

POSTEROVÁ SEKCIA

P01 Polymorfizmus rs74434454 génu *CER1* v patogenéze osteoporózy

Mydlárová Blaščáková M¹, Zigová M¹, Petrejčíková E¹, Hricová K^{1,2}, Dubecká S³, Poráčová J¹, Tomková Z⁴

¹Katedra biológie, Fakulta humanitných a prírodných vied Prešovskej univerzity v Prešove, Slovensko

²Interná klinika, Nemocnica AGEL Košice-Šaca a.s., Slovensko

³Reumatologická a interná ambulancia, V. interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

⁴Osteocentrum s.r.o., Prešov, Slovensko

Cerberus 1 gén (*CER1*) zaraďujeme medzi kandidátne gény osteoporózy. Proteín kódovaný týmto génom je zápalový cytokín, ktorý patrí do skupiny antagonistov kostných morfogenetických proteínov. V súvislosti s osteoporózou bolo skúmaných 5 polymorfizmov génu *CER1*. Výsledky vedeckých štúdií poukazujú na vzájomnú asociáciu tohto génu s kostnou minerálnou denzitou, skorším vekom nástupu menopauzy a zvýšeným kostným obratom. Cieľom tejto vedeckej štúdie bolo stanoviť percentuálne zastúpenie genotypov a alel polymorfizmu rs74434454 génu *CER1* u postmenopauzálnych žien východného Slovenska. Výskumný súbor tvorilo 202 postmenopauzálnych žien, ktoré boli rozdelené do dvoch skupín: kontrolná skupina (KS = 101 žien) a skupina žien s diagnostikovanou osteoporózou (OS = 101 žien). Denzitometrické meranie bolo uskutočnené celotelovým denzitometrom (DXA Hologic Discovery, Waltham, USA). Genotypová analýza SNP polymorfizmu rs74434454 génu *CER1* bola vykonaná metódou Real-Time PCR prostredníctvom prístroja (StepOne™ Real-Time PCR System). Na základe chí-kvadrát-testu môžeme skonštatovať, že sme nezistili možnú asociáciu alely G s rizikom vzniku ochorenia osteoporóza ($p < 0,74$). Prostredníctvom Studentovho T-testu sme nezistili štatisticky významný rozdiel v genotypoch AA, AG a GG medzi KS a OS v parametri vek nástupu menopauzy. Kruskal-Wallisovou neparametrickou analýzou rozptylu sme v OS zistili štatisticky významný rozdiel medzi genotypmi AA a GG v parametri BMD total ($p < 0,03$).

Práca bola podporená projektom VEGA č.1/0461/19.

P02 Asociácia body composition a kostnej minerálnej denzity u postmenopauzálnych žien

Mydlárová Blaščáková M¹, Dubecká S², Hricová K^{1,3}, Petrejčíková E¹, Zigová M¹, Vaňová N³, Nagy M⁴

¹Katedra biológie, Fakulta humanitných a prírodných vied Prešovskej univerzity v Prešove, Slovensko

²Reumatologická a interná ambulancia, V. Interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

³Interná klinika, Nemocnica AGEL Košice-Šaca, Slovensko

⁴Katedra biológie, Pedagogická fakulta, Univerzita J. Selyeho v Komárne, Slovensko

Vzťah medzi kostným a tukovým tkanivom je zložitý. Obe tkanivá sú vysoko metabolicky aktívne, vzájomne sa ovplyvňujú prostredníctvom adipokínov, estrogénov a kostných metabolických faktorov. Vzájomná interakcia týchto tkanív vytvára komplikovaný mechanizmus spätnej väzby, ktorý ovplyvňuje kostnú remodeláciu, kontrolu telesnej hmotnosti, adipogénu, glukózovú homeostázu a tvorbu svalovej hmoty. V našej štúdií sme sa zamerali na sledovanie vzájomnej asociácie kostných parametrov (T-skóre, BMC, BMD) a parametrov body composition u slovenských postmenopauzálnych žien. Výskumný súbor tvorilo 85 postmenopauzálnych žien, ktoré boli na základe denzitometrického merania rozdelené do 3 skupín: kontrolná skupina (KS = 26), osteopenická skupina (OP = 43) a osteoporotická skupina (OS = 16). Meranie kostných parametrov a markerov body composition bolo uskutočnené celotelovým denzitometrom (DXA Hologic Discovery, Waltham, USA). Prostredníctvom parametrickej analýzy rozptylu sme zistili štatisticky významný rozdiel ($p < 0,0001$) medzi sledovanými skupinami žien v parametroch BMC, tukové tkanivo, svalová hmotnosť, celková hmotnosť, tukové tkanivo/telesná výška a vo všetkých kostných parametroch. Na základe korelačnej analýzy sme v kontrolnej a osteoporotickej skupine postmenopauzálnych žien zistili

štatistický významnú pozitívnu koreláciu ($p < 0,05$) medzi BMD total a tukovým tkanivom. V skupine žien s diagnostikovanou osteopéniou bola zistená štatisticky významná pozitívna korelácia ($p < 0,05$) medzi svalovou hmotou a BMD total. Ide o pilotnú štúdiu sledovania asociácie kostných parametrov a markerov body composition. Do budúcnosti plánujeme rozšíriť výskumný súbor jedincov a zamerať sa aj na pohlavné hormóny a výživu, ktoré plnia významnú úlohu pri udržiavaní kostnej hmoty.

Práca bola podporená projektom VEGA č. 1/0461/19.

P03 **Zvýšená expresia mikroRNA-133a a mikroRNA-29b po aplikácii vitamínu D₃ a magnézia počas kultivácie adipocytov**

Chomaničová N^{1,2}, Adamičková A^{1,2}, Valášková S^{1,2}, Molitorisová M^{1,2}, Gažová A³, Kyselovič J^{1,4}

¹Jednotka klinického výskumu v oblasti vnútorného lekárstva, V. interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

²Centrum vedecko-technických informácií SR, Bratislava, Slovensko

³Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LF UK, Bratislava, Slovensko

⁴Katedra farmakológie a toxikológie, UVLF v Košiciach, Slovensko

Vitamín D₃ a horčík zohrávajú v organizme viacero nenahraditeľných úloh. Jednou z nich je udržiavanie vápnikovej homeostázy, ktorá je dôležitá pre správne fungovanie metabolizmu kostí. Bolo preukázané, že do regulácie metabolizmu kostí, teda ich deštrukcie a novotvorby, je zapojených aj niekoľko mikroRNA (napr. miR-133 alebo miR-29b). MiR-29b napomáha diferenciacii preosteoblastov na osteoblasty, zatiaľ čo miR-133 túto diferenciaciu inhibuje. Diferenciačný bunkový potenciál môžu ovplyvniť aj zmenené hladiny magnézia a vitamínu D₃ v organizme. Molekulárne mechanizmy, ktorými k tomu dochádza, však stále nie sú jednoznačne popísané. V tejto štúdii sme sa zamerali na analýzu expresie vybraných mikroRNA asociovaných s reguláciou kostného metabolizmu (miR-133, miR-29b) po pôsobení rôznych koncentrácií vitamínu D₃ a magnézia. Použitý bol in vitro model ľudských adipocytov, ktoré boli ovplyvnené roztokmi vitamínu D₃ (0,05 mM, 0,5 mM) a magnézia (40 mM, 89 mM) po dobu 24 hod. Potenciálne zmeny v relatívnej expresii jednotlivých mikroRNA boli hodnotené metódou RT-qPCR. Ovplyvnenie adipocytov vitamínom D₃ viedlo k signifikantnému zvýšeniu relatívnej expresie miR-29b a miR-133 v prípade oboch použitých koncentrácií liečiva. Signifikantné zvýšenie relatívnej expresie miR-29b a miR-133 oproti kontrole bolo zaznamenané aj v skupine adipocytov ovplyvnených vyššou koncentráciou magnézia. Tieto výsledky teda naznačujú dôležitosť vitamínu D₃ a magnézia v procesoch regulácie kostného metabolizmu prostredníctvom mikroRNA, čo môže mať významný vplyv na diferenciaciu kostných buniek.

Grantová podpora: APVV-14-0416, APVV-18-0103, NITT SK II 313011T438.

P04 **Ibuprofén ovplyvňuje expresiu rastových faktorov VEGF, HGF a IGF produkovaných kmeňovými bunkami izolovanými zo zubnej drene**

Adamičková A^{1,2}, Adamička M³, Valášková S^{1,2}, Chomaničová N^{1,2}, Molitorisová M^{1,2}, Gažová A⁴, Kyselovič J^{1,5}

¹Jednotka klinického výskumu v oblasti vnútorného lekárstva, V. interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

²Centrum vedecko-technických informácií SR, Bratislava, Slovensko

³Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK, Bratislava, Slovensko

⁴Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LF UK, Bratislava, Slovensko

⁵Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárneho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovensko

K bežným liečebným postupom terapie kostných defektov patria autológný kostný transplantát, alogénny kostný transplantát, xenotransplantát alebo aloplastický materiál. Tieto terapeutické postupy však nie sú vždy dostatočne účinné a vyznačujú sa obmedzenou schopnosťou obnovy morfológie a funkcie pri úbytku kostnej hmoty. Ideálna náhrada kostného štepu by mala byť charakteristická schopnosťou osteokondukcie, osteoindukcie, osteoinkorporácie, osteointegrácie a osteogenézy. Preto sa neustále hľadajú nové možnosti liečby s využitím regeneratívnej medicíny a mezenchýmových kmeňových buniek (MSC – Mesenchymal Stem Cells). Účinnosť regeneratívnej terapie s použitím MSC buniek je závislá od kombinácie interakcií medzi transplantovanými MSC a bunkovými a molekulárnymi zložkami prijemcu a rovnako aj od akejkoľvek súčasne podávanej farmakoterapie pacienta s účinkami na transplantované MSC-bunky a kostné mikroprostredie. Cieľom práce bolo preskúmať pôsobenie ibuprofénu na charakteristiky populácie mezenchýmových kmeňových buniek izolovaných zo zubnej drene (DPSC – Dental pulp stem cells) v in vitro podmienkach. V práci sme sa zamerali na sledovanie zmien v expresii vybraných angiogénnych faktorov, ktoré zohrávajú významnú úlohu v procese angiogenézy, a tým aj v regenerácii a oprave kostného tkaniva. Okrem toho sme kmeňové bunky charakterizovali pomocou prietokovej cytometrie. V našich predbežných výsledkoch sme zistili signifikantný nárast relatívnej expresie vaskulárneho endotelového rastového faktora vo všetkých časových intervaloch stimulácie DPSC ibuprofénom, signifikantný nárast expresie hepatocytového rastového faktora, a okrem toho sme zaznamenali signifikantné zníženie relatívnej expresie inzulínu podobného rastového faktora 1. Naše výsledky preukazujú, že okrem prebiehajúcich klinických štúdií sledujúcich účinkov terapie kmeňových buniek v regenerácii kostných tkanív je potrebné bližšie preštudovanie bežne používanej farmakoterapie z hľadiska jej potenciálneho vplyvu na parakrinné pôsobenie kmeňových buniek a následné procesy regenerácie kosti.

Grantová podpora: APVV-18-0103, NITT SK II 313011T438, VEGA 1/0378/21, UK/156/2022.

P05 **Hladiny vitamínu D₃ u chronicky chorých pacientov nepodmieňovali signifikantné zmeny v expresii svalovo- a osteo-špecifických miRNA**

Molitorisová M^{1,2}, Valášková S^{1,2}, Chomaničová N^{1,2}, Adamičková A^{1,2}, Gažová A³, Jackuliak P¹, Payer J¹, Kyselovič J^{1,4}

¹Jednotka klinického výskumu v oblasti vnútorného lekárstva, V. interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

²Centrum vedecko-technických informácií SR, Bratislava, Slovensko

³Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LF UK, Bratislava, Slovensko

⁴Katedra farmakológie a toxikológie UVLF V Košiciach, Slovensko

Vitamín D₃ zohráva kľúčovú úlohu v regulácii hladín vápnika a pri udržiavaní metabolickej homeostázy, avšak môže byť zapojený i do epigenetických mechanizmov regulácie génov ako modulátor funkcie mikroRNA. Cieľom štúdie bolo rozdelenie pacientov hospitalizovaných na V. internej klinike LF UK a UNB podľa ich sérových hladín vitamínu D₃ a porovnanie biochemických parametrov a zmien expresie svalovo- a osteo-špecifických mikroRNA. Klinický súbor predstavovalo 140 chronicky chorých pacientov (75 mužov, 65 žien) s priemerným vekom 68,31 ±

9,82 rokov, ktorým boli z odobratej venóznej krvi vykonané štandardné biochemické vyšetrenia. Na základe stanovenej hladiny vitamínu D₃ boli pacienti rozdelení do 3 sledovaných skupín: 13 pacientov s optimálnymi hodnotami (≥ 30 ng/l), 31 pacientov s nízkymi hladinami (21–29 ng/l) a 94 pacientov s deficitom vitamínu D₃ (≤ 20 ng/l). Z krvnej plazmy boli po izolácii a reverznej transkripcii RNA metódou polymerázovej reťazovej reakcie (PCR – Polymerase Chain Reaction) stanovené relatívne expresie hladín vybraných mikroRNA (miRNA-133a, miRNA-29b, miRNA-133b, miRNA-29a, miRNA-1, miRNA-206, miRNA-499, miRNA-208b). U pacientov s deficitom vitamínu D₃ (≤ 20 ng/l) boli pozorované zvýšené koncentrácie glukózy, bilirubínu, albumínu a urey, ako aj vyššie hodnoty glomerulárnej filtrácie (eGF) a zápalového markeru CRP. Kreatinín bol znížený u všetkých pacientov s hladinami vitamínu D₃ < 30 ng/l. Porovnanie hladín vitamínu D₃ s relatívnou expresiou vybraných mikroRNA (miRNA-133a, miRNA-29b, miRNA-133b, miRNA-29a, miRNA-1, miRNA-206, miRNA-499, miRNA-208b) u sledovaných skupín pacientov nepreukázalo signifikantné zmeny v expresii jednotlivých mikroRNA. Naše výsledky preukázali možnú súvislosť medzi nedostatkom vitamínu D₃ a narušením metabolickej homeostázy u chronicky chorých pacientov, avšak súvislosť medzi hladinami vitamínu D₃ a expresiou vybraných mikroRNA v tejto štúdii potvrdená nebola.

Grantová podpora: APVV-14-0416, VEGA 1/0949/15, UK/361/2019, FaF UK/25/202, NITT SK II 313011T438.

P06 **Korelácie špecifických parametrov kostného metabolizmu s relatívnou expresiou osteošpecifických mikroRNA-133a a mikroRNA-29b u pacientov s chronickým ochorením obličiek**

Valášková S^{1,2}, Chomaničová N^{1,2}, Adamičková A^{1,2}, Gažová A³, Koller T², Jackuliak P², Payer J², Kyselovič J^{1,4}

¹Jednotka klinického výskumu v oblasti vnútorného lekárstva, V. interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

²Centrum vedecko-technických informácií SR, Bratislava, Slovensko

³Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK, Bratislava, Slovensko

⁴Katedra farmakológie a toxikológie UVLF v Košiciach, Slovensko

Chronické ochorenie obličiek (CKD – Chronic Kidney Disease) je všeobecný pojem pre heterogénne poruchy ovplyvňujúce štruktúru a funkciu obličiek. Zmeny v priebehu ochorenia súvisia s príčinou a patológiou, závažnosťou a rýchlosťou progresie. Progresia ochorenia je spôsobená nezvratnou stratou nefrónov a postupnou stratou funkcie obličiek, čo môže viesť k ich úplnému zlyhaniu. Jednou z najčastejších komplikácií tohto ochorenia je porucha metabolizmu minerálov CKD-MBD (Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder). Je sprevádzaná abnormálnosťami v metabolizme vápnika, fosforu, parathormónu (PTH) a vitamínu D, narušenou mineralizáciou a rastom kostí alebo kalcifikáciou mäkkých tkanív. Do našej štúdie bolo zapojených 60 pacientov vo veku $67,63 \pm 11,68$ rokov, ktorí boli rozdelení podľa štádia ochorenia CKD do 6 skupín: G1, G2, G3a, G3b, G4 a G5. U všetkých zúčastnených boli hodnotené laboratórne parametre: eGF, glukóza, sérový albumín, sérový kreatinín, hemoglobín, urea, CRP a vitamín D. Taktiež sa hodnotili markery kostného obratu, a to marker kostnej resorpcie CTx a markery osteoformácie P1NP a osteokalcín. V odobraných krvných vzorkách sme metódou qRT-PCR analyzovali relatívne expresie mikroRNA-133a a mikroRNA-29b. Naša hypotéza predpokladá relatívne zmeny expresie mikroRNA v jednotlivých štádiách ochorenia, čo by mohlo viesť k možnosti používať mikroRNA ako diagnostický parameter pre jednotlivé štádiá CKD a poruchu metabolizmu CKD-MBD.

Grantová podpora: UK/361/2019, FaFUK/25/202, VEGA 1/0949/15, NITT SK II 313011T438, APVV-14-0416.

P07 Cievne tukové tkanivo vylučuje faktory, ktoré supľujú poškodený endotel u starnúcich, preaterosklerotických ApoE^{-/-} potkanov

Nakladal D^{1,2,3}, Sijbesma JWA⁴, Visser LM⁵, Tietge UJF^{6,7}, Slart RHJA^{4,8}, Deelman LE³, Henning RH³, Hillebrands JL⁵, Buikema H³

¹Jednotka klinického výskumu v oblasti vnútorného lekárstva, V. interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

²Centrum vedecko-technických informácií SR, Bratislava, Slovensko

³Department of Clinical Pharmacy and Pharmacology, University Medical Center Groningen, The Netherlands

⁴Department of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, University Medical Center Groningen, The Netherlands

⁵Department of Pathology & Medical Biology, Pathology division, University Medical Center Groningen, The Netherlands

⁶Department of Pediatrics, University Medical Center Groningen, The Netherlands

⁷Division of Clinical Chemistry, Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

⁸Faculty of Science and Technology Biomedical, Photonic Imaging, University of Twente, Enschede, The Netherlands

Ateroskleróza výrazne prispieva ku globálnej úmrtnosti a je sprevádzaná zápalom ciev a endotelovou dysfunkciou. Perivaskulárne tukové tkanivo (PVAT) vylučuje faktory regulujúce funkciu ciev, a tie boli implikované v ateroskleróze. Naším cieľom bolo analyzovať, ako PVAT moduluje relaxáciu aorty u starnúcich potkanov s genetickým knockoutom apolipoproteínu E (ApoE) kŕmených potravou s vysokým obsahom tuku, teda v modeli skorej aterosklerózy. ApoE^{-/-} potkany (n = 7) a ApoE^{+/+} kontroly (n = 8, divoký typ Sprague-Dawley potkana) dostávali potravu s vysokým obsahom tuku po dobu 51 týždňov. Hyperlipidémia bola potvrdená u ApoE^{-/-} potkanov vysokými hladinami cholesterolu (p < 0,001) a triglyceridov (p = 0,025). Vývin aterosklerózy u ApoE^{-/-} potkanov bol zjavný z hrubnutia aorty (pomer intima/média, p < 0,01) a z invázie makrofágov do intimy (p < 0,001). Zápal ApoE^{-/-} PVAT bol charakteristický zvýšenou absorpciou fludeoxyglukózy (18F, p < 0,01), inváziou makrofágov (p = 0,0003), zvýšenou expresiou mRNA markerov CD68 (p < 0,001) a IL-1β (p < 0,01) a proteínu iNOS (p = 0,011). Transkripty markerov MCP1, IL6 a adiponektínu ostali nezmenené v PVAT. Aortické PVAT malo väčší objem u ApoE^{-/-} potkanov (meraný s micro-PET/CT, p < 0,01). Maximálna endotelová relaxácia (ER) vyvolaná acetylcholínom v ApoE^{-/-} aorte bez PVAT bola výrazne narušená (p = 0,012), kým ApoE^{-/-} aorta s PVAT relaxovala silnejšie než kontrolná. ER aktivita bola závislá od oxidu dusnatého (NO) a mRNA expresia eNOS bola zvýšená v ApoE^{-/-} PVAT (p = 0,035). **Záver:** Použitím potkanieho modelu skorej aterosklerózy sme zachytili nový mechanizmus, ktorým v aorte zapálené PVAT funkčne nahrádza poškodený endotel vylučovaním NO.

Grantová podpora: Abel Tasman PhD scholarship by the Graduate School of Medical Sciences, University of Groningen, University Medical Center Groningen; Life Sciences and Health—Topconsortium for Knowledge and Innovation (Stichting LSH-TKI): PPP project-2019–017; Národný Štipendijný Program Slovenskej Republiky; NITT SK II 313011T438.