

Protein S100 a neuron specifická enoláza v klinické diagnostice mozkového postižení

S-100 Protein and Neuron Specific Enolasis in the Clinical Diagnostics of Brain Impairment

Souhrn

U skupiny 28 pacientů s klinicky manifestním postižením CNS byla sledována koncentrace S100 proteinu a neuron specifické enolázy v séru a v mozkomíšním moku pomocí komerčních souprav. Koncentrace neuron specifické enolázy v séru odpovídaly normálním sérovým hodnotám, v mozkomíšním moku byla nalezena patologicky zvýšená hodnota jen jedenkrát. U S100 proteinu byly zjištěny abnormálně zvýšené hodnoty v séru třikrát, naopak v mozkomíšním moku byly všechny naměřené hodnoty kromě dvou patologicky zvýšené. Korelace hladin vyšetřených neuropeptidů s klinickým stavem pacientů s nervovou lézí nebyla prokázána.

Abstract

Within a group of 28 patients with clinically manifested CNS affection, the concentration of S-100 protein and neuron specific enolasis in the serum and in the cerebrospinal fluid was monitored using commercial sets. The concentrations of neuron specific enolasis in the serum corresponded to normal serum values, in the cerebrospinal fluid a pathologically increased value was identified only once. With the S-100 protein, abnormally increased values were recorded three times in the serum while in the cerebrospinal fluid all the measured values except for two were pathologically increased. The correlation of levels of the examined neuropeptides with the clinical condition of patients with nerve lesion has not been proved.

**D. Pícha¹, L. Moravcová¹,
R. Rusina²**

¹ I. infekční klinika 2. LF UK
a FN Na Bulovce, Praha

² Neurologická klinika IPVZ a FTNSP,
Praha



doc. MUDr. Dušan Pícha, CSc.

I. infekční klinika

2. LF UK a FN Na Bulovce

Budínova 2

180 81 Praha 8

e-mail: dusan.picha@fnb.cz

Přijato k recenzi: 2. 1. 2009

Přijato do tisku: 19. 2. 2009

Klíčová slova

neuron specifická enoláza – S100 protein

Key words

neuron-specific enolase – S-100 protein

Práce byla podporována výzkumným záměrem MSM 0021620812.

Úvod

Přítomnost nervových komponent, především proteinů, v tělních tekutinách je studována zejména u imunopatologických onemocnění a dále jako marker rozpadu nervové tkáně. Zásahu na tom, že jejich studium přechází z experimentální úrovně do klinické praxe, mají jednak poměrně rozsáhlé experimentální zkušenosti, jednak stoupající dostupnost komerčních souprav na jejich detekci. K nejčastěji stanovovaným nervovým složkám patří S100 protein, neuron specifická enoláza (NSE), gliální fibrilární acidický protein (GFAP), myelinový bazický protein (MBP), 14-3-3 protein, tau protein a neurofilamentový protein (NFP). NSE a S100 patří k nejlépe popsaným a často studovaným neuropeptidům. NSE je glykolytický enzym o molekulové hmotnosti 78 kDa přítomný v cytosolu neuronů a neuroendokrinních buněk, odkud je při tkáňové lézi uvolňován do mozkomíšního moku i séra. Enzymatickou aktivitu má jako heterodimer, který vzniká kombinací tří podjednotek α , β a γ [1]. U dospělých jsou mírně vyšší hladiny NSE přítomny v neokortexu, poněkud nižší v bílé hmotě (pyramidový trakt a corpus callosum). NSE byla také prokázána v erythrocytech, což má význam při hodnocení hladiny enzymu, je-li ve vzorku přítomna hemolýza. Kromě výše uvedeného je NSE poměrně stabilní, což umožňuje klinické využití při hodnocení rozsahu postižení CNS i prognózy. S100 protein je malý dimerický protein o molekulové hmotnosti 21 kDa, který se nachází hlavně v astrocytech, Schwannových buňkách a buňkách maligního melanomu. Svůj název dostal od rozpustnosti v nasyceném („100%“) roztoku síranu amonného, váže vápník. Je metabolizován v ledvinách, vylučován

močí a má krátký sérový poločas (1 hod). S100A1 a S100B byly prvními popsanými proteiny, které tvoří skupinu S100 proteinů a kterých je v současnosti známo už 21 [2]. S100 může být kromě likvoru stanovován také v arteriální i venózní krvi, ve které zůstává stabilní několik hodin i bez mražení či centrifugace. Je tudíž vhodným analytem pro klinické účely.

Z důvodu komerční dostupnosti souprav umožňujících diagnostiku strukturálních lézí CNS pomocí detekce S100 proteinu a NSE byly tyto metody prověřovány na skupině pacientů s nervovým postižením. Vyšetření bylo prováděno v séru i v mozkomíšním moku. Cílem práce bylo zhodnocení možného přínosu obou technik pro klinickou praxi, pokud je vyšetření provedeno jednorázově.

Soubor pacientů a metodika

Vyšetřenou skupinu pacientů tvořilo 28 nemocných hospitalizovaných na Neurologické klinice Fakultní Thomayerovy nemocnice. Do studie byli zahrnuti pacienti s různými neurologickými chorobami CNS a s různou tíží postižení (tab. 1). Jednalo se o pacienty, u nichž byla indikována diagnostická lumbální punkce bez ohledu na probíhající studii. Pacienti vyslovili souhlas s tím, aby ve vzorku odebraného mozkomíšního moku a krve byla stanovena hladina S100 a NSE. Kontrolní skupinu tvořili pacienti, u nichž byl odběr mozkomíšního moku indikován rovněž z diagnostických důvodů, ale nakonec nebylo prokázáno strukturální postižení CNS (jednalo se např. o bolesti hlavy, periferní parézu lícni nebo odběr likvoru v rámci perimyelografie u výřezu ploténky v bederní krajině). Mozkomíšní mok byl odbírán standardní technikou, klasickou nebo

atraumatickou jehlou, v poloze vsedě, v segmentu L3/L4.

Stanovení S100 proteinu a NSE

Stanovení S100 proteinu a NSE bylo provedeno plně automatickým zařízením Elecsys soupravami Elecsys S100 (pozitivní hodnoty nad 0,105 $\mu\text{g/l}$), a Elecsys NSE (pozitivní hodnoty nad 16,3 $\mu\text{g/l}$; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, SRN). Pro hodnocení normálních hodnot byly použity standardy dodané výrobcem. Nebyla sledována kinetika vývoje hodnot S100 proteinu a NSE. Mozkomíšní mok a sérum pacientů byly zpracovány do dvou hodin po odběru, centrifugovány deset minut při 2 500 g a skladovány při -70°C do zpracování. Hemolytické vzorky byly vyloučeny.

Výsledky

Rozdělení pacientů do skupin podle klinického postižení a výsledky stanovení S100 a NSE jsou uvedeny v tab. 1. Do skupiny zánětlivých a demyelinizačních onemocnění jsme zařadili čtyři pacienty s atakou roztroušené sklerózy a tři pacienty se serózní meningitidou. Ve skupině tumorů byli tři pacienti s primárním gliálním tumorem a jeden pacient s metastázami melanomu. Skupina neurodegenerací zahrnuje pacienty s Alzheimerovou nemocí, amyotrofickou laterální sklerózou (ALS) a jednoho pacienta s Parkinsonovou nemocí. Čtyři zbývající pacienti, zařazení do skupiny „ostatní“, měli následující diagnózy: centrální vestibulární syndrom (dva pacienti), recidivující subarachnoidální krvácení z Willisova okruhu (později řešené operativně), septický stav komplikující postanoxickou encefalopatii. Z výsledků je patrné, že pokud hodnotíme absolutní koncentraci S100 a NSE podle kontrol,

Tab.1. Výsledky stanovení NSE a S100 proteinu v mozkomíšním moku a séru u pacientů s nervovým postižením.

Klinické postižení	Σ	NSE				S100			
		mok		sérum		mok		sérum	
		poz.	neg.	poz.	neg.	poz.	neg.	poz.	neg.
zánětlivé a demyelinizační postižení	7	0	7	0	7	0	0	7	
tumor CNS	4	0	4	0	4	0	0	4	
neurodegenerativní onemocnění	5	0	5	0	5	0	2	3	
ostatní	4	1	3	0	4	0	0	4	
kontroly	8	0	8	0	8	6	2	7	
Σ	28	1	27	0	28	26	2	3	25

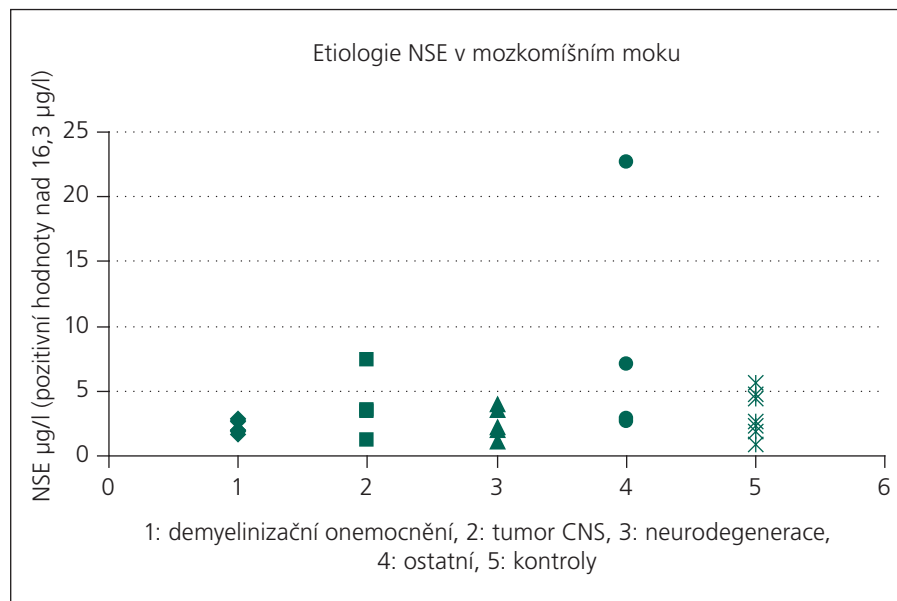
Pozitivní hodnoty u NSE nad 16,3 $\mu\text{g/l}$ u S100 nad 0,105 $\mu\text{g/l}$

kteří jsou součástí soupravy, jsou výsledky velmi uniformní. U NSE odpovídají všechny koncentrace v séru normálním hodnotám, v mozkomíšním moku byla zachycena pouze jedna hodnota zvýšená nad normální limit (pacient s postanoxickou encefalopatií). Při vyšetření S100 byly v séru zjištěny tři výsledky nad hladinou normálních hodnot. V mozkomíšním moku byly naopak všechny naměřené hodnoty abnormálně zvýšené kromě dvou. Z těchto dvou pacientů byla u jednoho nalezena pozitivní hodnota v séru. Vzhledem k tomu, že zhodnocení výsledků u pacientů rozdělených podle základní diagnózy neposkytovalo klinicky interpretovatelné výsledky, bylo provedeno v mozkomíšním moku ještě zhodnocení výsledků podle typu, resp. rozsahu klinického postižení. Tyto výsledky byly shrnuty do grafů 1 a 2. Při tomto uspořádání bylo dosaženo u obou skupin poněkud jiné stratifikace. V jednotlivých případech bylo možno v mozkomíšním moku nalézt u klinicky závažnějších či akutních stavů vyšší incidenci abnormálních či zvýšených hodnot.

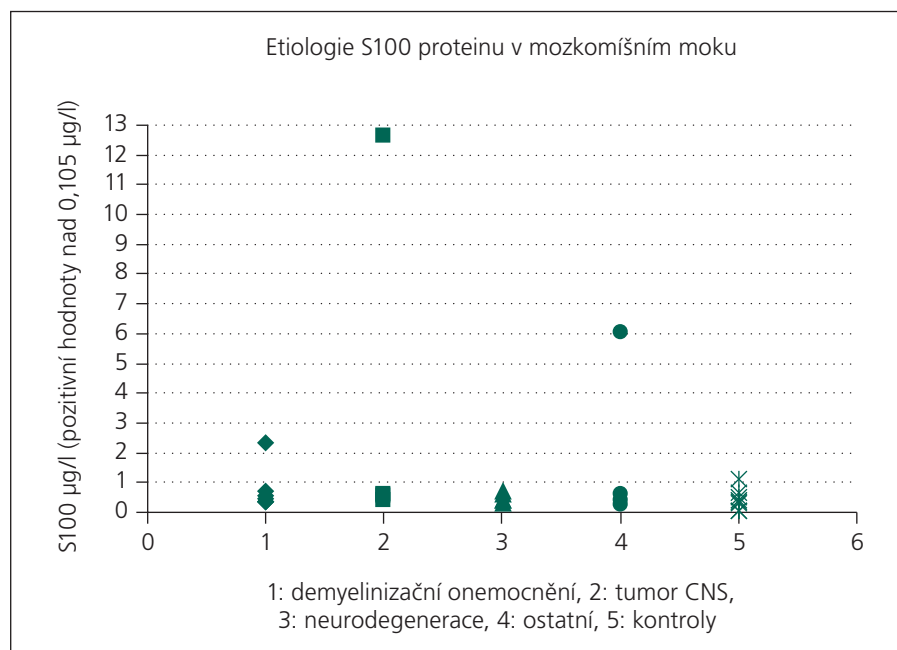
Diskuze

V klinické praxi je vedle zobrazovacích metod a klinického vyšetření k dispozici jen málo objektivních parametrů, které by bylo možno využít ke zhodnocení závažnosti postižení CNS a které by zároveň mohly sloužit jako obecné prognostické markery. Slibné proto může být stanovování některých proteinů v séru a/nebo v mozkomíšním moku s cílem prokázat destrukci mozkové tkáně a míru její závažnosti. V posledních letech se stala na bázi komerčních diagnostických setů relativně běžně dostupná detekce čtyř strukturálních proteinů: S100, NSE, MBP a 14-3-3. Stanovování MBP je nejpřínosnější především u pacientů s demyelinizačními afekcemi typu roztroušené sklerózy mozkomíšní. Nález proteinu 14-3-3 v mozkomíšním moku je jedním z hlavních diagnostických markerů sporadické Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci [3]. Stanovení zbývajících dvou proteinů S100 a NSE má hodnotu rutinního vyšetření v séru, avšak jejich stanovení v mozkomíšním moku nedoznalo širšího uplatnění.

Výsledky vyšetření S100 a NSE získané v naší studii byly obtížně klinicky interpretovatelné. Při posuzování absolutních koncentrací NSE byla zjištěna jediná abnormálně zvýšená hodnota v mozkomíšním



Graf 1. Koncentrace NSE v mozkomíšním moku u pacientů rozdělených do skupin podle typu klinického postižení.



Graf 2. Koncentrace S100 proteinu v mozkomíšním moku u pacientů rozdělených do skupin podle typu klinického postižení.

moku (22,7 µg/l), která výrazně převyšovala ostatní. Jednalo se o pacienta s postanoxickou encefalopatií dva měsíce po infarktu. Ostatní hodnoty vykazovaly nahodilé rozložení. Jestliže bylo k hodnocení hladin NSE použito rozdělení do skupin podle rozsahu klinického postižení (graf 1), byla zjištěna mírná převaha vyšších hladin u skupiny těžšího či akutnějšího postižení. Vzhledem k malému počtu vzorků však nemohly být výsledky ověřeny

statisticky. Vyhodnocení výsledků měření S100 proteinu ukázalo prakticky všechny hodnoty v mozkomíšním moku jako abnormálně zvýšené – kromě dvou pacientů: jednoho pacienta s periferní parézou lícního nervu a druhého s ložiskovým procesem v parenchymu CNS. Zvýšené hodnoty v séru byly nalezeny u dvou pacientů s pokročilejší Parkinsonovou nemocí a ALS. Třetí pozitivní pacient byl nemocný s parézou n. VII, který měl hladinu S100 v moz-

komíšním moku normální. Také u tohoto stanovení bylo provedeno rozdělení pacientů do skupin podle aktuálně klinicky prokazatelného neurologického nálezu. Zhodnocení přineslo podobně jako u NSE jen nevýraznou kumulaci vyšších hodnot u těžšího klinického nálezu. Výskyt zvýšených hodnot S100 v mozkomíšním moku u kontrolní skupiny pacientů nelze na základě provedených analýz jednoznačně vysvětlit. Souhrnem je tedy nutno konstatovat, že provedená vyšetření nepřinesla zásadní zlepšení diagnostiky nervových lézí u sledované skupiny pacientů.

Literární zkušenosti z posledních let dokládají stoupající zájem o vyšetřování markerů tkáňové léze CNS v praxi, avšak klinické výstupy zůstávají do určité míry nejednoznačné, podíl pozitivních zkušeností ale stoupá. Převážná většina prací popisuje využití stanovení neuropeptidů u tkáňových lézí traumatické a cévní etiologie (ischemie i hemoragie). Například Berger et al [4] uvádějí dobrou korelaci hladin NSE, S100B a MBP s traumatickým postižením mozku, přičemž vyšetření prokázalo poškození tkáně i u případů s malým klinickým nálezem. Podobně Lavička et al [5] prokázali dobrou korelaci zvýšených hladin S100B v séru u pacientů s traumatickým postižením CNS, a to jak s klinickým nálezem při propuštění, tak po šesti měsících. Největší výpovědní hodnota byla nalezena u absolutní koncentrace S100B 24 hod po inzultu a dále v rychlosti poklesu pod referenční hodnotu. V jiných studiích byly zjištěny podobné pozitivní výsledky při záneřlivém, cévním, nádorovém i degenerativním postižením tkáně [6–8].

Neuropeptidy jsou prokazovány jak v mozkomíšním moku, tak i v séru. Průkaz v likvoru je používán déle a obecně má větší klinickou senzitivitu i specifitu. Proto nepřekvapí, že mozkomíšní mok je využíván častěji také při studiu patologie nervových onemocnění. To platí například u roztroušené sklerózy mozkomíšní (RS) [9], demencí [10], ALS [11] a dalších chorob. Praktický význam má také možnost průkazu neuropeptidů v séru. Pro relativně nižší senzitivitu a specifitu se krev používá pro diagnostiku především rozsáhlejších destruktivních CNS traumatického či vaskulárního původu, jak bylo výše uvedeno. Výhodou tohoto stanovení je možnost opakovaných vyšetření.

Vyšetřování neuropeptidů v tělních tekutinách v klinické praxi komplikují některé

problémy. K těm méně významným patří metodické interference snižující citlivost nebo specifitu technik. Dobře je například prokázáno, že falešně zvýšené hodnoty NSE v séru jsou způsobeny uvolněním NSE z erytrocytů při hemolýze v preanalytické fázi vyšetření. Tento vliv je nutno redukovat odpovídajícím zpracováním vzorku a prevencí hemolýzy. Velmi podobná situace je také u MBP, kde falešně negativní výsledek stanovení může být způsoben vysokou schopností adherence této látky na stěny zkumavek a další látky. Podobné problémy sice klinickou práci komplikují, ale lze se s nimi vyrovnat. Bohužel existují zřejmě i jiné faktory, které mohou být příčinou rozdílných výsledků některých studií. Experimentální práce ukazují, že pokud jsou stanovení neuropeptidů v klinických podmínkách provedena plošně (což byl také případ naší studie), může význam vyšetření podstatně klesnout. Finster et al zjistili elevaci NSE v moku pouze u 1/5 pacientů s prokazatelnou mozkovou lézí [12] a doporučují používat vyšetření v dynamice. V práci Vajtra et al [13] lze nalézt jistý korelát tohoto jevu, resp. možné vysvětlení, neboť autoři našli u traumatických lézí v prvních třech dnech statisticky významně nižší hodnoty S100 a NSE u skupiny s lepší prognózou oproti pacientům v těžším klinickém stavu a s horší prognózou. Od třetího dne již nebyl mezi skupinami statisticky významný rozdíl. Jak tedy bylo prokázáno, lze klinickou výtěžnost stanovení neuropeptidů v tělních tekutinách zvýšit opakovaným vyšetřením. Pokud provedeme vyšetření pouze jednorázově, bez stanovení vlastního limitu normálních hodnot, mohou být výsledky hodnoceny pouze podle standardů udaných výrobcem. To může v některých případech snížit kvalitu interpretace vyšetření. Opakovaná stanovení jsou vhodná hlavně pro vyšetření krve [4,14]. Vzhledem k nejasně definované propustnosti hematoencefalické bariéry za patologických stavů však nekorelují někdy hladiny v séru a mozkomíšním moku [15].

Pro monitorování rozpadu nervové tkáně bylo kromě neuropeptidů s úspěchem použito i stanovení tzv. volné DNA. Při zvýšené degradaci buněk (apoptóza, nekróza) dochází totiž k uvolňování DNA do tělních tekutin, zejména do krve [16]. Podstatný vzestup koncentrace volné DNA byl zjištěn u řady patologických stavů, jako jsou ikty, traumata, hypoxické encefalopa-

tie, encefalidity a další [17]. Lam et al ve své práci dokonce popisují, že u pacientů s mozkovou mrtvicí je volná DNA lepším prognostickým markerem než stanovení S100 proteinu [18]. Zdá se proto, že by se stanovení volné DNA mohlo v budoucnu stát zajímavým neurologickým markerem. Klinické zkušenosti však nejsou dosud příliš rozsáhlé.

Závěr

Celá řada neuropeptidů byla s větším či menším úspěchem použita pro klinické účely. Přestože existuje do jisté míry nepsaná shoda, že zejména S100 a NSE jsou ukazatelem rozsahu nervových lézí, není stále zcela jasné, jak jsou výsledky jejich stanovení ovlivňovány jinými faktory. Dále není dosud jasné definováno, jak uve- dené markery integrovat do klinické praxe, aby se optimalizoval výsledný efekt. Tyto literární zkušenosti ukazují nejvyšší specifitu, senzitivitu i prognostickou hodnotu, pokud jsou testy použity u akutních stavů v počátečním období (traumata a ikty) a v dynamice. Negativní prognostická hodnota bývá spojena s vysokými hladinami neuropeptidů v prvních hodinách po inzultu, a dále při vzestupu koncentrací s latencí 24–72 hod. Přestože se v řadě případů daří popisovanými stanoveními kvantifikovat tkáňové postižení, je mnohdy obtížné z výsledků vyvozovat v porovnání s klasickými diagnostickými metodami kvalitativně nové závěry. Nehledě na výše uvedená omezení výsledky práce korelují s literárními zkušenostmi v některých ohledech. Na výsledky stanovení NSE a S100 v klinické praxi mají vliv faktory, které nebyly dosud jednoznačně definovány. Práce ukazuje, že jednotlivá stanovení mohou mít v konkrétním případě spornou výpovědní hodnotu. Při klinickém hodnocení výsledků je vzhledem k relativně krátkému poločasu neuropeptidů v tělních tekutinách zapotřebí zohlednit časový faktor. Před klinickým použitím lze doporučit předběžné otestování metodik.

Literatura

- Petzold A. CSF biomarkers for improved prognostic accuracy in acute CNS disease. *Neurol Res* 2007; 29(7): 691–708.
- Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001; 33(7): 637–668.
- Matěj R, Nováková J, Fiala J, Koukolík F, Rusina R. Vyšetřování proteinu 14-3-3 v mozkomíšním moku –

klinicko-patologická korelace. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104(6): 695–699.

4. Berger RP, Adelson PD, Pierce MC, Dulani T, Casidz LD, Kochanek PM. Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentration after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children. *J Neurosurg* 2005; 103 (Suppl 1): 61–68.

5. Lavička P, Pikner R, Kormunda S, Topolčan O, Bosman R, Chytra I et al. Význam stanovení S100B proteinu u pacientů s izolovaným poraněním hlavy. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70/103(5): 521–526.

6. Nash DL, Bellolio MF, Stead LG. S100 as a marker of acute brain ischemia: a systematic review. *Neurocrit Care* 2008; 8(2): 303–307.

7. Steiner J, Biellau H, Berstein HG, Bogerts B, Wunderlich MT. Increased cerebrospinal fluid and serum levels of S100B in first-onset schizophrenia are not related to a degenerative release of glial fibrillar acidic protein, myelin basic protein and neurone-specific enolase from glia or neurones. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77(11): 1284–1287.

8. Vos PE, van Gils M, Beems T, Zimmerman C, Verbeek MM. Increased GFAP and S100 β but not NSE serum levels after subarachnoid haemorrhage are associated with clinical severity. *Eur J Neurol* 2006; 13(6): 632–638.

9. Norgren N, Sundström MD, Svenningsson A, Rosengren L, Stigbrand T, Gunnarsson M. Neurofilament and glial fibrillary acidic protein in multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 63(9): 1586–1590.

10. Hort J, Glosová L, Vyháček M, Bojar M, Škoda D, Hladíková M. Tau protein a beta amyloid v likvoru u Alzheimerovy choroby. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70/103(1): 30–36.

11. Rosengren LE, Karlsson JE, Karlsson JO, Persson IL, Wikkelso C. Patients with amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative disease have increased levels of neurofilament protein in CSF. *J Neurochem* 1996; 67(5): 2013–2018.

12. Finsterer J, Exner M, Rumpold H. Cerebrospinal fluid neuron-specific enolase in non-selected patients. *Scan J Lab Invest* 2004; 64(6): 533–558.

13. Vajtr D, Průša R, Kukačka J, Houšťava L, Šámal F, Páchl J et al. Dynamika vývoje GCS, hladiny NSE a S100B v séru a morfologie expanzní kontuze u pacientů s poraněním hlavy. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70/103(5): 515–520.

14. Infante JR, Martínez A, Ochoa J, Cañadillas F, Torres-Avisbal M, Vallejo JA et al. Cerebrospinal fluid S-100 protein levels in neurological pathologies. *J Physiol Biochem* 2003; 59(4): 255–261.

15. Reiber H. Dynamic of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta* 2001; 310(2): 173–186.

16. Swaminathan R, Butt AN. Circulating nucleic acids in plasma and serum: recent developments. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1075: 1–9.

17. Zeerleder S. The struggle to detect circulating DNA. *Crit Care* 2006; 10(3): 1–3.

18. Lam NY, Rainer TH, Wong LK, Lam W, Lo MD. Plasma DNA as a prognostic marker for stroke patients with negative neuroimaging within the first 24 h of symptom onset. *Resuscitation* 2006; 68(1): 71–78.

SOUTĚŽ

Česká neurologická společnost ČLS JEP (dále ČNS) vyhlašuje každoroční

soutěž o nejlepší publikace

předcházejícího roku uveřejněné členy společnosti

1. Cena ČNS za vynikající originální práci
2. Cena ČNS za vynikající krátké sdělení či kazuistiku
3. Cena ČNS za vynikající monografii či učební text
4. Hennerova cena ČNS pro mladé autory do 35 let za vynikající originální práci roku
5. Mimořádná cena ČNS

Přihlašování prací do soutěže

Publikaci do soutěže přihlašuje první autor. Přihláška do soutěže obsahuje průvodní dopis, ve kterém autor prohlásí, že splňuje výše uvedené kritéria, a přihlašovanou práci. Časopisecké práce se podávají buď ve formě jedné fotokopie, a/nebo ve formě kvalitní digitální verze v PDF formátu (jako příloha e-mailu), v případě publikace v časopise s trvale volným přístupem je možno dodat pouze internetovou adresu. Papiřová verze nebo kniha se podává v jedné kopii (přihlášené práce se nevracejí). Přihláška také musí obsahovat přesné adresy, na kterých je autor k dosažení, adresu pro e-mailovou komunikaci a telefonní čísla.

Přihlášky do soutěže se podávají u předsedy komise prof. MUDr. Karla Šonky, DrSc., e-mail: ksonka@lf1.cuni.cz.

Ten poté potvrdí přijetí přihlášky.

Uzávěrka přihlášek je 30. 6. 2009.

Podrobné informace o publikacích, které mohou být do soutěže přijaty, o jejich autorech a o vyhodnocování přihlášených prací naleznete na stránkách společnosti <http://www.czech-neuro.cz>.