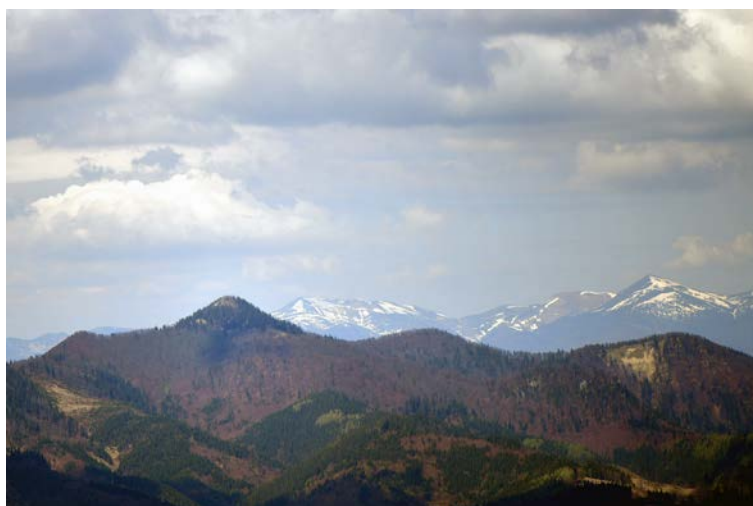




Šilinkův nadační fond
pod záštitou Endokrinologického ústavu v Praze
a ve spolupráci s TJ Havran
pořádá tradiční mezinárodní XXXIII. konferenci a symposion „Imunoanalýza 2019“.



IMUNOANALÝZA

27. 6. – 21. 6. 2019

Lubochňa – Vyšné Krátké – Chata Lúčka

Sborník abstraktů

Radmila Řápková, Radovan Bílek, Pavel Drašar
redaktoři



Programový výbor:

Prof. MUDr. RNDr. Luboslav Stárka, DrSc.

Prof. RNDr. Richard Hampl, DrSc.

Doc. Ing. Radovan Bílek, CSc.

Organizační výbor

RNDr. Marie Bičíková

RNDr. Zdeněk Putz, CSc.

Mgr. Ludmila Máčová, Ph.D.



KATECHOLAMINY A JEJICH METABOLITY – VÝZNAM V DIAGNOSTICE NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

JIŘÍ BEŠŤÁK

*Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
jbestak@endo.cz*

Katecholaminy jsou metabolizovány dvěma základními cestami. Hlavní nebo též intraneuronální cesta je pomocí monoaminoxidasy (MAO) a následnou redukcí aldehyd reduktázou (AR) na dihydroxyfenylglykol (DHPG). Ten je dále metabolizován pomocí katechol-*O*-methyl transferasy (COMT) na methoxyhydroxyfenylglykol (MHPG) a dále pak v játrech alkohol dehydrogenasou (ADH) na kyselinu vanilmandlovou (VMA).

Vedlejší metabolická cesta vede působením COMT na katecholaminy mimo neurony za vzniku metanefrinu (MN) a normetanefrinu (NMN). Ty pak mohou být v játrech pomocí MAO a ADH metabolizovány na kyselinu vanilmandlovou nebo vyloučeny ve volné formě či ve formě sulfátů močí.

Pro diagnostiku feochromocytomu lze použít většinu výše zmíněných metabolitů. Hlavně tedy kyselina vanilmandlová, vlastní katecholaminy a v neposlední řadě metanefriny. A to jak odpad močí tak v případě katecholaminů a metanefrinů též v plasmě. Nejvyšší sensitivitu vykazují volné metanefriny v plasmě a frakcionované metanefriny v moči.

*Podpořeno MZ ČR - RVO (Endokrinologický ústav - EÚ,
00023761.)*

STÁRNUTÍ, DEPRESE A POHYB

**MARIE BIČÍKOVÁ^a, DOBROSLAVA JANDOVÁ^b,
PAVLA HONCŮ^b**

*^aEndokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha; ^{b3}. LF
UK Praha, Ruská 2411/87, 100 00 Praha 10
mbicikova@endo.cz*

Stárnutí obyvatel v rozvinutých společnostech a tedy i evropské populace je neoddiskutovatelný fakt. Nabízí se celá řada otázek, kdo se o staré lidi postará, bude vytvořena taková hospodářská situace, aby se mohla o starat společnost? Velmi často se totiž nemohou nebo nechtějí starat děti z různých socioekonomických důvodů. Odpověď je jasná - staří lidé se o sebe budou muset co nejdéle postarat sami. Úkol pro budoucnost tedy není za každou cenu prodloužit lidský věk, ale prodloužit lidskou soběstačnost. Lidské tělo sice stárne, ale když ho posloucháme a se stárnutím a pohodlností bojujeme, odmění se nám prodloužením doby pracovní schopnosti, myšlenkové bohatosti a soběstačnosti. Funkční nazávislost je přímo závislá na fyzické zdatnosti. Před dvěma roky jsme prokázali, že pacienti s úzkostnými a afektivními poruchami („deprese“) se po měsíčním pobytu v lázních cítili skvěle, zlepšili se v celé řadě parametrů, které jsme popsali¹. V této práci se pokoušíme o porozumění jak vysvětlit fyziologické změny pobytu v lázních bez farmak nebo léčivých vod, bez

peloidů (rašelina, slatina) „jen“ klimatoterapie a kineziterapie (pohyb). Charakteristiky stárnutí jsou do určité míry společné s depresemi. Dochází k snížené tvorbě neurotransmiterů, snížení neuroplasticity, snížení reparačních procesů v mozku, zvýšení apoptotické aktivity, zvýšení dystrofických změn. Je známé, že deprese zvyšují morbiditu a mortalitu. Po objevu receptorů pro neurotransmitery, hormony a cytokiny na nervových a imunitních buňkách je rozvíjena interleukinová hypotéza deprese. Ve stáří klesá produkce hormonů mimo jiné serotoninu (5-hydroxytryptamin) a melatoninu (5-methoxy-*N*-acetyltryptamin). Při krátkém odpoledním spánku se tvoří serotonin, ze kterého se za tmy v epifyze tvoří melatonin (hormon spánku). U starých lidí je častá spánková porucha. Významné je okysličení organismu pohybem zvláště na zdravém vzduchu, pestrá strava bohatá na aminokyseliny. Obecně známo, že svalová hmota, kromě hybné funkce je i velice důležitou metabolickou tkání organismu savců. Zároveň víme, že správná výživa a pohybová aktivita jsou alfa a omegou zdraví člověka. Ztráta svalové hmoty – sarkopenie. U žádné farmakologické ani behaviorální intervence cílené na sarkopenii nebylo prokázáno, že by byla tak účinná jako pohyb – cvičení. Vliv má také stav mysli a emoční, tzv. limbický systém (viz níže). Chronický stres má za následek zvýšený tonus sympatiku a tím i zásadně škodlivý vliv na kardiovaskulární systém (zvýšený tonus hladké svaloviny ve stěně cév). Autonomní nervový systém (ANS) – sympatikus a parasympatikus ovlivňuje baroreflex – udržení tlaku krve pomocí ANS. Pomocí ANS je zajištěn bazální tj. humorální metabolismus. Při chronickém stresu dochází ke ztížení krevního oběhu především v dolních končetinách a následně k poruše funkce až k poškození baroreflexu, zvýšení arteriálního krevního tlaku, ke zvýšení inzulínové rezistence, postupně při hypoxii a humorálních změnách vzniká metabolický syndrom se všemi negativními důsledky. Vysoký tlak a tím i kardiovaskulární poruchy mohou být zapříčiněny také vznikem autonomních aldosteron produkujících klastřů, které byly prokázány² teprve v r. 2018. Aerobní cvičení: nejlépe rychlá chůze vede k udržení baroreflexu, k úpravě svalové hmoty a tím i k udržení síly stárnoucího jedince. Vysvětlení spočívá v zapojení limbického systému = hipokampus, hypothalamus a jím regulované systémy: nervový systém autonomní, endokrinní osa, imunitní systém, svalový tonus- napětí svalů (přes bazální ganglia a propojky na mozeček), vazby na prefrontální cortex a míchu. V r. 2017 byl také podán robusní důkaz (metaanalýza), že rychlá chůze pozitivně koreluje s koncentrací 25-hydroxyvitaminu D (25OHD) u starých lidí. Z předcházejících prací¹ je známo, že deprese je spojována s nízkou hladinou 25OHD. Nejvyšší velín u lidí je limbický systém (LS). Na 1. místě LS jsou emoce – centrum emocí a afekcí = nc. amygdalae, nc. coeruleus patří mezi bazální ganglia. Nejdůležitější funkce limbického systému: kontrola úzkosti a strachu, kontrola sociálního a emočního; chování; účast na procesech krátkodobé paměti; řízení srdeční činnosti a dýchání (napojení na hypothalamus); sekrece endokrinních žláz (dlouhodobá paměť se týká spíše thalamo-kortikálních spojů). Hypothalamus přes limbický systém (jehož je integrální součástí) ovlivňuje pohyb a zpětně! Propojuje čichový podnět, oční vjemy, sluchové vjemy, kožní vjemy při pohybu, všechny informace z rovnovážného ústrojí a z bazálních ganglií a plánování pohybů (kůra mozková,

prefrontální a frontální kortex)!!! Chronické mírné aerobní cvičení zvyšuje hladiny methylace pro-zánětlivého s apoptózou asociovaného genu pro proteinovou kaspasu (ASC), která moduluje IL-1b a IL-18 v leukocytech starších lidí, čímž přispívá ke zmírnění vzestupu proinflatorních cytokinů souvisejících s věkem. Závěrem lze konstatovat, že pro stárnoucí osoby platí to co pro pacienty, kteří se podrobili lázeňskému léčení. Osoby, které se často a třeba i mírně pohybují na zdravém vzduchu a dodržují režimová opatření tj: spánek a stravu bohatou na vitaminy – mají naději, že pozitivní změny, které nastaly v jeho organismu, by mohly přetrvat mnoho týdnů či měsíců, dlouhodobě působit stabilizačně a protiprogresivně ve smyslu zdravého stárnutí.

Podpořeno MZ ČR - RVO (Endokrinnologický ústav - EÚ, 00023761).

LITERATURA

1. Bičíková M., Dušková M., Vítků J., Kalvachová B., Řípová D., Mohr P., Stárka L.: *Physiol. Res.* 64 Suppl 2, S101 (2015).
2. Nanba K., Vaidya A., Rainey W. E.: *Hypertension* 71, 218 (2018).

CHROMOGRANIN A V LABORATORNÍ DIAGNOSTICE FEOCHROMOCYTOMU A PARAGANGLIOMU

RADOVAN BÍLEK^a, TOMÁŠ ZELINKA^b

^aEndokrinnologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha; ^bCentrum pro hypertenzi, 3. lékařský ústav - Ústav endokrinologie a metabolismu, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice, U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2 rbilek@endo.cz

Tato práce (1) se zabývá klinickou výpovědní hodnotou chromograninu A (CGA), obecně markeru neuroendokrinních neoplázií, při diagnóze PPGL (feochromocytom, paragangliom). Plazmatický CGA (mezní hodnota 150 µg/l) byl stanoven imunoradiometricky. Volný plazmatický metanefrin (mezní hodnota 100 ng/l) a normetanefrin (mezní hodnota 170 ng/l) byly stanoveny pomocí kompetitivní radioimunoanalýzy. U PPGL pacientů se vzorky krve odebíraly předoperačně, jeden týden, šest měsíců, jeden rok a dva roky po chirurgickém odstranění nádoru. U kontrol nebyl diagnostikován PPGL, ale vyskytovaly se zde jiné problémy s nadledvinami, popř. byl u kontrol diagnostikován MEN2, karcinom štítné žlázy a další tyreopatie. Klinická senzitivita CGA u PPGL pacientů (n=71) měla hodnotu 90 % a byla nižší než klinická senzitivita metanefrinů, která byla rovna 97 %. Klinická specifita založená na plazmatických hodnotách CGA po operaci (n=98) měla stejně jako u metanefrinů hodnotu rovnou 99 %. Klinická specifita CGA v kontrolní skupině (n=85) činila 92 %, u metanefrinů měla hodnotu 99 %. Na základě našich výsledků je možné konstatovat, že plazmatický CGA je vhodným doplňkem metanefrinů v laboratorní diagnostice PPGL pacientů, zvláště u těch, kteří mají biochemicky tichý paragangliom neprodukcující katecholaminy. Na rozdíl od

stanovení metanefrinů není koncentrace CGA ovlivněna hypertonií, látkami a aktivitami ovlivňujícími biosyntézu a sekreci katecholaminů. Hodnota stanovení CGA je ale falešně zvýšena u pacientů užívajících inhibitory protonové pumpy a u pacientů s těžkou renální insuficiencí. Zvýšené hodnoty CGA se nalézají i u jiných neuroendokrinních neoplázií a za klinických stavů, při kterých dochází ke zvýšené adrenergní aktivitě.

Lze konstatovat, že plazmatická CGA stanovená imunoanalýzou, která je jednoduchá bez nutnosti speciálního laboratorního vybavení, je účinným markerem PPGL a může sloužit jako vhodný doplněk metanefrinových testů v laboratorní diagnostice PPGL pacientů. Na základě 90% klinické citlivosti nemůže CGA v porovnání s metanefriny zcela vyloučit PPGL, ale ve všech případech vyšetřovaných PPGL pacientů dávala kombinace metanefrinů a CGA 100% klinickou senzitivitu. Plazmatický CGA také vykazuje asociaci s PASS skóre, hmotností tumoru a objemem nádoru.

Podpořeno granty: IGA MZ ČR NT/12336-4; MZ ČR – RVO (Endokrinnologický ústav – EÚ, 00023761).

LITERATURA

1. Bílek R., Vlček P., Šafařík L., Michalský D., Novák K., Dušková J., Václavíková E., Widimský J. Jr, Zelinka T.: *Cancers (Basel)* 11, 586 (2019). doi: 10.3390/cancers11040586.

METABOLICKÝ SYNDRÓM A EXTRACELULÁRNA DNA

VERONIKA BORBÉLYOVÁ, VERONIKA ZÁMEČNÍKOVÁ, PETER CELEC

Ústav molekulárnej BioMedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava borbelyova.veronika88@gmail.com

Úvod: Nadváha a obezita predstavujú hlavný zdravotný problém súčasnej populácie. Medicínskym problémom je ale najmä s obezitou asociovaný metabolický syndróm (MetS), ktorý vedie ku kardiovaskulárnym komplikáciám skraticujúcich život pacientov. Komponentmi MetS sú okrem iných inzulínová rezistencia, hypertenzia a dyslipidémia. Dodnes nie je objasnené, prečo MetS u niektorých obeznych vzniká a u iných nie. Molekulárny mechanizmus vzniku MetS je spojený s mikrozápalom, ktorý by mohol byť spôsobený extracelulárnou DNA (ecDNA), keďže genetické modely ukázali, že jej rozpoznávanie je nutným predpokladom pre vznik MetS u obeznych myší.

Cieľ: Cieľom tejto práce bolo experimentálne overiť vzťah medzi MetS a ecDNA na skupine stredne starých samíc myší.

Metodika: Náš experiment sme uskutočnili na starnúcich (vek: 15 mesiacov) samiciach myší kmeňa CD1 (n=46). Okrem merania krvného tlaku sme vyšetrili všetky základné komponenty MetS a koncentráciu plazmatickej ecDNA.

Výsledky: Naše výsledky ukázali vysokú interindividuálnu variabilitu v nami sledovaných parametroch MetS.

Vysoké koncentrácie ecDNA boli asociované s inzulínovou rezistenciou, LDL cholesterolom a kreatinínom. Avšak, celkové MetS skóre s ecDNA nekorelovalo a nemalo vplyv ani na sledovanú mortalitu.

Záver: Naše výsledky nepotvrdili očakávanú asociáciu medzi ecDNA a MetS. Avšak, vzťah k niektorým komponentom a markerom MetS poukazuje na to, že sú potrebné ďalšie detailné štúdie za účelom sledovania schopnosti degradovať alebo rozpoznávať ecDNA, čo nepochybne ovplyvňuje jej prozápalový charakter. Pochopenie molekulárnych mechanizmov MetS by mohlo viesť aj k cielej liečbe, ktorá napriek vysokej prevalencii zatiaľ chýba.

ČIČOREČKA PESTRÁ

LUBOMÍR OPLETAL^a, MICHAL JURÁŠEK^b,
PAVEL DRAŠAR^b

^aFarmF UK, Akademia Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bVŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
drasarp@vscht.cz

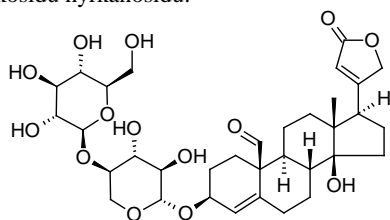
Čičorečka pestrá (*Securigera varia*), česky tiež čičorka pestrá (angl. purple crown vetch; něm. Bunte Kronwicke (Beilwicke)), patrí medzi bežné vytrvalé byliny z čeledi bobovitých a je okrajovou barevnou jetelovinou. U nás je čičorečka rozšírená od nížin až po podhorské oblasti, ve vyšších polohách se vyskytuje zriedka. Roste na výživných a vápencových pôdach. Najčastejši ji môžeme nájsť na suchých či mierne vlhkých lúčkach, travnatých stránich, mezich, železničných náspech a na okrajích cest.



(cit.¹)

Její název se v historii měnil *Coronilla varia* Linné, 1753; *Coronilla pendula* Kitaibel, 1863; v roce 1989 byla přejmenována z rodu *Coronilla* Linné, 1753 do rodu *Securigera* de Candolle, 1805 (cit.²).

Je považovaná za mierne jedovatou pro obsah kardioglykosidu hyrkanosidu:



Na konferenci Imunoanalýza 2018 byla předložena možnost použití hyrkanosidu, jehož kardiotonické účinky jsou srovnatelné s ouabainem či digoxinem³, jako cytotoxického

agens⁴. Kromě jiného jsou u čičorečky popisovány i účinky antimikrobiální a insekticidní⁵. Hyrkanosid je v literatuře znám i pod názvy sekuridasid, což je chybné, protože tam jde o 11-hydroxyhyrkanosid. Bývá nazýván i koronillin (karakin), což je však, též v čičorečce obsažená, 1,2,6-tris-*O*-(3-nitropropanoyl)- α -D-glukopyranosa⁶.

Další zmiňovanými obsahovými látkami jsou kyselina 3-nitropropionová, (-)-epikatechin, dafnoretin, skopoletin, umbelliferon, korollin, koronarian (dva polohové isomery koronillinu), genistin, genistein, deglukohyrkanosid a aglykon hyrkanogenin. Bývajú zmiňované i masné kyseliny, steroly, lecitín a mnoho ďalších sloučenin⁵. Podobná složení mají i extrakty z dalších zástupců rodu *Securigera* z čeledi bobovitých (Fabaceae).

V současné době je rozpracovávaná metodika získávání většího množství hyrkanosidu, zajímavého kardioglykosidu s oxidovaným uhlíkem v poloze C-19. Pro zajímavost lze uvést, že pod názvem hyrkanosid je uváděn i 2-acetyl-3-hydroxy-5-methoxyfenyl 6-*O*- α -D-glukopyranosyl- β -D-glukopyranosid⁷.

LITERATURA

1. studenti.cgym-kh.cz (staženo 13. 5. 2019).
2. https://cs.wikipedia.org/wiki/Čičorečka_pestrá (staženo 13. 5. 2019).
3. Slavík J., Žáčková P., Michlová J., Opletal L., Sovová M.: *Ceska Slov. Farm.* 43, 298 (1994).
4. Kmoníčková E., Jurásek M., Drašar P.: *Czech. Chem. Soc. Symp. Ser.* 16, 52 (2018).
5. Al-Snafi A. E.: *Pharm. Chem. J.* 3, 105 (2016).
6. Harmatha J., Nawrot J., Vokáč K., Opletal L., Sovová M.: *Ser. Entomol.* 49, 155 (1992).
7. Khushbaktova Z. A., Mukhtasimova R., Syrov V. N., Sultanov M. B.: *Doklady Akademii Nauk UzSSR* 11, 54 (1983).

JAK STŘEVNÍ MIKROBIOTA OVLIVŇUJE MOZEK

RICHARD HAMPL

Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
rhampl@endo.cz

Úvod: Autonomní nervová soustava spolu s endokrinním a imunitním systémem řídí, kontroluje a reguluje základní fyziologické funkce střev – zpracování a absorpci živin a peristaltiku. Komunikace mezi mozkem a střevy je oboustranná a zahrnuje řadu zpětnovazebných mechanismů díky přítomným receptorům na jednotlivých úrovních. Do těchto dějů jako další faktor zasahuje střevní mikrobiota tvořená pestrou škálou mikroorganismů, bakteriemi, houbami, parazity a viry. Hlavní složkou mikrobioty jsou symbiotické, tzv. komenzální bakterie, jež se rozhodujícím způsobem spolupodílejí na zpracování látek, procházejících zažívacím ústrojím. Počet genů těchto mikroorganismů až stokrát převyšuje lidský genom. Díky svému zapojení do regulací fyziologických a biochemických pochodů se střevní mikrobiota považuje za další endokrinní orgán, kde speciální úlohu má oboustranná komunikace mezi mikrobiotou a

mozkem, označovaná jako osa střevní mikrobiota – střevo – mozek.

Většina experimentálních studií vztahu mezi střevním mikrobiotou a mozkiem na molekulární úrovni využívá zvířecích modelů, nejčastěji myši, umožňující sledovat, nakolik jsou biochemické a fyziologické pochody včetně funkce mozku ovlivněny složením střevní mikrobioty. Nejčastěji se používají bezmikrobní (germ-free) zvířata, prostá veškerých patogenů – chovaná v přísně sterilním prostředí, či myši bez určitých patogenů nebo jejich skupin (tzv. specific pathogen free, SPF). Zvláštním případem pak jsou tzv. gnotobiotické myši, s dobře definovanou střevní mikroflórou, jejichž střeva byla záměrně osídlena jedním či více mikroorganismy, často izolovanými z lidských střev. Humánní studie se omezují většinou na sledování, jak skladba střevní mikrobioty a její změny (dysbióza) asociují s biochemickými a fyziologickými projevy. V tomto stručném přehledu ukážeme, jaké hlavní cesty mikrobiota využívají při ovlivnění mozkových funkcí a jak naopak mozek ovlivňuje skladbu a funkce střevní mikrobioty.

Signalizace mikrobiota-střevo-mozek: Existují tři vzájemně propojené způsoby signalizace, jimiž střevní mikrobiota přes střevo ovlivňuje mozek hostitele. Jsou to neuroendokrinní systém, samotné nervové dráhy a imunitní systém. Střevní mikrobiota disponuje vlastním biosyntetickým aparátem a tvoří celou řadu signálních molekul identických s látkami produkovanými hostitelem: nízkomolekulární hormony, především steroidy a katecholaminy, biologicky aktivní peptidy zahrnující neurotransmitery, cytokiny, růstové faktory, mediátory imunitní odpovědi a další. Mikrobiota nadto je schopna některé z těchto látek metabolizovat za vzniku sloučenin odlišných od tvořených hostitelem, což je typické pro steroidy a žlučové kyseliny. Důležitou úlohu v signalizaci mikrobiota-střevo-mozek hrají mastné kyseliny s krátkým řetězcem (do 6 uhlíkových atomů) vznikající fermentací živin. Přes své receptory spřažené s G-proteiny na membránách epitelálních buněk střevní stěny stimulují tvorbu a sekreci některých hormonů gastrointestinálního traktu, jež pak mohou působit prostřednictvím svých receptorů v mozku. Mikrobiota je zdrojem i některých esenciálních mastných kyselin, jež lidský organismus netvoří, především tryptofanu.

Signální molekuly tvořené mikrobiotou působí prostřednictvím membránových či nitrobuňčných receptorů (u steroidů) buněk střevní mukózy. Mohou ale pronikat přes střevní stěnu a cirkulací se dostat do mozku přímo. Významnou úlohu zde hrají glukokortikoidy tím, že stimulují lokální produkci cytokinů a na různých úrovních ovlivňují imunitu. Lokálně tvořené cytokiny zase zpětnovězobně, prostřednictvím membránových receptorů, ovlivňují místní tvorbu glukokortikoidů. Střevní mikrobiota tvoří a metabolizuje i sexuální steroidní hormony, jež snadno překonávají střevní stěnu a cirkulací se dostávají do mozku, kde nalézají své receptory a jejich prostřednictvím modulují řadu funkcí CNS. Některé signální sloučeniny tvořené mikrobiotou jako jsou cytokiny, peptidové hormony a další biologicky aktivní peptidy, mohou přímo aktivovat neurony vnitřního enterického nervového systému jako třetí součásti autonomního nervového systému řídicímu funkce GIT, souběžně se sympatickým a parasympatickým nervstvem. Klíčovou úlohu při ovlivnění mozkové činnosti mikrobiotou je bloudivý nerv přenášející signál do CNS a regulující jak funkci střev, tak příjem potravy. Dostředivé (aférentní) neurony bloudivého nervu exprimují receptory pro hormony a signální peptidy ať už jsou

tvořeny buňkami střevní stěny nebo mikrobiotou. Přes tyto receptory je pak signál senzoryckými nervy veden do mozku. Neurony bloudivého nervu obsahují mimo jiné i tzv. „toll-like receptory“ (TLR) rozeznávající cizí struktury na povrchu buněk včetně střevních mikrobiot, jinak typické buňky pro vrozeného imunitního systému (monocyty, makrofágy, dendritické buňky prezentující antigen). Mikrobiota je v intimním kontaktu s imunitními buňkami střevní mukózy a přes ně tak, prostřednictvím imunitní signalizace, může ovlivňovat mozkovou činnost.

Signalizace mozek-střevo-mikrobiota: Signalizace směrem mozek-střevo-mikrobiota využívá stejných drah jako v opačném směru. Ke změnám skladby mikrobioty iniciovaných CNS, přes autonomní nervový systém, např. při stresu, může dojít nepřímo v důsledku změn vlastností střevní stěny nebo i přímo působením neurotransmiterů v jejím lumen. V prvním případě se uplatňují dva možné mechanismy: 1. Podněty zahrnující aktivaci hypotalamo-pituitární-adrenální osy, jako je např. stres, vyvolají změny permeability epitelální vrstvy střeva. Po biochemické stránce jde konkrétně o expresi proteinů tvořících pevné spoje mezi buňkami střevního epitelu, jako jsou kladin, okladin a další. 2. Změní se fyzikální a chemické vlastnosti mukózní vrstvy střevního epitelu. V obou případech dojde k translokaci střevní mikrobioty a jejich molekulárních produktů do střevní mukózy. V případě přímého působení signálních molekul – neurotransmiterů, zejména katecholaminů (serotonin, melatonin, některé endogenní opioidy) a celá řada cytokinů se přes neuroendokrinní signalizaci dostávají do lumen střeva, kde dochází k přímému kontaktu s mikrobiotou a následně k ovlivnění jejich biochemických a sekrečních aktivit.

Nepříznivé změny střevní mikroflóry zejména ve smyslu úbytku komenzálních bakterií, dysbióza, jsou často doprovázeny depresí, úzkostnými stavy a poruchami chování (spektrum autistických poruch), stejně jako s výskytem neurodegenerativních chorob (Alzheimerova demence, roztroušená skleróza, parkinsonismus). Stres, environmentální vlivy, nevhodná dieta, léčiva a další cizorodé látky i prenatální expozice některým z těchto faktorů jsou známé příčiny dysbiózy. Otázkou zůstává, zda zjištěné poruchy jsou skutečně způsobeny nepříznivou skladbou střevní mikrobioty, či jsou primárně následky funkčních, především zánětlivých onemocnění střev. Kauzální vztah byl zatím prokázán v některých zvířecích modelech, u lidí je situace složitější a představuje jeden ze směrů současného výzkumu.

Práce byla podpořena projektem MZ ČR - RVO (Endokrinologický ústav - EÚ, 00023761).

LITERATURA

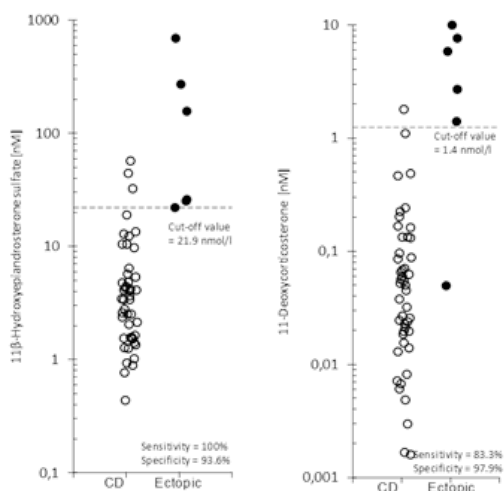
1. Dinan T.G., Cryan J.F.: *Gastroenterol. Clin. North Am.* 46, 77 (2017).
2. Hampl R., Bičíková M., Stárka L.: *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie a výživa* 22, 43 (2019).
3. Mayer E.A., Tillisch K., Gupta A.: *J. Clin. Invest.* 125, 926 (2015).
4. Kelly J.R., Clarke G., Cryan J.F., Dinan T.G.: *Ann. Epidemiol.* 26, 366 (2016).

STEROIDNÍ PROFILOVÁNÍ U PACIENTŮ S RŮZNÝMI FORMAMI CUSHINGOVA SYNDROMU

VÁCLAV HÁNA Jr.^a, JANA JEŽKOVÁ^a, MIKULÁŠ KOSÁK^a, MICHAL KRŠEK^a, VÁCLAV HÁNA^a, MARTA VELÍKOVÁ^b, MARTIN HILL^{b*}

^a3. Interní klinika, 1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, U nemocnice 1, 128 08 Praha; ^bEndokrinologický ústav, Národní třída 8, 116 91 Praha
mhill@endo.cz

Cushingův syndrom (CS) je vyvolán zvýšenou expozicí účinkům kortizolu. Odlišení jeho forem může vést k diagnostickým dilematům. Ve vzorcích séra 47 pacientů s Cushingovou nemocí, 6 s ektopickým ACTH-dependentním CS, 16 s nadledvinovým adenomem, 7 s bilaterální hyperplasí nadledvin (BMAH) se zjevným CS a 42 kontrol z obecné populace jsme kvantifikovali 94 steroidů s cílem najít steroidní vzor či „otisk palce“ pro každý ze subtypů CS. Pacienti s Cushingovou nemocí a ektopickými ACTH-produkujícími tumory vykazovali zvýšené hladiny androgenů a jejich metabolitů a rovněž prekurzorů mineralokortikoidů ve srovnání se a zdravými kontrolami. Naopak, hladiny androgenů byly sníženy u nadledvinových adenomů a BMAH. ROC křivky ukazovaly 100% senzitivitu a 93,6% specifitu u 11 β -hydroxyepiandrosteronu sulfátu pro diskriminaci Cushingovy nemoci od ektopické sekrece ACTH a podobný výsledek jsme zaznamenali také u 11-deoxykortikosteronu (83,3% senzitivita a 97,9% senzitivita) (Obr. 1) a dalších steroidů. Nenalezli jsme významné rozdíly u steroidních hladin, které by mohly odlišovat BMAH od unilaterálních adenomů vyvolávajících CS. Závěrem lze říci, že různé příčiny CS ukazují specifické steroidní vzory či „otisky palce“, které mohou být užitečné pro správnou klinickou diagnózu.



Obr. 1. Odlišení Cushingovy nemoci (n=47) od ektopického ACTH dependentního Cushingova syndromu (n=6) s využitím ROC. Pro lepší rozlišení je užita logaritmická škála.

Tato práce vznikla za podpory grantů OPMPR CZ.07.1.02/0.0/0.0/16_040/0000381, OPK CZ.2.16/3.1.00/21518, GAUK 160415 RVA „Endokrinologický ústav – EÚ00023761“ a AZV ČR 17-30528A.

LITERATURA

1. Page-Wilson G., Freda P.U., Jacobs T.P., Khandji A.G., Bruce J.N., Foo S.T., Meece K., White A., Wardlaw S.L.: J. Clin. Endocrinol, Metab. 99, E1838 (2014).

ANALÝZA STEROIDŮ V OBORU METABOLOMIKY

LENKA HORÁČKOVÁ^{a,b}, MARKÉTA ŠIMKOVÁ^{a,b}, MICHAELA DUŠKOVÁ^b, PAVEL DRAŠAR^a

^aVysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav chemie přírodních látek, Technická 5, 166 10 Praha 6; ^bEndokrinologický ústav, Oddělení steroidů a proteofaktorů, Národní 8, 116 94 Praha
lhorackova@endo.cz

Jako regulátory mnohých fyziologických dějů se uplatňují steroidní hormony. Fatální důsledky na zdraví jedince mohou být onemocnění, která jsou způsobena poruchou syntézy steroidních hormonů, a proto je důležité je stanovit. V běžné laboratorní praxi se steroidní hormony analyzují převážně z krevní plazmy, krevního séra, ze slin a moči. Tato práce byla zaměřena na vyvinutí metody stanovení steroidních hormonů ze vzorku moči. Výhodou této matrice je její neinvazivní odběr, na rozdíl od odběru krve.

Jelikož se steroidní hormony vyskytují ve formě konjugátů glukuronidů či sulfátů, je pro jejich stanovení potřebné preanalytické zpracování. K dekonjugaci byl používán trimethylchlorsilan a enzym β -glukuronidasa izolovaný z *Helix pomatia*, typ HP-2. Po hydrolyze konjugovaných steroidních hormonů byly volné steroidy derivatizovány 2 hydrazinopyrimidinem a dansylchloridem. Deriváty byly následně analyzovány pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS).

Optimalizované metody byly aplikovány na soubor 30 vzorků moči od těhotných probandek. Tento soubor byl složen z 12 vzorků moči, které byly odebrány v den porodu 18 vzorků získaných v 36. týdnu těhotenství. Aby byla vyloučena rozdílná hydratace probandek na koncentraci analytů v jednorázovém odebraném vzorku, bylo nutné stanovit množství kreatininu v moči. Výsledné koncentrace analyzovaných steroidních hormonů byly přepočítány na množství kreatininu.

Práce vznikla za institucionální podpory Endokrinologického ústavu (MZ ČR – RVO Endokrinologický ústav – EÚ, 00023761).

JAK MÁ LÉKÁNIK PRACOVAT S VITAMINEM D? VYZNÁ SE V DÁVKOVÁNÍ?

HANA CHROMKOVÁ

Procter&Gamble Czech Republic

Bez abstraktu.

ANALÝZA MARKEROV STEROIDOGENÉZY U CHLAPCOV S PORUCHOU AUTISTICKÉHO SPEKTRA

**KATARÍNA JANŠÁKOVÁ^a, MARTIN HILL^b, HANA
CELUŠÁKOVÁ^a, DIANA FILČÍKOVÁ^a, DANIELA
OSTATNÍKOVÁ^a**

^aFyziologický ústav LF UK, Bratislava, Slovenská republika;

^bEndokrinologický ústav, Praha, Česká republika
jansakova.katarina@gmail.com

Doposiaľ bolo publikovaných veľké množstvo teórií PAS, avšak presná etiopatogenéza ostáva naďalej neznáma. Jednou z týchto teórií je aj teória „hypermužského mozgu“ a ňou spájaný vplyv mužských pohlavných hormónov. V tejto súvislosti sa sleduje najmä testosterón (TST), dehydroepiandrosterón (DHEA) či dihydrotestosterón. Avšak to, či do patogenézy autizmu zasahujú aj ďalšie steroidné hormóny zo skupiny mineralokortikoidov alebo glukokortikoidov, doposiaľ nie je presne známe. Cieľom štúdie bola analýza steroidov v rámci metabolickej kaskády u predpubertálnych chlapcov s PAS a ich zdravých rovesníkov.

Metódy. Do štúdie bolo zaradených 45 chlapcov s diagnózou PAS (4,95+1,69) a 24 neurotypických kontrol (CTRL; 5,33+1,60). Diagnóza PAS bola stanovená v Akademickom centre výskumu autizmu, LF UK s použitím diagnostických postupov ADOS-2 a ADI-R. Steroidné markery boli detegované v plazme využitím plynovej chromatografie/hmotnostnej spektrometrie.

Výsledky. V rámci markerov steroidogenézy bolo zanalyzovaných celkovo množstvo 104 metabolitov. Pozorovali sme rozdiely medzi CTRL a PAS v koncentrácii viacerých hormónov v celej hormonálnej kaskáde. Signifikantne nižšia koncentrácia kortizolu ($p<0,001$), kortikosterónu ($p<0,001$) či 21-deoxykortizolu ($p=0,02$) a 11-deoxykortizolu ($p=0,01$) bola zistená u PAS jedincov v porovnaní s CTRL skupinou. Žiaden signifikantný rozdiel nebol pozorovaný v rámci koncentrácie pregnenolónu ($p=0,79$), DHEA ($p=0,29$), 7-oxo-DHEA ($p=0,62$), TST ($p=0,95$) či estradiolu ($p=0,24$). Napriek tomu, že sa nezistil žiaden rozdiel v koncentrácii DHEA medzi PAS a CTRL, pozorovali sme signifikantne nižšie koncentrácie v jeho metabolitoch androstenediónu ($p=0,02$) a keto-DHEA ($p=0,01$). Nesignifikantný trend k nižšej koncentrácii progesterónu bol pozorovaný u detí s PAS v porovnaní s CTRL skupinou ($p=0,11$).

Záver. Potvrdili sme, že steroidný metabolóm hrá významnú úlohu v patogenéze PAS. Výsledky poukazujú na komplexné zmeny v celej metabolickej dráhe steroidov s dôrazom na glukokortikoidy a mineralokortikoidy.

Komplexnú analýzu steroidného metabolómu by bolo vhodné vykonať u oboch pohlaví v rôznom vekovom rozpätí ako aj so zameraním na závažnosť PAS.

Táto štúdia bola podporená grantom APVV 15-0045 a APVV 15-0085.

STANOVENÍ HLADIN 25(OH) VITAMINU D U ZAMĚSTNANCŮ SPOLEČNOSTÍ IMMUNOTECH A BECKMAN COULTER

HANA KRÁTKÁ, PATRIK ŠAF

Beckman Coulter Česká republika s.r.o, Murmanská 4, Praha 10
hkratka@beckman.com

Vitamin D je nezbytným faktorem pro správné fungování našeho organismu. Kromě nezastupitelného místa v kostním metabolismu, kdy ovlivňuje resorpci vápníku ve střevě, je také důležitý pro správné fungování imunitního systému. Každopádně jeho význam je mnohem komplexnější než se dříve předpokládalo.

Hladiny vitamínu D v našem těle jsou závislé na mnoha faktorech. Jen relativně malá část může být doplněna stravou. Větší podíl je získán z přeměny dehydrocholesterolu v naší kůži vlivem UVB paprsků. Dopad UVB paprsků je však závislý na ročním období, zeměpisné šířce a svitu slunce. Dalšími faktory ovlivňujícími tvorbu vitamínu D v kůži jsou pigmentace kůže, věk, používání opalovacích krémů a také plocha kůže vystavené slunci.

V našich zeměpisných šířkách by nejnižší hladiny měly být právě v jarním období, kdy postupně klesly zásoby vytvořené v předcházejícím čase a nová tvorba ještě nenastala z důvodu nepřítomnosti UVB paprsků. V průběhu měsíce dubna byla hladina vitamínu D změněna u 113 dobrovolníků z řad zaměstnanců firem Immunotech a Beckman Coulter. Kromě měření hladiny vitamínu D byli dobrovolníci dotazováni na případnou suplementaci tímto vitamínem D či nedávný pobyt v exotických krajích. V prezentaci uvidíte naměřené výsledky a kolísání hladin vitamínu D v závislosti na různých podmínkách.

AYAHUSCA – NESPECIFIKOVANÝ FENOMÉN

**JAKUB FOJTÍK, MARTIN KUCHAR, OLDŘICH
LAPČÍK**

Ústav chemie přírodních látek, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
lapciko@vscht.cz

Ayahusca je soubor různých produktů (hustý nápoj, gelová substance nebo gelové kapsle) vzniklých tepelnou úpravou některých druhů lián rodu *Banisteriopsis*, případně s dalšími přísadami. Její užití způsobuje změněné stavy vědomí (ACS). Všechny druhy ayahuascy obsahují beta-karbolinové alkaloidy, jakými jsou harmín, harmalin,

tetrahydroharmin, harmol, harman a mnoho dalších¹. Beta-karboliny působí v lidském organismu jako inhibitory monoaminoxigenas (MAO), podílející se na deaminaci monoaminu např. katecholaminů a tryptaminů (serotonin, melatonin, *N,N*-dimethyltryptamin aj.). Některé druhy lián mohou dále obsahovat i druhou významnou složku tryptaminu. Nejčastěji se vyskytujícím tryptaminem v ayahuace je psychedelický aktivní agonista 5-HT_{2A} receptorů, *N,N*-dimethyltryptamin (DMT), obsažen například v keřích *Psychotria viridis* a *Diplopterys cabrerana*. Inhibicí MAO skrze beta-karboliny dochází ke změně farmakokinetiky DMT vedoucí k prodloužení psychoaktivních účinků². Dnes je ayahuasca celosvětově známým fenoménem. Mnoho neuropsychofarmakologických publikací začíná odkazovat na potenciál terapeutického využití pro antidepresivní a anxiolytické účinky³. Nicméně spektrum receptů a možností přípravy tohoto produktu je velmi široké a dodnes nebylo jednoznačně stanoveno odbornou veřejností, co je ayahuasca případně její farmakologické složení „pharmahuasca“. V současnosti probíhá v Ústavu chemie přírodních látek VŠCHT Praha ve spojení s Národním ústavem duševního zdraví výzkum zaměřený na mapování spektra receptů ayahuascy, hodnocení kinetiky přípravy a stanovení obsahu biologicky aktivních látek pomocí UHPLC-MS/MS.

LITERATURA

1. Riba J., Rodriguez-Fornells A., Urbano G., Morte A., Antonijoan R., Montero M., Callaway J. C., Barbano J. M. J.: *Psychopharmacology* 154, 85 (2001).
2. McKenna D. J., Towers G. H., Abbott F.: *J. Ethnopharmacol.* 10, 195 (1984).
3. Dominguez-Clave E., Soler J., Elices M., Pascual J. C., Alvarez E., de la Fuente Revenga M., Friedlander P., Feilding A., Riba J.: *Brain Res. Bull.* 126, 89 (2016).

VÝZNAM A MOŽNOSTI STANOVENÍ VITAMINU D

LUDMILA MÁČOVÁ, MARIE BIČÍKOVÁ

*Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha
lmacova@endo.cz*

O významu vitamínu D pro lidské zdraví se v posledních letech vedou bouřlivé diskuze. Odborná veřejnost shodně uznává nejdéle známý a nejlépe objasněný význam vitamínu D pro udržení kalcio-fosfátového metabolismu a zdraví kostí. S objevením receptorů pro vitamín D (VDR) ve většině tkání lidského organismu se začalo uvažovat také o dalších funkcích vitamínu D. Nejčastěji se hovoří o imunomodulačních, neuroprotektivních a antioxidačních účincích vitamínu D. Ačkoliv experimentální studie prokázaly, že deficit vitamínu D vede k imunopatologiím a neuropsychiatrickým poruchám, hodnocení klinického stavu je problematické a ne všechny studie poskytují konzistentní výsledky. A právě ty jsou hlavním argumentem zastánců pouze tzv. kostních účinků vitamínu D.

Jednou z možných příčin nejednotnosti výsledků je použití různých analytických metod ve studiích. Jako referenční metoda pro stanovení vitamínu D je uznávána

separační metoda na principu kapalinové chromatografie, avšak v laboratorní praxi se z důvodu nižší náročnosti běžně používají systémy založené na imunochemických metodách. Rutinní imunochemické metody vykazují vysoký podíl cross-reaktivit a interferencí a zároveň nedostatečná standardizace značně komplikuje porovnatelnost výsledků mezi jednotlivými laboratořemi.

V naší studii jsme na 80 sérových vzorcích provedli srovnání různých metod a parametrů souvisejících s vitamínem D. Jako referenční byla použita HPLC metoda s využitím separace 25-hydroxyergokalciferolu (25(OH)D₂) a 25-hydroxycholecalciferolu (25(OH)D₃) a testovanými metodami bylo ELISA stanovení celkového 25-hydroxyvitamínu D (25(OH)D), volného 25(OH)D, vitamín D vázacího proteinu (DBP) a VDR. Překvapivě hodnoty 25(OH)D naměřené metodami HPLC a ELISA spolu nekorelovaly, ale naopak jsme odhalili významné korelace mezi 25(OH)D naměřeným pomocí HPLC a volným 25(OH)D.

Výsledky ukazují, že pečlivá volba metody je při plánování studií naprosto klíčová. Široká nabídka komerčně dostupných souprav a současně neuspokojivá standardizace metod poskytuje výsledky, které se mezi sebou významně liší (jak se ukázalo i v našem případě) a mohou vést k jejich chybné interpretaci. Jako vhodná alternativa se jeví HPLC metoda s UV/VIS detekcí, která zajišťuje věrohodné výsledky, které nejsou zatížené potenciálními interferencemi (vazbou na DBP, cross-reaktivitou se strukturně podobnými metabolity vitamínu D, aj.) a zároveň nevyžaduje takovou finanční, časovou a instrumentální náročnost v porovnání s LS-MS/MS.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR - RVO (Endokrinologický ústav - EÚ, 00023761).

VLIV VYBRANÝCH STOPOVÝCH PRVKŮ NA STEROIDOGENEZI

BARBORA MARKOVÁ

*Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
bmarkova@endo.cz*

Stopové prvky, v těle obsažené v malém množství, jsou nezbytné pro správné fungování organismu. Jedním z procesů, pro něž jsou stopové prvky důležité, je steroidogeneze – tedy proces, při němž jsou z cholesterolu postupně syntetizovány steroidní hormony.

Lze rozlišit tři druhy vlivu stopových prvků na steroidogenezi. Zaprvé figurují stopové prvky jako kofaktory významných enzymů steroidogeneze – příkladem může být železo, jež se v cytochromu P-450 účastní syntézy pregnenolonu z cholesterolu. Zinek, měď, či selen jsou pro steroidogenní buňky významné tím, že jsou součástí enzymů, odstraňujících reaktivní formy kyslíku. Další formou účinku stopových prvků je vliv na vývoj steroidogenní tkáně – takovýmto způsobem kupříkladu nedostatek zinku vede k hypogonadismu, a s ním spojené nedostatečné produkci testikulárních androgenů. Naopak nadbytek některých prvků může vést k další formě jejich vlivu na steroidogenezi, endokrinní disrupci. Příkladem může být měď, jež v nadbytku

působí jako metaloestrogen – může se vázat na buněčné receptory estrogenů.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR - RVO (Endokrinologický ústav - EÚ, 00023761).

STANOVENÍ TŘÍD A PODTŘÍD IMUNOGLOBULINŮ U PACIENTŮ S AUTOIMUNITNÍ TYREOIDITIDOU

PETR MATUCHA*, **KAROLÍNA ABSOLONOVÁ,**
IVAN ŠTERZL

*Oddělení klinické imunoendokrinologie, Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
pmatucha@endo.cz*

Úvod: Imunoglobuliny patří mezi hlavní složky specifické humorální imunity. Jsou tvořeny 2 lehkými a 2 těžkými řetězci. Třídy imunoglobulinů se liší těžkými řetězci, a to γ (pro IgG), α (pro IgA), μ (pro IgM), δ (pro IgD) a ϵ (pro IgE). U normálních dospělých tvoří IgG průměrně 75 % všech sérových imunoglobulinů, přičemž IgA tvoří 15 % a IgM 10 % všech sérových imunoglobulinů, IgD a IgE mají ještě nižší zastoupení. Uvnitř třídy IgG je pořadí koncentrace 4 podtříd: IgG1 (66 %) > IgG2 (23 %) > IgG3 (7 %) > IgG4 (4 %), ale aktuální koncentrace každé z nich se může mezi jednotlivci značně lišit. Jednotlivé třídy a podtřídy se liší svými funkcemi v imunitním systému.

Metodika: Pro stanovení imunoglobulinů jsme použili metodu turbidimetrie/nefelometrie, analyzátor Mispai-12.

Výsledky: Sledovali jsme hladiny imunoglobulinů (IgG, IgA a IgM) u souboru 129 pacientů (113 žen a 16 mužů, průměrný věk 42,8 let) s autoimunitní tyreoiditidou a u souboru 221 pacientů (171 žen a 50 mužů, průměrný věk 45,5 let) s ostatními diagnózami. Nalezli jsme statisticky významně vyšší ($p=0,0056$) hladiny IgG u autoimunitní tyreoiditidy, u ostatních tříd imunoglobulinů (IgA a IgM) jsme rozdílů nenašli.

Diskuse a závěr: Byly popsány specifické dědičné defekty jednotlivých podtříd IgG (zvýšená náchylnost k infekci nebo k jiným poruchám imunitního systému), hladina celkového IgG přitom může být normální. Z našich výsledků vyplynulo, že celkové IgG je statisticky odlišné u autoimunitních tyreoiditid oproti dalším diagnózám, sledovaným na EÚ. Z tohoto důvodu je vedle stanovení celkového IgG důležité rozšířit stanovení u pacientů s autoimunitami také o jednotlivé podtřídy IgG1-4.

Práce vznikla za Institucionální podpory Endokrinologického ústavu (MZ ČR – RVO Endokrinologický ústav – EÚ, 00023761).

ÚLOHA ESTROGÉNOV V ÚZKOSTNOM SPRÁVANÍ A KOGNÍCI U SAMÍC POTKANA

EMESE RENCZÉS

*Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave
renczes.emese@gmail.com*

Úvod. Menopauza je asociovaná s kognitívnym deficitom a vyššou prevalenciou afektívnych porúch u žien. Predpokladá sa, že príčinou je náhly pokles produkcie estrogénov. Na druhej strane, v predchádzajúcom experimente sme poukázali na úlohu endogénnych androgénov v úzkostnom správaní u starnúcich samcov. Hlavným cieľom tohto experimentu bolo skúmať pohlavné rozdiely a potvrdiť kauzalitu estrogénového deficitu, resp. nadmerného testosterónu v úzkostnom správaní samíc potkana. Tiež sme skúmali účinok exogénne podávaného estradiolu, ako substituenej liečby, po krátkodobej hormonálnej deprivácii u starnúcich samíc.

Metódy. V experimente sme použili 12-14 mesačné potkany kmeňa Wistar oboch pohlaví. Samice podstúpili ovariectómiu alebo sham operáciu. Mesiac po operácii, ovariectomovaným samiciam sme podávali 17 β -estradiol, resp. sham-operovaným inhibítor aromatázy (letrozol). Kontrolné skupiny, nezávisle od ovariectómie, dostávali olivový olej. Samce slúžili na skúmanie pohlavných rozdielov a ostali až do behaviorálneho testovania intaktné. Lokomótnu aktivitu, úzkostné správanie a pamäť zvierat sme sledovali pomocou testu otvoreného poľa, vyvýšeného bludiska v tvare plus a testu rozpoznávania nového objektu. Zvieratám sme odobrali vzorky krvi a slín na stanovenie koncentrácie androgénov a estrogénov.

Výsledky. Samice vykazovali o 74 % vyššiu lokomotorickú aktivitu než samce ($p<0,001$) a o 37 % vyššiu než ovariectomované samice ($p<0,05$). Estradiolom suplementované samice prešli o 38 % väčšiu vzdialenosť ($p<0,05$) a strávili o 98 % viac času v centrálnej zóne otvoreného poľa ($p<0,01$) v porovnaní s ovariectomovanými samicami. V úzkostnom správaní v teste vyvýšeného bludiska a v pamäti v teste rozpoznávania nového objektu sme nepozorovali ani pohlavné rozdiely, ani vplyv hormonálnych manipulácií.

Záver. Naše výsledky poukazujú na to, že vyššia lokomotorická aktivita samiciek v porovnaní so samcami môže byť spôsobená vyššou koncentráciou estradiolu. Chýba však overenie hormonálneho statusu samíc po jednotlivých intervenciách. Okrem toho sa zdá, že exogénny estradiol môže mať anxiolytický účinok u ovariectomovaných samíc, aspoň v teste otvoreného poľa. Na druhej strane, odstránenie hlavného zdroja endogénnej produkcie estradiolu nemalo anxiogénny účinok, čo svedčí o rozlišnom mechanizme účinku endogénneho a exogénneho estradiolu.

NOVÁ VERZE SOUPRAVY BECKMAN COULTER NA STANOVENÍ 17 α -HYDROXYPROGESTERONU

PATRIK ŠAF^a, **HANA KRÁTKÁ^a**, **PAVLÍNA KNITLOVÁ^b**

*^aBeckman Coulter Česká republika s.r.o, Murmanská 4, Praha 10; ^bIMMUNOTECH s.r.o., Radiová 1, Praha 10
psaf@beckman.com*

17 α -Hydroxyprogesteron je dôležitým medzičlánkom pri tvorbe hormonů nadledvinek a jeho stanovení hraje nezastupitelnou roli při diagnostice, diferenciální diagnostice a sledování léčby vrozené adrenální hyperplazie.

Pro spolehlivé imunoanalytické stanovení 17 α -hydroxyprogesteronu je zapotřebí vhodné protilátky s nízkou zkříženou reaktivitou s příbuznými látkami, zejména s hydroxypregnenolonem a jeho sulfátem. Společnost Beckman Coulter vyvinula novou radioimunoanalytickou soupravu na stanovení 17 α -hydroxyprogesteronu, kterou se chystá uvést na trh v září letošního roku. Součástí sdělení bude prezentace parametrů této nové verze, jakož i porovnání s verzí současnou.

DENTÁLNÍ VÝPLŇOVÉ MATERIÁLY COBY TRVALÝ ZDROJ BPA V LIDSKÉM ORGANISMU?

**MARKĚTA ŠIMKOVÁ^{a,b,*}, ANTONÍN TICHÝ^c,
MICHAELA DUŠKOVÁ^a, LUCIE KOLÁTOROVÁ^a,
JANA VÍTKŮ^a, PAVEL BRADNÁ^c**

^aEndokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1;

^bVysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28

Praha 6; ^cStomatologická klinika 1. LF UK a VFN,

Kateřinská 32, 128 01 Praha 2

msimkova@endo.cz

Úvod: Se zákazem používání stříbrného amalgamu pro ošetření poškozených tvrdých zubních tkání u dětí do 15 let, těhotných a kojících žen a celkovou snahou o omezení jeho užívání se kompozitní materiály staly nejčastěji používanými rekonstrukčními materiály ve stomatologii. Mnohé z nich však obsahují monomery typu Bis-GMA (bisfenol A-glycidylmetakrylát) se strukturální jednotkou bisfenolu A (BPA). Uvolňování reziduí BPA obsažených v těchto monomerech či vznikajících v důsledku degradace polymerní matrice by mohlo být trvalým zdrojem BPA v lidském organismu. Kromě BPA mohou být v těchto materiálech obsaženy i tzv. alternativní bisfenoly, například bisfenol F, S a AF, kterými se výrobci snaží problém přítomnosti BPA překonat. Cílem této práce bylo stanovit maximální koncentrace BPA a jeho analogů ve výluzech dentálních kompozitních materiálů a sledovat kinetiku jejich uvolňování.

Metodika: Kompozitní materiály Charisma Classic (CC) a Filtek Ultimate (FU) obsahující monomery typu Bis-GMA a „BPA-free“ kompozity Charisma Diamond (CD) a Admira Fusion (AF) byly použity k přípravě válcovitých tělísek (průměr 6 mm, výška 2 mm, $n=3$). Po světelné polymeraci z jedné strany (20 s, 1000 mW/cm²) byla tělíška inkubována při 37 °C v methanolu, který byl vyměňován po 1, 7, 15 a 30 dnech. Koncentrace bisfenolů ve výluzech byly stanoveny pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí. Pro zvýšení odezvy hmotnostního detektoru byla použita metoda derivatizace analytů dansylchloridem¹.

Výsledky: Koncentrace BPA u „BPA-free“ materiálů CD a AF byly řádově nižší, než u CC a FU. V případě CD byla po 1 dni stanovena koncentrace BPA (0,13±0,05) ng/ml, která následně klesla na úroveň LLOQ (0,0416) ng/ml. U AF byla průměrná koncentrace BPA po 1 dni (0,08±0,01) ng/ml, která po 30 dnech mírně klesla na hodnotu (0,05±0,002) ng/ml. U CC byla průměrná koncentrace BPA po 1 dni (1,13±0,10) ng/ml, po mírném poklesu však byla po 30 dnech naměřena

vyšší koncentrace (3,03±0,14) ng/ml. Obdobné chování bylo pozorováno i u FU, kdy po počátečním poklesu průměrné koncentrace BPA z hodnoty (1,55±0,24) ng/ml po 1 dni následoval mírný nárůst na (1,77±0,11) ng/ml po 30 dnech. Přítomnost alternativních bisfenolů (BPF, BPS, BPAF) prokázána nebyla.

Závěr: Metodika stanovení bisfenolů derivatizací dansylchloridem byla úspěšně aplikována při analýze výluhů z dentálních kompozitních materiálů. I u „BPA-free“ materiálů byl BPA nalezen, avšak v řádově nižších koncentracích než u konvenčních kompozitních materiálů. U všech testovaných materiálů byla úhrnná množství BPA uvolněného do methanolu za 30 dnů nižší, než maximální akceptovaná denní dávka 50 µg/kg tělesné hmotnosti. V případě kvalitní polymerace by tudíž tyto materiály podle současných zdravotních kritérií neměly představovat rizikový zdroj BPA.

Práce vznikla za podpory projektu PROGRES Q29/ILF a Institucionální podpory Endokrinologického ústavu (MZ ČR – RVO Endokrinologický ústav – EÚ, 00023761).

LITERATURA

1. Kolatorova Sosvorova L., Chlupacova T., Vitku J., Vlk M., Heracek J., Starka L., Saman D., Simkova M., Hampl R.: *Talanta* 174, 21 (2017).

SPOLEČENSTVÍ MIKROORGANISMŮ A KOHO ZAJÍMAJÍ

FRANTIŠEK ŠTUMR, BARBARA ŠTUMROVÁ

MeDiLa spol. s r.o., Štrossova 1931, 530 03 Pardubice
frantisek.stumr@medila.cz

Mikroorganismy – tj. bakterie, viry, houby a parazité, mají velmi významný vliv na život a zdraví. Studium společenství mikroorganismů se zabývá řada zahraničních i tuzemských pracovišť. V přednášce budou publikovány příklady témat a některých výsledků studia společenství mikroorganismů (složení, vliv na zdraví a život) na pracovištích v České republice. Zdrojem k sestavení přednášky je především rešerše přednášek i posterů, publikovaných v uplynulých patnácti ročních odborné konferenci „Rutinní analýza nukleových kyselin“, kterou autoři sdělení pořádají pravidelně na přelomu ledna a února v Pardubicích.

VITAMIN D U MALIGNÍCH ONEMOCNĚNÍ – EPIDEMIOLOGIE SUBSTITUCE

ONDŘEJ TOPOLČAN

OID – FN Plzeň, Edvarda Beneše 1128/13, 305 99 Plzeň-Bory
TOPOLCAN@fnplzen.cz

Bez abstraktu.

ČISTOTA OVZDUŠÍ V LÁZEŇSKÝCH MÍSTECH**ZDENĚK TRÍSKALA**

Ministerstvo zdravotnictví České republiky, oddělení Český inspektorát lázní a zřídél, Palackého nám. 4, 128 01 Praha 2
Zdenek.Triskala@mzcr.cz

Bez abstraktu.

**CÍLENÉ DERIVÁTY PHORBOLU
A THAPSIGARGINU****TOMÁŠ ZIMMERMANN^b, SØREN BRØGGER
CHRISTENSEN^{a*}, HENRIK FRANZYK^a, ILARI
TARVAINEN^c**

^aVŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6, CZ-166 28;

^bUniversity of Copenhagen, Dept of Drug Design and Pharmacol., Jagtvej 162, Copenhagen Ø, DK-2100;

^cUniversity of Helsinki, Div. Pharmacol., Viikinkaari 5E (P.O. Box 56), Helsinki, FIN-00790
soren.christensen@sund.ku.dk

Estery phorbolu se ve formě extraktů z rostlin rodů *Croton* nebo *Tiglim* dříve používaly v tradiční čínské nebo ayurvedské medicíně. Současné poznatky o phorbol esterech nejčastěji zmiňují prozánětlivé, proapoptotické, kokarcinogenní účinky včetně zvýšení hladiny Ca²⁺ v cytosolu. Jejich aktivita¹ spočívá v aktivaci fosfokinasy C (PKC).

PKC² hraje důležitou roli v drahách zodpovědných za přenos signálu v buňce a přímou fosforylací může podílet na různých biologických procesech jako regulace buněčného cyklu, p53, p21, buněčná adheze, syntéza a transkripce DNA, apoptóza, rezistence vůči léčivům a buněčné dělení. PKC isozymů je vícero druhů a podle všeho je pro biologický efekt zásadní, který konkrétní isozym je aktivován. Taktéž

kokarcinogenní účinky phorbol esterů skrz aktivaci PKC byly nedávno přehodnoceny a PKC se nyní jeví daleko více jako tumor supresor³. Tyto účinky byly doloženy například schopností phorbol myristát acetátu (PMA) spustit apoptózu u LNCaP buněk skrze aktivaci isozymu PKC-δ⁴. Taktéž předběžná studie PMA nebo PMA kombinované terapie na lidech s amyelocytickou leukémií zaznamenala úspěch v podobě mnohočetných remisí nebo podstatnému snížení nádorových buněk⁵.

Tyto poznatky nás vedly k navrhnutí postupu pro vývoj prolečiv, jejichž aktivní část by byly phorbol estery. Použity byly peptidy specificky štěpené v nádorových tkáních, které byly předtím s úspěchem použity u jiného přírodního cytotoxinu thapsigarginu⁶. Tyto thapsigarginové prolečiva byly připraveny⁷ také pro možnost studovat synergii phorbolu a thapsigarginu proti nádorovým buňkám. Postup zahrnoval zjištění schopnosti vázat se na PKC a to aktivních derivátů phorbolu bez peptidu a následně otestovat tyto látky vícero typech buněk karcinomu prostaty pro jejich cytotoxicitu stejně tak jako platnost strategie peptidového cílení. V této době již máme výsledky testů finálních prolečiv s víceméně pozitivními výsledky.

LITERATURA

1. Goel G., Makkar H. P. S., Francis G., Becker K.: *Int. J. Toxicol.* 26, 279 (2007).
2. Kang J.-H.: *New J. Sci.* 2014, Article ID 231418.
3. Antal C. E., Hudson A. M., Kang E., et al.: *Cell (Cambridge, MA, U. S.)* 160, 489 (2015).
4. Gonzalez-Guerrico A. M., Kazanietz M. G.: *J. Biol. Chem.* 280, 38982 (2005).
5. Han Z. T., Zhu X. X., Yang R. Y., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 5357 (1998).
6. Doan N. T. Q., Paulsen E. S., Sehgal P., et al.: *Steroids*, 97, 2 (2015).
7. Zimmermann T., Christensen S., Franzyk H.: *Molecules* 23, 1463 (2018).

REJSTRÍK AUTORŮ

Absolonová, Karolína	132	Kosák, Mikuláš	129
Bešťák, Jiří	125	Krátká, Hana	130, 132
Bičíková, Marie	125, 131	Kršek, Michal	129
Bílek, Radovan	126	Kuchař, Martin	130
Borbélyová, Veronika	126	Lapčík, Oldřich	130
Bradna, Pavel	133	Máčová, Ludmila	131
Celec, Peter	126	Marková, Barbora	131
Celušáková, Hana	130	Matucha, Petr	132
Drašar, Pavel	127, 129	Opletal, Lubomír	127
Dušková, Michaela	129, 133	Ostatníková, Daniela	130
Filčíková, Diana	130	Renczés, Emese	132
Fojtík, Jakub	130	Šaf, Patrik	130, 132
Franzyk, Henrik	134	Šimková, Markéta	129, 133
HAMPL, Richard	127	Šterzl, Ivan	132
Hána Jr., Václav	129	Štumor, František	133
Hána, Václav	129	Štumrová, Barbara	133
Hill, Martin	129, 130	Tarvainen, Ilari	134
Honců, Pavla	125	Tichý, Antonín	133
Horáčková, Lenka	129	Topolčan, Ondřej	133
Christensen, Søren Brøgger	134	Třískala, Zdeněk	134
Chromková, Hana	130	Velíková, Marta	129
Jandová, Dobroslava	125	Vítků, Jana	133
Janšáková, Katarína	130	Zámečníková, Veronika	126
Ježková, Jana	129	Zelinka, Tomáš	126
Jurášek, Michal	127	Zimmermann, Tomáš	134
Knitlová, Pavlína	132		
Kolátorová, Lucie	133		



an Open Access Journal by MDPI



Terpenes and Terpene Derivatives

Guest Editors:

Prof. Dr. Pavel B. Drasar

Department of Chemistry of
Natural Compounds, University
of Chemistry and Technology,
Prague, Technická 5, CZ 166 28,
Czech Republic

Pavel.Drasar@vscht.cz

Prof. Dr. Vladimir A. Khripach

The Institute of Bioorganic
Chemistry, The National
Academy of Sciences of Belarus,
5/2 Academician V.F. Kuprevich
Street, Minsk BY-220141,
Republic of Belarus

khripach@iboch.bas-net.by

Deadline for manuscript
submissions:

30 March 2020**Message from the Guest Editors**

Dear Colleagues,

Terpenes, their derivatives and generally isoprenoids, as natural secondary metabolites, are playing stable and growing roles in human and veterinary medicine, supramolecular chemistry, in food and cosmetic R&D and industry, and in other, increasing numbers of fields. Their importance is based i.a. on the fact that they are mostly bound to renewable sources, which in fact makes them valuable within a circular economy. Terpenes and steroids are also an origin of stereochemistry, regioselectivity, chirality, and many other features and disciplines within science, development, and industry on a scope which is indispensable.

This Special Issue aims to underline current developments in all fields that are connected to terpene research and utilisation and will present a sequel to the successful Special Issue of *Molecules* "Synthesis, Study and Utilization of Natural Products" to commemorate the heritage of the great terpene scientist, Prof. Kenji Mori, who passed away recently.



mdpi.com/si/28692

Special Issue

https://www.mdpi.com/journal/molecules/special_issues/terpenes



TOPICS:

Chemistry of natural isoprenoids. Identification of new natural sources. Biosynthesis and metabolism.
Total synthesis. Structural analysis.
Pharmacological research of isoprenoids and their practical application.
Molecular-biological, genetic engineering and environmental aspects of isoprenoids.
Discovery and production technology of isoprenoids-based drugs.

www.isoprenoids25.phyto.kz
isoprenoids25@phyto.kz

REMARKS AND NOTES

CZECH CHEMICAL SOCIETY SYMPOSIUM SERIES • ročník/volume 17 (2019), čís./no. 4 • ISSN 2336-7202 (Print), ISSN 2336-7210 (On-line) • ISSN 2336-7229 (CD-ROM) • evidenční číslo MK ČR E 21999 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Rady vědeckých společností ČR, Akademie věd ČR, Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR / EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI / EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, E. Benešová, P. Drašar, P. Holý, P. Chuchvalec, Z. Kolská, J. Masák, J. Podešva, V. Vyskočil; Webové stránky: V. Vyskočil • TECHNICKÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • Redakce čísla (ISSUE EDITOR) P. Drašar, R. Bílek • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.ccsss.cz> • TISK: Garamon s.r.o., Wonkova 432, 500 02 Hradec Králové • SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2019 Czech Chemical Society Symposium Series/Česká společnost chemická • Cena výtisku / Single issue price 180 Kč • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete na <http://www.ccsss.cz>, zkratky časopisů podle Chemical Abstract Service Source Index (viz <http://cassi.cas.org/search.jsp>) • Molekulární námět na obálce: Vladimír Palivec • Dáno do tisku 20.5.2019.