 5006-3, 5015-3 a výzkumného projektu č. 00002377901.*

## EXPRESSION OF INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE IN RAT HEPATOCYTE CULTURES AND ITS DOWN-REGULATION BY CYCLOSPORIN A

Autoři: MUDr. Nikolína Canová, MUDr. Petra Strěščíková

Školitel: prof. Dr. Farghali H., DrSc. - Institute of Pharmacology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

■ Our objectives were to provide additional information which gives new insight into the controversy of NO status of the liver during endotoxemia and to assess the modulatory effect of cyclosporin A (CsA) on the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in hepatocytes and mechanism of its action was analysed. Hepatocytes were isolated from male Wistar rats using standard two-phase perfusion method. After separation from hepatic nonparenchymal cells,  $1.5 \times 10^6$  hepatocytes were plated into collagen-coated culture dishes and maintained at 37 °C, 95 % air and 5 % CO<sub>2</sub> in William's medium E, supplemented with gentamicin, L-glutamine and 10% FBS. Hepatocytes were cultured for 24hr with or without either LPS (5 µg/ml) or cytokine mixture (TNF-α 500 U/mL, IL-1β 200 U/mL, IFN-γ 100 U/mL) and in the absence or presence of CsA (0.1 and 1 µg/ml). Total RNA from hepatocytes was isolated and using RT-PCR assessed the expression of the gene for iNOS. The concentration of NO<sub>2</sub><sup>-</sup> in culture supernatants was taken as a measure of nitric oxide (NO) production. CsA (1 µg/ml) reduced the cytokine mixture (LPS)-induced increase of NO<sub>2</sub><sup>-</sup> levels by 32 % (24 %), ALT leakage increased and urea synthesis was reduced. Both LPS and CM increased iNOS expression while CsA exhibited an inhibitory effect on a phosphatase at the transcriptional level in hepatocytes. This study demonstrates that NO produced during endotoxemia and under present conditions is protective to the liver and the inhibition of iNOS by compounds like CsA should be taken in practise.

## THE OUTCOME OF PATIENTS WITH B-CELL LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASE (B-LPD) SEEMS TO BE IMPROVED IN PCR NEGATIVE PATIENTS AFTER HIGH DOSE THERAPY (HDT) WITH AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION (ASCT) OR MONOCLONAL ANTIBODY THERAPY

Autoři: MUDr. Jan Černý - I. interní klinika 1. LF a VFN

A. Slavičková - I. interní klinika 1. LF a VFN

M. Trněný - I. interní klinika 1. LF a VFN

B. Procházka - SZÚ, Praha

Školitel: prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc. - ÚHK, Praha

■ **Introduction:** the HDT followed by ASCT or therapy with monoclonal antibody anti-CD20 (rituximab) represent effective treatment modalities for relapsed/refractory B-LPD.

■ **Methods:** we performed clinical and PCR follow-up of patients (pts) treated with ASCT or rituximab in samples of bone marrow and peripheral blood.

■ **Results:** out of 72 pts (NHL-70, CLL-1, MW-1) tested by PCR before ASCT or rituximab therapy 40 were PCR+ and 30 were eligible for further monitoring. 17 pts reached the PCR- status. After ASCT 6 monitored pts progressed and 1 patient died within the median of 36 months. After rituximab 5 monitored pts progressed and 3 pts died within the median of 10 months. The estimated PFS of PCR- pts was significantly better than in the PCR+ pts both after ASCT (100 % vs 25 % at 3 y) ( $p = 0.03$ ) as after rituximab (86 % vs 37 % at 1 y) ( $p = 0.01$ ). The improvement in PFS only translated into OS improvement in PCR- pts after rituximab (100 % vs 33 % at 1 y) ( $p = 0.02$ ). Comparing all PCR- pts (17) and PCR+ pts (13) we observed an improvement in PFS in the PCR- group (76 % vs 46 % at 2 y) ( $p = 0.02$ ) that did not have effect on OS.

■ **Conclusion:** our study confirms that PCR- after treatment correlates with prolonged PFS in pts with B-LPD.

*This project has been supported by grant No. MŠMT CEZ:J13/98:1111/00004.*

## MOŽNOSTI VYUŽITÍ TERAPEUTICKÉHO LASERU VE STOMATOLOGII

Autoři: MUDr. Hana Fikáčková, MUDr. Zuzana Eršová

Školitel: doc. MUDr. Leoš Navrátil CSc. - Ústav biofyziky 1. LF

Konzultant-specialista: MUDr. B. Navrátilová

Cílem studie bylo objektivně zhodnotit přínos terapeutického laseru ve stomatologii.

■ **Materiál a metodika:** při léčbě jsme použili laser o vlnové délce 630 nm, středním výkonu 10 mW a hustotě energie 4-6 J/cm<sup>2</sup>. Pacienti byli rozděleni do tří skupin. Skupina A zahrnovala 94 nemocných, kteří byli léčeni terapeutickým laserem,

skupina B (92 pacientů) byla kontrolní a 196 nemocných ve skupině C bylo ošetřeno klasickým způsobem bez použití laseru.

■ **Hodnocení:** porovnáním výsledků léčby pacientů skupin A, B, C můžeme potvrdit pozitivní vliv neinvazivní laseroterapie na průběh léčby některých stomatologických onemocnění.

■ **Závěr:** na základě této studie lze doporučit použití terapeutického laseru v následujících indikacích: herpatické a aftózní afekce, slizniční eroze a dekubity, stavy po obtížných extrakcích. Úspěch léčby laserem výrazně závisí na době zahájení aplikace a fyzikálních parametrech přístroje.

*Projekt byl řešen v rámci výzkumného záměru MŠMT ČR č. 111100005 (hlavní koordinátor prof. MUDr. M. Pešková, DrSc.)*

## PERKUTÁNNÍ ELEKTROGASTROGRAFIE U PACIENTŮ PODSTUPUJÍCÍCH LAPAROSKOPICKOU BANDÁŽ ŽALUDKU NA I. CHIRURGICKÉ KLINICE 1. LF

**Autor:** MUDr. Roman Fraško

**Školitel:** doc. MUDr. Robert Gürlich, CSc. - I. chirurgická klinika 1. LF a VFN

■ Perkutánní elektrogastrografie (EGG) představuje metodu, umožňující neinvazivní sledování myoelektrické žaludeční aktivity. V tomto sdělení jsou prezentovány výsledky měření myoelektrické žaludeční aktivity v perioperačním období u nemocných podstupujících na 1. chirurgické klinice VFN laparoskopickou neadjustabilní bandáž žaludku. Data byla zaznamenávána přístrojem Microdigitrapper a vyhodnocována za použití spektrální analýzy a Fourierovy transformace. Rovněž jsou krátce diskutovány podmínky nutné k zajištění studie a je zmíněno i fyziologické a patofyziologické pozadí této metody. 14 pacientů bylo sledováno 24 hodin před operací a dále pak 5 hodin, 24 a 48 hodin po výkonu preprandiálně i postprandiálně.

Dynamika perioperačních změn je prezentována v souvislosti s výsledky získanými od skupiny zdravých dobrovolníků. Ve sdělení jsou rovněž prezentovány výsledky měření u dvou pacientů, u kterých se vyskytla časná a pozdní pooperační komplikace. Nejčastějším nálezem v časném pooperačním období byla bradygastrie, návrat k preoperačním hodnotám nastával v průměru 48 hodin po výkonu.

Perkutánní elektrogastrografie je neinvazivní metoda, která je schopna v časném pooperačním období poskytnout chirurgovi některé zajímavé informace o myoelektrické žaludeční aktivitě.

## NÍZKOVÝKONNÝ LASER V TERAPII TINNITU

**Autor:** MUDr. Eva Houžvičková, MUDr. Jana Kučerová

**Školitel:** doc. MUDr. Leoš Navrátil, CSc. - Ústav biofyziky 1. LF

■ Tinnitus je nepřírozené vnímání zvuků v hlavě nebo v uchu. Je jedním z největších problémů v otolaryngologii a jiných oblastech medicíny. Vzhledem k nárůstu civilizačních chorob se počet nemocných s tinnitem neustále zvyšuje. Rozlišujeme dva základní typy tinnitu: za prvé subjektivní, který vnímá pouze nemocný a dále objektivní, který slyší nemocný i lékař při auskultaci. Mimoto existuje i fyziologický tinnitus, který jako formu čistých tónů, šumů a hluků vnímá 80-90 % zdravých ve zvukotěsných místnostech. Úspěch terapie každé nemoci je vždy dán mírou jejího kauzálního působení na danou chorobu či symptom. Kvůli různorodému původu tohoto onemocnění, který nebývá vždy objasněn, je léčba tinnitu těžkým problémem. Tinnitus však může být i symptomem, který signalizuje závažnou organicky podmíněnou chorobu, proto je třeba jeho diagnostice věnovat značnou pozornost. Každý pacient by měl být podroben komplexnímu vyšetření ORL, neurologickému a internímu. Samozřejmou součástí vyšetřovacího postupu by mělo být provedení audiometrie, rtg hlavy a krční páteře. V případě mladých lidí, nebo u náhle vzniklého tinnitu je potřeba doplnit o další zobrazovací metody - CT nebo MRI mozku. Terapii lze v zásadě rozdělit na medikamentózní, chirurgickou, fyzikální, rehabilitační a psychoterapii. Vedle toho se uplatňují ještě méně obvyklé způsoby léčby jako je například akupunktura a elektrická stimulace. V současnosti ve shodě s recentní literaturou se začala využívat i jiná fyzikální terapie. V terapii tinnitu se využívá účinku terapeutického laseru. Ukazuje se, že laserový paprsek ve výkonech definovaných pro kategorii nízko výkonných laserových přístrojů (legislativně do 500 mW, klinicky většinou využívány přístroje od 200 mW) vykazuje výrazný efekt antiflogistický, antiedémový a především výrazný účinek ve smyslu stimulace regeneračních pochodů v buňce. Přestože se touto problematikou již několik pracovišť zabývá, dosud neexistuje ucelená studie posuzující účinnost metody laseroterapie tinnitu v závislosti na charakteristikách použitých sond (vlnová délka, výkon). Na našem pracovišti Oddělení klinické radiobiologie Ústavu biofyziky 1. LF v Praze probíhá studie, ve které hodnotíme účinek dvou sond o výkonu 200 a 400 mW.

Mezi základní cíle naší práce též spadá posouzení vlivu nízko výkonného laseru na tinnitus různého původu, a to aplikovaného samostatně a v kombinaci s jinými léčebnými metodami jako je farmakoterapie, mechanoterapie, elektroterapie,

případně hydroterapie. Soubor pacientů je rozdělen do 5 skupin podle pravděpodobné etiologie tinnitu (cévní, vertebrogenní, zánětlivé, akutrauma a ostatní - etiologie nejasná, smíšená). Diagnostika tohoto onemocnění je velkou měrou založena na subjektivním vyjádření pacienta. Používáme desetistupňovou škálu hodnotící intenzitu tinnitu, kdy stupeň 1 označuje nejlepší stav a stupeň 10 nejhorší stav či vůbec žádné změny.

### PORUCHY SPÁNKU U PARKINSONOVY NEMOCI - SUBJEKTIVNÍ I OBJEKTIVNÍ ÚDAJE

**Autoři:** MUDr. Michaela Jakoubková, K. Šonka, J. Roth, E. Růžička, R. Jech, M. Volfová, S. Nevšimalová

**Školitel:** doc. MUDr. Karel Šonka, CSc. - Neurologická klinika 1. LF a VFN

■ **Úvod:** cílem studie byla objektivizace anamnesticky získaných údajů u standardně sledovaných pacientů s Parkinsonovou nemocí nestěžujících si spontánně na případné poruchy spánku.

■ **Metodika:** na poruchy spánku zaměřenou anamnesou a celonoční polysomnografií bylo vyšetřeno celkem 15 pacientů, z toho 7 žen a 8 mužů. Průměrný věk pacientů byl 56.5 ( $\pm$  SD = 8.5 roku), průměrná délka léčby byla 4.3 ( $\pm$  2.8 roku). Stupeň postižení Parkinsonovou nemocí klasifikováno v Hoehn and Yahr stadiích byl v průměru 2.3 ( $\pm$  0.4). L dopa v monoterapii bylo léčeno 11 pacientů, kombinaci L dopa a dopaminového agonisty užívali 4 pacienti.

■ **Výsledky:** již anamnesticky pomocí cílených otázek jsme zjistili, že alespoň jednou ze sledovaných poruch spánku trpí 11 z 15ti pacientů. Subjektivně pacienty nejvíce obtěžovalo prodloužené usínání (46 % pacientů) způsobené hlavně psychickými faktory či organicky podmíněné syndromem neklidných nohou. U 26 % pacientů byl subjektivně spánek narušován apoickými pausami a 53 % pacientů udávalo alespoň jednu z možných známek poruchy s abnormálním chováním v REM spánku. V objektivním polysomnografickém nálezu však těžiště obtíží nebylo ve zhoršeném usínání, ale u většiny pacientů byla zjištěna souvislost s jinou dyssomnií jako je syndrom spánkové apnoe (40 %) a porucha s periodickými pohyby končetinami ve spánku (24 %) či s parasomnií jako je porucha s abnormálním chováním v REM spánku (24 %). Všech 15 pacientů mělo velmi nekvalitní spánkovou architekturu s četnými probouzecími reakcemi či probuzeními, s redukcí hlubokého synchronního spánku a redukcí REM spánku a s procentuálně významným zastoupením bdělosti.

■ **Závěr:** objektivně jsme prokázali velmi nekvalitní noční spánek u všech vyšetřených pacientů s Parkinsonovou nemocí, kteří si ale sami na poruchy spánku spontánně nestěžovali. Proto je podle našeho názoru nezbytné se na možnost výskytu poruch spánku u pacientů s Parkinsonovou chorobou více zaměřit. Nejvíce zastoupené dyssomnie a parasomnie lze navíc zjistit nebo alespoň na ně mít podezření již z dobře provedené anamnesy.

### ÚČINEK MAGNÉZIA NA DENZITU NADPH-DIAFORÁZA POZITIVNÍCH NEURONŮ V HIPPOCAMPU U POTKANŮ VYSTAVENÝCH DLOUHODOBÉ OPAKOVANÉ HYPOXII

**Autor:** MUDr. Kateřina Jandová

**Školitel:** doc. MUDr. Miloš Langmeier, CSc. - Fyziologický ústav 1. LF

■ Histochemickou analýzou na NADPH-diaforáza (NADPH-d) pozitivní neurony jsme testovali vliv magnézia podávaného v průběhu dlouhodobé opakované hypoxie na jednotlivé oblasti hippocampu. NADPH-d je enzym kolokalizovaný s nitric oxid syntázou (NOS), tj. enzymem produkujícím oxid dusnatý (NO), který se zřejmě podílí na poškození mozku během hypoxie.

Mláďata laboratorního potkana byla společně s matkou vystavena 8 hodin denně od narození do 17. dne věku simulované výšce 7000 m. K experimentům jsme použili 4 skupiny zvířat:

1. mláďata vystavená hypoxii (spolu s matkami),
2. mláďata vystavená hypoxii, spolu s matkami, které v průběhu laktace měly k dispozici vodu obohacenou magnéziem,
3. mláďata nevystavená hypoxii (spolu s matkami),
4. mláďata nevystavená hypoxii, spolu s matkami, které měly v průběhu laktace k dispozici pitnou vodu obohacenou magnéziem.

Pokusy byly prováděny 25. den jejich života, tedy 8 dní po poslední expozici hypoxii. V pentobarbitalové narkóze byla zvířata usmrčena transaortální perfúzí 4 % pufovaného paraformaldehydu. V kryostatu nakrájené řezy mozku byly barveny na NADPH-d a v nich kvantifikovány NADPH-d pozitivní neurony v jednotlivých oblastech hippocampu.

Výsledky ukázaly, že opakovaná dlouhodobá hypoxie zvyšuje denzitu NADPH-d pozitivních neuronů v hilu gyrus dentatus v porovnání se zvířaty kontrolními. Magnéziem podávané v průběhu expozice hypoxii snižuje denzitu NADPH-d pozitivních neuronů téměř ve všech oblastech hippocampu.

Výsledky naznačují, že by magnéziem mohlo mít neuroprotektivní účinek proti vlivu volných radikálů.



## LÉČBA MEMBRANOSNÍ NEFROPATIE CYKLOSPORINEM

**Autoři:** MUDr. Martin Janeček, Vladimír Tesař, Jan Krtil, Jiří Žabka, Romana Ryšavá, Ivan Rychlík

**Školitel:** prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc. - I. interní klinika 1. LF a VFN

■ V cca pětiletém období od roku 1993 byla na 1. interní klinice VFN zahájena léčba cyklosporinem u 18 pacientů s membranosní nefropatií. Indikováni byli převážně (14 z 18 pacientů) nemocní refrakterní na předchozí cytostatickou léčbu. Efekt byl (kromě klinického stavu) hodnocen pomocí běžných laboratorních parametrů renálních funkcí.

Po jednom roce léčby cyklosporinem (resp. u pacientů, kde byla léčba ukončena dříve než po roce, při ukončení terapie) došlo k výraznému poklesu proteiurie (11,57 vs. 3,35 g/24 hod., Wilcoxonův párový test  $p < 0,01$ ). Hodnota sérového kreatininu v tomto období mírně vzrostla (96,86 vs. 126,86  $\mu\text{mol/l}$ , Wilcoxonův párový test  $p < 0,01$ ).

Nemocné sledujeme i po vysazení cyklosporinu. Z devíti sledovaných pacientů byla během prvního roku po vysazení cyklosporinu u dvou nasazena jiná imunosuprese. Ve skupině zbylých sedmi pacientů došlo během tohoto období k dalšímu mírnému poklesu proteiurie (v našem souboru však statisticky nevýznamně). Ve srovnání s hodnotami rok po zahájení léčby (resp. při ukončení léčby, pokud byla terapie ukončena dříve než po roce) došlo k poklesu sérového kreatininu (126/86 vs. 115  $\mu\text{mol/l}$ , Wilcoxonův párový test  $p < 0,05$ ).

■ **Závěr:** nasazení cyklosporinu vede u nemocných s membranosní nefropatií k ústupu nefrotického syndromu, a to i v případech refrakterních na předchozí cytostatickou léčbu. Problémem zůstávají relapsy po vysazení cyklosporinu. Sledování nemocných po ukončení léčby cyklosporinem si jistě zaslouží další pozornost.

## LIPIDOVÝ METABOLISMUS A ATEROSKLERÓZA U DĚTÍ S NEFROTICKÝM SYNDROMEM (NS)

**Autor:** MUDr. Monika Kolská - Klinika dětí a dorostu 3. LF Praha

**Školitel:** prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc. - I. interní klinika 1. LF a VFN

■ Klinicky se ateroskleróza obvykle vyvíjí se značnou latencí. Prekurzory ateromatózních plátů jsou ale u jedinců se zvýšenou hladinou lipidů prokazatelné již v dětství. Hyperlipidémie a dyslipoproteinémie je běžným nálezem u NS. Jsou zvýšeny hladiny celkového, VLDL a LDL cholesterolu, apolipoproteinu B, lipoprotein(a). Hodnoty HDL mohou být zvýšené i snižené a mění se poměr HDL<sub>2</sub>:HDL<sub>3</sub>. Etiologie lipidových změn je multifaktoriální a není plně objasněna. Je zvýšena hepatální syntéza a sníženo odbourávání lipoproteinů. Závažnost lipidových změn koreluje s hypoalbuminemií a proteinurií, hladiny cholesterolu mohou být extrémní. Trvání a důsledky lipidových změn závisí na klinickém průběhu NS. U dospělých s NS bylo prokázáno 4,5x vyšší riziko ischemické choroby srdeční a 3,5x vyšší úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění. Obdobné studie u dětí s NS schází. U dětí s kongenitálním NS finského typu byly zjištěny časné aterosklerotické změny renálních arterií při nefrektomii ve věku  $12,5 \pm 4,4$  měs. U dětí s diagnózou minimálních změn či fokální segmentální glomerulosklerózy byly popsány ojedinělé případy infarktu myokardu a předčasné aterosklerózy. K hyperlipidémii u dětí s NS se přidružují další rizikové faktory: hypertenze, obezita, kortikoterapie, inzulínová rezistence a hyperkoagulace. Vysoce riziková pro rozvoj aterosklerózy se jeví pacienti s perzistující proteinurií, u kterých je vhodná terapeutická intervence.

## SOUČASNÉ MOŽNOSTI FYZIKÁLNÍ TERAPIE V LÉČBĚ POHYBOVÉHO APARÁTU

**Autoři:** MUDr. Barbora Komárková, MUDr. Zuzana Eršová

**Školitel:** prof. MUDr. P. Kuna, DrSc.

■ **Úvod:** cílem výzkumného projektu bylo posoudit možnosti rozšíření uznávaných rehabilitačních a fyzioterapeutických léčebných postupů u vybraných indikací o preparáty systémové enzymoterapie, které jsou určeny k dosažení efektivnější léčby a zkrácení rekonvalescence. Indikace, ve kterých jsme porovnávali účinnost samotné fyzikální terapie s účinností kombinované fyzikální terapie se systémovou enzymoterapií, byly vybrány dle četnosti, s jakou byli nemocní na oddělení léčebné rehabilitace odesíláni. V indikovaných případech byla průběžně prováděna příslušná laboratorní a rentgenologická vyšetření. Sledovali jsme poúrazové stavy a onemocnění pojivové tkáně. Volba fyzikální terapie vycházela z doporučených metodických postupů modifikovaných dle vlastních zkušeností. Systémová enzymoterapie byla podávána dle doporučení výrobce.

■ **Metodika:** pacienti, kteří byli zařazeni do projektu byli v 80 % odesláni z ortopedických či chirurgických oddělení, zbytek na doporučení praktického lékaře či individuálně. Mezi sledovanými a nejčastějšími indikacemi byly myalgie, epicondylitis lateralis, kontúze zápěstí a ruky, distenze Achillovy šlachy, subluxace hlezenného kloubu. Pacienti byli na začátku a na konci léčby vyšetřeni lékařem, popř. byla doplněna laboratorní a rentgenologická vyšetření a vyplnili dotazník s VAS (Visual analog scale) zaměřeným na hodnocení bolesti. V indikovaných případech byl stav objektivně hodnocen goniometrem a legometrem. Nemocní byli dle příchodu na pracoviště v sudých a lichých dnech rozděleni do dvou

skupin u každé indikace. Na skupinu léčenou vhodnou fyzikální terapií a LTV jako kontrolní a skupinu léčenou fyzikální terapií, LTV a SET. Z fyzikálních metod byly dle metodických doporučení aplikovány: elektroléčebný přístroj BTL- 06, přístroj pro pulsní magnetoterapii DIMAP II, přístroj pro distanční multieffektovou elektroléčbu VAS 07, vířivá lázeň BTL - 3000, terapeutický laser - scan MED - 1000, BTL - 10, BTL - 2000, enzymové preparáty obsahující 48 mg trypsinu, 90 mg bromelainu, 100 mg rutinu v 1 tbl. Statistické hodnocení výsledků jsme provedli Fisherovým (faktoriálním) testem (p - hladina statistické významnosti při porovnávání sledovaných souborů).

■ **Výsledky:** Myalgie- klid. bolest p = 0,505, pasivní b. p = 0,076, aktivní b. p = 0,443, b. při tlaku p = 0,203, noční b. p = 0,187, ranní. b. p = 0,513. Epikondylitis lateralis: rozsah pohybu p = 1,0, klid. bolest p = 0,176, aktivní b. p = 0,878, b. při tlaku p = 0,032, noční b. p = 0,866, b. při zátěži p = 0,72. Kontuze zápěstí a ruky: rozsah pohybu p = 0,018, klid. bolest p = 0,106, aktivní b. p = 0,896, noční b. p = 0,031, ranní p méně 0,001, b. při zátěži p = 0,004. Distenze Achill. šlachy: otok p = 0,356, klid. bolest p = 0,020, aktivní b. p = 0,407, noční b. p = 0,895, ranní b. p = 0,316, b. při zátěži p = 0,695. Subluxace hlezna: rozsah pohybu p = 0,508, otok p = 0,508, klid. bolest p = 0,418, aktivní b. p = 1,0, ranní b. p = 0,72, b. při zátěži p = 0,01.

■ **Závěr:** v rámci výzkumného úkolu jsme ověřili u vybraných indikací správnost navržených metodických postupů fyzikální terapie a pohybové terapie, a to jak u pouřazových stavů, tak při postižení pojivové tkáně. Celkem jsme ošetřili 607 nemocných v pěti zvolených indikacích. Samostatnou fyzikální terapií včetně LTV bylo ošetřeno 311 pacientů, stejnou terapií rozšířenou o podávání preparátu SET bylo 296. Práce potvrdila vysokou účinnost metodického postupu a LTV u postižení pojivových tkání, současné podávání SET mělo vyšší analgetický efekt (zejména pasivní bolestivost, bolesti při tlaku a zátěži). Rovněž u pouřazových stavů se potvrdila účinnost fyzikální terapie a analgetický efekt SET při zátěži a na obnovu rozsahu pohybu, který tak potencuje účinnost pohybové terapie.

## POHYBOVÁ LÉČBA STRESOVÉ INKONTINENCE

**Autoři:** MUDr. Jana Kučerová, MUDr. Eva Houžvičková

**Školitel:** doc. MUDr. Leoš Navrátil, CSc. - Ústav biofyziky 1. LF

■ Stresová inkontinence je dle Mezinárodní společnosti pro kontinenci definována jako nechtěný únik moči při změně intraabdominálního tlaku bez účasti detrusoru močového měchýře. Nejčastější příčinou vzniku stresové inkontinence je oslabené dno pánevní. Přejít močové trubice a močového měchýře se dostane mimo kontrolu pánevního dna. Při nečekaném zvýšení intraabdominálního tlaku pak nedochází k facilitaci uzávěrového mechanismu močového měchýře.

Pohybová léčba je představována cvičením dle Kegela. Cvičení bylo představeno americkým gynekologem A. Kegelem s cílem korigovat mírné anatomické odchylky vznikající v oblasti pánevního dna v souvislosti s porodem. Cvičení je děleno do čtyř fází, z nichž nejnáročnější představuje tzv. identifikace svalů pánevního dna. Výsledkem snahy o usnadnění této fáze je perineometr.

Perineometr je intravaginální sonda, která umožňuje pacientce identifikaci příslušných svalů a následně i objektivizaci dosažených výsledků. Perineometr, který mají možnost využívat naše pacientky pracuje na principu elastometru. Konstrukce tohoto tlakového snímače vychází z využití závislosti změny elektrického odporu vodivého elastometru na působícím mechanickém tlaku. Přístroj byl sestaven ve spolupráci s Fakultou strojní na ČVUT. Cílem naší práce je objektivizovat sílu svalového stahu u žen bez stresové inkontinence, žen s inkontinencí a následně žen, které se 6 měsíců věnovaly Kegelovu cvičení.

## SOUČASNÝ STAV POZIČNÍHO KLONOVÁNÍ MUTANTNÍ ALELY *Hd* POTKANA

**Autor:** MUDr. František Liška

**Školitel:** doc. MUDr. Drahomíra Křenová, CSc. - Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF a VFN

■ Hypodaktylní mutace u potkana (*Hd*) je AR postižení vývoje končetin a spermatogeneze. Projevuje se variabilní redukcí počtu prstů a článků prstů na preaxiální straně předních i zadních končetin u obou pohlaví. Všichni homozygotní samci jsou infertilní. Mají zmenšená varlata a nadvarlata a zmenšené množství morfologicky abnormálních a nepohyblivých spermií. Mutovaný gen jsme lokalizovali na chromozom 10 potkana pomocí zpětných kříženců (samice originálního kmene Wistar *Hd* (WHD) a samec F1 (WHDxBrown Norway) a nyní provádíme jemnější mapování pomocí populace F2 hybridů WHDxBN (Brown Norway) technikou PCR s využitím mikrosatelitních markerů. Kritický segment chromosomu 10 s *Hd* mutací, se tak podařilo zúžit z 6,5 cM na 1,8 cM mezi mikrosatelitními markery D10Rat116 a D10Rat80. Zároveň byla pozorována úplná vazba *Hd* se skupinou intragenových markerů D10Mit8 (v genu pro synaptobrevin 2), D10Wox12 (v genu pro sex hormone binding globulin), D10Wox14 (v genu pro asialoglykoproteinový receptor) a D10Wox39 (v genu pro glukosový transportér indukovaný insulinem - *Glut4*). Pro stanovení pořadí těchto genů v současné době používáme i panel radiačních hybridů (RH) potkan-křeček.

Než přistoupíme k vlastnímu pozičnímu klonování, chceme kritický segment zmenšit na  $< 1$  cM. Na základě těchto výsledků plánujeme sestavení fyzické mapy (kontigu klonů) s využitím komerčně dostupných DNA knihoven (BAC, YAC, PAC). Tento kontig bude dále analyzován na přítomnost EST (expressed sequence tags) potkana, případně homologických EST myši a člověka a tím bude zjištěno množství a lokalizace genů v kritické oblasti. Pokud bude snížena exprese některého z těchto genů, chceme podrobit tento gen sekvenční analýze a tím nakonec zjistit specifickou mutaci jako příčinu *Hd*.

### POOPERAČNÍ ZMĚNY PRO A PROTIZÁNĚTLIVÝCH CYTOKINŮ PO RESEKCI PANKREATU

**Autoři:** MUDr. David Melechovský, doc. R. Gürlich, P. Maruna, I. Chachkhiani, R. Fraško

**Školitel:** doc. MUDr. Robert Gürlich, CSc. - I. chirurgická klinika 1. LF a VFN

■ Rizikem rozsáhlého operačního traumatu je rozvoj pooperační imunosuprese, která je důsledkem nespecifické neurohumorální odpovědi. Operační stres způsobuje změnu adrenokortikální odpovědi ve smyslu převážení sekrece glukokortikoidů nad dehydroepiandrosteronem. Vlivem těchto hormonů dochází k posunu rovnováhy Th1/Th2 lymfocytů ve prospěch Th2 odpovědi. Jednotlivé subpopulace Th1 a Th2 se odlišují spektrem produkovaných cytokinů a směřováním imunitní odpovědi. Inhibice Th1 odpovědi po operačním traumatu je podkladem nerovnováhy cytokinové kaskády a hlavním patogenetickým faktorem pooperační imunosuprese. Spektrum změn, projevující se přechodným deficitem buněčné i humorální imunity již bylo podrobně charakterizováno, ale patogeneze tohoto procesu na úrovni cytokinové a neuroendokrinní nebyla dosud zcela objasněna. Sledovali jsme dynamiku cytokinů po resekci pankreatu, abychom našli významný faktor pro zhodnocení míry rizika zánětlivých pooperačních komplikací. Pacienti při resekčním výkonu na pankreatu prodělávají rozsáhlé operační trauma vynucené základním onemocněním, proto je vhodné právě u nich pozorovat imunologické abnormality a jejich souvislost s výskytem pooperačních infekčních komplikací. Z pozorování lze konstatovat, že pro diagnózu a léčbu pooperačních komplikací zůstává nejdůležitější klinická zkušenost chirurga. IL-6 při dynamickém monitorování hladin do 48 hodin dostatečně specificky odliší počínající sepsi od nekomplikovaného pooperačního stavu.

Pro IL-6, IL-1ra, sIL-2R, IL-8 a TNF-alfa platí, že po kulminaci hladin mezi 16.–36. hodinou nastává mezi 48.–72. hodinou u nekomplikovaného pooperačního průběhu návrat k výchozím hodnotám, nebo alespoň výrazný pokles hladiny.

**Zvláštní cena Zdravotnických novin**

### PREVALENCE KUŘÁCTVÍ A ZNALOSTI TÝKAJÍCÍ SE TABÁKU ZJIŠTĚNÉ MEZI NOVINÁŘI ČESKÝCH DENÍKŮ

**Autor:** MUDr. Jiří Pešina

**Školitel:** MUDr. Eva Králíková, CSc. - Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF a VFN

■ **Úvod:** kouření je nejvýznamnější preventabilní příčinou smrti na světě. Postoje mediálních pracovníků ke kuřáckému chování jsou zásadní pro pravdivou informovanost občanů každého společenství a v našem státě, ve srovnání s některými západními státy, jistě není situace v tomto směru příznivá - tyto postoje a znalosti jsem sledoval.

■ **Metodika:** data byla zjišťována pomocí anonymních dotazníků formou řízeného rozhovoru.

■ **Výsledky:** dotazováno bylo 118 novinářů. Z toho počtu bylo 53 % kuřáků a 47 % nekuřáků. Téměř 97 % zpovídaných novinářů znalo alespoň jednu nemoc, kterou způsobuje tabák. Pouze 8,5 % dotazovaných vědělo, že tabáková reklama je cílena na věkovou skupinu 12-14 let. Překvapující je, že pouze necelých 47 % redaktorů a editorů si o sobě myslí, že mohou ovlivňovat názory čtenářů.

■ **Závěr:** prevalence kouření byla mezi zpovídanými novináři o 21 % vyšší než prevalence kouření v populaci České republiky. To je alarmující, stejně jako celková úroveň znalostí jedné z klíčových profesí ovlivňujících společenskou přijatelnost závislosti, která způsobuje každé páté úmrtí v naší zemi.

### OVLIVNĚNÍ EXCITABILITY KOROVÝCH NEURONŮ PO OPAKOVANÉ APLIKACI ZINKU U POTKANŮ VYSTAVENÝCH VÝŠKOVÉ HYPOXII

**Autoři:** MUDr. Iveta Valkounová, doc. MUDr. Dana Marešová, CSc., prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc.

**Školitel:** prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc. - Fyziologický ústav 1. LF

■ **Úvod:** význam zinku pro excitabilitu korových neuronů je nejistý. Je vylučován na mnoha excitačních synapsích v CNS a má schopnost měnit vlastnosti membránových kanálů a neurotransmiterových receptorů.

■ **Metodika:** mláďata potkana byla společně s matkou vystavena výškové hypoxii 7000 m v hypobarické komoře

po dobu 8 hodin denně. Jedné skupině zvířat jsme aplikovali  $ZnCl_2$  v dávce 5 mg/kg s.c. vždy před umístěním do hypobarické komory. Epileptické záchvaty jsme vyvolávali opakovanou (5x) nadprahovou elektrickou stimulací senzori-motorické kůry u volně pohyblivých mláďat potkanů kmene Wistar vlastního chovu starých 12, 25, 35 dnů.

■ **Výsledek:** nadprahová elektrická stimulace senzori-motorické kůry vyvolala epileptický záchvat - korový následný výboj (KNV). Po opakované expozici hypobarické hypoxii se trvání záchvatů prodloužilo u všech věkových skupin. Podání zinku před vystavením hypoxii zkrátilo trvání KNV u 25 a 35 denních zvířat.

■ **Závěr:** přesný funkční mechanismus působení zinku na synapsích nebyl ověřen. Předpokládáme antikonvulzní účinek exogenně podaného zinku blokádou NMDA receptorů nebo presynaptickým působením na GABAergních synapsích.

*Práce je podporována grantem GAČR 305/99/0976 a MSM111100001.*

## VARIABILITA DENZITY REM SPÁNKU V PRŮBĚHU DNE U PACIENTŮ S NARKOLEPSIÍ-KATAPLEXIÍ

**Autor:** MUDr. Jitka Vaňková

**Školitel:** prof. MUDr. Soňa Nevšimalová, DrSc. - Neurologická klinika 1. LF a VFN

■ **Úvod:** tato studie navazuje na předchozí zjištění zvýšené denzity REM spánku u pacientů s narkolepsií-kataplexií, která byla zaměřena na hodnocení počtu rychlých očních pohybů (REMs) a svalových záškubů brady (Tws) v jednotlivých periodách REM spánku v průběhu noci za využití celonoční polysomnografie (CPSG). Předkládaná práce sleduje změny denzity paradoxního spánku vyjádřené počtem rychlých očních pohybů (REMs) v průběhu dne za analýzy mikrostruktury spánku s využitím testu mnohočetné latence usnutí (MSLT).

■ **Soubor:** MSLT test navazoval na polysomnografické monitorování. Bylo vyšetřeno 30 pacientů s diagnózou narkolepsie-kataplexie (7 mužů, 23 žen, průměrný věk  $37 \pm 13.2$  let) s průměrným začátkem onemocnění  $24.3 \pm 9.8$  let. Imperativní spavost a stavy kataplexie byly zjištěny u všech vyšetřovaných, hypnagogické halucinace u 18 osob (60 %), spánková obrna v 15 případech (50 %).

■ **Metodika:** vizuální skorování spánkových stádií bylo provedeno 1 osobou. U všech pacientů byl sledován počet REMs za jednotku času (min.) v jednotlivých periodách REM spánku v průběhu dne. Do statistického zpracování byly zahrnutí pacienti s minimálně 2 úseky iniciálního REM spánku v 5 MSLT testech.

■ **Výsledek:** byla prokázána zvýšená denzita paradoxního spánku v prvních 2 MSLT testech, která se signifikantně neliší od hodnot zjištěných v posledních spánkových cyklech nočního spánku. Dále byl zjištěn signifikantní pokles počtu REMs v průběhu dne (MSLT č. 1 - 9:00 hod.- průměrný počet REMs = 12.97 vs. MSLT č. 5 - 17:00 hod.- průměrný počet REMs = 8.52;  $p < 0.05$ ). Hodnoty denzity REM spánku zjištěné v 5. MSLT testu odpovídají denzitě paradoxního spánku v prvním spánkovém cyklu nočního spánku.

## HLADINY NECHOLESTEROLOVÝCH STEROLŮ V PLAZMĚ U MENTÁLNÍ ANOREXIE

**Autoři:** Mgr. Marek Vecka, A. Žák, F. Novák, H. Papežová, E. Tvrzická, M. Konárková, B. Staňková

**Školitel:** RNDr. Eva Tvrzická, CSc. - Výzkumná angiologická laboratoř 4. interní kliniky 1. LF a VFN

■ Cílem studie bylo sledovat hladiny necholesterolových sterolů (lathosterol, kampesterol a  $\beta$ -sitosterol) u mentální anorexie. Toto onemocnění představuje nejen jednoduchý model hladovění, ale je i příčinou sekundární hypercholesterolemie.

Naše experimentální skupina sestávala z 15 žen s mentální anorexií, v kontrolní skupině bylo 20 zdravých žen podobného věku. U všech subjektů jsme změřili antropometrické parametry [výšku, tělesnou hmotnost, bioimpedanci a tloušťku čtyř kožních řas (biceps, triceps, subscapularis, suprailiaca)]. Krev obsahující EDTA (1 mg/ml) byla odebrána po celonočním lačnění. Koncentrace celkového cholesterolu (TC), triacylglycerolů (TAG) a HDL-cholesterolu (HDL-C) byly stanoveny pomocí enzymaticko-kolorimetrických metod, hodnoty LDL-C byly vypočítány. Koncentrace sterolů (lathosterolu,  $\beta$ -sitosterolu a kampesterolu) jsme stanovili s využitím kapilární plynové chromatografie.

Skupina mentální anorexie se lišila od kontrolní v hodnotách BMI ( $15.9 \pm 2.9$  vs  $21.3 \pm 1.9$ ,  $kg/m^2$ ,  $P < 0.001$ ) a zastoupením tukové tkáně ( $11.9 \pm 6.3$  vs  $24.2 \pm 5.2\%$ ,  $P < 0.001$ ). Ve skupině pacientek byly nalezeny zvýšené koncentrace TC ( $5.52 \pm 1.52$  vs  $4.51 \pm 0.63$ , mmol/l,  $P < 0.05$ ), TAG ( $1.40 \pm 0.59$  vs  $0.86 \pm 0.39$ , mmol/l,  $P < 0.01$ ) a HDL-C ( $1.58 \pm 0.20$  vs  $1.18 \pm 0.26$ , mmol/l,  $P < 0.001$ ). V koncentracích LDL-C ( $3.30 \pm 1.61$  vs  $2.95 \pm 0.62$ , mmol/l), lathosterolu ( $254 \pm 123$  vs  $191 \pm 64$   $\mu g/dl$ ),  $\beta$ -sitosterolu ( $3380 \pm 1340$  vs  $3710 \pm 1130$   $\mu g/dl$ ) a poměru lathosterol/TC ( $1.25 \pm 0.63$  vs  $1.09 \pm 0.31$ , poměr) nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly mezi zkoumanými skupinami. Na druhé straně byly zjištěny zvýšené koncentrace kampesterolu ( $866 \pm 257$  vs  $673 \pm 198$ ,  $\mu g/dl$ ,  $P < 0.05$ ) u pacientek s mentální anorexií.

Na základě těchto výsledků předpokládáme, že zvýšené hodnoty TC a TAG u mentální anorexie nejsou způsobeny zvýšenou syntézou cholesterolu *de novo*, ale zmenšeným katabolismem cholesterolu z plazmatického kompartmentu.



## FUNKČNÍ A SPIROMETRICKÉ PARAMETRY U NEMOCNÝCH S ROZTROUŠENOU SKLERÓZOU MOZKOMÍŠNÍ

**Autoři:** Mgr. Kamila Zálišová, P. Brandejský, E. Havrdová, M. Týblová

**Školitel:** as. MUDr. Eva Havrdová, CSc. - Neurologická klinika 1. LF a VFN

■ **Úvod:** v této práci jsme u nemocných s RS vyšetřovali funkční a spirometrické parametry a sledovali jejich závislost na stupni neurologického postižení a stupni únavy.

■ **Metodika:** u 23 probandů náhodně vybraných z databáze MS Centra Kateřinská byl posuzován stupeň neurologického postižení dle Ambulatory Index, stupeň únavy dle Modified Fatigue Impact Scale a byly vyšetřeny funkční parametry (stupňovaným testem a metodikou ANP na bicyklovém ergometru) a statické i dynamické spirometrické hodnoty (na spirometru metodou průtok/objem). Vyšetřené parametry byly porovnávány s hodnotami zdravé netréované populace. Pro testování rozdílu mezi výskytem sledovaného znaku ve dvou různých skupinách respondentů byla použita normální aproximace.

■ **Výsledky:** funkční parametry probandů jsou signifikantně sníženy (max. výkon =  $1,81 \pm 0,61$  W/kg,  $59,67 \pm 17,78$  % normy, SF max. =  $147,47 \pm 53,93$  tepů/min,  $78,36 \pm 28,07$  % normy,  $VO_2$  max.  $kg^{-1} = 28,87 \pm 9,67$  ml.  $min^{-1} \cdot kg^{-1}$ ,  $83,42 \pm 25,22$  % normy,  $V'_E = 68,22 \pm 35,06$  l.  $min^{-1}$ ,  $76,27 \pm 27,52$  % normy, R =  $1,05 \pm 0,07$ ,  $95,80 \pm 6,55$  %, RPE =  $13,69 \pm 1,31$ ). Snižují se se stupněm neurologického postižení a se stupněm únavy. Některé spirometrické parametry jsou v normě (VC IN =  $4,12 \pm 1,37$  l,  $103,26 \pm 17,17$  %, VC EX =  $4,12 \pm 0,95$  l,  $101,1 \pm 13,1$  %, FVC =  $4,10 \pm 0,93$  l,  $103,56 \pm 13,50$  %, FEV1, =  $3,56 \pm 0,72$  l,  $106,73 \pm 13,53$  %). Snižují se se stupněm neurologického postižení se a naopak se paradoxně nesignifikantně zvyšují s vyšším stupněm únavy. Výdechové rychlosti (PEF =  $6,69 \pm 1,69$  l/s,  $87,20 \pm 16,79$  %) jsou nesignifikantně, nezávisle na stupni neurologického postižení a v závislosti na stupni únavy sníženy.

■ **Závěr:** fyzická kondice nemocných s RS je nízká a pravděpodobně se spolu se sníženými výdechovými rychlostmi podílí na vzniku únavy.

## 1. místo

**SROVNÁNÍ CEFALOMETRICKÝCH PARAMETRŮ NEMOCNÝCH SE SPÁNKOVÝM APNOICKÝM SYNDROMEM S NORMOU**

**Autor:** MUDr. Simona Dostálová, Zbyněk Šmahel, doc. MUDr. Karel Šonka, CSc.

**Školitel:** doc. MUDr. Karel Šonka, CSc. - Neurologická klinika 1. LF a VFN

■ **Úvod:** kraniofaciální abnormity, které predisponují faryngeální obstrukci, mohou být odhaleny cefalometrickým hodnocením. Cílem práce bylo porovnat cefalometrické nálezy pacientů se syndromem spánkové apnoe (SAS) s nálezy u zdravé populace.

■ **Metody a výsledky:** cefalometrické vyšetření bylo provedeno u pacientů s SAS (23 žen, 96 mužů) a u kontrol (36 žen, 50 mužů). U žen s SAS při srovnání s kontrolní skupinou byly nalezeny signifikantní změny měkkých tkání: prodloužení měkkého patra ( $p < 0,001$ ) a zúžení faryngeálního vzdušného prostoru ( $p < 0,001$ ), dále pak skeletální změny: retrognacie ( $p < 0,05$ ), mikrognacie ( $p < 0,001$ ) a dorsokaudální rotace ( $p < 0,01$ ) mandibuly, zvětšení dolní části goniového úhlu ( $p < 0,001$ ), artikulárního úhlu ( $p < 0,05$ ) a předních obličejových výšek ( $p < 0,05$ ), zúžení kostěného faryngeálního prostoru ( $p < 0,001$ ), zmenšení hloubky horního obličejce ( $p < 0,01$ ) a zkrácení base lebni ( $p < 0,01$ ). U mužů apneiků při srovnání s kontrolní skupinou byly nalezeny signifikantní změny měkkých tkání: prodloužení měkkého patra ( $p < 0,001$ ) a zúžení faryngeálního vzdušného prostoru ( $p < 0,001$ ), dále pak skeletální změny: zkrácení hloubky maxilly ( $p < 0,001$ ), zmenšení úhlu base ( $p < 0,01$ ), úhlu selly ( $p < 0,01$ ) a hloubky horního obličejce ( $p < 0,01$ ), zvětšení dolní části goniového úhlu ( $p < 0,01$ ), artikulárního úhlu ( $p < 0,001$ ) a přední i zadní obličejové výšky ( $p < 0,001$ ).

■ **Závěry:** Orofaciální skelet i měkké tkáně apneiků se výrazně liší od normy.

*Klíčová slova:* cephalometrie, kraniofaciální abnormity, spánkový apnoický syndrom.

**BEZ OCENĚNÍ:****OSTEOSYNTESA ZLOMENINY SAKRA (KAZUISTIKA)**

**Autoři:** MUDr. Karin Kormanová, prof. MUDr. Miroslav Zeman, DrSc.

**Školitel:** doc. MUDr. Z. Krška, CSc. - I. chirurgická klinika 1. LF a VFN

■ Nestabilní zlomeniny pánevního kruhu jsou s ohledem na ostatní poranění skeletu vyjímečná zranění. Vzhledem k terapii a prognose jsou v traumatologii stále řazeny mezi tzv. problémové zlomeniny. K terapeuticky a prognosticky nejzávažnějším patří zcela nepochybně ty zlomeniny, které postihují zadní sakroiliakální segment pánevního kruhu, t.j. zlomeniny které jsou rotačně i vertikálně nestabilní.

Zlomeniny pánevního kruhu jsou klasifikovány podle původního Tileho klasifikačního konceptu a současně podle Mulerova klasifikačního schématu AO.

K diagnostice jsou používány jak základní Pennalovy outlet - inlet projekce, tak především CT. Nemocní jsou operováni v poloze na břiše v celkové anestezii. Pod rtg kontrolou se provádí repozice zlomeniny, po kontrole repozice pod rtg - zesilovačem se zavádí nejdříve K - dráty a poté kanylované spongiosní šrouby. Další možností by bylo použití dlahové techniky, nebo kombinace dlahové techniky a spongiosního šroubu. V pooperačním režimu jsou pacienti obvykle do 1 týdne mobilizováni.

Nejlepší stabilitu v místě osteosyntesy vykazuje spongiosní šroub. Kromě pevné stabilizace zaručuje i vcelku dobré repozici a tedy i rekonstrukční možnosti při vlastním operačním postupu.

U většiny zlomenin pánve je možná konzervativní terapie, u zlomenin typu B má obvykle dobrý výsledek ventrální stabilizace zevním fixátorem. U zlomenin typu C se doporučuje rekonstrukční operační výkon.

**VLIV INTRAVENOZNÍCH IMUNOGLOBULINŮ NA TVORBU IMUNOGLOBULINŮ *IN VITRO* U NEMOCNÝCH S PROTILÁTKOVOU IMUNODEFICIENCÍ**

**Autoři:** Mgr. Zuzana Krátká, O. Kryštůfková, J. Bártová, T. Fučíková, M. Průcha, L. Prokešová

**Školitel:** RNDr. Jiřina Bártová, CSc. - Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN

■ **Úvod:** modulační vlivy infuzí intravenozních imunoglobulinů (IVIG) jsou studovány především k objasnění jejich účinků při léčbě autoimunitních stavů a sekundárních imunodeficiencí ve snaze upřesnit indikační kritéria této léčby.

Cílem této studie bylo posoudit účinek léčby IVIG v substitučních dávkách na tvorbu imunoglobulinů v kultuře periferních mononukleárních buněk (PBMC) *in vitro* po stimulaci T a B buněčnými aktivátory.

■ **Metodika:** soubor vyšetřovaných osob tvořilo 17 pacientů s protilátkovou imunodeficiencí (PID), jejichž stav vyžadoval léčbu IVIG. Ve skupině nemocných bylo 8 klasifikováno jako CVID, 9 jako deficiencie podtříd IgG. Odběry periferní krve jsme provedli den před infuzí a za 7 dní po infuzi. Tvorbu imunoglobulinů (IgM, IgG a IgA) jsme sledovali *in vitro* po stimulaci mononukleárních buněk (izolovaných z periferní krve gradientovou centrifugací) PWM a *Bacillus firmus*. Inhibici polyklonálně tvořených imunoglobulinů jsme sledovali po simultánní kultivaci buněk PWM+ConA.

■ **Výsledky:** vlivem infuze se v porovnání se stavem před infuzí nízké hodnoty polyklonálně tvořených imunoglobulinů zvyšovaly, vysoké naopak snižovaly. Infuze ovlivnila i ConA indukovanou inhibici PWM stimulované tvorby IgG. U skupiny pacientů s deficiencí podtříd došlo po infuzi ke zvýšení inhibice polyklonálně tvořených imunoglobulinů, u pacientů s dg. CVID naopak ke zvýšené tvorbě imunoglobulinů. Dále jsme zjistili, že podání IVIG blokuje polyklonální aktivaci stimulovanou *Bacillus firmus*.

■ **Závěr:** prokázali jsme imunomodulační působení IVIG jak charakteru stimulace tvorby imunoglobulinů, tak i inhibice jejich tvorby.

*Studie byla podpořena granty IGA MZ 4171-3, 5006-3 a grantu MŠMT VS 96 149*

## VLIV INTRAVENÓZNÍ IMUNOGLOBULINOVÉ INFUSE NA *IN VITRO* TVORBU CYTOKINŮ U PACIENTŮ S PROTILÁTKOVOU IMUNODEFICIENCÍ

**Auтори:** Mgr. Zuzana Krátká, J. Bártová, K. Benetková, O. Kryštůfková

**Školitel:** RNDr. Jiřina Bártová, CSc. - Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN

■ **Úvod:** krátkodobý efekt podání intravenózních imunoglobulinů (IVIG) má imunoregulační charakter, ovlivňuje tvorbu imunoglobulinů, proliferaci lymfocytů, ale i tvorbu cytokinů a jejich antagonistů. Cílem studie bylo zjistit účinek IVIG infuse na *in vitro* tvorbu IL-4 a IFN-gama po mitogenní stimulaci imunokompetentních buněk pacientů s protilátkovou imunodeficiencí.

■ **Metodika:** vyšetřili jsme skupinu 15 pacientů s protilátkovou imunodeficiencí, jejichž stav vyžadoval léčbu intravenózními imunoglobuliny (IVIG) v substitučních dávkách. Ve skupině bylo 8 pacientů klasifikováno jako běžná variabilní imunodeficiencie (CVID) a 7 pacientů jako deficiencie IgG podtříd (IgGSD). Tvorbu IL-4 a IFN-gama jsme sledovali po stimulaci plné krve, kterou jsme pacientům odebrali před aplikací infuse a týden po aplikaci. Krev, ředěná v poměru 1:10, byla stimulována pokeweem mitogenem (PWM, 2 µl/ml, Sigma) a PWM spolu s concanalinem A (2 µl/ml + ConA10 µl/ml, Sigma). Hladina cytokinů v odebíraných supernatantech byla sledována metodou ELISA. Zjišťovali jsme jak celkové množství tak kinetiku produkce cytokinů v průběhu týdenní kultivace.

■ **Výsledky:** pacienti s IgGSD reagují na infuzi v porovnání s CVID pacienty spíše produkcí IFN-gama: jeho maximální produkce byla u těchto pacientů zjištěna již 4. den, jeho hladina byla vyšší než u CVID pacientů před i po infuzi. Buňky pacientů s CVID reagují na stimulaci mitogeny vysokou tvorbou IL-4, která je však silně snížena po aplikaci infuse. Infuse ovlivnila i kinetiku reakce - po stimulaci PWM došlo k posunu maximální produkce ze 4. na 7. den, po stimulaci PWM+ConA z 5. na 7. den.

■ **Závěr:** zjistili jsme, že modulace abnormální cytokinové produkce může být jedním z výsledných efektů aplikace IVIG a efekt infuse se projevuje ještě týden po její aplikaci.

## NOVÉ METODY IDENTIFIKACE STREPTOKOKŮ SKUPINY MUTANS A PARODONTÁLNÍCH PATOGENŮ

**Autor:** Mgr. Martin Krátký

**Školitel:** MUDr. Jana Dušková, CSc. - Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN

■ V současné době se v identifikačních a epidemiologických studiích orálních mikroorganismů stále častěji využívají molekulárně biologické techniky, které mají mnohem vyšší rozlišovací schopnosti než metody biochemické a serologické.

Pozornost je soustředěna jak na streptokoky skupiny mutans, tak na skupinu gramnegativních tyček, souhrnně označovaných jako „parodontální patogeny“.

Techniky molekulární biologie jsou založeny buď na analýze celkové DNA nebo na analýze specifických oblastí bakteriální „chromozomální“ DNA. Analýza specifických oblastí DNA se používá k rozlišení bakterií na úrovni druhů a není schopná rozlišit bakterie na poddruhové úrovni. Nejčastěji využívaná je oblast rDNA (16S rDNA nebo úsek mezi 16S a 23S rDNA) anebo geny specifické pro daný bakteriální druh (dextransáza, leukotoxin, kolagenáza). K rozlišení bakterií na poddruhové úrovni se používá studium celkové DNA buď chromozomálním DNA fingerprintingem (RFLP - restriction fragment length polymorphisms) nebo pomocí AP-PCR (arbitrarily primed PCR).

Pro molekulární diagnostiku viridujících streptokoků při jejich epidemiologickém sledování v přenosu dítě/děti - matka -

- otec jsme metodami PCR amplifikace 16S a 23S rDNA, dále AP-PCR a RFLP dosud testovali streptokokové izoláty z plaku deseti rodin.

Na základě stávajících výsledků lze předpokládat genotypickou shodu streptokoků mezi matkou a dítětem v 60 %, mezi otcem a dítětem v 40 % a mezi rodiči v 15 %.

Poznání molekulárně genetických vlastností viridujících streptokoků a parodontálních patogenů a od nich se odvíjející virulence je základním předpokladem prohloubení poznání vztahu mikrobiálního agens a hostitele a to nejen pokud jde o stav dutiny ústní, ale i působení na další orgány nebo systémy.

### MOLECULAR ANALYSIS OF CZECH PATIENTS WITH 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase deficiency

Autoři: Ing. Lenka Mrázová, S. Kmoch, E. Pospíšilová

Školitel: Ing. Stanislav Kmoch - Inst. Inherited Metabolic Disorders, Prague

■ Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase (HL, EC 4.1.3.4, 31,6kDa) catalyzes the last step of leucine catabolism and the ketogenic pathway. It catalyzes the cleavage of HMG-CoA to form acetyl-CoA and acetoacetate. 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria is an autosomal recessive metabolic disorder caused by a deficiency of HL. The patients present with acute episodes with vomiting, hypotonia and lethargy, which sometimes evolve to apnea and coma. It usually appears within the first year of life. Preliminary diagnosis is based on findings the characteristic organic acids in urine (3-hydroxy-3-methylglutaric, 3-hydroxyisovaleric, 3-methylglutonic).

The gene for HL lies on chromosome 1p35-36.12 and contains 9 exons, which are transcribed into the 1,7 kb in length messenger RNA. To date, more than 60 cases having HL deficiency have been diagnosed in the world. Among them 35 probands have been diagnosed at the molecular level and 21 mutations have been found.

We have diagnosed 2 patients with 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria. To confirm the diagnosis at molecular level, we have amplified and sequenced HL cDNA. In one case we have found homozygous missense point mutation 698A→G changing His233 to Arg. Both parents were found heterozygous. Histidin 233 lies in catalytic site of HL, is probably the main catalytic amino acid residue and we assume that this missense mutation leads to HL deficiency.

Molecular analysis second of patient is carried out.

*This study is supported by IGA MZ CR 6003-3/2000.*

### VLIV POZÁTĚŽOVÉ HYPERHOMOCYSTEINÉMIE NA OXIDACI A OXIDOVATELNOST LIPO-PROTEINŮ A SLOŽENÍ MASTNÝCH KYSELIN

Autoři: MUDr. Sergej Romaniv - IV. interní klinika 1. LF a VFN

M. Konárková - IV. interní klinika, Ústav klinické biochemie 1. LF a VFN

A. Písaříková - IV. interní klinika 1. LF a VFN

A. Žák - IV. interní klinika, Ústav klinické biochemie 1. LF a VFN

Školitel: doc. MUDr. A. Žák., CSc. - IV. interní klinika 1. LF a VFN

■ **Východisko:** Hyperhomocysteinémie (hHcy) je samostatný rizikový faktor ICHS. Během autooxidace homocysteinu (Hcy) je generována řada reaktivních kyslíkových substancí, které mohou iniciovat peroxidaci lipidů. Oxidativní modifikace LDL, ke které dochází během lipoperoxidace, hraje významnou roli v časných stádiích aterosogeneze. Výsledky řady studií, zabývajících se vlivem Hcy na peroxidaci lipoproteinů *in vitro* i *in vivo* však nejsou jednotné.

■ **Cíl studie:** zjistit vliv hHcy, indukované zátěží methioninem (Met; 6 hod, 100 mg/kg těl. hm.) *per os* na některé parametry lipoperoxidace VLDL a LDL.

■ **Materiál a metody:** vyšetřená skupina (19 mužů/12 žen) sestávala z 6 zdravých osob, 8 pacientů z aterosclerotickými komplikacemi a 17 nemocných s hyperlipidemií. Průměrný věk osob byl 53,7 ± 16,0 (roky, průměr ± SD) a BMI byl 26,6 ± 3,7 (kg/m<sup>2</sup>). Koncentrace tHcy byly analyzovány podle Araki a Sako (1987), oxidace VLDL a LDL *in vitro* byla měřena podle Esterbauer a spol. (1989). Pohyblivost LDL byla zjišťována elektroforeticky na agaróze po *in vitro* inkubaci frakce LDL.

■ **Výsledky:** zátěží indukovaná hHcy (+157 %, oproti hodnotám před zátěží, P < 0,001) zvyšovala koncentrace konjugovaných dienu v LDL (+7 %, P < 0,05) i VLDL (+23 %, P < 0,01), rychlost oxidace částic VLDL i LDL (+ 5 %, + 22 %, resp., obě P < 0,05), i absolutní (+11 %, P < 0,001) a relativní pohyblivost částic LDL (+ 12 %, P < 0,05). Ve spektru mastných kyselin ve třídě fosfolipidů i esterů cholesterolu po Met zátěží zjištěny významně nižší koncentrace kyseliny dihomogama-linolové (20:3n-6) (P < 0,05).

■ **Závěr:** naše nálezy svědčí pro zvýšení oxidace i oxidability částic LDL a VLDL a prooxidační účinky akutní hHcy *in vivo*.

## COLOUR DISCRIMINATION IS PRESERVED IN EARLY STAGES OF PARKINSON'S DISEASE

**Autoři:** MUDr. Olga Veselá, E. Růžicka, R. Jech, J. Roth, K. Štěpánková, Z. Solano, E. Preclíková

**Školitel:** doc. MUDr. Evžen Růžicka, CSc. - Movement Disorders Centre, Departments of Neurology and Ophthalmology, Charles University in Prague, First Faculty of Medicine and General Faculty Hospital, Prague, Czech Republic

■ Disturbances of visual colour discrimination have been suggested as early markers of Parkinson's disease (PD), presumably due to retinal dopamine deficiency. However, in dopaminergic treated patients, the findings might be biased. We examined 16 de-novo PD patients (mean age 55.1, SD 11.4, in Hoehn & Yahr stages 1 and 2) without L-DOPA or any other medication that might influence colour vision. 20 healthy volunteers of mean age 51.2 yrs (SD 11.8) served as controls. All patients and controls underwent an ophthalmologic examination to exclude subjects with glaucoma, retinopathy or other ocular diseases. Colour discrimination was measured using the Farnsworth-Munsell 100-hue test. The examinations were performed under standard conditions in a room illuminated by a daylight lamp (Biolum Osram 6500 °K). The total error score (TES) and partial error scores (in green-yellow and red-green axes) were calculated for every person examined. No significant differences were found between PD patients (mean TES 71.3, SD 54.2) and controls (mean TES 44.6, SD 26.1). Only four patients' TES exceeded the upper limit of normality (control mean + 2 SD). The partial scores were not significantly increased in PD patients. On the contrary, a comparable study (1) showed significantly elevated TES in de novo PD patients (mean age 58, Hoehn & Yahr stages 1 to 3). This discrepancy could be caused by either more advanced PD in Büttner's et al. patients or by their extremely well performing controls. In conclusion, visual colour discrimination is not disturbed in early untreated PD and doesn't appear as a reliable early marker of PD.

*Study support: CEZ 1998, Reg. No VZ 206016-04.*

1. Büttner Th., Kuhn W., Müller Th., Patzold T., Heidbrink K., Przuntek H.- Distorted color discrimination in „de novo“ parkinsonian patients. *Neurology* 1995; 45: 386-387



**VÍTĚZNÉ PRÁCE**  
**2. STUDENTSKÉ VĚDECKÉ KONFERENCE**  
**IN EXTENSO**





## 1. místo



## ANALÝZA TERATOGENNÍHO ÚČINKU RETINOVÉ KYSELINY U REKOMBINANTNÍCH INBREDNÍCH KMENŮ LABORATORNÍHO POTKANA

**Autor:** David Kemlink, Václava Jeřábková

**Školitel:** prof. MUDr. Vladimír Křen, DrSc. - Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF a VFN

### ■ Úvod

Kyselina retinová (RA) patří mezi deriváty vitamínu A - retinoidy. Jedná se o velmi významnou skupinu léčiv, používanou převážně v hematologii, onkologii hlavy, krku a mléčné žlázy jako chemoprolifaktika a v kožním lékařství, kde se podávají celkově i lokálně. Teratogenní účinek retinové kyseliny byl popsán již v roce 1973 u myši, později i u potkana a některé epidemiologické studie naznačují tento účinek i u člověka. V organismu retinoidy interagují s mnoha transportními a regulačními proteiny. Cílovou strukturou jsou oblasti DNA, tzv. responsible elementy (RARE), na něž se RA společně se svými receptory váže a reguluje tak genovou expresi. Mezi geny, které ve svých regulačních oblastech obsahují RARE patří mimo jiné i homeoboxové geny, které hrají klíčovou roli během vývoje končetin (1.).

Proto vyhledávání genů souvisejících s retinovou kyselinou doplňuje výzkum morfogeneze končetin (2., 3., 4.). Tento složitý regulační proces patří mezi děje využívané pro objasňování funkce genů - funkční genomiku, která je nedílnou součástí projektu mapování savčího genomu (5., 6.). Pro intenzivní využívání v biomedicínském výzkumu byl laboratorní potkan zařazen do programu genetického výzkumu při HUGO a k úplné sekvenaci byl určen kmen BN.

Kmeny SHR a BN laboratorního potkana se liší v mnoha genech a odlišnosti těchto genetických pozadí se projevují i v modifikaci účinku mutantní alely  $Lx$ , která podmiňuje syndrom polydaktylie-luxace (PLS) (7.). Zároveň tato mutace zvyšuje citlivost potkana k teratogenům jako je RA (4.). I teratogenní účinky RA se u zvířat nesoucích alelu  $Lx$  rovněž liší v závislosti na původu genetického pozadí. Za tyto odlišnosti jsou odpovědné geny malého účinku - modifikátory, které jsou rozmístěné po celém genomu potkana (8.).

Sady rekombinantních inbredních (RI) kmenů, odvozené od vysoce inbredních progenitorních kmenů s pozadími SHR a BN představují geneticky fixované kombinace genomů těchto progenitorních kmenů. Jednotliví členové určitého RI kmenu jsou téměř geneticky identičtí, a proto je možné používat různé jedince pro různé experimenty, ale jejich výsledky vztahovat k danému RI kmenu. RI kmeny se pak mezi sebou liší různými kombinacemi progenitorních genetických pozadí a společně pak jsou modelem populace s kontinuální distribucí sledovaných projevů jako např. morfotyp PLS nebo modifikace účinku RA v kombinaci s tímto syndromem (9.).

Genetický profil RI kmenů pak popisuje tzv. SDP (strain distribution pattern), který je souborem DNA markerů. U jednotlivých markerů je pro každý kmen vyhodnoceno, zda je daná sekvence původu od jednoho, nebo druhého progenitora, popřípadě zda je v této oblasti přítomna heterozygocie. SDP je základem pro vazebnou genetickou mapu RI kmenů a zároveň se používá pro asociační analýzu. Ta se sestává z několika statistických metod porovnávajících SDP s fenotypem jednotlivých RI kmenů vyjádřeným buď Mendelovským znakem (podle korespondence s progenitorem), nebo kvantitativním znakem (QTL). Výsledkem jsou oblasti genomu, které s největší pravděpodobností odpovídají za rozdíly mezi RI kmeny v zadaném fenotypu a mohou tedy obsahovat modifikující geny (9.).

V této práci porovnáváme účinek RA na vývoj zadních končetin u nové sady RI kmenů PXO nesoucích alelu  $Lx$  a zároveň probíhá genotypizace těchto kmenů s přípravou příslušného SDP. Tato sada doplňuje stávající systém RI kmenů HXB a BXH a obohacuje jej o nové kombinace genetických pozadí i fenotypové projevy. Společně jsou na základě PLS součástí modelu poruchy vývoje končetin a budou se používat k vyhledávání a identifikaci genů ovlivňujících tento syndrom i genů modifikujících teratogenní účinek RA na vývoj končetin (10.).

### ■ Materiál a metody

#### Zvířata

Pro experiment je používána nová sada RI kmenů PXO - geneticky fixovaná F2 populace vzniklá křížením polydaktylního kmene SHR. $Lx$ (P) a oligodaktylního kmene BXH2(O), který je rovněž RI kmenem ze sady BXH vzniklé z vysoce inbredních kmenů SHR(H) a BN. $Lx$ (B) a také nese alelu  $Lx$  podmiňující PLS. Sada se sestává z 10 kmenů (PXO1-PXO10) a jedné sublinie kmene PXO3 (PXO3a a PXO3b). Samci PXO kmenů byli připouštěni se samicemi vysoce inbredního progenitorního kmene SHR. $Lx$ . Bylo prokázáno, že tato kombinace modifikuje embryotoxicitu RA a umožňuje kvantitativní hodnocení malformačních projevů (10.).



### Uspořádání studie

Samice byly cíleně připouštěny a den, kdy byly ve vaginálním výtěru zjištěny spermie byl označen 1. dnem gestace. Třináctý den gestace bylo březím samicím podáno 100 mg/kg tělesné hmotnosti kyseliny all-trans retinové (Tretinoin) v 10 ml/kg 10% roztoku etanolu v kukuřičném oleji p.o. žaludeční sondou v celkové inhalační anestézii. Třináctý den byl zvolen pro podání RA podle předchozích pozorování, která ukázala maximální malformační účinek na zadní končetiny (10.).

Kontrolním skupinám byl stejným způsobem podán pouze rozpouštěcí roztok. Dvacátý druhý den gestace (den před porodem) byly plody odebrány, zváženy a byly vyhodnoceny počty a tvar prstů zadních i předních končetin, dále byl vyhodnocen počet resorpcí v jednotlivých vrzích. Plody byly fixovány v 96 % etanolu a obarveny diferenciatně na chrupavku alcianovou modří a na kost alizarin-sulfátovou červení po zprůhlednění 10 % roztokem hydroxidu draselného. Takto připravené preparáty zadních končetin budou vyhodnoceny pomocí digitální obrazové analýzy, jejíž výsledky budou použity pro asociační analýzy.

### Genotypizace

K sestavování SDP je používáno komerčně dostupných souborů mikrosatelitních markerů (Rat, Mit, Mgh, a další) a několika známých genů (IGF2, Lsn a další) pomocí standardního protokolu PCR. K vyhodnocení polymorfismu krátkých sekvencí (SSLP) používáme elektroforetickou separaci v polyakrylamidovém gelu a detekci produktu po obarvení Ethidium-bromidem fluorescenčně v UV světle. Výběr a pořadí markerů je přejímáno převážně ze stávajícího SDP ostatních RI kmenů, dále pak z veřejně dostupných vazebných map a z map radiálních hybridů (9., 10., 11.). Protože jedním z progenitorů PXO kmenů byl kmen ze sady BXH, který má poměr genetických pozadí BN:SHR teoreticky 1:1, je u PXO kmenů, které vznikly dalším křížením s kmenem SHR.Lx, tento poměr již 1:3 a v markerech, které byly u kmene BXH2 původu SHR, není u PXO přítomen polymorfismus, všechny kmene mají tyto oblasti původu SHR. Toto „nařazení“ genetického pozadí BN umožňuje snadnější vyhledávání minor genů z tohoto pozadí pomocí asociační analýzy. V současné je doplněno 50,5 % stávajícího SDP RI kmenů o informace o PXO kmenech. Pro správu SDP a asociační analýzu je používán program MapManager v29b.

### Výsledky a diskuse

V současné době jsou k dispozici pouze výsledky analýzy počtu prstů zadních končetin a počtu resorpcí. Výsledky jsou seřazeny do kontingenční tabulky, kategorie byly zvoleny podle počtu trifalangeálních prstů auopodia zadních končetin. Zatím nebyly zjištěny signifikantní pravolevé nebo mezipohlavní rozdíly, proto byly vyhodnoceny všechny vzorky společně. Jednotlivé kmene byly srovnávány se souhrnem od všech kontrolních vrhů pomocí testu  $\chi^2$ , které se při tomto typu hodnocení od sebe rovněž signifikantně neliší. Hladina spolehlivosti byla zvolena 1 %.

<b>P=3,05E-157</b> <b>Kmen</b>	<b>medián</b> <b>počtu prstů</b>	<b>%</b> <b>resorpce</b>	<b>1,1+r</b>	<b>2,2+r</b>	<b>3,3+r</b>	<b>4,4+r</b>	<b>5 a více</b>	<b>celkem</b>	<b><math>\chi^2</math> vs. kontroly</b> <b>Hodnota P</b>
PxO1	3	28,8	0	13	51	8	2	74	1,57928E-30
PxO2	3	41,2	0	14	66	0	0	80	6,78424E-35
PxO3a	4	19,0	0	0	15	15	4	34	4,49709E-20
PxO3b	3	15,4	0	0	18	4	0	22	1,42096E-21
PxO4	3	0,0	0	1	21	0	0	22	7,71679E-26
PxO5	3	52,6	4	2	12	0	0	18	3,874E-21
PxO6	2	70,0	16	15	16	1	0	48	8,598E-30
PxO7	2	40,0	29	20	11	0	0	60	6,99226E-37
PxO8	2	25,0	0	9	3	0	0	12	3,02839E-20
PxO9	4	53,3	2	0	0	11	1	14	1,00973E-19
PxO10	4	0,0	0	5	13	28	14	60	2,00891E-18
Kontroly 10, 9, 7, 2	6	0,0	0	0	0	2	96	98	

Z tabulky vyplývá, že všechny kmene se signifikantně liší od kontrol a je zřejmé, že se projevy liší i mezi jednotlivými kmeny. V následující tabulce jsou opět pomocí testu  $\chi^2$  srovnány kmene, u kterých byl získán dostatečný počet vzorků. Hladina spolehlivosti byla zvolena 1 %, hodnoty, kdy se vybrané kmene signifikantně neliší jsou vyznačeny tučně.

Kmen	PxO10	PxO6	PxO7	PxO2	PxO1	PxO3a
PxO10		2E-16			8,1E-10	<b>0,04492</b>
PxO6	2E-16		<b>0,16282</b>		1,1E-07	2,2E-09
PxO7		<b>0,16282</b>		1,8E-15		
PxO2			1,8E-15		<b>0,00831</b>	
PxO1	8,1E-10	1,1E-07			<b>0,00831</b>	2,6E-05
PxO3a	<b>0,04492</b>	2,2E-09			2,6E-05	

Skutečnost, že některé kmeny se ve vyhodnocovaných parametrech signifikantně liší a jiné se neliší lze považovat za nepřímý důkaz, že genetické odlišnosti v rámci sady PXO zahrnují též geny ovlivňující teratogenní účinek RA na zadní končetiny. Existence párů kmenů, které se signifikantně neliší představuje náznak kontinuální distribuce projevů, které jsou jedním z předpokladů následné asociační analýzy.

### Závěr

Tato teratologická studie je aplikací zvířecího modelu poruchy vývoje končetin založeném na analýze různých projevů syndromu polydaktylie-luxace u geneticky definovaných kmenů laboratorního potkana. Sada RI kmenů PXO je komplementární k stávajícím sadám HXB a BXH a doplňuje je o další kombinace genetických pozadí progenitorních kmenů. U PXO kmenů byla potvrzena předchozí pozorování a byla u nich prokázána variabilita projevů PLS v kombinaci s podáním retinové kyseliny. Výsledky analýzy autopodia zadních končetin naznačují, že tento model je vhodný k další morfo-metrické analýze a po dokončení SDP bude možné provést asociační studie a pokusit se odhalit oblasti potkaního genomu, které obsahují geny odpovídající za rozdíly v interakci genomu jednotlivých RI kmenů s RA.

## LITERATURA

1. J. M. Brown, C. Tickle (1992) *Retinoids and the molecular basis of limb patterning. Comp. Biochem. Physiol.* 103A, 641-647.
2. B. Robert, A. Weydert (2000) *From Grenoble to Grenoble (1972-2000): limb development and regeneration revisited. Dev Dyn* 2000 Nov; 219(3):426-8.
3. L. Niswander (1997) *Limb mutants: What can they tell us about normal limb development? Curr. Opin. Genet. Devel.* 7/4, 530-535.
4. V. Bilá, V. Křen (1996) *Teratogenic action of retionic acid in rat congenic and recombinant inbred strains. Fol. Biol. (Praha)* 42: 167-173.
5. H. J. Jacob (1999) *Functional Genomics and Rat models, Gen. Research*, 9 1013-1016.
6. J. W. Innis, D. P. Mortlock (1998) *Limb development: Molecular dysmorphology is at hand! Clin. Genet.* 53, 337-338.
7. V. Křen (1975) *Acta Univ. Carol. Med. Monograph, LXVIII*, 1975, p1-109.
8. V. Křen, V. Bilá, R. Kašpárek, D. Kemlink, D. Křenová, L. Šedová, M. Pravenec. (2000) *Rat Polydaktyly-luxate syndrom in a series of recombinant inbred and congenic strains, 7<sup>th</sup> International Conference on Limb Development and Regeneration, Aussois (France), May 21-24, 2000. Abstract in Develop Dynamics2000 viz cit.2.*
9. V. Křen et al. (1996) *Recombinant inbred and congenic strains of the rat for genetic analysis of limb morphogenesis. Fol. Biol. (Praha)* 42: 159-166.
10. V. Křen, V. Bilá, R. Kašpárek, D. Křenová *A new net of recombinant inbred strains complementary to HXB and BXH sets. J. Exp. Anim. Sci.* 2000; 41:54-56.
11. M. Pravenec et al. (1999) *HXB/Ipcv and BXH/Cub Recombinant inbred strains of the rat: Strain distribution patterns of 632 alleles. Fol. Biol. (Praha)* 45: 203-215.
12. T. K. Watanabe et al. (1999) *A radiation hybrid map of the rat genom containing 5255 markers. Nat. Genet.* 22, 27-36.
13. R. G. Steen et al. (1999) *A high density integrated genetic linkage and radiation hybrid map of the laboratory rat. Gen. Research* 9, ap 1-8.



## 2. místo

# AMYGDALA V HISTOLOGICKÝCH ŘEZECH A JEJÍ ZMĚNY V PRŮBĚHU ŽIVOTA

Autor: Aleš Hejčl

Školitel: prof. MUDr. Pavel Petrovický, DrSc. - Anatomický ústav 1. LF

### ■ Úvod

Rozvoj zobrazovacích metod v neurovědách přinesl zvýšený zájem o morfologii centrálního nervového systému. Její dokonalé zvládnutí umožňuje klinikům porovnávat zobrazitelné změny ve strukturách CNS, které mohou výrazně napomoci ke stanovení diagnózy u indikovaných pacientů. Jednou z takových struktur je i amygdala.

Amygdala (Am) je subkortikální struktura mozku, nacházející se v přední mediální části temporálního laloku. Promítá se pod povrch uncus gyri parahippocampalis. Je jednou ze dvou hlavních složek limbického systému a k jeho ostatním strukturám má velmi úzký topický vztah. Dorzálně od amygdaly se nachází hipokampus, ze kterého dorzokraniálně odstupuje struktura tvaru „C“ zvaná fornix. Ten je tvořen vlákny vycházejícími z hipokampu. Laterálně od amygdaly zasahuje temporální roh postranní komory a kraniálně nacházíme bazální ganglia.

Amygdala není homogenní strukturou, nýbrž je složena z přibližně 16 jader a podjader. Nejvýraznějším jádrem je jádro laterální, podmiňující výraznou část objemu amygdaly. Mediálně od něj se nachází jádro bazální a bazální akcesorní. Kraniomediálně poté jádra centrální a mediální, které v přední části přecházejí kraniomediálně v tzv. „extended amygdala“. Nejmediálnější část amygdaly se nazývá kortikální a přes „CTA“, tedy přechodnou zónu, pokračuje do kortexu temporálního laloku.

Amygdala má velké množství spojů, ze kterých je možno odvodit její funkce. Ty se dají rozdělit do čtyř základních kategorií:

1. Emotivní složka našeho chování (a to převážně pomocí spojů bazolaterálního jádra /B-L/ s asociativními částmi kůry).
2. Emotivní vliv na pohyb přes spoje s bazálními ganglii /BG/ a frontální kůrou.
3. Facilitace aktivity hipokampálních spojů při tvorbě paměťových stop.
4. Regulace vegetativního centra, hypothalamu, přes stria terminalis a ventrální amygdalofugální systém.

### ■ Cíl projektu

Tento projekt probíhá v neuroanatomické laboratoři prof. Petrovického na Anatomickém ústavu 1. LF již třetím rokem. Jeho cílem je: **Vytvoření rastru pro hodnocení amygdaly v „řezech“ NMR.**

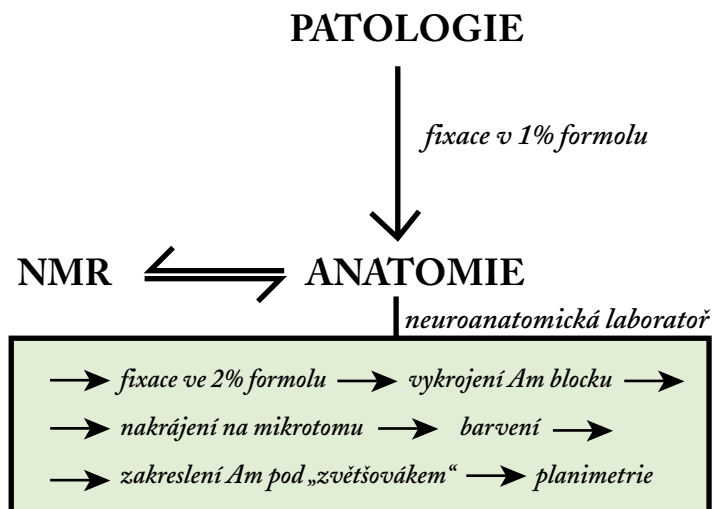
Vlastní projekt je přitom možno rozdělit do dvou základních kroků:

1. Určení anatomických hranic Am.
2. Zjištění objemu normální Am neuroanatomickými metodami v jednotlivých deceniích.

### ■ Metody

Mozky, jež jsou v laboratoři zpracovány, získáváme z 1. a 2. Ústavu patologické anatomie 1. LF. Jsou transportovány v 1% roztoku formolu do laboratoře a odtud po nezbytných úpravách přeneseny na Neurologickou kliniku 1. LF na oddělení NMR (nukleární magnetická rezonance). Po zpracování NMR se mozky vrací zpět do laboratoře, kde je nutno je nejméně půl roku fixovat ve 2% roztoku formolu. Poté se z mozku vykrojí blok nervové tkáně obsahující amygdalu. Ten je nakrájen na mikrotomu ve frontální rovině. Řezy jsou silné 100 μm. Každý pátý řez je poté nabarven kresylvioletí (Nisslova metoda) a ztmelen do podložních sklíček. Takto upravené řezy je možno hodnotit v mikroskopu nebo pod zvětšovacími zařízeními a poté planimetrem kvantifikovat jejich velikosti. Grafická podoba tohoto postupu je naznačena níže.

Postup zpracování projektu „Amygdala“



### ■ Výsledky

V současné době je zpracováno 13 mozků. U nich byly měřeny amygdaly v obou hemisférách. Absolutní hodnoty objemů amygdal se pohybují v rozmezí od 1,1 cm<sup>3</sup> do 2,3 cm<sup>3</sup>. Tyto hodnoty byly vztaženy k věku mozků a vyneseny do grafu. Z grafu je možno pozorovat zřejmý pokles absolutních hodnot objemů amygdal. Zatímco průměrné hodnoty se v deceniích kolem 40 - 50 let pohybovaly mezi 1,9 - 2,0 cm<sup>3</sup>, v nejstarším deceniu, 80 - 90 let, to již bylo pouze kolem 1,5 - 1,6 cm<sup>3</sup>. Pokles absolutních hodnot mezi 40. a 90. rokem činí v průměru 20 %.

Další faktor, který jsme zahrnuli do našeho měření, byl relativní objem amygdaly. Ten byl dán poměrem mezi absolutním objemem amygdaly a objemem bloku mozku, ze kterého příslušná amygdala pocházela. Výsledkem byl graf typu předchozího, jen na ose „y“ byly hodnoty objemu amygdaly v procentech. Ty se pohybovaly od 2,2 % do 4,4 %. Rozdíl hodnot mezi jednotlivými decenií byl ještě výraznější, než při měření absolutních hodnot. Zatímco v nejmladších deceniích byla průměrná hodnota kolem 4,0 %, tak o 40 - 50 let později se její hodnota zmenšila na průměr okolo 2,5 %. Pokles relativních hodnot mezi 40. a 90. rokem činil tedy v průměru 40 %.

Roky	Mozek č.	Věk	Absolutní velikost		Relativní velikost		Průměr
			R	L	R	L	
<b>Pod 40</b>	71	38	1,73	/	3,15	/	1,73 3,16 %
<b>40 - 50</b>	4	49	2,30	/	4,40	/	1,98 4,10 %
	30	44	1,80	1,85	3,80	3,84	
<b>50 - 60</b>	59	50	1,70	/	2,89	/	1,71 2,96 %
	74	58	1,35	1,54	2,40	2,64	
	73	54	1,93	1,92	3,95	3,78	
	78	58	1,80	1,39	3,00	2,03	
<b>60 - 70</b>	8	62	1,90	1,90	3,77	3,87	1,90 3,80 %
<b>70 - 80</b>	9	71	1,60	1,60	2,94	3,11	1,60 3,00 %
<b>80 - 90</b>	3	84	/	2,27	/	4,01	1,58 2,50 %
	22	84	1,50	1,10	2,88	2,23	
	31	89	1,16	/	2,38	/	
	57	82	1,66	1,79	3,38	3,91	

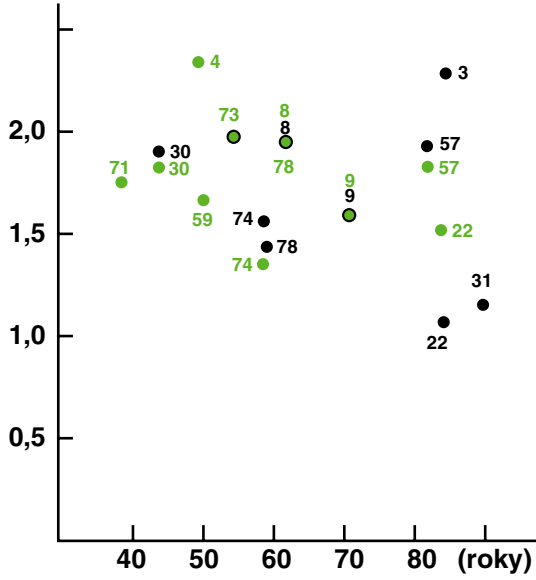
### ■ Závěr

Pokles objemu amygdaly mezi 40. a 90. rokem, měřeno v absolutních hodnotách, činí v průměru 20 %. Pokles objemu amygdaly mezi 40. a 90. rokem, měřeno v relativních hodnotách (k řezu celým mozkem), činí v průměru 40 %. Je nutno zdůraznit, že se jedná o předběžné výsledky a jejich upřesnění bude náplní další práce.

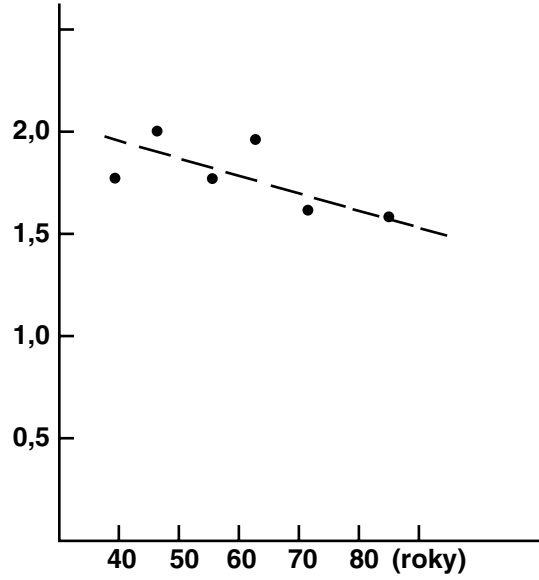
### ■ Poděkování

Děkuji mému školiteli prof. MUDr. Pavlu Petrovickému, DrSc. za vedení tohoto projektu a za nespočetné rady, které mi poskytl v jeho průběhu, a umožnil mi tímto podílet se na jeho projektu. Zároveň děkuji oběma laborantkám neuroanatomické laboratoře Anatomického ústavu 1. LF, paní Patkové a paní Fulínové, za zasvěcení do neroanatomických metod.

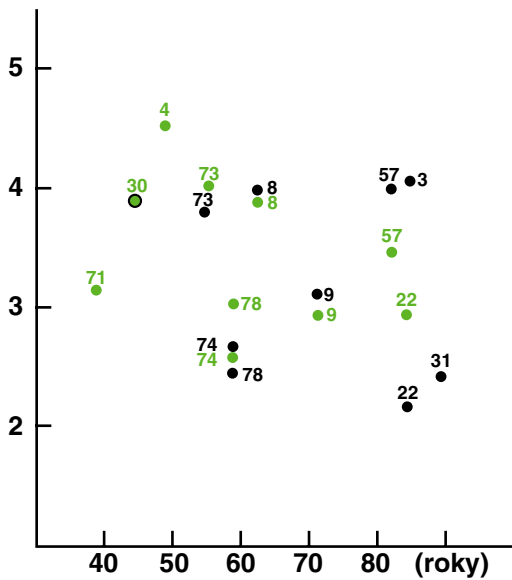
Absolutní objem AM v závislosti na věku (velikost v ccm)



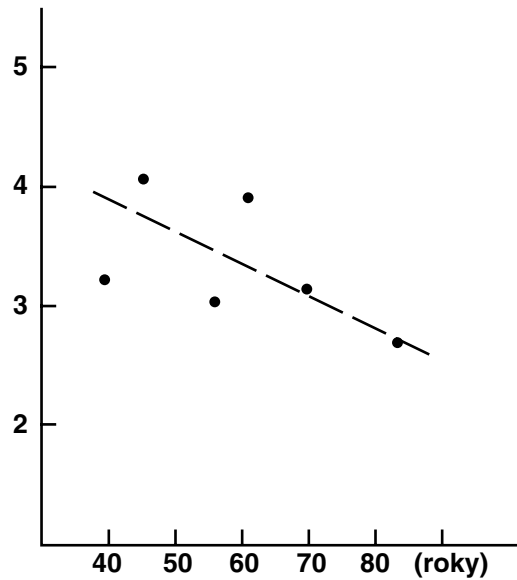
Absolutní objem AM v závislosti na věku (velikost v ccm)



Relativní objem Am v závislosti na věku (objem v %)



Relativní objem Am v závislosti na věku (objem v %)



### 3. místo

## DISPERZE INTERVALU QT A PROJEKCE VEKTORU VLNY T

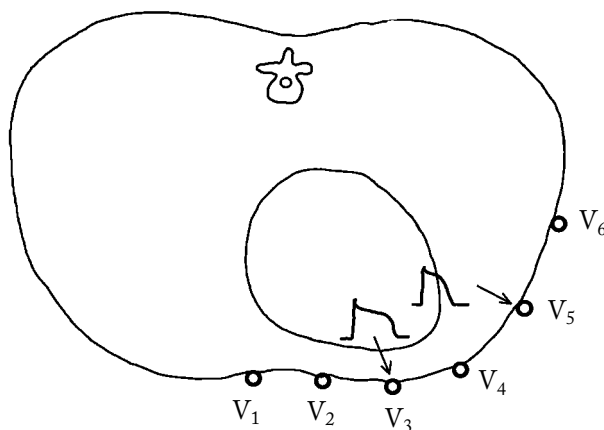
**Autoři:** Jan Kolařík, Štěpán Havránek

**Školitel:** doc. MUDr. Otomar Kittnar, CSc. - Fyziologický ústav 1. LF

#### ■ Úvod

Řada kardiologických prací se v poslední době zabývá vysvětlením jevu zvaného disperze QT intervalu. QT disperze (QTd) je rozdíl v trvání nejdelšího a nejkratšího QT intervalu mezi libovolnými EKG svody daného svodového systému. Metoda stanovení QTd vznikla již před 25 lety. Jednalo se o velmi populární metodu, do které byly vkládány velké naděje, jako do snadno a rychle stanovitelného parametru rizik vzniku závažných poruch srdečního rytmu, vedoucích až k náhlé kardiální smrti. Dnes se však uvažuje o třech možných příčinách vzniku QT disperze: Interpretace QT disperze jako projevu repolarizační nehomogenity myokardu, interpretace QT disperze jako projekce vlny T, vysvětlení QT disperze jako důsledku nepřesnosti jejího stanovení.

Obr. 1.: Vysvětlení repolarizační nehomogenity



Tato práce se zabývá možným vysvětlením existence QTd rozdílnou projekcí sumárního repolarizačního vektoru do příslušného svodu. To, že se v některém ze svodů objevila nulová amplituda dříve než v jiném, znamená, že svod mohl být v daném okamžiku kolmý na vektor elektrického pole. Konec vlny T v daném svodu tedy nemusí odpovídat přímo ukončení akčního potenciálu a tedy i refrakterní fáze v korespondující oblasti srdečního svalu. Zápis konce vlny T může být zkreslen zejména v případě, že okamžitý vektor elektrického pole je kolmý k ose daného svodu. Pak se v tomto svodu zaznamenává nulová výchylka. Takto můžeme vysvětlit zaregistrování kratšího QT intervalu oproti skutečné době trvání repolarizace. U intervalu QT to tedy prakticky znamená, že na osu svodu by byla kolmá poslední část T-smyčky vektorkardiogramu. V této souvislosti byl zkoumán vztah mezi morfologií vektorkardiografické T-smyčky a QTd. Teoreticky může být velikost QTd ovlivněna třemi interagujícími faktory: amplitudou T-smyčky, její šířkou a počtem svodů, ve kterých nebylo z důvodu nízké amplitudy vlny T možné konec vlny T jednoznačně určit.

#### ■ Cíl

V naší předešlé práci jsme se posuzovali jeden z faktorů vzniku QT disperze, reprodukovatelností stanovení QT disperze. Z výsledků vyplynulo, že chyba měření mezi hodnotiteli není větší než rozdíl mezi hodnocenými skupinami. V této jsme se zabývali dalším faktorem, vlivem morfologie vektorkardiografické T-smyčky na QTd.

#### ■ Metody

V počítačovém programu Cardiac 112.2 jsme proměřovali vektorkardiografické smyčky vln T u souboru 12 zdravých těhotných žen a u kontrolní skupiny 15 mladých zdravých netěhotných žen. V laboratoři funkčních vyšetření fyziologického ústavu používají těhotenství jako fyziologický model změny polohy srdce. Odebírali jsme data ze smyček ve třech na sebe kolmých rovinách frontální, sagitální a transverzální. Měřili jsme ve třech různých časech. V první čtvrtině, polovině a třetí čtvrtině trvání T-smyčky. V každé rovině jsme získávali amplitudu okamžitého vektoru a prostorový úhel  $\alpha$ , charakterizující směr okamžitého sumárního vektoru v trojrozměrném prostoru. Z rozdílu úhlů v první a poslední čtvrtině smyčky T jsme pak vypočítali šířku této smyčky. O tato data jsme rozšířili soubor s již proměřenou QT disperzí.

#### ■ Výsledky

Šířka smyčky T je v poslední fázi těhotenství signifikantně zvýšena, amplitudy okamžitých vektorů ve všech třech

uvedených časech jsou statisticky významně zmenšené (v tabulce je amplituda vektoru z poslední 1/4 repolarizace) a prostorový úhel je rovněž zmenšený (je umístěn horizontálněji a míří méně dopředu).

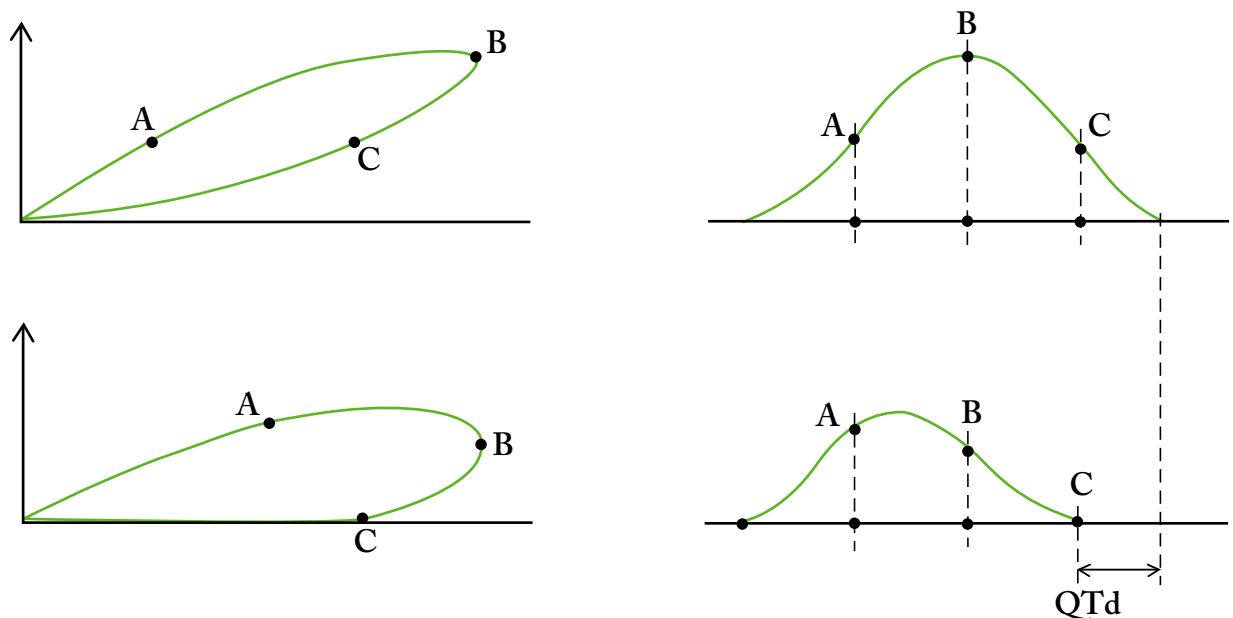
Obr. 2.: Tabulka výsledků

	KONTROLA (n=15)		TĚHOTENSTVÍ (n=10)	
Tělesná hmotnost (kg)	60.6	(5.8)	74.2	(7.22)
Tepová frekvence (1/min)	75.2	(11.5)	102.1	(18.2)
<b>QT disperze (ms)</b>	<b>34</b>	<b>(12)</b>	<b>73</b>	<b>(18)</b>
QTc disperze (ms)	36	(13)	79	(21)
Amplituda konečného vektoru T smyčky ( $\mu V$ )	793	(114)	532	(98)
Prostorový úhel konce vektoru T smyčky (deg)	33	(7)	21	(12)
<b>Šířka T smyčky (deg)</b>	<b>6</b>	<b>(3)</b>	<b>18</b>	<b>(11)</b>

### Diskuse

Morfologie T-smyčky ovlivňuje velikost QTd. Čím je T-smyčka širší a její amplituda menší, tím jsou rozdíly v délce QT intervalů 12 svodového EKG výraznější a QTd vyšší. Je-li T-smyčka úzká a velikost úhlu vektoru vlny T na osu příslušného svodu je dostatečně malá, její projekce do tohoto svodu se projeví dobře stanovitelným koncem vlny T, odpovídajícím skutečnému konci repolarizace, a dostatečnou výškou vlny T, která je tím pádem dobře rozeznatelná. Čím více se úhel mezi vektorem vlny T a osou daného svodu blíží  $90^\circ$  nebo čím menší je amplituda vektoru vlny T, tím je vlna T v tomto svodu nižší a konec vlny T je hůře identifikovatelný. Pokud je úhel mezi vektorem vlny T a osou svodu malý, ale smyčka je široká, takže koncový úsek smyčky T se promítá na osu daného svodu v úhlu blízkém  $90^\circ$ , je vlna T sice dobře rozeznatelná, ale její konec v tomto svodu nastává dříve a může tak být příčinou zvýšené QTd.osa svodu.

Obr. 3.: Vztah morfologie vektorkardiografické T-smyčky a vlny T na EKG záznamu



### Závěr

Změny parametrů vektorkardiografické smyčky vlny T korespondují se zvýšením QTd a naznačují, že mezi QTd a konfigurací smyčky T existuje úzký vztah. Bylo by však příliš odvážné považovat tento vztah za příčinný, neboť elektrické pole myokardu je velmi složitý a komplexní systém a jeho promítnutí do jednoho sumárního vektoru je velkým zjednodušením. V klinické praxi je toto zjednodušení přijatelné, ale u podrobných experimentálních výsledků může znamenat podstatnou chybu. Srdce totiž není prostým dipólem a elektrický signál se šíří nehomogeními strukturami hrudníku (kost, krev, kůže, plíce atd.). Zvýšení QTd v sobě prokazatelně nese diagnosticky zajímavou informaci, ta je však ovlivněna mnoha faktory, jako je poloha srdce, nehomogenita prostředí mezi zdrojem elektrického pole a snímacími elektrodami atd., takže její význam je v tuto chvíli nanejvýše nespecifický.





## 1. místo

## ZÁNĚT ZUBNÍHO LŮŽKA U KUŘÁKŮ - INCIDENCE A MIKROBIÁLNÍ OBRAZ

Autor: MUC. Martin Tomeček

Školitel: as. MUDr. Hana Staňková - Stomatologická klinika 1. LF a VFN

### ■ Úvod

Hojení extrakční rány a případný vznik zánětlivých komplikací ovlivňuje řada faktorů: jsou to jednak okolnosti vlastní extrakce (vasokonstrikční přísady anestetik), technické provedení chirurgického výkonu a jeho délka, profylaktické podání antibiotik, a dále ze strany pacienta jsou to predisponující onemocnění (např. diabetes mellitus (DM), hypertenze, poruchy koagulace aj.), úroveň ústní hygieny a závažným faktorem je pravděpodobně i kouření.

Jeho neblahý vliv na hojení rány po zubních extrakcích, v implantologii, ale i po parodontologických operacích, byl zkoumán a prokázán řadou prací [1-8]. Jsou zkoumány i mechanismy působení kouření tabáku na hojení ran [9-11]. Jiné studie si všímají bakteriálního složení u poextrakčních alveolitid [12, 13] a v souvislosti s kouřením u parodontologických pacientů [14]. Naše prospektivní studie spojuje tyto aspekty a zadává si dva cíle:

vliv kouření na:

- 1) incidenci postextrakčních alveolitid, a to s ohledem na kouření a další okolnosti (stav parodontu a orální hygieny, průběh extrakce, ATB profylaxe),
- 2) mikrobiální obraz alveolitid.

### ■ Metodika

Soubor je tvořen pacienty ošetřovanými posluchači stomatologie na chirurgické ambulanci Stomatologické kliniky 1. LF a VFN v Praze. Z konečného zpracovávaného souboru jsou vyřazeni ti pacienti, u kterých se vyskytnul jiný závažný faktor mimo kouření, který by mohl ovlivnit vznik zánětu zubního lůžka, tj.: DM, hypertenzní nemoc, poruchy koagulace, recentní infekce orofaryngu, resp. nedávné užívání antibiotik (v posledních 3 týdnech), endokrinní poruchy, poruchy imunity, systémové vaskulární choroby, onkologické choroby aj. Sledujeme též užívání léků.

U každého pacienta s extrakcí jsou dále zaznamenány tyto údaje:

- extrahované zuby
- stav ústní hygieny (Approximal Plaque Index)
- stav *parodontu* a *gingivy* extrahovaných zubů, vždy nejhorší nález, a to ve stupních: 1 - klidné, bez známek zánětu; 2 - otok/ zarudnutí/ bolestivost; 3 - vytéká hnisavý exsudát; zvláště zaznamenáváme přítomnost parodontálního chobotu > 5mm
- RTG známky projasnění: 1 - periapikálně, 2 - laterálně
- kouření - jsou zaznamenány celkem tři údaje, z toho 2. a 3. jen při rozvoji alveolitidy: 1 - kolik cigaret pacient obecně vykouří; 2 - kolik vykouřil v den extrakce; 3 - kolik vykouřil v následujících dnech
- koncentrace *vasokonstrikční přísady* použitého anestetika (na našem pracovišti větš. Supracain 2% s adrenalinem 1:400 000, případně Supracain 4 % s adrenalinem 1:200 000)
- průběh *vlastní extrakce* ve stupních: 1 - snadná, krátce trvající a bez traumatizace; 2 - protrahovaná / se zhmožděním tkáně; 3 - chirurgická bez snášení kosti; 4 - chirurgická s odstraněním kosti
- nutnost úpravy imediátního poextrakčního *krvácení*: 1 - spontánně ustalo; 2 - stavění suturou; 3 - aplikace lokálního hemostatik (Spongostan, Gelaspon aj.); 4 - aplikací celkových přípravků (PAMBA, EAC aj.)
- preskripci profylaktických *ATB*, tj. typ a dávkování

V případě, že se v extrakční ráně rozvinul zánět, který pacienta přivedl zpět do ambulance k ošetření, byly učiněny následné kroky: zjištěno

- zda došlo k *obnově krvácení* a po kolika dnech
- měl-li pacient zvýšenou *teplotu*
- jiné *subjektivní* potíže
- kouření - v den extrakce a v následných dnech (viz. výše)
- stav *koagula*: 1 - rozpadlé; 2 - zachovalé
- vzhled *extrakční rány*: 1 - jen bolestivost; 2 - zčervenání / otok; 3 - exsudace z lůžka
- stanovena *diagnóza* alveolitis sicca / purulenta
- provedeny *bakteriální stěry*: 1 - z lůžka zubu; 2 - ze sliznice protilehlé tváře



## ■ Výsledky

Celkově bylo v rámci studie ošetřeno 139 pacientů. Z těch jsme vyřadili 29 pacientů, u kterých se vyskytl jiný faktor potenciálně ovlivňující rozvoj zánětu lůžka (alveolitis), viz. tab.1.

Tab. 1.: Důvody vedoucí k vyřazení pacienta ze souboru

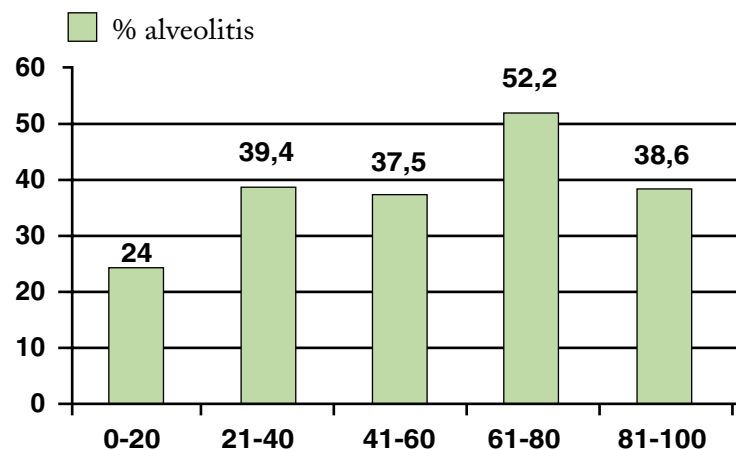
Příčina vyřazení ze souboru	Počet pacientů
Zvýšená krvácivost	15
Hypertenze	9
Diabetes Mellitus	7
Thyreopatie	6
ICHS	4
Imunodeficiencie	1
Infekce orofaryngu (nebo ATB)	1
Tumory - ca. tlustého střeva	1
m. Crohn	1
Drogová závislost - pervitin	1

Definitivně je tedy zpracováno 110 pacientů, z toho 38 mužů a 72 žen. Převážně šlo o pacienty ve 3. a 4. deceniu (64; 20), nejmladšímu byly 3 roky, nejstaršímu 73 let. Průměrný věk pacienta je 29,5 roku. Všechna následující data a srovnání se týkají jen této skupiny. Z celkových 136 provedených extrakcí šlo ve 108 případech o extrakci třetího moláru (32 v maxille, 76 v mandibule), kde hlavní indikační diagnózou bylo *dentitio difficilis*. Ostatních extrakce (28) byly provedeny z důvodů akutní či chronické parodontitidy, pulpitid a ponechaných kořenů (*radix relicta*).

Ze všech 110 pacientů se zánět lůžka objevil u 41, tj. ve 37 %. Více než dvojnásobný rozdíl v incidenci mezi kuřáky a nekuřáky prokazuje tabulka 2a.

Podle výsledků indexu API hodnotícího úroveň ústní hygieny (nejlepší úroveň 0 %, nejhorší 100 %) lze pacienty rozdělit do pěti skupin a sledovat incidenci vzniku alveolitidy u každé z nich (viz graf 1).

Graf 1.: Procento rozvoje alveolitidy v závislosti na API



Ze záznamů o stavu parodontu u zubu k extrakci lze získat údaje uvedené v tabulce 2b. Ze zhodnocení RTG snímků vyplývá, že u 86 pacientů došlo k resorbci kosti laterálně (ke kořeni či korunce), u 20 periapikálně a ve 4 případech laterálně i periapikálně. U pacientů přicházejících s alveolitidou jsme zjistili, že pro obnovu krvácení byl nejkritičtější 2.- 4. den (u 60 % pacientů), ale i po celém týdnu po extrakci byla tato známka vzniklého zánětu relativně běžná (6. a 7. den 24 % pacientů s alveolitidou).

Zvýšenou teplotu udalo nebo byla naměřena u poloviny pacientů (21 pac.), vždy jen hraniční subfebrilie s průměrem 37,2 °C. Subjektivně pociťovali všichni pacienti bolestivost v extrakční ráně, která někdy vystřelovala a byla doprovázena kontrakturou. Krvácení bezprostředně po extrakci ustalo spontánně ve 40 případech, u 70 bylo stavěno suturou. Lokální hemostatika ani jiné systémové preparáty ve srovnávané skupině použity nebyly. Při volbě anestetika byl u 106 pacientů zvolen přípravek s nižší koncentrací adrenalinu (1:400 000), u 3 s vyšší koncentrací (1:200 000) a u 1 pacienta bylo použito anestetikum bez vazokonstrikce.

Průběh vlastní extrakce měl výrazný vliv na četnost následné alveolitis, výsledky jsou nejmarkantnější po rozdělení pacientů do dvou základních skupin: bez chirurgického provedení a chirurgicky. Výsledky ukazuje tab. 2c.

V závěrečné diagnóze byl zánět lůžka označen u 27 pacientů jako suchý (alveolitis sicca) a u 14 pacientů jako hnisavý (alveolitis purulenta). Tomu odpovídá obligátně rozpadlé koagulum s „pouhou“ bolestivostí u 13 pacientů a navíc s exsudací u 24 pacientů. U 4 pacientů byl zánět ve fázi otoku a zčervenání.

Bylo podáno celkem 7 druhů antibiotik, a to hlavně u těch extrakcí, jež vyžadovaly chirurgické řešení (68 pacientů). Protektivní účinek ATB obecně a v podskupinách kuřáků a nekuřáků shrnuje tab. 3. Bez preskribce ATB zůstali naopak většinou pacienti s nenáročnou, nechirurgickou extrakcí (28 pacientů).

Tab. 2.: Incidence alveolitis dle jednotlivých kriterií a-c

2a	Skupiny dle kouření	Celkem	Alveolitis	%
	všichni pacienti	110	41	37 %
	nekuřáci	53	11	21 %
	kuřáci	57	30	53 %
2b	Stav okolí extr. zubu	Celkem	Alveolitis	%
	klidné, bez zánětu	35	8	22,9 %
	otok/ zarudnutí/ bolestivost	75	33	44 %
	hnisavý exsudát			
2c	Způsob extrakce	Celkem	Alveolitis	%
	snadná extrakce	29	2	9,1 %
	protrahovaná extrakce	4	1	
	chirurgická bez osteotomie	13	5	49,4 %
	chirurgická s osteotomií	64	33	

Výsledky bakteriologického vyšetření dělíme do skupin podle aerobních a anaerobních kultivace.

Při aerobní kultivaci se v největší míře v lůžku i na bukalní sliznici vyskytovaly bakterie rodu *Streptococcus viridans* a *Neisseria Pharyngis*, méně často pak rody *Enterobacter* sp. a zcela řídké rody *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiela* sp., aj. Častý byl výskyt kvasinky *Candida Albicans*. I přes relativně malé odchylky lze při rozdělení bakteriologických vyšetření do podskupin kuřáků a nekuřáků nalézt jisté nápadné rozdíly. Největší rozdíly byly nalezeny ve stěrech z lůžka a týkají se zejména organismů *Neisseria Pharyngis* (30 % pokles u kuřáků) a *Candida Albicans* (dvounásobný vzestup u kuřáků). Detailně vyobrazuje výsledky tab. 4.

Data o zastoupení anaerobních bakterií nejsou zatím ve zpracovávané skupině kompletní, proto je nevyhodnocujeme. Důvodem je obtížnější a déletrvající kultivace. Po dokončení kolekce i těchto údajů bude jejich vyhodnocení předmětem dalšího sdělení.

## Diskuse

Převaha mladých pacientů není překvapující, vzhledem k nejčastější diagnóze. Pozoruhodná je takřka dvounásobná převaha žen mezi pacienty. Snad tento fakt souvisí s menšími proporcemi ženské lebky, které ženy predisponují k častějším projevům obtíží doprovázejících založení a erupci archetypických zubů moudrosti. Není překvapující, že jde ve dvou třetinách o třetí moláry dolní čelisti [8].

Pokud zohledníme pouze kouření pacienta (tab. 2a), pak je zjevné, že u kuřáků je nutno po extrakci počítat s více než dvounásobným výskytem zánětu lůžka.

Z grafu 1 závislosti incidence alveolitis na API je patrné, že dobrá ústní hygiena je příznivým faktorem, naopak již při API kolem 30 se riziko rozvoje zánětu zhruba zdvojnásobí. Pokles v posledním sloupci grafu ve skutečnosti nenaznačuje, že by tato nejhorší úroveň hygieny byla méně hendikepující. Jde však o chybu: v této kategorii je velké zastoupení starších pacientů, u kterých je množství přetrvávajících zubů v ústní dutině značně nižší, a tak při výpočtu indexu API dostávají neadekvátně vysoká čísla, neodrážející jinak relativně dobrou ústní hygienu.

Z tabulky 2b vyplývá, že pacienti přicházející k extrakci zubu v období akutních obtíží následně trpí vznikem alveolitis dvakrát častěji, než ti pacienti, u kterých momentálně zánětlivé změny nejsou vyjádřeny. Tento fakt by tak mohl sloužit jako argument, že zejm. zuby moudrosti, o které jde ve skupině nejčastěji, je lépe extrahovat v období, kdy pacient potíže nemá a nečekat s jejich odstraněním až na dobu, kdy vzniknou.

Údaje o vzniku alveolitis ve vztahu k náročnosti chirurgického ošetření (tab. 3c) jednoznačně potvrzují, že extrakce se současnou intervencí do tkáně, ať už jde pouze o měkké tkáně či kost, je spojena s výrazným vzestupem výskytu po extrakčních zánětech lůžka, v našem souboru 5 násobným. K oslabení lokální obranyschopnosti vůči infekci jistě nepři-

spívá zastaralé instrumentárium s absencí přímého chlazení a používání kostních vrtáků a fréz, jejichž životnost už mnohdy byla překročena.

Zcela zásadní vliv kouření na úspěch profylaktického podání ATB u převážně chirurgických extrakcí prokazuje tabulka 4. Jestliže ze všech 73 pacientů užívajících ATB se alveolitis rozvinula u 45 %, pak ve vybrané skupině nekuřáků to bylo jen 27 %, zatímco u kuřáků tak tomu bylo v 60 %, tedy dvakrát častěji. Z toho vyplývá, že ATB profylaxe je sice schopna redukovat výskyt zánětlivých komplikací chirurgické extrakce a to až na průměrné hodnoty u extrakcí nechirurgických (22 %), ale jen pokud pacient nekouří. Ve druhém případě je pravděpodobnost vzniku alveolitidy dvojnásobná.

Zatímco výskyt bakterií kmene *Streptococcus Viridans* při zánětu lůžka byl jen málo ovlivněn pacientovým kouřením, kmen *Neisseria Pharyngis* je jak se zdá na kouření poměrně senzitivní a následkem je pokles v četnosti jeho výskytu asi o třetinu. Naopak houby rodu *Candida Albicans* osidlují extrakční ránu u kuřáků dvakrát častěji, než je tomu u nekuřáků. Jde přitom zřejmě jen o skutečně lokální oslabení obranyschopnosti rány vůči tomuto infekčnímu agens, jelikož na kontrolním stěru z tváře je *Candida* přítomna u kuřáků i nekuřáků zhruba stejně často. Jelikož při profylaktickém podávání ATB jsou běžně medikovány preparáty, které ve své šíři protibakteriálního působení *Candidu* nepostihují, je pravděpodobné, že právě tato častější *Candidová* etiologie alveolitid u kuřáků je příčinou selhání profylaktického podání ATB, jak o tom bylo pojednáno výše.

Tab. 3.: Použitá antibiotika a vzniklá alveolitis u všech užívajících ATB, u nekuřáků a u kuřáků; stejně u pacientů bez ATB

ATB	VŠICHNI		NEKUŘÁCI		KUŘÁCI	
	Celkem	Alveolitis	Celkem	Alveolitis	Celkem	Alveolitis
68 chir. extr./ 5 non-chir						
Amoclen a 500	41	16	19	2	22	14
Dalacin a 150	23	10	12	6	11	4
Tetrachel a 250	3	2	1	-	2	2
Ampicilin a 500	2	2	-	-	2	2
Amp. + Oxa	2	1	-	-	2	1
Pentabene	1	1	-	-	1	1
Rulid	1	1	1	1	-	-
<b>Celkem</b>	73	33	33	9	40	24
<b>% alveolitid</b>	<b>45,2 %</b>		<b>27,3 %</b>		<b>60 %</b>	
<b>Bez ATB</b>	37	8	20	2	17	6
28 non-chir / 9 chir	<b>22 %</b>		<b>5 %</b>		<b>35 %</b>	

Tab. 4.: Bakteriální obraz zánětu zubního lůžka a sliznice tváře u kuřáků a nekuřáků

	ZUBNÍ LŮŽKO				SLIZNICE TVÁŘE			
	Nekuřáci (celk. 11)	Kuřáci (celk. 30)	Nekuřáci %	Kuřáci %	Nekuřáci (celk. 11)	Kuřáci (celk. 30)	Nekuřáci %	Kuřáci %
<b>Streptococcus Viridans</b>	10	26	<b>91</b>	<b>87</b>	10	24	<b>91</b>	<b>80</b>
<b>Neisseria Pharyngis</b>	10	18	<b>91</b>	<b>60</b>	8	21	<b>73</b>	<b>70</b>
<b>Candida albicans</b>	2	12	<b>18</b>	<b>40</b>	4	12	<b>36</b>	<b>40</b>
Enterobacter sp.	3	6	27	20	2	4	18	13
Escherichia Coli	-	1			-	1		
Klebsiela sp.	1	-			1	2		
Staphylococcus Aureus	-	2			2	4		
Streptococcus sk. B	-	1			-	-		
Streptococcus Epidermidis	-	1			-	-		
Corynebacterium sp.	-	2			-	2		
Pseudomonas Aeruginosa	1	-			1	1		
Acinetobacter sp.	1	1			-	1		

## Závěr

Ze zadaných cílů se podařilo objasnit následující:

### ad 1) INCIDENCE poextrakčních alveolitid -

obecně vliv kouření: bez ohledu na ostatní okolnosti je zřejmé, že kuřáci jsou více než dvakrát rizikovější skupinou pacientů pro vznik poextrakčního zánětu zubního lůžka.

v závislosti na stavu parodontu: pacienti přicházející k extrakci zubu v období akutních obtíží následně trpí vznikem alveolitis dvakrát častěji, než ti pacienti, u kterých momentálně zánětlivé změny nejsou vyjádřeny. Vyplývá doporučení, že je lépe zuby moudrosti extrahovat v období, kdy pacient potíže nemá a nečekat s jejich odstraněním až na dobu, kdy vzniknou.

v závislosti na API: dobrá ústní hygiena je příznivým faktorem, který snižuje riziko zánětlivých komplikací po extrakci až na polovinu.

v závislosti na chirurgickém výkonu: chirurgická extrakce zubu až pětkrát zvyšuje riziko vzniku zánětu lůžka. Jelikož nutnost použití chirurgie lze jen těžko ovlivnit, má-li být zub extrahován, je u těchto pacientů zvláště důležité pokusit se eliminovat ostatní rizika co možná nejvíce, tj. dbát na orální hygienu a nekouřit (zejm. v kritických 2-4 dnech po extrakci), popř. plánovat extrakce zubů moudrosti na dobu bez akutních zánětlivých projevů.

v závislosti na ATB profylaxi: ATB profylaxe je sice schopna redukovat výskyt zánětlivých komplikací chirurgické extrakce a to až na průměrné hodnoty u extrakcí nechirurgických (22 %), ale jen pokud pacient nekouří. Ve druhém případě je pravděpodobnost vzniku alveolitis dvojnásobná. Možné vysvětlení viz. dále.

### ad 2) MIKROBIÁLNÍ OBRAZ

aerobní kultivace v závislosti na kouření: *Candida Albicans* osidluje u kuřáků extrakční ránu dvakrát častěji, než u nekuřáků a je tak pravděpodobně příčinou poloviční úspěšnosti ATB profylaxe. Bakteriální obraz se mezi kuřáky a nekuřáky nijak dramaticky neliší, až na třetinový úbytek v četnosti výskytu kmene *Neisseria Pharyngis* u kuřáků. Nejčastějšími patogeny jsou viridující streptokoky.

V následující studii bychom rádi objasnili, jak pozměnit antibiotickou profylaxi u kuřáků a zmírnit tak negativní dopad tohoto zlozvyku na rozvoj alveolitis. Dále je třeba dokončit kolekci údajů z anaerobní kultivace, aby bylo možno mít nejen přehled o vlivu kouření na celé bakteriální spektrum, ale i obraz o dynamice zastoupení aerobních a anaerobních bakterií způsobujících zánět zubního lůžka.

## LITERATURA

1. T. I. Berge: *Inability to work after surgical removal of mandibular third molars. Acta-Odontol-Scand.* 1997; 55(1): 64-9.
2. T. I. Berge: *Complications requiring hospitalization after third-molar surgery. Acta-Odontol-Scand.* 1996; 54(1): 24-8.
3. P. Capuzzi, L. Montebugnoli, M. A. Vaccaro: *Extraction of impacted third molars. A longitudinal prospective study of factors that affect postoperative recovery. Oral-Surg-Oral-Med-Oral-Pathol.* 1994; 77(4): 341-3.
4. P. Chapnick, L. H. Diamond: *A review of dry socket: a double blind study on the effectiveness of clindamycin in reducing the incidence of dry socket. J-Can-Dent-Assoc.* 1992; 58(1): 43-52.
5. R. Qandil, H. S Sandhu, D. C. Matthews: *Tobacco smoking and periodontal diseases. J-Can-Dent-Assoc.* 1997; 63(3): 194-5.
6. P. E. Larsen: *Alveolar osteitis after surgical removal of impacted mandibular third molars. Oral-Surg-Oral-Med-Oral-Pathol.* 1992; 73(4): 393-7.
7. J. K. Jones, R. G. Triplett: *The relationship of cigarette smoking to impaired intraoral wound healing: a review of evidence and implications for patients care. J-Oral-Maxillofac-Surg.* 1992; 50(3): 237-9.
8. H. Preber, J. Bergstrom: *Effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy. J-Clin-Periodontol.* 1990; 17(5): 324-8.
9. W. G. Frick, R. R. Seals Jr: *Smoking and wound healing: a review. Tex-Dent-J.* 1994; 111(6): 21-3.
10. P. Silverstein: *Smoking and wound healing. Am-J-Med.* 1992; 93(1A): 22S-24S.
11. J. A. Jensen, W. H. Goodson, H. W. Hopf, T. K. Hunt: *Cigarette smoking decreases tissue oxygen. Arch-Surg.* 1991; 126(9): 1131-4.
12. B. Stiebe, I. Poethe, H. Bernhardt: *The bacteriology of normal wound healing following tooth extraction with special reference to anaerobic microorganism diagnosis. Zahn-Mund-Kieferheilkd-Zentralbl.* 1990; 78(3): 247-51.
13. L. Haisová, H. Staňková, A. Jedličková, V. Štěpánková: *Mikrobiální spektrum ústní dutiny při zánětu zubního lůžka. Československá stomatologie.* 1989; 89(5): 335-340.
14. H. Preber, L. Linder, J. Bergstrom: *Periodontal healing and periopathogenic microflora in smokers and non-smokers. J-Clin-Periodontol.* 1995; 22(12): 946-52.



## 2. místo BILIRUBIN V KRVI A NĚKTERÉ RIZIKOVÉ FAKTORY ICHS.

**Autor:** Jan Moravík

**Školitel:** MUDr. Ladislav Novotný - Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF a VFN  
přednosta prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc.

### ■ Souhrn

Bilirubin v krvi patří mezi endogenní antioxidanty a je indikátorem celkové antioxidační kapacity krve. Tato vlastnost se nyní zvažuje při vysvětlování pozorovaného nižšího výskytu ischemické choroby srdeční (ICHS) u mírné hyperbilirubinémie. Na souboru 167 mužů, manažerů, bez manifestované ICHS a/nebo cévní mozkové příhody, vyšetřených rutinní preventivní prohlídkou, demonstrujeme vztah celkového bilirubinu k některým rizikovým faktorům ICHS a dalším parametrům, které ovlivňují hladiny bilirubinu a které je nutno vzít v úvahu při interpretaci vztahu bilirubinu k ICHS. Celkový bilirubin významně negativně koreloval ( $p < 0,05$ ) s počtem trombocytů (-0,18) a diastolickým krevním tlakem (-0,16, logaritmus bilirubinu) a prevalencí diastolického TK  $\geq 90$  mmHg. Významným pozitivním korelátorem bilirubinu byl střední objem krevních destiček (0,36). Negativní korelace, ale jen hraniční ( $p < 0,10$ ), byly nalezeny pro věk, systolický TK, počet vykouřených cigaret, odhad multivariačního koronárního rizika a pro počet leukocytů. V jednoduché analýze byly ostatní sledované proměnné v nevýznamném vztahu k bilirubinu. Významná souvislost středního objemu destiček (MPV) s bilirubinem byla patrná i při vícečetné regresní analýze, v níž se zvýraznil negativní vliv kouření na hladiny bilirubinu. Práce naznačuje, že při zkoumání předpokládaného ochranného vlivu bilirubinu jako endogenního antioxidantu, je nutno zvážit jeho možnou spotřebu v přítomnosti pro-oxidativních situací a počítat s tímto fenoménem při analýzách asociací bilirubinémie u chronicky nemocných pacientů.

Kardiovaskulární onemocnění (KVO) z hlediska zdraví naší populace představují nejzávažnější problém, protože se podílejí více jak polovinou na časné mortalitě a zneschopňování. Etiologie aterosklerózy a jejích komplikací je komplexní a zahrnuje interakci genotypu, fenotypu a prostředí, od mikro-rozměrů až po socioekonomické faktory. V klinickém pohledu dominují tři okruhy faktorů ovlivňující aterosogenezi a její progresi: 1) metabolický faktor - zejména metabolismus tuků a glycidů, 2) hemodynamický faktor - krevní tlak, pulz, smykový stres, ..., a 3) hemostatický faktor, který svými trombocytovými projevy usměrní klinický obraz komplikace. Všechny tyto oblasti jsou ovlivňovány redoxními, imunitními a zánětlivými ději. V posledních letech se prohloubilo poznání mechanismu oxidativního stresu, který se ukazuje jako „všudypřítomný“ prvek patofyziologických mechanismů desítek nemocí, včetně ICHS. V lidském organismu fyziologicky působí řada reaktivních forem biomolekul, jako jsou radikálové a neradikálové formy kyslíku, dusíku, síry, a dalších. K udržení homeostázy těchto potenciálně nebezpečných molekul působí v organismu endogenní antioxidanty, mezi něž patří i bilirubin, který je také indikátorem celkové antioxidační kapacity krve. Tato vlastnost se nyní zvažuje při vysvětlování pozorovaného nižšího výskytu ischemické choroby srdeční (ICHS) u mírné hyperbilirubinémie v některých populacích, nebo u Gilbertova syndromu (1). Navíc, údaje o charakteru vztahu bilirubinu k riziku ICHS nejsou zcela jednoznačné (2). Možný ochranný vliv bilirubinu může být zprostředkován jeho vztahy k ostatním rizikovým faktorům KVO - doposud však byla pozornost věnována jen lipidové složce a kouření. Proto jsme se zaměřili na ověření těchto a dalších souvislostí.

### ■ Soubor a metody

**Soubor:** 167 pracujících mužů, manažerů velkého průmyslového podniku, kteří byli vyšetřeni v rámci preventivních programů a kteří byli bez manifestní ICHS a/nebo bez cévní mozkové příhody.

**Sledované parametry:** kromě základní anamnézy osobní, rodinné a farmakologické, byly zjišťovány návyky - kouření a pití alkoholu. Fyzikální vyšetření poskytlo údaje o tlaku krve (s přesností na 2 mmHg, měřeno v sedě). Základní antropometrie zahrnovala měření výšky a váhy, z nichž byl vypočítán BMI (body mass index, kg/m<sup>2</sup>). Plazmatické lipidy a glykémie, transaminázy, kyselina močová a kreatinin, a krevní obraz byli stanoveny z venózní krve odebrané ráno nalačno a vyhodnoceny v laboratořích klinické biochemie standardními metodami. Vedle celkového a HDL cholesterolu a triglyceridů (TAG) byl vypočten i LDL cholesterol dle Friedewaldovy formule, dále rizikový index cholesterolu jako podíl HDL a celkového cholesterolu a aterosenní index plasmy jako přirozený logaritmus podílu TAG a HDL. Všichni muži byly podrobeni vyšetření ekg. Tyto údaje poskytly vstupní data do framinghamské rovnice, která odhaduje budoucí desetileté riziko vzniku ICHS.

**Statistické zpracování:** střední hodnoty sledovaných proměnných byly vyjádřeny jako průměr a směrodatná odchylka, které byly porovnávány pomocí t-testu ve skupinách čtyř častých fenotypů: 1) Hypertenze, která podle nových kritérií postihovala 36 % mužů (krevní tlak  $\geq 140/90$  mmHg a/nebo farmakoterapie hypertenze). 2) Hepatopatie, kterou jsme pro



naše účely definovali u 13 % mužů jako stav po infekční hepatitidě A nebo EB-viroze, patřila tam i prokázaná steatóza jater (ultrazvuk). Do této skupiny nebyli zařazeni muži po cholestecktomii (5 osob), protože nepřispěli k zvýraznění efektu hepatopatie na hladinu bilirubinu. 3) Kuřáci, 19 % osob, u nichž byl sledován počet vykouřených cigaret za den. 4) Diabetici, 7 % mužů, kteří byli určeni podle glykémie na lačno  $\geq 6,7$  mmol/L a/nebo přítomné léčby dietou, perorálními antidiabetiky nebo inzulinem. Průměry u každé skupiny byly porovnávány proti zbytkovému souboru, tj. hypertonici s normotonií, hepatopatie vs. bez hepatopatie, kuřáci vs. nekuřáci a diabetici vs. nediabetici. Dále byla provedena jednoduchá regresní analýza bilirubinu a přirozeného logaritmu bilirubinu (protože jeho distribuce je rozptýlena doprava) jako závislé proměnné k ostatním, shora uvedeným vysvětlujícím proměnným. Za statisticky významnou hladinu jsme považovali  $p < 0.05$  a dále nás zajímala i hraničně významná hladina,  $p < 0.10$ , protože ta mohla upozornit na vhodnost zařazení proměnné do vícečetné regrese. Míru asociace vysokého TK v tercilech bilirubinu jsme měřili pomocí 'odds ratio' a lineární trend poroporcí podél kvantilové škály bilirubinu testem  $\chi^2$ .

Tab. 1.: Charakteristika souboru, střední hodnoty u celého souboru a v hlavních fenotypových skupinách

proměnné	celý soubor n 167 x ± s	hepatopatie n 22 13 % x ± s	hypertenze n 60 36 % x ± s	kuřáci n 32 19 % x ± s	diabetes n 12 7,1 % x ± s
<b>bilirubin celkový, <math>\mu\text{mol/L}</math></b>	15,5 ± 6,2	19,7 ± 10,1*	14,2 ± 4,9*	14,0 ± 4,7*	16,2 ± 5,9*
ln(bilirubin)	2,7 ± 0,4	2,9 ± 0,5*	2,6 ± 0,4*	2,6 ± 0,3*	2,7 ± 0,4*
<b>věk, roky</b>	42,7 ± 10,3	41,7 ± 10,0	47,5 ± 10,7*	44,3 ± 8,8	53,7 ± 5,6*
<b>cholesterol celkový, mmol/L</b>	5,5 ± 1,1	5,2 ± 1,2	5,6 ± 1,1	5,8 ± 1,1	5,4 ± 1,3
<b>triacylglyceroly, mmol/L</b>	1,87 ± 1,3	1,60 ± 0,9	2,28 ± 1,6*	2,1 ± 1,7	2,32 ± 1,7
ln(triacylglyceroly)	0,5 ± 0,6	0,36 ± 0,5	0,62 ± 0,6*	0,54 ± 0,6	0,63 ± 0,7
<b>cholesterol HDL, mmol/L</b>	0,84 ± 0,2	0,93 ± 0,3	0,89 ± 0,3	0,78 ± 0,2	0,76 ± 0,2
ln(cholesterol HDL)	-0,2 ± 0,3	-0,12 ± 0,3	-0,17 ± 0,3	-0,30 ± 0,3	-0,33 ± 0,3
<b>cholesterol (HDL / celkový)</b>	7,15 ± 2,6	5,8 ± 1,6*	7,0 ± 2,9	8,4 ± 3,7	8,14 ± 4,1
<b>ln(TAG / cholesterol HDL)</b>	0,63 ± 0,7	0,41 ± 0,7	0,71 ± 0,8	0,89 ± 0,8*	0,84 ± 0,8
<b>cholesterol LDL, mmol/L</b>	3,81 ± 0,9	3,58 ± 0,6	3,84 ± 0,8	4,00 ± 0,8	3,68 ± 0,9
<b>glykémie, mmol/L</b>	5,23 ± 1,0	4,95 ± 0,5	5,6 ± 1,4*	5,3 ± 0,8	8,0 ± 1,5*
<b>BMI, kg/m<sup>2</sup></b>	26,6 ± 3,3	27,5 ± 3,0	27,9 ± 3,4*	25,9 ± 3,3	28,8 ± 3,9*
<b>TK systolický, mmHg</b>	129,3 ± 10,9	127,9 ± 9,3	142 ± 8,6*	127,4 ± 11,4	136,0 ± 11*
<b>TK diastolický, mmHg</b>	81,9 ± 6,6	81,6 ± 4,2	87,4 ± 6,7*	79,8 ± 7,1*	85,5 ± 5,7
<b>kuřáctví, n (%), u kuřáků počet</b>	32 (19 %)	4 (18 %)	7 (12 %)	12,7 ± 9,2	2 (16 %)
<b>MKR, % za 10 let</b>	12,3 ± 9,8	7,7 ± 6,0	16,5 ± 11,5*	18,8 ± 12,3*	25,0 ± 14,1*
<b>ALT, <math>\mu\text{kat/L}</math></b>	0,78 ± 0,5	0,88 ± 0,9	0,87 ± 0,6	0,70 ± 0,3	0,71 ± 0,2
<b>GMT, <math>\mu\text{kat/L}</math></b>	0,80 ± 1,0	1,42 ± 2,7*	1,07 ± 1,5	0,72 ± 0,47	1,04 ± 0,9
ln(GMT)	-0,48 ± 0,6	-0,44 ± 1,1	-0,28 ± 0,7*	-0,52 ± 0,59	-0,19 ± 0,7
<b>kyselina močová, <math>\mu\text{mol/L}</math></b>	351 ± 75	334 ± 81	367 ± 93	348 ± 74	370 ± 145
<b>kreatinin, <math>\mu\text{mol/L}</math></b>	99 ± 10	89 ± 12	89 ± 12	90,5 ± 10,8	85 ± 10
<b>destičky - počet, 10<sup>9</sup>/L</b>	216 ± 48	204 ± 39	220 ± 52	224 ± 56	210 ± 61
<b>destičky - objem, fL</b>	9,1 ± 0,9	9,9 ± 1,4*	8,7 ± 0,9*	9,1 ± 1,1	8,4 ± 0,6*
<b>leukocyty, 10<sup>9</sup>/L</b>	6,8 ± 1,8	6,9 ± 2,5	6,9 ± 1,7	7,9 ± 2,6*	6,7 ± 1,6
<b>hematokrit, %</b>	46,3 ± 2,9	46,2 ± 2,5	46,9 ± 3,6*	46,5 ± 2,3	46,9 ± 3,0
<b>hemoglobin, g/dL</b>	15,2 ± 0,9	15,2 ± 0,8	15,4 ± 1,1*	15,4 ± 0,8	15,4 ± 0,9
<i>porovnáví průměrů vs.</i>	-----	<i>bez hepatopatií</i>	<i>normotenze</i>	<i>nekuřáci</i>	<i>nediabetici</i>

\*  $p < 0.05$ , TAG - triacylglyceroly, MKR - multivariační koronární riziko, ALT - alanin-aminotransferáza, GMT -  $\gamma$ -glutamyl-transferáza



## ■ Výsledky

V tabulce č. 1 jsou uvedeny základní charakteristiky souboru. Celkový bilirubin (průměr u celého souboru  $15,5 \pm 6,2 \mu\text{mol/L}$ , minimum 5,0 a maximum 42,0, 75.percentil 18,0) byl podle očekávání nejvyšší u hepatopatií, pak u diabetiků, nejnižší u kuřáků a hypertoniků (významně). Triglyceridy byly statisticky významně nejvyšší u hypertoniků. HDL cholesterol byl v souboru mimořádně nízký a rozdíly u skupin nebyly významné. Nejnižší poměr celkového k HDL cholesterolu vykazovaly hepatopatie (významně). Aterogenní index plasmy byl statisticky významně nejvyšší u kuřáků, BMI u diabetiků a hypertoniků. Nejvyšší očekávané desetileté koronární riziko vykazovali diabetici (až na jednoho byly také hypertoniky). Transamináza ALT byla ve všech skupinách srovnatelná, naproti tomu transamináza GMT byla nejvyšší u hepatopatií a její logaritmus byl významně nižší u skupiny hypertenze. Variace kyseliny močové a kreatininu nepřekročily hranici statistické významnosti. I když počet destiček byl nejvyšší u kuřáků a hypertoniků, nepřekročil kritickou mez statistické významnosti. Naproti tomu střední objem destiček byl významně vyšší u hepatopatií a významně nižší u skupiny hypertenze a diabetiků. Počet leukocytů byl podle očekávání významně vyšší u kuřáků, stejně jako hemoglobin a hematokrit u skupiny hypertenze.

V tabulce č. 2 jsou uvedeny vztahy sledovaných veličin k bilirubinu. Hraničním negativním korelátem ( $p$  pro směrnici  $< 0.10$ ) bilirubinu byl věk, počet vykouřených cigaret za den, systolický i diastolický TK, a dále leukocyty.

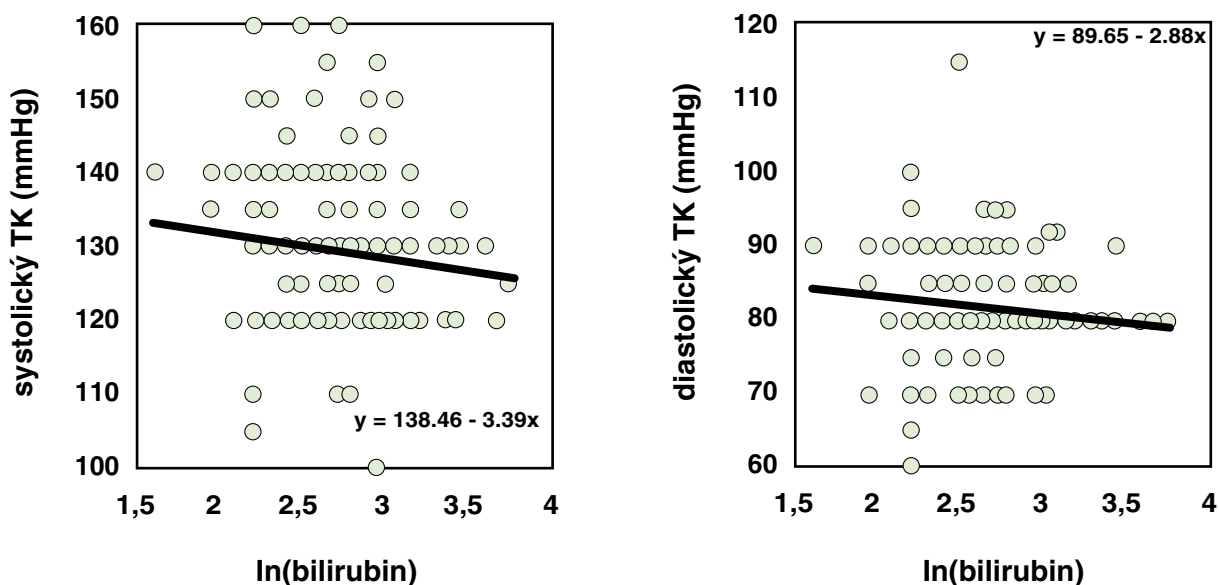
Tab. 2.: Jednoduché korelace celkového bilirubinu

proměnné	bilirubin	ln (bilirubin)
věk, roky	- 0,13*	- 0,12*
cholesterol celkový, mmol/L	- 0,05	- 0,05
triacylglyceroly, mmol/L	- 0,04	- 0,06
ln(triacylglyceroly )	0,03	0,01
cholesterol HDL, mmol/L	- 0,03	- 0,05
ln(cholesterol HDL)	- 0,02	- 0,04
cholesterol (HDL / celkový)	- 0,03	- 0,05
ln(triacylglyceroly / cholesterol HDL)	0,07	0,05
cholesterol LDL, mmol/L	0,11	0,08
glykémie, mmol/L	- 0,07	- 0,06
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0,02	- 0,03
TK systolický, mmHg	- 0,10	- 0,12*
TK diastolický, mmHg	- 0,13*	- 0,16**
cigarety, počet vykouřených za den	- 0,12*	- 0,12*
multivariační koronární riziko, % za 10 let	- 0,08	- 0,10
ALT, $\mu\text{kat/L}$	0,00	0,01
GMT, $\mu\text{kat/L}$	0,01	0,05
ln(GMT)	- 0,01	0,03
kyselina močová, $\mu\text{mol/L}$	0,04	0,07
kreatinin, $\mu\text{mol/L}$	0,04	0,05
destičky - počet, $10^9/\text{L}$	- 0,18**	- 0,17**
destičky - objem, fL	0,36**	0,31**
leukocyty, $10^9/\text{L}$	- 0,13*	- 0,11*
hematokrit, %	0,03	0,07
hemoglobin, g/dL	0,02	0,05

\*  $p < 0.10$ , \*\*  $p < 0.05$  jsou pro regresní koeficienty, zkratky jako v tabulce č. 1

Tyto proměnné vykazovaly podobnou relaci také k přirozenému logaritmu bilirubinu, k němuž měl navíc diastolický tlak statisticky významný vztah ( $r -0,16$ ,  $p < 0.05$ ), viz graf 1.

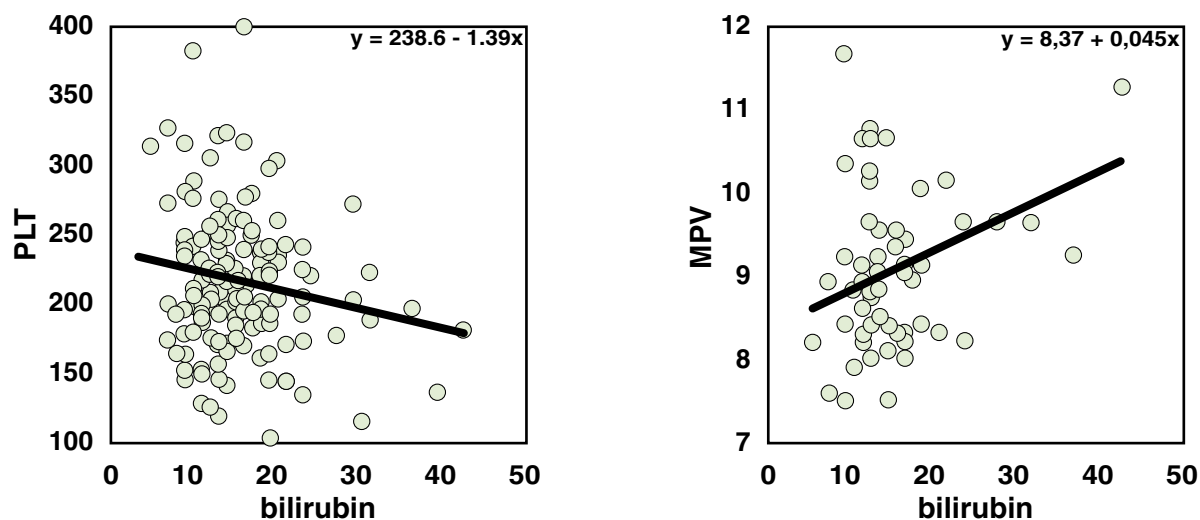
Graf 1.: Vztah bilirubinu k systolickému (vlevo) a diastolickému krevnímu tlaku (vpravo)



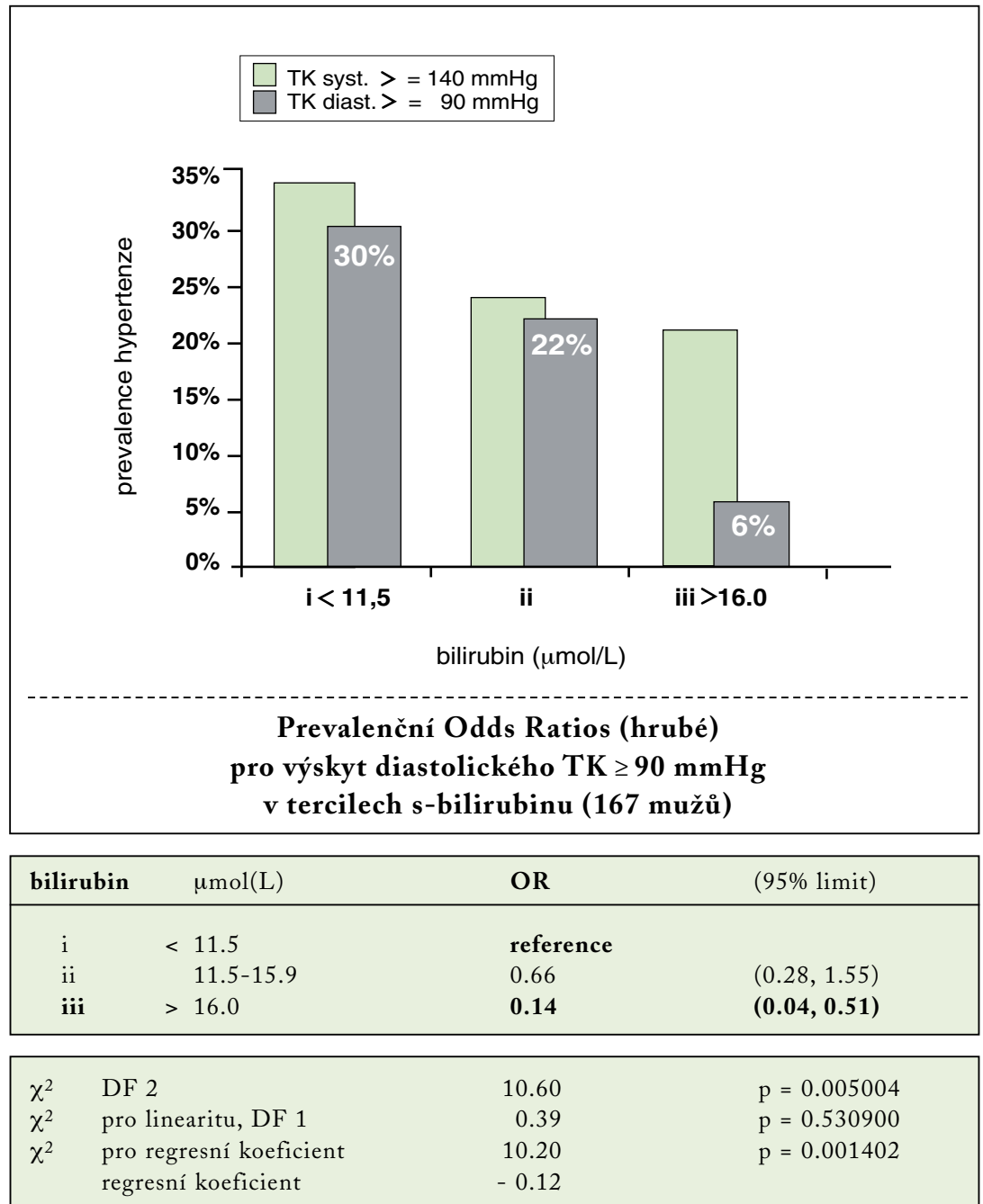
Analýza prevalencí vysokého TK (systolického  $\geq 140$  mmHg a diastolického TK  $\geq 90$  mmHg) ukázala sestupný trend podél tercilové škály bilirubinu v krvi. Trend výskytu vysokého systolického TK byl statisticky nevýznamný, zato pokles prevalencí vysokého diastolického tlaku významný byl - odds ratio pro výskyt diastolického TK  $\geq 90$  mmHg v horním tercilu distribuce bilirubinu bylo jen 0,14 (95 % interval spolehlivosti 0,04 - 0,51), viz. obr. 1.

Nejsilnějšími prediktory hladiny bilirubinu v krvi (i logaritmicke transformovaného) byly morfologické parametry krevních destiček. Přitom u sledovaného souboru s počtem trombocytů bilirubin významně klesal ( $r - 0,18$ ,  $p$  pro směrnici  $< 0.05$ ) a naopak, pozitivně koreloval se středním objemem destiček ( $r 0,36$ ,  $p < 0.05$ ), viz. graf 2.

Graf 2.: Vztah bilirubinu k počtu (PLT, vlevo) a střednímu objemu (MPV, vpravo) trombocytů



Obr. 1.: Vztah bilirubinu k vysokému krevnímu tlaku



Předběžnou vícečetnou regresí, kde závislou byl bilirubin a testovanými hlavními vysvětlujícími proměnnými byl počet a objem trombocytů, se ukázalo, že počet destiček měl vliv na bilirubin nikoli zcela nezávislý, a vymizel po adjustaci dalších proměnných. Naproti tomu střední objem trombocytů zůstal významným pozitivním prediktorem hladiny bilirubinu v séru i po adjustaci řady proměnných, z nichž některé, jako množství vykouřených cigaret za den, se staly v kombinaci s dalšími faktory nezávislým negativním prediktorem bilirubinu. Rovněž cholesterol LDL, který byl zaměnitelný ve směru a významnosti svého působení s aterogenním indexem plasmy, se objevil při simultánním modelu regrese jako statisticky významný faktor hladin bilirubinu. MPV zůstal významným faktorem i po zařazení ALT a stavu hepatopatie, či glukózy a diabetu do modelu, viz. tabulka č. 3.

### ■ Diskuse

Uvedené nálezy vybízejí k úvahám o souvislosti klinických stavů s vývojem a morfologií a funkcí krevních destiček k hladinám bilirubinu v krvi, který je uznávaným endogenním antioxidantem. Důležitost funkce destiček je zřejmá při aterogenezi a zejména jejich komplikacích. Rovněž se hledají souvislosti mezi funkcí destiček a rozvojem diabetické

Tab. 3.: Některé regresní modely závislosti bilirubinu na počtu a objemu trombocytů a množině dalších vybraných proměnných

modely s ...	TROMBOCYTY - POČET		TROMBOCYTY - OBJEM	
	$\beta \pm SE^a$	F test <sup>b</sup>	$\beta \pm SE$	F test
<i>trombocyty</i> <sup>c</sup>	-0.023 ± 0.010	5.50 *	2.793 ± 0.946	8.70 *
<i>trombocyty</i> <sup>d</sup>	-0.017 ± 0.011	2.45	2.588 ± 1.071	5.83 *
věk	-0.045 ± 0.049	0.83	-0.140 ± 0.103	1.86
počet cigaret/den	-0.095 ± 0.082	1.32	-0.162 ± 0.142	1.30
TK diastolický	-0.109 ± 0.076	2.08	0.030 ± 0.142	0.04
leukocyty	-0.120 ± 0.317	0.14	0.022 ± 0.684	0.00
<i>trombocyty</i> <sup>e</sup>	-0.015 ± 0.012	1.43	2.367 ± 1.164	4.13 *
věk	-0.033 ± 0.060	0.30	-0.102 ± 0.102	1.00
počet cigaret/den	-0.149 ± 0.093	2.56	-0.299 ± 0.128	5.42 *
TK diastolický	-0.160 ± 0.094	2.86	-0.088 ± 0.150	0.34
leukocyty	0.402 ± 0.337	1.42	0.797 ± 0.682	1.36
ALT	-0.939 ± 1.144	0.67	0.651 ± 1.719	0.14
hepatopatie	3.303 ± 1.691	3.81	-3.414 ± 4.118	0.68
glykémie	0.376 ± 0.857	0.19	0.109 ± 1.149	0.00
diabetes mellitus	1.749 ± 3.325	0.27	2.376 ± 4.272	0.30
cholesterol LDL	1.015 ± 0.635	2.55	2.552 ± 1.118	5.20 *
ln(TAG/HDL)	1.330 ± 0.829	2.57	0.952 ± 1.673	0.32
BMI	-0.190 ± 0.174	1.19	-0.128 ± 0.277	0.21

<sup>a</sup> regresní koeficient a střední chyba jeho odhadu, <sup>b</sup> hodnota parciálního F testu, \* je pro  $p < 0.05$ ,

<sup>c</sup> je model jen s trombocyty, <sup>d</sup> je model <sup>c</sup> + proměnné věk až leukocyty, <sup>e</sup> je model <sup>d</sup> + proměnné ALT až BMI.

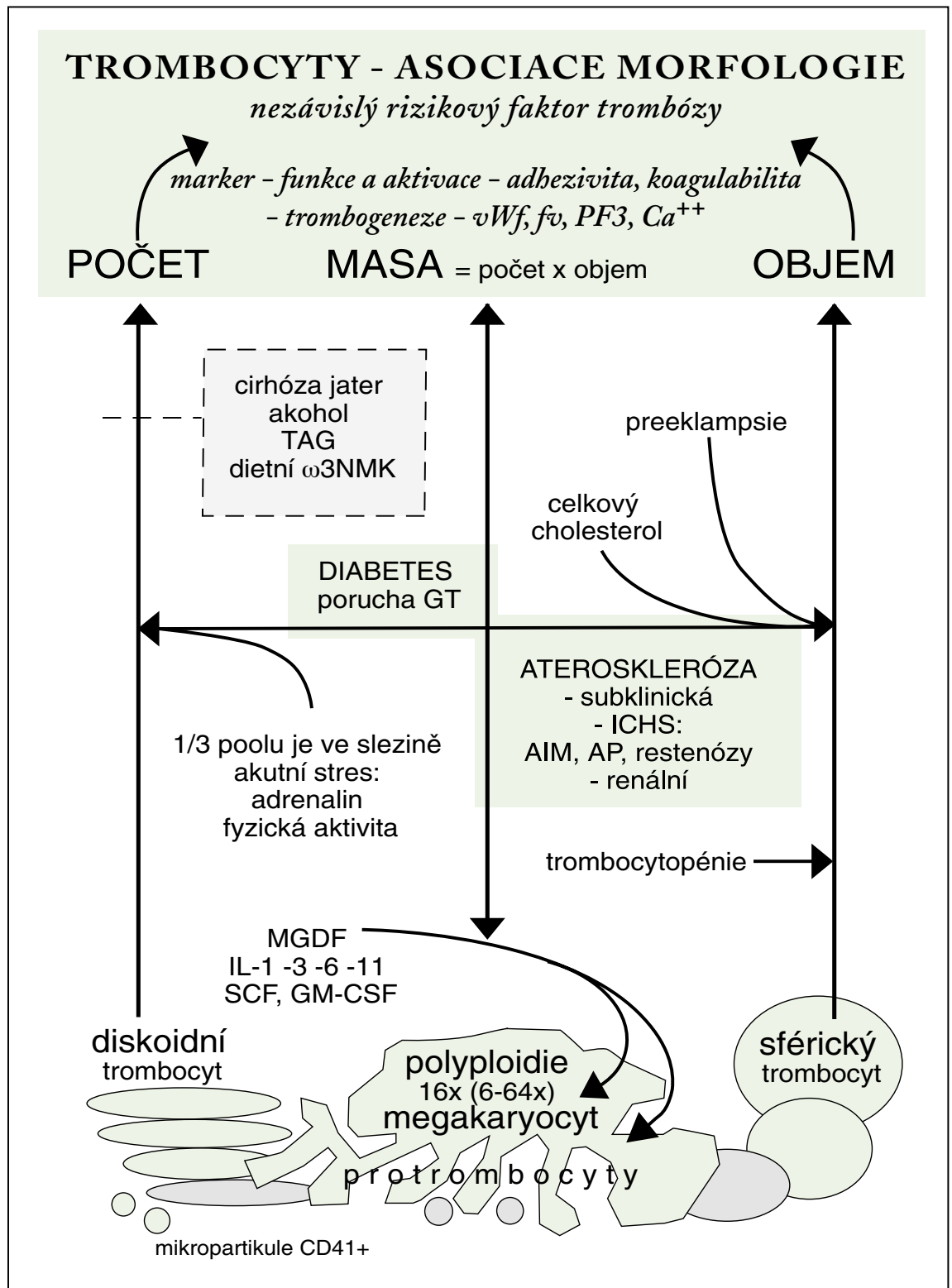
mikro- a makroangiopatie (3). Produkce destiček je komplexně regulovaná a různé stránky jejich vývoje (polyploidie a vytváření pretrombocytů) a morfologie (diskoidní a sférické destičky) jsou v souvislosti s řadou patologických stavů, viz obr. 2. V organizmu je udržována rovnováha celkové hmotnosti destiček, takže počet a objem trombocytů je v recipročním vztahu, ale za jakých podmínek megakaryocyty vytvářejí a uvolňují větší množství diskoidních nebo sférických destiček jasně není. Větší destičky jsou považovány za citlivější k protrombotickým stimulům a MPV je někdy řazen mezi hlavní rizikové faktory infarktu myokardu.

Velikost trombocytů souvisí s jejich větší metabolickou kapacitou a aktivitou, která by mohla souviset i s naší pozorovanou korelací mezi středním objemem destiček a bilirubinem. Nedávno byla totiž popsána přítomnost všech enzymů metabolismu hemu i v trombocytech (4). Indukovatelná forma hemoxygenázy (HO-1) je aktivována řadou faktorů probíhajícího oxidačního stresu (přechodné kovy, reaktivní formy kyslíku, dusíku, a řady dalších biomolekul). Hemoxygenázový systém je důležitým faktorem lokální odpovědi organizmu na zátěž oxidativním stresem, protože výsledkem zvýšeného katabolismu hemu, je tvorba biliverdinu a následně i bilirubinu. Tento systém byl dříve popisován pouze v buňkách retikuloendotelu s následnou exkluzivní glukuronidací bilirubinu v játrech a vylučováním konjugovaného bilirubinu do žluče. Stejně enzymy však existují i v trombocytech, včetně UDP-glukuronyltransferázy, která je však, podle současných znalostí, aktivní pouze po stimulaci odpovídající za aktivaci HO-1, tedy za mimořádných podmínek oxidativního stresu. Příspěvek konstitutivní formy HO-2 pro tvorbu biliverdinu je za klidových podmínek údajně velmi malý. Uvedené mechanismy poukazují na další funkce destiček v případě poškození tkání a jejich schopnost kontrolovat lokálně oxidativní stres prostřednictvím aktivace metabolické dráhy hemu.

Naše nálezy vztahu kouření a věku k bilirubině jsou v souladu s ojedinělými studiemi, které se problematice věnovaly, ale námi pozorovaná silná negativní závislost bilirubinu na diastolickém tlaku nebyla ve velké britské studii zachycena (2). Britové našli negativní korelaci mezi celkovým cholesterolem a bilirubinem a pozitivní vztah k HDL cholesterolu

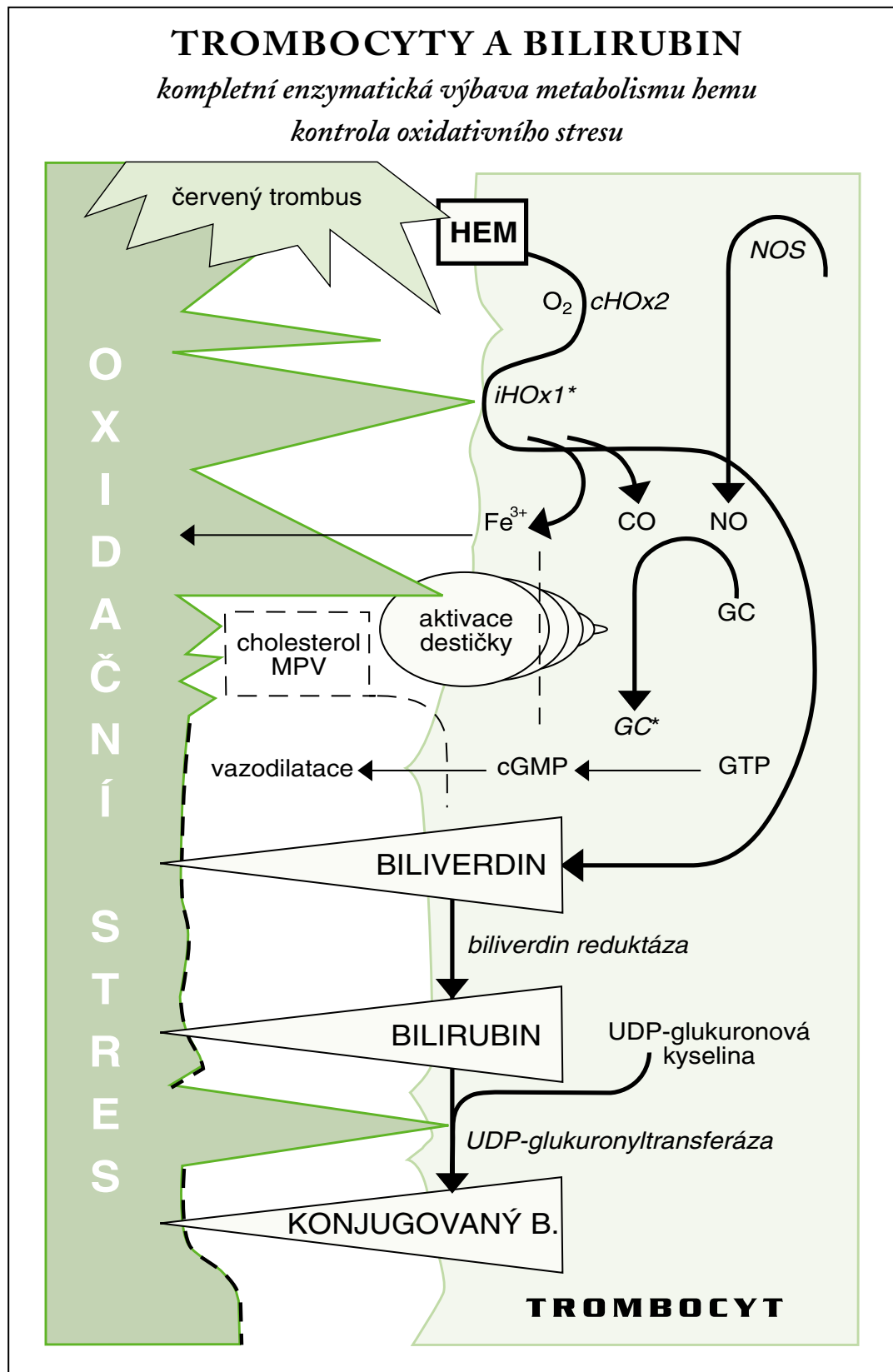
u populace s 25 % prevalencí ICHS (!). V našem souboru jsme nemohli potvrdit podobnou souvislost, protože že ve srovnání s britskou populací, byl průměrný bilirubin u našich mužů vyšší (interpopulační heterogenita).

Obr. 2.: Souvislosti vývoje a morfologie destiček



**vWF** - von Willebrandův faktor, **fv** - V. faktor, **PF3** - destičkový faktor 3, **ω3NMK** - nenasycené mastné kyseliny, **MGDF** - megakaryocyte growth and development factor, **IL-1 -3 -6 -11** - interleukiny, **SCF** - stem cell factor, **GM-CSF** - granulocyte-monocyte colony-stimulating factor, **CD41+** - povrchový antigen

Obr. 3.: Metabolismus hemu v trombocytu



*cHOx2* - konstitutivní forma hemoxygenázy, *iHOx1\** - aktivovaná indukovatelná forma hemoxygenázy, **CO** - oxid uhelnatý, **NOS** - syntáza oxidu dusnatého, **NO** - oxid dusnatý, **GC\*** - aktivovaná guanylátcykláza, **GTP** - guanositrifosfát, **cGMP** - cyklický guanosinmonofosfát, **MPV** - střední objem trombocytů, **UDP** - uridindifosfát



**Omezení studie:** Uvedené nálezy je třeba posuzovat s ohledem na skupinové charakteristiky sledovaných mužů. Šlo o manažery v psychicky velmi náročném postavení. Jejich údaje o kuřáctví nemohly být ověřeny (CO nebo kotinin) a mohly být zatíženy chybou v prostředí, kde kouření cigaret je nežádoucí. Podobně, abstinentů alkoholu bylo jen 8 a ostatní vypovídali uniformně tak, že kvantifikace vypitého množství nevykazovala variabilitu, kterou bylo možno analyzovat. Typickým rysem souboru byl vysoký BMI, velmi nízký cholesterol v HDL a vysoké TAG i při jinak přijatelných hodnotách celkového cholesterolu. Tyto a další nepozorované faktory mohly ovlivnit naše zjištění. Nicméně, šlo o skutečnou populaci a s reálně existujícím spektrem potenciálně rizikových stavů, protože byly vyšetřeni všichni muži připadající v úvahu.

### ■ Závěr

Hladiny celkového bilirubinu v séru klesají s věkem, počtem vykouřených cigaret a s krevním tlakem (hraniční statistická významnost). Logaritmus bilirubinu významně klesá se stoupáním diastolického krevního tlaku a se stoupajícím prevalence vysokého diastolického tlaku. Bilirubin v souboru sledovaných mužů klesá se stoupajícím počtem trombocytů v krvi. Vztah počtu destiček k bilirubinu je ovlivněn interakcemi jaterní funkce, krevního tlaku a lipidů. Naproti tomu bilirubin stoupá spolu s objemem krevních destiček, nezávisle na přítomnosti hepatopatie, hypertenze, či diabetu. Jaký je skutečný příspěvek trombocytů k udržování hladiny bilirubinu a redoxní homeostázy v krvi není zdaleka jasné. Při zkoumání předpokládaného ochranného vlivu bilirubinu jako endogenního antioxidantu je nutno zvážit jeho možnou spotřebu v přítomnosti pro-oxidativních situací a počítat s tímto fenoménem při analýzách asociací bilirubinémie u chronicky nemocných pacientů.

## LITERATURA

1. L. Vitek, M. Jirsa, M. Brodanová, M. Kaláb, Z. Mareček, V. Danzig, L. Novotný, P. Kotal Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis* 2001; v tisku.
2. L. H. Breimer, G. Wannamethee, S. Ebrahim, A. G. Shaper Serum bilirubin and risk of ischemic heart disease in middle-aged British men. *Clin. Chem.* 1995; 41: 1504 - 1508.
3. A. S. Brown, Y. Hong, de Belder A, H. Beacon, J. Besco, R. Sherwood, M. Edmonds, J. F. Martin, J. D. Erusalimski Megakaryocyte ploidy and platelet changes in human diabetes and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 802 - 807.
4. S. A. Nowell, J. E. A. Leakey, J. F. Warren, N. P. Lang, L. T. Frame Identification of enzymes responsible for the metabolism of heme in human platelets. *J. Biol. Chem.* 1996; 273: 33342 - 33346.

### 3. místo CARIOGRAM - MODERNÍ METODA PREDIKCE ZUBNÍHO KAZU

Autoři: Štěpán Gála, Jitka Hrachová

Školitel: doc. MUDr. Jan Handzel, CSc. - Stomatologická klinika 1. LF a VFN

#### ■ Úvod

Cariogram (viz obr. č.1) je počítačový program, který graficky (v procentech) vyjádří pravděpodobnost onemocnění zubním kazem, respektive pravděpodobnost, že kaz nevznikne v následujícím roce. Jeho hlavními autory jsou D. Bratthall, G. Hänsel Petersson a JR Stjernswärd z Lundské univerzity ve Švédsku.

Vzhledem k tomu, že graf je sestaven nejen z údajů po odborném posouzení chrupu lékařem - stomatologem, ale i z údajů získaných od pacienta, je možné po zhodnocení tohoto grafu cíleně edukovat a zapojit do aktivní spolupráce jednotlivého pacienta. Zároveň je hmatatelnou ukázkou toho, kterou oblast péče o chrup má pacient zlepšit.

#### ■ Materiál a metody

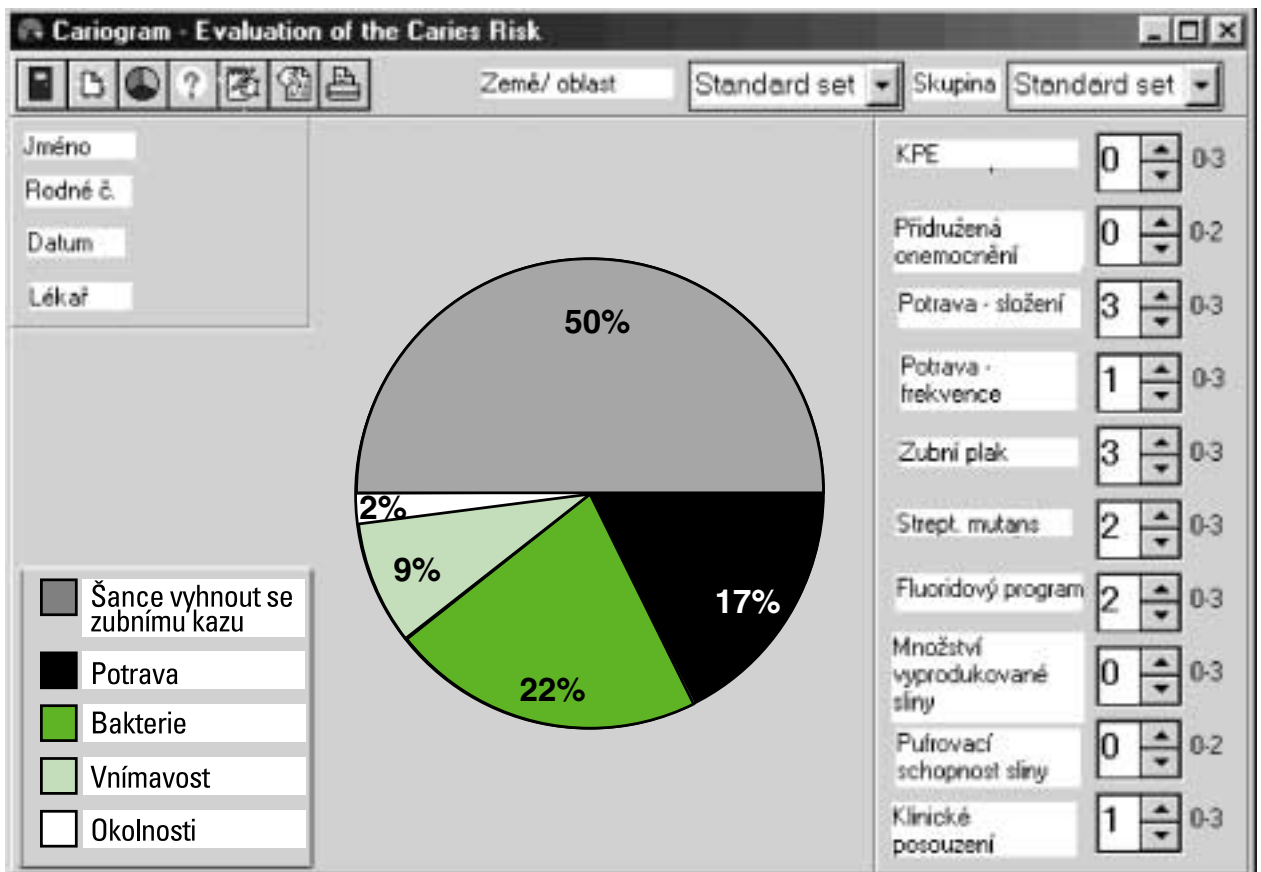
Multifaktoriální pozadí vzniku zubního kazu je zúženo pouze na 10 hlavních faktorů, s nimiž program pracuje. Cariogram vychází z několika údajů zjištěných stomatologem: index kazivosti chrupu (KPE), množství plaku na dentici, kultivace ústní flóry se zaměřením na *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus acidophilus*, množství vyprodukované sliny, stanovení pufrovací schopnosti sliny a v neposlední řadě také klinické posouzení stavu chrupu a ústní dutiny lékařem. Další údaje jsou získané od vyšetřovaného a jsou to především: úroveň fluoridové péče (zubní pasty, ústní vody, fluoridové tablety), složení a frekvence příjmu potravy, anamnesa se zaměřením na přidružené onemocnění ovlivňující kazivost (Diabetes mellitus, Sjögrenův syndrom,...) a užívaná léčiva.

- 1) **Index KPE** určuje dosavadní kazivost chrupu a stanoví se sečtením kazivých (K) a chybějících (E) zubů a počtu výplní (P). Třetí moláry jsou z vyšetření vyloučeny, takže riziku je vystaveno 28 zubů. Chrup se vyšetří sondou a zrcátkem.
- 2) **Anamnesa** zahrnuje zjištění **přidružených onemocnění**, která mají vliv na vyšší kazivost chrupu (diabetes mellitus, anorexie, autoimunitní onemocnění, imobilita, Sjögrenův syndrom, slabý zrak) nebo ovlivňují tvorbu skloviny. Získávají se i informace o užívání léků - některá léčiva mohou snižovat imunitu, produkci sliny, event. ovlivnit bakteriální osídlení ústní dutiny.
- 3) **Složení potravy** zjišťujeme z dietetického dotazníku vyplněného pacientem. Je zaměřen především na obsah kario- genních sacharidů (glukosa, fruktosa, škrob, sacharosa,...), ovoce, ovocné šťávy, zeleniny, mléka, sýrů, jogurtů a nekariogenních sladidel (sorbitol, xylitol, cyclamat,...) v potravě.
- 4) Informace **o frekvenci příjmu potravy** v průběhu jednoho dne se získá taktéž z dotazníku. Kromě hlavních jídel bereme v úvahu i pití sladkých nápojů či drobná „zobnutí“ během dne.
- 5) Stanovení **množství zubního plaku** se provedlo pomocí QH (Quigley-Hein) indexu. Plak se obarví detekčním roztokem erytrozinu ( $C_{26}H_6O_5I_4Na_2$ ) a pro každý zub se zaznamená náležitá hodnota dle stupnice.
- 6) Výskyt bakterie ***Streptococcus mutans*** ve slině nebylo v rámci této studie provedeno vzhledem k chybění dostatečného množství pomůcek k vyšetření a časové a finanční náročnosti. Jde o třídní bakteriální kultivaci vzorku sliny na specifické půdě „Dentocult“.
- 7) **Fluoridový program** vyšetřovaného ohodnotíme podle toho, zda pacient používá pouze zubní pasty nebo i gely, ústní vody a fluoridové tablety.
- 8) **Množství vyprodukované sliny** se odečítá po 5 minutovém žvýkání bločku parafinu při současném shromažďování vyprodukované sliny v kalibrovaném kelímku. Množství se pak vypočte v mililitrech za minutu (ml/min).
- 9) **Pufrovací schopnost sliny** byla zjišťována indikátorovým papírkem ponořeným do kelímku se slinou a hodnota pH byla odečtena na příslušné stupnici.
- 10) Poslední faktor - **klinické posouzení** dává lékaři možnost vyjádřit svůj vlastní názor na stav chrupu pacienta a na schopnost pacienta porozumět dávaným radám.

Pro každý tento faktor je bodové ohodnocení v rozmezí od 0 do 3 - kdy 0 znamená nejlepší možný stav a 3 nejhorší možný stav. Graf Cariogramu se začíná tvořit po zadání alespoň 7 hodnot. Pro nezadané faktory má program nastavenou vlastní hodnotu podle již zadaných a přímo souvisejících údajů.

Dalšího zpřesnění při tvorbě grafu dosáhneme pomocí dalších kolonek, které jsou umístěny v pravém horním rohu.

## C A R I O G R A M



Obr. 1.:

Kolona Země/Oblast zahrnuje rozdílné stravovací, klimatické a sociální podmínky v jednotlivých zemích a komunitách a kolona Skupina diferencuje např. mezi mladými a starými pacienty.

Vlastní graf je tvořen 5 výsečemi:

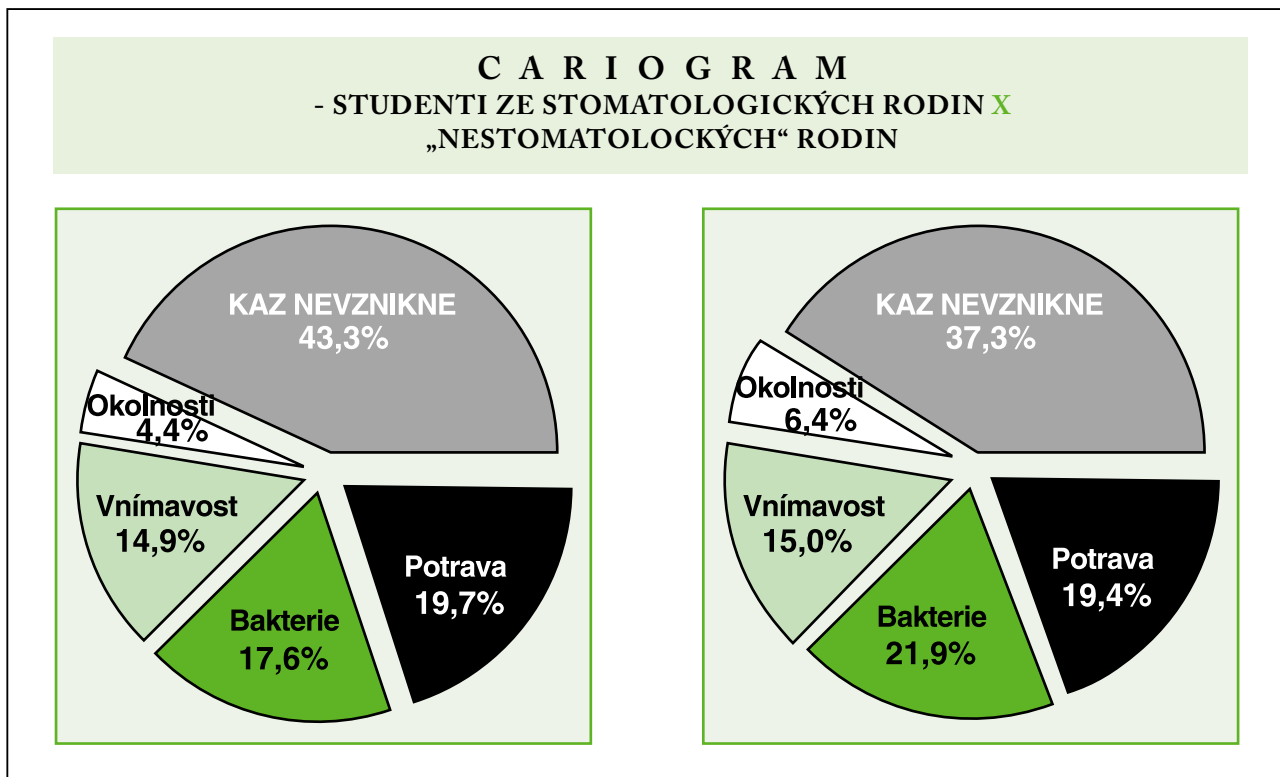
1. tmavě modrá (v tisku černá) - znamená podíl stravy - dle jejího složení a frekvence na vzniku zubního kazu
  2. červená (v tisku zelená) - určuje podíl bakteriální flóry v ústech na vzniku zubního kazu - důležité je množství plaku a vykultivovaného *Streptococcus mutans*
  3. světle modrá (v tisku světle zelená) - udává vnímavost skloviny k tvorbě kariézní léze - v tomto sektoru je rozhodující fluoridový program, množství vytvořené sliny a její pufrovací schopnost
  4. v žluté (v tisku bílá) - neboli v okolnostech je zahrnut KPE index a přidružená onemocnění
- Nejdůležitější je zbývající zelená výseč (v tisku šedivá), která na rozdíl od předchozích určuje pacientovu šanci, že nebude mít v následujícím roce novou kariézní lézi. Pokud je zelený sektor větší než 75 % má pacient velkou šanci vyhnout se zubnímu kazu, pokud je menší než 25 % je zde velmi vysoké riziko vzniku zubního kazu.

### ■ Výsledky a jejich interpretace

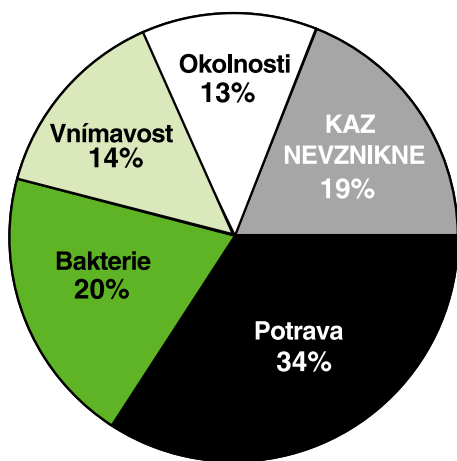
Vyšetřili jsme 21 studentů 3. ročníku stomatologie, kteří již o prevenci vzniku zubního kazu něco vědí. Stanovili jsme individuální Cariogram u každého z nich. Zároveň jsme se snažili posoudit stav chrupu a riziko kazivosti v souvislosti s tím, pochází-li z rodiny alespoň jednoho stomatologa nebo z rodiny zcela „nestomatologické“. Riziko, že nevznikne kaz v následujícím roce se u studentů pohybovalo od 19 % do 70 %. Podle Cariogramu, pravděpodobnost, že nevznikne kaz u studentů ze „stomatologických“ rodin (12) byla 43,3 % oproti 37,3 % u studentů z rodin „nestomatologických“ (9).

Očekávali jsme větší rozdíl mezi těmito 2 skupinami a také větší pravděpodobnost, že nevznikne kaz u studentů z rodin stomatologických. Jednou z příčin tohoto 6 % rozdílu by mohly být dřívější preventivní prohlídky u školního zubního lékaře. Další příčinou by mohla být obdobná (preventivní) výchova ze strany rodičů. Nelze opomenout, že vyšetřovaný soubor je malý na to, aby jej bylo možno zobecnit. (viz obr. 2.)

Obr. 2.:



Obr. 3.:



Žena, 22 let, (z nestomatologické rodiny) zdravá, nebere léky, RA +/-, pravidelně navštěvuje zubního lékaře, produkce sliny 2,5 ml/min, pH sliny 6,5, QH index 70, 2x denně f. zubní pasta, **KPE 17** (dosavadní kazivost), **frekvence příjmu potravy 7x denně, velmi vysoký obsah sacharidů, (Coca-cola!!!, juice, čokoláda)**



Pro názornost použití Cariogramu jsme vybrali 2 protikladné kazuistiky z této skupiny posluchačů stomatologie.

■ **Kazuistika č. 1** (viz obr. 3.)

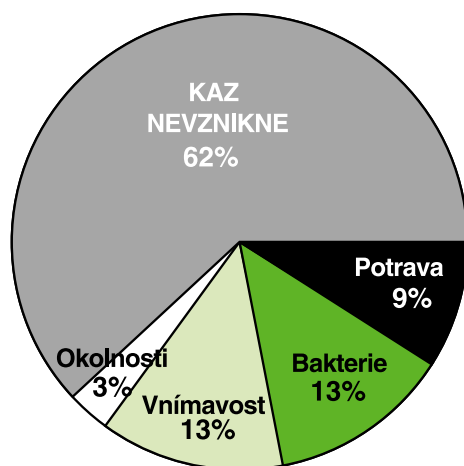
Žena, 22 let, nar. 1978, pochází z „nestomatologické“ rodiny, má zvýšenou kazivost a pravidelně navštěvuje zubního lékaře. Je zdravá, nebere léky, z rodinné anamnesy je „zajímavé“, že sestra o 1,5 roku mladší (20 let) je bez kazu i při horší ústní hygieně a péči o chrup a naopak matka v 52 letech má dolní protézu. Naměřené množství vyprodukované sliny bylo  $2,5 \text{ ml}/\text{min}$ , pH sliny bylo 6,5, QH index byl 70. Dosavadní kazivost neboli počet zubů s výplní je 17 (index KPE). Dvakrát denně si čistí zuby fluoridovou zubní pastou. Jí 7x denně, pije Coca-Colu a džusy a má ráda sladkosti. Podle Cariogramu má 19% šanci, že nevznikne zubní kaz v následujícím roce, tedy velmi vysokou pravděpodobnost, že se nový kaz objeví. V tomto případě jsme doporučili snížení častosti příjmu potravy a omezení sacharidů v potravě. Nelze také vyloučit rodinou dispozici.

■ **Kazuistika č. 2** (viz obr. 4.)

Muž, 21 let, nar. 1979, jeden z rodičů je stomatolog, pravidelně navštěvuje zubního lékaře. Je zdravý, nebere léky, v dětství užíval 1 rok fluoridové (NaF) tablety. Naměřené množství vyprodukované sliny bylo  $2 \text{ ml}/\text{min}$ , pH sliny bylo  $\leq 4$ , QH index byl 61, KPE 4. V potravě má středně vysoký obsah sacharidů. Jí jen 3x denně, čistí si zuby po každém jídle fluoridovou zubní pastou a navíc používá 1x týdně fluoridový zubní gel. Nosí fixní ortodontický aparát, a proto také používá mezizubní kartáček. Cariogram ukázal 62 % pravděpodobnost, že u tohoto muže nevznikne zubní kaz v následujícím roce.

Zda se naše předpoklady ohledně vzniku zubního kazu splní si musíme jeden rok počkat.

Obr. 4.:



Muž, 21 let, v rodině 1 stomatolog  
zdravý, nebere léky, dětství - 1 rok NaF tbl.,  
produkce sliny  $2 \text{ ml}/\text{min}$ , pH sliny  $\leq 4$ ,  
QH index 61, KPE 4,  
středně vysoký obsah sacharidů,  
frekvence příjmu 3x denně,  
čistí zuby po každém jídle + 1x týdně gel,  
mezizubní kartáček



## Závěr

Cariogram má velký význam pro motivaci pacienta, kdy grafickou a lehce srozumitelnou cestou identifikuje etiologické faktory zubního kazu. Slouží také jako podklad pro rozhovor s pacientem, usnadňuje klinické rozhodování lékaře a zdůrazňuje preventivní péči. Díky tomu, že objasňuje nejdůležitější aspekty a jejich vztah při vzniku zubního kazu, se dá použít ve výuce preventivní stomatology na vysokých školách.

Historie a klinická zkušenost s Cariogramem v České republice není zatím žádná, takže na interpretaci výsledků je třeba si počkat. Cariogram má zapojit pacienta do programu prevence jednoho z nejčastějších lidských onemocnění vůbec a motivovat ho tuto prevenci provádět. Cariogram je nová, interaktivní metoda predikce zubního kazu a není vyloučeno, že v budoucnosti se stane pomůckou každého stomatologa.

## LITERATURA

1. *Cariogram manual, version 1.0, 1997 Förlagsbuset Gothia, D. Bratthall, G. Hänsel Petersson, JR Stjernwård.*
2. *Dental Caries : Intervened - Interrupted - Interpreted, Eur. Oral Sciences 1996, 104, 202.4, Part II.*
3. *České pracovní lékařství, Bibliographia Medica Cechoslovaca, číslo 4/2000.*
4. *Jan Kilian et al., Prevence ve stomatologii, druhé, rozšířené vydání, Galen, Karolinum 1999.*
5. *Eva Kovalová, Orální hygiena, Prešov - Zurich, 1994.*
6. <http://www.db.odont.lu.se/car/data/cariogramgeneralinfo.html>.
7. <http://www.db.odont.lu.se/car/data/basic.html>.





## 1. místo

## METABOLIC PROFILE OF PD/CUB CHROMOSOME 8 CONGENIC STRAINS SHR-*Lx* AND BN-*Lx*

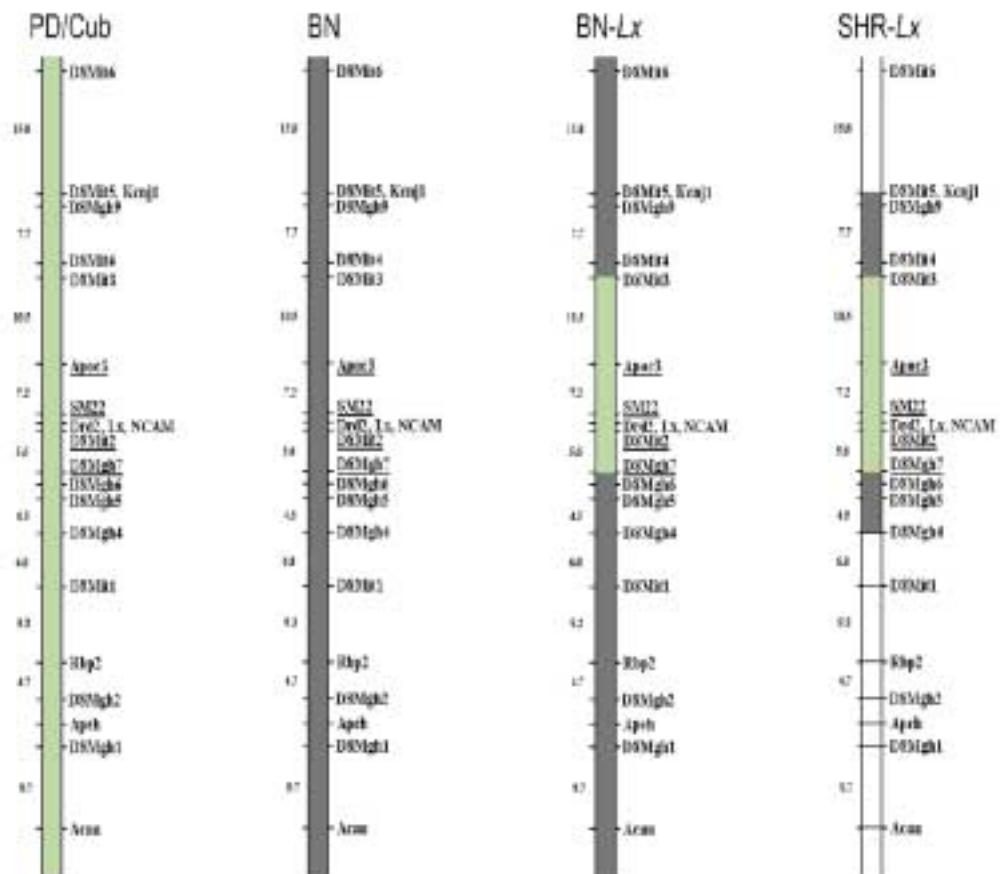
Autoři: MUDr. Ondřej Šeda, L. Šedová, L. Kazdová, D. Křenová, V. Křen

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Křen, DrSc. - Institute of Biology and Medical Genetics, First Faculty of Medicine

### Introduction

Coronary heart disease, hypertension, non-insulin-dependent diabetes and obesity are major causes of ill health in industrial societies. Disturbances of carbohydrate and lipid metabolism are a common feature of these disorders (Reaven 1988). The complex nature of multifactorial metabolic disorders complicates their detailed analysis in human subjects. Therefore, animal models expressing the particular phenotypical trait(s) are often used. The rat has an unreplacable position in the analysis of genetic influences in the determination of hypertension and multiple disorders of lipid and carbohydrate metabolism connected with it (Aitman et al. 1999, Pravenec et al. 1999). The spontaneously hypertensive rat strain (SHR) is the most widely studied genetic model of human essential hypertension and recently it was proposed as a model of insulin resistance syndrome (Aitman et al. 1999). The Brown Norway (BN) rat inbred strain often serves as a control strain because it is normotensive and exhibits normal metabolic phenotypes. The polydactylous (PD/Cub) rat inbred strain is an established model of leg malformation (Křen et al. 1975) and metabolic syndrome X (Vrána et al. 1993, Šedová et al. 2000).

Fig. 1.: Schematic representation of differential segment of PD/BN origin in RNO 8 congenic strains, BN-*Lx* and SHR-*Lx*.



### Methods

#### Experimental strains

SHR-*Lx* congenic strain was derived by a selective breeding protocol in which a segment of chromosome 8 (RNO8) from the normotensive BN-*Lx* strain was transferred onto the genetic background of the progenitor SHR. The BN-*Lx*

donor strain was originally derived by introgressing the mutant *Lx* gene of the PD/Cub rat onto the BN background (Křen et al. 1975, 1997). SHR-*Lx* congenic strain displays substantially reduced systolic and diastolic blood pressure and cardiac mass in comparison with SHR progenitor (Křen et al. 1997).

### Genotyping and Phenotyping

The lengths of differential segments of chromosome 8 in BN-*Lx* and SHR-*Lx* were analyzed by method of PCR genotyping using microsatellite markers. The metabolic parameters were measured under conditions of standard, high-sucrose and high-cholesterol diets. 8-month old male rats were subjected to the study, six individuals per group. The serum concentrations of triglycerides, cholesterol, non-esterified fatty acids (NEFA) and glucose were determined enzymatically using commercially available kits (Lachema, Czech Republic, Boehringer Mannheim, Germany).

## ■ Results

### Genotyping of the RNO8 differential segments

The length and location of the differential segment in BN-*Lx* congenic strain was set by these microsatellite markers: Microsatellite markers of PD/Cub origin include: *D8Arb12*, *D8Arb23*, *D8Bord1*, *D8Mit2*, *D8Rat35*, *D8Rat36*, *D8Rat37*, *D8Rat38*, *D8Rat39*, *D8Rat40*, *D8Rat44*, *D8Rat84*, *D8Rat85*, *D8Rat111*, *D8Rat113*, *D8Rat156*, *D8Rat157*, *D8Rat158* and markers defining genes *ApoCIII* and *SM22*. These primers approximately span 10 - 15 cM of chromosome 8. The differential segment in both congenic strains was characterized by extensive genotyping. SHR-*Lx* carries a relatively large (30 cM) region of BN/PD origin defined by *D8Mit5* - *D8Mgb4* microsatellite markers (Fig. 1).

		SHR	SHR- <i>Lx</i>	P
<i>Standard diet</i>				
Triglycerides	nf	0.875 ± 0.060	0.870 ± 0.060	ns
NEFA	nf	0.298 ± 0.026	0.559 ± 0.028	P = 0.0111
Cholesterol	nf	1.994 ± 0.196	2.772 ± 0.092	P = 0.0328
Glucose	f	4.402 ± 0.104	4.946 ± 0.126	P = 0.0083
AUC (OGTT)		734 ± 40.2	811 ± 37.0	ns
<i>High-sucrose diet</i>				
Triglycerides	nf	1.536 ± 0.104	2.090 ± 0.243	P = 0.044
Triglycerides	f	1.141 ± 0.049	1.380 ± 0.074	P = 0.0224
NEFA	f	1.279 ± 0.038	1.581 ± 0.092	P = 0.0084
Glucose	f	4.672 ± 0.065	4.128 ± 0.095	P = 0.0012
AUC (OGTT)		836 ± 17.0	860 ± 40.0	ns
<i>High-cholesterol diet</i>				
Triglycerides	nf	0.918 ± 0.034	1.370 ± 0.016	P < 0.0001
Triglycerides	f	0.725 ± 0.044	1.033 ± 0.119	P = 0.0258
NEFA	f	1.546 ± 0.089	1.111 ± 0.129	P = 0.024
Cholesterol	f	1.483 ± 0.055	1.683 ± 0.027	P = 0.024
Cholesterol	nf	2.722 ± 0.145	2.910 ± 0.246	ns
Glucose	f	3.992 ± 0.122	5.931 ± 0.755	P = 0.0078
AUC (OGTT)		919 ± 24.4	980 ± 60.8	ns

Tab. 1.: Plasma levels of triglycerides, non-esterified fatty acids (NEFA), glucose and cholesterol (all values in mmol/l) and the area under curve of the oral glucose tolerance test [AUC (OGTT)] in SHR strain and SHR-*Lx* congenic strain under different dietary conditions.

All values given as mean ± SEM; f ...fasted; nf ... not fasted status; ns ... not significant, nqs ... not quite significant.

*Influence of the introgression of PD/Cub RNO8 differential segment on the genetic backgrounds of SHR and BN strains: metabolic profile of SHR-Lx and BN-Lx congenic strains.*

### 1. SHR - Lx

Under conditions of standard diet, levels of serum glucose, NEFA and cholesterol in not fasted animals were significantly higher in SHR-Lx congenic strain compared to SHR progenitor (see **Table 1** for values and significance levels). After 1 week of high-sucrose diet, serum triglycerides (both in fasted and not fasted status) and NEFA (fasted) were significantly higher in SHR-Lx compared to SHR, while level of serum glucose (fasted) was significantly higher in SHR. After 3 weeks of high-cholesterol diet, we observed significantly higher levels of serum TG, cholesterol and glucose in SHR-Lx and significantly lower levels of NEFA in comparison to SHR comparison.

### 2. BN - Lx

Under conditions of standard diet, levels of serum TG and NEFA in not fasted animals were significantly higher in BN-Lx congenic strain compared to BN progenitor and the level of serum glucose and area under curve of oral glucose tolerance test (AUC, OGTT) was significantly lower in BN-Lx congenic strain (see **Table 2** for values and significance levels). After 1 week of high-sucrose diet, serum triglycerides (both in fasted and not fasted status) and NEFA (fasted) were significantly higher in BN-Lx compared to BN. After 3 weeks of high-cholesterol diet, we did not observe any significant difference between BN-Lx and BN strains.

		<b>BN</b>	<b>BN-Lx</b>	<b>P</b>
<i>Standard diet</i>				
Triglycerides	nf	0.617 ± 0.039	0.998 ± 0.099	P = 0.004
NEFA	nf	0.446 ± 0.026	0.721 ± 0.079	P < 0.001
Cholesterol	nf	2.738 ± 0.178	3.045 ± 0.286	ns
Glucose	nf	4.391 ± 0.316	3.368 ± 0.151	P = 0.0233
AUC (OGTT)		822 ± 33.2	700 ± 13.1	P = 0.0115
<i>High-sucrose diet</i>				
Triglycerides	nf	1.275 ± 0.101	1.658 ± 0.140	P = 0.0493
Triglycerides	f	1.133 ± 0.050	1.310 ± 0.050	P = 0.0350
NEFA	f	0.848 ± 0.052	1.051 ± 0.028	P = 0.0103
Glucose	nf	4.100 ± 0.106	4.367 ± 0.226	ns
AUC (OGTT)		898 ± 10.4	843 ± 24.4	nqs
<i>High-cholesterol diet</i>				
Triglycerides	nf	1.015 ± 0.054	0.958 ± 0.066	ns
Triglycerides	f	0.864 ± 0.038	1.088 ± 0.129	ns
NEFA	nf	0.386 ± 0.045	0.450 ± 0.036	ns
NEFA	f	0.943 ± 0.074	1.106 ± 0.126	ns
Cholesterol	nf	2.453 ± 0.294	2.729 ± 0.244	ns
Cholesterol	f	0.864 ± 0.038	1.088 ± 0.129	ns
Glucose	f	5.057 ± 0.178	5.027 ± 0.142	ns
AUC (OGTT)		875 ± 24.0	835 ± 27.9	ns

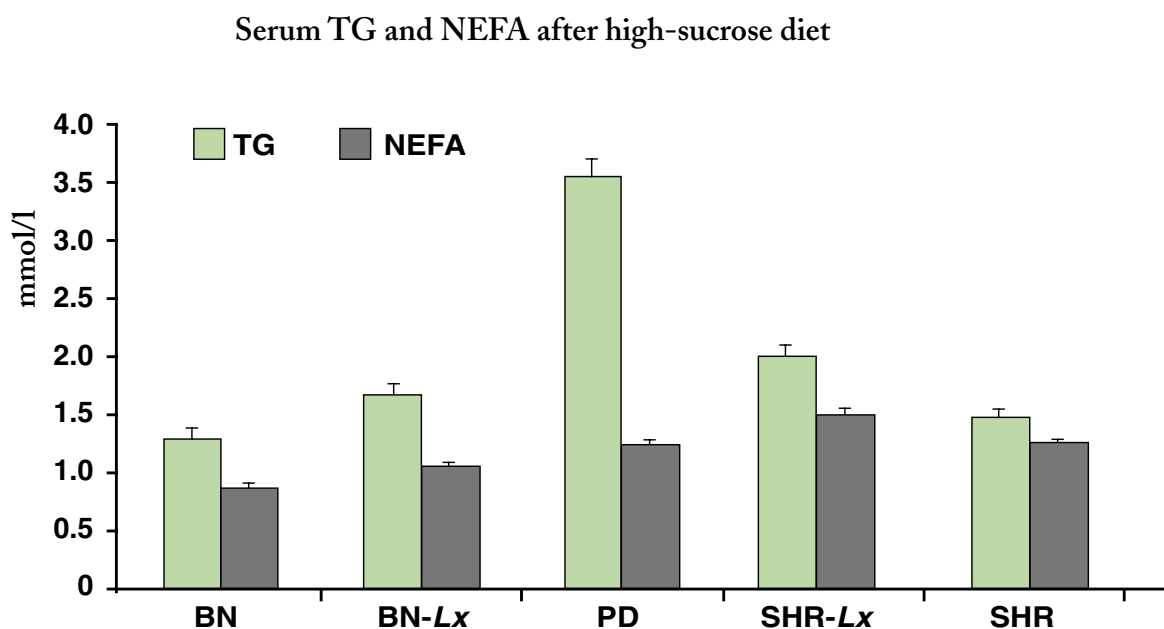
Tab. 2.: Plasma levels of triglycerides, non-esterified fatty acids (NEFA), glucose and cholesterol (all values in mmol/l) and the area under curve of the oral glucose tolerance test [AUC (OGTT)] in BN strain and BN-Lx congenic strain under different dietary conditions.

All values given as mean ± SEM; f ...fasted; nf ... not fasted status; ns ... not significant, nqs ... not quite significant

## Discussion

These results indicate that the introgression of RNO8 differential segment of PD/Cub origin onto SHR and BN genetic backgrounds influences the parameters of their lipid and carbohydrate metabolism, as seen in congeneric strains SHR-*Lx* and BN-*Lx*. In Fig. 2, we can see that levels of serum triglycerides after high sucrose diet were significantly higher in BN-*Lx* and SHR-*Lx* congeneric strains compared to their BN and SHR progenitors, but still significantly lower compared to PD/Cub strain.

Fig. 2.: The levels of serum triglycerides (TG) and non-esterified fatty acids (NEFA) after high-sucrose diets in BN, PD, SHR and BN-*Lx* and SHR-*Lx* congeneric strains.



Interestingly, the NEFA concentration in SHR-*Lx* congeneric strain is higher in comparison with both progenitor strains, PD/Cub and SHR (Fig. 2). SHR was recently shown to carry the mutant allele of *Cd36/FAT*, coding for the fatty acid translocase, which was proposed to be a causative factor of the observed high level of NEFA and insulin resistance in this strain (Aitman et al. 1999). PD/Cub carries normal, wild allele of *Cd36/FAT* (Šedová et al. 2000) hence it can be speculated that the combination of different genes determining the susceptibility to this pathological phenotype resulted in the elevation of NEFA in SHR-*Lx*.

The fact that we did not find any difference in metabolic parameters between BN and BN-*Lx* strains after high-cholesterol diet is in consent with previous findings suggesting the BN strain to be susceptible to cholesterol-rich diets. However, all these hypotheses need to be verified by further research.

In summary, it seems highly likely that genes present in the RNO8 differential segment of PD/Cub origin are involved in observed carbohydrate and lipid metabolism disturbances. Among others, the differential segment carries the *ApoAI-ApoCIII-ApoAIV* gene cluster of PD/Cub origin. This gene cluster was shown to be of importance in several pathological states of lipid metabolism, so it can be considered a putative candidate for observed elevation of serum triglyceride levels after high-sucrose diet in SHR-*Lx* and BN-*Lx* congeneric strains.

However, as indicated from human studies, more genes and gene-gene and gene-environment interactions are definitely involved in determination of such complex trait, so a more detailed genetic dissection is needed. Therefore, we derived a segregating intercross population between PD/Cub and BN progenitor strains in order to identify possible candidates for particular attributes of metabolic syndrome X.

Supported by grant GAUK 7/2000/C from the Grant Agency of the Charles University, grants No. 303/01/1010 and 204/98/K015 from the Grant Agency of the Czech Republic, grant No. 6367-3 from the Internal Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic.

## LITERATURE

1. T. J. Aitman, A. M. Glazier, C. A. Wallace, L. D. Cooper, P. J. Norsworthy, F. N. Wahid, K. M. Al-Majali, P. M. Trembling, C. J. Mann, C. C. Shoulders, D. Graf, E. St. Lezin, T. W. Kurtz, V. Křen, M. Pravenec, A. Ibrahimi, N. A. Abumrad, L. W. Stanton, J. Scott (1999): Identification of *Cd36* (*FAT*) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nature Genet* 21, 76–83.
2. V. Křen (1975): Genetics of the polydactyly-luxate syndrome in the Norway rat, *Rattus norvegicus*. *Acta Univ. Carol. Med. Praha (Monogr.)* 68, 1–103.
3. V. Křen, M. Pravenec, S. Lu, D. Křenová, J.-M. Wang, N. Wang, T. Merriouins, A. Wong, E. St. Lezin, D. Lau, C. Szpirer, J. Szpirer, T. W. Kurtz (1997): Genetic isolation of a region of chromosome 8 that exerts major effects on blood pressure and cardiac mass in the spontaneously hypertensive rat. *J. Clin. Invest.* 99, 577–581.
4. M. Pravenec, V. Křen, E. St. Lezin (1999a): Recombinant inbred and congenic strains for genetic analysis of spontaneous hypertension and other risk factors of cardiovascular disease. In: *Handbook of Hypertension*, eds. W. H. Birkenhager, J. L. Reid, series, *Development of the Hypertensive Phenotype: Basic and Clinical Studies*, eds. R. McCarty, D. A. Blizard, R. L. Chevalier, pp. 193–211, Elsevier Science B. V., Amsterdam.
5. G. M. Reaven and Y.-D. I. Chen (1988): Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. *Diabetes Metab. Rev.* 4, 639–652.
6. L. Šedová, L. Kazdová, O. Šeda, D. Křenová, V. Křen. (2000a): Rat inbred PD/Cub strain as a model of dyslipidemia and insulin resistance. *Folia Biol (Praha)* 46, 99–106.
7. A. Vrána, L. Kazdová, Z. Dobešová, J. Kuneš, V. Křen, V. Bílá, P. Štolba, I. Klimeš (1993): Triglyceridemia, glucoregulation, and blood pressure in various rat strains. *Effects of dietary carbohydrates. Ann NY Acad Sci* 683, 57–68.



## 2. místo

# BIOCHEMICAL AND MOLECULAR STUDIES IN FIVE CHILDREN WITH LEIGH DISEASE AND CYTOCHROME C OXIDASE DEFICIENCY

**Autori:** Mgr. Markéta Čapková - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague  
 H. Hansíková - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague  
 C. Godinot - UCB, Lyon, France  
 J. Houštek - Institute of Physiology and Centre for Integrated Genomics ASCR, Prague  
 J. Zeman - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

**Školitel:** doc. MUDr. Jiří Zeman, DrSc. - Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

### Introduction

Leigh disease, subacute necrotizing encephalopathy associated with cytochrome c oxidase (COX) deficiency, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, is one of the most common mitochondrial disorders in childhood. A large number of Leigh disease patients with COX deficiency have been shown to belong to a single complementation group with mutations in SURF1 gene [1, 2]. SURF1, located on chromosome 9q34, is homologous to the yeast SHY1 gene, which encodes an inner mitochondrial membrane protein involved in the biogenesis and assembly of COX complex. As a result of mutations in SURF1 gene the activity of COX and mitochondrial respiration are impaired. The aim of the work was to analyse the molecular bases of Leigh disease in five patients and to study the biochemical consequences of the mutations on cytochrome c oxidase.

### Patients

Five children with typical clinical symptoms of Leigh disease were investigated. Failure to thrive, growth retardation, incoordination of ocular movement, progressive hypotonia, psychomotor delay and hypertrichosis were observed in all affected children at age between 8 months and 2 years. Lactate was elevated in all patients in CSF (3.7-5.8 mmol/l; controls < 2) and in blood (2.3-8.7 mmol/l; controls < 2) with increased lactate/pyruvate ratio (20-55; controls 10-18). CT and/or MRI of the brain revealed bilateral necrotic lesions in the brain stem and basal ganglia. Three of five patients died between age of 2 to 6 years.

### Methods

#### Biochemistry.

Isolated lymphocytes, platelets, cultured fibroblasts, muscle mitochondria and mitoplasts were analysed after informed consent of parents. Specific activity of COX and citrate synthase (CS) were measured spectrophotometrically according to Wharton, Tzagoloff and Srere [3, 4]. Protein concentration was determined according to Lowry [5]. Protein composition of mitochondrial chain complexes was studied by two-dimensional electrophoresis (2D-PAGE) [6]. The presence of Surf1 protein in mitochondria or mitoplasts isolated from cultured fibroblasts was analysed by Western blot using specific anti-hSurf1 antibodies (generous gift of Dr. E. A. Shoubridge).

#### DNA analysis.

DNA was isolated from tissues by phenol extraction. All 9 exons of SURF1 gene were analysed in five fragments by cycle sequencing using universal primers. The sequenced fragments were amplified by PCR and purified by gel extraction.

### Results

Generalised decrease of specific activity of COX was observed in all children (Table 1). 2D-PAGE of mitochondrial proteins showed altered assembly pattern of COX (Figure 1). Western blot analyses in cultured fibroblasts demonstrated the absence of Surf1 protein in all affected children (Figure 2). Molecular analyses revealed the presence of a novel mutation C574T in SURF1 gene in one patient, three other patients harboured previously described SURF1 mutations (Table 2, Figure 3). Three children were compound heterozygotes, one harboured homozygous mutation.

### Discussion and Conclusions

Cytochrome c oxidase deficiency is one of the most frequent biochemical defects in children with Leigh syndrome. The SURF1 gene as a cause of Leigh syndrome with COX deficiency was identified in 1998. More than 30 different mutations in SURF1 gene have been reported so far. In our group of patients, we have identified SURF1 mutations



in four children. Novel mutation C574T was found in one patient, other patients harboured previously described mutations. Results of our study document altered stability and/or amount of Surf1 protein in children with SURF1 mutations and COX deficiency. Elucidation of etiopathogenesis of the mitochondrial disorders in childhood on biochemical and molecular level fully depends on co-operation of clinicians and specialists in biochemistry and molecular biology.

### Acknowledgments

*This work was supported by grants VZ 111100003, GAUK 8/2000/C, and Barrande 2001-028-1.*

Tab. 1.: Enzyme activities in five patients with Leigh syndrome due to defect of SURF1.

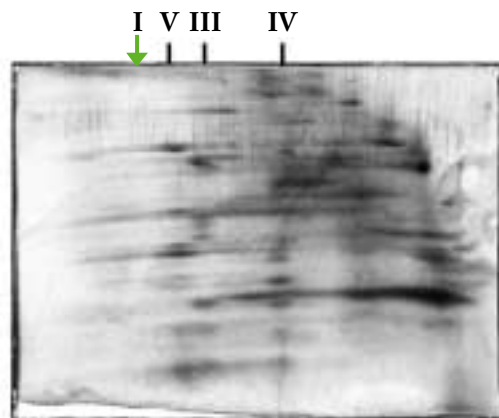
patient	tissue	COX		CS		COX/CS ratio	
		patient	controls	patient	controls	patient	controls
		[nmol/min/mg proteinu]					
1	lymphocytes	19,58	16 - 50	94,21	37 - 135	0,01	0,24 - 1,05
	platelets	4,14	20 - 40	72,90	75 - 100	0,05	0,23 - 0,43
	fibroblasts	1,71	30 - 90	41,65	50 - 150	0,04	0,17 - 1,11
	muscle mitochondria	170,0	658 - 1552	503	435 - 1234	0,33	0,66 - 2,25
2	lymphocytes	8,6	16 - 50	80,6	37 - 135	0,11	0,24 - 1,05
	fibroblasts	7,75	30 - 90	92,87	50 - 150	0,08	0,17 - 1,11
	muscle homogenate	33,0	25 - 120	232,2	30 - 150	0,14	0,4 - 2
3	lymphocytes	18,3	16 - 50	25,3	37 - 135	0,72	0,24 - 1,05
	fibroblasts	5,64	30 - 90	58,39	50 - 150	0,09	0,17 - 1,11
	muscle mitochondria	217	658 - 1552	816	435 - 1234	0,27	0,66 - 2,25
4	lymphocytes	19,44	16 - 50	98,47	37 - 135	0,19	0,24 - 1,05
	fibroblasts	5,10	30 - 90	56,7	50 - 150	0,09	0,17 - 1,11
	muscle mitochondria	87	658 - 1552	665	435 - 1234	0,13	0,66 - 2,25
5	fibroblasts	13,24	30 - 90	97,14	30 - 150	0,14	0,66 - 2,25

COX - cytochrome c oxidase, CS - citrate synthase

Fig. 1.: Two-dimensional electrophoresis of the muscle mitochondria.

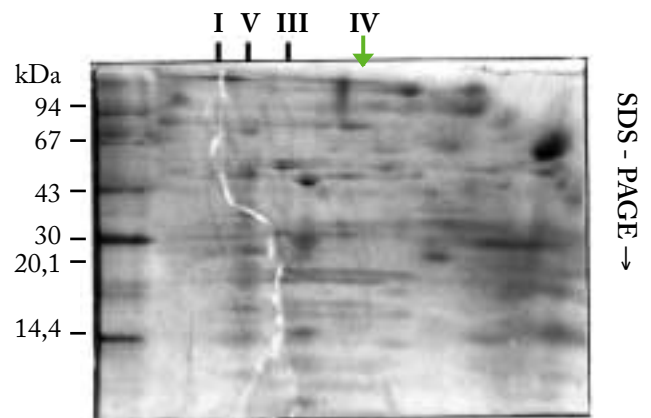
- A. patient with deficiency of complex I  
B. patient with deficiency of complex IV (patient 3)

Blue - Native -PAGE →



A

Blue - Native -PAGE →



B

Tab. 2.: Mutations in SURF1 gene in four patients with Leigh syndrome.

patient	localization	mutations	predicted mutations in the protein sequence
1	EX 9 / EX 9	841 delCT / 841 delCT	frameshift mutation / frameshift mutation
2	EX 4 / EX 8	312 ins AT del 10 / 821 del 18	frameshift mutation / splicing error
3	EX 6 / EX 9	C 574 T / 841 delCT	Arg 192 Trp / frameshift mutation
4	EX 7 / EX 7	C 688 T / C 688 T	Arg 230 stop / Arg 230 stop

Fig. 2.: Western blot analysis using anti-hSurf1 antibody in five patients with Leigh syndrome and COX deficiency. (15 µg of muscle mitochondria or mitoplasts are used)

Surf1 (30 kDa)

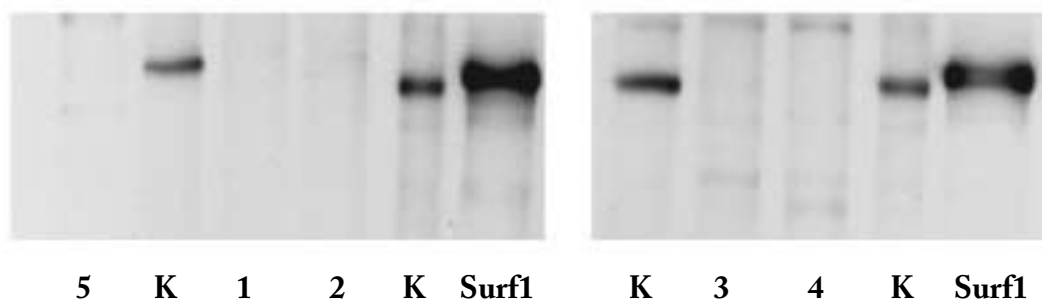
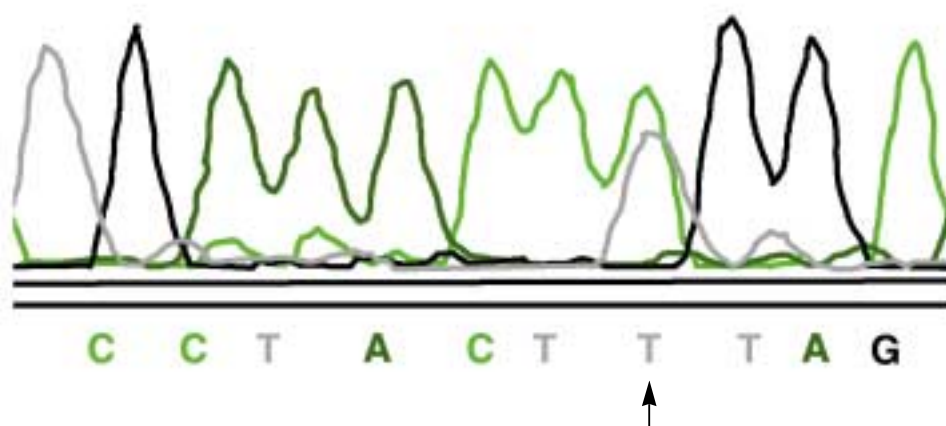


Fig. 3.: Novel heterozygous mutation C 574 T in SURF 1 gene.



## REFERENCES

1. Zhu et al.: SURF1, encoding a factor involved in the biogenesis of cytochrome c oxidase, is mutated in Leigh syndrome. *Nature Genet*, 20, 1998, 337 - 343.
2. Tiranti et al.: Mutations of SURF-1 in Leigh Disease Associated with Cytochrome c Oxidase Deficiency. *Am J Hum Genet*, 63, 1998, 1609 - 1621.
3. D. C. Wharton, A. Tzagoloff.: Cytochrome oxidase from beef heart mitochondria. *Meth. Enzym.*, Academic Press New York, 10, 1967, 245 - 250.
4. P. A. Srere: Citrate synthase. *Meth. Enzym.*, Academic Press New York, 13, 1969, 3- 11.
5. O. H. Lowry et al.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 1951, 265-275.
6. Klement et al.: Analysis of Oxidative Phosphorylation Complexes in Cultured Human Fibroblasts and Amniocytes by Blue-Native-Electrophoresis Using Mitoplasts Isolated with the Help of Digitonin. *Anal Biochem*, 231, 1995, 218 - 224.



### 3. místo

## POUŽITÍ INTERFÁZICKÉ FISH PŘI DETEKCI HYPERDIPLOIDIÍ U DĚTÍ S AKUTNÍ LYMFOBLASTICKOU LEUKÉMIÍ (ALL)

**Autoři:** Mgr. Lenka Šindelářová - Centrum nádorové cytogenetiky III. interní kliniky 1. LF a VFN  
 Z. Zemanová - Centrum nádorové cytogenetiky III. interní kliniky 1. LF a VFN  
 P. Smíšek - 2. dětská klinika FN Motol; Praha  
 J. Starý - 2. dětská klinika FN Motol; Praha  
 K. Michalová - Centrum nádorové cytogenetiky III. interní kliniky 1. LF a VFN,  
 Ústav hematologie a krevní transfuze  
**Školitel:** doc. Ing. Kyra Michalová, DrSc. - Centrum nádor. cytogen. III. int. klin. 1. LF a VFN

■ Akutní lymfoblastická leukémie je maligní lymfoproliferativní onemocnění, které v naší populaci představuje nejrozšířenější formu leukémie u dětí. Cytogenetické studie rozsáhlých souborů dětí s ALL prokázaly u většiny z nich (75-90 %) výskyt nenáhodných klonálních chromosomových aberací, které korelují s imunofenotypickým, klinickým i hematologickým obrazem onemocnění. Na základě cytogenetických nálezů lze nemocné s ALL rozdělit do různých diagnostických skupin, které se liší v odpovědi na léčbu a v prognóze (Pui a kol., 1990). Přesné určení karyotypu leukemických buněk a včasná detekce chromosomových aberací je proto u dětských ALL velmi důležitá pro zvolení správného postupu léčby a stanovení prognózy onemocnění.

K cytogenetickým nálezům v kostní dřeni u dětí s ALL patří strukturální přestavby chromosomů, především **reciproké translokace**, které nalézáme až u 40 % nemocných. K nejčastějším a prognosticky nejvýznamnějším patří např. t (12;21)(p13;q22), t (9;22)(q34;q11), t (1;19)(q23;p13) a t (4;11)(q21;q23). V současné době je známo již více než 30 specifických chromosomových translokací s přímým vztahem k leukemogenezi (Trka a kol., 1999, Zemanová a kol., 2001)

Kromě strukturálních přestaveb jsou dalším velmi častým nálezem rovněž změny v modálním počtu chromosomů (tzv. heteroploidie), které se vyskytují u 35-45 % nemocných (tabulka 1).

Tab. 1.: Nenáhodné početní chromosomové změny u dětských ALL - heteroploidie

CYTOGENETICKÝ NÁLEZ	FREKVENCE	PROGNÓZA
Hypodiploidie (< 46 chromosomů)	3-9 %	špatná
Hyperdiploidie se 47-50 chromosomy	15 %	střední
Hyperdiploidie s > 50 chromosomy	27 %	dobrá
Téměř tri- až tetraploidní počet chromosomů	1 %	nejasná

Významný je nález zejména buněčných klonů s tzv. **vysokou hyperdiploidii**, tj. s více než 50 chromosomy, který bývá spojován s nejlepší prognózou. Vysokou hyperdiploidii nacházíme u asi 25-30 % dětí s ALL. Dosud není zcela jasná biologická podstata vztahu mezi modálním počtem chromosomů a dobrou odezvou na léčbu. Středně dobrou prognózu dává nemocným nález klonů s tzv. **nízkou hyperdiploidii**, tj. s modálním počtem 47-50 chromosomů, kterou má asi 10-15 % dětských nemocných s ALL. Dále patří do skupiny pacientů s hyperdiploidii také asi 1 % dětí s tzv. „**téměř triploidními či tetraploidními buněčnými klony**“, u kterých je známý rozmanitý průběh onemocnění.

Včasná detekce chromosomových změn v buňkách kostní dřene dětských nemocných s ALL je z klinického hlediska velmi důležitá, protože detekce aberací spojovaných s příznivou prognózou by mohla vést ke snížení intenzity chemoterapie a tím i ke zmírnění rizika pozdních následků léčby.

Klasické cytogenetické vyšetření je však u leukemických buněk limitované horší kvalitou mitos a nízkým mitotickým indexem. Leukemické buňky mají sníženou proliferační aktivitu v kultivaci, takže hyperdiploidní buněčné klony lze při tomto typu vyšetření často těžko zachytit. Nové možnosti přináší využití metod molekulární cytogenetiky, zejména fluorescenční *in situ* hybridizace - FISH. Princip FISH spočívá ve schopnosti vazby jednořetězcové DNA sondy přímo značené fluorochromy ke komplementárním oblastem cílové DNA fixované na cytogenetickém preparátu (Le Beau, 1993).

K detekci heteroploidii jsme zavedli molekulárně-cytogenetickou metodu **interfázické fluorescenční *in situ* hybridizace (I-FISH)**, která umožňuje pomocí specifických DNA sond hodnotit i nekvalitní mitosy a detekovat početní i strukturální změny chromosomů nejen v mitosách, ale i v nedělících se interfázických buňkách. Metodou I-FISH získáme důkaz o přítomnosti hyperdiploidních klonů i v případech, kdy je konvenční cytogenetické vyšetření neúspěšné či neinformativní.

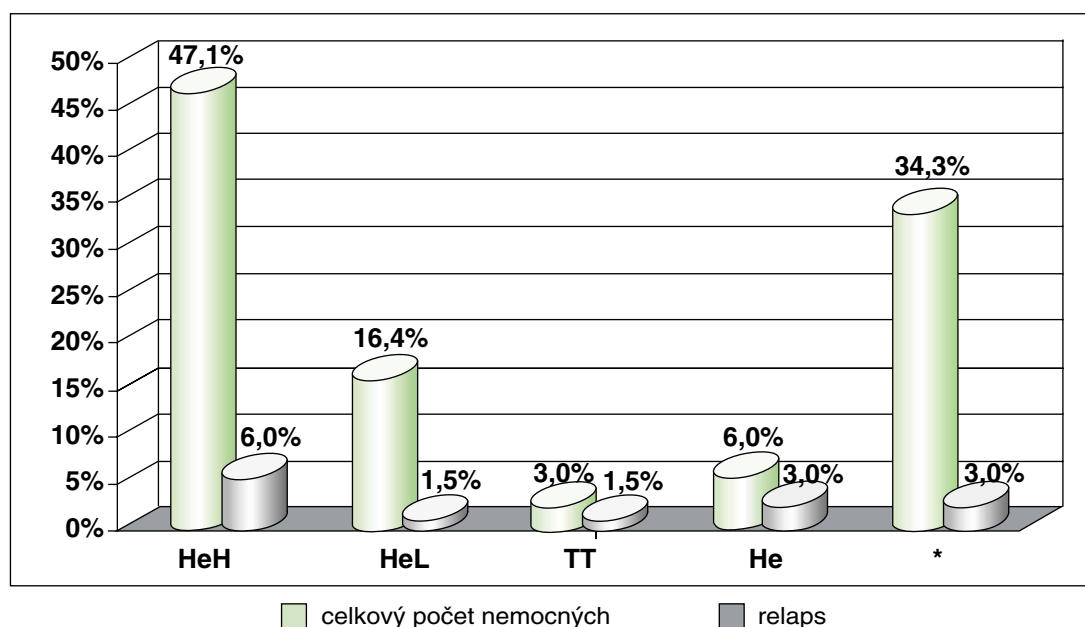
Pro určování početních odchylek chromosomů používáme  $\alpha$ -satelitní DNA sondy pro oblasti centromer a sondy lokus-specifické, vhodné pro detekci jedinečných genových sekvencí.

Na našem pracovišti vyšetřujeme všechny nově diagnostikované dětské pacienty s ALL metodou vícebarevné I-FISH, podle strategie publikované Moormanem et al (1996), která spočívá v postupné hybridizaci kombinací jednotlivých sond pro chromosomy X, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 20 a 21, nejčastěji zmnožené v hyperdiploidních kloněch. Na základě výsledků I-FISH lze pak nemocné podle modálního počtu chromosomů zařadit do jednotlivých skupin s různou prognózou onemocnění.

Během tří let jsme metodou I-FISH vyšetřili 70 dětí s ALL (25 dívek, 45 chlapců, průměrný věk 8,4 let, průměrná doba sledování pacientů byla 17,8 měsíců).

U každého pacienta bylo hodnoceno 200 interfázních jader a rozsah nalezených hyperdiploidních klonů byl 2,5 až 95,5 %. Stejným způsobem jsme vyšetřili i soubor 10 zdravých dárců. Jako hraniční neboli „cut-off“ úroveň pro námi použité typy sond byla stanovena hodnota průměr + 3SD, která se v kontrolním souboru pohybovala do 2,5 %. V souboru nemocných jsme tedy za pozitivní považovali nález, který se rovnal nebo převyšoval hodnotu 2,5 % z celkového počtu analyzovaných buněk.

Rozdělení pacientů podle stupně ploidie do jednotlivých prognostických skupin je znázorněno v grafu 1.



Graf 1.: Rozdělení nemocných do jednotlivých skupin podle modálního počtu chromosomů

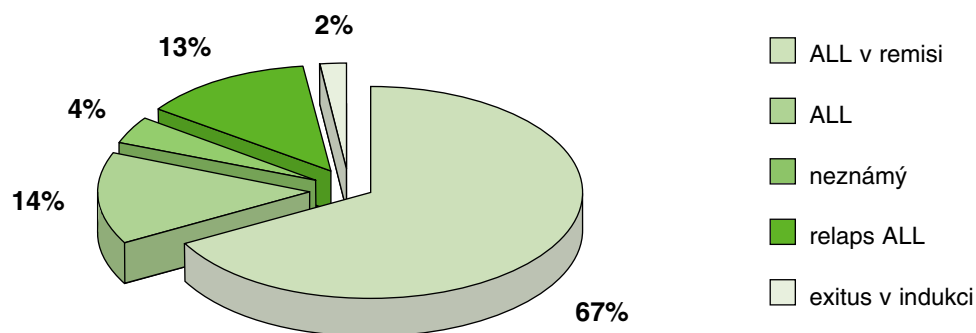
**HeH** - vysoká hyperdiploidie

**HeL** - nízká hyperdiploidie

**He** - nespécifikovaná hyperdiploidie

**TT** - téměř tri - až tetraploidní klony

\* - hyperdiploidie nepotvrzena



Graf 2.: Současný klinický stav nemocných

Údaje o současném klinickém stavu nemocných jsou uvedeny na předchozím grafu 2.

Relaps nastal u 9 pacientů (13 %), z toho u 4 ze skupiny s vysokou hyperdiploidii, tedy s nejlepší prognózou onemocnění. U jednoho z těchto pacientů však byl hyperdiploidní klon nalezen v rozsahu 2,5-3 % buněk. Význam těchto tzv. malých buněčných klonů (2,5-10 % buněk) pro průběh onemocnění a odezvu na léčbu není dosud znám. U dalších 3 nemocných z této skupiny byly zjištěny komplexní přestavby karyotypu, které považujeme za nepříznivý ukazatel (Zemanová a kol., 2001) a jsou často spojeny s časným relapsem.

### ■ Závěr

Molekulárně-cytogenetickou metodou I-FISH jsme vyšetřili buňky kostní dřeně 70 dětí s ALL a zjišťovali jsme přítomnost a rozsah hyperdiploidních klonů. Používali jsme specifické DNA sondy pro 10 chromosomů (X, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 20 a 21). Hyperdiploidní klony jsme zjistili u 66 % nemocných a další cytogenetické změny (komplexní přestavby karyotypu) u 16 (22 %) nemocných s ALL. Porovnali jsme molekulárně-cytogenetické nálezy s klinickými ukazateli a zjistili jsme u většiny nemocných s hyperdiploidii příznivou odezvu na léčbu. Význam malých buněčných klonů (2,5-10 %) s numerickými změnami a klonů se strukturními přestavbami, které jsou přítomny v kostní dřeni nemocných s leukemiemi není zatím objasněn.

Metoda I-FISH umožňuje u dětí s ALL detekci heteroploidních buněčných klonů i v případě, kdy byla cytogenetická analýza neúspěšná či neinformativní a přispívá ke zrychlení a zlepšení diagnostiky dětských ALL.

*Tato práce byla podpořena granty IGA MZ ČR 4744-3, GAČR 301-01-0200 a IGA MZ ČR NE 6472-3.*

## LITERATURA

1. M. M. Le Beau.: *Fluorescence in situ hybridization in cancer diagnosis. Important advances in oncology.* J. B. Lippincott, Philadelphia, 1993, s. 29-45.
2. A. V. Moorman, R. Clark, D. M. Farrell, J. M. Hawkins, M. Martineau, L. M. Secker-Walker: *Probes for hidden hyperdiploidy in acute lymphoblastic leukemia.* *Genes, Chromos, Cancer*, 16, 1996, s. 40-45.
3. C. H. Pui, W. M. Crist, A. T. Look: *Biology and clinical significance of cytogenetics abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia.* *Blood*, 76, 1990, s. 1449-1463.
4. J. Trka, J. Zuna, C. Haškovec, A. Brabencová, M. Kalinová, R. Mužíková, R. Paukertová, O. Hrušák, Z. Zemanová, K. Michalová, J. Starý: *Detekce hybridních genů BCR/ABL, MLL/F4 a TEL/AML1 a sledování minimální reziduální nemoci u dětských pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií.* *Čas. Lék. Čes.*, 138, 1999, No.1, s. 12-17.
5. Z. Zemanová, K. Michalová, J. Březinová, L. Šindelářová, Š. Kurková, P. Smíšek, J. Zuna, J. Trka, J. Starý: *FISH v diagnostice dětských akutních lymfatických leukemií (ALL).* *Přijato k publikaci v Čas. Lék. Čes.* 2000.



#### 4. místo

## VLIV KAINÁTU NA POČET NADPH-DIAFORÁZA POZITIVNÍCH NEURONŮ V HIPPOCAMPU U POTKANŮ VYSTAVENÝCH CHRONICKÉ HYPOXII

**Autor:** MUDr. Petra Benešová - Fyziologický ústav 1. LF

**Školitel:** doc. MUDr. Miloš Langmeier, CSc. - Fyziologický ústav 1. LF

■ Kainát je rigidní strukturální analog glutamátu s neurotoxickým efektem. Jeho účinek je zprostředkován vazbou na kainátové receptory (subpopulaci non-NMDA receptorů). Byl prokázán jeho selektivní toxický účinek na neuronální těla, přičemž axony zůstávají intaktní. Senzitivita limbických struktur ke kainátu je dána vysokou denzitou receptorů pro excitační aminokyseliny v těchto oblastech. Pro ovlivnění motorické aktivity laboratorních potkanů během ontogeneze je kainát používán ve studiích modelu temporální epilepsie (Velíšková a ost., 1988).

NADPH-diaforáza je enzym kolokalizovaný s nitric oxide syntázou (NOS), tj. enzymem produkujícím oxid dusnatý (NO). Průkazem NADPH-diaforázy tedy můžeme nepřímou usuzovat na produkci vazodilatačně působícího oxidu dusnatého (Montecot a ost., 1997).

Cílem této práce byla histochemická analýza (průkaz NADPH-diaforáza pozitivních neuronů) vlivu kainátu podaného intraperitoneálně 1 den po skončení působení chronické hypoxie na jednotlivé oblasti hippocampu, tj. struktury uložené v hloubce hemisfér předního mozku, která je součástí limbického systému.

#### ■ Metodika

Experimentálními zvířaty byli samci laboratorního potkana kmene Wistar vlastního chovu. Od 2. do 17. dne věku (s výjimkou 6., 7., 13. a 14. dne) byla mláďata, společně s matkou, vystavena vlivu chronické (opakované dlouhodobé perinatální) hypoxie v hypobarické komoře v simulované výšce 7 000 m, vždy 8 hodin denně. 18. den, tedy 1 den po skončení působení hypoxie, byl zvířatům i.p. aplikován kainát (2,5 mg/kg).

K experimentům byly použity 4 skupiny zvířat:

1. Mláďata vystavená hypoxii
2. Mláďata vystavená hypoxii, kterým byl 18. den věku aplikován kainát
3. Mláďata nevystavená hypoxii
4. Mláďata nevystavená hypoxii, kterým byl 18. den věku aplikován kainát

22. den věku, tj. 4 dny po aplikaci kainátu byla zvířata usmrcena v pentobarbitalové narkóze transaortální perfuzí 4 % pufrovaného neutrálního paraformaldehydu. Mozky byly prosyceny 20 % roztokem sacharózy (kryoprotekce). Po nakrájení 40 mm tlustých řezů na kryostatu byly tyto řezy obarveny na průkaz NADPH-diaforáza pozitivních neuronů.

Poté byly NADPH-diaforáza pozitivní neurony kvantifikovány v jednotlivých částech hippocampu:

1. v CA1 oblasti hippocampu
2. v CA3 oblasti hippocampu
3. v hilu gyrus dentatus
4. v dorzálním listu gyrus dentatus
5. ve ventrálním listu gyrus dentatus

#### ■ Výsledky

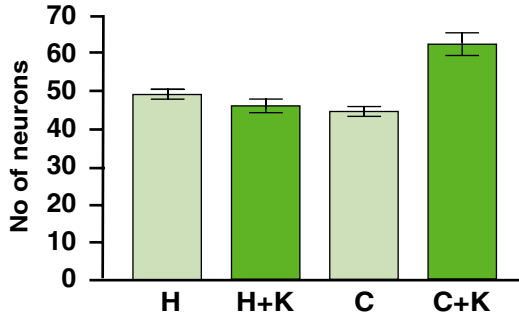
Z výsledků je patrné, že chronická hypoxie zvyšuje počet NADPH-diaforáza pozitivních neuronů v oblastech CA 1, CA 3 a v hilu gyrus dentatus v porovnání s kontrolní skupinou. V dorzálním a ventrálním listu gyrus dentatus jsou rozdíly oproti kontrole nevýznamné.

Kainát aplikovaný normoxickým zvířatům počet NADPH-diaforáza pozitivních neuronů v oblastech CA 1, CA 3 a v hilu gyrus dentatus rovněž zvyšuje a v dorzálním a ventrálním listu gyrus dentatus nemění.

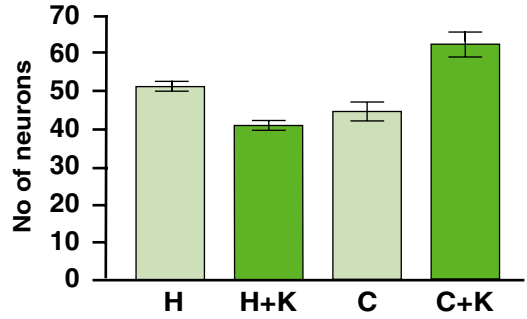
Naproti tomu, kainát aplikovaný hypoxickým zvířatům počet NADPH-diaforáza pozitivních neuronů v hilu, dorzálním a ventrálním listu gyrus dentatus snižuje, v oblastech CA 1 a CA 3 je rozdíl oproti kontrole zanedbatelný (Obr. 1 - 5).



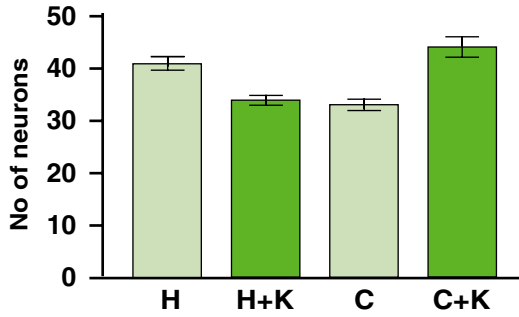
**Number of NADPH-d positive neurons in CA1 area of hippocampus per section area**



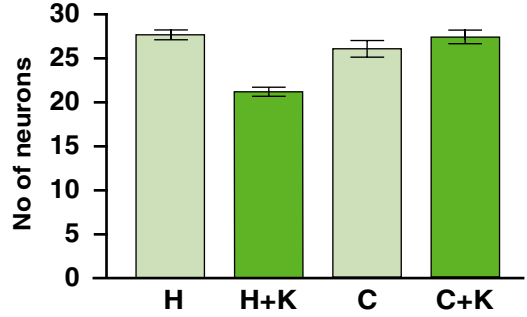
**Number of NADPH-d positive neurons in CA3 area of hippocampus per section area**



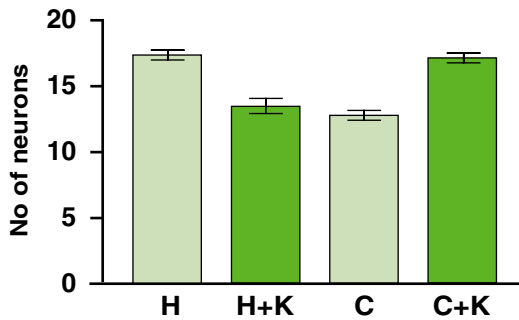
**Number of NADPH-d positive neurons in hilus of the dentage gyrus per section area**



**Number of NADPH-d positive neurons in dorsal blade of the dentage gyrus per section area**



**Number of NADPH-d positive neurons in ventral blade of the dentage gyrus per section area**



### ■ Diskuse

Hypoxie pravděpodobně zvyšuje produkci NO ovlivněním genové exprese NOS. Kainát pak zřejmě vede k zvýšení produkce NO vazbou na kainátové receptory. Naše výsledky svědčí pro to, že hypoxie současně snižuje denzitu kainátových receptorů a tím nepřímo produkci NO po následné aplikaci kainátu. To by mohlo vést k omezení poškození některých subpopulací neuronů, způsobeného dlouhodobou intermitentní hypoxií (Jones a ost. 1998).

*Podporováno grantem UK 32/2001/C/1. LF, GAČR 305/99/0976 a MSM 1111 00001.*

## LITERATURA

1. P. A. Jones, R. A. Smith, T. W. Stone: Nitric oxide synthase inhibitors L-NAME and 7-nitroindazole protect rat hippocampus against kainate-induced excitotoxicity. *Neurosci Lett.* 249:75-78, 1998.
2. C. Montecot, J. Borredon, J. Seylaz, E. Pinard: Nitric oxide of neuronal origine is involved in cerebral blood flow increase during seizures induced by kainate. *Cereb Blood Flow Metab.* 17: 94-99, 1997.
3. J. Velišková, L. Velišek, P. Mareš: Epileptic phenomena produced by kainic acid in laboratory rats during ontogenesis. *Physiol Bohemoslov.* 37: 395-405, 1988.



## 5. místo

# ANALÝZA NAPJATOSTI HLAVICE TEMPOROMANDIBULÁRNÍHO KLOUBU

**Autor:** MUDr. Radek Jirman

**Školitel:** přednosta prof. MUDr. Jiří Mazánek, DrSc. - Stomatologická klinika 1. LF a VFN

### ■ Úvod

Temporomandibulární kloub /TMK, čelistní kloub/ je kloub složený a řadí se mezi jedny z nejsložitějších kloubů celého těla. Je to oblast, kde dochází ke kranioandibulárnímu spojení. Mezi kloubní hlavici a jamkou se nachází kloubní disk, který je tvořen vazivovou chrupavkou, která je zcela bez krevních cév a nervových vláken. Funkční disk má v sagitální rovině bikonkávní tvar. Přední a zadní okraj disku je zesílen. Centrální část disku tvoří tenká intermediární zóna. Tento kloub je jedinečný, kromě jiného, také tím, že se na jedné kosti nacházejí dva stejné klouby a jakýkoli pohyb či funkční odchylka jednoho TMK bezpodmínečně ovlivňuje kloub druhý.

Těž se můžeme setkat s označením kloub ginglymoartrodialní. Tento jeho název vyplývá z jeho dvou různých pohybů, kterými jsou pohyb rotační v prostoru diskokondylární /tzv. ginglymoidní kloub/ a pohyb translační v prostoru diskotemporální /tzv. artrodialní kloub/.

Čelistní kloub, vzájemný vztah obou čelistí, žvýkácí svaly a koordinované svalové skupiny krku a šíje podílející se na žvýkacím aktu, tvoří spolu s nervovým systémem jednotný harmonický celek. Porucha jakékoli z výše uvedených složek může být příčinou obtíží, které mají podobnou klinickou symptomatologii a jsou označovány jako poruchy temporomandibulárního kloubu /TMP/. Asi 20-28 % populace trpí určitou formou funkčního poškození TMK.

TMP jsou charakterizovány základní trias klinických znaků.

Bolesti v okolí TMK, která se zvětšuje při činnosti dolní čelisti a palpační citlivosti žvýkacích svalů. Bolest TMK je po odontalgií druhou nejčastější faciální bolestí.

Omezením pohyblivosti dolní čelisti nebo asymetrickým pohybem mandibuly během otevírání úst a zvukovými fenomény vázanými na funkci čelistního kloubu - lupání, cvakání, vrzání. S TMP mohou být spojeny i další obtíže jako bolesti hlavy, uší, hypertrofie žvýkacích svalů, porucha okluze, tinnitus a závratě.

Podle původu obtíží dělíme poruchy TMK do dvou skupin: na poruchy kloubního a mimokloubního původu.

Jednou z poruch může být tzv. diskopatie kloubu, která se obvykle dělí na dvě podskupiny: dislokace disku s redukcí a dislokace disku bez redukce.

Diskopatie patří mezi intrakapsulární poruchy TMK, jež je definována jako porušení funkčního vztahu mezi kloubním diskem, kondylem mandibuly a artikulačním povrchem spánkové kosti. Podstatou diskopatií je tedy dislokace disku. Proč dochází k dislokacím disku nebylo zatím zcela objasněno.

Přesto se v literatuře za významný etiologický faktor považuje neuromuskulární dysfunkce žvýkacích svalů a bruxismus. Souvislost mezi bruxismem a dislokací disku je v *Katzbergově studii* vysvětlena tak, že síly vznikající při bruxismu jsou kondylem mandibuly přeneseny na kloubní disk. Ten je kondylem mandibuly tlačěn cestou nejnižšího odporu do nefyziologického postavení. Protože je kloubní pouzdro TMK laterálně i mediálně zpevněné kolagenními vazy je kloubní disk nejčastěji dislokován směrem dopředu.

Další možnou příčinou dislokace disku je dysbalance žvýkacích svalů, především hypertonus m. pterygoideus laterális, který mění vzájemný vztah mezi kloubním diskem a kondylem mandibuly.

### ■ Materiál a metodika

Cílem bylo ukázat povrchové rozložení redukovaného napětí při zatížení na hlavici dolní čelisti, což má bezesporu vliv na správnou funkci TMK a v případě patologického zatížení i na již zmíněnou diskopatii.

Výpočet k zjištění rozložení napjatosti na hlavici kondylu, probíhal ve spolupráci s fakultou strojní na ČVUT v Praze (Ing. J. Vtípil), která nám poskytla potřebné technické zázemí.

Projekt byl rozčleněn do základních čtyřech podbodů:

1. **Zpracování vstupních CT dat**
2. **Vytvoření 3D modelu dolní čelisti**
3. **Vytvoření MKP / konečněprvkového modelu/**
4. **Výsledky výpočtu**

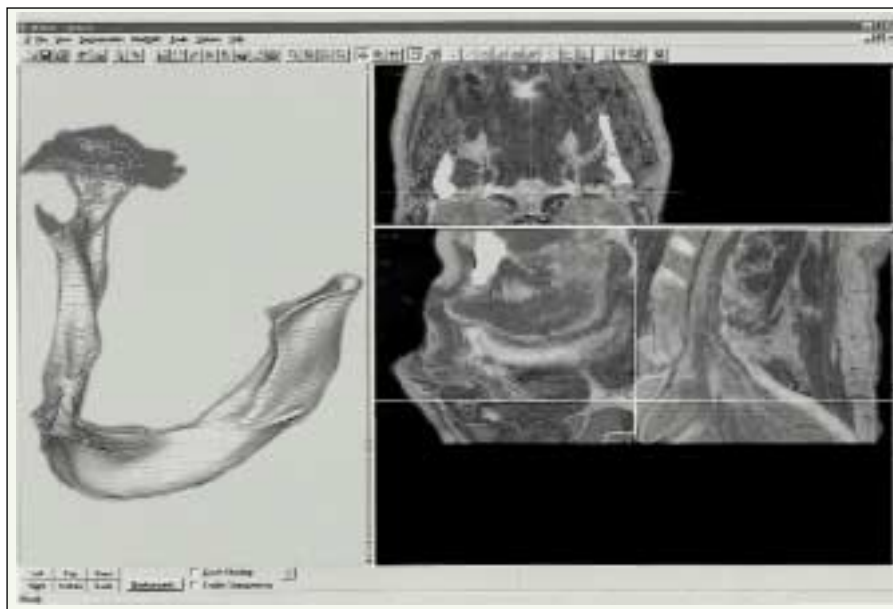
■ **ad 1:**

Snahou bylo získat co nejpřesnější tvar čelistního kloubu, a proto jsme použili vstupní CT data z mezinárodní databáze *Visible - human - project*.

Následně jsme data zpracovali užitím software *Mimics v.6.03*.

Výstupem jsme získali popis geometrie dolní čelisti a disku prostřednictvím spline křivek ve formátu *IGES*.

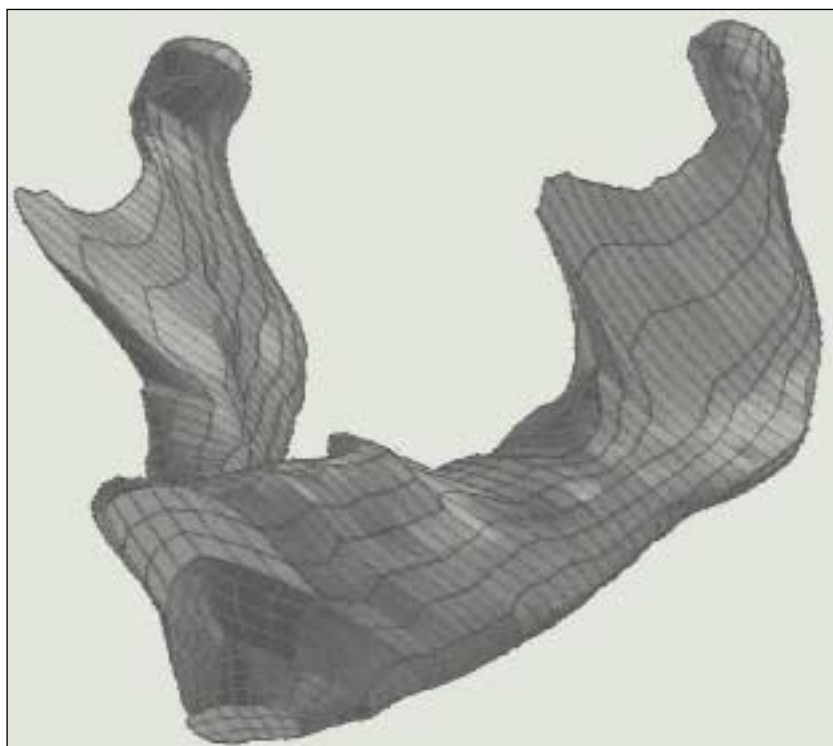
Obr. 1.: Pracovní prostředí programu Mimics



■ **ad 2:**

Pro vytvoření 3D /trojrozměrného/ modelu jsme použili program *Unigraphics solution v. 16*. Následně jsme provedli potažení křivkové spline geometrie *Bezierovými plochami*. Dále jsme vyhladili vytvořené plochy s užitím křivostní analýzy výše zmiňovaného software.

Obr. 2.: Konečněprvková síť dolní čelisti



■ ad 3:

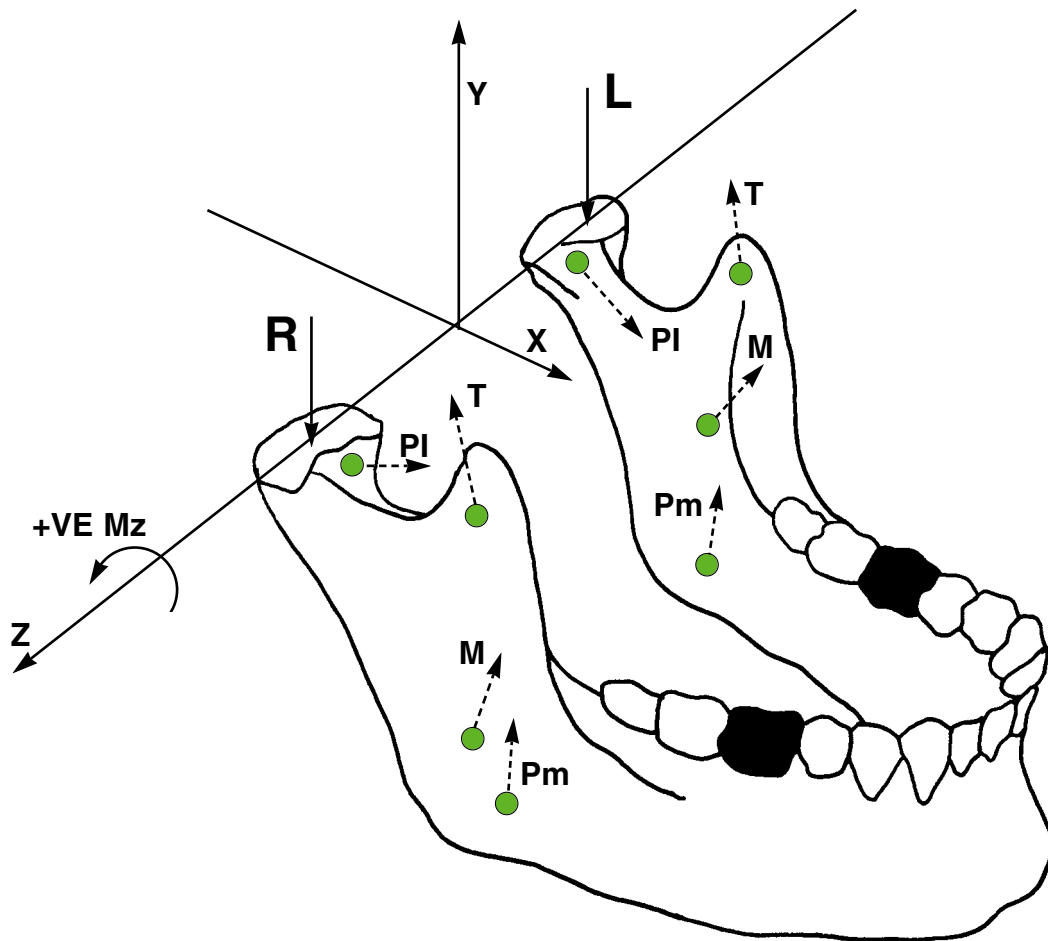
Pro vytvoření sítě konečných prvků jsme užili program pro post a pre procesing metody konečných prvků *Patran v.9*. Následně byla vytvořena síť hexagonálních elementů takzvaným mapováním. Výstupem byl kompletní geometrický MKP model v neutrálním formátu.

Vlastní zatížení MKP modelu bylo aplikováno dle následující tabulky a obrázku, jež byly převzaty z literatury. Síly jednotlivých žvýkacích svalů odpovídají maximálním hodnotám při skusu na zub  $M_1$ .

Tab. 1.: Souřadnice úponů žvýkacích svalů dolní čelisti a orientace odpovídajících svalových sil.

	Úpon			Směrové kosiny			Síla (N)
	x (mm)	y (mm)	z (mm)	cos $\alpha$	cos $\beta$	cos $\gamma$	
m. masseter M	15	- 45	42	0,35	0,91	0,22	210
m. temporalis T	23	- 6	37	- 0,24	0,96	0,12	167
m. pterigoideus lateralis Pl	3	- 7	41	0,7	- 0,14	- 0,7	52
m. pterigoideus medialis Pm	13	- 37	39	0,29	0,83	- 0,48	164
Výslednice				0,236	0,967	- 0,098	496,807
Moment (Nmm)							6440,08

Obr. 3.: Zatížení MKP modelu

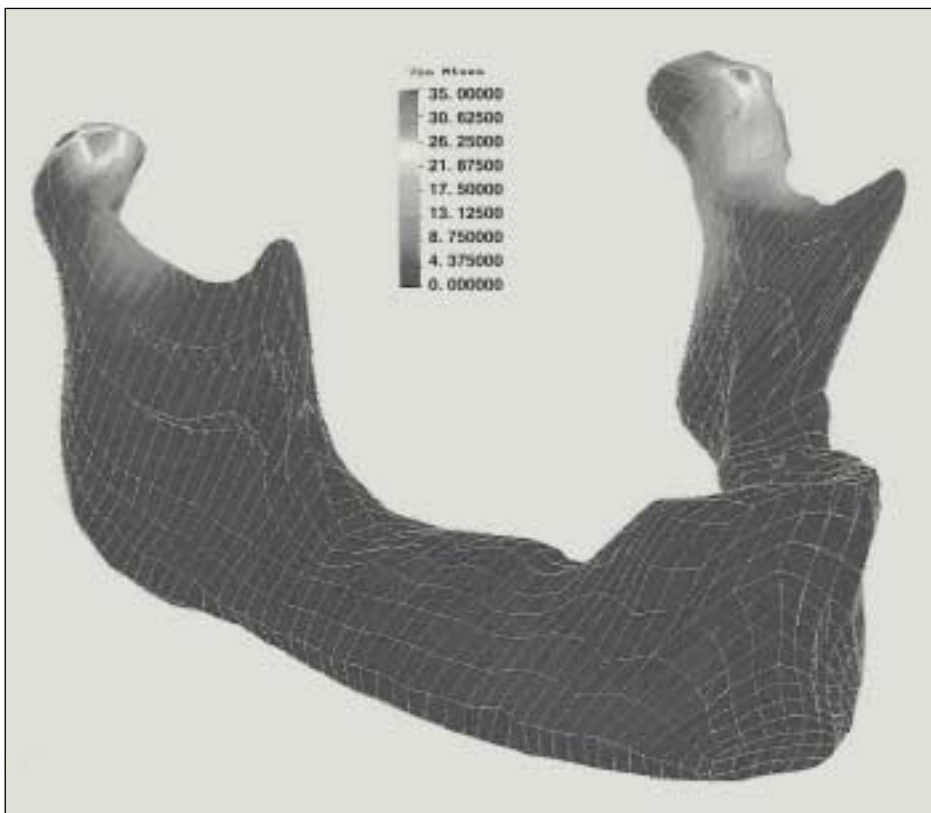


Materiálové vlastnosti kostní tkáně byly přejaty z literatury. Pro jednoduchost jsme uvažovali **Youngův modul pružnosti** v tahu pro spongiosu 210 MPa a **Poissonovu konstantu** /příčná kontrakce/ 0,17.

■ **ad 4:**

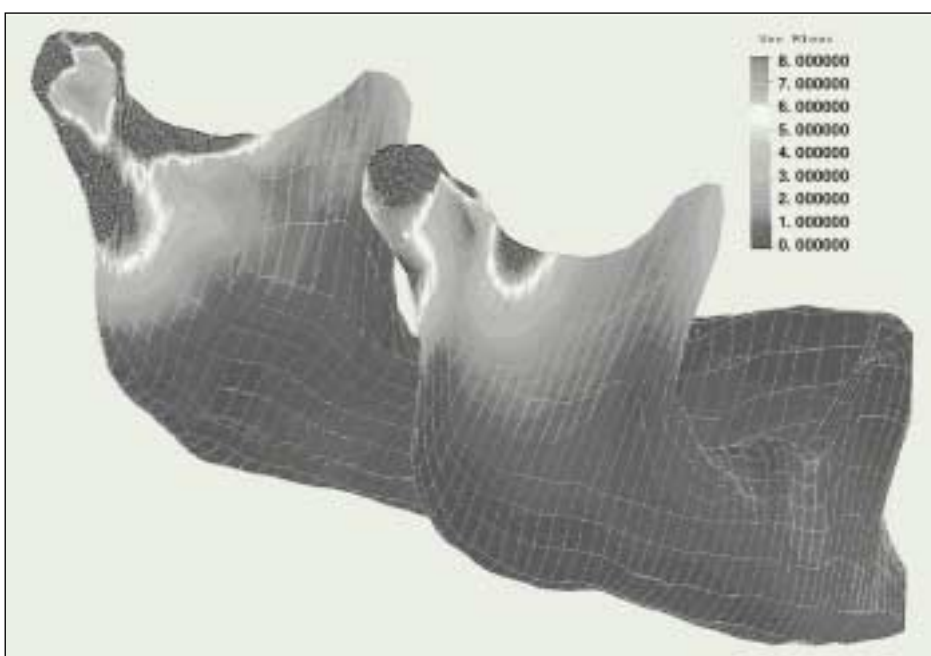
Výpočet byl proveden softwarovým konečněprvkovým balíkem *COSMOS/M v. 2.0*.  
Na níže uvedených obrázcích je zobrazeno pole povrchové napjatosti - kontaktních tlaků dolní čelisti.

Obr. 5.: Pole povrchové napjatosti dolní čelisti - redukované napětí v MPa



Hodnoty maximální napjatosti jsou patrné v laterální částí kloubních ploch. Tyto hodnoty ukazují na oblast s největší potenciální možností poškození intraartikulárního kloubu.

Obr. 6.: Redukované napětí [MPa] při změně rozsahu hodnot zobrazení. Je patrná rozšiřující se oblast napjatosti směrem ke krčku dolní čelisti.





### ■ Diskuse a závěr

Z našeho výpočtu vyplývá, že největší hodnoty napjatosti se nacházejí v laterální oblasti kloubních ploch a to o velikosti okolo 25 MPa. Z výsledků, tj. obrázků jsou sice patrné i vyšší hodnoty, ale tyto hodnoty nelze považovat vzhledem k jejich lokálnímu charakteru za příliš směrodatné.

Z těchto výsledků lze předpokládat, že nejkritičtějším místem čelistního kloubu pro přenos zatížení resp. žvýkacích sil, je právě zmíněná laterální oblast kondylu a disku.

Při změně rozsahu hodnot zobrazení je patrná rozšiřující se oblast zvýšené napjatosti /kritické místo z hlediska pevnosti/ kaudálním směrem až ke krčku dolní čelisti což odpovídá klinické praxi co do četnosti fraktur v této oblasti.

Tento výpočet lze považovat za startovací pro podrobnou analýzu čelistního kloubu se zahrnutím kloubních deformací disku, kloubní jamky a dynamiky pohybu v kloubu.

## LITERATURA

1. *Biomechanika*. J. Valenta a kol. Praha. 1985
2. *Biomechanika člověka*. J. Valenta. Praha. 1997
3. *Three-dimensional finite element analysis of the human temporomandibular joint disc*. M. Beek, J. H. Koolostra a kol. Amsterdam. 1999
4. *Konzervativní léčba TMP*. J. Zemen. Praha. 1999
5. *The finite element metod*. O. C. Zienkiewicz. London. 1989
6. *Diagnostika a terapie nejčastějších poruch čelistního kloubu*, *Doktorská dizertační práce 1999*. J. Krug.



## PREVALENCE KUŘÁCTVÍ A ZNALOSTI TÝKAJÍCÍ SE TABÁKU ZJIŠTĚNÉ MEZI NOVINÁŘI ČESKÝCH DENÍKŮ

Autor: MUDr. Jiří Pešina

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

### ■ Úvod

Kouření je nejvýznamnější preventabilní příčinou smrti na světě. Na nemoci způsobené tabákem umírá nyní v České republice kolem 22 000 osob ročně, to je 60 úmrtí denně. V naší zemi kouří kolem 32 % lidí starších 15 let. Kouření výrazně stoupá u dospívajících a mladých lidí, převážně u žen. Alarmující je, že 8-9 z 10 kuřáků začne kouřit před 18. rokem. Mnoho „teenagerů“ se v tomto věku ještě „hledá“ a upravuje svůj životní styl podle vzorů, které vidí kolem sebe. To si uvědomují i tabákové firmy a jejich reklamy jsou zaměřeny již na děti ve věku 12-14 let. Postoje mediálních pracovníků ke kuřáckému chování jsou zásadní pro pravdivou informovanost občanů každého společenství a v našem státě, ve srovnání s některými západními státy, jistě není situace v tomto směru příznivá.

### ■ Cíle projektu

1. Zjistit prevalenci kouření mezi novináři ve třech významných českých denících.
2. Zjistit znalosti o problematice tabáku a názory novinářů na kouření.
3. Zjistit, zda si novináři uvědomují, že mohou ovlivňovat názory čtenářů.

### ■ Metodika

Výzkum proběhl ve třech českých denících (MLADÁ FRONTA DNES, LIDOVÉ NOVINY, HOSPODÁŘSKÉ NOVINY). Data byla získána pomocí anonymních dotazníků formou řízeného pohovoru, kterého se zúčastnili všichni novináři a editoři přítomní v jednotlivých redakcích. Celkem bylo zpovídáno 118 osob.

Dotazník byl rozdělen na 3 části:

- V úvodní části nás zajímal kuřácký návyk. Dotazování tím byli rozděleni na kuřáky a nekuřáky.

### ANONYMNÍ DOTAZNÍK

Pracuji pro: .....  
název, pracovní pozice, interní zaměstnanec/externí spolupracovník

- Televize .....
- Rozhlas .....
- Píšící novinář(ka) .....

Věk: .....

Pohlaví:      • žena    -    • muž

Kuřácký návyk:

- **pravidelný kuřák**                    /kouří denně/
- **příležitostný kuřák**                /kouří, ale ne denně/
- **bývalý kuřák**                         /dříve kouřil denně, nyní nekouří/
- **nikdy nekouřil**                       /nekouřil buď vůbec nebo méně než 100 cigaret během svého života/
- **bývalý příležitostný kuřák** /nekouřil nikdy denně, ale vykouřil víc než 100 cigaret během svého života/

- Ve druhé části odpovídali pouze kuřáci. Pro objektivizaci závislosti na nikotinu byl proveden Fagerstroemův test.

**Část pouze pro kuřáky:**

V kolika letech jste začal(a) kouřit? . . . . .

Kolik cigaret denně vykouříte? . . . . .

Zkoušel(a) jste přestat?    **ano**    -    **ne**

Kolikrát? . . . . .

Jak dlouho jste nejdéle vydržel(a) nekouřit? . . . . .

Chtěl(a) by jste  
přestat kouřit?    **ano**    -    **ne**

Kdy ?                    • příští měsíc    • příští rok    • později . . . . .

Víte, že existují poradny  
pro odvykání kouření?    **ano**    -    **ne**

Navštívil(a) by jste ambulanci pro odvykání kouření?

**ano**    -    **ne (proč?)** . . . . .

Máte pocit  
psychosociální závislosti?    **ano**    -    **ne**

Máte pocit  
drogové závislosti?    **ano**    -    **ne**

Považujete závislost  
na tabáku za nemoc?    **ano**    -    **ne**

**FTND - Fagerstroemův test závislosti na nikotinu:**

1. Jak brzy po probuzení si zapálíte první cigaretu?
  - do 5 min (3)
  - za 6 - 30 min (2)
  - za 31 - 60 min (1)
  - po 60 min (0)
2. Je pro Vás obtížné nekouřit tam, kde to není dovoleno?
  - ano (1)
  - ne (0)
3. Které cigarety byste se nejméně rád vzdal(a)?
  - té první ráno (1)
  - kterékoli jiné (0)
4. Kolik cigaret denně kouříte?
  - 10 nebo méně (0)
  - 11 - 20 (1)
  - 21 - 30 (2)
  - 31 a víc (3)
5. Kouříte více v prvních hodinách dne po probuzení než ve zbytku dne?
  - ano (1)
  - ne (0)
6. Kouříte, i když jste nemocný(á) tak, že strávíte většinu dne na lůžku?
  - ano (1)
  - ne (0)

**SOUČET** .....

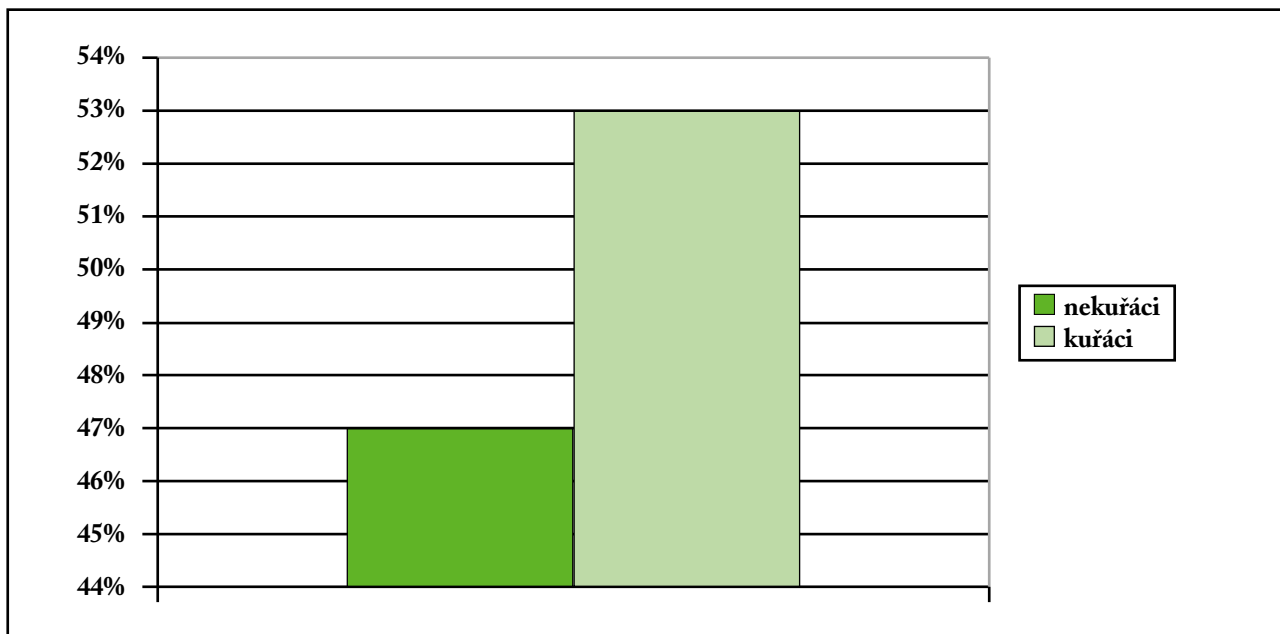
- Závěrečná část byla společná pro kuřáky i nekuřáky. Otázky zjišťovaly rozsah znalostí o problematice tabáku.

**Společná část pro kuřáky i nekuřáky:**

- Na jakou věkovou skupinu je cílena reklama na tabák? .....
- .....
- V kolika letech se většinou začíná kouřit? .....
- Kolik procent kuřáků je podle Vás drogově závislých na nikotinu? .....
- Jakým způsobem lze podle Vás léčit závislost na nikotinu? Kdo by měl léčbu vést? .....
- .....
- Znáte některé formy náhradní terapie nikotinem? .....
- .....
- Jaké nemoci způsobuje tabák? (% ?) .....
- .....
- O kolik let průměrně zkracuje kouření život? .....
- Na jakou nemoc umírá většina kuřáků? .....
- Kolik % úmrtí u nás způsobuje tabák? .....
- Myslíte si, že ze své pozice máte možnost ovlivnit názory lidí (diváků, posluchačů, čtenářů) na kouření?  
Do jaké míry? .....

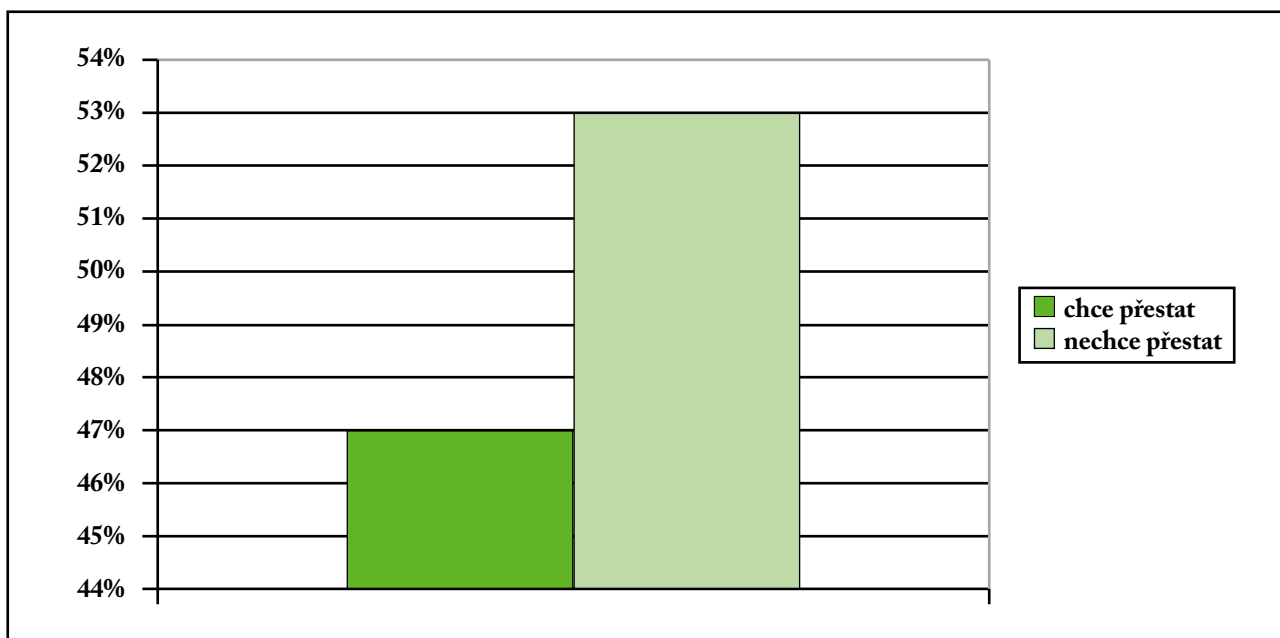
**Výsledky**

Z celkového počtu 118 novinářů a editorů bylo 53 % kuřáků a 47 % nekuřáků.



N=118

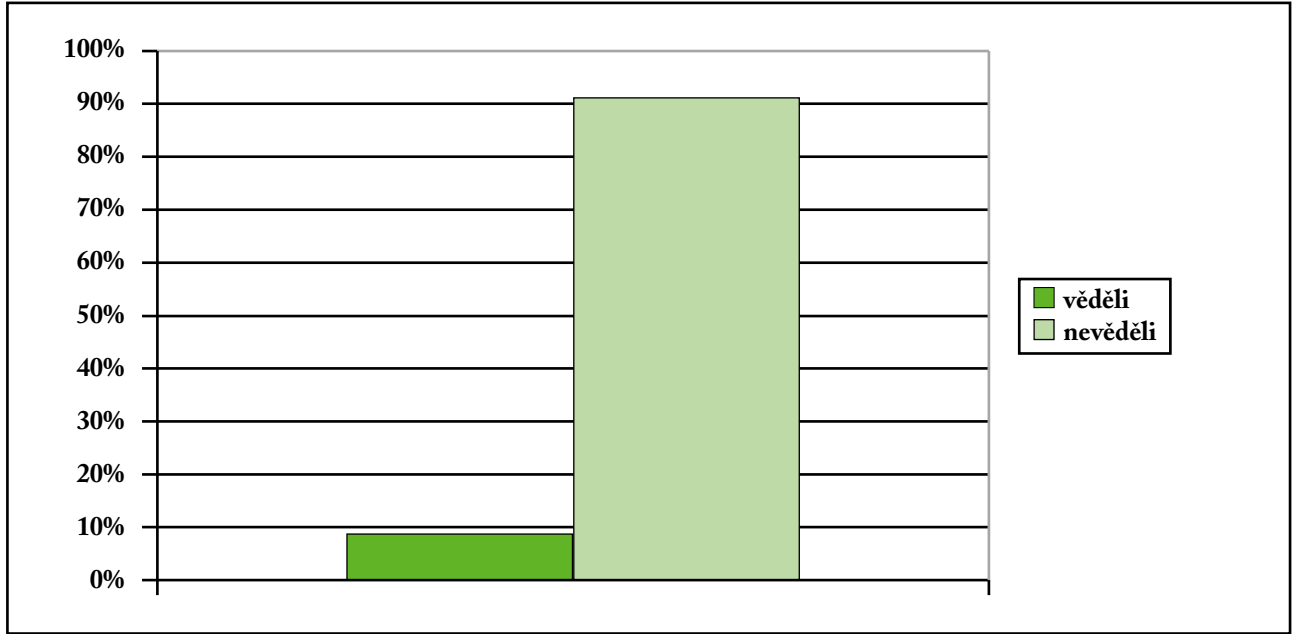
Z 62 kuřáků by 47 % chtělo přestat kouřit.



N=62

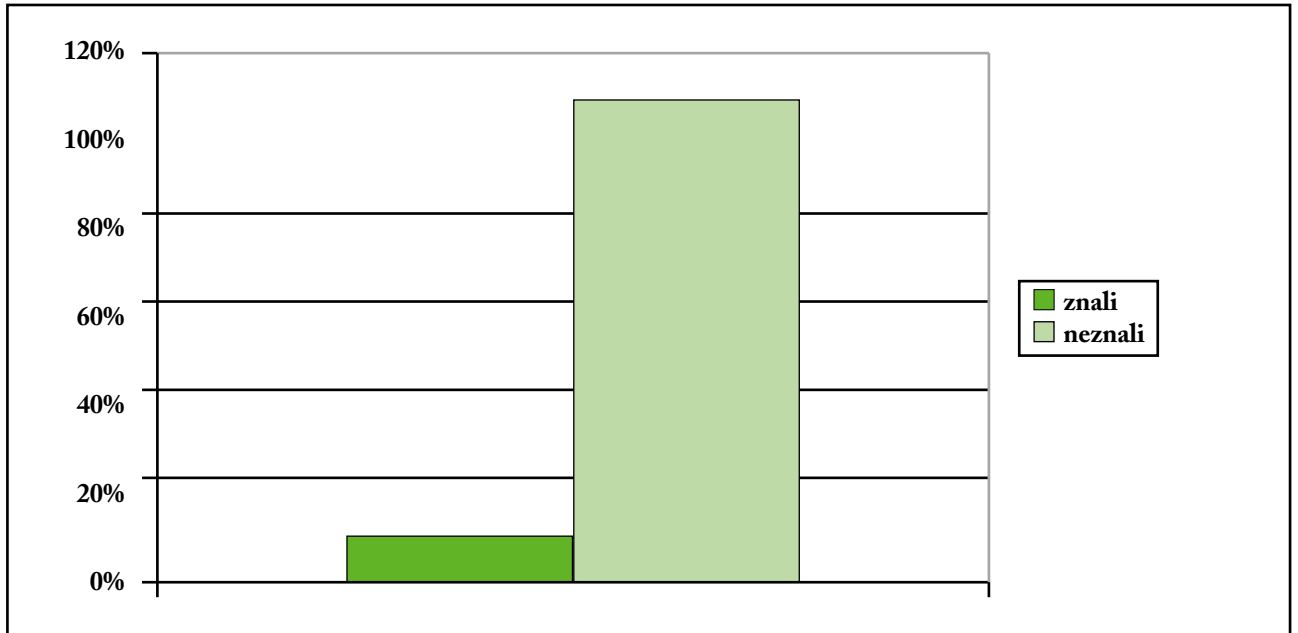


Pouze 8,5 % dotazovaných vědělo, že tabáková reklama je cílena na věkovou skupinu 12-14 let.



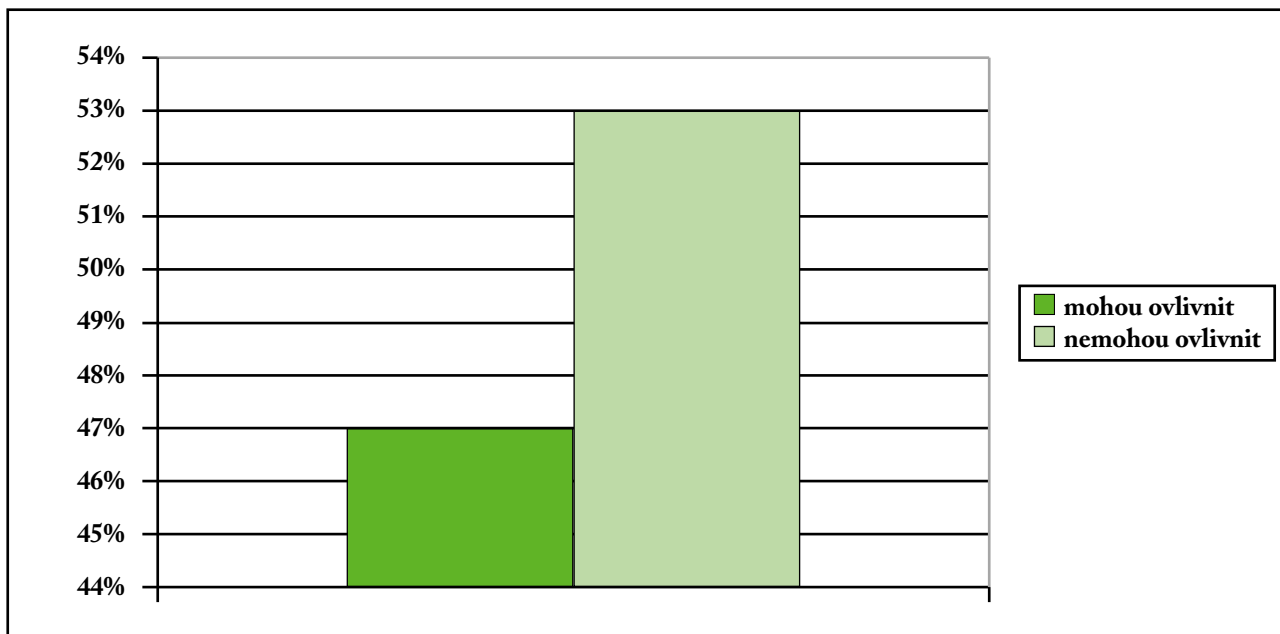
N=118

Tři procenta novinářů neznala ani jednu nemoc, kterou způsobuje tabák.



N=118

Pouze necelých 47 % redaktorů a editorů si o sobě myslí, že mohou ovlivňovat názory čtenářů.



N=118

#### ■ Závěr

Prevalence kouření byla mezi zpovídanými novináři o 1/5 vyšší než prevalence kouření populace v České republice. Někteří novináři si myslí, že kouření nemůže žádným způsobem poškodit lidské zdraví. Více než polovina redaktorů je přesvědčena, že nemůže ovlivnit názor čtenáře na daný problém tím, co ve svých článcích napíše. Tato zjištění jsou velmi alarmující, neboť média mohou ovlivňovat postoje mládeže i obyvatel našeho státu ke správnému chápání závažnosti problému kuřáctví a jeho vlivu na zdraví populace.

Pozitivní je, že všechny tři deníky, které se výzkumu zúčastnily, projevily zájem o výsledky a chtějí uspořádat semináře o problematice kouření pro své novináře a editory.





---

Zpracovalo Odd. vnějších vztahů UK v Praze - 1. LF  
Mgr. Vlasta Helekalová  
Ilustrace a návrh obálky ak. mal. Ivan Helekal  
Grafická úprava, sazba a litografie:  
PM reklamní a hudební agentura