

## MEFA CONGRESS AND MEDIFORUM 2001 KONGRES MEFA A MEDIFÓRUM 2001 ABSTRACTS

Ve dnech 6. – 9.11. 2001 se konal v Brně 9. Mezinárodní veletrh zdravotnické techniky a farmacie MEFA společně s Kongresem MEFA, který tradičně poskytuje prostor pro výměnu zkušeností mezi lékaři různých oborů. Novinkou uplynulého ročníku byla sekce Medifórum, ve které poprvé představili výsledky výzkumných aktivit posluchači doktorských studijních programů z různých fakult a vysokých škol. Zařazením této sekce organizátoři kongresu usilovali akcentovat skutečnost, že současný zdravotnický výzkum je po výtce týmovou záležitostí a že členové výzkumného týmu vzdor vlastní úzké specializaci musí dokázat řešený problém nahlížet interdisciplinárně a znát možnosti i výpovědní hodnoty použitých metod a postupů.

Organizace Medifóra se ujal Ústav biomedicínského inženýrství Fakulty elektrotechniky a informačních technologií Vysokého učení technického v Brně ve spolupráci s Lékařskou fakultou Masarykovy univerzity a Farmaceutickou fakultou Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně. Za úspěch a příslib pro příští ročníky lze pokládat 22 přihlášených a přednesených prací, většinou týmové povahy z různých vysokých škol a měst České republiky.

M. Chmelař

### ABSTRACTS

L. Bartošíková, J. Nečas, H. Kotolová, D. Plaček<sup>1</sup>, T. Florian, M. Frydrych (Ústav humánní farmakologie a toxikologie a <sup>1</sup>Ústav aplikované farmacie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno): **Testování antioxidačního efektu izoflavonu osajinu v preklinickém pokusu.**

Izoflavon osajin získaný extrakcí z plodenství *Maclura pomifera* (Moraceae) vykazuje in vitro ve srovnání s butylhydroxytoluenem výraznou antioxidační aktivitu.

V práci se autoři pokusili ověřit antioxidační účinek osajinu v podmínkách preklinického pokusu: ischemie – reperfuze ledviny. Testování bylo provedeno na potkanech kmene Wistar SPF, samčího pohlaví, stejného stáří a srovnatelné tělesné hmotnosti ( $320 \pm 16$  g). Zvířata byla umístěna v laminárním boxu RIR B – 12 firmy Heto-Holten, byla krmena standardní dietou (*Dieta pro laboratorní zvířata SPF M1*) při saturaci vodou ad libitum. Po 10 denní aklimatizaci byla zvířata metodou náhodného výběru rozdělena do dvou skupin: léčené a kontrolní. Zvířatům léčené skupiny byl podáván osajin v dávce 10 mg/kg, a to perorálně v 0,5% roztoku Avicelu 1x denně. Kontrolní zvířata dostávala perorálně 0,5% roztok Avicelu v množství 2 ml (1x denně). 20. dne byla medikace ukončena a v celkové anestezii (2% Rometar 0,5 ml + 1% Narkamon 10 ml, dávka 0,5 ml roztoku/100 g) provedena laparotomie a na vypreparovanou a izolovanou a. renalis sin. zvířatům naložena cévní svorka "buldog" na 60 min k navození ischemie ledviny. Po uvolnění svorky

následovala reperfúze ledviny v délce 10 min. Po usmrčení a vykrvení byl proveden jednorázový průkaz malondialdehydu (MDA) v séru metodou TBARs, stanovení superoxididismutázy (SOD), glutathionperoxidázy (GSHPx) a celkové antioxidační kapacity (CAK) pomocí setů firmy Randox. Současně byly odebrány vzorky ledvin pro histopatologické vyšetření. Ke statistickému hodnocení laboratorních výsledků byl použit program UNISTAT 5.1 a nepárový T-test.

Autoři prokázali statisticky významné rozdíly v hladinách GSHPx, CAK a MDA ( $p < 0,05$ ) u skupiny léčené osajinem v porovnání se zvířaty kontrolní skupiny. Nesignifikantní změny byly mezi oběma skupinami evidovány v případě SOD. Z nálezů vyplynulo, že suplementace zvířat osajinem zvýšila jejich připravenost likvidovat superoxidy a odstraňovat peroxid vodíku a jiné volné radikály, které poškozují ledvinový parenchym během reperfúze. Ve prospěch uvedeného svědčí i histopatologické nálezy, kde manifestní projevy rozvinuté akutní ischemické nekrózy na rozhraní ledvinové kůry a dřeň byly nalezeny u kontrolních zvířat, nikoliv však u zvířat suplementovaných osajinem.

*Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR - NL/5881-3.*

*J. Dušek* (Katedra radioelektroniky, Fakulta elektrotechnická, České vysoké učení technické Praha): **E. M. AN. – analyzátor očních pohybů.**

Práce se zabývá analýzou průběhu očních pohybů (akomodace a konvergence) na základě určování horizontální polohy Purkyňových obrazů (PO) ze zaznamenaných videosekvencí. Pořízené záznamy lze využít k diagnostice očních vad (např. šilhavosti).

Paprsky bodového světelného zdroje, které se při průchodu předním segmentem oka odrážejí od optických rozhraní vytvářejí tzv. Purkyňovy obrazy (J. E. Purkyně 1823). I. PO vzniká odrazem od přední plochy rohovky, II. PO většinou splývající s prvním odrazem paprsků od zadní plochy rohovky, III. PO odrazem světla od přední plochy čočky a IV. PO odrazem světla od zadní plochy čočky. Intenzita I. a II. PO je rovna zhruba 2 % vstupního světla, intenzita III. PO a IV. PO je ca 10 x menší.

Autor vyšetřil soubor dobrovolníků se zdravým zrakovým aparátem; vzhledem k rychlosti dějů byla pro měření použita velmi rychlá videokamera (180 obr/s) a IR zdroj světelného záření. Při měření akomodace byly předměty umístěny v pohledové ose v různé vzdálenosti, v případě měření konvergence byly fixační předměty umístěny ve stejné vzdálenosti od oka, ale pod jiným úhlem. Záznamy byly snímány videokamerou a podrobeny off-line obrazové analýze. Hlavní kroky pro určení horizontální polohy PO spočívaly ve stanovení jednotlivých oblastí zájmů pro dané PO. U I. a IV. PO následovala vertikální sumace pixelových sloupců obrazových elementů, dvojité aplikace zobecněné diference a hledání jejího minima. Pro zvýšení subpixelové přesnosti byla použita aproximace okolí vzniklého minima. V případě analýzy III. PO byl postup obdobný.

Na základě analýz byly sestaveny grafy pohybu PO v závislosti na čase, které se u zdravého člověka vyznačují třemi fázemi: První latentní fáze odpovídá časové prodlevě mezi obrazovým podnětem a vlastním začátkem děje (akomodace, konvergence), druhá fáze se vyznačuje velmi strmým lineárním náběhem, a třetí fáze odpovídá doladění reakce.

Na závěr autor uvádí popis vyšetřovacího systému, který je zaváděn do zkušební klinického provozu.

*N. Ghalib* (Anatomický ústav: Oddělení neuroanatomie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno): **Histomorfometrická analýza motorických axonů regenerovaných v prostředí acelulárních štěpů připravených z motorického a kožního nervu.**

V současné době se rozsáhlejší defekty periferního nervu řeší pomocí autologních nervových štěpů připravených z kožních nervů. Dosažené výsledky nejsou však z hlediska dosažení plně funkční reinervace vždy uspokojivé. Jednou z možných metod překonání nervových defektů představuje použití tzv. acelulárních nervových štěpů, ve kterých jsou odstraněny buněčné složky při zachování komponent extracelulární matrix. Zjistilo se, že po evakuaci buněk zůstává v nervovém štěpu zachována lamina basalis a další složky extracelulární matrix, které stimulují migraci Schwannových buněk a regeneraci axonů. Předložená studie analyzuje morfometrické

rozdíly motorických axonů regenerovaných do prostředí acelulárního štěpu připraveného z motorického a kožního nervu.

K pokusům bylo použito 16 potkanů linie Wistar. Chirurgické zákroky byly provedeny v hluboké narkóze (xylazin-ketamin), při níž byl z motorické větve n. femoralis levé končetiny vyňat 10 mm dlouhý segment a aplikován jako acelulární štěp na motorickou větev n. femoralis pravé končetiny. Hiatus v motorické větvi n. femoralis levé končetiny byl nahrazen acelulárním štěpem připraveným z n. saphenus téže končetiny. Zničení buněk v nervovém segmentu bylo dosaženo jeho opakovaným zmrazením v tekutém dusíku a rozmrazením. Operovaná zvířata přežívala jeden (n = 8) a dva (n = 8) měsíce. Po usmrcení zvířat byly odebrány vzorky štěpů, které autor vyšetřil standardním způsobem pro světelnou a elektronovou mikroskopii.

Při srovnání průměrů motorických axonů po 1 a 2 měsících od operace se ukázalo, že nebyl statisticky významný rozdíl mezi axony, které regenerovaly do acelulárního štěpu z kožního nervu, zatímco po užití acelulárních motorických štěpů bylo zjištěno statisticky významné zvětšení průměru regenerovaných motorických axonů. Tloušťka myelinu motorických axonů v kožním a motorickém štěpu byla po 1 měsíci stejná, zatímco po 2 měsících bylo popsáno statisticky významné zvětšení tloušťky myelinu u axonů regenerovaných do motorického štěpu. Motorické axony, které regenerovaly do prostředí motorického štěpu byly vždy uspořádány do minifascikulů, obklopených lamelami perineuria. Takové uspořádání nebylo pozorováno v případě motorických axonů regenerovaných do prostředí štěpu z kožního nervu. Morfometrická analýza regenerovaných motorických axonů a vytvoření minifascikulů vzájemně izolovaných perineuriem naznačují, že pro maturaci motorických axonů existují v motorickém štěpu vhodnější podmínky ve složení extracelulární matrix než ve štěpu připraveném z kožního nervu.

Výsledky studie přinesly další důkaz o tom, že klinicky používané kožní nervové štěpy nepředstavují ideální řešení pro překonání nervových defektů a ukazují nutnost hledat jiné alternativní metody.

*Podpořeno grantem CEZ J07/98:141100001 MŠMT ČR.*

A. Grosmanová, R. Vavrušová (1. gynekologicko – porodnická klinika, Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Bohunice a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno): **Srovnání fetální pulzní oxymetrie a analýzy pH z hlavičky plodu v predikci hypoxie plodu za porodu.**

Cílem retrospektivní studie bylo porovnat vliv užití fetální pulzní oxymetrie (FPO) a analýzy pH z hlavičky plodu (pH) na perinatální výsledky a počet operačních porodů. Obě metody slouží jako doplněk CTG s cílem zlepšit perinatální výsledky, snížit falešnou pozitivitu CTG a počet operačních porodů z indikace hypoxie plodu.

Soubor A zahrnoval 2223 porodů odvedených na gynekologicko – porodnické klinice Univerzitní nemocnice v Tampere (leden až červen 2000), kde se standardně používá analýza pH pro diagnostiku hypoxie plodu za porodu. Soubor B tvořilo 1448 porodů na 1. gynekologicko-porodnické klinice LF MU Brno (leden až srpen 2001), u kterých byla aplikována FPO pro verifikaci hypoxie zjištěné podle CTG. U obou souborů se posuzovala využitelnost daného postupu metody k potvrzení podezření na hypoxii plodu, vyslovené na základě suspektního nebo patologického kardiokografického záznamu a sledována byla tato hlediska: způsob vedení porodu, počet císařských řezů, počet vakuum – extrakcí a porodů per forcipem z indikace hypoxie po užití pH nebo FPO na straně jedné a současně stav novorozenců a známky poporodní hypoxie dle APGAR skóre a nutnost hospitalizace na jednotce intenzivní neonatální péče na straně druhé. Výsledky byly statisticky zpracovány pomocí Studentova t – testu a –  $\chi$  kvadrátu.

V souboru A bylo ze 158 indikovaných případů hypoxie na základě CTG použito pH 118x (75 %), v souboru B byla FPO užitá 53x (57 %) z 95 indikovaných případů, což bylo statisticky významně méně než v souboru A. Hypoxie plodu v souboru A byla metodou pH potvrzena u 39 plodů (33 %) a nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v potvrzení diagnózy hypoxie dle FPO 15 (28 %) proti souboru B. V počtu operačně vedených porodů autorů neexistovaly žádné rozdíly: 55 porodů (47 %) v souboru A versus 19 porodů (36 %) v souboru B. Při vyšetření novorozenců se nezaznamenaly statisticky významné rozdíly v APGAR skóre v 5 minutě menší než 5 bodů (1,7 % soubor A, 0 %

soubor B) a obdobné platilo i pro hodnoty pH z umbilikální arterie nižší než 7,1 (6,7 % soubor A vs 10 % soubor B).

Srovnání obou souborů ukázalo, že perinatální výsledky byly při použití metody pH z hlavičky plodu a fetální pulzní oxymetrie stejné a z hlediska predikce hypoxie plodu zcela rovnocenné. V počtu operačně vedených porodů pro indikaci hypoxie podle CTG a pH analýzy nebo podle CTG a FPO nebyly evidovány zásadní rozdíly.

*P. Holejšovská* (Katedra aplikované elektroniky, Fakulta elektrotechnická, Západočeská univerzita Plzeň): **Kontinuální snímání časového průběhu krevního tlaku.**

Cílem práce bylo navrhnout měřicí systém pro kontinuální snímání časového průběhu tlakové křivky neinvazivním způsobem z prstu ruky na základě Peňázovy metody, vyrobit jeho laboratorní vzorek a otestovat prototyp.

Princip navrženého systému: Změny objemu krve jsou snímány pomocí fotoelektrického průsvitového pletysmografu manžetkou umístěnou na prstu levé ruky. Pletysmografický signál je řízen zpětnovazebným systémem, který zvyšováním a snižováním tlaku v manžetce kompenzuje změny arteriálního tlaku tak, aby objem krve pod manžetkou byl konstantní. Jako zpětnovazební systém vyrovnávající tlak v manžetce byl použit rychlý stejnosměrný motorek spojený s kompresorem. Testy jeho funkce prokázaly, že ve frekvenčním pásmu 0–15 Hz (určeno na základě FFT analýzy řídicího pletysmografického signálu) pracuje dostatečně rychle, aby zajistil spolehlivé vyrovnání změn krevního tlaku v prstu.

Za podmínky, že průsvit prstu je konstantní a cévy jsou v nezátěženém stavu (na stěny cév nepůsobí žádný tlak, toho se dosáhne nastavením referenční hodnoty na hodnotu středního arteriálního tlaku před začátkem snímání kontinuálního průběhu tlakové křivky), snímá se tlakovým čidlem tlak v manžetce, jelikož přesně kopíruje změny arteriálního tlaku a ty se převádějí pomocí mikrokontroleru do digitální podoby. Výsledné křivky kontinuálního průběhu arteriálního tlaku a zbytkového pletysmografického signálu se v časové relaci ihned vykreslují na monitoru počítače. Vzhledem k tomu, že organismus se rychle přizpůsobuje venkovním změnám, je třeba v zájmu přesnosti měření po určité době znovu kalibrovat referenční hodnotu středního tlaku.

O přesnosti kontinuálního měření, které je velmi citlivé vůči okolním vlivům (pohyb, dech) rozhodují dva faktory: a) přesné nastavení referenční hodnoty tlaku před začátkem i v průběhu měření; b) rychlost zpětnovazebního systému, která je určující pro zcela věrné kopírování skutečného průběhu krevního tlaku.

V současné době probíhá testování vyrobeného prototypu pro různé manžetky a zpětnovazební systémy s cílem jeho introdukce do klinické praxe.

*P. Karásek<sup>1</sup>, R. Nenutil<sup>2</sup>, B. Vojtěšek<sup>3</sup>, R. Vyzula<sup>1</sup>* (<sup>1</sup>Klinika komplexní onkologické péče a <sup>2</sup>Oddělení experimentální onkologie, Masarykův onkologický ústav Brno, <sup>3</sup>Oddělení patologie, prac. Fakultní porodnice, Fakultní nemocnice Brno): **Přežití pacientů s pokročilým karcinomem pankreatu, léčených paliativní chemoterapií, v korelaci s expresí proliferčních markerů, onkogenů Her-2, Bcl-2, C-myc a p53 antionkogenů. Retrospektivní klinicko-patologická studie.**

Karcinom pankreatu je vysoce maligní onemocnění, u něhož pouze 1–4 % pacientů přežívají 5 let od diagnózy. Pacienti s pokročilým onemocněním jsou léčeni paliativní chemoterapií pomocí gemcitabinu, který se v řadě zemí používá jako standard. Průměrné přežití pacientů je většinou kratší než 6 měsíců. Cílem práce bylo zjistit, zda a jak je přínosná imunohistochemická analýza ve vztahu k prognóze, event. predikci odpovědi na paliativní chemoterapii.

Vyšetřený soubor zahrnoval 25 pacientů s pokročilým, inoperabilním karcinomem pankreatu nebo v metastatickém stadiu onemocnění, kteří byli léčeni dle jednotného protokolu s gemcitabinem v monoterapii. Gemcitabin je antimetabolit, jehož cytotoxický efekt spočívá v poškození DNA u proliferujících nádorových buněk a v navození programované smrti buňky (apoptózy). Imunohistochemická analýza byla provedena na archivním, formalínem fixovaném a do parafínu zalitým materiálu. Expresí proliferčních markerů Ki67, Cyklin A a Cyklin B1 byla počítána jako procento pozitivních buněk a exprese markerů charakteru onkogenů Her-2, Bcl-2, C-myc a p53 byla

stanovena jako žádná, střední nebo silná. Byla provedena korelace mezi výsledky imunohistochemické analýzy a odpovědí na chemoterapii a přežitím pacientů.

Nebyla zjištěna korelace mezi přežitím a nádorovou proliferací v závislosti na expresi proliferčních markerů. Výrazná overexprese Her-2 a Bcl-2 onkogenů v nádorových buňkách, kompatibilní s amplifikací onkogenu, se vyskytovala velice zřídka (pouze po 1 případě), značná exprese C-myc byla zaznamenána v 3/25 případech. Ve 14/25 případech bylo barvení na p53 střední úrovně v rozmezí od 5–80 % jader nádorových buněk. Když pacienti této skupiny byli porovnání se skupinou pacientů, u kterých nádor vykazoval žádnou nebo naopak velmi silnou expresi p53, bylo zjištěno delší průměrné přežití těchto nemocných (6,5 vs 4,2 měsíce,  $p = 0.03$ ) a rozdíl v přežití byl statisticky signifikantní ( $p=0,04$  -Mantel Cox).

Podle autorů je overexprese Her-2 a Bcl-2 onkogenů poměrně řídkým jevem u karcinomu pankreatu a jako prognostický faktor jsou oba málo signifikantní. Proliferační markery Ki67, cyklin A a cyklin B1 v predikci přežití selhaly úplně. Zajímavé výsledky byly zjištěny ve vztahu k hladině antionkogenu p53. Pacienti s karcinomem pankreatu se střední expresí p53 (částečně zachovaná funkce p53) přežívali déle ve srovnání s pacienty, u kterých bylo barvení zcela negativní (delece p53 nebo posttranslační modifikace cílového epitopu), případně velmi silné (korespondence se stabilizací nefunkčního p53 v důsledku mutace).

Autoři potvrdili, že imunohistochemická detekce exprese p53 je v predikci prognózy pacientů s pokročilým karcinomem pankreatu použitelná a přínosná.

*J. Kobr* (Dětská klinika Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Plzni, Univerzita Karlova Praha): **Nové možnosti neinvazivního sledování a léčebného ovlivnění srdečního výdeje kriticky nemocných dětí.**

Dítě ohrožené selháním vitálních funkcí s predikovanou mortalitou v PRISM skóre nad 10 bodů lze označit za kriticky nemocné. Klade vysoké nároky na kvalitu celkové péče i účinnost léčebných opatření. Průběh a prognóza onemocnění jsou limitovány poklesem srdečního výdeje. Většina kriticky nemocných dětí má srdeční výdej snížen o více než 20 % referenční hodnoty. Opakované sledování funkce myokardu je nezbytnou podmínkou správně vedené léčby.

Autor navrhl a ověřil neinvazivní metodu sledování srdeční funkce pomocí echokardiografie přímo u lůžka pacienta. Metoda posuzuje systolickou a diastolickou funkci obou srdečních komor samostatně a umožňuje přesný odhad tlaku v plicním arteriálním řečišti. Pomocí časových intervalů toku krve mitrální a trikuspidální chlopní spolu s ejetčním časem příslušné velké arterie hodnotí výkonnost příslušné srdeční komory. Vypočtený index srdeční výkonnosti (IMP) vyjadřuje vztah intervalu izometrické kontrakce a izometrické relaxace srdeční komory. Vyšetření poskytuje s dostatečnou rychlostí široký rozsah informací s akceptovatelnou přesností a umožňuje průběžnou kontrolu efektu léčebných opatření. K posouzení míry celulárního poškození myokardu byly paralelně vyšetřovány aktuální hodnoty kardiálního troponinu T a I.

Neinvazivní metoda byla na pracovišti autora použita 256x u 95 kriticky nemocných dětí ve věkovém rozmezí 7 dní až 18 let (průměrný věk = 3,4 roku). Průměrná hodnota PRISM skóre souboru byla 24 body. Příčinou kritického průběhu onemocnění byla ve studovaném souboru v 60 % primární plicní afekce, ve 23 % celková infekce, v 9 % šok, v 6 % primární strukturální nebo funkční postižení srdce a jiná příčina ve 2 %. V terapii pacientů dominovala umělá plicní ventilace (78 %), u 26 % byla použita kombinovaná léčba s inhalací NO (i-NO). Katecholaminy byly aplikovány u 67 % pacientů, diuretikum u 33 %, inhibitor acetylcholinesterázy (i-ACE) u 17 %, N-acetylcystein (antioxidant) u 15 %, digoxin u 8 % a inhibitor cyclooxygenázy (i - COX 1) u 8 % pacientů souboru. Podle klinické prezentace bylo možno rozpoznat pacienty s dysfunkcí pravé nebo levé srdeční komory, pacienty s oboustrannou dysfunkcí srdečních komor a pacienty bez známek srdeční dysfunkce.

Vypočtená hodnota srdečního výdeje pacientů souboru byla v průměru snížena na 60 % referenčních hodnot. Z výsledků vyplynulo, že prvotní klinický odhad typu srdeční dysfunkce odpovídal měření IMP s vysokou přesností ( $p < 0,002$ ). U pacientů souboru převažovala globální dysfunkce pravé komory s průměrnými hodnotami IMP pod 70 % normy. Izolovaná globální

dysfunkce levé komory byla zaznamenána ve 27 % případů. Pouze v 8 % byla zjištěna zvýšená hodnota kardiálního troponinu I bez typických "ischemických" změn na EKG. U kriticky nemocných bez jasných klinických známek srdeční dysfunkce prokázal výpočet IMP mírné snížení globální funkce obou srdečních komor (88 – 96 % normy).

Sledování změn srdeční funkce a hemodynamických parametrů u pacientů prospektivního souboru zkvalitnilo péči o kriticky nemocné děti v následujících směrech:

- Přispělo k úpravám parametrů a zmírnění nepříznivého vlivu konvenčních ventilačních režimů na hemodynamiku pacienta.

- Upozornilo včas na potřebu přechodu z konvenčního na nekonvenční ventilační režim (např. PHC, IRV) či inhalaci NO.

- Dovolilo podle typu patofyziologické poruchy optimalizovat indikaci, dávky i dobu farmakologické podpory a snížilo výskyt nežádoucích vlivů léčby na myokard.

*R. Kolář, J. Kozumplik* (Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a informačních technologií, Vysoké učení technické Brno): **Eliminace šumu v ultrazvukových obrazech.**

Ultrazvukové obrazy se vyznačují některými negativními vlastnostmi (nízký kontrast, přítomnost šumu typu "spekle"), které komplikují jejich automatickou nebo manuální segmentaci. Pro zlepšení kvality ultrazvukových snímků byla vyvinuta řada metod, z nichž většina pracuje s obrazem B – mod, jehož předností je sice standardnost, avšak určitá nežádoucí redukce dat a ztráty informace. Autoři příspěvku proto řešili a navrhli postup přímého zpracování signálu z výstupu ultrazvukového měniče, tzv. radiofrekvenční (RF) signál.

Pro zpracování byly použity RF signály získané ze srdce prasete. Každý snímek obsahoval 78 jednorozměrných signálů (A-scanů) o téměř 3000 vzorcích. RF signál měl kmitočtový rozsah od 0.5 do 4.5 MHz. Rezonanční kmitočet sondy byl 2.2 MHz. V rámci experimentu byla získána časová sekvence snímků několika srdečních cyklů.

V návrhu postupu pro redukcí speklí a zlepšení kontrastu autoři vyšli z inkoherentního zpracování RF signálů. Nadto aplikovali metodu filtrace pomocí vlnkové transformace (WT), zahrnující následující kroky:

- Rozklad RF signálu do M+1 pásem pomocí WT bez decimace, kde M je stupeň rozkladu s předem zvoleným typem filtrů (Daubechies).

- Úpravu vlnkových koeficientů (tvrdé/měkké prahování) pro zlepšení kontrastu.

- Modifikovanou zpětnou WT (bez součtu v jednotlivých pásmech).

- Detekci obálek v jednotlivých pásmech.

- Součet obálek pro redukcí speklí.

Postup byl aplikován na každý jednorozměrný RF signál a výsledkem byla matice obálek RF signálů. Poté následovalo standardní zpracování – komprese dynamiky, redukce dat a vytvoření sektorového obrazu.

Metoda obsahuje několik stupňů volnosti. Výsledek zásadně ovlivnila úprava vlnkových koeficientů. Výhodnějším se ukázalo tvrdé prahování, v kombinaci s adaptivním parametrem, který vede ke zmenšování prahu v oblastech spekulárních a nenáhodných odrazů a zvětšování prahu v případě přítomnosti náhodných odrazečů. Pro stanovení adaptivního parametru byly využity statistické vlastnosti obálky RF dat.

Postup použitý autory zvýšil kontrast obrazu a minimalizoval šum typu "speklí". Získané obrazy se jeví pro další zpracování, především segmentaci ať již ruční nebo automatickou, vhodnější. Zároveň byly evidovány minimální ztráty (axiálního) rozlišení, které zatěžuje většinu metod dosud používaných pro redukcí speklí. Přednost postupu autorů spočívá v tom, že se pracuje přímo s RF signálem (resp. s jeho obálkou) a veškerá informace je využita pro stanovení adaptivního parametru prahování.

*Práce byla podpořena GAČR, č. grantu 102/99/122 a Výzkumným záměrem CEZ J22/98:262200011.*

P. Kollár, H. Kotolová, A. Sadleková, Z. Šíroková (Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno): **Cyklosporinová nefropatie a její ovlivnění v preklinickém pokusu.**

Hojně používaným a do značné míry nenahraditelným imunosupresivem v transplantologii je cyklosporin A, který však působí nefrotoxicity. V patogenezi akutní cyklosporinové nefrotoxicity se uplatňují zejména reaktivní formy kyslíku a peroxidované lipidy. Carvedilol je antihypertenzivní terapeutikum s mechanismem negativního účinku na beta- i alfa-adrenergní receptory a prokázaným scavengerovým efektem. Protektivně na ledviny působí rovněž preparát 2-[4-(4-fluorfenyl)piperazin-1-yl]-1-(3-methylbenzofuran-2-yl) ethanol, u kterého je předpokládán možný adrenergní a antioxidační efekt.

K pokusu bylo použito 30 potkanů kmene Wistar, samčího pohlaví, stejného stáří a hmotnosti cca 200 g, kterým byl po dobu 15 dnů p.o. aplikován cyklosporin A (Sandimun<sup>®</sup> sol.) v dávce 15 mg/kg/den. Zvířata byla rozdělena do tří skupin: 1. skupina – kontrolní dostala placebo 1 ml 0,9% NaCl/den p. o.; 2. skupina byla léčena carvedilolem 10 mg/kg/den p. o.; 3. skupina byla léčena preparátem 2-[4-(4-fluorfenyl)piperazin-1-yl]-1-(3-methylbenzofuran-2-yl) ethanol 10mg/kg/den p. o. Zvířata byla umístěna po jednom v metabolických boxech a krmena standardní dietou s příjmem vody ad libitum; denně byla odebírána moč, stanovena diuréza, provedeno vyšetření proteinurie, stanovení hladiny močovin a kreatininu. Pokus byl ukončen vykrvením zvířat a získaná séra použita pro stanovení hladin močovin, kreatininu, albuminu, transferinu a ceruloplazminu.

Zjištěny byly: statisticky významný rozdíl v hodnotách celkové bílkoviny v moči u skupiny kontrolní a léčené carvedilolem na hladině významnosti  $p = 0,05$ ; statisticky významný rozdíl v hodnotách celkové bílkoviny v moči u skupiny kontrolní mezi 2, 7, a 15. dnem pokusu na hladině významnosti  $p = 0,05$ , resp.  $p = 0,01$ ; statisticky významný rozdíl v hodnotách močovin a transferinu v séru u skupiny kontrolní a léčené carvedilolem na hladině významnosti  $p = 0,05$ . U preparátu 2-[4-(4-fluorfenyl)piperazin-1-yl]-1-(3-methylbenzofuran-2-yl) ethanol autoři nezaznamenali žádné signifikantní rozdíly ve srovnání s kontrolní skupinou.

Z výsledků autoři uzavírají, že pro prevenci nefrotoxickeho poškození způsobeného cyklosporinem se jeví perspektivním terapeutikum carvedilol.

*Práce byla podpořena FR VŠ MŠMT (FR 14300 1300).*

P. Konečná, B. Klejduš<sup>1</sup> (I. dětská klinika, Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Dětská nemocnice a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno, <sup>1</sup>Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendlova zemědělská a lesnická univerzity Brno): **Monitorování aktivity asparaginasy a hladiny asparaginu v séru u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií.**

Enzym L-asparaginasa je využíván při léčbě akutní lymfoblastické leukémie (ALL) a non-Hodgkinova (NH) lymfomu u dětí. Katalyzuje přeměnu aminokyseliny asparaginu na kyselinu asparagovou a amoniak. Lymfoblasty mají nedostatečnou aktivitu enzymu asparaginsyntázy a jsou závislé na dodávce této aminokyseliny z vnějšího prostředí. Pokud klesne hladina extracelulárního asparaginu, dochází k inhibici proteosyntézy a následné apoptóze lymfoblastů. Enzym se izoluje buď z *Escherichia coli* nebo z *Erwinia chrysantemi*. Cílem studie bylo změřit aktivitu asparaginasy a hladinu asparaginu v séru dětí s ALL během indukční a reindukční fáze protokolu ALL-BFM 95 po podání dvou různých preparátů asparaginasy.

Během indukční fáze protokolu bylo vyšetřeno 11 dětí, kterým byl podán preparát z *E. Coli* Kidrolase v dávce 5000 IU/m<sup>2</sup> celkem 8x v 3 denních intervalech. Během reindukce dostalo 7 dětí preparát Kidrolase v dávce 10 000 IU/m<sup>2</sup> celkem 4x v 3 resp. 4-denních intervalech. Preparát z *Erwinia chrysantemi* Erwinase byl podán během reindukce pro alergickou reakci na Kidrolasu 4 dětem v dávce 10 000 IU/m<sup>2</sup>. Měření hladin asparaginu bylo provedeno pomocí HPLC techniky, aktivita asparaginasy byla stanovena fotometricky pomocí Nesslerova činidla.

Během indukce byla aktivita asparaginasy po podání Kidrolasy  $78,07 \pm 21,60$  U/l, v průběhu reindukce po podání Kidrolasy  $100,86 \pm 19,07$  U/l a po podání preparátu Erwinase  $70,11 \pm 79,44$  U/l. Ke kompletní depleci asparaginu došlo po podání Kidrolasy v protokolu I i II shodně v 92,6 % měření. Po aplikaci preparátu Erwinase v protokolu I v 80 % měření.

Autoři zjistili, že léčebný efekt Kidrolasy byl dostatečný v indukční i reindukční fázi protokolu, zatímco podání Erwinasy během reindukční fáze se jevílo málo účinné. Z pozorování současně vyplynulo, že preparáty asparaginyasy nelze jednoduše zaměňovat a že pro Erwinasu použitou jako substituce Kidrolasy bude nutné optimalizovat dávky i dávkovací schéma.

M. Kučera, I. Crha, A. Vašků<sup>1</sup>, P. Ventruba, V. Znojil<sup>1</sup> (1. gynekologicko – porodnická klinika, Fakultní nemocnice Brno, prac. Fakultní porodnice a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno, <sup>1</sup>Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno):  
**Polymorfismus genu pro angiotenzin konvertující enzymy (ACE) u neplodných mužů.**

Cílem studie bylo stanovit frekvenci dvou polymorfních alel genu pro ACE u mužů s infertilitou v porovnání s fertilními muži.

Vyšetřeno bylo 96 infertilních mužů (33 ± 7,2 let) a 88 fertilních mužů srovnatelného stáří (31,2 ± 9,3 let) jako kontrola. Spermioqram byl hodnocen dle doporučení WHO. Do souboru infertilních pacientů bylo zahrnuto 77 mužů s patologickými hodnotami spermioqramu (skupina A) a 19 mužů s normospermií, ale předtím léčených pro infertilitu (skupina B).

DNA byla izolována z periferní žilní krve proteinázovou metodou. Všichni muži byli genotypizováni pro I/D polymorfismus genu pro angiotenzin konvertující enzym (ACE) v 16. intronu genu pro ACE, který se nachází na krátkém raménku chromozomu 17 (17 p23). Získaná data byla statisticky zpracována pomocí Fischerova testu.

Výsledky frekvencí individuálních genotypů a frekvencí alel pro I/D ACE polymorfismus shrnuje *tabulka 1*.

I / D ACE Polymorfismus					
Genotypy	II	ID D	D	FI	FD
Skup. A (n = 77)	13	38	26	64 (41,50 %)	90 (58,50 %)
Skup. B (n = 19)	4	22	12	31 (40,00 %)	47 (60,00 %)
Kontroly (n = 88)	28	41	19	97 (55,10 %)	79 (44,90 %)

Skupina A = muži s patologickými hodnotami spermioqramu, skupina B = muži s normospermií, ale infertilní, II = inzerční/inzerční, ID = inzerční/deleční a DD = deleční/deleční genotyp, FI = frekvence I a FD = frekvence D alely

Statistickou významnost vzájemného srovnání frekvencí alel podává *tabulka 2*.

Skupiny	P hodnota	P corr (Holmsův test)
A vs B	0,452	0,452
B vs kontrola	0,02	0,04
A vs kontrola	0,009	0,02

Závěry:

– Frekvence alely D I/D ACE polymorfismu byla signifikantně vyšší u infertilních mužů s patologickými, ale i normálními hodnotami spermioqramu v porovnání s fertilními muži srovnatelného věku.

– I/D ACE polymorfismus se zdá být nezávislým prognostickým faktorem infertility, jelikož koreluje s fertilitou, nikoliv však s hodnotami spermioqramu.



S. Matalová, J. Omelková<sup>1</sup>, E. Mravčáková, L. Jančeková<sup>1</sup> (Ústav chemie materiálů a <sup>1</sup>Ústav chemie potravin a biotechnologií, Fakulta chemická, Vysoké učení technické Brno): **Studium adheze orálních mikroorganismů na složky dentálních materiálů.**

Bakteriální adheze je prvním krokem v procesu kontaminace a infekce implantátů. Adheze je následována růstem adherentních bakterií a končí vytvořením biofilmu. Jde o dvoufázový proces, který zahrnuje počáteční, okamžitou, reverzibilní fázi (1. fáze) a časově závislou, molekulární a buněčnou, irreverzibilní fázi (2. fáze).

Ve studii byly použity jako modelové mikroorganismy *Streptococcus salivarius* a *Streptococcus mitis*, které jsou součástí běžné mikrobiální flóry ústní dutiny a současně zubního plaku. V první etapě pokusů byly testovány čisté dimethakrylátové pryskyřice (PEG-400-DMA a D3MA), dále jejich směsi v objemových poměrech 50:50, 75:25 a 25:75 %. Ve druhé etapě bylo k čistým pryskyřicím přidáno plnivo Aerosil OX50, dílem s přísadkou silanu, dílem nesilanizované. Pryskyřice byly rozděleny do dvou skupin, z nichž první byla povrchově upravena broušením (přístroj Jean Wirtz Phoenix 4000, síla 10 N, 50 ot/min, 10 s) a druhá nebyla povrchově upravována. Povrch obou skupin vzorků byl charakterizován stanovením parametrů drsnosti a pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (SEM). Kvantitativní vyhodnocení nárůstu streptokoků u všech studovaných vzorků bylo provedeno po 96 h metodou podle Kjeldahla pro stanovení celkového dusíku.

Nárůst streptokoků se lišil v závislosti na chemickém složení disků, jejich povrchové úpravě a podle testovaného mikroorganismu. Nižší nárůst byl pozorován u směsí dimethakrylátových pryskyřic ve srovnání s čistým PEG-400-DMA a D3MA. Po přidání plniv byla depozice streptokoků snížena, zejména silanizovaných. *Streptococcus mitis* preferoval čisté dimethakrylátové pryskyřice a jejich směsi, zatímco *Streptococcus salivarius* spíše disky s plnivem a jeho nárůst byl celkově nižší než u *Streptococcus mitis*. Výsledky nárůstu až na výjimky korelovaly se změnami hodnotami drsnosti povrchů.

Rozdílný nárůst zjištěný u studovaných kmenů autorky vysvětlují tím, že *Streptococcus salivarius* častěji kolonizuje měkké tkáně, zatímco *Streptococcus mitis* preferuje hlavně povrchy tvrdých tkání. Jejich nálezy současně naznačily, že drsnost není jediným povrchovým parametrem, který ovlivňuje nárůst mikroorganismů na dentálních materiálech.

P. Mokry, J. Csöllei, E. Račanská<sup>1</sup>, I. Tumová<sup>1</sup>, M. Zemanová-Durmisová<sup>1</sup> (Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, <sup>1</sup>Katedra farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Komenského univerzita Bratislava, Slovenská republika): **Syntéza a studium potenciálních blokátorů adrenergických  $\beta$ -receptorů s ultrakrátkým účinkem.**

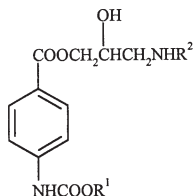
Blokátory adrenergických  $\beta$ -receptorů jsou v kardiologii často používanými léčivy. Podávají se při ischemické chorobě srdeční, hypertenzi, arytmiích nebo hypertrofické kardiomyopatii. Navíc se ordinují i při léčbě extrakardiálních chorob, jako anxiózních stavů, glaukomu a tyreotoxikózy. Kromě účinku na kardiovaskulární systém rovněž blokují  $\beta$ -receptory v jiných orgánech, zejména průduškách, tukové tkáni, CNS a játrech.

Intravenózní aplikace dlouhodobě působících  $\beta$ -blokátorů u těžce nemocných pacientů bývá prováděna nežádoucími účinky (bradykardie, hypotenze, bronchospasmus). Proto se syntetizují blokátory adrenergických  $\beta$ -receptorů s ultrakrátkým působením, u kterých jsou nežádoucí účinky potlačeny. Pro krátký biologický poločas je lze s výhodou intravenózně aplikovat u náhlých srdečních příhod k vyloučení života nebezpečných doprovodných reakcí.

V práci se autoři zaměřili na syntézu sloučenin s funkční esterovou skupinou ve spojovací řetězci navržené struktury (I). Ultrakrátkého účinku bylo dosaženo inkorporací metabolicky nestabilní esterové funkční skupiny do struktury blokátoru. Byly připraveny 4 série derivátů arylkarboxyaminopropanolů, modifikovaných v aromatické a v bazické části rozvětveným a nerozvětveným alkylem.

Připravené sloučeniny byly podrobeny biologickému testování na  $\beta$ -adrenolytickou a antiarytmickou aktivitu na Katedře farmakologie a toxikologie FaF UK v Bratislavě. Výsledky

hodnocení antiarytmické účinnosti ukázaly, že většina látek statisticky významně antagonizovala poruchy srdečního rytmu indukované strofantinem-g v pokusech in vivo na morčatech.  $\beta$ -adrenolytický účinek látek byl testován v podmínkách in vitro na izolovaných předsíních morčat. Vypočítané hodnoty  $pA_2$  se pohybovaly v rozmezí 6,09 - 6,66. Všechny látky jen mírně ovlivnily isoprenalinovou relaxaci tracheálního svalu.



$R^1$  = methyl, ethyl, propyl, butyl,  $R^2$  = isopropyl, *tert*-butyl, propyl, butyl

Práce byla realizována za podpory Výzkumného záměru FaF VFU č. 163700003.

J. Muselík, M. Žemlička (Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno): **Studium zhášečů peroxynitritu.**

V důsledku toxických účinků peroxynitritu na biologické systémy nabývá na aktuálnosti studium mechanismu interakcí  $ONO_2$  v organismu a s ním spojené úsilí nalézt látky, které toxické účinky peroxynitritu zmírňují nebo zcela potlačují. Peroxynitrit oxiduje rozmanité látky včetně mnoha biomolekul a navíc nitruje i aromatická jádra biologicky důležitých sloučenin. Reakce probíhají přímou interakcí s  $ONO_2$  nebo s rozkladnými meziprodukty  $HONO_2$ , např. hydroxylovým radikálem. Je velmi pravděpodobné, že toxické účinky přisuzované v některých případech pouze -OH mají svůj původ v působení peroxynitritu na biologické systémy.

Cílem práce bylo zefektivnit výběr látek schopných interagovat s peroxynitritem introdukcí nebiologické testovací metody, která by rychle informovala o jejich schopnostech zhášet  $ONO_2$  a tím vytvořit předpoklad pro pozdější biologické studium těchto látek.

Peroxynitrit byl připraven reakcí dusitanu s peroxidem vodíku v silně kyselém prostředí. Protože  $HO_2NO$  je velmi nestabilní, bylo nutné reakci okamžitě po smíchání výchozích látek zastavit přidávkem hydroxidu. Při uchování v silně alkalickém prostředí (pH 13–14) a při teplotě  $-80^\circ C$  nebyl pozorován rozklad  $ONO_2$  ani po několika měsících. Koncentrace roztoku  $ONO_2$  byla stanovena spektrofotometricky ( $\epsilon = 1670 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ).

Nebiologická metoda zahrnuje dvě kompetitivní reakce. Peroxynitrit reaguje s tyrosinem za vzniku 3-nitrotyrosinu. Přidání látky zhášečící peroxynitrit snižuje výtěžek této reakce. Ze zjištěného snížení výtěžku 3-nitrotyrosinu se usuzuje na schopnost testované látky interagovat s peroxynitritem. K analýze se používá HPLC. Metoda je plně automatická, k míchání tyrosinu s peroxynitritem, případně s testovanými látkami dochází přímo v injektoru podle zadané sekvence operací. Reakce probíhá za nadbytku tyrosinu při pH 6,0. Jelikož výtěžek 3-nitrotyrosinu závisel na obsahu  $CO_2$  v roztoku, byla provedena měření za různých koncentrací  $CO_2$ . Za optimálních podmínek vykazuje metoda relativní chybu menší než 5 %.

R. Musilová<sup>1</sup>, E. Táborská<sup>2</sup>, R. Hájek<sup>1,2</sup>, E. Králová<sup>3</sup>, Z. Kořístek<sup>1</sup>, L. Bourková<sup>1</sup>, M. Penka<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Oddělení klinické hematologie a <sup>3</sup>Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Bohunice, <sup>2</sup>Interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Bohunice a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno, <sup>4</sup>Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno): **Příprava a použití nádorového antigenu z patologického imunoglobulinu pro pacienty s mnohočetným myelomem.**

Mnohočetný myelom je charakterizován proliferací jednoho klonu plazmatických buněk, které produkují jedinečný typ monoklonálního imunoglobulinu. Podílí se 1 % na celkové četnosti nádorů a tvoří asi 10 % všech hematologických nádorových onemocnění. Přestože je zařazení autologní

transplantace do léčebné strategie u nemocných s mnohočetným myelomem výrazným přínosem, relaps onemocnění je neodvratný a onemocnění je považováno za nevléčitelné. Současné výzkumy směřují k ovlivnění zbytkové nádorové choroby. Jednou z možných imunoterapií je vakcinace nádorovým antigenem. Idiotyp myelomového imunoglobulinu, Id protein, je použit jako unikátní nádorový antigen, který indukuje cytotoxické T lymfocyty a vytváří imunitní odpověď proti myelomovým buňkám.

Využitelný Id protein se získává z plazmy nemocného před zahájením reindukční léčby. Po precipitaci síranem amonným a následně dialýze ve fyziologickém roztoku pH = 7,4 následuje izolace paraproteinu pomocí afinitní chromatografie. Zachycený produkt je eluován 0,2 mol/l glycinem pH = 2,7 a neutralizován 1 mol/l TRIS. Verifikace čistoty produktu se provádí SDS-PAGE elektroforézou. Vakcína je použita k přímé vakcinaci čistého Id nebo modifikovaného např. vazbou s KLH.

Izolace Id proteinu byla provedena u 3 pacientů – viz tabulka: Afinitní chromatografie – izolace Id proteinu.

#### Afinitní chromatografie – izolace Id proteinu.

Označení série	Celkový objem získaných frakcí (ml)	Celkové množství M-IgG v získaných frakcích (mg)	Výtěžek (%)
<b>Pacient č.1; monoklonální IgG , 53,2 g/l</b>			
E. Id.-1.1.	19	6,87	22,75 %
E. Id.-1.2.	9	6,45	21,36 %
E. Id.-1.3.	16	6,62	21,92 %
<b>Pacient č.4; monoklonální IgG , 7,1 g/l</b>			
E. Id.- 2.1.	14	5,06	35,00 %
E. Id.- 2.2.	8	10,47	46,50 %
E. Id.- 2.3.	11	10,39	64,50 %
<b>Pacient č.5; monoklonální IgG , 18,9 g/l</b>			
E. Id.- 3.1.	18	27,56	84,00 %
E.Id.- 3.2.	15	29,14	89,00 %
E. Id.- 3.3.	16	29,04	88,80 %

Po izolaci Id proteinu bylo patrné, že množství monoklonálního imunoglobulinu v plazmě pacientů nemělo vliv na výtěžek izolace.

Pro nejbližší období se předpokládá se příprava nádorového antigenu u 12 pacientů a další úpravy Id proteinu. Jako vhodné se jeví použití F(ab)<sub>2</sub> fragmentů, které jsou schopny stimulovat T-buňky k mnohem silnější imunitní odpovědi než samotný Id protein.

*Studie vznikla s podporou grantů IGF FNB 4/99, IGA MZČR 6152-3, IGA MZČR 6763-3 a Výzkumného záměru MZČR 000 65 26 97 05.*

**J. Neradil** (Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno): **Vliv krátkovlnného UV záření na strukturu a životaschopnost diploidních a transformovaných lidských buněk in vitro ve vztahu k možnosti ovlivnění vybranými antioxidanty.**

Expozice organismů ultrafialovému záření (UVR) a následné dopady tohoto záření na struktury a funkce eukaryontních buněk představují v současné době aktuální výzkumné téma. Nadměrná

tvorba reaktivních kyslíkových molekul (ROS) vyvolaná ultrafialovým zářením způsobuje oxidativní stres, který se podílí na nepříímém vlivu UVR na buněčné struktury. Neutralizaci ROS pomocí antioxidantů lze snížit, popř. zabránit poškození buňky.

Cílem práce bylo otestovat účinek krátkovlnného ultrafialového záření UV-C (254 nm) v intervalech 10, 30, 60 min (resp. 552, 1656 a 3312 J.m<sup>-2</sup>) na cytoskelet diploidních lidských kožních fibroblastů KF1 a transformovaných epidermoidních buněk linie A431 kultivovaných in vitro. Sledovány byly změny mikrotubulů (MT) a mikrofilament (MF) po ozáření a následně v kombinaci s aplikací tokoferolu nebo kyseliny kávové (CA). Pro vizualizaci MT byla použita monoklonální myš protilátka TU-01 proti  $\alpha$ -tubulinu a sekundární protilátka konjugovaná s fluoresceinem (SwAM-FITC). Mikrofilamenta byla značena direktně konjugátem phalloidin - TRITC. Viabilita buněk byla hodnocena kvantitativně detekcí mitochondriálních dehydrogenáz (MTT-assay) a pro hodnocení genotoxického vlivu UV-C na DNA byl použit mikrojaderný test v modifikaci blokované cytokineze pomocí cytochalazinu B.

Bylo zjištěno, že s rostoucí dávkou UVR (10, 30 a 60 min) vzrůstal stupeň degradace cytoskeletálních struktur (rozpad mikrotubulů a abnormální průběh mikrofilament doprovázený jejich depolymerací) za současného snížení viability buněk (u fibroblastů se projevil účinek cytostatický, u buněk linie A431 cytotoxický). V průběhu kultivace buněk v médiu s tokoferolem nebo kyselinou kávovou nebyly pozorovány žádné výrazné změny ve struktuře MT či MF, a to shodně u obou linií. Když však po ozáření v délce 30 min buňky byly fixovány, autor zjistil podobné narušení cytoskeletálních struktur jako v experimentu bez aplikace antioxidantů. Za 48 hodin po ozáření fibroblastů kultivovaných v tokoferolu byla zaznamenána nadměrná tvorba stresových vláken v jejich periferii a navíc v ní docházelo i k výrazné eliminaci mikrotubulů. Pouze u malé populace přežívajících buněk linie A431 byl stav MT a MF srovnatelný s kontrolou. Výrazný protektivní efekt po aplikaci UVR byl pozorován během prodloužené kultivace s kyselinou kávovou, kdy cytoskeletální struktury v buňkách obou linií za 48 hodin po ozáření částečně nebo úplně reparovaly. Reparace cytoskeletálních struktur se pozitivně odrazila i na viabilitě obou studovaných buněčných linií. Frekvenci mikrojaderný test po zásahu UVR snižovaly u buněk linie KF1 obě zvolené koncentrace CA, u buněk linie A431 měla protektivní vliv pouze nižší koncentrace.

*D. Neumann, O. Pozler, V. Voříšek<sup>1</sup>, J. Bukáč, J. Bureš, Z. Kokštein* (Dětská klinika, <sup>1</sup>Ústav klinické biochemie a diagnostiky, <sup>2</sup>Komplementární centrum vnitřního lékařství 2. interní kliniky, Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Hradci Králové, <sup>3</sup>Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Hradci Králové): **Časný postnatální vývoj žaludečního vyprazdňování u předčasně narozených novorozenců: Využití <sup>13</sup>C-dechového testu s kyselinou oktanovou (<sup>13</sup>C-OABT).**

Dechové testy se stabilními izotopy jsou založeny na použití metabolického substrátu se vzácným stabilním izotopem, který se od běžného izotopu neliší fyzikálně-chemickými vlastnostmi, ale počtem neutronů. Kumulativní nebo absolutní množství konečného metabolitu ve vydechovaném vzduchu odráží testovanou metabolickou funkci nebo stav organismu. Uhlík má 2 stabilní izotopy. Běžný stabilní izotop uhlíku <sup>12</sup>C tvoří přirozeně 98,9 % atomů, zatímco stabilní izotop <sup>13</sup>C 1,1 %. Metabolismus oktanové kyseliny díky výjimečným metabolickým vlastnostem mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem umožňuje vyšetření rychlosti žaludeční evakuace (ŽE). Spolu s testovací stravou se oktanová kyselina vyprázdní ze žaludku do duodena, odkud je bez vazby do triacylglycerolu vstřebána a portální krví přivedena do jater. Mitochondriální metabolismus nepotřebuje kamitin jako transmembránový přenašeč a není ovlivněn intermediárním metabolismem jiných substrátů. Konečným metabolitem <sup>13</sup>C-kyseliny oktanové (<sup>13</sup>C-OA) je <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>. Jediným časově limitovaným krokem je rychlost ŽE. Pro svůj neinvazivní charakter a snadné vyšetření u lůžka (inkubátoru) je <sup>13</sup>C-OABT ideálním testem pro vyšetření ŽE u novorozenců.

Cílem studie bylo zjistit změnu rychlosti ŽE u předčasně narozených novorozenců při změně množství podaného ženského mléka (ŽML). Původní hypotéza předpokládala delší poločas evakuace větších mléčných dávek.

U 21 nedonošenců byly po získání informovaného souhlasu rodičů provedeny celkem 3 (15 dětí) nebo 2 (6 dětí) následné testy při dávkách ŽML průměrně 4,8, 9,2 a 13,6 ml/kg/dávku 2., 3. a 5. postnatální den. ŽML bylo obohaceno  $^{13}\text{C}$ -OA (Gastromotal, INFAI, Německo; 99  $^{13}\text{C}$  atomů) v množství 1 l/ml. Odběr 20 vzorků vzduchu při jednom testu v průběhu 4 hodin po podání mléka byl prováděn speciální nosní maskou vyvinutou pro  $^{13}\text{C}$ -OABT. Poměry  $^{13}\text{C}\text{CO}_2/^{12}\text{C}\text{CO}_2$  v 10 ml vzorcích vzduchu byly analyzovány pomocí hmotnostního spektrometru. Poločas ŽE  $T_{1/2}$  byl stanoven na základě eliminačních křivek analýzou plochy pod křivkou metodou trapezoidů vlastním počítačovým programem TRAP 12. Ke statistickému zpracování výsledků byly použity programy MS Excel a NCSS. Individuální  $T_{1/2}$  ŽE byl při stejné stravě (ŽML) obecně konstantní bez ohledu na velikost dávky. Hypotrofičtí novorozenci vykazovali tendenci k vyšší individuální variabilitě  $T_{1/2}$ . Průměrné  $T_{1/2}$  ŽE při uvedených dávkách byly 59,5, 59,6 a 52,7 min ( $p > 0,05$ ). Individuální tvar eliminačních křivek (strmá nebo pozvolná vzestupná a sestupná část křivky) byl charakteristický a nezávislý na dávce.

Naměřená data  $^{13}\text{C}$ -OABT korespondují s dříve publikovanými výsledky stanovení ŽE metodou změny velikostí ultrazvukově vyšetřených antrálních ploch. Individuální charakter ŽE je významně determinován vrozenou souhrou regulačních mechanismů motility trávicího traktu.

*J. Paděrová, E. Závodná<sup>1</sup>, Z. Nováková<sup>1</sup>, N. Honzíkova<sup>1</sup>, H. Hrstková* (I. dětská klinika, Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Dětská nemocnice a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno, <sup>1</sup>Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno): **Variabilita oběhových parametrů v závislosti na věku dětí a adolescentů léčených antracykliny pro maligní tumor.**

Cílem studie bylo vyhodnotit vliv protinádorové terapie na autonomní nervový systém u dlouhodobě přežívajících dětí a adolescentů po léčbě maligních onemocnění.

Autoři vyšetřili 165 dětí (skupina G) ve věku 11–21 let. Kontrolní skupina (C) 132 zdravých dětí byla porovnávána se 33 dětmi za skupiny (M) po prodělané protinádorové terapii. 16 dětí ze skupiny M mělo terapii bez kardiotoxického efektu (skupina A0, jejich kontrolní skupina C0 čítala 64 dětí), a 17 dětí ze skupiny M bylo léčeno kardiotoxickými antracykliny (skupina A+, jejich kontrolní skupina C+ zahrnuje 68 dětí). U všech dětí byly zaznamenávány pulzové intervaly (PI), systolický (TKs) a diastolický (TKd) krevní tlak ozva po ozvě neinvazivní metodou Finapres a poté vypočítána citlivost baroreflexu (BRS v ms/mmHg). Byly určeny střední hodnoty a standardní odchylky věku, PI, TKs, TKd, BRS; byl vypočten Spearmanův korelační koeficient mezi všemi parametry, odlišnosti mezi skupinami byly zhodnoceny testem Mann-Whitney a F- testem.

PI a TKs signifikantně korelovaly s věkem ve skupině G, C a M. BRS signifikantně koreloval s PI ve všech skupinách kromě skupiny A0.

Pomocí testu Mann-Whitney byly testovány rozdíly mezi skupinami C vs M, C+ vs A+, C0 vs A0. Autoři zjistili signifikantní rozdíl mezi následujícími parametry: TKs (C+ vs A+,  $p < 0,01$ ; C vs M a A+ vs A0,  $p < 0,05$ ), TKd (C vs M,  $p < 0,05$ ; C+ vs A+,  $p < 0,01$ ; A+ vs A0,  $p < 0,01$ ). Obecně byly TKs a TKd ve skupině A+ nižší než v kontrolní skupině A0.

Na věku závislý nárůst PI, TKs a TKd se různil: prodloužení PI ve skupině M bylo signifikantně vyšší než ve skupině C ( $p < 0,01$ ) a ve skupině A0 než ve skupině C0 ( $p < 0,01$ ), nárůst TKs byl signifikantně nižší ve skupině M než ve skupině C ( $p < 0,01$ ) a ve skupině A0 než ve skupině C0 ( $p < 0,05$ ), nárůst TKd byl signifikantně nižší ve skupině M než ve skupině C ( $p < 0,01$ ), ve skupině A0 než C0 ( $p < 0,01$ ) a ve skupině A0 než ve skupině A+ ( $p < 0,01$ ).

Autoři zjistili, že hodnoty krevního tlaku u dětí po prodělané terapii antracykliny byly nižší a uzavírají, že protinádorová terapie antracykliny interferuje s vývojem funkcí kardiiovaskulárního systému.

*Podpořeno grantem CEZ J07/98:141100004 a IGA č. NE 5920-3*

*D. Plaček* (Ústav aplikované farmacie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno): **Informační minimum správné dispenzační praxe: Profily léčiv do kapsy.**

”Profily léčiv do kapsy” přináší lékárenské odborné veřejnosti selektovaný výběr účinných látek určených pro poradenskou činnost v lékárně. Záměr autorské dvojice Smečka - Neuwirth užít piktogramy u léčiv lze hodnotit jako zdařilý počín.

Autoři při výběru látek a informací vycházeli z vlastní zkušenosti praktických lékárníků a sestavená příručka dovoluje okamžité zodpovězení pacientova dotazu, který přichází v úvahu v rámci lékárenského poradenství. Do příručky byly zahrnuty nejfrekventovanější účinné látky.

Profily léčiv jsou určeny lékárníkům, potřebné informace a poučení v nich najdou i pacienti. Pro odborníky (např. lékaře) nebo pro sestavení léčebného plánu lékařem či lékárníkem jsou Profily léčiv do kapsy pro abstrakci dávkování, kontraindikací, vedlejších účinků a vzájemných interakcí léčiv nedostačující. V případě potřeby se doporučuje vyhledat podrobnější informace o daném léčivu v příbalových letáčích a odborné literatuře.

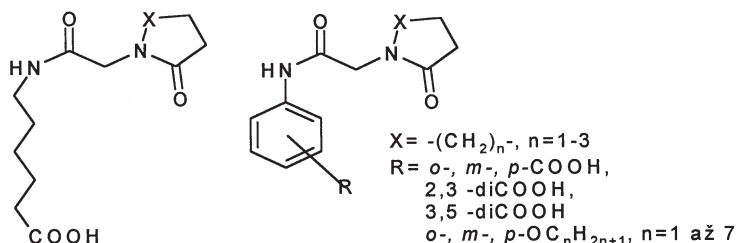
*T. Pokorný* (Katedra aplikované elektrotechniky, Fakulta elektrotechnická, Západočeská univerzita Plzeň): **Biofyzikální působení elektromagnetických polí.**

Autor na základě dostupných údajů v literatuře sestavil kompilaci o působení elektromagnetických polí na živé organismy, včetně člověka. V příspěvku je detailně pojednáno o účinku neionizujícího elektromagnetického záření.

*K. Poláchová, O. Farsa, L. Beneš* (Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno): **Syntéza  $\Omega$ -laktamů s potenciálním účinkem na CNS a jejich biologicky významné fyzikální vlastnosti.**

Autoři syntetizovali řadu derivátů  $\Omega$ -laktamů, které lze považovat za analogy nootropika nefiracetam. Látky byly připraveny pětistupňovou syntézou. Primární skupina aminofenolu byla ochráněna acetylací, N-acetylaminofenolát sodný byl následně alkylován příslušným bromalkanem, po ochránění aminoskupiny kyselou hydrolyzou byl ze vzniklého alkoxyaminofenolu připraven působením chloracetylchloridu příslušný N-(alkoxyfenyl)-2-chloracetamid, jímž pak byl alkylován 2-pyrrolidinon, 2-piperidinon, 2-azepanon. Výtěžky reakcí byly 60–80%. Alternativní způsob přípravy spočíval v alkyvací nitrofenolátu sodného za podmínek fázové katalýzy a následné redukci nitroskupiny, následující postup je shodný s výše uvedeným.

U všech látek byl stanoven rozdělovací koeficient pro soustavu n-oktanol/voda. Rozdělovací koeficienty byly nejprve vypočteny s pomocí softwaru HyperChem 6.0 a potom stanoveny experimentálně.



*D. Schwarz, I. Provazník* (Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a informačních technologií, Vysoké učení technické Brno): **Segmentace multispektrálních obrazových dat z MR.**

Vysoký kontrast měkkých tkání je známou předností medicínských obrazů pořízených MR proti obrazům získaným pomocí CT. Jejich nevýhodou je však skutečnost, že intervaly hodnot intenzit jednotlivých druhů měkkých tkání se v histogramu překrývají, čímž je znemožněna jednoduchá automatická segmentace a následné pseudobarvení obrazu. Obě uvedené techniky jsou přitom klíčové pro semitransparentní vizualizaci objemových obrazových dat a proto cílem práce bylo nalézt segmentační algoritmus s požadavkem nevelkých časových nároků.

Intenzity v obrazech získaných z MR závisí na třech charakteristikách tkáně: relaxačních časech T1, T2 a hustotě protonů PD. Nastavením parametrů pulsní sekvence lze ovlivnit účinek těchto

charakteristik ve výsledném obraze a získat i více různých obrazů jedné scény. Podobně je tomu i v případě MR dat z obrazové databáze Visible Human Project, která byla využita pro testování navrženého postupu. V databázi jsou k dispozici T1-váňované, T2-váňované a PD-váňované řezové obrazy stejného objektu.

Autory navržená metoda je založena na využití všech třech datových sad k získání tzv. multispektrálního obrazu, ve kterém je každý voxel popsán třemi parametry souvisejícími s původními skalárními daty. K líčování vstupních datových sad je použito registrační procedury založené na hledání maxima vzájemné informace. V získaném multispektrálním obraze se poté provede segmentace s využitím klasifikační metody zvané  $k$ -NN.

Vzájemná informace  $I$  dvou diskretních náhodných proměnných  $M$  a  $N$  je definována jako:

$$I_{M,N} = \sum_{(m,n)} p_{MN}(m,n) \log_2 \left( \frac{p_{MN}(m,n)}{p_M(m)p_N(n)} \right) \quad (1)$$

kde  $p_M$ ,  $p_N$  jsou rozložení náhodných proměnných  $M$ ,  $N$  a  $p_{MN}$  je vzájemné rozložení  $M$  a  $N$ . Vzájemná informace dvou obrazů se získá pomocí (1) za předpokladu, že hodnoty jasu obrazů jsou hodnotami náhodných proměnných, jejichž rozložení se odvodí aproximací pomocí normalizovaných histogramů těchto obrazů.

Metoda  $k$ -NN ( $k$ -nejbližší sousedé) se používá pro klasifikaci vektorů do tříd s využitím vstupních vzorových vektorů, pro něž je známa správná klasifikace. Daný vektor je klasifikován jako vektor třídy  $c$ , když většina z  $k$  nejbližších vzorových vektorů je ze třídy  $c$ . Segmentace s využitím tohoto klasifikátoru patří mezi poloautomatické metody, jelikož je zde nutný vstup trénovacích dat ze strany uživatele, který z daného obrazu pro každou třídu vybere vzorové voxel.

Maximum vzájemné informace jako kritérium pro líčování obrazů se ukázalo být vhodné. Průběh funkce vzájemné informace v závislosti na geometrické transformaci jednoho z obrazů vykazoval patrné maximum. Jelikož šlo o data z jednoho typu zobrazovací modalit, byla prováděna pouze rigidní transformace sestávající se z translace a rotace jednoho z obrazů. Získaná vektorová obrazová data byla segmentována pro tyto typy prostředí a tkání: vzduch, tuk, šedá hmota mozku (mozková kůra), bílá hmota mozku a mozkomíšni mok. I při relativně nízkém počtu 80 vzorových voxelů (vzhledem k celkovému počtu 2.162.688 voxelů obrazu) byl počet špatně klasifikovaných voxelů zanedbatelný.

*Podpořeno Výzkumným programem VUT Brno č. J22/98:262200011 a grantem č. 102/00/P079 GAČR.*

Compiled and revised by S. Čech

