

## **Decelularizace jako slibná metoda tkáňového inženýrství**

**Richard Adamčík**

**Pracoviště řešitele:** Ústav histologie a embryologie LF HK

**Školitel a pracoviště školitele:** Daniel Diaz Ph.D. , prof. MUDr. Jaroslav Mokřý, Ph.D.,  
Ústav histologie a embryologie LF HK

### **Abstrakt:**

Práce se zabývá metodou chemické decelularizace založené na promývání tkáně roztoky detergentů s cílem rozrušit buněčné membrány a vyplavit poškozené buněčné komponenty. Výsledkem je intaktní extracelulární matrix (ECM) se zachovalým složením a architektonikou ECM původní tkáně. Vyprodukované bezbuněčné konstrukty (scaffoldy) se jeví jako ideální nosné lešení pro osídlení vhodnými buňkami a k produkci tkáňových a orgánových náhrad.

Cílem studie je srovnání různých protokolů decelularizace orgánů laboratorní myši C57Bl6/J a nalezení nejvhodnějšího postupu pro decelularizaci následujících orgánů: kosterní sval, žaludek, močový měchýř, játra, ledviny a periferní nerv. Rovněž bude testováno, zdali jsou získané bezbuněčné scaffoldy vhodné pro osídlení buňkami.

Odzkoušeli jsme protokoly založené na imerzi orgánů v roztoku detergentu za působení mechanické agitace po různé časové intervaly. K decelularizaci byl použit 1 % SDS nebo 1 % Triton X-100, třetí přístup představoval námi vytvořený protokol. Ten spočíval v kombinaci působení hypertonického a hypotonického prostředí, následoval oplach v 1% SDS spolu s 0,02% EDTA v různých časech. Finální sterilizaci a vyplavení zbývající DNA jsme zajistili 3- hodinovým ponořením v 0,1% peroctové kyselině. Poté byly vzorky umístěny do PBS puftru s obsahem antibiotik po dobu 72h za účelem vyplavení buněčných zbytků. Pro vyhodnocení úspěšnosti uvedených metodik byla zvolena mikroskopická analýza, elektronová mikroskopie a imunohistochemické metody detekce za užití protílátek: anti-collagen IV, anti-laminin a anti-fibronectin. Bezbuněčné scaffoldy kosterního svalu byly dále využity pro osídlení myšími myoblasty C2C12.

Mikroskopická a elektronmikroskopická analýza prokázala nejlepší výsledek za užití námi vytvořeného protokolu. Histochemické a imunohistochemické techniky prokázaly odstranění buněk, avšak zachování struktury a důležitých složek extracelulární matrix. Elektronová mikroskopie odhlalila jen malá poškození ultrastruktury ECM se zachováním orientace a příčného žíhání kolagenních vláken. Kultivace myoblastů potvrdila kompatibilitu bezbuněčných scaffoldů s buňkami. 1% SDS se rovněž jeví jako vysoce účinný decelularizační prostředek. Triton X-100 však nevedl k úspěšné decelularizaci ani po 32h.

Pravděpodobně neexistuje všeobecně platná metoda použitelná pro všechny typy tkání. Přesto se jako nejvhodnější postup jeví užití námi vytvořeného protokolu. Výsledky naznačují, že decelularizované bezbuněčné konstrukty mohou v budoucnu představovat ideální nosný prvek pro vytváření tkáňových a orgánových náhrad využitelných v lidské transplantologii. Práce vznikla za podpory projektů GAUK č.736213 a ESF a ČR č. CZ.1.07/2.3.00/30.0022.

## **Detection of the gene encoding the surface lipoprotein LipL32 and its use in clinical diagnosis of leptospirosis**

**Muzaffer Ahmad**

**Department of origin:** Department of Clinical Microbiology, University Hospital, Hradec Králové

**Tutor and Tutor's Department:** Zuzana Čermáková, D.V.M., Ph.D., Petra Kučerová MS, Department of Clinical Microbiology, University Hospital, Hradec Králové

### **Abstract:**

**Introduction:** Leptospirosis is a zoonosis with a worldwide distribution. The infective agents are aerobic spiral bacteria of the *Leptospira* genus which are divided on the basis of genetic analysis into 20 genomospecies. The disease can proceed with slight influenza symptoms up to states with hepatorenal failure, cardiac and respiratory insufficiency, haemorrhagic diathesis or aseptic meningitis. In the first week of infection (no specific antibodies are present) it is recommended to examine biological materials by using molecular biological methods, and in the second week of infection, microagglutination test is used.

**Aim of study :** In our study, we focused on the detection of the gene for lipoprotein LipL32 by using real-time PCR method to diagnose the acute form of leptospirosis and we tried to accelerate laboratory diagnosis of leptospirosis.

**Materials and Methods:** In April 2010, real-time PCR method of detection of the gene encoding LipL32 of pathogenic leptospires was introduced at the Department of Clinical Microbiology and Department of Clinical Biochemistry and Diagnostic. Real-time PCR method was using of 230 laboratory strains of leptospires confirmed. Positive analytical specificity for 11 laboratory strains of pathogenic leptospires and negative analytical specificity for laboratory strains of *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Borrelia burgdorferi*, CMV and *Leptospira biflexa* were confirmed. Further 455 biological materials (216 × blood plasma, 121 × urine, 72 × liquor, 7 × BAL, 2 × sputum) from 295 patients with suspected leptospirosis were examined.

**Results:** Total of 9 persons were evaluated as LipL32 positive, from which 15 positive biological materials (9× urine, 4× blood plasma, 2× liquor) originated. Positive and negative analytical specificity 100 % were detected. Limit of detection 1 -5 copies of genome/ 1 ml of biological liquid material was determined. Result of real-time PCR examination in 4 - 5 h are available. No positive titres of antibodies in blood samples examined with using of Microagglutination test were determined (biological materials were sampled at the same time as material for PCR). After 1 month titres of Microagglutination test were positive ( $\geq 1:400$ ) or border (1:200).

**Conclusion :** Real-time PCR method of detection of the gene for lipoprotein LipL32 is an appropriate, quick and reliable method for the diagnosis of the acute form of leptospirosis.

## Mikrocirkulace u pacientů po transplantaci srdce

**David Astapenko**

**Pracoviště řešitele:** Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** prof. MUDr. Vladimír Černý, Ph.D., FCCM, Klinika anesteziologie resuscitace a intenzivní medicíny LF a FN HK

### **Abstrakt:**

Úvod: Transplantace srdce se stala rutinně užívanou metodou léčby terminálních stavů srdečního selhání stejně tak jako metody jeho mechanické srdeční podpory popř. náhrady. Mikrocirkulace hraje zásadní roli ve tkáňovém metabolismu a srdeční selhání je spojeno se změnami na úrovni mikrocirkulace. Základní testovanou hypotézou byla předpokládaná změna parametrů mikrocirkulace před a po transplantaci srdce.

Cíl studie: Cílem práce bylo sledování změn mikrocirkulace u pacientů se zavedenou mechanickou srdeční podporou a po provedení transplantace.

Metodika: Mikrocirkulace byla hodnocena na sublingvální sliznici metodou sidestream dark – field imaging (SDF) za období 2 let u všech pacientů, kteří měli před transplantací mechanickou srdeční podporu (Heart Mate II). Studie probíhala ve spolupráci s Institutem klinické a experimentální medicíny v Praze. Získaná data byla analyzována off-line za použití software AVA 3.0 (Microvision Medical, Amsterdam, Nizozemí) a statisticky zpracována. Hodnotili jsme celkovou vaskulární denzitu (TVD), hustotu perfundovaných cév – funkční kapilární denzitu (FCD), De Backer skóre pro objektivizaci členitosti kapilární sítě (DBS), poměr perfundovaných ku neperfundovaným cévám (PPV) a průtok v kapilární síti (MFI). Číselná data jsou uvedena jako průměr ( $\pm$  směrodatná odchylka) a hodnota p reprezentuje výsledek párového t testu.

Výsledky: Celkem bylo hodnoceno 540 záznamů od 18 pacientů. TVD byla 17,83 ( $\pm$  1,39) před a 18,61 ( $\pm$  2,45) po ptransplantaci,  $p = 0,07$ . Průměrná hodnota FCD byla 12,75 ( $\pm$  2,58) před a 17,88 ( $\pm$  2,52) po transplantaci,  $p < 0.0001$ . Průměrná hodnota DBS byla 10,39 ( $\pm$  0,87) před a 10,97 ( $\pm$  1,33) po transplantaci,  $p = 0,03$ . Průměrná hodnota PPV byla 71,05 ( $\pm$  12,18) před a 96,11 ( $\pm$  5,76) po transplantaci,  $p < 0.0001$  a průměrná hodnota MFI byla 1,95 ( $\pm$  0,22) před a 2,78 ( $\pm$  0,14) po transplantaci,  $p < 0.0001$ .

Závěr: Výsledky prokázaly změny většiny sledovaných parametrů mikrocirkulace u pacientů s mechanickou srdeční podporou po provedené transplantaci sedce. Příčinou zlepšení je pravděpodobně zvýšení srdečního výdeje po transplantaci.

Práce byla podpořena PRVOUK P37/02.

# **Traumateam České republiky z pohledu nelékařského zdravotnického personálu**

**Lenka Slavíková, DiS.**

**Pracoviště řešitele:** Fakultní nemocnice Brno, Klinika úrazové chirurgie, JIP1

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Petr Nestrojil, CSc., Fakultní nemocnice Brno, Klinika úrazové chirurgie

## **Abstrakt:**

Práce je věnována Traumateamu České republiky. Teoretická část je zaměřena na mimořádné události. Popisuje katastrofy a nejčastější typy úrazů. Potupně je čtenář seznámen s Traumateamem České republiky, jeho posláním, materiálním vybavením a s členy týmu. V empirické části je popsán výzkum, formou anonymního dotazníku. Vzorek tvořilo 30 členů Traumateamu České republiky. Zjištěné informace jsou srovnány s jinými Traumateamy ve světě.

## **Kvalita života matek dětí s DMO**

**Pavla Svobodová**

**Pracoviště řešitele:** Kojenecký ústav a dětský domov Svitavy

**Školitel a pracoviště školitele:** prof. PhDr. Jiří Mareš, CSc., Ústav sociálního lékařství LF HK

### **Abstrakt:**

Kvalitativní výzkum zkoumal kvalitu života matek, jimž se narodilo dítě, které je postiženo dětskou mozkovou obrnou (DMO). Výzkum se soustředil na čtyři matky (věk 38-42 let) a čtyři děti (věk 7-15 let, medián 8 let). Základní metodou byl polostrukturovaný rozhovor s matkami. Rozhovor byl se souhlasem matek nahráván, přepsán do doslovného protokolu a analyzován. Základní témata, která se z rozhovorů vynořila, byla: průběh těhotenství a porodu, alibismus zdravotníků při sdělování diagnózy, náročná situace během prvního roku života postiženého dítěte, sociální opora matky v rodině, situace zdravých sourozenců nemocného dítěte, změny kvality matčina života v čase, strategie zvládnání zátěže, pozitivní aspekty života rodiny, která má dítě s DMO.

# **Znalosti komunikace u nelékařských zdravotnických pracovníků v léčebně dlouhodobě nemocných**

**Gabriela Synková**

**Pracoviště řešitele:** Poličská nemocnice, s.r.o., LDN

**Školitel a pracoviště školitele:** doc. PhDr. Jana Kutnohorská, CSc., Ústav sociálního lékařství LF HK

## **Abstrakt:**

Bakalářská práce pojednává o komunikaci v léčebně dlouhodobě nemocných. Hlavním cílem této práce je zjistit, zda se liší znalosti komunikace mezi nelékařskými zdravotnickými pracovníky s přihlédnutím na jejich pracovní zařazení. Práce je rozdělena na dvě části: teoretickou a empirickou. Teoretická část obsahuje tyto kapitoly: význam komunikace v ošetrovatelské péči, komunikace, specifika komunikace v léčebně dlouhodobě nemocných. Součástí empirické části je kvantitativní výzkumné šetření zjišťující rozdíly v komunikaci mezi čtyřmi skupinami nelékařských zdravotnických pracovníků. Všichni tito pracovníci jsou zaměstnanci léčebny dlouhodobě nemocných v Poličské nemocnici, s.r.o.

## **Perioperační zobrazení mikrocirkulace**

**Marcela Bílská**

**Pracoviště řešitele:** Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Islam Saleh Abdo, Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny LF a FN HK

### **Abstrakt:**

#### Úvod

Hlavním úkolem perioperačního tekutinového managementu je zajištění tekutinové a elektrolytové homeostázy důležité pro adekvátní tkáňový metabolismus.

Side stream dark field imaging (SDF) je neinvazivní způsob zobrazení mikrocirkulace u lůžka pacienta.

Primárním cílem této studie je zhodnotit použití SDF a rozhodnout, zda je SDF schopno detekovat perioperační poruchy mikrocirkulace způsobené krevní ztrátou nebo redistribucí tekutin a zda zjištěné změny korelují s tekutinovým managementem. Sekundárním cílem je na základě získaných dat vytvořit algoritmy, které by umožnily vedení perioperačního tekutinového managementu pomocí SDF.

#### Metody

Do studie byly zařazeny tyto tři skupiny pacientů:

Skupina 1 (n=10): artroskopie kolene – kontrolní skupina, kde nebyly očekávány větší krevní ztráty.

Skupina 2 (n=10): Transverse Rectus Abdominis Myocutaneous flaps – zde se předpokládala jen malá krevní ztráta, ale jedná se o déle trvající operaci s rizikem poruchy vodní rovnováhy.

Skupina 3 (n=10): revizní operace náhrady kyčelního kloubu – během operace se očekávaly střední krevní ztráty, tj. 500-1000 ml.

U každého pacienta jsme nahráli dvacet SDF snímků v pěti zorných polích na subligvální sliznici. Každý snímek byl rozdělen na kvadranty, které hodnotíme individuálně dle převažujícího typu průtoku (bez průtoku=0, nesouvislý=1, pomalý=2, normální=3). Průtok v kapilární síti (tzv. MFI) je stanoven jako průměr hodnot ze všech čtyř kvadrantů.

Při každém SDF zobrazení byly současně zaznamenány základní hemodynamické parametry a parametry respirace, dále krevní ztráty a typ a množství podaných tekutin.

Měření proběhlo v časech: S0 – před operací, T1 až Tx – každou hodinu během operace počínaje po úvodu do anestezie, S1 – 1 hodina po operaci, S2 – 2 hodiny po operaci.

V současné době je dokončen sběr dat a probíhá hodnocení a statistické zpracování výsledků.

# Retrospektivní popisná statistika případů akutní pankreatitidy hospitalizovaných na JIMP

**Petr Bína**

**Pracoviště řešitele:** III. interní gerontometabolická klinika LF a FN HK, odd. JIMP

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Pavel Vyroubal, Ph.D., III. interní gerontometabolická klinika LF a FN HK

## Abstrakt:

Úvod: Akutní pankreatitida (AP) je onemocnění s incidencí 5 – 20 případů na 100000 obyv./rok. Asi 80 % případů se prezentuje jako lehké onemocnění s nízkou mortalitou (1 – 3 %). Zbývá pětina se rozvíjí do závažného onemocnění s mortalitou mezi 30 – 70 %. Mezi nejčastější příčiny patří obstrukce pankreatického vývodu (50 – 60 %) a toxické působení alkoholu (20 – 30 %). Méně časté příčiny jsou hyperlipidemická krize, trauma, tumory podjaterní krajiny, farmaka nebo sepsa a šok. U asi 20 % AP však nelze prokázat příčinu.

Metodika a data: Z elektronického informačního systému jsme získali soubor pacientů s akutní pankreatitidou přijatých na jednotku intenzivní péče III. Interní gerontometabolické kliniky FN HK od srpna 2002 do května 2012. Ve spolupráci s Radiologickou klinikou byly přehodnoceny nálezy CT vyšetření od r 2006 u všech pacientů, kteří jej podstoupili.

Výsledky: Do retrospektivní studie bylo zařazeno celkem 231 případů AP u 224 pacientů (u 7 pacientů se jednalo o opakovanou AP), z toho 113 žen (50,4%) a 111 mužů. Věk pacientů se pohyboval v rozmezí od 22 do 98 let (medián 59, průměr 57,9 směrodatná odchylka 17,5). Při první hospitalizaci na JIP zemřelo 13 pacientů (5,62 %), 9 mužů a 4 ženy. Medián věku zemřelých byl 65 let, průměr 59, směrodatná odchylka 13,1.

Příčiny akutních pankreatitid zahrnovaly biliární (108; 46,8 %), alkoholickou (27; 11,7 %), hyperlipidemickou (16; 6,9 %) nebo jinou (5; 2,2 %). Zbýlých 75 případů (32,5 %) zůstalo neobjasněno a vedeno jako idiopatická pankreatitida.

Standardní součástí léčebné strategie nemocných byla volumexpanze za pomoci krystaloidních roztoků (mezikvartilové rozpětí prvního dne infuzní terapie 6000 – 9163 ml). U přeživších pacientů došlo v prvních 48 h k pozitivní tekutinové bilanci (retenci tekutin) průměrně 4270 ml tekutin, u zemřelých pacientů to bylo průměrně 9220 ml. V rámci retrospektivní studie bylo provedeno hodnocení morfologického nálezu za pomoci CT s aplikovanou kontrastní látkou intravenózně. Celkem bylo CT vyšetření provedeno u 125 pacientů (54,1 %). U zbylých pacientů, u kterých nebylo CT morfologické vyšetření provedeno, byly klinické zn. lehké AP, pro které nebylo toto vyšetření indikováno. Z celkového množství provedených CT vyšetření byla v 19 případech nalezena nekroza pankreatu nepřesahující 30 %, v 11 případech nekroza zasahovala více jak 30 % pankreatu. U 95 nebyla nalezena žádná nekóza. U nemocných s verifikací nekrotizující pankreatitidy byla zjištěna mortalita 6,7 %.

Závěr: Ve srovnání s literárními údaji se námi sledovaný soubor nemocných nelišil z pohledu etiologie akutní pankreatitidy. Z pohledu prognózy průběhu pankreatitidy lze označit nemocné s větší vstupní pozitivní tekutinovou bilancí jako nemocné s předpokládaným těžkým průběhem a suspektním rozvojem nekrozy. Incidence onemocnění není ovlivněna pohlavím.



## **Evaluace úrovně cytotoxicity naivních "přirozených zabíječů" po stimulaci interleukiny 12 a 15**

**Martin Bortlík**

**Pracoviště řešitele:** Centrum pokročilých studií, Fakulta vojenského zdravotnictví UO Brno

**Školitel a pracoviště školitele:** prof. MUDr. Pavel Boštík, Ph.D., Centrum pokročilých studií, Fakulta vojenského zdravotnictví UO Brno

### **Abstrakt:**

Východisko: Allogenní pupečnicková krev (UCB) je dnes ve světě stále častěji užívaným zdrojem hematopoetických kmenových buněk (HSC) pro hematologické rekonstituce po myeloablativní terapii zejména dětských pacientů, ale také dospělých, kteří postrádají HLA-odpovídající dárce. Předchozí studie v těchto případech jasně demonstrují signifikantní snížení jak incidence, tak závažnosti graft-versus-host reakce (GvHD) a lepší přijetí štěpu v porovnání s užitím kostní dřeně (BM).

Přirození zabíječi, neboli NK buňky, hrají jednu z hlavních rolí v rámci těchto biologických procesů a dále se významně podílejí na žádoucích reakcích typu graft-versus-leukemia (GVL) a graft-versus-tumor (GVT).

In vitro stimulace naivních umbilikálních přirozených zabíječů, jakožto zásadních efektorů nespecifické buněčné imunity, je jedním ze způsobů, jak zvýšit reaktivitu a cytolytickou funkci těchto buněk. Přirození zabíječi nejčastěji zabíjejí cílové (nádorové, virem infikované) buňky indukci apoptózy, a to rozmanitou škálou efektorových mechanismů zahrnujících tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), fas/fas ligand interakce, nebo tandem perforin/granzym.

Metodika: V rámci studie byl sledován efekt in vitro stimulace NK buněk izolovaných z UCB za pomoci interleukinů IL-12 a IL-15. Aktivace (CD69) a modulace buněčných funkcí byla měřena stanovením hladin sekrece prozánětlivých cytokinů TNF- $\alpha$  a IFN- $\gamma$  (ELISA, FACS) a intracelulární produkcí proteinů PERFORINU a GRANZYMU A (FACS). Současně testováním viability, míry apoptózy a úrovně cytotoxicity na modelech standardních nádorových linií (HepG2) metodou xCELLigence.

Výsledky: Námí testované interleukiny IL-12 a IL-15 mají schopnost aktivovat umbilikální přirozené zabíječe a zvyšovat produkci výše zmíněných faktorů. Stimulace UCB NK buněk v případě aplikace kombinace obou interleukinů vykazuje synergický efekt a vede k produkci signifikantně vyšších hladin sledovaných látek. Nestimulovaná množina buněk (neg. kontrola) měla větší tendenci apoptotizovat; viabilita buněk stimulovaných byla takřka 100%.

Závěr: Výsledky této studie ukazují možnost modulace aktivity efektorů nespecifické buněčné imunity v UCB a mohou mít terapeutické uplatnění při návrhu in vitro nebo in vivo cytokinové terapie zejména u dětských pacientů přijímajících pupečnickovou krev jako alternativu ke kostní dřeni.

# Vliv chirurgické léčby makulární díry na anatomii a funkci

**Marie Březinová**

**Pracoviště řešitele:** Oční klinika LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Libor Hejsek, Ph.D., Oční klinika LF a FN HK

## **Abstrakt:**

**Úvod:** Idiopatickou makulární dírou (IMD) rozumíme kompletní defekt neuroretinální tkáně v oblasti fovey. Nejčastěji vzniká kolem sedmého decenia. Incidence se pohybuje okolo 0,3/1000, onemocnění postihuje častěji ženy. IMD je t.č. léčitelná pouze operačně – cestou pars plana vitrektomie (PPV).

**Cíl:** Cílem výzkumu bylo zhodnotit anatomické a funkční výsledky operace IMD.

**Metodika:** Hodnotili jsme roční, prospektivní, nerandomizované, anatomické a funkční výsledky operace IMD ošetřené peelingem membrány limitans interna (MLI) a nitrooční plynovou tamponádou. Soubor obsahoval 25 očí 25 pacientů (21 žen a 4 muži) průměrného věku 72 let. IMD byly ve stádiu 2 až 4 dle Gasse.

Použité anatomické vyšetřovací techniky byly biomikroskopie a OCT (optická koherentní tomografie). Stádia IMD jsme hodnotili dle Gasse. Anatomická vyšetření byla prováděna 1 den před operací, měsíc po operaci a dále pak za 3, 6 a 12 měsíců po operačním zákroku. Funkční vyšetření probíhala ve stejném časovém sledu jako vyšetření anatomická. Hodnotili jsme NKZO (nejlépe korigovanou zrakovou ostrost do dálky) na ETDRS optotypech. Objektivní funkční měření byla prováděna pomocí elektroretinografie multifokální (mfERG) a reverzační elektroretinografie při šachovnicové stimulaci (PERG). Ke statistickému zhodnocení byl použit neparametrický Wilcoxonův test.

**Výsledky:** Stádium 2 bylo přítomné u 7 očí, stádium 3 u 12 očí a ve stádiu 4 bylo 6 očí. Z celkově hodnocených 25 očí se IMD kompletně uzavřela u 23 (92%). Dvakrát zůstala IMD neuzavřená, z toho jednou s přiloženými okraji. Vstupní NKZO se pohybovala v průměru okolo 0,3. Její pooperační zlepšení je v závislosti na stupni IMD před operací, nižší stupeň IMD znamená výraznější zlepšení. MfERG potvrdila významné zlepšení foveolární i parafoveolární aktivity u pacientů 2. a 3. stádia IMD. Hodnoty latence i amplitudy vlny N95 při PERG všech očí se pohybovali v mezích normálních hodnot.

**Diskuse:** Výsledky operace IMD se v našem souboru významně neliší od publikovaných prací. Kompletní uzávěr IMD v 90% po první operaci je v současné době prakticky „standardní“.

Elektrofyzilogické výsledky, ač hovoříme o objektivních metodách, mohou být ovlivněny různými faktory. Nejčastější komplikací PPV u IMD je rozvoj katarakty a rekurence IMD.

**Závěr:** Vzhledem k příznivým anatomickým a funkčním výsledkům považujeme operační řešení makulární díry cestou pars plana vitrektomie s peelingem MLI za bezpečnou a efektivní techniku, která zvyšuje pravděpodobnost uzávěru IMD, a to zejména ve vyšších stádiích onemocnění.

Nejlepších pooperačních výsledků bývá dosahováno u pacientů s nižšími stádii IMD s kratší dobou trvání symptomů.

# **The Epidemiology and Treatment of Pneumocystis Pneumonia in Immunological Susceptible Patients in the United Kingdom and the Czech Republic**

**Amardass Kishan Singh Dhani**

**Department of origin:** Department of Clinical Microbiology, University Hospital, Hradec Králové

**Tutor and Tutor's Department:** Zuzana Čermáková, D.V.M., Ph.D., Department of Clinical Microbiology, University Hospital, Hradec Králové

## **Abstract:**

Pneumocystis Jiroveci (*P. carinii*) is an opportunistic fungal pathogen which has gained particular prominence since the onset of the AIDS epidemic. Due to relatively high incidence of Pneumocystis pneumonia (PcP) complicating HIV infection, it often termed the AIDS-defining illness. Among several important advances in diagnosis and management, appropriately targeted prophylaxis towards HIV-infected patients, has contributed to the global reduction of PcP. However, despite the success of these clinical interventions, PcP still remains the most common opportunistic pneumonia and the most common life-threatening infectious complication in HIV-infected patients. Together with the steady rise of PcP in HIV negative patients and due to emergence of Pneumocystis Jiroveci resistant strains to the main prophylactic drug of choice, trimethoprim-sulfamethoxazole, has led to divergence in both the detection and management of PcP patients around the world. Therefore, the primary aim of this paper is to investigate what percentage of patients with PcP are HIV positive and then correlate these findings with the prevention and treatment regimes in the United Kingdom and the Czech Republic.

## **Syndrom zanořeného disku jako komplikace perkutánní endoskopické gastrostomie**

**Jiří Dyntr**

**Pracoviště řešitele:** II. interní gastroenterologická klinika LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Jiří Cyrany, II. interní gastroenterologická klinika LF a FN HK

### **Abstrakt:**

Úvod: Perkutánní endoskopická gastrostomie (PEG) je metoda užívaná k podávání enterální výživy pacientům, u kterých je příjem stravy per os z různých důvodů znemožněn. Nejčastějšími indikacemi k zavedení gastrostomie jsou malignity v oblasti horní části trávicí trubice a neurologická onemocnění. Syndrom zanořeného disku (burried bumper syndrome) je vzácnou, ale relativně závažnou komplikací PEG, při které dochází k migraci (zarůstání) vnitřního fixačního zařízení kanyly směrem ze žaludku ven podél stomického traktu. Hlavním etiologickým faktorem je přílišný tlak vyvíjený zevním fixačním zařízením gastrostomie.

Cíle: Stanovit incidenci syndromu zanořeného disku.

Metodika: Z nemocničního informačního systému byly retrospektivně identifikovány endoskopické výkony zavedení PEG. Dle dokumentace pak byly u těchto výkonů zjištěny základní demografické údaje, indikace zavedení PEG a typ procedury. Stejným způsobem byly identifikovány případy diagnostikovaného syndromu zanořeného disku.

Výsledky:

V období 1.1.2002 až 31.12. 2011 bylo na endoskopickém pracovišti zavedeno 868 PEG u pacientů v průměrném věku 66 let (14- 101 let), 62 % gastrostomií bylo zavedeno u mužů. Ve 47% byla gastrostomie zavedena z důvodu neoplasmatu aerodigestivního traktu (14 % orální, 30 % faryngo-laryngeální neoplasmata). V 50 % byla gastrostomie zavedena z indikace neurologické (17 % stav po cévní mozkové příhodě, 10 % pokročilá demence, 23 % ostatní neurologická onemocnění). V 89 % se jednalo o primoimplantaci gastrostomické kanyly, jen v 8 % se jednalo o výměnu.

Ve stejném období bylo diagnostikováno 31 případů syndromu zanořeného disku (bez ohledu na datum zavedení) - opačně vzato 30 gastrostomií v tomto období zavedených se následně komplikovalo syndromem zanoření (bez ohledu na datum diagnózy komplikace). Z těchto pacientů bylo 66 % mužů. U těchto pacientů byla gastrostomie indikována ve 44 % pro neoplasma aerodigestivního traktu, ve 44 % z neurologické indikace.

Incidenci syndromu zanořeného disku stanovujeme na 3,57 %. Gastrostomie, které se komplikovaly syndromem zanoření, se nelišily v pohlaví ani ve spektru indikací.

Závěry:

Syndrom zanořeného disku je vzácnou komplikací (incidence 3,57 %), pohlaví ani indikace k zavedení gastrostomie se nejeví jako rizikový faktor pro vznik této komplikace.

# **Význam onkomarkeru CA 19-9 v diagnostice, resektabilitě a přežití pacientů s karcinomem slinivky břišní**

**Markéta Hermanová**

**Pracoviště řešitele:** Chirurgická klinika LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Filip Čečka, Ph.D., Chirurgická klinika LF a FN HK

## **Abstrakt:**

**ÚVOD A CÍL:** Karcinom slinivky břišní je agresivní nádorové onemocnění s nepříznivou prognózou. U většiny pacientů je v době diagnostiky zjištěn již pokročilý nález. Jedinou možností léčby, která významně prodlužuje přežití, je radikální chirurgická resekce, ta je ovšem možná pouze u 20-30% procent pacientů.

Onkomarker CA 19-9 se běžně používá jako pomocný faktor v rámci diagnostiky, dále se používá v dispenzarizaci pacientů při pátrání po recidivě onemocnění. Cílem naší práce bylo zjistit, zda má hladina CA 19-9 před zahájením léčby vliv na resektabilitu a přežití pacientů.

**METODIKA:** Retrospektivně jsme vyhodnotili údaje pacientů, kteří byli vyšetřeni na Chirurgické klinice FN HK pro karcinom slinivky v letech 2006 až 2012. Hodnotili jsme typ operačního výkonu, jeho radikalitu, staging nádoru. Přežití pacientů jsme sledovali podle záznamů ambulantních návštěv, dotazem u ošetřujícího onkologa nebo praktického lékaře. Statisticky jsme analyzovali souvislost hladiny CA 19-9 s resektabilitou nádoru a celkovým přežitím pacientů.

**VÝSLEDKY:** Za uvedené období jsme na Chirurgické klinice vyšetřili 173 pacientů s karcinomem slinivky, u 163 z nich byla vyšetřena hladina CA 19-9 před zahájením léčby. Hladina CA 19-9 byla zvýšena celkem u 71 % pacientů. Radikální resekce byla provedena u 28 % pacientů, paliativní spojková operace nebo explorace u 39 % a 27 % pacientů nebylo operováno. Hladina CA 19-9 u pacientů, kteří podstoupili resekcční výkon, byla významně nižší než v ostatních dvou skupinách ( $p < 0.05$ ). V našem souboru se nepotvrdilo, že CA 19-9 má vliv na přežití pacientů. Hlavní faktor, který ovlivňuje přežití, je radikalita resekce.

**ZÁVĚR:** Karcinom slinivky břišní je závažné nádorové onemocnění, které má špatnou prognózu. Radikální resekce, která jako jediná modalita léčby signifikantně prodlužuje přežití, je možná pouze u menšiny pacientů. CA 19-9 se používá jako pomocný faktor v diagnostice karcinomu slinivky. V naší studii jsme prokázali, že CA 19-9 u neresektabilních nádorů je významně vyšší než u resektabilních nálezů.

## **Vliv různých koncentrací epigalokatechinalátu na hepatocyty potaka in vitro**

**Vera Karaliova**

**Pracoviště řešitele:** Ústav fyziologie LF HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Otto Kučera, Ph.D., Ústav fyziologie LF HK

### **Abstrakt:**

Epigalokatechin-3-galát (EGCG) je hlavní složkou extraktu zeleného čaje. U EGCG byly prokázány antioxidační, protizánětlivé a protinádorové účinky. V poslední době se nicméně množí důkazy o jeho toxických účincích, zejména při užívání EGCG ve vysokých dávkách. Cílem této práce bylo porovnat vliv EGCG v různých koncentracích na hepatocyty potkana in vitro a zjistit, od jaké koncentrace EGCG vykazuje hepatotoxické účinky.

Hepatocyty byly izolovány dvoustupňovou kolagenázovou perfúzí jater potkanů, samců kmene Wistar (268±45g). Izolované hepatocyty byly po zjištění viability (trypanová modř) nasazeny na kolagenované mikrotitrační destičky a inkubovány ve Williamsově E médiu (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) po dobu 24 hodiny s EGCG (1- 100 μmol/l). Míra poškození buněčné membrány byla hodnocena z aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) v kultivačním médiu. K posouzení viability buněk sloužilo měření aktivity celulózních dehydrogenáz (WST-1 test). Tvorba reaktivních kyslíkových radikálů (ROS) byla stanovena pomocí fluorescenční sondy dihydrodichlorofluoroscein diacetátu (DCFDA). Koncentrace malondialdehydu (MDA) v médiu byla použita jako marker lipoperoxidace. Funkční kapacita hepatocytů byla posuzována z produkce urey a albuminu hepatocyty.

Inkubace hepatocytů s EGCG v koncentracích od 20 μmol/l vedla k signifikantně vyššímu úniku LDH z poškozených buněk do kultivačního média, k poklesu aktivity celulózních dehydrogenáz a ke snížení produkce albuminu hepatocyty (oproti intaktním kontrolám). Tvorba ROS se snižuje v závislosti na použité dávce EGCG.

V našem pokusném uspořádání nevedla 24hodinová inkubace s EGCG v koncentracích do 15 μmol/l k poškození hepatocytů. EGCG od koncentrace 20 μmol/l vykazuje na dávce závislé hepatotoxické účinky.

Podpořeno programem PRVOUK P37/02.

## **Subcelulární lokalizace vybraných proteinů po ovlivnění linie leukemických buněk MOLT-4 mitoxantronem**

**Martina Lesná**

**Pracoviště řešitele:** Ústav lékařské biochemie LF HK

**Školitel a pracoviště školitele:** Mgr. Jana Čmielová, Ph.D., Ústav lékařské biochemie LF HK

### **Abstrakt:**

Úvod: Mitoxantron (MTX) je jako protinádorové chemoterapeutikum používán při léčbě leukemií, karcinomu prsu, karcinomu prostaty a jako podpůrná léčba v neurologii u roztroušené sklerózy. Má schopnost interkalovat se do DNA a inhibovat topoizomerázu II, což má za následek indukci dvojitých zlomů DNA. Prvním krokem v odpovědi na poškození DNA je aktivace ATM kinázy a kontrola buněčného cyklu, ať už cestou závislou na proteinu p53 (skrže protein p21) nebo nezávislou (skrže ovlivnění aktivity kontrolních kináz Chk1 a Chk2) nebo vstup buněk do apoptózy.

Cílem práce bylo určit změny proteinů odpovídajících na poškození DNA (p53, p53\_15, p53\_392, p21, Chk2, Chk2\_68, MDM2, MDM2\_166) a jejich lokalizaci v buněčném jádře a cytoplasmě.

Metodiky: Po ovlivnění buněk linie MOLT-4 (T lymfocytární akutní leukémie) MTX o koncentraci 1 nmol/l a 5 nmol/l byla stanovena viabilita a proliferace buněk v intervalech 1, 4, 24, 48 a 72 hod. Pomocí elektroforézy spojené s western blottingem byly stanoveny změny proteinů v jaderné, cytoplazmatické a celobuněčné frakci v intervalech 1, 4, 8, 16, 24, 48, 72 hod. Pro detekci proteinu p21 byla dále použita imunofluorescence.

Výsledky: Buňky linie MOLT-4 po ovlivnění MTX o koncentraci 1 nmol/l neumírají, ale snižuje se jejich schopnost proliferace. Za 48 hodin po ovlivnění 1 nmol/l MTX bylo 84 % buněk živých (93 % u kontrolních buněk) a celkový počet buněk se zvýšil 4 krát (6 krát u kontrolních buněk). Po ovlivnění MTX o koncentraci 5 nmol/l zůstalo po 48 hodinách pouze 1 % buněk živých. Pro další pokusy jsme zvolili koncentraci 1 nmol/l.

Hodnotili jsme změny v expresi proteinu p53 a jeho fosforylací na serinech 15 a 392. Jeho exprese byla zvýšena po 24 hodinách po inkubaci s MTX a zvýšení přetrvávalo až do 72 hodin. Signifikantně vyšší hladiny proteinu p53 i jeho fosforylovaných forem jsme pozorovali v jaderných frakcích. MTX vyvolal vzestup hladiny proteinu Mdm2 a jeho fosforylované formy na serinu 166 ve všech časových intervalech, tento protein není přítomen v jádrech buněk. Zvýšené množství Chk2\_t68 jsme pozorovali po 24 až 72 hodinách po inkubaci, signifikantně vyšší hladiny tohoto proteinu se objevily v cytoplazmatických frakcích. Pomocí imunofluorescenční metody jsme detekovali zvýšenou expresi proteinu p21 za 4 hodiny po ovlivnění 1 nmol/l MTX.

Závěr: Mitoxantron o koncentraci 1 nmol/l vyvolává v buňkách linie MOLT-4 zvýšení exprese proteinu p53 a jeho fosforylovaných forem na serinech 15 a 392 především v jádrech buněk, v cytoplasmě stoupá hladina Chk2 fosforylované na threoninu 68. Po 4 hodinách inkubace dochází k vzestupu proteinu p21.

## Využití musculus tensor fasciae latae k neovaskularizaci kostního defektu

**Tomáš Maruškin, Filip Varhaník**

**Pracoviště řešitele:** Ústav anatomie LF HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Petr Hájek, Ph.D., Ústav anatomie LF HK

### **Abstrakt:**

Musculus tensor fasciae latae je sval, který se nachází na ventrolaterální straně stehna a funguje jako abduktor kyčelního kloubu. Jeho celkový význam pro běžný pohyb v kyčelním kloubu je postradatelný, proto se nabízí jako ideální kandidát pro použití k chirurgickým plastikám. Pro neovaskularizaci nekrotického defektu velkého trochanteru by bylo potřeba sval přesunout 5-6 cm dorzálně, limitujícím faktorem takového využití svalu je však délka a poddajnost zásobujících artérií. Sval je dle normy zásobován ramus ascendens arteriae circumflexae femoris lateralis. Cílem naší práce bylo popsat anatomický podklad a posoudit možnost využití tohoto svalu pro zmíněný účel.

Cévní zásobení m. tensor fasciae latae jsme zkoumali anatomickou pitvou osmi těl oboustranně. Současně byly zjišťovány i anatomické poměry zásobení m. vastus lateralis a m. rectus femoris z důvodů alternativního použití. V několika případech jsme zkusili využít nástřiku cév obarvenou želatinou. Po dokončené pitvě jsme provedli nákres situace a změřili délky a průměry jednotlivých větví a. circumflexa femoris lateralis a dalších arterií podílejících se na zásobení uvedených svalů. Na závěr byla provedena fotodokumentace.

Ověřili jsme, že cévní zásobení m. tensor fasciae latae se ve všech případech shoduje s normou uváděnou v literatuře. Zásobení výše jmenovaných hlav m. quadriceps femoris bylo variabilnější a objevili jsme akcesorní či aberantní větve. Anastomózy s a. glutea sup. nebyly zjištěny. Nebyly prokázány žádné limitující faktory, které by bránily v přesunu m. tensor fasciae latae, kromě samotné délky přívodné tepny. Ta činila 6-8 cm mezi odstupem od a. profunda femoris a perforací vnitřního listu fascia lata. Při elasticitě tepen a dalších souvislostech by však dle konzultace s doc. MUDr. Karlem Urbanem, CSc. z Ortopedické kliniky bylo možno využít sval za popsáných účelů.



## **Problematika makroskopického barvení mozkových řezů pro výukové účely**

**Jana Nohejlová**

**Pracoviště řešitele:** Ústav anatomie LF HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Petr Hájek, Ph.D., Ústav anatomie LF HK

### **Abstrakt:**

Úvod: Barvené mozkové řezy pomáhají studentům lépe porozumět strukturám centrálního nervového systému a jejich komplexním vztahům. Slouží k ověření a doplnění teoretických poznatků. V posledních letech nebylo na ústavu anatomie možné dosáhnout uspokojivých výsledků pomocí barvicí techniky, která se dříve s úspěchem používala. Kromě šedé hmoty se obarvila i hmota bílá, což vedlo ke snížení jejich vzájemného kontrastu. Cílem práce bylo objasnit příčinu selhání metody a zvolit vhodnou alternativní barvicí techniku.

Materiál a metody: Práce je založena na literární rešerši barvení mozkových řezů za účelem makroskopického studia CNS. Lidské mozky fixované ve formalínu a v alkoholovém roztoku byly barveny technikou dle Le Masuriera, která spočívá v ponoření řezů do Mulliganova roztoku (obsahujícího fenol, síran měďnatý a kyselinu chlorovodíkovou) při teplotě 60 - 65°C, poté do 1% chloridu železitého a na závěr do 1% ferrokyanidu draselného. Nejprve byl tento postup modifikován změnou koncentrací chemických látek a reakčních časů. Další krok byl zaměřen na hodnocení vlivu dlouhodobé fixace a různých fixačních médií na kvalitu a integritu mozkové tkáně, které hrají v barvicím procesu důležitou roli. Jako náhradní barvicí technika byla zvolena Alstonova metoda - mozkové řezy byly postupně vloženy do Mulliganova roztoku, směsi ředidel, 2% hydroxidu sodného a 2% ferrokyanidu draselného.

Závěr: Le Masurierova metoda se z neznámých důvodů jeví v místních podmínkách jako nespolehlivá. Barvení dle Alstona se zdá být její adekvátní náhradou. Jedná se o metodu rychlou, ekonomickou, na provedení nenáročnou, poskytující velmi dobrý kontrast mezi oběma hmotami. Metoda se rovněž osvědčila v barvení mozků fixovaných v alkoholovém roztoku. U mozků fixovaných ve formalínu po několik let bylo dosaženo horších výsledků než u tkání fixovaných v řádu měsíců. První série mozkových řezů barvená Alstonovou metodou je v současné době zařazena do výuky pregraduálních studentů.

## **Implementace programu "Protocol Watch" pro monitorování rozvoje sepse na chirurgické jednotce intenzivní péče**

**Ivan Práznovec, Václav Salavec**

**Pracoviště řešitele:** Chirurgická klinika LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** doc. MUDr. RNDr. Milan Kaška, Ph.D., Katedra chirurgie LF a FN HK, MUDr. Eduard Havel, Ph.D., Chirurgická klinika LF a FN HK

### **Abstrakt:**

Úvod. Sepse je komplexní stav zahrnující řadu dějů a změn v lidském organizmu způsobených jeho celkovou zánětovou reakcí na přítomnost infekce. Jedná se o závažné, život ohrožující onemocnění, na které umírá denně v celosvětovém měřítku přibližně 1400 lidí ročně. Počet úmrtí následkem sepse je srovnatelný s počtem úmrtí na karcinomu plic, tlustého střeva a prsu dohromady. Letalita na septický šok se udává mezi 50 až 60 %. Významná je i ekonomická stránka terapie septických pacientů. Náklady spojené s jejich léčbou činí každoročně 7,6 miliard euro v Evropě, což představuje téměř 40% celkových finančních nákladů JIP. V současnosti neexistuje žádný jednoznačný laboratorní ukazatel nebo test, který by spolehlivě sepsi v jejím začátku snadno diagnostikoval a většinou její rozvoj správně rozpozná erudovaný lékař.

Cíl. Zhodnocení účinnosti diagnostických postupů a léčby sepse s využitím programu Protocol Watch (PW) u pacientů na chirurgické JIP a její porovnání s kontrolní skupinou pacientů, kteří byli ošetřováni podle standardně užívaných klinických postupů (Surviving Sepsis Campaign (SSC)).

Metodika. Nerandomizovaná studie a porovnání souboru A-14 pacientů, medián věku 67 (52-82) let, ASA II-III s diagnózou sepse pomocí programu Protocol Watch společnosti Philips na jednotce intenzivní péče Chirurgické kliniky FN v Hradci Králové od července 2012 do ledna 2013, v níž se terapeuticky postupovalo podle metodik SRB (Sepsis Resuscitation Bundle) / SMB (Sepsis Management Bundle) navržených programem PW a souboru B-14 náhodně vybraných nemocných ošetřovaných pro septický stav na JIP chirurgické kliniky v prvních 6 měsících 2012, ale bez využití programu PW. Medián jejich věku byl 74 (56-94), ASA II-III se sepsi ošetřovaných dle klinického standardu SSC. V souboru A byl nejčastější výskyt sepse v 7. deceniu (8). U skupiny pacientů sledovaných programem PW byla nejčastějším původcem septického stavu E. coli, průměrné hodnoty laboratorních parametrů: CRP 141,54 mg/l, WBC 15,55 tis./mm<sup>3</sup>, sérového laktátu 3,1 mmol/l a terapie byla zahajována během několika hodin dle doporučení vyplývajících z programu PW. V souboru B byla opět nejčastějším původcem E. coli, naměřené průměrné hodnoty laboratorních parametrů: CRP 156,79 mg/l, leukocytů 16,89 tis./mm<sup>3</sup>, sérového laktátu 2,35 mmol/l a terapie byla zahajována bezprostředně po rozvoji klinických příznaků septického stavu.

Závěr. Studie prokázala, že stanovení diagnózy sepse příslušným erudovaným lékařem je dáno klinickými ukazateli při jejím rozvoji. Program PW má smysluplné využití zejména lékaři ve specializační přípravě a studenty všeobecného lékařství v rámci jejich pregraduální edukace. Protokol PW má totiž přehledně a edukativně nastavený algoritmus kroků pro stanovení diagnózy a zahájení terapie sepse. Je ale zajímavé, že ve skupině nemonitorovaných nemocných byla letalita 21 % oproti skupině monitorované, kde činila 0 %.

# **Dialysis induced changes in serum thyroid hormone concentrations; effects of low vs. high flux membranes**

**Aaditya Prakash Sinha**

**Department of origin:** 4th Department of Internal Medicine - Haematology, University Hospital, Hradec Králové

**Tutor and Tutor's Department:** Prof. Jiri Horacek, M.D., Ph.D., 4th Department of Internal Medicine - Haematology, University Hospital, Hradec Kralové, Roman Safranek, M.D., Ph.D., 3rd Department of Internal Medicine – Metabolic Care and Gerontology, University Hospital, Hradec Kralové

## **Abstract:**

### Introduction

Thyroid function tests are often abnormal in end stage renal disease (ESRD) patients on maintenance hemodialysis. Recently we have shown that thyroid hormone levels are significantly changed during a single hemodialysis procedure. The aim of our study was to compare thyroid hormone changes during two different dialysis methods: conventional hemodialysis (HD) with standard low-flux membrane versus on-line hemodiafiltration (HDF) with more permeable high-flux membrane. Both methods are routinely used for renal replacement in ESRD.

### Method

Our study included 89 stable ESRD patients (52 male), with an average age of 67 (57; 76). 50 were treated with HD, 39 with HDF. Pre and post hemodialysis serum concentrations of TSH along with total and free thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3) hormone were measured using radioisotope assay. Values were corrected for hemoconcentration. Data are given as median; interquartile range. Mann-Whitney and Wilcoxon tests were used when appropriate ( $p$ -value  $<0.05$ ).

### Results

During low-flux HD, TSH concentration increased by 32% (from 1.63 to 2.15mIU/l,  $P < 0.001$ ). On the other hand during high-flux HDF, TSH concentration decreased by 37% (from 1.61 to 1.01mIU/l,  $P < 0.001$ ). No differences between HD and HDF were observed in changes of peripheral thyroid hormones. During both procedures, T4 concentrations significantly and similarly decreased (by 18% in HDF and by 24% in HD) while T3 levels were not significantly affected.

### Conclusion

Both modes of dialysis procedure induce changes in serum thyroid hormones concentrations. Changes in peripheral hormone concentrations are not related to the dialysis mode. The observed decrease of TSH during HDF may be hypothetically related to the high permeability of this membrane.

## **Histopatologické změny po otravě nervově paralytickými látkami**

**Marie Skálová**

**Pracoviště řešitele:** Ústav anatomie LF HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Filip Caisberger, Ústav anatomie LF HK

### **Abstrakt:**

Úvod: Nervově paralytické látky způsobují ireverzibilní inhibici acetylcholinesterázy a následné nahromadění acetylcholinu na synapsích. Intoxikace se mj. projevuje obtížnou ventilací, bradykardií, hypotenzí a konvulzemi, což může způsobit nižší saturaci hemoglobinu kyslíkem, acidózu, hypoglykémii, hypertermii, iontové dysbalance a následné poškození neuronů v centrálním i periferním nervovém systému. Dle výsledků předchozích studií bývá toto poškození nejvýraznější v piriformní kůře a v hipokampu, hlavně v oblastech CA1 a CA3. Cílem naší práce bylo porovnání histopatologických změn v hipokampální oblasti CA1 u potkanů intoxikovaných sarinem a u potkanů, kteří byli po intoxikaci léčeni oximem nebo kombinací oximů, a následné zhodnocení efektu léčby oximem.

Metodika: Samcům potkanů kmene Wistar byl i.m. aplikován sarin v dávce 55 $\mu$ g/kg. Léčeným potkanům byl po 1 minutě aplikován atropin (21mg/kg) a podle zařazení do skupin oxim HI-6 nebo kombinace HI-6 + trimedoxim nebo HI-6 + K203. Potkanům byla 24 h po intoxikaci provedena dekapitace a následně byly odebrány mozky, které byly po fixaci ve formalínu nakrájeny na 12 $\mu$ m tlusté řezy a obarveny hematoxylinem-eosinolem (H&E). Na některé řezy byl pro srovnání použit fluorescenční marker Fluro Jade B. Řezy barvené H&E byly dále sledovány pod světelným mikroskopem - hodnotil se případný spongiformní vzhled stratum radiatum, typ nekrotických změn a jejich počet. Řezy barvené Fluro Jade se hodnotily pod fluorescenčním mikroskopem.

Výsledky: Terapie i pouze samotným atropinem vedla ke snížení počtu nekrotických změn ve sledované oblasti. Méně těchto změn jsme pozorovali u potkanů léčených oximem HI-6 a kombinací HI-6 + trimedoxim. Jako nejúčinnější se jeví kombinace HI-6 + K203. Léčba touto kombinací vedla ke statisticky signifikantnímu poklesu výskytu nekrotických změn.

Závěr: Kombinace oximů HI-6 + K203 se jeví jako velmi nadějná pro terapii intoxikací způsobených nervově paralytickými látkami.

## **Sérové koncentrace cytokinů a adhezních molekul u pacientů s akutní leukemií a u zdravých jedinců**

**Pavel Skořepa**

**Pracoviště řešitele:** IV. interní hematologická klinika LF a FN HK, Katedra válečného vnitřního lékařství FVZ UO Brno

**Školitel a pracoviště školitele:** doc. MUDr. Jan Horáček, Ph.D., IV. interní hematologická klinika LF a FN HK, Katedra válečného vnitřního lékařství FVZ UO Brno

### **Abstrakt:**

**Cíl:** Porovnání sérových koncentrací cytokinů a adhezních molekul u pacientů s akutní myeloidní leukemií (AML), akutní lymfoblastickou leukemií (ALL) a u zdravých jedinců.

**Použitá metodika:** Do hodnocení bylo zařazeno 15 pacientů s nově dg. AML, 15 pacientů s nově dg. ALL a 15 zdravých jedinců (dárce krve). Hodnotili jsme sérové koncentrace 22 cytokinů a adhezních molekul: interleukiny (IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-23), vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interferon-gamma (IFN-gamma), epidermal growth factor (EGF), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), E-selectin, L-selectin, P-selectin, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1). Všechny analyty byly měřeny biočipovou technologií na analyzátoru Evidence Investigator (Randox). Ke statistickému zhodnocení jsme použili t-testy. Hodnoty  $p < 0,01$  byly považovány za statisticky významné.

**Dosažené výsledky:** U pacientů s nově dg. AML ve srovnání se zdravými jedinci jsme zjistili statisticky významné zvýšení sérové koncentrace VCAM-1, ICAM-1, E-selectinu a L-selectinu.

U pacientů s nově dg. ALL ve srovnání se zdravými jedinci jsme zjistili statisticky významné zvýšení sérové koncentrace IL-8, L-selectinu, VCAM-1, ICAM-1 a MCP-1. Dále jsme u pacientů s ALL zjistili statisticky významné snížení sérové koncentrace IL-3 a IL-4.

Při srovnání pacientů s AML a ALL jsme zjistili statisticky významné rozdíly u IL-2, IL-4 a VCAM-1 (u AML byly vyšší koncentrace IL-2, IL-4 a nižší koncentrace VCAM-1). Rozdíly v sérových koncentracích ostatních cytokinů a adhezních molekul nebyly statisticky významné.

**Závěr:** Naše výsledky ukazují, že sérové koncentrace některých cytokinů a adhezních molekul jsou významně odlišné u pacientů s nově dg. akutní leukemií a u zdravých jedinců. Změny v systému cytokinů a adhezních interakcí mají vztah k aktivitě onemocnění. Není jasné, zda tyto změny mohou sloužit jako prognostický marker u akutních leukemií. Další studie na větším počtu pacientů a srovnání se zavedenými prognostickými faktory budou nezbytné.

# Hlasové pole zdravých hlasových ne-profesionálů – pilotní analýza a návrh normativních hodnot

**Jana Viktorová**

**Pracoviště řešitele:** Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** MUDr. Jakub Dršata, Ph.D., Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku LF a FN HK

## **Abstrakt:**

Úvod: v České republice dosud chybí soubor hodnot z vyšetření hlasového pole u zdravé netréované populace. Cílem naší práce je představit pilotní normativní data.

Soubor a metodika: v období od dubna 2012 do dubna 2013 jsme vyšetřili 30 studentů ve věku od 22 do 26 let (18 žen, 12 mužů) ve věku 22 – 26 let. Nikdo ze zúčastněných není hlasovým profesionálem. Vyšetření bylo provedeno na přístroji Real Voice Lab (MARC®), který se skládá ze softwaru a mikrofonu, umístěného standardním způsobem na hlavu pacienta. Vyšetřovaní podstoupili testy: četba standardizovaného textu, počítání, zvolání, zpěv ascendentní stupnice nejnižší, střední a nejvyšší intenzitou, zpěv písně a vyšetření dlouhého „A“. Zaměřili jsme se především na nejnižší, nejvyšší a nejhlasitější hlas v hodnotách minima, maxima, mediánu.

Výsledky:

Muži	Pmean	Pmin	Pmax	Lmean	Lmin	Lmax
habitual	45,76	39,96	54	69,86	50,67	80,38
singing	56,54	41,25	75,32	75,68	51,36	95,07
shouting	x	x	x	98,13	73,84	110,73

Ženy	Pmean	Pmin	Pmax	Lmean	Lmin	Lmax
habitual	56,07	49,58	64,36	66,61	51,16	78,54
singing	64,9	50,34	79,26	74,66	52,62	94,21
shouting	x	x	x	88,63	63,76	105,74

Diskuse: domníváme se, že netréovaní zdraví účastníci hlasové ne-profesionálové představují validní vzorek průměrné populace daného věku. Tyto výsledky pokládáme za základ normativních hodnot, které budou dále porovnávány s výsledky vyšetření hlasového pole u pacientů s foniatrickými diagnózami, především indikovaných k fonochirurgické a laryngomikrochirurgické léčbě.

Závěr: domníváme se, že práce přispěje k získání normativních dat hlasového pole. Práci zamýšlíme jako podklad pro další rozsáhlejší studii vyšetření hlasového pole u zdravé i nemocné populace.

# Žilní tromboembolická nemoc u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií

**Pavel Vodárek**

**Pracoviště řešitele:** IV. interní hematologická klinika LF a FN HK

**Školitel a pracoviště školitele:** doc. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D., IV. interní hematologická klinika LF a FN HK

## **Abstrakt:**

**ÚVOD:** Žilní tromboembolická nemoc (TEN) je významnou příčinou morbiditu a mortality nemocných s maligními nádory. Zvýšené riziko TEN je popisováno u celé řady hematologických malignit, zejména u myeloproliferativních onemocnění, monoklonálních gamapatií a maligních lymfomů. Nejčastějším typem leukémie dospělých v euroamerické populaci je chronická lymfocytární leukémie (CLL). Vyšší riziko TEN u CLL nebylo dříve popisováno, literárních údajů je naprosté minimum. Nedávná studie britských autorů (Whittle et al., Leuk Res 2010) však uvádí několikanásobně vyšší výskyt TEN u nemocných s CLL ve srovnání s běžnou populací.

**CÍLE PRÁCE:** Zhodnotit výskyt žilní TEN a posoudit rizikové či prognostické faktory jejího vzniku u nemocných s CLL.

**NEMOCNÍ A METODIKY:** Retrospektivně jsme analyzovali klinická a laboratorní data nemocných s CLL sledovaných na IV. interní hematologické klinice FN a LF UK HK v letech 1999-2013. Jedná se o soubor 346 nemocných (222 mužů, 114 žen, průměrný věk při diagnóze 64 let). Nízké/střední/vysoké riziko dle Raiova modifikovaného systému stagingu bylo v době diagnózy přítomno u 41/47/12 % nemocných. Byl zjišťován výskyt TEN a současný výskyt rizikových faktorů/vyvolávajících momentů: věk nad 45 let, kortikoterapie, hormonální substituční terapie, obezita, městnavé srdeční selhání, chronická obstrukční plicní nemoc, autoimunitní hemolytická anémie, varixy dolních končetin, stav po cévní mozkové příhodě, nefrotický syndrom, jiná malignita, imobilizace, akutní infekce a trauma. Dále byla hodnocena aktivita CLL v době první epizody TEN.

**VÝSLEDKY:** Minimálně jednu epizodu TEN prodělalo v období po diagnóze CLL 38 nemocných (11%, hluboká žilní trombóza m=28, plicní embolie n=10). Po vyloučení případů, se zřejmým vyvolávajícím faktorem (akutní infekce n=4) se jednalo o 34 nemocných (10%; 22 mužů a 12 žen, průměrný věk v době 1. epizody TEN 67 let). K rozvoji TEN došlo po mediánu 34 měsíců (rozpětí 0-145 měsíců) od diagnózy CLL. Kromě jednoho byli všichni tito nemocní starší 45 let. Přítomnost 0/1/2/3 dalších rizikových faktorů TEN byla prokázána u 7/13/11/3 nemocných. V 17 případech se jednalo o dosud neléčené nemocné, 10x se TEN vyskytla v průběhu léčby CLL a 7x u dříve léčených nemocných. Nejčastějšími rizikovými faktory kromě věku (n=37) byly kortikoterapie (n=13), další malignita (n=9) a obezita (n=7).

**ZÁVĚR:** Naše data ukazují relativně vysoký výskyt žilního trombembolismu u nemocných s CLL. I když ve většině případů se na vzniku TEN podílela léčba CLL či byly zjištěny další rizikové faktory, u zhruba pětiny nemocných se kromě věku žádný další rizikový faktor prokázat nepodařilo. To by mohlo naznačovat vliv CLL na rozvoj TEN. Budou prezentována aktualizovaná data.