MEDIREX GROUP ACADEMY

člen MEDIREX GROUP
všetko pre vaše zdravie

MEDIREX GROUP ACADEMY

PRE MLADÝCH

10.–11.

NOVEMBRA 2017

ODBORNÝ PROGRAM A ABSTRAKTY

Partneri podujatia

Spracovala a vydala spoločnosť SOLEN, s. r. o.
Adresa vydavateľstva: SOLEN, s. r. o., Ambrova 5, 831 01 Bratislava,
www.solen.sk, e-mail: solen@solen.sk

Vydavateľ nenesie zodpovednosť za údaje a názory autorov jednotlivých článkov či inzerátov.

Reprodukcia obsahu je povolená len s priamym súhlasom vydavateľstva.

ISBN 978-80-89858-10-1

MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o.
organizuje
druhý ročník odborného podujatia

MEDIREX GROUP ACADEMY **PRE MLADÝCH**

Stretnutie mladých pracovníkov v laboratórnej medicíne

10. – 11. november 2017

Konferenčná miestnosť **MEDIREX** GROUP ACADEMY, n. o.,
laboratórneho komplexu na Galvaniho ulici 17/C v Bratislave

HLAVNÝ ORGANIZÁTOR:
MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o.

ODBORNÝ GARANT PODUJATIA:
MUDr. Anna Stecová, CSc., Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP

PROGRAMOVÝ VÝBOR:
MUDr. Peter Križan, CSc., Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
MUDr. Katarína Vlniešková, Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
MUDr. Silvia Remiašová, Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
MUDr. Eleonóra Molnárová, Medicyt, s. r. o., člen **MEDIREX** GROUP
MUDr. Eva Ďurovcová, PhD., Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
MUDr. Ján Lazúr, Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
MVDr. Alica Elbertová, Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
MUDr. Pavol Janega, **MEDIREX** GROUP ACADEMY, n. o., člen **MEDIREX** GROUP
MUDr. Emília Miková, Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
RNDr. Csilla Patasi, Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP
Mgr. Simona Duranková, Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP

WEBOVÁ STRÁNKA PODUJATIA:
premladych.medirexgroupacademy.sk

Obsah

Príhovor 5
ODBORNÝ PROGRAM.....6
PREDNÁŠKY.....10
Biochémia 10
Genetika 13
Imunológia.....18
Varia.....20
Postery 25
Poznámky.....38

Vážení kolegovia,

kongres MGA pre mladých, ktorý sme po prvýkrát zorganizovali pred dvoma rokmi, sa stretol u vás s veľkým ohlasom. Mali ste možnosť prezentovať svoje práce, ale aj svoju schopnosť prednášať, prípadne pripraviť poster. Stimuloval vás do ďalšej podobnej činnosti, aby ste nemali pocit, že práca v medicínskom laboratóriu je iba rutina, síce pre pacienta veľmi dôležitá, ale pre vás niekedy možno až príliš jednotvárna. Uvedomili ste si, že máte možnosť ísť dopredu v odboroch, v ktorých pracujete, že hlbšie štúdium problematiky je prospešné pre prax, ale aj na obohatenie vašich vedomostí a dobrý pocit, že sa môžete v budúcnosti prezentovať na ďalších odborných a vedeckých podujatiach.

Pri príprave tohtoročného podujatia MGA sme preto mali výhodu – váš záujem o aktívnu účasť, či už formou prednášok, alebo posterov, je vysoký a programový výbor mal naozaj veľa práce, aby rozhodol o zaradení jednotlivých prác.

Je predčasné hodnotiť úroveň kongresu na základe abstraktov, tieto však minimálne ukazujú posun vo vývoji laboratórnej diagnostiky, keďže sa venujete mimoriadne zaujímavým a novým témam a parametrom. Monitorovanie biologickej liečby, nové prístupy k diagnostike fibrózy pečene, detekcia mutácií pri neoplastických procesoch a pri raritných ochoreniach, ale aj detekcia imunitných odpovedí v rôznych formách a pri rôznych chorobách a syndrómoch hovoria o vašich konkrétnych záujmoch, o pretavení vedy do vlastnej klinickej praxe a použití moderných metód v diagnostike a monitorovaní ochorení. Ale máme už aj úplne nový fenomén – bioinformatika, bioštatistika, biomedicína, bez ktorých sa pravdepodobne v budúcnosti nezaobídeme. Považujem za mimoriadne pozitívne, že práve MGA pre mladých otvára tieto témy, lebo to budete vy a vaša generácia, kto bude bojovať s nadbytkom informácií, ktoré bude treba filtrovať a triediť, aby sa z nich vybralo presne to, čo bude potrebné pre pokrok v diagnostike a liečbe pacienta.

Budeme radi, ak MGA pre mladých bude pre vás ďalším odrazovým mostíkom vo vedeckom skúmaní a práci.

MUDr. Anna Stecová, CSc.
medicínsky riaditeľ
Medirex, a. s., člen ***MEDIREX*** *GROUP*

PIATOK, 10. 11. 2017

Registrácia od 14.00 hod.
Odborný program od 15.00 hod. do 19.00 hod.

ÚVODNÁ PREDNÁŠKA

MEDIREX **GROUP ACADEMY pre mladých**
Janega P.

1. BLOK – BIOCHÉMIA

Predsedníctvo: Ing. Edita Dobáková, MUDr. Silvia Kutišová, RNDr. Irena Halinárová

Monitorovanie biologickej liečby u pacientov s chronickými zápalovými ochoreniami
Jaďuďová K.

Markery fibrózy pečene u pacientov s chronickými hepatopatiami
Piteková B.

Štúdium metabolickej aktivity buniek malígneho melanómu
Špaková I., Rabajdová M., Bolerázska B.

Problematika stanovení volných plazmatických metanefrinů – vývoj, validace a implementace nové analytické metody do rutinní praxe klinické laboratoře
Rajská M., Procházková P., Loučka P.

SM a vitamín D
Majerníková B., Bucová M., Cudráková-Čopíková D., Turčány P., Lisá I., Gmitterová K., Klimová E., Michalík J.

Zmeny hladín AMH u žien v závislosti od veku
Tyrolová M.

Prestávka

2. BLOK – GENETIKA

Predsedníctvo: RNDr. Dagmar Landlová

Myeloproliferatívne neoplázie a ich charakteristika
Vidinská D.

Laboratórna práca vo FISH laboratóriu
Tóthová A. B.

HBOC syndróm z pohľadu klinického genetika a pacienta
Havrilová P., Vlčková Z., Konečný M.

Detekcia RAS mutácií v liečbe metastatického kolorektálneho karcinómu
Házašová S.

Diferenciálna diagnostika u pacientov so suspektným fenotypom Huntingtonovej chorey
Zrubcová M.

Molekulárno-cytogenetická diagnostika u pacienta s Triple-Hit B-Cell Lymphoma – kazuistika
Veselinyová D., Biľová I., Žákovičová A., Juríková K., Šprincová A., Giertlová M., Bernátová S., Guman T., Bešenyiová K., Gabzdilová J.

Monitoring bunkového chimérizmu u pacientov po alogénnej transplantácii hematopoetických kmeňových buniek (aloHSCT)
Tatayová L.

Večera, voľný program

SOBOTA, 11. 11. 2017

Odborný program od 9.00 hod. do 13.00 hod.

3. BLOK – IMUNOLÓGIA

Predsedníctvo: RNDr. Elena Tibenská, Mgr. Barbora Onderová

Úloha zápalu pri gliómoch mozgu
Klučková K., Maruščáková L., Suchánková M., Rýchly B., Kozák J., Šteňo J., Tibenská E., Szaboová K., Bucová M.

Výskyt HLA-DQ2 a HLA-DQ8 v slovenskej populácii v súvislosti s výskytom celiakie
Huťa T.

Paroxyzmálna nočná hemoglobinúria
Body G., Šarišský M.

Cyklické zmeny buniek imunitného systému v reprodukčných procesoch ženy
Onderová B.

Prestávka

4. BLOK – VARIA

Predsedníctvo: Ing. Mária Sucháňová, MUDr. Emília Miková

Amyloidóza – kazuistika
Remiašová S.

Úloha imunitnej odpovede v procese vzniku nádorov kolorekta
Gaálová E., Janega P.

Molekuly TREM-1 a HMGB1 a ich expresia v tkanivách gliómov
Maruščáková L., Filová B., Rychlý B., Gomolčák P., Kozák J., Poljak Z., Kopáni M., Polák Š., Matejčík V., Šteňo J., Bucová M.

Bioinformatika v službách biomedicíny
Kucharík M.

Análna intraepiteliálna neoplázia – nový fenomén
Vavráková I., Boháčiková D., Šmocerová L., Bodnár J.

Výskyt subtypov a rezistencie HIV na Slovensku v rokoch 2015 – 2016
Čereš A., Staneková D., Hábeková M., Drobková T., Mojzesová M.

Serózna meningitída – kazuistika
Jacák Š., Procházková O.

Invazívna aspergilóza – kazuistika
Gašpar M.

Rh weak/variant
Michalíková B.

Prestávka

5. BLOK – Posterová sekcia

Predsedníctvo: MUDr. Emília Miková

Vyhodnotenie a ukončenie podujatia

BIOCHÉMIA

A2
Monitorovanie biologickej liečby u pacientov s chronickými zápalovými ochoreniami

Jaďuďová K.
*Medirex, a. s, člen **MEDIREX** GROUP*

Nešpecifické zápalové ochorenia čreva (IBD) predstavujú závažný medicínsky a sociálno-zdravotnícky problém s pokračujúcim nárastom incidencie a prevalencie najmä vo vyspelých krajinách sveta. Ochorenie môže postihovať ktorúkoľvek časť tráviacej trubice (Crohnova choroba) alebo len hrubé črevo (ulcerózna kolitída). Crohnova choroba a ulcerózna kolitída nie sú medikamentózne vyliečiteľné. Súčasná liečba umožňuje u väčšiny pacientov potlačenie príznakov a minimalizovanie komplikácií. Hlavným cieľom a meradlom úspešnosti liečby je navodenie pokojovej fázy ochorenia, jej udržanie, prevencia komplikácií a zlepšenie kvality života. Ako biologická liečba IBD sa využíva infliximab, čo je chimérická monoklonálna protilátka proti tumor nekrotizujúcemu faktoru, ktorá má protizápalový účinok. Monitorovanie hladiny liečiva a protilátok proti nemu umožňuje optimalizáciu liečby a jej prispôsobenie individuálnym potrebám pacienta. V laboratóriu Medirex, a. s., sú hladiny infliximabu a protilátok proti infliximabu stanovované na úseku špeciálnych metód metódou ELISA (z angl. enzyme-linked immunosorbent assay), enzýmovo značený imunotest s využitím pevnej fázy.

A3
Markery fibrózy pečene u pacientov s chronickými hepatopatiami

Piteková B.
Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF UK, Bratislava

Fibróza pečene je súčasťou hojivej odpovede po vírusovom alebo toxickom poškodení pečene. Rozsah fibrózy je dôležitý parameter na stanovenie prognózy u pacienta, ale aj na monitorovanie klinického priebehu hepatopatie. Zlatý štandard na stanovenie fibrózy pečene je biopsia. Keďže táto invazívna procedúra je asociovaná so signifikantným rizikom komplikácií, je v súčasnosti snaha hľadať nejaký neinvazívny fibromarker, ktorý by dokázal spoľahlivo posúdiť stupeň a priebeh fibrózy v pečeni. Práca prináša teoretický prehľad najnovších potenciálnych biochemických markerov a skórovacích systémov používaných v diagnostike hepatálnej fibrózy.

A4
Štúdium metabolickej aktivity buniek malígneho melanómu

Špaková I.[1], Rabajdová M.[1], Bolerázska B.[2]
[1]Ústav lekárskej a klinickej biochémie, LF UPJŠ Košice
*[2]Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Receptory pre vitamín D sú lokalizované aj v membráne mitochondrií proliferujúcich buniek. Mnoho nukleárnych transkripčných faktorov je aktivovaných tvorbou väzby 1,25(OH)2D na VDR a heterodimerizáciou s RXRα vo VDRE oblastiach DNA a môžu participovať na regulácii mitochondriálnej funkcie ovplyvnením transkripcie mitochondriálnej DNA. Napríklad nízka hladina aktívneho vitamínu D vedie k zvýšeniu hladiny a aktivity HIF-1α transkripčného faktora. Zároveň rakovinové bunky sú známe zmenou metabolizmu opísanou ako Warburgov efekt, ktorá vedie aj k aktivácii HIF, čím sa zvyšuje produkcia glykolytických enzýmov (napr. PDH) a potláča sa mitochondriálna biogenéza. V prezentovanej práci bol sledovaný vplyv tenzie kyslíka na metabolizmus melanínových buniek. Pri štúdiu vzoriek krvnej plazmy pacientov trpiacich

malígnym melanómom (MM) bol okrem výrazne zníženej koncentrácie vitamínu D pozorovaný nárast hladiny voľného NADH. Molekula NADH vzniká nielen v procese glykolýzy, ale je zároveň ako substrát najrýchlejšie detegovateľný pri onkometabolických zmenách buniek MM. Pozorovaný bol abnormálny nárast koncentrácie NADH a následný pokles so vzrastajúcim klinickým štádiom MM dokázaný aj štúdiom na tkanivových kultúrach. Zmena efektivity respirácie v hypoxickom mikroenvironmente vplývala na zmenu preferencie substrátu z glukózy na glutamín. V rámci experimentov *in vitro* sme pozorovali zníženie hladiny NADH v súlade s pozorovaním u pacientov s MM.

A5
Problematika stanovení volných plazmatických metanefrinů – vývoj, validace a implementace nové analytické metody do rutinní praxe klinické laboratoře

Rajská M., Procházková P., Loučka P.
SPADIA Lab, a. s.

Neuroendokrinní tumory představují heterogenní skupinu onemocnění s různou klinickou symptomatologií a etiopatogenezí. Pokud jsou správně diagnostikovány, mohou být úspěšně odstraněny a vyléčeny až v 90% případů. V případě, že tyto tumory nejsou diagnostikovány, mohou mít fatální následky pro lidský organismus. Včasná diagnostika, založena na biochemickém průkazu nadprodukce katecholaminů a jejich metabolitů, má proto zcela zásadní význam. Neuroendokrinní tumory, jako jsou feochromocytom nebo paragangliom, vykazují setrvalou nebo paroxyzmální nadměrnou produkci katecholaminů. Jejich 3-O-methylované metabolity, metanefrin (MN) a normetanefrin (NMN), jsou preferovány pro diferenciální diagnostiku feochromocytomu vzhledem k jejich vysoké diagnostické senzitivitě a specificitě.

V laboratorní diagnostice jsou pro stanovení volných plazmatických metanefrinů využívané metody kapalinové chromatografie s následnou spektrofotometrickou, fluorescenční či elektrochemickou detekcí, metody plynové chromatografie nebo imunoanalytické metody. Tyto metody mají mnoho nevýhod a omezení, např. náročná příprava vzorků a dlouhý čas analýzy u HPLC metod, nutný krok derivatizace u GC metod či interferující substance u imunoanalytických metod.

Našim cílem byl vývoj analytické metody stanovení volných metanefrinů v plazmě pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS), která eliminuje výše uvedená omezení, posouzení vhodnosti pro rutinní použití v diagnostické laboratoři a následná implementace metody do rutinní praxe.

A6
SM a vitamín D

Majerníková B.[1], Bucová M.[1], Cudráková-Čopíková D.[2], Turčány P.[2], Lisá I.[3], Gmitterová K.[3], Klimová E.[4], Michalík J.[5]
[1]Imunologický ústav LF UK, Bratislava
[2]I. neurologická klinika FNsP UK Bratislava, Centrum pre liečbu sclerosis multiplex
[3]II. neurologická klinika LF UK FNsP L. Dérera Bratislava, Ambulancia pre demyelinizačné ochorenia
[4]Klinika neurológie FNsP J. A. Reimana Prešov, Centrum pre liečbu a diagnostiku sclerosis multiplex
[5]Neurologická klinika UN Martin

Roztrúsená skleróza je chronická autoimunitná zápalová choroba CNS. Na vzniku SM sa podieľajú okrem genetickej predispozície aj faktory vonkajšieho prostredia (infekcie, slnečné žiarenie) a endogénne faktory ako vek,

imunita, pridružené choroby a stres. Zápal ako fundamentálny princíp chorôb sme sledovali pomocou endogénneho faktora, koncentrácie vitamínu D v sére. Získané výsledky sme korelovali s markermi závažnosti choroby – EDSS, MSSS, PI a H1-H6. Výsledky ukázali, že nižšie hladiny vitamínu D korelovali s horším priebehom choroby – s MSSS, indexom progresivity a H1-H6. Koncentráciu vitamínu D sme vyšetrili u 178 pacientov so SM. Výsledky vyšetrení hladiny vitamínu D v sérach pacientov so SM nám odhalili, že pacienti s najzávažnejšími stupňami choroby (H5 a H6) mali signifikantne nižšie hladiny vitamínu D ako pacienti s H1-H4 ($p = 0,0032$). Následne sme porovnali dve skupiny pacientov H1-H3 vs H4-H6 ($p = 0,0258$). Výsledky ukázali, že hladiny vitamínu D boli nižšie u pacientov, ktorí mali závažnejší priebeh choroby a s tým súvisiace vyššie MSSS skóre ($p = 0,0292$) a index progresie – PI ($p = 0,0144$ sign.). Vitamín D tak môže do určitej miery vysvetliť súvislosť medzi zápalovým procesom, vznikom a závažnosťou priebehu SM.

A7
Zmeny hladín AMH u žien v závislosti od veku

Tyrolová M.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Zaoberáme sa klinickým významom stanovenia Anti-Müllerovho hormónu u žien v súvislosti s posúdením ovariálnej rezervy. Úvodom našej práce sme načrtli teoretické pozadie tvorby a vývoja folikulov v ováriách, kde sa AMH vytvára a pôsobí. Stručne sme charakterizovali aktuálne poznatky o hormóne a jeho využití, ako aj vedomosti o problematike stúpajúceho veku rodičiek a problémov s tým spojených. Cieľom praktickej časti bolo štatisticky posúdiť výsledky vyšetrení na skúmanej vzorke pacientok z konkrétneho obdobia – októbra 2016. Skúmaný súbor pacientok tvorili ženy rôznych vekových kategórií, u ktorých sme mohli pozorovať variabilitu nameraných hodnôt meniacich sa s vekom. V praxi sa potvrdili naše poznatky z teoretickej časti, kde sme zaznamenali pokles hodnôt AMH so stúpajúcim vekom. Štatistické vyhodnotenie ďalej ukázalo, že existuje štatisticky významný rozdiel koncentrácií AMH medzi vekovými skupinami žien v päťročnom rozmedzí od 30 do 50 rokov. Práca potvrdzuje, že najväčší záujem žien o vyšetrenie AMH, a teda o otehotnenie, je medzi 31. – 35. rokom života – vo veku, ktorý je v súčasnosti považovaný za priemerný vek pôrodnosti.

GENETIKA

A8
Myeloproliferatívne neoplázie a ich charakteristika

Vidinská D.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Myeloproliferatívne neoplázie (MPN) sú chronické nádorové ochorenia krvotvorby, pri ktorých dochádza k nekontrolovateľnému množeniu krvotvorných kmeňových buniek. Zahrnujú skupinu viacerých druhov ochorení krvotvorby, pričom konkrétne diagnózy sa navzájom líšia tým, ktoré krvné bunky najviac postihujú. Medzi klasické podtypy MPN, tzv. Philadelphia negatívne, patria polycytémia vera (PV), esenciálna trombocytémia (ET), primárna myelofibróza (PM) a chronická myelocytová leukémia (CML). Nekontrolovateľné množenie buniek spôsobuje, že kostná dreň postupne stráca schopnosť produkovať zdravé krvné bunky a tvorba krvi sa presúva do sleziny, prípadne ju prevezme lymfatický systém. Pri ochoreniach MPN sa zvyšuje riziko trombózy a existuje riziko transformácie ochorenia do akútnej leukémie. Príznaky ochorení sú slabosť, únava, strata hmotnosti, zväčšenie sleziny a ďalšie príznaky viažuce sa už na konkrétny druh ochorenia. Samotná polycytémia vera prebieha v troch fázach a postihuje všetky zložky krvi. Zatiaľ čo prvé dve fázy vedú k postupnej erytrocytóze, v tretej fáze dochádza k fibróze kostnej drene, k zväčšeniu sleziny a poruchám jej funkčnosti. PV patrí medzi najčastejšie Ph negatívne MPN. Esenciálna trombocytémia patrí k nezhubným nádorovým ochoreniam postihujúcim krvné doštičky. Približne polovica pacientov nemá v čase diagnózy žiadne príznaky ochorenia a choroba sa diagnostikuje náhodne pri vyšetrení krvného obrazu z iných dôvodov. Zriedkavým ochorením s relatívne najbenígnejším priebehom zo skupiny Ph negatívnych myeloproliferatívnych neoplázií je primárna myelofibróza. Jej najčastejším prejavom je anémia a zväčšenie sleziny. Pri malom percente pacientov sa môže myelofibróza transformovať na akútnu myeloidnú leukémiu (AML).

Pri všetkých ochoreniach patrí potvrdenie prítomnosti mutácie V617F v *JAK2* géne k základným diagnostickým kritériám a základnému panelu vyšetrení pri MPN. *JAK2* je cytoplazmatická tyrozínkináza (Janusova kináza) hrajúca dôležitú rolu pri prenose signálu medzi membránovými receptormi hematopoetických rastových faktorov a intracelulárnymi signálnymi molekulami.

Odlíšiť konkrétne druhy ochorenia v rámci MPN je možné na základe nasledovného algoritmu molekulovej diagnostiky. Pozitivita na *JAK2* V617F potvrdzuje ochorenie PV, ktorej priebeh je sledovaný kvantifikáciou *JAK2*. V prípade negatívneho výsledku sa následne vyšetruje *JAK2* exón 12. Pozitívny výsledok je dôkazom PV, v opačnom prípade je PV vylúčená a ide o iné MPN – ET a PMF. V rámci týchto ochorení sa pri negatívnom výsledku na *JAK2* V617F postupuje vyšetrením na CALR, o ktorom bolo opísané, že mutácie v exóne 9 sa nachádzajú u 70 % *JAK2*-negatívnych ET a u 60 – 80 % pacientov s *JAK2*-negatívnou PMF, pričom u pacientov s PV sa nenachádza. Negativita mutácie na CALR si vyžaduje nasledovnú diagnostiku mutácie v *MPL* géne, ktoré môže byť ďalším pomocným diagnostickým markerom na potvrdenie diagnózy.

Samostatnú skupinu predstavuje CML, ktorá sa od prvých troch diagnóz odlišuje prítomnosťou Philadelphia chromozómu. Produktom Ph-chromozómu je fúzny gén *BCR-ABL* vznikajúci reciprokou translokáciou medzi chromozómami 9 a 22, ktorý je zároveň dôležitým markerom CML. Predstavuje

95 % prípadov CML a jeho kvantitatívne stanovenie metódou RT-PCR umožňuje identifikovať MRD (minimal residual disease) pacientov.

A9
Laboratórna práca vo FISH laboratóriu

Tóthová A. B.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) sa uplatňuje v procese diagnostikovania ochorenia, monitorovania dynamiky ochorenia a odpovede pacienta na terapiu. FISH je metóda, v ktorej dochádza k spojeniu molekulárnej biológie a cytogenetiky. Uplatňuje sa pri identifikácii chromozómových aberácií, ktoré sú zodpovedné za vznik ochorení. Na ich detekciu sa používajú fluorescenčne značné DNA sondy, ktoré sa nadväzujú na vyšetrovanú DNA pacienta na základe komplementarity. Laboratórna prax je z pohľadu laboranta veľmi zaujímavá. Pri práci vo FISH laboratóriu je potrebná precízna práca, pričom výsledok je závislý od dodržania zásad predanalytickej fázy vyšetrenia a od kvalitného spracovania biologického materiálu. Metodika prebieha v troch základných po sebe nasledujúcich krokoch: denaturácia DNA, hybridizácia a odmytie nešpecificky naviazaných hybridov. Až po zrealizovaní týchto krokov môže dôjsť k samotnému hodnoteniu preparátov a interpretácii výsledku. Výsledok FISH diagnostiky je súčasťou komplexného genetického vyšetrenia, ktoré poskytuje lekárom informácie o diagnóze, rizikovej skupine ochorenia a odpovedi pacienta na terapiu.

A10
HBOC syndróm z pohľadu klinického genetika a pacienta

Havrilová P., Vlčková Z., Konečný M.
GHC Genetics, s. r. o., Praha

Karcinóm prsníka patrí u žien stále medzi jedno z najrozšírenejších ochorení. Diagnostika a liečba zaznamenala v posledných desaťročiach výrazné pokroky, o čom svedčí aj fakt, že síce incidencia tohto ochorenia stúpla, no mortalita, naopak, klesla. Na tejto pozitívnej zmene sa vo veľkej miere podieľa preventívny mamografický skríning rakoviny prsníka v ženskej populácii. Navyše jednou z ďalších možností včasného odhalenia nádoru, a tým aj účinnejšej terapie je molekulárno-genetické vyšetrenie génov, ktorých mutácie sú asociované s celoživotne zvýšeným rizikom vzniku karcinómu prsníka, vaječníkov, príp. iných solídnych nádorov – kolorektálneho karcinómu, karcinómu pankreasu, prostaty, malígneho melanómu. Osoby indikované na DNA testovanie génov *BRCA1* a *BRCA2* musia spĺňať platné indikačné klinické kritériá a absolvovať genetické vyšetrenie u lekára – klinického genetika. Hereditárna forma karcinómu prsníka predstavuje 5 – 10 % všetkých diagnostikovaných nádorov prsníka. V mnohých prípadoch však pacienti chápu pojem hereditárny/dedičný v úplne inom zmysle a z toho dôvodu vznikajú v laickej verejnosti v súvislosti s pojmom „dedičný nádor“ mylné predstavy. Dôvodom, prečo rizikovým pacientom odporučiť práve genetické vyšetrenie, je nielen usmernenie v porozumení dedičnosti samej osobe, ale najmä v oboznámení s dosahom možného pozitívneho výsledku na ich budúci život a na život ich príbuzných.

A11
Detekcia RAS mutácií v liečbe metastatického kolorektálneho karcinómu

Házašová S.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Kolorektálny karcinóm (KRK) je celosvetovo tretie najčastejšie nádorové ochorenie. Z epidemiologických a genetických štúdií patrí KRK k multifaktorovým ochoreniam.

Aj napriek prevencii a dostupným skríningovým metódam je veľký počet pacientov diagnostikovaných až v pokročilých štádiách ochorenia. Na Slovensku sa približne 13 rokov používajú na liečbu pacientov s metastatickým KRK monoklonálne protilátky proti receptoru epidermálneho rastového faktora (anti-EGFRmoAbs), cetuximab a panitumumab. Hlavným problémom pri tejto liečbe je nedostatok jednoznačných prediktívnych markerov. Výsledky rozsiahlych štúdií ukázali, že klinický prospech z liečby anti-EGFRmoAbs majú len pacienti s nemutovaným *KRAS* génom. Tým sa genetické vyšetrenie mutácií v exóne 2, 3, 4 génu *KRAS* stalo nevyhnutnou súčasťou v diagnostike. V ďalších štúdiách sa odhalilo, že približne 50 % pacientov s nemutovaným *KRAS* nemá dostatočnú odpoveď na liečbu monoklonálnymi protilátkami. Preto je nevyhnutné pokračovať s identifikáciou mutácií v exóne 2, 3 a 4 génu *NRAS*. Pre správnu liečbu pacientov je preto dôležité detegovať mutácie v oboch génoch *KRAS* aj *NRAS*.

Súbor pacientov tvoria pacienti v období od 9/2016 do 9/2017. Uvádzame percentuálne zastúpenie jednotlivých mutácií v génoch *KRAS* a *NRAS*, vekové rozloženie skupiny. Do marca 2017 sme používali izolačný kit MagneSil a stripovú metódu StripAssay od ViennaLab. Pre skvalitnenie analýzy sme od marca 2017 zaviedli izoláciu DNA pomocou kitu High Pure Preparation. Vzorku následne analyzujeme použitím kitu KRAS mutation test a NRAS/BRAF mutation test. Táto metóda je založená na real time PCR. Princípom testu je amplifikácia špecifických sekvencií. Detegujeme mutácie v exónoch 2, 3, 4 a ich príslušných kodónoch 12, 13, 59, 61, 117 a 146.

Genetické vyšetrenie génu *KRAS*, ale rovnako aj génu *NRAS* sa stalo neoddeliteľnou súčasťou v diagnostike. Naším cieľom je poskytnúť lekárovi čo najrýchlejšie a najkvalitnejšie výsledky, aby mohol indikovať pacientovi rýchlu a cielenú terapiu.

A12
Diferenciálna diagnostika u pacientov so suspektným fenotypom Huntingtonovej chorey

Zrubcová M.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Neurodegeneratívne ochorenia predstavujú široké spektrum závažných ochorení, pri ktorých dochádza k neurodegenerácii mozgu. Medzi najčastejšie sa vyskytujúce dedičné neurodegeneratívne ochorenia patrí Huntingtonova chorea zaradená medzi polyglutamínové ochorenia. Je spôsobená expanziou CAG/CAA trinukleotidového opakovania v *IT15* géne lokalizovanom na chromozóme 4p16.3. V súčasnosti približne 1 % až 7 % pacientov s klinicky definovanou Huntingtonovou choreou nemá detegovanú mutáciu v *IT15* géne, a preto sa radia do skupiny suspektných Huntington-disease Like ochorení (HD-Like ochorenia). Na súbore 189 suspektných HD-Like pacientov a 10 suspektných SCA-pacientov sa analyzovalo 10 lokusov asociovaných s HD-Like ochoreniami (HDL1, HDL2, HDL4, SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, DRPLA, C9ORF72) doplnenými o dva lokusy na základe ich podobného fenotypového prejavu ako pri HD ochorenia (FXN, FTL). Pri práci sa využívali analýzy pomocou genotypizačných metód založených na princípoch klasickej PCR amplifikácie oblastí expanzií, ako aj Triplet-repeat primed PCR postup pre detekciu expanzií väčšieho rozsahu. Metóda Sangerovho sekvenovania sa využívala na presné stanovenie počtu repetitívnych opakovaní v jednotlivých lokusoch, ako aj pri analýze kódujúcej oblasti FTL a FXN lokusov. Pri genotypizácii súboru vzoriek 199 pacientov sa pri troch vzorkách identifikovala prítomnosť zvýšeného počtu kópií G4C2 repetície C9ORF72 lokusu. V lokuse FXN asociovanom s fenotypom Friedreichovej ataxie sme detegovali dvoch pacientov s homozygotným genotypom expanzie s viac ako 70 GAA opakovaniami a jedného pacienta s heterozygotným genotypom

expanzie s 70+ GAA opakovaniami. Na základe uskutočnenej analýzy je vhodné zahrnúť DNA diagnostiku lokusov C9ORF72 a FXN u pacientov so suspektným ochorením Huntingtonovej chorey.

A13
Molekulárno-cytogenetická diagnostika u pacienta s Triple-Hit B-Cell Lymphoma – kazuistika

Veselinyová D.[1], Biľová I.[1], Žákovičová A.[1], Juríková K.[1], Šprincová A.[1], Giertlová M.[1], Bernátová S.[1], Guman T.[2], Bešenyiová K.[2], Gabzdilová J.[2]

*[1]Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*
[2]Klinika hematológie a onkohematológie FN L. P. Košice

Triple-Hit B-Cell Lymphoma patrí k zriedkavo sa vyskytujúcim subtypom lymfómov, ktoré sú zvyčajne asociované so zlou prognózou a krátkym časom prežívania. Tento druh lymfómu je charakteristický cytogenetickými abnormalitami, ktoré zahŕňajú prestavby v génoch *MYC, BCL6, BCL2.* V kazuistike uvádzame pacienta, u ktorého boli pozorované dané chromozómové prestavby sprevádzané aj ďalšími genetickými abnormalitami. V júni 2017 bol na oddelenie Kliniky hematológie a onkohematológie FN L. P. Košice prijatý pacient s B-non-Hodgkinovým lymfómom pre progresiu ochorenia. Pacient bol v minulosti liečený na folikulový lymfóm, po liečbe dosiahol kompletnú remisiu, po 7 rokoch došlo k relapsu ochorenia. Po absolvovaní druhého cyklu liečby pacient opäť dosiahol kompletnú remisiu. V čase, keď bola na naše oddelenie prijatá vzorka periférnej krvi, išlo u pacienta už o druhý relaps so susp. progresom do DLBCL. V analyzovanej vzorke periférnej krvi bolo imunofenotypovou analýzou detegovaných približne 86,4 % patologických klonálnych B-lymfocytov. Na FISH analýzu sme použili štandardný vyšetrovací panel používaný pri DLBCL, ktorý pozostáva zo sond: *IgH, BCL2, BCL6, MYC, p53*. FISH vyšetrením sme potvrdili aj nález z molekulárneho vyšetrenia pomocou metódy MLPA, ktoré identifikovalo ďalšie chromozómové abnormality: +12, +7 a bialelickú deléciu génu *CDKN2A*. U pacienta sme identifikovali prítomnosť klonu s prestavbou, ziskami v génoch *MYC, BCL6, BCL2* a translokáciami t(14;18), t(8;14), čím sme potvrdili, že ide o Triple-Hit B-Cell Lymphoma. Toto ochorenie patrí k agresívnym formám B-bunkových lymfómov. Jeho zastúpenie v populácii je veľmi nízke, približne 5 %. Vo väčšine opísaných prípadov vzniká ochorenie *de novo*, ale u nami sledovaného pacienta vzniklo toto ochorenie sekundárne z FL.

A14
Monitoring bunkového chimérizmu u pacientov po alogénnej transplantácii hematopoetických kmeňových buniek

Tatayová L.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Akútna myeloidná leukémia (AML) patrí medzi najčastejšie hematoonkologické malignity. Výskyt v Európe sa pohybuje v rozmedzí 2 – 4 prípady na 100 000 obyvateľov. Incidencia AML sa zvyšuje spolu s vekom, najrizikovejšou skupinou sú pacienti nad 65 rokov. U detí tvorí približne 15 % leukémií, u dospelých až 80 %. Aj napriek úspechu moderných liečiv ostáva jedinou kuratívnou liečbou transplantácia hematopoetických kmeňových buniek (HSCT). Od roku 2015 je v centrálnom laboratóriu Medirex zavedená molekulová metóda Mentype DIPscreen určená na skríning informatívnych polymorfných (inzerčných/delečných) markerov na odlíšenie genotypu pacienta a darcu. Výsledok analýzy je kvalitatívny a uvádza sa vo forme pacient-špecifických a donor-špecifických HLA markerov. Vyšetrenie je potrebné realizovať pred alogénnou transplantáciou hematopoetických kmeňových buniek (aloHSCT). Na monitoring bunkového

chimérizmu po aloHSCT sa používa druhá časť analýzy Mentype DIPquant. Ide o vysokocitlivý komplexný systém, pomocou ktorého je možné kvantifikovať vopred určené informatívne markery. Výsledok sa uvádza vo forme percentuálneho zastúpenia autológnej a donorskej krvotvorby u pacienta po aloHSCT. Uvedenou molekulovou metódou je možné sledovať úspešnosť transplantácie, pravidelne monitorovať stav pacienta či zachytiť možný relaps ochorenia. Od zavedenia metodiky súbor pozostáva zo 66 vyšetrených pacientov, pričom najčastejšou diagnózou vedúcou k aloHSCT je práve AML. Najviac zastúpenou vekovou skupinou sú pacienti od 51 do 65 rokov. Úspešnosť aloHSCT je veľmi priaznivá, vo vyšetrovanom súbore prevláda molekulová odpoveď hodnotená ako mikrochimérizmus, čo znamená, že u jednotlivých pacientov je po transplantácii detegovaná autológna krvotvorba do 1 %. V dvoch prípadoch bolo zaznamenané úmrtie pacientov, nie však pre neúspešnú aloHSCT, ale ako dôsledok multiorgánového zlyhania.

IMUNOLÓGIA

A15
Úloha zápalu pri gliómoch mozgu

Klučková K.[1], Maruščáková L.[1], Suchánková M.[1], Rychlý B.[2], Kozák J.[3], Šteňo J.[3], Tibenská E.[4], Szaboová K.[4], Bucová M.[4]

[1]Imunologický ústav LF UK, Bratislava
[2]Cytopathos, spol. s r. o., Bratislava
[3]Neurochirurgická klinika LF UK, SZU a UNB, Bratislava
*[4]Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Úvod: Chronický zápal môže potenciovať rozvoj nádorov, ale nádorové bunky využívajú mechanizmy zápalu na potenciáciu svojej agresivity. Cieľom našej práce bolo zistiť, či vybrané ukazovatele v krvi odrážajú grading gliómov a ich dynamiku po operácii.

Súbor pacientov a metodika: Vzorky krvi pochádzali od pacientov s gliómami z Neurochirurgickej kliniky LF UK a FN v Bratislave. Vyšetrili sme 55 pacientov s gliómami; 20 pacientov malo gliómy s gradingom II, 5 pacientov s gradingom 3 a 18 pacientov s gradingom IV. Percento CD14+ buniek a NK buniek sa stanovilo prietokovou cytometriou (Medirex, s. r. o) a hladina cytokínov IL-6 a IL-10 Elisa testom.

Výsledky: Pacienti s gliómami mali vyšší počet leukocytov, percento Neu (82,5 %) a nižší počet Ly (12,07 %), z čoho vyplynul aj vysoký Neu/Ly pomer (12,42), ktorý svedčí pre kritický stav a chronický zápal. Pacienti s glioblastómami mali výrazne nižšie percento CD14 pozitívnych monocytov a vyššie percento NK buniek. Po operácii došlo v prípade stupňa IV k poklesu percenta NK buniek. Pacienti so stupňom IV mali nižšiu hladinu IL-6, ktorý po operácii pri všetkých stupňoch stúpol. Hladina IL-10 bola u pacientov so stupňom IV signifikantne vyššia. Po operácii klesla koncentrácia IL-10 u pacientov so stupňom II. Po operácii došlo k poklesu pomeru IL-10/IL-6 pri všetkých stupňoch.

A16
Výskyt HLA-DQ2 a HLA-DQ8 v slovenskej populácii v súvislosti s výskytom celiakie

Huťa T.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Celiakia je chronické zápalové ochorenie čreva, do určitej miery geneticky podmienené. Bolo preukázané, že na genetickej predispozícii sa podieľajú najmä gény z hlavnej histokompatibilnej oblasti (MHC). Odhaduje sa, že tento komplex prispieva ku genetickej náchylnosti na celiakiu až v 40 %, pričom úloha iných možných génov je minimálna. Vo väčšine štúdií je 90 – 95 % pacientov nositeľmi heterodiméru HLA-DQ2, ktorý je kódovaný alelami DQA1*05 a DQB1*02 v polohe cis (častejšie v centrálnej a severnej Európe) alebo v polohe trans (častejšie v krajinách Stredomoria). Zvyšní pacienti (5 – 10 %) často nesú druhý heterodimér, HLA-DQ8 (najmä u pôvodných obyvateľov Južnej Ameriky) kódovaný alelami DQA1*03 a DQB1*0302. Pacienti, ktorí nie sú nositeľmi DQ2 alebo DQ8, môžu vykazovať aspoň jednu samostatnú DQ2 alelu. Je opísaných veľmi málo prípadov, pri ktorých chýbajú obidve alely.

Napriek tomu, že samotná prítomnosť antigénov HLA-DQ2 alebo HLA-DQ8 sama osebe nie je spúšťačom nástupu celiakie (až 25 – 30 % zdravej populácie je nositeľmi týchto heterodimérov v porovnaní s 95 % chorými na celiakiu), ich prítomnosť významne zvyšuje možnosť (50- a 100-násobne) ochorieť na celiakiu.

Cieľom našej práce bolo štatisticky zhodnotiť výskyt HLA-DQ2 a HLA-DQ8 v slovenskej populácii v súvislosti s výskytom celiakie, ktorá bola hodnotená tak špecifickými sérologickými testami, ako aj hodnotením bioptických vzoriek podľa MARSH klasifikácie.

A17
Paroxyzmálna nočná hemoglobinúria

Bódy G.[1], Šarišský M.[2]
*[1]Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*
[2]Ústav farmakológie LF UPJŠ, Košice

Paroxyzmálna nočná hemoglobinúria (PNH) je zriedkavé získané ochorenie postihujúce hematopoetické kmeňové bunky kostnej drene. Prejavuje sa intravaskulárnou hemolýzou, trombofíliou a cytopéniou rôznej závažnosti. Vzniká v dôsledku nemalígnej klonálnej expanzie hematopoetických kmeňových buniek, v dôsledku jednej alebo viacerých somatických mutácií génu *PIG-A* na chromozóme X. V závislosti od druhu mutácie dochádza k poruchám biosyntézy a expresie GPI (glykofosfatidylinozitolových) kotiev na povrchu buniek a následne aj proteínov CD55 a CD59, ktoré zohrávajú úlohu v ochrane pred lytickým účinkom komplementu. Chýbanie CD55 a CD59 na povrchu erytrocytov je zodpovedná za intravaskulárnu hemolýzu spojenú s klasickou PNH.

Štandardnou metódou na dôkaz defektu GPI kotiev je prietoková cytometria. Vyšetrenie sa v našich laboratóriách uskutočňuje z čerstvej EDTA krvi, v ktorej sa analyzujú populácie erytrocytov (CD59), neutrofilov (CD24,CD157) a monocytov (CD14,CD157), u každej populácie pomocou aspoň dvoch rozdielnych s GPI-asociovaných reagencií, pričom pri leukocytoch jedna z reagencií má byť FLAER (fluoresceínový variant proaerolyzínu). Každú uvedenú bunkovú populáciu je potrebné identifikovať na základe expresie jedného líniovo-špecifického markera.

Prietoková cytometria predstavuje v súčasnosti základnú metódu v diagnostike PNH, ktorá by sa mala vylúčiť pri nejasných trombózach a cytopéniách. V budúcnosti možno očakávať ďalšie pokroky v diagnostike PNH najmä pomocou genetických metód.

A18
Cyklické zmeny buniek imunitného systému v reprodukčných procesoch ženy

Onderová B.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Úspešné tehotenstvo je výsledkom pôsobenia kombinácie množstva faktorov, spomedzi ktorých bunky a molekuly imunitného systému patria k tým najdôležitejším. Poruchy v regulácii týchto buniek a molekúl môžu spôsobiť poškodenie maternálnej imunitnej tolerancie voči plodu a spôsobiť tak jeho odmietnutie. TH1/TH2 lymfocytová nerovnováha je príkladom takýchto imunologických abnormalít. Jedným z najdôležitejších faktorov, ktoré zohrávajú primárnu úlohu v kontrole maternálnej imunitnej odpovede a vedú k úspešnému tehotenstvu, sú regulačné T-lymfocyty (Treg). Potláčajú nadmernú imunitnú odpoveď iných buniek a zároveň zachovávajú toleranciu k vlastným antigénom.

Zatiaľ čo prevažný záujem bol investovaný do analýzy imunologických zmien počas tehotenstva, prekvapivo málo sa vie o fluktuácii počtov imunitných buniek počas menštruačného cyklu. Publikácie zaoberajúce sa týmto fenoménom postupne narastajú. Menštruačný cyklus predstavuje model štúdia fyziologického efektu hormonálneho kolísania *in vivo* na imunitné funkcie. Môže ovplyvňovať počty imunitných buniek a ich aktivitu počas štyroch fáz, ako sa preukazuje v prípade Treg buniek.

Cieľom tejto práce bolo pozorovať hladiny Treg, TH1 a TH2 lymfocytov v rôznych fázach menštruačného cyklu na základe hladín reprodukčných hormónov.

VARIA

A19
Amyloidóza – kazuistika

Remiašová S.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Kazuistika predstavuje 48-ročného pacienta s diagnózou systémová amyloidóza. Pri prvom vyšetrení mal objektívne prítomný, nápadne veľký jazyk, hematómy v oblasti očníc a anamnézu syndrómu karpálneho tunela. Hlavným cieľom je predstaviť raritnú chorobu, spracovať rešerš k zadanej téme a získať ucelené teoretické a praktické poznatky o tejto diagnóze. Amyloidóza je choroba charakterizovaná uložením amyloidu do tkanív, s následnou poruchou ich funkcie. Raz uložené ložiská amyloidov sa už nedajú rozpustiť, a preto je dôležité včasné rozpoznanie choroby a skorý zásah lekára. Vždy je na prvom mieste nájsť príčinu a jej liečbou zastaviť ďalšie ukladanie a predísť možným komplikáciám. Amyloidóza sa delí na lokalizovanú na jeden orgán a systémovú s postihnutím viacero orgánov. Systémové amyloidózy môžu byť hereditárne, ale najčastejšie sú získané, z nich 70 % tvorí primárna AL amyloidóza. Na diagnostiku amyloidózy je dôležitý nález amyloidových fibríl zafarbených Kongo červeňou pri histologickom vyšetrení. Pri podozrení na AL amyloidózu potom doplníme vyšetrenie kostnej drene. Dôležité je o tejto diagnóze vedieť a myslieť na ňu v rámci diferenciálnej diagnostiky, napr. pri koncentrickej hypertofii srdca či proteinúrii s nefrotickým syndrómom, pri elevovaných hepatálnych enzýmoch, neuropatii atď. Hlavný prínos kazuistiky je získať nové skúsenosti a poznatky o tejto vzácnej diagnóze.

A20
Úloha imunitnej odpovede v procese vzniku nádorov kolorekta

Gaálová E.[1], Janega P.[1, 2, 3]
[1]Ústav patologickej anatómie LF UK, Bratislava
[2]Ústav normálnej a patologickej fyziológie, SAV, Bratislava
*[3]**MEDIREX** GROUP ACADEMY, n. o.*

Úvod: Kolorektálny karcinóm patrí medzi najčastejšie onkologické choroby s vysokou mortalitou. V jeho vývoji zohráva dôležitú úlohu imunitný systém. Na jednej strane môže potlačiť nádorový rast, na druhej strane sa môže podieľať na selekcii rezistentných nádorových buniek. Cieľom práce bolo posúdiť aktiváciu imunitného systému v nádoroch hrubého čreva so zameraním sa na fenotyp zápalových buniek.

Materiál: Bolo analyzovaných 21 archívnych FFPE vzoriek nádorov kolorekta zahrňujúcich štyri prípady dobre diferencovaného, 12 prípadov stredne diferencovaného, jeden prípad nízko diferencovaného a štyri prípady hlienotvoreného adenokarcinómu. Fenotyp zápalového infiltrátu so zameraním sa na cytotoxické a pomocné T-lymfocyty a histiocyty bol vyšetrený imunohistochemicky.

Výsledky: V nádoroch hrubého čreva ako aj v okolitom nádorom nepostihnutom tkanive je pozorovaná prítomnosť tak CD8+ cytotoxických a CD4+ pomocných T-lymfocytov, ako aj CD68+ histiocytov. So stúpajúcim gradingom nádoru dochádza k signifikantnému poklesu CD4+ (1,3 ± 0,5 % v G1 vs 0,33 ± 0,08 % v G2u) ako aj CD68+ (5,5 ± 0,56 % v G1 vs 4,1 ± 0,51 % v G2) buniek.

Diskusia: Zloženie imunitných buniek v okolí nádoru môže ovplyvniť odpoveď organizmu na vývoj nádorov, a tým aj prognózu ochorenia. Pokles v súvislosti so zvyšujúcim sa gradingom nádoru

môže byť následkom, ale aj príčinou progresie nádoru. Pokrok v porozumení mechanizmov protinádorovej imunitnej odpovede má význam na zlepšenie prognózy nádorových chorôb.

A21
Molekuly TREM-1 a HMGB1 a ich expresia v tkanivách gliómov

Maruščáková L.[1], Filová B.[2], Rychlý B.[3], Gomolčák P.[3], Kozák J.[5], Poljak Z.[6], Kopáni M.[2], Polák Š.[4], Matejčík V.[5], Šteňo J.[5], Bucová M.[1]

[1]Imunologický ústav LF UK, Bratislava
[2]Ústav lekárskej fyziky, biofyziky, informatiky a telemedicíny LF UK Bratislava
[3]Cytopathos, s. r. o., Bratislava
[4]Ústav histológie a embryológie LF UK Bratislava
[5]Neurochirurgická klinika LF UK Bratislava
[6]Ústav patologickej fyziológie LF UK Bratislava

V našej práci chceme poukázať na zápalový proces v patogenéze gliómov vyšetrením expresie zápalových molekúl TREM-1 a HMGB1 v tkanivách gliómov. Vzorky tkanív pochádzali od pacientov z Neurochirurgickej kliniky LF UK a FN v Bratislave. Spolu sme vyšetrili 39 pacientov. Expresiu TREM-1 a HMGB1 sme dokazovali pomocou protilátok anti-TREM-1 a anti-HMGB1. Preparáty sme prezerali pomocou svetelnej mikroskopie a hodnotili pomocou programu ImageJ. V preparátoch tkanív s gradingom IV sme pozorovali expresiu TREM-1 a HMGB1 v pseudopalisádovito usporiadaných bunkách, v bunkách roztrúsených v tkanive a v perivaskulárnych priestoroch. Zaznamenali sme výrazný rozdiel medzi skupinami nádorov s gradingom II a IV, v zmysle pozitívnej asociácie s rastúcim gradingom nádorov. Pri tkanivách s gradingom IV sme zaznamenali kolokalizáciu TREM-1 a HMGB1. Plocha vykazujúca expresiu TREM-1 pri nádore s gradingom II vykazovala priemerné hodnoty < 1 %. V nádore s gradingom IV to bolo až 14 %. Pri molekule HMGB1 to bolo pri nádoroch s gradingom II s priemernými hodnotami expresie < 2 %, kým pri gradingu IV až 18 %. Výsledky našej práce ukazujú prítomnosť expresie molekúl TREM-1a HMGB1 v tkanivách gliómov, ktoré vykazujú vyšší stupeň expresie pri gliómoch gradingu IV – vysokomalígneho glioblastoma multiforme, čo môže poukazovať na ich úlohu v nádorovej patogenéze glioblastoma multiforme.

A22
Bioinformatika v službách biomedicíny

Kucharík M.
Geneton, s. r. o.

Sekvenovanie genómu, ktoré sa stáva čoraz dostupnejším aj pre medicínsku prax, generuje nesmierne množstvo dát vo veľkostiach rádovo GB-TB. Zhromažďovaním, vizualizáciou a analýzou týchto dát sa zaoberá pomerne mladá vedná disciplína – bioinformatika. Jedným z medicínskych aplikácií sekvenovania je aj TrisomyTest, ktorý vie odhaliť genetické poruchy plodu len z dát získaných sekvenovaním krvi tehotnej pacientky. V príspevku načrtneme postup spracovania týchto dát na získanie výsledku pre nepohlavné aneuploídie a aj niektoré metódy vylepšenia tejto diagnostiky (odhalenie pohlavných aneuploídií a subchromozomálnych aberácií). Spomenieme aj ďalšie možnosti využitia týchto dát pre výskum v oblasti populačnej genetiky – napríklad stanovenie populačnej frekvencie variantov pre danú populáciu. Sekvenačné údaje môžu slúžiť na diagnostikovanie genetického ochorenia, no i na identifikáciu daného pacienta, čo z nich robí veľmi citlivý osobný údaj. Preto je nutné

tieto dáta uchovávať vo forme, kde nehrozí ich zneužitie neoprávneným užívateľom, ale zároveň je možné tieto dáta používať pre výskum. Na tento účel popíšeme vyvíjaný nástroj VarLock.

A23
Análna intraepiteliálna neoplázia – nový fenomén

Vavráková I., Boháčiková D., Šmocerová L., Bodnár J.
Alpha Medical, s. r. o.

Analná intraepiteliálna neoplázia (AIN) je premalígna lézia análnej sliznice, ktorá je prekurzorom rakoviny análneho otvoru. Hoci rakovina análneho otvoru je relatívne zriedkavá, miera tejto malignity neustále rastie nielen vo svete, ale aj na Slovensku a medzi niektorými vysokorizikovými populáciami výskyt análneho karcinómu môže prevyšovať výskyt rakoviny hrubého čreva.

Rizikové faktory pre AIN a rakovinu konečníka pozostávajú z klinických faktorov a správania, ktoré súvisia so získaním a s pretrvávaním infekcie ľudským papiloma vírusom (HPV). Najsilnejšie rizikové faktory súvisiace s HPV sú infekcia HIV, praktizovaný análny pohlavný styk a vysokorizikové sexuálne správanie. História HPV-sprostredkovanej rakoviny pohlavných orgánov, ktorá naznačuje infekciu s onkogénnym HPV kmeňom, je ďalším rizikovým faktorom AIN/análneho karcinómu. Vzhľadom na to, že je známe, že u niektorých jedincov dochádza k progresii AIN až po análny karcinóm v priebehu niekoľkých rokov, pri niektorých vysokorizikových populáciách je nutné uvažovať o primeranom skríningu podobne, ako je to pri karcinóme krčka maternice.

Hoci chýbajú randomizované kontrolované štúdie hodnotiace skríning a výsledky liečby, odborníci podporujú rutinné skríningy AIN u vysokorizikovej populácie. Skríning sa vykonáva pomocou análnych cytologických vyšetrení podobných tým, ktoré boli vykonané v programoch skríningu rakoviny krčka maternice, spolu s priamym hodnotením tkaniva a biopsiou pomocou anoskopie s vysokým rozlíšením.

Zníženie, resp. včasný záchyt AIN a analógovej rakoviny bolo preukázané v štúdiách, v ktorých boli vysokorizikové populácie očkované proti onkogénnym kmeňom HPV. V súčasnosti CDC odporúča, aby boli populácie s vysokým, resp. primeraným rizikom preočkované proti infekcii HPV pomocou štvorvalentných alebo nešpecifických vakcín.

Pre klinických lekárov je dôležité, aby boli oboznámení s AIN a úlohou vakcinácie proti HPV, najmä u vysokorizikových populácií.

A24
Výskyt subtypov a rezistencie HIV na Slovensku v rokoch 2015 – 2016

Čereš A.[1], Staneková D.[2], Hábeková M.[2], Drobková T.[2], Mojzesová M.[2]
[1]Národná transplantačná organizácia
[2]Národné referenčné centrum pre prevenciu HIV/AIDS

Infekcia vírusom ľudskej imunodeficiencie, HIV patrí medzi najzávažnejšie infekcie súčasnosti. Od roku 1983 do roku 2015 bolo vo svete zaznamenaných 70 miliónov prípadov HIV infekcie. Z toho u 35 miliónov HIV-pozitívnych jedincov sa infekcia dostala do terminálneho štádia AIDS s letálnymi následkami. Slovensko patrí ku krajinám s najnižším výskytom HIV infekcie v EÚ. V rokoch 2015 – 2016 bola infekcia HIV potvrdená u 173 novodiagnostikovaných osôb.

Cieľom práce bola analýza výskytu HIV subtypov a kmeňov HIV rezistentných na ART v Slovenskej republike u HIV-pozitívnych pacientov novodiagnostikovaných v rokoch 2015 – 2016. Sledovali sme aj výskyt alely HLA-B*57:01 zodpovednej za hypersenzitívnu reakciu na Abacavir u liečených HIV-infikovaných pacientov. Testovaniu HIV subytpov a rezistencie vo vzorkách krvi

pacientov predchádzala RT-PCR a fluorescenčná sekvenácia HIV-1 cDNA. Prítomnosť alely HLA--B*57:01 sme sledovali pomocou izolácie genómovej DNA a PCR-SSP.

V skupine 66 novodiagnostikovaných HIV-pozitívnych pacientov sme na základe fylogenetickej analýzy pozorovali najvyšší výskyt subtypu B, a to u 53 (80,3 %) pacientov, 10 (15,2 %) pacientov bolo infikovaných HIV-1 subtypom A, 1 (1,5 %) subtypom C, 1 (1,5 %) CRF02_AG a 1 (1,5 %) CRF01_AE. V skupine 144 HIV-pozitívnych pacientov sme dokázali výskyt HLA-B*57:01 alely u 10 (7 %) osôb.

Analýzou sekvencií RT a Pro sme dokázali výskyt 18 mutácií asociovaných s rezistenciou na ART u 14 (18,4 %) pacientov, a to 8 (44,4 %) mutácií na NRTIs, 9 (50 %) na NNRTIs a 1 (5,6 %) na PIs. Pritom u 9 (11,8 %) pacientov mutácie spôsobili priamo rezistenciu na ART, a to u 2 (2,7 %) na NRTIs, u 5 (6,7 %) na NNRTIs a u 1 (1,3 %) súčasne na NRTIs aj NNRTIs. V skupine 144 HIV--pozitívnych pacientov sme potvrdili prítomnosť alely HLA-B*57:01 zodpovednej za hypersenzitívnu reakciu u 10 (7 %) HIV pozitívnych pacientov.

Vzhľadom na narastajúci trend výskytu infekcie HIV na Slovensku je potrebné variabilitu HIV aj naďalej sledovať tak pre epidemiologické, ako aj terapeutické účely.

Táto práca bola vytvorená realizáciou projektu Centrum excelentnosti environmentálneho zdravia, ITMS č. 26240120033, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

A25
Serózna meningitída – kazuistika

Jacák Š., Procházková O.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

V prednáške autor popisuje priebeh ochorenia u mladého pacienta s cefaleou a febríliami. Na základe laboratórnych analýz bola stanovená diagnóza seróznej meningitídy. V mikroskopickom náleze boli prítomné iba monocyty, ktorých počet bol určený v likvorologickom laboratóriu na hodnotu 712/3. Okrem pleocytózy bola v likvore prítomná aj proteinocytologická disociácia.

Touto kazuistikou autor chcel poukázať na diskrepanciu medzi klinickým obrazom meningitídy s korelujúcimi biochemickými výsledkami analýz likvoru a bakteriologickými vyšetreniami. Kultivácia likvoru a dôkazu voľných bakteriálnych antigénov bola negatívna. Vyšetrenie protilátok proti vírusom v likvore ako aj priamy dôkaz DNA metódou PCR boli takisto negatívne. Diapazón analyzovaných vírusov: HSV-1, 2, CMV, EBV, VZV, chrípka A, B.

Pacient podstúpil okrem lumbálnej punkcie aj zobrazovacie vyšetrenia hlavy (CT, MRI) s nálezom bez patologických zmien. Sérologické vyšetrenia z krvi, krvný obraz, biochemická analýza a zápalové markery boli v medziach normy.

A26
Invazívna aspergilóza – kazuistika

Gašpar M.
*Medirex, a. s., člen **MEDIREX** GROUP*

Invazívna aspergilóza (IA) je závažná systémová mykóza s rýchlou progresiou. Vyskytuje sa predovšetkým u jedincov s výrazným deficitom imunity, medzi ktorých patria najmä pacienti s akútnou leukémiou a po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek. Letalita na toto ochorenie predstavuje podľa rôznych autorov hodnotu 30 % až 95 %. Rozhodujúce pre záchranu života je včasné stanovenie diagnózy, ktoré sa nezaobíde bez interdisciplinárnej spolupráce viacerých odborností – ošetrujúcich lekárov, rádiológov, klinických mikrobiológov a iných. Rovnako podstatné je promptné podávanie systémových antimykotík s účinkom na vláknité huby. Pôvodcom IA sú zástupcovia rodu *Aspergillus.* Patria medzi mikroskopické vláknité huby, bežne sa vyskytujúce v prostredí okolo nás. K prenosu infekčných častíc (konídie,

spóry, úlomky mycélia) z prostredia do ľudského organizmu dochádza predovšetkým vzdušnou cestou – vdýchnutím. Klinicky najvýznamnejšie druhy, ktoré sa dávajú do súvislosti so vznikom IA, sú *A. fumigatus, A. flavus, A. niger* a *A. terreus.* Autor opisuje kazuistiku pacientky hospitalizovanej na onkologickej klinike, u ktorej došlo k tejto závažnej infekcii. Jej zdravotný stav vyústil do multiorgánového zlyhania a skončil sa smrťou. Suponovaná diagnóza IA bola potvrdená aj post mortem na základe histologického vyšetrenia vzorky pľúcneho tkaniva.

A27
Rh weak/variant

Michalíková B.
Medirex, a. s., člen ***MEDIREX*** *GROUP*

Rh systém je druhý najvýznamnejší skupinový systém u človeka. Skladá sa zo 6 alel (C, c, D, d, E, e), z ktorých 5 (C, c, D, E, e) podmieňuje tvorbu špecifických antigénov a šiesta (d) je apomorfná (nefunkčná). Jednotlivé antigény systému Rh sú určené troma pármi génov. Miesta, ktoré nesú gény Rh, sú na chromozóme tak blízko seba, že sa nikdy neoddeľujú, a preto prechádzajú z generácie na generáciu ako génový komplex. Počas fylogenézy sa utvorilo 8 typov génových kombinácií: cde, Cde, cdE, CdE, cDe, CDe, cDE a CDE. V Rh systéme poznáme 6 antigénov. Jeden z najsilnejších je antigén D. Je to súbor epitopov na povrchu extramembránovej časti Rh D proteínu. D antigén obsahuje viac ako 30 epitopov. Väčšina populácie je Rh D pozitívna, 15 % je Rh D negatívna. Keď sú tieto epitopy len slabo exprimované alebo ak niektoré chýbajú, vznikajú variácie fenotypu D. Variantný fenotyp D má menej ako jedno percento populácie. Pacienti s takouto krvnou skupinou sú indikovaní na ďalšiu špecifikáciu D w/v antigénu s použitím molekulovo-genetických metód na vyššom pracovisku. Iba genetické vyšetrenie dokáže rozlíšiť, či ide o fenotyp weak, alebo variant.

POSTERY

Poster	Autor	Názov
P1	Ondreičková V., Landlová D., Lukačková R.	**Cytogenetické vyšetrenie chóriových klkov**
P2	Olexa M., Šebová I., Čverha M., Homolová M.	**Kazuistika pacienta s otitis media acuta komplikovaná mastoitídou, purulentnou meningitídou a trombózou žilného splavu**
P3	Fülöp M., Ferianec V., Borošová M., Mičulíková L., Ďuračková Z.	**Účinok polyfenolových prírodných látok na organizmus a oxidačný stres po hysterektómii**
P4	Tomašková D.	**Molekulárna analýza dedičných ochorení u plemien Cavalier King Charles Španiel a Anglický kokeršpaniel**
P5	Loučka P., Rajská M., Procházková P.	**Hmotnostní spektrometrie v rutinní laboratorní diagnostice**
P6	Bolerázska B., Špaková I., Ďurovcová E.	**Vitamín D a nádorové mikroprostredie malígneho melanómu**
P7	Duranková S.	**Diagnostika autoprotilátok proti antigénom bunkového jadra**
P8	Kovačič T., Lipták B., Kaprinay B., Gáspárová Z., Janega P.	**Farmakologické ovplyvnenie expresie endotelovej NO syntázy a NFκB v myokarde hypertriglyceridemických potkanov**
P9	Matiková V., Bašistová K.	**Prehľad genetických zmien u pacientov s akútnou myeloblastovou leukémiou**
P10	Donauerová A., Hučková D., Dická E., Buzássyová D.	**Kazuistika purulentných meningitíd a diagnostika likvorologickým panelom**
P11	Laubertová L., Garaiová I. Muchová J., Žitňanová I.,	**Má emulzia rybieho oleja potenciál zlepšiť život diabetických pacientov?**
P12	Horváthová M., Országhová Z., Laubertová L., Šišková K., Sabaka P., Rohdewald P., Ďuračková Z., Muchová J.	**Vplyv polyfenolového extraktu z dreva duba letného - Robuvitu® na markery oxidačného stresu a aktivitu antioxidačných enzýmov u zdravých dobrovoľníkov – pilotná štúdia**

P13	Štepo M., Tvrdá A., Dižová S., Kuriaková J., Raždíková A., Dolinajcová M., Perďochová D., Kavcová T., Nováková E.	**Identifikácia mykobaktérií v klinickom laboratóriu pomocou MALDI-TOF MS**
P14	Oravcová A., Ondreičková V., Babišová A., Lukačková R.	**Molekulová analýza prítomnosti HR-HPV vo vzorkách sterov z krčka maternice – štatistické vyhodnotenie analyzovaného súboru**
P15	Majsniarová L.	**Validácia RNA izolačných metód**
P16	Szentesiová Z., Országhová Z., Paduchová Z., Horváthová M., Žilinská Z., Trebatický B., Muchová J.	**Porovnanie hladín zápalových markerov a markerov oxidačného stresu v skupinách pacientov pred transplantáciou obličky a po nej**
P17	Patasi C., Verchovodková V., Landlová D., Ondreíčková V., Tomka M., Tomková E., Lukáčková R., Barošová J.	**Parciálna monozómia 9p u 4-ročného dieťaťa – kazuistika**
P18	Veselá G., Blahová A., Lengyelová K., Oravcová A., Lukačková R., Žákovičová A., Juríková K.	**Význam chromozómových aberácií pri BCR-ABL negatívnych myeloproliferatívnych neopláziách**
P19	Krajčíková M.	**Genetická predispozícia na osteoporózu**
P20	Schlosserová D., Pěnčíková M.	**Akútne myeloidné leukémie z pohľadu molekulárnej biológie**
P21	Juríková K., Žákovičová A., Oravcová A., Václavová V., Tomka M., Durošková M., Večeřová D., Marcinek J., Železníková T.	**Myelodysplastický syndróm s komplexným karyotypom – kazuistika**
P22	Smetana J., Wayhelová M., Oppelt J., Szturz P., Almasi M., Adam Z., Hajek R., Kuglik P.	**Chromothripsis 18 in multiple myeloma patient with rapid extramedullary relapse**
P23	Olejárová M., Dobišová A., Tibenská E., Szaboová K., Bucová M.	**Moderné zápalové markery a ich úloha vo včasnej diagnostike a monitorovaní sepsy**

P1
Cytogenetické vyšetrenie chóriových klkov

Ondreičková V., Landlová D., Lukačková R.

Stanovenie konštitučného karyotypu vzorky buniek biopsie chóriových klkov sa vykonáva pri klinickom podozrení na konkrétnu cytogenetickú aberáciu a/alebo na vylúčenie akejkoľvek chromozómovej aberácie v rámci diferenciálnej diagnostiky geneticky podmienených vrodených chorôb a syndrómov plodu. Biopsiu chóriových klkov je možné realizovať už v prvom trimestri najskôr však od 10. týždňa gravidity. Na oddelení klinickej genetiky Medirex sa začali vzorky z biopsie chóriových klkov vyšetrovať v máji 2012. Z molekulových metód používame metódu QF-PCR, pri ktorej stanovujeme počet chromozómov 13, 15, 16, 18, 21, 22, X, Y. Na vylúčenie kontaminácie vzorky materským tkanivom porovnávame vzorku s krvou matky. Ak je k dispozícii dostatok materiálu, časť vzorky použijeme na založenie dlhodobej kultivácie použitím kultivačného média PrenaPlus. Približne po 14 dňoch získame preparáty a stanovíme konštitučný karyotyp. Poster bude prezentovať naše 5-ročné výsledky molekulového a cytogenetického vyšetrenia chóriových klkov.

P2
Kazuistika pacienta s otitis media acuta komplikovaná mastoitídou, purulentnou meningitídou a trombózou žilného splavu

Olexa M., Šebová I., Čverha M., Homolová M.

Úvod: Otitis media acuta (OMA) je časté ochorenie u detí. Každé dieťa aspoň raz v živote prekoná toto ochorenie. Medzi hlavné príčiny radíme: dysfunkciu Eustachovej trubice, vírusy, ktoré sa podieľajú až 60 – 70 % a z baktérií sú to najmä *S. pneumoniae, H. influenzae, M. Catarrhalis* a v poslednom čase aj *S. pyogenes.* Medzi hlavné symptómy radíme bolestivosť ucha, zhoršenie sluchu, febrility, nepokoj až schvátenosť dieťata.

V akútnom štádiu je nutná včasná diagnostika, ktorá sa opiera o správne zhodnotenie otoskopického nálezu, vhodná liečba vazokonstrikčnými kvapkami, antipyretiká, analgetiká a vysmrkávanie nosovej dutiny. Antibiotická liečba je vyhradená len v prípade rozsiahleho zápalu alebo v prípade komplikácií OMA.

Kazuistika: V kazuistike stručne opisujeme akútny priebeh ochorenia u pacienta s otitis media acuta, ktorý bol komplikovaný mastoitídou, purulentnou meningitídou a trombózou žilného splavu.

Záver: Perakútny vznik komplikácií OMA ako mastoitída, purulentná meningitída a trombóza žilného splavu dokazuje, že aj bežná ,,otitída" môže viesť k závažným komplikáciám.

P3
Účinok polyfenolových prírodných látok na organizmus a oxidačný stres po hysterektómii

Fülöp M., Ferianec V., Borošová M., Mičulíková L., Ďuračková Z.

Úvod: Pooperačný stav môže viesť k zápalovej odpovedi a následne sa iniciuje oxidačný stres, pričom dochádza k zmenám v aktivitách antioxidačných enzýmov. Cieľom našej práce bolo preskúmať vplyv polyfenolového extraktu z dreva duba letného, Robuvitu (Horphag Res., Ltd., Švajčiarsko), ktorý znižuje oxidačné poškodenie lipidov, proteínov a DNA u zdravých jedincov a vykazuje antioxidačné účinky *in vitro*.

Metódy: Do randomizovanej a placebo kontrolovanej štúdie bolo zaradených 65 pacientok, ktoré podstúpili abdominálnu alebo vaginálnu hysterektómiu. Pacientky sa rozdelili do dvoch skupín: Skupina s aktívnou látkou (Robuvit, 300 mg/deň) a skupina s placebo. Pacientky užívali tabletky od 3. dňa po operácii počas obdobia 8. týždňov od operácie. V štúdii sme analyzovali jednotlivé pa-

rametre pomocou komerčných setov a následne výsledky vyhodnotili.

Výsledky: Podávanie Robuvitu neovplyvnilo hladinu AOPP (Advance Oxidative Protein products) na rozdiel od placebo, ktorý hladinu AOPP signifikantne zvýšil. Ochrana lipidov pred oxidačným poškodením sa u pacientok nedokázala. Aktivity antioxidačných enzýmov, glutationperoxidázy, katalázy a superoxiddismutázy neboli signifikantne zmenené.

Záver: Z našich výsledkov vyplýva, že užívanie Robuvitu pacientkami po hysterektómii počas 8 týždňov neovplyvnilo antioxidačnú schopnosť séra pacientok ani aktivity antioxidačných enzýmov, superoxiddismutázy, glutationperoxidázy a katalázy. Robuvit však preukázal, na rozdiel od placebo, ochranu proteínov pred oxidačným poškodením.

P4
Molekulárna analýza dedičných ochorení pri plemenách Cavalier King Charles Španiel a Anglický kokeršpaniel

Tomašková D.

Kríženie blízko príbuzných jedincov ako jedného zo šľachtiteľských postupov v populácii zvyšuje výskyt recesívnych alel, čím čistokrvné jedince mnohých plemien získavajú predispozíciu na rôzne genetické poruchy. V experimente sme sa zamerali na štyri ochorenia, ktoré sa vyskytujú v prípade čistokrvných plemien Cavalier King Charles Španiel (CKCS) a Anglický kokeršpaniel (AK). Duchennova svalová dystrofia s X-viazanou dedičnosťou je zaradená medzi najzávažnejšie genetické ochorenia plemena CKCS. Príčinou ochorenia je delečná mutácia 109 bp v exóne 50 génu kódujúcom dystrofín. K vybraným ochoreniam s autozomálne recesívnou (AR) dedičnosťou sa zaraďuje syndróm suchého oka a kučeravej srsti s jednobodovou delečnou mutáciou v géne *FAM83H* a genetická porucha známa ako „episodic falling syndrome" s rozsiahlou deléciou 15.7 kbp v kandidátnom géne *BCAN*. Rovnako závažným modelom ochorenia s autozomálne recesívnou dedičnosťou identifikovaného pri plemene AK je deficit fosfofruktokinázy spôsobený substitučnou mutáciou v géne *M-PFK*. Cieľom experimentu bolo navrhnúť spoľahlivú diagnostickú metódu na detekciu mutovaných alel štyroch vybraných ochorení a následne analyzovať ich výskyt v populáciách CKCS a AK. Prostredníctvom návrhu špecifických primerov, optimalizácie PCR reakcií, sekvenačnej analýzy a analýzy polymorfizmu dĺžky restrikčných fragmentov PCR produktov amplifikovaných pomocou klasických alebo „mismatch" primerov bolo možné identifikovať prítomnosť jednotlivých typov alel a genotypizovať vybraných jedincov v analyzovanej populačnej vzorke.

P5
Hmotnostní spektrometrie v rutinní laboratorní diagnostice

Loučka P., Rajská M., Procházková P.

Hmotnostní spektrometrie patří k nejdokonalejším a nejmodernějším analytickým metodám vůbec. Je to metoda všestranná a vysoce senzitivní využívaná v mnoha analytických odvětvích. Různé typy MS s vysokou specificitou, ve spojení s kapalinovou chromatografií (LC-MS), plynovou chromatografií (GC-MS) a s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátorem (MALDI-TOF MS), jsou stále více ceněny a využívány jako nástroje v klinických laboratořích. I přes mnohá omezení spojená s relativně náročnou přípravou vzorků, automatizací, napojením na LIS (laboratorní informační systém) a nedostatečnou standardizací, pozice hmotnostní spektrometrie v laboratorní diagnostice roste. Aktuálně nachází využití zejména v oblastech jako TDM (terapeutické monitorování léčiv), toxikologie, novorozenecký screening, v mikrobiologii k identifikaci mikroorganismů.

Zavedení hmotnostní spektrometrie do rutinního provozu klinické laboratoře může prospět optimalizaci pracovních postupů, a to zejména díky možnosti zavádění univerzálních home-made metod v multianalytové konfiguraci, dále může vést ke snížení nákladů laboratoře spojených např. s pořizováním drahých ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay) kitů a v neposlední řadě může vést ke zvýšení kvality péče o pacienta. Všechny tyto aspekty budou v přednášce předvedeny na praktických příkladech z naši laboratorní praxe.

P6
Vitamín D a nádorové mikroprostredie malígneho melanómu

Bolerázska B., Špaková I., Ďurovcová E.

Priebeh bunkového cyklu je regulovaný exogénnymi, ako aj endogénnymi faktormi, ktoré sú kontrolované signálnymi molekulami (napr. aktívnym vitamínom D) vplývajúcimi na expresiu špecifických génov, napr. MITF reguluje diferenciáciu a vývoj melanocytov, expresia HIF-1α je stimulovaná hypoxickým stavom tumorového prostredia s cieľom podporiť angiogenézu a metastázovanie. Doteraz uskutočnené predklinické a klinické štúdie preukázali v prípade viacerých typov nádorov (napr. nádory hrubého čreva, prostaty, prsníka) schopnosť vitamínu D ovplyvniť proces kancerogenézy a suplementácia vitamínom D alebo alternatíva vo forme expozície UV žiarenia je považovaná za adjuvans v ich liečbe. Najbežnejším zdrojom vitamínu D je UV žiarenie, pod vplyvom ktorého dochádza aj k lokálnej kožnej syntéze aktívneho metabolitu vitamínu D zasahujúceho do kožného mikroprostredia (napr. inhíbícia invazívneho správania nádorov, angiogenézy, stimulácia excízie poškodených nukleotidov). Stanovenie sérovej hladiny je preto považované za najdostupnejšiu možnosť hodnotenia lokálnej kožnej tvorby. V práci boli stanovené hladiny expresie vybraných transkripčných faktorov (MITF, Gli2, HIF-1α), rastového faktora (IGF-1) a analýza prítomnosti VDR rs2107301 polymorfizmu u probandov. Dosiahnuté výsledky boli následne korelované s hladinou vitamínu D, klinickým štádiom ochorenia a nádorovou angioinvazivitou. V sledovanej skupine bola pozorovaná tendencia znižovania hladiny vitamínu D v korelácii so zvyšujúcou sa hrúbkou nádoru podľa Breslowa.

P7
Diagnostika autoprotilátok proti antigénom bunkového jadra

Duranková S.

Antinukleárne protilátky (ANA) predstavujú skupinu autoprotilátok proti orgánovo nešpecifickým bunkovým antigénom, ktoré sú lokalizované v bunkovom jadre a v cytoplazme. Ich dôkaz môže znamenať prítomnosť imunopatologického procesu. Antinukleárne protilátky sa stanovujú metódou nepriamej imunofluorescencie na kultivovaných Hep-2 bunkách v kombinácii so substrátom opičej pečene. Uvedená metóda slúži ako skríningový test na detekciu autoprotilátok, pretože je vysokosenzitívna a poskytuje základné informácie o detegovanej štruktúre. Na potvrdenie konkrétneho antigénu je indikovaný imunošpecifický test (ELISA, imunoblot a pod.), ktorý je dôležitým nástrojom v diferenciálnej diagnostike jednotlivých systémových autoimunitných ochorení.

P8
Farmakologické ovplyvnenie expresie endotelovej NO syntázy a NFκB v myokarde hypertriglyceridemických potkanov

Kovačič T., Lipták B., Kaprinay B., Gáspárová Z., Janega P.

Úvod: Endotelová dysfunkcia vyplýva z redukovanej biodostupnosti NO v nadväznosti na oxidačný stres poškodzujúci endotel. Zmeny produkcie NO predstavujú jeden zo zásadných dejov podieľajúcich sa na patogenéze komplikácií metabolického syndrómu.

Metodika: Hodnotili sa zmeny expresie NO syntáz a transkripčného faktora NFκB v myokarde hypertriglyceridemických potkanov v modeli metabolického syndrómu s podávaním vysokofruktózovej diéty. Pozorované zmeny boli následne farmakologicky ovplyvnené liečbou atorvastatínom, experimentálnym pyridoindolovým derivátom s antioxidačnými účinkami SMe1EC2 a rutínom. Zvieratá boli usmrtené, srdcia boli odobraté, narezané, spracované imunohistochemicky a farbené diaminobenzidínom (DAB) a hematoxylínom. Preparáty boli fotografované a hodnotené z hľadiska intenzity DAB pozitivity kvantitatívnou analýzou s využitím obrazového analyzátora Fiji na platforme ImageJ 1.51p.

Výsledky: U hypertriglyceridemických zvierat kŕmených vysokofruktózovou diétou pozorujeme signifikantný vzostup intenzity pozitivity NFκB. Podávanie skúmaných látok neviedlo k signifikantným zmenám pozitivity NFκB v prípade atorvastatínu a SMe1EC2, viedlo k signifikantnému poklesu v prípade podávania rutínu.

Diskusia: Zisťovanie aktivity NFκB vo vzorkách z myokardu liečených zvierat dopĺňa obraz o zmenách sprevádzajúcich alteráciu endotelovej funkcie fruktózovou diétou a jej reverziu atorvastatínom, SMe1EC2 a rutínom. V prípade zmien aktivity NFκB sa predpokladá ich súvislosť s experimentálne navodenými zmenami expresie eNOS.

P9
Prehľad genetických zmien u pacientov s akútnou myeloblastovou leukémiou

Matiková V., Bašistová K.

Akútna myeloblastová leukémia (AML) je heterogénne klonálne ochorenie, ktoré vzniká malígnou transformáciou kmeňovej hematopoetickej bunky. Tvorba normálnych buniek krvotvorby je porušená v dôsledku hromadenia abnormálnych nezrelých buniek – myeloblastov. Dochádza k ich akumulovaniu v kostnej dreni a následne vyplavovaniu do periférnej krvi. AML je najčastejšie vyskytujúcim sa typom akútnych leukémií u dospelých a predstavuje 2 – 4 % zo všetkých leukémií. Morfologické, cytogenetické a molekulárne genetické zmeny sú základom klasifikácie ochorenia. V čase diagnózy má 50 – 60 % pacientov s AML prítomné chromozómové aberácie. Tie sú detegované cytogenetickou analýzou a fluorescenčnou in situ hybridizáciou (FISH). U zvyšných 40 – 50 % pacientov s cytogeneticky normálnym karyotypom sú prítomné molekulové aberácie, ktoré sú detegované molekulovou analýzou. V našom posteri uvádzame súbor pacientov vyšetrených na oddelení genetiky s diagnózou AML v období september 2016 – september 2017.

P10
Kazuistika purulentných meningitíd a diagnostika likvorologickým panelom

Donauerová A., Hučková D., Dická E., Buzássyová D.

Purulentné meningitídy sú závažné neuroinfekcie vyvolané najmä baktériami. Diagnostika musí byť rýchla – liečba by sa mala začať do pol hodiny. Hlavnými príznakmi sú bolesť hlavy, teplota a vracanie. Závažné neuroinfekcie sú charakterizované poruchou vedomia, kŕčmi a ložiskovým neurologickým postihnutím.

Laboratórna diagnostika zahŕňa klasické fenotypizačné a genotypizačné metódy. Vyšetruje sa likvor, hemokultúra a vhodný materiál na PCR.

Prezentovaný príspevok opisuje dva prípady meningitíd. Prvým bola 7-ročná pacientka, u ktorej bola dokázaná prítomnosť DNA *Neisseria meningitidis*. Druhým bola 52-ročná pacientka, u ktorej bola dokázaná prítomnosť DNA *Streptococcus pneumoniae*. U oboch pacientok bol likvor vyšetrený likvorologickým panelom BioFire FilmArray® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel (BioMérieux).

Ide o kvalitatívnu multiplex PCR, ktorá umožňuje detekciu DNA 14 patogénnych mikroorganizmov v jednej reakcii.

Pri podozrení na závažnú diagnózu, akou je napr. meningitída, má zásadný význam rýchla a správna diagnostika. Vhodnou metódou sa javí PCR, ktorá umožňuje v krátkom čase (rádovo hodiny) detekciu nukleovej kyseliny etiologického agens. V súčasnej praxi sa metóda PCR využíva predovšetkým v prípadoch negatívnej kultivácie, resp. dôkazu voľných antigénov z likvoru. Vzhľadom na rýchlosť PCR a závažnosť klinického stavu pacienta je opodstatnené jej použitie v prvej línii vyšetrovania likvoru paralelne s klasickými metódami.

P11
Má emulzia rybieho oleja potenciál zlepšiť život diabetických pacientov?

Laubertová L., Garaiová I., Muchová J., Žitňanová I.

V posledných desaťročiach sme svedkami dramatického zvýšenia výskytu diabetes mellitus. Komplikácie spojené s diabetom vrátane kardiovaskulárnych ochorení, retinopatie, nefropatie a neuropatie sú významnou príčinou zvýšenej morbidity a mortality diabetických pacientov. Práve hyperglykémiou-indukovaný oxidačný stres a zápal zohrávajú významnú úlohu v progresii tohto ochorenia. Alternatívne prístupy založené na nutričnej terapii môžu predstavovať jeden z možných spôsobov, ako zlepšiť život diabetických pacientov. V našej štúdii sme sledovali účinok emulzie rybieho oleja (FOE) na hyperglykémiou-indukovaný oxidačný stres a zápal v monocyto/makrofágovom systéme U937 *in vitro*. Zamerali sme sa na špecifické markery oxidačného stresu (antioxidačná kapacita, aktivita superoxiddismutázy, oxidačné poškodenie DNA) a zápalu (TNF, IL-6, IL-8 a MCP-1). Zistili sme, že hyperglykémia spôsobila zníženie antioxidačnej kapacity, indukovala poškodenia DNA a zvýšila produkciu prozápalových cytokínov. Na druhej strane FOE signifikantne zvýšila antioxidačnú kapacitu, aktivitu superoxiddismutázy a významne znížila produkciu sledovaných prozápalových cytokínov. Naše výsledky naznačujú, že FOE svojimi antioxidačnými a protizápalovými vlastnosťami môže redukovať patologické mechanizmy vyvolané hyperglykémiou a tým potenciálne zlepšovať kvalitu života diabetických pacientov.

P12
Vplyv polyfenolového extraktu z dreva duba letného – Robuvitu® na markery oxidačného stresu a aktivitu antioxidačných enzýmov u zdravých dobrovoľníkov – pilotná štúdia

Horváthová M., Országhová Z., Laubertová L., Šišková K., Sabaka P., Rohdewald P., Ďuračková Z., Muchová J.

V pilotnej štúdii sme sledovali účinky Robuvitu® na markery oxidačného stresu, celkovú antioxidačnú kapacitu plazmy a aktivitu antioxidačných enzýmov u 20 zdravých dobrovoľníkov. Prípravná fáza trvala dva týždne (odber 1), intervenčná fáza trvala štyri týždne (odber 4), počas ktorých užívali dobrovoľníci 3-krát denne Robuvit® v množstve 100 mg a tretia fáza (wash-out) trvala dva týždne (odber 6). Podávanie Robuvitu® počas 4 týždňov významne znížilo AOPP v sére o 42,09 % ($p < 0,0001$), LP o 21,53 % ($p = 0,0174$) a ADMA o 20 % ($p = 0,0022$). Tento účinok pretrvával aj po wash-out perióde (odber 6), keď bola významne znížená hladina AOPP o 42,85 % ($p < 0,0001$) a LP o 19,79 % ($p = 0,0038$). V hemolyzáte erytrocytov sme stanovili aktivity Cu/Zn-superoxiddismutázy (SOD) a katalázy (CAT). Podávanie Robuvitu® významne zvýšilo aktivitu SOD o 11,76 % ($p = 0,0198$) a tento účinok pretrvával aj po odbere 6, kedy bola aktivita zvýšená o 13,22 % ($p = 0,0240$). Tiež sme pozorovali významne zvýšenú aktivitu CAT po odbere 4 o 15,54 %

(p = 0,0012). Na základe získaných výsledkov môžeme usúdiť, že Robuvit® významne znižuje mieru oxidačného poškodenia lipidov a proteínov, čo pravdepodobne súvisí so zvýšením aktivít sledovaných antioxidačných enzýmov.

P13
Identifikácia mykobaktérií v klinickom laboratóriu pomocou MALDI-TOF MS

Štepo M., Tvrdá A., Dižová S., Kuriaková J., Raždíková A., Dolinajcová M., Perďochová D., Kavcová T., Nováková E.

Mykobaktérie sú hydrofóbne, acidorezistentné paličky patriace do druhu *Actinobacteria,* ktorých bunková stena obsahuje mykolové kyseliny viazané na peptidoglykán. Pre klinickú prax je dôležité odlíšiť saprofytické mykobaktérie od oportúnnych a obligátnych petogénov, ktorými sú *Mycobacterium tuberculosis* a *M. leprae*. Mykobaktérie sú pomaly rastúce mikroorganizmy – ich generačný čas je 18 – 24 h, preto sa pre ich presnú identifikáciu v klinickej praxi okrem klasických fenotypových metód, ktoré sú veľmi zdĺhavé, používajú aj rýchlejšie, no zároveň drahšie metódy identifikácie (napr. RT-PCR). Využitie hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorpcion Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) sa v klinickej mikrobiologickej praxi osvedčilo ako rýchla a spoľahlivá metóda identifikácie baktérií a kvasiniek. V našom laboratóriu bola porovnávaná fenotypová identifikácia mykobaktérií s identifikáciou pomocou MALDI-TOF MS, pričom zo všetkých testovaných izolátov bolo oboma metódami 98 % izolátov určených zhodne do druhu aj rodu, prípadne do komplexu, a to i napriek výzve, ktorou je skladba bunkovej steny mykobaktérií. Touto prácou by sme chceli upozorniť na potenciál využitia hmotnostnej spektrofotometrie ako nástroja presnej a relatívne nenáročnej identifikácie tohto druhu baktérií.

P14
Molekulová analýza prítomnosti HR-HPV vo vzorkách sterov z krčka maternice – štatistické vyhodnotenie analyzovaného súboru

Oravcová A., Ondreičková V., Babišová A., Lukačková R.

Hlavnou príčinou karcinómu krčka maternice je infekcia jedným z typov ľudského papilomavírusu. V súčasnosti poznáme viac ako 100 typov HPV. Nie všetky spôsobujú vo viacvrstvovom dlaždicovom epiteli krčka maternice malígne zmeny. Tie, ktoré môžu spôsobiť karcinóm krčka maternice, označujeme ako vysokorizikové (HR-HPV). Aj keď väčšina typov nespôsobuje malígne zmeny epitelu krčka maternice, sú príčinou bradavicovitých výrastkov papilómov a kondylómov. Tieto typy sú označované ako nízkorizikové (LR-HPV). Stanovenie prítomnosti infekcie ľudským papilomavírusom je vďaka preukázanej spojitosti s malígnou transformáciou epitelu krčka maternice spoľahlivou metódou, ktorá určuje riziko vzniku tohto ochorenia. Genetické testovanie ľudského papilomavírusu zahŕňa veľmi senzitívne a špecifické molekulárne techniky, ktorými detegujeme HPV na úrovni DNA alebo mRNA, čo nám umožňuje odlíšiť produktívnu a perzistentnú HPV infekciu. V našej práci prinášame analyzovaný súbor pacientok v období od 1. apríla 2017 do 30. júna 2017, keď sme spolu vyšetrili 1 945 pacientok. Genetickú analýzu zameranú na detekciu prítomnosti aktívnej formy vírusovej infekcie jedným alebo viacerými zo 14 vysokorizikových typov HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) sme uskutočnili pri každej z nich. Prítomnosť vírusovej infekcie sme potvrdili u 25 % vyšetrovaných vzoriek. Na detekciu aktívnej vírusovej formy sme použili molekulovo-genetickú metódu APTIMA®HPV assay, ktorou sa detegujú len aktívne vírusy s onkogénnym charakterom. Testom je možné kvalitatívne diagnostikovať ví-

rusovú mRNA exprimujúcich sa onkogénov E6 a E7 ľudského papilomavírusu. Ten určuje, či sú HPV gény spôsobujúce malígne zmeny prítomné a aktívne vo vzorke zo steru z krčka maternice.

P15
Validácia RNA izolačných metód

Majsniarová L.

Izolácia nukleových kyselín RNA s následnou reverznou transkripciou je základom pri rôznych génových manipuláciách, experimentoch, ale aj pri bežnej rutinnej praxi laboratórnej molekulovej diagnostiky. Cieľom je získať RNA v dostatočnom množstve a kvalite bez nežiaducich prímesí (kontaminantov).

Hlavným problémom pri izolácii RNA z akéhokoľvek biologického materiálu je jej nestabilita. Molekula RNA podlieha degradácii oveľa ľahšie ako DNA, pretože ribonukleázy, ktoré ju degradujú, sú vo všeobecnosti veľmi stabilné a nepotrebujú k svojej aktivite kofaktory (dvojmocné ióny) na rozdiel od DNáz. Všadeprítomnú ribonukleázu, ktorá degraduje RNA, môžeme eliminovať použitím „RNáza-free" roztokov.

Metódy izolácie a purifikácie RNA sú založené na rýchlej lýze buniek a efektívnej neutralizácii nežiaducich nukleáz. Kontaminujúcu bielkovinu odstráni fenolová extrakcia v kyslom prostredí. Následným použitím alkoholového zrážania dochádza k prečisteniu nukleových kyselín od nízkomolekulových látok (soli, zvyškov fenolu). Prítomnosť nežiaducej chromozomálnej DNA je možné degradovať pôsobením DNáz.

V našej práci porovnávame tri typy izolačných techník RNA. Opisujeme výhody a nevýhody každej použitej metodiky. Cieľom práce je zavedenie do rutinnej praxe molekulovej genetiky efektívnu metódu izolácie. Vhodne zvolená izolácia RNA je esenciálna na získanie stabilnej vzorky RNA, čo je základom pre správnu a citlivú diagnostiku expresie génov.

P16
Porovnanie hladín zápalových markerov a markerov oxidačného stresu v skupinách pacientov pred transplantáciou obličky a po nej

Szentesiová Z., Országhová Z., Paduchová Z., Horváthová M., Žilinská Z., Trebatický B., Muchová J.

Chronické ochorenia obličiek sú v súčasnosti považované za zriedkavé ochorenia, no často sú asociované so zvýšeným rizikom kardiovaskulárnej morbidity a mortality pred transplantáciou obličky aj po nej. Cieľom štúdie bolo sledovať vplyv transplantácie obličky na rizikové faktory KVO, ako lipidový profil, aktivitu paraoxonázy (PON1) – asociovanej s HDL cholesterolom, koncentráciu neopterínu (Neo), vysokocitllivého C-reaktívneho proteínu (CRP) a tromboxánov (TBX) – poukazujúcich na prozápalový stav príjemcov a asymetrického dimetylarginínu (ADMA), nového nezávislého rizikového faktora KVO.

Študovaný súbor pozostával zo 63 pacientov s chronickým ochorením obličiek v dialyzačnej liečbe a 49 pacientov po transplantácii obličky, ktorí mali dobrú funkciu štepu (MDRD = 1,078 ml/s na 1,73 m^2, sérové hladiny kreatinínu = 99,18 µmol/l).

Celkový, HDL- a LDL-cholesterol boli u pacientov po transplantácii obličky vyššie, ale vo fyziologickom rozpätí. Arylesterázová a laktonázová aktivita paraoxonázy 1 bola u pacientov po transplantácii vyššia o 23,9 % a o 37,3 %. Koncentrácia Neo, CRP, TBX a ADMA boli u pacientov po transplantácii významne nižšie o 90,28 %, 48,17 %, 57,07 % a 16,08 %.

Naše výsledky ukázali, že transplantácia obličky znižuje zápalové markery aj markery oxidačného stres, ktoré predstavujú rizikové faktory KVO.

P17
Parciálna monozómia 9p u 4-ročného dieťaťa – kazuistika

Patasi C., Verchovodková V., Landlová D., Ondreičková V., Tomka M., Tomková E., Lukačková R., Barošová J.

Parciálna monozómia 9p je zriedkavá chromozómová aberácia, pri ktorej dochádza k delécii distálnej časti krátkeho ramena chromozómu 9. V závislosti od veľkosti deletovanej časti patrí k najčastejšie pozorovaným klinickým prejavom jej nositeľov mentálna retardácia, vývojové zaostávanie, psychomotorické poruchy, faciálna dysmorfia a u niektorých jedincov mužského pohlavia aj porucha vývoja pohlavných orgánov. Príčinou vzniku tohto typu delécií 9p môžu byť prítomnosť reciprokej translokácie či inverzie u jedného z rodičov, no možný je aj ich vznik *de novo*.

Naším posterom by sme chceli prezentovať prípad 4-ročného chlapčeka s diagnozou autizmu, u ktorého sme v prvom kroku uskutočnili cytogenetickú analýzu s nálezom 46,XY,del(9)(p22). Využitím metódy arrayCGH sme stanovili/spresnili miesta zlomov na chromozóme [9p24.3-23] a potvrdili prítomnosť delécie s veľkosťou 13 Mb. Následne sme vyšetrili karyotyp oboch rodičov s nálezom normálneho karyotypu. Vo všeobecnosti môžeme konštatovať, že fenotyp nášho pacienta koreluje s fenotypom publikovaných prípadov pacientov s deléciou terminálnej a veľkostne príbuznej oblasti krátkeho ramienka chromozómu 9. Kazuistika poukazuje aj na výhody využitia kombinácie cytogenetického vyšetrenia a molekulových metód, ako je napríklad arrayCGH, ktoré nám umožňujú nielen spresnenie nálezu, ale nám poskytujú aj možnosť predikcie zdravotného stavu pacienta do budúcnosti.

P18
Význam chromozómových aberácií pri BCR-ABL negatívnych myeloproliferatívnych neopláziách

Veselá G., Blahová A., Lengyelová K., Oravcová A., Lukačková R., Žákovičová A., Juríková K.

Myeloproliferatívne neoplázie (MPN) sú charakterizované ako klonálne ochorenia hematopoetickej kmeňovej alebo progenitorovej bunky, pričom dochádza k hromadeniu maturovaných krvných elementov v periférnej krvi. Svetová zdravotnícka organizácia v roku 2008 rozdelila myeloproliferatívne ochorenia na chronickú myeloickú leukémiu, pravú polycytémiu, primárnu trombocytémiu, primárnu myelofibrózu, chronickú granulocytovú leukémiu, chronickú eozinofilnú leukémiu, hypereozinofilný syndróm, mastocytové ochorenia a neklasifikovateľné myeloproliferatívne neoplázie. Do skupiny BCR-ABL negatívnych myeloproliferatívnych neoplázií sa radí pravá polycytémia, primárna trombocytémia a primárna myelofibróza. Navzájom sa líšia rozdielnym klinickým prejavom, zmenami v počte myeloidných buniek v periférnej krvi, morfologickými zmenami buniek a genetickými zmenami. Chromozómové aberácie boli zaznamenané u 5 – 45 % pacientov, ale neexistuje špecifická zmena pre jednotlivé podtypy MPN. Pri cytogenetickej analýze BCR-ABL negatívnej MPN boli zaznamenané straty genetického materiálu, konkrétne delécie dlhých ramien 20. chromozómu (20q-), 13. chromozómu (13q-), delécie krátkych ramien 12. chromozómu (12p-). Pozorované boli aj trizómie 8. (+8) a 9. (+9) chromozómu a parciálna duplikácia dlhých ramien 1. chromozómu (1q+). S nižšou frekvenciou môžu byť prítomné aj ďalšie zmeny ako napríklad +19, +21, -Y, del(12p) a i(17q). Napriek opísaným chromozomálnym aberáciám nie je známy konkrétny gén, ktorý MPN vyvoláva. Z hľadiska molekulárnej analýzy je pri BCR-ABL negatívnej MPN najčastejšie mutovaný

gén *JAK2*. V tejto práci sme sa zamerali na porovnanie literatúry a výsledkov cytogenetickej analýzy u pacientov s BCR-ABL negatívnou MPN z nášho laboratória a aj na celkový význam cytogenetickej analýzy vzhľadom na molekulárnu analýzu pri tomto ochorení.

P19
Genetická predispozícia na osteoporózu

Krajčíková M.

Osteoporóza je ochorenie látkovej premeny kostného tkaniva, ktoré sa prejavuje poruchami mikroarchitektúry kosti, čo vedie k jej oslabeniu a zvýšenej lámavosti. Na rozvoj tohto ochorenia má výrazný vplyv napríklad genetická predispozícia, menopauzálny status a faktory životného štýlu. V našej práci sme sa zamerali na zistenie asociácie medzi genetickými polymorfizmami rs1056836 v géne CYP1B1, rs2234693 (PvuII) a rs9340799 (XbaI) v géne *ESR1*, vybraných faktorov životného štýlu a menopauzálneho statusu s hodnotami kostnej hustoty. Sledovaný súbor pozostával zo 100 žien vo veku 29 až 87 rokov zo severného a západného Slovenska s priemerným vekom 62,75 ± 16,83 rokov. Genotypizácia bola uskutočnená metódou PCR-RFLP, kostná hustota bola meraná sonografickým prístrojom Sunlight MiniOmniTM (BeamMed) a údaje boli vyhodnotené programom IBM SPSS Statistics 20. Pri porovnaní antropometrických parametrov podľa kategórií kostnej hustoty sa v sledovanom súbore so zníženou kostnou hustotou spájala vyššia hodnota telesnej hmotnosti ($p = 0,009$), väčšia hodnota obvodu pása ($p = 0,033$) a vyššia hodnota indexu BMI ($p = 0,002$). Porovnaním žien podľa menopauzálneho statusu sa osteoporóza vyskytovala u žien v postmenopauze štatisticky významne častejšie ($p = < 0,001$). Z faktorov životného štýlu vplývala na zníženú kostnú hustotu diagnostikovaná depresia a rakovina. Lineárna regresná analýza vybrala vek, BMI index a výskyt rakoviny ako významné prediktory kostnej hustoty v sledovanom súbore. Vplyv polymorfizmov na tento parameter sa nepotvrdil.

P20
Akútne myeloidné leukémie z pohľadu molekulárnej biológie

Schlosserová D., Pěnčíková M.

Akútne myeloidné leukémie sú heterógennou skupinou ochorení vznikajúcou malígnou transformáciou hematopoetických kmeňových alebo progenitorových buniek, spojených s poruchou diferenciácie a apoptózy pri zachovaní schopnosti proliferácie. AML je najčastejším typom leukémie u dospelých pacientov a predstavuje 3 % všetkých malígnych nádorov. Molekulárne genetická analýza patrí medzi základné vyšetrenia nevyhnutné na presné určenie diagnózy, prognózy a liečby pacientov s AML.

Oddelenie molekulárnej biológie firmy SPADIA LAB, a. s., sa zaoberá diagnostikou monogénne podmienených ochorení (napr. cystická fibróza), onkologických ochorení (napr. karcinóm prsníka a ovárií) a onkohematologických ochorení (MPN, akútne leukémie) atď. Vyšetrenia akútnych leukémií prebiehajú v spolupráci s oddeleniami cytogenetiky a imunológie pre potreby Fakultnej nemocnice Ostrava. Vyšetrujeme fúzne gény radiace pacientov do skupiny s priaznivou prognózou (PML/RARα, AML1/ETO, CBFβ/MYH11), v rámci základného AML panelu ďalej – FLT3, NPM1, IDH1, IDH2, DNMT3A. V špecifických prípadoch možno doplniť ďalšie vyšetrenia – napr. MLL/PTD alebo mutácie génu *c-Kit*.

Vyšetrenia AML sa realizujú na našom pracovisku od mája 2014 a spracovali sme 374 vzoriek, z toho analýza prebehla u 265 (s ohľadom na potvrdenú diagnózu AML). Okrem častých mutácií sa v našich výsledkoch našli aj vzácnejšie mutácie a fúzie génov, napr. *NPM1/RARα* alebo menej časté mutácie génu *NPM1*.

P21
Myelodysplastický syndróm s komplexným karyotypom – kazuistika

Juríková K., Žákovičová A., Oravcová A., Václavová V., Tomka M., Durošková M., Večeřová D., Marcinek J., Železníková T.

Úvod: Myelodysplastický syndróm (MDS) predstavuje heterogénnu skupinu ochorenia krvotvorby, ktorá vzniká v dôsledku poškodenia pluripotentnej kmeňovej hematopoetickej bunky. Kazuistika opisuje 77-ročnú pacientku, ktorej vzorka kostnej drene bola zaslaná na oddelenie genetiky s podozrením na MPN/MDS (myeloproliferatívna neoplázia, myelodysplastický syndróm).

Materiál a metódy: Cytogenetické vyšetrenie sme uskutočnili z heparinizovanej kostnej drene, ktorá bola krátkodobo kultivovaná (24 h), opracovaná kolcemidom, chloridom draselným (KCl) a následne spracovaná trojitou fixáciou (metanol/kyselina octová). Preparát bol potom zafarbený Wrightovým farbivom (G-band). Fluorescenčnú in situ hybridizáciu (FISH) sme uskutočnili z rovnakého materiálu. Aplikovali sme komerčne dostupné sondy (MetaSystems).

Výsledky: Cytogenetickým vyšetrením pomocou metódy G-banding sme u pacientky stanovili komplexný karyotyp vo všetkých analyzovaných metafázach. FISH vyšetrením sme potvrdili trizómiu 8, deléciu 5q31 a p53, ktoré sú charakteristické pre MDS. Rovnako sme pozorovali aj monozómiu chromozómu 8 a t(1;2;21;?). Zároveň sme identifikovali tetraploidné bunky v 15 % populácie. Cytogenetic risk group (IPSS-R, 2012): very poor. Takýchto pacientov (diagnóza MDS + komplexný karyotyp) je veľmi málo, približne 7 %, pričom ich medián prežívania je len 0,7/rok (IPSS-R, 2012). Molekulové vyšetrenie bolo negatívne, a preto sme nepotvrdili prítomnosť mutácií v génoch *JAK2, CALR* a *MPL*. Fúzny transkript BCR-ABL sme takisto nedokázali. Momentálne je pacientka liečená Vidazou.

Kazuistika je doplnená o klinické údaje pacientky, výsledky z trepanobiopsie kostnej drene, imunofenotypizácie a cytologického vyšetrenia.

P22
Chromothripsis 18 in multiple myeloma patient with rapid extramedullary relapse

Smetana J., Wayhelova M., Oppelt J., Szturz P., Almasi M., Adam Z., Hajek R., Kuglik P.

Multiple myeloma (MM) is characterized by malignant proliferation of clonal plasma cells (PCs) and accumulation of those cells in bone marrow, formation of osteolytic lesions and presence of monoclonal immunoglobulin in serum and/or urine (1). Deletion of TP53 in 17p13 loci, translocation t(4;14)(p16;q32) and gain(1)(q21) detected by interphase fluorescence in situ hybridization (I-FISH) are considered as well established hallmarks of adverse prognosis for MM (2). Utilization of array-CGH or recently next generation (NGS) into clinical practice allow us for the first time precisely describe the genetic heterogeneity in MM patient carrying newly described genetic lesions with prognostic impact such as chromothripsis (CTH). Moreover, in order to obtain detailed view on genetic background of the PCs we used custom NGS panel for deep sequencing of 62 genes associated with hematologic malignancies.

In this report, we would like to describe the case of female MM patient with CTH affecting chromosome 18, hyperdiploid karyotype and pathological mutation in oncogene NRAS and impact on tjose abbertaions on the development of the disease.

P23
Moderné zápalové markery a ich úloha vo včasnej diagnostike a monitorovaní sepsy

Olejárová M., Dobišová A., Tibenská E., Szaboová K., Bucová M.

Cieľom projektu je urýchliť diferenciálnu diagnostiku SIRS/sepsa a nájsť kombináciu biomarkerov, ktoré by umožnili včasnú diagnostiku

a monitorovanie priebehu a terapie sepsy. Pre zníženie mortality pacientov na sepsu je mimoriadne dôležitá jej včasná diagnostika, čiže odlíšenie neinfekčného SIRS od systémového zápalu infekčnej etiológie. Vyšetrili sme 27 pacientov s diagnózou sepsa alebo s podozrením na sepsu starších ako 18 rokov s predpokladanou dĺžkou hospitalizácie viac ako 24 hodín, a to v deň prijatia, 24 hodín po prijatí, na 3., 5., 7. a prípadne 10. deň hospitalizácie; spolu 143 vzoriek. Kontrolný súbor tvorilo 39 zdravých jedincov. Vo vyšetrovanom i kontrolnom súbore sme stanovili hladinu solubilnej molekuly sTREM-1 v plazme metódou sendvičovej Elisy. Hladina sTREM-1 bola vo vyšetrovanom súbore (140,42 pg/ml) štatisticky signifikantne vyššia ako u zdravých kontrol (25,7 pg/ml; $p < 0,0001$). Asociačnými štúdiami sme odhalili, že plazmatická hladina sTREM-1 signifikantne koreluje s pomerom Neu/Ly ($p = 0,0262$) a pomerom Leu/Ly ($p = 0,0348$). Zaznamenali sme pokles počtu lymfocytov ($p = 0,0064$), ktorý zodpovedal za nárast pomerov Neu/Ly a Leu/Ly. Okrem toho, hladina sTREM-1 v plazme pacientov v sepse signifikantne koreluje aj s hladinou CRP ($p = 0,0080$) a PCT ($p = 0,0044$). Predbežné výsledky práce tak poukazujú na diagnostický význam merania hladín sTREM-1 u pacientov so sepsou, ktoré odzrkadľujú intenzitu zápalového procesu.

Poznámky

Poznámky

Poznámky

Pre pacientov
SME NEVIDITEĽNÍ,
pre lekárov
NENAHRADITEĽNÍ

- sme tu pre vás viac ako 10 rokov
- pôsobíme na celom Slovensku

- poskytujeme špičkovú laboratórnu diagnostiku
- zabezpečujeme komplexné služby
- opierame sa o medzinárodné skúsenosti

- zavádzame inovácie, sledujeme trendy
- podporujeme vzdelávanie, vedu a výskum

MEDIREX GROUP
všetko pre vaše zdravie

www.laboratornadiagnostika.sk

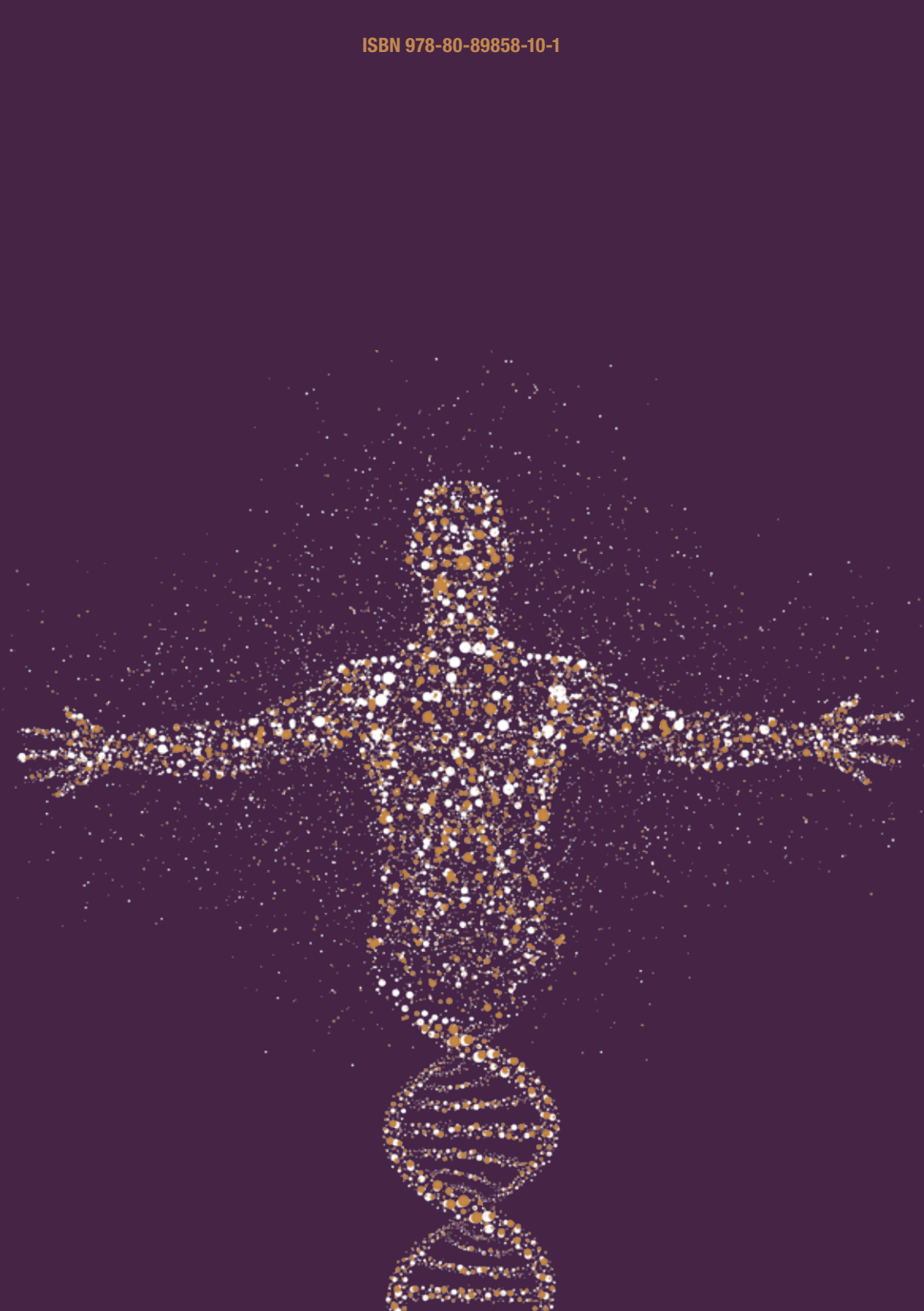
Poznámky

TRISOMY*test*

TRISOMY test – spoľahlivý neinvazívny test na vylúčenie Downovho syndrómu a ďalších častých trizómií plodu z krvi matky

VYLÚČI	**prítomnosť trizómií chromozómov 21, 18, 13**
ODHALÍ	**falošne pozitívne výsledky biochemického skríningu**
MINIMALIZUJE	**počet nutných amniocentéz**
URČÍ	**pohlavie plodu**
SPOĽAHLIVO	**s vysokou citlivosťou**
BEZPEČNE	**bez rizika pre plod**
BEZBOLESTNE	**z krvi matky**
SKORO	**už od 11. týždňa tehotenstva**

www.trisomytest.sk

*V súlade s uznesením Etickej komisie MZ SR poskytuje laboratórium výsledok analýzy až po ukončenom 12. týždni tehotenstva.

ISBN 978-80-89858-10-1