

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2012/28

ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z3-2254
Naslov projekta	VREDNOTENJE CITOKINOV IN KEMOKINOV V PATOGENEZI LAJMSKE NEVORBORELIOZE
Vodja projekta	24350 Tjaša Cerar
Tip projekta	Zt Podoktorski projekt - temeljni
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2011
Nosilna raziskovalna organizacija	381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	3 MEDICINA 3.01 Mikrobiologija in imunologija
Družbeno-ekonomski cilj	13.03 Medicinske vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	3.01
- Veda	3 Medicinske vede
- Področje	3.01 Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek projekta²

SLO

Lajmska nevroboorelioza je bolezen osrednjega in/ali perifernega živčevja. Diagnoza lajmske nevroboorelioze je razmeroma enostavna kadar so prisotni značilni klinični znaki, kot so limfocitni meningitis, kranialni nevritis, radikulitis, ki

jih spremlja limfocitna pleocitoza in intratekalna tvorba borelijskih protiteles.

Med potekom lajmske nevroborelioze se izločajo različni vnetni dejavniki (citokini, kemokini) kot odziv na prisotnost borelij v osrednjem živčevju.

Zato smo v projektu smo opredeliti vnetne dejavnike, značilne le za lajmsko nevroboreliozo oziroma druge oblike borelijske okužbe.

V sodelovanju s Kliniko za infekcijske bolezni in vročična stanja in nevrološko Kliniko, Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana smo v raziskavo vključili 47 odraslih bolnikov z značilno klinično sliko lajmske nevroborelioze, 60 odraslih bolnikov z možno lajmsko nevroboreliozo, 39 odraslih bolnikov s klopnim meningoencefalitisom, ter 28 bolnikov, ki niso imeli znakov borelijske okužbe osrednjega živčevja. Vsem bolnikom sta bila odvzeta kri in likvor na dan sprejema. Vključili smo tudi 75 zdravih oseb, katerim je bila odvzeta kri.

V odvzetih vzorcih vključenih bolnikov smo s pomočjo pretočne citometrije in uporabo Human Th1/Th2 cytokine kit in Human Inflammatory Cytokines kit (BD Bioscience, San Jose, US) določali naslednje citokine in kemokine: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α in IFN- γ , ter kemokin CXCL13 s encimsko imunskim testom Quantikine Human CXCL13/BLC/BCA-1 (R&D Systems, Abingdon, UK).

Intratekalno tvorbo specifičnih borelijskih protiteles smo določali s encimsko imunskim testom IDEIA™ Lyme Neuroborreliosis (OXOID Limited, Hampshire, UK).

V serumu bolnikov z značilno klinično sliko lajmske nevroborelioze smo določili naslednje koncentracije citokinov in kemokinov, ki so podani v pg/ml v obliki povprečja (razpon od/do): IL1 β : 2.3 (0-12), IL2: 6.5 (0-39), IL4: 12.9 (0-161), IL5: 8 (0-68.2), IL6: 15.8 (1-311), IL8: 431.6 (2-7343.3), IL10: 1.2 (0-4.2), IL12: 2 (0-8), CXCL13: 110 (21.2–452), IFN γ : 5.4 (1.7-17.5) in TNF α : 6.7 (0-33).

V likvorju bolnikov smo določili naslednje koncentracije (povprečje v pg/ml; (razpon od/do)): IL1 β : 0.9 (0-3), IL2: 10.2 (0-226), IL4: 2.9 (0-7.2), IL5: 25.6 (0-193), IL6: 27.8 (1-247), IL8: 177 (3-1279), IL10: 12.6 (0-86), IL12: 1.8 (0-4.2), CXCL13: 275 (0.3–963), IFN γ : 8.7 (0-168) in TNF α : 1 (0-3.1).

Intratekalno tvorbo specifičnih borelijskih protiteles smo določili pri 21/47 (44.7%) bolnikov z lajmsko nevroboreliozo.

Kot najbolj diagnostično uporaben vnetni dejavnik se je izkazal kemokin CXCL13, predvsem določanje koncentracije v likvorju bolnikov.

Zaključujemo, da bi bilo za laboratorijsko potrditev lajmske nevroborelioze smotno uporabiti tako test za določanje intratekalne tvorbe specifičnih borelijskih protiteles kot tudi določiti koncentracijo kemokina CXCL13 v likvorju bolnikov.

ANG

Lyme neuroborreliosis may affect both the central and the peripheral nervous system. Diagnosis is straightforward when patients present typical clinical signs such as lymphocytic meningitis, cranial neuritis, painful radiculitis with lymphocytic pleocytosis and intrathecal borrelial antibody synthesis.

As a result of borrelial central nervous system infection, different

proinflammatory cytokines are secreted. The aim of the study was to determine inflammatory markers characteristic for Lyme neuroborreliosis or other stages of borrelial infection .

In collaboration with Department of Infectious Diseases, University Medical Centre Ljubljana we have included 47 adults with proven Lyme neuroborreliosis, 60 adults with suspected Lyme neuroborreliosis, 39 adult patients with tick-borne encephalitis, 28 adults with no signs of borrelial infection of central nervous system.

Serum and CSF were obtained at the initial examination from all the patients. We have also included 75 healthy adult from whom sera samples were obtained.

Using flow cytometry and Human Th1/Th2 cytokine kit in Human Inflammatory Cytokines kit (BD Bioscience, San Jose, US) following cytokines and chemokines were determined in the obtained samples: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α in IFN- γ . The concentration of the chemokine CXCL13 was determined using Quantikine Human CXCL13/BLC/BCA-1 (R&D Systems, Abingdon, UK).

Intrathecal synthesis was also determined using the IDEIA Lyme Neuroborreliosis kit (DakoCytomation, Cambridgeshire, United Kingdom).

In sera of patients proven Lyme borreliosis we have determined the following concentrations

of cytokines and chemokines (results are given as average (min-max)):

IL1 β : 2.3 (0-12), IL2: 6.5 (0-39), IL4: 12.9 (0-161), IL5: 8 (0-68.2), IL6: 15.8 (1-311), IL8: 431.6 (2-7343.3), IL10: 1.2 (0-4.2), IL12: 2 (0-8), CXCL13: 110 (21.2-452), IFN γ : 5.4 (1.7-17.5) in TNF α : 6.7 (0-33).

In the CSF we have determined the following concentrations of cytokines and chemokines (results are given as average (min-max)): IL1 β : 0.9 (0-3), IL2: 10.2 (0-226), IL4: 2.9 (0-7.2), IL5: 25.6 (0-193), IL6: 27.8 (1-247), IL8: 177 (3-1279), IL10: 12.6 (0-86), IL12: 1.8 (0-4.2), CXCL13: 275 (0.3-963), IFN γ : 8.7 (0-168) in TNF α : 1 (0-3.1).

Intrathecal synthesis of specific borrelial antibodies was determined in 21/46 (45.7 %) of the patients with a working clinical diagnosis of evident Lyme neuroborreliosis

Flow cytometry and enzyme immuno assay proved as appropriate methods for determination of cytokines and chemokines in sera and CSF. Chemokine CXCL13 demonstrated as the most diagnostically valuable marker especially determination of its concentration in the CSF of the patients.

We conclude that combination of methods for determination of intrathecal synthesis and concentration of CXCL13 in the CSF would represent the most appropriate approach for laboratory confirmation of Lyme neuroborreliosis.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Lajmsko boreliozo povzročajo spirohete iz kompleksa *B. burgdorferi* sensu lato.

Do danes je opredeljenih šest za človeka patogenih vrst, pogosto izolirane so *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii* in *B. garinii*, redkeje pa so izolirane *B. spielmanii*, *B. lusitaniae* in *B. bissettii*. Lajmsko boreliozo uvrščamo med zoonoze, najpomembnejši prenašalci borelij so iz rodu *Ixodes* sp. Slovenija je endemsko področje za lajmsko boreliozo, bolezen, ki prizadene številne organske sisteme, kot so koža, živčevje, sklepi in srce. Zgodnje obdobje označuje značilna kožna sprememba imenovana erythema migrans. Iz primarne kožne spremembe se borelije razširijo po telesu in lahko prizadenejo različne organe.

Lajmska nevroboreliosa je bolezen osrednjega in/ali perifernega živčevja. Diagnoza lajmske nevroborelioze je razmeroma enostavna kadar so prisotni značilni klinični znaki, kot so limfocitni meningitis, kranialni nevritis, radikulitis, ki jih spremlja limfocitna pleocitoza in intratekalna tvorba borelijskih protiteles.

Patogeneza lajmske nevroborelioze še ni dobro razjasnjena; klinične in laboratorijske raziskave nakazujejo, da so nevrološke motnje lahko povezane tako z okužbo kot tudi z imunskim odzivom. Med potekom lajmske nevroborelioze se izločajo različni vnetni dejavniki (citokini, kemokini) kot odziv na prisotnost borelij v osrednjem živčevju.

Za razumevanje poteka bolezni je potrebno imunsko dogajanje bolj natančno osvetliti. Glede na dejstvo, da je protitelesni imunski odziv pri borelijski okužbi počasen, je bilo zelo uporabno določiti zgodnje diagnostične označevalce značilne za lajmsko nevroboreliozo, kakor tudi tiste, ki naj bi bili povezani z drugimi oblikami borelijske okužbe.

Zato smo v projektu smo opredeliti vnetne dejavnike, značilne le za lajmsko nevroboreliozo oziroma druge oblike borelijske okužbe in tako prispevati k celovitejšemu laboratorijskemu diagnosticiranju borelijske okužbe, predvsem zgodaj v poteku lajmske nevroborelioze. S primerjavo intratekalne tvorbe specifičnih borelijskih protiteles in vnetnih dejavnikov smo želeli določiti katera izmed metod je primernejša za mikrobiološko diagnostiko zgodnje lajmske nevroborelioze.

Tekom projekta smo uspešno vpeljali in preverili metode za določanje citokinov z metodo pretočne citometrije in kemokina z metodo encimsko imunskega testa v vzorcih seruma in likvorja bolnikov z različnimi okužbami osrednjega živčevja. V sodelovanju s Klinikom za infektivne bolezni in vročična stanja in nevrološko Klinikom, Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana smo pričeli z vključevanjem bolnikov v maju 2009. Do konca meseca marca 2011 smo v raziskavo vključili 47 odraslih bolnikov z značilno klinično sliko lajmske nevroborelioze, 60 odraslih bolnikov z možno lajmsko nevroboreliozo, 39 odraslih bolnikov s klopnim meningoencefalitisom, ter 28 bolnikov, ki niso imeli znakov borelijske okužbe osrednjega živčevja. Vsem bolnikom sta bila odvzeta kri in likvor na dan sprejema. Vključili smo tudi 75 zdravih oseb, katerim je bila odvzeta kri.

V odvzetih vzorcih vključenih bolnikov smo s pomočjo pretočne citometrije in uporabo Human Th1/Th2 cytokine kit in Human Inflammatory Cytokines kit (BD Bioscience, San Jose, US) določali naslednje citokine in kemokine: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α in IFN- γ , ter kemokin CXCL13 s encimsko imunskim testom Quantikine Human CXCL13/BLC/BCA-1 (R&D Systems, Abingdon, UK).

Intratekalno tvorbo specifičnih borelijskih protiteles smo določali s encimsko imunskim testom IDEIA™ Lyme Neuroborreliosis (OXOID Limited, Hampshire, UK).

V serumu bolnikov z značilno klinično sliko lajmske nevroborelioze smo določili naslednje koncentracije citokinov in kemokinov, ki so podani v pg/ml v obliki povprečja (razpon od/do): IL1 β : 2.3 (0-12), IL2: 6.5 (0-39), IL4: 12.9 (0-161), IL5: 8 (0-68.2), IL6: 15.8 (1-311), IL8: 431.6 (2-7343.3), IL10: 1.2 (0-4.2), IL12: 2 (0-8), CXCL13: 110 (21.2–452), IFN γ : 5.4 (1.7-17.5) in TNF α : 6.7 (0-33).

V likvorju bolnikov smo določili naslednje koncentracije (povprečje v pg/ml; (razpon od/do)): IL1 β : 0.9 (0-3), IL2: 10.2 (0-226), IL4: 2.9 (0-7.2), IL5: 25.6 (0-193), IL6: 27.8 (1-247), IL8: 177 (3-1279), IL10: 12.6 (0-86), IL12: 1.8 (0-4.2), CXCL13: 275 (0.3–963), IFN γ : 8.7 (0-168) in TNF α : 1 (0-3.1).

Rezultati so prikazani ločeno za posamezno kužnino.

SERUM: Statistično značilno razliko (Mann-Whitney; SPSS 18; $p < 0.05$) v koncentraciji citokinov in kemokinov med skupino bolnikov z lajmsko nevroboreliozo in možno lajmsko nevroboreliozo smo določili za kemokin CXCL13.

Statistično značilno razliko med skupinama bolnikov z lajmsko nevroboreliozo in klopnim meningoencefalitisom smo določili za IL10.

Statistično značilno razliko v koncentraciji pri primerjavi bolnikov z lajmsko nevroboreliozo in krvodajalci smo določili pri IL8, IL6, IL12, IFN γ , TNF α , IL5, IL4, IL2.

Razlike v koncentracijah pri bolnikih z lajmsko nevroboreliozo in nevrološkimi bolniki so bile statistično značilne pri IL1 β , CXCL13 in IL5.

LIKVOR: Statistično značilno razliko (Mann-Whitney; SPSS 18; $p < 0.05$) v koncentraciji citokinov in kemokinov med skupino bolnikov z lajmsko nevroboreliozo in možno lajmsko nevroboreliozo smo določili za IL8, IL6, IL10, CXCL13 in IL5.

Statistično značilne razlike med skupinama bolnikov z lajmsko nevroboreliozo in klopnim meningoencefalitisom smo določili za IL8, IL6, CXCL13, IFN γ , IL5, IL4 in IL2.

Razlike v koncentracijah pri bolnikih z lajmsko nevroboreliozo in nevrološkimi bolniki so bile statistično značilne pri IL8, IL6, IL-10, CXCL13 in IL5.

Intratekalno tvorbo specifičnih borelijskih protiteles smo določili pri 21/47 (44.7%) bolnikih z lajmsko nevroboreliozo, ter pri nobenem bolniku z možno lajmsko nevroboreliozo ali s klopnim encefalitisom.

Pri primerjavi koncentracij citokinov in kemokinov med bolnikih z lajmsko nevroboreliozo pri katerih smo dokazali intratekalno tvorbo specifičnih borelijskih protiteles in bolniki pri katerih le-te nismo dokazali smo dokazali sledeče statistično značilne razlike v serumu in likvorju:

SERUM: statistično značilne razlike v koncentraciji citokina IL6, katerega koncentracije so višje pri bolnikih z lajmsko nevrobooreliozo pri katerih nismo dokazali intratekalne tvorbe.

LIKVOR: statistično značilne razlike v koncentraciji kemokinov CXCL13 in IL8, ter citokina IL10, katerih koncentracije so višje pri bolnikih z lajmsko nevrobooreliozo pri katerih smo dokazali intratekalno tvorbo.

5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem in zastavljenih raziskovalnih ciljev⁴

Ocenjujemo, da smo v podoktorskem projektu uresničili zastavljene cilje. Pretočna citometrija in encimsko imunski test sta se izkazali kot uporabni metodi za določanje citokinov v serumu in likvorju bolnikov. Kot najbolj diagnostično uporaben vnetni dejavnik se je izkazal kemokin CXCL13, predvsem določanje koncentracije v likvorju bolnikov.

Iz rezultatov sklepamo, da bi z določanjem kemokina CXCL 13 v likvorju pripomogli k laboratorijski diagnostiki zgodnje lajmske nevroboorelioze, predvsem bi s tem ločili bolnike s možno in dejansko lajmsko nevrobooreliozo, saj so koncentracije CXCL 13 v likvorju bolnikov z možno lajmsko nevrobooreliozo statistično značilno nižje.

Zaključujemo, da bi bilo za laboratorijsko potrditev lajmske nevroboorelioze smotrnno uporabiti tako test za določanje intratekalne tvorbe specifičnih borelijskih protiteles kot tudi določiti koncentracijo kemokina CXCL13 v likvorju bolnikov.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Ni sprememb.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	516183065	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Protitelesni imunski odziv v Slovenskih bolnikih z lajmsko nevrobo
		ANG	Humoral immune responses in patients with Lyme neuroborreliosis
	Opis	SLO	V raziskavi smo analizirali in primerjali protitelesni imunski odziv v serumu in likvorju bolnikov. Borelijska protitelesa smo določili v serumu pri 64,7 % (protitelesa IgM) in 82,4 % (protitelesa IgG) bolnikov z lajmsko nevrobooreliozo. Pripadajoče vrednosti za likvor so bile 64,7 % in 58,8 %. Intratekalna tvorba IgM ali IgG borelijskih protiteles je bila dokazana pri 55,9% bolnikov. Ocena protitelesnega imunskega odziva v serumu in likvorju bolnikov z zgodnjo lajmsko nevrobooreliozo je potrdila prejšnje izsledke o povezavi trajanja bolezni in deležu bolnikov pri katerih zaznamo imunski odziv
			The aim of this study was to analyze and compare the humoral immune responses in serum and cerebrospinal fluid (CSF) for 34 adult patients with clinically evident Lyme neuroborreliosis, 27 patients with clinically suspected Lyme neuroborreliosis, and 32 patients with tick-borne encephalitis. Additionally, we wanted to compare the findings of two methods for the detection of intrathecally synthesized borrelial antibodies: the IDEIA Lyme neuroborreliosis test using flagellar antigen and an approach based on the Liaison indirect chemiluminescence immunoassay using the OspC and VlsE antigens. Borrelial IgM and IgG antibodies were detected by at least one of these methods in the sera of 22/34 (64.7%) and 28/34 (82.4%) patients with clinically evident Lyme neuroborreliosis,

		ANG	respectively, and in the cerebrospinal fluid of 22/34 (64.7%) and 20/34 (58.8%) of these patients, respectively. Intrathecal synthesis of borrelial IgM and/or IgG was found in 19/34 (55.9%) patients: IgM in 17/34 (50%) patients and IgG in 15/34 (44.1%) patients. The relatively low proportion of intrathecal synthesis of borrelial antibodies and the high ratio of IgM positivity could be explained by the short duration of neurological disease as evidenced by reported symptoms (median, 10 days). Assessment of the humoral immune response in the sera and CSF of patients with early Lyme neuroborreliosis confirmed previous findings on the relationship between the duration of illness and the proportion of patients with detectable responses.
	Objavljeno v		American Society for Microbiology; Clinical and vaccine immunology; 2010; Vol. 17, issue 4; str. 645-650; Impact Factor: 2.471; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.177; WoS: NI, NN, QU; Avtorji / Authors: Cerar Tjaša, Ogrinc Katarina, Strle Franc, Ružič-Sabljić Eva
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	27657433	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Primerjava simptomov post lajmske borelioze pri bolnikih z eritema migrans, ki imajo pozitivno ali negativno borelijsko kulturo iz kož
		ANG	Comparison of post-lyme borreliosis symptoms in erythema migrans patients with positive and negative Borrelia burgdorferi sensu lato skin culture
	Opis	SLO	Namen: Na voljo so le omejeni podatki o razlikah med bolniki z eritema migrans, ki imajo pozitivno ali negativno borelijsko kulturo iz kože. Metode: Analizirali smo 252 odraslih bolnikov z eritema migrans pri katerih smo poskušali izolirati borelije iz biopsije kože. Zaključek: Čeprav so bile značilnosti bolnikov iz obeh skupin primerljive, nekateri kazalci kažejo na manj ugoden izid zdravljenja pri bolnikih s pozitivno borelijsko izolacijo.
		ANG	Purpose: Limited data exist on differences of erythema migrans patients with either positive or negative Borrelia burgdorferi sensu lato skin culture. Methods: We analyzed 252 adult patients with erythema migrans in whom skin biopsy specimen was cultured for the presence of B. burgdorferi sensu lato. Evaluations of epidemiological, clinical, and microbiological findings were conducted at baseline, 14 days, 2, 6, and 12 months after treatment with either doxycycline or cefuroxime axetil. Results: One hundred fifty-one (59.9%) patients had positive skin culture (86.9% B. afzelii, 8.0% B. garinii, 5.1% B. burgdorferi sensu stricto) and 101 (40.1%) had negative skin culture. Patients in the culture-positive and culture-negative groups were comparable for the basic demographic, epidemiological, clinical, and laboratory characteristics at presentation. Statistically significantly worse selected treatment outcome parameters in the culture-positive group compared with the culture-negative group were established during follow-up. Treatment failure was documented in two patients who were culture positive and in none in the culture-negative group. Conclusions: Although findings for the pretreatment characteristics were comparable between the erythema migrans skin culture-positive and culture-negative patients, some parameters indicate that borrelia skin culture positivity may predict a less-favorable treatment outcome.
	Objavljeno v		Mary Ann Liebert, Inc.; Vector borne and zoonotic diseases.; 2011; Vol. 11, issue 7; str. 883-889; Impact Factor: 2.733; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.956; A': 1; WoS: NE, NN; Avtorji / Authors: Stupica Daša, Lusa Lara, Cerar Tjaša, Ružič-Sabljić Eva, Strle Franc
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine⁷

Družbenoekonomsko relevantni dosežki			
1.	COBISS ID	27793113	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Koncentracije citokinov in kemokinov pri bolnikih z lajmsko nevrobooreliozo
		<i>ANG</i>	Cytokine and chemokine concentrations in patients with Lyme neuroborreliosis
	Opis	<i>SLO</i>	Namen raziskave je bil določiti koncentracije citokinov in kemokinov v serumu in likvorju bolnikov z lajmsko nevrobooreliozo, ter jih primerjati s bolniki z možno lajmsko nevrobooreliozo in klopnim meningoencefalitisom. Pri bolnikih z potrjeno lajmsko nevrobooreliozo smo v likvorju določili povišane koncentracije kemokina CXCL 13 v primerjavi z drugima skupinama bolnikov, kar nakazuje, da bi bil ta kemokin uporaben kot zgodnji indikator lajmske nevroboorelioze.
		<i>ANG</i>	The aim of the study was to determine cytokine and chemokine concentrations in sera and CSF of adult patients with Lyme neuroborreliosis and to compare concentrations with patients with possible Lyme neuroborreliosis and tickborne encephalites. Chemokine CXCL13 was found to be uniquely elevated in cerebrospinal fluid of LNB patients and may be a useful early indicator of Lyme neuroborreliosis.
	Šifra	B.03	Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	s.n.; Abstracts; 2010; Str. 86; Avtorji / Authors: Cerar Tjaša, Ogrinc Katarina, Lotrič-Furlan Stanka, Kopitar Andreja Nataša, Strle Franc, Ružič-Sabljić Eva	
	Tipologija	1.12	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Tjaša Cerar je bila del lokalnega organizatorskega odbora pri organizaciji 12th International Conference on Lyme Borreliosis and other TickBorne Diseases, ki je potekala v Ljubljani, od 26-29. Septembra 2010. Sodelovala je tudi pri bilateralnih projektih BI-HR/10-11-017 in BI-RS/10-11-023.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹**10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰***SLO*

V naši raziskavi smo pozornost usmerili na določanje citokinov in kemokinov v vzorcih bolnikov z lajmsko nevrobooreliozo, ter primerjali koncentracije v vzorcih bolnikov z možno lajmsko nevrobooreliozo, klopnim meningoencefalitisom, nevrološkimi bolniki in krvodajalci. Pretočna citometrija in encimsko imunski test sta se izkazali kot uporabni metodi za določanje citokinov v serumu in likvorju bolnikov. Pridobili smo pomembne podatke o imunskem dogajanju, ter doprinesli k osvetlitvi patogeneze lajmske nevroboorelioze. Kot najbolj diagnostično uporaben vnetni dejavnik se je izkazal kemokin CXCL13, predvsem določanje koncentracije kemokina v likvorju bolnikov. Iz rezultatov sklepamo, da bi z določanjem kemokina CXCL 13 v likvorju pripomogli k laboratorijski diagnostiki zgodnje lajmske nevroboorelioze, predvsem bi s tem ločili bolnike z možno in dejansko lajmsko nevrobooreliozo, saj so koncentracije CXCL 13 v likvorju bolnikov z možno lajmsko nevrobooreliozo statistično značilno nižje. Zaključujemo, da bi bilo za laboratorijsko potrditev lajmske nevroboorelioze smotno uporabiti tako test za določanje intratekalne tvorbe specifičnih borelijskih protiteles kot tudi

določiti koncentracijo kemokina CXCL13 v likvorju bolnikov.

ANG

The aim of the present study was to determine cytokine and chemokine concentrations in sera and CSF of adult patients with Lyme neuroborreliosis and to compare the established concentrations with those of patients with possible Lyme neuroborreliosis, tickborne encephalites, neurological patients and blood donors.

Flow cytometry and enzyme immunoassay were found to be appropriate for determination of cytokines and chemokines in sera and CSF of the patients. We gained significant data concerning immune response and contribute to enlightenment of the pathogenesis of the disease. Chemokine CXCL 13 was shown to be the most relevant inflammatory factor, especially its concentration in the CSF of the patients.

We believe that establishing concentrations of determination of CXCL 13 in the CSF of the patients would contribute to laboratory diagnosis of early lyme neuroborreliosis. Concentrations of CXCL 13 in the CSF could be used as an early marker for differentiation of possible and confirmed Lyme neuroborreliosis, since concentration of the chemokine are significantly lower in the CSF of the patients with possible Lyme neuroborreliosis.

We conclude that laboratory diagnosis of Lyme neuroborreliosis would benefit from the methods used for conformation of intrathecal synthesis of specific borrelial antibodies combined with methods used for determination of CXCL13 concentration in the CSF of the patients.

10.2.Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Z našim projektom smo z mednarodno pomembno raziskavo prispevali pomembne podatke o imunskih dogajanjih v serumu in možganski tekočini bolnikov z različnimi oblikami lajmske borelioze, ter prispevali k osvetlitvi patogeneze bolezni. Rezultati raziskave bodo tudi pripomogli k zgodnejši in pravilnejši diagnostiki lajmske nevroboleioze, ter tako tudi k pravilnemu in ustreznemu zdravljenju.

ANG

Our project represents important international research that contributed significant data concerning immune response in sera and cerebrospinal fluid of patients with distinct clinical manifestation of Lyme borreliosis and also enlightened pathogenesis of the disease. Results will also contribute to earlier and more exact diagnosis of Lyme neuroborreliosis together with accurate and adequate treatment.

11.Samo za aplikativne projekte!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

		<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

12.Samo za aplikativne projekte!

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visoko-šolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.02.12.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj						
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj						
G.04.01	Dvig kvalitete življenja		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture						
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

--

13.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra	
	1.		
	2.		
3.			

	4.		
	5.		
	Komentar		
	Ocena		

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Medicinska
fakulteta

Tjaša Cerar

ŽIG

Kraj in datum:

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2012/28

¹ Zaradi spremembe klasifikacije je potrebno v poročilu opredeliti raziskovalno področje po novi klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta (obrazložitev). V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁶ Znanstveni in družbeno-ekonomski dosežki v programu in projektu so lahko enaki, saj se projektna vsebina praviloma nanaša na širšo problematiko raziskovalnega programa, zato pričakujemo, da bo večina izjemnih dosežkov raziskovalnih programov dokumentirana tudi med izjemnimi dosežki različnih raziskovalnih projektov.

Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

⁷ Znanstveni in družbeno-ekonomski dosežki v programu in projektu so lahko enaki, saj se projektna vsebina praviloma nanaša na širšo problematiko raziskovalnega programa, zato pričakujemo, da bo večina izjemnih dosežkov raziskovalnih programov dokumentirana tudi med izjemnimi dosežki različnih raziskovalnih projektov.

Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite

Zaključno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta - 2012

COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbenoekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen, kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno ekonomsko relevantnega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. v preteklem letu vodja meni, da je izjemen dosežek to, da sta se dva mlajša sodelavca zaposlila v gospodarstvu na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovila svoje podjetje, ki je rezultat prejšnjega dela ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2012 v1.00
4C-F6-17-4D-85-55-7A-38-DA-46-B9-07-5F-B8-46-25-12-18-68-54