

# MUNI MED



SPOLEK  
MEDIKŮ

## 67. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

**Program  
a sborník abstraktů**

MASARYKOVA UNIVERZITA  
BRNO 2024

Michal Jurajda (ed.)



# MUNI MED

## 67. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE

### **Program a sborník abstraktů**

MASARYKOVA UNIVERZITA  
BRNO 2024



SPOLEK  
MEDIKŮ

Michal Jurajda (ed.)



# Složení odborných komisí

## Teoretická a preklinická sekce

**doc. MUDr. Jaromír Gumulec, Ph.D. – předseda**

MUDr. Adam Koudelka

MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

Mgr. Stjepan Uldrijan, CSc.

## Sekce klinická

**prof. MUDr. Blanka Adamová, Ph.D. – předseda**

MUDr. Martin Helán, Ph.D.

doc. MUDr. Richard Chaloupka, CSc.

MUDr. Adam Křenek

MUDr. Jan Máchal, Ph.D.

## Sekce postgraduální, nelékařských oborů a stomatologická

**doc. PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D. – předseda**

PhDr. Natálie Beharková, Ph.D.

doc. Mgr. Jan Lochman, Ph.D.

doc. Mgr. Ondřej Peš, Ph.D.

MUDr. Jan Vichr

# Program jednotlivých sekcí

Společné zahájení bude v místnosti B11/234 v 8:00.

## Sekce klinická B11/327

**8:30–9:30**

**Macek Jan**

Nový experimentální model pro studium periferní nervové regenerace v terénu reanimace obličejové metodou dvojité reinnervace

**Kitzlerová Anežka**

Chirurgická léčba karcinomu pankreatu

**Petráššková Lívia**

Populačná retrospektívna štúdia pacientov hospitalizovaných s popáleninami a ich klinické charakteristiky

**Čeněk Dominik**

Measurement of nasal inner lining for purposes of total nasal reconstruction using 3D modelling and Heron's formula

**Přestávka 9:30–9:45**

**9:45–10:45**

**Urban Teodor**

Zhodnocení potenciálu neinvazivní nádorové diagnostiky v dětské onkologii prostřednictvím multimodální analýzy volné cirkulující DNA

**Matulová Kateřina**

Postižení lumbálních extensorů u pacientů s myotonickou dystrofií 2. typu

**Bergerová Veronika**

Rozsiahla delécia 22q12 u pacienta s obojstranným Schwannómom, mentálnou retardáciou, percepčnu sluchovou poruchou a epilepsiou

**Filka Lukáš**

Perkutánní koronární intervence (PCI): Vliv EKG parametrů před výkonem na vznik post-PCI arytmií

## **Přestávka 10:45–11:00**

### **11:00–11:45**

#### **Lisá Karolína**

Autonomní dysfunkce u pacientů s roztroušenou sklerózou hodnocená pomocí české a slovenské verze dotazníku COMPASS 31

#### **Benetinová Vanda**

Laterální switch z natalizumabu na anti-CD 20 terapii u pacientů s roztroušenou sklerózou

#### **Jurčáková Anna**

Využití multimediálních zdrojů informací u pacientů s roztroušenou sklerózou

## **Sekce postgraduální, nelékařských oborů a stomatologická A21/108**

### **8:30–9:30**

#### **Cmíralová Marie**

Koncept vylepšení EIT náramku v rozpoznávání gest a uživatelské přístupnosti

#### **Hájková Magdaléna**

Příčiny rozdílu mezi velikostí AC/A poměru určeného gradientní metodou a výpočtem

#### **Pilná Barbora**

Vliv kouření na endotel rohovky

#### **Mangerová Eva**

Bakteriální kontaminace brýlových obrub

### **Přestávka 9:30–9:45**

### **9:45–10:45**

#### **Drápelová Kateřina**

Klinická studie testující aplikaci bioaktivních látek pomocí zubní nitě

#### **Bartoš Michal**

Bacteriome of the Middle Ear in Children and Young Adults with Cholesteatoma and Retraction Pocket: A Pilot Study

**Cakmakci Riza Can**

Investigating The Role of Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response in Patient Derived Pancreatic Adenocarcinoma Cells

**Portakal Türkan**

Lipopolysaccharide-induced EMT and ER stress in expandable lung-like epithelia

## **Sekce teoretická a preklinická B11/234**

**8:30–9:30****Banasová Barbora**

Efektivita topicky administrovaného stabilizovaného růstového fibroblastového faktoru 10 v prevenci a terapii lipopolysacharidem indukovaného ARDS na myším modelu: pilotní projekt

**Suzuki Kanako**

Mechanical Remodelling in Cancer Cells: Role of Mitochondrial Network and Substrate Stiffness

**Jakubáč Leonard**

Molekulárna klasifikácia karcinómu endometria u vybranej kohorty pacientiek

**Poledňáková Anna**

Vliv glutamátu a specifického antagonisty na spontánní elektrickou aktivitu hipokampálních neuronů

**Přestávka 9:30–9:45****9:45–10:45****Ott Daniel**

Možnosti a nástrahy využití umělé inteligence pro potřeby vyhledávání vědeckých publikací

**Šnajdarová Karolína**

Structures of (S)-enantioselective haloalkane dehalogenase from a pathogenic Mycobacterium reveal a new mode of homodimerization

**Janková Natálie**

Funkční dopad varianty S1021Qfs\*98-hERG asociované s idiopatickou fibrilací komor

**Antes Josef**

Vliv stimulace nervus vagus na elektrickou aktivitu srdce u laboratorního potkana



## **Přestávka 10:45–11:00**

## **11:00–12:00**

### **Havřílak Ján**

Harnessing the Migrastatic Potential of Curcumin Derivatives and Evaluation of their Efficacy in Cancer Therapy

### **Jambrichová Anna**

Changes in CXCR4 and CXCR7 in the anterior cingulate cortex neurons of the neuropathic pain model

### **Litvín Matúš**

Anesthesia recovery time as a predictor of bleeding severity in a perforation model of subarachnoid hemorrhage

### **Havlíček Vítězslav**

Buněčná plasticita plicních epitelálních buněk při působení bakteriálních lipopolysacharidů

## **Přestávka 12:00–12:15**

## **12:15–13:15**

### **Jan Lukáš**

Modelování trojrozměrné morfogeneze nádorů pankreatu in vitro

### **Liščáková Barbora**

Zmeny elektrickej aktivity podmienené neurodegeneráciou

### **Abdelrahman Moustafa**

Effect of hypokalemia on the electrical activity of patient-specific cardiomyocytes with Y4734C-RYR2 variant

### **Laška Michal**

Vliv myokardiální remodelace na EKG u DOCA/salt modelu potkana



**A B S T R A K T Y**  
**S V K 2 0 2 4**

# Sekce teoretických a preklinických oborů

## Anesthesia recovery time as a predictor of bleeding severity in a perforation model of subarachnoid hemorrhage

Nižníková Laura<sup>1</sup>, Litvín Matúš<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav patologické fyziologie LF MU

Subarachnoid hemorrhage (SAH) is a severe medical condition involving bleeding into the subarachnoid space, mostly due to a ruptured intracranial aneurysm. A cascade of events follows, which induces oxidative stress, inflammation, and cerebral vasospasm, leading to delayed cerebral ischemia and poor neurological outcomes. While animal models are utilized in SAH experiments, it is imperative to ensure their accuracy and reliability to extrapolate findings to human pathology. A common challenge encountered, particularly in perforation models, is the inability to definitively grade SAH until the animal is euthanized.

To address this challenge, we employed anesthesia recovery times as markers: for the spinal level – pain reaction recovery time, brain stem level – spontaneous ventilation recovery time, and neocortical level – consciousness recovery time. By integrating these markers, we aimed to develop a comprehensive approach for assessing SAH grade. Furthermore, our study explored how anesthesia influences these recovery times and its effects on the assessment of SAH grade.

In our study, male Sprague-Dawley rats were divided into two groups. The first group underwent SAH induction to study this specific pathology. The second group served as a negative control, allowing us to investigate the effects of anesthesia independently of SAH pathology. This control group was further subdivided based on the duration of anesthesia exposure: 40, 60, and 120 minutes. This subdivision was designed to simulate the typical duration of the SAH perforation model, which ranges from 40 to 60 minutes.

Our research identified that used anesthesia recovery times were all found to be indicative of SAH severity. Additionally, our results suggest that varying the duration of anesthesia within a range of 40 to 60 minutes does not significantly impact anesthesia recovery times, which is valuable for standardization in experimental settings. However, the longer recovery times observed in negative controls with 120 minutes of anesthesia demonstrate that a longer duration of anesthesia can have a more substantial impact.

In conclusion, our research offers a refined approach for SAH severity assessment in animal models. These findings contribute to methodological improvements in SAH research, addressing existing challenges and advancing the predictive accuracy of experimental models.

We would like to thank MUDr. Kamil Ďuriš, Ph.D. for his guidance, helpful advice, and support during the completion of this project. Appreciation is extended to Mgr. Jolana Lipková, Ph.D., Bc. Monika Pechočiaková, and Lea Kateřina Koláčková for their contributions.

## **Buněčná plasticita plicních epitelálních buněk při působení bakteriálních lipopolysacharidů**

**Havlíček Vítězslav<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Endoplazmatické retikulum (ER) je organelou sehrávající klíčovou roli v regulaci mnoha buněčných procesů včetně udržení diferencovaného fenotypu buňky. Při porušení homeostázy ER (stres ER) dochází k aktivaci série signálních drah, které mohou vést ke změně morfologie a molekulárního fenotypu buněk a které jsou často asociovány s fibrotickými a nádorovými onemocněními.

V této práci jsme se zaměřili na unikátní model expandovatelných plicních epitelálních buněk (ELEP) vytvořený na našem pracovišti a na jeho odezvu při expozici lipopolysacharidům (LPS). LPS je totiž součástí gramnegativních bakterií, který v mnoha buněčných liniích působí jako induktor stresu ER a může souviset s rozvojem závažných plicních onemocnění.

Experimenty byly provedeny na ELEP derivovaných z lidských embryonálních pluripotentních kmenových buněk a kultivovaných za standardních podmínek v kultivačním médiu a na miskách potažených vitronectinem. Buňky byly vystaveny působení různých koncentrací LPS. K posouzení morfologických a molekulárních odchylek bylo provedeno srovnání s buňkami vystavenými účinku tunicamycinu, který působí jako významný induktor stresu ER inhibicí N-glykosylace proteinů.

Pro morfometrické zhodnocení byly zhotoveny preparáty daných buněčných kultur pro skenovací elektronovou mikroskopii a pro barvení hematoxylinem a eosinem a následnou světelnou mikroskopii. Rovněž byla provedena analýza migrace buněk prostřednictvím metody „scratch wound healing assay“. Výsledky byly zpracovány pomocí programu ImageJ 1.54h a programovacího jazyka Python 3.7.1. Dále byla pomocí RT-qPCR stanovena hladina specifických mRNA sehrávajících roli v rámci stresu ER a změně fenotypu buněk.

Výsledky ukazují sníženou cirkularitu, elongaci a zvýšenou plochu u buněk vystavených účinku LPS a TN. To koreluje s jejich zvýšenou migrační schopností zjištěnou na základě „scratch wound healing assay“. Prostřednictvím analýzy míry exprese mRNA byla u buněk pod vlivem LPS zjištěna snížená exprese genu pro E-cadherin, jehož změny sehrávají důležitou roli v rámci

fenoménu epiteliálně mezenchymální tranzice. Zvýšená exprese byla naopak zjištěna u genů pro BiP a CHOP, což odpovídá zvýšení stresu ER. Hladina mRNA pro N-cadherin nebyla signifikantně změněna.

U ELEP byly po působení LPS prokázány signifikantní změny na buněčné i molekulární úrovni, které mohou nasvědčovat průběhu epiteliálně mezenchymální tranzice. Předmětem dalšího výzkumu je detekce specifických proteinů pomocí imunoblotování a imunofluorescenčních metod. Rovněž se budeme věnovat studiu modulace stresu ER u ELEP při současném působení LPS. Tyto výsledky mohou přispět k hlubšímu pochopení role ER v histogenezi plicní tkáně a patogenezi plicních onemocněních.

Chtěl bych poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Petru Vaňharovi, Ph.D. za jeho ochotu, cenné rady a možnost pracovat na tomto projektu. Dále chci poděkovat Mgr. Jarmile Herůdkové, Ph.D., Mgr. Vendule Pelkové a Türkan Portakal za jejich pomoc a nesmírnou trpělivost. Práce byla podpořena projekty č. GA23-06675S a č. MUNI/A/1598/2023 a programem P-Pool.

## **Efektivita topicky administrovaného stabilizovaného růstového fibroblastového faktoru 10 v prevenci a terapii lipopolysacharidem indukovaného ARDS na myším modelu: pilotní projekt**

**Banasová Barbora<sup>1,2</sup>, Lipový Břetislav<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Klinika popálenin a plastické chirurgie, Fakultní nemocnice Brno

<sup>2</sup> Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

Cílem projektu je vyvinout novou terapeutickou strategii pro pacienty trpící syndromem akutní respirační tísně (ARDS), využívající stabilizovanou formu fibroblastového růstového faktoru 10 (FGF10). ARDS představuje závažné onemocnění plicního parenchymu, charakterizované difúzním poškozením plicní tkáně, které vede k akutnímu a progresivnímu selhání dýchacích funkcí. V současnosti neexistuje specifická léčba ARDS a terapeutické strategie jsou primárně zaměřeny na podporu dýchání a omezení zánětu. Cílem tohoto projektu je provést preklinické testování účinnosti FGF10-STAB® firmy Enantis s.r.o., Brno, v prevenci a terapii ARDS na myších modelech, přičemž se zaměří na regeneraci akutního poškození plic indukovaného lipopolysacharidem (LPS).

V pilotní studii bylo použito 8 samců laboratorních myší (*Mus musculus*) kmene C57BL/6J ve věku 5–8 týdnů. Po 14denní aklimatizaci a kontrole zdravotního stavu byli zařazeni do experimentu. Kritériem byla hmotnost minimálně 20 g, bez klinicky zjevných onemocnění. Zvířata byla rozdělena do 4 skupin po 2 jedincích (2 kontrolní skupiny, 2 léčené). V rámci samotného experimentu došlo k inhalačnímu úvodu do celkové anestezie (izofluran 1–3%), následovala

instilace 0,3 ml roztoku (pufr, lipopolysacharid a FGF10-STAB®) do trachey realizována formou zavedení kanyly 18G. Syndrom akutní respirační tísně byl navozený pomocí intratracheální aplikace LPS (0,3 ml – koncentrace LPS 5 mg/kg t.hm. zvířete) do dolních dýchacích cest.

Po 2–4 dnech experimentu (v závislosti na skupině zvířat) došlo k eutanázii v celkové anestezii a zvířatům byla odebrána plicní tkáň a tkáň trachey k histologickému vyšetření.

Tkáň byla fixována v 10% roztoku formaldehydu, zalita do parafínu, a řezána na 4 µm tenké řezy. Provedeno barvení hematoxylin-eosinem. U každé myši byly pořízeny 3 řezy z levé a pravé plíce a 4 řezy z trachey. Vyhodnocovány byly hyperemie, zvýšená vaskularizace a dilatace kapilár, zánětlivý infiltrát s mononukleární nebo polymorfonukleární převahou, redukce respiračního oddílu a stupeň zánětlivého procesu. Tyto výsledky byly vyhodnocovány semikvantitativně na škále 1–5 na základě změn pozorovaných ve světelném mikroskopu, přičemž 0 představovala absenci změn a 5 rozsáhlou přítomnost.

Skupina A – KONTROLNÍ SKUPINA 1: Tato skupina myši byla podrobena aplikaci LPS, následně byl po 24 hodinách podán fyziologický roztok a na 5. den byla provedena eutanázie. Myši č. 1 a č. 2 vykazovaly minimální až mírnou hyperémii, zánětlivý infiltrát s převahou mononukleárů, minimální redukci respiračního oddílu plic a mírný stupeň zánětlivého procesu.

Skupina B – KONTROLNÍ SKUPINA 2: Tato skupina myši byla podrobena aplikaci fyziologického roztoku, po 24 hodinách byl aplikován LPS a na 3. den byla provedena eutanázie. Myši č. 1 a č. 2 vykazovaly střední hodnoty všech měřených parametrů, s převahou zánětlivého infiltrátu polymorfonukleární povahy.

Skupina C – LÉČENÁ SKUPINA 1: Tato skupina myši byla podrobena aplikaci LPS, po 24 hodinách byl aplikován stabilizovaný FGF-10 a na 5. den byla provedena eutanázie. Myš č. 1 vykazovala minimální přítomnost změn, zejména bez redukce respiračního oddílu plic. Myš č. 2 vykazovala rozsáhlou přítomnost změn, především s převahou polymorfonukleárního zánětlivého infiltrátu.

Skupina D – LÉČENÁ SKUPINA 2: Tato skupina myši byla primárně preventivně podrobena aplikaci roztoku stabilizovaného FGF-10, po 24 hodinách byl aplikován LPS a na 3. den byla provedena eutanázie. Myš č. 1 vykazovala minimální až mírnou přítomnost změn, s převahou zánětlivého infiltrátu mononukleární povahy. Myš č. 2 vykazovala mírné změny na levé plíci a střední až rozsáhlou přítomnost zánětlivých změn na pravé plíci.

V rámci studie se nám podařilo zavést reprodukovatelný model lipopolysacharidem indukovaného ARDS na malém animálním modelu (*Mus musculus*) a získat pilotní data potvrzující slibné in-vitro experimentální výsledky z aplikace FGF10-STAB®. FGF-10 pravděpodobně funguje lépe jako profylaktická terapie v ochraně plicní tkáně před poškozením a prevenci ARDS. Tuto tézu podporují preklinické studie i naše vlastní pozorování, které naznačuje, že předchozí podání FGF-10 může snížit závažnost poškození plic. Z tohoto důvodu je nezbytné provést další výzkum, který by detailněji prozkoumal profylaktický a terapeutický potenciál FGF-10 v léčbě ARDS. Animální experiment, který navazuje na tuto studii, je již schválen a bude probíhat v květnu tohoto roku.

S velkým uznáním bych ráda poděkovala MVDr. Kateřině Nedbalcové, Ph.D. a mému školiteli prof. MUDr. Břetislavu Lipovému, Ph.D., MBA, LL.M., za jejich laskavou podporu a možnost účasti na tomto významném projektu. Je pro mě ctí a privilegiem získat nové zkušenosti a být součástí vědeckého výzkumu.

## Effect of hypokalemia on the electrical activity of patient-specific cardiomyocytes with Y4734C-RYR2 variant

**Abdelrahman Moustafa<sup>1</sup>, Král Martin<sup>1</sup>, Zelenák Štefan<sup>2</sup>, Pacherník Jiří<sup>2</sup>, Bárta Tomáš<sup>3</sup>, Bébarová Markéta<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup> Department of Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>2</sup> Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University

<sup>3</sup> Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>4</sup> Department of Internal Medicine and Cardiology, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University

Hypokalemia, i.e. serum K<sup>+</sup> levels under 3.5 mmol/l, arising from severe diarrhea, kaliuresis, and vomiting, can lead to arrhythmia by increasing resting membrane potential, action potential duration, field potential duration (FPD), and refractory period as well as by affecting cell automaticity and, thus, also cycle length (CL). We investigated these effects using patient-specific cardiomyocytes derived from human-induced pluripotent stem cells (hiPSCs) of a proband with idiopathic ventricular fibrillation and a Y4734C mutation in the RYR2 gene, comparing them to cells from a healthy control to assess potential deviations in electrical activity under hypokalemic conditions.

The investigations utilized hiPSC-derived cardiomyocytes of the male proband carrying Y4734C-RYR2 variant and healthy unrelated male control. Extracellular field potentials generated by the spontaneous electrical activity of the cardiomyocytes were recorded using the multielectrode array (MEA) technique (60-6wellMEA200/30iR-Ti; Multi Channel Systems, Reutlingen, Germany). During control recordings, the cardiomyocytes were washed with isotonic Tyrode solution containing 5 mmol/l K<sup>+</sup> (5K<sup>+</sup>; composition in mmol/l: NaCl 140, KCl 5, MgCl<sub>2</sub> 1, CaCl<sub>2</sub> 1.8, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1, HEPES 5, glucose 10; pH 7.4, NaOH). The electrical activity of cardiomyocytes was initially recorded for 5 minutes using the Multi Channel Experimenter software. Subsequently, the control solution was replaced with a hypokalemic 3 mmol/l K<sup>+</sup> Tyrode solution (3K<sup>+</sup>), and the recording continued for another 5 minutes. The data were then analyzed using Muti Channel Analyzer software to obtain FPD and CL. FPD was corrected using the Bazett formula and the beating rate was computed using Microsoft Excel. Analysis and graphical representations are further refined using the GraphPad Prism software. Moreover, the short-term variability of CL (STVCL) was calculated and interpreted using GraphPad. Since the data were normally distributed (Shapiro-Wilk test), arithmetic means  $\pm$  S.E.M. from 5 samples are stated below and parametric statistical tests were used to consider the statistical significance of the observed differences.



In examining the impact of K<sup>+</sup> level changes on FPD, CL, and STVCL, our initial experiments revealed no significant statistical differences either between control and proband groups or between 5K<sup>+</sup> and 3K<sup>+</sup> conditions. Nonetheless, several trends were noted. FPD was comparable in proband and control cells ( $208.7 \pm 23.1$  ms and  $255.6 \pm 52.5$  ms, respectively,  $P > 0.05$ ), but it showed inverse insignificant changes when K<sup>+</sup> levels were reduced from 5K<sup>+</sup> to 3K<sup>+</sup>, being increased in most samples of Y4734C-RYR2 cardiomyocytes (to  $253.5 \pm 42.3$  ms,  $P = 0.11$ ) and showing no change or a decrease in some samples of the control cells (to  $248.0 \pm 44.7$  ms,  $P = 0.735$ ). Similarly to FPD, CL was not different in proband and control cells ( $1.02 \pm 0.22$  s and  $1.07 \pm 0.16$  s, respectively,  $P > 0.05$ ). However, analogical changes were observed in both groups when transitioning from 5K<sup>+</sup> to 3K<sup>+</sup> (an insignificant increase to  $1.10 \pm 0.23$  s in the proband and to  $1.31 \pm 0.25$  s in the control,  $P = 0.29$  and  $0.11$ , respectively). STVCL values were not significantly different in proband and control cardiomyocytes in both 5K<sup>+</sup> and 3K<sup>+</sup> solutions.

These observations indicate that genetic predispositions may affect cardiac reactions to K<sup>+</sup> changes. However, due to the statistical insignificance between the groups, we cannot say with confidence that there is a direct correlation. The statistical insignificance between the groups is likely due to the small difference in the data, and the low sample number, alongside potential errors in manual data sampling, interpretation, or analysis.

Supported by GA23-05274S (Grant Agency of the Czech Republic) and MUNI/A/1547/2023 (Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic).

## Funkční dopad varianty S1021Qfs\*98-hERG asociované s idiopatickou fibrilací komor

Janková Natálie<sup>1</sup>, Král Martin<sup>1</sup>, Švecová Olga<sup>1</sup>, Pacherník Jiří<sup>2</sup>, Novotný Tomáš<sup>3</sup>, Bébarová Markéta<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

<sup>3</sup> Interní kardiologická klinika FN Brno a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Gen hERG (z angl. human ether-a-go-go related gene) kóduje protein Kv11.1, který představuje pór-formující podjednotku kanálu zodpovědného za rychlou komponentu zpožděného draslíkového proudu. Při postižení genu hERG mutací snižující jeho funkci (tzv. loss-of-function mutace) dochází ke zpoždění repolarizace myokardu, což je v klinické praxi obvykle asociováno se syndromem dlouhého QT typu 2 (LQT2). V genomu námi vybrané probandky byly nalezeny dvě mutace genu hERG (S1021Qfs\*98 a A228V). Pozorované symptomy však nnesvědčí pro LQT2. Na základě klinických kritérií tak byla stanovena diagnóza idiopatické fibrilace komor. Cílem této studie je provést funkční analýzu detekovaných mutací v genu hERG a posoudit jejich možný patogenní charakter.

Pro analýzu proudu generovaného kanálem obsahujícím protein Kv1.1 byla použita metoda whole cell patch clamp, konkrétně v módu voltage clamp. Všechny experimenty byly prováděny při teplotě 37 °C na buňkách linie CHO (z angl. Chinese hamster ovary) přechodně transfekovanými plazmidy nesoucími gen hERG bez mutace (WT, z angl. wild type) nebo s mutací S1021Qfs\*98.

Z analýzy kapacity buněčné membrány vyplývá, že soubory buněk jsou velikostně srovnatelné (12,9 pF u WT vs. 15,7 pF u S1021Qfs\*98;  $P > 0,05$ ,  $n = 19$  a  $23$  u WT, resp. S1021Qfs\*98). Při následné statistické analýze pak byla pro zpřesnění výsledků použita i data získaná měřením proudu generovaného buňkami, které nebyly plazmidy transfekovány.

Pro popis chování kanálu v průběhu aktivace byla provedena analýza proudu vzniklého v reakci na stimulační impuls, kdy byl zaznamenán 70% pokles registrovaného proudu (při 0 mV: 219,4 pA u WT vs. 65,3 pA u S1021Qfs\*98;  $P < 0,01$ ,  $n = 17$  a  $18$  u WT, resp. S1021Qfs\*98). Srovnání napěťové závislosti ustálené aktivace u obou skupin buněk nevykazovalo významné rozdíly ( $V_{1/2} = -2,75$  mV a  $k = 8,64$  u WT vs.  $V_{1/2} = 4,06$  mV a  $k = 8,90$  u S1021Qfs\*98;  $P > 0,05$ ,  $n = 17$  a  $18$  u WT, resp. S1021Qfs\*98).

Při analýze časové konstanty deaktivace ( $\tau_{deact}$ ) nebyly rovněž zaznamenány žádné statisticky významné změny (při -90 mV: 122,1 ms u WT vs. 144,2 ms u S1021Qfs\*98;  $P > 0,05$ ,  $n = 15$  a  $16$  u WT, resp. S1021Qfs\*98). Stejně tak tomu bylo i u časové konstanty inaktivace (při 0 mV: 5,9 ms u WT vs. 6,0 ms u S1021Qfs\*98;  $P > 0,05$ ,  $n = 15$  a  $14$  u WT, resp. S1021Qfs\*98).

V průběhu aktivace kanálu došlo k 70% poklesu registrovaného proudu, což poukazuje na loss-of-function charakter varianty S1021Qfs\*98. Jelikož nedošlo ke statisticky významným změnám napěťové závislosti aktivace a rovněž časových konstant deaktivace a inaktivace, zůstává původ poklesu proudu nejasný. Předpokládáme možné změny v celkové nebo povrchové expresi kanálu, což bude prověřeno v dalších pokusech.

Následovat pak bude analýza arytmogenního potenciálu druhé z variant nalezených v genomu probandky, A228V-hERG, a studium působení obou variant současně.

Podpořeno z projektu NU22-02-00348 (Ministerstvo zdravotnictví ČR) a z projektu MUNI/A/1547/2023 specifického vysokoškolského výzkumu (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR).

# Harnessing the Migrastatic Potential of Curcumin Derivatives and Evaluation of their Efficacy in Cancer Therapy

Havřílák Ján<sup>1,2</sup>, Nováková Kristýna<sup>1,2</sup>, Filipová Daniela<sup>1,2</sup>, Jakubek Milan<sup>3</sup>,  
Abramenko Nikita<sup>3</sup>, Kalfeřt David<sup>4</sup>, Masařík Michal<sup>1,2</sup>, Fojtů Michaela<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>2</sup> Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>3</sup> BIOCEV (Biotechnology and Biomedicine Center in Vestec), First Faculty of Medicine, Charles University

<sup>4</sup> Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery, University Hospital Motol, First Faculty of Medicine, Charles University

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is the seventh most prevalent cancer worldwide with continually rising incidence rates. Current treatment protocols for advanced HNSCC often entail invasive surgical procedures in addition to chemo- or chemoradiotherapy, with potential ramifications for patients in subsequent stages of treatment. Furthermore, patients diagnosed with human papillomavirus (HPV)-negative HNSCC tumours face poorer prognosis and reduced overall survival, whose treatment represents a significant challenge of invaluable clinical need.

To address this pressing problem, we evaluated the possible migrastatic properties of curcumin, a natural polyphenolic compound derived from the turmeric plant (*Curcuma longa*). Curcumin's high migrastatic potential, which refers to its ability to inhibit cancer cell migration, is closely linked to its potent inhibitory effect on tumour cell invasion and formation of secondary tumour lesions. Due to the higher frequency of metastasis in patients diagnosed with HNSCC tumours, the characterization of new curcumin analogues could be beneficial for advancing the future treatment of these malignities.

We employed a molecular docking method in our *in silico* design of the most promising curcumin derivatives. Subsequently, we assessed and quantified their binding affinity to dihydroorotate dehydrogenase (DHODH), hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ ) and hypoxia-inducible factor 2-alpha (HIF-2 $\alpha$ ), all of which appear to be promising pharmacological targets in recent cancer therapy. The *in vitro* cytotoxic properties of curcumin derivatives were examined via MTT assays on a panel of commercially available HNSCC cell lines. Based on these results, further analysis of their *in vitro* migrastatic capabilities was conducted in real time following cell treatment with curcuminoids.

Our *in silico* analysis identified several therapeutically viable curcumin derivatives, among which V\_Ind demonstrated the highest potential. Notably, V\_Ind exhibited a greater binding affinity to DHODH compared to Leflunomide, a pharmaceutically used inhibitor of DHODH. Consistent with these results, our *in vitro* experiments confirmed the strong inhibitory effect of V\_Ind on tumour cell migration in HNSCC cells.

In conclusion, our preliminary findings highlight the significant promise of curcuminoid derivatives and their possible pharmacological use in the treatment of complicated HNSCC tumours with poor prognosis. Although further testing is necessary, our aim is to elucidate the biological effects of novel therapeutic agents that could be brought closer to the bedside of a patient.

The authors would like to collectively thank the Ministry of Health for the funding of this project (Functional Nanorobots for Navigated Combination Cancer Therapy; ID: NU21-08-00407).

## Changes in CXCR4 and CXCR7 in the anterior cingulate cortex neurons of the neuropathic pain model

Jambrichová Anna<sup>1</sup>, Bretová Karolína<sup>1</sup>, Bagó Anna<sup>1</sup>, Boadas-Vaello Pere<sup>1</sup>, Dubový Petr<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Masaryk University

The anterior cingulate cortex (ACC) plays a pivotal role in regulating mood, motivation, cognition, and action. Additionally, it exerts influence on the affective aspects of neuropathic pain. The functional signaling of chemokine CXCL12 is mediated by CXCR4 and is subject to modulation by a scavenger receptor, CXCR7.

In our study we investigated changes in CXCR4 and CXCR7 protein levels in ACC neurons in a mouse model of neuropathic pain induced by spinal cord injury (SCI). We explored the therapeutic potential of polyphenolic compounds from grape stalk extract (GSE) and coffee extract (CE) in modulating CXCR4 and CXCR7 levels, leveraging their antioxidant and neuroprotective properties. The cellular distribution of CXCR4 and CXCR7 immunofluorescence was quantified in the ACC neurons of lamina II and III from naïve, sham-operated, and SCI-operated mice, as well as those that had undergone treatment with GSE and CE.

A significant increase in CXCR4 levels was detected in ACC neurons of lamina II and III in sham-operated mice compared to those of the naïve mice. Measurement revealed that SCI-compared to sham-operation resulted in a decreased level of CXCR4 protein. No significant changes in CXCR4 levels were obtained in GSE-treated mice, while CE treatment led to a significant increase in CXCR4 immunofluorescence intensities in the ACC neurons. The intensities of CXCR7 immunofluorescence differed from those of CXCR4 in ACC neurons of lamina II and III. The levels of CXCR7 immunofluorescence were significantly reduced in ACC neurons from sham- and SCI-operated mice, with no difference between lamina II and III. Treatment with GSE led to CXCR7 levels that were similar to those detected in naïve control. Surprisingly, a significant reduction of CXCR7 levels was induced in ACC neurons following CE treatment, in comparison to those from the SCI-saline-treated mice. Our findings indicated a different level of CXCR7 protein between lamina II and III, whereas this was not found in the case of CXCR4.

The results of our study demonstrated the effects of GSE and CE on the protein levels of CXCR4 and CXCR7 in the ACC neurons of a neuropathic pain model induced by SCI.

Supported by MUNI/A/1238/2022 and La MARATÓ de TV3 Foundation (201705.30.31).

# Mechanical Remodelling in Cancer Cells: Role of Mitochondrial Network and Substrate Stiffness

**Suzuki Kanako<sup>1</sup>, Huščavová Ema<sup>1</sup>, Navrátil Jiří<sup>1</sup>, Klimovič Šimon<sup>2</sup>, Gumulec Jaromír<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>2</sup> CEITEC MU, Masaryk University

Cancer cell invasiveness requires both energetic plasticity and the rearrangement of a cytoskeletal network of tumor cells. Given the importance of oxidative phosphorylation, we manipulated the mitochondrial function and ATP production by uncoupler carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone (CCCP), Mitochondrial Fusion Promoter M1, and Drp1 inhibitor (Mdivi-1). This investigation focuses on the impact of mitochondrial structural alterations on cellular stiffness and migration rates. Additionally, we explored the influence of culturing cells on a gel substrate, which mimics more natural environments.

PC-3, used as a model of prostate carcinogenesis, was cultured under standard conditions and on a hydrogel substrate to simulate a physiologically relevant microenvironment. Mitochondrial structural changes were induced using CCCP, The mitochondrial fusion promoter M1, and Mdivi-1. Confocal microscopy was used to capture morphological changes, while Atomic Force Microscopy (AFM) quantified cell stiffness in response to CCCP treatment. Mitograph software and in-house software were used to assess mitochondrial architecture. Oxygen consumption rates were measured using seahorse and protein by Western blotting.

Higher concentrations of CCCP induced mitochondrial fragmentation and swelling, including the formation of doughnut-shaped structures. In live PC3 cells, 10uM CCCP concentrations significantly reduced mitochondrial connectivity. Cell stiffness was measured using AFM, revealing no clear relationship between mitochondrial structural changes and cell stiffness under standard conditions. However, a noteworthy observation was made: cells exhibited softening immediately after the removal of applied CCCP. Also, cells cultured on a gel substrate exhibited a decrease in Young modulus compared to standard conditions.

Mitochondrial network architecture is relevant for cancer cell invasiveness. Cells cultured on a gel substrate exhibit Young modulus reduction compared to standard conditions, indicating potential influences of the microenvironment on cellular biomechanics.

I would like to express my sincere gratitude to Ing. Jiří Navrátil and doc. MUDr. Jaromír Gumulec, Ph.D., for their guidance, support, and valuable feedback throughout this project. I also want to thank Mgr. Ema Huščavová, Mgr. Šimon Klimovič, Mgr. Dana Honsová, Mgr. Klára Hánělová, Mgr. Tamara Juriňáková for their helpful discussions and work.

# Modelování trojrozměrné morfogeneze nádorů pankreatu in vitro

Jan Lukáš<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Duktální karcinom pankreatu je onkologické onemocnění s rostoucí incidencí a velmi nepříznivou prognózou. Nádorové buňky odvozené z epitelíí vývodných cest pankreatu tvoří se stromálními buňkami nádoru komplexní mikroprostředí, které ovlivňuje jeho vlastnosti, například tvorbu metastáz a rezistenci k léčbě cytostatiky.

V této práci se věnujeme vytváření trojrozměrných struktur in vitro z primárních nádorových a stromálních buněk izolovaných z reálných adenokarcinomů slinivky břišní. Cílem této práce je porovnat různé metody přípravy sféroidů.

Pro modelování sféroidů z buněk duktálního karcinomu pankreatu využíváme zejména tři metody:

První spočívá v potažení dna 96 jamkové destičky agarosou, na kterou je následně pipetována buněčná suspenze obsahující přibližně 500 buněk (agarose coated wells).

Druhá využívá agarosové formy, která obsahuje 7 × 5 mikrojamek. Do této formy je následně napipetována buněčná suspenze tak, aby na jednu mikrojamku připadalo přibližně 500 buněk (agarose molds).

Poslední použitá metoda byla tzv. „hanging drop“. Ta spočívá v nakapání buněčné suspenze na vnitřní stranu víčka Petriho misky, které je následně překlopeno přes vlastní misku, ve které je fosfátový pufr.

Takto připravené buněčné suspenze se nechají v inkubátoru při 37 °C a atmosféře 5% CO<sub>2</sub> po dobu dvou dnů. Formované sféroidy jsme následně snímkovali první i druhý den na stereomikroskopu Leica M165 FC a následně analyzovali pomocí programu ImageJ se zaměřením na velikost plochy a cirkularitu.

Výsledky ukázaly, že metody produkují sféroidy přibližně stejné velikosti, v čem se ale významně lišily, je směrodatná odchylka. Směrodatná odchylka ve velikosti plochy byla u metody hanging drop téměř 3,5násobná. Mezi ostatními metodami nebyl pozorován významný rozdíl.

Výsledky z analýzy cirkularity sféroidů korelují s výsledky z analýzy velikosti plochy, tj. metoda hanging drop oproti ostatním metodám produkovala sféroidy s velmi variabilní cirkularitou.

Z výsledků je patrné, že metody agarose coated wells a agarose molds produkují sféroidy výrazně lépe než metoda hanging drop. Metody agarose coated wells a agarose molds produkovaly sféroidy srovnatelné kvality, tyto metody se však liší v časové i materiálové náročnosti, v čemž se metoda agarose molds jeví jako vhodnější.

Rád bych tímto poděkoval svému školiteli panu doc. RNDr. Petru Vaňharovi, Ph.D. za jeho vedení, ochotu a poskytnutou příležitost podílet se na tomto projektu. Dále bych chtěl poděkovat všem členům naší výzkumné skupiny za jejich rady a pomoc. Práce byla podpořena těmito projekty NU23-08-00241, MUNI/A/1598/2023 a programem P-Pool.

## Molekulárna klasifikácia karcinómu endometria u vybranej kohorty pacientiek

**Jakubáč Leonard<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ústav patológie, Lekárska fakulta, Masarykova univerzita

Karcinóm endometria je jedna z najčastejších gynekologických malignít. Za posledné roky sa jej diagnostický prístup výrazne zmenil po prijatí WHO nomenklatury, opierajúcu sa o molekulárne-biologickú klasifikáciu. Predchádzajúce rozdelenie podľa histologického obrazu na typ I a typ II dostatočne neodrážalo charakter nádorového ochorenia. Aktuálne je delenie na 4 subtypy: POLE ultramutovaný, mismatch repair deficientný (MMRd), s nešpecifickým molekulárnym profilom (NSMP) a p53 mutovaný. Identifikácia POLEmut je významným prognostickým faktorom, predurčujúci lepšie chovanie. Opak predstavuje p53 mutovaný tumor s výrazne agresívnejším priebehom. Cieľom práce bolo vyhodnotenie molekulárnej klasifikácie u klinicky definovanej kohorty.

Z klinickej databázy bola identifikovaná kohorta 35 pacientiek. Do kohorty bolo zaradených celkom 5 pacientiek s clear cell karcinómom bez ohľadu na štádium v dobe diagnózy, 5 pacientiek vo včasnom klinickom štádiu (štádium I a II), u ktorých došlo k relapsu a 25 pacientiek v klinickom štádiu III s kompletnou adjuvantnou liečbou v podobe chemorádioterapie po resekcii. U všetkých pacientiek bol z FFPE vzoriek tumoru vyhodnotený status genu POLE metódou Sangerovho sekvenovania a vyhodnotená imunohistochemicky expresia mismatch repair proteínov MLH1 (klon ES05, Dako, RTU), MSH2 (klon FE11, Dako, RTU) MSH6 (klon PU29, Dako, 1:70), PMS2 (klon EP51, Dako, RTU) a proteínu p53 (klon DO-7, Dako, 1:200).

Pri vyhodnovení molekulárneho subtypu je nutné brať v úvahu existenciu tzv. „multiple classifiers“. Sú to prípady, u ktorých môže byť p53 aberantná expresia/mutácia prítomná sekundárne pri POLE-ultramutačnom (POLEmut) stave či mismatch repair deficiencií (MMRd). Tieto prípady klasifikujeme ako POLEmut respektíve MMRd a nie ako p53 mutované. Podobne môžu

MMR deficiencie vzniknúť na základe POLEmut stavu, preto pri súčasnej pozitivite oboch, hodnotíme ako POLEmut subtyp.

Molekulárna klasifikácia jednotlivých skupín pacientiek z kohorty boli nasledovné: U žiadnej pacientky sme nepreukázali POLEmut. Zo skupiny clear cell MMRd 2, NSMP 2, p53mut 1. Zo skupiny štádia I a II endometroidných MMRd 1, NSMP 2, p53mut 1 a nonendometroidných MMRd 0, NSMP 0, p53mut 1. Zo skupiny štádia III endometroidných MMRd 9, NSMP 5, p53mut 2 a nonendometroidných MMRd 0, NSMP 2, p53mut 7. Celkovo bolo POLEmut 0, MMRd 12, NSMP 11, p53mut 12. Nepozorovali sme žiadny prípad tzv. „multiple classifiers“.

Všetky serózne karcinómy vykazovali aberantnú expresiu p53. V skupine endometroidných karcinómov boli tri prípady p53mut, u všetkých sa jednalo o high grade karcinóm.

Cieľom našej práce bolo vyhodnotenie molekulárnej klasifikácie u kohorty 35 pacientiek s karcinómom endometria. Na základe vyšetrenia mutačného stavu génu pre POLE a expresie proteínov p53 a MMR, sme pacientky zaradili do jednotlivých subtypov POLEmut, MMRd, NSMP a p53mut. U všetkých pacientiek sa nám podarilo stanoviť molekulárny subtyp nádoru. Finálne molekulárny status vyšiel celkovo POLEmut u 0, MMRd u 12, NSMP u 11, p53mut u 12 pacientkách.

Projekt bol podporený z finančných prostriedkov MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705) a z finančných prostriedkov programom P-Pool LF Masarykovej univerzity.

Veľká vďaka patrí MUDr. Jitke Hausnerovej za mentorstvo, Mgr. Lenke Zlámálikovej a PhDr. Květoslave Matulovej za odborný dohľad pri laboratórnej činnosti a celému Ústavu patológie FN Brno.

## Možnosti a nástrahy využití umělé inteligence pro potřeby vyhledávání vědeckých publikací

**Ott Daniel<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Rozvoj umělé inteligence (AI) je fenoménem, který poslední roky hýbe světem a dochází k její implementaci ve stále více odvětvích, lékařství nevyjímaje. AI má vysoký potenciál, v tom že může práci zefektivnit a zrychlit tím, že za nás zvládne zpracovat velké kvantum informací, se kterými bychom museli pracovat jednotlivě. Ideální program umělé inteligence pro potřeby vyhledávání vědeckých publikací by měl zvládnout hledat informace v hlubších souvislostech, rozlišit relevanci jednotlivých výsledků, extrahovat z textu zásadní informace a čerpat data z dostatečně velké databáze. Cílem této práce bylo zjistit, zda existují programy AI, které tyto požadavky splňují, ukázat jejich základní funkce a tím udělat jakýsi náhled do této problematiky.



Pro demonstraci všech současných možností, kterých je umělá inteligence v současné chvíli schopna v tomto směru nabídnout, byla snaha o testování co největšího vzorku webových stránek/počítačových programů. Vybráno a otestováno bylo 18 různých subjektů.

Pro jednotné srovnání byl v každém programu zadán úkol, aby odpověděl na dotaz: „Prognostický význam zánětlivých parametrů u subarachnoidálního krvácení“. Tento úkol měl za účel ukázat, zda umělá inteligence dokáže pracovat s komplexní tematikou jako zánět a jeho markery v terénu této patologie a zda případně dokáže odhalit konkrétní souvislosti. Další sledovanou vlastností bylo, zda program dokáže třídít jednotlivé výsledky, dle jejich relevance a jestli dokáže vyextrahovat z textu podstatné informace.

Testované úkoly zcela splnilo 5 programů, přičemž jako nejlepší z nich se osvědčil Scopus AI díky jeho všestrannosti. Pro demonstraci velkého spektra funkcí, které tato oblast nabízí jsem dále vybral jako příklad Elicit a Research Rabbit. Zbylé subjekty úkoly splnily buď neúplně nebo zcela nedostatečně.

Scopus AI je nově spuštěná umělá inteligence společnosti Elsevier. Je schopna odpovídat na položené dotazy, přičemž dává odkaz na zdroj studie, ze které vychází. Dále vytvoří myšlenkovou mapu, se kterou pracuje, vytvoří seznam expertů na dané téma a navrhuje doplňující otázky k tématu. Pracuje s velkou databází.

Research Rabbit je jedinečný program zdarma, který na základě výběru/kolekci článků se kterými pracujeme, vytvoří doporučení studií nových, které mohou téma rozšířit.

Elicit prokázal největší schopnosti při práci s textem. Dokáže odpovědět na dotaz na základě shrnutí studií na dané téma, extrahovat data z PDF souboru a vytvořit seznam pojmů, kterým se studie na jednotlivé téma mohou zabývat. Program je placený.

Při práci s programy umělé inteligence je třeba počítat s tím, že to jsou v drtivé většině programy zcela nové a nejsou zdaleka neomylné. Pro práci s nimi je stále potřeba jejich práci kontrolovat a mít přehled a znalosti v oblasti, ve které je využíváme. Nicméně v tuto chvíli mohou značně urychlit manuální práci prohledávání databází a sumarizaci dat, kdy potřebné úkony zvládnou během několika málo vteřin. Lze zcela jistě předpokládat, že v následujících letech dojde k jejich inovaci a zdokonalení algoritmů a tím se i výrazně zvýší možnost jejich využití.

Chtěl bych poděkovat MUDr. Kamilu Ďurišovi, Ph.D. za jeho čas, ochotu, cenné rady, a hlavně za to, že mě inspiroval pro práci na tomto tématu. Dále bych chtěl také poděkovat MUDr. Michalu Jurajdovi Ph.D. za jeho pomoc, čas a hodnotnou zpětnou vazbu.

# Structures of (S)-enantioselective haloalkane dehalogenase from a pathogenic *Mycobacterium* reveal a new mode of homodimerization

Šnajdarová Karolína<sup>1,2</sup>, Marques Sergio Manuel<sup>1,3</sup>, Damborský Jiří<sup>1,3</sup>, Bednář David<sup>1,3</sup>, Marek Martin<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Loschmidt Laboratories, Department of Experimental Biology and RECETOX, Faculty of Science, Masaryk University

<sup>2</sup> Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>3</sup> International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno

Haloalkane dehalogenases (HLDs) are a family of  $\alpha/\beta$ -hydrolase fold enzymes that employ SN2 nucleophilic substitution to cleave the carbon-halogen bond in diverse chemical structures, the biological role of which is still poorly understood. Their most important biotechnological applications include (i) biodegradation of environmental pollutants such as 1,2-dichloroethane or 1,2,3-trichloropropane, (ii) decontamination of the warfare agent sulfur mustard, (iii) synthesis of optically pure compounds for the pharmaceutical industry and (iv) HaloTag cell imaging. Atomic-level knowledge of both the inner organization and supramolecular complexation of HLDs is thus crucial to understand their catalytic and non-catalytic functions.

Recently, genomic database mining searches for HLDs with novel properties identified a new haloalkane dehalogenase, DmmarA, encoded in the genome of a waterborne pathogenic bacterium *Mycobacterium marinum* M. A structural biology workflow was employed to explain the enzyme's (S)-enantioselectivity and dimeric form, both rare within the HLD enzyme family. The DmmarA dehalogenase was produced recombinantly in *E. coli*, purified using affinity and size-exclusion chromatography, crystallized, and its X-ray structure was solved. Structural analysis, molecular modelling, and small-angle X-ray scattering were further utilized to clarify its enantioselectivity and oligomerization.

In our work, crystallographic structures of this (S)-enantioselective enzyme were determined at 1.6 and 1.85 Å resolution. The structures show a canonical  $\alpha\beta$ -sandwich HLD fold with several unusual structural features. Mechanistically, the atypical composition of the proton-relay catalytic triad (aspartate-histidine-aspartate) and uncommon active-site pocket reveal the molecular specificities of catalytic apparatus that exhibits a rare (S)-enantioselectivity. Additionally, the structures reveal a previously unobserved mode of homodimerization, which is predominantly mediated through L5-to-L5 loop interactions. This homodimeric association in solution is confirmed experimentally by data obtained from small-angle X-ray scattering. Utilizing the newly determined structures of DmmarA, molecular modelling techniques were employed to elucidate the underlying mechanism behind its atypical enantioselectivity. The (S)-preference can be attributed to the presence of a distinct binding pocket and variance in the activation barrier for nucleophilic substitution.

Collectively, we have solved the first high-resolution molecular structure of an (S)-enantioselective haloalkane dehalogenase. Our findings highlight key molecular features that distinguish the DmmarA enzyme from other members of the HLD family. The enzyme is now fully characterized biochemically and structurally, enabling further protein engineering and potential biocatalysis applications.

The authors would like to express their thanks for financial support to the Czech Science Foundation (22-09853S).

## Vliv glutamátu a specifického antagomiru na spontánní elektrickou aktivitu hipokampálních neuronů

**Poledňáková Anna<sup>1</sup>, Goliášová Zita<sup>2</sup>, Švecová Olga<sup>1</sup>, Král Martin<sup>1</sup>, Brázdil Milan<sup>2,3</sup>, Bébarová Markéta<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> CEITEC, Masarykova univerzita

<sup>3</sup> 1. neurologická klinika FNUSA a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Epilepsie je chronické neurologické onemocnění, na jehož rozvoji se podílí především nerovnováha mezi excitační a inhibiční neurotransmisí. Hlavní excitační neurotransmitter v CNS, glutamát, může při svém nadbytku přispět k hypersynchronní excesivní elektrické aktivitě neuronů a dle některých studií lze jeho aplikaci do kultury neuronálních buněk vytvořit model epilepsie in vitro. Do epileptogeneze rovněž zasahují změny exprese specifických miRNA, které jsou v současné době intenzivně zkoumány jako potenciální terapeutické řešení farmakorezistentní epilepsie. Tento pilotní projekt si kládí za cíl posouzení možného excitačního vlivu glutamátu a inhibičního vlivu specifického antagomiru na spontánní neuronální aktivitu.

Studie byla provedena na hipokampálních neuronech izolovaných z neonatálních potkanů, které byly kultivovány v médiu N/Basal obohaceném o doplňky B27, L-glutamin, penicilin/streptomycin, plasmocin, BDNF (brain-derived neurotrophic factor) a NGF- $\beta$  (nerve growth factor  $\beta$ ) na multielectrode array (MEA) čipu (37°C, 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>). Měření elektrické aktivity neuronů jsme prováděli pomocí techniky MEA (Multichannel Systems; Reutlingen, Německo) od 7. dne in vitro (DIV7) při vzorkovací frekvenci 25 kHz (5 min ustálení + 10 min záznam pro analýzu).

V běžích RN002-RN006 byl do vybrané skupiny MEA vzorků aplikován 10  $\mu$ M glutamát (10minutov aplikace s následným výplachem; DIV12) a 6 dnů před plánovaným ukončením snímání jsme aplikovali 30 nM antagomir pro snížení exprese miR-142-5p, následovalo měření 2., 3. a 5. den po jeho aplikaci. V běžích RN007-RN012 jsme se soustředili pouze na vliv inhibitoru, který byl do experimentální skupiny vzorků přidán DIV21. Po jeho aplikaci byly zaznamenány další 3 měření, opět 2., 3. a 5. den.

U vybraných vzorků jsme pracovali s mediánem frekvence hrotových potenciálů (tzv. spiků) na jednotlivých elektrodách a počtu aktivních elektrod. Vzhledem k tomu, že normální rozložení dat bylo zamítnuto (Shapiro-Wilk test), bylo ověření signifikance pozorovaných rozdílů provedeno s využitím neparametrických t-testů (Wilcoxon a Mann-Whitney test).

Během kultivace došlo k signifikantní nárůstu frekvence spiků i počtu aktivních elektrod jak u kontrolních MEA vzorků, tak u vzorků s přechodnou aplikací glutamátu ( $n = 7$ ,  $P < 0,05$ , resp.  $n = 8$ ,  $P < 0,01$ ). Medián spike frekvence v den 0 (tj. v den aplikace glutamátu) byl u kontrol 0,93 Hz (min. 0,36 Hz; max. 1,61 Hz) a u glutamátových vzorků 1,18 Hz (min. 0,29 Hz; max. 3,36 Hz). Medián počtu aktivních elektrod byl ve dni 0 u kontrolních vzorků 23 (min. 12; max. 42) a u glutamátových vzorků 11 (min. 1; max. 56). Po 14 dnech kultivace signifikantně vzrostl medián spike frekvence u kontrolních vzorků na 7,51 Hz (min. 4,53 Hz; max. 13,78 Hz;  $P < 0,05$ ) a u glutamátových vzorků na 8,23 Hz (min. 0,76 Hz; max. 20,73 Hz;  $P < 0,01$ ). Medián počtu aktivních elektrod v tento den byl signifikantně vyšší než ve dni 0, v případě kontrol 40 (min. 27; max. 52;  $P < 0,05$ ) a u glutamátových vzorků 24,5 (min. 6; max. 59;  $P < 0,01$ ). Mezi vývojem elektrické aktivity u obou zkoumaných vzorků nebyl patrný žádný významný rozdíl.

Ze souhrnné statistiky běhů RN002-RN012, ve které bylo hodnoceno 8 kontrolních a 9 antagomirových vzorků, vyplynulo, že frekvence spiků po aplikaci 30 nM antagomiru vykazovala nesignifikantní sestupný trend a při porovnání s kontrolou byl medián frekvence spiků poslední den měření, tj. den 19, zhruba poloviční (5,00 Hz po aplikaci antagomiru, min. 1,43, max. 12,54, vs. 2,88 Hz u kontrolních vzorků, min. 0,50, max. 5,06;  $P = 0,11$ ). Počet aktivních elektrod byl stabilní.

Dle našich dosavadních dat nelze přechodnou 10minutovou aplikaci glutamátu využít jako model epilepsie in vitro. Pilotní data poukazují na možný inhibiční vliv antagomiru proti miR-142-5p na spontánní elektrickou aktivitu neuronů. Pokud toto potvrdí i finální data, bude možné zvážit snížení exprese této miRNA jako alternativní léčbu farmakorezistentní epilepsie.

Podpořeno z projektu GA23-05274S (Grantová agentura ČR) a z projektu MUNI/A/1547/2023 specifického vysokoškolského výzkumu (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR).

## Vliv myokardiální remodelace na EKG u DOCA/salt modelu potkana

**Laška Michal<sup>1</sup>, Nováková Marie<sup>1</sup>, Stračina Tibor<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Jedním z důsledků hypertenze je myokardiální remodelace. Ta zpočátku umožňuje zachovat čerpací funkci srdce, a i za zvýšeného krevního tlaku udržet adekvátní dodávku kyslíku do tkání. Remodelace však může dále progredovat za rozvoje myokardiální fibrózy. Fibróza vzniká na podkladě aktivace fibroblastů a mění elektrofyziologické vlastnosti srdeční tkáně. Nezastupitelnou

roli ve výzkumu myokardiální fibrózy hrají animální modely. Přestože je všeobecně známo, že se remodelace srdce (fibróza) projevuje i na EKG, nebyl tento fakt u animálních modelů dosud zkoumán. Cílem této práce je charakterizovat změny EKG a popsat souvislosti těchto změn s navozenou remodelací srdce u DOCA/salt modelu potkana.

V práci bylo použito 11 samců potkana kmene Sprague-Dawley ve věku 6 týdnů. Zvířata byla náhodně rozdělena do dvou skupin. Zvířata ze skupiny F ( $n = 6$ ) podstoupila v celkové anestezii unilaterální nefrektomii a byl jim aplikován deoxykortikosteron acetát (DOCA, 20 mg/týden, s.c.; vehikulum: arašídový olej, 0,2 ml). Do vody jim byla přidávána směs solí (0,9 % NaCl, 0,3 % KCl). Zvířata kontrolní skupiny C ( $n = 5$ ) podstoupila sham operaci a bylo jim podáváno vehikulum ve stejném aplikačním režimu. Do vody jim nebyly přidávány soli. Na začátku experimentu, a následně ve druhém a třetím týdnu bylo u zvířat provedeno měření strukturálních (šíře stěny a průměr levé komory, frakční objem myokardu (MFV)) a funkčních parametrů srdce (ejekční frakce levé komory (LVEF)) pomocí magnetické rezonance (přístroj Bruker 9,4 T, ÚPT AV ČR). Tři týdny od indukce modelu byla všechna zvířata uvedena do celkové anestezie a byl naměřen 15minutový záznam EKG pomocí vpichových elektrod a systému PowerLab (AD Instruments). V EKG záznamu byla hodnocena délka P vlny a PQ intervalu, šířka QRS komplexu a délka QT intervalu (korigováno dle Hodgese). Poté byla zvířata usmrcena, srdce bylo odebráno a fixováno v neutrálním formalínu pro histopatologickou analýzu. Remodelace srdce byla hodnocena na tenkých řezech barvených hematoxylinem-eozinem a Goldnerovou zelení. Fibróza byla kvantifikována jako poměr plochy fibrózní tkáně vůči celkové ploše vzorku vyjádřený v procentech.

Během tří týdnů došlo u skupiny F k signifikantnímu zvětšení šíře stěny levé komory v systole (před indukcí  $3,50 \pm 0,41$  mm; 3 týdny po indukci  $4,49 \pm 0,56$  mm;  $p = 0,0180$ ). U skupiny F byl rovněž zjištěn signifikantní nárůst frakčního objemu myokardu a ejekční frakce ve druhém (MFV:  $65,39 \pm 3,02$  %,  $p = 0,0034$ ; EF:  $85,60 \pm 2,70$  %,  $p = 0,0412$ ) i třetím týdnu (MFV:  $70,86 \pm 4,64$  %,  $p = 0,0013$ ; EF:  $87,63 \pm 1,62$  %,  $p = 0,0391$ ) ve srovnání s měřeními před indukcí (MFV:  $61,98 \pm 5,50$  %, EF:  $76,56 \pm 4,47$  %). Při porovnání se skupinou C došlo u skupiny F k signifikantnímu nárůstu frakčního objemu myokardu a ejekční frakce, a to jak ve druhém ( $p = 0,0477$ ), tak i ve třetím týdnu experimentu ( $p = 0,0011$ ). Analýza EKG prokázala, že PR interval byl signifikantně prodloužen u skupiny F ( $55,6 \pm 4,5$  ms) v porovnání se skupinou C ( $43,0 \pm 1,1$  ms;  $p = 0,0333$ ). Ve skupině F došlo u QRS komplexu ( $19,6 \pm 1,3$  ms) k signifikantnímu rozšíření proti skupině C ( $17,3 \pm 1,5$  ms;  $p = 0,0486$ ). Intersticiální, perivaskulární i replacement fibróza byla detekována ve všech vzorcích skupiny F ( $0,86 \pm 0,73$  % tkáně vzorku postiženo fibrózou), naopak u skupiny C nebyla fibróza pozorována vůbec ( $p = 0,0346$ ). I když výsledek korelační analýzy nebyl signifikantní, je patrný vztah mezi šířkou QRS komplexu a MFV ( $r = 0,6298$ ;  $p = 0,0510$ ).

Tato práce jednoznačně dokládá, že u DOCA/salt modelu u potkana dochází během tří týdnů k myokardiální remodelaci, což se projevuje zvětšením šíře stěny levé srdeční komory, myokardiálního frakčního objemu a vznikem myokardiální fibrózy. Tyto změny však nejsou spojené s poklesem ejekční frakce levé komory. Remodelace myokardu se u potkanů rovněž projevuje na EKG, a to prodloužením intervalu PR a rozšířením komplexu QRS. To naznačuje prodloužení vedení depolarizace jak v síních, tak v komorách. Model DOCA/salt u potkanů poskytuje prostor pro zkoumání dopadů remodelace na elektrofyziologické vlastnosti myokardu. S využitím pokročilých metod a zavedených animálních modelů se tak otevírají nové možnosti výzkumu nejen remodelace myokardu.

Děkujeme MUDr. Michalu Hendrychovi (1. ústav patologie, FN USA a LF MU) za histologickou analýzu vzorků, doc. Ing. Radovanu Jiříkovi, Ph.D. a Ing. Jiřímu Vitoušovi (Ústav přístrojové techniky, AV ČR) za měření a analýzu parametrů pomocí magnetické rezonance. Práce byla podpořena projekty MUNI/A/1343/2022 a MUNI/A/1547/2023.

## Vliv stimulace nervus vagus na elektrickou aktivitu srdce u laboratorního potkana

**Antes Josef<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Nervus vagus (VN) je jedním z 12 hlavových nervů. Jak už jeho jméno naznačuje, bloudivý nerv inervuje orgány po celém těle – od svalů měkkého patra až po lienální flexuru tlustého střeva. Právě šíře jeho působnosti napříč mnoha orgánovými systémy je důvodem, proč je stimulaci bloudivého nervu věnována vědeckou obcí značná pozornost. Klinicky se již různé varianty stimulace VN používají k léčbě farmakorezistentních epilepsií a depresí. Dále se intenzivně studují dopady stimulace na kardiovaskulární systém a na modulaci sepse. Cílem našeho projektu bylo pozorovat vliv levostranné a pravostranné stimulace VN na EKG laboratorního potkana. A následně vyhodnotit, zda-li na EKG bude pozorovatelný rozdíl mezi levostrannou a pravostrannou stimulací.

Jako modelový organismus byli použiti samci laboratorního potkana ve variantě Sprague-Dawley s hmotností 275–329 gramů. Soubor 12 zvířat byl rozdělen do 2 stejně početných skupin. Ve skupině LR byl jako první stimulován levý vagus, poté pravý nerv. Ve skupině RL bylo pořadí opačné. Pro experiment byli potkani anestetizováni pomocí isofluranu, následně byli zaintubováni kanylou a napojeni na umělou plicní ventilaci. Pro anestezii byl použit isofluran ve směsi kyslíku a medicínského vzduchu v poměru 30 % / 70 %. Iniciálně byla použita 5% koncentrace isofluranu, následně byla kontrakce snížena na 3 %.

Následovalo rozstříhnutí kůže mezi bradovým výběžkem a manubrium sterni. Svalovou vrstvu jsme preparovali tupou preparací pomocí mikrochirurgických pinzet pod kontrolou chirurgického mikroskopu. Tato preparace měla za úkol zpřístupnit nervus vagus v trigonum caroticum. Nervus vagus zde probíhá podél arteria carotis communis. Preparací jsme na obou stranách očistili bloudivé nervy a jeden z nich byl následně zavěšen na dvě hákovité bipolární elektrody, pomocí kterých probíhala přímá stimulace (20 Hz, 1 mA). Ve skupině LR byl prvně vyvěšen levý nerv, ve skupině RL naopak pravý. Dále byly do podkoží v oblasti kožních vírů axil a pravého třísla vpraveny elektrody pro snímání jednosvodového záznamu EKG. Na celou operaci bylo vyhrazeno 15 minut.

Ze záznamu EKG každého zvířete byla spočítána průměrná srdeční frekvence (SF) v následujících minutových úsecích: úvodní klidový záznam elektrické aktivity srdce (C1), 5minutová stimulace nervus vagus (L/R 1–5), poté minuta klidového záznamu po první a před druhou stimulací (C2–3), následovala 5minutová stimulace kontralaterálního nervu (R/L 1–5) a nakonec

opět klidový záznam (C4–5). Z analýzy dat následně vyplynulo, že existuje statisticky významný pokles SF při zahájení první stimulace u obou skupin (C1 vs. L/R1). Při zahájení druhé stimulace byl prokázán statisticky významný pokles ve skupině RL (C3 vs. L1), nicméně v druhé skupině už prokázán nebyl (C3 vs. R1).

Experiment nám umožnil získat představu o reakci SF potkana na elektrickou stimulaci nervus vagus v závislosti na tom, který nerv je stimulován. Silnější efekt jsme mohli vyzorovat u levostranné stimulace bez ohledu na to, jestli se jednalo o první nebo druhou stimulaci. Dále bychom mohli testovat hypotézu, zda by i při větším počtu zvířat ve vzorku zůstal pokles SF v úseku C3 – R1 statisticky nevýznamný. Při větším počtu pokusů by bylo možné zaměřit se i na vývoj SF během stimulace. V neposlední řadě by v úvahu připadalo i sledování arytmií typu AV blokády, které se během stimulací sporadicky vyskytovali v našich pokusech.

Rád bych poděkoval mým školitelům MUDr. Michalu Jurajdovi, Ph.D a MUDr. Kamilu Ďurišovi, Ph.D. za jejich pomoc při výzkumu, předání teoretických i praktických znalostí a statistické zpracování dat. Dále bych chtěl poděkovat mé kolegyni Kláře Žembové za spolupráci při provádění všech experimentů a Matuši Litvínovi a Lauře Nižníkové za pomoc s anesteziologickou částí operací.

## Zmeny elektrickej aktivity podmienené neurodegeneráciou

**Liščáková Barbora<sup>1</sup>, Angelovski Andrijana<sup>1</sup>, Švecová Olga<sup>1</sup>, Hříbková Hana<sup>2</sup>, Sedmík Jiří<sup>2</sup>, Bohačiaková Dáša<sup>2</sup>, Klimeš Petr<sup>3</sup>, Kolajová Martina<sup>3</sup>, Brázdil Milan<sup>4</sup>, Bébarová Markéta<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>3</sup> Ústav přístrojové techniky, Akademie věd České republiky

<sup>4</sup> I. neurologická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Etiológia zvýšenej elektrickej aktivity je u mnohých pacientov s epilepsiou neobjasnená. Nedávne zistenia poukazujú na prítomnosť proteínov asociovaných s neurodegeneráciou (NAPs, z angl. Neurodegeneration-Associated Proteins) u epileptických pacientoch. Zvýšene riziko rozvoja epileptických záchvatov vykazujú aj pacienti trpiaci Alzheimerovou chorobou, ktorej kauzálne proteíny patria práve medzi NAPs. Neurálne tkanivo s potenciálom rozvoja AD teda predstavuje adekvátny model pre pozorovanie zmien v elektrickej aktivite a ich prípadné prepojenie s výskytom NAPs, čím dáva možnosť hlbšie porozumieť vzniku epileptogenného substrátu a patogenéze epileptických ochorení.

In vitro analýza elektrických zmien v prítomnosti neurodegenerácie bola uskutočnená na cerebrálnych organoidoch pripravených z neurónov diferencovaných z ľudských indukovaných pluripotentných buniek (hiPSC, z angl. human induced pluripotent stem cells)

pacienta s familiárnou formou AD (nAD = 5) a zdravého nepríbuzného jedinca (nWT = 6). Záznam elektrickej aktivity bol uskutočnený prostredníctvom systému multielectrode array (MEA; MEA2100-Lite-System, 60MEA-200/30iR-Ti, Multichannel Systems). Organoidy boli kultivované na MEA kompatibilných čipoch a ich aktivita bola zaznamenávaná v diferenciačných dňoch D72 až D139 (37 °C). Analýza aktivity prebehla v 5.–15. minute záznamu. Detekované boli hrotové výboje o krátkom trvaní, tzv. spikes, a skupiny hrotových výbojov, tzv. bursts. Keďže dáta nevykazovali normálne rozloženie (Shapiro-Wilk test), overenie signifikancie výbojových parametrov bolo uskutočnené prostredníctvom Mann-Whitney testu.

Pri analýze burst aktivity v jednotlivých diferenciačných týždňoch bol zaznamenaný signifikantný rozdiel v počte aktívnych elektród (DW13: WT 2,54 vs. AD 8,48 %, DW15: WT 2,54 vs. AD 15,25 %, DW16: WT 4,24 vs. AD 22,03 %, DW17: WT 2,54 vs. AD 16,50 %;  $P < 0,05$ ) pričom vo všetkých vzorkách zaberá organoid celú snímaciu plochu tj. 60/60 elektród. Ďalší významný rozdiel bol zaznamenaný v priemernej dĺžke trvania bursty ( DW17: WT 199,0 vs. AD 373,2 ms, DW19: WT 188,9 vs. AD 262,8 ms,  $P < 0,05$ ) a v počte hrotových potenciálov v burste (DW17: WT 7,0 vs. AD 14,0, DW19: WT 6,0 vs. AD 9,3;  $P < 0,05$ ). Rozdiely medzi AD a WT v burst-frekvencii (tj. počet burstov za minútu), interburstovom intervale a frekvencii hrotových výbojov v burste neprekročili hladinu signifikantnosti v žiadnom z meraných týždňov. AD organoidy teda vykazovali vyššiu elektrickú aktivitu ako WT organoidy.

Zvýšená aktivita v doterajších pozorovaniach poukazuje na spojitosť medzi výskytom AD a zvýšením elektrickej aktivity v neurálnom tkanive a to hlavne v celkovej aktivite organoidov v rámci počtu aktívnych elektród. AD tkanivo má tendenciu udržiavať dlhšie trvanie burstov s vyšším obsahom hrotových potenciálov v nich

Podporené projektmi NU22-04-00366 (Ministerstvo zdravotníctva ČR), LX22NPO5107 (Ministerstvo školstva, mládeže a telovýchovy ČR), 24-12028S (Grantová agentúra ČR) a MUNI/A/1547/2023 (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR).



# Klinická sekce – chirurgické obory

## Nový experimentální model pro studium periferní nervové regenerace v terénu reanimace obličeje metodou dvojité reinervace

Macek Jan<sup>1</sup>, Bayezid K. Can<sup>1</sup>, Kubíčková Lucie<sup>2</sup>, Joukal Marek<sup>2</sup>, Streit Libor<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Popálenin a Plastické chirurgie, Fakultní Nemocnice Brno

<sup>2</sup> Anatomický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Jedním ze slibných nových přístupů v reanimaci obličeje je duální reinervace. Mezi nejvýznamnější determinanty klinického výsledku patří výběr vhodného nervu pro reinervaci. Tato technika se jeví jako velmi slibná, nicméně, evidence-based data pro řádné zhodnocení této metody v literatuře stále chybí, stejně jako zvířecí model.

Cílem této práce je představit zvířecí model reanimace obličeje technikou dvojité reanimace v potkanech Wistar a ověřit jeho technickou a anatomickou funkčnost.

Čtrnáct potkanů bylo rozděleno do čtyř experimentálních a jedné kontrolní skupiny dle počtu stáží operace (jedna či dvě) a anastomotického přístupu. Nejprve byl odhalen a odebrán n. suralis pro použití jako Cross facial nerve graft (CFNG). Následně byla provedena anastomóza s kontralaterální bukální větví n. facialis a CFNG protažen subkutánním tunelem na ipsilaterální stranu.

CFNG a motorický nerv k m. masseter byly koaptovány s ipsilaterálním (přerušným) n. facialis, jeden technikou end-to-side a druhý technikou end-to-end (u druhé skupiny obráceně). Průměry a délky nervů byly změřeny a zaznamenány.

Po šesti měsících byl potkanům aplikován Fluoroemeraldový tracer a po 24hodinové inkubaci a utracení zvířat byly odebrány vzorky periferních nervů a mozku kmene pro analýzu pod fluorescenčním mikroskopem.

Zárok byl technicky proveditelný (z hlediska délky a průměru nervů) u všech jedenácti zvířat pokusné skupiny. Z těchto jedenácti zvířat přežilo devět šestiměsíční regenerační periodu. Aktivita traceru byla pozorována u každé z pokusných skupin, indukující růst axonů skrz anastomózu. Délka zákroků u jednotlivých skupin se zásadně nelišila.

Náš model je z technického i anatomického hlediska funkční, reanimaci obličeje technikou dvojité reinervace jsme u potkanů Wistar provedli s vysokou úspěšností. Aplikace traceru,

odběr vzorku a mikroskopická evaluace byly provedeny bez významných technických překážek, což do budoucna umožňuje širokou škálu experimentů proveditelných na našem modelu.

Rád bych poděkoval za všechnu pomoc a vedení svému školiteli, panu doc. MUDr. Streitovi PhD. a stejně tak panu doc. MUDr. Joukalovi, Ph.D. za cenné rady a konzultace. Velký dík patří též paní MVDr. Kubičkové, Ph.D. za nekonečnou trpělivost a pomoc nejen s fluorescenční mikroskopií.

## Chirurgická léčba karcinomu pankreatu

**Kitzlerová Anežka<sup>1</sup>, Hlavsa Jan<sup>1</sup>, Procházka Vladimír<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Chirurgická klinika FN Brno a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Duktální adenokarcinom pankreatu (KP) je nejčastějším maligním nádorem slinivky břišní. Představuje jednu z nejagresivnějších solidních malignit, pětileté přežití pacientů se pohybuje mezi 2–9 %. Za jediný potenciálně kurativní výkon je považována chirurgická resekce. V době diagnózy lze chirurgicky odstranit méně než 20 % nádorů. Nejčastější příčinou je diseminace a lokální pokročilost. Medián přežití se po resekcí pankreatu pro duktální adenokarcinom pohybuje mezi 17 a 40 měsíci. Cílem práce je analýza výsledků chirurgické léčby vybraných pacientů s KP operovaných na Chirurgické klinice FN Brno a LF MU.

Analyzována byla data 10 vybraných pacientů, kteří na Chirurgické klinice FN Brno a LF MU podstoupili hemipankreatoduodenektomii pro duktální adenokarcinom pankreatu. U jednotlivých pacientů byly sledovány a hodnoceny následující parametry: pohlaví, věk, klinické stádium, grade nádoru, počet patologem vyšetřených uzlin, radikalita resekce, tříměsíční morbidita, doba hospitalizace, onkologická léčba, doba bez nemoci, typ recidivy a celkové přežití.

Radikalita resekce byla dle hodnocení bez Leedského protokolu klasifikována jako R0 v 90 %, při hodnocení dle Leedského protokolu bylo jako R0 klasifikováno 20 % resekcí. Ostatní případy byly hodnoceny jako kategorie R1. Klinické stádium nádoru bylo zastoupeno následovně: T1 – 0 %, T2 – 10 %, T3 – 90 %, N0 – 10 %, N1 – 40 %, N2 – 50 %, M0 – 100 %, M1 – 0 %. Nádor byl u 70 % pacientů klasifikován jako G2, u 30% jako G3. Celková doba hospitalizace činila v průměru 23 dní (min 12, max 57). Klinicky významné komplikace byly zaznamenány u 1 pacienta (10 %). U 5 pacientů (50 %) byly zaznamenány méně závažné komplikace. Adjuvantní chemoterapie (adjCHT) byla doporučena u 8 pacientů (80 %), u 1 pacienta doporučena nebyla. Jeden pacient byl předléčen neoadjuvantní chemoterapií. První linii adjCHT dokončili 4 pacienti. U ostatních pacientů nebyla první linie dokončena. Průměrná doba bez nemoci (DFS) byla 9 měsíců. Nejčastěji se onemocnění vracelo ve formě metastáz do jiných orgánů (70 %), ve zbývajících případech (30 %) se jednalo o kombinaci vzdálené metastázy a lokální recidivy. Medián celkového přežití dosáhl 16,5 měsíců. Celkové přežití bylo delší u pacientů s nádorem gradu 2 oproti pacientům s gradem 3 (medián: 20 měsíců vs. 13 měsíců). U skupiny pacientů, kteří absolvovali kompletní první linii terapie, bylo ve srovnání s pacienty, kteří z nějakého důvodu adjuvantní léčbu nedokončili, zaznamenáno delší DFS i celkové přežití (11,25 měsíců resp. 19,25 měsíců vs. 9,25 měsíců resp. 14 měsíců).

Naše výsledky potvrdily, že prognóza pacientů operovaných pro KP není příznivá. U většiny pacientů nemoc v poměrně krátkém čase recidivuje a celkové přežití je u většiny pacientů do 20 měsíců. Dlouhodobé výsledky pacientů může zlepšit podání adjuvantní léčby po operaci, pro kterou je nutný dobrý klinický stav pacienta. Operační výkon je ale spojen s relativně častým rozvojem pooperačních komplikací a dlouhou dobou hospitalizace. To může znemožnit podání adjuvantní léčby. Úplné dokončení adjuvantní léčby společně s nižším gradem nádoru také působilo jako faktor zlepšující výhledy pacienta.

Ráda bych poděkovala MUDr. Janu Hlavsovi, Ph.D. za odborné vedení práce a doc. MUDr. Vladimíru Procházkovi, Ph.D. za možnost pracovat na tomto projektu.

## Measurement of nasal inner lining for purposes of total nasal reconstruction using 3D modelling and Heron`s formula

Cenker Dominik<sup>1</sup>, Kubát Martin<sup>1</sup>, Dvořák Zdeněk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Plastic and Aesthetic Surgery, St. Anne's Faculty Hospital, and Medical Faculty of Masaryk University

The reconstruction of the full-thickness defect is a challenging surgical procedure. Reconstruction of inner lining (IL) is one of the essential parts during reconstruction. A larger flap is commonly harvested than necessary and is trimmed by a surgeons during the operation which lead to bigger donor site morbidity and extension of operation time. The aim of this study was to create reliable, reproducible preoperative planning for IL flap calculated from external nose parameters and comparison of the accuracy of calculations with CT scan. We hypothesize that personalized IL area can be calculated with modified mathematical Heron's formula from 3D scans data of external nose and can lead to preoperatively plan and harvest smaller flap.

The study included DICOM data from head CT scans of 60 Caucasian patients (30 males and 30 females). The data was imported into Slicer software. Using the manual thresholding tool, we created a 3D model of the nose and its inner lining. The surface area of the inner lining was then precisely calculated using the area measurement tool (Method 1). These measurements and results were used for comparison with a faster, less expensive, and less time-consuming method, namely calculating the area of the inner lining using Heron's formula based on the external dimensions of the nose (Method 2).

In men group, the mean area of the septal inner lining (SIL) was 6.86 cm<sup>2</sup> for Method 1 and 6.60 cm<sup>2</sup> for Method 2. The mean area of the alar inner lining (AIL) was 7.52 cm<sup>2</sup> for Method 1 and 7.76 cm<sup>2</sup> for Method 2. The mean total inner lining area (TIL) was 28.76 cm<sup>2</sup> for Method 1 and 28.72 cm<sup>2</sup> for Method 2. The mean difference between the two methods was -0.26 cm<sup>2</sup> for the SIL, +0.24 cm<sup>2</sup> for the AIL, and -0.04 cm<sup>2</sup> for the TIL.

In women group, the mean area of the SIL was 5.91 cm<sup>2</sup> for Method 1 and 5.49 cm<sup>2</sup> for Method 2. The mean area of the AIL was 6.51 cm<sup>2</sup> for Method 1 and 6.37 cm<sup>2</sup> for Method 2. The mean TIL was 24.85 cm<sup>2</sup> for Method 1 and 23.73 cm<sup>2</sup> for Method 2. The mean difference between the two methods was -0.42 cm<sup>2</sup> for the SIL, -0.14 cm<sup>2</sup> for the AIL, and -1.12 cm<sup>2</sup> for the TIL.

The study demonstrates that the area and dimensions required for inner lining creation in total nasal reconstruction can be accurately determined using external nasal parameters and mathematical calculation. By achieving an accurate flap size, the invasiveness of the procedure is reduced, effectively preventing complications such as airway obstruction and the need for revision surgery. The mathematical calculation-based measurement method is accurate, fast, and replicable, making it a valuable tool for surgeons. By adopting this method, surgeons can achieve a more aesthetically pleasing and functionally optimal reconstructed nose, leading to lower donor site morbidity, shortening of operation time and higher patient satisfaction.

I would like to express my deepest gratitude to MUDr. Kubát and doc. MUDr. Dvořák for providing me with the opportunity to work on this research project, for their exceptional guidance and for the invaluable advice they shared with me. Special thanks to Mgr. Natália Jankaničová from ICRC for her work on statistical analysis. This project was supported by project grant EIPPRSIV MUNI/A/1610/2023.

## **Populačná retrospektívna štúdia pacientov hospitalizovaných s popáleninami a ich klinické charakteristiky**

**Petráššková Lívia<sup>1</sup>, Selecká Dušana<sup>1</sup>, Rucki Janusz<sup>1</sup>, Kotradyová Marianna<sup>1</sup>, Bartková Júlia<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Klinika popálenin a plastickej chirurgie, Fakultná nemocnica Brno, Lekárska fakulta, Masarykova univerzita

Popáleniny, z pohľadu zdravotnej starostlivosti, predstavujú výzvu a vyžadujú komplexný prístup. V priemere 3% pacientov, zo všetkých nemocničných ošetrení popálenin v Českej republike, potrebujú hospitalizáciu.

Zber dát pre retrospektívnu štúdiu prebiehal v priestoroch Kliniky popálenin a plastickej chirurgie Fakultnej nemocnice Brno, manuálne cez nemocničný systém.

Do štúdie bolo zaradených 1378 pacientov. Selekčnými kritériami boli vek v čase úrazu minimálne 18 rokov, prítomnosť popáleninového poranenia a hospitalizácia v období od 1. 1. 2016 do 31. 12. 2022.

Priemerný vek pacientov našej štúdie bol  $47,54 \pm 17,94$  rokov (IQR = 32,25–61), s výraznejším zastúpením mužského pohlavia ( $n = 992$ , 66,91%). Index telesnej hmotnosti bol v priemere  $27,01 \pm 5,67$  kg/m<sup>2</sup> (IQR = 22,91–29,89).

Popáleninu 3. stupňa sme zaznamenali u 1030 prípadov (74,75%). 59 pacientov (4,28%) utrpelo inhalačné trauma. Priemerný rozsah popálenin (TBSA - Total Body Surface Area) bol  $7,11 \pm 8,98\%$  (min. 0, max. 88). Najčastejším ABSI skóre (Abbreviated Burn Severity Index) bola kategória 4–5 ( $n = 724$ ; 52,5%), s priemerným skóre  $5,24 \pm 1,53$ .

Stredná dĺžka hospitalizácie bola  $16,64 \pm 14,24$  dní (IQR 7–22; min. 1; max. 154). Ako faktory predlžujúce hospitalizáciu sme zaznamenali vek ( $p < 0,001$ ), TBSA ( $p < 0,001$ ), ABSI skóre ( $p < 0,001$ ) a prítomnosť diabetes mellitus II ( $p = 0,003$ ). Preklad na jednotku intenzívnej starostlivosti bol nevyhnutný pre 275 pacientov (19,96%), s priemernou dĺžkou pobytu  $21,01 \pm 17,67$  dní (IQR 8-27; min. 1; max. 129).

U etiológie popálenin sme pozorovali rozdiel medzi pohlaviami – muži najčastejšie utrpeli popáleninu ohňom ( $n = 476$ ; 51,63%), zatiaľ čo u žien prevládalo oparenie horúcimi tekutinami ( $n = 220$ ; 48,25%). Väčšina tráum bola náhodných ( $n = 1355$ ; 98,40%).

Zrozumiteľné spracovanie epidemiológie u pacientov hospitalizovaných s popáleninami je nevyhnutné pre zlepšenie ich zdravotnej starostlivosti, rovnako ako pre rozvoj v oblasti prevencie týchto úrazov. Objektívne a porovnateľné výsledky môžu byť základom pre medzinárodnú databázu.

Podakovanie patrí tótorke MUDr. Júlíi Bartkovej, MBA a Klinike popálenin a plastickej chirurgie Fakultnej nemocnice Brno.

# Klinická sekce – interní obory

## Autonomní dysfunkce u pacientů s roztroušenou sklerózou hodnocená pomocí české a slovenské verze dotazníku COMPASS 31

Lisá Karolína<sup>1</sup>, Šrotová Iva<sup>1</sup>, Vlčková Eva<sup>1</sup>, Kolčava Jan<sup>1</sup>, Kočica Jan<sup>1</sup>, Hladíková Magdalena<sup>1</sup>, Adamová Blanka<sup>1</sup>, Lisá Iveta<sup>2</sup>, Lisý Lubomír<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Neurologická klinika a FN Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> II. neurologická klinika LFUK a UNBA

<sup>3</sup> Neurologická klinika SZU a UNBA

Autonomní dysfunkce (AD) je u pacientů s roztroušenou sklerózou (RS) častá. Její prevalence se dle různých studií pohybuje v rozmezí 45–85 %. Nejčastěji se jedná o postižení kardiovaskulárního systému, sfinkterovou a sexuální dysfunkci. Přestože klinické projevy AD mají negativní vliv na stav pacientů bývají často poddiagnostikovány. Nejdostupnějším diagnostickým nástrojem ke zhodnocení AD jsou cílené dotazníky, například The Composite Autonomic Symptom Scale 31 (COMPASS-31). Cílem prezentované práce je posoudit četnost a charakteristiky AD u pacientů s RS ve srovnání se zdravými kontrolami (ZK) u české a slovenské skupiny a zjistit vztah mezi AD a charakteristikami onemocnění RS (trvání onemocnění, rozšířená škála stavu postižení (EDSS)).

Průřezová studie zahrnuje 100 českých pacientů s RS (průměrný věk  $43,3 \pm 10,7$  let; 70 % žen) a 118 ZK (průměrný věk  $40,3 \pm 11,7$  let; 74 % žen). Druhou skupinou byla slovenská vzorka 66 pacientů s RS (průměrný věk  $41,5 \pm 21$  let; 66,6 % žen) a 66 zdravých control (průměrný věk  $45 \pm 21$  let; 69,7 % žen) Všichni pacienti byli klinicky vyšetřeni vč. hodnocení jejich funkčního postižení pomocí škály EDSS (Expanded Disability Status Scale). AD byla u RS pacientů i ZK hodnocena pomocí české a slovenské verze skóre Composite Autonomic Symptom Score-31 (COMPASS-31).

Více než 94 % zařazených českých pacientů s RS uvádělo změny ve  $\geq 2$  doménách dotazníku COMPASS-31 (skóre  $> 0$ ). U slovenské skupiny šlo až o 96,9 %. U českých ZK byly změny ve  $\geq 2$  doménách u 79 %, u slovenských ZK šlo o 83 %. U obou skupin vidíme statistickou významnost ( $p < 0,01$ ). Ve srovnání se ZK vykazovali pacienti s RS v české i slovenské skupině statisticky vysoce významně vyšší celkové skóre COMPASS-31 ( $p < 0,001$ ). Taktéž bylo prokázáno signifikantně vyšší dílčí skóre v jednotlivých hodnocených doménách u české skupiny pacientů: ortostatická intolerance  $p < 0,001$ ; sekretomotorická dysfunkce  $p = 0,002$ ; sfinkterová dysfunkce  $p < 0,001$ ; pupilomotorika  $p = 0,004$ . U slovenské skupiny pacientů s RS

vyšlo signifikantně vyšší dílčí skóre v doméne sekretomotorické ( $p = 0,005$ ), gastrointestinální ( $p = 0,007$ ) a pupilomotorické dysfunkce ( $p = 0,0004$ ). Celkové COMPASS-31 skóre u české skupiny vykazovalo středně silnou pozitivní korelaci s celkovou hodnotou EDSS (Spearmanův koeficient  $p = 0,45$ ). U slovenské skupiny táto korelace byla mírně slabší (Spearmanův koeficient  $p = 0,2$ ). Středně silná pozitivní korelace byla prokázána u české skupiny mezi doménami reflektujícími sfinkterovou dysfunkci v rámci EDSS a v rámci dotazníku COMPASS 31 ( $p = 0,49$ ). Naopak korelace mezi dobou trvání onemocnění a celkovým skóre COMPASS 31 nebyla prokázána ani u jedné sledované skupiny ( $p = 0,03$ ). Rozdíly ve výsledcích dotazníku mezi slovenskou a českou skupinou nevykazovali statistickou významnost ( $p > 0,05$ ).

Prezentovaná studie potvrdila předpoklad, že AD je u pacientů s RS častá. Nejčastěji se jedná o sfinkterovou dysfunkci, ortostatickou intoleranci, sekretomotorickou, gastrointestinální a pupilomotorickou dysfunkci. Tíže AD pozitivně koreluje s funkčním postižením pacientů hodnoceným pomocí EDSS.

Výskum vznikl ve spolupráci s centrem pro roztroušenou sklerózu neurologické kliniky FN Brno, II. neurologické kliniky LFUK a UNBA (Bratislava, SK) a neurologické kliniky SZU a UNBA (Bratislava, SK). Chtěla bych poděkovat moji školitelce MUDr. Ivě Šrotové Ph.D. za vedení při realizaci této práce.

## Laterální switch z natalizumabu na anti-CD 20 terapii u pacientů s roztroušenou sklerózou

**Benetinová Vanda<sup>1</sup>, Šrotová Iva<sup>1</sup>, Hladíková Magdalena<sup>1</sup>, Flašarová Sabina<sup>1</sup>, Vlčková Eva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Neurologická klinika Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Roztroušená skleróza (RS) je chronické autoimunitní onemocnění s prvky neurodegenerace, které postihuje častěji ženy než muže. První klinické symptomy se objevují většinou mezi 20–40 lety. Onemocnění se vyznačuje velkou variabilitou klinického průběhu (od velice rychle progredujících forem vedoucích během několika let k těžké invalidizaci pacienta, až po formy relativně mírné). Nemoc v současnosti neumíme zcela vyléčit, ale díky časnému zahájení efektivní protizánětlivé terapie je možné úspěšně modifikovat její průběh.

Léčba však musí být adekvátní tíži základního onemocnění a přizpůsobená individuálním potřebám pacienta.

V rámci prezentované studie se zaměříme na laterální switch (tedy výměnu terapie za přípravek stejné linie) u pacientů s RS, kteří byli léčeni monoklonální protilátkou natalizumabem, a u kterých proběhlo vysazení natalizumabu a nasazení na léčbu monoklonálními protilátkami zaměřenými proti znaku CD20 B lymfocytů tzv. anti-CD20 protilátky, jako jsou humanizovaná protilátka ocrelizumab a plně humánní protilátka ofatumumab.

Důvodem pro změnu nebyla neefektivita stávající léčby, ale bezpečnostní riziko, především riziko rozvoje vzácného, infekčního a velice závažného onemocnění – progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML). Riziko rozvoje PML roste úměrně s délkou terapie natalizumabem u pacientů, kteří mají pozitivní protilátky proti John Cunningham viru, jehož reaktivace u imunosuprimovaných osob toto onemocnění způsobuje.

V rámci retrospektivní studie byla vyhodnocena data celkem 25 pacientů (21 žen, průměrný věk 52,1± let) s relaps remitentní RS, u kterých byl proveden laterální switch z natalizumabu na anti-CD 20 terapii.

Retrospektivně se hodnotila klinická a radiologická stabilita pacientů po vysazení natalizumabu a v následujících 12 měsících od nasazení anti-CD 20 terapie.

Většina pacientů 21 (84 %) zvládla vysazení natalizumabu a nasazení na anti-CD 20 medikaci bez klinické a radiologické progresse. U 1 pacienta došlo k radiologické progresi bez korelátu v klinickém zhoršení. U 2 pacientek během 12 měsíců na anti-CD20 terapii došlo k mírnému nárůstu disability.

K volbě terapie je vždy nutné přistupovat maximálně individuálně a pravidelně vyhodnocovat poměr rizika a dlouhodobé efektivity terapie.

Limity této studie jsou krátkodobé sledování pacientů a relativně nízký počet pacientů, což vyplývá i z dalších studií. Do budoucna bude vhodné prodloužit délku sledování i rozšířit soubor pacientů.

Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu č. MUNI/A/1525/2023 a projektem institucionální podpory FN Brno MZ ČR – RVO (FNBr – 65269705).

Chtěla bych poděkovat MUDr. Ivě Šrotové Ph.D. za vynikající vedení ve všech aspektech této práce. Její motivující přístup a cenné rady přispěly ke zdárnému dokončení této studie. Děkuji také MUDr. Sabině Flašarové a MUDr. Magdaleně Hladíkové Ph.D. za vstřícnost a pomoc při zpracování dat. V neposlední řadě děkuji vedení Neurologické kliniky FN Brno za možnost podílet se na tomto projektu.



# Perkutánní koronární intervence (PCI): Vliv EKG parametrů před výkonem na vznik post-PCI arytmií

Filka Lukáš<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Interní kardiologická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně,  
Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Perkutánní koronární intervence (PCI) je nechirurgický zákrok, který se používá k revaskularizaci koronárních tepen a zlepšení krevního zásobení myokardu. Počet těchto zákroků celosvětově roste a Česká republika se řadí mezi země s nejvyšším počtem výkonů na milion obyvatel. I když PCI přináší nesporné benefity pro pacienty s koronárním arteriálním onemocněním, je nutné zdůraznit i potenciální rizika komplikací. Mezi časté komplikace patří postprocedurální arytmie (post-PCI arytmie). Tato studie se zaměřuje na posouzení asociace mezi vybranými parametry z elektrokardiogramu (EKG) pořízeného před PCI a výskytem postprocedurálních arytmií u pacientů podstupujících elektivní PCI.

Do retrospektivní observační studie bylo zařazeno celkem 432 pacientů, kteří podstoupili elektivní perkutánní koronární intervenci (PCI) v roce 2019. Data byla shromážděna z elektronické zdravotnické dokumentace a zahrnovala: demografické charakteristiky, anamnéza onemocnění a komorbidity, preoperační medikace, laboratorní parametry, echokardiografické parametry, perioperační data, pooperační komplikace (včetně výskytu a typu post-PCI arytmií), preoperační EKG záznamy. Pacienti byli rozděleni do dvou skupin: skupina s post-PCI arytmiemi (n = 85), skupina bez post-PCI arytmií (n = 347). V obou skupinách byly porovnány údaje. Pro statistické vyhodnocení byly použity vhodné statistické testy (t-test, Chí-kvadrát test, Fisherův exaktní test) v závislosti na typu proměnné. K identifikaci prediktorů post-PCI arytmií z preoperačních EKG parametrů byla použita mnohonásobná logistická regrese.

Post-PCI arytmie se vyskytly u 20 % (n = 85) pacientů. Nejčastějšími typy arytmií byly: bradykardie (57,6 %) – nová bradykardie nebo signifikantní zhoršení stávající (nutná změna medikace, pokles o více než 10 tepů za minutu). Supraventrikulární tachykardie (9,4 %), četné komorové extrasystolie (24,7 %). Méně časté typy: atrioventrikulární blokády (3,5 %), asystolie (2,4 %), fibrilace síní (4,7 %), ventrikulární fibrilace (1,2 %), ventrikulární tachykardie (2,4 %). Mezi pacienty s a bez post-PCI arytmiemi byl nalezen statisticky významný rozdíl v 10 z 17 hodnocených EKG parametrů. Delší průměr QRS, delší průměr QTc interval, nižší průměr iCEB. Častější výskyt u pacientů s arytmiemi: ST elevace, prodloužený QRS interval, prodloužený QTc interval, rS komplex ve svodu III, S vlna v I. svodu, R vlna v aVL svodu, iCEB <3,14. Logistická regrese ukázala, že nezávislými prediktory post-PCI arytmií jsou: QTc interval, R vlna v aVL. Z hodnocených základních charakteristik se statisticky významný rozdíl mezi skupinami s a bez post-PCI arytmiemi projevil v 5 parametrech: Ejekční frakce (EF%), Glomerulární filtrační rychlost (GFR), užívání nízko-hmotnostních heparinů (LMWH), antiarytmické medikace, a historie arytmie v dokumentaci.

Studie prokázala, že některé preoperační EKG parametry, R aVL, QTc interval, jsou spojeny s výskytem post-PCI arytmií u pacientů podstupujících elektivní PCI. Identifikace pacientů s těmito EKG abnormalitami může být klinicky využitelná pro stratifikaci rizika a implementaci preventivních strategií. Výsledky jsou v souladu s předchozími pracemi, které poukazují na asociaci mezi abnormalitami na EKG a zvýšeným rizikem arytmií. Omezení studie vyplývá, že se zaměřila pouze na pacienty podstupující elektivní PCI a nemusí být generalizovatelná, nemá kauzální design, byla provedena v jediné zemi a centru. Je dále potřebí multicentrických studií s větším vzorkem pacientů pro potvrzení výsledků a generalizaci na širší populaci.

Rád bych poděkoval MUDr. Karlovi Lábrovi, Ph.D. za cenou kritiku a rady při práci na této studii.

## Postižení lumbálních extensorů u pacientů s myotonickou dystrofií 2. typu

**Matulová Kateřina<sup>1</sup>, Krkoška Peter<sup>1</sup>, Kokošová Viktória<sup>1</sup>, Dostál Marek<sup>1,2</sup>, Adamová Blanka<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Neurologická klinika, ERN-EURO NMD centrum, Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> Klinika radiologie a nukleární medicíny Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Myotonická dystrofie 2. typu (MD2) je autozomálně dominantní multisystémové onemocnění, jedná se o nejčastější svalovou dystrofii dospělého věku. Typickou manifestací je triáda příznaků: myotonie, katarakta a svalová slabost postihující zejména proximální svaly dolních končetin a paraspinální svaly. Paraspinální svaly jsou důležitými posturálními svaly, které stabilizují páteř. K lumbálním paraspinálním svalům (lumbálním extensorům) patří m. erector spinae (ES) a mm. multifidi (MF). Dysfunkce těchto svalů je považována za rizikový faktor pro rozvoj chronické bolesti zad. Cílem práce bylo zhodnotit funkci a morfologii lumbálních extensorů u pacientů s MD2 a porovnat se zdravými kontrolami.

Do studie bylo zařazeno 37 pacientů s MD2 a 90 zdravých kontrol (ZK), pro další analýzu bylo potřeba vytvořit dvojice (pacient s MD2 versus ZK), které se neliší pohlavím, věkem a BMI. Pomocí propensity skóre bylo vytvořeno celkem 35 dvojic. U obou skupin bylo provedeno funkční vyšetření lumbálních extensorů, byla hodnocena maximální isometrická síla extensorů vleže, vsedě a vestoje a dále vytrvalost extensorů pomocí Biering-Sørensenova testu. Dále bylo provedeno MR vyšetření lumbálních extensorů s využitím 6bodové Dixon gradient echo sekvence (mDixon Quant), kde jsme hodnotili množství intramuskulárního tuku (fat fraction – FF) v ES a MF.

Pacienti s MD2 vykazovali statisticky významně nižší maximální isometrickou svalovou sílu lumbálních extensorů ve všech 3 polohách ( $p$  nabývalo hodnot pro jednotlivé polohy 0,015 až  $< 0,001$ ) i nižší vytrvalost (Biering-Sørensen test: medián pro MD2 64 s, medián pro ZK 148 s,  $p < 0,001$ ) ve srovnání se zdravými kontrolami. Tuková frakce lumbálních extensorů

se rovněž statisticky signifikantně lišila u pacientů s MD2 (nabývala vyšších hodnot) ve srovnání se zdravými kontrolami (medián FF pro ES 20,0 % vs. 9,1 %, pro MF 25,9 % vs. 15,8 %,  $p < 0,001$ ). Chronické bolesti zad udávalo 17 pacientů s MD2 (48,6 %).

Pacienti s MD2 vykazují snížení svalové síly i vytrvalosti a vyšší tukovou infiltraci lumbálních extensorů. Tyto výsledky ukazují na funkční i morfologické poškození lumbálních extensorů u pacientů s DM2. Byl také prokázán častý výskyt bolestí dolní části zad u pacientů s MD2. Toto zjištění je cenné pro plánování rehabilitace (cvičení) u pacientů s MD2. MR lumbálních extensorů u pacientů s MD2 se jeví jako slibná metoda k hodnocení postižení svalů a může být užitečná při sledování dynamiky svalových změn v čase.

Ráda bych poděkovala své školitelce prof. MUDr. Blance Adamové, Ph.D. za odbornou pomoc, ochotu a čas mi věnovaný. Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu č. MUNI/A/1525/2023 a projektem institucionální podpory FN Brno MZ ČR – RVO (FNBr – 65269705).

## **Rozsiahla delécia 22q12 u pacienta s obojstranným Schwannómom, mentálnou retardáciou, percepčnu sluchovou poruchou a epilepsiou**

**Bergerová Veronika<sup>1,5</sup>, Trizuljak Jakub<sup>1,2,3</sup>, Duben Jakub<sup>2</sup>, Blaháková Ivona<sup>1,3</sup>, Vrzalová Zuzana<sup>1,3</sup>, Staňo Kozubík Kateřina<sup>1,2,3</sup>, Štika Jiří<sup>1</sup>, Radová Lenka<sup>1</sup>, Mejstříková Soňa<sup>1,3</sup>, Hořínová Věra<sup>2,4</sup>, Jančálek Radim<sup>5</sup>, Pospíšilová Šárka<sup>1,2,3</sup>, Doubek Michael<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> Ústav lékařské genetiky a genomiky, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita a Fakultní nemocnice Brno

<sup>3</sup> Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno

<sup>4</sup> Nemocnice Jihlava

<sup>5</sup> Neurochirurgická klinika Fakultní nemocnice u Sv. Anny v Brně

Snažili sme sa objasniť genetickú príčinu zdravotných problémov probanda: trpí obojstranným Schwannómom, mentálnou retardáciou, percepčnou sluchovou poruchou a epilepsiou. Išlo o zrelého novorodenca z III. gravidity, pôrod prebiehal záhlavím, boli použité forceps z dôvodu podozrenia na asfyxiu. Po pôrode bol resuscitovaný a 4 dni strávil v inkubátore. Krátko po pôrode bola zistená rozštepová vada, ktorá bola vo veku dvoch rokov plasticky korigovaná. Psychomotorický vývoj bol spomalený. Po 10. roku života postupne strácal sluch a od 13. roku sa uňho rozvíjala epilepsia. V 25. roku mu bol diagnostikovaný obojstranný Schwannóm akustiku, ktorý bol parciálne resektabilný a po operácii proband trpí pravostrannou ťažkou parézou n. VII.

Krátko po pôrode bol vyšetrený karyotyp bez nálezu patológie. Cestou DPM UDMP VFN Praha bol vykonaný screening metabolických chorôb s negatívnym nálezom. V KDDL VFN Praha pre podozrenie zo syndrómu Cornelia de Lange vyšetrovali sialované formy transferínu, nález bol fyziologický. Preto sme vykonali NGS vyšetrenie nádorového panelu BRONCO. Z týchto dát sme testovali CNV (variácie počtu kópií), kde sme zistili podozrenie na heterozygotnú stratu dvoch génov na chromozóme 22. Deléciu jedného z génov sme ďalej vyšetrovali metódou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Keďže dané gény sa nachádzajú veľmi blízko jeden druhého, predpokladali sme génovú väzbu a rozhodli sme sa objasniť rozsah delécie vyšetrením aCGH (array Comparative Genomic Hybridization). Následne sme deléciu hľadali aj u rodičov probanda. Potom sme prípad probanda porovnávali s doteraz publikovanými prípadmi delécií v danej oblasti chromozómu 22 a snažili sme sa nájsť genotypovo-fenotypové korelácie.

NGS vyšetrenie nádorového panelu BRONCO odhalilo iba prenášačstvo pravdepodobne patogénnej varianty c.2T>A v géne pre fumarát hydratázu (FH). Vyšetrením CNV sme zistili heterozygotnú stratu génov CHEK2 a NF2. CHEK2 je tumor supresorový gén pre proteín CHK2 zapojený do opráv DNA, zastavenia bunkového cyklu a apoptózy v prípade poškodenia DNA. Gén NF2 kóduje proteín merlín (Schwannomín, neurofibromín 2) dôležitý pre udržiavanie správneho tvaru bunky, bunkového rastu a bunkovej adhézie. Tiež sa jedná o tumor supresorový gén. Jeho heterozygotnú stratu sme overili aj pomocou MLPA. aCGH odhalilo rozsiahlu 3.8 Mb deléciu 22q12.1→22q12.3 zahrnujúcu 58 známych proteín-kódujúcich génov. U rodičov probanda sa delécia nepotvrdila, predpokladáme preto deléciu de novo.

Genotyp a fenotyp pacienta sme porovnali s ďalšími 25-imi prípadmi v literatúre. V rámci genotypu sme sa zamerali na 7 génov spôsobujúcich choroby s medelovskou dedičnosťou (MN1, TTC28, CHEK2, NF2, LIF, MORC2, DEPDC5). V rámci fenotypu sme sledovali kraniofaciálne abnormality (rázštep podnebia, uvula bifida, velofaryngeálna insuficiencia, vysoké podnebie), mikrocefáliu, mikrognáciu, hypertelorizmus, intelektuálny postih, srdcové defekty, hypopláziu korpus callosum (resp. veľké mozgové komory), Schwannómy, epilepsiu a stratu sluchu. Výsledky sme zhrnuli do rozsiahlej tabuľky a následne do názorného grafu. Dĺžka delécie sa pohybovala v rozmedzí 0.28 Mb až 8.0 Mb.

Proband sa narodil z rázštepom podnebia, no nemá deléciu génu MN1. Predpokladáme, že za túto vadu sú zodpovedné viaceré gény v oblasti 22q12.

Epilepsia úzko korelovala s deléciou génu DEPDC5, preto je vysoko pravdepodobné, že tento gén je za ňu zodpovedný.

Podľa literatúry je delécia génu NF2 zodpovedná za rozvoj Schwannómu s 95% penetranciou. Zo 17 prípadov delécie NF2 (vrátane probanda) však v čase publikácie daných prípadov Schwannómom trpelo len 8 pacientov. Vysvetľujeme si to tým, že medián nástupu ochorenia je medzi 17-tým a 22-hým rokom života, kým mnohí pacienti boli vyšetrovaní v ranom detstve – Schwannóm sa teda u nich ešte nevyvinul.

Vzhľadom na deléciu de novo nejde o zvýšené genetické riziko pre ostatných rodinných príslušníkov.

Chcela by som poďakovať svojim školiteľom a tiež všetkým spoluautorom. Táto práca bola podporená Masarykovou univerzitou (grant MUNI/A/1558/2023), MZ ČR (DRO FNBr, 65269705) a Národným ústavom pre výskum rakoviny (Program EXCELES, ID project no. LX22NPO5102).

# Využití multimediálních zdrojů informací u pacientů s roztroušenou sklerózou

Jurčáková Anna<sup>1</sup>, Benetínová Vanda<sup>1</sup>, Šrotová Iva<sup>1</sup>, Hladíková Magdaléna<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Neurologická klinika Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

V dnešní době pacienti čím dál častěji využívají internet, sociální sítě a mobilní aplikace s cílem nalézt informace o svém onemocnění, ale také získat podporu, pochopení a možnost sdílení svých pocitů. Problematika získávání informací v digitálním světě se tak úzce dotýká právě i roztroušené sklerózy (RS), a to proto, že se jedná o onemocnění, které postihuje především mladé pacienty ve věku 20–40 let a také proto, že její terapie se velmi dynamicky mění. Je velmi důležité umět s informacemi, které pacienti získávají na internetu, správně pracovat a pozitivně je využívat. Současně je také podstatné, aby si pacienti uvědomili, jaké pocity v nich vyhledávání a sdílení informací vyvolává a dokázali s těmito pocity efektivně pracovat.

V rámci prezentované studie jsme oslovili 200 pacientů (159 žen, průměrný věk 40,1 let) s roztroušenou sklerózou a pomocí jednoduchého dotazníku, který jsme sami vytvořili, jsme zmapovali, jak pacienti využívají a do jaké míry je ovlivňují zdravotní informace, které získají na internetu, v sociálních médiích a v mobilních aplikacích. Dotazníky byly zpracovány anonymně. Distribuce dotazníků probíhala osobně v rámci RS centra nebo přímo emailem a poté v rámci sociálních sítí (pacientské skupiny a oficiální stránky pacientských organizací). Vyplnění dotazníku zabralo v průměru 4–5 minut a pacienty byl hodnocen jako srozumitelný a zajímavý.

Většina pacientů (113 pacientů, 56,5 %) uvedla, že na internetu vyhledává o RS informace pouze v českém jazyce, a to z důvodu jazykové bariéry. Způsob vyhledávání informací většinou spočívá v zadání klíčových slov (nejčastěji roztroušená skleróza a/nebo konkrétní problematika – například únava) do internetového vyhledávače. V mnohem menší míře pacienti navštěvují přímo webové stránky určené pro pacienty s RS.

Ve většině případů (143 pacientů, 73 %) pacienti také příliš nevyužívají mobilních aplikací k monitoraci nebo eventuálně ke zlepšení jejich zdravotního stavu. Pokud ano, tak se většinou jedná o aplikace na měření chůze (55 pacientů, tzn. 97 % pacientů využívajících mobilní aplikace).

Z výsledků otázek zaměřených na využití sociálních sítí vyplývá, že 41 % (82 pacientů) oslovených v rámci dotazníků nevyužívá sociální sítě, pokud je využívají, tak nejčastěji jako účastníci pacientských skupin (58 pacientů, 52 %) a většinou působí jen jako „pozorovatelé“ diskuzí ostatních aktivních uživatelů a nejvíce se zajímají o osobní zkušenosti jiných pacientů s RS a jejich zkušenost s konkrétní terapií.

Sociální sítě u uživatelů s RS nevyvolávají negativní emoce a spíše je pacienti vnímají jako zdroj informací.

Uvedená studie je zatím první studií tohoto typu. Kromě získání přehledu o tom, jak pacienti využívají multimédia k získávání informací, tak částečně přispěla i k osvětě mezi pacienty. V rámci dotazníku byly uvedeny webové stránky určené pro pacienty, o kterých často předtím pacienti nevěděli a mohli získat lepší představu o využití konkrétních mobilních aplikací (například podcastových aplikací, které jsou cílené pro pacienty s RS).

Chtěla bych poděkovat své školitelce MUDr. Ivě Šrotové Ph.D. Všechna pomoc, trpělivost a podpora, kterou mi v průběhu práce poskytla, výrazně přispěla k dokončení a z kvalitnění tohoto projektu. Zvláštní poděkování patří také všem pacientům, kteří se zapojili do výzkumu a zdravotním sestřám RS centra, které pomohly s distribucí dotazníků.

## Zhodnocení potenciálu neinvazivní nádorové diagnostiky v dětské onkologii prostřednictvím multimodální analýzy volné cirkulující DNA

Urban Teodor<sup>1,2</sup>, Pokorná Petra<sup>1,2</sup>, Štěrba Jaroslav<sup>3</sup>, Slabý Ondřej<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Biologický ústav Lékařské fakulty, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita

<sup>3</sup> Klinika dětské onkologie, Fakultní nemocnice Brno,  
Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

V onkologické diagnostice je standardem využití reprezentativního vzorku nádorové tkáně, jehož zisk může být limitován anatomickou lokalizací tumoru. Zároveň odráží stav onemocnění pouze v daný moment a neumožňuje skrz invazivitu odběru sledování jeho vývoje v čase. Jako alternativa překonávající tyto limitace je čím dál častěji testováno využití tzv. tekuté biopsie, v rámci které jsou v tělních tekutinách studovány cirkulující biomarkery, nejčastěji tzv. volná DNA. V oblasti dětských solidních nádorů je tento koncept stále minimálně rozšířen. Tato pilotní studie si tak klade za cíl zhodnotit jeho potenciál komplexní analýzou vzorků 8 pacientů léčených na Klinice dětské onkologie a následným srovnáním s výsledky vyšetření nádorové tkáně.

Do studie byly zařazeny 4 vzorky likvoru pacientů s nádory centrální nervové soustavy a 4 vzorky plazmy u pacientů s extrakraniálními solidními nádory. Pro izolaci cirkulující volné DNA (ccfDNA) z tekuté biopsie byla použita sada QIAmp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen). K následné analýze byla využita kombinace dvou metod, a to cíleného DNA sekvenování a celogenomového sekvenování s nízkým pokrytím. Cílené DNA sekvenování sloužilo k detekci jednonukleotidových záměn (SNV) a krátkých inzercí/delecí a celogenomové sekvenování k záchytu změn počtu kopií a strukturálních aberací, zejména fúzních genů. Sekvenační knihovny pro cílené DNA sekvenování byly připraveny pomocí sady QIAseq Targeted DNA Panel – Comprehensive Cancer Panel (Qiagen) pokrývající 275 klinicky relevantních genů

a sekvenace byla provedena na přístroji NextSeq 500 (Illumina). Knihovny pro celogenomové sekvenování byly připraveny pomocí sady KAPA HyperPlus Kit (Roche) a sekvenace proběhla na přístroji NovaSeq 6000 (Illumina). Získaná sekvenační data byla následně bioinformaticky zpracována a vyhodnocena. Získané výsledky byly porovnány s daty z analýz provedených na vzorcích nádorové tkáně, které zahrnovaly celoexomové sekvenování, RNA sekvenování, array CGH nebo metodu MLPA.

Analýzou vzorků nádorové tkáně metodou celoexomového sekvenování, která sloužila k porovnání s výsledky cíleného DNA sekvenování vzorků tekuté biopsie, byly u 7 z 8 pacientů identifikovány 1–4 známé či potenciálně významné SNV či krátké inserce/delece. U 5 z těchto pacientů (71 %) byla alespoň jedna alterace detekována také ve vzorku tekuté biopsie. Konkrétně byly detekovány alterace genů H3-3A, TP53, SMARCB1, NF1, ATRX či BCOR. U jednoho pacienta byla oproti vzorku nádorové tkáně v tekuté biopsii zachycena odlišná záměna v genu NRAS, která však zasahovala stejný kodon. Alelická frekvence variant se napříč vzorky tekuté biopsie pohybovala v rozmezí 3,5–54 %. Analýzou vzorku nádorové tkáně metodou cíleného RNA sekvenování, která sloužila k porovnání schopnosti detekovat strukturní přestavby ze vzorku tekuté biopsie metodou celogenomového DNA sekvenování s nízkým pokrytím, byla u 3 z 8 pacientů nalezena přítomnost klinicky relevantního fúzního genu. Žádná z těchto přestaveb však nebyla ve vzorku tekuté biopsie detekována. Co se týče analýzy změn počtu kopií a jejího srovnání s výsledky analýz nádorové tkáně, vyhodnocení v současné době teprve probíhá.

Dosavadní výsledky poukazují na to, že je tekutá biopsie u většiny pacientů schopna reflektovat vybrané s nádorem asociované alterace, zejména SNV a krátké inserce/delece. Detekce strukturních přestaveb byla s využitím zvoleného metodického přístupu neúspěšná a pro případnou klinickou implementaci je tak nutná další optimalizace metody či zvážení volby odlišného metodického přístupu. Závěrem lze konstatovat, že získaná data podporují využití analýzy tekuté biopsie jako nástroje pro neinvazivní diagnostiku u dětských pacientů se solidními nádory, je však potřeba provedení rozsáhlejších studií na této cílové populaci a celková standardizace preanalytické a analytické fáze laboratorního procesu k dosažení co nejspolehlivějších výsledků.

Rad bych poděkoval panu prof. RNDr. Ondřeji Slabému, Ph.D. za zastřešení mé práce v rámci projektu P-Pool a paní magistře Petře Pokorné za odborné vedení mé práce.

# Sekce nelékařských oborů

## Bakteriální kontaminace brýlových obrub

**Bc. Mangerová Eva<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u svaté Anny v Brně, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Brýlové obruby jsou denně vystaveny interakci s lidskou kůží, potem, prostředím a různými čisticími prostředky, což může přispět k hromadění bakterií a dalších mikroorganismů na jejich povrchu. Tato mikrobiální kontaminace může mít negativní dopad na zdraví nositele a může představovat riziko přenosu infekcí. Studie je zaměřena na bakteriální kontaminaci jednotlivých částí obruby. V práci je porovnání znečištění jednotlivých částí obruby. Cílem práce je prostřednictvím dotazníkového šetření a mikrobiálního výzkumu zjistit, jaké faktory ovlivňují míru mikrobiální kontaminace brýlových obrub a jakým způsobem je péče o brýlové obruby prováděna respondenty.

Studie probíhala v oční optice Optik Krouman v Brně, kde nejprve 110 probandů vyplnilo dotazník týkající se péče o brýlové obruby. 100 respondentům byly odebrány vzorky z brýlové obruby, které se otiskly do krevního agaru. Do krevního agaru se otiskl brýlový střed, pravá stranice a pravé sedlo. K přesnějšímu vyhodnocení otisknuté plochy brýlí se pořídily fotografie jednotlivých vzorků a zakreslily se části obruby využitě k otiskům na papírovou předlohu. Pro vyhodnocení velikosti plochy byly využity fotografie vzorků, které se porovnávaly s naskenovanými papírovými nákresy v grafickém editoru. Jednotlivé vzorky byly umístěny do doby převozu v lednici a uchovávaly se při teplotě 4 °C. Do 24 hodin byly otisky převezeny na Mikrobiologický ústav, kde se následně krevní agary přetiskly do diagnostické půdy Uriselect. Vzorky byly uloženy do termostatu ke kultivaci, která probíhala 16–24 hodin při 37 °C. Po kultivaci byly otisky vyhodnoceny mikrobiologem a případné patogenní nálezy byly určeny pomocí přístroje MALDI-TOF. V den vyhodnocení byly spočítány jednotlivé kolonie na krevním agaru pro jednotlivé části brýlové obruby a byly pořízeny fotografické snímky nálezů. Po naskenování nákresů otištěných brýlových obrub a porovnání s jednotlivými fotografiemi v grafickém editoru byla následně vypočítána plocha otisku a počet kolonií na určité části obruby. Z množství kolonií se vypočítala hustota kolonií na mm<sup>2</sup> obruby. Z těchto výpočtů lze určit míru znečištění brýlové obruby

Dotazníkového šetření se zúčastnilo 110 probandů (79 žen a 31 mužů). Průměrný věk dotazovaných byl 42,87 let. Nejmladšímu účastníkovi bylo 21 let a nejstaršímu bylo 86 let. Z dotazníkového šetření, vyplývá, že více než polovina respondentů si čistí své brýle vícekrát do týdne. 35 respondentů si čistí své brýle každý den. 79 respondentů si čistí jen brýlové čočky na svých brýlích. Nejčastěji k čištění využívají mýdlovou vodu a látkový hadřík. 40 dotazovaných



si nechává čistit brýle v optice. Z celkového počtu dotazovaných mělo kovovou obrubu 57 respondentů. Sedla brýlové obruby si nechává vyměňovat 48 % z 57 dotazovaných.

Z mikrobiologického výzkumu vyplývá, že nejvíce znečištěnou plochou byl anatomický nosník/ sedlo brýlí. V průměru činilo znečištění 0,190 kolonií/mm<sup>2</sup>. Nejnižší míra znečištění se vyskytovala na brýlovém středu obruby, kontaminace činila 0,062 kolonií/mm<sup>2</sup>. V porovnání plastových a kovových obrub vychází nižší míra znečištění u plastových obrub, výsledné průměrné znečištění činilo 0,072 kolonií/mm<sup>2</sup>, kovové obruby byly průměrně kontaminovány 0,127 kolonií/mm<sup>2</sup>.

Celkem z otisků bylo určeno 13 rodů. Na obrubách se vyskytovaly rody *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Peribacillus*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Exiguobacterium*, *Neobacillus*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* a *Aerococcus*. Celkový počet koaguláza-pozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus*) byl 8, všechny nálezy byly MRSA negativní.

Z výsledků plyne, že je vhodné edukovat více klienty očních optik o možnostech čištění brýlových obrub a o výměně sedel u kovových obrub. Dále je vhodné pro klienty očních optik trpícími častějšími kožními onemocněními v oblasti obličeje, doporučit plastovou obrubu, která se snadněji čistí. V práci se dále zjistilo, že čištění celých brýlí snižuje míru kontaminace obrub. Celkově lze tedy konstatovat, že mikrobiální kontaminace brýlových obrub může být ovlivněna nejen frekvencí čištění, ale i materiálem samotné obruby. Díky této práci by měla být veřejnost více informována o důležitosti péče a čištění nejen brýlových čoček, ale celých obrub, čímž by se mohlo výrazně snížit riziko bakteriální infekce spojené s nošením brýlí.

Poděkování patří mému vedoucí diplomové práce, panu MUDr. Ondřeji Zahradníčkovi, za odbornou pomoc a připomínky, které mi byly užitečné při zpracování této práce. Zároveň chci poděkovat všem pracovníkům Mikrobiologického ústavu ve Fakultní nemocnici u svaté Anny v Brně, za jejich laskavost a pomoc při zpracovávání výzkumu.

## Koncept vylepšení EIT náramku v rozpoznávání gest a uživatelské přístupnosti

**Čmíralová Marie<sup>1</sup>, Holubářová Anna<sup>1</sup>, Bulva Vítězslav<sup>1</sup>, Karlíček Marek<sup>1,2</sup>, Šolc Vojtěch<sup>1</sup>, Mikulka Jan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ústav teoretické a experimentální elektrotechniky, fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně

<sup>2</sup> Ústav fyziky, fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně

Elektrická impedanční tomografie (EIT) se ukazuje jako slibná cesta k pokroku a vývoji v oblasti zařízení s různorodým uplatněním ve zdravotnictví, komunikaci člověka s výpočetní technikou a dalších oblastech. EIT funguje na principu impedance - odporu kladenému střídavému elektrickému proudu v materiálu či tkáni. Tato metoda využívá slabého elektrického proudu

procházejícího skrze elektrody umístěné na povrchu materiálu nebo těla. Následně měří výsledné napětí. Analýzou změn v impedanci umožňuje EIT nahlédnout do vnitřní struktury zkoumaného materiálu nebo tkáně.

S důrazem na zlepšení ergonomiky náramku a jeho přesnosti rozpoznávání gest se naše výzkumná práce zabývá zmenšením dosavadní robustní struktury náramku. Prostřednictvím teoretických modelů a algoritmů si klademe za cíl vylepšit schopnost zařízení interpretovat gesta rukou s vyšší přesností. Za využití poznatků z oblasti zpracování signálů a strojového učení, se náš tým snaží vytvořit zařízení, které se snadno integruje do každodenního života uživatele a zároveň nabídne možnosti ovládání výpočetní techniky pomocí gest ruky. Náramek chceme mít z kvalitního a příjemně nositelného materiálu a elektrod, které nebudou uživateli překážet a vytvářet pocit nepohodlí.

Prozatím jsme ve fázi vývoje prvního prototypu. Pro první orientační měření bioimpedance za účelem získu orientačních dat jsme vybrali plastový řemínek pro fitness náramek a měděné elektrody, které plánujeme později v našem projektu nahradit za biokompatibilnější variantu. Inspiraci čerpáme z článku: <https://dl.acm.org/doi/10.1145/3472749.3474758> a volně dostupných dat z GitHubu: [https://github.com/HCIELab/EIT-kit\\_open-source](https://github.com/HCIELab/EIT-kit_open-source).

Představením tohoto konceptu chceme přispět k rozvoji EIT zařízení s potenciální aplikací napříč různými odvětvími. Prozatím je EIT brána jako levná neinvazivní metoda, která by se dala využít v mnoha odvětvích medicíny. Dosud se uvažuje nad aplikací při vyšetřování plicních chorob a karcinomu prsu. Náš náramek využívající stejnou technologii by mohl usnadnit život lidem s postižením pohybového aparátu, například jemné motoriky nebo by ji mohl nahradit hrubou motorikou. Těmto lidem i mnoha dalším by náš náramek usnadnil každodenní život možností bezdotykově ovládat různá elektronická zařízení.

Naše poděkování patří doc. Ing. Janu Mikulkovi, Ph.D. za jeho podporu v průběhu našeho probíhajícího výzkumu. Dále také děkujeme Vysokému učení technickému v Brně za zprístupnění prostorů laboratoří pro náš výzkum a finanční podporu v rámci soutěže FEKTTeams.

## **Příčiny rozdílu mezi velikostí AC/A poměru určeného gradientní metodou a výpočtem**

**Hájková Magdaléna<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

AC/A poměr, neboli akomodační konvergence ku akomodaci, nemá v dnešní době stále takové docenění v optometristické praxi, jaké by si zasloužil. Důležitý je při strabologické diagnostice, neboť u většiny lidí se vyskytuje přinejmenším určitý stupeň heteroforie, u některých dokonce i heterotropie. Velikost poměru může posloužit nejen při stanovení správné diagnózy, ale také při volbě ideálního řešení binokulární poruchy. Problémem však je rozdílná velikost AC/A poměru pro různé metody měření. Práce si položila za cíl porovnat dvě nejčastěji

používané metody – gradientní a výpočetní. Výzkum se také zaměřil na různé modifikace testu a jejich vliv na výsledný AC/A poměr.

Výzkum probíhal v Očním Centru Visual v Kroměříži. Naměřeno bylo 36 probandů, již byli vybíráni z běžných klientů Centra. Aby mohli být zařazeni do studie, museli splňovat několik vstupních kritérií – normální binokulární vidění, obě oči bez patologie a bez manifestního strabismu, nepřítomná amblyopie, věk maximálně 38 let a jedinci museli být navíc schopni udržet tablet a slovně popsat směrové strany. Z 36 naměřených osob bylo 24 žen a 12 mužů. Nejmladšímu bylo 8 let a nejstarší dosahoval 38 let. Měření probíhalo u všech probandů stejně a za totožných podmínek. Nejprve byla změřena heteroforie do dálky, která byla potřebná k určení AC/A poměru výpočetní metodou. Prvně byl použit test bez akomodačního podnětu. Následovalo stejné měření navíc však s akomodačním podnětem, který sloužil také jako kontrola ostrosti testu. Do blízka probíhalo měření heteroforií obodbným způsobem, ale navíc byly změřeny také údaje pro gradientní metodu. K tomu posloužila čočka -1 D, která se předřazovala před jedno oko. Celkově byly do blízka použity tři odlišující se testy. První byl opět bez akomodačního podnětu a druhý s ním. Poslední varianta také obsahovala akomodační podnět, ale lišila se držením testu samotným vyšetřovaným. Všechny naměřené hodnoty byly zaneseny do tabulky a posloužily k výpočtu jednotlivých AC/A poměrů.

Výsledky výzkumu potvrdily běžně v literatuře uváděnou informaci, že vypočítaný AC/A poměr nabývá vyšších hodnot nežli poměr gradientní. Náš rozdíl ve všech třech měřeních přesahoval 4 pD/D. Porovnávány též byly výsledky testů bez akomodačního podnětu a s ním. Obě metody vykazovaly větší míru průměrného AC/A poměru při použití podnětu, ale pouze u metody gradientní tuto myšlenku potvrdila navíc nadpoloviční většina probandů, u kterých ke zvýšení poměru skutečně došlo. U výpočetní metody, tak zvýšení nastalo spíše jen náhodně. Opačné závěry nastaly při porovnání testů s akomodačním podnětem v rukách vyšetřujícího a vyšetřovaného. Předpoklad, že držení testu nemá na velikost AC/A poměru vliv, se potvrdil pouze pro výpočetní metodu, neboť se u více než 2/3 měřených zjistil žádný či jen mírný rozdíl mezi testy. Gradientní metoda se naopak ukázala na uchopení testu závislá, jelikož více probandů spadalo do skupiny s velkým rozdílem mezi testy.

Cílem práce bylo porovnat velikost AC/A poměru určeného gradientní a výpočetní metodou, a to bylo naplněno. Ukázalo se však, že gradientní metoda podléhá vlivům snižující výsledek vůči běžně udávaným hodnotám v literatuře. Z porovnání s dalšími studii a jednotlivými testy v našem výzkumu vyplývá, že výhodnější se k určení poměru zdá být metoda výpočetní. V případě, že je zvolena metoda gradientní, je vhodné použít alespoň test s akomodačním podnětem, neboť takový AC/A poměr se nejméně odlišoval od předpokládaných hodnot. Nejlepší je volit navíc test, který nebude držet přímo měřený jedince. Výpočetní metoda naopak na držení testu závislá není, a proto lze zvolit takové uspořádání, které je všem nejpohodlnější.

Chtěla bych velice poděkovat především panu Mgr. Pavlu Křížovi, Ph.D. za všechny jeho nápady, postřehy, podněty a rady poskytnuté během celého projektu. Poděkování patří též celému týmu Očního Centra Visual v Kroměříži za spolupráci a nejhodnější podmínky k uskutečnění výzkumu.

# Vliv kouření na endotel rohovky

Pilná Barbora<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra optometrie a ortoptiky, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Kouření je v naší společnosti často spíše společenským statusem než vidinou reálné hrozby. Pravidelný kuřák si při zapálení cigarety běžně nezvědomuje nebezpečí, která tato jeho rutina objektivně představuje. Pokud už se takovýto člověk nad riziky spojenými s kouřením zamyslí, budou to na prvním místě pravděpodobně nejčastěji choroby spojené s dýchacím ústrojím. Málokdo si uvědomí spojitost s očním zdravím. Vznikají stále nové výzkumy, které potvrzují, že kouření a jeho následky v lidských tkáních mají poměrně výrazný vliv nejen na rohovkový endotel, ale obecně na celé oko. Cílem této práce je zjistit, jaký vliv má pravidelné užívání tabákových výrobků právě na endotel rohovky, konkrétně na počet endotelových buněk, jejich velikost a tvar.

Výzkum probíhal ve Fakultní nemocnici u Sv. Anny na Oddělení očních nemocí a optometrie. Probandi výzkumu byli převážně pacienti tohoto oddělení. Studie se zúčastnilo celkem 41 probandů ve věku 30 až 60 let. Dolní hranice třiceti let je stanovena s ohledem na potřebu zahrnout do studie jedince, kteří měli prostor legálně pravidelně kouřit alespoň pár let. Naopak horní hranice šedesáti let je stanovena z důvodu statisticky vyššího průměrného úbytku hustoty endotelových buněk u lidí starších právě šedesáti let. Studovaný soubor byl rozdělen na dvě skupiny – kuřáky (studovaný soubor; v počtu 40 očí) a nekuřáky (kontrolní soubor; v počtu 40 očí). Každý z probandů vyplnil krátký dotazník týkající se jeho celkového a očního zdraví, a v případě kuřáků také frekvence a dlouhodobosti kouření. Následovala kontrola předního segmentu oka na šterbinové lampě. Vylučovací kritéria zahrnovala: degenerace a dystrofie rohovky, jizvy rohovky, stav po nitrooční operaci či refrakčním výkonu na rohovce, nitrooční zánět v anamnéze, špatná spolupráce při vyšetření či nekvalitní snímek z endotelového mikroskopu. Samotné měření endotelových buněk probíhalo na endotelovém mikroskopu NIDEK CEM-530. Z nasbíraných hodnot byly u obou souborů porovnávány průměrné hodnoty buněčné denzity (CD), jejich hexagonality (HEX) a indexu variačního koeficientu (CV). Tyto průměrné hodnoty byly dále statisticky vyhodnoceny.

Ve výsledcích výzkumu nebyl zjištěn vliv kouření ani na jednu ze sledovaných hodnot parametrů rohovkového endotelu, nicméně při interpretaci těchto výsledků je třeba mít na paměti limitace této práce, z nichž největší je malý počet probandů účastnících se výzkumu. Věkový průměr měřené a kontrolní skupiny se lišil pouze o 1,91 let, proto bylo možné bez problémů porovnávat průměrné hodnoty sledovaných parametrů endotelu mezi oběma skupinami. Počet měřených očí byl v obou skupinách rovněž stejný. Hodnoceny byly hodnoty buněčné denzity endotelu, variační koeficient CV buněk a jejich hexagonalita. U žádného sledovaného parametru jsme však nezjistili statisticky významný rozdíl mezi skupinou kuřáků a nekuřáků. Endotel rohovky tedy v naší studii nevykazoval poškození, které bychom mohli přisuzovat kouření.

Z výsledků vyplývá, že kouření nemá statisticky vliv na počet buněk rohovkového endotelu, jejich velikost ani hexagonalitu. Nicméně vzhledem k nekonzistentnosti výsledků podobných světových studií je zde určitá možnost, že kouření jako takové zrak, a potažmo endotel rohovky, negativně ovlivňuje. Roli zde mohou hrát rovněž různé doprovodné okolnosti a morbidity.

Přesto stále zůstávají další četná zdravotní rizika spojená s kouřením tabákových výrobků – z komplikací týkajících se očí je to větší riziko rozvoje VPMD a katarakt. Faktem zůstává, že kouření velmi nepříznivě ovlivňuje lidský organismus, a to nejen organismus aktivních kuřáků, ale také těch pasivních, na což se tato práce snaží poukázat.

Zde bych ráda poděkovala své školitelce doc. MUDr. Karolíně Skorkovské, Ph.D. za odborné vedení projektu a za nespočet cenných rad a připomínek. Dále děkuji Oddělení očních nemocí a optometrie ve Fakultní nemocnici u Sv. Anny za poskytnutí prostor k realizaci měření.

# Stomatologická sekce

## Klinická studie testující aplikaci bioaktivních látek pomocí zubní nitě

**Drápelová Kateřina<sup>1</sup>, Hromčík Filip<sup>1</sup>, Holochová Pavla<sup>2</sup>, Böhm Jan<sup>2</sup>, Kuželová Košťáková Eva<sup>3</sup>, Zdeněk Pokorný<sup>4</sup>, Janda František<sup>5</sup>, Růžička Filip<sup>6</sup>, Bořilová Linhartová Petra<sup>1,2,7</sup>**

<sup>1</sup> Stomatologická klinika FN u sv. Anny, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>2</sup> RECETOX, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

<sup>3</sup> Katedra chemie, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická, Technická univerzita Liberec

<sup>4</sup> Katedra strojírenství, Fakulta vojenských technologií, Univerzita obrany

<sup>5</sup> Wikinomist s.r.o.

<sup>6</sup> Mikrobiologický ústav FN u sv. Anny, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

<sup>7</sup> Klinika ústní a čelistní chirurgie, FN Brno, Masarykova univerzita

Nedostatečná ústní hygiena je hlavní příčinou nejen pro vznik zubního kazu, ale i gingivitidy a parodontitidy. Tato onemocnění mohou vést ke ztrátě zubů a k celkovému zhoršení kvality života. Zubním plakem podmíněná onemocnění parodontu navíc souvisí v pokročilých stadiích se zvýšením systémové zánětlivé zátěže a s rozvojem onemocněními kardiovaskulárního systému, s rizikem encefalitidy či předčasného porodu. Progredující zubní kaz může vést k systémové sepsi či endokarditidě. Cílem klinického testování bylo zhodnotit vliv používání prototypu nanovlákněné zubní niti obohacené o bioaktivní látky (*Ligilactobacillus salivarius*) na množství plaku a krvácivost dásní a zjistit, zda má obsah probiotické kultury dopad na mikrobiální složení plaku.

Klinické testování bylo navrženo jako prospektivní randomizovaná dvojitě zaslepená studie s pěti kontrolními body po 14denních úsecích s wash-out obdobím. Zúčastnilo se 33 participantů, kteří splnili stanovená kritéria a podepsali informovaný souhlas schválený Etickou komisí FN Brno (jednací číslo 07-160222/EK, číslo projektu 14/22). Nikdo nebyl v průběhu studie vyřazen.

Dobrovolníci byli muži českého a slovenského občanství starší 18 let s alespoň 20 zuby, celkově i parodontálně zdraví nebo s mírnou parodontitidou (max. stage 2) a s dobrými hygienickými návyky. Pro účely studie byli pseudonymizováni a náhodně rozděleni do dvou skupin (A – 17 a B – 16 účastníků). Po celou dobu pro ně platila jednotná opatření – stejný typ zubního kartáčku a pasty, zákaz používání jiných mezizubních pomůcek než pro studii určených a absence cíleného zubního ošetření vyjma zubní pohotovosti.

U všech účastníků byly v pěti dvou týdenních time-pointech hodnoceny sledované klinické parametry – plakový index a index krvácivosti dásní dle schématu: 1. po wash-out období, 2. po používání 1. niti (pro skupinu A nit kontrolní, pro skupinu B nit testovaná), 3. po druhém wash-out úseku, 4. po používání 2. niti a 5. po posledním wash-out období. V jednotlivých návštěvách byl proveden odběr plaku papírovým endodontickým čepem z gingiválních sulků u zubů 12, 26, 32 a 46. Ve dnech 14 a 42 proběhlo navíc použití přidělené niti přímo v ordinaci lékařem a následně odběr plaku bezprostředně po aplikaci niti.

Na základě statistické analýzy klinických parametrů byla potvrzena hypotéza, že 14denní používání prototypu zubní niti s i bez bioaktivních látek signifikantně snižuje krvácivost dásní i výskyt zubního plaku v dutině ústní oproti stavu před zahájením studie ( $p < 0,001$ , Wilcoxonův test).

Při porovnání dvou skupin účastníků dosáhla lepších výsledků skupina začínající s nanovláknennou nití s *Ligilactobacillus salivatorius* (nit B). U této skupiny došlo k průměrnému snížení plaku u každého zubu o 18 %. Výraznějšího zlepšení však participanti dosáhli u indexu krvácivosti dásní – ten se snížil průměrně u každého zubu o 16 %, nicméně v momentě, kdy používali nanovláknennou nit bez bioaktivních látek, zlepšila se krvácivost výrazně o 28 %, index plaku opět o 18 %. Předpokládaným důvodem, proč skupina začínající s nití s probiotikem dosáhla lepších výsledků je jeho přetrvávající efekt v zubním plaku.

Dle mikrobiologické analýzy odebraného plaku bylo zjištěno, že subgingivální plak po použití nitě s probiotikem přímo v ordinaci byl bezprostředně obohacen o *L. salivarius*. Ten byl identifikován v plaku i po 14denním používání zubní nitě a může přetrvávat i po dalších 14 dnech. Zubní plak po používání nanovláknenné niti s i bez probiotika obsahoval méně kariogenních a parodontálních bakterií.

Stav přítomnosti plaku a krvácivosti po dvoutýdenním wash-out období, kdy participanti nepoužívali žádné mezizubní pomůcky, se neliší od stavu před zahájením studie ( $p > 0,05$ ).

Klinická studie dokazuje, že prototyp nanovláknenné zubní nitě bez i s probiotiky zlepšuje úroveň orálního zdraví, nicméně je podstatné používat mezizubní pomůcky na pravidelné bázi. Užívání mezizubní nitě s probiotiky (*Ligilactobacillus salivarius*) je inovativní cestou, jak inkorporovat bioaktivní látky do gingiválního sulku a snížit podíl parodontálních bakterií v subgingiválním plaku.

Chtěla bych poděkovat MDDr. Filipu Hromčíkovi, Ph.D., který po dobu mé spolupráce na klinické studii byl skvělým mentorem, i všem, kteří se na celém projektu podíleli. Tento projekt vznikl za podpory programu Technologické Agentury ČR, Projekt č. FW02020042.

## Bacteriome of the Middle Ear in Children and Young Adults with Cholesteatoma and Retraction Pocket: A Pilot Study

**Bartoš Michal<sup>1,2</sup>, Urík Milan<sup>1,2</sup>, Burešová Lucie<sup>3</sup>, Holochová Pavla<sup>3</sup>, Budinská Eva<sup>3</sup>, Bořilová Linhartová Petra<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Department of Pediatric Otorhinolaryngology, University Hospital Brno

<sup>2</sup> Department of Pediatric Otorhinolaryngology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>3</sup> RECETOX, Faculty of Science, Masaryk University, Czech Republic

Chronic otitis media (COM) is one of the most frequent middle ear diseases in children and young adults. The dysfunction of the Eustachian tube and bacterial infection are the main causes of the disease. The aim of this pilot study was to describe and compare bacteriomes of the middle ear in children and young adults with the serious form of COM, such as cholesteatoma, and retraction pocket of the tympanic membrane, and normal healthy middle ears.

In this case-control study, swabs from middle ear were obtained during the surgery of children with cholesteatoma (N=23), retraction pocket (N=26), and these indicated for cochlear implantation (N=15, controls). The genomic DNA extraction with QIAamp DNA Mini Kit was followed by creation of 16S rDNA gene library and sequencing performed using the MiSeq reagent kit V3 on a MiSeq instrument according to the manufacturer's instructions. Samples with relative abundance of at least one bacterial genus > 20 % were considered as positive for the specific bacterial genus.

The bacterial diversity was generally observed as low in the middle ear samples from patients with COM; usually DNA content from one or two bacteria dominated in the sample. The high abundances of DNA from eleven bacterial genera were found in samples from middle ear of children with cholesteatoma and retraction pocket; samples were the most often positive for DNA of *Staphylococcus*, *Alloicoccus*, and *Turicella*. 39.1 % samples from patients with cholesteatoma and 38.5 % samples from patients with retraction pocket were positive for one or more bacterial genera, these groups are similar for this characteristic ( $p > 0.05$ ). Significant difference in positivity for one or more bacterial genera between grouped patients with cholesteatoma and retraction pocket (38.8 %) vs. patients indicated for cochlear implant (6.7 %) was observed ( $p < 0.05$ )

While bacteriomes of middle ear with cholesteatoma and retraction pocket differed from the bacteriomes of middle ears from controls, findings in these both pathological conditions



were similar. These results can support the statement that retraction pocket is a pre-cholesteatoma stage.

Especially thank for my lector, associate professor Milan Urík, MD. He guides me in my work and helps me with finding of financial support for this research. I thank to RECETOX, especially associate professor RNDr. Petra Bořilová Lihnavá, for laboratory and professional help.

## **Investigating The Role of Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response in Patient Derived Pancreatic Adenocarcinoma Cells**

**Čakmakci Riza Can<sup>1</sup>, Acimovic Ivana<sup>1</sup>, Jan Lukáš<sup>1</sup>, Portakal Türkan<sup>1</sup>, Eid Michal<sup>2</sup>, Vlačný Jakub<sup>3</sup>, Moravčík Petr<sup>4</sup>, Kala Zdeněk<sup>4</sup>, Vaňhara Petr<sup>1,5</sup>**

<sup>1</sup> Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>2</sup> Internal Hematology and Oncology Clinic, University Hospital Brno

<sup>3</sup> Department of Pathology, University Hospital Brno

<sup>4</sup> Surgery Clinic, University Hospital Brno

<sup>5</sup> International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital

Pancreatic adenocarcinoma (PDAC) is a prevalent and deadly form of cancer, often diagnosed at an advanced stage due to lack of apparent symptoms. Survival rates are low, with most patients surviving only 1–2 years post-diagnosis. Rapidly proliferating PDAC cells may trigger UPR due to high protein synthesis demand, leading to the buildup of misfolded proteins in the ER. We focused on the changes in expression of canonical markers of ER stress (BIP, CHOP), E- and N-cadherins to investigate EMT, and ER-associated proteins with putative role in carcinogenesis (TUSC3, EGFR and TGF- $\beta$ ). Our project's aim is to investigate the ER stress in PDAC patient cells to provide novel molecular marker diagnostics, follow-up and targeting.

Primary tumor cells expanded in vitro from resected PDAC tumors were cultured in DMEM enriched by 10% FBS in 37°C and humidified atmosphere. Cell viability of Tunicamycin (TN), TUDCA and Salubrinal (SAL) was determined by MTT assay. Protein biomarkers associated with ER stress in PDAC samples were analyzed by Western Blot using antibodies specific for Binding immunoglobulin protein (BIP), CCAT-enhancer-binding protein homologous protein (CHOP), Tumor Suppressor Candidate 3 (TUSC3), Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), E-cadherin, N-cadherin and Epidermal growth factor receptor (EGFR). Changes in specific marker expressions were detected by Western Blot.

Cells were passaged to three PD10 Petri dishes when confluent. Trypsin was used to detach cells from the dishes. Before treatment, cells were proliferated in PD10 Petri dishes to approximately 70% confluency. Tunicamycin (TN) at sub-lethal concentrations (0.5 and 1 mM)

was used to induce ER-stress by inhibition of n-glycosylation. Tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) and Salubrinal (SAL) with 500 nM concentrations were combined with TN to reduce the effect of TN.

We first induced ER stress in cells by treating them with TN. TN is a widely used chemical compound to induce ER stress by inhibiting glycosylation which is the vital part of protein function and stability. We found that the canonical Unfolded Protein Response (UPR) signaling was activated, shown by increased expressions of BIP and CHOP upon treatment in TN groups. TUDCA functions as a chaperone in proper protein folding within the ER and reduces ER stress by preventing the accumulation of misfolded proteins. Therefore, TUDCA+TN groups showed increased expression of ER stress markers compared to TUDCA treated and untreated groups. Similar to TUDCA, SAL maintains proper protein folding and prevents accumulation of misfolded proteins. SAL is a chemical that functions in ER stress by inhibiting dephosphorylation of specific pathways in ER stress response. Expression of BIP and CHOP has also increased with SAL+TN groups compared to untreated, and SAL treated groups. TUSC3 expression decreased only in TN groups. E-cadherin expression decreased across all groups except in the TUDCA group. N-cadherin expressions showed contradictory results in our observations. We observed a slight increase in EGFR expression in TN groups at 0.5 and 1  $\mu$ M concentrations, which further increased in TUDCA+TN and SAL+TN groups. There was not any noticeable changes in TGF- $\beta$  expression between the groups.

In summary, our MTT findings suggest that TN at concentrations of 0.5 and 1  $\mu$ M are optimal for observing ER stress differences. Treatment with TUDCA (500nM) and SAL (500nM) notably reduced the expression of canonical ER stress markers. Decrease in E-cadherin expression and increase in N-cadherin expression suggest enhanced invasion potential of PDAC cells through epithelial-to-mesenchymal transition (EMT). Additionally, the downregulation of TUSC3 in TN-treated groups is associated with increased proliferation, migration, and invasion in PDAC cells. Upregulation of EGFR is related with cancer cell lines. Overall, our findings suggest that inducing ER stress may promote EMT in PDAC primary cells, contributing to tumor cell invasiveness.

This work was supported by Ministry of Health of The Czech Republic, grant no. NU23-08-00241 and by funds of Faculty of Medicine, Masaryk University, grant. no. MUNI/A/1598/2023.

# Lipopolysaccharide-induced EMT and ER stress in expandable lung-like epithelia

Portakal Türkan<sup>1</sup>, Havlíček Vítězslav<sup>1</sup>, Herůdková Jarmila<sup>1</sup>, Pelková Vendula<sup>1</sup>, Cakmakci Riza Can<sup>1</sup>, Hampl Aleš<sup>1,2</sup>, Vaňhara Petr<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University

<sup>2</sup> International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital

Lung inflammation induced by LPS which is found in the cell wall of gram-negative bacteria, prompts an epithelial to mesenchymal transition (EMT), leading to the accumulation of extracellular matrix. This can result in interstitial fibrosis and ultimately respiratory failure.

When misfolded proteins accumulate in the Endoplasmic Reticulum (ER), the Unfolded Protein Response (UPR) mechanism is activated. However, when the UPR may become excessively activated, leads to phenotypic changes in cells and even cell death.

This study aims to investigate the mechanism underlying LPS-induced EMT in expandable lung-like epithelial cells (ELEP cells) derived from human embryonic stem cells (hESCs) and investigate the role of ER stress.

ELEP cells were derived from human embryonic stem cells as described by us previously (Kotasova et al. 2022). For this purpose, they were initially directed towards foregut endoderm using Activin A signaling, followed by lung-specific differentiation via FGF, BMP, and Wnt signaling pathways. RA, dexamethasone, and IBMX were utilized for the maintenance of ELEP cells. Subsequently, the lung-specific characteristics were confirmed by flow cytometry, demonstrating TTF1 positivity.

To understand the effects of LPS on ELEP cells, both 2D monolayer and 3D cell culture by hanging drops were conducted. Cells were treated with different concentrations of LPS, tunicamycin, and TUDCA. Afterward, detailed analyses of the cells were performed using PCR, Western blot, and immunofluorescence microscopy.

LPS and tunicamycin (TN) treatment increased the migration capacity of ELEP cells. qRT-PCR results revealed an upregulation in SLUG and SNAIL after LPS treatment. In TN-treated cells, qRT-PCR, WB, and IF analyses confirmed the activation of UPR, indicated by the increase in BiP and CHOP expression. Treatment with TN led to an increase in both E-cadherin and N-cadherin adhesion molecules, as determined by qRT-PCR, WB, and IF methods.

ER stress activation in cells induced by LPS was investigated through BiP and CHOP expressions. According to IF and qRT-PCR results, an increase in BiP and CHOP was observed, although there was no significant difference in WB results. Changes in cadherin expressions with LPS were examined through qRT-PCR, WB, and IF analyses. While IF and WB results showed an increase in N-cadherin expression, qRT-PCR results indicated an increase in E-cadherin expression, and no significant changes were observed in N-cadherin.

Light microscopic images showed that untreated cells formed spheroids in 7 days, while cells treated with TN were forming spheroids on the 1st day. The spheroid formation time did not change with the cells induced by LPS, but the spheroids were significantly larger compared to the untreated group. qRT-PCR analyses of spheroids on the 3rd day revealed upregulation of BiP, CHOP, E-cadherin, and N-cadherin expressions, indicating the activation of UPR by both TN and LPS and resulting changes in adhesion molecules.

ELEP cells undergo EMT upon induction by LPS, and this possibly occurs similarly with tunicamycin induction, due to UPR activation followed by changes in adhesion molecules. Additionally, the acceleration of spheroid formation by tunicamycin and the larger spheroid formation induced by LPS could be associated with EMT.

Kotasová H, Capandová M, Pelková V, Dumková J, Koledová Z, Remšík J, Souček K, Garlíková Z, Sedláková V, Rabata A, Vaňhara P, Moráň L, Pečinka L, Porokh V, Kučírek M, Streit L, Havel J, Hampl A. Expandable Lung Epithelium Differentiated from Human Embryonic Stem Cells. *Tissue Eng Regen Med.* 2022 Oct;19(5):1033-1050. doi: 10.1007/s13770-022-00458-0. Epub 2022 Jun 7. PMID: 35670910; PMCID: PMC9478014.

This work was supported by the Czech Science Foundation, grant no. GA23-06675S and by funds of Faculty of Medicine, Masaryk University, grant. no. MUNI/A/1598/2023.



## **67. 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, 2024

ISBN 978-80-280-0542-9



MUNI  
MED