SCRIPTA MEDICA (BRNO) – 73 (2): 135–149, *April 2000*

ZPRÁVY

ZPRÁVA O ČINNOSTI BRNĚNSKÉ POBOČKY ČESKOSLOVENSKÉ BIOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI V ROCE 1999

Členská schůze 20. ledna 1999

J. Elster (Úsek ekologie rostlin, Botanický ústav AV ČR Třeboň): **Současné výzkumné trendy v polární biologii a ekologii - Český národní polární program.**

Členská schůze 27. ledna 1999

Závěrečná oponentura grantového projektu Sensitivita baroreflexu u člověka v prospektivní studii

B. Fišer (Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Sensitivita baroreflexu u člověka.**

N. Honzíková (Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Metody sledování baroreflexu u člověka.**

Z. Nováková (Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Baroreflex v průběhu fyzické námahy.**

N. Honzíková (Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Autonomní dysfunkce u nemocných po akutním infarktu myokardu.**

B. Fišer (Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Baroreflex u člověka - perspektivy dalšího výzkumu.**

Členská schůze 17. února 1999

Z. Laštůvka (Ústav zoologie a včelařství Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně): **Vzájemné ovlivňování početnosti organismů a možnosti praktického využití.**

M. Vaněk, R. Pellarová[1] (Ústav zoologie a včelařství Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně, [1]Kožní ambulance Centra dětských odborných zdravotnických služeb v Brně): **Změny mikrostruktury vlasů při kongenitální ichtyóze.**

Členská schůze 17. března 1999

L. Jirmanová, P. Dvořák (Laboratoř molekulární embryologie Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity Brně a Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Brně): **Biosyntéza membránových proteoglykanů - významný regulační mechanismus aktivity růstových faktorů.**

P. Krejčí, D. Dvořáková[1], E. Krahulcová[1], A. Hampl, P. Dvořák (Laboratoř molekulární embryologie Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity Brně a Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Brně, [1]II. interní klinika-hematoonkologická, Fakultní nemocnice Bohunice, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně): **Fibroblastový růstový faktor (FGF) a leukémie. Co může znamenat deregulace syntézy FGF pro leukemické buňky?**

E. Průšová, P. Dvořák, A. Hampl (Laboratoř molekulární embryologie Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity Brně a Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Brně): **Reakce na poškození DNA u časných myších embryí je vyvojově regulována.**

Členská schůze 14. dubna 1999

O. Nečas (Biologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Biologie buněčného stresu.**

Členská schůze 5. května 1999

(Schůze konaná ve spolupráci s Českou společností pro biochemii a molekulární biologii)

P. Skládal (Katedra biochemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Studium afinitních interakcí pomocí biosensorů.**

Členská schůze 19. května 1999

(Schůze konaná ve spolupráci s Českou anatomickou společností)

F. Tichý[1], D. Horký[3], I. Míšek[1,2] ([1]Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně, [2]Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Brně, [3]Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Středněprůměrové cévní protézy implantované v rozsahu a. carotis externa u miniprasete.**

I. Míšek[1,2], K. Witter[1,2], H. Pavlíková[1], P. Matulová[2] ([1]Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně, [2]Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Brně): **Současný pohled na vývojová stadia savčích zubů.**

H. Černý (Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně): **Prenatální morfogeneze klavikuly u vybraných druhů šelem.**

H. Pavlíková[1], K. Witter[1,2], I. Míšek[1,2] ([1]Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně, [2]Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Brně): **Anatomie a vývojová historie vestibulum oris u ovce.**

I. Kociánová, A. Gorošová, F. Tichý (Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně): **Ultrastruktura regio olfactoria kočky v prenatálním období.**

V. Pár al (Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně): **Mineralizace rostoucí maxily skotu.**

M. Buchtová (Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně): **Morfologie tarzálních žláz u drobných savců.**

Členská schůze 20. října 1999

V. Bryšová, D. Valík, L. Pecen (Oddělení lékařské genetiky Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, Brno): **Screening chromosomálních aberací a VVV plodů v I. trimestru.**

A. Oltová, Z. Hrubá, R. Gaillyová (Oddělení lékařské genetiky Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, Brno): **Stanovení karyotypu plodu v I. trimestru gravidity.**

P. Kuglík (Oddělení lékařské genetiky Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, Brno): **Využití metody fluorescenční in situ hybridizace v prenatální diagnostice.**

R. Gaillyová (Oddělení lékařské genetiky Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, Brno): **Genetické poradenství u žen s karyotypem 46, XY.**

M. Vojtíšková, R. Gaillyová, B. Ravčuková, K. Kodydková, Z. Lukáš[1], J. Hájek[2], Z. Kadaňka[3] (Oddělení lékařské genetiky Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, [1]II. patologicko-anatomický ústav a [2]Klinika dětské neurologie Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně, [3]Neurologická klinika Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně): **Molekulární diagnostika progresivních svalových dystrofií**.

Členská schůze 10. listopadu 1999

(Schůze konaná ve spolupráci s Českou anatomickou společností a Ústavem histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně u příležitosti 60. narozenin prof. MUDr. Drahomíra Horkého, DrSc.)

S. Čech (Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Profesor Drahomír Horký šedesátníkem.**

J. Šťastná, M. Sedláčková (Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Cytochemický průkaz peroxidu vodíku produkovaného buňkami cumulus oophorus myši**.

M. Sedláčková, J. Šťastná, J. Žáková[1], P. Ventruba[1] (Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně, [1]I. gyne-kologicko-porodnická

klinika, Fakultní porodnice Brno, Lékařská fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Cytochemická detekce buněk produkujících peroxid vodíku v lidském cumulus oophorus.**

I. Lauschová (Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Cytologie tubárního epitelu-ultrastrukturní charakteristika buněčných typů a podtypů.**

F. Tichý, I. Kociánová, A. Gorošová (Ústav anatomie, histologie a embryologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně): **Ultrastruktura čichového epitelu kotěte.**

J. Lokaj (Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice u Sv. Anny, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně): **Vrozené vady profesionálních fagocytů.**

Členská schůze 8. prosince 1999

J. Kulhavý (Ústav ekologie lesa Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně): **Základní informace o ústavu - dosavadní zaměření a výsledky.**

E. Klimo (Ústav ekologie lesa Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně): **Ekosystémová analýza a metody vývoje lesních ekosystémů (na příkladu koloběhu elementů)**.

J. Čermák (Ústav ekologie lesa Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně): **Některé charakteristiky vodního provozu a struktury lesních dřevin.**

E. Kula (Ústav ekologie lesa Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně): **Problematika hmyzích škůdců v lesních ekosystémech.**

E. Bednářová (Ústav ekologie lesa Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně): **Zjišťování latentního poškození lesních dřevin s využitím analýzy epikutikulárních vosků.**

ABSTRACTS

M. Vaněk, R. Pellarová[1] (Department of Zoology, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, [1]Ambulance of Dermatology, Center of Children Health Special Services, Brno): **Changes of hair microstructure in congenital ichthyosis.**

Changes of hair microstructure were studied in the boy (J. F.) of 14 years afflicted by erythrodermia ichthyosiformis congenita non bullosa. Since his birth, he has suffered from dermal keratinisation. This defect is manifested over the whole integument by differently intensive erythema, squamae formation and deposits of up to 2 cm in plicae of extremities, on the neck and in inguinal region, which continues to be renewed; here and there, fissures arise. During several next years, ectropia of eyelids has even occurred in the patient. His intellect and other organs were not afflicted.

The patient's hair under study was hand-whipped for treating by scanning electron microscope (SEM). The standard processing protocol was used, i. e., cleaning of the hair scape with acetone using the ultrasound apparatus Teson 1 - type VC 005 AJ for 3 min. After acetone bath, 9 cm of

supradermal part from the hair scape were clipped into cca. 1.5 cm particles, which were subsequently mounted at points with conductive cement onto metal handles. After it, they were metallized 10 nm with 24 carat Au using the apparatus of SCD 030 type working on the principle of ionic steaming of the Sputering system. Electronmicrographs were taken by the Tesla BS 300 scanning electron microscope at magnifications of 900x, 1500x and 1800x.

In all electronmicrographs obtained, transverse cuticular ruptures reaching to the cortical hair layer were seen. Isolated segments of epidermicule without close contacts to the hair cortex were occasionally observable. In several electronmicrographs, a longitudinal fissure in the hair scape (trichoptilosis) occurred, or cortex may be swollen and loose in demarcated points of the hair scape (trichorrhexis nodosa). These defects were typical of the intermediate as well as distal segments of the hair scape under study.

It is known that congenital ichthyosis occurs sporadically as compared with ichthyosis vulgaris. The observations presented show that scanning electron microscopy may be explored as useful complementary method for the diagnosis of erythrodermia ichthyosiformis congenita non bullosa. The SEM in study of surface microstructural hair abnormalities was previously recommended and used by *Bartošová, Jorda and Šťáva* (1982).

L. Jirmanová, P. Dvořák (Laboratoř molekulární embryologie Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity Brně a Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR v Brně): **Biosyntéza membránových proteoglykanů - významný regulační mechanismus aktivity růstových faktorů.**

Proteoglykanové molekuly tvořené osovým proteinem a velkým množstvím postranních oligosacharidových řetezců jsou součástí membrány většiny buněk. V práci je podrobně popsána role proteoglykanových sacharidových ektodomén v regulaci aktivity růstových faktorů během embryogeneze, a to na příkladu fibroblastového růstového faktoru-2 (FGF-2) a jeho sacharidových koreceptorů.

Protein FGF-2 je v průběhu vývoje embrya indukčním faktorem v procesech jako je implantace embrya, indukce mesodermu, diferenciace neuroektodermu nebo angiogenese. Aby mohl plnit svoji biologickou funkci, je nutná jeho oligomerizace vazbou proteoglykanových sacharidových řetezců heparinového nebo heparan sulfátového typu, což umožnuje navázání FGF-2 na specifické tyrosin-kinásové receptory a jejich aktivaci.

Funkci koreceptoru však může plnit také sacharidový epitop (Galβ 1-4 [Fucα 1-3] GlcNAcβ) nazývaný Lewis X (Le^x), který se podílí zejména na adhezi leukocytu a nádorových buněk; epitop je součástí embryonálních proteoglykanů a jeho úloha během embryogeneze ještě není zcela vyjasněna. Enzymatickou modifikací lze Le^x upravit na sulfatovanou nebo sialylovanou isoformu. Funkce jednotlivých isoforem a způsob jejich exprese vykazují vysokou specificitu a jsou součástí regulace signalizačních procesů v mezibuněčných interakcích.

Inhibice syntézy Le^x ektodomény na povrchu embryonálních kmenových (ES) buněk in vitro viditelně neovlivňuje adhezní a agregační vlastnosti buněčných kolonií. Je velmi pravděpodobné, že adheze a agregace nediferencovaných embryonálních buněk jsou zprostředkovány jinými molekulami než Le^x, který zde asi plní jinou funkci.

Experimenty na ES buňkách, s normální expresí Le^x, ukazují silný stimulační vliv sulfatovaného Le^x na proliferační aktivitu FGF-2. Desetkrát zvýšená koncentrace neutrálního a sulfatovaného Le^x (avšak ne sialylovaného Le^x) způsobuje inhibici této mitogenní aktivity. Při vysoké molární koncentraci exogenního koreceptoru pravděpodobně dochází k obsazení všech tří vazných míst pro sacharidové řetězce na molekule FGF-2. Důsledkem je přednostní tvorba monomerů FGF-2, které nemohou aktivovat specifické tyrosin-kinásové receptory.

Syntéza membránových proteoglykanů a enzymatická modifikace jejich sacharidových ektodomén může tedy být procesem regulujícím nejen adhezivní vlastnosti buněk, ale také aktivitu růstových faktorů.

P. Krejčí, D. Dvořáková[1], E. Krahulcová[1], A. Hampl, P. Dvořák (Laboratory of Molecular Embryology, Mendel University Brno and Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, [1]2nd Department of Internal Medicine - Hematooncology, Faculty Hospital Bohunice, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno): **Fibroblast growth factor 2 (FGF2) and leukemia. What might be the significance of the increased FGF2 synthesis for leukemia cells?**

Growth and differentiation of mammalian cells is under the control of negative and positive growth signals that are mediated by various growth factors and their corresponding receptors. The ability of cells to respond to the growth factors produced by cells themselves (autocrine stimulatory loop) is one of cell transformation mechanisms. This mechanism was demonstrated for several peptide growth factors, including members of fibroblast growth factor family (FGF). For example FGF4, which acts as signal molecule in developing mouse embryo, is simultaneously considered as an oncogene because of its ability to induce tumours in adults. Here, we provide an evidence that some autocrine stimulatory loop can exist in human leukemia cells for another member of FGF family, FGF2.

In chronic lymphoblastic leukemia of B-origin (B-CLL) we detected elevated concentration of secreted FGF2 in plasma, which significantly differs from controls and is accompanied by abundant synthesis of secreted and nuclear located isoforms of FGF2 in circulating leukemia cells. Indeed, we demonstrated that leukemia cells release FGF2 into culture medium and thus may serve as the cellular source for plasma FGF2. FGF-mediated signals are transduced via transmembrane tyrosine kinases represented by FGF-receptor family (FGFR). To date, four FGFR classes (FGFR1-4) with more than 50 variants are known. We characterised expression of FGFR1-4 mRNA in B-CLL leukemia cells. In these cells, we revealed the expression of three classes of FGFR (FGFR1, 3, 4) from which FGFR1 has been described to bind FGF2 with high affinity. These results were further confirmed by detection of FGFR1 protein. Currently, the experiment on FGF2-mediated stimulation of B-CLL cells is under investigation.

FGF2 is nearly ubiquitous in distribution and regulates many distinct biological activities including hematopoiesis. In “normal” hematopoiesis FGF2, synthesised by stromal fibroblasts functions as a multilineage stimulatory cytokine which affects both early and late progenitors as well as mature blood cells. We extrapolate that in B-CLL paracrine effect of FGF2 on various peripheral and bone marrow cellular targets results in stimulation of hematopoiesis. Increasing evidence describing correlations between the FGF2 overexpression and tumorigenicity of cancer cells suggest that aberrant FGF2/FGFR interaction may be critical for tumour progression. B-CLL is characterised by slow accumulation of monoclonal small lymphocytes, the majority of which is nondividing. Thus, we suggest that FGF2 autostimulatory loop contribute rather to the delayed senescence and resistance of B-CLL cells to apoptotic stimulus than to enhanced cell growth and proliferation.

E. Průšová, P. Dvořák, A. Hampl (Laboratoř molekulární embryologie Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity Brně a Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR v Brně): **Reakce na poškození DNA u časných myších embryí je vyvojově regulována.**

Významnou vlastností všech buněk je schopnost modulace progrese buněčného cyklu, která je řízena komplexem regulačních procesů. Centrální úlohu v regulačních mechanismech hraje přitom modulovaná aktivita cyklin-dependentních kináz (CDK). Schopnost regulace cyklu umožňuje reagovat na antiproliferační signály, např. poškození DNA. Dochází k aktivaci procesů vedoucích k zastavení buněčného cyklu, nejčastěji v G1/S či G2/M fázi. Předpokládá se, že přerušení buněčné progrese poskytuje buňkám čas nezbytný pro uskutečnění reparačních procesů. Případné defekty v tomto mechanismu mohou znamenat vznik mutací či umožnit nekontrolovanou proliferaci, která je charakteristická pro nádorové buňky.

Somatické buňky k regulaci průběhu buněčného cyklu využívají mimo jiné transkripci genů. Zygotická exprese genů u myších embryí začíná až v pozdní G1 fázi prvního mitotického cyklu

a plně se rozvíjí během 2-buněčného stadia. Minimálně v tomto ohledu jsou časná vývojová stadia embryí limitována. Schopnost časných embryí reagovat na poškození DNA přesto byla prokázána.Tato studie přináší informace o reakci časných myších embryí na indukované poškození DNA, s cílem vytvořit modelový systém k analýze molekulárních mechanismů.

Autoři analyzovali reakci 1- a 2-buněčných myších embryí na poškození DNA. Poškození bylo indukováno UV-C zářením (254 nm) dávkou 15J/m^2, která aplikována na 1-buněčná embrya 5 h p. ins. (pronukleární stadium) vyvolala zastavení buněčného cyklu u 50% zárodků. Po aplikaci stejné dávky na 2-buněčná embrya těsně po rozdělení (z důvodu krátké G1 fáze) došlo k zastavení buněčného cyklu u 40% embryí. V obou případech šlo o reverzibilní reakci.

Ke sledování průběhu buněčného cyklu ozářených embryí byl použit bromodeoxyuridin (BrdU), homolog thymidinu, který je do DNA v průběhu její syntézy inkorporován. Analýza inkorporace BrdU ukázala, že poškození DNA indukované UV zářením vedlo u 1-buněčných embryí spíše ke zpomalení průběhu S fáze a prodloužení buněčného cyklu než k zastavení v G1/S či v G2/M fázi, zatímco vývoj ozářených 2-buněčných embryí byl zastaven v G2/M fázi.

V současnosti autoři studují možnou účast regulačních molekul p53, p21 a retinoblastoma proteinu u 1- a 2-buněčných embryí po navozeném poškození DNA.

P. Skládal (Katedra biochemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Studium afinitních interakcí pomocí biosensorů.**

Současný rozvoj přírodních věd vyžaduje spolupráci vědeckých pracovníků ze značně odlehlých odvětví. Názorným příkladem je výzkum biosensorů - progresivní obor na rozhraní biologie, chemie, fyziky a matematiky, jehož aplikační výstupy zasahují do medicíny, zemědělství, fermentačního, potravinářského a farmaceutického průmyslu, a i do životního prostředí a vojenství. Biosensor je analytické zařízení sestávající z biologické složky (enzym, protilátka, antigen, receptor, lektin, nukleová kyselina), která rozpoznává stanovovaný analyt, a z fyzikálního převodníku, který tuto biointerakci převádí na měřitelný signál.

Přímé afinitní biosensory umožňují průběžné sledování vzniku afinitních komplexů bez nutnosti značení. Nejznámějším zástupcem je systém BIAcore firmy Pharmacia. Je založený na rezonanci plazmonů na rozhraní kov/dielektrikum, vznikající při totálním odrazu dopadajícího světla (surface plasmon resonance). Při navázání biomolekul na kovové vrstvě dochází k posunu rezonančního minima, což umožňuje sledovat vazebné děje. Dalším rozšířeným systémem je IAsys (Affinity Sensors) využívající techniku rezonačního zrcadla. Přímé optické biosensory jsou velmi nákladná zařízení vhodná pouze pro laboratorní použití. Mnohem levnějším převodníkem pro afinitní studie jsou piezoelektrické biosensory, u nichž změna rezonanční frekvence oscilujícího piezoelektrického krystalu závisí na hmotnosti navázaných biomolekul, systém tedy funguje jako chemické mikrovážky. Mimo běžného stanovení koncentrací analytů je možné s pomocí těchto technik sledovat v reálném čase interakce biomolekul (vazba protilátek s antigeny, hybridizace nukleových kyselin, vazba ligandů na receptory) a určovat kinetické parametry (rovnovážné a rychlostní konstanty).

Příklady z našeho pracoviště zahrnují aplikace piezosensorů pro charakterizaci interakcí protilátek s antigeny a hapteny - modelovými herbicidy ze skupin fenoxyalkanových kyselin a triazinů. Vyvinuté imunosensory umožňují stanovit velmi nízké koncentrace (0.1 μg/l) pesticidů ve vodě. Vznik imunokomplexů byl sledován v přítomnosti směsí vody a organických rozpouštědel, specifická vazba haptenu byla pozorována v přítomnosti 50% methanolu. Imunostanovení v organické fázi mají značný význam pro nepolární látky nerozpustné ve vodě. U rekombinantní protilátky (scFv fragment) proti parathionu byla studována interakce s parathionem a samovolná dimerizace scFv. Zajímavý byl vliv teploty na pevnost vazby secalinu (zásobní bílkovina žita) na nativní IgG a Fab fragment. Při nízké teplotě výrazně poklesla rychlost disociace imunokomplexu. Srovnávací studie piezoelektrického biosensoru a systému IAsys prokázala, že oba poskytují při kinetických studiích shodné výsledky.

F. Tichý[1], D. Horký[3], I. Míšek[1,2] ([1]Ústav anatomie, histologie a embryologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, [2]Laboratoř genetiky a embryologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR Brno, [3]Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně): **Středněprůměrové cévní protézy implantované v rozsahu arteria carotis externa u miniprasete.**

Metodou světelné mikroskopie byla studována struktura stěny cévní protézy po 90-ti denní implantaci v rozsahu a. carotis externa u miniprasete. Protézy o průměru 5 mm a délce 60 mm byly odebrány od pěti jedinců (oboustranně, tj. 10 vzorků), včetně přilehlého kraniálního a kaudálního úseku arterie.

Na základě získaných výsledků lze protézy rozdělit na neprůchodné (nefunkční), protézy s omezenou průchodností (dubiózní) a protézy průchodné (funkční).

Nefunkční protézy (5 případů) byly v celém rozsahu zcela obturovány fibrózní vazivovou tkání se značným zastoupením tenkostěnných cév různého kalibru. Vazivové snopce se propagovaly stěnou protézy do centra, kde se obloukovitě stáčely a získávaly longitudinální orientaci. V oblasti obou anastomóz se vyskytovala i chondroidní tkáň s mineralizovanými okrsky.

U protéz dubiózních (2 případy) byl zachován centrální, místy nesouvislý, podélně probíhající kanálek, poněkud rozměrnější v úrovni obou anastomóz, kde jeho výstelku tvořily oploštělé buňky s hyperchromatickými jádry. Ve střední části kanálku se souvislá výstelka nevyskytovala. Tkáň v okolí kanálku obsahovala početné fibroblasty a místy i objemné krevní lakuny.

Protézy funkční (3 případy) byly charakterizovány přítomností rozměrného, centrálně uloženého kanálu, jehož výstelku tvořily ploché, intenzívně se barvící buňky s hyperchromatickými jádry. V úrovni obou anastomóz vykazovala tkáň v okolí kanálku „rohožovité“ uspořádání jak vláknité, tak buněčné složky.

Ve všech případech obklopovala cévní protézu vazivová kapsula s četnými štěrbinovitými cévními splavy s plochou jednovrstevnou výstelkou.

I. Míšek[1,2], K. Witter[1,2], H. Pavlíková[1], P. Matulová[2] ([1]Ústav anatomie, histologie a embryologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, [2]Laboratoř genetiky a embryologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR Brno): **Současný pohled na vývojová stadia savčích zubů.**

Seriózní výzkum vývoje savčí dentice se datuje od konce minulého století, kdy základy tohoto poznání položili především *Kükenthal* (1891), *Leche* (1892), *Röse* (1892) a *Wilson* a *Hill* (1897). Vzhledem k relativní rozmanitosti názorů na stadiování vyvíjejícího se chrupu vyvstala nutnost sjednotit názvosloví a přesně definovat vývojové etapy (stadia) jednotlivých zubů. Jako velmi zdařilý se ukázal model *Lecheho* (1892, 1895), který založil svoji nomenklaturu na pozorování vývoje dentice vybraných druhů placentálních savců a vačnatců. Leche označuje základní vývojová stadia jako pupen (Knospenstadium), pohárek (Kappenstadium) a zvonek (Glockenstadium); ne všemi však byla tato terminologie akceptována, čehož důsledkem je až do nedávna přetrvávající nejednotnost v rozlišování jednotlivých vývojových stadií. Se sjednocující myšlenkou přišel *Luckett* (1993), který použil původní Lecheho návrh a na základě detailních histologických studií časově upřesnil rozdíly mezi jednotlivými stadii a jejich vzájemné přechody. „Bud stage“, „cap stage“ i „bell stage“ rozdělil do tří podstadií (časné, střední a pozdní), která jsou jasně morfologicky determinována. Lze konstatovat, že v současné době existuje určitá shoda v akceptování výše navrženého modelu, nicméně dosud přetrvávají nejasnosti například v označování směrů na zubním oblouku, postupu rozvoje a segmentace zubní lišty u různých druhů savců, charakteru a průběhu erupce zubů i způsobech homologizace zubů.

H. Pavlíková[1], K. Witter[1,2], I. Míšek[1,2] ([1]Ústav anatomie, histologie a embryologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, [2]Laboratoř genetiky a embryologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR Brno): **Anatomie a vývojová historie vestibulum oris u ovce.**

Vestibulum oris (VO) je prostor ohraničený na jedné straně pysky a tvářemi a na druhé straně zubními oblouky a dásněmi. Podle dosavadních představ se VO vyvíjí z vestibulární lišty, což je vchlípení epitelu dutiny ústní do mesenchymu čelistí. Rozpadem buněk v centrální části lišty vznikne prostor, který odděluje základ rtu a gingivální val. Tento prostor tvoří VO.

Cílem práce bylo objasnit ontogenetický vztah mezi základem VO a vestibulární lištou u ovce domácí. Mikroskopicky byly vyšetřeny sériové histologické řezy 13 embryí a fétů ovce domácí o známém stáří. Embryologické studie byly doplněny vyšetřením anatomických poměrů VO u dospělých ovcí.

Vestibulární lišta u ovce domácí je tvořena po celé délce obou čelistí několika vrstvami velkých polygonálních buněk a podle vztahu k okolnímu mesenchymu ji lze rozdělit na oddíl zanořený a vynořený. Makroskopicky i mikroskopicky bylo zjištěno, že VO ovce zahrnuje tři části. V řezákové části je VO vymezeno pysky a řezáky (na horní čelisti je však místo řezáků vytvořena vazivová plotna pulvinus dentalis). Je zde patrný hluboký fornix vestibuli. Základ VO představuje vestibulární lišta zanořená.

V oblasti diastematu je vestibulum oris ohraničeno pouze laterálně tvářemi, mediální ohraničení chybí. Materiál vestibulární lišty u fetů se v této oblasti začíná postupně vynořovat nad okolní mesenchym. V meziální části diastematu je základem VO vestibulární lišta zanořená. V distální části diastematu je patrná pouze vestibulární lišta vynořená, která není základem pro VO. Vyšetřením živé ovce bylo zjistěno, že v této tvářové oblasti přechází bukální sliznice přímo do sliznice patra, resp. do sliznice, která kryje margo interalveolaris dolní čelisti bez vytvoření fornix vestibuli.

V molárové části dutiny ústní je VO ohraničeno tvářemi a moláry, fornix vestibuli je hluboký. Na histologickém řezu je VO uloženo labiálně od materiálu vestibulární lišty, který leží volně na gingiválním valu a není zde základem pro VO. Předsíň dutiny ústní vzniká v této oblasti vytvořením tváří.

Vestibulární lišta u ovce domácí tedy nepředstavuje základ VO v celé délce horní i dolní čelisti. Na formování VO se v distální části diastematu a v oblasti premolárů a molárů podílí vedle zubního oblouku stěna tváří.

I. Kociánová, A. Gorošová, F. Tichý (Ústav anatomie, histologie a embryologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno): **Ultrastruktura regio olfactoria kočky v prenatálním období.**

Metodou TEM byla studována struktura čichového epitelu v poslední třetině intrauterinního vývoje kočky. Autoři se zaměřili zejména na strukturu apikálních částí smyslových buněk, stavbu dendritických úseků a čichových zakončení, vývoj a strukturu čichových řasinek odstupujících z terminálních zakončení a stavbu čichových axonů.

Vzorky byly odebrány z fetů kočky ve stáří 38, 45 a 57 dnů intrauterinního vývoje. U všech tří věkových kategorií byl epitel regio olfactoria určen jako víceřadý. Epitel je tvořen třemi základními typy buněk, které se vzájemně odlišují strukturou cytoplazmy, lokalizací a vzhledem jader a utvářením volného povrchu. Už na počátku sledovaného období byla diferenciace jednotlivých typů buněk zřetelná, přičemž maturační procesy byly pozorovány hlavně v jejich apikálních úsecích.

U smyslových buněk se prodlužují dendritické výběžky a probíhá diferenciace jejich terminálních zakončení, tzv. knobů. V nich byla patrná intenzivní replikace centriolů, jejich přesun k cytoplazmatické membráně v podobě bazálních tělísek řasinek. V 57. dnu intrauterinního vývoje jsou již vytvořeny četné proximální segmenty čichových řasinek odstupujících z terminálního zakončení dendritu. Distální segmenty řasinek nebyly u tohoto vývojového stadia pozorovány.

U podpůrných buněk dochází k vytvoření terminální sítě mikrofilament, diferenciaci mikroklků a prodlužování apikálních úseků. Často se vyskytují četné štíhlé a vysoké cytoplazmatické prominence volného povrchu. V cytoplazmě podpůrných elementů byly pozorovány i sekreční vezikuly s jemně zrnitým obsahem.

U všech sledovaných fétů byly při bazální membráně jednotlivě uloženy málo diferencované buňky převážně nepravidelného tvaru, zvané buňky bazální. Nejčetnější byly v 57. dnu intrauterinního vývoje.

M. Buchtová (Ústav anatomie, histologie a embryologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno): **Morfologie tarzálních žláz u drobných savců.**

Tarzální žlázy (glandulae tarsales) jsou mazové žlázy holokrinního typu, ústící na tupý volný okraj víčka. Při tarzální ploténce vytváří vždy jednu řadu. V rámci řádu hlodavců (Rodentia) dochází k poměrně značnému kolísání počtu těchto žláz u jednotlivých druhů, přičemž jejich počet je vždy druhově charakteristický. Velký počet tarzálních žláz má veverka obecná, Sciurus vulgaris (Sciuridae), což je druh s typicky denní a nadzemní aktivitou. *Vrtiš* (1928) u ní popsal přítomnost až 40 drobných žlázek jednoduché stavby v horním a dolním víčku. Menší počet žláz, tj. 14-25 byl zjištěn u norníka rudého, Clethrionomys glareolus (Arvicolidae) (*Quay,* 1954), který je aktivní ve dne i v noci. Buduje si rozvětvené chodby, ale více než jiné druhy hrabošů se zdržuje na povrchu země. U hraboše polního, Microtus arvalis (Arvicolidae), který je aktivní především v noci, *Šulc* (1929) popsal kolísání počtu tarzálních žláz mezi 3-8. Autorka u jedinců druhu Microtus arvalis, které vyšetřila, nalezla pouze 4 tarzální žlázy, u každého víčka a koutku ústila jedna žláza. Žlázy umístěné v okolí laterálního koutku byly poměrně masivní a zřetelně rozvětvené na rozdíl od drobných žlázek u Sciurus vulgaris. Tyto žlázy se často rozrůstají mimo region víček a jsou označovány jako extrapalpebrální žlázy.

Z nálezů je zřejmé, že hrabavý způsob života zejména u druhů s převážně noční a soumrační aktivitou vedl k redukci zrakového aparátu. U druhů s hrabavým způsobem života je počet tarzálních žláz redukován a jsou zvětšeny, pravděpodobně následkem nároků na zvýšenou sekreční ochranu oka.

A.Oltová, Z. Hrubá, R. Gaillyová (Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Brno, pracoviště Dětská nemocnice Brno): **Stanovení karyotypu plodu v I. trimestru gravidity.**

Prenatální diagnostika jako vysoce preventivní obor medicíny umožňuje odhalit velké procento vrozených vývojových vad in utero. Některé z těchto vad jsou s životem neslučitelné nebo vedou k těžkému postižení novorozence a taková těhotenství je možno na základě svobodného a informovaného rozhodnutí rodičů ukončit.

V souladu s celosvětovým trendem posunu prenatálních vyšetření do nejčasnějších stadií těhotenství, byly pro stanovení karyotypu plodu vyvinuty v posledních letech dvě velmi významné metody. Jednou z nich je biopsie choria (z angl. CVS), druhou pak tzv. časná amniocentéza (AMC). Obě významnou měrou přispívají k detekci chromosomálních aberací v prenatálním období, zejména v I. trimestru gravidity.

Metoda přípravy mitotických preparátů z choriových klků, která vede k rychlému stanovení karyotypu plodu v I. trimestru gravidity může v konečném důsledku přinášet řadu problémů jako např. mozaicismus, který může a nemusí být přítomen u plodu (*Kalousek a Dill*,1983, *Kalousek et al,* 1987) a s tím spojené falešně pozitivní a falešně negativní výsledky (*Simoni et al,* 1987; *Leschot et al.* 1990). Vzhledem k uvedeným důvodům byla postupně zaváděna tzv. časná AMC jako alternativní metoda k biopsii choriových klků a jejich cytogenetickému vyšetření (*Nagel et al,* 1998).

Časná AMC je invazívní prenatální metoda, při níž se pod kontrolou ultrazvukem provádí mezi 12. a 14. týdnem gravidity transabdominální odběr plodové vody.

Každá z presentovaných metod má své výhody a nedostatky a záleží jen na podmínkách a zkušenostech laboratoře, kterou metodu upřednostní. Existují pracoviště, která preferují cytogenetické vyšetřování choriových klků a naopak laboratoře, které uznávají jako jedinou vyšetřovací metodu pro stanovení karyotypu plodu v I. trimestru časnou AMC.

Na Oddělení lékařské genetiky FN Brno byla zahájena kultivace amniocytů získaných časnou AMC v lednu 1996. Za období od 1.1. 1996 do 31.8. 1999 bylo zpracováno a cytogeneticky vyšetřeno 304 vzorků plodové vody odebraných v I. trimestru gravidity. Amniocyty byly

kultivovány v kultivačním mediu *AMNIOMAX* fy. Gibco BRL, délka kultivace se pohybovala od 10 do 14 dnů, zpracování a příprava preparátů byly prováděny rutinní metodou používanou pro amniocyty z klasické AMC. K cytogenetickým vyšetřením sloužily mitotické preparáty po aplikaci dnes již klasické metody G-pruhování.

Indikacemi k cytogenetickým vyšetřením v I. trimestru byl nejčastěji věk matky (35 let v roce porodu a více, případně součet věku obou rodičů přesahující 70 let), nález při ultrazvukovém vyšetření ve 12. t. grav. (ztluštění v oblasti nuchální linie větší než 3 mm a případně nalezené srdeční vady) a některé méně časté, ale velmi závažné indikace týkající se výskytu chromosomálních aberací v rodině.

Tab. 1.
Přehled indikací k časné AMC

Indikace	Počet vyšetření	Počet patologií	%
Věk	22	65	2,2
UZ nález	28	5	17,9
Ostatní *	50	0	0

* některé méně časté indikace k AMC jako např. nosičství balancované translokace u rodičů, výskyt chromosomálních aberací v rodině, zvýšená frekvence tzv. získaných chromosomálních aberací v somatických buňkách atd.

Celkový záchyt patologických karyotypů ve všech indikačních skupinách: 3,3%.
Toto číslo odpovídá záchytu patologií z cytogenetických vyšetření amniocytů po klasické AMC.

Přehled patologických nálezů zachycených z amniocytů získaných časnou AMC podává tabulka č. 2.

Tab. 2.
Přehledný záchyt patologických karyotypů

Patologický nález	počet	Indikace
+21, Downův syndrom	5	3x věk, 2x UZ nález
+18, Edwardsův syndrom	4	2x věk, 2x UZ nález
-X, Turnerův syndrom	1	UZ nález

Z obou tabulek je zřejmé, že nejvyšší záchyt chromosomálních aberací byl v I. trimestru ve skupině, kde u těhotných žen byla časná AMC indikována na základě patologických ultrazvukových nálezů.

Riziko komplikací po časné AMC, které vedou k potracení plodu, se dle dostupných informací z různých zahraničních pracovišť, pohybuje v rozmezí 0,6–6,2% (*Sundberg et al,* 1996; *Diaz Vega et al,* 1996; *Daniel et al,* 1998; *Nagel,* 1998; *Tharmaratnam*, 1998). V naší laboratoři, pokud se nám podařilo zjistit zpětně informace o průběhu gravidity a porodu, se frekvence abortů po časné AMC pohybuje v rozmezí 0,6–1,0 % v jednotlivých letech a neliší se tedy od frekvence abortů po klasické

AMC. Nutno zdůraznit, že velikost rizika je závislá především na zkušenostech pracovníka, který odběr provádí.

Zavedení metody časné AMC souvisí se snahou provádět prenatální vyšetření za účelem stanovení karyotypu plodu v I. trimestru a podat tak informaci těhotné ženě o případné patologii plodu co nejdříve. První zmínky o této metodě se datují do konce 80. let (*Johnson* a *Godmilow*, 1988; *Rooney*, 1989).

Vzhledem k nízkému gestačnímu stáří a s tím souvisejícím malým objemem plodové vody je nutno omezit odebrané množství na minimum. V praxi to znamená, že počet ml odebrané plodové vody odpovídá počtu týdnů těhotenství v době odběru. Toto menší množství plodové vody obsahuje i menší množství kultivace schopných buněk, což může mít za následek problémy spojené s prodloužením doby kultivace a s následným hodnocením. Je obtížné srovnávat tento problém s výsledky zahraničních pracovišť, protože především kultivační podmínky v naší laboratoři a na zahraničních pracovištích vyspělých zemí jsou velmi odlišné.

Diskrepance souvisí především s použitým kultivačním mediem s vysokou nutriční hodnotou, které je pro naši laboratoř z finančních důvodů nedostupné.

I přes všechny zmíněné okolnosti týkající se používaného kultivačního media a z toho plynoucího vyššího kultivačního neúspěchu ve srovnání s klasickou AMC, byla tato metoda zařazena do vyšetřovacího programu naší laboratoře a je nabízena těhotným ženám jako alternativní metoda stanovení karyotypu plodu v I. trimestru.

M. Vojtíšková, R. Gaillyová, B. Ravčuková, K. Kodydková, Z. Lukáš[1], J. Hájek[2], Z. Kadaňka[3]
(Oddělení lékařské genetiky Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, [1]II. patologicko-anatomický ústav a [2]Klinika dětské neurologie Fakultní nemocnice Brno, prac. Dětská nemocnice, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně, [3]Neurologická klinika Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně): **Molekulární diagnostika progresivních svalových dystrofií**.

V posledních letech došlo k prohloubení poznání příčin variabilního klinického obrazu progresivních svalových dystrofií odhalením skupiny sarkoplasmatických proteinů, zahrnujících dystrofin–glykoproteinový komplex. Mutace v genech, kódujích jednotlivé proteiny komplexu, vedou k různému klinickému projevu. Mutace v genu pro dystrofin, ležící na krátkém raménku X chromosomu v lokusu 21.1 vedou podle typu a závažnosti buď k letální formě Duchennovy svalové dystrofie nebo k mírnější alelické Beckerově formě onemocnění. Byly již popsány mutace v genu pro lamininový alfa 2 (merosin) řetězec (6q22-23), které vedou z důvodů nefunkčnosti kódovaného proteinu k jedné z forem kongenitální svalové dystrofie. Čtyři formy pletencové dystrofie (LGMD) jsou způsobeny mutacemi genů pro alfa (17q11.2–21), beta (4q12), gama (13q12) a delta (5q33-34) sarkoglykany. K proteinům dystrofin–glykoproteinového komplexu se za patologických stavů na membráně svalových buněk přiřazuje utrofin. Diferenční diagnostika na základě imunohistochemického vyšetření bioptického materiálu od pacientů dovolí určit jednotlivé proteiny s poruchou exprese a tím následnou mutační analýzu příslušného genu, nesoucího patologii. Cílem práce bylo komplexní vyšetření souboru 33 pacientů s klinickou diagnosou Duchennovy nebo Beckerovy svalové dystrofie.

Na základě klinického stavu pacientů a výsledků imunohistochemického vyšetření, které prokázalo deficit v některé ze tří základních domén dystrofinu byla provedena mutační analýza dystrofinového genu.

Duchennova/Beckerova forma svalové dystrofie (D/BMD)je závažné na pohlaví vázané dědičné onemocnění s frekvencí 1 /3500 novorozených chlapců. V populaci se onemocnění udržuje s 30% frekvencí vzniku de novo mutací. Obě formy D/BMD jsou způsobeny mutacemi velkého dystrofinového genu (2,5 $.10^6$ bazí) lokalizovaného na krátkém raménku X chromosomu v lokusu Xp21.1. Gen obsahuje 79 exonů a přestavuje tak 1% bází DNA přináležejících k X chromosomu a 0.05% všech bází lidského genomu (6. 10^9 b.). Dystrofinový gen kóduje protein dystrofin o molekulové hmotnosti 427 kilodaltonů (kD) složený z 3 685 aminokyselinových zbytků.

V případě imunohistochemicky prokázaného deficitu dystrofinu (Lukáš et al, 1994) byl buď z části bioptického materiálu nebo z periferní krve izolován vzorek DNA a provedena mutační analýza na úrovni DNA pro detekci velkých delecí nebo duplikací dystrofinového genu pomocí techniky multiplex PCR pro 22 exonů a promotorovou oblast dle *Abbse* et al. (1991,1996). Výsledky vyšetření prokázaly u 65% pacientů ztrátu genetického materiálu dystrofinového genu v rozsahu jednoho až několika exonů, představující deleční mutace s lokalizací především v oblasti exonů 45–52, čili do oblasti tzv. „hot spot“, mutačně horkého místa spojeného se zvýšenou frekvencí rekombinace více jak 4% .

Ve spolupráci s dr. Fajkusovou z VÚZD Brno u 35% pacientů bez detekovatelné deleční mutace, bylo provedeno vyšetření na mutace, vedoucí ke zkrácení nebo změně molekulové hmotnosti dystrofinu a to na základě analýzy mRNA a testu na zkrácený protein (PTT) dle metody navržené *Gardnerovou et al.(*1995).

V rodinách s výskytem potvrzené dg. D/BMD byla provedena segregační analýza pomocí vybraných vysoce polymorfních intragenových míst dystrofinového genu a zjištěn haplotyp patologické alely s možností odhalit původ vzniku mutace de novo a určit asymptomatické ženy-přenašečky. Cílem komplexního vyšetření na základě spolupráce klinika, patologa, genetika a molekulárního biologa je potvrdit diagnosu závažné formy svalové dystrofie na všech molekulárních úrovních od odhalení mutace v nukleotidové sekvenci genů, přes transkript mRNA až po expresi proteinu tak jak bylo demonstrováno na příkladu souboru pacientů s dg. D/BMD.

J. Šťastná, M. Sedláčková (Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Cytochemický průkaz peroxidu vodíku produkovaného buňkami cumulus oophorus myši.**

Peroxid vodíku spolu s ostatními kyslíkovými radikály a reaktivními formami kyslíku hraje řadu důležitých rolí ve fyziologických procesech spojených s fertilizací. Je známo, že zdrojem peroxidu vodíku mohou být jak oocyty, tak spermie. Cílem studie bylo zjistit, zda na jeho produkci participují i buňky cumulus oophorus, které oocyt obalují v termínu oplození.

Cytochemický průkaz peroxidu vodíku byl proveden na postovulačních komplexech oocytů a jejich kumulů na submikroskopické úrovni cytochemickým médiem obsahujícím chlorid ceritý. Ten tvoří s peroxidem vodíku v elektronově mikroskopickém obraze denzní precipitáty perhydroxidu ceria.

Buňky kumulu tvořily z hlediska výsledků cytochemické reakce heterogenní populaci. Produkce peroxidu vodíku nebyla zjištěna nikdy v morfologicky intaktních buňkách. V buňkách jevících i iniciální známky nahodilé buněčné smrti byla nejčastěji místem produkce peroxidu vodíku buněčná membrána. Při pokročilejších změnách se objevoval reakční produkt i na mitochondriích. V buňkách se známkami apoptózy byly primárním zdrojem peroxidu vodíku mitochondrie. Převážná většina buněk kumulu produkujících peroxid vodíku měla buněčná jádra normální submikroskopické stavby.

Z výsledků studie vyplývá, že produkce peroxidu vodíku buňkami kumulu pravděpodobně předchází obecně známé morfologické změny buněčného jádra typické pro buněčnou smrt.

M. Sedláčková, *J. Šťastná, J. Žáková*[1]*, P. Ventruba*[1] (Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně, [1]I. gynekologicko-porodnická klinika, Fakultní porodnice Brno, Lékařská fakulty Masarykovy univerzity v Brně): **Cytochemická detekce buněk produkujících peroxid vodíku v lidském cumulus oophorus.**

Buňkám lidského cumulus oophorus jsou přisuzovány v průběhu fertilizace in vitro především protektivní role. Vzhledem k tomu, že je známo, že fertilizace může být inhibována peroxidem vodíku, cílem této studie bylo zjistit, zda na jeho produkci mohou buňky kumulu participovat.

Vzorky čerstvě odebraných kumulů byly mechanicky odděleny z komplexů oocyt-kumulus. Peroxid vodíku byl prokazován na submikroskopické úrovni metodou dle *Briggse et al.* (*J. Cell*

Biol. 1975; 67:566), při níž peroxid vodíku reaguje s ceritými ionty za vzniku elektronově denzních precipitátů perhydroxidu ceritého. Aktivita endogenní katalázy byla blokována azidem sodným. V kontrolních vzorcích byl azid sodný v inkubačním médiu vynechán.

Vedle buněk bez reakčního produktu byly ve vzorcích nalezeny buňky s různým množstvím precipitátů perhydroxidu ceritého. Reakce byla zjištěna ve dvou lokalizacích: na buněčné membráně a na mitochondriích. Buňky s pozitivní reakcí téměř vždy vykazovaly zánikové změny typické většinou pro nahodilou, méně často programovanou buněčnou smrt. Masivní nakupení reakčního produktu vykazovaly dokonce i zbytky mitochondrií z rozpadlých buněk v buněčném detritu. Zdravé buňky peroxid vodíku neprodukovaly. V kontrolních vzorcích byl reakční produkt nalezen jen ojediněle ve stopách.

Z uvedených výsledků vyplývá, že peroxid vodíku produkují v lidském kumulu buňky postižené zánikovými změnami. Výsledky reakce v kontrolních vzorcích ale jasně ukazují, že buňky kumulu disponují značnou schopností peroxid vodíku rozkládat.

I. Lauschová (Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně):**Cytologie tubárního epitelu myši - ultrastrukturní charakteristika buněčných typů a podtypů.**

Vejcovody savců vystýlá jednovrstevný cylindrický epitel, složený ze tří základních buněčných typů: I.-indiferentních buněk s mikroklky, II.-řasinkových a III.-sekrečních buněk. Indiferentní buňky jsou považovány za výchozí elementy pro diferenciaci jak řasinkových, tak sekrečních buněk. Na základě rozboru jemné struktury tubárních epitelií u dospělých i pohlavně nezralých samiček laboratorní myši (C57 BL/10 x CBA) se v práci podává jejich podrobnější ultrastukturní typizace.

Odběry vejcovodů a vyšetření v TEM bylo provedeno podle protokolu používaného na pracovišti. Jsou popsány a evidovány tyto buněčné podtypy:

1. Neaktivní indiferentní buňky (typ Ia): Vyznačují se středně elektronově denzní cytoplazmou a relativně velkým, oválným jádrem s marginálně uloženým heterochromatinem a 1-2 jadérky retikulárního typu; z organel obsahují volné ribosomy, oválné mitochondrie, malý Golgiho aparát a krátké cisterny granulárního endoplazmatického retikula. Apikální povrch je hladký, s krátkými a nepočetnými mikroklky.
2. Aktivní indiferentní buňky (typ Ib): Od typu Ia se odlišují dobře vyvinutými profily granulárního endoplazmatického retikula a Golgiho aparátu, četnými polysomy, vyšším počtem mitochondrií. Subnukleárně, vzácněji supranukleárně, bylo v buňkách evidováno koncentrické tělísko. Jejich apikální povrchy byly opatřeny hustšími, delšími a pravidelně uspořádanými mikroklky.
3. Ciliogenní buňky s mikroklky (typ IIa): Buňky se světlou cytoplazmou a oválným jádrem, malým Golgiho aparátem, ojedinělými a krátkými cisternami granulárního endoplazmatického retikula a kulatými, popř. oválnými mitochondriemi. Supranukleárně obsahovaly ložiska ciliogenního materiálu, reprezentovaná jednak generativními komplexy, složenými z deuterosomů a procentriolů, jednak mikrotubuly a typickými centrioly v pozici bazálních tělísek. Apikální povrch byl hladký, opatřený ojedinělými krátkými mikroklky, ale bez řasinek.
4. Ciliogenní buňky s řasinkami (typ IIb): Buňky s četnými polysomy a oválnými až vláknitými mitochondriemi, 1-2 dobře vyvinutými Golgiho aparáty, dlouhými, úzkými cisternami granulárního endoplazmatického retikula a centrioly uloženými apikálně pod plazmalemou (= bazální tělíska). Ciliogenní váčky byly přítomny nekonstantně. Apikální povrch kryjí nepočetné řasinky a různě dlouhé mikroklky anebo se střídají úseky s řasinkami s úseky s mikroklky.
5. Plně diferencované řasinkové buňky (typ IIc): Oproti typu IIb apexy buněk nesly bohatý ciliární aparát.
6. Proteosynteticky aktivní sekreční buňky (typ IIIa): Buňky s oválným jádrem s 1-3 jadérky retikulárního typu; v cytoplazmě mají malé a kulaté mitochondrie, objemný Golgiho aparát

a hojné, často dilatované profily granulárního endoplazmatického retikula. Část buněk obsahovala 1-2 koncentrická tělíska v subnukleární, vzácněji v apikální pozici. Nezralá i zralá sekreční granula byla různé velikosti. Apikální povrchy vysílaly krátké mikroklky.

7. Plně diferencované sekreční buňky (typ IIIb): Buněčné apexy vždy obsahují zralá sekreční zrna. Apikální povrch je buď hladký (s ojedinělými krátkými mikroklky) anebo kyjovitě vyčníval do lumina vejcovodu.
8. Ostatní buňky: Z nich byly zastiženy světlé a tyčinkové buňky, buňky s chromosomy a regresivní formy řasinkových buněk.

Poměrné zastoupení základních typů a podtypů buněk se v jednotlivých tubárních segmentech (preampula, ampula a isthmus) lišilo a záviselo na stáří pokusných zvířat, fázích sexuálního cyklu i exogenně podaných ovariálních steroidních hormonech.

Sestavil: *S. Čech*