

# 9. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE



KONANÁ DNE 21. KVĚTNA 2008  
POD ZÁŠTITOU DĚKANA 1. LF UK  
PROF. MUDR. TOMÁŠE ZIMY, DRSC., MBA

# 9. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE



KONANÁ DNE 21. KVĚTNA 2008

POD ZÁŠTITOU DĚKANA 1. LF UK  
PROF. MŮDR. TOMÁŠE ZIMY, DRSC., MBA

|                           |   |
|---------------------------|---|
| Slovo úvodem .....        | 3 |
| Pozvánka .....            | 4 |
| Seznam účastníků.....     | 6 |
| Hodnotitelská komise..... | 8 |

### ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

|  |    |
|--|----|
| Sekce pregraduální – teoretická část.....    | 10 |
| Sekce pregraduální – klinická část .....     | 16 |
| Sekce postgraduální – teoretická část.....   | 20 |
| Sekce postgraduální – klinická část I. ....  | 34 |
| Sekce postgraduální – klinická část II. .... | 46 |
| Sekce nelékařská – ošetrovatelská .....      | 56 |

### VÍTĚZNÉ PRÁCE IN EXTENSO

|  |            |
|--|------------|
| <b>Sekce pregraduální – teoretická část .....</b>  | <b>62</b>  |
| Vliv metabolitů glykolýzy na mitochondriální energetiku – Jan Škrha jr. ....   | 63         |
| Studium metabolismu sírných aminokyselin u caenorhabditis elegans: charakterizace rekombinantní cysteinsynthasy – Roman Vozdek .....         | 64         |
| The role of shrew-1 gene in human glioblastoma multiforme cells – Nikol Mládková.....  | 67         |
| <b>Sekce pregraduální – klinická část .....</b>  | <b>70</b>  |
| Výskyt aneuploidních embryí v souvislosti s věkem matky – Iva Ullmanová .....  | 71         |
| Přínos databázových aplikací v klinickém výzkumu – Bc. Zdeněk Telička .....  | 74         |
| Linka pro odvykání kouření – významná součást nabídky léčby závislosti na tabáku – Michal Vojta.....   | 77         |
| <b>Sekce postgraduální – teoretická část.....</b>  | <b>82</b>  |
| Snf2h regulates heterochromatin structure and global transcription – RNDr. Jarmila Podskočová .....  | 83         |
| Proteiny extracelulární matrix významně ovlivňují viabilitu a proliferaci glomerulárních podocytů – MUDr. Jan Krtíl .....                    | 87         |
| Aktivace kaspáz při infekci buňky virem vakcínie – Jana Lišková .....  | 88         |
| <b>Sekce postgraduální – klinická část I. a II.....</b>  | <b>90</b>  |
| Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně – MUDr. Lenka Bošanská ..... | 91         |
| Deformace skeletu a jeho třídimenzionální náhrady – Radek Jirman .....   | 92         |
| Vztah n. a a. obturatoria k operační léčbě inkontinence – Petr Hubka .....   | 93         |
| Sledování klonálního vývoje u chronické b-lymfocytární leukémie metodou interfázní fluorescenční in situ hybridizace – Adéla Berková.....    | 94         |
| <b>Sekce nelékařská – ošetrovatelská</b>   |            |
| Napadení zdravotnických záchranářů v ČR – Jaroslav Pekara.....   | 97         |
| Vliv typu polymerační lamby na vytvrzení kompozitních materiálů s různým mechanismem polymerace – Jan Froněk.....                            | 99         |
| Stanovení aktivity lymfocytů periferní krve nepodných žen – Bc. Petra Příbylová .....  | 100        |
| <b>Zvláštní ceny .....</b>   | <b>104</b> |

Zpracovalo Oddělení vnějších vztahů 1. LF UK

Vydalo nakladatelství Galén, Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5 jako účelovou publikaci 1. LF UK v Praze

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

Fotografie Mgr. Karel Meister

Sazba Vašek Zúkal, Galén

Tisk GLOS, Špidlenova 436, 513 01 Semily

ISBN 978-80-7262-??-?



Vážené kolegyně, vážení kolegové,

dostává se Vám do rukou sborník 9. ročníku studentské vědecké konference, konané na 1. lékařské fakultě UK.

Studentská vědecká konference si klade za hlavní cíl naučit studenty pregraduální a postgraduální formy studia, prezentovat svoje první výsledky vědecké práce a snažit se jejich výsledky v diskuzi obhájit. Studenti budou jednou na naši práci navazovat a rozvíjet ji.

Tradice vědeckých konferencí, která byla obnovena a její letošní konání jen potvrdilo, že tento krok pro podporu rozvoje tvůrčího potenciálu pregraduálních, postgraduálních a také studentů bakalářských oborů byl krokem správným. V letošním roce se nekonala posterová sekce, neboť podstatou vědecké práce je její obhajoba a především diskuze, která může podnitit k dalšímu jejímu rozvoji. Účast na studentské vědecké konferenci byla opět zařazena mezi volitelné předměty.

Letošní 9. ročník studentské vědecké konference byl mimořádný počtem přihlášených prací – bylo jich celkem 82. Kvalita všech přihlášených prací, včetně sekce nelékařských oborů, byla i tentokrát velmi dobrá. Byl bych velmi rád, kdyby se v budoucnu na těchto konferencích prezentovali více pregraduální studenti a získali tak jistotu pro prostředí vědeckých kongresů, kterých se budou v budoucnosti účastnit.

Bylo oceněno celkem 16 vítězných prací a byly uděleny 3 zvláštní ceny. Pro vybrané vítěze udělovaly ceny redakce Medical Tribune, Zdravotnických novin a nakladatelství Galén s. r. o., nakladatelství Grada Publishing a. s., ESF a Nadační fond VFN. Nejlepší práce postoupí do celostátního kola, které se bude konat na podzim roku 2008.

Dovolte mi, abych poděkoval za práci předsedům a všem členům hodnotících komisí a také pracovním oddělení pro vědeckou činnost a oddělení vnějších vztahů 1. LF, které se na přípravě letošní studentské konference podílely.

Chci poděkovat Nadačnímu fondu VFN, nakladatelství Galén, s. r. o., nakladatelství Grada Publishing a. s., ESF, redakci Medical Tribune a redakci Zdravotnických novin za podporu naší studentské konference zajímavými cenami pro nejlepší autory.

Zejména bych rád poděkoval všem učitelům, kteří se pregraduálním a postgraduálním studentům věnují po celý rok a zasvěcují je do krásy bádání a objevování nepoznaného. Objevování neznámého je touhou člověka od počátku jeho existence. Uvědomme si, že i malé objevy zapadají do mozaiky světového poznání a přispívají k obohacení lidského společenství.

Přeji všem studentům, kteří se zúčastní celostátního kola mnoho úspěchů a nám všem, aby i budoucí ročníky studentské vědecké konference na naší 1. lékařské fakultě byly stejně tak úspěšné, jako byl ten letošní.

*prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA  
děkan Univerzity Karlovy v Praze, 1. lékařské fakulty*



*Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, děkan Univerzity Karlovy v Praze, 1. lékařské fakulty.*

## 9. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE 1. lékařské fakulty

konaná pod záštitou děkana 1. LF  
prof. MUDr. Tomáše Zimy, DrSc., MBA  
21. května 2008

Univerzita Karlova v Praze  
1. lékařská fakulta

**9. studentskou vědeckou konferenci zahájí děkan 1. lékařské fakulty** prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA  
dne 21. 5. 2008 v 8.00 hodin v posluchárně IV. interní kliniky 1. LF a VFN, U Nemocnice 2, Praha 2.

**Studentská vědecká konference bude uspořádána ve třech sekcích:**

**Sekce postgraduálních prací, sekce pregraduálních prací a sekce nelékařských prací – ošetřovatelství a adiktologie.**

**SEKCE PREGRADUÁLNÍCH PRACÍ – část teoretická a část klinická**

bude probíhat 21. května 2008 od 8.15 hodin v posluchárně Ústavu nukleární medicíny 1. LF a VFN, Salmovská 3, Praha 2.  
Prezentace proběhne na základě hodnocení komise formou přednášky.

**SEKCE POSTGRADUÁLNÍCH PRACÍ – část teoretická**

bude probíhat 21. května 2008 od 8.15 hodin v posluchárně IV. interní kliniky 1. LF a VFN, U Nemocnice 2, Praha 2.  
Prezentace proběhne na základě hodnocení komise formou přednášky.

**SEKCE POSTGRADUÁLNÍCH PRACÍ – část klinická**

bude probíhat 21. května 2008 od 8.15 hodin v posluchárně Oční kliniky 1. LF a VFN, U Nemocnice 2, Praha 2.  
Prezentace proběhne na základě hodnocení komise formou přednášky.

**SEKCE NELÉKAŘSKÝCH PRACÍ – ošetřovatelství a adiktologie**

bude probíhat 21. května 2008 od 8.15 hodin v posluchárně Ústavu nukleární medicíny 1. LF a VFN, Salmovská 3, Praha 2.  
Prezentace proběhne na základě hodnocení komise formou přednášky.

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.

**Účastníky konference žádáme, aby si přinesli svůj osobní notebook.**

K pozvánce je přiložen časový harmonogram jednotlivých vystoupení.

*prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.*  
*proděkan pro vědeckou činnost, akreditaci a evaluaci*

*prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA*  
*děkan Univerzity Karlovy, 1. lékařské fakulty*

### **Veškeré informace o konání SVK:**

Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky 1. LF  
Karolína Havelková, tel. 22496 4330, e-mail: karolina.havelkova@lf1.cuni.cz

**Přijměte, prosím pozvání na slavnostní vyhlášení výsledků 9. studentské vědecké konference 1. LF, které se bude konat dne 5. 6. 2008 ve 14.00 hod. v Akademickém klubu 1. LF, Faustův dům, Karlovo nám. 40, Praha 2.**

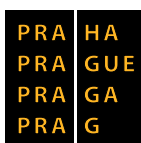
*prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA*  
*děkan Univerzity Karlovy, 1. lékařské fakulty*

# 1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UK DĚKUJE SPONZORŮM KONFERENCE

NADAČNÍMU FONDU VŠEOBECNÉ FAKULTNÍ NEMOCNICE



**Zdravotnické  
noviny**



Projekt je financován Evropským sociálním fondem,  
státním rozpočtem ČR a rozpočtem hlavního města Prahy.

# SEZNAM ÚČASTNÍKŮ

## SEKCE PREGRADUÁLNÍ – ČÁST TEORETICKÁ

Grosu Stanislav  
Mládková Nikol, 5. r.  
Pleticha Josef, 4. r.  
Provazník Zdeněk, 2. r.  
Rulseh Aaron, 5. r.  
Škrha Jan jr., 5. r.  
Vozdek Roman, 5. r.

## SEKCE PREGRADUÁLNÍ – ČÁST KLINICKÁ

Rotaru Dorin  
Rotaru Adrian  
Vojta Michal, 5. r.  
Telička Zdeněk, Bc.  
Ullmanová Iva

## SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – ČÁST TEORETICKÁ

Bártlová Markéta, Mgr.  
Broučková Adéla, Ing.  
Cvačková Zuzana, Mgr.  
Černý Dalibor, PharmDr.  
Dvořáková Eva, Mgr.  
Hnízda Aleš, Ing.  
Hoffmannová Jiřina, MUDr.  
Hrdý Jiří, Mgr.  
Kaválková Petra, Mgr.  
Klieščíková Jarmila, MUDr.  
Kopecká Jana, Ing.  
Krtíl Jan, MUDr.  
Krupková Michaela, Mgr.  
Lišková Jana, Mgr.  
Mateják Marek, Mgr.  
Melkusová Petra, Ing.  
Moravčíková Veronika, Mgr.  
Nováková Martina, MUDr.  
Podskočová Jarmila, RNDr.  
Spišáková Martina, Mgr.  
Stodulka Petr, Mgr.  
Šimonová Tereza, Mgr.  
Uzlíková Magdalena, Mgr.  
Vacek Ondřej, Ing.  
Zanvit Petr, Mgr.  
Zelenka Jaroslav, Ing.  
Žuchová Svetlana, MUDr.

## SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – KLINICKÁ ČÁST – SEKCE I

Bošanská Lenka, MUDr.  
Bartovská Zofia, MUDr.  
Bouček Jan, MUDr.  
Bradáč Ondřej, MUDr., Mgr.  
Douša Miroslav MUDr.  
Dušejovská Magdaléna, MUDr.  
Fraško Roman, MUDr.  
Holinka Štěpán, Ing.  
Hubka Petr, MUDr.  
Jatchvliani Dato, MUDr.  
Kalvoda Jan, MUDr.  
Kotilová Libuše, MUDr.  
Luchavová Márie, MUDr.  
Macášek Jaroslav, MUDr.  
Mudrová Eliška, MUDr.  
Novák František, MUDr.  
Rathous Ivo, MUDr.  
Rosa Ján, MUDr.  
Sulek Štěpán, MUDr.  
Ščerbanovská Petra, MUDr.  
Šromová Lucie, Mgr.  
Špaček Miroslav, MUDr.  
Šupová Renata, Mgr.  
Trča Stanislav, MUDr.

## SEKCE POSTGRADUÁLNÍ – KLINICKÁ ČÁST – SEKCE II

Ali Chadi, MUDr.  
Barnincová Lenka, MSc.  
Berková Adéla, MUDr.  
Bízík Gustáv, MUDr.  
Fornůstková Daniela, Mgr.  
Habara Peter, MUDr.  
Jirman Radek, MUDr. Ing.

Langrová Kateřina, MUDr.  
Linetskiy Igor, D.M.  
Pejznochová Martina, Mgr.  
Prokopová Veronika, Mgr.  
Ptáček Radek, PhD., Ph.D.  
Ptáček Radek, PhD., Ph.D.  
Seidler Viktor, MUDr.  
Tomka Milan, MUDr.

## SEKCE NELÉKAŘSKÝCH – OŠETŘOVATELSKÝCH PRACÍ

Froněk Jan, 3. r.  
Pekara Jaroslav, 1. r.  
Příbylová Petra, Bc., 1. r.  
Šancová Petra, 4. r.





# HODNOTITELSKÉ KOMISE

## PREGRADUÁLNÍ SEKCE

### ČÁST TEORETICKÁ

předseda: **prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.**  
členové: doc. MUDr. Zdeněk Susa, CSc.  
doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc.

### ČÁST KLINICKÁ

předsedkyně: **doc. MUDr. Jarmila Procházková, CSc.**  
členové: prof. MUDr. Miloš Langmeier, DrSc.  
prof. MUDr. Richard Češka, CSc.

### ČÁST NELÉKAŘSKÁ – OŠETŘOVATELSKÁ

předsedkyně: **Mgr. Dana Jurásková, MBA**  
člen: doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.

## POSTGRADUÁLNÍ SEKCE

### ČÁST TEORETICKÁ

předseda: **prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.**  
členové: doc. MUDr. Drahomíra Křenová, CSc.  
prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.

### ČÁST KLINICKÁ I.

předseda: **prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.**  
členové: prof. MUDr. Sixtus Hynie, DrSc.  
doc. MUDr. Pavel Maruna, CSc.

### ČÁST KLINICKÁ II.

předsedkyně: **doc. MUDr. Jarmila Procházková, CSc.**  
členové: prof. MUDr. Miloš Langmeier, DrSc.  
prof. MUDr. Richard Češka, CSc.



V

# SEKCE PREGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ

## ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Mládková Nikol, 5. r.
- Pleticha Josef, 4. r.
- Provazník Zdeněk, 2. r.
- Rulseh Aaron, 5. r.
- Škrha Jan jr., 5. r.
- Vozdek Roman, 5. r.

## HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.**

členové: doc. MUDr. Zdeněk Susa, CSc.

doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc.

**THE ROLE OF SHREW-1 GENE IN HUMAN GLIOBLASTOMA MULTIFORME CELLS****Author:** Nikol Mládková, 5. roč.**Supervisor:** David Cory Adamson, Molecular Neuro-Oncology Laboratory, Duke University Medical Center**Objective:** I performed series of experiments to monitor change in proliferation, migration and adhesion in human glioblastoma multiforme (GBM) cell lines due to SHREW-1 gene knock-down.**Introduction:** Tumors of the central nervous system are the second commonest tumors in children and the sixth commonest in adults. GBM accounts for 30% of all primary tumors in adults. Survival is usually less than a year. Shrew-1 is a novel membrane protein involved in adherens junctions. It is not expressed in about 20% of human glioblastoma multiforme tumors. The suppression of the gene may change clinically relevant cell behavior.**Methods:** SHREW-1 was knocked down in U-251 cell line using RNA interference and confirmed by cDNA synthesis and PCR. Proliferation was measured using MTT Proliferation Assay in five-day time course, cell migration was measured using Wound Assay and Transwell Migration Assay toward Growth Factor in six- and twelve-hour time course, cell adhesion was measured on laminin coated wells.**Results:** The proliferation rate of U-251 cell line was lower in SHREW-1 knock-down (KD) cells compared to control. The average proliferation ratio of control cells compared with KD cells is 1,56x higher in five-days time course. The transwell migration study showed 1,83x higher average ratio of cell migration after 6 hours in KD cells compared to control. In 12 hours, the average ratio of cell migration would be 1,23x higher in KD cells compared to control. The Wound Assay showed that KD cells do not heal within 48 hours while control cells fully healed at this time point. The adhesion to laminin of KD cells is 1,23x higher compared to control.**Conclusions:** Shrew-1 loss decreases proliferation of U-251 cells, it enhances migration in transwells, however it decreases migration in Wound Assay, probably due to loss of cell polarity and possibly change in proliferation. It also changes the adhesion of the cells to extracellular matrix protein – the KD cells are more prone to adhere to laminin coated wells.**ZMĚNY V DOPAMINERGNÍ TRANSMISI U DVOU KMENŮ MYŠÍ S OLIVOCEREBELÁRNÍ DEGENERACÍ****Autor:** Josef Pleticha, 4. roč.**Školitel:** doc. MUDr. Jaromír Mysliveček, Ph.D., Fyziologický ústav 1. LF UK**Úvod:** Mutantní myši typu Lurcher jsou postiženy funkční mutací  $\delta 2$  glutamátových receptorů, které jsou exprimovány především v Purkyňových buňkách, následkem čehož je ataxie. Cílem této práce bylo objasnit změny v dopaminergním systému způsobené touto mutací u mutantů B6CBA a C3H Lurcher.**Metodika:** Sledovali jsme behaviorální účinek (prostorové učení) aktivace a inhibice  $D_1$  dopaminergních receptorů, vazbu na  $D_1$ -like ( $D1R$ ) a  $D_2$ -like ( $D2R$ ) dopaminové receptory ve striatu, mozečku a hipokampu a aktivitu adenylátcyklázy v hipokampech u kmene B6CBA. V hipokampech kmene B6CBA jsme mimoto i stanovovali počet vazebných míst NMDA receptorů.**Výsledek:** Mutantní myši vykazovaly zhoršené prostorové učení, ale oba kmeny myší reagovaly shodně na podání agonisty (beze změny) a antagonisty (zhoršení)  $D1R$ . V hipokampu byla u kmene B6CBA nalezena zvýšená denzita obou typů receptorů (o 288% u  $D_1$ -like a o 411% u  $D2R$ ), zatímco u kmene C3H pouze  $D1R$  (o 143%). V mozečku byla u kmene B6CBA denzita  $D_1$ -like dopaminergních receptorů snížena (o 66%), zatímco denzita  $D_2$ -like byla nezměněna. Ve striatu se počet obou typů receptorů také nelišil. V hipokampech Lurcher mutantů kmene B6CBA jsme našli zvýšení počtu vazebných míst NMDA receptorů a zvýšenou bazální hladinu cAMP. Naproti tomu aktivita adenylátcyklázy se po podání  $D_1$ -like agonisty (SKF-38393) se u Lurcher mutantů, na rozdíl od kontrolních zvířat, již dále proti basální hladině nezvyšovala.**Závěr:** Tyto výsledky ukazují, že dopaminergní receptorový systém hraje důležitou roli při adaptaci na olivocerebelární degeneraci a že změny v učení mohou být dány změnami dopaminergní transmise v hipokampu.**MORFOMETRIE HEPATOCYTŮ – KRITERIUM VLIVU HEPATOTOXICKÝCH A HEPATOPROTEKTIVNÍCH LÁTEK****Autor:** Zdeněk Provazník, 2. roč.**Školitel:** prof. MUDr. Jindřich Martínek, DrSc., Ústav pro histologii a embryologii 1. LF UK

Vzhledem k metabolickým a detoxikačním aktivitám představují hepatocyty častý modelový systém v experimentech. Chtěli jsme ověřit, zda morfometrie hepatocytů poskytne kritérium změn po podání různých látek a její kvantifikovaná data podpoří cytologické nálezy při řešení VZ MSM 0021620807.

Byly vyšetřovány velikosti hepatocytů „in situ“, v agarosovém vláknu bioreaktoru a v primární kultuře. Fixováno bylo v 4% PFA v PBS (pH 7,4). Po postfixaci  $OsO_4$  byly vzorky jater i vlákna z bioreaktoru zalaty do Eponu 812. Poloténké řezy barvené toluidinovou modří byly morfometricky hodnoceny. Primární kultura byla hodnocena přímo na krycích sklech. Detekce apoptózy či nekrózy značenou protilátkou proti fosfatidyserinu (Annexin-V:FITC) v kombinaci s propidium jodidem ověřovala cíle pokusu, a to vliv hepatotoxických látek jako jsou lipopolysacharidy (LPS), D-galaktosamin (D-gal) a tert butyl hydroperoxid (tBH) jako spouštěčů apoptózy/nekrózy a tumor necrosis factoru- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) pro její receptorovou inicializaci. Jako hepatoprotektiva slou-

žily silymarin (SIL) a resveratrol (RSV). Parametry hepatocytů byly stanoveny v přímém zvětšení 630 x, Leica DMLB, kamera DC 300, v programu IM 500. Získaná data byla statisticky zpracována a vyhodnocena pomocí t-testu.

Porovnání ukázalo již u kontrolních vzorků rozdíl velikosti hepatocytů primární kultury oproti zbývajícím. To odpovídá odlišnému „chování“ buněk v kultuře v porovnání s podmínkami „in situ“ i v bioreaktoru. Prokázali jsme, že hepatoprotektivní i hepatotoxické látky vyvolávají zvětšení buněk v porovnání s kontrolní skupinou. Vysvětlení lze hledat v akumulaci inkluzí v cytoplazmě, jak je tomu u LPS s kapénkami lipidů, ale především ve změně membránového transportu osmoticky aktivních iontů s nasátím tekutiny (D-gal a tBH). Kombinovaný vliv LPS a DG byl nejmarkantnější, ale na jaterním lalůčku byla prokázána nejrychlejší restituce změn v periferní zóně. Použití tBH vykazuje rovněž zvětšení buněk při cytologickém obrazu segregace organel z periferní cytoplazmy, který neovlivnilo ani použití hepatoprotektiv. Vliv TNF- $\alpha$  nejen stimuloval apoptózu, ale zároveň vedl ke zvětšení hepatocytů, jak prokázala pozitivní imunoflorescence, zatímco u buněk neapoptotických se velikost statisticky významně nelišila od kontrolní skupiny.

### EVOLVING SPECTRUM OF FOODBORNE INFECTIONS

**Author:** AARON RULSEH, 5. roč.

**Supervisor:** Prof. Vladimír Bencko, MD, DrSc., Institute of Hygiene and Epidemiology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

**Introduction:** More than 200 diseases are now known to be transmitted through food, and it is estimated that from 30-65% of the population of industrialized countries suffer from acute gastrointestinal infection annually. Although foodborne infection has been a health concern for thousands of years, the spectrum of pathogens causing foodborne infections is continuously evolving. To develop effective control measures, including prevention and rapid response, an understanding of the factors contributing to the emergence of foodborne pathogens is necessary. Here we examine those contributing factors and their influence on select emerging pathogens.

**Methods:** Meta-analysis of current literature.

**Results:** Several factors have been found to influence the emergence of foodborne pathogens, including: travel and migration, changes in food supply, sensitive sub-populations (elderly, and especially immunocompromised), and also environmental factors. The combined influence of these factors have affected the emergence of *S. spp.*, most notably *S. enteritidis*, and this pathogen remains one of the most frequently implicated in foodborne infections today. *C. jejuni* has surpassed *S. spp.* in many studies and regions of the world as the pathogen most frequently responsible for foodborne infections, in part due to changes in food supply, environmental factors, and also preventive and response measures affecting *Salmonellae*. *L. monocytogenes* remains an important emerging foodborne pathogen due to the high morbidity and mortality associated with infections; changes in food supply, sensitive sub-populations, environmental factors and viability at low temperatures have all influenced its emergence.

**Conclusion:** The spectrum of foodborne infections is continuously evolving, and the synergy of many factors influences the emergence of foodborne pathogens. By understanding the factors contributing the emergence of pathogens, it is hoped that more effective prevention and response programs may be developed.

**Keywords:** Foodborne Infections, Emerging, *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*.

### VLIV METABOLITŮ GLYKOLÝZY NA MITOCHONDRIÁLNÍ ENERGETIKU

**Autor:** Jan Škrha jr., 5. roč., Juraj Gáll, Eva Sedláčková, Richard Buchal, Jan Pláteník

**Školitel:** MUDr. Jan Pláteník, Ph.D., Ústav lékařské biochemie 1. LF UK

**Úvod:** Významnou úlohu v patogenezi dlouhodobých komplikací diabetes mellitus hraje mitochondriální produkce kyslíkových radikálů v důsledku zvýšené oxidace glukózy. V této práci se zabýváme efektem metabolitů glykolýzy na energetiku a otvírání megakanálu ve vnitřní mitochondriální membráně (MPT, mitochondrial permeability transition).

**Metodika:** Mitochondrie byly izolovány z potkaních jater klasickým postupem subcelulární frakcionace. Změny potenciálu vnitřní mitochondriální membrány byly měřeny pomocí fluorescenční sondy JC-1, paralelně bylo detekováno bobtnání mitochondrií (MPT) jako pokles rozptylu světla při 504 nm. Mitochondrie byly energizovány sukcinátem s přídatkem rotenonu (inhibitor komplexu I), příp. malátem + pyruvátem. Následně byl studován efekt dvou koncentrací (5 mmol/l a 30 mmol/l) glukózy, glukóza-6-fosfátu (nebo glukózy + ATP + Mg), fruktóza-6-fosfátu a glukóza-1-fosfátu. K indukci MPT bylo použito  $\text{CaCl}_2$ . Mitochondrie byly také preinkubovány 5 hodin s glukózou (5 mmol/l a 30 mmol/l) a poté zpracovány stejným způsobem. K ověření vlivu Glut1 transportéru v mitochondriální membráně na sledované proměnné byl použit Cytochalasin B (inhibitor Glut1).

**Výsledek:** Mitochondrie energizované oběma substráty udržovaly stabilní membránový potenciál po celou dobu měření. Glukóza, glukóza-6-fosfát a fruktóza-6-fosfát neměly žádný vliv na kalcium indukované MPT, glukóza-1-fosfát možná působí jako slabý inhibitor MPT. Metabolity glukózy byly použity jako draselné soli. Sodná sůl glukóza-6-fosfátu působila dramatické bobtnání a depolarizaci. Preinkubace mitochondrií s glukózou také nevedla ke změnám energetiky ani indukce MPT. Kombinace glukózy s ATP a Mg, které umožňuje tvorbu glukóza-6-fosfátu v reakční směsi, ani inhibice Glut1 cytochalasinem B nezpůsobily odchylky membránového potenciálu ani bobtnání.

**Závěr:** Získané výsledky nesvědčí pro přímý vliv glukózy a fosforylovaných hexóz z glykolýzy na bazální bioenergetiku nebo kalcium indukované otvírání megakanálu v izolovaných jaterních mitochondriích. Dramatický efekt sodných iontů je zřejmé

způsoben aktivací Na/Ca výměnného systému. V dalších pokusech chceme spektrum testovaných metabolitů glykolýzy rozšířit o krátké aldehydy (glyceraldehyd-3-fosfát a metylglyoxal).

## STUDIUM METABOLISMU SIRNÝCH AMINOKYSELIN U CAENORHABDITIS ELEGANS: CHARAKTERIZACE REKOMBINANTNÍ CYSTEINSYNTHASY

**Autoři:** Vozdek Roman, 5. roč., Hnízda Aleš, Krijt Jakub, Kožich Viktor

**Školitel:** doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc., Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN

Cysteinsynthasa (CS) je asimilační enzym katalyzující syntézu cysteinu z O-acetyl-L-serinu a sulfidu. Tento bakteriální enzym, nepřítomný u evolučně vyšších forem života, obsahuje vysoce konzervovanou katalytickou doménu společnou s cystathionin- $\beta$ -synthasou (CBS), enzymem katalyzujícím u živočichů první krok transsulfurační dráhy produkující cystein. Deficit CBS je nejčastější příčinou dědičné metabolické poruchy homocystinurie. Pro studium patogenetických mechanismů tohoto onemocnění může být vhodným modelovým organismem háďátka *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*); o jeho metabolismu sirných aminokyselin ale nejsou žádné informace. Pro potencionální využití háďátkového modelu je nejprve nutné zjistit, do jaké míry se u *C. elegans* překrývají aktivity CS a CBS a objasnit tak, kterou metabolickou dráhu k biosyntéze cysteinu *C. elegans* využívá.

Cílem této práce bylo pomocí prokaryotního systému exprimovat cysteinsynthasu ze *C. elegans* (gen C17G1.7), jejíž aktivita byla predikována na základě homologie s CS a CBS různých organismů, a následně purifikovat a charakterizovat tento rekombinantní protein. Nalezli jsme vhodné podmínky pro expresi a purifikaci rekombinantní háďátkové CS (rCeCS). Hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF jsme ověřili identitu purifikované rCeCS a stanovil její molekulovou hmotnost na 37,2 kDa. Pomocí nativní elektroforézy „blue native“ v polyakrylamidovém gelu jsme určili hmotnost oligomerní struktury rCeCS asi na 70 kDa, což odpovídá dimeru. Na dimerizaci se nepodílejí disulfidové můstky, protože všechny cysteiny v rCeCS jsou redukované. Pomocí absorpční spektrofotometrie jsme potvrdili očekávanou přítomnost pyridoxal-5'-fosfátu v rCeCS. Metodou cirkulárního dichroismu jsme určili obsah  $\alpha$ -helixů asi na 30% a potvrdili přítomnost PLP lokalizovaného uvnitř organizované struktury proteinu. Nejdůležitějším výsledkem je potvrzení skutečnosti, že rCeCS má cysteinsynthasovou aktivitu. Zjistili jsme, že rCeCS je vysoce specifická pro reakci O-acetyl-L-serin + sulfid  $\rightarrow$  cystein + acetát; u žádné z dalších 10 studovaných reakcí jsme aktivitu nepozorovali.

Naše data ukazují, že CS získaná expresí genu C17G1.7 může hrát důležitou roli v biosyntéze cysteinu u *C. elegans*. Protože v genomu *C. elegans* jsou přítomné i geny orthologní k CBS, lze předpokládat, že háďátka využívá pro biosyntézu cysteinu obě známé cesty, tedy asimilační i transsulfurační dráhu.



Na přípravě konference se podílely pracovnice Oddělení vědy 1. LF UK (v rozhovoru s děkanem fakulty).



*Prof. MUDr. Jana Dušková, DrSc., MBA, proděkanka pro pedagogiku a zubní lékařství 1. LF UK v rozhovoru se šéfredaktorkou nakladatelství Galén, spol. s r. o. PhDr. Soňou Dernerovou.*



*Vítězové konference před zahájením rozdělování cen.*



H

D

G  
E



# SEKCE PREGRADUÁLNÍ KLINICKÁ

## ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Telička Zdeněk, Bc., 2. r.
- Ullmanová Iva, 5. r.
- Vojta Michal, 5. r.

## HODNOTITELSKÁ KOMISE

předsedkyně: **doc. MUDr. Jarmila Procházková, CSc.**

členové: prof. MUDr. Miloš Langmeier, DrSc.

prof. MUDr. Richard Češka, CSc.



## PŘÍNOS DATABÁZOVÝCH APLIKACÍ V KLINICKÉM VÝZKUMU

**Autoři:** Bc. Zdeněk Telička, 2. roč., Jan Blažíček, SOŠ a SOU Praha-Hostivař  
**Školitel:** MUDr. Jan Jiskra, PhD., III. interní klinika 1. LF UK a VFN

Snad každé klinické pracoviště v současné době řeší možnosti ukládání dat pro výzkumné účely, a proto většina z nich shromažďuje data v tabulkových kalkulátorech pro jejich nízké finanční a časové nároky. Nevýhodou tabulkových kalkulátorů je jejich využitelnost jen pro data malého rozsahu bez možnosti sdílení dat mezi více uživateli. Na 3. interní klinice se dlouhodobě zabýváme vývojem informačních systémů pro sběr a analýzu výzkumných dat a také pro zpřístupnění mezioborové spolupráce lékařů na společných projektech.

Vyvinuli jsme databázovou aplikaci, ve které je možné ukládat strukturovaná data již během vyšetření pacienta a přitom její používání není pro lékaře časově náročné. To bylo dosaženo díky implementaci několika funkcí pro výměnu dat s nemocničním informačním systémem. Pacient zobrazený v nemocničním systému je automaticky zobrazen i ve vyvinuté aplikaci a lékař tudíž nemusí dvakrát zadávat iniciály pacienta, apod. Lékaři vkládají strukturované informace pouze do vyvinuté aplikace a ty jsou pak automatizovaně generovány do lékařských zpráv a exportovány do nemocničního systému. Aplikace rovněž umožňuje import biochemických vyšetření z nemocničního informačního systému. Vývoj aplikace probíhá ve spolupráci s úsekem informatiky VFN, kde jsou data uložena na databázovém serveru, ke kterému je přístup uživatelů řízen pomocí autorizace a autentizace. S aplikací mohou nezávisle pracovat různé výzkumné týmy a výrazně tak zvýšit efektivitu využití informací.

Zároveň vyvíjíme webovou aplikaci, jejímž cílem je podpora spolupráce lékařů na projektech, které probíhají mezi různými pracovišti z celé republiky. V systému je možné objednávat pacienty na vyšetření pro výzkumné účely nebo jen odesílat výsledky, apod.

Obě popisované aplikace tvoří robustní nástroj a v současné době nemáme informace, že by se na jiných klinikách využíval podobný systém. Nespornou výhodou tohoto projektu je také to, že jej vyvíjí sami studenti s lékaři a komerční firmy nám poskytují pouze sponzorství. Nad aplikací a daty tak máme plnou kontrolu a nemusíme se spoléhat na placené služby, které by byly vzhledem k rozsáhlosti projektu finančně nereálné.

## VÝSKYT ANEUPLOIDNÍCH EMBRYÍ V SOUVISLOSTI S VĚKEM MATKY

**Autoři:** I. Ullmanová, 5. r., D. Hlinka, D. Zudová, T. Mardešić  
**Školitel:** doc. MUDr. Tonko Mardešić, CSc., Sanatorium Pronatal, Praha

**Úvod:** Se změnami v reprodukčním chování (odsun prvního těhotenství do stále vyššího věku ženy) a s měnící se demografickou situací (stárnutí populace) vystupuje stále více do popředí problematika tzv. reprodukčního stárnutí. Je přitom dobře známou skutečností, že věk ženy je rozhodujícím faktorem pravděpodobnosti úspěšného otěhotnění i úspěšnosti léčby neplodnosti. S rostoucím věkem ženy naděje na otěhotnění klesá, zvyšuje se riziko (geneticky podmíněného) potratu i riziko koncepce plodu s chromozomálně podmíněnou vrozenou vadou. Cílem mého projektu bylo ozřejmení frekvence výskytu aneuploidních embryí ve vztahu k věku ženy.

**Metodika a materiál:** Hodnotila jsem výsledky screeningu chromozomálních aneuploidií prováděných na preimplantačních embryích (PGS- preimplantation genetic screening) prováděného jako součást léčby neplodnosti metodou mimotělního oplodnění (IVF). Biopsie blastomery byla provedena u 8 buněčných embryí (po 72 hodinách od oplození) a po zafixování buněčného jádra byl preparát předán do genetické laboratoře k vyhodnocení genetické výbavy embrya metodou FISH (Fluorescence In Situ Hybridization). Používány byly DNA sondy firmy Vysis a byly sledovány chromozomy 13,15,16,18,21,22, X a Y. Euploidní embrya byla po 120 hodinách od oplození ve stadiu blastocyst přenesena zpět do dělohy. Do souboru bylo zařazeno 281 žen, u kterých bylo vyšetřeno popsáním způsobem celkem 1690 embryí. Pacientky byly rozděleny do 4 skupin podle věku: skupina A ( $\geq 40$  let), skupina B (35-39 let), skupina C ( $<35$  let, kde však byla genetická indikace pro PGS) a referenční skupinu D představovaly mladé fertiální dárkyně oocytů do 35 let.

**Výsledky:** Ze 1690 analyzovaných embryí bylo 667 euploidních (39,47%), zbylých 1023 embryí bylo aneuploidních (60,24 %). Pro přenos byla vyčleněna maximálně dvě embrya, případná další nadpočetná euploidní embrya byla kryokonzervována. U 47 žen byla všechna embrya aneuploidní (16,72 %) a embryotransfer nebyl proveden.

Ve skupině A ( $\geq 40$  let) bylo analyzováno celkem 413 embryí, euploidních bylo 135 (32,69%). Ve skupině B (35-39 let) bylo analyzováno 481 embryí, nichž 197 (40,96 %) bylo euploidních a ve skupině C bylo geneticky kompetentních 177 (38,56%) z celkového počtu 459 embryí. V referenční skupině D bylo po analýze 337 embryí nalezeno 158 (46,88%) geneticky normálních embryí.

**Závěr:** Věk ženy je významným faktorem, který ovlivňuje procentuální zastoupení euploidních embryí. S narůstajícím věkem ženy navíc klesá počet získaných a oplozených oocytů a tedy i absolutní počet embryí s normální genetickou výbavou. Relativně nízkou efektivitu lidské reprodukce vysvětluje nález vysokého zastoupení aneuploidních embryí z darovaných oocytů od mladých dárkyň s neporušenou fertilitou.

## LINKA PRO ODVYKÁNÍ KOUŘENÍ – VÝZNAMNÁ SOUČÁST NABÍDKY LÉČBY ZÁVISLOSTI NA TABÁKU

**Autoři:** Michal Vojta, 5. roč., Jiří Kašpar, MUDr. Kateřina Langrová

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

**Úvod:** Užívání tabáku je stále nejvýznamnější preventabilní příčinou úmrtí celosvětově i v ČR. Linka pro odvykání kouření je standardní součástí kontroly tabáku i spektra dostupné léčby ve vyspělých zemích pro široké spektrum klientů včetně těch, kteří nemohou nebo prozatím nechtějí vyhledat intenzivní odbornou pomoc, nebo mají zájem jen o konkrétní informaci. Národní Linka pro odvykání kouření byla založena na začátku roku 2005 a poskytuje své služby každý pracovní den od 12 do 20 hodin na telefonním čísle 844 600 500. Konzultanty Linky jsou vyškolení studenti 3.–6. ročníků lékařských fakult.

**Metodika:** Cílovou skupinou jsou především kuřáci, kteří se rozhodli přestat kouřit a hledají informace, jak postupovat. Některé volající zajímají odpovědi na konkrétní dotazy spojené s problémy při odvykání kouření (abstinenční příznaky, souvislosti kouření a zdraví, legislativní rámec regulující kouření a ochrana před pasivním kouřením).

Linka pro odvykání kouření je anonymní. Základní demografická data, údaje kuřácké anamnézy a současného kuřáckého statusu, stejně jako údaje o průběhu telefonické konzultace, jsou zaznamenávány při každém přijatém hovoru do strukturovaného dotazníku.

**Výsledky:** Za 3 roky činnosti konzultanti poskytli téměř 5.000 telefonických konzultací a zhruba dalších 1.000 dotazů zodpověděli prostřednictvím internetové poradny [www.prestantekourit.cz](http://www.prestantekourit.cz). Typické nárůsty počtu hovorů jsou v době začátku nového roku („novoroční předsevzetí“) a také v době mediálních kampaní. Mezi volajícími lehce převažují muži (55%) nad ženami (45%). Podle statusu kouření jsou dvě třetiny volajících pravidelní kuřáci. Nejčastější dotazy se týkají obecných informací o odvykání kouření, abstinenčních příznaků, obav ze zvyšování hmotnosti či nejasností ohledně dostupné léčby. K nejčastějším důvodům pro zanechání kouření patří zdraví následované finančními důvody a přáním zbavit se závislosti. První cigaretu po probuzení si 80% volajících zapaluje do 30 minut (= silná závislost na nikotinu).

**Závěr:** Linka pro odvykání kouření se stala funkční součástí systému léčby závislosti na tabáku. Slouží také jako významný informační zdroj, především pro klienty-kuřáky, ale také pro odbornou veřejnost. Ve spolupráci s Ústavem hygieny a epidemiologie a Referenčním centrem léčby závislosti na tabáku při III. interní klinice 1.LF UK a VFN (pravidelná praxe konzultantů, odborné zázemí) přispívá ke vzdělávání budoucích lékařů v léčbě závislosti na tabáku, díky které mohou být zachráněny tisíce životů v ČR ročně.



Děkan 1. LF UK profesor Tomáš Zima a proděkan 1. LF UK pro vnější vztahy profesor Aleš Linhart při rozdělení cen vítězům IX. ročníku Studentské vědecké soutěže.



# SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ

## ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Broučková Adéla, Ing.
- Dvořáková Eva, Mgr.
- Hrdý Jiří, Mgr.
- Zanvit Petr, Mgr.
- Lišková Jana, Mgr.
- Spišáková Martina, Mgr.
- Moravčíková Veronika, Mgr.
- Cvačková Zuzana, Mgr.
- Uzlíková Magdalena, Mgr.
- Klieščíková Jarmila, MUDr.
- Krupková Michaela, Mgr.
- Nováková Martina, MUDr.
- Krtíl Jan, MUDr.
- Zelenka Jaroslav, Ing.
- Hnízda Aleš, Ing.
- Kopecká Jana, Ing.
- Žuchová Svetlana, MUDr.
- Bártlová Markéta, Mgr.
- Kaválková Petra, Mgr.
- Melkusová Petra, Ing.
- Černý Dalibor, PharmDr.
- Podskočová Jarmila, RNDr.
- Šimonová Tereza, Mgr.
- Stodulka Petr, Mgr.
- Mateják Marek, Mgr.
- Vacek Ondřej, Ing.
- Hoffmannová Jiřina, MUDr.

## HODNOTITELSKÁ KOMISE

- předseda: **prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.**  
členové: doc. MUDr. Drahomíra Křenová, CSc.  
prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.



## BUNĚČNÝ PRIONOVÝ PROTEIN JE SOUČÁSTÍ MEMBRÁNOVÝCH RAFTŮ KREVNÍCH DESTIČEK

**Autorka:** Ing. Adéla Broučková

**Školitel:** Dr. Ing. Karel Holada, Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN

Na krevních destičkách se nachází významná frakce s krví asociovaného buněčného prionového proteinu (PrP<sup>c</sup>). V současnosti známe již čtyři případy přenosu variantní Creutzfeldt-Jakobovy choroby krevní transfúzí. Jedná se o jednu z prionových chorob, jejichž hlavním znakem je přítomnost abnormálního prionového proteinu vznikajícího z PrP<sup>c</sup>. Doposud není známá podstata změny PrP<sup>c</sup> na abnormální formu a zda PrP<sup>c</sup> v krvi přispívá ke vzniku a šíření infekce v organismu. Cílem této práce bylo charakterizovat destičkový PrP<sup>c</sup> především z hlediska jeho asociace s membránovými rafty. Membránové rafty jsou mikrodomény cytoplazmatické membrány bohaté na cholesterol a sfingolipidy a jsou považovány za místo vzniku infekčního proteinu.

Destičkový PrP<sup>c</sup> se nachází jak na cytoplazmatické membráně tak v intracelulárních granulích. Aktivace destiček vede k up-regulaci PrP<sup>c</sup> na membráně spolu s jiným  $\alpha$ -granulárním proteinem CD62P. Stejnou intracelulární lokalizaci PrP<sup>c</sup> a CD62P v  $\alpha$ -granulích jsme potvrdili fluorescenční mikroskopií aktivovaných krevních destiček. Překvapivě jsme identifikovali frakci PrP<sup>c</sup>, která na membráně s CD62P nekolokalizuje. Tento výsledek ukazuje, že při aktivaci destiček jsou proteiny ze stejného intracelulárního kompartmentu směřovány do rozdílných oblastí membrán. Metoda flotace na sacharózovém gradientu potvrdila, že PrP<sup>c</sup> se na rozdíl od CD62P nachází v membránových raftech. Depolymerizací aktinových vláken jsme prokázali, že většina raftového PrP<sup>c</sup> se váže na destičkový cytoskeleton. Porovnáním raftových proteinů izolovaných z cytoskeletonu klidových a aktivovaných destiček jsme zjistili, že raftový PrP<sup>c</sup> se váže na membránový skeleton.

Naše výsledky ukázaly, že destičkový PrP<sup>c</sup> asociovaný s membránovými rafty se váže na membránový skeleton, kde může interagovat s proteiny signalizačních kaskád a eventuálně také s infekčními priony.

*MSM0021620806, GAČR310/05/H533.*

## PRODUKCE REKOMBINANTNÍHO PRIONOVÉHO PROTEINU A JEHO VYUŽITÍ

**Autorka:** Mgr. Eva Dvořáková

**Školitel:** Dr. Ing. Karel Holada, Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN

Epidemie bovinní spongiformní encefalopatie (BSE) a její následný přenos na člověka ve formě nové varianty CJD způsobila celosvětové obavy z možného šíření této choroby. Podle prionové hypotézy je infekční entitou u prionových chorob patologická varianta (PrP<sup>Sc</sup>) běžně se vyskytujícího buněčného prionového proteinu (PrP<sup>C</sup>). PrP<sup>Sc</sup> se množí přímým kontaktem s nativními molekulami PrP<sup>C</sup>, kterým vnutí svou patologickou konformaci. Prvním cílem této studie bylo připravit miligramové množství purifikovaného myšího prionového proteinu (mPrP) složeného do nativní PrP<sup>C</sup>-like konformace. Myší *Prnp* 23-230 byl zaklonován do pET15b vektoru a mPrP byl produkován v expresních *E. coli* v množství 30 mg/ml. Po purifikaci na Ni-NTA koloně byl denaturovaný mPrP oxidován glutathionem a složen do nativní konformace oddialyzováním urey. Připravený mPrP bude možno dále využít ke studiu podmínek tvorby infekčních i neinfekčních agregátů a jejich další charakterizaci. Druhým cílem této studie bylo připravit lidský rekombinantní PrP modifikovaný kyselinou glyoxalovou a použít jej jako imunogen pro přípravu myší monoklonální protilátky specifické pro prionové onemocnění.

## VLIV BUNĚČNÝCH A NEBUNĚČNÝCH SLOŽEK KOLOSTRA NA REAKTIVITU U NOVOROZENECKÝCH LYMFOCYTŮ

**Autoři:** Jiří Hrdý, Peter Zanvit, Olga Novotná, Ingrid Kocourková, Rája Lodinová-Žádníková, Ivan Šterzl, Ludmila Prokešová

**Školitel:** doc. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF a VFN

**Úvod:** Alergie patří v současné době mezi nejrozšířenější onemocnění a představují tím závažný zdravotně-sociální a ekonomický problém. Mezi základní a nejjednodušší způsoby prevence alergie patří kojení. Zatím není objasněno, může-li mléko alergické matky ovlivnit pozdější charakter imunitních reakcí dítěte. Mateřské mléko neobsahuje pouze nutriční složky ale i faktory hrající roli v obraně proti infekci a podporující rozvoj imunitního systému novorozence. Kromě nebuněčných složek jsou v mléce přítomny i buňky.

**Metodika:** Reaktivita lymfocytů pupečníkové krve kultivovaných s nebuněčnými složkami kolostra byla měřena pomocí inkorporace <sup>3</sup>H thymidinu. Pomocí metody ELISPOT bylo porovnáváno množství imunoglobulinů produkovaných novorozeneckými lymfocyty dětí zdravých a alergických matek. Změna genové exprese cytokinů v pupečnickových lymfocytech kokultivovaných s mléčnými buňkami v Transwell systému byla stanovována pomocí real-time PCR.

**Výsledek:** Kolostrum výrazně zvyšovalo produkci imunoglobulinů u lymfocytů stimulovaných polyklonálními aktivátory. Nebyl pozorován rozdíl v působení kolostra od alergických a zdravých matek. Lymfocyty dětí alergických matek vykazovali vyšší proliferaci inkorporací <sup>3</sup>H thymidinu ve srovnání s lymfocyty dětí nealergických matek. Pouze koncentrované kolostrum přidané do kultury snižovalo proliferaci lymfocytů, ředěné již nemělo výraznější vliv na proliferaci lymfocytů. Produkty mléčných buněk ovlivňovali změnu genové exprese v novorozeneckých lymfocytech.

**Závěr:** Nejistili jsme rozdíl v působení kolostra zdravých a alergických matek na novorozenecké lymfocyty. Již na úrovni novorozeneckých lymfocytů je možné sledovat sklon k alergickému fenotypu. Vlastnosti novorozeneckých lymfocytů by mohly sloužit jako včasný prediktivní znak sklonu k alergickému onemocnění a tedy i k potencionální včasné léčbě či prevenci vzniku alergie.

*Tato práce vznikla za podpory grantů Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR MSM0021620806 a Grantové agentury ČR 310/08/H077.*

### AKTIVACE KASPÁZ PŘI INFEKCI BUŇKY VIREM VAKCÍNIE

**Autorky:** Jana Lišková, Zora Mělková

**Školitelka:** MUDr. Zora Mělková, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN

Ve většině buněčných typů způsobuje infekce virem vakcínie lýzu buňky, což lze považovat za ekvivalent nekrózy. V naší laboratoři jsme však v buněčných liniích BSC-40 a HeLa G při tomto typu infekce pozorovali zvýšenou aktivaci kaspáz, typický znak apoptózy (Kalbáčová et al., 2008).

Aktivaci kaspáz jsme původně charakterizovali metodou využívající průtokovou cytometrii, a to pomocí fluorescenčního pan-kaspázového inhibitoru FITC-VAD-FMK (CaspACE, Promega), který se váže do aktivního místa kaspázy, avšak nereaguje s pro-kaspázou. Abychom se ujistili o specifitě tohoto eseje, stanovovali jsme fluorescenci CaspACE po přidání nefluorescenčního pan-kaspázového inhibitoru zVAD-FMK. Tento inhibitor výrazně snížil fluorescenci infikovaných buněk, zatímco kontrolní inhibitory specifické pro calpain tuto fluorescenci nesnižovaly. Podobné kompetiční experimenty jsme provedli i s inhibitory specifickými pro jednotlivé kaspázy (kaspázu 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 13). Ukázalo se, že v buňkách infikovaných virem vakcínie jsou výrazně aktivovány kaspázy 2 a 4, mírně také kaspáza 3. Aktivitu těchto kaspáz jsme dále stanovovali v lyzátech vakcínii infikovaných buněk, a to pomocí fluorescenčních esejů specifických pro jednotlivé kaspázy.

Kaspáza 2 se účastní aktivace apoptózy následkem poškození DNA, při působení TNF $\alpha$ , a také při infekci některými vnitrobuněčnými parazity. Kaspáza 4 je homologem zánětlivé kaspázy 1. Také byla pozorována její aktivace při stresu endoplasmatického retikula a následné apoptóze. Ačkoli úloha kaspáz 2 a 4 v apoptóze není zcela jasná, zřejmě se obě podílejí i na zánětlivé signalizaci, což by mohlo být významné pro typ imunitní odpovědi organismu při infekci virem vakcínie.

### ANALYSIS OF INHIBITORY EFFECTS OF ETHACRYNIC AND $\alpha$ -LIPOIC ACIDS ON THE INFECTION WITH VACCINIA VIRUS

**Autoři:** Martina Spišáková, Zdeněk Čížek a Zora Mělková

**Školitelka:** MUDr. Zora Mělková, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN

Vaccinia virus (VV), member of the Poxvirus family, had been successfully used for smallpox eradication. Today, under the fear of a smallpox misuse for bioterrorist purposes, understanding the basic processes underlying poxvirus infection and finding new agents effective against poxviruses represent a considerable challenge.

In our laboratory, we have observed inhibitory effects of two thiol-reactive agents,  $\alpha$ -lipoic (LA) and ethacrynic acids (EA), on VV infection. The specificity of this effect was compared with three other redox-modulating agents,  $\beta$ -mercaptoethanol, DTT and ascorbic acid. However, none of them induced any inhibition of VV growth. The effective concentrations of EA fall in low micromolar range, while LA is effective in high micromolar concentrations. Consequently, we have confirmed the inhibitory effects of EA and LA on the growth of VV and on the activity of a reporter gene luciferase expressed by VV recombinants in several cell lines of different origins – in epithelial cells HeLa G and BSC-40, in fibroblasts L929, in macrophages J774.G8 and in T-lymphocytes Jurkat.

We have further analyzed the mechanism of action of the two agents. They both decreased the overall levels of VV late proteins, as demonstrated by western blot analysis. Yet they did not inhibit VV DNA synthesis, as characterized by quantitative real time-PCR. Consequently, we have explored the step in VV growth cycle inhibited by the two agents – they both seem to inhibit the late protein synthesis of VV or possibly the morphogenesis of the viral particle.

In conclusion, thiol-reactive compounds similar to the EA or LA might be useful to inhibit poxvirus growth.

### LOKALIZACE RDNA TRANSKRIPČNÍCH MÍST U SACCHAROMYCES CEREVISIAE

**Autoři:** Veronika Moravčíková, 3. r. PGS, Jan Bednár

**Školitel:** RNDr. Jan Bednár, Ph.D., Ústav buněčné biologie a patologie, 1. LF UK

**Úvod:** Lokalizace transkripčně aktivních ribozomálních genů (r-genů) je stále nejednoznačná a je střídavě mapována jak do fibrilárních center, tak i do obepínajících densních fibrilárních komponent, případně jejich vzájemných hranic. Tato nejednoznačnost je způsobena variabilitou transkripční aktivity jednotlivých kopií r-genů v jadérku. Je proto velmi obtížné přesně lokalizovat celou sadu r-genů a kolokalizovat je s konkrétními jadérovými strukturami. Řešení může přinést porovnání kmene kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* s genotypem NOY 886, který nese přesně 40 kopií plně aktivních r-genů s kontrolním kmenem NOY 1051, který nese přibližně 140 kopií r-genů s různým stupněm transkripční aktivity.



**Metodika:** Kultivací kvasinek s 5-fluorouridinem (5-FU) chceme dosáhnout jeho inkorporaci do právě se rodících transkriptů RNA, a pomocí specifických protilátek lokalizovat signál na světelné i elektron-mikroskopické úrovni. Pro dosažení tohoto cíle je nezbytné dosáhnout co nejlepšího zachování ultrastruktury buněk při současném zachování imunoreaktivitu.

**Výsledky:** Použitím imunofluorescenčního značení se nám podařilo specificky lokalizovat 5-FU v rámci jadérka, což odpovídá jeho inkorporaci do rodících se rRNA. I když signál jsme detekovali také v cytoplazmě. Řadou výzkumných technik se nám podařilo prokázat, že vysokotlaké zmrazení s následnou kryosubstitucí je nejlepším metodickým postupem pro přípravu vzorků pro imunoelektronovou mikroskopii. Na takto připravených vzorcích jsme použitím specifických protilátek lokalizovali 5-FU signál jak v jadérku, tak i v cytoplazmě, podobně jako na světelné úrovni.

**Závěr:** Doposud se nám nepodařilo detekovat takové značení, které by odpovídalo lokalizaci 40 rDNA transkripčních míst v rámci jadérka (u kmene NOY 886), a mohlo by být přiřazeno ke konkrétním subnukleolárním ultrastrukturám. Jsou proto nezbytné další experimentální práce, zahrnující nejen imunoelektronovou detekci 5-FU signálu, ale i další postupy vedoucí ke zlepšení zachování ultrastruktury a imunoreaktivitu připravených vzorků.

Podporováno granty GAČR304/05/2168, GAČR03/03/H065, AV0Z50110509, MSM0021620806 a LC535.

## PROSTOROVÉ USPOŘÁDÁNÍ CHROMOZOMÁLNÍCH TERITORIÍ V DCEŘINÝCH BUŇKÁCH JE NENÁHODNÉ, ALE NENÍ IDENTICKÉ

**Autoři:** Zuzana Cvačková, Martin Mašata, David Staněk, Helena Fidlerová, Ivan Raška

**Školitel:** prof. RNDr. Ivan Raška, DrSc., Ústav buněčné biologie a patologie 1. LF UK

V dnešní „postgenomické éře“ známe lineární sekvenci lidské DNA. Pro plné pochopení její funkce je však velmi důležitá znalost vyšších stupňů organizace chromatinového vlákna a porozumění prostorovému uspořádání chromosomů v buněčném jádře.

Savčí interfázni chromosomy zaujímají vzájemně vylučné prostory buněčného jádra, ve formě tzv. chromosomálních teritorií. Statistická analýza provedená na velkých souborech savčích buňek ukázala, že místa uložení chromosomů/chromosomálních teritorií v jádře nejsou náhodná. Tento výsledek zásadního biologického významu se uplatňuje např. jak v genové expresi, tak i při vzniku chromosomálních translokací. Nenáhodné uspořádání chromosomů/chromosomálních teritorií se řídí dosud neznámým algoritmem, který vykazuje více stupňů volnosti. Uspořádání nenáhodné nemusí být nutně uspořádáním identickým.

V naší práci jsme se zaměřili na zodpovězení specifické otázky, zda se uspořádání chromosomálních teritorií v jádře mateřské buňky zachovává i v jádrech buněk dceřiných. K tomu jsme připravili stabilní linii buněk lidského původu HepG2 exprimujících fúzní protein histon H4-Dendra2. Dendra2 je fluorescenční protein, jehož zelená fluorescence přechází po tzv. fotokonverzi (po krátkém osvětlení laseru o vlnové délce 405nm) na fluorescenci červenou. Histon H4 je stabilní součástí nukleosomu. Fotokonverzí proteinu H4-Dendra2 jsme značili vybrané oblasti chromatinu v živých buňkách a sledovali rozmístění červeného signálu přes mitosu do další buněčné generace.

Naše výsledky jednoznačně ukázaly, že chromosomy/chromosomální teritoria jsou v dceřiných buňkách umístěna nenáhodně, ale jejich rozmístění není identické jako v buňkách mateřských

Poděkování: tato práce byla podpořena granty: LC535, MSM0021620806, AV0Z50110509, WT 075834/04/Z.

## ODPOVĚĎ NA POŠKOZENÍ DNA V BUŇCE PARAZITICKÉHO PRVOKA GIARDIA INTESTINALIS

**Autorka:** Magdalena Uzlíková

**Školitelka:** RNDr. Eva Nohýnková, Ph.D., III. klinika infekčních a tropických nemocí 1. LF UK a FNB, Oddělení tropické medicíny 1. LF UK

**Úvod.** Poškození DNA může být fatální událostí v životě buňky. Eukaryota si proto vytvořila sofistikovaný systém kontrolních stanovišť (tzv. DNA damage checkpoints). Jejich iniciační komponenty monitorují přítomnost poškozených úseků DNA a spouštějí signalizaci vedoucí (a) k opravě těchto úseků, (b) k apoptóze nebo (c) k senescenci. Klíčovým článkem v odpovědi na dvouřetězcové zlomy (jako nejtěžšího případu poškození DNA) je u eukaryot existence SQ (serin-glutamin) motivu na C-konci sekvence histonu H2A nebo jeho variant. Tento motiv je záhy po vzniku zlomů v DNA fosforylován zástupci rodiny PIKK kináz (phosphoinositide 3-kinase related kinases) jako první krok v buněčné odpovědi na poškozenou DNA. *Giardia intestinalis* jako zástupce skupiny Excavata je savčím nebo rostlinným buňkám zcela nepříbuzný organismus. Jedná se proto o vhodný model pro studium základní výbavy eukaryotické buňky, k níž odpověď na poškození DNA jednoznačně patří.

**Metodika.** Existence SQ motivu byla zjišťována porovnáním sekvencí histonu H2A a jeho variant. Fosforylace byla studována imunofluorescencí se specifickou protilátkou.

**Výsledek.** Sekvenční analýza prokázala, že C-konec histonu H2A *G. intestinalis* obsahuje fosforylovatelný SQ motiv. Histochemicky bylo prokázáno, že (1) k fosforylaci histonu H2A dochází v odpovědi na přítomnost afidikolinu (inhibitor DNA polymerázy  $\alpha$ ) v koncentracích, které reverzibilně (5  $\mu$ g/ml) nebo ireverzibilně (10  $\mu$ g/ml) blokují růst giardií in vitro, (2) fosforylace je časově závislá (100% jader/ 24 hodin), (3) kafein (inhibitor PIKK kináz) afidikolinem aktivovanou fosforylací blokuje. Fosforylace byla zjištěna rovněž, v závislosti na stáří kultury, v některých buňkách pěstovaných bez přítomnosti afidikolinu.

**Závěr.** V buňkách *G. intestinalis* dochází jak exogenně (účinkem afidikolinu), tak endogenně (při opravě DNA poškozené během přirozených buněčných procesů) k fosforylaci histonu H2A, pravděpodobně prostřednictvím zástupce rodiny PIKK kináz (jehož sekvence však dosud není v genomovém projektu anotována). V odpovědi na poškozenou DNA *Giardia* tedy zřejmě



sdílí obdobné mechanismy jako ostatní eukaryota obsahující SQ motiv na C-konci sekvence H2A histonu či jeho variant (včetně savčích buněk). Zdá se tudíž, že procesy, které monitorují integritu genomu, vskutku představují základní výbavu eukaryotické buňky.

### TOXICKÁ REAKCE JAKO DOSUD NEPOPSANÁ OBRANA AKANTAMÉB PROTI NEPŘÍZNI VNĚJŠÍHO PROSTŘEDÍ

**Autorka:** MUDr. Jarmila Klieščíková

**Školitelka:** RNDr. Eva Nohýnková, Ph.D., III. klinika infekčních a tropických nemocí 1. LF UK a FNB, Oddělení tropické medicíny, 1. LF UK

**Úvod:** Zástupci rodu *Acanthamoeba*, který patří do skupiny volně žijících améb patogenních pro člověka, jsou původci dvou závažných onemocnění, granulomatózní amébové encefalitidy a akantamébové keratitidy. V životním cyklu akantaméb se střídají dvě stádia, vegetativní trofozoit a dormantní cysta s dvouvrstevnou stěnou, která je zodpovědná za značnou odolnost akantaméb k nepříznivým vnějším podmínkám. *In vitro* se v přítomnosti organických rozpouštědel (metanol, DMSO) améboidní trofozoity rychle zakulatí. Zjistili jsme, že tato „toxická“ reakce představuje komplexní proces spojený s produkcí povrchového pláště, na který se váže Tinopal a který během dvou hodin souvisle pokryje celou buňku za vzniku pseudocysty. Rychlost, s jakou tato dosud nepopsaná reakce probíhá, a schopnost pseudocysty za příznivých vnějšních podmínek reagovat rychlým uvolněním trofozoitu naznačily její význam pro obranu patogena.

**Metodika:** „Toxická“ reakce byla studována světelnou, fluorescenční a elektronovou mikroskopií. Expres specifických genů byla sledovaná pomocí Northern blot analýzy.

**Výsledky:** Pseudocysta jako výsledek „toxické“ reakce trofozoita je zásadně odlišná od cysty. Indukční metabolické dráhy, specifické pro syntézu cystové stěny, nejsou v průběhu tvorby pseudocysty aktivní. Povrch pseudocysty tvoří buněčná stěna, ale souvislý plášť pokrývající plazmatickou membránu. Plášť má charakter glykokalyx, hlavní sacharidovou složkou je glukóza; oproti tomu cysta má na povrchu dvojvrstevnou stěnu, jejíž vnější polysacharidová vrstva obsahuje spektrum cukerných zbytků (glukóza, manóza, galaktóza, glukosamin, galaktosamin). Přes rozdílnou stavbu a složení poskytuje povrchový plášť pseudocystám ochranu vůči vysoké teplotě (55° C/ 10 minut) a alkalickému pH (8-11).

**Závěr:** Encystace akantaméb je relativně pomalý proces: během 24 hodin dochází k syntéze vnější a následně vnitřní vrstvy cystové stěny. Tím vzrůstá rezistence vůči nepřízni vnějšního prostředí. „Toxická“ reakce je mnohem pohotovější, avšak účinnou okamžitou obranou. Může se uplatňovat nejen v ekologické nise akantaméb, ale i během terapie akantamébových infekcí. Představuje proto důležitou, námi prvně popsanou fázi v životním cyklu akantaméb.

### FARMAKOGENETICKÝ NEXUS MEZI SYNDROMEM POLYDAKTYLIE – LUXACE A A METABOLICKÝM SYNDROMEM

**Autoři:** Krupková M., Janků M., Liška F., Šedová L., Křenová D., Křen V., Šeda O.

**Školitel:** doc. MUDr. Ondřej Šeda, PhD., Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Geneticky definované savčí modely jsou významným nástrojem pro analýzu genetické architektury multifaktoriálních onemocnění. Naším modelem je polydaktylní kmen potkana PD/Cub, u kterého dochází k souběhu metabolického syndromu se syndromem polydaktylie-luxace. Dosud provedené analýzy ukazují, že predispozice pro oba syndromy kolokalizuje na potkanní chromosom (chr.) 8. Naším cílem bylo testování hypotézy, že farmakologická intervence pomocí kyseliny retinové, jejíž interakce se zmíněnou oblastí chr. 8 jsme prokázali pro morfogenetické procesy, ovlivňuje některé složky metabolického syndromu v závislosti na genetickém pozadí, na které působí.

**Materiál a metody:** Dospělým samcům kmene spontánně hypertenzního potkana SHR a kongenního kmene SHR.PD-(D8Rat42-D8Arb23)/Cub (SHR-Lx PD5), který nese 1,4 Mb úseku chr. 8 dárcovského kmene PD/Cub, byla aplikována každodenně kyselina retinová v dávce 15 mg/kg po dobu 16 dní. Opakovaně jsme porovnávali metabolický a morfometrický profil (např. OGTT, koncentrace triacylglycerolů a cholesterolu ve 20 lipoproteinových frakcích) za podmínek standardní a vysokosacharóзовé diety. Statistické zhodnocení jsme provedli pomocí analýzy rozptylu pro opakovaná měření (repeated measures ANOVA).

**Výsledky:** Zaznamenali jsme významné rozdíly v působení kyseliny retinové mezi kmeny SHR a SHR-Lx PD5. U kmene SHR-Lx PD5 došlo k výraznějšímu zhoršení tolerance glukózy i k modifikaci lipidového spektra než u kmene SHR.

**Závěr:** Interakce kyseliny retinové s diferenciálním segmentem chr. 8 PD/Cub původu ovlivňuje kromě morfogenetických procesů některé složky metabolického syndromu. Naše výsledky tedy podporují hypotézu propojení – nexu - metabolických a morfogenetických procesů, což je mj. předpokládáno u několika lidských syndromů, např. syndrom Bardet-Biedl nebo Smith-Lemli-Opitz.



## VLIV RŮZNÝCH STRESORŮ NA SRDEČNÍ BETA3 -ADRENERGNI RECEPTORY

**Autorka:** MUDr. Martina Nováková

**Školitel:** doc. MUDr. Jaromír Mysliveček, Ph.D., Fyziologický ústav 1. LF UK

**Úvod:** Přítomnost  $\beta_3$ -adrenergních receptorů ( $\beta_3$ -AR) v srdci byla již opakovaně prokázána jak na úrovni genové exprese tak metodami identifikujícími proteinovou molekulu  $\beta_3$ -AR. Význam  $\beta_3$ -AR v regulaci srdeční činnosti však dosud zcela objasněn nebyl, především nebyly provedeny vazebné studie s  $\beta_3$ -selektivním radioligandem v srdci. Naším cílem bylo zjistit možný vliv imobilizačního a chladového stresu na množství  $\beta_3$ -AR v srdci.

**Metodika:** Za pomoci  $\beta_3$ -specifického radioligandu  $^3\text{H-SB206606}$  jsme stanovili množství vazebných míst v membránových frakcích z levých (LV) a pravých komor (RV) a z levých síní (LA). Za antagonistu jsme použili SR59230A. Množství vazebných míst byla následně porovnána s množstvím mRNA a proteinu v příslušných oddílech, kde jsme také stanovili basální a stimulovanou aktivitu adenylátcyklázy.

**Výsledky:** Genová exprese  $\beta_3$ -AR byla významně ovlivněna imobilizačním stresem ve všech sledovaných srdečních oddílech. Po 7 imobilizacích došlo k nárůstu mRNA pro  $\beta_3$ -AR v LV a LA, obdobně tomu bylo i s množstvím  $\beta_3$ -AR proteinu a počtem vazebných míst pro  $^3\text{H-SB206606}$ . V pravých komorách došlo po opakované imobilizaci k nárůstu mRNA, ale nebyly zde změny v množství proteinu ani počtu vazebných míst. Po jedné imobilizaci se v levých komorách zvýšilo množství  $\beta_3$ -AR mRNA, ale naproti tomu došlo ke snížení počtu vazebných míst. Jak 1-denní, tak 7-denní působení chladu mělo dopad analogický jednorázové imobilizaci. Stejně tak byla ovlivněna i aktivita adenylátcyklázy.

**Závěr:** Můžeme tedy uzavřít, že  $\beta_3$ -AR hraje v srdci významnou úlohu v odpovědi na působení různých stresorů.

## PROTEINY EXTRACELULÁRNÍ MATRIX VÝZNAMNĚ OVLIVŇUJÍ VIABILITU A PROLIFERACI GLOMERULÁRNÍCH PODOCYTŮ IN VITRO

**Autor:** MUDr. Jan Krtil

**Školitel:** prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Poškození podocytů vede k rozvoji proteinurie a glomerulosklerózy. Při kultivaci podocytů se jako standardní kultivační povrch používá kolagen I, který ale není v glomerulární bazální membráně (GBM) fyziologicky přítomen. Cílem naší práce bylo zjistit, zda různé typy proteinů extracelulární matrix (ECM) ovlivňují vlastnosti kultivovaných podocytů.

**Metodika:** Primárně kultivované potkanní podocyty byly po první pasáži nasazeny na různé kultivační povrchy: kolagen I, kolagen IV, extrakt ECM bazální membrány a tkáňový plastík. Sledovali jsme počet adherovaných živých buněk a jejich metabolickou aktivitu 8 hodin po nasazení (adheze), pak po 5 dnech v médiu s 10% sérem a po dalších 3 dnech v médiu s 0,5% sérem.

**Výsledky:** Adheze buněk byla obdobná nezávisle na použitém kultivačním povrchu. Po 5 dnech v proliferačním médiu výrazně vzrostl počet buněk na ECM a méně na kolagenu I, intenzita proliferace na kolagenu IV byla variabilně mezi ECM a kolagenem I. Na samotném plastiku bylo buněk méně než kolik adherovalo. Inkubace v diferenciačním médiu vedla k poklesu počtu buněk na obou typech kolagenů, zatímco na ECM byl počet buněk zachován.

**Závěr:** ECM extrakt se nejvíce blíží složení GBM a v našich experimentech poskytl optimální podmínky pro proliferaci a diferenciaci podocytů. Kultivační povrch zřejmě významně ovlivňuje viabilitu, proliferaci a diferenciaci podocytů.

## ANTIOXIDAČNÍ PŮSOBNÍ BILIRUBINU VE TKÁŇOVÝCH KULTURÁCH

**Autoři:** Jaroslav Zelenka, Kateřina Váňová, Lucie Muchová a Libor Vítek

**Školitel:** doc. MUDr. Libor Vítek, Ph.D., MBA – Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF a VFN  
Hepatologická laboratoř ÚKBLD

**Úvod:** Bilirubin patří mezi nejvýznamnější endogenní antioxidanty a již mírně zvýšené hladiny bilirubinu v séru jsou negativním prediktivním faktorem pro řadu onemocnění spojených s oxidačním stresem. Rychlost produkce bilirubinu je determinována převážně aktivitou hemoxygenasy (HO). Tento enzym je indukován svým substrátem hmem a dále oxidačním stresem. Nicméně důkazy o protektivním působení bilirubinu jsou zatím pouze nepřímé a nikdy nebyl sledován jeho intracelulární metabolismus. Účelem této studie bylo charakterizovat metabolismus a protektivní působení bilirubinu na buněčné úrovni.

**Metodika:** Studie byla provedena na buněčné hepatoblastomové linii HepG2 v médiu s 0,1–20  $\mu\text{M}$  bilirubinu. Oxidační stres byl navozen inkubací se 100  $\mu\text{M}$  azidem sodným, který inhibuje oxidační fosforylaci a tím zvyšuje produkci volných radikálů. HO byla indukována 30  $\mu\text{M}$  heminemem. Pro stanovení intracelulární koncentrace bilirubinu byla použita nově vyvinutá vysoce citlivá HPLC metoda. Aktivita HO byla měřena jako produkce oxidu uhelnatého pomocí plynové chromatografie (Trace Analytical, USA).

**Výsledky:** Intracelulární hladiny bilirubinu byly za standardních podmínek úměrné koncentraci volného bilirubinu v médiu. Oxidační stres navozený azidem vedl ke snížení intracelulárního bilirubinu o 30% zatímco hladiny v médiu nebyly ovlivněny. Naopak indukce HO vedla k významnému navýšení buněčného bilirubinu až o 700 %.

**Závěr:** Vlivem endogenního oxidačního stresu dochází ke snížení intracelulárních hladin bilirubinu a tím i antioxidační kapacity. Naopak benigní hyperbilirubinémie nebo indukce HO heminemem vedou k protektivnímu zvýšení obsahu bilirubinu.

## SURFACE MAPPING OF HUMAN CYSTATHIONINE B-SYNTASE BY CHEMICAL MODIFICATION OF AMINO ACIDS

**Author:** Ing. Aleš Hnízda

**Supervisor:** doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc., of the Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Institute of Inherited Metabolic Disorders

Cystathionine  $\beta$ -synthase (CBS) is a tetrameric enzyme containing 551 amino acids, which catalyzes condensation of serine with homocysteine. Deficiency of this enzyme results in homocystinuria, the most common genetic disorder of sulfur amino acid metabolism.

The 3-D structure of this protein was determined only for the dimeric truncated form (amino acids 1-413) lacking the C-terminal domain since hydrophobicity of the C-domain and putative conformational flexibility prevented successful crystallization of the full-length CBS protein. The aim of this work is to obtain complementary data on spatial arrangement of truncated and wild type CBS enzyme using chemical modification of surface exposed amino acid residues.

Feasibility of surface mapping was tested using truncated CBS modified by agents specifically reacting with selected amino acids. Labeled protein was digested by appropriate proteolytic enzymes, modified residues being identified by MALDI-TOF mass spectrometry.

Initially, we tested eight labelling compounds and six of them turned out to be suitable since they have not altered the quaternary structure and activity of CBS, namely 4-hydroxyphenylglyoxal, N-ethylmaleinimide, diethylpyrocarbonate, N-hydroxysulfosuccinimide acetate, N-brom-succinimide and N-acetylimidazole.

Then, we compared data obtained by chemical labelling with solvent accessibility calculated from structural model of truncated CBS. N- and C-terminal parts were not assigned by X-ray diffraction and were identified as the most reactive in the protein. It can be implied that these regions are solvent-exposed and enormously flexible. Other reactive residues were solvent exposed in the model; the only exception was labelling of one buried cysteine residue. Our data suggest that reactivity of amino acid residues reflects their surface accessibility but it can be also influenced by protein structure dynamics and microenvironment of side-chains.

In conclusion, we developed protocols for chemical labeling of truncated CBS and feasibility of this approach was successfully tested. Using this technique we could study spatial arrangement of full-length CBS.

## CHEMICKÉ CHAPERONY OVLIVŇUJÍ SBALOVÁNÍ MUTOVANÝCH FOREM CYSTATHIONIN -B- SYNTHASY

**Autoři:** Kopecká J., Kožich V.

**Školitel:** doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc., Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF a VFN

Homocystinurie z deficitu cystathionin- $\beta$ -synthasy (CBS) je nejčastějším onemocněním metabolismu sírných aminokyselin. Abnormální sbalování a agregace mutovaných proteinů je jedním z hlavních mechanismů patogeneze deficitu CBS. Chemické chaperony jsou látky, které pomáhají sbalovat a stabilizovat proteiny, které mají zvýšenou tendenci k tomuto chování; jejich podávání je novým trendem v léčbě tzv. konformačních onemocněních. Tato studie se zaměřuje na sledování efektu vybraných látek na kvaterní strukturu a aktivitu panelu 27 patogenních mutantů CBS reprezentujících dvě třetiny všech známých alel homocystinurických pacientů.

Pro studii byla vybrána  $\delta$ -aminolevulová kyselina (prekursor kofaktoru CBS – hemu) a tři chemické chaperony – betain, taurin a glycerol. Jelikož se nepodařilo prokázat transport serinu a S-adenosyl-L-methioninu do buněk *E. coli*, byly tyto látky ze studie v pokaryotickém systému vyřazeny. Zbývající látky byly přidávány do růstového média koexpresně. Bakteriální lysáty byly analyzovány pomocí nativní elektroforézy v polyakrylamidovém gelu a následného western blottingu s imunochemickou detekcí, specifická enzymová aktivita byla měřena pomocí eseje s radioaktivně značeným substrátem. Více než polovina testovaných mutantů byla pozitivně ovlivněna přítomností 0,5 mM  $\delta$ -aminolevulátu, 100 mM betainu a/nebo 750 mM glycerolu; tyto látky podporovaly správné sbalování mutovaných enzymů, ve většině případů došlo i ke zvýšení katalytické aktivity. Nejvýraznějšího efektu jsme dosáhli koexpresní přítomností glycerolu; 13 mutantů tvořilo 1,3-3,3krát více správně sbalených forem, specifická aktivita byla zvýšena až 6,2krát.  $\delta$ -Aminolevulát ovlivnil 13 mutantů (1,3-4,1krát více správně sbalených forem, až 3,5krát vyšší specifická aktivita). Betain podpořil správné sbalování u 8 mutantů (1,3-1,8krát více správně sbalených forem, až 1,6krát vyšší specifická aktivita). Tato studie prokázala, že sbalování některých CBS mutantů je možné ovlivnit pomocí chemických chaperonů a tím obnovit jejich biologickou aktivitu, což by v budoucnu mohlo přinést nové možnosti terapie homocystinurie.

Práce byla podpořena grantem Wellcome Trust Senior Fellowship, grantem GAUK č. 257845 a Výzkumným záměrem UK VZ MSM ČR 0020620806.

## PROCES ZMĚNY U PACIENTŮ S ANOREXIA NERVOSA: MEZINÁRODNÍ POSTGRADUÁLNÍ SPOLUPRÁCE VE VĚDECKÉ PŘÍPRAVĚ V OBLASTI PORUCH PŘÍJMU POTRAVY

**Autorka:** MUDr. Svetlana Žuchová

**Školitelka:** prof. MUDr. Hana Papežová, Ph.D., Psychiatrická klinika, 1. LF UK a VFN

V našem sdělení se budeme věnovat mezinárodnímu projektu INTACT jako jedné z forem mezinárodní spolupráce v postgraduálním vzdělávání a výzkumu. Projekt INTACT (*Individually Tailored Stepped Care for Women with Eating Disorders*) je součástí



*Marie Curie Research Training Network.* Projektu se účastní devět mezinárodních center. Pražské Centrum pro poruchy příjmu potravy se projektu účastní dvěma paralelními studii. Cílem první z nich je zkoumat průběh a změny klíčových symptomů u pacientek s mentální anorexií. Druhá studie má iniciovat a rozvinout program následné péče pro propuštěné pacientky s poruchou příjmu potravy a jejich rodinné příslušníky, který bude probíhat formou internetového chatu. Navazuje na pilotní studii vícerozinné terapie zavedené v našem Centru roku 2004 (Tomanová, 2007).

V první studii sledujeme vybrané proměnné na začátku a na konci hospitalizace, v jejím průběhu jednou týdně a po skončení hospitalizace jednou měsíčně po dobu 6-18 měsíců. Studie jsme vychází z předpokladu, že ne všechny změny klinického obrazu jsou lineární a opakovaný sběr dat a některé statistické modely zachytí diskontinuity ve změnách a fluktuaci symptomů (Gates et al., 2007, Pachankis & Goldfried, 2007). Pro sběr dat používáme dotazníky administrované on-line pomocí softwaru s názvem Web-Akquasi vyvinutého pro tento účel (Centrum pro psychotherapeutický výzkum University of Heidelberg). Tento software slouží na ukládání dat, evaluaci a zpětnou vazbu výsledků terapeutům (Percevic et al., 2005). Administrujeme následující dotazníky: EDE-Q, SEED, CR-EAT (dotazníky týkající se symptomů poruch příjmu potravy) ANSOCQ (motivace k léčbě), SIQ-TR (sebepoškozování), Y-BOCS (obsesivní a kompulzivní symptomatika) a ROCF (visuomotorická paměť a zaměření na detail). V našem sdělení budeme prezentovat první výsledky této studie.

## MOLEKULÁRNĚ ENDOKRINNÍ CHARAKTERISTIKA PODKOŽNÍ A VISCERÁLNÍ TUKOVÉ TKÁŇĚ U OBÉZNÍCH PACIENTŮ: SROVNÁNÍ TUKOVÉ TKÁŇĚ S IZOLOVÝMI ADIPOCYTY

**Autoři:** Bártlová M., Dostálová I., Lacinová Z., Michalský D., Haluzíková D., Mráz M., Kasalický M., Haluzík M.  
**Školitel:** prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., III. interní klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Bílá tuková tkáň hraje klíčovou roli při vzniku subklinického prozánětlivého stavu, charakteristického pro pacienty s obezitou a inzulínovou rezistencí nebo s metabolickým syndromem. Řada klinických studií nicméně prokázala významné rozdíly v endokrinní a metabolické aktivitě jednotlivých typů tukové tkáně.

**Cíl:** Cílem této studie je charakterizovat expresi genů, které mohou mít potenciální spojitost s metabolickými komplikacemi u obézních pacientů, v subkutánní (sc.) a viscerální (visc.) tukové tkáni a v izolovaných adipocytech u obézních a štíhlých žen metodou real-time PCR.

**Pacienti a metodika:** Do studie bylo zařazeno dvanáct obézních žen bez diabetu mellitu (věk,  $44.9 \pm 2.69$ ; BMI  $41.0 \pm 1.92$  kg/m<sup>2</sup>) a dvanáct štíhlých žen odpovídajících věkem (věk,  $48.9 \pm 2.59$ ; BMI  $23.6 \pm 0.69$  kg/m<sup>2</sup>), které podstoupily chirurgický podvaz žaludku nebo elektivní cholecystektomii. Vzorky sc. a visc. tukové tkáně byly odebrány na počátku operace.

**Výsledky:** Zjistili jsme významně zvýšenou expresi specifických prozánětlivých (CCL3 v adipocytech ze sc. tukové tkáně 23x,  $p = 0.04$ ; IL-6 ve visc. tukové tkáni 3.6x,  $p = 0.04$ ) a adipogenních (angiopoietin v sc. tukové tkáni 2x,  $p = 0.02$ ; VEGFC v adipocytech ze sc. tukové tkáně 2.5x,  $p = 0.04$ ) genů a významně sníženou expresi specifických lipogenních genů (FASN v adipocytech ze sc. tukové tkáně,  $p = 0.04$ ) a genů s účastí v inzulínové signalizaci (SLC2A4 a PPARA v adipocytech ze sc. tukové tkáně,  $p = 0.001$  a  $p = 0.008$ ; IRS1 ve visc. tukové tkáni,  $p = 0.04$ ) u obézních v porovnání se štíhlými ženami. Zjistili jsme nezměněnou expresi CD45 a CD14 v sc. a visc. tukové tkáni u obézních žen.

**Závěr:** Subkutánní i viscerální tuková tkáň u obézních žen vykazuje změny v expresi specifických genů, které pravděpodobně vedou ke zvýšené zánětlivé aktivitě a ke snížené odpovědi k inzulínu v tukové tkáni. Tyto lokální změny mohou v důsledku přispívat k metabolickým komplikacím u obézních pacientů. Adipocyty jsou částečně zodpovědné za expresi prozánětlivých cytokinů v tukové tkáni.

## TUKOVÁ TKÁŇ JE NUTNÁ PRO POZITIVNÍ METABOLICKÉ ÚČINKY INHIBITORŮ ANGIOTENZIN KONVERTUJÍCÍHO ENZYMU: STUDIE NA MYŠÍCH S DIETOU – INDUKOVANOU OBEZITOU A LIPOATROFICKÝCH A-ZIP/F-1 MYŠÍCH

**Autoři:** Petra Kaválová<sup>1</sup>, Markéta Bártlová<sup>1</sup>, Michal Haluzík<sup>3</sup>, Zdeňka Lacinová<sup>1</sup>, Denisa Haluzíková<sup>1,2</sup>  
**Školitel:** prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc., <sup>1</sup>III. interní klinika 1. LF UK a VFN, <sup>2</sup>Ústav tělovýchovného lékařství 1. LF UK a <sup>3</sup>Katedra chemie PřF Ostravské Univerzity

**Úvod:** Pozitivní účinky ACE inhibitorů byly prokázány řadou experimentálních i klinických studií, jejich mechanismus však není dosud zcela jasný. Předpokládá se, že jde mimo jiné o působení v tukové tkáni.

**Metodika:** Studovali jsme metabolické účinky ACE inhibitoru ramiprilu u lipoatrofických A-ZIP/F-1 myši bez bílé tukové tkáně a u C57BL/6J myši s obezitou a inzulínovou rezistencí indukovanou vysokotukovou dietou. Sérové koncentrace inzulínu, resistinu, leptinu, MCP-1, adiponektinu byly měřeny RIA, ELISA a Luminex kity, exprese vybraných genů v tukové tkáni byly měřeny pomocí RT PCR.

**Výsledky:** 3 měsíční léčba ramipilem (8 mg/kg/den v pitné vodě) signifikantně neovlivňovala sérovou hladinu glukózy, inzulínu, triglyceridů a volných mastných kyselin u A-ZIP/F-1 myši. Naproti tomu u myši s HFD, podávání ramiprilu částečně potlačilo rozvoj obezity, potlačilo zvětšení velikosti adipocytů, vzestup hladiny volných mastných kyselin a triglyceridů a vzestup hladiny inzulínu ( $0,60 \pm 0,1$  vs.  $1,73 \pm 0,3$  ng/ml,  $p < 0,05$ ) a HOMA indexu. V subkutánním tuku léčba ramipilem zabránila snížení exprese mRNA pro adiponektin a potlačila zvýšení exprese mRNA pro TNF- $\alpha$  a pro mRNA makrofágový marker Emr1. Ve visce-

rální tukové tkáni ramipril zabraňoval snížení exprese mRNA adiponektinu indukované HFD, signifikantně potlačil zvýšení exprese mRNA pro Emr1 a MPC-1 a vedl ke snížení exprese mRNA pro interleukin-6 a TNF- $\alpha$ .

**Závěr:** Naše data ukazují, že léčba ACE inhibitorem ramiprilem částečně potlačila rozvoj obezity a inzulínové rezistence u myši krmených vysokotukovou dietou, zatímco neovlivnila inzulínovou senzitivitu u lipoatrofických A-ZIP/F-1 myši. Mechanismus účinku ramiprilu může spočívat ve zvýšení produkce adiponektinu v tukové tkáni spolu s potlačením infiltrace tukové tkáně makrofágy a zabránění rozvoje lokálního zánětu v tukové tkáni.

*Podporováno grantem MZO 000064165*

### IMUNOBIOLOGICKÉ ÚČINKY LÁTEK V POTKANÍCH HEPATOCYTECH IN VITRO

**Autoři:** P. Melkusová, Z. Zídek, A. Holý, E. Kmoníčková

**Školitel:** RNDr. E. Kmoníčková, CSc., Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.

**Úvod:** Oddělení farmakologie ÚEM AV ČR se zabývá studiem imunomodulačních vlastností látek, zejména acyklických nukleosidfosfonátů (ANP), tj. nově vyvíjených antivirotik prof. A. Holým v ÚOCHB. Jako biologický model na testování účinků těchto látek používáme různé typy myších, potkaních a lidských buněk imunitního systému. Na základě literárních údajů i našich předběžných výsledků bylo cílem zjistit, zda látky mající imunomodulační potenciál působí i na jiný typ buněk, konkrétně primární hepatocyty.

**Metodika:** Byly připraveny primární kultury potkaních hepatocytů. Pro testování imunomodulačních vlastností látek jsme použili 1/ látky ze skupiny acyklických nukleosidfosfonátů a 2/ selektivní inhibitory endoplazmatické  $Ca^{2+}$ -ATPasy (thapsigargin). Základními testovanými parametry byla stanovení oxidu dusnatého (NO, pomocí Griessovým reagens) a analýza cytokinů, např. IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$  (ELISA nebo multiplexová analýza cytokinů přístrojem Luminex). V některých experimentech byly buňky inkubovány v přítomnosti lipopolysacharidu bez látky/s látkou. Mechanismy buněčné signalizace byly studovány technikami western blotu (MAP kinas) a PCR (exprese iNOS).

**Výsledky:** Kultury primárních hepatocytů se ukázaly být vnímavé na stimulaci některými látkami s prokázanou imunomodulační aktivitou (produkce NO a exprese iNOS, a produkce cytokinů a chemokinů). Po 24-hodinové inkubaci jsme pozorovali signifikantní zvýšení produkce NO v přítomnosti ANP (slovem) a thapsigarginu. Tento efekt byl ještě výraznější v přítomnosti lipopolysacharidu. Obě skupiny látek vyvolávaly sekreci cytokinu měřenou v kultivačním médiu. ANP vedou v hepatocytech k aktivaci MAP kinas.

**Závěr:** Podařilo se nám prokázat imunobiologickou reaktivitu hepatocytů v primární kultuře potkana.

*Práce je podporována grantem GAČR 305/07/0061 a Centrem nových antivirotik a antineoplastik (č. 1M6138896301)*

### PROTEKTIVNÍ ÚČINEK RESVERATROLU NA HEPATOCYTECH VYSTAVENÝCH OXIDAČNÍMU STRASU

**Autoři:** Dalibor Černý, Jindřich Martínek, Aleš Hořínek, Hassan Farghali

**Školitel:** prof. Dr. Hassan Farghali, DrSc., Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN

Cílem této práce bylo zkoumat hepatoprotektivní účinek premedikace resveratrolem (RES) a silymarinem (SM) na potkaních hepatocytech inkubovaných s *tert*-butylhydroperoxidem (tBH). Byl použit model imobilizovaných hepatocytů na agarózovém nosiči - bioreaktor, který byl kontinuálně po dobu 5 hodin proplachován médiem se zkoumanými látkami. Apoptotické markery pak byl vyhodnocovány histochemicky. Viabilita hepatocytů byla posuzována podle míry tvorby ALT a močoviny. Dále byly testovány exprese genů pro Hemoxygenázu 1 (HO-1) a Nitric Oxide Syntházu-2 (NOS-2) v korelaci s měřením aktivity těchto enzymů – schopnost produkce NO a CO. Resveratrol i sylimarin potlačily tBH indukovanou toxicitu již v krátkodobém experimentu za 5 hodin, což bylo prokázáno výrazným snížením měřených ALT a NO. Expres obou enzymů NOS-2 i HO-1 byla zvýšena u skupiny se samotným tBH, ale u skupin s navíc přidávanými RES či SM byl zaznamenán signifikantní pokles. Naměřené změny biochemických markerů korelovaly s histologickým nálezem a prokazovaly signifikantní hepatoprotektivní efekt obou použitých látek. Je tedy možné konstatovat, že hepatoprotektivní účinky silymarinu a resveratrolu jsou srovnatelné a v tomto účinku hrají roli enzymy HO-1 a NOS-2. Pokusy však nutno ověřit *in vivo*.

### SNF2H REGULATES HETEROCHROMATIN STRUCTURE AND GLOBAL TRANSCRIPTION

**Authors:** Jarmila Podskočová, Karin Vargová, Juraj Kokavec

**Supervisor:** MUDr. Tomáš Stopka Ph.D., Ústav patologické fyziologie, 1.LF UK, Praha

Role of SWI/SNF2 family in oncogenesis is established by studies in both mouse models and human patients. Snf2h belongs to SWI/SNF2 family of histone- and DNA- binding proteins that in expense of ATP hydrolysis regulates structure of nuclear chromatin. Knockout mice of Snf2h are embryonic lethal and heterozygotes display mild growth retardation (Stopka 2003). We used confocal laser scanning microscopy and demonstrate that Snf2h heterozygous cells derived from embryonic, hematopoietic and germinal cells display defects in global histone modification including histone H3K79 hypomethylation. H3K79 trimethylation is a chromatin mark associated previously with active transcriptional elongation. In addition, significant defects are found in Snf2h heterozygous heterochromatin structure and indicate that Snf2h has important role in the nucleosome assembly, a finding supported by studies in *Drosophila* (Fyodorov 2004). Snf2h is highly expressed in normal and leukemic blasts and



its role has been implicated in cytokine-induced erythroid differentiation. By using experimental hemolysis we demonstrate that both Snf2h wild type and heterozygous mice induce erythropoiesis similarly. However, significant amount of Snf2h compensation from wild type allele was observed in Snf2h heterozygotes. Collectively, our data demonstrate role of Snf2h in gene transcription regulation and chromatin assembly during embryonic development and hematopoietic differentiation.

## PROTEOMICKÁ IDENTIFIKACE CÍLOVÝCH MOLEKUL PRO SELEKTIVNÍ ELIMINACI TRAIL-REZISTENTNÍCH LEUKEMICKÝCH BUNĚK

**Autoři:** Mgr. Tereza Šimonová, Ondřej Toman, Pavel Klener, Jiří Petrák, Jan Živný  
**Školitel:** MUDr. Jan Živný, PhD., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK

**Úvod:** Cytokin TRAIL se dostal do popředí zájmu jakožto nové potenciální agens pro léčbu maligních nádorů. TRAIL aktivuje apoptotickou dráhu pouze u nádorově transformovaných buněk. Selektivním tlakem TRAILu je možné vytvořit TRAIL-rezistentní subklony nádorových buněk. Rezistence je nejčastější komplikací při léčebném využití chemoterapie. Na modelu buněčné linie akutní myeloidní leukémie HL-60 zkoumáme mechanismy stojící za získanou rezistencí k cytokinu TRAIL. Využili jsme proteomický přístup pro identifikaci diferenciatně exprimovaných molekul TRAIL-rezistentních buněk, které mohou představovat cíl pro jejich selektivní eliminaci.

**Metody:** Z TRAIL-senzitivní HL-60 myeloidní linie jsme selektivním tlakem TRAILu odvodili dva odlišné TRAIL-rezistentní subklony označené jako P1 a P2. Za využití 2D-PAGE a následné hmotnostní spektrometrie jsme porovnali jejich proteinové expresní profily. Zaměřili jsme se na dvojnásobný pokles exprese dvou proteinů nezbytných pro replikaci a reparaci DNA v případě P1 subklonu a na více než šestinásobný pokles exprese adenosin-deaminázy u P2 subklonu. Vytipovali jsme látky, které by mohly mít u jednotlivých subklonů rozdílnou vnímavost a buňky jsme *in vitro* inkubovali s rostoucími koncentracemi těchto látek. Senzitivita subklonů byla stanovena jako míra proliferace buněk (pomocí Quick Cell Proliferation Assay Kit II) a jako procento apoptotických buněk (FACS analýza annexin-V značených buněk).

**Výsledky:** Identifikovali jsme 50 rozdílně exprimovaných proteinů. Inkubace výchozí HL-60 linie a P1 a P2 subklonu s rostoucími koncentracemi látek etoposidu, adenosin-monofosfátu a vidarabinu odhalila vyšší citlivost subklonu P1 k etoposidu a vyšší citlivost P2 subklonu k adenosin-monofosfátu a vidarabinu.

**Závěr:** Inovativním přístupem jsme využili konvenční proteomickou analýzu pro výběr možných molekulárních cílů k eliminaci TRAIL-rezistentních leukemických buněk. Hypotézy formulované na základě proteomické charakterizace těchto buněk jsme testovali a úspěšně potvrdili *in vitro* buněčnými esejemi.

*Práce byla podpořena těmito granty: MZCR/UHKT 023736, LC06044, MSM 0021621806, IGA MZ NR8317, NR8930*

## JAZYKY PRE FYZIOLOGICKÉ MODELOVANIE

**Autor:** Mgr. Marek Mateják  
**Školitel:** MUDr. Jiří Kofránek, CSc., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK, Laboratoř biokybernetiky a počítačové podpory výuky

Vyjadrovacia sila jazykov pre fyziologické modelovanie by mala byť rovnaká. Avšak zápis modelu sa môže značne líšiť v prehľadnosti, v čitateľnosti, v znova použiteľnosti alebo v možnosti nadväzovať na iné aplikácie.

Existuje niekoľko zdrojov, ktoré prezentujú svoje modely v špeciálnych definovaných jazykoch pre tento účel. Príkladom je Quantitative Human Physiology z University of Mississippi Medical Center, ktorý popisuje veľký komplexný fyziologický model človeka. Alebo CellML z University of Auckland, v ktorom je už k dnešnému dňu k dispozícii cez tristo rôznych matematických modelov. Pokladáme za vhodné využívať tieto neustále sa rozrastajúce zdroje na doplnenie a na porovnanie s našimi doterajšími fyziologickými modelmi. Ukazuje sa, že je možné automaticky prevádzať jazyk zápisu modelu tak, aby bol jeho matematický význam rovnaký. Špecifické syntaktické zápisy je často vhodné transformovať pomocou komplexnejších štruktúr v cieľovom jazyku. Pri takomto automatickom konvertovaní je do veľkej miery možné udržať aj syntaktickú štruktúru modelu, jeho rozdelenie na časti alebo knižničné funkcie. Pre naše účely je vhodné mať dostupné modely v jazyku Modelica, pretože sa zaoberáme jeho podporou pod platformou Microsoft .NET Framework. To nám umožňuje vytvárať nástroje nielen na tvorbu, spúšťanie a prehľadanie modelov, ale aj na vývoj širokej škály aplikácií s nimi úzko zviazaných. Zameriavame sa tak hlavne na e-learningové aplikácie, interaktívne dokumenty a simulačné hry.

## POROVNÁNÍ STABILITY ADVANCEMENTU MANDIBULY S A BEZ COUNTRÉ CLOCKWISE ROTACE NA PRASEČÍCH MANDIBULÁCH

**Autoři:** MUDr. Jiřina Hoffmannová, René Foltán  
**Školitel:** prof. MUDr. Jiří Mazánek, DrSc., Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN  
**Odborný školitel:** MUDr. René Foltán, Ph.D.

Bilaterální sagitální osteotomie mandibuly (BSSO) s countre clockwise rotací (CCW) je považována mnoha autory za metodu volby při léčbě pacientů s anteriorně otevřeným skusem. Problémem však stále zůstává pooperační stabilita výsledku. Arnett a jiní proto doporučují fixovat fragmenty mandibuly na každé straně 2 minidlahami.

**Metoda:** Navrhli jsme prospektivní studii se 3 skupinami čerstvých prasečích mandibul přepůlených ve střední čáře. Na každé polovině byla provedena BSSO a byla upevněna do měřící soupravy. Při zátěži simulující žvýkací síly a zvyšující se po 10 N jsme sledovali vychýlení proximálního segmentu v horizontálním i vertikálním směru.

První skupinu s mandibulárním advancementem o 10 mm jsme porovnali s druhou skupinou s advancementem o 10 mm a 20°CCW. Obě byly fixovány 1 minidlahou. Následně jsme druhou skupinu porovnali se třetí složenou z mandibul předsunutých o 10 mm s 20°CCW fixovaných 2 minidlahami. K porovnání výsledků jsme použili Kruskal-Wallisův statistický test.

**Výsledky:** Třetí skupina vykazovala statisticky signifikantně vyšší stabilitu ve vertikálním směru než skupina první a druhá. Rozdíly v horizontálním směru nebyly statisticky významné, v přednášce vysvětlujeme hypotézu proč tomu tak je.

**Závěr:** potvrdili jsme, že fixace 2 miniplate u mandibulárního advancementu s CCW neutralizuje lépe vertikální pohyby proximálního segmentu.

### TVORBA FYZIOLOGICKÝCH VÝUKOVÝCH STIMULÁTORŮ POMOCÍ VLASTNÍCH SOFTWAREVÝCH NÁSTROJŮ

**Autor:** Mgr. Petr Stodulka

**Školitel:** MUDr. Jiří Kofránek, CSc., Ústav patologické fyziologie 1. LF UK, Laboratoř biokybernetiky a počítačové podpory výuky

Věnujeme se vývoji aplikací, které demonstrují chování netriviálních fyziologických systémů, jejich dynamiku a regulaci. Matematicky vyjádřené patofyziologické koncepty jsou prezentovány v podobě schematické, snadno srozumitelné, přesto však dostatečně přesné. Nejlepších výsledků je dosaženo, pokud je forma studentům povědomá, např. podobná ilustracím v učebnici, nicméně nabízející oproti běžné papírové podobě možnost přímo zasahovat do prezentovaného děje. Vyvíjíme tedy výukové simulátory (či simulační hry), které graficky atraktivní formou prezentují složité fyziologické vazby a umožňují studentům za běhu měnit parametry simulace či přepojovat celé regulační okruhy (princip *ceteris paribus*). Vývoj fyziologických simulátorů je multidisciplinární úloha, která zahrnuje tvorbu fyziologických modelů, interaktivních animací, simulačních scénářů a speciálních softwarových nástrojů.

Tvorba fyziologického modelu spočívá ve formalizaci fyziologických vztahů vyjádřené matematickým modelem. Na tomto úkolu se podílejí teoretičtí fyziologové spolu s klinickými pracovníky a matematiky. Výstupem je model ve specializovaném SW prostředí Matlab Simulink nebo Modelica.

Vizuální atraktivita simulátoru je důležitá pro udržení pozornosti studenta. Profesionální výtvarníci vytvářejí animované sekvence odrážející hodnoty počítaného modelu, jako jsou rychlost tlukotu srdce nebo odstín krve. Prostředí Flash nebo WPF umožňuje využít animace také k ovládání simulátoru.

Unikátním výsledkem naší práce jsou vlastní speciální softwarové nástroje pro propojení modelů s animacemi, vizuální návrh stavových automatů a řízení aplikace podle momentálního kontextu. Základní vývojovou platformou je Microsoft .NET Framework.

Klíčovým faktorem pro úspěch výukových aplikací je jejich dostupnost studentům. Použité technologie nám umožňují umístit simulátory na internet pro prohlížení a spouštění přímo v okně prohlížeče. Lze je také zasadit do textu a tím vytvořit interaktivní online učebnici, která kromě textu obsahuje multimédia a interaktivní simulátory.

### MODELOVÁNÍ STATICKÉ P-V CHARAKTERISTIKY PLIC

**Autor:** Ing. Ondřej Vacek, Laboratoř biokybernetiky a počítačové podpory výuky, ÚPF 1. LF UK

**Školitel:** MUDr. Jiří Kofránek, CSc., Laboratoř biokybernetiky a počítačové podpory výuky, Ústav patologické fyziologie 1. LF UK

Pacienti na jednotce intenzivní péče jsou často závislí na ventilátorech, jakožto umělé podpoře jejich dýchání. Hlavním úkolem je v takovém případě na jedné straně zajistit dostatečné okysličení krve, na druhé straně nepoškodit plíce nesprávným nastavením tlaku a objemu vdechovaného vzduchu (barotraumata a volutraumata). Nalézt optimální nastavení těchto parametrů je obzvláště náročným úkolem u pacientů s různými stupni poškození plic, která ovlivňují poměr ventilace/perfúze.

Statická PV křivka je vhodným ukazatelem stupně poškození plic na alveolární úrovni, neboť nezahrnuje dynamický vliv odporu dýchacích cest. Jedním z hlavních ukazatelů stupně poškození plic je změna poddajnosti (změna objemu na jednotku tlaku), která se projevuje na PV křivce.

Projekt se zabývá vývojem modelu statické PV křivky plic, který by umožnil na základě analýzy a usnadnění pochopení mechanismů vedoucích k poškození plic a zároveň díky těmto znalostem usnadnil zpětnou interpretaci stavu pacienta na základě porovnání PV diagramu jeho plic a tak optimalizovat nastavení parametrů umělé plicní ventilace. Model by měl též umožnit sledování míry ventilace v jednotlivých částech plic.

Struktura modelu zahrnuje vlivy tlaku hrudní stěny, elasticity tkáně a velký důraz je kladen na roli povrchového napětí alveolů díky způsobeného surfaktantem. V současné době je hotový prototyp modelu, který bude validován na rozsáhlém souboru dat.

*Projekt vzniká ve spolupráci s Center for Model-Based Medical Decision Support, Aalborg University, Dánsko.*



## PROTEKTIVNÍ A KŘÍŽOVĚ SLIZNIČNÍ IMUNIZACE MYŠÍ INAKTIVOVANÝCH VIREM CHŘIPKY TYPU A S POUŽITÍM BACILLUS FIRMUS JAKO ADJUVANS

**Autoři:** Zanvit Peter, Havlíčková Martina, Táčner Jaroslav, Jirkovská Marie, Novotná Olga, Čechová Dana, Julák Jaroslav, Šterzl Ivan a Prokešová Ludmila

**Školitel:** doc. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc.

**Úvod:** Aktuálně hrozící nebezpečí vzniku vysoce patogenních chřipkových virů subtypů A s sebou přináší požadavek na vývoj vakcíny schopné navodit křížovou protekci mezi jednotlivými subtypy viru chřipky. K tomuto cíli jsme se pokusili přispět naší prací, kde jsme při slizniční imunizaci myší chřipkovým virem typu A použili jako účinné adjuvans delipidovanou frakci *Bacillus firmus* (DBF).

**Metodika:** BALB/c myši byly imunizovány intratracheálně (IT) nebo intranazálně (IN) inaktivovanými viry chřipky typu A (H1N1 nebo H3N2) a DBF. Systémové a slizniční protilátky byly detekovány pomocí ELISA metody, plicní biopsie jsme charakterizovali histologicky a *in vivo* jsme testovali protektivní efekt proti infekci. Dynamiku adjuvantního vlivu na expresi cytokinů (IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10), TLR (TLR-2, 3, 7, 9) a iNOS jsme stanovovali pomocí real-time PCR.

**Výsledky:** Podařilo se nám navodit jak intrasubtypickou tak heterosubtypickou křížovou protekci u myší imunizovaných inaktivovanými viry chřipky typu A a bakteriálním adjuvans DBF. V intervalu 12-48 hodin po intranazálním podání DBF byla zaznamenána zvýšená exprese jak Th1 tak Th2 cytokinů. Výrazné zvýšení bylo patrné zejména u IL-10, který hraje klíčovou roli při izotypovém přesmyku na IgA. Exprese iNOS byla zvýšena dvoufázově, 3 a 72 hodin po podání adjuvans. Adjuvans (DBF) mělo významný vliv na zvýšení exprese TLR rozpoznávajících bakteriální DNA (TLR-9) a jedno-vláknovou RNA (TLR-7), zatímco expresi TLR-2 zvyšovalo jen mírně. TLR-7 by se mohl účastnit rozpoznávání RNA viru chřipky.

**Závěr:** DBF se ukázalo být velmi účinným adjuvans indukující heterosubtypickou protekci vůči chřipce typu A u myší.

*Tato práce vznikla za podpory grantů Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR MSM0021620806 a Grantové agentury ČR 310/07/0675.*



Příprava na rozdělení cen v Akademickém klubu 1. LF UK ve Faustově domě. Zleva Mgr. Jitka Sýkorová, Pavla Pešatová, Hana Netíková.





*Porotkyně soutěže doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc. (první zleva), přednostka Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN.*



*Vítězové, porotci a organizátoři před zahájením rozdělování cen pro nejlepší práce IX. ročníku Studentské vědecké soutěže.*



# SEKCE POSTGRADUÁLNÍ KLINICKÁ I.

## ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Bartovská Zofia, MUDr.
- Bošanská Lenka, MUDr.
- Bouček Jan, MUDr.
- Bradáč Ondřej, MUDr. Mgr.
- Dušejovská Magdaléna, MUDr.
- Douša Miroslav, MUDr.
- Fraško Roman, MUDr.
- Holinka Štěpán, Ing.
- Hubka Petr, MUDr.
- Jatchvliani Dato, MUDr.
- Kalvoda Jan, MUDr.
- Kotilová Libuše, MUDr.
- Luchavová Mária, MUDr.
- Macášek Jaroslav, MUDr.
- Mudrová Eliška, MUDr.
- Novák František, MUDr.
- Rathous Ivo, MUDr.
- Rosa Ján, MUDr.
- Sulek Štěpán, MUDr.
- Ščerbanovská Petra, MUDr.
- Šromová Lucie, Mgr.
- Špaček Miroslav, MUDr.
- Šupová Renata, Mgr.
- Trča Stanislav, MUDr.

## HODNOTITELSKÁ KOMISE

předseda: **prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.**

členové: prof. MUDr. Sixtus Hynie, DrSc.

doc. MUDr. Pavel Maruna, CSc.

**DYNAMIKA HIV- SPECIFICKÝCH CD8+ T LYMFOCYTŮ U HIV+ PACIENTŮ V PRŮBĚHU ROČNÍHO SLEDOVÁNÍ****Autoři:** MUDr. Zofia Bartovská, MUDr. Ondřej Beran, Ph.D., MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc., doc. MUDr. Michal Holub, Ph.D.**Školitel:** Michal Holub, doc., MUDr., Ph.D., III. klinika infekčních a tropických nemocí 1. LF UK a FN Na Bulovce

**Úvod:** HIV-specifické CD8+ T lymfocyty hrají významnou roli v imunopatogenezi HIV infekce. Hlubší znalost jejich role by mohla být uplatněna při vývoji vakcín a imunoterapie HIV infekce. Cílem této studie bylo analyzovat výskyt HIV-specifických CD8+ T lymfocytů u HIV+ pacientů během ročního sledování a stanovit, jak je výskyt těchto buněk ovlivněn komplexní antiretrovirovou léčbou (cART).

**Metodika:** Do této prospektivní studie bylo zařazeno celkem 58 HIV+ pacientů na základě HLA-A2 haplotypu. Tato skupina zahrnovala 33 pacientů léčených cART (skupina A), 13 pacientů původně neléčených, kterým byla cART nasazena v průběhu trvání studie (skupina B) a 12 pacientů bez terapie (skupina C). Byly analyzovány následující parametry, a to na začátku studie a po 12 měsících: počet CD4+ a CD8+ T lymfocytů, virová nálož HIV-1 a procento HIV-specifických CD8+T lymfocytů. HIV-specifické CD8+T lymfocyty byly detekovány za použití HLA 0201/gag tetramerů a analýzy na průtokovém cytometru.

**Výsledek:** Porovnání mediánu výskytu gag-specifických CD8+ T lymfocytů neukázalo statisticky významný rozdíl mezi skupinami ani na začátku sledování (0,05 %, 0,06 % a 0,135 % v A, B a C skupině), ani po 12 měsících (0,05 %, 0,12 % a 0,185 % v A, B a C skupině). U žádné ze skupin dále nebyly pozorovány signifikantní změny ve výskytu gag-specifických CD8+ T lymfocytů v průběhu ročního sledování. Nebyla nalezena korelace mezi výskytem HIV-specifických CD8+ T lymfocytů a počtem CD4+ T lymfocytů nebo virové nálože.

**Závěr:** Naše výsledky ukazují, že detekovatelné gag-specifické T lymfocyty mělo vyšší procento neléčených HIV+ pacientů v porovnání s pacienty na cART. Výskyt gag-specifických T lymfocytů není signifikantně ovlivněn cART i přes efekt terapie na pokles virové nálože.

**Poděkování:** Tato studie byla podpořena granty GAUK 18/06 a GAČR 310/05/H533.

**VÝZNAM REGULAČNÍCH T LYMFOCYTŮ U SPINOCELULÁRNÍCH KARCINOMŮ HLAVY A KRKU****Autoři:** Jan Bouček, Jan Betka, Tomáš Eckschlager, Blanka Říhová**Školitel:** prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc., Mikrobiologický ústav v.v.i., AV ČR, prof. MUDr. Jan Betka, DrSc., Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol

Dlaždicobuněčné karcinomy hlavy a krku (HNSCC) tvoří šestou nejčastější malignitu v evropských zemích. Přes všechny pokroky v terapii, dané zejména kombinací léčebných modalit, se nedaří prodloužit dlouhodobé přežití pacientů. Chybí zejména spolehlivé molekulárně biologické markery, které by předpověděli odpověď pacienta na léčbu.

Regulace imunitní odpovědi je jedním ze základních prostředků k udržení rovnováhy organismu. Regulační T lymfocyty (Treg, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) byly popsány jako jeden z významných faktorů ovlivňujících a potlačujících imunitní odpověď. Narušení této rovnováhy může mít za následek vznik na jedné straně autoimunitního a na straně druhé nádorové onemocnění.

V rámci této studie byla před započítím léčby vyšetřena periferní krev 112 pacientů s dlaždicobuněčným karcinomem v oblasti hlavy a krku. Pomocí průtokové cytometrie jsme se zaměřili na lymfocytární subpopulace (s důrazem na Treg) a standardními hematologickými a biochemickými metodami byl vyšetřen krevní obraz a některé nádorové markery. Výsledky byly porovnány se skupinou zdravých dárců krve.

Analýza výsledků prokázala statistickou významnost sledovaných nádorových markerů (SCC, CYFRA 21-1 a AAT). Dále, ve srovnání se zdravými dárci, byl prokázán vzestup hladiny jak Th lymfocytů, tak regulačních T lymfocytů a pokles hladiny NK buněk. Hladina CD8+ pozitivních lymfocytů pozitivně koreluje s T stádiem onemocnění. Procentuální zastoupení Treg je signifikantně zvýšeno u pacientů s časnou recidivou onemocnění při porovnání v odstupu delším než 1 rok od ukončení léčby.

Naše výsledky potvrzují vliv regulačních T lymfocytů na rozvoj spinocelulárních nádorů v oblasti hlavy a krku. Analýza zastoupení Treg v periferní krvi pacientů s HNSCC by mohla ovlivnit volbu a intenzitu léčebné strategie a tím přispět ke zlepšení prognózy pacientů s tímto onemocněním.

*Práce vznikla za podpory IGA MZ ČR (grant č. 8883–3) a MŠMT – výzkumný záměr č. MSM 0021620813.*

**PRODUKCE CYTOADHEZIVNÍCH MOLEKUL V TUKOVÉ TKÁNI OBÉZNÍCH JEDINCŮ: SROVNÁNÍ SUBKUTÁNNÍ A VISCERÁLNÍ TUKOVÉ TKÁNĚ****Autoři:** L. Božanská<sup>1</sup>, D. Michalský<sup>2</sup>, M. Kasalický<sup>2</sup>, D. Haluzíková<sup>3</sup>, T. Roubíček<sup>1</sup>, M. Mráz<sup>1</sup>, M. Bártlová<sup>1</sup>, M. Matoulek<sup>1</sup>, Z. Lacinová<sup>1</sup> a M. Haluzík<sup>1</sup><sup>1</sup>III. interní klinika 1. LF UK a VFN, <sup>2</sup>I. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN, <sup>3</sup>Ústav tělovýchovného lékařství 1. LF UK a VFN**Školitel:** prof. MUDr. M. Haluzík, DrSc.

**Úvod:** V naší studii jsme se zaměřili na otázku, zda je tuková tkáň producentem proaterogenně působících cytoadhezivních molekul (CAM) u obézních jedinců a zda se tato produkce liší mezi jednotlivými typy tukové tkáně.

**Metodika:** Do studie bylo zařazeno 25 obézních žen a 14 štíhlých zdravých žen, u kterých byly provedeny krevní odběry a odběr subkutánní a viscerální tukové tkáně v průběhu plánovaného chirurgického výkonu (bandáž žaludku resp. cholecystektomie). Sérové koncentrace inzulínu a cytoadhezivních molekul byly stanoveny multiplexovou imunoanalýzou pomocí Luminox kitů, exprese mRNA CAM ve vzorcích tukové tkáně metodou real-time PCR a proteinová exprese CAM pomocí Luminox kitů a normalizována k obsahu proteinů.

**Výsledky:** U obézních žen jsme zaznamenali signifikantně vyšší BMI a solubilních CAM E-selectinu a ICAM-1. Sérové koncentrace VCAM-1 se mezi skupinami významně nelišily. Nebyl zaznamenán rozdíl v expresích mRNA a proteinů CAM v subkutánním tuku mezi skupinou obézních a štíhlých žen. Naopak, ve viscerálním tuku byla exprese mRNA i proteinová exprese pro ICAM-1 a VCAM-1 významně zvýšená ve skupině obézních žen (ICAM-1 kontroly vs. obézní (BMI 30-40):  $6,4 \times 10^{-5} \pm 2 \times 10^{-5}$  vs.  $1,99 \times 10^{-4} \pm 3,7 \times 10^{-5}$ ,  $p < 0,01$ ; VCAM-1 kontroly vs. obézní (BMI 30-40):  $6,2 \times 10^{-5} \pm 2 \times 10^{-5}$  vs.  $2 \times 10^{-4} \pm 6,3 \times 10^{-5}$ ,  $p < 0,5$ ).

**Závěr:** Výsledky svědčí pro zvýšenou produkci proaterogenně působících cytoadhezivních molekul ve viscerální tukové tkáni obézních žen, ne však v subkutánní tukové tkáni. Výsledky studie tak mohou částečně objasnit vztah mezi rizikem kardiovaskulárních onemocnění a akumulací viscerálního tuku u obézních jedinců popsany zejména ve velkých epidemiologických studiích.

*Podporováno IGA 8302-5 a MZO 000064165.*

### UNRUPTURED INTRACRANIAL ANEURYSMS – CLIP, COIL OR NATURAL COURSE OF DISEASE? A LONG TERM, PROSPECTIVE, SINGLE INSTITUTIONAL STUDY

**Authors:** <sup>1</sup>Bradáč Ondřej, M.D., <sup>2</sup>Beneš Vladimír III., M.D., <sup>1,3</sup>Beneš Vladimír II., M.D., PhD., <sup>1</sup>Department of Neurosurgery, Central military hospital in Prague, Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Regional Hospital Liberec

**Supervisor:** prof. Vladimír Beneš, DrSc., <sup>1</sup>Department of Neurosurgery of the First Faculty of Medicine and Central Military Hospital in Prague

**Objective:** Management of unruptured intracranial aneurysms is still a frequently discussed topic. We aim to predict optimal age for changing the treatment from active to passive therapy and to determine differences between surgical and endovascular procedures. These predictions are based on the data from our prospectively collected database during the period 1990 - 2006.

**Methods:** 321 unruptured aneurysms of anterior circulation were included in our study, divided into two groups – surgical and endovascular (156 and 165 UIAs). Life expectancies of the patients posing UIA of certain diameter in various ages were determined from annual rupture rates. These life expectancies were compared with the life expectancy after an active treatment procedure with certain procedural risk derived from our database.

**Results:** The overall procedural mortality and morbidity was 5.8% in the surgical and 4.2% in the endovascular group. Zero benefit ages were determined for small (age of 50 for surgery, age of 36 for endovascular techniques), medium (age of 68 and 59), large (age of 63 for surgery) and giant (age of 70 for surgery) aneurysms. The years saved by active therapy in comparison with the watch and wait strategy for the patient at the age of 20 were determined as 1, 7, 27 and 42 years for small, medium, large and giant UIAs, similar by both modalities.

**Conclusions:** The benefit of active treatment was proven for medium, large and giant unruptured intracranial aneurysms till great age. In case of small aneurysms one should decide entirely on individual basis.

### CARBOHYDRATE-DEFICIENT TRANSFERRIN HAS HIGHER SENSITIVITY AND SPECIFICITY FOR THE DETECTION OF ALCOHOL ABUSE THAN GMT, AST/ALT RATIO AND MCV IN THE CIRRHOTIC POPULATION

**Authors:** Dousa Miroslav, Zima Tomas, Mejstrikova Ester, Bruha Radan

**Supervisor:** doc. MUDr. Radan Brůha, CSc., IV. interní klinika 1. LF a VFN

In the cirrhotic patients correct knowledge about alcohol abuse is of great importance. In this study we analyzed the contribution of the percentage of carboxy deficient transferrin (%CDT) to diagnose alcohol abuse in the cirrhotics. Sensitivity and specificity of %CDT was compared with conventional markers (GMT, AST/ALT ratio, mean erythrocytes corpuscular volume MCV).

**Methods:** Patients (n=45) with liver cirrhosis (ethylic aetiology) were examined for laboratory markers of alcohol abuse and average daily alcohol intake in the 28 days previous to the laboratory examination (calculated according to standardised self reported protocol). %CDT was assessed using Axis-Shield assay.

**Results:** In the cirrhotics the higher level of %CDT was the most significant marker of alcohol abuse (Mann-Whitney,  $p=0.0002$ ). Higher MCV (Mann-Whitney,  $p=0.0015$ ) was also significant. On the other hand, GMT and AST/ALT ratio were not found to be significant. Sensitivity of %CDT (cut off 2.8) in estimation of alcohol abuse was 79%, sensitivity of MCV was (cut off 96 fL) 76%. Specificity of %CDT (cut off 2.8) in the estimation of alcohol abuse was 92% and specificity of MCV (cut off 96 fL) was 67%.

**METABOLICKÝ SYNDROM A KATABOLISMUS TĚLESNÝCH BÍLKOVIN**

**Autoři:** M. Dušejovská, B. Staňková, M. Vecka, A. Písaříková, E. Tvrzická, M. Zeman  
**Školitel:** prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc., IV.interní klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Metabolický syndrom (MS) charakterizuje intraabdominální akumulace tuku, arteriální hypertenze, dyslipidémie (DLP) a insulinová rezistence vedoucí k poruchám homeostázy glukózy. Homeostáza bílkovin, která je výsledkem rovnováhy mezi jejich syntézou a degradací. Koncentrace viscerálních proteinů reflektují syntézu bílkovin, koncentrace 3-methylhistidinu (3-MeHis) v séru jsou částečným ukazatelem degradace bílkovin, neboť 3-MeHis není zpětně inkorporován do *poolu* tělesných bílkovin.

**Soubor nemocných a metody:** Do studie bylo zařazeno 95 osob s MS (59 mužů, 36 žen) a 130 zdravých osob (68 mužů a 62 žen). Vyšetřili jsme základní klinická data, parametry glukózové homeostázy, oxidační stres, koncentrace plasmatických celkových bílkovin (CB), frakce bílkovin elektroforeticky, přímou metodou albumin (Alb), mastné kyseliny (FA), koncentrace konjugovaných dienu v LDL (CD-LDL) a koncentrace 3-MeHis v séru a jeho poměr ke kreatininu.

**Výsledky:** U obou pohlaví byly zjištěny snížené koncentrace albuminu. Pouze u mužů byly prokázány zvýšené koncentrace 3-MeHis a poměr 3-MeHis/kreatinin. Dále byly zjištěny významné korelace mezi CD-LDL, CRP, složením mastných kyselin a koncentrací 3-MeHis a 3-MeHis/kreatinin. Koncentrace albuminu negativně korelovala s CRP ( $r = -0,351$ ;  $P < 0,001$ ) i glykémii ( $r = -0,72$ ,  $P < 0,001$ ), pozitivně korelovaly CRP a glykemie ( $r = 0,209$ ;  $P < 0,01 = 0,007$ ).

**Závěr:** U mužů s MS byl zjištěn pokles koncentrace albuminu a vzestup 3-MeHis a poměru 3MeHis/kreatinin. U žen jsme zjistili pouze pokles koncentrace albuminu. Tyto změny mohou být důsledkem řady faktorů (věku, pohlaví, hormonálních změn, metabolických změn, exprese cytokinů a receptorů, fyzické aktivity) a zaslouží si další studium. MS by mohl mít některé společné rysy s PEM.

*Studie byla podporována výzkumným projektem MSM 0021620820.*

**PERKUTÁNNÍ ELEKTROGASTROGRAFIE A ILEUS. KORELACE S NĚKTERÝMI MARKERY ZÁNĚTU**

**Autor:** MUDr. Roman Fraško  
**Školitel:** prof. MUDr. Robert Gürlich, CSc., Klinika transplantační chirurgie, IKEM

**Úvod:** Cílem prospektivní studie bylo zjistit za pomoci metody perkutánní elektrogastrografie a monitorace hladiny IL- $\beta$ , IL-6, prokalcitoninu a C-reaktivního proteinu, zda existují specifické nálezy v případech různých etiologií neprůchodnosti střevní.

**Metodika:** Byl pořízen záznam EGG a laboratorní odběr u celkem 46 nemocných dospělých pacientů přijímaných na I. Chirurgickou kliniku VFN s neprůchodností střevní verifikovanou fyzikálním vyšetřením a výsledky standardních paraklinických vyšetření. Kontrolní skupinu tvořilo 14 zdravých dobrovolníků. Perkutánní elektrogastrografický záznam byl pořízen ze tří abdominálních povrchových elektrod přístrojem Microdigitrapper. Pořízený záznam byl zpracován pomocí Fast Fourier transform a Running spektra analysis. Byl pořízen odběr krve k rychlé centrifugami, zmrazení a následnému hromadnému zpracování diagnostice hladin uvedených reaktantů akutní fáze.

**Výsledek:** Nepravidelná aktivita bez dominantní frekvence či s bradygastrií byla nalezena u všech pacientů trpících paralytickým a cévním ileem a u 67,86% nemocných s obstrukčním ileem. Fyziologický obraz normogastrie byl nalezen u 32,14% nemocných s obstrukčním ileem. Mezi nemocnými s obstrukčním ileem a bradygastrií byla nalezena vyšší koncentrace IL-6 ( $624,0 \pm 214,7$  ng/l) a PCT ( $0,93 \pm 0,22$   $\mu$ g/l) oproti skupině nemocných s obstrukčním ileem a normogastrií (IL-6  $354,5 \pm 109,2$  ng/l, PCT  $0,69 \pm 0,11$   $\mu$ g/l) o  $p < 0,05$  pro obě hodnoty. Hladina CRP se pro obě skupiny nelišila na  $p < 0,05$ .

**Závěr:** vyšetření perkutánním elektrogastrografem s vysokou senzitivitou detekovalo změny myoelektrické žaludeční aktivity u nemocných s cévním a paralytickým ileem. Signifikantní korelace zjištěných EGG záznamů a hladiny IL-6 a PCT podporují these o účasti reaktantů akutní fáze v patogenezi neprůchodnosti střevní.

**HLEDÁNÍ KVANTITATIVNÍHO HODNOCENÍ JATERNÍ STEATÓZY Z TEXTURY ULTRASONOGRAFICKÉHO OBRAZU JATER**

**Autoři:** Štěpán Holinka, Daniel Smutek, Renata Šroubková, Jan Stříteský  
**Školitel:** doc. MUDr. Ing. Daniel Smutek, PhD., III. interní klinika 1. LF UK a VFN

Jaterní steatóza se dosud hodnotí kvantitativně pouze histologicky ze vzorku tkáně získaného invazivně pomocí jaterní biopsie, což je výkon pro pacienta nepříjemný a zatížený rizikem. U lehčích forem onemocnění, kde se lze spokojit pouze s orientačním hodnocením, či v případech, kdy je biopsie kontraindikována, nám pomáhají zobrazovací metody, mezi nimiž se využívá zvláště ultrasonografie, jakožto dostupné a levné metody, která je však zatížena kvalitativním charakterem závislým na subjektivním hodnocení echogenity a textury zkušeným vyšetřujícím. Naším cílem je nalézt kvantitativní hodnocení textury a echogenity jaterní tkáně pro kvantifikaci závažnosti jaterní steatózy z ultrasonografického obrazu jater v B-módu využitelné pro počítačem podporovanou diagnostiku. Pro naši úlohu je potřeba získat velké množství ultrasonografických obrazů jater pacientů. Potvrzení diagnózy pacienta a kvantitativní hodnocení jaterní steatózy je prováděno jednak z dostupných bioptických vzorků jater pomocí metody osmifikace a jednak subjektivním hodnocením vyšetřující osoby. Pro hledání úspěšných kvantitativních ukazatelů jaterní steatózy, tzv. příznaků, hodnotících echogenitu a texturu ultrasonografického obrazu v B-módu v počítačovém prostředí bude využita robustní metoda Adaboost, která vybírá nejvhodnější kombinaci několika příznaků z množi-

ny všech příznaků uvažovaných. Tento projekt řešíme v návaznosti na úspěšné výsledky projektu zabývajících se problematikou kvantitativního hodnocení difúzních změn ve tkáni štítné žlázy způsobených autoimunitní tyreoiditidou z ultrasonografických obrazů žlázy v B-módu.

### VZTAH N. A A. OBTURATORIA K OPERAČNÍ LÉČBĚ INKONTINENCE

**Autoři:** Petr Hubka, Jaromír Mašata, Ondřej Naňka, Miloš Grim, Alois Martan  
**Školitel:** doc. MUDr. Jaromír Mašata, CSc., Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN

Stresová inkontinence moči u žen postihuje dle různých autorů až polovinu žen ve věku nad padesát let. Jedním z řešení jsou tahuprosté páskové operace. Nová metoda TVT-S (Tension-free Vaginal Tape - Secur) je známá od září 2006; důkladné anatomické studie této metody zatím nejsou.

Na sedmi ženských tělech určených k anatomické pitvě operatér zavedl v poloze na zádech (kyčel v 20-30° flexi a abdukci 30°) oboustranně TVT-O metodou inside-out popsanou de Levaalem, následně na stejném těle zavádí oboustranně TVT-S do polohy „hammack“. Orientuje se a kontroluje směr stejně jako při standardní operaci. Následně je pitvána malá pánev a adduktory stehna, měřena vzdálenost TVT-S k a. n. obturatorius ve foramen obturatum a vzdálenost TVT-O k ramus anterior et posterior nervi obturatorii.

Průměrná vzdálenost TVT-S od obturatorního svazku byla 30,0 mm (rozptyl 19,3 mm<sup>2</sup>) vpravo, resp. 26,4 mm (rozptyl 17,7 mm<sup>2</sup>) vlevo. Jednou vpravo a dvakrát vlevo v (21,4%) byl zaveden zavaděč intravesikálně. Třikrát bylo TVT-S paravesikálně, tj. mezi m. obturator internus a močovým měchýřem. Průměrná vzdálenost TVT-O k ramus anterior nervi obturatorii byla 4,3 mm (rozptyl 3,6 mm<sup>2</sup>) vpravo, resp. 7,1 mm (rozptyl 57,1 mm<sup>2</sup>) vlevo. Průměrná vzdálenost TVT-O od ramus posterior nervi obturatorii byla 10 mm (rozptyl 58,3 mm<sup>2</sup>) vpravo, resp. 6,7 mm (rozptyl 43,9 mm<sup>2</sup>) vlevo.

Z práce vyplývá, že TVT-S má svá rizika a limity, je třeba zachovávat operační postup, hrozí zejména zavedení intravesikálně, u TVT-O hrozí poranění n. obturatorius.

### „SOUČASNÉ VÝSLEDKY LÉČBY SLEDOVANÉ SKUPINY 298 PACIENTŮ S ONKOLOGICKÝM ONEMOCNĚNÍM GIT, ODOPEROVANÝCH NA I. CHIRURGICKÉ KLINICE 1. LF UK A VFN ZA OBDOBÍ OD 01. 01. 2004 - 31. 08. 2005“

**Autoři:** MUDr. Dato Jatchvliani, doc. MUDr. Jan Šváb, CSc.  
**Školitel:** doc. MUDr. Jan Šváb, CSc., I. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Problematika onkologických onemocnění je stále aktuální. Hledají se cesty k lepší diagnostice a k účinnější terapii. V uvedené práci byly zhodnoceny současné výsledky léčby u pacientů s malignitou GIT odoperovaných 1.1. 04 - 31.8. 05.

**Cíl:** Zmapovat strategii léčby, poukázat na faktory ovlivňující osud pacienta. Statisticky zhodnotit přínos biopsie sentinelové uzliny.

**Metoda:** Do souboru byly zařazeni pacienti s dg: C15 – C21, odoperovaní za období 1.1. 04 – 31.8. 05. Zdroj - PC databáze I. chirurgické kliniky. Následně ruční zpracování chorobopisů.

**Výsledky:** Sledována skupina 294 pacientů byla rozdělena do podskupin R0, R1 a R2. U R0 nesekečních výkonů jsme sledovali počet recidiv, jejich lokalizaci, výsledky histopatolog. vyšetření, nejčastější pooperační komplikace atd. Zvláštní pozornost byla věnována skupině pacientů u které jsme peroperačně identifikovali sentinelovou uzlinu. Ruční zpracování zdravotnické dokumentace odhalil cca 15 %- navýšení reálních hodnot v PC databázi.

**Závěr:** Dlouhodobé sledování onkolog. pacientů dává možnost upřesnit standardní postupy, včas zachytit případnou recidivu. Při biopsii sentinelové uzliny dochází k upřesnění stadiu malignit a tím ke zlepšení pooperační onkologické léčby. Aberantní lymfatická drenáž může být příčinou recidiv.

### VITREKTOMIE U DIABETICKÉHO MOLEKULÁRNÍHO EDÉMU A ULTRASTRUKTURÁLNÍ MORFOMETRIE CHIRURGICKY ODSTRANĚNÉ VNITŘNÍ LIMITUJÍCÍ MEMBRÁNY

**Autoři:** Jan Kalvoda<sup>1</sup>, Jaroslava Dušková<sup>2</sup> a Bohdana Kalvodová<sup>1</sup>  
**Školitel:** doc. MUDr. Jaroslava Dušková, CSc., <sup>2</sup>Ústav patologie 1. LF UK a VFN a <sup>1</sup>Oční klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Diabetický makulární edém (DME) je nejčastější příčinou slepoty očí s diabetickou retinopatií. Vyhodnotili jsme funkční účinnost vitrektomie s chirurgicky odstraněnou vnitřní limitující membránou (ILM) u očí s chronickým DME. Provedli jsme histopatologickou a morfometrickou analýzu ILM tohoto souboru očí. Dále jsme korelovali tloušťku ILM s hladinou HbA1C.

**Metody:** Prospektivní studie zahrnovala 56 očí 52 diabetiků s průměrným věkem 63 ± 7,6 let. Vitrektomie s MembraneBlue-asistovaným peelingem ILM byla provedena standardním způsobem. Průměrná doba sledování nemocných po vitrektomii byla 8,7 měsíců. ILM byla bezprostředně po peelingu fixována ve 2,5% glutaraldehydu a následně zpracována pro elektronovou mikroskopii. ILM byla fotografována při standardním zvětšení 5000x s měřítkem 1 μm v záběru.

**Výsledky:** Statistická analýza prokázala celkové zlepšení pooperační zrakové ostrosti (ZO) a to s převahou výsledné ZO v intervalech 0,1 – 0,2 a 0,5 – 1,0 (podle tabulek ETDRS). Morfometrickou analýzou bylo zjištěno signifikantní zesílení ILM u všech



56 očí, přičemž průměrná tloušťka ILM byla  $3,61 \pm 0,91 \mu\text{m}$ . Zjistili jsme, že větší tloušťka ILM je spojena se zvýšenou hladinou HbA1C u obou typů DM.

**Závěr:** Vitrektomie s chirurgicky odstraněnou ILM u očí s chronickým DME mírně zlepšuje ZO a zvyšuje naději na její stabilizaci. Statistickou analýzou byly zjištěny signifikantní závislosti tloušťky ILM na hladině HbA1C. Morfometrická analýza ILM přispívá k objektivnímu posouzení ultrastruktury vitreomakulárního rozhraní.

*Práce byla podpořena výzkumným záměrem č. MSM 0021620807 MŠMT České republiky.*

## ZMĚNY SLOŽENÍ SKLIVCE U SÍTNICOVÝCH KOMPLIKACÍ DIABETES MELLITUS

**Autorka:** Libuše Kotilová

**Školitelka:** doc. MUDr. Bohdana Kalvodová, CSc., Oční klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Diabetická retinopatie (DR) je oční komplikace diabetes mellitus vedoucí k poklesu centrální zrakové ostrosti až úplné slepotě. Hlavním faktorem v patogenezi DR je chronická mikrovaskulární dysfunkce. Dochází k poškození hematoretinální bariéry, čímž do sklivce přestupují difúzí z cév některé metabolity a složky séra. Hodnoty těchto látek je možné stanovit ve vzorcích sklivce. Cílem studie je posoudit vliv porušené cévní permeability u DR na složení sklivce a hledat souvislosti přispívající k progresi tohoto onemocnění.

**Metodika:** Prospektivní studie zahrnovala subor 80 očí diabetiků a 48 očí nediabetických kontrol. V úvodu terapeutické pars plana vitrektomie byly získány vzorky neředěného sklivce a zároveň odebrána krev na biochemické vyšetření. Hladiny parametrů v krevním séru a sklivci (elektrolyty, glukóza, HbA1c, kyselina močová, urea) byly stanoveny standardními biochemickými metodami.

**Výsledky:** V séru i ve sklivci diabetiků byla zjištěna signifikantně vyšší hladina kyseliny močové a glukózy než u kontrol. Míra průniku obou těchto látek do sklivce korelovala s závažností retinopatie. Hladiny kyseliny močové a glukózy ve sklivci diabetiků nezávisely na hodnotě HbA1c, době trvání či typu diabetu, ani na druhu hypoglykemizující terapie. Koncentrace urey a iontů Na, K a Cl ve sklivci se mezi skupinami signifikantně nelišily.

**Závěr:** Výsledky naší studie ukazují, že vyšší hladina kyseliny močové a glukózy ve sklivci diabetiků koreluje se zvýšenou permeabilitou retinálních cév. Obě látky se pravděpodobně podílejí na vzniku dysfunkce endotelu při progresi DR. Snižování koncentrace kyseliny močové a glukózy ve sklivci nabízí novou možnost v prevenci DR.

*Práce byla podpořena výzkumným záměrem č. MSM 0021620807 MŠMT České republiky.*

## HETEROGENITA V ODPOVĚDI SKELETU NA LÉČBU TERIPARATIDEM U ŽEN S POSTMENOPAUZÁLNÍ OSTEOPORÓZOU

**Autorky:** Mária Luchavová, Dana Michalská

**Školitel:** MUDr. Vít Zikán, Ph.D., III. interní klinika 1. LF UK a VFN

Léčba rekombinantním lidským parathormonem (PTH 1-34, teriparatid) v klinických studiích významně stimuluje kostní novotvorbu a snižuje riziko zlomenin. Bylo však dokumentováno, že odpověď na léčbu teriparatidem se může mezi jednotlivými pacienty významně lišit. Cílem této pilotní studie bylo zhodnotit variabilitu změn kostní denzity (BMD) a vybraných biochemických markerů kostní remodelace u žen s postmenopauzální osteoporózou léčených teriparatidem a posoudit, jestli změny biochemických markerů kostní remodelace mohou predikovat změny BMD. Metody: BMD (měřena dvouenergiovou rentgenovou absorpciometrií, Hologic QDR 4500) a biochemické markery kostní remodelace (beta-CTX a osteokalcin; ECLIA, Elecsys 1010) byly měřeny u 20 pacientek s postmenopauzální osteoporózou před zahájením léčby a po 6 a 12 měsících léčby teriparatidem. Data byla vyhodnocena pomocí analýzy rozptylu pro opakované měření (RM ANOVA) a lineární regresní analýzy. Výsledky: Léčba teriparatidem navodila významné zvýšení markerů kostní novotvorby i kostní resorpce již za 6 měsíců po zahájení léčby (RM ANOVA: beta CTX,  $p = 0,004$ ; osteokalcin,  $p < 0,001$ ). Po 6 měsících byla průměrná změna a SD pro CTX  $93 \pm 103 \%$  a pro osteokalcin  $132 \pm 138 \%$ . BMD se statisticky významně zvýšila v lumbální páteři po 12 měsících léčby ( $p < 0,001$ ; průměrná změna a SD byla:  $7,5 \pm 6 \%$ ). BMD proximálního femuru se při léčbě významně nezměnila. V oblasti 1/3 distálního úseku předloktí jsme zaznamenali signifikantní pokles BMD, po 6 a 12 měsících léčby ( $p = 0,003$ ; průměrná změna a SD byla:  $-3,3 \pm 5 \%$  a  $-4,2 \pm 6 \%$ ). Závěr: Výsledky svědčí pro značnou interindividuální variabilitu v odpovědi biochemických markerů kostní remodelace i BMD na léčbu teriparatidem. Změny vybraných kostních markerů nevysvětlovaly odpověď BMD. Objasnění příčin interindividuální variability v odpovědi skeletu na teriparatid vyžaduje další výzkum.

## POMĚR ADIPONECTIN-LEPTIN JE SNÍŽEN U METABOLICKÉHO SYNDROMU

**Autoři:** J. Macáček, T. Vařeka, M. Zeman, M. Vecka, E. Tvrzická, M. Jáchymová, L. Duffková, B. Staňková, L. Vávrová, J. Kodydková, A. Žák

**Školitelka:** RNDr. Eva Tvrzická, CSc., IV. interní klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Metabolický syndrom (MS) je spjat se zvýšením celkové mortality, morbidity, rizika vzniku DM 2. typu i mortality na kardiovaskulární choroby. Patogeneze metabolického syndromu je komplexní záležitost, ve které se uplatňují genetické faktory,



dietní zvyklosti, obezita a sedavý způsob života. Patofyziologicky působí oxidativní stres, chronický zánětlivý stav a endotheliální dysfunkce. Tuková tkáň je endokrinně aktivní a sekretuje mj. adiponektin a leptin. Adiponektin je protein strukturálně podobný TNF alfa a kolagenu, zvyšující citlivost periferních tkání k insulinu. Leptin je hormon produkovaný adipocyty. Účastní se regulace příjmu potravy a výdeje energie prostřednictvím působení na specifické receptory hypothalamu. Některé studie ukázaly, že zvýšené hladiny leptinu korelovaly s rizikem aterosklerózy, kdežto u adiponektinu se zdá, že je vůči ateroskleróze protektivní.

**Metodika:** 51 osob zařazených do studie bylo rozděleno do dvou skupin: 1. pacienti s MS a 2. zdraví lidé s nadváhou. Vyšetřili jsme základní antropometrické parametry, parametry lipidového a glukosového metabolismu, konjugované dieny v LDL (CD-LDL), magnesium, homocystein, cyanokobalamin, adiponektin a leptin.

**Výsledky:** Skupina s MS měla významně vyšší obvod pasu a poměr pas-boky, z biochemických parametrů vyšší koncentrace CRP, glukosy, C-peptidu, celkového a non-HDL cholesterolu, triglyceridů, apoB a neesterifikovaných mastných kyselin. Snížená byla koncentrace magnesia. Rozdíly v koncentracích adiponektinu a leptinu nedosáhly statistické významnosti, jejich poměr však byl u skupiny MS významně snížen. Z odvozených parametrů byl u skupiny MS zvýšen index HOMA-IR a snížen QUICKI. Zvýšení poměru insulin/glukosa nedosáhlo statistické významnosti. Poměr adiponektin/leptin vykazoval významnou negativní korelaci s těmito parametry: BMI, obvod pasu, procento tukové hmoty, koncentrace insulinu a CD-LDL, index HOMA-IR a poměr insulin/glukosa.

**Závěr:** U pacientů s MS existuje vůči zdravým osobám s nadváhou kromě již známých rozdílů v antropometrických parametrech a parametrech lipidového a glukosového metabolismu též i signifikantní rozdíl v poměru adiponektin/leptin.

### ZMĚNY V EPIDEMIOLOGII TONZILÁRNÍHO KARCINOMU V ČESKÉ REPUBLICE A VZTAH K K HPV INFEKCI

**Autoři:** Eliška Mudrová, Ruth Tachezy, Jan Klozar

**Školitel:** doc. MUDr. Jan Klozar, CSc., Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol, katedra IPVZ

**Úvod:** Incidence karcinomu patrových mandlí v České republice od 70.ých let neustále stoupá. Roste navíc výrazněji než incidence tumorů ostatních lokalizací v orofaryngu. Prokázanými rizikovými faktory vzniku nádorů hlavy a krku je zejména kouření a konzumace alkoholu. Mnoho současných studií včetně našich výsledků prokazuje, že nezávislým rizikovým faktorem u části karcinomů hlavy a krku (zejména tonsil) je infekce lidských papilomavirů (HPV). Pro účast HPV v etiologii karcinomu tonsil svědčí i přítomnost specifických HPV protilátek v seru pacientů a řada molekulárně-biologických důkazů. HPV DNA je nalézána v buňkách tonzilárních karcinomů nejčastěji ze všech nádorů hlavy a krku. Cílem práce je referovat o prevalenci HPV u jednotlivých lokalizací tumorů a zároveň ověřit hypotézu, že výše zmíněná stoupající incidence má souvislost s HPV infekcí.

**Metodika:** V rámci studie jsme vyšetřili 86 pacientů s diagnózou dlaždicobuněčného karcinomu dutiny ústní nebo orofaryngu a 124 zdravých kontrol. Pacientům i kontrolám jsme odebírali cytologický materiál formou výplachů úst ke stanovení prevalence HPV DNA a žilní krev ke stanovení přítomnosti HPV specifických protilátek. U pacientů jsme k detekci HPV DNA získali vzorek primárního tumoru. Demografická data byla získávána formou standardizovaných dotazníků. V rámci epidemiologické studie jsme zjišťovali vývoj incidence jednotlivých diagnóz nádorů hlavy a krku za posledních 30 let v České republice. Tato data jsme porovnávali s údaji o spotřebě cigaret a konzumaci alkoholu v ČR za stejné období.

**Výsledky:** Ve skupině všech sledovaných lokalizací tumorů mimo tonzilárních byla HPV DNA nalezena ve 39% případů, zatímco ve skupině pacientů s tonzilárním karcinomem byla prevalence HPV DNA 75,9%. Pacienti s HPV pozitivními nádory se lišili od negativních v demografických charakteristikách. Dále jsme zjistili, že incidence karcinomu tonsil stoupla za posledních 30 let o 194,2% oproti spotřebě cigaret a alkoholu, ty stouply o 19,8% a 7,5%.

**Závěr:** Odlišnost demografických charakteristik pacientů s HPV pozitivními tumory naznačuje etiologickou odlišnost těchto nádorů. Epidemiologická data poskytují důkazy o tom, že zvyšující se incidence tonzilárního karcinomu nesouvisí patrně se zvýšenou expozicí tabáku a alkoholu, ale spíše s rozšiřující se HPV infekcí.

### AKTIVITA ANTIOXIDAČNÍCH ENZYMŮ U KRITICKY NEMOCNÝCH PACIENTŮ V SEPSI

**Autoři:** František Novák jn.<sup>1</sup>, Jana Kodytková<sup>1</sup>, Lucie Vávrová<sup>1</sup>, František Novák sn.<sup>2</sup>

**Školitel:** prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc., <sup>1</sup>IV. interní klinika 1. LF UK a VFN, <sup>2</sup>Katedra biochemie, PřF UK

**Úvod:** Systémová zánětlivá odpověď (SIRS) spojená se septickým stavem je způsobená toxickým působením mikrobiálních produktů a nadměrnou produkcí zánětlivých mediátorů. Vznikající reaktivní formy kyslíku a dusíku (RONS) působí oxidační poškození buněk, inaktivují katecholaminy a dále stimulují transkripci genů prozánětlivých cytokinů. Zásadní roli zde hraje nerovnováha mezi tvorbou RONS a kapacitou antioxidačního systému v průběhu sepse a SIRS. Hlavním zdrojem RONS jsou sepsí aktivované fagocyty. Cílem této studie je porovnat aktivitu vybraných antioxidačních enzymů u kriticky nemocných pacientů v intenzivní péči ve srovnání s kontrolními soubory kriticky nemocných bez přítomnosti sepse a ambulantních pacientů.

**Metodika:** Prospektivní observační studie na interní jednotce intenzivní péče. Klinické a laboratorní vyšetření bylo provedeno u septických pacientů bez léčby antioxidanty. Párováním podle věku a pohlaví, případně APACHE II skóre u kriticky nemocných byly k těmto pacientům vybrány a vyšetřeny kontrolní soubory neseptických pacientů na JIP a v ambulanci. Soubor septických pacientů byl dále vyšetřen po týdnu a konečně po odeznění klinických a laboratorních ukazatelů sepse. V rámci



laboratorních vyšetření byla stanovena aktivita antioxidantních enzymů superoxid dismutázy (SOD), katalázy (CAT), glutathionperoxidázy (GPX) a glutathionreduktázy (GR) v erythrocytech. Hodnoty  $p < 0,05$  byly považovány za statisticky významné.

**Výsledky:** Vyšetření jsme provedli u 30 septických pacientů, dále 30 ambulantních pacientů bez známek sepse a 15 kriticky nemocných neseptických pacientů. Zjistili jsme pokles aktivity CAT resp. GPX u septických pacientů ve srovnání s ambulantní kontrolou resp. oběma kontrolními skupinami. Naopak aktivita SOD a GR v sepsi stoupá při porovnání s oběma kontrolními soubory pacientů. U pacientů se po odeznění sepse hodnoty všech měřených parametrů již nelišily od ambulantních kontrol.

**Závěr:** U pacientů v septickém stavu se mění aktivity vybraných antioxidantních enzymů. Tyto změny mizí po odeznění sepse. Studie byla podporována z grantu IGA MZ NR/8943-4/2006.

## NAŠE VÝSLEDKY PŘI STUDIU ZMĚN CÉVNÍHO ZÁSOBENÍ STŘEVA U CROHNOVY CHOROBY

**Autoři:** Ivo Rathous, David Kachlík

**Školitel:** prof. MUDr. Milan Lukáš, CSc., Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Studie vznikla na základě polemiky: Jsou cévní změny u Crohnovy choroby příčinou či důsledkem této choroby / Lukáš a další/. Jsou cévní změny měřitelné a klinicky hodnotitelné, použitelné jako marker pokročilosti choroby?

**Metodika:** Materiál jsme odebírali peroperačně při plánovaných resekcích střeva u nemocných postižených Crohnovou chorobou. Ke studiu cévního zásobení jsme použili makroskopický nástřík Mercoxem, světelnou mikroskopii a řádkovací elektronový mikroskop.

**Výsledky:** Všechny námi použité metody prokázali výrazné změny cévního zásobení střeva postiženého Crohnovou chorobou. Je možné je rozdělit do několika skupin.

**Závěr:** Při Crohnově chorobě dochází k výrazným změnám cévního zásobení střeva ve všech částech střeva nemocí postižených. Dochází i ke změně kvality cév. V klinice je zobrazení možné arteriograficky, dopplerovskou sonografií, angio-CT. Na základě naší práce není možné se vyjádřit jsou li cévní změny příčinou či důsledkem Crohnovy choroby.

## RYCHLOST ŠÍŘENÍ PULZNÍ VLN V PRIMÁRNÍ HYPERPARATYREÓZĚ

**Autoři:** Ján Rosa, Ondřej Petrák, Branislav Štrauch, Ivan Raška, Tomáš Zelinka, Robert Holaj, Petr Broulík, Jiří Widimský jr.

**Školitel:** prof. MUDr. Jiří Widimský jr., CSc., III. interní klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Primární hyperparatyreóza je spojená s vyšším výskytem arteriální hypertenze a zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. Cílem studie bylo zhodnotit efekt nadprodukce parathormonu (PH) u hypertenzních pacientů na tuhost cévní stěny prostřednictvím karotido-femorální rychlosti šíření pulzní vlny (PWV), která je považována za nezávislý kardiovaskulární rizikový faktor.

**Metodika:** Bylo vyšetřeno 15 pacientů s primární hyperparatyreózou a 20 s esenciální hypertenzí. Pacienti v jednotlivých skupinách byli srovnatelní věkem, krevním tlakem, BMI, lipidovým spektrem, glykemií. PWV byla měřena pomocí aplanačního tonometra přístroje Sphygmocor.

**Výsledky:** Při srovnatelném krevním tlaku (138/75 mmHg vs. 138/73 mmHg,  $p > 0,05$ ) byla PWV u pacientů s primární hyperparatyreózou proti pacientům s esenciální hypertenzí signifikantně vyšší (10,8 vs. 8,9 m/s,  $p = 0,0295$ ). Nebyla zjištěna asociace PWV s hladinou sérového kalcia, ani s PH.

**Závěr:** Naše data naznačují, že primární hyperparatyreóza zvyšuje tuhost cévní stěny vyjádřenou pomocí PWV. Na druhé straně nebyla zjištěna asociace PWV s hladinou kalcia, ani s PH.

## AMINOGRAM A JEHO VÝZNAM PRO MONITORACI STAVU VÝŽIVY U VYBRANÝCH SKUPIN CHRONICKY NEMOCNÝCH PACIENTŮ

**Autoři:** Sulek Š, I. r. PGS, Kabíček P, Koutek J, Hrdlicka M, Magner M, Honzík T, Chrástina P, Zeman J

**Školitel:** MUDr. Pavel Kabíček, CSc., Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Adekvátní výživa je nezbytným předpokladem úspěchu léčby malnutrice u chronicky nemocných pacientů. Její laboratorní „monitoring“ je obtížný, konvenční markery nutrice jsou ovlivněné přidruženými patologickými procesy. Cílem práce je posouzení poměrů hladin aminokyselin ve vztahu k dlouhodobému proteino-kalorickému příjmu pacienta. U kontrolní skupiny 18 osob ( $BMI = 19,20 \pm 3,61$ ), u 5 pacientek s mentální anorexií (MA) ( $BMI = 15,56 \pm 1,31$ ) před a po nutriční rehabilitaci a u 8 pacientů s tyrosinemií typ I na velmi přísné nízkobílkovinné dietě jsme analyzovali hladiny 9 esenciálních a 13 neesenciálních aminokyselin. Stav výživy jsme především hodnotili pomocí poměrů mezi hladinami glycinu a alaninu k hladinám aminokyselin s rozvětveným řetězcem (BCAA – branched-chain amino acids) (Oberholzer 1990, F. Maillot et al. 2007). U pacientů s tyrosinemií při „potencionální non-compliance“ byl poměr Ala/BCAA =  $1,45 \pm 0,67$  vs.  $1,02 \pm 0,39$ ;  $p < 0,005$ , Glycin/BCAA =  $1,08 \pm 0,54$  vs.  $0,85 \pm 0,63$ ;  $p < 0,05$ , ve srovnání s obdobím compliance. U pacientek s klinicky pokročilou MA před nutriční realimentací jsme ve srovnání s kontrolní skupinou pozorovali známky proteinové nebo proteino-kalorické malnutrice (poměr Ala/BCAA =  $1,40 \pm 0,61$  vs.  $1,02 \pm 0,20$ ,  $p = n.s.$ , Glycin/BCAA =  $1,77 \pm 0,55$  vs.  $0,77 \pm 0,21$ ,  $p < 0,05$ ) s tendencí k úpravě při compliance na nutriční rehabilitaci (Ala/BCAA =  $0,98 \pm 0,19$ , Glycin/BCAA =  $1,08 \pm 0,25$ ;  $p = 0,08$ ).

Aminogram založený na poměrech mezi glycinem, alaninem a BCAA představuje perspektivní model monitorace proteino-kalorického stavu u chronicky nemocných pacientů.

*S podporou projektu VZ 64165.*

### PFAPA SYNDROM V ČESKÉ REPUBLICE

**Autorky:** Petra Ščerbanovská, Pavla Doležalová

**Školitelka:** doc. MUDr. Pavla Doležalová, CSc., Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF a VFN

**Úvod:** PFAPA syndrom je charakterizován periodickou horečkou, aftózní stomatitidou, faryngitidou a cervikální adenitidou. Mezi atakami jsou děti zcela bez příznaků. První manifestace je zpravidla před 5. rokem věku. Etiopatogeneze zatím není známa. Laboratorní nálezy jsou nespecifické, svědčí pro zánětlivou aktivaci organismu.

**Metodika:** Retrospektivní studie na souboru 32 pacientů s PFAPA syndromem.

**Výsledky:** V letech 2004 - 2007 bylo diagnostikováno 17 chlapců a 15 děvčat s PFAPA z celkového počtu 87 pacientů sledovaných v ambulanci periodických horeček (36,8%). Medián věku při prvním projevu klinických příznaků byl 24 měsíců (4-56). Medián intervalu mezi atakami horečky byl 4 týdny (2-12), trvání horečky 3,5 dne (1,5-7,0). Horečky dosahovaly zpravidla více než 39°C a byly doprovázeny faryngitidou ve 23 případech (72%), cervikální adenitidou ve 24 (75%) a aftózní stomatitidou v 11 případech (34%). Laboratorní zánětlivé parametry při atace horečky byly zvýšeny u 100% pacientů (medián: CRP 64,5; FW 32/hod), s postupným návratem k normě mimo ataku. Na počátku klinických příznaků byl zpravidla podán Prednison (1mg/kg). U 16/18 dětí došlo k redukci příznaků. Trvalá remise je u 4 pacientů (12,5%), medián sledování je 8,7 měsíců (3,1-35,5).

**Závěr:** PFAPA syndrom je relativně častou příčinou rekurentních horeček v časném dětství. V diferenciálně diagnostické rozvaze je nutno pomýšlet na další příčiny periodických horeček, např. hereditární horečky.

### FDG-PET/CT V DIAGNOSTICE INFEKCE CÉVNÍ PROTÉZY

**Autoři:** <sup>1</sup>Špaček, M., <sup>2</sup>Bělohávek, O., <sup>2</sup>Votrubová, J., <sup>3</sup>Šebesta, P., <sup>1</sup>Tošovský J.

**Školitelé:** doc. MUDr. Otakar Bělohávek, CSc., doc. MUDr. Pavel Šebesta, CSc.,

<sup>1</sup>II. chirurgická klinika kardiiovaskulární chirurgie, 1. LF UK a VFN, <sup>2</sup>PET centrum, Nemocnice Na Homolce, <sup>3</sup>oddělení cévní chirurgie, Nemocnice Na Homolce

**Cíl práce:** Infekce cévní protézy je jednou z nejzávažnějších komplikací v kardiovaskulární chirurgii. Standardně užívané diagnostické metody často selhávají zejména v případě nízce virulentní infekce cévní protézy a nalezení vhodné diagnostické modalit je tedy stále výzvou. Cílem práce je vyhodnocení citlivosti nové hybridní diagnostické modalit FDG-PET/CT v této indikaci.

**Materiál a metodika:** Sedmdesát šest pacientů, z toho 52 mužů, 24 žen, stáří při PET/CT: 41-83 let (medián = 63let), nositelů 96 cévních protéz, podstoupilo kontrastní FDG-PET/CT vyšetření pro podezření na nízce virulentní infekci cévní protézy, v průměru 16 měsíců (1-33) po provedené tepenné rekonstrukci. Analyzované parametry PET byly: vizuálně posouzené fokální a difúzní uptake FDG (negativní-mírný-intenzivní) a poměrné hodnoty maximální intenzity FDG uptake v oblasti cévní náhrady vztažené k referenční oblasti suparenální aorty. K posuzovaným CT parametrům patří transaxiální plocha infiltrátu, iritace ohraničení ložiska předpokládané infekce a přítomnost pseudoaneurysmatu. Dále jsme provedli analýzu hodnot CRP a leukocytózy v době vyšetření. Všechna data jsme porovnali se zlatým standardem. Za pozitivní bylo považováno reoperování/pitvání s nevhojenou protézou či její zjevnou makroskopickou infekcí bez ohledu na výsledek kultivace. Za negativní bylo u reoperovaných považováno vhojení protézy. U nereoperovaných považován klinicky stabilní follow-up >6 měsíců. Diagnostická hodnota sledovaných parametrů byla vyhodnocena pomocí statistických testů. Přesnost každého analyzovaného aspektu metody je vyjádřena jako senzitivita, specifická, negativní a pozitivní prediktivní hodnota, včetně 95% confidence intervalu.

**Výsledky:** Prevalence nevhojení protézy či fatálního FU byla v souboru 57,3% (CI<sub>95%</sub>: 46,8-67,2%). Z 55 reoperovaných/pitvaných nevhojených protéz byla kultivace negativní v 17 případech, ve 35 případech byla pozitivní, ve 3 případech není dostupná. Senzitivita kultivace je 67,3% (CI<sub>95%</sub>: 52,8-79,3%). Souhrnná pravděpodobnost infekce pro následující možnosti dle statistického vyhodnocení jednotlivých zkoumaných parametrů PET a CT obrazuje uvedena v tabulce:

| Fokální uptake | Ohraničení | Pravděpodobnost infekce | n  | Skupina | Skupina % |
|----------------|------------|-------------------------|----|---------|-----------|
| Nepřítomen     | Hladké     | 4,5%                    | 31 | 31      | 32,3%     |
| Mírný          | Hladké     | 28,2%                   | 9  | 23      | 24,0%     |
| Nepřítomen     | S iritací  | 30,4%                   | 1  |         |           |
| Intenzivní     | Hladké     | 76,5%                   | 4  |         |           |
| Mírný          | S iritací  | 78,3%                   | 9  |         |           |
| Intenzivní     | S iritací  | 96,8%                   | 42 | 42      | 43,8%     |
|                |            |                         | 96 | 96      | 100,0%    |



**Závěr:** Fokální uptake FDG v PET obraze a přítomnost iritace v okolí infiltrátu jsou zásadními diagnostickými příznaky. U žádných dalších hodnocených parametrů jsme nenašli významný diagnostický příspěvek. Test dává spolehlivý výsledek s chybou <5% u více než 75% případů (tj. intenzivní uptake s iritací nebo naopak nepřítomný uptake bez iritace). Lze spolehlivě identifikovat zbývající sotva ¼ případů a u ní správně predikovat výsledek s pravděpodobností kolem 70-75%.

## DIPEPTIDYLPEPTIDÁZA -IV V MONONUKLEÁRNÍCH BUŇKÁCH PERIFERNÍ KRVE A SYNOVIÁLNÍ TEKUTINY PACIENTŮ S REVMATOIDNÍ ARTRITIDOU

**Autorka:** Šromová L.

**Školitel:** prof. MUDr. Aleksí Šedo, DrSc., Ústav biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK a Laboratoř biologie nádorové buňky

Biologická funkce lokálních mediátorů účastnících se na patogenezi revmatoidní artritidy (RA) je kontrolována mimo jiné i skupinou enzymů vykazujících dipeptidylpeptidáze-IV (DPP-IV) podobnou hydrolytickou aktivitu. DPP-IV, ale pravděpodobně i protein aktivovaných fibroblastů alfa (FAP- $\alpha$ ) hrají významnou roli v proteolytické úpravě řady cytokinů a neuropeptidů, uplatňujících se v patogenezi RA. Cílem naší práce bylo charakterizovat expresi DPP-IV a FAP- $\alpha$  na mononukleárních buňkách periferní krve (BMNC) a synoviální tekutiny (FMNC) pacientů s aktivní RA.

Průtokovou cytometrií a RT-PCR v reálném čase byla prokázána přítomnost DPP-IV v populacích BMNC i FMNC. V případě BMNC byla DPP-IV exprimována dominantně na CD4+ buňkách, zatímco v populaci FMNC byla distribuce DPP-IV mezi CD4 a CD8T buňkami rovnoměrná. Expresie FAP- $\alpha$  nebyla prokázána. Výsledky biochemických studií svědčí pro dominantní podíl kanonické DPP-IV na celkové DPP-IV-podobné enzymové aktivitě BMNC, FMNC, plazmy i synoviální tekutiny. Byla pozorována významná inverzní korelace plazmatické aktivity DPP-IV a biochemického markeru zánětu CRP.

Rozdílná distribuce DPP-IV v subpopulacích BMNC a FMNC svědčí pro odlišnou roli DPP-IV v patogeneticky významných regulacích na celkové a lokální úrovni. Korelace plazmatické aktivity DPP-IV a CRP naznačuje vztah tohoto enzymu k závažnosti průběhu RA.

*Tato práce je financována grantem IGA MZ ČR NR/9273-3.*

## VLIV POHYBOVÉHO PROGRAMU NA ZMĚNY ANTROPOMETRICKÝCH PARAMETRŮ U ŽEN S NADVÁHOU A OBEZITOU

**Autorka:** Šupová R., Vilikus Z., Stránská Z., Matoulek M.

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

**Úvod:** Individuálně preskribovaná pohybová aktivita je jednou ze základních složek úspěšné léčby obezity. Vede ke zvýšení energetického výdeje, a tedy k redukci hmotnosti i množství tělesného tuku. S úspěšnou redukcí se zlepšuje většina metabolických i kardiovaskulárních parametrů a zvyšuje se kvalita života.

**Cíle práce:** Cílem práce bylo zjistit vliv tříměsíčního pohybového programu aerobního charakteru na změnu sledovaných antropometrických parametrů.

**Metoda:** Studie se zúčastnilo 50 žen s nadváhou a obezitou (průměrný věk  $45,7 \pm 10,9$  let), které v rámci Rekondičního centra VŠTJ Medicina Praha podstoupily tříměsíční pohybový program. Pohybový program se skládal ze tří až čtyř hodin týdně kontrolovaného cvičení aerobního charakteru (jízda na rotopedu, chůze na treadmillu). Intenzita cvičení byla stanovena na základě zátěžového vyšetření. Na začátku a na konci studie byla provedena antropometrická vyšetření. Sledovali jsme: výšku, hmotnost, BMI, procento tělesného tuku pomocí antropometrického měření kožních řas – kaliperace, obvod pasu, boků, paže a lýtka.

**Výsledky:** U sledovaného souboru došlo ke statisticky signifikantní redukci hmotnosti i tělesného tuku, což je základem pro zlepšení většiny metabolických i kardiovaskulárních parametrů u všech pacientů s obezitou a celým metabolickým syndromem. Redukce množství tělesného tuku byla prokázána také měřením tloušťek kožních řas. U všech kožních řas, kromě řasy na tváři a na hrudníku I, došlo ke statisticky významnému snížení tloušťky. Obvod pasu, jako jeden z významných prediktorů komplikací spojených s metabolickým syndromem, se také u sledovaného souboru statisticky významně snížil. V rámci studie byla prokázána i změna ve zdatnosti u žen s nadváhou a obezitou - byla prokázáno statisticky významné zvýšení maximální spotřeby kyslíku ( $VO_{2max}$ ) a to o  $12,85 \pm 19,40$  %.

**Závěr:** Tato studie prokázala, že pohybová aktivita aerobního charakteru vykonávaná třikrát až čtyřikrát týdně po dobu tří měsíců pozitivně ovlivnila všechny měřené antropometrické parametry u skupiny žen s nadváhou a obezitou. Byl potvrzen fakt, že správně dávkovaná pohybová aktivita je účinným prostředkem v redukci nadváhy a obezity.

## TKÁŇOVÁ A KLINICKÁ REAKCE PŘI PENTASACHARIDOVÉ PREVENCI ZÁVĚRY, ZHODNOCENÍ

**Autor:** MUDr. Trča S.

**Školitel:** prof. MUDr. Zdeněk Krška, CSc., I. chirurgická klinika 1. LF UK

**Úvod:** Jednou z možností ovlivnění vzniku tromboembolické choroby a systémové odpovědi organismu na trauma je podání koagulačně aktivních látek. V poslední době byl mezi jinými vyvinut syntetický analog molekuly heparinu – pentasacharid (PS). Ve sledování je hodnocen možný vliv rozdílné farmakoprevence na vznik hluboké žilní trombózy v pórurazovém období.

**Soubor pacientů, metodika:** Vyšetřeno 146 pacientů s operačně léčenou zlomeninou proximálního konce stehenní kosti operovaných na I. chirurgické klinice I. LF UK a VFN v Praze v období 2001–2006. Pacienti byli metodou náhodného výběru prospektivně zařazeni do čtyř skupin dle způsobu zvolené farmakologické prevence (UFH, LMWH, PS krátkodobě – 1 týden a PS dlouhodobě – 1 měsíc). Každý pacient byl sledován po dobu 1 měsíce. Sledovány byly parametry: krevního obrazu, koagulační parametry, reaktanty akutní fáze, adhezivní molekuly. Denně byl sledován klinický stav. Statistické vyhodnocení naměřených laboratorních hodnot bylo provedeno pomocí analýzy rozptylu (ANOVA), t testu, Friedmanova testu, Wilcoxonova testu.

**Výsledky:** Výskyt symptomatické flebotrombózy byl shodný ve skupinách LMWH, UFH a PSD. Ve skupině PSK bylo procento žilní trombózy vyšší. Hodnoty a dynamika vývoje pro parametry TT, D-dimer, WBC, PLT, hodnocených pozitivních APP a ICAM svědčí pro trvalou tkáňovou odezvu a zátěž po přestálém inzultu ve všech skupinách i po jednom měsíci a pro příznivější hemostazeologický status s oddálením potraumatické prokoagulační periody ve skupinách PSD a PSK

**Závěr:** Byla nalezena statisticky významná závislost tkáňové odpovědi podle druhu podané farmakoprevence TEN. Výsledky svědčí pro trvalou zvýšené riziko tromboembolických příhod i po jednom měsíci od přestálého inzultu a pro protektivní vliv pentasacharidu. Vhodnější se jeví déleodobé podání pentasacharidu. S podporou grantu IGA MZ 8185–3.



Redaktor Zdravotnických novin v rozhovoru s Michalem Vojtou.

EEFG

HH



G

HHU

# SEKCE POSTGRADUÁLNÍ KLINICKÁ II.

## ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Ali Chadi, MUDr.
- Barnincová Lenka, MSc.
- Berková Adéla, MUDr.
- Bízík Gustáv, MUDr.
- Fornůstková Daniela, Mgr.
- Habara Peter, MUDr.
- Jirman Radek, MUDr. Ing.
- Langrová Kateřina, MUDr.
- Linetskiy Igor, D.M.
- Pejznochová Martina, Mgr.
- Prokopová Veronika, Mgr.
- Ptáček Radek, Ph.Dr., Ph.D.
- Ptáček Radek, PhDr.
- Seidler Viktor, MUDr.
- Tomka Milan, MUDr.

## HODNOTITELSKÁ KOMISE

předsedkyně: **doc. MUDr. Jarmila Procházková, CSc.**

členové: prof. MUDr. Miloš Langmeier, DrSc.

prof. MUDr. Richard Češka, CSc.



## ADHESE, RŮST A DIFERENCIACE OSTEOLASTŮ NA UMĚLÝCH MATERIÁLECH PRO KOSTNÍ A KLOUBNÍ NÁHRADY

**Autor:** MUDr. Chadi Ali

**Školitel:** prof. MUDr. Dungl Pavel, DrSc., MUDr. Matějovský Zdeněk, CSc., Ortopedická klinika 1. LF a FN Na Bulovce

**Spolupráce:** MUDr. Kubeš Radovan, spolupráci mezi Dr. Alim Shadim (Nemocnice Bulovka) a MUDr. Lucíí Bačákovou, CSc. (Fyziologický ústav AV ČR)

Pro pevné a dlouhodobé ukotvení kostní či kloubní náhrady do kostní tkáně je důležité, aby tento materiál podporoval adhezi a růst kostních buněk a jejich diferenciaci, tj. produkci mineralizované kostní extracelulární matrix. Kolonizace materiálu buňkami je významně ovlivněna povrchovými fyzikálně-chemickými vlastnostmi materiálu, jako je např. jeho polarita, smáčivost, elektrický náboj a vodivost, tuhost či elasticita povrchu a rovněž povrchová topografie materiálu (velikost, vzdálenost a tvar nerovnosti na jeho povrchu). V této studii se hodláme zabývat nastavením optimálních podmínek pro adhezi, růst a diferenciaci osteoblastů na kovových materiálech (Ti a jeho slitiny) s různými povrchovými úpravami, které jsou vyvíjeny pro konstrukci částí kloubních náhrad ukotvujících tyto náhrady v kosti. Materiály budou získány v rámci spolupráce s firmou Beznoska s.r.o.

V první fázi studie budou zkoumané materiály osazeny buněčnými liniemi kostních buněk, především lidskými osteoblastickými buňkami linie MG 63.

Po nasazení buněk na studované materiály budou testovány základní charakteristiky adhesního a růstového chování buněk, jako jsou počty buněk nejméně ve třech časových intervalech (např. 1. 4. a 7. den) a plochy jejich rozprostření na daném povrchu. Byly konstruovány růstové křivky a vypočítána doba zdvojnásobení počtu buněk v populaci (tzv. doubling time). Proliferační rychlost buněk byla kvantifikována pomocí imunocytochemických testů inkorporace bromodeoxyuridinu do nově syntetizované DNA. Imunofluorescenčně budou obarveny adhesní a cytoskeletární molekuly (integrinové adhesní receptory, strukturální a signální proteiny asociované s integriny, jako je např. talin a vinkulin, beta-aktinový cytoskelet apod.) sledováno jejich uspořádání, aktivace (fosforylace) a vztah k morfologii buněk v konvenčním i konfokálním mikroskopu. Adhesní a cytoskeletární markery byly kvantifikovány biochemickými metodami (např. ELISA). Bude sledována a kvantifikována i produkce osteokalcinu a osteopontinu, tj. proteinů vázajících kalcium, a aktivita alkalické fosfatasy. Metabolická aktivita buněk a jejich dlouhodobá životaschopnost buněk bude sledována komerčně dostupnými kity či barvením trypanovou modří v rámci automatického počítání buněk ve ViCell Analyseru.

## KOMBINACE DUBIN-JOHNSONOVA A GILBERTOVA SYNDROMU, PRVNÍ POPIS SOUČASNÉ HOMOZYGOZITY

**Autor:** MSc. Lenka Barnincová

**Školitel:** prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc., Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN

Hereditární hyperbilirubinémie jsou vrozené poruchy některého z enzymů účastnících se degradace hemu. Konjugace bilirubinu v hepatocytu je katalyzována enzymem glukuronosyltransferázou (UGT1A). Defekty v genu UGT1A1 způsobují redukcii transkripce a následně sníženou aktivitu enzymu. To je podstatou Gilbertova syndromu (GS, OMIM #143500). GS je dědičná autosomálně recesivní hyperbilirubinémie s frekvencí 5-10% v kavkazské populaci, zapříčiněná primárně insercí TA nukleotidů v TATAA boxu genu UGT1A1. Hyperbilirubinémie je nekonjugovaná, mírná, kolísavá. Exkrece konjugovaného bilirubinu z hepatocytu zprostředkovává protein MRP2 (multidrug resistance-associated protein 2). Mutace v klíčové oblasti MRP2 genu způsobují poškození maturace a distribuci mutovaného proteinu z endoplazmatického retikula do Golgiho komplexu. To vede ke konjugované hyperbilirubinémii, Dubin-Johnsonovu syndromu (OMIM #237500), který je charakterizován zvýšenou hladinou konjugovaného bilirubinu v séru a zvýšeným vylučováním koproporfyriu I v moči. Jedná se o vzácné onemocnění s dědičností autosomálně recesivní. Cílem bylo charakterizovat příčiny nepravdělně se vyskytující hyperbilirubinémie a identifikovat mutaci způsobující poruchy eliminace bilirubinu ve třech generacích rozsáhlé romské rodiny. Pomocí metod molekulární biologie (PCR, sekvenování) jsme v genu MRP2 identifikovali dosud nepopsanou mutaci 1012delGT, která způsobuje posun čtecího rámce a vede ke konjugované hyperbilirubinémii Dubin-Johnsonova typu. Dále byl v rodině zaznamenán výskyt TA inserce v TATAA boxu genu UGT1A1, způsobující Gilbertův syndrom. Tyto výsledky byly srovnány s biochemickým profilem rodiny (bilirubin totální a konjugovaný, ALT, AST, porfyriu v moči) a s celkovou anamnézou. Nepravdělnost výskytu žloutenky byla vysvětlena kombinací dvou recesivních syndromů Dubin-Johnsonova a Gilbertova. 6 členů rodiny neslo mutaci v MRP2 genu homozygotně, z toho 2 byli navíc homozygotní nosiči TA inserce v genu UGT1A1. Naše práce je prvním popisem kombinace Gilbertova a Dubin-Johnsonova syndromu s homozygotními mutacemi v obou genech současně.

*Děkuji MUDr. Behúnové za pomoc při klinickém vyšetření rodiny.*



## SLEDOVÁNÍ KLONÁLNÍHO VÝVOJE U CHRONICKÉ B-LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE METODOU INTERFÁZNÍ FLUORESCENČNÍ IN SITU HYBRIDIZACE

**Autoři:** Adéla Berková, Lenka Pavlišťová, Jana Březinová, Libuše Babická, Eva Malinová, Lenka Grosová, Jana Tajtlová, Eduard Cmunt, Jiří Schwarz, Josef Karban, Marek Trněný, Zuzana Zemanová, Kyra Michalová  
**Školitelé:** doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc., Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, doc. MUDr. Marek Trněný, CSc., I. interní klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Diagnóza většiny pacientů s chronickou B-lymfocytární leukémií je stanovena v časných stádiích choroby, a proto se do popředí výzkumu dostala identifikace ukazatelů s prognostickou výpovědní hodnotou. Mezi jinými moderními diagnostickými metodami si cytogenetická analýza a interfázní fluorescenční in situ hybridizace (I-FISH) získala nezastupitelnou úlohu. Vznik nových genomových aberací s postupem choroby (klonální evoluce) bývá většinou spojován s kratším přežitím, ačkoli závěry z předchozích studií jsou rozporuplné.

**Metodika:** 102 pacientů s B-CLL bylo zahrnuto do studie zhodnocující klonální evoluci metodou I-FISH. Genomové aberace byly zjišťovány v průběhu sledování pacienta sadou sond detekující trisomii chromosomu 12, del(13)(q14.3), delecí genu ATM (11q22.3) a delecí genu p53 (17p13.1).

**Výsledek:** Při úvodní analýze byly cytogenetické abnormality nalezeny u 69 ze 102 pacientů. Při následném vyšetření byly u 25 pacientů zjištěny nově získané aberace. 16 z těchto 25 pacientů mělo nemutovaný a 9 mutovaný IgVH gen.

**Závěr:** V naší studii jsme neprokázali statisticky významnou souvislost klonálního vývoje s prognosticky nepříznivými znaky (nemutovaným mutačním stavem, se ZAP-70 nebo CD38 pozitivitou) ani s dobou celkového přežití. Nicméně „high-risk“ delece (ATM a p53) nalezené v jakékoli fázi onemocnění znamenají pro pacienta špatnou prognózu a konkrétně delece genu p53 předurčuje rezistenci k chemoterapii. Proto by měli být pacienti s B-CLL opakovaně cytogeneticky vyšetřováni.

*Podpořeno granty MSM 0021620808, MZO 00064165, LC535, IGA MZCR 9244-3.*

## DISOCIATIVNÍ PŘÍZNAKY A ENDOKRINNÍ DYSREGULACE U DEPRESIVNÍCH PACIENTŮ

**Autoři:** Gustáv Bízík, Petr Bob, Marek Šusta, Jozef Pavlát  
**Školitel:** RNDr. Petr Bob, Ph.D., Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Výskum zaměřený na depresivní poruchu prokazuje, že tato klinická jednotka je spojena s celou řadou patologických nálezů ve smyslu psychiatrické i somatické komorbidity. Příkladem těchto změn je zvýšená incidence disociativních příznaků, a dále, kromě jiných, endokrinologická dysregulace hypotalomo-hypofýzo-nadledvinové osy. Cílem studie je zjištění vztahu mezi mírou disociativních příznaků a hladinou vybraných stresových hormonů.

**Metodika:** Měření byla provedena na vzorku 40 pacientů hospitalizovaných na Psychiatrické klinice s diagnózou unipolární depresivní poruchy. Diagnóza byla přezkoumána dle DSM IV kritérií. Z psychometrických metod byly administrovány DES (dissociative experiences scale) kvantifikující míru disociativní symptomatiky, a SDQ-20 (somatoform dissociation questionnaire) mapující přítomnost somatoformních příznaků disociace. Byly stanoveny sérové hladiny prolaktinu a kortizolu.

**Výsledek:** Výsledky ukazují pozitivní korelaci mezi hladinou prolaktinu v séru a mírou disociativní symptomatiky měřenou DES ( $r=0,55$ ,  $p<0,01$ ), dále negativní korelace mezi hladinou kortizolu v séru a mírou somatoformních disociativních příznaků měřených prostřednictvím SDQ-20 ( $r=-0,38$ ,  $p<0,001$ ).

**Závěr:** Uvedené výsledky vykazují statisticky významný vztah mezi hladinami stresových hormonů a mírou disociativní symptomatiky u depresivních pacientů. Nález zvýšené hladiny prolaktinu a snížené hladiny kortizolu je konzistentní s modelem pasivního copingu, jako součásti klinického obrazu depresivního onemocnění.

## THE IMPACT OF MITOCHONDRIAL TRNA MUTATIONS ON THE AMOUNT OF ATP SYNTHASE DIFFERS IN THE BRAIN COMPARED TO OTHER TISSUES

**Authors:** Daniela Fornuskova, Olga Brantova, Marketa Tesarova, Lukas Stiburek, Tomas Honzik, Laszlo Wenchich, Evzenie Tietzeova, Hana Hansikova, Jiri Zeman  
**Supervisor:** prof. MUDr. Jiří Zeman, DrSc., Department of Pediatrics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

The impact of point mutations in mitochondrial tRNA genes on the amount and stability of respiratory chain complexes and ATP synthase (OXPHOS) has been broadly characterized in cultured skin fibroblasts, skeletal muscle samples, and mitochondrial cybrids. However, less is known about how these mutations affect other tissues, especially the brain. We have compared OXPHOS protein deficiency patterns in skeletal muscle mitochondria of patients with Leigh (8363G>A), MERRF (8344A>G), and MELAS (3243A>G) syndromes. Both mutations that affect mt-tRNA<sup>Lys</sup> (8363G>A, 8344A>G) resulted in severe combined deficiency of complexes I and IV, compared to an isolated severe defect of complex I in the 3243A>G sample (mt-tRNA<sup>Leu</sup>(UUR)). Furthermore, we compared obtained patterns with those found in the heart, frontal cortex, and liver of 8363G>A and 3243A>G patients. In the frontal cortex mitochondria of both patients, the patterns of OXPHOS deficiencies differed substantially from those observed in other tissues, and this difference was particularly striking for ATP synthase. Surprisingly, in the frontal cortex



of the 3243A>G patient, whose ATP synthase level was below the detection limit, the assembly of complex IV, as inferred from 2D-PAGE immunoblotting, appeared to be hindered by some factor other than the availability of mtDNA-encoded subunits.  
Supported by GACR 303/07/0781.

### NOVÁ METODA KE STANOVOVÁNÍ POŠKOZENÍ PODOCYTŮ U GLOMERULONEFRITID: PODOCALYXIN POSITIVNÍ ELEMENTY V MOČI

**Autor:** MUDr. Peter Habara, 2. roč.

**Školitelé:** MUDr. Helena Marečková, CSc., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK, prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc. MBA, FASN., Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, Ústav klinické a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

Podocyty pokrývají glomerulární kapilární kapiláru, svojimi výběžky se na ni připájají a určují permeabilitní vlastnosti hlavně co se týče makromolekul krve, za tyto vlastnosti je zodpovědný hlavně jejich vysoce elektronegativní povrch generovaný sialoglykoproteiny zastoupeny obzvláště podocalyxinem, který je zároveň jejich specifickým povrchovým antigenem. Poškození podocytů u glomerulárních nemocí – glomerulonefritid (GN) je doprovázeno odloučením podocytů, jejich výběžků a fragmentů. Použitím anti-podocalyxinové monoklonální protilátky jsme stanovovali pomocí průtokové cytometrie všechny elementy derivované od podocytů v moči. Elementy jsme pojmenovali podocalyxin pozitivní elementy (PCX+el). Použitím polystyrénových kalibračních kuliček jsme stanovovali absolutní počty těchto elementů versus běžnému výstupu FACSu což jsou pouze relativní počty v procentech. Moč se získávala ranní a ihned se přidával prezervační roztok, čím se docílilo, že se mohl analyzovat vzorek až s 72h latencí versus 1h u čerstvé moči. Celkově jsme vyšetřili 38 pacientů s různě aktivní glomerulonefritidou, 15 v dlouhodobé remisi a 44 zdravých kontrol. Močové hodnoty PCX+el byli signifikantně vyšší u pacientů s aktivní glomerulonefritidou v porovnání s pacienty v dlouhodobé remisi a zdravou kontrolou (aktivní GN  $93 \pm 100$  PCX+el/ $\mu$ l, remise  $6,3 \pm 32$  PCX+el/ $\mu$ l, zdravá kontrola  $4,4 \pm 2,6$  PCX+el/ $\mu$ l,  $p < 0,000001$ ). Tyto pilotní data ukazují, že tato relativně jednoduchá metoda může být potenciálně laboratorní alternativou k renální biopsii (t.č. jediná jednoznačná metoda určující typ a aktivitu glomerulonefritidy), sice diagnózu neurčí, zato aktivitu se zdá, že ano.

### DEFORMACE SKELETU A JEHO TŘÍDIMENZIONÁLNÍ NÁHRADY

**Autoři:** Irman R.<sup>1</sup>, Horak Z.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN, <sup>2</sup>ČVUT, Fakulta strojní, Laboratoř biomechaniky

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

Cílem projektu bylo vytvořit rychlou, přesnou a efektivní metodu pro návrh a výrobu individuálních implantátů náhrad skeletu lebky za použití vhodných biomateriálů, kterými lze nahradit defektní místo. Metoda spočívá ve zpracování a přenosu dat z dostupných diagnostických zobrazovacích metod (CT a MRI) a jejich transformaci do 3D geometrických modelů. Z takto vytvořených 3D modelů defektu lze provést s dostatečnou přesností tvarovou rekonstrukci defektu a následně i návrh individuálního implantátu. Model defektního místa pro potřeby plánování operačního zákroku lze vyrobit pomocí technologie rapid prototyping a vlastní implantát pomocí dostupných konvenčních CNC obráběcích metod (CAD/CEM). Pro výrobu individuálních náhrad jsou s ohledem na zdravotní a technologické požadavky dostupné materiály kovové (titan Ti6Al4V) a plastové (PEEK, UHMWPE). Volba použitého materiálu musí respektovat velikost defektu, případné silové zatížení a způsob implantace.

Závěrem bude prezentováno několik klinických případů zhotovení individuálních náhrad kostních defektů spolu s pooperační RTG verí

### KOURENÍ A IDIOPATICKÉ STŘEVNÍ ZÁNĚTY

**Autorka:** MUDr. Kateřina Langrová, Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN

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

**Úvod:** Kouření tabáku postihuje celé tělo včetně gastrointestinálního traktu, mimo jiné je v úzké souvislosti s idiopatickými střevními záněty (IBD). Pro vznik Crohnovy nemoci (CD) jsou nejvíce disponováni kuřáci, ulcerózní kolitidou (UC) jsou naopak postiženi nejvíce bývalí kuřáci a nekuřáci.

**Metodika:** Naše klinicko-epidemiologická studie byla zaměřena na kvantitativní parametry expozice jak aktivnímu tak pasivnímu kouření (ETS) vzhledem k riziku vzniku obou nemocí a jejich klinickému průběhu. Do souboru probandů bylo zařazeno 202 pacientů gastroenterologických pracovišť v Praze s jednoznačně stanovenou diagnózou CD (71 pacientů) či UC (131 pacientů).

**Výsledek:** Poměr zastoupení mužů a žen byl 44% muži 56% ženy pro CD, resp. 46% muži, 54% ženy pro UC. Průměrný věk probandů byl 45 let pro obě skupiny.

Zastoupení jednotlivých skupin vzhledem ke kuřáckému návyku bylo následovné: CD: nekuřáci 45% (32), bývalí kuřáci 15% (11), kuřáci 39% (28), UC: nekuřáci 66% (86), bývalí kuřáci 16% (21), kuřáci 18% (24).

Kvantifikace expozice byla prováděna několika způsoby; nejmarkantněji se rozdíly mezi oběma nemocemi projevily v kategorii „bývalý kuřák“, kde průměrné množství vykouřených cigaret za život je u pacientů s UC 28 tisíc kusů, bývalý kuřák s Crohnovou nemocí vykouřil asi polovinu; celková doba trvání kuřáckého návyku představuje více než 100 měsíců pro pacienty s UC a přibližně třetinovou hodnotu pro pacienty CD.

Vystavení kouření bylo vztaženo také k závažnosti průběhu nemoci, která byla definována například jako poměr délky trvání období s minimálními a maximálními příznaky; nejméně příznivé hodnoty, tedy nejdelší období maximálních a nejkratší minimálních příznaků nacházíme mezi pacienty s CD u kuřáků (21,3, resp. 41,3 měsíců) a mezi pacienty s UC je nejdelší doba trvání maximálních příznaků u bývalých kuřáků (24,1 měsíců) a nejkratší doba minimálních příznaků u nekuřáků (34,4 měsíců). Dalším zkoumaným faktorem byla expozice ETS - pozitivní údaje udávala téměř polovina pacientů s Crohnovou nemocí (48%), ale jen čtvrtina nemocných ulcerózní kolitidou (24%). Rozdíly v míře expozice však nebyly statisticky významné.

**Závěr:** Výsledky studie potvrdily antagonistický vliv aktivního kouření na riziko i průběh CD a UC a závislost na expoziční dávce. Navíc naznačují i podobný vliv expozice ETS, ale významnější v případě CD než UC a navíc se zvyšuje s časnou expozicí v dětství.

## OZÓN – ALTERNATIVNÍ PROSTŘEDEK PRO LÉČBU ZÁNĚTLIVÝCH STAVŮ V ÚSTNÍ DUTINĚ

**Autoři:** Linetskiy Igor, D.M.<sup>1</sup>, MUDr. Seidler Viktor<sup>1</sup>, prim. MUDr. Jedličková Anna<sup>2</sup>, RNDr. Mikolášová Bohumila<sup>2</sup>, MUDr. Staňková Hana<sup>1</sup>, doc. MUDr. Hubálková Hana, Ph.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Stomatologická klinika VFN a 1. LF UK v Praze, <sup>2</sup> Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF a VFN Klinická mikrobiologie a ATB centrum VFN a 1. LF UK

**Školitel:** doc. MUDr. Hana Hubálková, Ph.D., Stomatologická klinika 1. LF a VFN

**Úvod:** Pacienty postižené záněty v dutině ústní léčíme výplachy tradičními antiseptickými roztoky (3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, chlorhexidin o koncentracích 0,01 a 0,02%), dále lokálně tamponádou a celkově podáním antibiotik. Ozón pro svůj antimikrobiální, imunostimulační, antihypoxický a antitoxický efekt můžeme považovat jako velmi perspektivní alternativní léčebný prostředek.

**Cíl:** Zjištění antimikrobiálního působení ozónu a stanovení jeho účinné koncentrace k eliminaci vybraných mikrobů in vitro.

**Materiály a metodika:** Na souboru pacientů s přítomným poextrakčním zánětem zubního lůžka byly provedeny stěry pro mikrobiologickou kultivaci: a) z místa zánětu, b) z protilehlé tvářové sliznice. Vzorky byly bezprostředně odeslány do ATB centra VFN. Byla testována citlivost vybraných mikrobů (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Candida albicans*) vůči působení ozónované vody o koncentraci ozónu 4-8 mg/l. Byla použita metoda diluční, kultivace probíhala aerobně a anaerobně.

**Výsledky:** Za mikroskopické a růstové kontroly byly prokázány baktericidní vlastnosti ozónované vody o koncentraci 4-6 mg/l u viridujících streptokoků.

**Závěr:** Tímto experimentálním testováním jsme prokázali baktericidní efekt ozónované vody na vybrané mikroorganismy vyskytující se v dutině ústní.

## THE MITOCHONDRIAL DNA CONTENT PER CELL IN HUMAN LIVER AND MUSCLE TISSUE INCREASING DURING GESTATION

**Authors:** M. Pejznochová, M. Magner, M. Tesařová, H. Hansíková, J. Zeman

**Supervisor:** prof. MUDr. Jiří Zeman, DrSc., Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF a VFN, Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch

The process of oxidative phosphorylation system (OXPHOS) maturation is still not fully understood during the development of the fetus. Since all mammalian cells except erythrocytes depend on mitochondrial ATP production, knowledge of the OXPHOS maturation is an essential query. Our previous study demonstrated significant changes of mitochondrial DNA (mtDNA) content in cord blood leukocytes during the gestation. To further understand the role of mtDNA content in human prenatal development, we analyzed mtDNA amount in human fetal liver and muscle tissue during the gestation.

DNA was isolated from 26 liver and 26 muscle tissue samples obtained at autopsy from miscarriages between 13<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> week of gestation. The mtDNA amount was analyzed by the real-time PCR method using SybrGreen I (Chromo4, Bio-Rad).

The significant positive correlations were found between the gestational age and the relative mtDNA amount in fetal liver tissue ( $r = 0,56$ ;  $p < 0,01$ ) and mtDNA amount in fetal muscle tissue ( $r = 0,61$ ;  $p < 0,01$ ), respectively.

In both fetal liver and muscle tissue, mtDNA content per cell was increasing with onward fetal development. These results are in accordance with the few of studies but there was never analysed as numerous set of tissue samples as in our study. Presently we analyze a relation among changes of the mtDNA content during prenatal development and the transcription activation of some mtDNA maintenance factors (POLG, TFAM) in the same set of tissue samples.

*This work was supported by grant GAUK25755707, IGAMZ-NR9410, GACR 305/08/H037.*



## POROVNÁNÍ EXPRESNÍCH PROFILŮ MRNA GENŮ MUC-1, EPCAM A HER-2 V CIRKULUJÍCÍCH NÁDOROVÝCH BUŇKÁCH, PERIFERNÍ KRVI A KOSTNÍ DŘENI U PACIENTEK S KARCINOMEM PRSU

**Autorka:** Veronika Prokopová

**Školitel:** prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc. MBA, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Cílem této studie je vyvinout standardní metodický postup pro detekci expresních profilů mRNA vybraných genů v cirkulujících nádorových buňkách (CTC), periferní krvi a kostní dřeni a tím vytvořit nový přístup pro zlepšení včasné detekce progresivního onemocnění u pacientek s karcinodem prsu.

**Metodiky:** Porovnání expresních profilů mRNA vybraných genů (MUC-1, EpCAM, Her-2 a kontrolní gen  $\beta$ -aktin) bylo provedeno ve vzorcích periferní krve a kostní dřeni odebrané pacientkám s diagnostikovaným karcinodem prsu. Separace CTC byla provedena pomocí AdnaGen Breast Cancer Select testu. Dále byla provedena separace mononukleárních buněk z periferní krve pomocí gradientové centrifugace s Ficoll-Hypaque a z kostní dřeni pomocí izolace buněk osmotickou lýzou. Z obohacené frakce CTC a mononukleárních buněk byla následně izolována RNA, která byla použita k RT-PCR a následně pro multiplex PCR reakci pro sledování expresních profilů MUC-1, EpCAM, Her-2 v těchto buňkách. Pro vývoj a hodnocení použitých metodik byla použita kultura lidského karcinomu prsu (MCF-7).

**Výsledky:** Ve vyšetřených vzorcích získaných od 11 pacientek s potvrzenou diagnózou karcinomu prsu byla sledována různá exprese genů MUC-1, EpCAM a Her-2. V periferní krvi 2 pacientek byla detekována přítomnost cirkulujících nádorových buněk.

**Závěr:** Zjištěná různá exprese genů MUC-1, EpCAM a Her-2 genů může být vysvětlena variabilitou v expresi těchto genů cirkulujícími nádorovými buňkami nebo mononukleárními buňkami v periferní krvi či kostní dřeni. Detekce cirkulujících nádorových buněk a sledování genové exprese v periferní krvi a kostní dřeni, kombinující několik mRNA markerů, by mohlo výrazně zvýšit senzitivitu a specifitu detekce nádorových buněk a umožnit sledování dynamiky onemocnění a účinnosti příslušné aplikované léčby u pacientek s karcinodem prsu.

## ANTROPOMETRICKÉ CHARAKTERISTIKY U CHLAPCŮ S AD(H)D

**Autoři:** Radek Ptáček, Hana Kuželová, Ivo Paclt

**Školitel:** doc. MUDr. Ivo Paclt, CSc., Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Diagnóza AD(H)D představuje skupinu vývojových poruch, charakteristickou nepřiměřenou úrovní pozornosti, nadměrnou aktivitou a impulsivitou. AD(H)D s sebou nese mnohé problémy, které se projevují v menší či větší míře ve všech oblastech chování a vyznačuje se rozmanitou symptomatologií, různou etiologií a nejednotným vývojem. U hyperaktivních dětí může docházet k neurologickým i endokrinním změnám. Potenciálně tedy i růstovým obtížím. Dostupné odborné zdroje toto potvrzují nicméně neposkytují ucelené ani navzájem kompatibilní stanoviska.

**Metodika:** Za účelem zjištění základních antropometrických charakteristik dětí s AD(H)D a jejich možných diferencí od populace bez psychiatrické zátěže jsme sestavili soubor 52 chlapců s AD(H)D ve věku 4-16 let. Pro antropometrické hodnocení bylo použito parametrů: tělesná výška, tělesná hmotnost, BMI, 10 výškových rozměrů, 11 šířkových rozměrů, 13 obvodových rozměrů, 14 kožních řas. Dle programu ANTROPO a RŮST CZ byla stanovena tělesná proporcionalita a další ukazatele a zároveň porovnání s normativními daty. Diagnóza AD(H)D byla stanovena psychiatrem a dále byly použity psychologické testy.

**Výsledky:** Na základě získaných zjištění lze konstatovat, že skupina dětí s AD(H)D s největší pravděpodobností vykazuje z antropometrického hlediska některé rozdíly oproti dětem bez AD(H)D. Zajímavým nálezem jsou vyšší hodnoty šířkových rozměrů, konkrétně šířky ramen, hrudníku a pánve. Dalším je rozdíl v podílu tuku a s tím související větší obvod břicha, který byl na hranici statistické významnosti. Naopak obvod stehna vykazuje nižší hodnoty. Tyto nálezy jsou v souladu s některými zahraničními studiemi, které poukazovaly na vyšší tendenci k obezitě, vyšší hodnoty BMI, vyšší hodnoty kožních řas u dětí s AD(H)D oproti normální populaci.

**Závěr:** AD(H)D představuje více než psychiatrickou diagnózu. Jedná se o vývojovou poruchu na úrovni centrální nervové soustavy a endokrinního systému, která se projevuje nejen na úrovni behaviorální, ale i také obecně somatické, kde minimálně v pohledu provedené studie pravděpodobně ovlivňuje základní faktory růstu.

## DIFERENCIÁLNĚ DIAGNOSTICKÉ PSYCHOMETRICKÉ SOUVISLOSTI NĚKTERÝCH KONSTRUKTŮ DISOCIACE

**Autoři:** Radek Ptáček, Petr Bob, Ivo Paclt

**Školitel:** doc. MUDr. Ivo Paclt, CSc., Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Disociace v psychologii představuje poměrně známý a rozšířený koncept, který historicky vychází zřejmě především z děl Piera Janeta. V současné psychologii se vyskytuje ve všech oblastech psychologie. V souvislosti s psychiatrickou diagnostikou (DSM-IV, MKN-10) a psychopatologií představuje poměrně jasný a strukturovaný konstrukt, který je velice často diagnostikován v klinické praxi, a to jak na úrovni primární diagnózy, tak i na úrovni doprovodných příznaků. I přes tento fakt, termín „disociace“ postrádá jednotnou konceptualizaci, koherentní výklad a především pak psychometrické vymezení, které by bylo obecně přijímáno v klinické praxi.

**Metodika:** Ve své práci jsme se proto soustředili na psychometrické zhodnocení a dále pak na statistické zhodnocení konceptuálních shod nebo rozdílů některých konstruktů disociace, které jsou v současné době používány v klinické praxi. Jedná se o konstrukt disociace psychické měřené dotazníkem DES (Dissociative Experiences Scale), disociace somatoformní měřené dotazníkem SDQ-20 (Somatoform Dissociation Questionnaire) a alexithymie měřené dotazníkem TAS-20 (Toronto Alexithymia Scale - 20). Za tímto účelem byly dotazníky zadány 120 osobám z neklinické populace ve věku 18 – 55 let. Spolu s dotazníky bylo provedeno komplexní psychologické vyšetření.

**Výsledky:** Studované koncepty disociace jsou z hlediska konceptuálního, psychometrického i klinického ve značném překryvu. Tento překryv je nejsilnější v oblasti disociace somatoformní, která se jeví jako průnik aktuálních projevů disociace (disociace psychická měřené dotazníkem DES) a relativně stálějších projevů disociace v podobě alexithymie (disociace emocí měřené dotazníkem TAS-20). Tyto výsledky jsou podpořeny jak korelační analýzou (např.: DES/SDQ-20  $r=0,88$ ,  $p<0,001$ ; TAS-20/SDQ-20  $r=0,57$ ,  $p<0,001$ ) Disociace měřené dotazníky DES a TAS-20 se pak jeví jako relativně samostatnější konstrukty (TAS-20/DES  $r=0,15$ ,  $p<0,001$ ).

**Závěr:** Na základě zjištěných výsledků můžeme s jistou opatrností konstatovat, že studované konstrukty disociace jeví silnou míru závislosti a nelze je tedy považovat za samostatné jevy či formy disociace. V tomto kontextu tedy můžeme hovořit spíše o disociaci jakožto silném mechanismu, který se projevuje v různých podobách. Stálější podoba se odráží především v prožívání a emocích (TAS-20) a míra aktuálních disociativních projevů spíše v oblasti kognitivní a širší schopnosti reakce na stres (DES, SDQ-20).

### DEZINFEKCE OTISKŮ VE STOMATOLOGII POMOCÍ OZÓNOVANÉ VODY

**Autoři:** MUDr. Seidler Viktor<sup>1</sup>, Chaloupka Adam<sup>2</sup>, MUDr. Jedličková Anna<sup>3</sup>, RNDr. Mikolášová Bohumila<sup>3</sup>, Linetskiy Igor, D.M.<sup>1</sup>, MUDr. Staňková Hana<sup>1</sup>, doc. MUDr. Hubálková Hana, Ph.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Stomatologická klinika VFN a 1. LF UK v Praze, <sup>2</sup>student 2. roč. 1. LF UK, obor praktické zubní lékařství,

<sup>3</sup>Ústav klinické a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, Klinická mikrobiologie a ATB centrum 1. LF UK a VFN

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

**Úvod:** Dezinfekce stomatologických otisků se nejčastěji v klinické praxi provádí ponořením nebo sprejováním roztoky na bázi etanolu, sulfátu, aldehydu nebo chlóru, které ale mohou vyvolat rezistenci některých mikroorganismů. Ozón vzhledem ke svým nespecifickým antimikrobiálním účinkům se nabízí jako možný alternativní prostředek k provádění dezinfekce formou ozónované vody. Cílem je ověření baktericidního působení ozónované vody na mikroorganismy nacházející se na površích stomatologických otisků a stanovení účinné koncentrace ozónu.

**Metodika:** Sestavili jsme soubor 30 sad otisků sestávajících z alginátové (Ypeen/ SpofaDental) a silikonové otiskovací hmoty (Siloflex/ Spofa Dental). První skupina 10ti otisků obsahovala 5 alginátových a 5 silikonových, druhá skupina 10 silikonových a třetí skupina také 10 silikonových otisků. První skupina byla ošetřena ponořením do ozónované vody s koncentrací ozónu 6 mg/l, doba působení 3 s. Druhá skupina byla ošetřena koncentrací 8 mg/l po dobu 60 s (5 otisků) a 120 s (5 otisků). Třetí skupina byla ošetřena koncentrací 8 mg/l po dobu 4 min (5 otisků) a 8 min (5 otisků). Po aplikaci ozónu byly otisky vloženy do skleněné láhve s růstovým bujonem a uzavřené odeslány do ATB centra VFN. Za kontrolní skupinu nám posloužilo 30 otisků ze stejných otiskovacích hmot.

**Výsledky:** U otisků ze skupiny 1, 2, 3 ošetřených ozónovanou vodou kultivace prokázala určitou bakteriální eliminaci.

**Závěr:** Výsledky laboratorního experimentu prokazují, že ozónovaná voda při stoupající koncentraci a prodloužení času působí úbytek mikroorganismů z povrchu otisků. V této studii se bude pokračovat za použití vyšších koncentrací ozónu a bude se hledat optimální čas pro účinnou dezinfekci.

### ORÁLNÍ GALVANISMUS U PACIENTŮ S ÚSTNÍM DYSKOMFORTEM

**Autoři:** Milan Tomka, Karel Hána, Martin Mihaljevič, Jarmila Procházková

**Školitelka:** doc. MUDr. Jarmila Procházková, CSc., Výzkumný ústav stomatologický 1. LF UK a VFN

**Úvod:** Přítomnost různých kovových systémů v dutině ústní může „u citlivých jedinců“ způsobovat zdravotní obtíže. Cílem sdělení je ověření hypotézy o významu měření galvanických jevů v dutině ústní jako diagnostické metody u pacientů s ústním dyskomfortem.

**Metodika:** U 159 pacientů s ústním dyskomfortem a zvýšenými hodnotami galvanických proudů v dutině ústní (1. skupina) jsme provedli analýzu kovových elementů v nestimulované slině. Kontrolní skupinu tvořilo 21 zdravých dobrovolníků bez kovových systémů v ústech (2. skupina). 33 pacientů z 1. skupiny se podrobilo odstranění elektroaktivních prací z úst a nahrazení nekovovým materiálem. Dva měsíce po výkonu byla provedena analýza kovových elementů ve slinách a výsledky byly porovnány se stavem před výkonem a s výsledky 2. skupiny – kontrolní.

**Výsledky:** Pacienti z 1. skupiny vykazovali ve slině větší množství iontů rtuti, cínu, stříbra, mědi a zlata. Odstraněním elektroaktivních kovových systémů z úst došlo k zrušení galvanického článku a k snížení obsahu kovů ve slině oproti stavu před zákrokem. Zhruba 80% pacientů udávalo po zákroku ústup příznaků ústního dyskomfortu a zlepšení svého zdravotního stavu.

**Závěry:** Galvanický článek v dutině ústní zvyšuje uvolňování kovových částic z dentálních slitin elektrochemickou korozí a zvyšuje tak expozici organismu kovům. U citlivých jedinců se může projevit zvýšená expozice zdravotními problémy. Odstranění elektroaktivních prací na základě měření galvanických proudů se u těchto pacientů jeví jako účinný léčebný prostředek.



*Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, děkan 1 LF UK a prof. MUDr. Aleš Linhart, DrSc. při vyhlášení výsledků cen.*



*Děkan fakulty profesor Tomáš Zima zahajuje slavnostní předávání cen IX. ročníku Studentské vědecké soutěže na . LF UK.*



*Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, děkan 1 LF UK.*



*Zleva šéfredaktor Zdravotnické redakce Grada Publishing, a. s. dr. M. Lomíček, profesor A. Žák, proděkan pro vědu 1. LF UK a ředitel nakladatelství Galén, spol. s r. o. dr. L. Houdek.*





# SEKCE NELEKÁŘSKÁ - OŠETŘOVATELSKÁ

## ABSTRAKTA PRACÍ ÚČASTNÍKŮ

- Froněk Jan, 3. r.
- Pekara Jaroslav, 1. r.
- Příbylová Petra, Bc., 1. r.
- Šancová Petra, 4. r.

## HODNOTITELSKÁ KOMISE

předsedkyně: **Mgr. Dana Jurásková, MBA**  
člen: doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.



## VLIV TYPY POLYMERACNÍ LAMPY NA VYTVRZENÍ KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ S RŮZNÝM MECHANISMEM POLYMERACE

**Autor:** Jan Froněk, 3. roč.

**Školitel:** RNDr. Pavel Bradna, CSc., Výzkumný ústav stomatologický 1. LF UK a VFN

Stupeň vytvrzení může významným způsobem ovlivnit životnost výplní z kompozitních materiálů. Kromě celkového složení kompozitního materiálu rozhoduje o stupni vytvrzení i typ použité polymerační lampy, zejména shoda absorpčního spektra použitého iniciačního systému kompozitu a emisního spektra lampy. Ke světelné polymeraci se používají především halogenové a LED (Light Emitting Diode) lampy, liší se celkovým výkonem a šířkou emisního spektra, vyvinuté zejména pro iniciátory kافرchinonového typu radikálově iniciované polymerace. Tyto lampy jsou doporučovány nejenom pro polymeraci dimetakrylátových, radikálově polymerovaných kompozitních materiálů, ale i nových typů nízkokontražujících kompozitů s jinými typy monomerů.

**Cíl:** Porovnat účinnost několika typů halogenových a LED polymeračních lamp při vytvrzení epoxidových a dimetakrylátových kompozitních materiálů měřením povrchové tvrdosti bezprostředně po polymeraci a s odstupem 24 hodin.

**Materiál a metodika:** Sledováno bylo 6 typů polymeračních lamp pro polymeraci epoxidového a dimetakrylátového kompozitního materiálu. Hodnocení lamp bylo provedeno na základě měření povrchové tvrdosti horní – ozářené a spodní strany modelových výplní tloušťky 2 mm. Použit byl standardní 20 sekundový cyklus polymerace a soft-start program pro snížení polymeračního pnutí u lamp vybavených tímto programem. Tvrdost byla měřena 10–15 minut po polymeraci a u vybrané halogenové a LED lampy i po 24 hodinách po polymeraci.

**Výsledek:** U obou skupin materiálů byl pozorován významný vliv typu polymerační lampy na stupeň vytvrzení kompozitního materiálu. Nejvyšší povrchová tvrdost byla nalezena při použití halogenových lamp a multispektrální LED lampy. V porovnání s kontrolní skupinou (dimetakrylátový kompozit) byla povrchová tvrdost epoxidového typu výrazně vyšší.

**Závěr:** I přes omezený rozsah hodnocených polymeračních lamp a kompozitních materiálů se ukázalo, že nejvyšší stupeň vytvrzení byl dosažen s použitím především klasických halogenových polymeračních lamp. Vytvrzení epoxidového kompozitního materiálu s kationtově iniciovanou polymerací je rychlé a jeho povrchová tvrdost vyšší než u kontrolního materiálu.

## NAPADENÍ ZDRAVOTNICKÝCH ZÁCHRANÁŘŮ V ČR

**Autor:** Jaroslav Pekara, 1. roč.

**Školitelka:** PhDr. Naděžda Špatenková, Ph.D.

**Úvod:** Zdravotnický záchranář pracuje v různých extrémních podmínkách. Jeho práce je náročná bezesporu jak fyzicky, tak psychicky. U lidí, které ošetřuje se setkává s psychickým a fyzickým vyčerpáním. Tyto náročné životní situace kladou nesmírné nároky na emoce. Může se tak stát, že v určitých případech dojde i k napadení zdravotnického záchranáře.

**Metodika průzkumu:** Práce podává obraz skutečné situace napadení zdravotnických záchranářů v ČR. Pilířem je dotazníková metoda reflektující počet napadení za rok 2005. Obsahem přednášky jsou výsledky průzkumu v roce 2004–2006, zahrnující především četnost napadení záchranářů v ČR, příčiny napadení záchranářů, obranu a prevenci (sebeobrana, kurzy komunikace, obranné pomůcky, spolupráce s IZS).

**Závěr:** Napadení záchranářů je aktuální, i když citlivé téma, ale jak jsme zjistili, dá se proti němu úspěšně bojovat. Záchranář si, jako lidé, musí především sami uvědomit, že i když nejde změnit systém, lze změnit alespoň své chování.

## STANOVENÍ AKTIVITY LYMFOCYTŮ PERIFERNÍ KRVE NEPLODNÝCH ŽEN

**Autorka:** Bc. Petra Příbylová, 1. roč.

**Školitelka:** MUDr. Karin Malíčková, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF a VFN

**Úvod:** V České republice se počet neplodných párů v současné době pohybuje okolo 10 %. O sterilitě hovoříme tehdy, když žena neotěhotní po roce nechráněného pohlavního styku. O imunologické příčině neplodnosti u ženy až po vyloučení anatomických, genetických, infekčních a hormonálních příčin. Obsahem mé práce je vyšetření aktivity NK buněk (tzv. přirozených zabijáčů). Ty se podílí na imunitních reakcích v organismu.

**Metodika:** Má metoda spočívá v izolaci NK buněk z krve imuno- magnetickou separací pomocí speciálního kitu: NK Cell Negative Isolation Kit. Výtěžnost této metody se pohybuje okolo 70 %. Po izolaci se NK buňky spolu se spermii přenesou do destičky. Takto připravená destička se inkubuje 24 hodin při 37°C. Po této době se ke směsi přidá žluté tetrazolium, které se přes cytoplasmatickou membránu dostane do buňky. V ní je pomocí mitochondriálních enzymů přeměněno na červený formazan, který je náhledně z buňky uvolněn. Tuto barevnou změnu můžeme měřit a zjistit, zda-li daný organismus nemá příliš velkou odezvu imunitního systému (zprostředkovanou NK buňkami) na antigeny spermií.

**Výsledek:** Mnou zavedenou metodou bylo vyšetřeno 13 pacientů. Při vyšetření bylo prokázáno, že aktivita NK buněk u neplodných pacientek je zvýšená oproti aktivitě těchto buněk u plodných žen nebo takových pacientů, kteří se ještě do kontaktu se spermii nedostali.

**Závěr:** Byla vypracována jednoduchá neradioaktivní metoda k vyšetření žen, jejichž imunitní systém přehnaně reaguje na antigeny spermií.

## PROSTŘEDÍ NEMOCNICE

**Autorka:** Petra Šancová, 4. roč.

**Školitelka:** Mgr. Dana Jurásková, Ph.D., MBA, Ústav teorie a praxe ošetrovatelství 1. LF UK

**Úvod:** Ve své práci jsem se zaměřila na prostředí zdravotnického zařízení jako jeden z faktorů, které ovlivňují proces uzdravování pacienta s důrazem na bezpečné prostředí. Práce je zaměřená na prostředí z hlediska bezpečnosti, čistoty, orientace, přítvornosti, hlučnosti, tepelného komfortu, pohodlí, světelných podmínek, estetických požadavků a přiměřených podnětů.

**Metodika:** Výzkum jsem prováděla formou dotazníku mezi dospělými pacienty interních a chirurgických oddělení 4 nemocnic. Vyplněný dotazník jsem získala od 89 pacientů.

**Výsledky:** Z výzkumu vyplynulo, že pacienti jsou u nás poměrně málo kritičtí v hodnocení jednotlivých faktorů prostředí, muži jsou kritičtější než ženy. Největší problém pacienti vidí v otázkách týkajících se sociálních zařízení a to ve všech oblastech – jejich dostatečném množství, vybavení a zařízení pro pohodlné a bezpečné použití, vybavení signalizačním zařízením i čistoty. Problémem se ukázalo i parkování a dále otázky útulnosti, zařízení a vybavení nemocničních pokojů a jejich velikosti vzhledem k počtu pacientů.

**Závěr:** Již proběhlo několik rozsáhlých vědeckých studií, které dokázaly, že nemocniční prostředí má daleko větší vliv na uzdravování, než se předpokládalo. Pochopení významu prostředí a ochota zdravotníků potřeby pacientů v této oblasti uspokojit, je jedním z cílů ošetrovatelství. Velkou část problematických oblastí v prostředí nemocnice tak, jak byly pacienty identifikovány, lze vylepšit bez velkých finančních investic. Spokojený pacient, který nebude frustrovaný prostředím, bude se zdravotníky mnohem lépe komunikovat a spolupracovat.



*Kytice pro vítěze soutěže.*

VÍTEŽNÉ PRÁCE  
IN EXTENSO







# SEKCE PREGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ VÍTEŽNÉ PRÁCE

1. místo: **Jan Škrha, jr., 5. r.** – Ústav lékařské biochemie 1. LF UK

Školitel: MUDr. Jan Pláteník, Ph.D.

Název práce: „Vliv metabolitů glykolýzy na mitochondriální energetiku“

2. místo: **Roman Vozdek, 5. r.** – Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN

Školitel: doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc.

Název práce: „Studium metabolismu sírných aminokyselin u Caenorhabditis elegans: charakterizace cysteinsynthasy“

3. místo: **Nikol Mládková, 5. r.** – Division of Neurosurgery, USA

Školitel: David Corry Adamson, M.D., Ph.D., M.P.H.

Název práce: „The Role of SHREW-1 Gene in Human Glioblastoma Multiforme Cells“



## 1. MÍSTO

## VLIV METABOLITŮ GLYKOLÝZY NA MITOCHONDRIÁLNÍ ENERGETIKU

**Autor:** Jan Škrha jr., 5. roč., Juraj Gáll, Eva Sedláčková, Richard Buchal, Jan Pláteník  
**Školitel:** MUDr. Jan Pláteník, PhD., Ústav lékařské biochemie 1. LF UK



**Úvod:** Významnou úlohu v patogenezi dlouhodobých komplikací diabetes mellitus hraje mitochondriální produkce kyslíkových radikálů v důsledku zvýšené oxidace glukózy. V této práci se zabýváme efektem metabolitů glykolýzy na energetiku a otvírání megakanálu ve vnitřní mitochondriální membráně (MPT, mitochondrial permeability transition).

**Metodika:** Mitochondrie byly izolovány z potkaních jater klasickým postupem subcelulární frakcionace. Změny potenciálu vnitřní mitochondriální membrány byly měřeny pomocí fluorescenční sondy JC-1, paralelně bylo detekováno bobtnání mitochondrií (MPT) jako pokles rozptylu světla při 504 nm. Mitochondrie byly energizovány sukcinátem s přidávkem rotenonu (inhibitor komplexu I), příp. malátem + pyruvát. Následně byl studován efekt dvou koncentrací (5 mmol/l a 30 mmol/l) glukózy, glukóza-6-fosfátu (nebo glukózy + ATP + Mg), fruktóza-6-fosfátu a glukóza-1-fosfátu. K indukci MPT bylo použito CaCl<sub>2</sub>. Mitochondrie byly také preinkubovány 5 hodin s glukózou (5 mmol/l a 30 mmol/l) a poté zpracovány stejným způsobem. K ověření vlivu Glut1 transportéru v mitochondriální membráně na sledované proměnné byl použit Cytochalasin B (inhibitor Glut1).

**Výsledky:** Mitochondrie energizované oběma substráty udržovaly stabilní membránový potenciál po celou dobu měření. Glukóza, glukóza-6-fosfát a fruktóza-6-fosfát neměly žádný vliv na kalcium indukované MPT, glukóza-1-fosfát možná působí jako slabý inhibitor MPT. Metabolity glukózy byly použity jako draselné soli. Sodná sůl glukóza-6-fosfátu působila dramatické bobtnání a depolarizaci. Preinkubace mitochondrií s glukózou také nevedla ke změnám energetiky ani indukce MPT. Kombinace glukózy s ATP a Mg, které umožňuje tvorbu glukóza-6-fosfátu v reakční směsi, ani inhibice Glut1 cytochalasinem B nezpůsobily odchylky membránového potenciálu ani bobtnání.

**Závěr:** Získané výsledky nesvědčí pro přímý vliv glukózy a fosforylovaných hexóz z glykolýzy na bazální bioenergetiku nebo kalcium indukované otvírání megakanálu v izolovaných jaterních mitochondriích. Dramatický efekt sodných iontů je zřejmě způsoben aktivací Na/Ca výměnného systému. V dalších pokusech chceme spektrum testovaných metabolitů glykolýzy rozšířit o krátké aldehydy (glyceraldehyd-3-fosfát a metylglyoxal).



Jan Škrha přebírá cenu za 1. místo v sekci pregraduální teoretické.



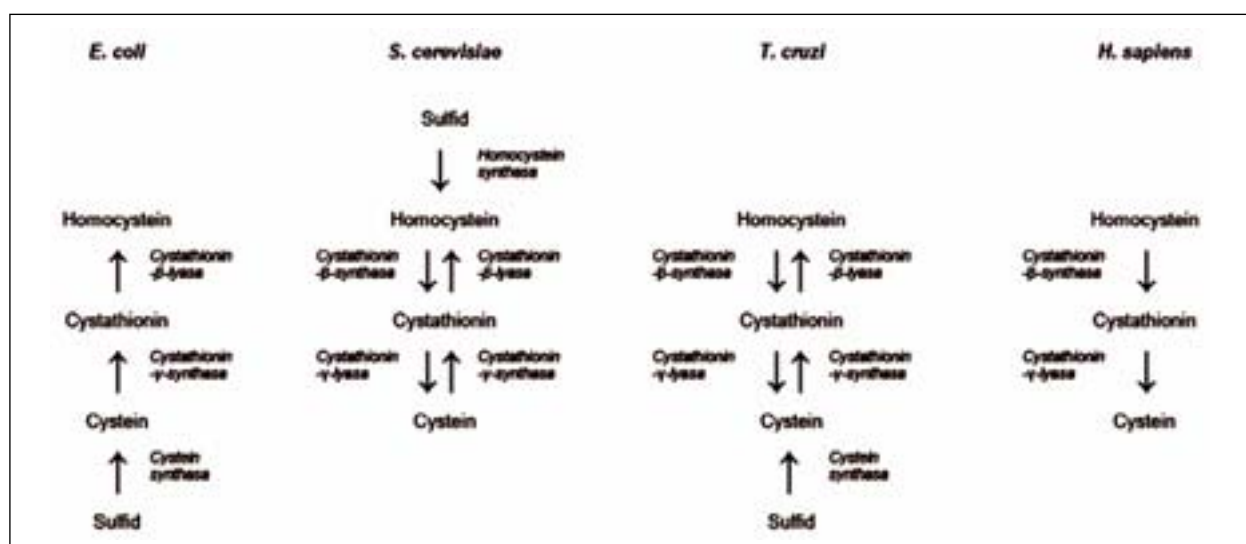
2. MÍSTO

**STUDIUM METABOLISMU SÍRNÝCH AMINOKYSELIN U CAENORHABDITIS ELEGANS: CHARAKTERIZACE REKOMBINANTNÍ CYSTEINSYNTASY**

**Autor:** Vozdek Roman, 5. roč., Hnízda Aleš, Krijt Jakub, Kožich Viktor  
**Školitel:** doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc., Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN



Cysteinsynthasa (CS) je asimilační enzym katalyzující syntésu L-cysteinu z O-acetyl-L-serinu a sulfidu. Tento enzym, nepřítomný u evolučně vyšších forem života, obsahuje vysoce konzervovanou katalytickou doménu společnou s cystathionin- $\beta$ -synthasou (CBS), enzymem katalyzujícím u živočichů první krok transsulfurační dráhy produkující L-cystein. Deficit CBS je nejčastější příčinou dědičné metabolické poruchy homocystinurie. Patogeneze homocystinurie, pro jejíž studium se využívá doposud dvou modelových organismů - myši a kvasinek, je prozkoumaná jen částečně a nejsou pro ni dostupné modely s intermediární komplexitou. Vhodným organismem by mohlo být hádátka *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), které patří v současné době k oblíbeným modelům lidských onemocnění.; o jeho metabolismu sírných aminokyselin ale nejsou žádné informace. Pro potencionální využití hádátkového modelu je nejprve nutné zjistit, do jaké míry se u *C. elegans* překrývají aktivity CS a CBS a objasnit tak, kterou metabolickou dráhu k biosyntéze cysteinu *C. elegans* využívá. (Obr. 1).



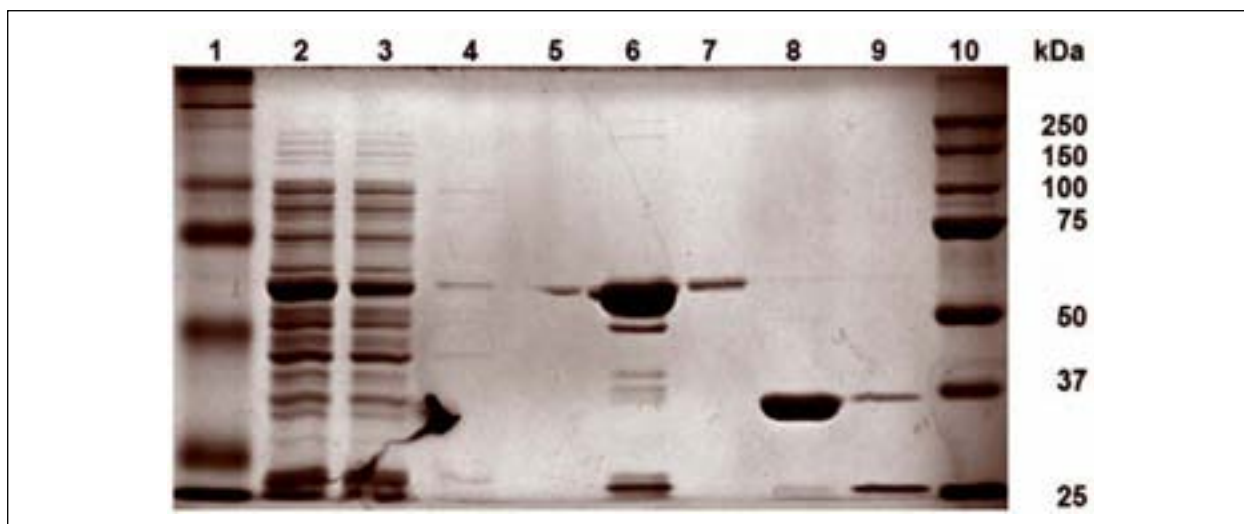
**Obrázek 1.** Zjednodušená schémata metabolismu cysteinu u bakterií (*Escherichia coli*), kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*), prvoků (*Trypanosoma cruzi*) a savců (*Homo sapiens*).

Předchozí *in silico* analysou jsme v naší laboratorní skupině našli 3 geny *C. elegans*, které jsou vysoce homologní k lidské CBS: F54A3.4, ZC373.1 (v internetové databázi wormbase jsou predikovány jako geny pro cystathionin- $\beta$ -synthasu) a C17G1.7 (predikován jako gen pro cysteinsynthasu); o jejich funkci v *C. elegans* však není nic známo. Funkci těchto genů lze analyzovat charakterizací fenotypu u mutantních kmenů *C. elegans* a expresí těchto genů v bakteriálním systému, následnou purifikací těchto rekombinantních proteinů a ověřením predikovaných enzymových aktivit, které ukážou jejich možnou úlohu v metabolismu sírných aminokyselin u *C. elegans*.

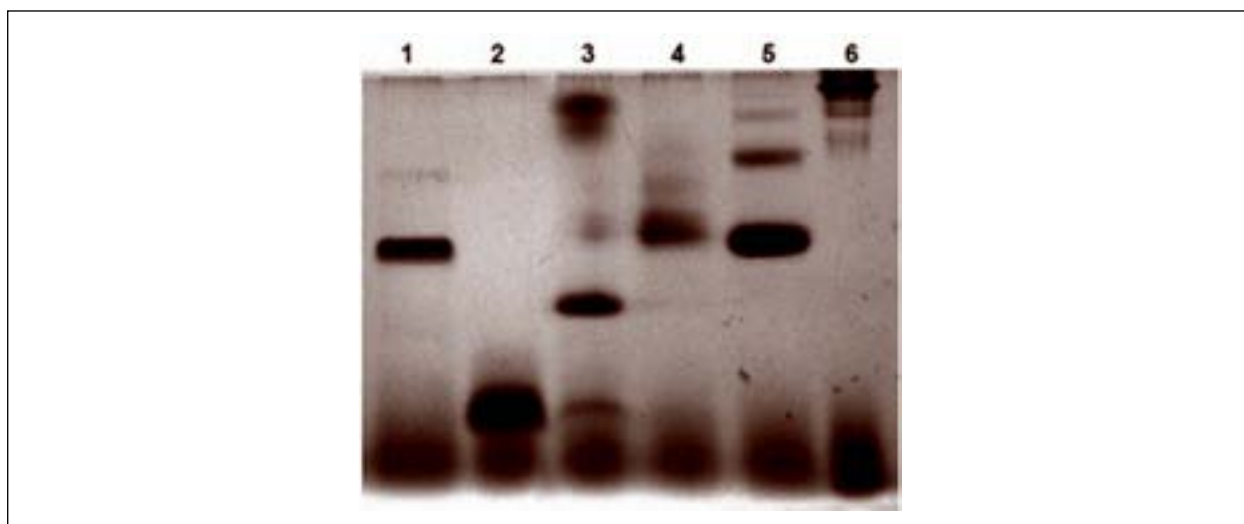
Cílem této práce bylo najít vhodné podmínky pro expresi a purifikaci rekombinantní *C. elegans* cysteinsynthasy (rCeCS) v prokaryotním systému a následně charakterizovat strukturní a enzymatické vlastnosti rCeCS, zejména molekulovou hmotnost, sekundární strukturu pomocí cirkulárního dichroismu, kvarterní strukturu pomocí nativní elektroforézy, substrátovou specifitu a kinetické vlastnosti pro nejdůležitější reakce.

Podařilo se nám připravit expresní vektor produkující rCeCS ve fúzi s GST. Tento fúzní protein jsme exprimovali v hostitelských bakteriálních buňkách *E. coli* DH5 $\alpha$  po dobu 24 hodin při 18 °C. K purifikaci rCeCS jsme použili Sepharosu s imobilizovaným glutathionem ve vsádkovém uspořádání. K oddělení rCeCS od GST jsme použili proteasu preScission. Ze 2 litrů buněčného média jsme získali 2 mg rCeCS asi v 95% čistotě (Obr. 2).

Hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF jsme ověřili identitu purifikované rCeCS metodou peptidového mapování a stanovili její molekulovou hmotnost na 37,2 kDa (predikovaná je 37,1 kDa). Pomocí nativní elektroforézy „Blue Native“ v polyakrylamidovém gelu jsme porovnáním relativních mobilit proteinů o známé molekulové hmotnosti určili hmotnost oligomerní struktury rCeCS asi na 70 kDa (Obr. 3); tato data jsou ve velmi dobrém souladu s predikovanou hmotností dimeru 74,2 kDa.. Na dimeřizaci se nepodílejí disulfidové můstky, protože všechny cysteiny v rCeCS jsou redukovány.



**Obrázek 2.** Purifikační kroky z pilotní purifikace na denaturačním 9% polyakrylamidovém gelu obarveným Coomassie brilliantovou modří: **1.** marker Blue Ranger Prestained **2.** hrubý lyzát, **3.** nenavázaná frakce, **4.** první promývací krok, **5.** třetí promývací krok, **6.** eluát - 1. frakce (GST-rCeCS), **7.** eluát - 2. frakce (GST-rCeCS), **8.** přečištěná rCeCS, **9.** eluát po odštěpení rCeCS (GST + proteasa preScission), **10.** marker Precision Plus Protein Dual Color Standards



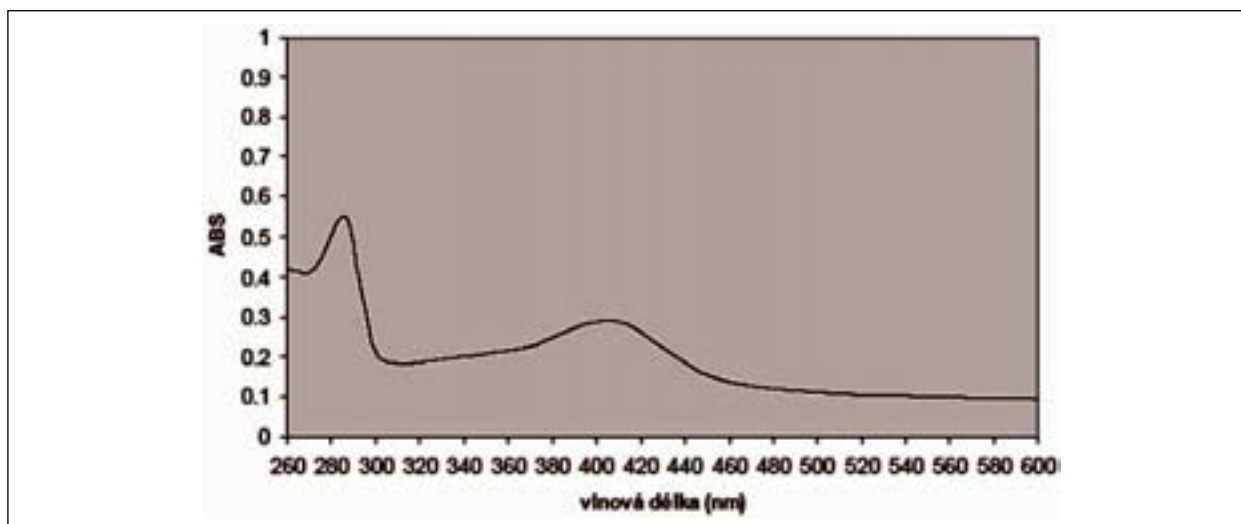
**Obrázek 3.** BN PAGE na 7,5% polyakrylamidovém gelu: Na jednu dráhu bylo aplikováno 15  $\mu\text{g}$  celkového proteinu. **1.** rCeCS, **2.**  $\alpha$ -Lactalbumin (14,2 kDa), **3.** Anhydrasa kyseliny uhličitě (29 kDa), **4.** Ovalbumin (90 kDa), **5.** Hovězí sérový albumin (66 a 132 kDa), **6.** Ureasa (272 a 545 kDa)

Absorpční UV/VIS spektrum rCeCS ukazuje dvě maxima při vlnové délce 286 nm a 408 nm v poměru 1 : 0,25, typické pro enzymy obsahující pyridoxal-5'-fosfát (Obr. 4). Z CD spektra měřeného v daleké UV oblasti jsme zaznamenali maxima u 220 a 209 nm, která jsou charakteristická pro přítomnost  $\alpha$ -helikálního uspořádání peptidového řetězce. Z výsledných hodnot naměřeného spektra odhadujeme 30% obsah  $\alpha$ -helixů v rCeCS. Určení obsahu  $\beta$ -struktury v rCeCS je z naměřeného CD spektra nemožná.

Nejdůležitějším výsledkem je potvrzení skutečnosti, že rCeCS má cysteinsynthasovou aktivitu. Při stanovení substrátové specifity rCeCS jsme vycházeli ze znalostí alternativních reakcí cystathionin- $\beta$ -synthasy, která vykazuje vysokou konzervovanost katalytické domény s CS. Výsledné aktivity jsme porovnávali s CBS aktivní jádro. Studovali jsme celkem 6 reakcí (Tab. 1), které jsme analysovali oběma směry. Reakce jsme vyhodnotili pomocí HPTLC desky s ninhydrinovou detekcí. Enzymovou aktivitu rCeCS jsme zjistili jen u jedné studované reakce a to: O-acetyl-serin + sulfid  $\rightarrow$  cystein + acetát.

Přečištěná rCeCS vykazuje hodnotu  $K_M$   $5,54 \pm 0,66$  mmol/l pro sulfid a  $4,23 \pm 1,15$  mmol/l pro O-acetyl-L-serin. Hodnota molární aktivity enzymu ( $k_{cat}$ ) je  $137 \pm 13$  s $^{-1}$ .

Zjištěné kinetické parametry u rCeCS jsme porovnali s jinými enzymy jevícími cysteinsynthasovou aktivitu (tab. 2). Hodnota  $K_M$  pro O-acetyl-L-serin je srovnatelná s jinými porovnanými hodnotami, zatímco pro sulfid je podobná jen cystathionin- $\beta$ -synthase u *Trypanosoma cruzi*. U rostlinných a bakteriálních CS je hodnota  $K_M$  pro sulfid podstatně vyšší a lze se proto domnívat, že CS (gen C17G1.7) u *C. elegans* hraje svou roli především v přítomnosti vysoké koncentrace sulfidu. Hodnota  $k_{cat}$  nedosa-



**Obrázek 4.** Absorpční spektrum izolované rCeCS v ultrafialové a viditelné oblasti měřené na spektrofotometru Unicam UV2-100: Koncentrace proteinu byla 1 mg/ml v pufru obsahující 50mM Tris-HCl, pH 7,0, 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1mM DTT.

| reakce | substrát 1     | + | substrát 2       | ↔ | produkt 1             | + | produkt 2 |
|--------|----------------|---|------------------|---|-----------------------|---|-----------|
| 1      | O-Acetyl-Serin | + | Sulfid           | ↔ | Cystein               | + | Acetát    |
| 2      | O-Acetyl-Serin | + | Homocystein      | ↔ | Cystathionin          | + | Acetát    |
| 3      | Serin          | + | Sulfid           | ↔ | Cystein               | + | voda      |
| 4      | Serin          | + | Homocystein      | ↔ | Cystathionin          | + | voda      |
| 5      | Homoserin      | + | Sulfid           | ↔ | Homocystein           | + | voda      |
| 6      | Cystein        | + | β-merkптоethanol | ↔ | S-hydroxyethylcystein | + | Sulfan    |

**Tabulka 1.** Seznam reakcí, u kterých jsme stanovovali možnou enzymovou aktivitu rCeCS.

| Evoluční úroveň | Enzym (reference)                        | $K_M$ pro OAS (mM) | $K_M$ pro sulfid (mM) | $k_{cat}$ ( $s^{-1}$ ) |
|-----------------|--|--------------------|-----------------------|------------------------|
| Archebakterie   | <i>Aeropyrum pernix</i> CS [58]          | 28,0               | < 0,200               | 202                    |
| Bakterie        | <i>Escherichia coli</i> CS [59]          | 4,8                | 0,006                 | 2030                   |
|                 | <i>Thermus thermophilus</i> CS [60]      | 4,8                | 0,050                 | 493                    |
| Rostliny        | <i>Arabidopsis thaliana</i> CS [52]      | 1,4                | 0,220                 | 2170                   |
|                 | <i>Spinach oleraceae</i> CS [61]         | 1,3                | 0,250                 |                        |
| Kvasinky        | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CBS [62] | 1,3                | 16,600                | 19                     |
| Prvoci          | <i>Trypanosoma cruzi</i> CBS [24]        | 4,9                | 4,100                 | 13                     |
| <b>Hlísti</b>   | <b><i>Caenorhabditis elegans</i> CS</b>  | <b>5,5</b>         | <b>4,230</b>          | <b>137</b>             |

$K_M$  – Michaelisova konstanta,  $k_{cat}$  – molární aktivita enzymu, OAS – O-acetyl-L-serin, CS – cysteinsynthasa, CBS – cystathionin-β-synthasa

**Tabulka 2.** Porovnání kinetických parametrů reakce O-acetyl-L-serin + sulfid → cystein + acetát CS u *C. elegans* s jinými CS a CBS. OAS značí O-acetyl-L-serin

huje tak vysokých hodnot jako u cysteinsynthas u bakterií či rostlin, ale je vyšší než  $k_{cat}$  cystathionin-β-synthas u *T. cruzi* a *S. cerevisiae*; u *S. cerevisiae* se navíc cysteinsynthasová aktivita neprokázala *in vivo*.

Skutečnost, že v genomu *C. elegans* byly identifikovány i geny pro CBS naznačuje, že háďátka by mohlo využívat k produkci cysteinu především transsulfurační dráhu, kterou v přítomnosti vysoké koncentrace sulfidu doplní asimilační dráha. Touto cestou by se mohlo háďátka *C. elegans* v případě potřeby zbavit přebytečných sulfidových aniontů. Stanovení cysteinsynthasové aktivity proteinu exprimovaného u *C. elegans* znamená, že se jedná o první potvrzenou cysteinsynthasovou aktivitu u mnohobuněčného živočicha.



### 3. MÍSTO

#### THE ROLE OF SHREW-1 GENE IN HUMAN GLIOBLASTOMA MULTIFORME CELLS

**Authors:** Nikol Mládková, 5. roč.

**Supervisor:** David Cory Adamson, Molecular Neuro-Oncology Laboratory, Duke University Medical Center



**Objective:** I performed series of experiments to monitor change in proliferation, migration and adhesion in human glioblastoma multiforme (GBM) cell lines due to SHREW-1 gene knock-down.

**Introduction:** Tumors of the central nervous system are the second commonest tumors in children and the sixth commonest in adults. GBM accounts for 30% of all primary tumors in adults. Survival is usually less than a year. Shrew-1 is a novel membrane protein involved in adherens junctions. It is not expressed in about 20% of human glioblastoma multiforme tumors. The suppression of the gene may change clinically relevant cell behavior.

**Methods:** SHREW-1 was knocked down in U-251 cell line using RNA interference and confirmed by cDNA synthesis and PCR. Proliferation was measured using MTT Proliferation Assay in five-day time course, cell migration was measured using Wound Assay and Transwell Migration Assay toward Growth Factor in six- and twelve-hour time course, cell adhesion was measured on laminin coated wells.

**Results:** The proliferation rate of U-251 cell line was lower in SHREW-1 knock-down (KD) cells compared to control. The average proliferation ratio of control cells compared with KD cells is 1,56× higher in five-days time course. The transwell migration study showed 1,83× higher average ratio of cell migration after 6 hours in KD cells compared to control. In 12 hours, the average ratio of cell migration would be 1,23× higher in KD cells compared to control. The Wound Assay showed that KD cells do not heal within 48 hours while control cells fully healed at this time point. The adhesion to laminin of KD cells is 1,23× higher compared to control.

**Conclusions:** Shrew-1 loss decreases proliferation of U-251 cells, it enhances migration in transwells, however it decreases migration in Wound Assay, probably due to loss of cell polarity and possibly change in proliferation. It also changes the adhesion of the cells to extracellular matrix protein – the KD cells are more prone to adhere to laminin coated wells.



*Nikol Mládková obsadila 3. místo v sekci pregraduální teoretické. Děkan fakulty předává cenu a blahopřeje.*



*Krásné 2. místo pro Romana Vozdka v sekci pregraduální teoretické.*



*Iva Ullmanová zvítězila v sekci pregraduální klinické.*

V

B  
GH

G



# SEKCE PREGRADUÁLNÍ KLINICKÁ VÍTEŽNÉ PRÁCE

1. místo: **Iva Ullmanová, 5. r.** – Sanatorium Pronatal, Praha  
Školitel: doc. MUDr. Tonko Mardešić, CSc.  
Název práce: „Výskyt aneuploidních embryí v souvislosti s věkem matky“

2. místo: **Bc. Zdeněk Telička, 2. r.** – III. interní klinika 1. LF UK a VFN  
Školitel: MUDr. Jan Jiskra, Ph.D.  
Název práce: „Přínos databázových aplikací v klinickém výzkumu“

3. místo: **Michal Vojta, 5. r.** – Ústav hygieny a epidemiologie, 1. LF UK a VFN  
Školitel: MUDr. Eva Králíková, CSc.  
Název práce: „Linka pro odvykání kouření - významná součást nabídky léčby závislosti na tabáku“

## 1. MÍSTO

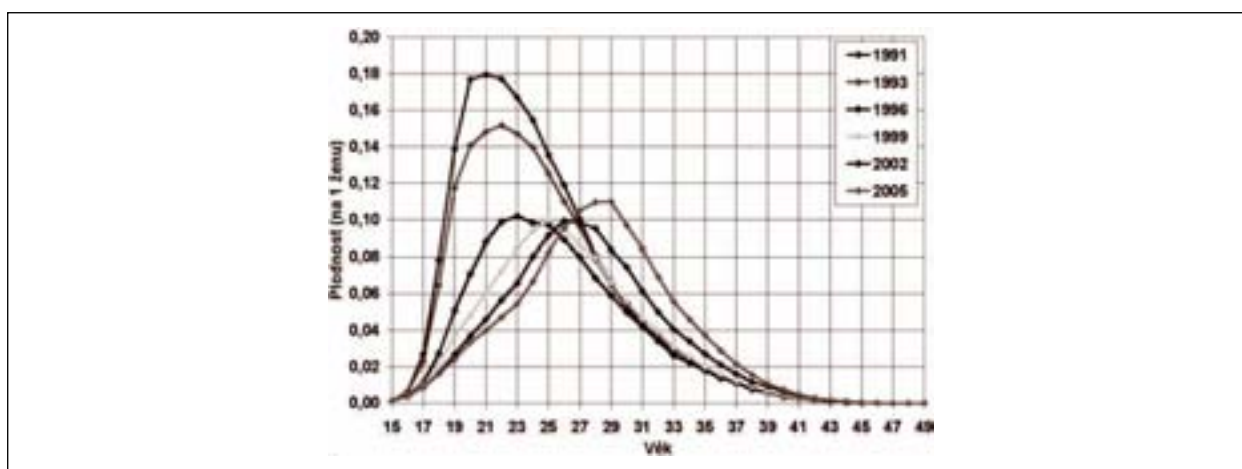
## VÝSKYT ANEUPOIDNÍCH EMBRYÍ V SOUVISLOSTI S VĚKEM MATKY

**Autoři:** I. Ullmanová, D. Hlinka, D. Zudová, T. Mardešić  
**Školitel:** doc. MUDr. Tonko Mardešić, CSc., Sanatorium Pronatal, Praha

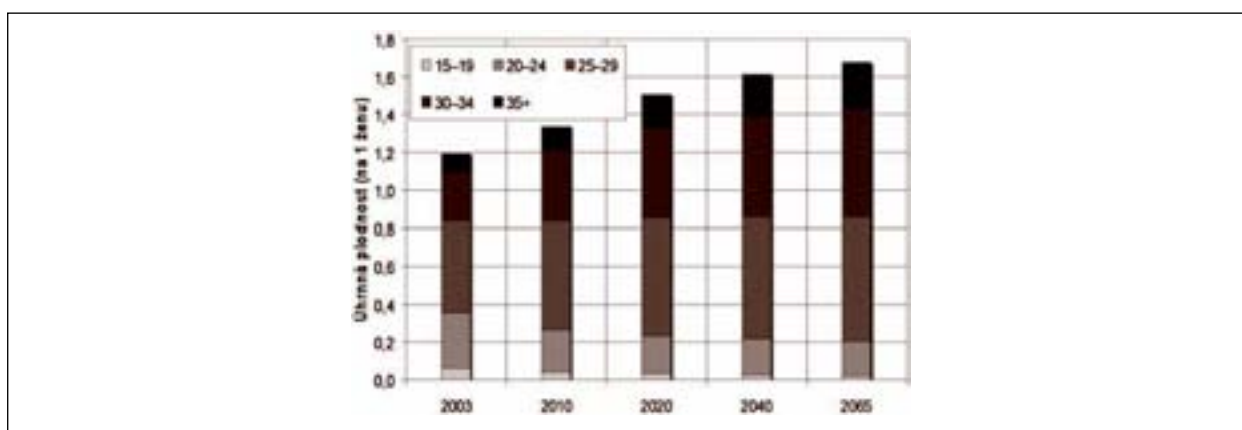


Problematika poruch reprodukce je v současné době jedna z velice diskutovaných kapitol nejen v oblasti reprodukční medicíny, ale také v oblasti populační politiky. Její význam narůstá především s poklesem úhrnné plodnosti, odkladem těhotenství do vyššího věku matky a se stárnutím populace. Vyšší věk matky je patrně nejvýznamnějším faktorem, který ovlivňuje lidskou plodnost, neboť je příčinou progresivního poklesu reprodukčního potenciálu ženy.

Z hlediska populačního vývoje došlo v České republice v 90. letech k přechodu od modelu „časné plodnosti“ k modelu „pozdní plodnosti“ (odkladem těhotenství) (obr. 1) (Burcin, Kučera 2003, Kocourková 2002). V první fázi došlo k poklesu plodnosti ve všech věkových kategoriích, ve druhé fázi pak zaznamenáváme pokles plodnosti ve věkové skupině 20-24 let a postupný nárůst ve věkové skupině 25-30 a 30-35 let. Prognózu budoucího vývoje zachycuje studie „Perspektivy populačního vývoje České republiky na období 2003-2065.“ (Burcin a Kučera 2003). (obr. 2.) Budoucí vývoj směřuje k nárůstu plodnosti žen věkové skupiny 30 let a výše a odkladu těhotenství do vyšších věkových kategorií.



**Obrázek 1.** Vývoj rozložení plodnosti v ČR podle věku matky mezi roky (Zdroj: ČSÚ – Zpráva o rodičce rok 1995–2006)

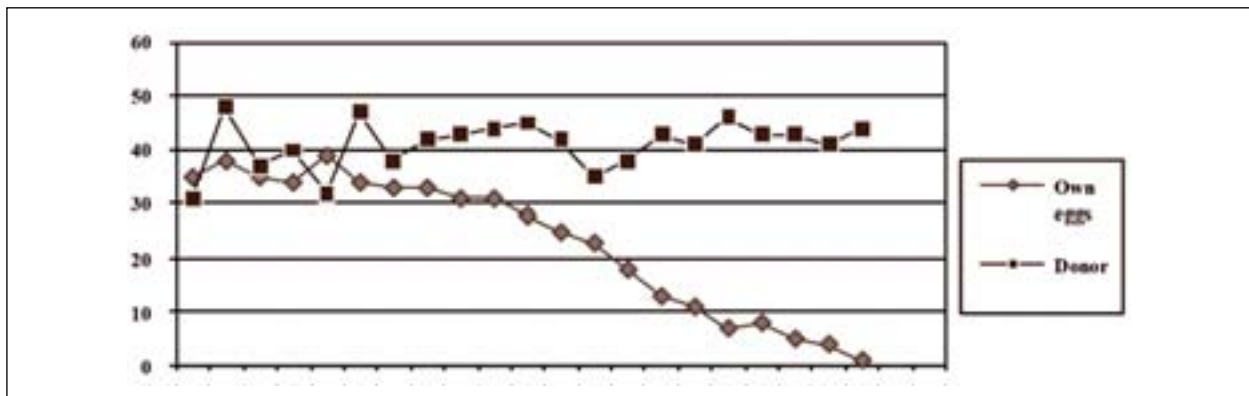


**Obrázek 2.** Očekávaný vývoj úhrnné plodnosti a její struktury podle věku matky mezi roky 2003 a 206 (Zdroj: Burcin, Kučera. Perspektivy populačního vývoje České republiky na období 2003–2065)

Jsou tato data znepokojující? Je dobře známou skutečností, že věk ženy je rozhodujícím faktorem pravděpodobnosti úspěšného otěhotnění i úspěšnosti léčby neplodnosti. (Fong et al., 2004, Eshre, 2003, Munné et al., 2007) S rostoucím věkem ženy naděje na otěhotnění klesá. Zvyšuje se riziko (geneticky podmíněného) abortu, ať už spontánního, či indikovaného, zvyšuje se riziko koncepce plodu s chromozomálně podmíněnou vrozenou vadou, dochází k poruchám implantace a rýhování embrya. (Pellicer et al., 1999, Munné et al., 2006) Současná demografická situace a problémy s neplodností daly podklad pro extenzivní rozvoj metod asistované reprodukce a použití techniky dárcovství oocytů. Ze současných výzkumů vyplývá, že reprodukční schopnost žen, kterým byly implantovány dárcovské oplodněné oocyty, neklesá. (obr. 3) Domníváme se tudíž, že nižší repro-



dukční potenciál souvisí s vyšším zastoupením chromozomálně abnormálních embryí u matek vyššího věku. Cílem mého projektu bylo ozřejmení frekvence výskytu aneuploidních embryí ve vztahu k věku ženy.



**Obrázek 3.** Srovnání úspěšnosti mimotělního oplodnění při použití vlastních vs. dárcovských oocytů (Zdroj: ART succes rates. US departement of Health and Human services, CDC, 1999)

**METODA PRÁCE**

Hodnotila jsem výsledky screeningu chromozomálních aneuploidií prováděných na preimplantačních embryích (PGS- preimplantation genetic screening) prováděného jako součást léčby neplodnosti metodou mimotělního oplodnění (IVF). Biopsie blastomery byla provedena u 8 buněčných embryí (po 72 hodinách od oplození) a po zafixování buněčného jádra byl preparát předán do genetické laboratoře k vyhodnocení genetické výbavy embrya metodou FISH (Fluorescence In Situ Hybridization). Používány byly DNA sondy firmy Vysis a byly sledovány chromozomy 13,15,16,18,21,22, X a Y, kterými lze zachytit 85% všech aneuploidií detekovaných komparativní genomovou hybridizací. Euploidní embrya byla po 120 hodinách od oplození ve stadiu blastocyst přenesena zpět do dělohy. Kromě pacientek se známou chromozomální odchylkou (translokace – 32 párů), bylo do souboru zařazeno dalších 281 žen, které byly indikovány k vyšetření pro vyšší věk matky, opakované aborty, předchozí aneuploidní koncepci, či dárcovství oocytů. Ze 1720 vyšetřovaných embryí bylo úspěšně diagnostikováno celkem 1690 embryí. Pacientky byly rozděleny do 4 skupin podle věku: skupina A (≥ 40 let), skupina B (35-39 let), skupina C (<35 let, kde však byla genetická indikace pro PGS) a referenční skupinu D představovaly mladé fertillní dárcyně oocytů do 35 let.

Pro vyhodnocení statistických údajů byl použit software Statistica 6.0. Pro získaná data byl spočítán průměr, směrodatná odchylka, medián, minimum, maximum a 1. a 3. kvartil.

**VÝSLEDKY**

Ze 1690 analyzovaných embryí bylo 667 euploidních (39,47%), zbylých 1023 embryí bylo aneuploidních (60,24%). Pro přenos byla vyčleněna maximálně dvě embrya, případná další nadpočetná euploidní embrya byla kryokonzervována. U 47 žen byla všechna embrya aneuploidní (16,72%) a embryotransfer nebyl proveden.

Celkově nacházíme vyšší zastoupení aneuploidních 1023 (60,5%) než euploidních embryí 667 (39,5%). Procentuální zastoupení aneuploidních embryí je v každé věkové skupině vyšší než zastoupení euploidních embryí. (Tab. 1) Ve skupině A (≥ 40 let) bylo analyzováno celkem 413 embryí, euploidních bylo 135 (32,69%). Ve skupině B (35-39 let) bylo analyzováno 481 embryí, nichž 197 (40,96%) bylo euploidních a ve skupině C bylo geneticky kompetentních 177 (38,56%) z celkového počtu 459 embryí. V referenční skupině D bylo po analýze 337 embryí nalezeno 158 (46,88%) geneticky normálních embryí.

S věkem pozorujeme nejen signifikantní nárůst podílu abnormální chromozomální výbavy embryí, ale také pokles celkového počtu odebraných a oplodněných oocytů a pokles euploidních oocytů. Poměrně vysoké zastoupení aneuploidních embryí nacházíme ve věkové skupině do 35 let. Dokumentuje to fakt, že aneuploidie genetické informace plodu je podkladem patologických stavů, pro které byla tato skupina indikována k vyšetření PGS.

| věková skupina | procentuální zastoupení aneuploidních/euploidních embryí z celkového počtu |                 | průměrný počet aneuploidních/euploidních embryí v IVF cyklu |               |        |
|----------------|--|-----------------|---|---------------|--------|
|                | % euploidních  | % aneuploidních | euploidních   | aneuploidních | celkem |
| OD             | 46,90%   | 53%             | 2,9   | 3,4           | 6,4    |
| <35            | 38,60%   | 61%             | 2,9   | 4,7           | 7,7    |
| 35-39          | 41%  | 59%             | 2,3   | 3,4           | 5,7    |
| >40            | 32,70%   | 67%             | 1,6   | 3,3           | 4,9    |

**Tabulka 1.** Souvislost euploidity / aneuploidity embryí s věkem ženy



Pro asymetrické rozložení zastoupení embryí jednotlivých charakteristik jsme použili zobrazení pomocí kategorizovaného krabicového grafu. V každé věkové skupině se vyskytují pacientky, jejichž všechna embrya jsou geneticky abnormální, tudíž netransferovatelná, stejně tak v každé věkové skupině nacházíme pacientky, jejichž všechna embrya jsou euploidní. Z charakteristiky mezikvartilového rozpětí vyplývá, že signifikantně nižší počet euploidních embryí nacházíme ve skupině 35- 40 let (p value – 0.05) a ve skupině 40 a více let (p value – 0.001).

### ZÁVĚR

Demografické studie poukazují na současný trend odkladu těhotenství do pozdějšího reprodukčního věku. Zvýšené riziko poruch fertility přičítáme procesu stárnutí ovarií. Jak se ukázalo, problém spočívá zejména v kvalitě oocytů samotných. Věk ženy je významným faktorem, který ovlivňuje procentuální zastoupení euploidních embryí. Rozhodne-li se žena pro těhotenství v pokročilém reprodukčním věku (nad 35 let), musí se smířit se všemi reprodukčními riziky, která vyplývají ze snižující se kvality jejích oocytů. Taktéž nižší reprodukční potenciál má žena, která ačkoliv ještě nedosáhla 35 roku věku, má ve své gynekologické anamnéze spontánními aborty, porod aneuploidního plodu či opakovaně neúspěšné přenosy embryí v programu mimotělního oplodnění. Pokles plodnosti žen je zjevně jen vnějším projevem stoupajícího počtu geneticky abnormálních vajíček.

Nízkou efektivitu lidské reprodukce dokumentuje nález vysokého zastoupení chromozomálně abnormálních embryí z darovaných oocytů od mladých dárek s neporušenou fertilitou. Nicméně tato skupina produkuje dostatečné množství genetiky normálních oocytů, aby mohlo dojít k úspěšné koncepci.

### LITERATURA:

- Bielanska M, Jin S, Bernier M et al. 2005 Diploid-aneuploid mosaicism in human embryos cultured to the blastocyst stage. *Fertility and Sterility* 84, 336–342
- Burcin, Boris; Kučera, Tomáš. *Perspektivy populačního vývoje České republiky na období 2003-2065*. 1. dop.vydání. Praha : DemoArt, 2004. 50 s. ISBN 80-86746-01-1
- ESHRE Capri Workshop Group, *Fertility and ageing, Human Reproduction Update, Vol.11, No.3 pp. 261–276, 2005*
- Fong S, McGovern P. Jaký vliv na plodnost má věk? *Gynekologie po promoci* 2004;07/08:14–19
- Gianaroli L, Magli C, Fiorentino F et al. 2003 Clinical value of preimplantation genetic diagnosis. *Placenta* 24, S77–S83
- Hrehorčák M.: Lze v případě stárnutí ovarií mluvit o normě?, *Gynekologie po promoci*, 2005, č.4, str. 28
- Kocourková, J.: Má populační politika v České republice perspektivu? *Centrum pro ekonomiku a politiku, Praha 2002, ISSN 1213-3299*
- Magli MC, Jones GM, Gras L et al. 2000 Chromosome mosaicism in day 3 aneuploid embryos that develop to morphologically normal blastocysts in vitro. Vol 12. No 2. 2006 234-253 *Reproductive BioMedicine Online*
- Munné S, Serena C, Colls P, Garrisi J, Zheng X, Cekleniak N, Lenzi M, Hughes P2, Fischer J, Garrisi M, Tomkin G, Cohen J (2007) Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos. *Reproductive Biomedicine Online* 14:628-634
- Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J (1995) Embryo morphology, developmental rates and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil.Steril.*, 64:382391
- Munné S, Sandalinas M, Magli C et al. 2004b Increased rate of aneuploid embryos in young women with previous aneuploid conceptions. *Prenatal Diagnosis* 24, 638–647
- Munne S: Wide range of chromosome abnormalities in the embryos of young egg donors, *Reproductive BioMedicine Online*; [www.rbmonline.com/Article/2050](http://www.rbmonline.com/Article/2050) on web 12 January 2006
- Pellicer A, Rubio C, Vidal F, et al. In vitro fertilization plus preimplantation genetic diagnosis in patients with recurrent miscarriage: an analysis of chromosome abnormalities in human preimplantation embryos. *Fertil Steril.* 1999;71:1033–1039.

## 2. MÍSTO

### PŘÍNOS DATABÁZOVÝCH APLIKACÍ V KLINICKÉM VÝZKUMU

**Autoři:** Bc. Zdeněk Telička, 2. roč., Jan Blažiček, SOŠ a SOU Praha-Hostivař  
**Školitel:** MUDr. Jan Jiskra, PhD., III. interní klinika 1. LF UK a VFN



Snad každé klinické pracoviště v současné době řeší možnosti sběru a ukládání dat pro výzkumné účely. Lékařské zprávy v nemocničních informačních systémech (NIS) často neobsahují detailní informace o vyšetřeních pacienta. Proto si lékaři zaznamenávají strukturovaná data do vlastních tabulek již během vyšetření. Nevýhodou tohoto řešení je vysoká časová náročnost a složitost práce s daty z nesourodých zdrojů. Tabulkové procesory jsou vhodné pro sběr dat malého rozsahu, mají omezené schopnosti pro jejich sdílení mezi více uživateli a neobsahují kvalitní zabezpečení pro přístup k datům. Z těchto důvodů jsme začali na 3. interní klinice 1. LF UK a VFN v Praze vyvíjet databázovou aplikaci, která by usnadnila nejen sběr dat, ale i zpracování pro statistické analýzy, apod. Zároveň vyvíjíme webovou aplikaci, jejímž cílem je podpora spolupráce lékařů na projektech, které probíhají mezi různými pracovišti z celé republiky. V systému je možné objednávat pacienty na vyšetření pro výzkumné účely nebo odesílat výsledky, apod.

### POUŽITÉ TECHNOLOGIE

Snažili jsme se využít technologie a aplikace dostupné ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze. Databáze je vyvíjena na Microsoft SQL serveru, který je umístěn na úseku informatiky. To nám dovoluje zabezpečit databázi autentizací (ověření identity uživatele) a autorizací (ověření přístupových práv). Uživatelské prostředí je naprogramováno ve Visual Basic for Applications na platformě Microsoft Access. Díky tomu je vývoj finančně nenáročný a práce s aplikací je snadná. Webová aplikace pro spolupráci lékařů je programována v jazyce PHP a používá databázi MySQL.

### ŘEŠENÍ

Aplikace dovoluje lékařům zaznamenávat strukturované údaje již během vyšetření pacientů (klinických, obrazovými metodami, apod.). Aby její používání nekladlo zvýšené časové nároky na práci lékařů, ze strukturovaných dat je automaticky generována textová zpráva, která je téměř k nerozeznání od zprávy, kterou lékaři píšou do NIS ručně. Na obrázku č. 1 je ukázka modulu pro sonografické vyšetření štítné žlázy. V dolní části obrázku se nachází vygenerovaná zpráva odpovídající zadaným parametřům.

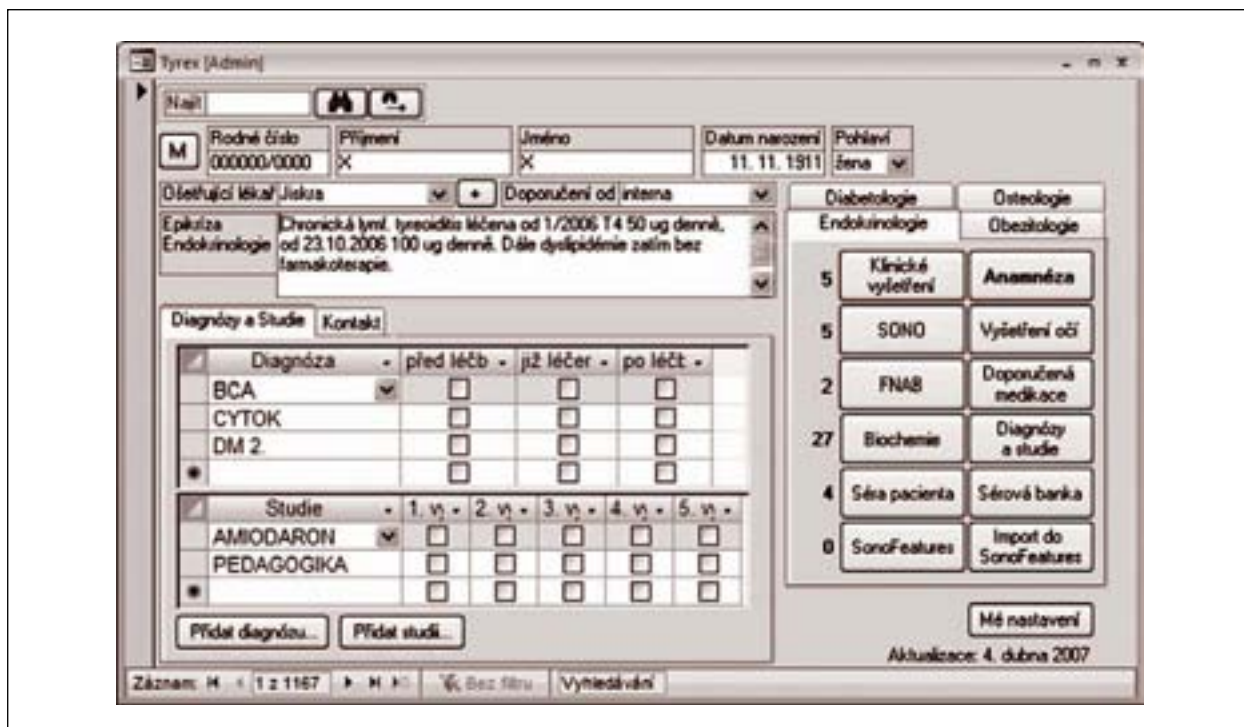
The screenshot shows a software window titled 'Sono' with a sub-tab 'Vyšetření očí'. It contains several sections for data entry:

- General:** Těden gravidity, SonoDicom checkbox, Homogenita (sílně nehomogenní), Echogenita (sílně snížená), Peřuze (mírně zvýšená).
- Dimensions:** Rozměry pravého laloku (Příčný: 40, Předozadní: 12, Podélný: 42) and Rozměry levého laloku (Příčný: 32, Předozadní: 20, Podélný: 20).
- Volumes:** Objemy (Pravý lalok: 3.5 ml, Levý lalok: 6 ml, Celá žláza: 16 ml).
- Other:** 3 rozměry laloku nad pravým a levým lalokem, Hraniční nálezy (Síťka laloku: 10, Uzlíky nezvětšované), Pohyblivost zachována.
- Diagnosis:** Lokální chronická lymfocytární tyreoiditida.
- Summary (Zpráva):** ULTRAZVUKOVÉ VYŠETŘENÍ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY. Sítná žláza je sílně nehomogenní, echogenita je sílně snížená, peřuze je mírně zvýšená, pohyblivost je omezena. Pravý lalok má velikost 40x12x42 mm, 6,35 ml. Levý lalok má velikost 32x20x20 mm, 6 ml. Síťka laloku je 10 mm. V pravém laloku štítné žlázy je přítomen anechogenní uzlík s degenerativními změnami velikosti 33x11x12 mm, s anechogenním lemem, peřuzí normální, s mikrokalifikacemi. V levém laloku štítné žlázy je...

Obrázek 1. Modul sonografického vyšetření štítné žlázy

Do aplikace jsem implementoval funkce pro pasivní komunikaci s nemocničním informačním systémem. Automaticky se v ní zobrazí nebo vytvoří identifikační údaje pacienta, jehož karta je otevřena v NIS. Do databáze je také možné volitelně importovat biochemické výsledky z laboratorního modulu NIS nebo zprávy z vyšetření (histologických, apod.). S aplikací mohou nezávisle na sobě pracovat různé výzkumné týmy a výrazně tak zvýšit efektivitu využití informací, protože mají k dispozici robustní databázi, kterou lze flexibilně upravovat podle jejich aktuálních potřeb. Na obrázku č. 2 je pohled na hlavní okno aplikace.

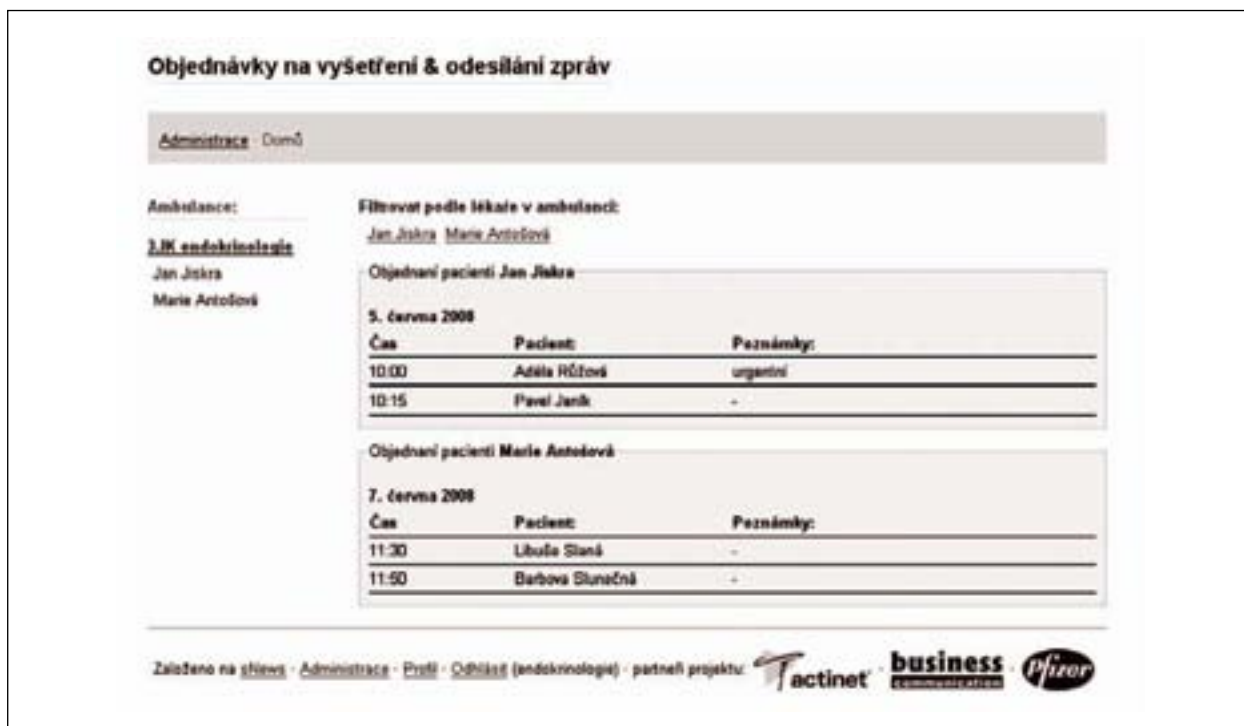
V levé dolní části okna lze přiřazovat pacienty do volitelných studií nebo diagnóz. V pravé části se klepnutím na tlačítka vstupuje do jednotlivých modulů, které odpovídají pracovištím kliniky, apod.



Obrázek 2. Hlavní okno aplikace

V současné době se aplikace používá na endokrinologickém a obezitologickém pracovišti a pro velký zájem se ve spolupráci s přednostou kliniky a ostatními lékaři připravuje rozšíření na další odborná pracoviště.

Zároveň vyvíjíme webovou aplikaci, jejímž cílem je podpora spolupráce lékařů na projektech, které probíhají mezi různými klinikami a ambulantními pracovišti z celé republiky. Do aplikace se lékaři přihlašují pomocí svých uživatelských jmen a hesel a je podporována správa více na sobě nezávislých ambulantních pracovišť a lékařů. Ambulantní lékaři mohou objednávat pacienty na vyšetření pro



Obrázek 3. Seznam objednaných pacientů ve webové aplikaci pro spolupráci lékařů

výzkumné účely v termínech, které zadávají výzkumní lékaři, odesílat výsledky, apod. Nepracuje se přitom s žádnými citlivými identifikačními údaji pacienta. Na obrázku č. 3 je ukázka okna se seznamem objednaných pacientů filtrovaných dle data a lékaře, který v daný den ordinuje.

### ZÁVĚR

Obě popisované aplikace tvoří robustní a flexibilní nástroj, který vyplňuje mezeru v nabídce systémů pro výzkumnou oblast. V současné době nemáme informace, že by se na jiných klinikách využívaly podobné systémy. Nespornou výhodou tohoto projektu je také to, že jej vyvíjí sami studenti s lékaři a komerční firmy nám poskytují pouze sponzorství. Nad aplikací a daty tak máme plnou kontrolu a nemusíme se spoléhat na placené služby, které by byly vzhledem k rozsáhlosti projektu finančně nereálné.



Druhé místo v sekci pregraduální klinické získal Bc. Zdeněk Telička.



### 3. MÍSTO

#### LINKA PRO ODVYKÁNÍ KOUŘENÍ – VÝZNAMNÁ SOUČÁST NABÍDKY LÉČBY ZÁVISLOSTI NA TABÁKU

**Autor:** Michal Vojta, 5. r., Ústav hygieny a epidemiologie, 1. LF UK a VFN  
**Školitel:** MUDr. Eva Králíková, CSc.



#### KOUŘENÍ TABÁKOVÝCH VÝROBKŮ

- Užívání tabáku je stále **největší preventabilní příčinou úmrtí celosvětově i v České republice**
- V ČR umírá každý rok na následky kouření 18 000 lidí, na pasivní kouření 3000 za rok
- 5 mil. celosvětově
- WHO – tabákové epeidemie – v roce 2020 je předpokládáno 10 mil. úmrtí
- Závoslost na tabáku je nemoc – diagnóza F17
- Léčba fyzických příznaků závislosti + psychoterapie
- NRT, bupropion, vereniclin

#### LINKA PRO ODVYKÁNÍ KOUŘENÍ

- Standardní součástí komplexní kontroly tabáku ve vyspělých zemích (FTC)
- **Dostupnost** pro široké spektrum klientů
- **Anonymnost** odstarňuje psychologické zábrany
- V ČR založena v roce 2005 jako součást širšího projektu Centra léčby závislosti na tabáku
- za místní hovorné z celé ČR, 12–20 h každý pracovní den
- Cílová skupina:
  - kuřáci rozhodující se přestat s nedostatkem informací – *hledající motivaci a podporu po předchozích neúspěšných pokusech*
  - konkrétní dotazy spojené s problémy s odvykáním kouření – *abst. příznaky, přibývání na váze, pasivní kouření, legislativa*
- Konzultanti – vyškolení studenti medicíny v 3.–6. ročníku
- Provozuje internetovou poradnu
- Je součástí Evropské asociace linek pro odvykání kouření (ENQ)

#### METODIKA

- Data jsou od počátku roku 2005 zaznamenávána při každém hovoru do strukturovaného dotazníku (26 hlavních položek) na počítači
- Exportní program převádí data do formátu .TXT, .XLS, .DBF
- Linka je anonymní
- **Získáváme**
  - Základní demografická data
  - Diagnostické a terapeutické údaje z kuřácké anamnézy
  - Údaje o průběhu rozhovoru
- **Data využíváme**
  - vlastní evaluace
  - přesné údaje o provozu linky
  - publikace
- Zneužití linky je monitorováno (cca 4 %), ale do hodnocení není zahrnováno

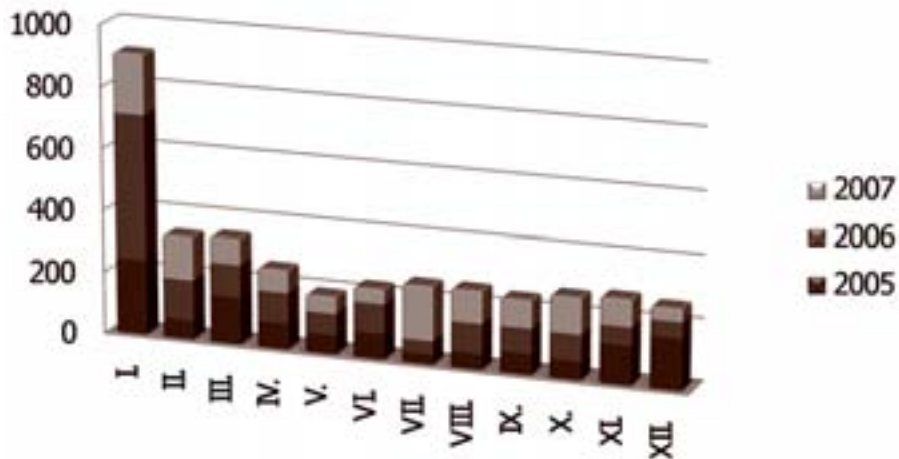
#### CHARAKTERISTIKA SOUBORU

- Od 4. 1. 2005 do 30. 4. 2008 vyhodnoceno **5 242 hovorů**
- Poměr řeny / muži 50 : 50
- Typickým klientem linky je
  - Kuřák cigaret, který si zapálí první cigaretu do půl hodiny od probuzení
  - Věk okolo 50 let
  - Rozhodnutí přestat nejdéle do 1 měsíce ze zdravotních důvodů
  - Hledají informace a podporu

#### ZÁVĚR

- Linka pro odvykání kouření se stala se stala funkční součástí systému léčby závislosti tabáku
- Slouží jako významný informační zdroj, především pro silně závislé klienty-kuřáky, ale také pro odbornou veřejnost
- Je důležitým médiem pro záchyt těhotných, které mají málo možností běžnými způsoby vyhledat pomoc
- Ve spolupráci s Ústavem hygieny a epidemiologie a Referenčním centrem léčby závislosti na tabáku při III. interní klinice 1. LF UK a VFN (pravidelná praxe konzultantů, odborné zázemí) přispívá ke vzdělávání budoucích lékařů v léčbě závislosti na tabáku, díky které mohou být zachráněny tisíce životů v ČR ročně.

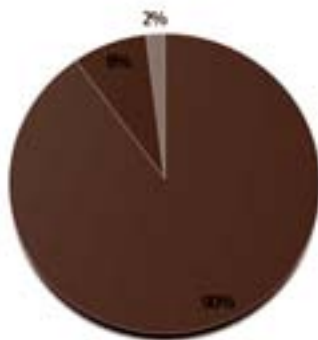
HOVORY



DŮVOD VOLÁNÍ

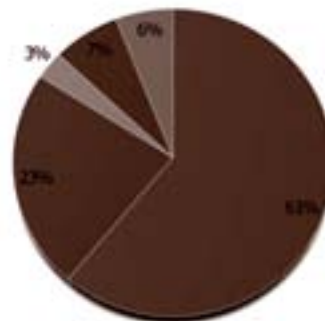
Důvod volání (n = 3424)

• info pro sebe • info pro druhé • info pracovní



Poskytnuté informace (n = 2534)

• konzultace • odkazy • obecné info  
• specifické info • jiné info

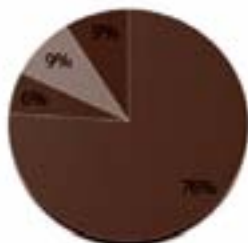




### CHARAKTERISTIKA KUŘÁKA

Kuřácký status (n = 3532)

kuřák omezuje kouření bývalý kuřák nekuřák



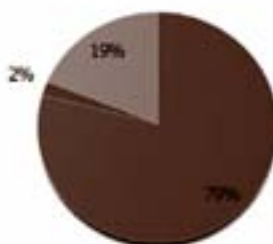
Druh tabákového výrobku (n = 2348)

cigarety doutníky dýmka bezdýmý tabák



Cigarety (n = 2348)

každý den příležitostně ne



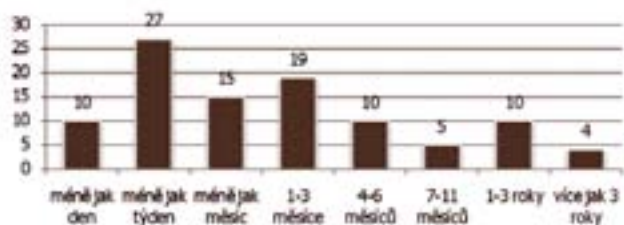
### ZÁVISLOST

Jak brzy si po probuzení zapálíte (n = 1258)

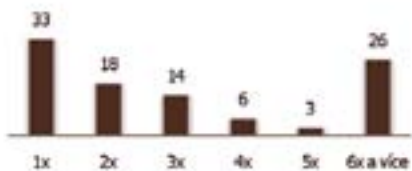
do 5 minut do 30 minut do hodiny více jak 1 hodina



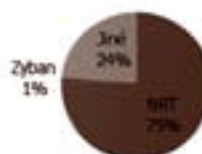
Jak dlouho nejdéle bez cigarety (n = 1399)



Kolikrát pokus přestat (n = 1391)



Druhy použité metody (n = 1211)

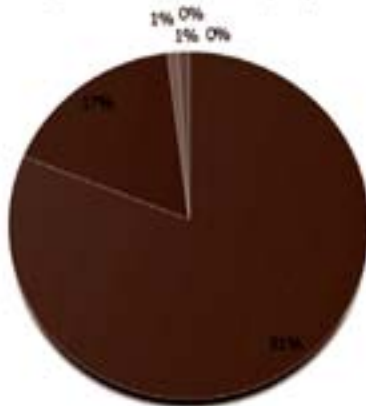




MOTIVACE

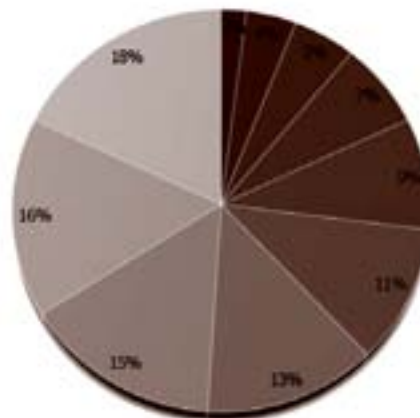
Rozhodnutí přestat (n = 2299)

- plánuje přestat kouřit
- odykú kouření
- snížit spotřebu
- přechodně přestat kouřit
- kouřit jen náhodně TV
- zatím neplánuje



Jak moc přestat (n = 970)

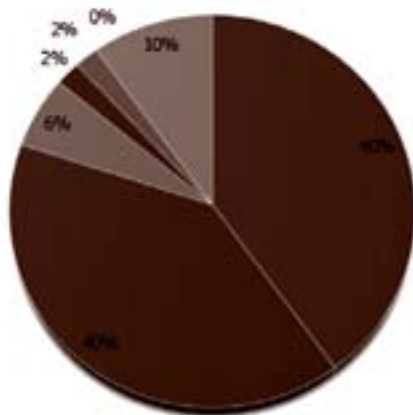
- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10



MOTIVACE II

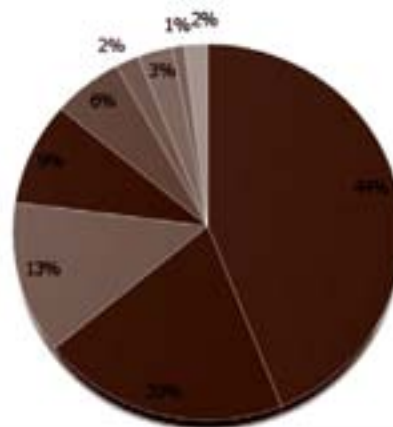
Kdy chce přestat (n = 973)

- méně jak týden
- méně jak měsíc
- méně jak 3 měsíce
- méně jak 6 měsíců
- méně jak rok
- více jak rok
- neví



Důvod rozhodnutí přestat (n = 3388)

- zdraví
- finance
- nelibost návyku
- závislost
- rodina
- tlak společnosti
- děti
- těhotenství
- ostatní



# V



# SEKCE POSTGRADUÁLNÍ TEORETICKÁ VÍTĚZNÉ PRÁCE

1. místo: **RNDr. Jarmila Podskočová** – Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK  
Školitel: MUDr. Tomáš Stopka, Ph.D.  
Název práce: „Snf2h regulates heterochromatin structure and global transcription“

2. místo: **MUDr. Jan Krtil** – Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN  
Školitel: prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA  
Název práce: „Proteiny extracelulární matrix významně ovlivňují viabilitu a proliferaci glomerulárních podocytů in vitro“

3. místo: **Mgr. Jana Lišková** – Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN  
Školitel: MUDr. Zora Mělková, Ph.D.  
Název práce: „Aktivace kaspáz při infekci buňky virem vakcínie“



## 1. MÍSTO

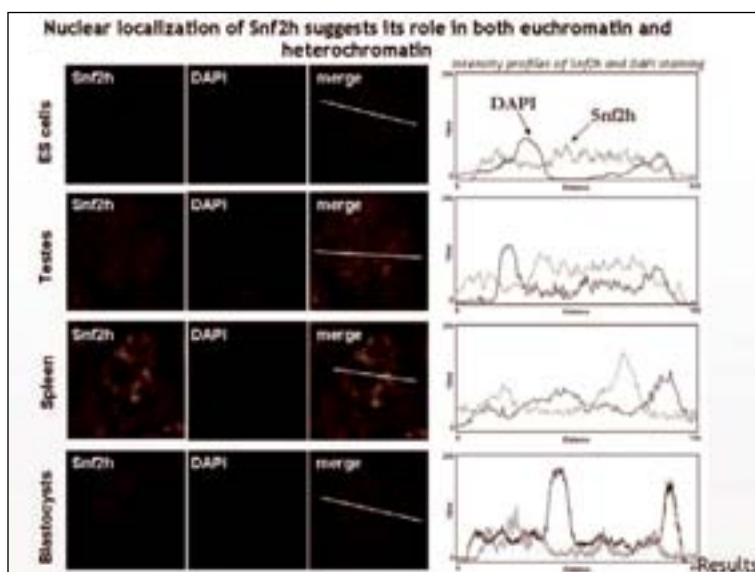
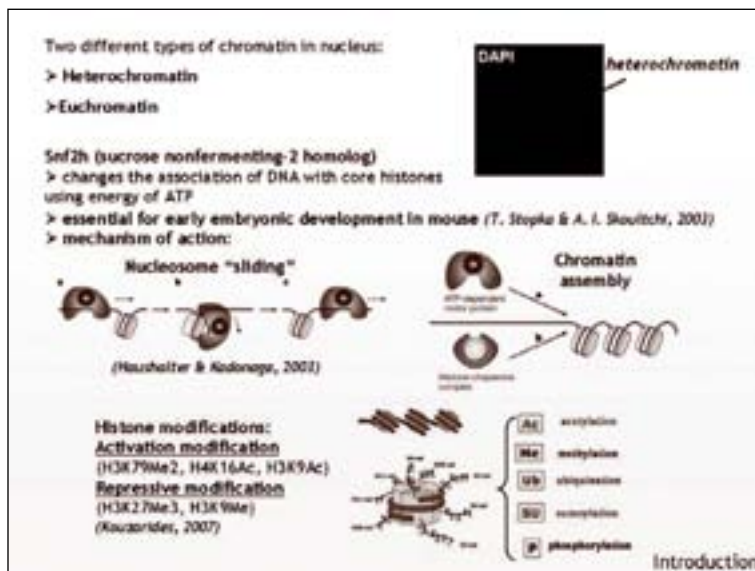
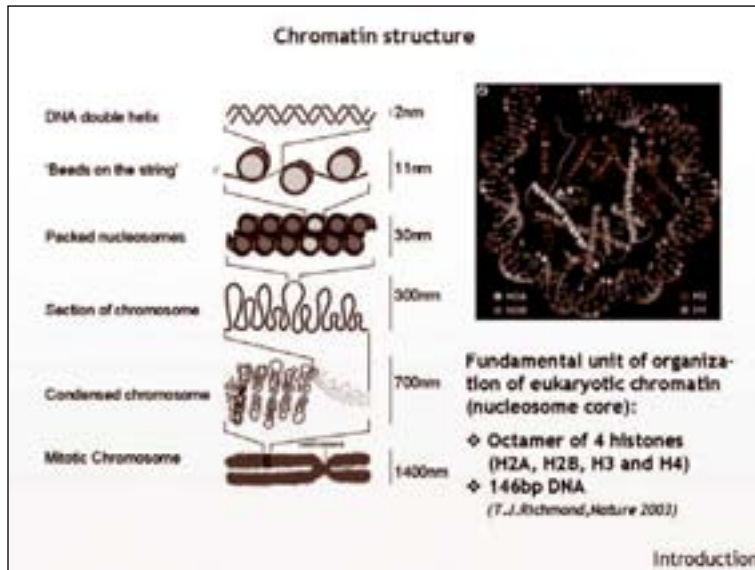
**„Snf2h REGULATES HETEROCHROMATIN STRUCTURE AND GLOBAL TRANSCRIPTION“**

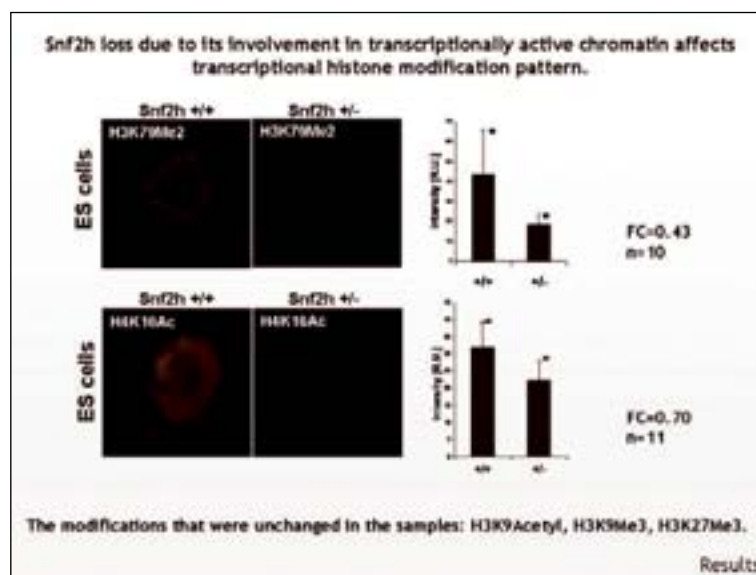
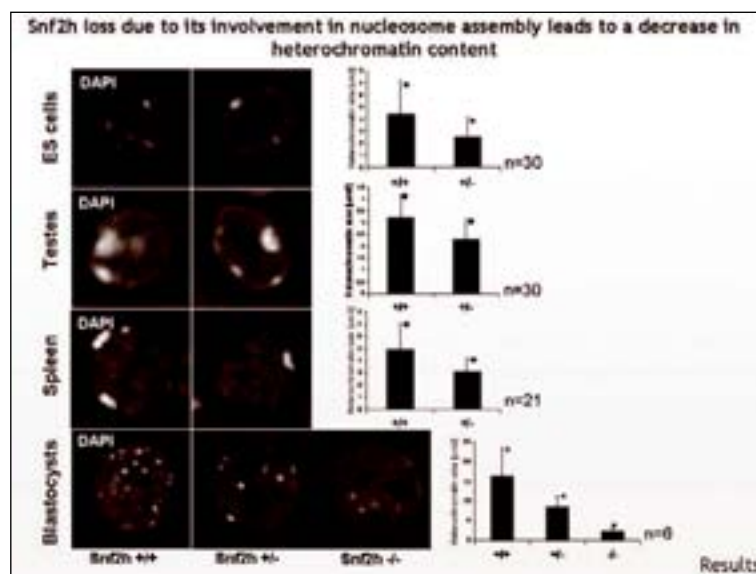
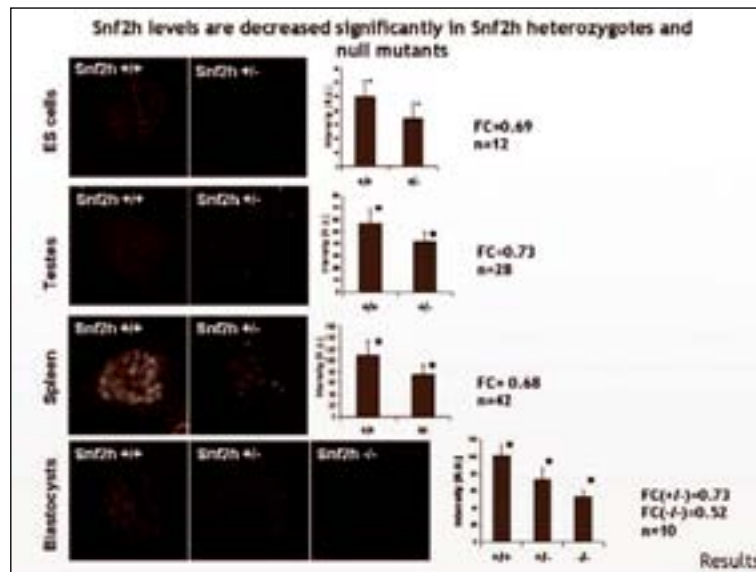
**Autorka:** RNDr. Jarmila Podskočová – Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK  
**Školitel:** MUDr. Tomáš Stopka, Ph.D.

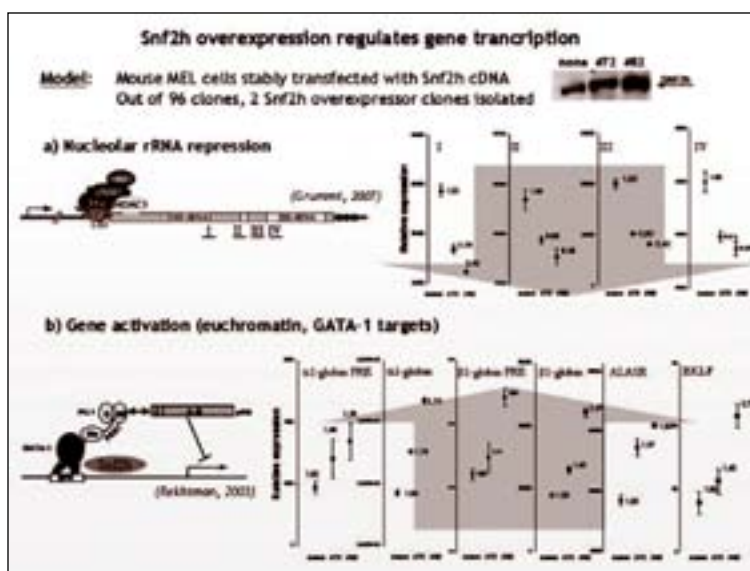
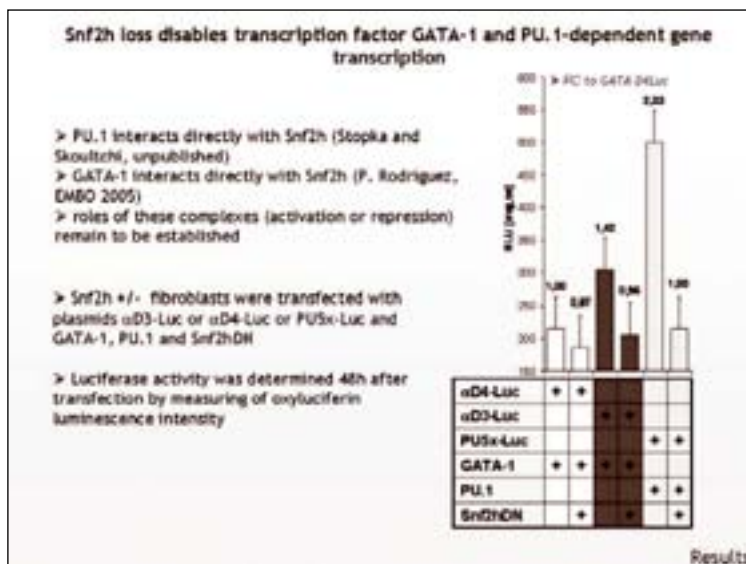


Role of SWI/SNF2 family in oncogenesis is established by studies in both mouse models and human patients. Snf2h belongs to SWI/SNF2 family of histone- and DNA- binding proteins that in expense of ATP hydrolysis regulates structure of nuclear chromatin. Knockout mice of Snf2h are embryonic lethal and heterozygotes display mild growth retardation (Stopka 2003). We used confocal laser scanning microscopy and demonstrate that Snf2h heterozygous cells derived from embryonic, hematopoietic and germinal cells display defects in global histone modification including histone H3K79 hypomethylation. H3K79 trimethylation is a chromatin mark associated previously with active transcriptional elongation. In addition, significant defects are found in Snf2h heterozygous heterochromatin structure and indicate that Snf2h has important role in the nucleosome assembly, a finding supported by studies in *Drosophila* (Fyodorov 2004). Snf2h is highly expressed in normal and leukemic blasts and its role has been implicated in cytokine-induced erythroid differentiation. By using experimental hemolysis we demonstrate that both Snf2h wild type and heterozygous mice induce erythropoiesis similarly. However, significant amount of Snf2h compensation from wild type allele was observed in Snf2h heterozygotes. Collectively, our data demonstrate role of Snf2h in gene transcription regulation and chromatin assembly during embryonic development and hematopoietic differentiation.









### Conclusions

- > Snf2h is localized in both euchromatin and heterochromatin, its staining preferentially is observed in euchromatin suggesting role of Snf2h in transcription
- > Snf2h inactivation leads to a decrease in heterochromatin content
- > Snf2h inactivation affect euchromatin histone modification pattern of H3K79Methylation, but other marks including activation marks (H3K9Ac) and repressive marks (H3K9 and H3K27Me3 pattern) are unaffected
- > Snf2h loss disables transcription factor-dependent gene activation (Luciferase assay)
- > Snf2h overexpression enhances repression of nucleolar rRNA genes
- > Snf2h overexpression induces expression of endogenous GATA-1 target genes

Conclusion



## 2. MÍSTO

### PROTEINY EXTRACELULÁRNÍ MATRIX VÝZNAMNĚ OVLIVŇUJÍ VIABILITU A PROLIFERACI GLOMERULÁRNÍCH PODOCYTŮ IN VITRO

**Autor:** MUDr. Jan Krtil

**Školitel:** prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF a VFN



**Úvod:** Poškození podocytů vede k rozvoji proteinurie a glomerulosklerózy. Při kultivaci podocytů se jako standardní kultivační povrch používá kolagen I, který ale není v glomerulární bazální membráně (GBM) fyziologicky přítomen. Cílem naší práce bylo zjistit, zda různé typy proteinů extracelulární matrix (ECM) ovlivňují vlastnosti kultivovaných podocytů.

**Metodika:** Primárně kultivované potkanní podocyty byly po první pasáži nasazeny na různé kultivační povrchy: kolagen I, kolagen IV, extrakt ECM bazální membrány a tkáňový plastik. Sledovali jsme počet adherovaných živých buněk a jejich metabolickou aktivitu 8 hodin po nasazení (adheze), pak po 5 dnech v médiu s 10% sérem a po dalších 3 dnech v médiu s 0,5% sérem.

**Výsledky:** Adheze buněk byla obdobná nezávisle na použitém kultivačním povrchu. Po 5 dnech v proliferačním médiu výrazně vzrostl počet buněk na ECM a méně na kolagenu I, intenzita proliferace na kolagenu IV byla variabilně mezi ECM a kolagenem I. Na samotném plastiku bylo buněk méně než kolik adherovalo. Inkubace v diferenciacním médiu vedla k poklesu počtu buněk na obou typech kolagenů, zatímco na ECM byl počet buněk zachován.

**Závěr:** ECM extrakt se nejvíce blíží složení GBM a v našich experimentech poskytl optimální podmínky pro proliferaci a diferenciaci podocytů. Kultivační povrch zřejmě významně ovlivňuje viabilitu, proliferaci a diferenciaci podocytů.



*V sekci postgraduální teoretické se umístil na 2. místě pan doktor Jan Krtil.*



## 3. MÍSTO

## AKTIVACE KASPÁZ PŘI INFEKCI BUŇKY VIREM VAKCÍNIE

**Autorky:** Jana Lišková, Zora Mělková

**Školitelka:** MUDr. Zora Mělková, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN



Ve většině buněčných typů způsobuje infekce virem vakcínie lýzu buňky, což lze považovat za ekvivalent nekrózy. V naší laboratoři jsme však v buněčných liniích BSC-40 a HeLa G při tomto typu infekce pozorovali zvýšenou aktivaci kaspáz, typický znak apoptózy (Kalbáčová et al., 2008).

Aktivaci kaspáz jsme původně charakterizovali metodou využívající průtokovou cytometrii, a to pomocí fluorescenčního pan-kaspázového inhibitoru FITC-VAD-FMK (CaspACE, Promega), který se váže do aktivního místa kaspázy, avšak nereaguje s pro-kaspázou. Abychom se ujistili o specificitě tohoto eseje, stanovovali jsme fluorescenci CaspACE po přidání nefluorescenčního pan-kaspázového inhibitoru zVAD-FMK. Tento inhibitor výrazně snížil fluorescenci infikovaných buněk, zatímco kontrolní inhibitory specifické pro calpain tuto fluorescenci nesnižovaly. Podobné kompetiční experimenty jsme provedli i s inhibitory specifickými pro jednotlivé kaspázy (kaspázu 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 13). Ukázalo se, že v buňkách infikovaných virem vakcínie jsou výrazně aktivovány kaspázy 2 a 4, mírně také kaspáza 3. Aktivitu těchto kaspáz jsme dále stanovovali v lyzátech vakcínii infikovaných buněk, a to pomocí fluorescenčních esejů specifických pro jednotlivé kaspázy.

Kaspáza 2 se účastní aktivace apoptózy následkem poškození DNA, při působení TNF $\alpha$ , a také při infekci některými vnitrobuněčnými parazity. Kaspáza 4 je homologem zánětlivé kaspázy 1. Také byla pozorována její aktivace při stresu endoplasmatického retikula a následné apoptóze. Ačkoli úloha kaspáz 2 a 4 v apoptóze není zcela jasná, zřejmě se obě podílejí i na zánětlivé signalizaci, což by mohlo být významné pro typ imunitní odpovědi organismu při infekci virem vakcínie.



Jana Lišková přebírá cenu za 3. místo v sekci postgraduální teoretické.

# V



# SEKCE POSTGRADUÁLNÍ KLINICKÁ I. A II. VÍTĚZNÉ PRÁCE

1. místo: **MUDr. Lenka Bošanská** – III. interní klinika 1. LF UK a VFN  
Školitel: prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.  
Název práce: „Produkce cytoadhezivních molekul v tukové tkáni obézních jedinců: srovnání subkutánní a viscerální tukové tkáně“

1. místo: **MUDr. Ing. Radek Jirman** – Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN  
Školitel: prof. MUDr. Jiří Mazánek, DrSc.  
Název práce: „Deformace skeletu a jeho třídimenzionální náhrady“

2. místo: **MUDr. Petr Hubka** – Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN  
Školitel: doc. MUDr. Jaromír Mašata, CSc.  
Název práce: „Vztah n. a. a. obturatoria k operační léčbě inkontinence“

3. místo: **MUDr. Adéla Berková** – Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, I. interní klinika, 1. LF UK a VFN  
Školitelé: doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc., doc. MUDr. Marek Trněný, CSc.  
Název práce: „Sledování klonálního vývoje u chronické B-lymfocytární leukémie metodou interfázni fluorescenční in situ hybridizace“



## 1. MÍSTO

**PRODUKCE CYTOADHEZIVNÍCH MOLEKUL V TUKOVÉ TKÁNI  
OBÉZNÍCH JEDINCŮ: SROVNÁNÍ SUBKUTÁNNÍ A VISCERÁLNÍ  
TUKOVÉ TKÁNĚ**

**Autoři:** L. Bošanská<sup>1</sup>, D. Michalský<sup>2</sup>, M. Kasalický<sup>2</sup>, D. Haluzíková<sup>3</sup>, T. Roubíček<sup>1</sup>, M. Mráz<sup>1</sup>,  
M. Bártlová<sup>1</sup>, M. Matoulek<sup>1</sup>, Z. Lacinová<sup>1</sup> a M. Haluzík<sup>1</sup>

<sup>1</sup>3. interní klinika 1. LF UK a VFN, <sup>2</sup>1. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN, <sup>3</sup>Ústav  
tělovýchovného lékařství 1. LF UK a VFN

**Školitel:** prof. MUDr. M. Haluzík, DrSc.



**Úvod:** V naší studii jsme se zaměřili na otázku, zda je tuková tkáň producentem proaterogenně působících cytoadhezivních molekul (CAM) u obézních jedinců a zda se tato produkce liší mezi jednotlivými typy tukové tkáně.

**Metodika:** Do studie bylo zařazeno 25 obézních žen a 14 štíhlých zdravých žen, u kterých byly provedeny krevní odběry a odběr subkutánní a viscerální tukové tkáně v průběhu plánovaného chirurgického výkonu (bandáž žaludku resp. cholecystektomie). Sérové koncentrace inzulinu a cytoadhezivních molekul byly stanoveny multiplexovou imunoanalýzou pomocí Luminex kitů, exprese mRNA CAM ve vzorcích tukové tkáně metodou real-time PCR a proteinová exprese CAM pomocí Luminex kitů a normalizována k obsahu proteinů.

**Výsledky:** U obézních žen jsme zaznamenali signifikantně vyšší BMI a solubilních CAM E-selectinu a ICAM-1. Sérové koncentrace VCAM-1 se mezi skupinami významně nelišily. Nebyl zaznamenán rozdíl v expresích mRNA a proteinů CAM v subkutánním tuku mezi skupinou obézních a štíhlých žen. Naopak, ve viscerálním tuku byla exprese mRNA i proteinová exprese pro ICAM-1 a VCAM-1 významně zvýšená ve skupině obézních žen (ICAM-1 kontroly vs. obézní (BMI 30-40):  $6,4 \times 10^{-5} \pm 2 \times 10^{-5}$  vs.  $1,99 \times 10^{-4} \pm 3,7 \times 10^{-5}$ ,  $p < 0,01$ ; VCAM-1 kontroly vs. obézní (BMI 30-40):  $6,2 \times 10^{-5} \pm 2 \times 10^{-5}$  vs.  $2 \times 10^{-4} \pm 6,3 \times 10^{-5}$ ,  $p < 0,5$ ).

**Závěr:** Výsledky svědčí pro zvýšenou produkci proaterogenně působících cytoadhezivních molekul ve viscerální tukové tkáni obézních žen, ne však v subkutánní tukové tkáni. Výsledky studie tak mohou částečně objasnit vztah mezi rizikem kardiovaskulárních onemocnění a akumulací viscerálního tuku u obézních jedinců popsany zejména ve velkých epidemiologických studiích.

*Podporováno IGA 8302-5 a MZO 000064165.*



*První místo pro Lenku Bošanskou v sekci postgraduální I. a II.*

## 1. MÍSTO

### DEFORMACE SKELETU A JEHO TŘÍDIMENZIONÁLNÍ NÁHRADY

**Autoři:** Radek Jirman<sup>1</sup>, Zdeněk Horák<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN, <sup>2</sup>ČVUT, Fakulta strojní, Laboratoř biomechaniky

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



Cílem projektu bylo vytvořit rychlou, přesnou a efektivní metodu pro návrh a výrobu individuálních implantátů náhrad skeletu lebky za použití vhodných biomateriálů, kterými lze nahradit defektní místo. Metoda spočívá ve zpracování a přenosu dat z dostupných diagnostických zobrazovacích metod (CT a MRI) a jejich transformaci do 3D geometrických modelů. Z takto vytvořených 3D modelů defektu lze provést s dostatečnou přesností tvarovou rekonstrukci defektu a následně i návrh individuálního implantátu. Model defektního místa pro potřeby plánování operačního zákroku lze vyrobit pomocí technologie rapid prototyping a vlastní implantát pomocí dostupných konvenčních CNC obráběcích metod (CAD/CEM). Pro výrobu individuálních náhrad jsou s ohledem na zdravotní a technologické požadavky dostupné materiály kovové (titan Ti6Al4V) a plastové (PEEK, UHMWPE). Volba použitého materiálu musí respektovat velikost defektu, případné silové zatížení a způsob implantace.

Závěrem bude prezentováno několik klinických případů zhotovení individuálních náhrad kostních defektů spolu s pooperační RTG verifikací.



*Ceny rozdány, účastníci při neformálním rozhovoru.*



## 2. MÍSTO

### VZTAH N. A A. OBTURATORIA K OPERAČNÍ LÉČBĚ INKONTINENCE

**Autoři:** Petr Hubka, Jaromír Mašata, Ondřej Naňka, Miloš Grim, Alois Martan  
**Školitel:** doc. MUDr. Jaromír Mašata, CSc., Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN



Stresová inkontinence moči u žen postihuje dle různých autorů až polovinu žen ve věku nad padesát let. Jedním z řešení jsou tahuprosté páskové operace. Nová metoda TVT-S (Tension-free Vaginal Tape - Secur) je známá od září 2006; důkladné anatomické studie této metody zatím nejsou.

Na sedmi ženských tělech určených k anatomické pitvě operatér zavedl v poloze na zádech (kyčel v 20-30° flexi a abdukci 30°) oboustranně TVT-O metodou inside-out popsanou de Levallem, následně na stejném těle zavádí oboustranně TVT-S do polohy „hammack“. Orientuje se a kontroluje směr stejně jako při standardní operaci. Následně je pitvána malá pánev a adduktory stehna, měřena vzdálenost TVT-S k a. a n. obturatorius ve foramen obturatum a vzdálenost TVT-O k ramus anterior et posterior nervi obturatorii.

Průměrná vzdálenost TVT-S od obturatorního svazku byla 30,0 mm (rozptyl 19,3 mm<sup>2</sup>) vpravo, resp. 26,4 mm (rozptyl 17,7 mm<sup>2</sup>) vlevo. Jednou vpravo a dvakrát vlevo v (21,4%) byl zaveden zavaděč intravesikálně. Třikrát bylo TVT-S paravesikálně, tj. mezi m. obturator internus a močovým měchýřem. Průměrná vzdálenost TVT-O k ramus anterior nervi obturatorii byla 4,3 mm (rozptyl 3,6 mm<sup>2</sup>) vpravo, resp. 7,1 mm (rozptyl 57,1 mm<sup>2</sup>) vlevo. Průměrná vzdálenost TVT-O od ramus posterior nervi obturatorii byla 10 mm (rozptyl 58,3 mm<sup>2</sup>) vpravo, resp. 6,7 mm (rozptyl 43,9 mm<sup>2</sup>) vlevo.

Z práce vyplývá, že TVT-S má svá rizika a limity, je třeba zachovávat operační postup, hrozí zejména zavedení intravesikálně, u TVT-O hrozí poranění n. obturatorius.



*V sekci nelékařské-ošetřovatelské se umístil na 2. místě Jan Froněk.*

### 3. MÍSTO

#### SLEDOVÁNÍ KLONÁLNÍHO VÝVOJE U CHRONICKÉ B-LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE METODOU INTERFÁZNÍ FLUORESCENČNÍ IN SITU HYBRIDIZACE

**Autoři:** Adéla Berková, Lenka Pavlišťová, Jana Březinová, Libuše Babická, Eva Malinová, Lenka Grosová, Jana Tajtlová, Eduard Cmunt, Jiří Schwarz, Josef Karban, Marek Trněný, Zuzana Zemanová, Kyra Michalová  
**Školitelé:** doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc., Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, doc. MUDr. Marek Trněný, CSc., I. interní klinika 1. LF UK a VFN



**Úvod:** Diagnóza většiny pacientů s chronickou B-lymfocytární leukémií je stanovena v časných stádiích choroby, a proto se do popředí výzkumu dostala identifikace ukazatelů s prognostickou výpovědní hodnotou. Mezi jinými moderními diagnostickými metodami si cytogenetická analýza a interfázní fluorescenční in situ hybridizace (I-FISH) získala nezastupitelnou úlohu. Vznik nových genomových aberací s postupem choroby (klonální evoluce) bývá většinou spojován s kratším přežitím, ačkoli závěry z předchozích studií jsou rozporuplné.

**Metodika:** 102 pacientů s B-CLL bylo zahrnuto do studie zhodnocující klonální evoluci metodou I-FISH. Genomové aberace byly zjišťovány v průběhu sledování pacienta sadou sond detekujících trisomii chromosomu 12, del(13)(q14.3), delecii genu ATM (11q22.3) a delecii genu p53 (17p13.1).

**Výsledky:** Při úvodní analýze byly cytogenetické abnormality nalezeny u 69 ze 102 pacientů. Při následném vyšetření byly u 25 pacientů zjištěny nově získané aberace. 16 z těchto 25 pacientů mělo nemutovaný a 9 mutovaný IgVH gen.

**Závěr:** V naší studii jsme neprokázali statisticky významnou souvislost klonálního vývoje s prognosticky nepříznivými znaky (nemutovaným mutačním stavem, se ZAP-70 nebo CD38 pozitivitou) ani s dobou celkového přežití. Nicméně „high-risk“ delece (ATM a p53) nalezené v jakékoli fázi onemocnění znamenají pro pacienta špatnou prognózu a konkrétně delece genu p53 předurčuje rezistenci k chemoterapii. Proto by měli být pacienti s B-CLL opakovaně cytogeneticky vyšetřováni.

*Podpořeno granty MSM 0021620808, MZO 00064165, LC535, IGA MZCR 9244-3.*



Adéla Berková získala 3. cenu v sekci postgraduální klinické I. a II.

V





# SEKCE NELEKÁŘSKÁ - OŠETŘOVATELSKÁ VÍTEŽNÉ PRÁCE

1. místo: **Jaroslav Pekara, 1. r.** – Univerzita Palackého, Ostrava  
Školitel: PhDr. Naděžda Špatenková, Ph.D.  
Název práce: „Napadení zdravotnických záchranářů v ČR“

2. místo: **Jan Froněk, 3. r.** – Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN  
Školitel: RNDr. Pavel Bradna, CSc.  
Název práce: „Vliv typu polymerační lampy na vytvrzení kompozitních materiálů s různým mechanismem polymerace“

3. místo: **Bc. Petra Příbylová, 1. r.** – Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, Klinická imunologie a alergologie – laboratoř  
Školitelka: MUDr. Karin Malíčková  
Název práce: „Stanovení aktivity lymfocytů periferní krve neplodných žen“



## 1. MÍSTO

### NAPADENÍ ZDRAVOTNICKÝCH ZÁCHRANÁŘŮ V ČR

**Autor:** Jaroslav Pekara, 1. roč.

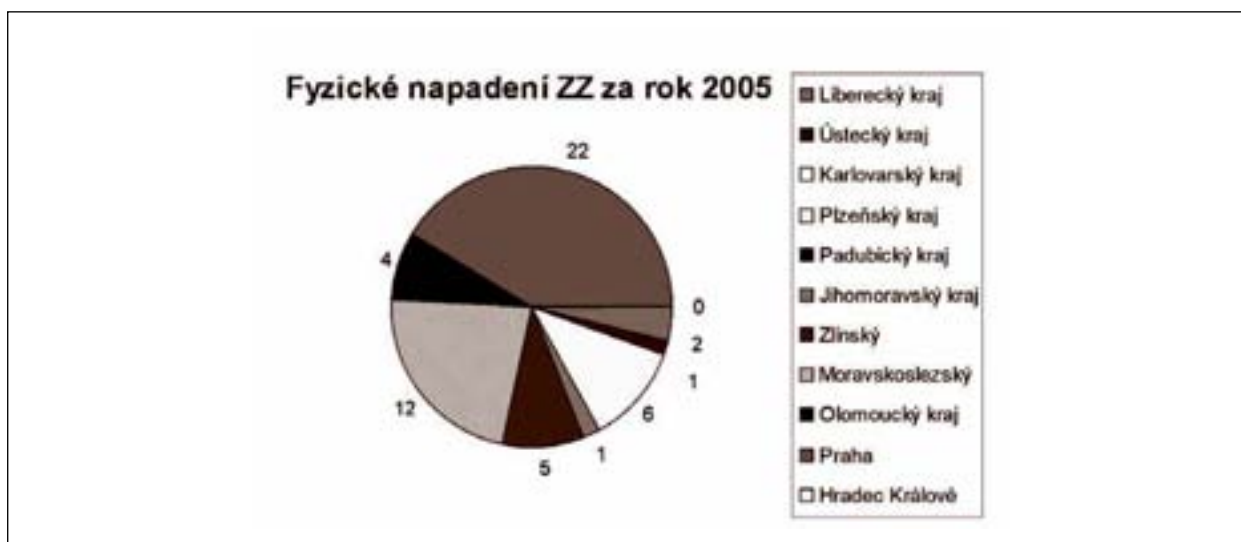
**Školitelka:** PhDr. Naděžda Špatenková, Ph.D.



Zdravotnický záchranář pracuje v různých extrémních podmínkách. Při své práci se setkává s lidmi a nežádka je konfrontován s jejich psychickým a fyzickým vyčerpáním. V takových situacích se snadno může vyhrotit i interpersonální interakce, jejímž důsledkem může být i napadení zdravotnického záchranáře. Je napadení záchranářů v České republice každodenní realitou nebo je to jen „tučné sousto“ senzacechtivých bulvárních listů? Co je příčinou napadení záchranářů? Lze tomu nějak zabránit? Jak účinná může být prevence a co do účinné prevence patří? Na tyto otázky jsem hledal odpovědi a výsledky si Vám dovoluji prezentovat.

Studie zabývající se napadením zdravotnických záchranářů zatím v České republice neexistuje. Výsledky mého realizovaného šetření zkoumají situaci napadení zdravotnických záchranářů v České republice. Původním záměrem bylo získat data a údaje o napadení zdravotnických záchranářů již od roku 2004 a zjištěné výsledky komparovat a na základě těchto údajů reflektovat trendy napadení zdravotnických záchranářů – zda mají stoupající (či naopak klesající) tendenci apod. Od tohoto záměru jsem ale posléze upustil, protože získat požadovaná data bylo velmi obtížné, oslovení respondenti odmítali spolupracovat, zasílat zpět vyplněné dotazníky, poskytovat jakékoliv informace o dané problematice.

První efektivní spolupráci – a tím i první skutečné údaje o této problematice - se podařilo získat až v roce 2006. Šetření reflektující rok 2005 tak potvrdilo, že napadení ZZ je v ČR skutečností.



Zdravotničtí záchranáři (ZZ) v České republice jsou nejčastěji vystaveni napadení buď fyzickému nebo psychickému. Psychického násilí bylo v roce 2005 zaznamenáno 80 – 100 případů v každém Územním středisku záchranné služby České republiky. Fyzické napadení sice vykazuje menší četnost výskytu, ale vzhledem ke své závažnosti nejsou tyto incidenty rozhodně zanedbatelné – šlo o 53 napadení. Ohledně dalších let se podařilo získat údaje o napadení zdravotnických záchranářů především pomocí médií. Detailnější sledování bohužel probíhá zatím pouze v Záchranné službě Praha. O ostatních se můžeme dozvědět kupříkladu na serveru [www.katastrofy.cz](http://www.katastrofy.cz).

| 2006             |    | 2007             |   | 2008             |   |
|------------------|----|------------------|---|------------------|---|
| Praha            | 21 | Praha            | 1 | Středočeská kraj | 2 |
| Středočeský kraj | 3  | Středočeský kraj | 4 | Brno             | 1 |
| Plzeňský kraj    | 1  | Plzeňský kraj    | 2 |                  |   |
| Karlovy Vary     | 1  | Karlovy Vary     | 1 |                  |   |
| Olomoucký kraj   | 3  | MSK              | 5 |                  |   |
| Liberecký kraj   | 1  | Pardubice        | 1 |                  |   |
| Jihlava          | 2  |                  |   |                  |   |

Hlavní příčinou napadení zdravotnických záchranářů jsou především intenzivní negativní emoce, které mohou být zesilovány různými precipitory. Nejčastější negativní emocí může pak být např. hněv. Mezi hlavní rizikové faktory, respektive precipitory napadení zdravotnických záchranářů, patří v České republice především abúzus alkoholu a dalších omamných látek působících změnu chování a jednání občanů, sociálně nepřizpůsobiví občané a kulturní podmínky společnosti. Dále situace, kdy k napadení dojde v důsledku úrazů nebo život ohrožujících stavů, kvůli kterým je volána záchranná služba, ale také situace, při nichž je spouštěcím faktorem chování nebo jednání zdravotnického záchranáře.

Jak již bylo naznačeno i samotný zdravotnický záchranář může někdy svým chováním a jednáním podpořit potencionální útočníky k napadení. Takovým chováním může být např.: direktní jednání, devalvace, ignorování, křik, sdělování negativních skutečností, tykání pacientům nebo jejich blízkým, hraní si na hrdiny apod. Právě tyto aspekty lze pak vhodně minimalizovat především v kurzech sebeobrany.

Kursy komunikace patří k neefektivnějším preventivním opatřením. V roce 2005 proběhlo proškolení ZZ v komunikaci v 7 Územních střediscích záchranné služby (ÚSZS) (Praha, Olomoucký, Liberecký, Plzeňský, Středočeský, Zlínský a Karlovarský kraj). Jednalo se o kurs komunikace s agresivními jedinci a v situacích pod nátlakem. V tomto ohledu ale chybí dostatečná protřénovanost zdravotnických záchranářů. Jako účelná se jeví také komunikace s psychologem nebo společná debriefingová sezení. Vlastního psychologa má pouze Moravskoslezský kraj, kde pod jeho vedením probíhají především semináře o násilí v této profesi. Podobné semináře probíhají i v Libereckém a Středočeském kraji. K rozebrání problematických výjezdů ihned po návratu na základnu dle dotazníku dochází v Ústí nad Labem, Karvině a Pardubicích. Nakolik jsou tato opatření efektivní, se zatím zjistit nepodařilo.

Ne vždy se však podaří napadení předejít. Jestliže k napadení dojde, je třeba mít k dispozici adekvátní prostředky obrany. Jednou z hlavních možností je spolupráce s Policií ČR nebo městskou policií. Výbornou spoluprací s policií si pochvalují v 5 střediscích (kraj Ústecký, Karlovarský, Královehradecký, Pardubický a Praha).

Někteří zdravotničtí záchranáři se ve svém volném čase věnují sebeobraně či jiným bojovým sportům. Proškolení v sebeobraně proběhlo v pěti ÚSZS, tyto kursy však mají většinou jednorázový charakter. Pro svoji ochranu u sebe někteří zdravotničtí záchranáři nosí pepřový sprej. Tato pomůcka je užívána ve 3 ÚSZS (Praha, Liberecký a Pardubický kraj). Obranné pomůcky mohou řešit nečekaně vzniklou situaci a jejich použití by mělo zpomalit, odvrátit nebo zastavit útok. Neadekvátním použitím obranného spreje (nebo jiných neúčinných opatření) agrese útočníka ještě vzroste. Pražští záchranáři mají na klíčkích alarmová tlačítka, jimiž mohou aktivovat varovný signál, i když jsou mimo vůz, a informovat tak dispečink o možném nebezpečí.

Dne 9.12.2004 došlo k významné změně v oblasti problematiky napadení zdravotnických záchranářů. Změna se týkala písmena f) § 34 trestního zákona, v platném znění, upravujícího tzv. přitěžující okolnosti. Opatření (vyšší sazby za napadení) se však neorientuje pozici jen na profesionální záchranáře, zdravotníky a hasiče, nýbrž umožňuje každé osobě (v případě útoku proti ní), každému občanovi, který – ač neprofesionál prokáže vysokou míru svých morálně volných vlastností a rozhodne se pomoci svým spoluobčanům v nouzi. Nevýhodou trestního práva je, že nemůže být využíváno preventivně, ale až tehdy, kdy prostředky k prevenci před napadením ochranu neposkytují.

Napadení zdravotnických záchranářů se tedy stalo novým fenoménem jak v zahraničí, tak v České republice. Systémová řešení, která by riziko napadení eliminovala, jsou sice možná, nicméně zdlouhavá. To, co je možné udělat okamžitě, jsou individuální řešení – změny v myšlení a chování každého z nás, tedy zdravotnických záchranářů. Měli bychom si uvědomit, že je třeba zamezit řetězení agrese, další eskalaci, snažit se agresii předcházet a vyvarovat se jí. To učinit můžeme. Je důležité mít – a to i při konfliktních situacích – kontrolu nad svými verbálními a neverbálními projevy, užívat klidného, ale pevného hlasu, mít neustálý verbální kontakt s pacientem a projevit snahu o vyřešení jeho problému. Profesionální chování by mělo být samozřejmostí.

Územní střediska záchranné služby ČR, která používají více než 3 uvedené metody na obranu či prevenci, mají menší bilanci napadení než střediska, která využívají prostředky obrany v menším měřítku či vůbec (např. Olomoucký a Liberecký kraj). Praha po opakovaných útocích na své zaměstnance zavedla všechny dosavadní možnosti ochrany i prevence a počet napadení klesl o více než polovinu. Praha také jako první začala s opatřeními proti napadení záchranářů a o tomto problému vede důkladné statistiky.

Z dosavadního šetření vyplývá, že diskuse, prezentace a výměna názorů týkajících se této problematiky je nutná a může vést ke snižování tohoto problému.



## 2. MÍSTO

### VLIV TYPU POLYMERACNÍ LAMPY NA VYTVRZENÍ KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ S RŮZNÝM MECHANISMEM POLYMERACE

**Autor:** Jan Froněk, 3. roč.

**Školitel:** RNDr. Pavel Bradna, CSc., Výzkumný ústav stomatologický 1. LF a VFN



Stupeň vytvrzení může významným způsobem ovlivnit životnost výplní z kompozitních materiálů. Kromě celkového složení kompozitního materiálu rozhoduje o stupni vytvrzení i typ použité polymerační lampy, zejména shoda absorpčního spektra použitého iniciačního systému kompozitu a emisního spektra lampy. Ke světelné polymeraci se používají především halogenové a LED (Light Emitting Diode) lampy, liší se celkovým výkonem a šířkou emisního spektra, vyvinuté zejména pro iniciátory kafrchinonového typu radikálově iniciované polymerace. Tyto lampy jsou doporučovány nejenom pro polymeraci dimetakrylátových, radikálově polymerovaných kompozitních materiálů, ale i nových typů nízkokontrahujících kompozitů s jinými typy monomerů.

**Cíl:** Porovnat účinnost několika typů halogenových a LED polymeračních lamp při vytvrzení epoxidových a dimetakrylátových kompozitních materiálů měřením povrchové tvrdosti bezprostředně po polymeraci a s odstupem 24 hodin.

**Materiál a metodika:** Sledováno bylo 6 typů polymeračních lamp pro polymeraci epoxidového a dimetakrylátového kompozitního materiálu. Hodnocení lamp bylo provedeno na základě měření povrchové tvrdosti horní – ozářené a spodní strany modelových výplní tloušťky 2 mm. Použit byl standardní 20 sekundový cyklus polymerace a soft-start program pro snížení polymeračního prnutí u lamp vybavených tímto programem. Tvrdost byla měřena 10 – 15 minut po polymeraci a u vybrané halogenové a LED lampy i po 24 hodinách po polymeraci.

**Výsledky:** U obou skupin materiálů byl pozorován významný vliv typu polymerační lampy na stupeň vytvrzení kompozitního materiálu. Nejvyšší povrchová tvrdost byla nalezena při použití halogenových lamp a multispektrální LED lampy. V porovnání s kontrolní skupinou (dimetakrylátový kompozit) byla povrchová tvrdost epoxidového typu výrazně vyšší.

**Závěr:** I přes omezený rozsah hodnocených polymeračních lamp a kompozitních materiálů se ukázalo, že nejvyšší stupeň vytvrzení byl dosažen s použitím především klasických halogenových polymeračních lamp. Vytvrzení epoxidového kompozitního materiálu s kationtově iniciovanou polymerací je rychlé a jeho povrchová tvrdost vyšší než u kontrolního materiálu.



Cenu nakladatelství Galén získal Jakub Minks.

## 3. MÍSTO

## STANOVENÍ AKTIVITY LYMFOCYTŮ PERIFERNÍ KRVE NEPLODNÝCH ŽEN

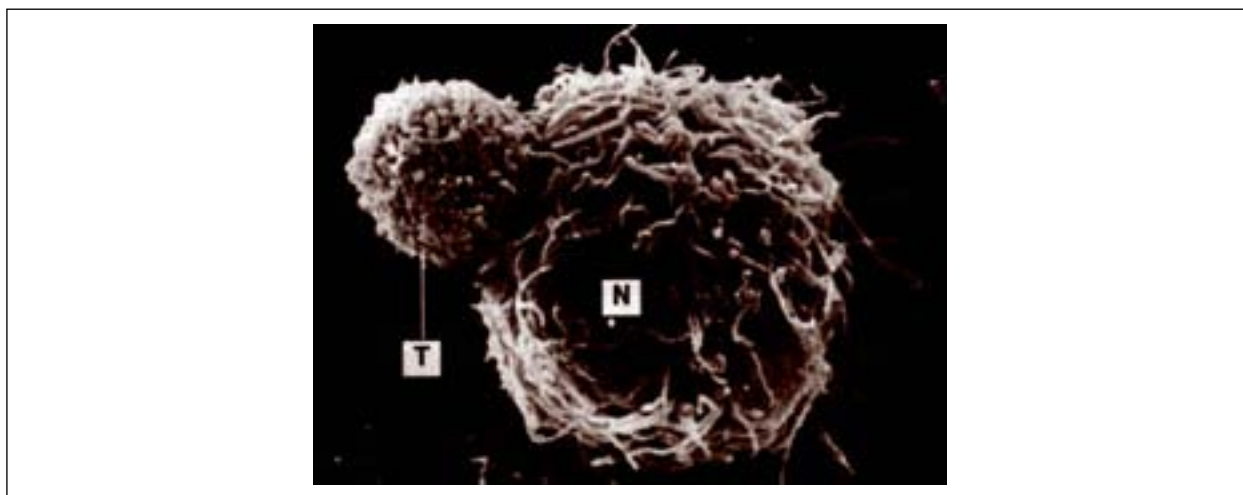
**Autorka:** Bc. Petra Příbylová, 1. roč.

**Školitelka:** MUDr. Karin Malíčková, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF a VFN



Neplodnost je definována jako neschopnost počít dítě po roce nechráněného pohlavního styku. Počet neplodných párů ve vyspělých zemích, tedy i České republice, převyšuje 10 %. Na poruše plodnosti se ze 40-ti % podílí muž, ze 40-ti % žena a z 20-ti % oba partneři dohromady. U takto postižených párů se nejdříve provádí vyšetření muže a poté vyšetření ženy. U žen se provádí vyšetření gynekologické, endokrinologické, genetické a screening infekcí. Teprve po vyloučení těchto čtyř základních příčin ženské neplodnosti se provádí vyšetření imunologické. Tato práce je věnována metodickým aspektům jednoho z vyšetření reprodukčního souboru buněčné imunity, a to konkrétně funkčnímu vyšetření aktivity NK buněk.

NK buňky neboli „natural killers“ (přirození zabijáci, Obr.1) jsou součástí vrozeného imunitního systému. Jsou to cytotoxické buňky, které mají na svém povrchu několik receptorů. Nejdůležitější jsou lektinové receptory, které aktivují cytotoxicitu (zničení cílové buňky) a receptory rozpoznávající HLA antigeny I. třídy, kterými NK buňka dokáže odlišit, zda je struktura tělu vlastní či cizí. Pokud strukturu určí jako cizí, začne NK buňka produkovat cytokiny. Tyto cytokiny mohou mít cytotoxický efekt na buňky, které jejich tvorbu vyvolaly, nebo ovlivňovat jejich funkční schopnosti.



Obrázek 1. NK buňka

## METODIKA

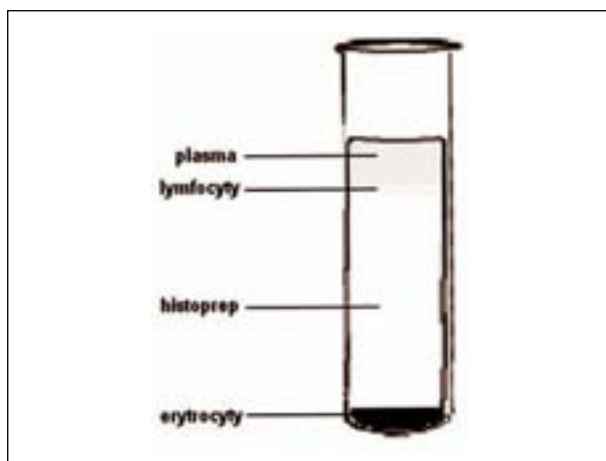
Vypracovala jsem metodiku izolace NK buněk z periferní krve a otestovala jednoduchý systém hodnocení aktivace těchto buněk po stimulaci antigeny spermií.

Prvním nezbytným krokem v navrženém algoritmu je izolace lymfocytů z plné krve. Ta se provádí pomocí gradientové centrifugace Ficoll-Paque (Histoprep, BAG, Německo), kdy se krev rozdělí do vrstev (obr.2).

Poté se přenesou vrstva obsahující lymfocyty do nové zkumavky, další centrifugací se buňky promyjí a počet buněk v suspenzi se upraví na koncentraci  $10^6$  buněk na ml ( $10^6$ /ml).

Z takto připravené suspenze se následně izolují NK buňky. Izolace se provádí pomocí separační soupravy NK Cells Negative Isolation Kit (Dyna1, Invitrogen, USA). K lymfocytům vyizolovaným v předchozím kroku se přidá inaktivované fetální telecí sérum (FCS) a směs monoklonálních protilátek proti CD3, CD14, CD36, CDw123, HLA II třídy DR/DP a glycophorinu A. Tyto látky mají za úkol označit všechny lymfocyty kromě NK buněk. Po inkubaci se obsah zkumavky promyje, aby se odstranily nenavázané protilátky a po resuspendování buněk se k nim přidají paramagnetické kuličky Dynabeads® (Invitrogen, USA). Na tyto kuličky jsou navázány imunoglobuliny reagující s Fc fragmenty výše uvedených monoklonálních protilátek. Směs buněk a paramagnetických kuliček se inkubuje při stálém třepání. Po inkubaci se zkumavka vloží do magnetu, který přitáhne ke stěně zkumavky paramagnetické kuličky s navázanými monoklonálními protilátkami, které jsou v komplexu s pro nás „nepotřebnými“ lymfocyty. (Obr. 3) Získaný supernatant obsahuje tudíž především NK buňky. Jejich koncentrace je na závěr upravena na  $10^6$ /ml. Výběžnost této metody lze kontrolovat pomocí průtokového cytometru, v našich pokusech se pohybovala kolem 70 %.

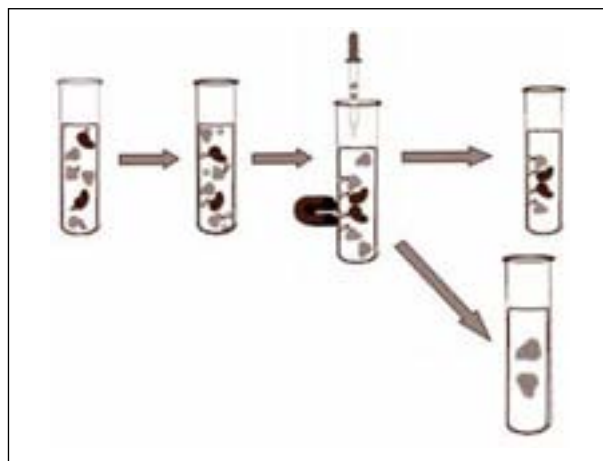
Třetí fází vyšetřovacího algoritmu je stimulace NK buněk antigeny spermií. K tomu je nejprve nutné připravit si suspenzi spermií. Používáme spermie od dárců s normálním spermiogramem. Spermie se několikrát přečistí a jejich koncentrace se



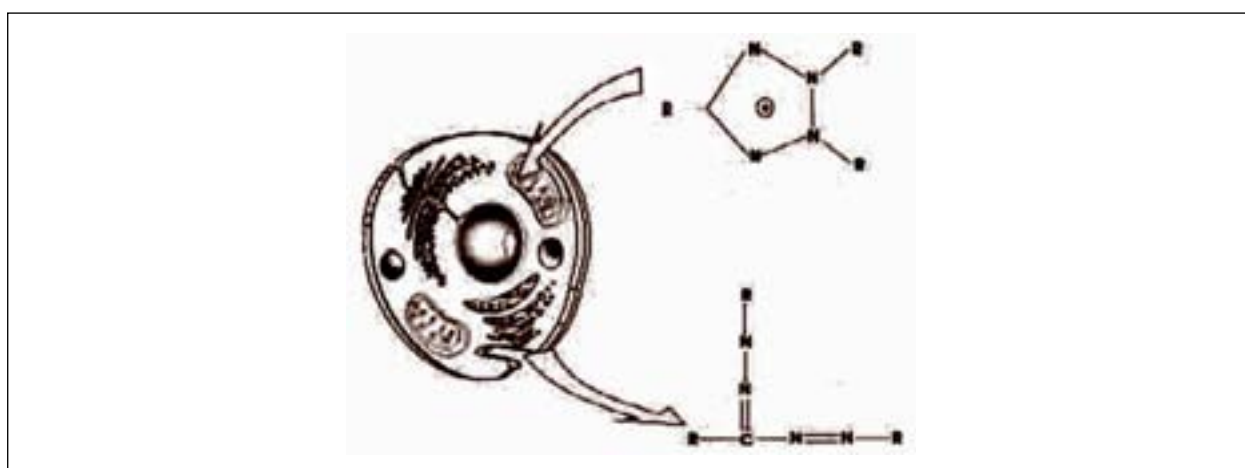
**Obrázek 2.** Gradientová separace lymfocytů periferní krve

upraví na  $10^6$  buněk/ml. K inkubaci NK buněk se spermii připravíme mikrotitrační destičku tímto způsobem: v dubletu napipetujeme nejdříve samotné buněčné médium jako tzv. „blank“ (používáme RPMI1640), do dalších dvou 10  $\mu$ l NK buněk a buněčné médium (v těchto jamkách budeme hodnotit nespecifickou stimulaci samotných NK buněk bez přidání stimulatorů) a do posledních dvou 10  $\mu$ l NK buněk, 60  $\mu$ l spermíí a buněčné médium. Poměr 1:6 (NK buňky:spermie) byl získán po opakovaných pokusech, kdy poměr 1:4 byl nedostatečný k vyvolání měřitelné aktivity NK buněk a poměr 1:8 vyvolal stejnou aktivitu jako poměr 1:6. Takto připravenou destičku inkubujeme 24 hodin při 37°C. Po inkubaci přidáme do jamek žluté tetrazolium a necháme znovu inkubovat při 37°C, tentokrát 4 hodiny. Žluté tetrazolium přechází přes cytoplazmatickou a mitochondriální membránu do buňky, kde je posléze v mitochondriích přeměněno na červený formazan (obr. 4), který je následně z buňky vyloučen.

Tato přeměna je katalyzována dosud neobjasněnou enzymatickou reakcí a slouží k odlišení živých a mrtvých buněk (mrtvé buňky nejsou této reakce schopné). My tuto reakci využíváme k odlišení aktivity, kdy vysoce aktivní buňky ve svých mitochondriích přeměňují daleko více tetrazolia a červeně zbarvení okolního roztoku, způsobené větším množstvím formazanu, je mnohem sytější a má větší absorpční schopnosti. Výsledná absorpce jednotlivých jamek mikrotitrační destičky se měří ve spektrofotometru při 450 nm. Čím vyšší je poměr absorpce stimulovaného vzorku k nestimulovanému vzorku, tím větší množství formazanu



**Obrázek 3.** Schéma izolace NK buněk v magnetu. V první zkumavce jsou šedě označeny NK buňky. Různými odstíny modré ostatní lymfocyty, na kterých jsou navázány monoklonální protilátky (označeny černě). V druhé zkumavce se paramagnetické kuličky váží na Fc fragmenty monoklonálních protilátek. Ke třetí zkumavce je přiložen magnet, který přitáhne ke stěně zkumavky komplex paramagnetická kulička-protilátka-lymfocyt. Odstraníme supernatant, který je obohacen o NK buňky a ostatní označené lymfocyty zůstanou na stěně zkumavky



**Obrázek 4.** Přeměna tetrazolia na formazan

bylo NK buňkami vyprodukováno a tím vyšší je NK aktivita po stimulaci antigeny spermíí.

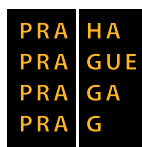
### ZÁVĚR

Byla vypracována jednoduchá neradioaktivní metoda k vyšetření funkčních vlastností NK buněk u žen s poruchou buněčné imunity stimulované antigeny spermíí. Tuto metodu by zřejmě bylo možné v budoucnu použít rovněž k vyšetření funkční aktivity NK buněk při podezření na imunologickou příčinu habituálního potrácení, a to použitím antigenů trofoblastu.

## ZVLÁŠTNÍ CENY UDĚLILY



**Zdravotnické  
noviny**



Projekt je financován Evropským sociálním fondem,  
státním rozpočtem ČR a rozpočtem hlavního města Prahy.

# ZVLÁŠTNÍ CENA

## **CENA NAKLADATELSTVÍ GALÉN, spol. s r. o.**

Autor: **Jakub Minks**, Ústav dědičných a metabolických poruch 1. LF UK a VFN  
Školitelé: MUDr. I. Šebesta a MUDr. M. Hřebíček  
Název práce: Vyšetření zešíkmení inaktivace chromosomu X u žen

## **CENA MEDICAL TRIBUNE**

Autor: **Beneš Jan**, 5. r., Fyziologický ústav 1. LF UK  
Školitel: MUDr. Jaromír Mysliveček, Ph.D.  
Název práce: Signalizační změny u laboratorní myši vyvolané vyřazením genu c-fos

## **CENA ZDRAVOTNICKÝCH NOVIN**

Autor: **Bartáková Renáta** a **Kateřina Matějů**, 4. r., II. interní klinika kardiologie a angiologie 1. LF UK a VFN  
Školitel: MUDr. Roman Škulec  
Název práce: Průzkum používání mírné hypotermie u pacientů po srdeční zástavě na území ČR

## **ZVLÁŠTNÍ CENU SE ZAMĚŘENÍM NA BIOCHEMII, MOLEKULÁRNÍ MEDICÍNU A BIOTECHNOLOGIE V RÁMCI PROJEKTU JPD 3381 KOMISE UDĚLILA**

Autor: **Zdeněk Provazník**, 2. r., Všeobecné lékařství  
Školitel: prof. MUDr. Jindřich Martínek, DrSc. Ústav pro histologii a embryologii 1. LF UK  
Název práce: Morfometrie hepatocytů – kritérium hodnocení účinku hepatotoxických a hepatoprotektivních látek



V



2008

