

# MUNI MED



SPOLEK  
MEDIKŮ

## 65. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

**Program  
a sborník abstraktů**

MASARYKOVA UNIVERZITA  
BRNO 2021

**Michal Jurajda (ed.)**



# MUNI MED

## 65. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

### **Program a sborník abstraktů**

MASARYKOVA UNIVERZITA  
BRNO 2021



SPOLEK  
MEDIKŮ

Michal Jurajda (ed.)



Kniha je šířená pod licencí

**CC BY-NC-ND 4.0** Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0

© 2021 Masarykova univerzita

ISBN 978-80-210-6313-6

# Složení odborných komisí

## **B11/114 Teoretická a preklinická sekce**

**Markéta Bébarová – předseda**

Josef Jaroš

Jiří Kos

Stjepan Uldrijan

## **F37/366 (SIMU) Sekce interních oborů**

**Josef Bednařík – předseda**

Alena Damborská

Blanka Fischerová

Milan Sova

## **F37/346 (SIMU) Sekce chirurgických oborů**

**Eva Brichtová – předseda**

Martin Huser

Jan Chrastina

Jozef Klučka

## **B11/327 Sekce nelékařských oborů a Stomatologická sekce**

**Marek Michalec – předseda**

Alena Pospíšilová

Bohdana Rezková

Vlasta Vařeková

## **B11/234 Doktorandská sekce**

Petr Dubový

Jan Juřica

**Marie Nováková – předseda**

Petr Vaňhara

# Program jednotlivých sekcí

**8.00–8.15**

Zahájení konference v místnosti B11/114 (prof. Kaňková, dr. Jurajda)

## **Sekce teoretických a preklinických oborů B11/114**

**8.30–9.45**

### **Kassay Miroslav**

Celogenomový screening Rituximab-rezistentních buněk NHL se zaměřením na geny ovlivňující jejich přežití

### **Pírek Ondřej**

Vliv hormonální antikoncepce na kardiovaskulární systém

### **Svobodová Viktorie**

Aktivace astrocytů tvořících glia limitans superficialis mediálního prefrontálního kortexu myši po kontuzi míchy

### **Gombíková Johana**

Využití funkční analýzy jako doplňkového nástroje při analýze genu TP53 u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií

### **Mýtníková Alexandra**

Možnosti využitia Endoglinu ako biomarkeru u pacientov v septickom šoku

**Přestávka 9.45–10.00**

**10.00–11.15**

### **Chovan Jorik**

A novel tool to identify neuronal populations based on activity, light stimulation, and drug administration in vivo

### **Školiaková Katarína**

In vivo optical measurement of dopamine concentration

### **Benák Leoš**

Bioarteficiální 3D štěp pro meziobratlovou fúzi páteře

**Bareš Martin**

Expres chemokinů CCL2 a CX3CL1 a jejich receptorů v choroidálním plexu po indukci subarachnoidálního krvácení

**Rafčíková Natálie**

Monitorování zdravotního stavu vybrané skupiny dětí a adolescentů v obezitologické ambulanci

## **Sekce chirurgických oborů F37/346**

### **8.30–9.30**

**Kanuščák Kristián**

Effectiveness of prophylactic mastectomy

**Frait František**

Objektivizace výsledků rekonstrukce nosu antropometrickým měřením s využitím 3D skenování

**Horváth Ivan**

Srovnání technik chirurgické léčby stresové inkontinence

**Hándlová Veronika**

Pooperační poruchy dýchání ve spánku s užitím různých typů anestezie – observační studie

### **Přestávka 9.30–9.45**

### **9.45–10.45**

**Pešová Natálie**

Analýza vrstvy nervových vláken a gangliových buněk sítnice pomocí optické koherenční tomografie u pacientů s glaukomem

**Šácha Tom**

Pilotní výsledky studie porovnávání mechanických vlastností flexorů ruky konzervovaných a čerstvých kadáverů

**Křenková Vlasta**

Vývoj dotazníku pro evaluaci subjektivního hodnocení výsledku rekonstrukce nosu

**Mareček Lukáš**

Videolaryngoskopie vs. přímá laryngoskopie u plánovaného zajištění dýchacích cest v pediatrické anestezii

## **Sekce interních oborů F37/366**

**8.30–9.30**

### **Vajčner Jiří**

Vliv MicroRNA v rozvoji farmakorezistence a jejich potenciální využití jako biomarkerů u pacientů neodpovídacích na léčbu klasickými antiepileptiky

### **Ondráček David**

Altered Spatiotemporal Dynamics of the Resting Brain in Mild Cognitive Impairment with Lewy Bodies

### **Uher Richard**

White Matter Lesions in Parkinson's disease, Alzheimer's disease and healthy controls

### **Kent Julia Anna**

Je neinvazivní mozková stimulace efektivním nástrojem pro zlepšení kognitivních funkcí u pacientů s Alzheimerovou chorobou a mírnou kognitivní poruchou? Výsledky z metaanalýzy

**Přestávka 9.30–9.45**

**9.45–10.45**

### **Diabelko Daniel**

Monitorování varianty B.1.1.7 SARS-CoV 2 a vyhodnocení její virulence

### **Rektorová Kateřina**

Vztah mezi non-verbální fluencí a změnami váhových parametrů u pacientek s mentální anorexií

### **Pelíšek Ondřej**

Prediktivní faktory konverze klinicky izolovaného syndromu do klinicky definitivní roztroušené sklerózy

### **Michnáčová Lucienne a Lucie Riegerová**

Výskyt bulbární a respirační dysfunkce v časném stádiu amyotrofické laterální sklerózy a možnosti jejich diagnostiky



## **Sekce nelékařských oborů a stomatologická sekce B11/327**

**8.30–9.45**

**Machynková (Vítková) Eliška**

Vliv korekce anisometropie na velikost aniseikonie

**Gregarová Anna**

Vliv anisometropie korigované habituální korekcí na anisoakomodaci

**Tatíčková Martina**

Ultrastructural analysis of cytoplasmic abnormalities in human oocytes

**Justrová Veronika (online)**

Porovnání radiční zátěže ze skiografie a CT v diagnostice pacientů s mnohočetným myelomem

**Mrázová Karolína**

Informovanost pacientů o ortodontické terapii a možnosti využití instruktážních videí

## **Sekce doktorandská B11/234**

**8.30–9.30**

**Vrbová Eliška**

Mapování genetické diverzity syfilitických kmenů pomocí MLST v České republice

**Brezak Matea**

ERK signalling patterns in mammary gland morphogenesis and cancer

**Klásková Eva**

Harman inhibuje CYP3A1, CYP2B, CYP2C11 a CYP2D1/2 v potkanímu modelu

**Hrala Matěj**

Charakterizace patogenních kmenů E. coli a jejich potenciální léčba pomocí probiotik

**Přestávka 9.30–9.45**

## **9.45–11.00**

### **Belisová Denisa (on-line)**

Úloha fibroblastov a ich mechanických síl vo vývoji mliečnej žľazy

### **Janečková Klára**

Celogenomová sekvenace kmenů *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* pocházející od primátů a jejich srovnání s lidskými kmeny

### **Drabinová Martina**

Acetylace 7-hydroxy skupiny dibenzocyklooktadienových lignanů zvyšuje inhibici P-glyko-proteinu

### **Medappa Monica**

Temporal changes in the genetic diversity of treponemal strains in Papua New Guinea

### **Lázníčková Petra**

Přeživší neuroblastomu vysokého rizika vykazují známky obnovy imunitního systému a ne immunosenescence

## **14.00–14.30**

### **Vyhlášení nejlepších prací a zakončení konference (dr. Jurajda) B11/114**

**A B S T R A K T Y**  
**S V K 2 0 2 1**

# Teoretická a preklinická sekce

## Celogenomový screening Rituximab-rezistentních buněk NHL se zaměřením na geny ovlivňující jejich přežití

**Kassay Miroslav**

CEITEC Masarykova univerzita

**Klíčová slova:** nehodgkinské lymfomy, monoklonální protilátky, CRISPR/Cas9 screening

### Úvod:

Nehodgkinské lymfomy (NHL) tvoří heterogenní skupinu chorob, kterých incidence neustále roste o 3–4 % ročně. V posledních desetiletích bylo objeveno vícero strategií na léčbu NHL. Použití každé strategie závisí na genomovém profilu, věku a klinickém stavu pacienta. V uplynulých 24 letech se monoklonální protilátky proti různým markerům B-buněk a T-buněk (hlavně proti markeru B-buněk CD20) ukázaly jako efektivní léčba NHL. Použití anti-CD20 monoklonálních protilátek se dokonce stalo zlatým standardem při léčbě většiny forem NHL. Po zdánlivě úspěšné léčbě však často dochází k relapsu NHL, při kterém se choroba stává rezistentní na anti-CD20 terapii.

### Metody:

V této studii jsme se zaměřili na popis mechanismů a genů, které hrají roli v rezistenci na anti-CD20 protilátky. V minulosti jsme vytvořili variantu buněčné linie Ramos (odvozenou od Burkittova lymfomu) rezistentní na anti-CD20 monoklonální protilátku Rituximab. Následně jsme udělali celogenomový CRISPR/Cas9 screening této rezistentní linie za účelem identifikace genů, které jsou nevyhnutné na její prožívání v porovnání s divokým typem linie.

### Výsledky:

Prostřednictvím provedeného CRISPR/Cas9 screeningu jsme zjistili, které geny zlepšují a které naopak zhoršují prožívání rezistentních buněk. Následně jsme vybrali dvě geny, které nejvýrazněji ovlivňují přežívání rezistentních buněk: RhoA a DDX6. RhoA je malá GTPasa, která se účastní polymerizace aktinu a buněčného pohybu. DDX6 je ATP-dependentní RNA helikasa, která mění sekundární strukturu RNA. Role těchto proteinů v přežívání rezistentních buněk pořád není přesně známá. V současné době připravujeme pomocí CRISPR/Cas9 buněčnou linii, které budou mít tyto geny deletované.

### **Závěr:**

V této studii jsme objevili, že na přežívání Rituximab-rezistentních buněk linie Ramos odvozené od Burkittova lymfomu mají největší vliv geny RhoA a DDX6. Jejich detailní role bude dále popsána po dalším provedeném výzkumu. Nejdříve je nutné vytvořit linii, které budou mít tyto geny deletované. Na takto vyhotovených liniích budeme následně pozorovat změny ve viabilitě, aktivaci apoptózy, buněčné signalizaci a podobně. Současně budeme zkoumat vliv farmakologické inhibice těchto proteinů na prožívání Rituximab-rezistentních buněk linie Ramos. Farmakologická inhibice proteinů RhoA a DDX6 specifickými inhibitory by se tehdy mohla stát novým terapeutickým přístupem na specifické ničení buněk rezistentních na anti-CD20 terapii.

### **Poděkování:**

Chtěl bych poděkovat svému školiteli, Mgr. Michalovi Šmídovi, Dr.rer.nat., za konzultace při vyhotovení tohoto textu a za vstřícné vedení při mé dosavadní práci v laboratoři. Též bych chtěl poděkovat současným i bývalým členům týmu Funkční genomika, jmenovitě obzvláště Mgr. Veronice Kozlové, PhD., Mgr. Heleně Peschelové a Mgr. Lence Dostálové za přínosnou pomoc a odborný dohled nad mou prací.

## **Vliv hormonální antikoncepce na kardiovaskulární systém**

**Pírek Ondřej**

**Budinskaya Ksenia**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

**Klíčová slova:** perorální antikoncepce, arteriální tuhost, crPWV, SVI

### **Úvod:**

Perorální antikoncepci pravidelně užívá přes 150 milionů žen, což ji řadí mezi nejpoužívanější antikoncepční prostředky na světě. Přestože současná generace těchto léků obsahuje pouze minimální dávky hormonů, jejich užívání má negativní vliv na kardiovaskulární systém – je rizikovým faktorem pro vznik hypertenze, může vést ke vzniku žilních trombóz a zároveň zvyšuje tuhost tepen.

„Zlatým standardem“ pro určení tepenné tuhosti je měření rychlosti pulzové vlny pomocí aplanační tonometrie, v současnosti lze ke stanovení tepenné tuhosti využít také přístroj VaSera. Cílem této studie bylo odhalit změny parametrů kardiovaskulárního systému, ke kterým by mohlo dojít u žen užívajících perorální antikoncepci.

### **Metody:**

Studie se zúčastnilo 24 žen, které byly rozděleny do dvou skupin – do skupiny žen užívajících antikoncepci A (14 žen; věk:  $21,0 \pm 1,3$  let; BMI:  $20,35 \pm 1,46$  kg/m<sup>2</sup>) a do kontrolní skupiny N (10 žen;  $21,5 \pm 1,5$  let;  $21,60 \pm 3,05$  kg/m<sup>2</sup>). V rámci obou skupin byly ženy rozděleny dle fáze menstruačního cyklu v době měření. Všechny ženy v antikoncepční skupině užívaly monofázickou kombinovanou antikoncepci. K určení parametrů kardiovaskulárního systému byly

použití přístroje SphygmoCor (AtCor Medical, Austrálie) a VaSera (Fukuda Denshi, Japonsko). Systolický (SBP) a diastolický tlak krve (DBP) byl každé z účastnic změřen pomocí přístroje VaSera. Dále byl pomocí přístroje VaSera změřen Ankle brachial index (ABI) a Cardio-ankle vascular index (CAVI) na obou polovinách těla. Přístroj SphygmoCor byl využit k určení karotido-radiální rychlosti pulzové vlny (crPWV), augmentačního tlaku (AP), augmentačního indexu (AI) a subendocardial viability indexu (SVI) vždy na dominantní polovině těla. Ke statistické analýze dat byl využit software Statistica 13.5.

### **Výsledky:**

Všechny sledované parametry se u obou skupin respondentek nacházely ve fyziologickém rozmezí. Statisticky významný rozdíl mezi antikoncepční a kontrolní skupinou jsme zjistili u následujících parametrů: DBP (75,5±5,1 mmHg vs. 62,0±8,1 mmHg;  $p<0,01$ ), SVI (160,0±13,1 % vs. 177,3±13,8 %;  $p<0,01$ ), crPWV (7,0±0,8 m/s vs. 6,6±0,7 m/s;  $p<0,05$ ). Rozdíly ostatních měřených parametrů (CAVI, ABI, SBP, AP, AI) mezi skupinami nebyly statisticky významné.

### **Závěr:**

Navzdory řádově nižší koncentraci estrogenů v současné perorální antikoncepci (oproti dřívějším generacím) se ukazuje její možné negativní působení na kardiovaskulární systém. Parametry ovlivněné převážně stavem periferních tepen (crPWV, DBP) jsou u antikoncepční skupiny v porovnání s kontrolní skupinou významně zvýšeny, což svědčí pro jejich zvýšenou tuhost. Naše výsledky tak ukazují, že užívání perorální antikoncepce má vliv převážně na funkci periferní části kardiovaskulárního systému. Zároveň jsme našli u antikoncepční skupiny i významně snížený parametr SVI, který popisuje kvalitu zásobení myokardu kyslíkem, což svědčí o ovlivnění také centrální části kardiovaskulárního systému.

### **Poděkování:**

Tato studie vznikla v rámci projektu Specifického výzkumu Masarykovy Univerzity „Kardiovaskulární systém: od iontového kanálu k celotělovému modelu“ MUNI/A/1246/2020 a v rámci programu P-Pool.

# Aktivace astrocytů tvořících glia limitans superficialis mediálního prefrontálního kortexu myši po kontuzi míchy

**Svobodová Viktorie**

**Dubový Petr, Bretová Karolína**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

**Klíčová slova:** astrocyty, glia limitans superficialis, kontuze míchy, kyselý gliální fibrilární protein, imunohistochemie, analýza obrazu

## Úvod:

Astrocyty jsou nejpočetnější skupinou gliových buněk centrální nervové soustavy, zastávající funkce morfologické, strukturní a regulační. Astrocyty a jejich výběžky tvoří významnou strukturální jednotku na povrchu mozkového parenchymu nazývanou glia limitans superficialis (GLS). Charakteristickým markerem aktivace astrocytů je zvýšená exprese kyselého gliálního fibrilárního proteinu (GFAP). Aktivace mediálního prefrontálního kortexu (mPFC) souvisí s emočními projevy (deprese, úzkost) neuropatické bolesti. Cílem práce bylo prokázat, zda kontuze míchy u myši aktivuje astrocyty GLS mPFC. Aktivace astrocytů GLS byla studována imunofluorescenční detekcí GFAP a kvantifikací astrocytárních cytoplasmatických výběžků vysílaných do lamina-I mPFC.

## Metody:

K experimentům bylo použito celkem 20 samic myši linie CD1. V kontrolních skupinách byla zvířata bez chirurgického zákroku (Naive, n=4) a zvířata, u kterých byla provedena dorzální laminektomie v rozsahu Th8-Th9, ale bez následného traumatického poškození míchy (Sham, n=8). U zvířat experimentální skupiny (n=8) byla po dorzální laminektomii Th8-Th9 provedena kontuze míchy (SCI) přístrojem Weight Drop. Myši kontrolní Sham a SCI skupiny přežívaly 6 nebo 10 týdnů. V průběhu doby přežití byly prováděny behaviorální testy prokazující termální hyperalgesii a mechanoallodynii na zadních končetinách zvířat. Navíc byl proveden RSB (Reward-Seeking Behaviour) test s použitím čokoládového peletu ke sledování motivace k příjmu odměny. Zvířata byla následně perfundována transkardiálně fyziologickým roztokem a následně Zamboniho fixačním roztokem. Po vyjmutí byly mozky oplachovány v 10 a 20% pufované sacharóze (pH 7,2). Na kryostatových řezech mPFC (12  $\mu$ m) byla provedena imunofluorescenční detekce GFAP, která byla vyhodnocena ve fluorescenčním mikroskopu. Intenzita imunofluorescence a poměry plochy výběžků astrocytů v lamina-I k ploše lamina-I byly vyhodnoceny analýzou obrazu NIS-Elements na digitalizovaných mikroskopických snímcích připravených při zvětšení objektivu 20 a 40 $\times$ . Získané hodnoty měření byly statisticky zpracovány softwarem Statistica. Pro ověření zvýšené úrovně GFAP v mPFC u myši po SCI ve srovnání s kontrolními skupinami byla provedena analýza metodou western blot.

## Výsledky:

Kontuze míchy vyvolala u myšičího modelu zvýšenou mechanoallodynii a termální hyperalgesii na zadních končetinách ve srovnání s kontrolními zvířaty skupiny Naive a Sham. Navíc RSB test prokázal u SCI myši sníženou motivaci k příjmu čokoládového peletu. Obrazová analýza ukázala

statisticky významný ( $p < 0,01$ ) nárůst výběžků astrocytů v lamina-I u Sham kontrolní skupiny zvířat ( $17,96 \pm 3,50$ ) ve srovnání s kontrolní skupinou Naive ( $13,94 \pm 5,30$ ). V lamina-I mPFC u myší, které přežily 6 týdnů po SCI, došlo ke statisticky významnému ( $p < 0,001$ ) zvýšení množství výběžků ( $21,61 \pm 3,19$ ) ve srovnání s kontrolní skupinou Sham. Podobně ve srovnání se skupinou Sham ( $21,78 \pm 4,52$ ) došlo v lamina-I ke zvýšení ( $p < 0,001$ ) množství výběžků v mPFC zvířat, která přežila 10 týdnů po SCI ( $29,11 \pm 3,84$ ).

V lamina-I mPFC zvířat skupiny Sham přežívajících 10 týdnů došlo ke zvýšení ( $p < 0,001$ ) intenzity GFAP imunofluorescence ( $27,76 \pm 3,98$ ) oproti hodnotám získaným u skupiny naivních zvířat ( $24,25 \pm 3,75$ ). Při srovnání s hodnotami zvířat kontrolní skupiny Sham ( $27,76 \pm 3,98$ ) nedošlo po SCI operaci ( $27,90 \pm 3,17$ ) ke statisticky významným změnám v intenzitě GFAP imunofluorescence. Zvýšení GFAP proteinu v mPFC zvířat skupiny Sham a SCI přežívajících 10 týdnů, projevující se zvýšenou intenzitou imunofluorescence, bylo potvrzeno western blot analýzou. Na rozdíl od výsledků obrazové analýzy, western blot prokázal zvýšení hladiny GFAP proteinu u zvířat po 10 týdnech od SCI ve srovnání se skupinou Sham.

### **Závěr:**

Obrazová analýza prokázala zvýšenou tvorbu výběžků a western blot analýza zvýšenou hladinu proteinu GFAP v astrocytech GLS mPFC jak pouze po chirurgickém přístupu k míše, tak i po kontuzi míchy. Tyto výsledky naznačují zvýšenou aktivaci astrocytů v mPFC, která může souviset s indukci a emočními projevy neuropatické bolesti vyvolané kontuzí míchy. Mechanismus aktivace astrocytů v mPFC po kontuzi míchy vyžaduje další experimenty. Zjištěná aktivace astrocytů GLS v mPFC se tak může stát cílem farmakologické terapie v léčbě neuropatické bolesti.

### **Poděkování:**

Práce byla podpořena projektem La MARATÓ de TV3 Foundation (201705.30.31), MUNI/A/1520/2020 a programem P-Pool.

## **Využití funkční analýzy jako doplňkového nástroje při analýze genu TP53 u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií**

**Gombíková Johana**

**Pavlová Šárka**

Interní hematologická a onkologická klinika Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno

**Klíčová slova:** p53, CLL, funkční analýza

### **Úvod:**

Defekty genu TP53 jsou významným prognostickým a prediktivním markerem pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL). Status TP53 je důležitý pro volbu léčby, pacienti s nefunkčním p53 profitují z léčby novými inhibitory. Interpretace variant nalezených u CLL je založena



na TP53-specifických databázích, v ojedinělých případech je třeba dalších metod k dořešení funkce variantního proteinu.

V rámci experimentu jsme ověřili schopnost proteinu p53 aktivovat transkripci cílových genů u variant s nejasným významem (VUS) a/nebo nepopsaných v TP53-databázích, které byly nalezeny v rámci rutinní diagnostiky CLL pacientů.

### **Metody:**

Funkční analýza separovaných alel v kvasinkách (FASAY) umožňuje odlišit varianty proteinu s narušenou schopností aktivovat transkripci cílových genů, které tvoří červené kolonie. Přítomnost variant p53 v červených (nefunkční p53) a bílých (funkční p53) koloniích byla následně ověřena Sangerovým sekvenováním. U pacientů byly zaznamenány údaje o léčebné odpovědi a výsledku vyšetření na přítomnost delece (17p) pomocí FISH.

### **Výsledky:**

Metodou FASAY jsme testovali: (1) tři varianty typu inzerce/delece se zachováním čtecího rámce (in-frame), (2) dvě varianty s možným vlivem na sestřih RNA, (3) tři germinální varianty označované jako VUS.

(1) In-frame inzerce/delece c.480\_485dup p.(Met160\_Ala161dup), c.513\_516delinsC p.(Glu171\_Val172delinsAsp) i c.329\_337del p.(Arg110\_Phe113delinsLeu) vedou ke vzniku červených kolonií, eliminují transaktivační funkci p53 a jsou patogenní.

(2) Varianta c.559+5G>A p.? vede k aberantnímu sestřihu. Varianta c.993G>T p.(Gln331His) měnící poslední nukleotid exonu 9 nebyla nalezena v bílých ani červených koloniích, pravděpodobně vede k defektu sestřihu a je odbourávána na úrovni RNA mechanismem nonsense-mediated mRNA decay.

(3) Germinální varianty c.847C>T p.(Arg283Cys) a c.760A>G p.(Ile254Val) dávají vznik bílým koloniím, nenarušují transaktivační funkci p53. Varianta c.472C>T p.(Arg158Cys) dala vznik růžovým koloniím, funkce p53 je narušena částečně.

### **Závěr:**

Přestože naprostou většinu variant TP53 nalezených u CLL pacientů lze interpretovat pouze na základě TP53-specifických databází, funkční test v kvasinkách představuje užitečný nástroj pro obtížně interpretovatelné varianty. Naše výsledky potvrzují, že zatímco somatické varianty nalezené u CLL jsou obvykle patogenní, germinální varianty mohou být funkční nebo mohou mít částečně zachovanou transaktivační schopnost.

### **Poděkování:**

Tato práce byla podpořena programem P-Pool, stipendijním programem MUNI/A/1595/2020 a grantem MZCR-RVO 65269705.

# Možnosti využitia Endoglinu ako biomarkeru u pacientov v septickom šoku

**Mýtniková Alexandra**

**Helán Martin, Hortová-Kohoutková Marcela, Frič Jan, Šitina Michal**

Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Anesteziologicko-resuscitační klinika, Nemocnice u sv. Anny, Brno, FNUSA – ICRC, Brno

**Klíčová slova:** endoglin, sepsa, septický šok, mortalita

## Úvod:

Sepsa je život ohrožujúci stav, vznikajúci v dôsledku neprimeranej reakcie organizmu na infekciu. Môže progredovať do septického šoku a syndrómu multiorgánového zlyhania, a je spojená s vysokou mortalitou. V odhade prognózy a odozvy na liečbu môže pomôcť sledovanie kinetiky určitých biomarkerov. Endoglin, glykoproteín exprimovaný na monocytoch a endoteliách ako koreceptor TGF- $\beta$ , je mediátor angiogenézy a účastní sa regulácie imunitných procesov behom zápalu. Jeho expresia sa zvyšuje behom hypoxie, endoteliálnej aktivácie a dysfunkcie, a jeho uvoľnená extracelulárna doména je v plazme detekovateľná ako solubilný endoglin (sEng). Naše predošlé pilotné dáta ukazujú, že hladina sEng by mohla byť významne zvýšená u pacientov v septickom šoku.

## Metody:

Do tejto prospektívnej štúdie bolo zaradených 42 pacientov v septickom šoku prijatých na Jednotku intenzívnej péče (JIP) Anesteziologicko-resuscitační kliniky Nemocnice u sv. Anny v Brně v priebehu rokov 2018–2019. Vzorky venózneho krvi boli pacientom odobrané v prvých 12 hodinách po prijatí, následne boli centrifugované a získaný supernatant bol skladovaný pri  $-80^{\circ}\text{C}$  až do zahájenia analýzy. Koncentrácia sEng bola zmeraná použitím Human Endoglin/CD105 Quantikine ELISA Kit. Namerané dáta boli následne štatisticky vyhodnotené pomocou Mann-Whitney testu vo vzťahu k 28-dennej mortalite a pomocou Spearmanovej korelácie. Výsledky sú prezentované ako medián (IQR).

## Výsledky:

Zahrnutú skupinu pacientov v septickom šoku ( $n=42$ ) tvorili prevažne muži (57,1%) s priemerným vekom 71,5 rokov (70,6; 72,5). Všetci pacienti boli mechanicky ventilovaní a SOFA skóre pri prijatí bolo 11 (3, 8). Najčastejším zdrojom sepse bola pneumónia (42%). Medzi skupinou prežívajúcich a neprežívajúcich pacientov (28dňová mortalita) neboli žiadne štatisticky významné rozdiely v počte a zastúpení komorbidít, pohlavia ani vstupného SOFA skóre. 28dňová mortalita bola 51%. Ani hladina sEng nebola štatisticky významne zvýšená u zomrelých ( $p=0,41$ ). Hladina sEng nekorelovala s anamnestickými a klinickými dátami (vek, pohlavie, komorbidity, SOFA, kreatinín, oxygenačný index, atď.). Zistili sme však koreláciu sEng s hladinou laktátu (korelačný koeficient = 0,628, respektive) a potrebnou dávkou katecholamínov (0,536). Hladina solubilného endoglinu sa líšila aj v závislosti od zdroja sepse. Urosepse, katérové sepse a infekcie mäkkých tkanív mali vyšší medián sEng než pneumónia, brušné a hrudné infekcie.

**Závěr:**

Naše výsledky ukazují, že solubilný endoglin nepredikuje mortalitu u pacientov v septickom šoku. Jeho plazmatická koncentrácia sa ale zvyšuje s rastúcou závažnosťou obehového zlyhania, respektíve mierou akútnej endotelovej dysfunkcie. Tento biomarker by preto mohol byť cenný k identifikácii pacientov, u ktorých je endoteliálna dysfunkcia dominantným patofyziologickým faktorom progresu sepse, a ktorí by teda profitovali z terapie cielenej týmto smerom.

**Poděkování:**

Práca bola podporená projektom AZV Ministerstva zdravotníctví ČR (NV18-06-00529) a v rámci programu Ppool, Masarykovy univerzity. Poďakovanie patrí MUDr. Martinu Helánovi, Ph.D., a Mgr. Marcelle Hortové-Kohoutkové, Ph.D., za ochotu, trpezlivosť a cenné predanie ich skúseností pri vedení tejto práce, a tiež všetkým kolegom, ktorí sa na nej podielali.

## **A novel tool to identify neuronal populations based on activity, light stimulation, and drug administration in vivo**

**Chovan Jorik**

Integrative Medical Biology, Umeå University

**Klíčová slova:** optogenetics, systems neuroscience, neurobiology

**Úvod:**

Neurons of the central nervous systems of mammals form specialized complexes according to their function. According to the 'engram theory' for example, the neurons responsible for memory storage and recall are grouped together to form functionally integrated complexes capable of executing a specific behavioural function. Even though current methods enable us to visualize these integrated neuronal circuits and manipulate the neurons within them, there are still limitations towards the temporal and spatial resolution of these methods.

**Metody:**

A major challenge for the systems neuroscience is to develop a more precise tool to tag neurons in their functionally dependent (sub-) populations in real-time and subsequently manipulate them. In this work, we have tried to address this challenge by testing a novel tool based on recent findings in optogenetics and molecular biology with a combination of light- and activity-dependent gene expression (Fast Light- and Activity- Regulated Expression, FLARE) and recombinase systems (Intronic Recombinase Sites Enabling Recombinatorial Targeting, INTRSECT) to tag and manipulate neurons coding information for physiological behaviour (somatic sensation in the murine somatosensory cortex). We attempted to induce expression of specific fluorescent reporters based on optical, tactile, and pharmacological stimulation with tamoxifen (TMX) and trimethoprim (TMP).

**Závěr:**

We have used a functional model of whisker stimulation combined with light stimulation under drug administration in mice to induce the expression of fluorescent reporters in the stimulated region. Moreover, following the quantification of the cells expressing the fluorescent reporters, we postulate that this stimulation protocol yields a statistically significant difference between the stimulated and the control hemisphere in mice.

**Poděkování:**

Many thanks go to my supervisor Sebastian Sulis Sato, PhD. as well as to Assoc. Prof. Per Petersson, the leader of our research team. I would also like to give thanks to other members of the research team, especially Luciano Censoni, PhD., who aided me with the analysis of the obtained data.

## **In vivo optical measurement of dopamine concentration**

**Školiaková Katarína**

Umeã Universitãt

**Úvod:**

Although being only a minor portion of all the brain cells, dopaminergic neurons mediate important functions of the brain. These neurons of substantia nigra are centrally affected in Parkinson's disease (PD), but the exact mechanism of it remains unclear. L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) serves as an effective treatment for the movement symptoms related to PD. L-DOPA, however, is believed to be the cause of L-DOPA-induced dyskinesia (LID), resembling the searing side effect of PD mediated by disruption of the dopamine (DA) system. Its basis is still unknown, with a possible role of DA involved. Thus, we studied DA in physiological and diseased mouse models using an artificial dopamine receptor dLight1.2.

**Metody:**

We examined the sensor's ability to serve as a possible tool to study the DA system in vivo real-time using 2-photon microscopy. A calibration on cell cultures was provided to obtain quantitative measurement of the fluorescence of the sensor in different DA concentrations. Then, a PD and LID unilateral rodent model was created by lesioning the animals with 6-OHDA with subsequent treatment with L-DOPA.

**Výsledky:**

dLight1.2 proved to be suitable for use in vivo. Our experiment in a freely-moving dyskinetic animal showed that the increase in DA concentration in the diseased hemisphere was higher and steeper than in the control hemisphere.

## **Závěr:**

This may emphasize the role of DA in the LID mechanism with further research needed to examine the role of DA dynamics dysregulation, compared to the healthy hemisphere.

## **Poděkování:**

Hereby I would like to firstly thank Sebastian Sulis Sato for his kind guidance through my stay. My thanks go also to Luciano Censoni for his patience and help. I would also like to thank Per Petersson for he kindly provided me with this opportunity. And I would like to also express my thanks to the whole Group Per Petersson in Umeå for being a very kind and stimulating environment.

# **Bioarteficiální 3D štěp pro meziobratlovou fúzi páteře**

## **Benák Leoš**

**Kučírek Martin, Kocanda Jan, Filipovič Milan, Sklenský Jan, Streit Libor, Veverková Lenka, Koutná Irena, Sedláková Veronika, Hampl Aleš, Drdlík Daniel, Šťastný Přemysl, Novotná Lenka, Částková Klára, Cihlář Jaroslav, Repko Martin**

Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Brno, Vysoké učení technické v Brně, CEITEC, Brno

**Klíčová slova:** bioarteficiální, meziobratlová fúze, hydroxyapatitový nosič, mikrovaskulární fragmenty (MVF), mesenchymální stromální buňky (MSC)

## **Úvod:**

Náhrada meziobratlové ploténky je v popředí vědeckých zájmů již desítky let. Současné možnosti nabízí autologní či allogenní štěpy nebo syntetické náhrady na bázi titanu, keramiky, popřípadě polyetereterketonu. Náš tým usiluje o vývoj bioarteficiálního materiálu disponujícího osteoinduktivními a osteokonduktivními vlastnostmi. Základem je hydroxyapatitový nosič vyrobený metodou přímého napěňování a 3D tiskem. Nosiče kolonizujeme lidskými mesenchymálními stromálními buňkami (MSC) a lidskými mikrovaskulárními fragmenty (MVF) pro navození osteogeneze a vaskulogeneze. Jak MSC, tak MVF izolujeme z lidské tukové tkáně získané liposukcí. Cílem projektu je vytvořit kolonizovaný štěp a tento následně testovat in vivo na zvířeti.

## **Metody:**

Nosiče vyrobené z hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého připravují kolegové z CEITEC VUT. Pro jejich výrobu využívají dvou přístupů - metodu přímého napěňování a 3D tisk. Z Kliniky plastické a estetické chirurgie Brno získáváme lidský lipoaspirát (na základě informovaného souhlasu pacienta), který následně využíváme pro izolaci MSC a MVF. Lipoaspirát zpracováváme sérií purifikačních kroků, po nichž následuje enzymatická digesce kolagenázou. Koncentrace enzymu a trvání digesce bylo přesně stanoveno tak, abychom izolovali jak buňky, tak intaktní segmenty cév. MSC a MVF jsou následně odděleny filtrací přes sítko s definovanou velikostí ok. MVF jsou náročné na kultivační podmínky. Stabilizace jejich struktury vyžaduje semi-solidní prostředí za současného působení vaskulárního media.

Semi-solidní prostředí vytváříme pomocí kolagenu, současné úsilí však směřujeme na hydrogely připravené z extracelulární matrix. V současnosti vyvíjíme postupy kolonizace nosičů oběma buněčnými komponentami, MSC i MVF. Buňkami kolonizované struktury následně analyzujeme mikroskopickými a imunofluorescenčními technikami.

### **Výsledky:**

Optimalizací jednotlivých kroků zpracování lipoaspirátu jsme dospěli k vysoké výtěžnosti u obou buněčných komponent, MSC i MVF. V současnosti dokážeme izolovat cca 4 miliony MSC a 30-40 000 MVF ze 100 ml lipoaspirátu. Izolované MVF si zachovávají očekávaný fenotyp, jak jsme doložili expresí CD31 a Von-Willebrandova faktoru. Potvrdili jsme značnou nestabilitu MVF v podmínkách 2D kultury, a jejich neschopnost dlouhodobého přežívání za těchto podmínek. Naopak kultivace MVF v semi-solidním prostředí vedla již po dvou dnech k jejich pozorovatelnému větvení a vzájemnému propojování.

Významně jsme pokročili ve vývoji a ověření postupů kolonizace obou typů nosičů (napěňovaných, připravených 3D tiskem) lidskými MSC. Morfometrická analýza ukazuje, že buňky do pórů v nosičích dobře prostupují a velmi homogenně jimi prorůstají, při respektování morfologie nosičů.

### **Závěr:**

Koncepce nosiče vyrobeného z hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého simuluje anorganickou hmotu kostní tkáně, která ve spojení s MSC a MVF dosahuje vysoké míry osteogeneze a vaskulogeneze. Takto připravený štěp představuje slibný osteoinduktivní a osteokonduktivní materiál, jehož charakter budeme zkoumat nejen v in vitro podmínkách, ale i v in vivo modelu.

### **Poděkování:**

Projekt byl podpořen prostředky z projektu Agentury pro zdravotnický výzkum MZ ČR (NU20-08-00402), z projektu Specifického výzkumu MU (MUNI/A/1689/2020) a programem P-Pool (Leoš Benák).1/Teoretická a preklinická sekce/9

# Expres chemokinů CCL2 a CX3CL1 a jejich receptorů v choroidálním plexu po indukci subarachnoidálního krvácení

Bareš Martin

Solár Peter, Zamani Alemeh, Joukal Marek

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Anatomický ústav

**Klíčová slova:** Subarachnoidální krvácení, choroidální plexus, chemokiny

## Úvod:

Subarachnoidální krvácení (SAK) je život ohrožující typ hemoragické cévní mozkové příhody způsobený rupturou vakovitého aneurysmatu. V průběhu SAK dochází k vylití krve do subarachnoidálního prostoru vyplněného likvorem a akutnímu zvýšení intrakraniálního tlaku (ICP). Jednou z hlavních komplikací SAK je aseptický zánět CNS spojený s rozvojem hydrocefalu. V našich předešlých výkumech jsme prokázali dynamické zvýšení počtu imunitních buněk choroidálního plexu (CP) v odpovědi na SAK a také na zvýšení nitrolebního tlaku, avšak přesný mechanismus zvýšení počtu imunitních buněk není znám. Naším cílem bylo proto vyhodnotit úlohu CCL2 a CX3CL1 a jejich receptorů, společně s TNF $\alpha$  po indukci SAK a aplikace arteficiálního mozkomíšního moku (ACSF).

## Metody:

Experimenty byly provedeny na potkanech rodu Wistar ( $n=56$ ; samci; 250–300 g). V hluboké intraperitoneální anestézii (směs 100 mg/kg ketamin a 8mg/kg xylazin) bylo zvířatům aplikováno 200  $\mu$ l neheparinizované arteriální autologní krve odebrané z arteria caudalis (skupina SAK) nebo 200  $\mu$ l arteficiálního mozkomíšního moku (skupina ACSF). Po 1, 3 nebo 7 dnech byla zvířata skupiny SAK a ACSF usmrcena inhalací CO<sub>2</sub> společně s intaktními potkany.

Na kryostatových koronálních řezech mozkiem o tloušťce 20  $\mu$ m byla provedena nepřímá imunohistochemická detekce CCR2, CCL2, CX3CR1, CX3CL1 a TNF $\alpha$ . Řezy byly vyhodnoceny ve fluorescenčním mikroskopu. Následně byla provedena kvantifikace počtu CCR2+, CX3CR1+ buněk a intenzity CCL2, CX3CL1 v CP.

## Výsledky:

Expres CX3CL1, CCL2 a TNF $\alpha$  byla pozorována v epiteliálních buňkách CP, zatímco expres CCR2 a CX3CR1 byla prokázána v epiplexálních buňkách CP.

Statisticky signifikantní zvýšení počtu CCR2 pozitivních buněk bylo pozorováno 3, 7 a 14 dnů po aplikaci krve ve srovnání s intaktními zvířaty, zatímco aplikace ACSF vyvolává signifikantní zvýšení počtu CCR2+ buněk po 3 a 14 dnech. K statisticky signifikantnímu zvýšení počtu CX3CR1 pozitivních buněk došlo 3 dny po indukci SAK. Statisticky signifikantní zvýšení intenzity imunofluorescence CX3CL1 bylo prokázáno 7 a 14 dnů po indukci SAK, zatímco po aplikaci ACSF bylo statisticky signifikantní zvýšení intenzity CX3CL1 po 1, 3 a 7 dnech. Neprokázali jsme signifikantní změny intenzity imunofluorescence CCL2. Expres TNF $\alpha$  byla signifikantně zvýšena 3 a 7 dnů po indukci SAK i aplikaci ACSF.

**Závěr:**

Naše výsledky prokázaly, že SAK vyvolává zánětlivou reakci CP spojenou s produkcí chemokinů CCL2, CX3CL1, expresí prozánětlivého cytokinu TNF $\alpha$  a invazí CCR2+ a CX3CR1+ buněk v CP. Tyto změny jsou způsobené nejen přítomností krve a rozpadových produktů hemoglobinu, ale také zvýšeným intrakraniálním tlakem.

**Poděkování:**

Vřelé poděkování technickým pracovníkům Martě Lněničkové, Janě Vachové a Lumíru Trenčanskému.

## Monitorování zdravotního stavu vybrané skupiny dětí a adolescentů v obezitologické ambulanci

Rafčíková Natálie

Nováková Zuzana, Šťastná Jana, Dostalová Kopečná Lenka

Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Ambulance dětské obezitologie, Pediatriká klinika, Dětská nemocnice Brno

**Klíčová slova:** dětská obezita, body mass index, lipidové spektrum, vitamin D

**Úvod:**

Dětská obezita se v průběhu posledních let stala závažným problémem veřejného zdraví nejen v České republice, ale na celém světě. V současné době je jedno z 6 dětí v České republice postiženo nadváhou nebo obezitou. Závažnost rostoucí prevalence dětské obezity spočívá zejména ve vzniku komorbidit, které se dříve řadily mezi onemocnění spíše osob dospělých, včetně diabetes mellitus 2. typu, dyslipidémie a esenciální hypertenze. Cílem práce bylo zhodnocení zdravotního stavu náhodně vybrané skupiny dětských a dospívajících pacientů obezitologické ambulance, a sice z hlediska antropometrických ukazatelů a laboratorních hodnot lipidového spektra a vitamínu D.

**Metody:**

Ve spolupráci s obezitologickou ambulancí Dětské nemocnice Brno bylo vybráno 30 pacientů (15 chlapců a 15 dívek) ve věku 8 až 18 let s hodnotou body mass indexu (BMI) při vstupní kontrole 30 kg/m<sup>2</sup> a vyšší. Pacienti poté navštěvovali ambulanci v pravidelných kontrolách po čtvrt až půl roce. Retrospektivně byly získány jejich antropometrické parametry (hmotnost, výška, obvod pasu, obvod boků) a laboratorní výsledky (lipidové spektrum, vitamin D) a ty byly poté statisticky zpracovány.

**Výsledky:**

Při hodnocení vývoje BMI jednotlivých pacientů v průběhu návštěv obezitologické ambulance jsme zjistili, že v prvním roce sledování se hodnoty významně neměnily, ale po jednom roce došlo ke statisticky významnému snížení BMI ( $p < 0,05$ ). Po 2 a více letech však i přes pravi-



delné kontroly a poučení pacienta i rodičů o možných rizicích dětské obezity má BMI tendenci znovu stoupat. Po třech letech došlo znovu ke statisticky významnému nárůstu BMI oproti první kontrole ( $p < 0,01$ ). Průměrné koncentrace celkového cholesterolu a LDL cholesterolu se významně nelišily od zdravé populace, zato koncentrace triacylglycerolů a HDL cholesterolu byly u naší skupiny obézních dětí téměř čtyřikrát vyšší než jsou průměrné hodnoty dětské populace v České republice. Při hodnocení sérových koncentrací 25-hydroxycholecalciferolu spadala pouze třetina dětí do fyziologického intervalu.

### **Závěr:**

Dětská obezita a její rizika představují velice komplexní problematiku k široké diskusi. Z retrospektivně získaných dat lze uzavřít, že i přes návštěvu obezitologické poradny, poučení pacientů a i přes prvotní snížení hodnoty BMI, v dlouhodobém měřítku nedochází k významnému zlepšení zdravotního stavu obézních dětí a dospívajících. U obézních dětí dochází k významnému zvýšení koncentrací triacylglycerolů a naopak snížení koncentrací HDL cholesterolu v krvi. Je zásadní zaměřit se na suplementaci vitamínu D.

### **Poděkování:**

Tato studie vznikla v rámci projektu Specifického výzkumu Masarykovy univerzity „Kardiovaskulární systém: od iontového kanálu k celotělovému modelu“ MUNI/A/1246/2020 a v rámci studentského vědeckého programu P-Pool.

Poděkování také patří vedoucím lékařkám obezitologické ambulance – MUDr. Lence Dostalové Kopečné, Ph.D., a MUDr. Janě Šťastné, Ph.D.

# Klinická sekce – chirurgické obory

## Effectiveness of prophylactic mastectomy

**Kanuščák Kristián**

**Feiková Kateřina, Bohušová Michaela, Strmiska Ondřej**

Klinika plastické a estetické chirurgie FN u sv. Anny v Brně a LF MU

**Klíčová slova:** prophylactic mastectomy, risk reducing mastectomy, effectiveness, breast cancer, incidence

### **Úvod:**

Breast cancer (BC) is the most common malignancy in women worldwide with growing incidence rate. Several strategies have been developed for management of risk, but the surgical intervention, prophylactic mastectomy (PM), seems to be the most effective tool in the primary prevention of BC, although opinions on this issue differ in the medical community. The aim of this article is to evaluate the effect of PM on the incidence of BC in cohort of patients who underwent PM.

### **Metody:**

The cohort set consists of patients who underwent prophylactic mastectomy at the department between 1999 and 2019. Patients with no history of BC who underwent bilateral PM and patients with history of contralateral PM were included in the study. The method of obtaining information consisted of two parts: retrospective- analysis of medical records and evaluation of an output questionnaire completed by patients. The outcomes were analyzed statistically.

### **Výsledky:**

The cohort set includes 544 patients who underwent totally 749 PM. The mean age of the patients at the time of surgery was 43.3 years (age range, 21-70). The mean BMI was 25.6 (BMI range, 15.8-43.6). 337 (62.1%) patients underwent contralateral prophylactic mastectomy and 206 (37.9%) bilateral prophylactic mastectomy. Average follow-up was 6 years and 7 months (date range, 5 months - 25 years and 4 months). 244 patients were BRCA1 positive, 114 BRCA2 positive and 26 had another genetic mutation that increases the risk of breast cancer. The questionnaire was responded by 430 patients (79.0%). From the cohort of patients, we identified 7 newly developed cases of BC after PM (0.9%) in a mean follow-up period of 6 years and 7 months. Furthermore, we retrospectively revealed accidental detection of BC on histological examination in the specimen after PM in 2 patients (0.3%).

**Závěr:**

In our study, the significant effectiveness of prophylactic mastectomy in reducing the risk of breast cancer was demonstrated. From 749 performed surgeries, 7 new cases of tumor were detected on the nonaffected side at the time of follow-up. Limitation of our study is incomplete questionnaire response, which can skew results. Prospective clinical studies are needed in this field.

**Poděkování:**

Thanks to doc. Streit and dr. Berkeš for the opportunity to participate at the project and for gaining new skills.

## Objektivizace výsledků rekonstrukce nosu antropometrickým měřením s využitím 3D skenování

**Frait František**

**Dvořák Zdeněk, Kubát Martin, Hudcová Lucie, Kubek Tomáš**

Klinika plastické a estetické chirurgie FN u sv. Anny a LF Masarykovy univerzity, Klinika operační onkologie MOÚ Žlutý kopec, Masarykova univerzita

**Klíčová slova:** antropometrie, rekonstrukce nosu, 3D skenování, objektivizace, klinická praxe

**Úvod:**

Při rekonstrukci nosu je cílem pacientovi obnovit nejen funkci nosu, ale současně zajistit i dostatečný estetický výsledek rekonstrukce. Zejména estetický výsledek operace je často obtížně hodnotitelný, ale pro pacienta zásadní. Většina studií zabývajících se výsledky rekonstrukcí nosu hodnotí výsledky operace pomocí dotazníkových studií, subjektivním hodnocením nezávislou skupinou, či náročným antropometrickým měřením. 3D technologie na nových typech smartphonů je nová neinvazivní rychlá metoda, která za pomoci různých aplikací umožňuje naskenování tvaru nosu, výsledek archivovat a dále virtuální model analyzovat. Totéž zajišťují i profesionální scannery, které disponují nejen vysokou přesností, ale i částečným automatickým vyhodnocením.

**Metody:**

Do sledovaného souboru byli zahrnuti pacienti, kteří podstoupili v období od 1. 1. 2016 do 1. 1. 2020 komplexní rekonstrukci nosu pro transmurální defekt, tedy rekonstrukci všech chybějících 3 vrstev nosu. Celkem bylo zařazeno 17 pacientů, 12 mužů a 5 žen. U nich bylo provedeno klasické antropometrické měření nosu dle Farkaše (posuvným milimetrovým měřítkem a úhloměrem) s hodnocením 9 vertikálních a 9 horizontálních měření společně s vyhodnocením 5 úhlů nosu a obličeje. Kromě klasického měření byla data získána i pomocí 3D skenování novým typem smartphonu iPhone 12 v aplikacích FaceApp a Face Maker. Zároveň též pacienti podstoupili profesionální skenování obličeje na skeneru Vectra H2 ve spolupráci s Klinikou

operační onkologie Masarykova onkologického ústavu na Žlutém Kopci. Jednotlivé antropometrické rozměry byly na virtuálních modelech naměřeny autorem pomocí programu Blender.

### **Výsledky:**

Nejpřesnější měření a částečné automatické vyhodnocení antropometrických rozměrů nosu zajistil 3D skener Vectra H2, jehož přesnost měření se pohybuje v rámci desetin mm. Standardní odchylka měření byla x. Mobilní aplikace umožňující skenování obličeje se ukázaly jako dostatečně přesné pro orientační antropometrické měření, jejich standardní odchylky (SD2 a SD3) byly srovnatelné. Jako nejméně přesné se ukázalo klasické měření posuvným měřítkem na pacientovi, SD4 byla y. Naměřené veličiny se pohybovaly v mezích přirozených hodnot pro oblast nosu dle Farkaše.

### **Závěr:**

3D skenování zajišťuje kvalitní virtuální dokumentaci dosaženého výsledku rekonstrukce nosu, jedná se o kvalitní objektivní nástroj, ke kterému se lze opakovaně vracet a srovnávat i retrospektivně různé nově stanovené veličiny. 3D skenování je neinvazivní, rychlé, pacienta nijak nezatěžující a i aplikace pro mobilní telefon disponují dostatečným rozlišením pro klinickou praxi, které se navíc stále znatelně zlepšuje, což výrazně zvyšuje praktické využití tohoto nového objektivního nástroje.

### **Poděkování:**

Poděkování patří zejména mému školiteli MUDr. Zdeňku Dvořákovi, Ph.D., a spoluautorovi MUDr. Martinu Kubátovi, kteří mne na KPECH FNUSA intenzivně provázeli problematikou a ochotně pomáhali při vlastní metodice, či zpracování výsledků. Dále děkuji Bc. Lucii Hudcové a MUDr. Tomáši Kubkovi, Ph.D., z KOO MOÚ za důležitou pomoc při zpracování a zisku dat, či poskytnutí potřebného vybavení a prostor.

## **Srovnání technik chirurgické léčby stresové inkontinence**

**Horváth Ivan**

**Huser Martin**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Gynekologicko-porodnická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno

**Klíčová slova:** stresová inkontinence, síťové implantáty, dlouhodobé výsledky léčby

### **Úvod:**

Stresová inkontinence je sociálním a hygienickým problémem, kdy intravezikální tlak převýší tlak intrauretrální i bez současného stahu močového měchýře, a následuje mimovolní únik moči. V chirurgické léčbě využívá moderní medicína syntetické pásky umístěné pod střed uretry. Starším typem je transobturatorní vaginální páska vedena přes uterovaginální septum skrze foramen obturatum a konečně kůží podbřišku (TOT-inside-out). Technika je efektivní, ale její hlavní nevýhodou je pooperační bolest v tříslech. Tomu se snaží vyhýbat mini-invazivní

pásky zaváděné z jedné vaginální incize – single incision sling (SIS), které se ukotvují v obturační membráně. Efektivita novějších pásek typu SIS je nyní intenzivně diskutována v různých studiích.

### **Metody:**

Za cíl naší práce jsme si kladli porovnat dlouhodobou efektivitu léčby technikami TOT a SIS. Nábor pacientek do této nezaslepené prospektivní randomizované studie probíhal v období od ledna 2015 do prosince 2019. Stresová inkontinence byla potvrzená únikem moči při kašlacím testu. Na subjektivní posouzení kvality života byl použit dotazník ICIQ-SF (International Consultation of Incontinence Questionnaire - Short Form). Po randomizaci byla jedna skupina pacientek operována technikou TOT chirurgickým kitem inside-out Gynecare TVT Obturator System (Ethicon) a druhá pomocí postupu SIS kitem Ophira (Promedon).

Úspěšnost operace byla vyhodnocována s odstupem čtyř let. Objektivní vyléčení bylo konstatováno při absenci inkontinence při kašlacím testu. V subjektivním hodnocení byl znovu použit dotazník ICIQ-SF a obecná stupnice spokojenosti pacienta s léčbou (Patient Global Impression of Improvement - PGI-I). Subjektivní hodnocení urgentní inkontinence bylo hodnoceno pomocí standardizované stupnice Patient Perception of Intensity of Urgency Scale (PPIUS). Ke statistické analýze byly použity Fisherův exaktní test a Mannův-Whitneyho test.

### **Výsledky:**

Ze souboru 168 vybraných pacientek bylo randomizováno 84 do SIS a 84 do TOT skupiny. V obou skupinách nebyli dle Mannův-Whitneyho testu významné rozdíly v subjektivním hodnocení kvality života, průměrném věku, BMI a ani paritě pacientek. V žádné skupině se nevykly závažné intraoperační komplikace. Po čtyřech letech bylo vyhodnoceno 64 pacientek v skupině TOT a 66 u SIS. Objektivní zlepšení stavu bylo konstatováno u 83,1% v TOT skupině a u 86,4% v SIS skupině. Subjektivní spokojenost uvedlo dle PGI-I 80,0% v TOT a 83,3% u SIS techniky. Dle Fisherova testu byl objektivní ( $p=0,635$ ) i subjektivní ( $p=0,657$ ) výsledek operace u mini-invazivní SIS srovnatelný s výsledkem TOT. Subjektivní zlepšení v dotazníku ICIQ-SF bylo v obou souborech obdobné (průměrně o 11,4 bodu u TOT a 11,6 bodu u SIS). Závažnost urgentní inkontinence dle PPIUS v obou souborech byla rovněž nízká.

### **Závěr:**

Novější operační technika páskou z jedné vaginální incize SIS Ophira (Promedon) ve svém souboru pacientek dosáhla vysoké objektivní i subjektivní výsledky, srovnatelné se systémem TVT Obturator System (Ethicon). Tato uspokojivá efektivita je předpokladem dalšího rozšíření využití techniky SIS v terapii stresové inkontinence.

### **Poděkování:**

Práce vznikla za podpory Ministerstva zdravotnictví ČR - RVO č. FNBr 65269705.

# Pooperační poruchy dýchání ve spánku s užitím různých typů anestezie – observační studie

**Veronika Hándlová, Lukáš Růžek, Ludmila Tušínovská, Milan Jelínek, Tomáš Tomáš, Vladimír Šrámek, Ondřej Ludka, Lyle J. Olson, Ivan Čundrle**

Anesteziologicko-resuscitační klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, I. ortopedická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Department of Cardiovascular Diseases, Mayo Clinic, Rochester

**Klíčová slova:** obstrukční spánková apnoe, anestezie, perioperační péče, poruchy dýchání ve spánku

## Úvod:

Obstrukční spánková apnoe (OSA) je nejčastějším typem poruchy dýchání ve spánku (SDB) a je charakterizována opakovanou obstrukcí horních cest dýchacích. V pooperačním období dochází k exacerbaci OSA a tím i ke zvýšení pooperační morbidita a mortality. Benzodiazepiny, anestetika či opioidy snižují ventilační odpověď a zvyšují riziko kolapsu horních cest dýchacích. Z tohoto důvodu se užitím regionální anestezie pravděpodobně může předejít exacerbaci OSA po operaci, avšak toto tvrzení doposud není podloženo klinickými důkazy. Předpokládali jsme, že pooperační exacerbace SDB je vázána na typ užití anestezie.

## Metody:

Podmínkou pro zařazení do této prospektivní observační studie byla ortopedická operace vyžadující podání anestezie. Vícekanálová polygrafická vyšetření byly u pacientů prováděny jednu noc před výkonem a 4 následující noci po operaci. Studie obsahovala souběžně záznam z nazálního termosenzoru a měření průtoku vzduchu nosem, hrudní a břišní indukční pletysmografie, měření saturace krve kyslíkem, záznam chrápání a EKG. Spánkové studie byly hodnoceny certifikovanými spánkovými technikami zaslepenými typu žité anestezie. Ke statistické analýze byl využit Kruskal-Wallisův test a Friedmanova ANOVA. Výsledky byly považovány za statisticky významné při hodnotě  $p < 0.05$ . Data byla prezentována jako medián (IQR).

## Výsledky:

Do studie bylo zařazeno celkem 80 pacientů (45 předčasně ukončilo studii). 35 pacientů, kteří studii dokončili byli porovnáni v závislosti na typu anestezie. 1) celková anestezie (GA) ( $n=11$ ), 2) subarachnoidální anestezie s intratekálně podávaným morfinem (SAA+IM) ( $n=11$ ) a 3) subarachnoidální anestezie s epidurálním katetrem pro pooperační analgezii (SAA+EPI) ( $n=13$ ). OSA (apnea hypopnea index  $\geq 5$ ) byla diagnostikována již předoperačně u 22 (63 %) z 35 pacientů. Ve skupině GA se hypopnea významně zvýšila třetí a čtvrtou pooperační noc. Ve skupině SAA+IM se hypopnea a desaturační index snížily významně první noc po operaci a naopak zvýšily třetí a čtvrtou noc po operaci stejně jako apnea hypopnea index (vše  $p < 0.05$ ). Ve skupině SAA+EPI nedošlo k žádným významným změnám s ohledem na parametry SDB. Ve skupině SAA+EPI byla celková dávka opioidů (za 5 dnů) významně nižší v porovnání jak se skupinou GA, tak se skupinou SAA+IM.

### **Závěr:**

V porovnání s předoperačním nálezem byly změny v parametrech SDB méně význačné u pacientů, u kterých byla užitá subarachnoidální anestezie s epidurálním katetrem pro postoperační analgezií (bez intrathekálního morfinu). Opioidy šetřící anestezie by mohla být užitečná pro pacienty s již diagnostikovanou či suspektní obstrukční spánkovou apnoí.

### **Poděkování:**

Děkuji doc. MUDr. Ivanovi Čundrlemu Jr., Ph.D., za nabídku spoluúčasti na tomto projektu a děkuji za odborné vedení a podporu jak doc. MUDr. Ivana Čundrleho Jr., Ph.D., tak MUDr. Lukáše Růžka, Ph.D. Díky patří všem lékařům, zdravotnickým pracovníkům a pacientům, kteří se na této studii podíleli.

# **Analýza vrstvy nervových vláken a gangliových buněk sítnice pomocí optické koherenční tomografie u pacientů s glaukomem**

**Pešová Natálie**

**Skorkovská Karolína**

Masarykova univerzita

**Klíčová slova:** Optická koherenční tomografie, glaukom, analýza vrstvy nervových vláken sítnice, analýza gangliových buněk sítnice

### **Úvod:**

Optická koherenční tomografie (OCT) patří mezi moderní zobrazovací metody v oftalmologii. Používá se zejména pro diagnostiku a sledování onemocnění makuly, při podezření na glaukom se využívá analýza vrstvy nervových vláken sítnice (RNFL) v peripapilární oblasti. Nově je součástí softwaru analýza gangliových buněk sítnice (GCC), která hodnotí tloušťku vnitřních vrstev sítnice v makulární oblasti a měla by poskytovat další pomůcku při rozpoznání glaukomové neuropatie. Na jednu stranu může kombinace měření peripapilárně a v makule zlepšit diagnostické schopnosti OCT u glaukomu, na druhou stranu narůstající počet OCT parametrů může vést k rozdílným výsledkům jednotlivých analýz a ztěžovat interpretaci vyšetření.

### **Metody:**

Do studie bylo zařazeno 10 pacientů s glaukomem a 10 zdravých osob. U všech subjektů ve studii bylo provedeno OCT vyšetření tloušťky RNFL a GCC analýza. Schopnost obou metod rozlišit zdravé osoby od pacientů s glaukomem bylo hodnocena pomocí ROC křivek. U vyšetření tloušťky RNFL jsme pro statistické zpracování použili hodnoty tloušťky vrstvy nervových vláken sítnice ze 4 kvadrantů (nasální – N, temporální – T, horní – S, dolní – I) a average RNFL thickness. Pro GCC analýzu jsme hodnotili tloušťku vrstvy gangliových buněk sítnice v 6 sekundách a average GCL + IPL Thickness.

### **Výsledky:**

Hodnoty se pro skupiny zdravé a s glaukomem liší absolutně a bez výjimky. Vyšetření tloušťky RNFL i GCC analýza mají ROC křivku zcela ideální, z hlediska diagnostiky glaukomu jsou tedy obě metody jsou perfektním klasifikátorem, mají 100 % specifitu i senzitivitu. Mírně odlišné výsledky je možné pozorovat při sestavení ROC křivek pro jednotlivé měřené facety u obou metod. U ROC křivky pro jednotlivé facety vyšetření tloušťky RNFL je zjevné, že nejlepší výsledky z hlediska schopnosti klasifikace jsou v případě S (horní) a I (dolní). Facety N (nasální) a T (temporální) podávají výsledky slabší. Na ROC křivce pro jednotlivé facety GCC analýzy vidíme, že z hlediska schopnosti klasifikace jsou všechny facety v podstatě srovnatelné. Mírně slabší výsledky predikce jsou v segmentu Nahoře a Vpravo nahoře. Rozdíly jsou však u jednotlivých měřených facet minimální.

### **Závěr:**

Porovnali jsme vyšetření tloušťky RNFL a GCC analýzu u pacientů s glaukomem a zdravých osob. Obě metody vyšetření tloušťky RNFL i GCC analýza dokážou jednoznačně odlišit pacienty s glaukomem od zdravých. Obě metody vykazovaly 100 % specifitu i senzitivitu a můžeme tedy konstatovat, že obě metody jsou si z tohoto hlediska rovnocenné. Po sestavení ROC křivek pro jednotlivé měřené facety vidíme, že metody vykazují mírně odlišné výsledky. U analýzy GCC jsme zjistili, že hodnoty facet vykazují navzájem menší rozdíly, mírně slabší výsledky predikce jsou v horním segmentu. U vyšetření tloušťky RNFL jsme zjistily, že největší senzitivitu má z měřených facet pro diagnostiku glaukomu horní (S) a dolní (I) sektor na papile.

### **Poděkování:**

Chtěla bych poděkovat paní doc. MUDr. Karolíně Skorkovské, Ph.D., za odborné vedení práce, její čas a všechny rady. Velké díky patří panu PhDr. Petru Květonovi za statistické zpracování studie. Ráda bych poděkovala pacientů za ochotu účastnit se této studie. V neposlední řadě patří poděkování také personálu Glaukomové poradny ve FN u sv. Anny za poskytnutí a pomoc při získávání klinických dat.

## **Pilotní výsledky studie porovnávání mechanických vlastností flexorů ruky konzervovaných a čerstvých kadáverů**

**Šácha Tom**

**Menoušek Jan, Dvořák Zdeněk, Návrat Tomáš, Vosynek Petr, Bradáčová Marie, Nečasová Blanka, Nosavcovová Eva**

Masarykova univerzita – Lékařská fakulta, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně – Klinika plastické a estetické chirurgie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně – Klinika tělovýchovného lékařství a rehabilitace, Vysoké učení technické v Brně – Ústav mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky

**Klíčová slova:** kadaver, flexor, ohýbač, dupuytrenova, kontraktura, chirurgie ruky, mechanické vlastnosti



## **Úvod:**

Flexorový aparát ruky a předloktí představuje nejvíce mechanicky pevnou a odolnou vazivovou součást ruky. Lze ho tedy využít jako základní referenční tkáň k stanovení pevnosti ostatních vazivových struktur ruky. Cílem studie tedy bylo jednak stanovit mechanickou odolnost flexorů vůči sobě vzájemně a jednak porovnat mechanické vlastnosti šlach z čerstvých kadáverů oproti mechanickým vlastnostem šlach odebraných z konzervovaných preparátů, které jsou dostupnější a naměřené hodnoty validizují robustnost budoucích studií, které budou využívat konzervované preparáty při zjišťování mechanických vlastností ostatních vazivových struktur ruky.

## **Metody:**

Při anatomické pitvě na Anatomickém ústavu LF MU byly odebrány flexory prstů: 1. z čerstvých kadáverů; 2. z konzervovaných kadáverů. Celkem do studie bylo zařazeno 45 čerstvých flexorových šlach a 40 konzervovaných. Flexory byly na Anatomickém Ústavu LF MU ihned po vyjmutí z kadáverů jednotlivě označeny štítky s identifikačním číslem a do přiloženého protokolu zapsány hodnoty průměru šlach na obou koncích a v polovině délky. Poté byly poskytnuty výzkumné laboratoři Ústavu mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky, FSI VUT v Brně, kde následovalo před provedením zkoušky pevnosti přeměření. Naměřené hodnoty byly navzájem porovnány a v případě většího rozdílu než 1 mm došlo k přeměření vzorků. Následovalo zjišťování tahové křivky a mezi pevnosti flexorů z čerstvých a konzervovaných kadáverů na trhacím stroji.

## **Výsledky:**

V rámci studie se doposud podařilo vyhodnotit 40 flexorů z konzervovaných kadáverů, přičemž průměrná pevnost byla 44,27 MPa. Maximální pevnost dosahovala hodnot 94,6 MPa a nejnižší 18,7 MPa. Dále 45 flexorů z čerstvých kadáverů, jejichž průměrná hodnota pevnosti činila 50,59 MPa s maximem na hodnotě 113,3 MPa a minimem na 24,7 MPa. Z hlediska srovnání pevnosti jednotlivých flexorů vůči sobě, nejsilnější šlachou je povrchový flexor V. prstu, který má průřez od 0,98 do 4 mm<sup>2</sup> a jehož průměrná pevnost je 69,2 MPa. Nejslabší šlachou je naopak povrchový flexor III. prstu, který má průřez od 7,0 do 15,3 mm<sup>2</sup> a jehož průměrná pevnost je 32,4 MPa. Dále byla stanovena pevnostní křivka flexorových šlach v závislosti na jejich průměru.

## **Závěr:**

Z uvedených hodnot vyplývá, že škála pevnosti flexorů z konzervovaných kadáverů a čerstvých kadáverů je poměrně značně široká, přičemž průměrné hodnoty jsou si na tolik blízké, že z praktického hlediska lze do budoucna k testování využívat snadněji dostupné konzervované preparáty. Naměřené výsledky mají praktický dopad, jednak ve stanovení minimálního průměru šlachy nutné k její funkci u daného svalu, která bezpečně odolá síle jeho tahu a jednak budou dále sloužit například k porovnání mechanických vlastností kontrahujících pruhů u Dupuytrenovy kontraktury. Tímto způsobem zjistíme případnou variabilitu v dané oblasti s možným praktickým dopadem na léčbu tohoto onemocnění.

## **Poděkování:**

Doc. MUDr. Markovi Joukalovi, Ph.D., za poskytnutí kadáverů k výzkumu a doc. Ing. Tomášovi Návratovi, Ph.D., za provedení mechanické části studie a její vyhodnocení. Práce byla podpořena GSV 2021 č. FNDN\_IP21IPV16AXA\_PN, 01699800.

# Vývoj dotazníku pro evaluaci subjektivního hodnocení výsledku rekonstrukce nosu

**Křenková Vlasta**

**Hudcová Lucie**

Klinika plastické a estetické chirurgie FN U sv. Anny, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Ekonomicko-správní fakulta Masarykovy univerzity

**Klíčová slova:** dotazník, rekonstrukce nosu, plastická chirurgie, subjektivní hodnocení

## Úvod:

Obličej je důležitý komunikační nástroj. Jeho defekty a deformity negativně ovlivňují kvalitu života pacientů v sociální oblasti. Proto cílem každé rekonstrukce v obličeji je i snaha o dobrý estetický výsledek. Lepších výsledků lze dosáhnout s vícefázovou rekonstrukcí nosu dle moderních principů, jejíž průběh je nicméně pro pacienta náročnější než u metod předchozích. Bylo diskutováno, zda má rekonstrukce pro pacienty skutečně pozitivní přínos i přes potíže s ní spojené. K objektivizaci výsledků rekonstrukce nosu z pohledu pacienta ale nebyl doposud etablován žádný dotazník, který by dostatečně zohlednil důležité aspekty této léčby. Cílem práce je tento dotazník vytvořit a testovat jeho validitu.

## Metody:

Na základě literatury byl vytvořen pilotní dotazník, který byl testován na pěti pacientech. Na základě jejich odezvy, zhodnocení statistikem a po konzultaci psychologa byl vytvořen sekundární dotazník, který byl zaslán 39 pacientům, kteří v letech 2016 až 2020 podstoupili rekonstrukci nosu. Po 2 urgencích došlo zpět 34 dotazníků (87,2 %). Na základě matematické a statistické analýzy testovaných otázek byl vytvořen definitivní dotazník.

## Výsledky:

Finální soubor pacientů obsahoval 16 žen (47 %) a 18 mužů (53 %). Průměrný věk respondentů byl 69 let (17-88 let). Dotazník je strukturován do 6 kategorií A až F – obecné údaje o pacientovi, estetický výsledek, funkčnost a stabilita rekonstruovaného nosu, průběh léčby, sociální a psychologické dopady před rekonstrukcí nosu a po ukončení léčby, celková spokojenost s rozhodnutím. Je využita zejména pětibodová hodnotící škála. Finální dotazník obsahuje pouze statisticky významné dotazy, u kterých p-hodnota vycházela nejméně na hladině významnosti 10 % a výš ( $p \leq 0,1$ ). Koeficient determinace pro jednotlivé kategorie vyšel značně vysoký ( $>0,9$  u kategorií B, D, E) a ( $> 0,8$  u kategorie C).

## Závěr:

Vytvořený dotazník umožňuje objektivizovat celkovou spokojenost pacientů s výsledky rekonstrukce nosu. Pomocí statistické analýzy lze určit konkrétní aspekty léčby, které mají na výslednou spokojenost kritický vliv. Dotazník poskytuje podrobnou zpětnou vazbu ohledně průběhu i výsledků rekonstrukce, která lze využít k zvýšení kvality poskytované zdravotní péče a tím i zvýšení kvality života pacientů.

## **Poděkování:**

Poděkování patří mému školiteli MUDr. Zdeňku Dvořákovi, Ph.D., a spoluautorce Bc. Lucii Hudcové za pomoc při tvorbě metodiky a statistické zpracování výsledků. Studie podpořena grantem specifického výzkumu LF MU Brno: Evaluace inovativních postupů plastické a rekonstrukční chirurgie MUNI/A/1668/2020.

# **Videolaryngoskopie vs. přímá laryngoskopie u plánovaného zajištění dýchacích cest v pediatrické anestezii**

**Mareček Lukáš**

**Klabusayová Eva, Klučka Jozef, Kosinová Martina, Ťoukálková Michaela, Štoudek Roman, Kratochvíl Milan, Svoboda Michal, Jabandžiev Petr, Urík Milan, Štourač Petr**

Klinika dětské anesteziologie a resuscitace Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Institut biostatistiky a analýz, s. r. o., Pediatrická klinika Fakultní nemocnice Brno, Klinika dětské otorhinolaryngologie Fakultní nemocnice Brno

**Klíčová slova:** videolaryngoskopie, přímá laryngoskopie, pediatrická anestezie, intubace

## **Úvod:**

Zlatým standardem zajištění dýchacích cest je tracheální intubace v přímé laryngoskopii. Videolaryngoskopie může vést k superiorní vizualizaci aditus laryngis a tím teoreticky vést ke zvýšené úspěšnosti tracheální intubace. Cílem studie bylo zhodnotit vliv videolaryngoskopie na úspěšnost prvního intubačního pokusu a úspěšnost intubace celkem u pediatrických pacientů podstupujících elektivní celkovou anestezii s nutností zajištění dýchacích cest tracheální intubací.

## **Metody:**

Prospektivní randomizovaná kontrolovaná studie probíhala po schválení Etickou komisí a registraci na clinicaltrials.gov (NCT03747250) od 1.1. 2019 na Klinice dětské anesteziologie a resuscitace FN Brno. Do studie byli zařazeni dětské pacienti po podepsání informovaného souhlasu ve věku 29 dní až 19 let, kteří byli indikováni k elektivní tracheální intubaci, bez rizika obtížného zajištění dýchacích cest. Randomizace (IBA s.r.o.) probíhala formou zaslepených obálek v alokaci 1:1 (intervenční skupina – videolaryngoskopie, kontrolní skupina – laryngoskopie). Ve studii bylo možné použít 2 typy videolaryngoskopů: McGrath a C-Mac. Primárním cílem byla úspěšnost prvního intubačního pokusu a úspěšnost intubace celkem. Sekundárním cílem bylo srovnání počtu pokusů nutných k celkové intubaci, času intubace (do první kapnografické vlny), vizualizace aditus laryngis (dle Cormack-Lehane score) a incidence komplikací (desaturace < 90 % SpO<sub>2</sub> na pulsním oxymetru, bradykardie < 50 úderů/min, traumatická intubace, aspirace, regurgitace, zvracení během úvodu do anestezie). Dále byl hodnocen vliv praxe lékaře na sledované parametry.

**Výsledky:**

Vzhledem k nemožnosti dosáhnout stanovenou hypotézu byla studie ukončena po plánované interim analýze. Nebyly totiž zjištěny žádné významné demografické odlišnosti mezi dvěma sledovanými kohortami. Úspěšnost intubace na první pokus byla ve skupině Videolaryngoskopie 86,8% (n = 211) a ve skupině Přímá laryngoskopie 92,6% (n = 239),  $p = 0,046$ . Průměrný čas k dosažení první EtCO<sub>2</sub> vlny byl delší ve skupině Videolaryngoskopie  $39,0 \pm 36,7$  ve srovnání se skupinou Přímá laryngoskopie, kde byl  $23,6 \pm 24,7$ ,  $p < 0,001$ . Dále nebyl zjištěn žádný signifikantní rozdíl mezi sledovanými skupinami v celkové míře úspěšnosti intubace, v incidenci komplikací, ani žádný významný rozdíl daný délkou klinické praxe lékaře.

**Závěr:**

Míra úspěšnosti intubace na první pokus byla nižší ve skupině využívající metodu videolaryngoskopie v porovnání se skupinou, kde byla využita metoda přímé laryngoskopie. Také čas potřebný k zajištění intubace byl ve skupině Videolaryngoskopie delší oproti skupině Přímé laryngoskopie.

**Poděkování:**

Tato studie byla financována ze Specifického univerzitního výzkumu zprostředkovaného MŠMT (MUNI/A/1153/2020, MUNI/A/1178/2020), podpořena MH CZ - DRO (FNBr, 65269705) a podpořena ze zdrojů Lékařské fakulty Masarykovy univerzity mladým vědcům (Jozef Klučka, Martina Kosinová, ROZV/28/LF/2020).

# Klinická sekce – interní obory

## Vliv MicroRNA v rozvoji farmakorezistence a jejich potenciální využití jako biomarkerů u pacientů neodpovídacích na léčbu klasickými antiepileptiky

Vajčner Jiří

Jabandziev Petr, Ošlejšková Hana, Slabý Ondřej, Aulická Štefánia

CEITEC, Klinika dětské neurologie FNB, Oddělení pediatrie FN Brno, Masarykova univerzita, Oddělení biologie Masarykovy univerzity (LF)

**Klíčová slova:** biomarkery, farmakorezistence, nekódující RNA, refrakterní epilepsie

### Úvod:

I přesto, že v nedávné době přibýlo mnoho různých antikonvulziv, zůstává 30–40 % pacientů farmakorezistentních. Navíc neexistují žádné terapeutické metody pro predikci toho, zda a na jaké antikonvulzivum bude daný pacient odpovídat. Těmto pacientům tedy nezbývá žádná jiná možnost než vyzkoušet veškerá další léčiva. Časně zjištění farmakorezistentních pacientů pomocí identifikace biomarkerů je jednou z nejvyšších priorit této skupiny nemocí. MicroRNA (miRNA) patří mezi krátké nekódující sekvence RNA, které ovlivňují translaci miRNA a které jsou v posledních letech velmi intenzivně zkoumány nejen u epilepsií, ale také například u nádorových onemocnění.

### Metody:

V naší kritické review jsme se zaměřili na 17 publikací (preklinických i klinických), které nám přišly zajímavé z hlediska výše exprese různých typů MicroRNA u pacientů nebo animálních modelů s farmakorezistentních epilepsií.

### Výsledky:

Zjistili jsme, že mnoho studií uvádí deregulovanou expresi u určitých MicroRNA jak v mozkové tkáni, tak v séru. Mezi těmito deregulovanými molekulami se nachází miR-34c-5p, miR-134, miR-146a, miR-153 a miR-301a-3p.

### Závěr:

Pozdní odhalení farmakorezistence ohrožuje pacienta na životě a oddalují potřebnou léčbu. Tato zjištění by tedy mohla vést ke klinické aplikaci právě těchto MicroRNA pro časnou identifikaci pacientů s farmakorezistentních epilepsií.

**Poděkování:**

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví ČR (FNBr, 65269705) a Agenturou pro zdravotnický výzkum České republiky (Project No. NU21- 04- 00305).

# Altered Spatiotemporal Dynamics of the Resting Brain in Mild Cognitive Impairment with Lewy Bodies

**Ondráček David**

**Lamoš Martin, Morávková Ivona, Bočková Martina, Rektorová Irena**

Brain and Mind Research Program, CEITEC, Masaryk University, Brno, Czech Republic, First Department of Neurology, Faculty of Medicine, Masaryk University and St. Anne's University Hospital, Brno, Czech Republic, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

**Klíčová slova:** EEG microstates; synucleinopathy; medication naïve; MCI-LB; prodromal DLB

**Úvod:**

Electrophysiological markers of prodromal dementia with Lewy bodies were described in the spectral domain. The sub-second temporal resolution may provide additional information. In our work, we evaluated EEG microstates in patients with mild cognitive impairment with Lewy bodies and assessed the association between their temporal dynamics and the spectral marker.

**Metody:**

Temporal parameters of microstates were compared between 21 patients with mild cognitive impairment with Lewy bodies and 21 healthy controls. The patients were chosen according to level I criteria using a Montreal Cognitive Assessment (MoCA) cut off score of 26 with the coexistence of at least two core clinical features of DLB. The dominant alpha frequency was correlated with microstate parameters.

**Výsledky:**

Microstates A-D showed higher occurrence in the patient group. Microstate B additionally revealed shorter mean duration and increased time coverage; its occurrence correlated with the dominant alpha frequency in the patient group.

**Závěr:**

Temporal dynamics of all EEG microstates were altered in medication-naïve subjects with prodromal dementia with Lewy bodies. Longitudinal follow-up may reveal how EEG microstates reflect progression of brain function deficits and effects of treatment manipulations.

**Poděkování:**

The work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic (grant NU20-04-00294). We acknowledge the contribution of the core facility MAFIL of CEITEC supported by the MEYS CR (LM2018129 Czech-Biolmaging). Many thanks also to Anne Johnson for proof-reading. This article was published in Movement disorders journal doi: 10.1002/mds.28741.

# White Matter Lesions in Parkinson's disease, Alzheimer's disease and healthy controls

**Uher Richard**

**Grey Michael Teodor, Mitterová Kristína, Gajdoš Martin, Klobušíaková Patrícia, Rektorová Irena, Rektor Ivan**

Masaryk University, Central European Institute of Technology (CEITEC), Centre for Neuroscience, Brno, Czech Republic, Masaryk University, Faculty of Medicine, P-Pool program, Brno, Czech Republic

**Klíčová slova:** White Matter Lesions, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Mild Cognitive Impairment, Magnetic Resonance Imaging, cognition

**Úvod:**

White Matter Lesions (WML) are a radiological finding common in healthy subjects, as well as in certain neurological diseases. A growing body of research shows that WML negatively affect cognition.

**Metody:**

In this cross-sectional study of 147 subjects (83 female, 64 men, aged 43-87, median age 68 years), we compared WML in healthy controls (HC; n=58), patients with Alzheimer's disease (AD) or amnesic Mild Cognitive Impairment (MCI; n=42), and Parkinson's disease patients with and without MCI (n=47). All patients underwent an MRI examination and T2\_FLAIR sequences were further analyzed. WML were divided into periventricular (pWML) or subcortical (sWML) depending on their distance from the ventricles.

**Výsledky:**

The subjects from the AD+aMCI group had more WML than both HC and the PD+PDMCI group. The volume of WML was not significantly different between the PD+PDMCI group and HC.

The WML location together with underlying cerebral pathology plays a role in determining the effect of WML on cognition. In AD subjects, sWML correlate with a decrease in global cognitive functioning. In PD, pWML correlate with decline in the executive functions and working memory domains. In HC, pWML and not sWML affect cognition.

In HC, the age-related decrease is multidomain – concerning executive functions, psychomotor speed and visuospatial functions – and it differs from the cognitive deterioration in both studied neurodegenerative diseases. This points to a difference between normal aging and AD.

#### **Závěr:**

This suggests that the pathophysiology of WML is not uniform; rather, their volume, location and cognitive effect are disease-specific. WML participate in the cognitive deterioration process.

## **Je neinvazivní mozková stimulace efektivním nástrojem pro zlepšení kognitivních funkcí u pacientů s Alzheimerovou chorobou a mírnou kognitivní poruchou? Výsledky z metaanalýzy**

**Kent Julia Anna**

**Šimko Patrik, Rektorová Irena**

Central European Institute of Technology – CEITEC, Masarykova univerzita, výzkumná skupina Aplikované neurovědy, Brno, Česká republika, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice u sv. Anny, 1. neurologická klinika, Brno, Česká republika

**Klíčová slova:** Mozková stimulace, tDCS, rTMS, transkraniální, demence, MCI, Alzheimerova choroba, mírná kognitivní porucha

#### **Úvod:**

Metody neinvazivní mozkové stimulace (NIBS) jsou v současné době intenzivně zkoumány po celém světě pro svůj slibný efekt v boji proti Alzheimerově chorobě (AD) a jejímu předstupni mírné kognitivní poruše (MCI). Metaanalýza se soustřeďuje na metody repetitivní transkraniální magnetická stimulace (rTMS) a transkraniální stimulace stejnosměrným proudem (tDCS) a jejich efektu na zlepšení kognitivních funkcí u pacientů s AD a MCI. Dalším cílem bylo zhodnotit, jaký přídatný efekt tyto metody mohou mít při současném využití kognitivního tréninku. Zároveň byl kladen důraz na metodologickou kvalitu studií.

#### **Metody:**

V databázích PubMed/MEDLINE a Web of Science jsme v dubnu 2021 vyhledali dostupnou literaturu publikovanou od 2008 do 2021. Zařadili jsme pouze randomizované kontrolované studie (RCT) s paralelními skupinami nebo crossover designem. Před definitivním zařazením do metaanalýzy jsme u každé studie změřili riziko zaujatosti pomocí Cochrane risk-of-bias tool (RoB 2). Pro stanovení velikosti účinku (ES) jsme využili Hedgesovo g. Zaměřili jsme se na okamžitý a dlouhodobý (asi 1 měsíc od ukončení stimulace) efekt. Dále jsme se zaměřili na stupeň důkazů, který jsme podle Lefaucheur et al., (2020) klasifikovali do 3 stupňů (A, B, C).



## **Výsledky:**

Do kvantitativní analýzy jsme na základě PRISMA tvrzení a RoB analýzy zařadili 32 studií – 16 rTMS a 16 tDCS studií.

Z výsledků metaanalýzy vyplývá, že rTMS má mírný efekt ( $g=0,57$ ; 95% CI=0,4, 0,73) na zlepšení kognitivních funkcí u pacientů s AD a MCI oproti shamové stimulaci. Efekt přetrvává minimálně 1 měsíc od ukončení stimulace ( $g=0,82$ ; 95% CI=0,2, 1,45;  $p<0,01$ ). Při současném využití kognitivního tréninku (rTMS-Cog) bylo opět zaznamenáno mírné zlepšení kognitivních funkcí v porovnání s kontrolní skupinou, ale rTMS-Cog neposkytuje žádné přídavné benefity ve srovnání s rTMS bez CT.

TDCS vykazuje malý efekt ( $g=0,42$ ; 95% CI=0,13, 0,70) na zlepšení kognitivních funkcí ihned a 1 měsíc po ukončení stimulace u pacientů s AD nebo MCI. Nicméně, výsledky dlouhodobého efektu byly statisticky heterogenní. Při využití tDCS v kombinaci s CT nebyly zaznamenány žádné přídavné benefity oproti tDCS bez CT.

V případě AD pacientů se zdají být nejvíce efektivní multifokální Neuro-ADTM systém a vysokofrekvenční rTMS stimulace levého dorzolaterálního prefrontálního kortexu (DLPFC). Také anodální tDCS v oblasti levého DLPFC se zdá být efektivní. V případě MCI je nutné provést v budoucnosti další výzkum, aby byl stanoven optimální stimulační protokol.

## **Závěr:**

V metaanalýze jsme zhodnotili efekt rTMS a tDCS na kognitivní funkce u pacientů s AD a MCI.

rTMS vykazuje mírný efekt u AD a MCI pacientů, který přetrvává minimálně 1 měsíc od ukončení stimulace. V případě využití rTMS-Cog nebyly zaznamenány žádné přídavné benefity oproti rTMS bez CT.

TDCS vykazuje malý efekt na zlepšení kognitivních funkcí ihned a 1 měsíc po skončení stimulace u pacientů s AD a MCI. V případě kombinace tDCS s kognitivním tréninkem nebyly zaznamenány žádné přídavné benefity oproti tDCS bez CT.

Pro pacienty s AD se zdají být nejvíce efektivní v případě rTMS Neuro-ADTM systém a vysokofrekvenční stimulace levého DLPFC. V případě tDCS je nejvíce efektivním protokolem anodální stimulace levého DLPFC.

## **Poděkování:**

Chtěla bych poděkovat Mgr. Patriku Šimkovi a paní prof. MUDr. Ireně Rektorové, Ph.D., za příjemnou spolupráci.

# Monitorování varianty B.1.1.7 SARS-CoV 2 a vyhodnocení její virulence

**Diabelko Daniel**

**Vrbský Jan, Dvořáčková Milada, Dvořáková-Heroldová Monika, Forte Giancarlo, Čundrle Ivan, Růžička Filip**

Fakultní nemocnice u sv. Anny, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

**Klíčová slova:** SARS-CoV 2, B.1.1.7, virulence, virová dávka,

## Úvod:

SARS-CoV 2 byl poprvé diagnostikován v prosinci 2019 ve městě Wuhan v Číně. Odtud došlo následně k jeho rozšíření po celém světě. Současné možnosti sekvenace virového genomu umožnily mapovat řadu nově vznikajících mutací v reálném čase. Tak se SARS-CoV 2 stal jedním z nejméně evolučně sledovaných virů. V této práci jsme se zaměřili na monitoring nástupu nové varianty B.1.1.7, známé taky jako britská varianta, v jihomoravském regionu. Sledovali jsme, jestli u této varianty dochází ke zvýšení virulence a virové dávky. Sledovali jsme také věkovou strukturu pacientů.

## Metody:

Varianty jsme rozlišovali na skupinu původních variant a novou variantu B.1.1.7. Identifikaci jsme prováděli na základě komerčně dostupných kitů pro RT-PCR (Bio-Speedy® SARS-CoV-2 N501Y Mutation Detection Kit, Bioexen LTD), vybrané vzorky byly ověřeny pomocí sekvenace. Věkovou distribuci jsme porovnávali u pacientů s variantou B.1.1.7. a pacientů infikovaných před jejím příchodem. Virovou dávku jsme stanovovali v cyklech (Ct), kdy relativní fluorescence (RFU) překonala stejně nastavenou hranici a následně bylo porovnání těchto hodnot statisticky vyhodnoceno. Při posuzování závažnosti průběhu byly vybrány dvě skupiny pacientů, infikovaných novou variantou a původními variantami, z kterých byl vypočítán poměr úmrtí ve skupině s původními mutacemi ku poměru úmrtí ve skupině s B.1.1.7 variantou (odds ratio, OR).

## Výsledky:

V průběhu studie jsme zachytili téměř úplné vytlačení původních variant variantou B.1.1.7, což ukazuje na její zvýšenou infekčnost. Podařilo se nám prokázat přibližně 350násobně zvýšenou virovou dávku u varianty B.1.1.7 v porovnání s původními variantami. Taky se podařilo prokázat, že varianta B.1.1.7 zasahuje více mladší ročníky. Nepodařilo se nám prokázat statisticky vyšší mortalitu u této varianty, to však mohlo být způsobeno malým počtem pacientů v studii.

## Závěr:

Všechny definující mutace B.1.1.7 jsou v oblasti spike proteinu, který je zodpovědný za navázání viru na buňku a jejich následní fúzi. Na základě těchto informací můžeme soudit, že došlo ke konformační změně spike proteinu, která dala variantě B.1.1.7 selekční výhodu a vedla tak k potlačení ostatních variant. Nově vzniklé varianty SARS-CoV 2 představují hrozbu, protože mohou zvyšovat virulenci, a tak zásadně měnit dynamiku epidemie. Z našich výsledků vyplývá, že varianta B.1.1.7 vytváří větší virovou nálož a napadá mladší pacienty. Navzdory tomu se nám nepodařilo statisticky prokázat zvýšenou úmrtnost pacientů.

## **Poděkování:**

Práce vznikla v rámci interního grantu podpořeného Fakultní nemocnicí u sv. Anny v Brně – FNDN\_IP21IPV47AXA\_PN a projektem specifického výzkumu LF MU MUNI/A/1486/2020.

# **Vztah mezi non-verbální fluencí a změnami váhových parametrů u pacientek s mentální anorexií**

**Rektorová Kateřina**

**Holštajn Zemánková Petra**

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

**Klíčová slova:** Mentální anorexie, BMI, tělesná hmotnost, množství tuku, Five point test

## **Úvod:**

Mentální anorexie je závažné onemocnění spadající pod poruchy příjmu potravy, které se projevuje cíleným hubnutím a zkreslenou představou o svém těle. Cílem této prospektivní longitudinální studie je jednak zjistit, zda má terapie mentální anorexie efekt na přírůstek tělesné hmotnosti, Body mass index (BMI) a množství tuku v těle, a dále vyhodnotit, jestli tyto parametry a jejich změny souvisí s kognitivním testem hodnotícím frontální funkce. K tomuto účelu jsme na základě výsledků předchozích studií vybrali Five point test (FPT), měřící non-verbální fluenci.

## **Metody:**

Soubor pacientů se skládal z 11 adolescentních žen s mediánem věku 15,4, horním kvantilem 16,65 a dolním kvantilem 14,4. První antropometrické měření (tělesná hmotnost, BMI a množství tuku), FPT a vyšetření pomocí magnetické rezonance na Středoevropském technologickém institutu CEITEC MU podstupovaly pacientky na počátku hospitalizace. Hospitalizovány byly na dětském psychiatrickém oddělení Fakultní nemocnice Brno. Druhé měření proběhlo při kontrole po půl roce.

Pomocí Wilcoxonova neparametrického testu jsme hodnotili změnu tělesné hmotnosti, BMI, množství tuku a výkonu v FPT v důsledku terapie. Spearmanovou korelací jsme vyhodnocovali vztah mezi BMI, tělesnou hmotností, množstvím tuku a výkonem v FPT v počátku hospitalizace, a dále asociaci mezi změnou hodnot váhových parametrů a změnou ve výkonu FPT po půl roce.

FPT hodnotí exekutivní funkce. Test je složen z několika políček s tečkami, které má pacient za dobu tří minut za úkol propojit tak, aby spojil nejméně dvě tečky rovnou čarou, a zároveň tyto obrazce neopakoval (to je pak bráno jako perseverativní chyba). Norma je alespoň 24 správných odpovědí (nad 10. percentil).

**Výsledky:**

Zaznamenali jsme signifikantní změnu v BMI na hladině statistické významnosti  $p = 0,007$ , tělesné hmotnosti ( $p = 0,010$ ) a množstvím tuku ( $p = 0,013$ ). 10 z 11 pacientek při vstupu trpěly podváhou ( $BMI < 18,5$ ), po půl roce to byly pouze 4. Dvě pacientky měly zhoršený výkon ve FPT při prvním měření a pouze jedna i při druhém. Počet správných odpovědí ve FPT se po půl roce od konce hospitalizace signifikantně nezměnil ( $p = 0,099$ ). Ani počet perseverativních chyb ve FPT se nezměnil signifikantně ( $p = 0,336$ ).

Našli jsme silnou signifikantní negativní korelaci mezi výsledky perseverativních chyb ve FPT a hodnotami BMI na začátku hospitalizace ( $R = -0,645$  a  $p = 0,032$ ), dá se tedy říct, že pacientky, které měly vyšší BMI, méně opakovaly obrazce v daném testu. Dále také nesignifikantně koreluje změna váhy se změnou správných odpovědí ve FPT s korelačním koeficientem  $-0,428$  a  $p = 0,189$ . Jedná se tedy pouze o trend, který by se mohl projevit na větším vzorku pacientů.

Výsledky z magnetické rezonance jsou v procesu zpracovávání.

**Závěr:**

Prokázali jsme, že půlroční terapie měla vliv na hmotnostní přírůstek, a také na zvýšení BMI a množství tuku v těle. Dále jsme potvrdili, že FPT koreluje s hodnotami BMI a mohl by monitorovat efekt terapie. Našli jsme trend mezi změnami tělesné hmotnosti a změnou správných odpovědí ve FPT, ale až na větším souboru se dá zjistit, zda tato korelace může být signifikantní.

Jedná se o předběžné výsledky, studie pokračuje a cílem je nabrat 20 pacientek s mentální anorexií a 20 zdravých věkově vázaných kontrol.

**Poděkování:**

Děkuji Mgr. Petře Holštajn Zemánkové, Ph.D., za odborné vedení, lékařům a psychologům na psychiatrické klinice za spolupráci a všem pacientům za účast ve studii.

# Prediktivní faktory konverze klinicky izolovaného syndromu do klinicky definitivní roztroušené sklerózy

**Pelíšek Ondřej**

Masarykova univerzita, Lékařská fakulta

**Klíčová slova:** Klinicky izolovaný syndrom, klinicky definitivní roztroušená skleróza, McDonaldova kritéria, oligoklonální pásy, magnetická rezonance

## Úvod:

Roztroušená skleróza (RS) je závažné chronické autoimunitní demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému s manifestací v mladší dospělosti. Klinický obraz onemocnění je variabilní, průběh je nejčastěji atakovitý. Diagnóza je založena především na nálezů demyelinizačních ložisek na magnetické rezonanci (MR) mozku a míchy a analýze mozkomíšního moku s průkazem tzv. oligoklonálních pásů (OCB). Z nálezů zmíněných metod vycházejí aktuální diagnostická McDonaldova kritéria. Pacient po první atace onemocnění je klasifikován jako pacient s tzv. klinicky izolovaným syndromem (CIS), teprve po druhé klinické atace splní pacient kritéria klinicky definitivní RS (CDRS). Cílem studie bylo stanovit prediktivní faktory konverze CIS do CDRS.

## Metody:

V rámci studie byly analyzovány klinické, radiologické a laboratorní nálezy souboru pacientů s RS sledovaných v období 2000–2021 na Neurologické klinice Fakultní nemocnice Brno pro CIS (47 pacientů, 31 žen, 16 mužů, věk  $36 \pm 9$ ) či CDRS (122 pacientů, 91 žen, 31 mužů, věk  $33 \pm 9$ ). Druhá skupina pacientů byla dle klinického průběhu rozdělena na jedince, u nichž došlo ke konverzi CIS do CDRS časně (do 2 let od stanovení diagnózy CIS), ve střednědobém horizontu (do 5 let) nebo pozdně (po více než 5 letech). Obě základní skupiny (a všechny 4 výše popsané podskupiny lišící se rychlostí progresu) byly srovnány z hlediska: (1) klinického nálezu hodnoceného pomocí tzv. Kurtzkeho škály založené na hodnocení zrakových, mozečkových, mentálních, sensorických, kmenových, pyramidových a sfinkterových funkcí. Vyhodnocen byl jednak klinický nález v době první ataky (tedy CIS) a dále s odstupem jednoho, pěti a následně deseti let pro objektivizaci rychlosti klinické progresu; (2) nálezů v mozkomíšním moku, vč. známek zánětu a průkazu OCB; (3) radiologických nálezů na opakovaných MR mozku a míchy s průkazem demyelinizačních ložisek a hodnocením jejich počtu a lokalizace; (4) abnormit evokovaných potenciálů (EP), tedy elektrofyziologických metod reflektujících případné subklinické postižení některých nervových drah. Vzhledem k non-normální distribuci řady hodnocených parametrů byly rozdíly mezi jednotlivými skupinami hodnoceny pomocí testů Mann-Whitney, Kruskal-Wallis ANOVA a chí-kvadrát.

## Výsledky:

Hodnocené soubory se nelišily z hlediska demografických charakteristik. Pacienti s CDRS měli ve srovnání s CIS vyšší počet oligoklonálních pásů ve vstupním vyšetření mozkomíšního moku provedeném v rámci první klinické ataky a významně častější intramedulární demyelinizační léze na vstupním MR. Ostatní radiologické a likvorologické parametry nebyly mezi oběma

skupinami významně odlišné. Z elektrofyziologických metod byl prokázán častější výskyt abnormit zrakových EP u pacientů s CDRS a to zejména u jedinců s pozdní a střednědobou progresí. Pacienti se střední a časnou progresí měli také poněkud nižší hladiny hemoglobinu, což koreluje s prokazovaným vyšším výskytem anémie u pacientů s RS. Klinický nález se při vstupním vyšetření mezi oběma základními skupinami pacientů nelišil, při kontrolním vyšetření za 1, 5 i 10 let byl patrný jednoznačný narůstající rozdíl v neprospěch CDRS pacientů odpovídající očekávanému nárůstu klinického postižení v rámci druhé či další ataky. Tento rozdíl v progresi klinického nálezu byl ještě více zřejmý při izolovaném vyhodnocení 4 dílčích skupin dle klinického průběhu: zatímco u pacientů s CIS zůstával po dobu sledovaného období klinický nález přibližně stacionární, u pacientů s CDRS narůstala progresie a to nejrychleji a nejvýznamněji v podskupině s nejčasnější progresí a naopak nejpomaleji ve skupině s progresí pozdní. Podobné rozdíly byly patrné při hodnocení progresie MR nálezů.

### **Závěr:**

Provedená studie identifikovala jako možné rizikové faktory konverze CIS do CDRS vyšší počet oligoklonálních pásmů ve vstupním vyšetření mozkomíšního moku, záchyt intramedulárních demyelinizačních lézí na vstupním MR, průkaz abnormit zrakových evokovaných potenciálů a nižší hladinu hemoglobinu. Identifikace těchto rizikových faktorů u pacienta s nově diagnostikovaným CIS tak indikuje vhodnost častějšího sledování a časného nasazení vysoce účinné imunomodulační léčby, protože pacient je ve zvýšeném riziku konverze do CDRS.

### **Poděkování:**

Děkuji své školitelce doc. MUDr. Evě Vlčkové, Ph.D., za její ochotu, trpělivost, profesionální vedení a čas, který mi věnovala. Mé díky patří také MUDr. Janu Kolčavovi, Ph.D., za uvedení do problematiky, školení v hodnocení jednotlivých parametrů, ochotu a čas. Studie byla podpořena projektem specifického výzkumu č. MUNI/A/1600/2020 z programu podpory studentských projektů na Masarykově univerzitě.

## **Výskyt bulbární a respirační dysfunkce v časném stádiu amyotrofické laterální sklerózy a možnosti jejich diagnostiky**

**Michnáčová Lucienne**

**Riegerová Lucie**

Neurologická klinika Fakultní nemocnice Brno

**Klíčová slova:** Amyotrofická laterální skleróza, dysfagie, dysartrie, respirační selhání, subjektivní symptomy

### **Úvod:**

Amyotrofická laterální skleróza (ALS) je vzácné, závažné a letální neurodegenerativní onemocnění postihující motoneurony mozku a míchy. Mezi jeho nejzávažnější projevy patří bulbární příznaky (BP), tedy dysfagie a dysartrie, a respirační symptomy (RS). V klinické praxi je jejich

výskyt hodnocen většinou jen na základě anamnesticky zjištěných subjektivních potíží pacienta, i když spolehlivost těchto údajů v odhalení BP a RS nebyla dosud systematicky hodnocena. BP i RS mohou být u některých pacientů iniciálními symptomy ALS, většinou však jde o pozdní komplikace tohoto onemocnění. Cílem práce bylo zhodnotit výskyt BP a RS v počátečních stádiích onemocnění a posoudit korelaci subjektivních symptomů BP a RS s objektivními testy těchto funkcí.

### **Metody:**

Ve studii byly analyzována data 100 pacientů s diagnózou ALS sledovaných na Neurologické klinice FN Brno od 7/2013 do 7/2021. V tomto souboru bylo provedeno vyšetření zaměřené poruchy polykání a řeči (u 86 z těchto pacientů) a/nebo respiračních funkcí (u 57 pacientů) a to v obou případech u části pacientů opakovaně. V rámci vyšetření BP byly hodnoceny subjektivní potíže pacienta s řečí a polykáním, zjišťované pomocí strukturovaného dotazníku, klinické vyšetření polykacích a řečových funkcí vč. stanovení dysartrického profilu klinickým logopedem a flexibilní endoskopické vyšetření polykání (FEES) umožňující hodnocení tzv. penetračně-aspirační škály (PAS) pro jednotlivě konzistence stravy. Vyšetření RS také zahrnovalo detailní hodnocení subjektivních potíží pomocí strukturovaného dotazníku a dále podrobné spirometrické vyšetření obsahující kromě funkční vitální kapacity (FVC) m.j. i výdechové a nádechové tlaky (MIP, MEP) a výdechový průtok (PEF) reflektující schopnost efektivního kašle. Nálezby byly vztaženy ke klinickému stavu pacientů a odstupu termínu vyšetření od stanovení diagnózy. Celkově bylo zpracováno 241 vyšetření polykání a řeči (u každého bylo hodnoceno celkem 46 různých parametrů) a 98 vyšetření respiračních funkcí (každé z nich se 62 sledovanými parametry). Hodnocena byla korelace subjektivních a objektivních známek BP a RS a také výskyt těchto komplikací již při úvodním vyšetření pacienta v době stanovení diagnózy.

### **Výsledky:**

Již při vyšetření provedeném nejpozději 3 měsíce od stanovení diagnózy byla prokázána přítomnost subjektivních poruch polykání u 87,0 % pacientů, a to u 94,3 % pacientů s bulbární formou onemocnění a 72,2 % pacientů s formou spinální. Subjektivní známky respirační dysfunkce byly v tomto období zachyceny u 73,3 % ALS pacientů. Objektivně bylo polykání již v době stanovení diagnózy narušeno u 71,4 % s bulbární formou onemocnění a u 61,1 % pacientů s formou spinální. Pouze asi u třetiny těchto pacientů však šlo o závažnější objektivní narušení polykacích funkcí se zvýšeným rizikem aspirace. S jedinou výjimkou udávali všichni pacienti, u nichž byly prokázány závažné objektivní poruchy polykacích funkcí, alespoň mírné subjektivní symptomy. Toto pravidlo však platilo pouze v případě podrobnějšího rozboru polykacích obtíží pomocí strukturovaného dotazníku, zatímco dotaz „Máte/nemáte potíže s polykáním“ byl schopen zachytit jen asi 70 % pacientů s prokázanou objektivní bulbární dysfunkcí.

Alterace některých spirometrických parametrů reflektující objektivní známky narušení dechových funkcí byla přítomna již při úvodním vyšetření u 100 % pacientů, u 80 % pacientů byl alespoň jeden ze sledovaných parametrů narušen závažně. Přitom 16,7 % pacientů se závažným objektivním narušením respiračních funkcí nevykazovalo žádné subjektivní potíže.

### **Závěr:**

Provedená studie prokázala vysoký výskyt subjektivních i objektivních příznaků bulbární i respirační dysfunkce již krátce po stanovení diagnózy ALS, což svědčí proti často udávanému předpokladu, že jde o pozdní komplikace tohoto onemocnění. Podrobné hodnocení subjektivních symptomů umožní identifikovat většinu pacientů s objektivním narušením polykacích funkcí,

zatímco část pacientů vykazujících dokonce těžkou alteraci respiračních funkcí nevnímá žádné odpovídající subjektivní obtíže. Pro spolehlivou monitoraci respirační dysfunkce tedy není dostačující anamnéza a je nutné spirometrické vyšetření.

**Poděkování:**

Děkujeme naší školitelce doc. MUDr. Evě Vlčkové, Ph.D., za její vedení, ochotu a trpělivost a Neurologické klinice FN Brno za možnost podílet se na vědecké práci. Studie byla podpořena projektem specifického výzkumu č. MUNI/A/1600/2020 z programu podpory studentských projektů na Masarykově univerzitě.



# Sekce nelékařských oborů

## Vliv korekce anisometropie na velikost aniseikonie

**Machynková (Vítková) Eliška**

**Veselý Petr**

Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

**Klíčová slova:** Aniseikonie, Aniseikonia Inspektor, anisometropie, habituální korekce

### Úvod:

Je-li refrakce obou očí stejná, jedná se o isometrii. V případě, že je refrakce mezi pravým a levým okem rozdílná, hovoříme o anisometrii. Termín aniseikonie vysvětluje existenci nestejně velkých obrazů na sítnicích obou očí v důsledku přítomné anisometropie. Každých 0,25 D anisometropie znamená 0,5 % rozdíl ve velikosti sítnicových obrazů. Vyšší stupně aniseikonie se projevují přítomností subjektivních potíží, které se objevují v důsledku snahy sfúzovat obrazy narušené stereopse. Ve své studii se věnuji měření stupně aniseikonie a vlivu habituální anisometropické korekce na velikost aniseikonie.

### Metody:

Cílem výzkumu je nejprve pomocí objektivní a subjektivní refrakce stanovit velikost anisometropie vyšetřovaného. Poté sledovat, zda je velikost aniseikonie při naturálním vízu a za použití vlastní brýlové korekce odlišná. Na základě výše uvedených cílů byla stanovena hypotéza: V případě myopické anisometropie dochází ke zvýšení aniseikonie při korekci dané ametropie.

Měření se zúčastnilo celkem 36 probandů, z nichž 30 bylo zapojeno do výzkumu. Jedná se zejména o studenty Katedry optometrie a ortoptiky na Lékařské fakultě Masarykovy univerzity, dále pak klienty Oční optiky Naome v Uherském Hradišti. Vyšetřovaný soubor je dle pohlaví rozložen na 23 žen a 7 mužů s průměrným věkem 26 let. Kritériem pro zařazení do výzkumu byla anisometropie  $\geq 0,75$  D. Nejdříve byla pomocí objektivní a subjektivní refrakce zjištěna velikost anisometropie. Následně byla za použití počítačového softwaru Aniseikonia Inspektor měřena velikost aniseikonie – nejprve při naturálním vízu a poté s vlastní brýlovou korekcí do dálky.

### Výsledky:

Stejná velikost aniseikonie s korekcí i bez ní byla naměřena u 7 vyšetřovaných. U 13 probandů došlo vlivem brýlové korekce k posunu na vyšší hodnoty aniseikonie a u 10 měřených byla aniseikonie snížena. Nasazená brýlová korekce do dálky tedy vyvolala zvýšení aniseikonie u 44 % případů. Zlepšení aniseikonie nastalo u 33 % měřených. U 23 % probandů brýlová korekce neměla na velikost aniseikonie žádný vliv. Hypotéza je tedy potvrzena – v případě myopické aniseikonie došlo při korekci dané ametropie ke zhoršení aniseikonie.

### **Závěr:**

Záměrem tohoto výzkumu bylo zjistit, zda má brýlová korekce anisometropie vliv na velikost aniseikonie. Z naměřených dat je patrné, že brýlová korekce do dálky zhoršuje aniseikonii. Hlavní vliv na tento výsledek by mohla mít dynamická aniseikonie vyvolaná rozdílnou optickou mohutností brýlových čoček. Z toho důvodu jsou u vyšších stupňů anisometrií vhodnější volbou korekce kontaktní čočky, které eliminují anisoforii navozenou u brýlových skel.

### **Poděkování:**

Podpořeno Grantovou agenturou Masarykovy univerzity (GAMU), grant MUNI/C/1754/2020.

## **Vliv anisometropie korigované habituální korekcí na anisoakomodaci**

**Gregarová Anna**

**Beneš Pavel**

Masarykova univerzita

**Klíčová slova:** Anisoakomodace, habituální korekce, anisometropie, akomodační šíře

### **Úvod:**

Akomodace je fyziologický proces změny optické mohutnosti očí sloužící k udržení ostrých retinálních obrazů. Při pozorování předmětů nacházejících se v různé vzdálenosti před okem musí dojít ke změně zakřivení přední i zadní plochy oční čočky, aby byl obraz pozorovaného předmětu zobrazen na sítnici jednoduše. Anisoakomodace, neboli diferentní akomodace, rozdíl monokulární akomodační šíře pravého a levého oka alespoň 0,5 D. Může být zdrojem akomodativních astenopických obtíží, jako například snížená kvalita vidění, diplopie, bolesti hlavy či bolesti očí.

### **Metody:**

Cílem výzkumu je zjistit, zda má velikost anisometropie (nestejně refrakční vady pravého a levého oka) korigované stávající korekcí vliv na velikost anisoakomodace. Na základě cíle byla stanovena hypotéza: rozdíly mezi akomodační šíří pravého a levého oka s habituální korekcí budou významnější se zvyšující se anisometrií.

V anamnestickém odběru jsou zjišťovány informace o pohlaví probandů, jejich věku, povolání, denní doby práce na blízkou vzdálenost, typu korekce používání při práci na blízko, subjektivních astenopických obtíží, typu ametropie a objektivní refrakce. Měření optické mohutnosti skel stávající brýlové korekce je prováděno pomocí digitálního fokometru TOPCON CL-300. Změření akomodační šíře pravého a levého oka probíhá pomocí akomodačního pravitka typu RAF při předřazené stávající korekci. Měření akomodační šíře je prováděno metodou push-up a pull-away.

### **Výsledky:**

Data jsou naměřena u 21 probandů, z čehož 100 % jsou ženy. Průměrný věk probandů je  $20,8 \pm 0,6$  let. Devět probandů má myopickou refrakční vadu, jeden hypermetropickou a jedenáct astigmatismus.

Na základě měření bylo zjištěno, že průměrná anisoakomodace u probandů s rozdílem refrakce mezi pravým a levým okem do 0,25 D je 0,26 D, zatímco u probandů s anisometrií větší než 0,75 D se průměrně vyskytuje anisoakomodace 1,18 D. Koeficient korelace R, popisující závislost anisoakomodace na anisometrii je 0,77. To značí vysokou míru lineární závislosti těchto veličin.

### **Závěr:**

Rozdíly mezi akomodační šíří pravého a levého oka se stávající korekcí budou významnější se zvyšující se anisometrií. Problematika anisoakomodace by proto neměla být v optometrické praxi opomíjena, protože především u anisometrií může být zdrojem astenopických obtíží. Ze zkoumaného vzorku popisovalo 57 % probandů nějaký stupeň astenopických obtíží při práci na blízkou a střední vzdálenost. Význam výzkumu spočívá především ve zhodnocení zrakových funkcí při používání digitálních zařízení zejména u mladších jedinců.

### **Poděkování:**

Podpořeno Grantovou agenturou Masarykovy univerzity (GAMU), grant MUNI/C/1753/2020.

## **Ultrastructural analysis of cytoplasmic abnormalities in human oocytes**

**Tatíčková Martina**

**Trebichalská Zuzana, Kyjovská Drahomíra, Otevřel Pavel, Kloudová Soňa, Holubcová Zuzana**

Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Reprofit International, Brno, Czech Republic

**Klíčová slova:** human oocyte, cytoskeleton, actin, microtubules, human oocyte abnormalities

### **Úvod:**

Egg quality is a limiting factor of female fertility. Good quality human oocytes are identified by spherical shape and clear cytoplasm with uniform texture and smooth appearance. However, a large proportion of female gametes retrieved for fertility treatment exhibit cytoplasmic irregularities such as various sized vacuoles, prominent granularity, diverse inclusions, or round flat plaques termed the smooth endoplasmic reticulum disks. While current studies mainly focus on linking affected oocyte morphology with the postfertilization outcome, structural bases of these abnormalities and mechanisms behind their development remain largely unknown.

**Metody:**

Here we used transmission electron microscopy (TEM) to analyze 21 human oocytes with typical dysmorphic features. To better understand molecular bases of excessive organelle clustering found in oocytes with cytoplasmic granularity, we investigated how experimental perturbation of cytoskeleton dynamics affects organelle distribution in 61 oocytes maturing in vitro using TEM and confocal fluorescence microscopy.

**Výsledky:**

Ultrastructural examination revealed that the presence of cytoplasmic abnormalities was associated with altered morphology and interaction of intracellular components. Microscopic analysis of 10 cytochalasin D-treated oocytes showed that disruption of actin network led to inordinate organelle clustering resembling distribution pattern seen in abnormally granular ooplasm of in vivo matured eggs. Treatment with nocodazole showed some type of multidrug resistance in human oocytes, to affect microtubules the calcium channel blocker (verapamil) needed to be used.

**Závěr:**

This finding indicates that the actin network plays a pivotal role in ensuring homogenous organelle distribution during human oocyte maturation. Based on the observed ultrastructural similarities, we speculate that severe oocyte granularity in clinically used human oocytes might be related to the actin network dysfunction. In conclusion, this work extends our knowledge of human oocyte morphology, cytoplasmic maturation, and egg quality markers.

**Poděkování:**

The authors thank the staff of Reprofit International for the recruitment of egg donors and the administration of informed consents. This work was funded by the Grant Agency of the Czech Republic (GJ19-14990Y).

## **Porovnání radiační zátěže ze skiografie a CT v diagnostice pacientů s mnohočetným myelomem**

**Justrová Veronika**

projekt MUNI/A/1342/2020

**Klíčová slova:** radiační zátěž, mnohočetný myelom, skiografie, CT, efektivní dávka, radiodiagnostika, NCICT, PCXMC

**Úvod:**

Dosud ve FN Brno probíhala radiodiagnostika mnohočetného myelomu skiografickým screeningovým vyšetřením pomocí 19 typizovaných projekcí. Pokud bylo potřeba některou část těla zobrazit podrobněji, využilo se cílené vyšetření oblasti skeletu na CT, případně dalších metod z oblasti radiologie a nukleární medicíny. Tento postup je v souladu se 4. reedicí dpo-

ručení „Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu“ z roku 2012. V roce 2018 již byla vydána 5. reedice, která však doporučuje zavedení celotělového nízkodávkového CT. Proto byl vytvořen nový protokol na spektrálním CT (sCT) a srovnána radiační zátěž vyšetření z něj oproti zaběhnuté skiagrafii. Navíc byl posuzován přínos diagnostické informace ze spektrální části vyšetření.

### Metody:

Veličinou pro odhad rizika a potažmo radiační zátěže, navíc chceme-li srovnat dvě různé modalities (skiagrafii a sCT) mezi sebou, je efektivní dávka E [mSv]. Účinky dávky odpovídají účinkům z homogenního celotělového ozáření. Pro stanovení efektivní dávky je potřeba stanovit organové dávky, a to cestou konverzních koeficientů nebo speciálními softwary k tomu určenými. Ty jsou založeny na principech metody Monte Carlo (modelování tisíců simulací interakcí jednotlivých fotonů s tkání pacienta se statistickým odhadem jejich charakteristiky), která je uznána jako vhodná pro stanovení radiační zátěže.

Nejvhodnějším softwarem pro skiagrafie se ukázal software PCXMC založený na principech metody Monte Carlo se širokými možnostmi v uživatelském rozhraní. Lze v něm počítat organové a efektivní dávky ze skiagrafie pro standardního pacienta, namodelovat projekci dle vlastní míry a váhy (dokonce graficky mírně ukazuje změnu objemu pacienta), což bylo přesně pro práci využito. Mírnou nevýhodou je nemožnost volby pohlaví, software bere pacienta jako hermafrodita a po získání výsledku je nutné přepočítat dopřít ručně pomocí tkáňových váhových faktorů.

Nejvhodnějším softwarem pro stanovení dávky z sCT se ukázal NCICT, který je dostupný po podepsání tzv. agreementu mezi odděleními pro transfer technologií koncového uživatele a poskytovatele.

Použití obou softwarů bylo ověřeno vzhledem k dalším podobným dostupným studiím, oba softwary jsou v oboru zaběhlé a užítí tedy vhodné.

### Výsledky:

Výsledný rozdíl efektivních dávek pro 20 pacientů z období říjen 2020 až duben 2021 vyšetřených na KRNM FN Brno odeslaných z IHOK tamtéž.

Pacient a pohlaví	Rozdíl efektivních dávek skiagrafie vs. sCT [mSv]
01 M	1,04
02 M	2,38
03 F	1,69
04 M	1,81
05 M	1,82
06 F	0,87
07 M	1,83
24 M	0,84
25 F	0,35
26 F	1,51
27 F	1,58
28 F	0,84
29 F	0,92
30 F	1,3
32 M	1,17
33 F	1,13
34 F	0,47
35 M	0,34
36 M	0,93
37 M	1,88

Konečné srovnání efektivních dávek ze skiografie a sCT není prozatím vhodné pro typickou statistiku s výslednou hodnotou vzhledem k malému statistickému vzorku pacientů s rozdílnými tělesnými mírami. Rozdíl efektivní dávky sCT oproti skiografii pro každého pacienta zvláště je větší průměrně o  $1,24 \pm 0,55$  mSv.

Porovnání skiografie je obtížné z více důvodů - projevil se vliv expozičních hodnot vzhledem k možnosti manuální změny orgánového protokolu, nemožnost posoudit projekci bez postprocessingového ořezu či obtížná zpětná dostupnost záznamu opakovaných expozic. Podrobné výsledky ukázaly rozdílné efektivní dávky pro pacienty s podobnými tělesnými mírami, rozdíl činil až 2 mSv u dvojice mužů se stejnými mírami.

Oproti tomu výsledky z sCT jsou konzistentní a efektivní dávky odpovídají tělesným proporcím díky automatické modulaci proudem.

### **Závěr:**

Skiografie probíhala zaběhnutým způsobem jako dosud. Výsledky ukázaly velký rozptyl hodnot (efektivní dávka v rozmezí 0,55 – 4,36 mSv) daný střídáním se vyšetřujícími radiologickými asistentů na pracovišti a obtížným polohováním samotných pacientů.

Výsledná efektivní dávka z vyšetření na sCT dle nově vytvořeného protokolu je konzistentnější, a to v rozmezí 2,28 – 4,70 mSv. Díky použití ATCM a nemožnosti přílišných individuálních změn samotným operátorem se zde neprojevuje tak výrazně vliv střídajícího se personálu.

Dále je posuzována diagnostická výtěžnost metod vzhledem k radiační zátěži. Ač je efektivní dávka z sCT vyšší proti skiografii o 1,24 mSv, zároveň poskytuje vyšší senzitivitu, a tak je použití navzdory vyššími riziku opodstatněné.

### **Poděkování:**

Děkuji svému vedoucímu práce Mgr. Ing. Marku Dostálovi, Ph.D., za stálý zájem, podněty a připomínky, které pomáhají práci stále rozvíjet. Velký dík patří i mému konzultantovi MUDr. Vlastimilu Válkovi, který měl trpělivost se mnou procházet nemedicínskou částí práce a hledat cesty k řešení. V neposlední řadě děkuji Mgr. Kateřině Deutscherové, která mě učila postupům během samotných výpočtů.

# Stomatologická sekce

## Informovanost pacientů o ortodontické terapii a možnosti využití instruktážních videí

**Mrázová Karolína**

Stomatologická klinika, Masarykova univerzita

**Klíčová slova:** ortodoncie, ortodontická terapie, informovanost pacientů, instruktážní video, dentální hygiena, ortodontický aparát

### Úvod:

Tato studie se zaměřila na informovanost pacientů s fixním ortodontickým aparátem ohledně terapie. Cílem práce bylo zmapovat zájem pacientů o terapii, způsob, jakým získávají informace o ortodontické léčbě, jak vnímají svou roli v terapii. Dále se studie zaměřila na způsob, jak lze podstatné informace snadno dostat k co největšímu množství pacientů. Pro účel studie bylo zvoleno instruktážní video, které slouží k nabytí, doplnění informací a umožní pacientovi, aby si proces lépe představil.

Předpokládaným výstupem práce bylo, že většina respondentů bude videa vnímat jako přínosná a že kladné hodnocení videí bude v korelaci se zájmem pacientů získávat a doplňovat informace ohledně terapie, kterou prochází.

### Metody:

Soubor dat byl získán dotazníkovým šetřením. Anonymní online dotazník vyplnilo celkem 108 respondentů, jediným kritériem pro vyplnění dotazníku bylo, aby pacient v době vyplňování měl nasazen fixní ortodontický aparát. Otázky v první části dotazníku sloužily k definici skupiny respondentů na základě pohlaví, věku, občanství a typu fixního aparátu. Zkoumala se motivace pacientů pro podstoupení ortodontické léčby, informovanost pacientů ohledně terapie a hygieny, subjektivní spokojenost s léčbou a komunikace s lékařem.

Poté byla respondentům přehrána 2 animovaná instruktážní videa vytvořená speciálně pro tuto práci. Video se spustilo kliknutím na odkaz. První video zobrazovalo na virtuálním modelu chrupu jednotlivé součásti fixního ortodontického aparátu a jejich účel, také přiblížilo proces nasazení aparátu pacientovi. Druhé video představilo pacientovi metodu čištění s doporučenými pomůckami.

Navazující část dotazníku se skládala z otázek reflektujících obsah videí a subjektivní přínos pro pacienty. Zaměřily se na porozumění fungování ortodontického aparátu a technikám správného čištění z videí, dále zjišťovaly, zda by instruktážní videa mohla být užitečná k edukaci pacientů během terapie.

## **Výsledky:**

Ze 108 respondentů bylo 83 žen a 25 mužů. Největší skupinu tvořili pacienti ve věku 13–16 let, bylo jich 38 (35,2 %), pacientů ve věku 17–20 let bylo 29 (26,9 %), ve věku 21–29 let bylo 26 (24,1%), v kategorii 30 let a více bylo 13 (12 %), 2 byli mladší než 13 let.

Více než 95 % pacientů vyhledávalo informace o terapii již před započatím léčby. Z dalších sekcí dotazníku vyplývá, že respondenti, kteří aktivně hledali užitečné informace před začátkem léčby, častěji hodnotili význam instruktážních videí pozitivně.

Téměř 1/3 respondentů (32,4 %) uvádí, že nebyla v ordinaci seznámena s technikou čištění zubů na modelu.

Skoro ½ respondentů (48,1%) pocítovala nedostatky v komunikaci se svým ortodontistou. Respondenti majoritně uváděli, že jejich lékař jim dopředu nevysvětlí úkony, které bude provádět.

Pouze 41,7 % pacientů do dotazníku uvedlo, že se cítí plně zasvěceni do terapie, lékař jim vždy vše srozumitelně vysvětlí a ptá se na jejich názor a pocity.

Videa hodnotilo kladně 97,2 % respondentů, pro které byla videa dle výsledků dotazníku přínosná. Celkem 95,3 % respondentů uvedlo, že by tato a další videa vytvořená v tomto duchu s podobnou tematikou ocenilo a využilo.

Ze získaných dat vyplývá, že videa hodnotí nejvíce pozitivně respondenti, mezi nimiž je vyšší procento těch, kteří postrádají úplné informace o hygieně s rovnátky a dalších aspektech terapie. 2,8 % hodnotilo videa negativně z důvodu nezájmu o problematiku nebo proto, že jim videa nepřinesla nové informace.

## **Závěr:**

Ze získaných dat vyplývá, že videa hodnotí nejvíce pozitivně respondenti, mezi nimiž je vyšší procento těch, kteří postrádají úplné informace o hygieně s rovnátky a dalších aspektech terapie. Většina respondentů označila videa jako přínosná a užitečná, ať už jako zdroj informací potřebných k pochopení léčebného procesu, nebo pro opakování, doplnění a ucelení vědomostí. Práce prokázala potenciál a možnou využitelnost instruktážních videí jako doplňku k ortodontické terapii, avšak šlo pouze o dotazníkovou studii, bližší zkoumání problematiky by mohlo přinést přesnější výsledky.

## **Poděkování:**

Na prvním místě děkuji vedoucí mé studentské práce, doc. MUDr. Pavlíně Černochové, Ph.D., za její cenné rady a za čas a ochotu se mému tématu věnovat. Veliké poděkování patří také mé rodině a přátelům za pomoc a podporu, kterou mi poskytují během studia.



# Doktorandská sekce

## Mapování genetické diverzity syfilitických kmenů pomocí MLST v České republice

Vrbová Eliška

Grillová Linda, Šmajš David

Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, ČR, Wellcome Sanger Institute, Cambridge, UK

**Klíčová slova:** syfilis, *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, TPA, MLST, molekulární typování

### Úvod:

Syfilis je venerické onemocnění, jehož původcem je *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (TPA). V České republice se tímto onemocněním každým rokem nově nakazí 700–1000 lidí. Jedná se o několika stadiální nemoc, přičemž nejčastějšími zdroji vzorků jsou stádia primární, projevující se jediným typickým šankrem, a sekundární, spojené s makulopapulární vyrážkou rozsetou po těle.

V minulosti bylo vyvinuto několik různých molekulárně typovacích systémů. Posledním z nich je MLST (multilocus sequence typing), využívající vnitřní oblasti genů TP0136, TP0548 a TP0705, jejichž variabilita pokrývá 30 % variability celogenomových sekvencí. Standardně se k těmto lokusům přidává ještě 23S rDNA, která umožňuje vyhodnocení přítomnosti makrolidové rezistence.

### Metody:

Vzorky syfilis byly sbírány v podobě stěrů a plných krví ze 4 klinických pracovišť. DNA byla izolována pomocí QIAamp DNA Blood Mini Kitu (Qiagen, Hilden, Germany). Izolovaná DNA byla testována na přítomnost treponemální DNA pomocí dvou-krokové PCR využívající vnější a vnitřní specifické primery v rámci první, resp. druhé reakce. Celkem bylo v rámci molekulárního typování využito 4 lokusů, TP0136, TP0548, TP0705 a 23S rRNA (pro určení makrolidové rezistence) (podrobný popis metod např. Grillová et al., 2018, Vrbova et al., 2019). Výsledky PCR byly analyzovány pomocí agaróзовé elektroforézy na 1,5% gelu. Purifikace DNA probíhala na kolonkách pomocí QIAquick PCR Purification kitu (Qiagen, Hilden, Germany). Všechny pozitivní vzorky byly následně sekvenovány Sangerovým sekvenováním. Získané sekvence byly analyzovány v programu SeqMan (DNASTAR, Madison, USA). Výsledky jsou průběžně zveřejňovány v databázi PubMLST. Tato celosvětová databáze také přiřazuje číselné označení alel jednotlivých lokusů. Konečný alelický profil vzorku byl ustanoven jako čísla alel lousů v tomto pořadí: TP0136.TP0548.TP0705.

### **Výsledky:**

Klinické vzorky byly sbírány celkem ze 4 pracovišť, v Praze a v Brně. Od roku 2004 až do současnosti (září 2021) bylo sesbíráno na 1015 vzorků. V nich bylo vyhodnoceno 427 (42,1 %) jako PCR pozitivní a zároveň jako typovatelných pomocí MLST alespoň na jeden lokus. V 56 případech se jednalo o vzorek plné krve, v 371 pak o stěr z léze. Většina vzorků pak náležela do genetické skupiny SS14-like kmenů (88,5%), zatímco jen minimum k Nichols-like kmenům (2,3%), zbytek zůstal neurčen.

Plně typovatelných vzorků bylo celkem 235 (55 %), odhalujících přes 20 různých alelických profilů na zpracovaných vzorcích. Nejčastěji vyskytujícími se profily byly 1.3.1, 1.1.1 a 1.1.8. Kromě zastoupení profilů v čase se měnila i jejich geografická distribuce, příkladem může být profil 1.26.1. Tento alelický profil byl původně zachycen opakovaně jen ve vzorcích sesbíraných z brněnských pracovišť, ale v roce 2020 byl poprvé přítomen také mezi vzorky pražskými.

### **Závěr:**

Mapování genetické diverzity TPA kmenů ukázalo na jejich proměnlivost v čase a postupné objevování a mizení minoritních alelických profilů. Na druhé straně je vidět stálost majoritně zastoupených profilů, především u nejčastějšího profilu 1.3.1. Ukázaly se také geografické odlišnosti v zastoupení profilů a jejich provázanost s klinickými a epidemiologickými údaji. Molekulární typování a odkrývání diverzity TPA kmenů je důležitým krokem pro vývoj potenciální vakcíny proti syfilis.

### **Poděkování:**

Ráda bych poděkovala pracovištím, která nám umožnila sběr vzorků a poskytla epidemiologické údaje a výsledky sérologie. Konkrétně MUDr. H. Zákoucké a Státnímu zdravotnímu ústavu, doc. MUDr. I. Kuklové, Ph.D., a Dermatovenerologické klinice 1. LF UK a VFN, Mgr. M. Dvořákové Heroldové, Ph.D., a Fakultní nemocnici u sv. Anny v Brně a MUDr. Radimu Strnadlovi a Dermatovenerologickému oddělení FN Brno.

## **ERK signalling patterns in mammary gland morphogenesis and cancer**

**Brezak Matea**

**Koledova Zuzana**

Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University

**Klíčová slova:** Mammary gland, development, estrogen, ERK, signalling dynamics

### **Úvod:**

Spatiotemporal changes in signalling dynamics are implicated in tissue morphogenesis and cancer. Signalling research used to rely on traditional approaches, but recently developed biosensor strains enable live visualisation of signalling changes. ERK biosensor mouse strain EKAREV-NLS has been increasingly used for ERK activity monitoring in vitro and in vivo. The biosensor construct is ubiquitously expressed in mouse tissues and negatively influences

mouse growth and life span. We have discovered a negative impact of EKAREV-NLS on mammary gland development. We describe EKAREV-NLS mammary gland phenotype and treatments that rescue its development, thus increasing the yield of primary epithelial organoids further used to monitor ERK activity.

### **Metody:**

Pubertal EKAREV-NLS positive and negative (control) mice were treated with estradiol through their drinking water over five weeks. To characterise developmental changes in the EKAREV-NLS mouse strain, organs were harvested from adult female EKAREV-NLS positive and negative mice. All mice and organs were weighted post mortem while ovaries and mammary glands were harvested for histological analysis. Whole mammary glands were processed for carmine staining, paraffin embedding and subsequent hematoxylin-eosin staining. Primary mammary gland organoids were isolated and imaged using live-cell time-lapse confocal imaging to validate biosensor activity.

### **Výsledky:**

Now widely used EKAREV-NLS mouse strain exhibits impeded development, possibly due to pan-tissue expression of biosensor construct. Five-week treatment with estradiol dissolved in drinking water significantly improved morphological features and development of mammary glands. Further, the treatment also positively affected the entire reproductive system, including morphological features of ovaries. Treatment resulted in a significant counts increase of isolated primary organoids while maintaining the functionality of the biosensor construct.

The primary mammary epithelial cells were further used in pilot studies to investigate the signalling dynamics in response to two variants of FGF2. Adding wild-type (WT) and stabilised (STAB) protein to the culture medium results in rapid ERK activation that diminishes shortly after the treatment. Interestingly, ERK activity induced by FGF2-STAB does not drop to basal levels but remains stably increased over the entire imaging period.

### **Závěr:**

Here we described changes in mammary gland development in EKAREV-NLS biosensor strains. Also, we have proven that short-term estradiol treatment can rescue epithelium development and has a positive impact on the entire reproductive system without influencing biosensor activity. Consequently, we can utilise this treatment regime to obtain higher quantities of primary tissue for subsequent analysis. Preliminary studies on primary epithelial organoids show different ERK response patterns, providing an initial step in understanding signalling duration and intensity changes possibly connected to cancer initiation and progression.

### **Poděkování:**

This project is funded by MUNI/G/1446/2018 and MUNI/A/1689/2020.

# Harman inhibuje CYP3A1, CYP2B, CYP2C11 a CYP2D1/2 v potkanímu modelu

**Klásková Eva**

**Strakošová Markéta, Juřica Jan, Zendulka Ondřej**

Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno; Ústavní lékárna, Masarykův onkologický ústav, Brno; Ústav farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Masarykova univerzita, Brno

**Klíčová slova:** Cytochrom P450, metabolická aktivita, lékové interakce, harman

## Úvod:

*Passiflora incarnata* (mučenka) patří mezi rostliny se sedativními a anxiolytickými účinky tvořící součást mnohých doplňků stravy.  $\beta$ -karbolinový alkaloid harman je jednou z obsahových látek této rostliny. Na preklinických modelech byl prokázán antidepressivní účinek harmanu a další studie potvrdily schopnost harmanu inhibovat MAO A. Cytochromy P450 (CYP) zprostředkovávají metabolismus většiny léčivých látek používaných v klinické praxi. Jejich metabolická aktivita může být ovlivněna mimo jiné obsahovými látkami rostlin, což může vést k závažným změnám v účinnosti a bezpečnosti farmakoterapie. Cílem naší studie byl výzkum vlivu subchronického podávání harmanu na CYP u potkana za účelem objasnění rizika interakčního potenciálu látky s léčivem.

## Metody:

Harman byl aplikován potkanům kmene Wistar Albino intragastricky po 8 dní v dávkách 25, 40 a 64 mg/kg. Kontrolní skupině bylo podáváno vehikulum (66% propylenglykol). Po ukončení animálního pokusu byly odebrány vzorky jaterní tkáně, ze kterých byla následně metodou diferenciální ultracentrifugace izolována mikrosomální buněčná frakce. Za účelem stanovení metabolické aktivity enzymů CYP byly prováděny jejich *in vitro* inkubace se specifickými substráty: diklofenakem (CYP2C6), dextrometorfanem (CYP2D1/2), fenacetinem (CYP1A2) a testosteronem (CYP2A, CYP3A, CYP2C). Koncentrace metabolitů byla analyzována za použití HPLC s DAD nebo fluorescenční detekcí. Na základě výsledků stanovení metabolické aktivity bylo následně hodnoceno množství vybraných cytochromů za použití metody western blot. Bloty byly kvantifikovány a normalizovány na obsah beta aktinu. Výsledky všech experimentů byly vyhodnoceny za použití SW Statistica.

## Výsledky:

Bylo zjištěno, že harman snižuje metabolickou aktivitu CYP2B, CYP2D1/2, CYP3A1, CYP2C11, a to v míře závislé na podané dávce. Inhibiční efekt harmanu na CYP2D1 byl pozorován po aplikaci 25, 40 i 64 mg/kg látky, vliv na CYP2B, CYP3A1 a CYP2C11 byl prokázán pouze v dávkách 40 a 64 mg/kg. Současně byla pozorována signifikantní redukce obsahu proteinu u CYP2D a CYP2B1 po aplikaci dávek 40 a 64 mg/kg, CYP2C11 a CYP3A u všech podaných dávek. Metabolická aktivita enzymů CYP1A2, CYP2A1 ani CYP2C6 nebyla aplikací harmanu ovlivněna.

## Závěr:

Byla prokázána inhibice metabolické aktivity vybraných CYP po subchronické aplikaci harmanu, ke které došlo pravděpodobně v důsledku snížení množství enzymů CYP2D, CYP2B1,

CYP2C11 a CYP3A. Naše výsledky naznačují riziko interakce mučenky (nebo z ní vyrobených přípravků) s farmakoterapií v klinické praxi. Je však nutné provést další studie, které by podrobněji zkoumaly klinický účinek harmanu na jiných modelech (lidské formy CYP, popř. klinická studie).

#### **Poděkování:**

Tato studie vznikla za podpory specifického vysokoškolského výzkumu (MUNI/A/1249/2020), kterou poskytlo MŠMT. Za poskytnutí laboratorního vybavení a užitečných rad nezbytných k provedení western blotu děkujeme prof. Mgr. Vítězslavu Bryjovi, Ph.D., a jeho týmu.

## **Charakterizace patogenních kmenů E. coli a jejich potenciální léčba pomocí probiotik**

**Hrala Matěj**

**Bosák Juraj, Šmajš David**

Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

**Klíčová slova:** bakteriocin, E. coli, probiotika, STEC, ETEC

#### **Úvod:**

Patogenní bakterie *Escherichia coli* způsobuje různé druhy infekcí, zahrnující běžné cestovatelské průjmy, ale i život ohrožující extraintestinální infekce. Intestinální kolibakterií jsou rozšířené zejména u dětí ze zemí s nízkými hygienickými standardy. Patogenní *E. coli* často nesou virulenční faktory a jsou schopny produkce bakteriocinů. Bakteriociny jsou antimikrobiální proteiny produkované různými druhy bakterií. Producenti bakteriocinů pak získávají kompetiční výhodu nad citlivými kmeny a kolonizují úspěšněji danou niku. Cílem této studie bylo charakterizovat patogenní *E. coli* s ohledem na produkované virulenční faktory a bakteriociny a otestovat jejich citlivost vůči probiotikům produkující bakteriociny.

#### **Metody:**

Kmeny patogenních *E. coli* ( $n = 277$ ) byly izolovány v rozmezí let 1996–2016 z nemocných selat. Pro porovnání charakteristik patogenů, byl v roce 2018 izolován set ( $n = 188$ ) komenzálních *E. coli* z 10 různých farem v české republice. Následně byly všechny *E. coli* charakterizovány s použitím specifických primerů pomocí multiplex PCR. Každý kmen byl poté otestován pro citlivost k 31 různým bakteriocinům. Toto testování bylo provedeno na agarových miskách, kdy byl monoproducent určitého bakteriocinu převrstven testovaným kmenem a kultivován 24 h. Vzniklé zóny inhibice okolo monoproducenta byly vyhodnoceny jako důkaz citlivosti testovaného kmenu k produkovanému bakteriocinu. Z již dříve charakterizovaného setu *E. coli* ( $n = 695$ ) lidského původu byly následně vybrány 3 kmeny *E. coli* s ideální produkcí bakteriocinů v návaznosti na předchozím testování. Kláden byl důraz na produkci bakteriocinů, které nejlépe inhibovaly patogenní kmeny a zároveň neinhibovaly komenzály, a také byl brán zřetel na produkci virulenčních faktorů. Následně byl jejich potenciál otestován v systému *in vitro* a *in vivo* na selatech ( $n = 25$ ). Selata byla rozdělena do 5 skupin po 5 kusech, všechna selata byla následně infikována kmeny patogenní *E. coli*. Jedna skupina byla ponechána jako kontrolní,

tedy neléčená, zbylé čtyři skupiny byly léčeny jednotlivými probiotiky, nebo jejich kombinací. Vzorky féces byly odebírány a vyhodnocovány denně, po dobu 14 dnů, a zdravotní stav selat byl hodnocen veterinářem.

### **Výsledky:**

Sety patogenních ( $n = 277$ ) a komenzálních ( $n = 188$ ) *E. coli* z prasat byly charakterizovány pro přítomnost virulencních faktorů ( $n = 18$ ), základních fylogenetických skupin a různých typů bakteriocinů ( $n = 30$ ). U patogenů byla zjištěna zvýšená produkce některých bakteriocinů (např. kolicin B a M) oproti komenzálnímu setu, naznačující funkci některých bakteriocinů jako virulencních faktorů. Následně byly všechny kmeny otestovány pro citlivost k různým typům bakteriocinů, aby mohly být vybrány ty bakteriociny, které mají nejvýraznější inhibiční účinek vůči patogenním kmenům. Dále byly vybrány dva zástupci patogenních kmenů s fimbriemi F4 a F18, které bývají nejčastěji přítomny u kmenů způsobujících infekce u selat. Dále byly vybrány tři kmeny komenzálních *E. coli* produkující kombinaci aktivních bakteriocinů podle předchozího testování. U těchto tří kmenů byla dále testována inhibiční aktivita vůči vybraným patogenním kmenům *in vitro*. Všechny tři kmeny významně snižovaly počty patogenů v tekuté kultuře. Pro potvrzení účinku probiotik *in vivo* byl dále proveden experiment na selatech. Celkový počet 25 selat byl infikován dvěma patogenními kmeny a následně byly skupiny 5 selat léčeny různými probiotickými kmeny, nebo jejich kombinací. Bylo pozorováno, že skupina prasat léčená kombinací všech tří probiotik měla významně sníženou incidenci a trvání průjmu, oproti neléčené kontrole. Navíc tato skupina vykazovala nižší počty CFU patogenu v poslední den experimentu.

### **Závěr:**

Získané výsledky ukazují, že profylaktické podávání probiotických *E. coli*, specificky zaměřující antimikrobiální účinek vůči patogenním kmenům, může zlepšit zdravotní stav a welfare selat po odstavu. Zároveň bylo v provedené studii zjištěno, že patogenní bakterie jsou citlivější k účinku bakteriocinů, než komenzální bakterie. Cílená bakteriocinová terapie by tedy byla specifitější a šetrnější, než antibiotická léčba.

### **Poděkování:**

Tato práce byla podpořena AZV č. 17-31333A.

# Úloha fibroblastov a ich mechanických síl vo vývoji mliečnej žľazy

Belisová Denisa

Rabata Anas, Sumbal Jakub, Koledová Zuzana

Ústav histologie a embryologie, Masarykova univerzita

**Klíčová slova:** mliečna žľaza, fibroblasty, mechanické sily, vývojová biológia

## Úvod:

Fibroblasty sú najhojnejšie zastúpeným bunkovým typom nádoru prsníka, najčastejšie sa vyskytujúcom rakovinovom ochorení u žien. Ich podiel na raste nádoru, postupe rakoviny a rozvoji metastáz je známy, avšak o úlohe fibroblastov v regulácii normálneho vývoja a homeostázy mliečnej žľazy sa doteraz veľa nevie. Naše najnovšie poznatky založené na skúmaní vplyvu fibroblastov na morfogénzu epitelu mliečnej žľazy in vitro ukázali, že fibroblasty indukujú vetvenie epitelu mliečnej žľazy aplikáciou mechanických síl. Naším cieľom je pomocou geneticky upravených myších modelov preskúmať, či tento mechanizmus funguje aj in vivo, a prispieť k odhaľovaniu úlohy fibroblastov vo vývoji a funkcii mliečnej žľazy.

## Metody:

In vivo experimenty boli založené na využití konštitutívnych a indukibilných myších modeloch pre depléciu fibroblastov (Fsp1-Cre;DTA a Col1a2-CreERT;DTA) a knock-out Myh9 (nesvalový myozínový ťažký reťazec 9) vo fibroblastoch (Fsp1-Cre;Myh9fl/fl a Col1a2-CreERT;Myh9fl/fl). Mutantné a kontrolné jedince boli rozlíšené genotypizáciou. V prípade indukibilného systému boli myšie modely indukované dávkou tamoxifénu (3-krát 2 mg/ml v 100  $\mu$ l, prípadne 2-krát 1 mg/ml v 100  $\mu$ l) vo veku 5 týždňov, izolácia mliečnych žliaz bola následne vykonaná vo veku 9 týždňov. Pre štúdium fenotypu mliečnych žliaz boli mliečne žľazy odobrané vo viacerých štádiách vývoja, zafixované a spracované pre histologické farbenie: farbenie celoplošných preparátov mliečnej žľazy karmínovým roztokom, farbenie histologických rezov hematoxylin-eozínom, trichrómovou modrou a imunofarbením. Fenotyp bol kvantifikovaný ako penetrácia epitelu tukovým vankúšom, množstvo bodov vetvenia v distálnej časti mliečnej žľazy, množstvo a direkcionálna terminálnych koncových púčikov pomocou ImageJ.

## Výsledky:

Analýzou fenotypu mliečnych žliaz u Fsp1-Cre;DTA myší sme zistili, že deplécia Fsp1+ fibroblastov v predpubertálnom období vývoja (3 týždne veku) nemá vplyv na rast epitelu, no v puberte (7 týždňov veku) ho výrazne spomaľuje a toto spomalenie je stále badateľné aj v neskoršom období (12 týždňov veku). Ďalší experiment na tomto myšom modeli zameraný na štádium laktácie ukázal, že deplécia Fsp1+ fibroblastov vedie k redukcii tvorby alveol a k laktáčnemu defektu. Deplécia Col1a2+ fibroblastov v 9. týždni veku sa prejavila narušením rastu epitelu. V prípade mliečnych žliaz získaných z Fsp1-Cre;Myh9fl/fl myší sme pozorovali, že strata mechanických síl vo Fsp1+ fibroblastoch vedie vo vývoji k zníženiu vetvenia mliečnej žľazy v puberte (7 týždňov veku) a, paradoxne, k jemnému zrýchleniu rastu epitelu. Tento zrýchlený rast mutantných mliečnych žliaz bol ešte výraznejší v prípade Myh9-ko v Col1a2+ fibroblastoch v 9. týždni veku a bude predmetom ďalšieho skúmania.

**Závěr:**

Naša práca popisuje novú úlohu fibroblastov vo vývoji mliečnej žľazy, a to ich pôsobenie na epitel mliečnej žľazy mechanickými silami. Zistili sme, že deplécia fibroblastov či strata Myh9 vo fibroblastoch vedie k zníženiu vetvenia mliečnej žľazy počas puberty. Naše výsledky ukazujú, že mechanické sily fibroblastov sú dôležitým hráčom vo vývoji mliečnej žľazy.

**Poděkování:**

Tento projekt je podporený projektami MUNI/G/1446/2018 a MUNI/IGA/1550/2020.

## **Celogenomová sekvenace kmenů *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* pocházející od primátů a jejich srovnání s lidskými kmeny**

**Janečková Klára**

**Roos Christian, Fedrová Pavla, Tom Nikola, Čejková Darina, Lüert Simone, Keyyu Julius D., Chuma Idrissa S., Knauf Sascha, Šmajs David**

Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita; Deutsches Primatenzentrum GmbH, Leibniz-Institute for Primate Research; Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií; Institute of International Animal Health/One Health, Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Institute for Animal Health; Tanzania Wildlife Research Institute (TAWIRI); Department of Veterinary Medicine and Public Health, College of Veterinary and Medical Sciences, Sokoine University of Agriculture

**Klíčová slova:** *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*, yaws, primát, celogenomová sekvenace

**Úvod:**

*Treponema pallidum* subsp. *pertenue* (TPE) je původce endemického onemocnění yaws, rozšířeného v tropických oblastech Afriky, Asie a Pacifiku. Tato bakterie napadá především děti, ovšem byla nalezena i u divokých populací primátů. Jediné dvě dosud kompletní celogenomové sekvenace kmenů izolovaných z primátů byly velmi podobné kmenům napadajícím člověka. V této studii byly získány celogenomové sekvenace dalších osmi vzorků, pocházejících ze dvou různých druhů primátů ze čtyř oblastí Tanzánie. Cílem bylo jejich srovnání s dostupnými sekvencemi kmenů TPE lidského původu. Mezi oběma skupinami nebyly nalezeny konzistentní rozdíly, což ukazuje na to, že volně žijící populace primátů může sloužit jako rezervoár TPE.

**Metody:**

Bakteriální DNA izolovaná ze vzorků získaných ze dvou druhů primátů (*Papio anubis* a *Chlorocebus pygerythrus*) byla obohacena pomocí Looxter Enrichment Kitu (Analytik Jena, Jena, Germany). Vzorky byly osekvenovány pomocí platformy Illumina. Místa s nedostatečným pokrytím byla doplněna pomocí Sangerova sekvenování (GATC Biotech AG, Konstanz, Germany). Finální sekvenace byly zkonstruovány v programu SeqMan NGen® (DNASTAR; Madison, USA). Získané celogenomové sekvenace byly posléze podrobeny analýze a srovnání s dostup-



nými celogenomovými sekvencemi kmenů TPE pocházejících z lidských vzorků (celkem osm genomů). Regiony, které byly srovnávány zahrnovaly geny tprC, trpD, tprF a tprI, délky homopolymerů, varianty rrn operonů a počty repetice v genech TP0304, TP0433, TP0470, IGR TP0462 a TP0578 (statistická analýza byla provedena v R, normalita byla testována pomocí Shapiro-Wilkova testu, a p hodnoty byly zjištěny pomocí dvouvýběrového nepárového t-testu nebo Mann-Whitney testu). Celogenomové sekvence byly také použity pro tvorbu fylogenetických stromů za použití programu MEGAX (v. 10.2.6) pomocí modelu Tamura-Nei. Fylogenetická analýza byla následně rozšířena i o draft genomy pocházející z jiných studií (59 draft genomů, celkem 79 použitých kmenů).

### **Výsledky:**

Ve srovnání vybraných tpr genů v desíti vzorcích TPE pocházejících od primátů (dva již dříve dostupné a osm nově osekvenovaných v této studii) a osmi vzorcích TPE izolovaných u lidí byly nalezeny pouze minimální rozdíly, a žádné varianty, které by definovaly lidské nebo primátí kmeny. Stejně tak nebyly skupiny izolátů definované ani v délce homopolymerů a obě varianty rrn operonů byly zastoupeny u obou skupin. Při analýze počtu repetice v genech TP0304, TP0433, TP0470, IGR TP0462 a TP0578, byly rozdíly statisticky signifikantní u genů TP0304, TP0433 a TP0967. Rozdíly u genu TP0470 a v mezigenové oblasti TP0488-489 nebyly statisticky signifikantní. Srovnání příbuznosti bylo hodnoceno pomocí fylogenetických stromů, kde se vzorky seskupovaly převážně podle zeměpisného původu. Ve výsledku nebyly nalezeny žádné významné rozdíly mezi TPE kmeny pocházejícími od lidí a kmeny získanými z primátů.

### **Závěr:**

V této studii bylo úspěšně získáno osm celogenomových sekvencí kmenů *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* pocházejících z primátů. Díky tomu byla možná analýza všech oblastí genomu, což u jiných nekompletních genomů nebylo možné. Srovnání s dostupnými celogenomovými sekvencemi kmenů TPE izolovaných u lidí ukázala, že jsou mezi těmito dvěma skupinami pouze minimální rozdíly a populace primátů ve volné přírodě mohou sloužit jako rezervoár této bakterie.

### **Poděkování:**

Výpočetní zdroje byly poskytnuty projektem „e-Infrastruktura CZ“ (e-INFRA LM2018140) v rámci programu Velké infrastruktury pro výzkum, vývoj a inovace.

# Acetylace 7-hydroxy skupiny dibenzocyclooctadienových lignanů zvyšuje inhibici P-glykoproteinu

**Drabinová Martina**

**Čarnecká Martina, Humpa Otakar, Slaninová Iva, Slanina Jiří**

Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Josef Dadok National NMR Centre, CEITEC MU

**Klíčová slova:** Acetylace, dibenzocyclooctadienové lignany, doxorubicin, multi-drug resistance, P-glykoprotein, Schisandra

## Úvod:

P-glykoprotein patří do skupiny membránových ABC transportérů, který funguje jako ATP dependentní pumpa s širokou substrátovou specifitou transportující cizorodé sloučeniny do extracelulárního prostředí. Nadměrná exprese P-glykoproteinu v nádorových buňkách výrazně snižuje účinek protinádorových léčiv. Jednou z možných strategií překonání této lékové rezistence je inhibice P-glykoproteinu. V současné době se zájem obrací také k inhibitorům P-glykoproteinu přírodního původu, ke kterým patří lignany z rostlin rodu Schisandra. V předcházející studii bylo zjištěno, že 7-hydroxyskupina lignanů snižuje inhibici P-glykoproteinu. V této práci, za účelem zisku efektivnějších inhibitorů, byla 7-hydroxyskupina vybraných lignanů modifikována acetylací.

## Metody:

Lignany schizandrin (1), deoxyschizandrin (1b), gomisin A (2), angeloylgomisin H (3), gomisin G (4) a gomisin C (5) byly izolovány ze semen Schisandra chinensis. Acetylschizandrin (1a), acetylgomisin A (2a) a acetylangeloylgomisin H (3a) byly připraveny acetylací 7-hydroxy skupiny anhydridem kyseliny octové s přídavkem 10% HCl, za teploty  $-5^{\circ}\text{C}$ . Produkty reakce byly separovány z reakční směsi pomocí SPE kolonek s nepolární adsorbentem, alkylovaným silikagelem C18. Reakční směs byla analyzována pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostním detektorem. Acetylderiváty pak byly vyizolovány z reakční směsi pomocí semipreparativní kapalinové chromatografie a jejich struktura byla potvrzena pomocí NMR a hmotnostní spektrometrie.

Pro testování inhibice P-glykoproteinu byly vybrány dvě buněčné linie – HL60 (human promyelocytic leukemia) a rezistentní sublinie HL60/MDR z vysokou expresí P-glykoproteinu. Inhibice byla kvantifikována stanovením akumulace cytostatika doxorubicinu v nádorových buňkách měřené pomocí průtokové cytometrie. Akumulace byla vyjádřena jako poměr fluorescence daného vzorku s inhibitorem vůči negativní kontrole bez inhibitoru. Jako pozitivní kontrola byl použit verapamil. Akumulace doxorubicinu byla hodnocena jednofaktorovou ANOVA následovanou post-hoc Dunnettovým testem pro porovnání jednotlivých vzorků s kontrolou a Tukey testem pro mnohonásobná porovnání vzorků mezi sebou. Lignany byly rozpuštěny v DMSO a aplikovány ve dvou koncentracích  $-12,5$  a  $25\ \mu\text{M}$ .

### **Výsledky:**

Acetylaci lignanu 1, 2 a 3 jsme připravili odpovídající acetylderiváty 1a, 2a, 3a, které byly testovány na schopnost zvyšovat akumulaci doxorubicinu v rezistentních buňkách HL60/MDR.

Při koncentraci 25  $\mu\text{M}$  byl nejúčinnějším inhibitorem verapamil (akumulace doxorubicinu 256%). Účinek všech lignanů bez 7-hydroxy skupiny (tři acetylderivátů a lignanu 1b) byl skoro stejný (221–242%) a statisticky nebyl rozdílný od verapamilu. Účinek všech pěti lignanů s 7-hydroxyskupinou byl nižší než 190%.

Výsledky získané s lignany o koncentraci 12,5  $\mu\text{M}$  potvrzují, že absence 7-hydroxy skupiny významně zesiluje účinek lignanů. Nejúčinnějším lignanem byl 1b (180%) následovaný acetylderiváty (147–162%). Efekt lignanů s 7 hydroxy skupinou byl statisticky nevýznamný.

Protože P-glykoprotein interaguje s inhibitory v buněčné membráně, zaměřili jsme se na vliv hydrofobicity lignanů na jejich účinek. Pro hodnocení hydrofobicity lignanů jsme použili výpočet rozdělovacího koeficientu logP (oktanol/voda) a alternativně kapacitního faktoru (log k) z kapalinové chromatografie na reverzní fázi (RP-HPLC). Parametr log k z RP-HPLC vykázal zřetelně nejvyšší korelaci s inhibicí P-glykoproteinu na obou koncentračních hladinách ( $p < 0,01$ ). Porovnáním naměřené aktivity lignanů s aktivitou predikovanou na základě jejich hydrofobicity jsme zjistili, že výrazný nárůst aktivity dvou acetylderivátů (1a, 2a) nemůže být vysvětlen pouze jejich vyšší hydrofobicitou, ale musí se jednat i o specifický efekt acetylové skupiny.

### **Závěr:**

Připravili jsme 3 nové acetylderiváty dibenzocyklooktadienových lignanů, které inhibovaly aktivitu P-glykoproteinů významně účinněji než výchozí lignany s volnou 7-hydroxyskupinou. Acetylace 7-hydroxyskupiny zcela eliminovala její negativní vliv na inhibici P-glykoproteinu. Ukázali jsem, že aktivita lignanů roste s jejich hydrofobicitou, což se dá vysvětlit působením inhibitorů P-glykoproteinu v hydrofobní buněčné membráně. Studium vlivu hydrofobicity lignanů na jejich schopnost inhibovat P-glykoprotein vedlo ke závěru, že výrazný nárůst aktivity dvou acetylderivátů (1a, 2a) je způsoben také specifickým efektem acetylové skupiny.

### **Poděkování:**

Tato práce byla podpořena granty Specifický výzkum Lékařské fakulty Masarykovy univerzity (MUNI/A/1266/2020) a Josef Dadok National NMR Centre CIISB výzkumná infrastruktura (LM2015043 podpořená MŠMT ČR).

# Temporal changes in the genetic diversity of treponemal strains in Papua New Guinea

**Medappa Monica**

**Pospíšilová Petra, Šmajš David, Mitja Oriol, Gonzalez-Beiras Camila**

Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic, Barcelona Institute for Global Health, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

**Klíčová slova:** Yaws, *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*, *Haemophilus ducreyi*, MLST, SLST

## Úvod:

This work emphasizes on molecular strain typing of yaws pathogen to distinguish strains for epidemiological analyses and suitable patient management. The causative agent of yaws is *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* (TPE) which is closely related to the etiological agent of syphilis. Yaws is an endemic tropical disease affecting children with exudative skin ulcers. The WHO-initiated yaws eradication program aims to eradicate the disease by 2030. Studies conducted in Papua New Guinea (PNG) observed that the major cause of skin ulcers was caused by TPE and *Haemophilus ducreyi* (HD), HD ulcers share the same clinical features as TPE ulcers. Mass drug administration (MDA) with azithromycin is used to treat both yaws and HD ulcers.

## Metody:

\* Patient samples originated from Namatanai region of Papua New Guinea. The samples were procured during the WHO-initiated yaws eradication campaign that was held between June 2018 to Dec 2019. A total of 1,083 swab samples were tested.

\* The whole DNA was extracted using QIAamp DNA mini kit as per the manufacturer's instructions.

\* *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* (TPE) positivity was assessed by PCR amplifying *poA* (TP0105). Multi-locus sequence typing (MLST) was performed using three typing targets namely TP0548, TP0488, and TP0858. According to whole-genome analyses of TPE strains these three genes displayed sufficient genetic polymorphisms to distinguish between TPE strains. A total of 255 samples were fully typed TPE positives from 1,083 patient samples. Additionally, macrolide resistance that confers A2058G and A2059G base substitutions in the 23s rRNA gene were detected. Nested PCR was employed for MLST.

\* *Haemophilus ducreyi* (HD) positivity was assessed using qPCR. Single-locus sequence typing (SLST) was employed by PCR amplifying *dsrA* gene to distinguish HD strains. A total of 294 samples revealed HD positivity from 1,083 samples out of which 270 samples were fully typed.

\* MLST amplified PCR products of TPE and SLST amplified PCR products of HD were sequenced by Sanger sequencing services provided by Eurofins Genomics. Sequencing reads were processed using Lasergene's sequence assembling tool, Seqman, and sequence editor program, EditSeq.

### **Výsledky:**

Fully typed samples included 32% (n = 163) 6.3% (n = 7), 18.8% (n = 35) and 17.9% (n = 50) from round 1 (baseline), round 2 (6 months after MDA), round 3 (12 months after MDA) and round 4 (18 months after MDA), respectively. Sequence-based MLST was performed using TP0548, TP0488, and TP0858. All three typing loci encode outer membrane treponemal proteins.

Based on the allelic variant information derived from each loci, we determined that our clinical isolates comprised of 3 allelic profiles namely J11, T13, and S22. The most predominant strain was J11 followed by S22 and T13. Genetic diversity decreased over time with J11 responsible for most cases in 6-, 12- and 18- month surveys. At the 18th month survey, three cases were found to have A2058G macrolide resistance point mutations.

HD falls under two classes, i.e., class 1 (35000HP) and class 2 (CIP542). Each class is sub-classified into strain types. Closely related HD strains are grouped into each strain type. The *dsrA* gene from both classes had enough discriminatory power to distinguish strains between the two classes and subtype the strains aiding in precise identification. Previous studies have identified eight strain types from class 1 and five strain types of class 2. Our analyses of clinical isolates displayed the presence of four known and three novel genotypes circulating in Namatanai. It was also observed that, unlike TPE, the strain composition of HD remained nearly the same during the period of 1.5 years.

### **Závěr:**

Most skin ulcers in PNG are predominantly caused by TPE and HD. Due to similar clinical manifestations and lesion morphology, ascertaining the cause of the skin ulcers requires PCR targeting of specific genes. However, favorably both pathogens are susceptible to azithromycin. Although elimination of yaws was not achieved, the genetic diversity was reduced in the subsequent rounds following MDA with azithromycin. There is little empirical evidence if this reduction can be attributed to MDA. Contrastingly, there seemed to be a reduction of HD ulcers, but the subsequent rounds showed cases with HD ulcers rebounded suggesting other public health interventions. This study also detected three novel HD genotypes circulating in Namatanai, PNG.

# Přeživší neuroblastomu vysokého rizika vykazují známky obnovy imunitního systému a ne immunosenescence

Lázničková Petra

Kepák Tomáš, Hortová Kohoutková Marcela, Horváth Luděk, Sheardová Kateřina, Marciniak Rafal, Vacca Carmine, Zelante Teresa, Křenová Zdenka, Štěrbá Jaroslav, Bendíčková Kamila, Frič Jan

FNUSA-ICRC, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, Klinika dětské onkologie, FN Brno, 1. neurologická klinika, FNUSA Brno, Department of Experimental Medicine, University of Perugia, Italy, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

**Klíčová slova:** pozdní následky, obnova imunitního systému, neuroblastom vysokého rizika, přeživší dětského onkologického onemocnění

## Úvod:

Onemocnění spojená se stárnutím organismu se často projevují u přeživších dětského onkologického onemocnění dříve než u jejich zdravých vrstevníků. Tento fakt je přisuzován poškození tkání a orgánů intenzivní léčbou a poškození chronickým zánětem. Dětské pacienty s diagnostikovaným neuroblastomem vysokého rizika podstupují velmi intenzivní léčbu zahrnující mimo jiné chemoterapii, autologní transplantaci a radioterapii. Vzhledem k vysoké dávce stresorů předpokládáme, že buňky imunitního systému budou touto terapií dlouhodobě zasaženy a budou vykazovat známky stárnutí imunitního systému, takzvané immunosenescence. Ta již byla potvrzena u přeživších některých dalších dětských onkologických onemocnění a starších lidí s prokázanou křehkostí.

## Metody:

Cílem studie bylo analyzovat fenotyp imunitních buněk (CD4, CD8 T lymfocytů a monocytů) pomocí průtokové cytometrie u dvou skupin přeživších neuroblastomu, skupiny věkově blízkých zdravých dětí a starších jedinců. První skupina přeživších zahrnovala jedince 1–4 roky po diagnóze (medián 3 roky od diagnózy), druhá skupina přeživších byla 5–20 let od diagnózy (medián 8 let po diagnóze). Konkrétně jsme se zaměřili na distribuci CD4 a CD8 T lymfocytů v jednotlivých stupních vývoje - naivní, paměťové, terminálně diferenciované lymfocyty a lymfocyty exprimující znak replikativní senescence CD57. T lymfocyty jsme dále analyzovali pomocí redukce dimenzionality k vytvoření přehledové mapy jednotlivých buněčných typů. V rámci analýzy monocytů jsme se zaměřili na rozdělení monocytů mezi tři jejich subtypy – klasické, intermediální, neklasické – a expresi jejich aktivačních znaků. Současně jsme implementovali funkční test myeloidních buněk pomocí fagocytózy z plné krve a analýzou průtokovou cytometrií.

## Výsledky:

CD8 T lymfocyty vykazovaly známky immunosenescence v první skupině přeživších, tedy 1–4 roky od diagnózy. U druhé skupiny přeživších došlo k opětovnému zvýšení množství naivních buněk, a naopak ke snížení paměťových buněk exprimujících znak replikativní senescence. CD4 lymfocyty ani monocyty nevykazovaly žádné změny v distribuci jednotlivých subtypů, ale monocyty

několika pacientů byly více aktivované ve druhé skupině přeživších. Stejně tak byly myeloidní buňky přeživších druhé skupiny schopny pohltit více fluorescenčních částic, a měly tedy vyšší fagocytární efektivitu.

**Závěr:**

Imunosenescence CD8 T lymfocytů byla pouze dočasná a došlo k normalizaci subpopulací v delším časovém horizontu. Na rozdíl od CD8 T lymfocytů, monocyty jistých pacientů exprimovaly vyšší množství aktivačních molekul. Tuto dlouhodobou změnu ve vyšší aktivitě myeloidních buněk u druhé skupiny přeživších neuroblastomu vysokého rizika dokresluje i vyšší efektivita fagocytózy z plné krve. Vyšší aktivace a aktivita myeloidních buněk může tedy představovat dlouhodobou modulaci imunitních funkcí po terapii neuroblastomu vysokého rizika, které se mohou hrát roli v rozvoji chronického zánětu a potenciálně tak podporovat vznik pozdních následků terapie a rozvoji onemocnění asociovaných se stárnutím.

**Poděkování:**

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NV17-31141A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena. Podpořeno z Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt ENOCH (reg.č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000868).

**65. Studentská vědecká konference  
Program a sborník abstraktů**

Editor: MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

Sazba: Institut biostatistiky a analýz, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity  
Soutěžní abstrakty nebyly redakčně upravovány a za jejich obsah odpovídají autoři příspěvků.

Vydala Masarykova univerzita, Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno  
1., elektronické vydání, 2021

ISBN 978-80-210-6313-6





MUNI  
MED