

## Institucionální podpora v roce 2021

Výše podpory - 15 099 972 Kč

Institucionální podpora poskytnutá Fakultní Thomayerově nemocnici v roce 2021 byla využita na úhradu nákladů spojených s 32 projekty vybranými na základě interní grantové soutěže.

Jednoleté projekty nebyly v roce 2021 realizovány.

### Projekty ukončené v roce 2021

	Název projektu	Řešitel	Od	Typ projektu
1	Pilotní studie významu kyseliny myristové v séru pro časnou diagnostiku sepse, stanovení jejího koncentračního rozmezí a porovnání s vybranými biomarkery sepse prokalcitoninem a presepsinem i ve vztahu k nálezům hemokultivačních a Real-Time PCR vyšetření krve septických pacientů.	Doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D.	2017	Interní soutěž, víceletý
2	Role presepsinu (scd14-st) v diagnostice a monitorování sepse v dětské a novorozenecké populaci	MUDr. Iva Pospíšilová	2018	Interní soutěž, víceletý
3	Prediktory léčebné odpovědi na biologickou terapii u pacientů s obtíže léčitelným asthma bronchiale	MUDr. Tomáš Sliz	2019	Interní soutěž, víceletý
4	Detekce mikrobiomu dolních močových cest u mužů	MUDr. Jan Hrbáček Ph.D.	2019	Interní soutěž, víceletý
5	Vliv frekvence hypoglykemií a glykemické variability na úspěšnost léčby farmakorezistentní epilepsie u dětí ketogenní dietou - využití systému pro kontinuální monitoraci glykemií	MUDr. Klára Brožová	2019	Interní soutěž, víceletý
6	Retrospektivní analýza korelace klinických dat s nálezy na MRI a výsledky neuropatologického vyšetření mozku	doc. MUDr. Robert Rusina, Ph.D.	2019	Interní soutěž, víceletý
7	Simultánní histologické zobrazení neurodegenerativních komorbidit pomocí fluorescenční a vícekanálové konfokální mikroskopie	MUDr. Tomáš Olejář	2019	Interní soutěž, víceletý

8	Prevalence a imunogenita SARS-Cov-2 u dětí	MUDr. Markéta Bloomfield	2020	Interní soutěž, víceletý
9	Následky infekce COVID-19 na kardiovaskulární systém (Studie Cartesian) – projekt předčasně ukončen z důvodu ukončení pracovního poměru hlavního řešitele	MUDr. Peter Wohlfahrt, PhD.	2021	Interní soutěž, víceletý

## Závěrečné zprávy ukončených projektů

### **1. Pilotní studie významu kyseliny myristové v séru pro časnou diagnostiku sepse, stanovení jejího koncentračního rozmezí a porovnání s vybranými biomarkery sepse procalcitoninem a presepsinem i ve vztahu k nálezům hemokultivačních a Real-Time PCR vyšetření krve septických pacientů.**

Řešitel: doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D., ARK 1. LF UK a TN

Spoluřešitelé: MUDr. Michal Moravec, MUDr. Martin Müller, Ph. D., MUDr. Tomáš Nejtek

Spolupracující pracoviště: ÚFCH J. Heyrovského AV ČR; OKBHI Nemocnice na Homolce; KARIM TC IKEM Praha; CKTCH Brno - Genetická laboratoř

**ClinicalTrials.gov NCT03314831**

Rok zahájení projektu: 2017

#### Cíl projektu:

Projekt má hlavní cíl v úplném ověření výsledků z metabolické studie švédských autorů pro korelaci koncentrace kyseliny myristové v séru a diagnózy sepse s bakteriemií publikované v r. 2016. Výstupem by v ideálním případě měla být pro klinickou praxi validovaná metoda se statistickým zpracováním stanoveného koncentračního rozmezí kyseliny myristové v séru u septických pacientů (i ve vztahu k etiologickému agens) a kontrolní skupiny pacientů po velkém operačním výkonu s dokumentovanou celotělovou zánětlivou odpovědí neinfekční etiologie. Zjištěné hladiny rovněž porovnat s nálezy koncentrací zdravých dobrovolníků a s nálezy u imunosuprimovaných pacientů s rozvojem SIRS po transplantaci solidního orgánu.

#### Popis vypracované metodiky a její validace pro stanovení kyseliny myristové:

Hladiny kyseliny myristové jsou stanovovány metodou plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) v hluboce zamražených vzorcích séra nabíraných během prvních 5 dnů po stanovení diagnózy sepse. Metoda byla ověřena použitím dvou různých typů GC/MS (quadropól, iontová past). K odstranění chyb při kvantifikaci hmotnostní spektrometrie byl použit plynový chromatograf s plamenoionizačním detektorem (GC-FID).

#### **Počty vyšetřených a zařazených jednotlivců ve skupinách:**

- Sepse: 88
- Pooperační SIRS: 74
  - z toho skupina pac. s malignitou/bez malignity: 16/38

- z toho pacienti po transplantaci solidního orgánu s imunosupresí: 20
- Zdraví dobrovolníci: 120

### Výsledky

Na základě výsledků lze říct, že hladiny koncentrací kyseliny myristové se v jednotlivých sledovaných skupinách významně liší a ve všech skupinách se velmi významně (násobně) liší od robustního nálezu koncentrací u zdravých dobrovolníků. Nezaznamenali jsme významný rozdíl koncentrací v podskupinách pooperačního SIRS s výkonem pro tumor a pro operační výkony bez dg. malignity.

Referenční hladina koncentrace volné kyseliny myristové v séru zdravých dobrovolníků dosahovala hodnoty vyjádřené jako medián a IQR 16,5 (14,6 – 18,7) umol/l.

Sérové koncentrace kyseliny myristové ve skupině sepse s bakteriemi byla vyšší proti sepsi bez bakteriemi (p = 0,016)

Koncentrace 37,2 umol/l, coby cut-off hodnota (AUC 0,992) predikuje bakteriemickou sepsi s 91,7 % senzitivitou a 100 % specificitou proti skupině zdravých dobrovolníků a hodnota 42,1 umol/l (AUC 0,837) diskriminuje bakteriemickou sepsi proti SIRS neinfekční etiologie se senzitivitou 83,3 % a 83,9 % specificitou.

### Výstupy - seznam publikací celkem

- Prague Medical Report / Vol. 119 (2018) No. 1, p. 9–29: Sepsis Diagnostics in the Era of „Omics“ Technologies
- Prague Medical Report/ Vol. 120 (2019) No. 2-3, p. 103-106: Kinetics of Myristic Acid Following Accidentally Induced Septic Response
- Posterová prezentace na kongresu Colours of Sepsis Ostrava 2019
- Posterová prezentace na kongresu Weimar Sepsis Update 2019, Weimar, Německo: Kinetics of myristic acid following accidental intravenous self-administration of germfree eubiotic. Publikováno v supplementu „*Infection* (2019) 47(Suppl 1): 1. <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01341-2>“ (IF)
- Posterová prezentace na kongresu ESICM Lives 2019, Berlin, Německo: Myristic acid and its significance in sepsis diagnosis (pilot study – preliminary results). Publikováno v supplementu „*Intensive Care Medicine Experimental* (2019), 7(Suppl 3): 55, <https://doi.org/10.1186/s40635-019-0265-y>“ (IF)

### Výstupy - 2021

1. Zazula, R.; Moravec, M.; Pehal, F.; Nejtek, T.; Protuš, M.; Müller, M. Myristic Acid Serum Levels and Their Significance for Diagnosis of Systemic Inflammatory Response, Sepsis, and Bacteraemia. *J.Pers. Med.* **2021**, *11*, 306. <https://doi.org/10.3390/jpm11040306> (IF 4,433)

Plánujeme publikací (v impaktovaném periodiku) dalších dat získaných v roce 2021, k tomu navíc i ve skupině transplantovaných pacientů.

V průběhu řešení projektu dizertoval MUDr. Martin Müller, nyní již Ph. D. Část dat získaných touto studií použije MUDr. Nejtek pro svou disertační práci k doktorandskému studiu

---

## **2. Role presepsinu (scd14-st) v diagnostice a monitorování sepse v dětské a novorozenecké populaci**

Hlavní řešitel: MUDr. Iva Pospíšilová

Spoluřešitelé: Doc. MUDr. Magner Martin, Ph.D. (PK FTN), Doc. MUDr. Janota Jan, Ph.D. (NO FN Motol), MUDr. Bořecká Klára, Ph.D. (OKB FTN)

Rok zahájení 2018

### Postup prací/metodika (dílčí kroky v roce 2021):

- pro definování ref. mezí v dětské populaci pokračoval sběr kontrolní skupiny, preferovány byly vzorky od neinfekčních dětských pacientů od 1. měsíce do 6 měsíců věku (ve spolupráci s PK FTN, navázána taktéž spolupráce s PK FNKV a VFN)
  - a. n=233 (rok 2020: 188 vzorků, z toho pouze 11 do jednoho roku věku), aktuálně:
    - i. 0-1 měsíc (n=26)
    - ii. 1-3 měsíce (n=8)
    - iii. 3 měsíce - 3 roky (n=44, z toho 19 do jednoho roku věku)
    - iv. 3-19 let (n=155)
- zapojení ambulantních dětských praktických lékařů pro podporu sběru vzorků kontrol do roku věku se neosvědčilo, byl patrný odmítavý postoj rodičů k odběru žilní krve od zdravých kojenců, rovněž pandemie covid-19 výrazně omezila sběr vzorků
- sběr dat z NO FTN ukončen v roce 2020, plánovaná publikace pro rok 2021 odložena z důvodu mateřství, zahájena PN – rizikové těhotenství (od 1/2021)
- pokračování v postgraduálním doktorském studiu - obhájení 1. roku studia

### Výsledky:

Do konce roku 2021 bylo do projektu zahrnuto celkem 589 probandů; 423 z Pediatrické kliniky a 166 z Novorozeneckého odd. FTN. U části probandů (53 %) byly provedené opakované odběry.

Skupina novorozenců (n=134) byla rozčleněna dle multicentrické randomizované studie The Neonatal PCT Intervention Study (NeoPInS). Kromě kontrolní skupiny byli na základě zařazovacích kritérií (rizikové faktory, klinické symptomy a laboratorní výsledky) novorozenci rozděleni do tří podskupin: systémová infekce nepravděpodobná, možná nebo pravděpodobná. Podskupinu „prokázaná systémová infekce“ nelze vymezit, neboť jsme nezachytili pozitivní hemokulturu ve skupině zařazených novorozenců.

Koncentrace presepsinu byly významně vyšší u novorozenců s pravděpodobnou infekcí ve srovnání se skupinou novorozenců s infekcí nepravděpodobnou ( $p < 0,00001$ ). Dle ROC analýzy byla dg. efektivita presepsinu (AUC 0,845; 95% CI 0,708-0,921) pro diskriminaci novorozenců s pravděpodobnou infekcí nižší ve srovnání s IL-6 (AUC 0,893; 95% CI 0,726-0,961), avšak překvapivě téměř srovnatelná s CRP (AUC 0,837; 95% CI 0,687-0,918).

Vysoké vstupní koncentrace CRP u novorozenců s pravděpodobnou infekcí, spolu s již nevýznamnými hladinami IL-6 v čase 0 ( $p=0,088$ ) svědčily o subakutním průběhu časně novorozenecké infekce. Sdružená efektivita v dg. sepse při kombinovaném užití markerů (presepsin + IL-6 + CRP) byla nejvyšší (AUC 0,97; 95% CI 0,911-0,99).

Byla vyhodnocena nejlepší cut-off hodnota presepsinu pro odlišení pravděpodobné infekce u novorozenců  $\geq 636$  ng/l, se senzitivitou 90 %, specificitou 73 % a negativní prediktivní hodnotou 96,4 %.

Skupina starších dětí ( $n=149$ ) byla vyhodnocena dle definitivní diagnózy s přihlédnutím k výši zánětlivých parametrů a vlastnímu průběhu klinického stavu. I zde presepsin vykazoval dobrou diskriminační schopnost mezi skupinou sepse a kontrolami (AUC=0,984,  $p<0,001$ ); avšak při porovnání se skupinou s lokalizovaným bakteriálním infektem vykazuje lepší diskriminační schopnost PCT (AUC 0,900 vs. 0,705;  $p=0,0216$ ). Data u skupiny starších dětí budou v rámci doktorského studia podrobena podrobnějšímu statistickému zhodnocení.

U skupiny kontrol byly aktualizovány průběžné ref. meze (5.-95. percentil referenčního souboru) presepsinu ve věku 0-19 let,  $n=233$ , viz Tab. 1.

<b>věk</b>	<b>referenční mez</b>
1 den	299 - 769
2-3 dny	160 - 640
4. dny - 1 měsíc	151 - 691
1-3 měsíce	97,6 - 341
3 měsíce - 3 roky	51,7 - 142
> 3 roky	50,2 - 121

*Tab.1 Referenční meze pro presepsin (ng/l)*

Z výsledků je zřejmý na věku závislý klesající trend koncentrací presepsinu. Mechanismus fyziologických změn hladin presepsinu během časného novorozeneckého a kojeneckého období není dosud objasněn. Přiblížení koncentrace k hodnotám dospělých je patrný po

3. měsíci věku. Vzhledem k malému počtu vzorků ve věkovém období 1-6 měsíců (n=17) není zatím možno stávající data uzavřít a publikovat.

Definované ref. meze jsou u novorozenců nižší ve srovnání s publikovanými ref. mezemi donošených novorozenců (5.-95. percentil 311 - 1 178 ng/l) a předčasně narozených novorozenců (5.-95. percentil 352 - 1 256 ng/l) pro 3.-4. den věku. Jiná studie, zahrnující novorozence narozené ve 24.-42. týdnu gestace, uvádí více obdobné výsledky (10.-90. percentil pro 1. den věku 240,8 – 725,8 ng/l; pro 28. den věku 129,9 - 471,6 ng/l. Je možný uplatňující se vliv perinatálních faktorů a zařazovacích kritérií jednotlivých studií na rozdíl mezi námi definovanými a publikovanými ref. rozsahy.

Pro skupinu starších dětí referenční meze zatím nebyly publikovány.

#### Zhodnocení nastavených cílů projektu:

- Ověření dg. výtěžnosti zánětlivého markeru presepsinu v diagnostice sepse v novorozenecké a pediatrické populaci:
  - presepsin je užitečným markerem v dg. bakteriální infekce
    - dg. výtěžnost ověřena v novorozenecké populaci
      - v plánu publikace 1. pololetí roku 2022 (Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)
    - data z pediatrické části budou podrobena podrobnějšímu statistickému zhodnocení v rámci pokračujícího doktorského studia
- Porovnání diagnostické efektivity s jinými běžně dostupnými laboratorními zánětlivými parametry:
  - dg. efektivita se zvyšuje v kombinaci s ostatními markery zánětu
  - dg. efektivita presepsinu pro diskriminaci novorozenců s pravděpodobnou infekcí je mírně nižší ve srovnání s IL-6, téměř srovnatelná s CRP
  - u starších dětí presepsin vykazoval dobrou diskriminační schopnost mezi skupinou sepse a kontrolami, avšak při porovnání se skupinou s lokalizovaným bakteriálním infektem vykazoval lepší diskriminační schopnost PCT
- Definování fyziologických koncentrací presepsinu u dětí bez známek infekce v různých věkových skupinách včetně odhadu referenčních mezí:
  - byly definovány ref. meze pro novorozence a starší děti
  - chybí dostatečný počet vzorků pro období 1-6 měsíců věku, sběr vzorků bude pokračovat v rámci doktorského studia
- Porovnání fyziologických koncentrací výběru z cílové populace zdravých novorozenců s dostupnými literárními rešeršemi:
  - námi definované ref. meze jsou mírně nižší ve srovnání s publikovanými ref. mezemi donošených a předčasně narozených novorozenců
  - je patrná dynamická změna koncentrací mezi dny po narození
- (Event. zavedení presepsinu do klinické praxe v režimu POCT na příslušných spolupracujících klinických odděleních FTN:

- z důvodu vyššího ekonomického zatížení jednotlivých oddělení při současném doporučeném kombinovaném užití markerů při vlastní identifikaci sepse nebylo POCT stanovení presepsinu na jednotlivá pracoviště zavedeno

---

### **3. Prediktory léčebné odpovědi na biologickou terapii u pacientů s obtížně léčitelným asthma bronchiale**

Řešitel: MUDr. Tomáš Slisz

Školitel: Prof. MUDr. Martina Vašáková, PhD.

Rok zahájení 2019

#### Cíle projektu:

Primárním cílem je stanovit, jestli a jak se liší úspěšnost biologické terapie v kontrole onemocnění na základě variability parametrů jako jsou IL-25, IL-33, IL-5, IL-17, IgE, TNF- $\alpha$ , ECP, sST2, eozinofily, neutrofilie, lymfocyty, v indukovaném sputu. Sekundárním cílem je stanovení buněčnosti, hladiny jednotlivých interleukinů a dalších chemických látek v indukovaném sputu u jednotlivých pacientů a jejich korelaci s klinickým obrazem onemocnění.

#### Postup prací/metodika a výsledky:

2019: Po přidělení institucionální podpory se zabezpečily technické a materiální požadavky nutné k realizaci projektu. To zahrnuje přípravu zázemí a materiálu na indukci sputa cestou pneumologické kliniky, přípravu zázemí a materiálu na zpracování sputa cestou mikrobiologické laboratoře a přípravu zázemí, materiálu a funkčního průtokového cytometru schopného požadované analýzy pomocí imunologické laboratoře (personální zabezpečení bylo zajištěno již před přidělením institucionální podpory). Následně, po drobných komplikacích s průtokovým cytometrem a úspěšné generální zkoušce na zdravém jedinci, se začalo s odebíráním a zpracováváním indukovaného sputa u reálných pacientů (počet pacientů TN splňujících kritéria pro vstup do projektu = cca 10/rok). Z důvodu nasbírání většího množství vhodných pacientů byla po zkoušce v reálném provozu oslovena další centra obtížně léčitelného asthma bronchiale v ČR a od prosince 2019 se tak začala spolupráce s FN Plzeň, FN Bulovka, FN Motol a FN Hradec Králové.

2020: Probíhal nábor všech nových pacientů začínajících s biologickou léčbou, odběr vzorků (sputa), průběžné zpracování vzorků pomocí průtokové cytometrie (imunologická laboratoř + mikrobiologie) a uchovávání vzorků k nárazovému provedení ELISA. Spolupráce s dalšími centry obtížně léčitelného asthma bronchiale v ČR byla značně omezena vzhledem k epidemiologické situaci (COVID-19). První odebraní pacienti již absolvovali kontrolní odběr sputa (compliance pacientů (ochota dojíždět na kontroly) zhoršena epidemiologickou situací (COVID-19)).

2021: Do (04/2021) pokračoval nábor všech nových pacientů začínajících s biologickou léčbou (=29). Nadále pokračují odběry zpracování kontrolních vzorků již zařazených pacientů (každý pacient podstupuje odběr 3x – před zahájením léčby, 6M na léčbě, 12M na léčbě). Dále byla provedena ELISA (všech 8 typů) u části vzorků k zjištění dosavadních výsledků a zajištění vhodného nastavení /citlivosti ELISA kitů a potřebného ředění vzorků/ před finálním zpracováním všech nasbíraných vzorků po ukončení všech odběrů (04/2022). Byl zajištěn statistik (BIOCEV).

#### Plán na rok 2022:

1. Dokončení odběrů vzorků (03-04/2022)
2. Provedení ELISA všech vzorků (04/2022)
3. Zpracování nasbíraných dat (průtoková cytometrie, ELISA) a jejich statistická analýza
4. Publikace výsledků (článek, prezentace na oborově zaměřených akcích v ČR a zahraničí)

#### Seznam publikovaných výsledků s dedikací:

Doposud bez publikovaných výsledků (t.č. probíhá odebírání a zpracovávání vzorků. Probíhá zpracování dílčích výsledků)

#### Ostatní: Publikace/prezentace/přednášky netýkající se výsledků, ale týkající se téma:

1. Slisz T, Vasakova M. The burden of corticosteroid overload in severe and difficult to treat asthma: how to reduce this? *Curr Opin Pulm Med.* 2020 Jan;26(1):90-96. doi: 10.1097/MCP.0000000000000635. PMID: 31599753.
2. Přednáška na XXV. setkání pneumologů a IX. setkání pneumologů a pneumochirurgů v Emauzském klášteře 10.9.2020 na téma: „Indukované sputum. Kdy a jak na to?“
3. Přednáška na XXXVII. sjezd ČSAKI, SSAKI a XVI. kongres ČIS, SIS 9. 10. 2020 na téma: „Biologická léčba a asthma bronchiale“
4. Přednáška na III. Scientific Colloquium Lung Diseases – Innovation East – na téma: „Biologics and compliance in severe asthma patients“
5. J. M. Hartinger, V. Vaněček, T. Slisz, M. Vetchá, M. Teřl. Monoklonální protilátky pro léčbu astmatu v terénu obezity. *JOURNAL STUDIA PNEUMOLOGICA ET PHTHISEOLOGICA* (2021, č.4, s.168–173)

Projekt bude dokončen v r.2022 bez institucionální podpory.

---

#### **4. *Detekce mikrobiomu dolních močových cest u mužů***

Řešitel: MUDr. Jan Hrbáček, PhD., Prof. MUDr. Roman Zchoval, PhD., MBA

Spolupracující instituce: Oddělení klinické mikrobiologie TN, Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR, Přírodovědecká fakulta UK BIOCEV (Biotechnologické a biomedicínské centrum Akademie věd a UK)



Rok zahájení: 2019

Cíl projektu:

Detekce a popis bakteriálního mikrobiomu u mužů podstupujících endourologický zákrok v celkové anestézii pro maligní nebo nemaligní onemocnění močových cest, porovnání mikrobiomu pacientů s benigním onemocněním dolních močových cest a s karcinomem močového měchýře.

Postup prací v r. 2021:

2019:

Po schválení projektu a uvolnění finančních prostředků jsme v prvním roce do výzkumu zařadili a získali vzorky od 23 mužů. Od každého muže jsme získali 3 vzorky – první porce spontánně vymočené moči, střední proud a cévkovaná moč získaná během operace v anestézii – tedy celkem 69 biologických vzorků. Tyto vzorky byly zpracovávány metodou rozšířené kultivace (extended quantitative urine culture, EQUUC) na pěti různých půdách za odlišných růstových podmínek, druhové určení detekovaných mikroorganismů bylo v indikovaných případech upřesněno metodou MALDI-TOF (hmotnostní spektrometrie) v mikrobiologické laboratoři IKEM (TN tento dnes již běžný přístroj nevlastní). Ze vzorků moči byla dále izolována a zamražena DNA pro sekvenaci bakteriální DNA metodou PCR.

Od 3 pacientů jsme odebrali moč z dolních, ale také z horních močových cest. Tyto vzorky byly zamraženy v UK BIOCEV s plánem pilotní detekce virového mikrobiomu.

2020:

Na začátku 2. roku trvání projektu jsme vyřešili metodologický problém s nízkou koncentrací DNA ve vzorcích a definitivně nastavili metodiku odběru a zpracování vzorků moči. Byla ukončena první fáze studie mající za cíl porovnat první porci, střední proud a katetrizovanou moč (pomocí metody rozšířené kultivace a zároveň sekvenováním bakteriálních nukleových kyselin) a vyřešit tak do budoucna otázku, který typ vzorku je pro mikrobiomové studie nejvhodnější. Rukopis článku nyní připravujeme.

Nadále jsme pokračovali v náborech pacientů – i přes nepříznivou situaci s omezením provozu v důsledku pandemie koronaviru bylo zařazeno takřka 100 subjektů. Převýšili jsme tak původně předpokládaný celkový počet účastníků studie, protože některé vzorky se mohou ukázat jako nepoužitelné (např. pro malé množství izolované DNA).

2021:

V posledním roce projektu jsme ukončili nábor pacientů do studie a sběr vzorků, provedli zbývající sekvenace bakteriálních nukleových kyselin a získaná data analyzovali. Počet zařazených pacientů přesáhl 150.

Ze získaných dat jsme publikovali článek „Alpha-diversity and microbial community structure of the male urinary microbiota depend on urine sampling method“ v časopise Scientific

Reports (IF 4,4). Prezentovali jsme naše výsledky na národním i evropském urologickém kongresu (buď ve virtuální on-line formě).

Celkový výstup projektu je následující:

Článek v časopisu s IF: 2

Článek v českém recenzovaném časopise: 3

Prezentace na kongresu: 3 (ČR) + 1 (mezinárodní)

Rukopisy v přípravě: 3

Zhodnocení projektu:

V našem výzkumném projektu jsme se jako jedna z prvních skupin ve světovém měřítku soustředili na popis mužského močového mikrobiomu. Publikovaný článek v časopise Scientific Reports je jedinou prací, která se věnuje konkrétně rozdílům složení mikrobiomu v závislosti na způsobu odběru. V přípravě máme rukopis týkající se odlišností močového mikrobiomu u pacientů s nádory močového měchýře a u benigních kontrol (n=64); analogický experimentální design se srovnatelným počtem subjektů má zatím pouze jeden publikovaný článek (Wu et al., 2018).

Seznam publikovaných článků a kongresových abstraktů s dedikací grantu:

#### **Publikace v časopisech**

- Hrbacek J, Morais D, Cermak P, Hanacek V, Zachoval R. Alpha-diversity and microbial community structure of the male urinary microbiota depend on urine sampling method. Sci Rep. 2021 Dec 9;11(1):23758. doi: 10.1038/s41598-021-03292-x. PMID: 34887510; PMCID: PMC8660768. **(IF 4,379)**
- Hrbacek J, Cermak P, Zachoval R. Current antibiotic resistance patterns of rare uropathogens: survey from Central European Urology Department 2011-2019. BMC Urol. 2021 Apr 13;21(1):61. doi: 10.1186/s12894-021-00821-8. PMID: 33849512; PMCID: PMC8042353. **(IF 2,264)**
- HRBÁČEK, Jan, Vítězslav HANÁČEK, Pavel ČERMÁK, Daniel MORAIS a Roman ZACHOVAL. Úvod do problematiky lidského močového mikrobiomu. Česká urologie. 2021, 25(1), 17-26. ISSN 1211-8729. Dostupné také z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-urologie/2021-1-29/uvod-do-problematiky-lidskeho-mocoveho-mikrobiomu-127566>
- HRBÁČEK, Jan, Pavel ČERMÁK, Vítězslav HANÁČEK, Vanda ADAMCOVÁ, Lucie BARTÁKOVÁ a Roman ZACHOVAL. Prevalence uropatogenů v moči a spektrum jejich rezistence - analýza dat z jednoho pracoviště. Česká urologie. 2019, 23(4), 316-324. ISSN 1211-8729. Dostupné také z: <https://www.czechurol.cz/pdfs/cur/2019/04/05.pdf>
- ADAMCOVÁ, Vanda, Lucie BARTÁKOVÁ, Pavel ČERMÁK, Roman ZACHOVAL a Jan HRBÁČEK. Multirezistentní gram-negativní bakterie v urologii. Česká urologie. 2020, 24(1), 18-25. ISSN 1211-8729. Dostupné také z: <https://www.czechurol.cz/pdfs/cur/2020/01/02.pdf>

## Abstrakta z kongresů

- 36th Annual Congress - European Association of Urology, ul 09, 2021 - Jul 13, 2021, virtuál.  
Hrbáček J, Hanáček V, Morais D, Čermák P, Zachoval R. Catheterised urine is not superior to mid-stream samples in the study of male urinary microbiota.
- 67. výroční konference ČUS 20.-21.10.2021, Praha  
Hrbáček J, Hanáček V, Morais D, Čermák P, Zachoval R. První porce, střední proud a katetrizovaná moč z hlediska mužského močového mikrobiomu.
- 66. výroční konference ČUS 14.-15.10.2020, Praha
  - Hanáček V, Hrbáček J, Čermák P, Zachoval R. Močový mikrobiom u mužů: detekce mikroorganismů pomocí rozšířené kvantitativní kultivace (EQUC). Ces Urol 2020; 24(Suppl. A):65.
  - Hrbáček J, Hanáček V, Čermák P, Zachoval R. Močový mikrobiom u mužů: detekce mikroorganismů sekvenací bakteriální 16S rDNA. Ces Urol 2020; 24(Suppl. A):65.

---

## 5. *Vliv frekvence hypoglykemií a glykemické variability na úspěšnost léčby farmakorezistentní epilepsie u dětí ketogenní dietou - využití systému pro kontinuální monitoraci glykemií*

Řešitel: MUDr. Klára Brožová

Složení realizačního týmu: MUDr. Petra Bořilová; Eva Chocenská; doc MUDr. Pavel Kohout, Ph.D.; MUDr. Jan Brož (externí spolupráce); ing. Marek Brabec Ph.D. (externí spolupráce), ing. Anna Holubová (externí spolupráce)

Rok zahájení 2019

### Cíl projektu:

- Hodnocení změn glykémie během zahájení ketogenní diety s ohledem na různé poměry obsažených sacharidů/tuků a jejím dalším průběhu
- Zjištění frekvence hypoglykemií při iniciaci a v průběhu ketogenní diety u dětí s farmakorezistentní epilepsií.
- Analýza korelace mezi prokázanou hypoglykemií a jejími symptomy
- Srovnání frekvence výskytu hypoglykemií a glykemické variability mezi respondery a nonrespondery léčby ketogenní dietou

### Postup prací:

V roce 2019:

- V souladu s plánem bylo do studie zařazeno prvních 6 pacientů, u kterých byla zahájena ketogenní dieta a v jejím úvodu byla provedena kontinuální monitorace glykémie podle studijního protokolu.

V roce 2020:

- Do studie zařazeno 10 pacientů.

v roce 2021:

- Do studie zařazeno 7 pacientů.

#### Výsledky:

V průběhu studie bylo vyšetřeno celkem 23 pacientů. U 4 pacientů studie nebyla dokončena z technických důvodů (předčasné odpojení přístroje pacientem) nebo pro předčasné ukončení ketogenní diety. U všech pacientů zachyceny opakovaně hypoglykémie, předběžná analýza dat naznačuje významný pokles glykémie v průběhu prvních dnů po zahájení diety. Hypoglykémie většinou nejsou doprovázeny obvyklými symptomy. Aktuálně probíhá analýza záznamů hodnot glykemií pro další připravovaný článek.

#### Seznam publikací:

1. Brožová K, Holubová A, Bořilová P, Brabec M, Kohout P, Hadač J, Brož J. Hypoglycemia during treatment with the ketogenic diet in a child with refractory epilepsy-results of continuous glucose monitoring. *Neuro Endocrinol Lett.* 2021. Aug 28;42(4):277-281. PMID: 34436847. IF 0,765
2. Brož J, Brožová K. Gestational diabetes, metformin, and the risk of hypoglycemia. *Am J Obstet Gynecol.* 2021 Sep;225(3):351-352. doi: 10.1016/j.ajog.2021.05.028. Epub 2021 May 26. PMID: 34051166. IF 8,661 (1. decil)
3. Brož J, Brožová K. Hypoglycemia Communication in Primary Care. *J Gen Intern Med.* 2021 Aug;36(8):2473. doi: 10.1007/s11606-021-06907-1. Epub 2021 May 19. PMID: 34013469; PMCID: PMC8342732. IF 5,128 (Q1)
4. Brož J, Brožová K. Hypoglycemia as a medication-related harm identified in patients admitted to geriatric wards. *Pol Arch Intern Med.* 2021 Mar 30;131(3):313. doi: 10.20452/pamw.15905. Epub 2021 Mar 30. PMID: 33783175. IF 3,277
5. Brož J, Brožová K. Impaired awareness of hypoglycemia in a study protocol. *Res Social Adm Pharm.* 2021 Oct;17(10):1847. doi: 10.1016/j.sapharm.2021.02.004. Epub 2021 Feb 7. PMID: 33579612. IF 2,8

V recenzním řízení:

1. Malinovská J, Brožová K, Koberová L, Bořilová P, Brož J. Hypoglycemia in diabetes mellitus patients with liver insufficiency – a systematic review. *J Gen Int Med*
2. Urbanová J, Frier MB, Taniwall A, Brožová K, Malinovská J, Chandel A, Brož J. Optimal carbohydrate dose for treatment of non-severe hypoglycemia: a systematic review. *Canadian J Diab*

Kapitola v monografii:

1. Klempíř J, Brožová K, Höschleová N. Výživa v Neurologii. In Kohout P. *Klinická výživa*, 944 str., Praha, 2021, ISBN 978-80-7492-555-9

Připravují se další dvě publikace.

---

## **6. Retrospektivní analýza korelace klinických dat s nálezy na MRI a výsledky neuropatologického vyšetření mozku**

Řešitel: doc. MUDr. Robert Rusina, Ph.D.

Složení realizačního týmu: prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph. D., Mgr. Radoslava Bajtošová, MUDr. Jiří Keller, Ph.D. (externí spolupráce), Jana Maxová (organizační zajištění)

Rok zahájení: 2019

### Cíl projektu:

Korelace mezi detailním neuropatologickým vyšetřením mozku pacientů, klinickou a kognitivní manifestací a MRI obrazy „klasických“ neurodegenerativních onemocnění (frontotemporální demence, Alzheimerova nemoc, Creutzfeldtova-Jakobova nemoc, demence s Lewyho tělísky) – a nových entit: ARTAG, PART i komorbidity (současný výskyt dvou a více neurodegenerativních onemocnění u téhož pacienta).

### Postup prací v roce 2021:

- dokončení sběru dat v prvním pololetí 2021
  - provedena retrospektivní analýza klinického nálezu (strukturované neurologické vyšetření), výsledků vyšetřování baterií standardizovaných neuropsychologických testů, a MRI dat podle jednotného diagnostického protokolu
  - shrnuta analýza nálezů standardizovaného neuropatologického vyšetření s imunohistochemickým průkazem specifických proteinových depozit neurodegenerací.
1. zhodnocení volumetrické analýzy vybraných oblastí (ROI, region of interest) a semikvantitativního hodnocení neuronální ztráty (numerické atrofie) těchto oblastí a dokončení publikačních výstupů.

### Splnění hlavních cílů projektu:

#### **[1] zlepšení identifikace pacientů s neurodegenerativní demencí na základě klinických symptomů a MRI obrazu (fokální atrofie na MRI s volumetrií, signálové změny):**

- splněno
- 2. prvně publikován přehled klinických a MR nálezů u vzácného dědičného prionového onemocnění: Gerstmannova-Sträusslerova-Scheinerova syndromu [Tesař et al., 2019]
- 3. publikovány kazuistiky neurodegenerativních onemocnění s detailním rozбором MR obrazu [Rusina et al., 2021; Taborsky et al., 2022]

#### **[2] analyzovat klinický korelát nových jednotek – ARTAG, PART, GGT**

- splněno
- prvně publikován MR obraz u nové tauopatie GGT (globulární gliální tauopatie) [Keller et al., 2022]
- publikován případ GGT manifestující se jako progresivní afázie

#### **[3] zhodnotit klinické manifestace neurodegenerativních komorbidit**

- splněno

- publikovány neuropatologické nálezy u pacientů s Creutzfeldtovou-Jakobovou nemocí včetně komorbidních neuropatologií [Parobková et al., 2020; Jankovská et al., 2021]
- publikovány likvorové nálezy u různých post mortem potvrzených neurodegenerací [Brůžová et al., 2021]
- publikováno přehledné sdělení komorbidit u Alzheimerovy nemoci s rozбором literatury [Matěj et al., 2019]

#### Seznam publikací:

1. **Rusina R\***, Matěj R, Cséfalvay Zs, Keller J, Franková V, Vyhnálek M. Frontotemporální demence. *Cesk Slov Neurol N* 2021; 84/117(1): 9–29. doi: 10.14735/amcsnn20209. (IF 0,35; 4Q)
2. Jankovska N, **Rusina R**, Bruzova M, Parobkova E, Olejar T, Matej R. Human Prion Disorders: Review of the Current Literature and a Twenty-Year Experience of the National Surveillance Center in the Czech Republic. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(10):1821. doi: 10.3390/diagnostics11101821. (IF 3,706; 2Q)
3. Keller J, Kavkova A, Matej R, Cséfalvay Z, **Rusina R\***. Corpus callosum hypersignals and focal atrophy: Neuroimaging findings in globular glial tauopathy type I. *Eur J Neurol*. 2022;29(1):324-328. doi: 10.1111/ene.15090. (IF 6,089; 1Q)
4. Malá E, Matějová K, Olejář T, Matěj R, Pavličko A, Sobek O, **Rusina R\***. Unexpected infiltration of meninges by generalised diffuse large B-cell lymphoma manifesting as multiple cranial neuropathies in a patient with history of breast carcinoma. *Neurol Neurochir Pol*. 2021;55(5):499-501. doi: 10.5603/PJNNS.a2021.0049. (IF 1,621; 4Q)
5. **Rusina R\***, Krajcovicova L, Srpova B, Matej R. Metastatic intracranial spread of adenocarcinoma mimicking Creutzfeldt-Jakob disease in two cases. *Rev Neurol (Paris)*. 2021;177(8):1006-1008. doi: 10.1016/j.neurol.2020.12.009. (IF 2,607; 3Q)
6. Bruzova M, **Rusina R**, Stejskalova Z, Matej R. Autopsy-diagnosed neurodegenerative dementia cases support the use of cerebrospinal fluid protein biomarkers in the diagnostic work-up. *Sci Rep*. 2021; 11(1):10837. doi: 10.1038/s41598-021-90366-5. (IF 4,38; 1Q)
7. **Rusina R\***, Vandenberghe R, Bruffaerts R. Cognitive and Behavioral Manifestations in ALS: Beyond Motor System Involvement. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(4):624. doi: 10.3390/diagnostics11040624. (IF 3,706; 2Q)
8. Taborsky J, Matej R, Vlaskova H, Keller J, Johanidesova S, **Rusina R.\*** Autopsy confirmed CADASIL with the c.1490C>T (p.S497L) variant of uncertain causal significance. *Neurol Sci*. 2022 (*in press*).

---

## **7. Simultánní histologické zobrazení neurodegenerativních komorbidit pomocí fluorescenční a vícekanálové konfokální mikroskopie**

Řešitel: MUDr. Tomáš Olejář, Ph.D.

Členové týmu: prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D., Mgr. Alena Poláková,

Rok zahájení projektu: 2017

### Cíle projektu:

Cílem navrhovaného projektu bylo zavedení vícekanálové fluorescenční konfokální mikroskopie do rutinní vědecko-výzkumné praxe pracoviště tak, aby bylo možné vyšetřit paralelní expresi jednotlivých patologicky střídaných proteinů v případě neurodegenerativní komorbidity. Po zavedení metodiky bylo možno analyzovat případy koexprese agregátů patogenních proteinů u „překryvů“ více neurodegenerativních onemocnění.

### Provedené práce:

- 1) byly analyzovány rozdíly neuritických senilních plak a frekvence neuritických senilních plak s bulbózními změnami v archikortexu a neokortexu 14-ti pacientů Alzheimerovou chorobou (AD), 10-ti pacientů s „Lewy body“ variantou AD (AD/DLB) a 4 pacientů AD ve variantě s „amygdala Lewy bodies“ (AD/ALB).
- 2) byly analyzovány koagregáty amyloidu beta a patologického prionového proteinu v mozcích 20-ti pacientů s AD v komorbiditě se sporadickou formou Creutzfeldt-Jakobovy nemoci.
- 3) byly analyzovány agregáty patologického prionového proteinu ve vztahu k dalším imunofluorescenčním markerům neurodegenerace v mozcích 9-ti pacientů s Gerstmann-Sträussler-Scheinkerovým syndromem (GSS).

### Výsledky:

- 1) Byl prokázán zásadní rozdíl v morfologii a kompozici neokortikálních a archikortikálních neuritických senilních plak a současně, že bulbózní neuritické senilní plaky jsou častěji pozorovány u AD v komorbiditách (AD/DLB a AD/ALB), než v případech čisté formy AD, *vide publikovaný výstup č. 1.*
- 2) Byla prokázána koexprese patologického prionového proteinu zejména v oblastech fibrilárního amyloidu beta na periférii senilních plak a naopak méně v jejich centrálních kompaktních částech u pacientů s AD v komorbiditě se sporadickou formou Creutzfeldt-Jakobovy nemoci, *vide publikovaný výstup č. 2.*
- 3) Bylo prokázáno, že až na výjimky jsou prionové plaky u GSS inertní a nevyvolávají reaktivní neuritické změny a ani koexprese s amyloidem beta u nich většinou není pozorována, *vide publikovaný výstup č. 3.*

Publikované výstupy v impaktovaných časopisech s dedikací „Supported by Ministry of Health, Czech Republic – conceptual development of research organization (Thomayer hospital - TH, 00064190)“:

1. Jankovska N, Olejar T, Kukul J, Matej R. Different Morphology of Neuritic Plaques in the Archicortex of Alzheimer's Disease with Comorbid Synucleinopathy: A Pilot Study. *Curr Alzheimer Res.* 2020;17(10):948-958. doi: 10.2174/1875692117999201215162043. PMID: 33327912. IF=3,498 **Q2/2020**
2. Jankovska N, Olejar T, Matej R. Extracellular Protein Aggregates Colocalization and Neuronal Dystrophy in Comorbid Alzheimer's and Creutzfeldt-Jakob Disease: A Micromorphological Pilot Study on 20 Brains. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 20;22(4):2099. doi: 10.3390/ijms22042099. PMID: 33672582; PMCID: PMC7924045. IF=5,924 **Q1/2020**
3. Jankovska N, Matej R, Olejar T. Extracellular Prion Protein Aggregates in Nine Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrome Subjects with Mutation P102L: A Micromorphological Study and Comparison with Literature Data. *Int J Mol Sci.* 2021

## 8. *Prevalence a imunogenita SARS-COV-2 u dětí*

Hlavní řešitel: MUDr. Markéta Bloomfield (PK 1.LF UK a FTN)

Spoluřešitelé: MUDr. Iva Pospíšilová (OKB FTN), MUDr. Tamara Čábelová (PK 1.LF UK a FTN), Jana Korbelařová (PK 1.LF UK a FTN), Eva Hessová (PK 1.LF UK a FTN),

Datum zahájení: 2020

### Cíle projektu:

- A) Stanovení seroprevalence a distribuce anti-SARS-CoV-2 protilátek jako marker proběhlé infekce COVID-19 u dětí ve věku 0-18 let v jednotlivých fázích pandemie s ohledem na demografické a individuální parametry. Analýza časové dynamiky získaných dat.
- B) Získání vyselektované kohorty dětí, které infekci COVID-19 v době vyšetření již prodělaly, a provedení návazných prací, např. vyšetření specifických parametrů SARS-CoV-2 buněčné imunity pomocí interferon gamma-release eseje (IGRA), ve spolupráci s externími pracovišti výzkum imunitních parametrů u pacientů se závažným průběhem COVID-19.
- C) Aktivní zapojení personálu PK FTN do výzkumného projektu s mezioborovým a meziinstitucionálním přesahem, prohlubování propojení výzkumné činnosti s rutinním klinickým provozem pracoviště pro budoucí výzkumnou práci, prezentace FTN jako instituce aktivně se podílející na výzkumu celosvětově aktuálního problému

### Postup prací/metodika:

V 1. roce studie bylo zařazeno do studie 200 dětských pacientů vyšetřených na Pediatrické klinice FTN, u nichž byl z jiného důvodu indikován odběr žilní krve. Ve 2. roce studie bylo rovněž vyšetřeno 200 pacientů za identických kautel na přítomnost anti-SARS-CoV-2 protilátek a u seropozitivních pacientů byla stanovena virus-specifická (S1-spike protein) T buněčná odpověď pomocí IGRA.

Protilátky byly stanovovány pomocí testů ECLIA (Roche) a/nebo ELISA testy IgG a IgA (Euroimmun).

Buněčná imunita byla stanovována komerčním kitem IFN- $\gamma$  release assay (EUROIMMUN SARS-CoV-2 IGRA, Germany).

### Výsledky:

Celková seroprevalence SARS-CoV-2 protilátek v první fázi studie (červenec-srpen 2020) se ve studované pediatrické populaci po zohlednění senzitivity použitých metod pohybovala mezi 0 a 0,5 %. Detailní výsledky byly publikovány v mezinárodním recenzovaném časopise s impaktním faktorem.

V druhé části studie (červen-říjen 2021) bylo v souboru 200 dětí nalezeno 61 seropozitivních osob (30 %), z toho 73 % dětí mělo pozitivní IGRA. V současné době probíhá statistické zpracování demografických dat a studovaných korelací, které jsou připravovány k publikaci pro národní recenzované periodikum.



Do řešení této hlavní části projektu IP se aktivně zapojila většina zdravotníků PK FTN.

Zkušenost s vyšetřením protilátek a IGRA se dále promítla do meziinstitucionální spolupráce týkající se stanovení imunitní odpovědi na SARS-CoV-2 antigeny u pacientů s vrozenou poruchou imunity (*STAT1 gain-of-function*), vyústující v publikaci v mezinárodním recenzovaném časopise s impaktním faktorem.

Vedlejším výstupem je zařazení dětských pacientů PK FTN se závažným imunogeneticky podmíněným postkovidovým syndromem, tzv. PIMS-TS, a/nebo kontrolní kohorty pacientů po verifikovaném prodělání COVID-19 s mírným průběhem do probíhajících národních (ve spolupráci s fakulními nemocnicemi ČR, Ústavem imunologie a KDHO FN Motol) a mezinárodních multicentrických (ve spolupráci m.j. s Imperial College of London, The Rockefeller University, New York, University of Paris a dalšími) výzkumných aktivit týkající se epidemiologie a imunopatogeneze PIMS-TS a mezinárodního registru pacientů s tímto onemocněním.

#### Výstupy s dedikací RVO:

1. Bloomfield M, Pospisilova I, Cabelova T, Šediva A, Ibrahimova M, Borecka K, Magner M. Searching for COVID-19 Antibodies in Czech Children-A Needle in the Haystack. *Front Pediatr.* 2020;8:597736. doi: 10.3389/fped.2020.597736. **(IF 3,418; 1Q)**
2. Bloomfield M, Parackova Z, Hanzlikova J, Lastovicka J, Sediva A. Immunogenicity and Safety of COVID-19 mRNA Vaccine in STAT1 GOF Patients. *J Clin Immunol.* 2021 Oct 31. doi: 10.1007/s10875-021-01163-8 **(IF 8,317; 1Q)**
3. V přípravě: Cabelova T, Bloomfield M, et al. Séroprevalence SARS-COV-2 a specifická buněčná imunita u 200 pražských dětí v průběhu 3. vlny pandemie COVID-19

#### Prezentace na kongresech a odborných akcích:

1. "Cytometric findings uncover immunological changes in children with rare complications after SARS-CoV-2 infection" 11<sup>th</sup> International Conference Analytical Cytometry CSAC, Ostrava, 2021
2. „STAT1 GOF vs. COVID-19“ ESID School of Immunodeficiency, Kutná Hora, Czech Republic, 2021 (přednáška v rozsahu publikace č.2)
3. "Covid-19 in children: managing MIS-C " ESID Grand Rounds Webinar, online, June 2021

#### Národní a mezinárodní spolupráce (bez dedikace RVO):

*Vanessa Sancho-Shimizu et al. SARS-CoV-2-related MIS-C: A key to the viral and genetic causes of Kawasaki disease? J Exp Med 7 June 2021; 218 (6): e20210446.*

*David et al. Nationwide observational study of paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 (PIMS-TS) in the Czech Republic. V recenzním řízení v časopise Paediatric and Perinatal Epidemiology.*

*HyperPED COVID Registry – mezinárodní registr PIMS-TS pacientů pod záštitou společností PReS, ESID, ISSAID, ERN-RITA aPRINTO*

**9. *Následky infekce COVID-19 na kardiovaskulární systém (Studie Cartesian) – projekt předčasně ukončen z důvodu ukončení pracovního poměru hlavního řešitele***

Řešitel: MUDr. Peter Wohlfahrt, PhD.

Rok zahájení projektu: 2017

***Projekt byl předčasně ukončen z důvodu ukončení pracovního poměru hlavního řešitele***

Cíle projektu:

Hlavním cílem projektu bylo objektivizovat vlastnosti velkých tepen, centrální hemodynamiky, a změn v myokardu u pacientů hospitalizovaných ve Fakultní Thomayerovi nemocnici pro proběhlou infekcí COVID-19. Studie je součástí mezinárodní multicentrické studie CARTESIAN.

Postup prací:

- V průběhu roku 2021 jsme vyšetřili celkem 41 pacientů v časovém odstupu 3-6 měsíců po prodělané infekci COVID19

Výsledky: Parametry vlastností velkých tepen a centrální hemodynamiky jsme nahráli do centrální databáze studie CARTESIAN. V současné době je v databázi studie více než 2000 pacientů. V přípravě je článek, součástí kterého budou i údaje z ČR.

Výstupy:

Vzhledem k předčasnému ukončení projektu žádné.

## Projekty pokračující v roce 2022

	Název projektu	Řešitel	Od	Typ projektu
<b>Pokračující projekty soutěžní</b>				
10	Vybrané parametry zánětlivé a imunitní odpovědi pacientů s těžkou komunitní pneumonií (sCAP) ve vztahu ke specifickým patogenům CAP a možnostem predikce tíže klinického průběhu onemocnění	MUDr. Michal Moravec	2020	Interní soutěž, víceletý
11	Cytometrická imunodiagnostika latentní M.tuberculosis infekce (LTBI) a vlivu očkování M.bovis (BCG) – pilotní studie	Prof.MUDr. Martina Koziar Vašáková, Ph.D.	2020	Interní soutěž, víceletý
12	Zpřesnění diagnostiky neurodegenerativních onemocnění stanovením fyziologických norem proteinových biomarkerů v mozkomíšním moku a zavedením dalších vyšetření.	Ing. Magdalena Brůžová (Smětáková)	2020	Interní soutěž, víceletý
13	Využití amplikonového sekvenování k profilování genů zodpovědných za neurodegenerativní onemocnění metodou NGS (sekvenování nové generace)	MUDr. Nikol Jankovská	2020	Interní soutěž, víceletý
14	Prognostický význam primárních řasinek ve vztahu k vybraným parametrům nádorového mikroprostředí karcinomu endometria	MUDr. Blanka Rosová	2020	Interní soutěž, víceletý
15	Molekulární aberace u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem, jejich sledování během léčby a potenciální klinické využití	MUDr. Ludmila Boublíková, Ph.D.	2020	Interní soutěž, víceletý
16	Klinická snášenlivost radioterapie u heterozygotů radiosenzitivních syndromů	MUDr. Radka Lohynská, Ph.D.	2020	Interní soutěž, víceletý
17	Komplexní řešení nestabilního poranění distálního radia u dětí	MUDr. Lucián Začko	2020	Interní soutěž, víceletý
18	Vztah mezi výskytem benigních fascikulací, fenotypem pacienta a mutace v SMN 1 genu	MUDr. Petr Ridzoň	2020	Interní soutěž, víceletý
19	Kognitivní a emoční profil u dětí ve věku 3-10 let vystavených násilí a dalším traumatickým zkušenostem	PhDr. Markéta Hrdličková, PhD.	2020	Interní soutěž, víceletý

20	Nové laboratorní přístupy identifikace endogenních a exogenních spouštěčů intersticiálních plicních procesů	Mgr. Pavel Sojka	2020	Interní soutěž, víceletý
21	Porovnání komplikací a komfortu u PICC katétrů zavedených z různých žilních přístupů	MUDr. Oliver Kuchař	2020	Interní soutěž, víceletý
22	Vyšetření tělesného složení u pacientů s IBD na biologické léčbě metodami bioimpedance a kostní denzitometrie	MUDr. Natálie Friedová	2020	Interní soutěž, víceletý
23	Využití a význam hybridních zobrazovacích metod (PET-CT) v onkologii hlavy a krku	MUDr. Zuzana Krátká	2020	Interní soutěž, víceletý
24	Prevalence protilátek SARS-Cov-2 u zaměstnanců Thomayerovy nemocnice	MUDr. Klára Bořecká/ RNDr. Markéta Ibrahimová, Ph.D.	2020	Interní soutěž, víceletý
25	Analýza mutací a polymorfismů DPYD u pacientů v FTN léčených protinádorovou chemoterapií s 5-fluorouracilem	Ing. Hana Šulcová	2021	Interní soutěž, víceletý
26	Analýza genových interakcí v neurodegeneracích prostřednictvím sítivé biologie	RNDr. Eva Parobková	2021	Interní soutěž, víceletý
27	Interakce exokrinního a endokrinního pankreatu a autokrinní, parakrinní a endokrinní úloha pankreatického trypsinu prostřednictvím "proteinase-activated receptors-2" (PAR-2) za různých patologických stavů	MUDr. Petr Šuhaj	2021	Interní soutěž, víceletý
28	Renální komplikace u pediatrických pacientů s nespécifickými střevními záněty	MUDr. Lucie Gonsorčíková, Ph.D.	2021	Interní soutěž, víceletý
29	Nové metody léčby COVID-19	MUDr. Lucie Hoznauerová	2021	Interní soutěž, víceletý
30	Komplexní intenzivní rehabilitační program v rámci následné péče lidí po cévní mozkové příhodě	doc. PhDr. Kamila Řasová, PhD.	2021	Interní soutěž, víceletý
31	Hodnocení rutinných a experimentálních biomarkerů kardiotoxicity po radioterapii levostranných karcinomů prsu	MUDr. Eva Mazaná	2021	Interní soutěž, víceletý

32	Molekulární monitoring pacientů s pokročilými testikulárními germinálními nádory a jeho potenciální význam pro klinickou praxi	doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D.	2021	Interní soutěž, víceletý
----	--	---------------------------------------	------	-----------------------------

## Průběžné zprávy pokračujících projektů

### **10. Vybrané parametry zánětlivé a imunitní odpovědi pacientů s těžkou komunitní pneumonií (sCAP) ve vztahu ke specifickým patogenům CAP a možnostem predikce tíže klinického průběhu onemocnění**

Řešitel: MUDr. Michal Moravec

Řešitelský tým: MUDr. Michal Moravec, doc. MUDr. Roman Zazula, PhD., MUDr. Martin Muller, MUDr. Jan Moravec, MUDr. Tomáš Nejtek, 4 x SZP

Rok zahájení 2020

#### Cíle projektu:

Stanovit, jakou výpovědní hodnotu pro predikci tíže a průběhu sCAP mají nově navržené zánětlivé metabolity – MRproADM, kyselina myristová, kyselina palmitová - a porovnat jejich přínos ve studii se standardně používanými biomarkery zánětu. Rozšířit běžně užívané parametry imunity o komplexnější imunologická vyšetření – průtoková cytometrie se stanovením Th17 v BALu a seru, IL-17 v BALu a seru a plasmatických imunoglobulinů a zároveň sledováním mechanismů imunitní odpovědi významných pro plicní zánět a infekci zhodnotit jejich korelaci s daným infekčním agens CAP a klinickým průběhem nemoci.

#### Průběh projektu 2021:

Pokračuje nábor pacientů do studie, od zahájení projektu zařazeno 57 pacientů. Sběr a dokumentace dat dle protokolu studie, průběžně probíhá analytická část studie (stanovení hladin sledovaných zánětlivých a imunitních parametrů)

#### Plán na rok 2022:

Dokončit nábor pacientů a uzavřít soubor se zpracováním výsledků a statistickými výstupy. U experimentálních parametrů vytvořit kontrolní skupinu s odběrem a analýzou sledovaného parametru. Publikovat výsledky v odborném recenzovaném nebo IF periodiku.

#### Publikace s impact faktorem

1. Džupová O, **Moravec M**, Bartoš H, Brestovanský P, Tencer T, Hyánek T, Beroušek J, Krupková Z, Mošna F, Vymazal T, Beneš J. COVID-19 severe pneumonia: Prospective multicentre study on demands on intensive care capacities. Cent Eur J Public Health. 2021 Mar;29(1):3-8. doi: 10.21101/cejph.a6672. (IF 1,163; 4Q)
2. Zazula R, **Moravec M**, Pehal F, Nejtek T, Protuš M, Müller M. Myristic Acid Serum Levels and Their Significance for Diagnosis of Systemic Inflammatory Response, Sepsis, and Bacteraemia. J Pers Med. 2021 Apr 16;11(4):306. doi: 10.3390/jpm11040306. PMID: 33923419; PMCID: PMC8074080. (IF 4,945; 1Q)

Dva řešitelé projektu – M. Moravec a T. Nejtek jsou studenty doktorandských programů a J. Moravec zahájí doktorandské studium v tomto roce. Dílčí výsledky projektu budou součástí publikačních výstupů u všech tří doktorandů.

## **11. Cytometrická imunodiagnostika latentní *M.tuberculosis* infekce (LTBI) a vlivu očkování *M.bovis* (BCG) – pilotní studie**

### Účastníci projektu:

Klinická pracoviště:

Pneumologická klinika 1. LF UK a FTN: prof. MUDr. Martina Koziar Vašáková, Ph. D.; MUDr.

Emília Kopecká; MUDr. Mariya Sukholytka;

Pediatrická klinika 1. LF UK a FTN: MUDr. Karolína Doležalová; MUDr. Luboš Bača

Imunologické oddělení FTN: RNDr. Markéta Ibrahimová, Ph. D.

Experimentální pracoviště:

Přírodovědecká fakulta UK: RNDr. Karel Drbal, Ph.D.; Mgr. Petra Hadlová

Rok zahájení 2020

### Cíle projektu:

Cílem projektu je stanovení je zkoumání nových metod detekce latentní tuberkulózní infekce (LTBI), které by lépe odlišily od sebe pacienty s postinfekční a postvakcinační imunitní odpovědí a ty, kteří jsou v riziku progresu do aktivní tuberkulózy či tuberkulózu již mají. Současné metody detekce LTBI založené na uvolňování interferonu gama nedokážou tyto stavy odlišit. Možnou cestou vývoje jsou cytometrické metody vhodné pro diagnostiku TB, cílící nejen na T-buněčnou reaktivitu. Naší ambicí je právě aplikace komplexního *in vitro* aktivačního testu, který bude identifikovat funkční stav více populací během času, kdy budou prováděné odběry vybraných pacientů.

### Metodika:

Plánujeme ověřit stávající cytometrický panel detekčních protilátek na širším panelu stimulujících imunodominantních antigenů pro CD4+ a CD8+ T-buňky v kombinaci s adjuvans<sup>2</sup> v *in vitro* aktivačním testu. Tyto antigeny byly již publikované nebo vycházejí z nových sekvenčních dat *Mycobacterium* spp. izolovaných ze vzorků TB pacientů. Cílem studie je experimentální průkaz optimálního souboru adjuvans a antigenů pro minimalizaci pozadí a maximalizaci citlivosti testu. Rozšířením stávajícího panelu antigenů (většina zatím nebyla publikovaná) v kombinaci s vhodnými adjuvans budeme schopni zachytit jak méně frekventované klony T buněk, tak i populace aktivovaných makrofágů/monocytů, NK buněk a ILT buněk, které příčinně souvisí s dynamikou vztahu hostitele a patogenů během vývoje TB onemocnění. Navržený cytometrický bude porovnáván se současným diagnostickým standardem typu IGRA („Interferon gamma release assay“) a tuberkulinovým kožním (Mantoux) testem (TST). Cytometrický test je konstruovaný tak, aby byl následně proveditelný v běžně vybavené klinické imunologické laboratoři na standardním 8-barevném cytometru, nicméně to již mimo rámec dvouletého projektu.

### Stav řešení cílů v roce 2020:

1. Pilotní studie před aplikací následných národních (AZV projekt) a evropských projektů (Horizon Europe)  
*Částečně provedeno: aplikace projektu START (Bc. Petra Hadlová) – interní projekt UK.*
2. Vytvoření základu registru testovaných LTBI jedinců v ČR v příštích dvou letech  
*Ve spolupráci s MUDr. Wallenfelsem již připravováno pro implementaci ve spolupráci s MZČR*
3. 1 publikace v mezinárodním vědeckém periodiku a 1 přehledový článek v českém klinickém periodiku o stavu diagnostiky TB  
*V prvním roce neprovedeno.*

### Detailní rozbor:

- Klinická relevance srovnání stávajících testů QFT-GP/TST a nové cytometrické metodiky  
*Zatím neprovedeno – bylo nutné vyměnit QFT test za nový produkt (říjen 2020), vzhledem k tomu, že metodika QFT neumožňovala využít tytéž buňky včas po provedení testu – bude provedeno souhrnně v průběhu 2. roku studie – zde změna metodiky.*
- Klinická a prognostická data pro komparativní analýzu  
*Provedeno: byla vytvořena sdílená anonymizovaná databáze mezi oběma pracovišti.*
- Biobanka zamražených viabilních buněk z celé krve  
*Provedeno: biobanka v -150 °C je průběžně doplňovaná novými odběry, se zpožděním.*
- Buněčně-orientovaná definice biomarkerů LTBI pro další studie  
*Provedeno: dle bioinformatické analýzy byl proveden nákup nových protilátek pro cytometrické experimentální stanovení v odebraných vzorcích – viz příložená data.*
- Ověření stávajícího cytometrického panelu detekčních protilátek na širším panelu stimulujících imunodominantních antigenů pro CD4+ a CD8+ T-buňky  
*Částečně provedeno: v důsledku zpoždění odběrů v prvním roce nebyl začleněn širší panel peptidů.*
- Porovnání se současným diagnostickým standardem typu IGRA („Interferon gamma release assay“) a tuberkulinovým kožním (Mantoux) testem (TST)  
*Neprovedeno: omezené množství dat / odběrů – bude v druhém roce doplněné a uzavřené.*

Navíc: Aplikace projektu – studie – do Clinicaltrials.gov: ClinicalTrials.gov Identifier: [NCT04673227](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04673227), Thomayer Hospital Protocol Record Thomayer H, Cytometric Immunodiagnosics of Latent Tuberculosis Infection (LTBI)

### Plán na rok 2021:

- Naplnění biobanky do plánovaného počtu 120 vzorků – vzhledem k trvající pandemii je cíl ale velmi problematický
- Cytometrická nesupervizovaná analýza na všech vzorcích
- Doplnění klinických dat do databáze
- Provedení korelace klinických a cytometrických dat a statistického vyhodnocení



- Presentace výsledků na konferenci ČPFS a SPFS v červnu t.r.
- Dokončení prací na zavedení LTBI registru ve spolupráci s MUDr. Jiřím Wallenfelsem a MZČR
- Příprava publikace a přehledového článku

#### Stav řešení projektu ke konci roku 2021:

Předčasným ukončením PhD studia Mgr. Hadlové v daném tématu došlo bohužel k zastavení experimentální části práce prováděné na PŘFUK. Bývalý školitel Mgr Hadlové, RNDr. Karel Drbal již nebude analyzovat vzorky, které mají uskladněny na PŘFUK. Vzorky budou převezeny spolu s analytickými kity do FTN. Shrnujeme tedy níže klinickou část projektu a odběr vzorků. V projektu budeme nadále pokračovat a dokončíme i experimentální část ve FTN, v laboratoři RNDr Markéty Ibrahimové. RNDr. Karel Drbal bude již jen externím konzultantem.

#### Nábor pacientů do studie 2020/2021:

##### **Dospělí pacienti s tuberkulózou- Pneumologická klinika 1. LF UK a FTN**

celkem 20 pacientů zařazených do studie L TBI 2020/2021

##### 1.odběr:

9 pacientů: odebrány vzorky na Quantiferon a odesláno do Citylabu (36 zkumavek), na PŘFUK odesláno 27 vzorků.

11 pacientů: 1 zkumavka Quantiferon prim. Ibrahimová, tj. celkem 11 zkumavek a na PŘFUK odesláno 44 zkumavek.

2. odběr: přišlo jen 17 pacientů: 51 zkumavek na fakultu PŘFUK

3. odběr: přišlo jen 14 pacientů: 42 zkumavek na fakultu PŘFUK

##### **Dětsí pacienti s TB a LTBI: Pediatrická klinika 1.LF UK a FTN.**

Do studie jsme po dobu jejího trvání zařadili 26 dětí. 2 děti jsme ze studie vyřadili pro špatné označení zkumavek a možnou záměnu vzorků. 25 dětí mělo posláno kontrolní odběr – T3, pouze dvě děti měly odběr po 6 měsících – T6. Od léta 2021 jsme po dohodě s PŘFUK nerekrutovali nové pacienty.

I přes nebývale vysoký počet aktivních TBC za rok 21 na dětském oddělení (14) máme ve skupině aktivní TBC nabráno jen 6 dětí, opět po domluvě s PŘFUK. Jedna z nich má zatím jen vstupní odběr – T3 by bylo možno nabrat v příštím týdnu, pokud by byl zájem vzorek zpracovat. Kompletní evidenci dětských pacientů do databáze zařadil dr. Bača.

#### Výstupy: Publikace s odkazem na IP:

1. Karolína Doležalová, Dana Göpfertová. Ten Years' Experience with the Discontinuation of the Bacillus Calmette–Guérin Vaccination in the Czech Republic. *Int J Mycobacteriol.* 2021 Apr-Jun;10(2):193-198. doi: 10.4103/ijmy.ijmy\_85\_21
2. DOLEŽALOVÁ, Karolína — KOBLÍŽEK, Vladimír — POHUNEK, Petr — VAŠÁKOVÁ, Martina. Doporučený postup pro vyšetření a léčbu dětských kontaktů s tuberkulózou. *Studia pneumologica et phtiseologica*, 2021, roč. 81, č. 1, s. 5-9. ISSN: 1213-810X.

Projekt byl představen v rámci 19. konference dětské pneumologie dne 10.4.2021, které předsedala MUDr. Karolína Doležalová.

## Plánované pokračování projektu 2022

Optimalizace cytometrického stanovení latentní M. tuberculosis (LTBI) u dětí a dospělých pro klinické použití.

Cílem bude optimalizovat a validovat test na detekci intracelulárních cytokinů pomocí průtokového cytometru. Jednalo by se v prvním kroku o kvantifikaci především interferonu-gama (IFN-g), případně IL-4, IL-17A. Jedná se o cytokiny produkované CD4+ T lymfocyty po stimulaci příslušnými antigeny. Již po poměrně krátké stimulaci produkují IFN-g pouze paměťové/efektorové T lymfocyty a pomocí průtokové cytometrie je lze kvantifikovat. V druhém kroku bude panel cytokinů rozšířen o TNF-alfa a IL-2. Výsledná metodika bude přizpůsobena pro rutinní klinické použití.

### Metodika

Kohorty zůstávají shodné, tj. kontrolní kohorta a TB kohorta. Vyšetřeny budou jak zamražené vzorky převezené z laboratoře dr. Drbala, tak i další vzorky z čerstvé periferní krve z nově zařazených pacientů.

Antigeny: Bude použita směs těchto antigenních peptidů: ESAT-6 (early secreted antigenic target-6), CFP-10 (culture filtrate protein-10) a TB7.7 (odpovídající Rv2654) z komerčního kitu QuantiFERON-TB Gold Plus. Negativní kontrola představuje nestimulované, neovlivněné buňky, pozitivní kontrolou jsou buňky stimulované PMA/ionomycinem.

Stimulace plné krve směsí antigenních peptidů a Brefeldinu A. Fixace stimulované krve. Promytí. Permeabilizace, povrchové a intracelulární značení. Promytí. Měření a sběr dat.

Optimalizace průtokové cytometrie. V prvním kroku využijeme IF T Helper Cell kit (CD3, CD4, IFN-g, IL-17A, IL-4) používaný v imunologické laboratoři. V druhém kroku IF Activation kit (CD3, CD4, CD8, IFN-g, TNF-a, IL-2) s možností přidání další intracelulárních i povrchových markerů.

---

## **12. Zpřesnění diagnostiky neurodegenerativních onemocnění stanovením fyziologických norem proteinových biomarkerů v mozkomíšním moku a zavedením dalších vyšetření.**

Řešitelé: Ing. Magdalena Brůžová (Směťáková), prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D., doc. MUDr. Robert Rusina, Ph.D., doc. Ing. Jaromír Kukaň, Ph.D.

Rok zahájení: 2020

### Cíle projektu:

1) vytvoření fyziologických norem pro stanovované proteiny pro různé věkové skupiny – vzhledem k tomu, že požadavky na vyšetření neurodegenerativních markerů zahrnují pacienty stále mladší, je nutné stanovit fyziologické normy v co nejširším věkovém rozmezí

2) porovnání koncentrací proteinů u různých neurodegenerací pro možnou diferenciální diagnostiku 3) zavedení nové metody v laboratoři: především stanovení koncentrace A $\beta$ 40, dále pak stanovení koncentrací NfL, progranulinu a TDP-43

#### Postup prací:

- Úprava a vydání publikace porovnávací hladiny současných i nově navržených markerů u vybraných neurodegenerací.
- Náběry vzorků vzhledem k omezení provozu způsobené pandemií COVID-19 probíhají pomaleji, než bylo plánováno. Prozatím nebyl získán dostatečný počet vzorků pro statistickou analýzu.
- Statistické vyhodnocení dat získaných měřeními koncentrací p-tau původní a novou diagnostickou soupravou a posouzení vhodnosti pro rutinní diagnostiku.

#### Výsledky:

Vyšetření mozkomíšního moku ELISA metodou ukázalo, že přidání nově navrhovaných markerů, především TDP-43 a progranulinu (PGRN), do panelu pro vyšetření neurodegenerativních onemocnění, může být pro diferenciální diagnostiku neurodegenerací velmi přínosné. Hladina TDP-43 je u prionových onemocnění oproti ostatním onemocněním signifikantně snížena. Poměr TDP-43/A $\beta$ 42 je u AD signifikantně vyšší a může ji odlišit od ostatních neurodegenerací lépe než hladina A $\beta$ 42. Poměr PGRN/ttau je u FTLD-tau signifikantně vyšší než u ostatních onemocněních.

Zároveň byla porovnáním hladin t-tau, p-tau a A $\beta$ 42 verifikovány dříve publikované poznatky – snížená hladina A $\beta$ 42 u AD, vysoká hladina t-tau u CJD a zvýšená u AD, vyšší hladina p-tau u AD.

Na základě našich dat doporučujeme při podezření na CJD kromě vyšetření přítomnosti 14-3-3, jehož pozitivita je součástí diagnostických kritérií pro pravděpodobnou sporadickou formu CJD, doplnit též vyšetření h-tau. Specificita testu pro 14-3-3 je 75,7 %, pro kombinaci 14-3-3 a h-tau 94,6 %. Příslušné senzitivity se výrazně neliší: 86,3 % pro 14-3-3 a 82,5 % pro kombinaci 14-3-3 a h-tau.

Statistickým vyhodnocením dat koncentrace p-tau lze odvodit vzájemný vztah mezi hodnotami získanými oběma diagnostickými soupravami. Z důvodu sjednocení diagnostických souprav bude v rutinním provozu používána nová souprava.

V posledním roce sledujeme podstatný nárůst negativních výsledků přítomnosti 14-3-3 proteinu v CSF u později neuropatologicky potvrzených případů CJD. Zdá se, že aktuálně používaná protilátka není dostatečně citlivá a specificita testu se tím snižuje.

#### Plán na rok 2022:

- Pokračování náběrů pacientů s podezřením na neurodegeneraci – rozšíření kohorty pro výtěžnější statistické výpočty.
- Náběry kontrolních vzorků, jejich vyšetření a statistické vyhodnocení hladin jednotlivých markerů -> určení fyziologických norem pro naši laboratoř.
- Zpřesnění diagnostiky proteinu 14-3-3 u pacientů s podezřením na CJD použitím nové protilátky, popř. kombinací dvou protilátek proti různým podjednotkám 14-3-3 dříve detekovaným u pacientů z CJD.

#### Výstupy:

- BRUZOVA, M., et al. Autopsy-diagnosed neurodegenerative dementia cases support the use of cerebrospinal fluid protein biomarkers in the diagnostic work-up. Sci Rep. 2021 May 25;11(1):10837. doi: 10.1038/s41598-021-90366-5. PMID: 34035398; PMCID: PMC8149718. (IF 4,38; 1Q)

---

### **13. Zavedení ampikonového sekvenování za účelem profilování genů zodpovědných za neurodegenerativní onemocnění metodou NGS (sekvenování nové generace)**

Řešitelé: MUDr. Nikol Jankovská

Spoluřešitelé: RNDr. Eva Parobková Ph.D., prof. MUDr. R. Matěj, Ph.D.

Rok zahájení: 2020

#### Cíle projektu:

2. Navržení neuro-brain diseases (NBD) panelu obsahujícího minimálně 15 genů pro sekvenování nové generace (NGS).
3. Navržení primerů pro jednotlivé ampikony nesoucí adaptorovou sekvenci podle přímo zvolené sekvenační platformy.
4. Navržení multiplexového identifikátoru (MID) pro odlišení jednotlivých vzorků sekvenovaných dohromady v jednom běhu sekvenátoru.
5. Optimalizování PCR podmínek a příprava primermixů pro jednotlivé ampikony.
6. Vytvoření mixačního schématu pro všechny multiplex PCR pro finální sekvenování.

#### Cíle po zavedení a optimalizaci metody:

1. Analýza genů ovlivňujících patogenezu AD, PD, FTLD a ALS.
2. Analýza genů ovlivňujících patogenezu konkomitantních proteinopatií u pacientů s sCJD (tj. AD, PART, ARTAG) obsahujících jednak depozita patologického prionového proteinu, jednak A $\beta$  a patologického tau proteinu.
3. Analýza dosud neidentifikované susceptibility (ochranný faktor nebo protektivní alely), bránící v tvorbě dalších depozit v mozcích jedinců s prionopatií.
4. Určení frekvence minoritních alel (MAF  $\leq$ 1%) a vyloučení sdílené varianty (>5 pacientů) z důvodu nepravděpodobné patogenity.
5. Validace nalezených variant Sangerovým sekvenováním.

#### Postup prací:

- Většina vybraných vzorků byla zpracována a vyhodnocena, nicméně stále probíhá příjem nových případů.
- NGS panel byl optimalizován a je vyhovující pro potřeby laboratoře.

- Aktuálně probíhá příprava na validaci metody s optimálním počtem s nejméně 300 různými variantami ve vybraných genech.

#### Výsledky:

- Probíhá rozsáhlá bioinformatická analýza dat dle nastavených kritérií
- Za rok 2021 bylo realizováno 5 publikací v mezinárodních časopisech s impakt faktorem. Výsledky výzkumu byly navíc prezentovány na studentských vědeckých konferencích, národní i evropské konferenci patologů.
- Hodnocení genového pozadí u vybraných pacientů umožnilo úspěšně objasnit molekulárně genetické příčiny různých forem neurodegenerativních chorob. Identifikace kauzálních genů umožnila diagnostiku a prevenci onemocnění s využitím postupů preimplantační diagnostiky. Získaná souhrnná data tvoří základ české populační databáze variant pro efektivní analýzu. Získané zkušenosti umožnily ve spolupráci s neurologickou klinikou s analyzovat vzácné případy.

#### Výstupy za rok 2021:

##### Publikace:

1. Parobkova E, Matej R. Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degenerations: Similarities in Genetic Background. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Mar 13;11(3):509. doi: 10.3390/diagnostics11030509. (IF 3,706; 2Q)
2. Jankovska N, Matej R, Olejar T. Extracellular Prion Protein Aggregates in Nine Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrome Subjects with Mutation P102L: A Micromorphological Study and Comparison with Literature Data. *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 10;22(24):13303. doi: 10.3390/ijms222413303. (IF 5,924; 1Q)
3. Jankovska N, Rusina R, Bruzova M, Parobkova E, Olejar T, Matej R. Human Prion Disorders: Review of the Current Literature and a Twenty-Year Experience of the National Surveillance Center in the Czech Republic. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Oct 1;11(10):1821. doi: 10.3390/diagnostics11101821. (IF 3,706; 2Q)
4. Jankovska N, Matej R. Molecular Pathology of ALS: What We Currently Know and What Important Information Is Still Missing. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Jul 29;11(8):1365. doi: 10.3390/diagnostics11081365. (IF 3,706; 2Q)
5. Jankovska N, Olejar T, Matej R. Extracellular Protein Aggregates Colocalization and Neuronal Dystrophy in Comorbid Alzheimer's and Creutzfeldt-Jakob Disease: A Micromorphological Pilot Study on 20 Brains. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 20;22(4):2099. doi: 10.3390/ijms22042099. (IF 5,924; 1Q)

##### Přednášky, postery:

1. Nikol Jankovska, Tomas Olejar, Radoslav Matej . xtracellular Protein Aggregates Colocalization and Neuronal Dystrophy in Comorbid Alzheimer's and Creutzfeldt–Jakob Disease: A Micromorphological Pilot Study on 20 Brains. Studentská vědecká konference 3. LF UK, 25. 5. 2021, komentovaný poster.
2. Nikol Jankovska, Tomas Olejar, Radoslav Matej. Comorbid Alzheimer's and Creutzfeldt–Jakob Disease: Micromorphology of Colocalizing Extracellular Protein Aggregates Colocalization and Neuronal Dystrophy. 33. evropský kongres patologie, 29. 8. 2021, komentovaný poster.

3. Nikol Jankovska, Tomas Olejar, Radoslav Matej. Extracellular Protein Aggregates Colocalization and Neuronal Dystrophy in Comorbid Alzheimer's and Creutzfeldt–Jakob Disease: A Micromorphological Pilot Study on 20 Brains. 46. sjezd českých patologů s mezinárodní účastí, 25.-26. 11. 2021.
4. Nikol Jankovská, Robert Rusina, Jiří Keller, Jaromír Kukul, Magdalena Brůžová, Eva Parobková, Tomáš Olejář, Radoslav Matěj. A clinical-neuropathological retrospective study of 215 cases of Creutzfeldt–Jakobdisease found a surprisingly high number of comorbid neuropathologies. 46. sjezd českých patologů s mezinárodní účastí, 25.-26. 11. 2021.

#### Ocenění:

- Lamblova cena za nejlepší původní práci v oboru patologie publikovanou v předchozím roce členem Společnosti českých patologů ČLS JEP ve věku do 35 let za práci: Jankovska N, Olejar T, Matej R. Extracellular Amyloid Deposits in Alzheimer's and Creutzfeldt-Jakob Disease: Similar Behavior of Different Proteins? Int J Mol Sci. 2020 Dec 22;22(1):7. doi: 10.3390/ijms22010007.

---

#### **14. Prognostický význam primárních řasinek ve vztahu k vybraným parametrům nádorového mikroprostředí karcinomu endometria**

Řešitelský tým: MUDr. Blanka Rosová, Ústav patologie a molekulární medicíny, 3. LF UK a FTN, student 3. ročníku PGS na 1. LF UK; MUDr. Jakub Tůma, Gynekologicko-porodnického oddělení FTN; Mgr. Alena Poláková, Ústav patologie a molekulární medicíny, 3. LF UK a FTN  
Školitel: doc. MUDr. Josef Dvořák, Ph.D., Onkologická klinika, 1. LF UK a FTN

Rok zahájení: 2020

#### Cíle projektu:

Cílem projektu je nalezení korelace frekvence výskytu primárních řasinek a vybraných imunohistochemických parametrů (CD8+TIL, PD-1, PD-L1, proteinu Smoothed a beta-cateninu) v nádorovém mikroprostředí primárního karcinomu endometria ve vztahu ke známým klinickým a patologickým údajům. Dále plánujeme zhodnotit prognostický význam těchto parametrů a jejich vzájemných korelací.

#### Postup prací:

V uplynulém roce jsme z archivu Ústavu patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN vyšetřili dalších 34 případů (celkem tedy vyšetřeno 102 pacientek). U nich jsme imunohistochemicky a imunoflorescenčně vyšetřili všechny stanovené parametry, u 20 jsme sledované markery vyšetřili zároveň v kyretáži a hysterektomii. Klinická data jsme kompletovali průběžně po vyšetření případů.

#### Plán na rok 2022:

Plánem pro tento rok je imunohistochemické vyšetření proteinu Smoothened a kompletace klinických údajů u chybějících případů, zaměříme se zejména na data jako jsou doba do recidivy a celková doba přežití a statistické zhodnocení.

#### Seznam publikovaných výsledků, včetně publikací z předchozích grantů FTN:

##### Publikace:

1. Proks J, Rosova B, Filipova A, Hadzi Nikolov D, Chloupkova R, Richter I, Szabo A, Rozsypalova A, Matej R, Melichar B, Buchler T, Dvorak J. Favorable prognostic significance of membranous  $\beta$ -catenin expression and negative prognostic significance of cytoplasmic  $\beta$ -catenin expression in pancreatic cancer. J BUON; 2021. Přijato k tisku 6.2.2021. (IF 2,533; 4Q)
2. Rozsypalova A, Rosova B, Filipova A, Hadzi Nikolov D, Chloupkova R, Richter I, Proks J, Zachoval R, Matej R, Melichar B, Buchler T, Dvorak J. Association of the combined parameters including the frequency of primary cilia, PD-L1, Smoothened protein, membranous  $\beta$ -catenin and cytoplasmic  $\beta$ -catenin expression with the outcome of patients with clear cell renal cell carcinoma. J BUON Přijato k tisku dne 16. 12. 2020 (IF 2,533; 4Q)
3. ROZSYPALOVÁ, Aneta, Blanka ROSOVÁ, Alžběta FILIPOVÁ, et al. Prognostický význam primárních řasinek ve vztahu k vybraným parametrům nádorového mikroprostředí světlobuněčného karcinomu ledvin. *Onkologická revue*. 2020, 7(4), 50-56. ISSN 2464-7195.

##### Prezentace na kongresech:

1. Dvořák J, Rosová B, Filipová A, Hadži Nikolov D, Chloupková R, Rozsypalová A, Richter I, Zachoval R, Matěj R, Melichar B, Büchler T. Prognostický význam primárních řasinek ve vztahu k vybraným parametrům nádorového mikroprostředí světlobuněčného karcinomu ledvin. PragueOnco Journal, s 60-61, 11. pražské onkologické mezioborové kolokvium, 29. 1. -31. 1. 2020. Abstrakt.
2. Dvorak J, Rosova B, Filipova A, Hadzi Nikolov D, Chloupkova R, Proks J, Richter I, Szabo P, Rozsypalova A, Radoslav M, Melichar B, Buchler T. Favourable prognostic significance of membranous  $\beta$ -catenin expression and negative prognostic significance of cytoplasmic  $\beta$ -catenin expression in pancreatic cancer. Abstract. Virtual European Society for Medical Oncology (ESMO) Congress 2020. Annals of Oncology 2020; 31 (S4): S948. Abstract ID 1548P.

---

#### **15. Molekulární aberace u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem, jejich sledování během léčby a potenciální klinické využití**

Řešitel: MUDr Ludmila Boublíková, PhD, Onkologická klinika

Rok zahájení: 2020

Cíle projektu:

Vyšetření přítomnosti a charakteru molekulárních aberací v primárním nádoru a ve vzorcích cfDNA u pacientů s generalizovaným kolorektálním karcinomem s cílem sledovat změny, které se mohou objevovat během vývoje onemocnění a průběhu léčby, a posoudit jejich možný klinický význam a terapeutické využití.

#### Průběh prací:

Zavedli jsme, optimalizovali a standardizovali analýzu molekulárních aberací panelu 150 genů vztahovaných k nádorovým onemocněním (Comprehensive Cancer Panel, Agilent) metodou sekvenování nové generace (NGS) z FFPE vzorků i cfDNA. Vyšetření jsme provedli na vstupní kohortě 10 pacientů, kteří měli primární nádor s RAS mutací a byli vyšetřeni na přítomnost mutace RAS v periferní krvi standardizovanou PCR metodou (Idylla). KRAS mutace v periferní cfDNA odebrané v pozdějších stádiích onemocnění byla prokazatelná u 6 z 9 pacientů pomocí NGS oproti 3 z 9 metodou PCR, potvrzující vysokou citlivost NGS analýzy. U 3 pacientů KRAS mutace v periferní cfDNA nalezená nebyla. Podrobným sekvenováním jsme zjistili, že u těchto pacientů nejsou detekovatelné ani jiné tumor-specifické aberace a u nich patrně není nádorová cfDNA v periferní krvi v detekovatelném množství přítomná.

Prospektivně jsme zatím do studie zařadili 59 pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem, u kterých postupně probíhá vyšetřování sérií nádorových vzorků, identifikace specifických aberací a sledování jejich vývoje během léčby. U pacientů s vícečetnými vzorky jsme potvrdili přítomnost tumor-specifických mutací ve všech vzorcích primárního nádoru a metastáz, ale v periferní krvi jen z období, kdy byla u pacientů přítomná signifikantní nádorová masa v organismu (např. primární tumor). Ve vzorcích krve z období relapsu ve formě solitární metastázy jsme tumor-specifické aberace nedetekovali. Výsledky naznačují, že (i) touto technologií lze monitorovat vývoj nádorového onemocnění a že v případě mCRC patrně nedochází k příliš rychlé klonální evoluci; (ii) molekulární profil pomáhá rozlišit meta tohoto tumoru od jiných primárních tumorů (např. plicních) lépe než standardní IHC vyšetření; (iii) cfDNA vyšetření má patrně velký význam ve sledování aktuálního genetického pozadí u pokročilých tumorů, ale patrně není dostatečně senzitivní pro detekci malých izolovaných relapsů u CRC.

#### Výstupy za rok 2021:

1. Poster: Molekulární aberace u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem, jejich vývoj a význam pro terapii – submitován a bude prezentován na konferenci PragueOnco 2022
2. Článek: Circulating free nucleic acids and their sequencing in colorectal cancer monitoring (review) je v přípravě k publikaci.

#### Plán pro rok 2022:

Pokračuje zařazování a vyšetřování dalších pacientů s generalizovaným kolorektálním karcinomem a analýza molekulárních aberací souvisejících se vznikem a vývojem této malignity. Ke konci roku 2022 budou provedeny souhrnné analýzy a připraven originální článek k publikaci.



---

## **16. Klinická snášenlivost radioterapie u heterozygotů radiosenzitivních syndromů**

**Řešitelé:** MUDr. Radka Lohynská, Ph.D. (Onkologická klinika 1. LF UK a FTN); MUDr. Alena Nováková-Jirešová, Ph.D. (Onkologická klinika 1. LF UK a FTN); MUDr. Jana Hornová (Onkologická klinika 1. LF UK a FTN); MUDr. Renata Koževnikovová (Onkologická klinika 1. LF UK a FTN); MUDr. Jana Čejková (Onkologická klinika 1. LF UK a FTN); MUDr. Eva Mazaná (Onkologická klinika 1. LF UK a FTN); MUDr. Martina Langová, Ph.D. (Oddělení lékařské genetiky FTN).

Rok zahájení 2020

### Cíle projektu:

1. Získání klinických dat o toleranci radioterapie z fyzikálního vyšetření a z dokumentace a u žijících pacientů vyplnění dotazníků kvality života u nosičů heterozygotní mutace genů účastnících se reparace DNA.
2. Zjištění zastoupení heterozygotů potenciálně radiosenzitivních mutací mezi ozařovanými pacienty a jejich odpověď k radioterapii
3. Zhodnocení hypotézy, zda pozdní následky jsou v mezích očekávané toxicity či zda jsou zásadně vyšší a je vhodné snížení celkové dávky záření či úprava frakcionace. Srovnání dotazníků kvality života s publikovanými daty.

### Postup prací/metodika a výsledky:

Za první 2 roky studie bylo v radioterapeutické ambulanci identifikováno a zařazeno 29 pacientek/pacientů, kteří podstoupili radioterapii a mají prokázanou germinální mutací genu pro reparaci DNA (6x CHEK2, 5x ATM, 5x geny Fanconiho anémie (FANCF, FANCI, FANCM, FANCF1 a O-RAD51), 4x NBN, 3x MUTYH, 3x BLM, 2x geny pro Xeroderma pigmentosum (ERCC3), 2x SBDS, 2x MLH1; 6 pacientů jsou duální (či triální) heterozygoti nesoucí 2 či 3 mutace různých genů – kromě sledovaných i 1x DPYD, 1x NSD1, 1x CWF19L2. 86% pacientů bylo ozářeno pro karcinom prsu, 7% pro ca ORL oblasti, 3,5% pro ca rekta a 3,5% pro seminom. Dva pacienti zemřeli.

Pacienti/pacientky byli po seznámení s cíli studie, a po podepsání informovaného souhlasu klinicky vyšetřeni/y (se zaměřením na hodnocení případných poradiačních reakcí) a vyplnily dotazník kvality života EORTC. Léčbu radioterapií již pacienti podstoupili, anebo k ní přicházeli. U nově přichozích probíhá prospektivní sledování akutní (během záření) a pozdní poradiační reakce v odstupu 6-12 měsíců. U pacientů s radioterapií v minulosti jsou hodnoceny pozdní reakce za 12 měsíců (případně později). Akutní a pozdní reakce po ozáření jsou hodnoceny dle škály CTCAE a RTOG, pacienti vyplní vstupně a 6-12 po léčbě dotazník kvality života EORTC QLQ 30 a orgánově specifický dotazník EORTC. Poslední evaluovanou skupinou byli zemřelí pacienti (dohledání z výsledku genetického vyšetření) a u nich byl proveden retrospektivní sběr dat o toxicitě radioterapie pouze z ozařovací dokumentace.

Během radioterapie nebyla retrospektivně, ani prospektivně zaznamenána akutní toxicita grade 3 či vyšší. Pozdní poradiační reakce byla u 28 pacientů stupně grade G0-G1, pouze u jedné pacientky s heterozygotní mutací ATM (rs879254095) byla zjištěna závažná pozdní toxicita grade 3 (výskyt těžké indurace podkoží, fibrózy prsu, atrofie kůže s teleangiektáziemi a barevnými změnami kůže a lymfedém horní končetiny s maximem změn 6 měsíců po RT,

dále je stav 4 roky stacionární). V databázi ClinVar (2016) je mutace rs879254095 v genu ATM popsána s konfliktní interpretací jako varianta pravděpodobně patogenní a varianta nejasného klinického významu. Byla provedena molekulární RNA analýza - vlivem chybného sestřihu RNA dochází k výpadku celého exonu 42 s posunem čtecího rámce a předčasným ukončením translace.

V druhém roce řešení projektu byla prezentována kasuistika pacientky s mutací rs879254095 v genu ATM a zvýšenou poradiační pozdní reakcí. Bylo dokončeno vyhledávání a nábor pacientů s vyšetřením zaměřeným na hodnocení akutních a pozdních poradiačních reakcí dle RTOG a CTCAE, bude dokončeno hodnocení kvality života dle dotazníku EORTC QLQ 30 a orgánově specifických dotazníků EORTC u 2 nově zařazených pacientů.

Bylo vypracováno přehledné doporučení pro radioterapii pacientů s vrozeným rizikem zvýšených poradiačních reakcí u nejčastějších v ČR se vyskytujících mutací radiosenzitivních syndromů (přijat článek do časopisu Klinická onkologie).

Na základě současných výsledků lze konstatovat, že mutace rs879254095 v genu ATM (42 exon) je spojena se zvýšenou radiosenzitivitou zdravých tkání s výskytem závažné pozdní reakce. U nosičů této mutace je nutné zvážit přínos radioterapie a upřednostnit mastektomii před parciální resekci s adjuvantní radioterapií. U dalších heterozygotních mutací recesivních genů v našem souboru nebyly zjištěny zvýšené poradiační reakce. Je vhodné doporučit spíše normofrakcionované režimy po jednotlivé denní dávce 1,8 Gy a nedojde-li k výskytu excesivní akutní toxicity během normofrakcionované radioterapie, pak dokončit léčbu bez redukce celkové dávky radioterapie. Indikace radioterapie není třeba modifikovat u většiny pacientů – nosičů heterozygotní mutace genů pro reparaci DNA, a to ani v případě, že se jedná o duální heterozygoty.

Kvalita života po léčbě dle dotazníku EORTC QLQ 30 je srovnatelná s publikovanými daty u evropské populace pacientek s karcinomem prsu (FS 84, SS 13, GHS 72).

#### Plán pro rok 2022:

Ve třetím roce bude finalizováno zhodnocení dotazníků toxicity a kvality života u prospektivně hodnocené části souboru a následně v závislosti na typu mutace, rozsahu chirurgického výkonu a přítomnosti pozdní toxicity budou závěrečné výsledky statisticky zpracovány a publikovány.

#### Výstupy za rok 2021:

1. Prezentace na kongresech - poster „**Tolerance radioterapie u heterozygotů radiosenzitivních syndromů.**“ na kongresu PragueOnco v lednu 2021.
2. Prezentace na kongresech - Poster na kongresu XIV.Brněnské onkologické dny 13.-15.10.2021, sborník abstrakt časopisu Klinická onkologie 2021;34:2S36.
3. Lohynská R, Pechačová Z, Mazaná E, Čejková J, Nováková A, Hornová J, Langová M: Radioterapie a radiosenzitivní syndromy u mutací genů reparace DNA. Klinická onkologie. 2022; přijato k tisku (12.7.2021).

---

## **17. Komplexní řešení nestabilního poranění distálního radia u dětí**

Hlavní řešitel: MUDr. Lucián Zařko

Spoluřešitelé: as. MUDr. Martin Čepelík, doc. MUDr. Tomáš Pešl, PhD., prof. MUDr. Petr Havránek, CSc.

Rok zahájení: 2020

Cíl projektu:

Cílem projektu je vývoj osteosyntézy metodikou prográdní ESIN (*Elastic Stable Intramedullary Nailing*) jako řešení nestabilních zlomenin distální metafýzy radia u dětí, pro kterou dosud v odborných pramenech neexistuje uspokojivý způsob ošetření. V rámci projektu bude stanoven přesný operační postup pro provedení prográdního ESINu distální metafýzy radia, stanovení vstupního bodu pro zavedení implantátu z hlediska rizika poranění okolních měkkých tkání, správná volba a úprava (předehnutí) implantátu a zhodnocení úspěšnosti této terapie.

Průběh prací v roce 2021:

- 1) Pokračování v zavádění operační techniky prográdního ESIN u pacientů s poraněním distální metafýzy radia – za rok 2021 operováni touto technikou 3 pacienti
- 2) Hodnocení výsledků pacientů operovaných technikou prográdního ESIN a příprava publikace do zahraničního časopisu s IF
- 3) Vypracování přednášky o metodice prográdního ESIN pro 66. kongres českých s slovenských dětských chirurgů – zrušeno z důvodu nepříznivé epidemiologické situace
- 4) Vývoj nové metody operace nestabilních poranění růstové ploténky distálního radia kanylovanými šrouby (růstovou ploténku šetřící výkon) – operováno celkem 7 pacientů

Plán prací pro rok 2022:

- 1) Publikace metodiky prográdního ESIN distálního radia v zahraničním časopise s IF
- 2) Prezentace výsledků studie prográdního ESIN na kongresu dětských chirurgů (přednáška připravena – viz výše)
- 3) Rozvoj nově vyvinuté metody operace nestabilních poranění růstové ploténky distálního radia kanylovanými šrouby s výhledem k publikaci v zahraničním časopise s IF

Seznam publikací:

V současné době nejsou žádné výsledky publikovány.

---

**18. Vztah mezi výskytem benigních fascikulací, fenotypem pacienta a mutace v SMN 1 genu**

Řešitelé: MUDr. Ridzoň Petr, prim. MUDr. Langová Martina, Ph.D.

Rok zahájení: 2020

Cíle projektu:

Cílem projektu je určit souvislost mezi výskytem tzv. benigních svalových fascikulací (benigní fascikulační syndrom), fenotypem pacienta a mutací v SMN1 genu.

#### Postup prací/metodika a výsledky:

Pacienti odesláni na neurologii k vyšetření EMG pro výskyt fascikulací byli vyšetřeni na EMG přístroji a klinicky neurologicky. Byli jim nabrány svalové enzymy, T3, TSH a kortizol, ionty včetně Ca, Mg. Pomocí EMG se vyloučilo organické postižení svalů, nebo motoneuronu. Dále byli vyšetřeni na genetické ambulanci na nosičství mutace SMN1 genu případně SMN 2.

Další zkoumanou skupinou by měli být rodiče pacientů s SMA, kteří jsou automaticky nositeli genu bez projevů nemoci SMA. Tito by byli vyšetřeni v opačném pořadí – tedy genetické vyšetření, klinické, EMG a biochemické vyšetření. Zatím vzhledem k omezením způsobených Covidem v letech 2020 a 2021 bylo vyšetřeno celkem 29 pacientů z předpokládaného počtu 90 pacientů. Tento počet je již statisticky zpracovatelný a publikovatelný. Předpokládáme i jeho další nárůst během roku 2022. Přednesení výsledků předpokládáme na Českém a slovenském neurologickém sjezdu v březnu 2022 a publikace výsledků v odborném tisku do 31.12.2022.

#### Plán prací pro rok 2022:

Sběr dat, zpracování a publikace dat

#### Seznam publikací:

V současné době výsledky nejsou publikovány.

---

### **19. Kognitivní a emoční profil u dětí ve věku 3-10 let vystavených násilí a dalším traumatickým zkušenostem**

Řešitelé: PhDr. Markéta Hrdličková, Ph.D.: Dětské centrum TN, PhDr. Milada Matoušová, Ph.D.: Dětské centrum TN, PhDr. Marie Vabroušková: oddělení Dětské psychiatrie TN, Mgr. Eliška Kletečková, Klinika Logo

#### Cíle projektu:

- Výzkum dopadu násilí a traumatických zkušeností na kognitivní profil dítěte a jeho vliv na školní výkon v rámci české populace.
- Výzkum dopadu násilí a traumatických zkušeností na emoční a sociální profil dítěte v rámci české populace.
- Vypracovat metodiku vycházející z výsledku výzkumu, která dosud chybí.

#### Postup prací v roce 2021:

V roce 2021 jsme pokračovaly dat, tedy realizovaly jsme další komplexní psychologická vyšetření a to jak u cílové skupiny, tedy dětí, které byly prokazatelně vystaveny násilí v blízkých vztazích nebo jiné traumatické události, tak u kontrolní skupiny, tedy dětí, které nebyly vystaveny traumatické zkušenosti. Aktuálně jsme vyšetřily 19 dětí z cílové skupiny a 89 dětí

z kontrolní skupiny. V roce 2021 začala statistická analýza získaných dat

#### Plán na rok 2022

V tomto roce bude dokončen sběr dat, dokončeny statistické výstupy, na jejichž základě bude vypracována metodika a v případě příznivé epidemiologické situace budou výsledky prezentovány na odborných setkáních.

#### Seznam publikací:

V současné době výsledky nejsou publikovány.

---

### **20. *Nové laboratorní přístupy identifikace endogenních a exogenních spouštěčů intersticiálních plicních procesů***

Řešitelé: Mgr. Pavel Sojka, postgraduální student 1. LF UK

Školitel: MUDr. Martina Šterclová, PhD., Prof. MUDr. Martina Vašáková, Ph.D.

#### Cíle projektu:

Cílem projektu je nalezení vztahu mezi zkoumanými analyty stanovovanými v BALT pacienta odebraném v době stanovení diagnózy. Nalezení korelace mezi množstvím cytokinů a dalšími imunologickými parametry, sledovanými v čase, by mohlo hrát významnou roli v interpretaci etiopatogeneze fibrotizace plicní tkáně u pacientů s EAA a se SNP. Případné korelace mohou usnadnit výběr léčebného postupu podle dominujícího imunologicko/radiologického profilu.

#### Postup prací:

1. Stále probíhá nábor pacientů, kteří jsou děleni do skupin dle jejich diagnózy. Odebírání biologického materiálu pacientům.
2. Analýza získaných vzorků antigenního extraktu a porovnání výsledků stanovení s výsledky stanovení pomocí komerčního kitu

Pacient	slgG (Phadia)	Stanovení antigenního extraktu (pozitivita)	Shoda
Pacient 1	Celý panel	Plísňe, prach, roztoči	Ano
Pacient 2	Celý panel	Prach, roztoči, plísňe, peří	Ano
Pacient 3	Celý panel	Negativní	Ano
Pacient 4	Celý panel	Peří, plísňe, roztoči	Ne
Pacient 5	Celý panel	Plísňe, prach, roztoči	Ano
Pacient 6	Plísňe, roztoči, peří	Negativní	Ano

### 3. Kompletace získaných dat a příprava pro prezentaci

#### Výsledky:

Během druhého roku výzkumu byla provedena analýza vzorků antigenních extraktů (citlivost séra pacientů k vzorkům odebraným z jejich prostředí v porovnání s negativní kontrolou; celkem 6 pacientů – každý pacient měl minimálně 5 vzorků antigenního extraktu z prostředí svého výskytu) a porovnání výsledků analýzy s výsledky stanovení pomocí komerční soupravy (sIgG Phadia).

Bylo získáno dalších 88 vzorků „BALT + krev“ (celkem tedy 116), u kterých byla provedena analýza metodou průtokové cytometrie a další rutinní vyšetření v rámci diagnostiky pacienta. Získaná data (FACS, sIgG, ANA, ENA, RF, CCP, MCV, cytologie) budou kompletována a statisticky vyhodnocena. Odebrané vzorky (BALT + sérum) byly uskladněny za účelem provedení dalších analýz (total IgG, BAFF, APRIL, MMP7, stanovení antigenního extraktu).

#### Výstupy:

V roce 2022 je plánována prezentace získaných dílčích dat na národních (Moravskoslezské pneumologické dny) a celkových dat mezinárodních kongresech (EAACI 2023 / ERS 2023). V plánu je dále publikace získaných dat v impaktovaném zahraničním periodiku (Science immunology).

#### Seznam publikací:

V současné době výsledky nejsou publikovány.

---

## **21. Porovnání komplikací a komfortu u PICC katétrů zavedených z různých žilních přístupů**

Řešitelský tým: MUDr. O. Kuchař, doc. MUDr. P. Kohout, PhD., Maryana Povkhanych.

Rok zahájení: 2020

#### Cíl projektu:

Cílem projektu je srovnání komplikací a komfortu u tunelizovaných PICC katétrů zavedených cestou pažních žil (klasický způsob) a žilního systému v oblasti větších žil („off label metoda“). Metodika, výsledky: Studie je rozložena do 3 let. V prvních 2 letech probíhal nábor pacientů. V posledním roce (2022) postupně ukončíme nábor pacientů, vyhodnotíme studii a zaměříme se na publikační a přednáškovou činnost.

V letech 2020 - 2021 se nám podařilo zařadit okolo 30 pacientů.

Plán na rok 2022: Ukončení nábora pacientů, vyhodnocení studie, publikační a přednášková činnost.

---

## **22. Vyšetření tělesného složení u pacientů s IBD na biologické léčbě metodami bioimpedance a kostní denzitometrie**

Řešitelský tým: MUDr. Natálie Friedová, MUDr. Jiří Běhounek, doc. MUDr. Pavel Kohout, Ph.D, Mgr. Ing. Ivana Pražanová, Mgr. Bc. Martina Kollerová, MUDr. Zdeněk Antoš, MUDr. Gabriela Puškárová

Rok zahájení: 2020

### Cíle projektu:

Interní klinika 3.LF UK a TN se specializuje na léčbu idiopatických střevních zánětů, součástí kliniky je i Centrum pro biologickou léčbu. Cílem projektu je zmapovat tělesné složení pacientů na biologické léčbě. Vybraná skupina pacientů je analyzována ve spolupráci s Klinikou revmatologie a rehabilitace 3. LF UK a FTN a Centrem výživy Fakultní Thomayerovy nemocnice. Využívány jsou metody DEXA a bioimpedance.

### Průběžné výsledky:

- 1) Stanovení tělesného složení vykazuje při srovnání metod DXA a BIA srovnatelné odchylky i u pacientů s IBD jako uvádí literatura u běžné populace.
- 2) Z průběžně naměřených hodnot vyplývá, že samotné BMI může riziko malnutrice a sarkopenie maskovat.
- 3) Dle průběžně vyhodnocených výsledků bylo u významné části pacientů s IBD zapojených do studie ve srovnání se zdravými jedinci identifikováno změněné tělesné složení charakterizované:
  - sníženým indexem tukuprosté hmoty (FFMI) (44 % žen)
  - sníženým množstvím svalové hmoty (SMM) (66 %)
  - zvýšeným množstvím viscerálního tuku (VAT) (55 % mužů, 61 % žen)
  - sníženým množstvím buněčné hmoty (BCM) (72 %)

### Plán na rok 2022

Rozšíření souboru pacientů vč. pacientů s nově nasazenou biologickou léčbou, širší statistická analýza získaného souboru dat, prezentace výsledků na národní i celonárodní úrovni, prezentace výsledků na odborných konferencích

### Výstupy za rok 2021:

- Přednášková činnost - SKVIMP 2021 (Hradec Králové) - Kollerová M., Pražanová I., Friedová N., Běhounek J., Kohout P. Stanovení tělesného složení dospělých pacientů s idiopatickými střevními záněty

---

## **23. Využití a význam hybridních zobrazovacích metod (PET-CT) v onkologii hlavy a krku**

Řešitelé: MUDr. Zuzana Krátká, MUDr. Aleš Čoček Ph.D. Dr. med., prim. MUDr. Jan Paska, MBA, MUDr. Radka Lohynská Ph.D., MUDr. Aleš Kavka, MUDr. Monika Jarůšková, Kamila Šajchová

Rok zahájení: 2020

#### Cíle projektu:

Cílem projektu je vyhodnotit reálnou výtěžnost PET/CT v primární diagnostice a restagingu nádorů v onkologii hlavy a krku a pokusit se vyhodnotit prediktivní hodnotu PET/CT volumetrie.

#### Postup prací/metodika:

- Nábor pacientů a shromažďování dat vyhodnocených lékaři z PET centra v Nemocnici Na Homolce.
- Zpracování a vyhodnocení dosud získaných dat.
- Statistické vyhodnocení sensitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty PET-CT v místě primárního tumoru, v oblasti krčních lymfatických uzlin a v diagnostice vzdálených metastáz nebo duplicitních nádorů.

#### Výsledky:

Z dosavadních výsledků můžeme potvrdit vysoký význam PET/CT v hodnocení vzdálených metastáz u pokročilých karcinomů hlavy a krku (sensitivity 96 %, specificita 87 %, negativní prediktivní hodnota 99%). Z našich pozorování dále vyplývá, že PET/CT má klíčový význam v odhalení primárního nádoru u metastáz do krčních uzlin neznámé primární lokalizace. Origo karcinomu bylo díky PET/CT nalezeno ve 30 % případů. Diskutabilní je přínos PET/CT v primárním hodnocení velikosti tumoru a postižení krčních lymfatických uzlin, kde vyšetření dosáhlo nižší specificity (75 % a 70 %) a to především ve skupině malých tumorů (T1, T2).

#### Plán na rok 2022:

- Další shromažďování dat od nových pacientů, jejich postupné zpracování a vyhodnocení významu PET/CT v primární diagnostice u statisticky významnějšího počtu pacientů.
- Zhodnocení významu PET/CT v dispenzární péči u pacientů s nádory hlavy a krku.
- Vyhodnocení výtěžnosti volumetrické metody.
- Příprava publikace s dílčími výsledky v časopise s IF.

#### Výstupy:

##### Články:

1. KRÁTKÁ, Zuzana, Jan PASKA, Veronika ŠÍBLOVÁ, Kateřina LICKOVÁ, Radka LOHYNSKÁ a Aleš ČOČEK. Využití PET/ CT v diagnostice vzdálených metastáz a duplicitních



nádorů v onkologii hlavy a krku. *Otorinolaryngologie a foniatrie*. 2021, **70**(1), 6-11.  
ISSN 1210-7867. Dostupné z: doi:10.48095/ccorl20216

Aktivní účast na sympoziích:

- International Conference of the Czech Head and Neck Cancer Cooperative Group, Znojmo, Czech Republic, 1.-3.10.2020, Efficacy of PET/CT in diagnostics and staging of head and neck cancer, Krátká Z., Paska J., Lohynská R., Čoček A., Licková K.
- The European Congress on Head and Neck Oncology (ECHNO) and the International Congress on Innovative Approaches in Head and Neck Oncology (ICHNO) 2021, Brussels, Belgium, 30.6.-3.7.2021, Use of FDG PET/CT in the initial staging of head and neck cancer: accuracy in evaluation the primary site of the tumor, metastases to cervical lymph nodes and distant metastases, Krátká Z., Paska J., Lohynská R., Licková K., Čoček A.
- 82. Kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku ČLS JEP 2021, Praha, Česká republika, 22.-24.10.2021, Přínos PET/CT v diagnostice primárního nádoru u krčních uzlinových metastáz neznámé primární lokalizace, Krátká Z., Paska J., Licková K., Lohynská R., Čoček A.

---

#### **24. Prevalence protilátek SARS-Cov-2 u zaměstnanců Thomayerovy nemocnice**

Hlavní řešitel: RNDr. Markéta Ibrahimová, Ph.D. (IL FTN)

Spoluřešitelé: MUDr. Klára Bořecká, Ph.D. (OKB FTN), preanalytická příprava a analytické zpracování: Vladislava Jamriková (OKB FTN), Kateřina Sadílková (IL FTN)

Rok zahájení: 2020

Cíle projektu (2. rok - 2021):

- Druhé kolo studie prevalence protilátek po podzimní vlně covid-19 v kombinaci odběru krve a dotazníkového šetření u zaměstnanců FTN. Zjištění počtu infikovaných osob a hladin protilátek před chystanou vakcinací.
- Třetí kolo epidemiologického šetření před třetí vlnou, sledování dynamiky protilátek po prodělané infekci a základní vakcinaci dvěma dávkami. U vakcinovaných osob stanovit postvakcinační protilátky a určit jejich kvantitu. Pomocí různých metod odlišit postinfekční a postvakcinační imunitu.

Postup prací/metodika:

Od 11. prosince 2020 do 8. února 2021 proběhlo druhé kolo dobrovolného vyšetření protilátek anti-SARS-CoV-2 u zaměstnanců FTN. Každý účastník byl seznámen s cílem studie, podepsal informovaný souhlas a vyplnil dotazník. Účastníkům studie byla odebrána srážlivá krev a stanoveny celkové protilátky proti nukleokapsidu anti-SARS-CoV-2 N pomocí ECLIA (Roche). Všechny pozitivní výsledky jsme konfirmovali ELISA testem na stanovení protilátek proti spike proteinu anti-SARS-CoV-2 S ve třídě IgG a IgA (Euroimmun).

Od 13. září do 12. listopadu 2021 proběhlo třetí kolo testování zaměstnanců na přítomnost postinfekčních nukleokapsidových (ECLIA, Roche) a postvakcinačních spikových IgG protilátek (ELISA, Euroimmun). Současně se přidala i nová studie MZ ČR Studie kolektivní imunity (SARS-CoV-2-CZ-PREVAL-II), která umožnila u všech účastníků studie změřit také buněčnou imunitu (specifické T-lymfocyty). Dotazník pro probandy byl pro toto kolo upraven (mj. přidán dotaz na očkování) a změna byla schválena Etickou komisí IKEM+FTN.

#### Výsledky:

Druhého kola studie se zúčastnilo 1 381 zaměstnanců převážně z klinických pracovišť (88 %). U 29 % účastníků byly zjištěny pozitivní protilátky proti nukleokapsidu (postinfekční protilátky) a u 26 % pozitivní nebo hraniční protilátky proti spike proteinu (postinfekční + postvakcinační protilátky) ve třídě IgG a u 25 % ve třídě IgA (obě třídy mělo pozitivní 23 %). Alespoň jeden pozitivní výsledek ze všech tří protilátkových testů mělo celkem 30 % účastníků. Známý kontakt s covid pozitivní osobou uvedlo 50 % účastníků a 63 % při tomto kontaktu použilo OOPP. Přibližně stejná část nálezů proběhla v domácím prostředí (32 %) i na pracovišti (37 %). Část probandů uvedlo více zdrojů (17 %) a část potenciální zdroj nákazy nevedla vůbec (14 %). Asymptomatický průběh infekce byl v 21 % všech pozitivních případů, z toho více jak polovina nevěděla, že byla virem infikovaná (proběhlou infekci odhalilo až vyšetření protilátek). Na druhou stranu 10 % účastníků s negativními výsledky protilátkových testů uvedlo, že mělo symptomy podobné onemocnění covid-19. Část z nich měla negativní PCR test, část nebyla PCR testována. Jedna třetina zaměstnanců byla v karanténě nebo izolaci, což dokládá, jak složité personální situaci musela nemocnice při druhé vlně pandemie čelit. Hospitalizováno bylo 13 zaměstnanců, tj. 3 % ze všech s pozitivními protilátkami. Většina PCR testů byla provedena na OKM FTN, a alespoň jeden PCR test mělo 59 % všech účastníků studie. Celková shoda stanovení protilátek s PCR testem byla 92 %. U 8 % probandů s pozitivním PCR testem nebyly prokázány ani protilátky anti-SARS-CoV-2 N, ani anti-SARS-CoV-2 S. Statistické hodnocení naměřených hodnot protilátek a jejich dynamiky bude zpracováno v nejbližší době. Předběžné výsledky 3. kola prevalenční studie ukazují na vysokou proočkovanost zaměstnanců FTN a jen 7 % nárůst nově infikovaných virem SARS-CoV-2 mezi 2. a 3. kolem studie oproti 27 % nárůstu mezi 1. a 2. kolem. Podrobnější hodnocení tohoto kola bude provedeno v roce 2022.

Tabulka: Procentuální zastoupení pozitivních výsledků v jednotlivých kolech studie

Počet pozitivních	<b>1. kolo</b> (30.6.-25.9.2020)	<b>2. kolo</b> (11.12.2020- 8.2.2021)	<b>3. kolo</b> (13.9.- 12.11.2021)
<b>Anti-SARS-CoV-2 N</b>	2 %	29 %	36 %
<b>Anti-SARS-CoV-2 S</b>	2 %	26 %	96 %
<b>Celkem účastníků</b>	<b>808</b>	<b>1 381</b>	<b>1 702</b>

#### Závěry:

- počet infikovaných zaměstnanců je srovnatelný s jinými nemocnicemi v ČR, je však vyšší než v běžné populaci, která není vystavena tak vysoké expozici virem SARS-CoV-2

- prokázali jsme, že u poměrně značné části probandů může infekce probíhat zcela asymptomaticky
- jen u velmi malého počtu zaměstnanců došlo kvůli onemocnění covid-19 k hospitalizaci
- prokázali jsme 8 % PCR pozitivních jedinců, kteří nevytvořili žádné protilátky při jasném průkazu viru na nasopharyngeální sliznici

#### Výstupy:

1. Bořecká K., Jamriková V., Sojka P., Khaznadar Z., Ibrahimová M. Stanovení protilátek anti-SARS-CoV-2 nukleokapsid versus spike, ECLIA versus ELISA. *Klin. Biochem. Metab.*, 29 (50), 2021, No. 1, p. 19–24.
2. Ibrahimová M., Jamriková V., Sojka P., Khaznadar Z., Bořecká K. Prevalence protilátek proti SARS-CoV-2 u zaměstnanců Thomayerovy nemocnice po první vlně COVID-19. *Epidemiol. Mikrobiol. Imuno.* - únor 2022 (připraveno k tisku).

#### Plán na rok 2022:

Podrobné statistické zpracování naměřených hodnot a vyhodnocení dotazníkových informací třetího kola prevalenční studie. Posouzení dynamiky anti-SARS-Cov-2 protilátek v čase, stanovení ochranného titru protilátek a jeho vztah k možné reinfekci. Publikace získaných výsledků a ukončení projektu.

## **25. *Analýza mutací a polymorfismů DPYD u pacientů ve FTN léčených protinádorovou chemoterapií s 5-fluorouracilem***

Řešitel: Ing. Hana Šulcová

Spoluřešitelé: RNDr. Eva Parobková, Ph.D., RNDr. Milada Matějčková, Renata Barcajová, prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D., Ústav patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN, doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., MUDr. Jana Čejková, Onkologická klinika 1. LF UK a FTN, RNDr. Miroslava Bursová, Ph.D., doc. RNDr. Dr. Radomír Čabala, Ústav soudního lékařství a toxikologie VFN.

Rok zahájení: 2021

#### Cíle projektu:

Primárním cílem projektu je vyhodnotit a korelovat výsledky získané farmakokinetickým monitorováním 5-FU s molekulární analýzou vybraných mutací DPYD a souborem klinických dat, zejména ve vztahu k pozorovaným nežádoucím účinkům podávané chemoterapie s 5-FU.

Další cíle projektu jsou:

- a) Dodržení zásady podávání léku: správný lék, správný pacient, správná dávka, k navození požadovaného efektu, se záměrem zvýšení bezpečnosti léčby
- b) Zajištění minimalizace potenciálních nežádoucích účinků 5-FU
- c) Zkvalitnění péče o pacienta.

V rámci projektu budou sledovány mutace c.1905+1G>A (DPYD\*2A), c.1679T>G (DPYD\*13), c.2846A>T a c.1236G>A/HapB3. Vzhledem k nižší frekvenci výskytu těchto variant bude současně stanovena hladina uracilu v krvi. Získaná data umožní predikci toxicity spojené s podáním 5-FU. 3-5 % jedinců má nižší aktivitu enzymu DPD a asi 0,1 % má úplnou nepřítomnost. Naše očekávání je, že by se snížená aktivita DPD měla vyskytovat u 8 jedinců z celkového počtu 800.

#### Postup prací a výsledky v roce 2021:

V průběhu prvního roku byla nashromážděna část vzorků od pacientů z Onkologické kliniky 1. LF UK a FTN před započítím chemoterapeutické léčby s 5-FU. U těchto vzorků byla provedena izolace DNA a preanalytická příprava séra pro stanovení koncentrace uracilu. Po optimalizaci metody pro stanovení polymorfismů byla u první části vzorků zahájena vlastní analýza. Doposud byly detekovány tři pacienti se sledovanými mutacemi.

Metoda pro stanovení koncentrace uracilu ze séra na kapalinovém chromatografu s hmotnostní detekcí je v procesu optimalizace a testování.

#### Plán na rok 2022

V roce 2022 bude pokračovat sběr vzorků a genotypizace. Nadále bude pokračovat spolupráce s RNDr. Bursovou z Ústavu soudního lékařství a toxikologie VFN na vývoji metody měření hladiny uracilu.

Současně bude probíhat příprava publikace.

#### Výstupy

- Retrospektivní analýza četnosti mutací a polymorfismů DPYD u pacientů léčených 5-FU ve FTN Praha – *článek v přípravě*

---

## **26. Analýza genových interakcí v neurodegeneracích prostřednictvím síťové biologie**

Řešitelé: RNDr. Eva Parobková, Ph.D.

Spoluřešitelé: Ing. Hana Šulcová, prof. MUDr. R. Matěj, Ph.D., RNDr. Milada Matějčková, Renata Barcajová

Rok zahájení: 2021

#### Cíle projektu:

Základní hypotéza je, aby se nálezy ze síťové biologie přenesly na užitečné diagnostické a terapeutické aplikace. Existují síťové analýzy, které identifikovaly varianty v genech (SOD2, APP, HNF4A, PTBP1 A NAMPT) pro rozlišení pacientů s Parkinsonovou a Huntingtonovou chorobou.

### **Naším cílem je najít:**

- a) síťové přístupy identifikují cesty specifické pro Alzheimerovu chorobu (AD). Patologické znaky AD zahrnují akumulaci plak amyloidu beta a proteinu tau v neurofibrilárních klubkách (NFT). Analýza vazeb a profilování exprese interakce protein-protein (PPI) může odhalit potenciálně rizikové faktory pro AD včetně genů a polymorfismů v PSEN1, PSEN2, APOE, APP, ACTB, CDC2, ABCA1 a další
- b) síťové přístupy u Parkinsonovy choroby (PD). Patologické rysy zahrnují akumulaci agregovaného alfa synukleinu (gen SNCA), přičemž genetické varianty SNCA a LRRK2 byly odhaleny i u sporadické formy PD. Do neuruprotekce je široce zapojen gen SIRT1 a pochopení molekulárních událostí mezi geny by mohly částečně objasnit mechanismy PD.
- c) síťové přístupy k porozumění souvislosti mezi dalšími neurodegenerativními chorobami. U pacientů s AD a PD byly prokázány akumulace SNCA, varianty v MAPT a dalších, což posiluje úvahy o genetickém překrývání obou onemocnění. Dá se očekávat, že studium PPI odhalí varianty spojené s expresí umístěné na chromozomu 17.

### Postup prací:

1. Během prvního roku probíhal výběr a zpracování vzorků pacientů stratifikovaných podle typu neurodegenerace.
2. Byly již provedeny první analýzy pomocí TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panle Nextera Flex for Enrichment.
3. Počty pacientů za celý projekt: předpokládaný počet vzorků je 40 za 3 roky, nyní metodicky zpracováno 15 vzorků. Probíhá rozsáhlá bioinformatická analýza dat dle nastavených kritérií již ze zpracovaných vzorků.

### Plán 2022

V průběhu celého roku se budou vybírat další vzorky k analýzám a bude provedeno bioinformatické zpracování dat z nových analýz. Zavedeme novou metodu pro stanovení expanzí v genu C9orf72, která umožní identifikovat rozsáhlé expanze větší než 100 repetit. Příprava nové publikace ze zajímavých případů.

### Výstupy:

1. V průběhu prvního roku byly již realizovány 3 publikace v mezinárodních časopisech s impakt faktorem, které vychází ze získaných analýz.
2. V recenzním řízení je 1 publikace.
3. 1 publikace v přípravě.

### Výstupy za rok 2021:

1. [Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degenerations: Similarities in Genetic Background](https://www.mdpi.com/2075-4418/11/3/509/htm). Parobkova E, Matej R. *Diagnostics* (Basel). 2021 Mar 13;11(3):509. doi: 10.3390/diagnostics11030509. PMID: 33805659 (IF 3,706; 2Q). <https://www.mdpi.com/2075-4418/11/3/509/htm>
2. [Human Prion Disorders: Review of the Current Literature and a Twenty-Year Experience of the National Surveillance Center in the Czech Republic](#).

Jankovska N, Rusina R, Bruzova M, **Parobkova E**, Olejar T, Matej R. *Diagnostics* (Basel). 2021 Oct 1;11(10):1821. doi: 10.3390/diagnostics11101821. PMID: 34679519 (IF **3,706; 2Q**)

<https://www.mdpi.com/2075-4418/11/10/1821/htm>

3. [\*PART and ARTAG tauopathies at a relatively young age as a concomitant finding in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease.\*](#)

Menšíková K, Matěj R, **Parobková E**, Směťáková M, Kaňovský P. *Prion*. 2021 Dec;15(1):138-142. doi: 10.1080/19336896.2021.1946378. PMID: 34224311 (IF **3,931; 2Q**)

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19336896.2021.1946378>

4. Creutzfeldt–Jakob disease and comorbid neurodegenerative disorders: a clinical and neuropathological retrospective study - *v recenzním řízení*

---

**27. Interakce exokrinního a endokrinního pankreatu a autokrinní, parakrinní a endokrinní úloha pankreatického trypsinu prostřednictvím "proteinase-activated receptors-2" (PAR-2) za různých patologických stavů**

Řešitel: MUDr. Petr Šuhaj, postgraduální student 3. LF UK

Spoluřešitelé: Prof. MUDr. Radoslav Matěj PhD., Mgr. Alena Poláková

Školitel: MUDr. Tomáš Olejár, PhD.

Rok zahájení: 2021

Cíle projektu:

Cílem projektu je prozkoumat vzájemné interakce mezi endokrinním a exokrinním pankreatem mediované aktivací PAR2 trypsinem za fyziologických i patologických stavů na archivních blocích lidských pankreatů a simulací těchto stavů na buněčných kulturách. Nabyté poznatky budou publikovány v impaktované odborné literatuře a na konferencích.

Postup prací:

- Vypracovány imunohistochemické protokoly pro protilátky proti PAR2, insulinu (INS), glukagonu (GLC), pankreatickému polypeptidu (PPY), somatostatinu (SST)
- Zvládnutí přípravy imunofluorescenčních preparátů včetně jejich vyšetření a následné analýzy pomocí konfokálního mikroskopu
- Zvládnutí kultivace buněčné linie lidského adenokarcinomu pankreatu (BxPC3)
- Úspěšné vyzkoušení IHC reakce na buněčné kultuře lidských fibroblastů
- Zapůjčení vzorků neuroendokrinních neoplázií z Ústavu patologie FNKV za účelem rozšíření výzkumného souboru, vytvoření IHC preparátů PAR2 a ostatních hormonů

Výsledky:

- Dokončování přehledového článku: „PAR2: the cornerstone of pathologies“, jehož součástí bude grafická příloha v podobě schémat a mikrofotografií, pořízených na námi vypracovaných IHC a IF preparátech a odpovídajících dostupným informacím v odborné literatuře.

- Vytvoření a následná analýza imunohistochemických preparátů (proti PAR2, INS, GLC, SST, PPY) v sérii pankreatických neuroendokrinních neoplázií
- Zavedení SST a PPY do standardní palety IHC markerů vyšetřovaných v Imunologické sekci Ústavu patologie a molekulární medicíny 3.LF UK a FTN.

#### Další cíle:

- Lokalizace PAR2 na sérii pankreatických prekanceróz (PanIN, IPMN, MCN) a vyšetření jejich interakce s oběma kompartmenty pankreatu prostřednictvím PAR2
- Vyšetření série vzorků pankreatitid a duktálních adenokarcinomů pankreatu, vyšetření jejich interakce s oběma kompartmenty pankreatu prostřednictvím PAR2
- Po dodání buněčné linie INS-1E krysího inzulinomu zvládnutí metodiky jejich kultivace i stimulace tvorby a sekrece inzulinu
- Ověření přítomnosti PAR2 na buněčných liniích BxPC3 a INS-1E, prozkoumání jejich vzájemné přímé i nepřímé interakce

#### Ocenění:

Cena za 2. nejlepší poster na Studentské vědecké konferenci 3.LF UK (25.5.2021)

#### Prezentace na kongresech:

- Studentská vědecká konference 3.LF UK dne 25.5.2021, poster s videoprezentací na téma: **Interactions via PAR-2 between neuroendocrine neoplasms and the exocrine and endocrine compartments of pancreas**

## **28. Renální komplikace u pediatrických pacientů s nespecifickými střevními záněty**

Hlavní řešitel: MUDr. Lucie Gonsorčíková, Ph.D., Pediatriká klinika 1. LF UK a FTN

Spoluřešitelé: MUDr. David Bauer, MUDr. Tamara Čábelová, Pediatriká klinika 1. LF UK a FTN; MUDr. Aleš Přeč, MUDr., Klinika dětské chirurgie a traumatologie 3. LF UK a FTN, MUDr. Iva Pospíšilová, Oddělení klinické biochemie FTN; Ing. Martin Hill, DrSc., Endokrinologický ústav, Oddělení steroidních hormonů a proteohormonů, Praha

Rok zahájení: 2021

#### Cíle projektu:

Ve skupině dětských pacientů s nespecifickým střevním zánětem identifikovat jedince s postižením ledvin, u kterých bude potřeba dlouhodobé sledování.

Dále zhodnotit, zda míra postižení ledvin koreluje s tíží základního onemocnění, stanovit koncentraci tubulárních markerů a litogenních látek v moči, posoudit vhodnost proteinu KIM-1 jako možného markeru tubulárního poškození.

#### Postup prací:

- Příprava a vypracování informovaných souhlasů, schválení projektu etickou komisí
- Příprava spotřebního materiálu včetně kitů ke stanovení markeru KIM-1 v moči pacientů
- Vypracování statistický plán, jakým způsobem budou vyhodnocovány výsledky

#### Plán na rok 2022:

- únor-květen 2022 zahájíme nábor pacientů a zdravých kontrol do projektu, sběr dat, analýza vzorků
- červen-říjen 2022 statistické zpracování vzorků
- v posledním čtvrtletí roku 2022 příprava k publikacím a prezentace dat na tuzemské/mezinárodní konferenci

---

## **29. Nové metody léčby Covid-19**

Řešitel: MUDr. Lucie Hoznauerová

Řešitelský tým: prof. MUDr. Martina Vašáková, PhD. (odborný garant), MUDr. Luděk Stehlík, MUDr. Anna Hartová

Rok zahájení: 2021

### Cíle projektu:

Cílem projektu bylo využít již získané poznatky o zavedených léčebných preparátech ve vztahu SARS-CoV-2. Hlavními cíli bylo ověření bezpečnosti léků v podmínkách probíhající infekce organismu a ověření účinnosti terapie.

### Postup prací:

Za rok 2021 byl ukončen nábor pacientů do bezpečnostní části studie pro IL-6 inhibitor, proběhla kontrola dokumentace a částečné zpracování výsledků se zaměřením na volbu vhodných parametrů pro navazující studii účinnosti. Celkový počet zařazených pacientů v bezpečnostní studii: 3. Dále bylo zahájeno testování inhalační formy léku na zdravých dobrovolnících, nábor bude pokračovat v následujícím roce. V rámci studie na zdravých dobrovolnících byla kontrolována bezpečnost, optimalizován způsob podávání a dávkování s ohledem na odlišnou distribuci při lokální aplikaci.

Studie s hemarginátem byla v tomto roce ukončena, v následujícím roce proběhne zpracování výstupu kombinovaně stran bezpečnosti i účinnosti. Celkový počet účastníků: 8.

### Plán 2022:

- Vyhodnocení všech výsledků bezpečnostní studie s IL-6 inhibitorem.
- Ukončení studie se zdravými dobrovolníky pro inhalační formu IL-6 inhibitoru.
- Zahájení nábora pacientů se SARS-CoV-2 pro studii účinnosti.
- Ukončení a vyhodnocení studie s hemarginátem.

### Výsledky:

Z předběžných závěrů vychází, že inhibitor IL-6 (resp. Bazedoxifene) i hemarginát jsou při použití u nemocného se SARS-CoV-2 bezpečné. Výsledky laboratorních odběrů, zobrazovacích metod, kontrol vitálních funkcí a klinického stavu pacienta nejeví odchylku od již známých



nežádoucích účinků uvedených v příbalových letácích. Nežádoucí události nebyly v rámci jednotlivých subjektů pozorovány.

Seznam publikací:

V současné době výsledky nejsou publikovány.

---

**30. Komplexní intenzivní rehabilitační program v rámci následné péče lidí po cévní mozkové příhodě**

Řešitel: doc. PhDr. Kamila Řasová, Ph.D.

Řešitelský tým: MUDr. Tom Philipp, Ph.D., MBA; Mgr. Jana Hlinovská, MUDr. David Hlinovský, as. Ing. Jan Havlík, Ph.D., RNDr. Patrícia Martinková, Ph.D., Mgr. Markéta Pavlíková, MUDr. Barbora Miznerová, a další

Rok zahájení: 2021

Cíle projektu:

- I. Vývoj metodiky komplexního intenzivního rehabilitačního programu pro nemocné po CMP (Comprehensive Intensive Rehabilitation Program After Stroke, COMIRESTROKE)
- II. Ověření vědeckých hypotéz:
  - a. COMIRESTROKE vyvinutý v Thomayerově nemocnici má pozitivní efekt.
  - b. COMIRESTROKE implementující moderní technologický přístup nejvýrazněji ovlivní sekundární ukazatele.
  - c. COMIRESTROKE implementující zefektivnění řízení bude mít nejvyšší vliv na primární ukazatele.
  - d. Nejvýznamnějším indikátorem efektivní rehabilitace je včasná rehabilitace.
  - e. Systém PROMIS® dává přidanou hodnotu zlepšení klinického obrazu k doposud používaným testům.
- III. Zefektivnění klinické práce
  - a. systematické vyšetřování nezávislým vyšetřujícím a sběr dat
  - b. vývoj optimální metodiky komplexní a intenzivní rehabilitace lidí po CMP.
  - c. Příprava systému k opakovanému záznamu testů vyšetření a analýze úspěšnosti terapie
- IV. Příprava na další vědeckou práci

Projekt bude logisticky připravený do veřejné soutěže o účelovou podporu MZ ČR na řešení projektů zdravotnického výzkumu a vývoje „Program na podporu zdravotnického aplikovaného výzkumu na léta 2020–2026“

Postup prací:

1. Ukončení sběru dat do pilotního projektu (zahrnuto 37 probandů, analyzováno 32 probandů).
2. Na základě pilotního projektu byl ukončen vývoj metodiky komplexního intenzivního rehabilitačního programu pro nemocné po CMP:

- nakoupeny licence na testy, realizována školení k užívání testů
  - realizováno školení týmu (interdisciplinární workshop)
  - vyvinuta a implementována metodika systematického vyšetřování nezávislými vyšetřujícími včetně záznamového archu
    - využití inovativního evaluačního systému PROMIS® (Patient-Reported Outcomes Measurement Information System) - souboru na člověka orientovaných vyšetření, které byly vyvinuty a validizovány vědeckými metodami, aby přinášely dobré psychometrické vlastnosti a zohledňovaly kvalitu života rehabilitovaných (Katzan IL at al., 2016).
  - rozpracována metodika dalších dvou kohort komplexní a intenzivní rehabilitace lidí po CMP
    - implementace moderních technologií založených na principech senzomotorického učení, tj. opakování konkrétní a cílené funkce v různém prostředí/za různých podmínek s cílem upevnit paměťovou stopu a nastartovat strukturální změny CNS (Straudi S, Basaglia N., 2017)
    - zefektivnění řízení týmu ve smyslu interdisciplinární spolupráce (tj. propojující jednotlivé odbornosti k práci na společném úkolu), stanovování a vyhodnocování cílů léčby společně s rehabilitantem, a za využití tzv. ICF (International Classification of Functioning, Disability and Health) core setů individuálně zohledňujících danou situaci rehabilitovaného (Rauch et al. 2008).
3. Je připraven manuskript protokolu studie (1) a kapitoly v monografii (2-5). Protokol studie je logisticky připraven do veřejné soutěže o účelovou podporu MZ ČR (nový souhlas etické komise).

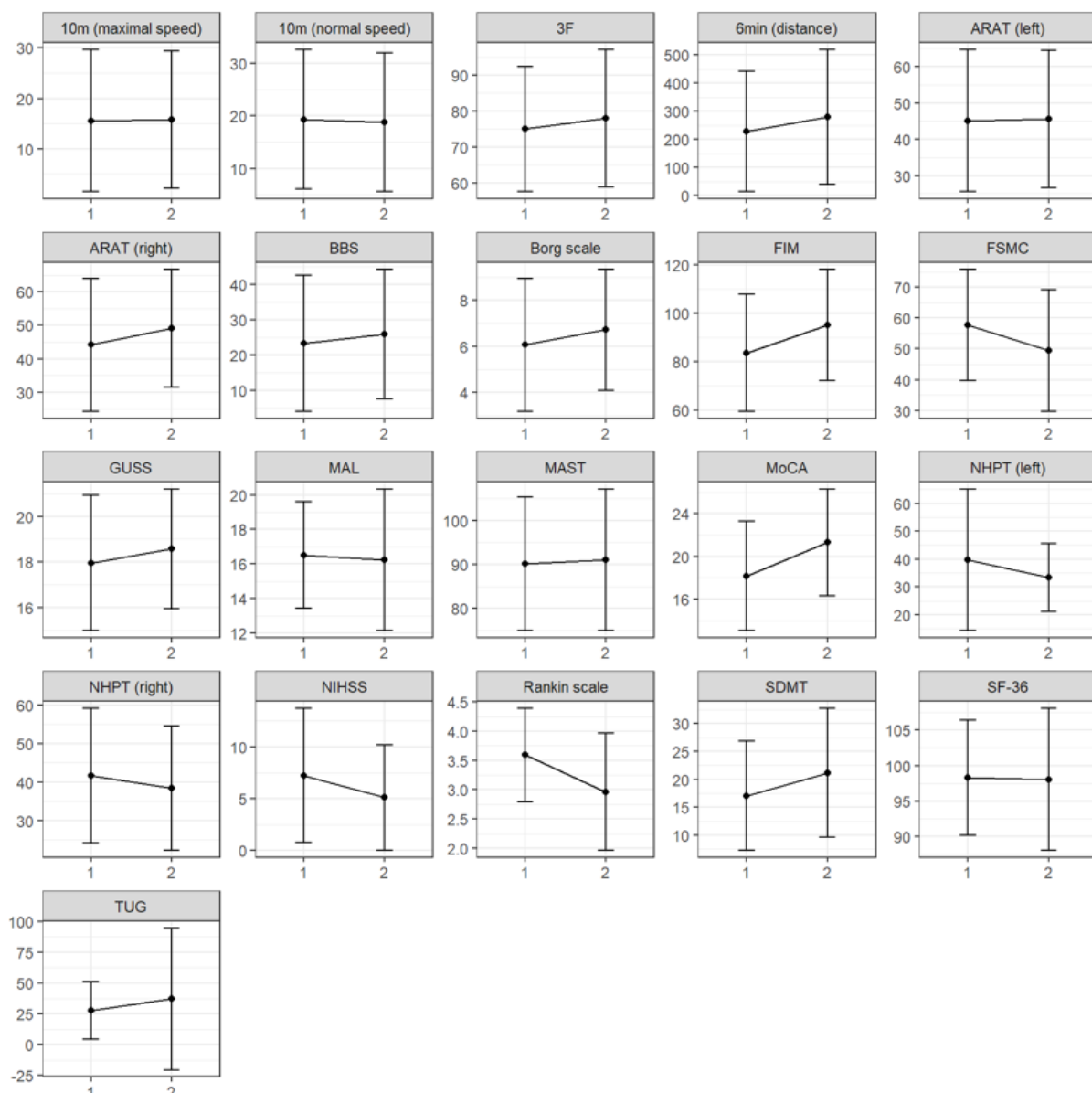
### Výsledky:

Do pilotního projektu bylo zařazeno 37 probandů po cévní mozkové příhodě, nejdéle 1 měsíc od propuštění z centra vysoce specializované péče nebo akutní rehabilitace. 32 lidí (18 mužů a 14 žen, s průměrným stupněm neurologického deficitu dle National Institute of Health Stroke Scale, NIHSS  $7.25 \pm 6.47$  a modifikované Rankinovy škály  $3.59 \pm 0.8$ ) absolvovalo celý třínedělní program (s cílem nabídnout minimálně 4 hodiny denně). Jde o komplexní rehabilitační program vyvinutý ve FTN, ve kterém se dle indikace lékaře se na programu podílí tým odborníků (rehabilitační a fyzikální medicíny, fyzioterapie, ergoterapie, klinické logopedie a psychologie) ve smyslu multidisciplinárního přístupu (členové týmu pracují paralelně, každý zaměřen na svůj vědní obor) (Hlinovský et al., 2016).

V tomto pilotním projektu se podařilo ověřit jeho účinnost. Průměrný stupeň neurologického deficitu jak dle NIHSS (průměrný rozdíl  $-2.64 \pm 2.28$ ), tak modifikované Rankinovy škály Scale (průměrný rozdíl  $-0.75 \pm 0.65$ ) signifikantně poklesl ( $p < 0.001$ ). Program dále vedl k signifikantnímu zlepšení samostatnosti/nezávislosti (u Functional Independence Measure došlo k průměrnému zvýšení o  $13.50 \pm 7.61$ ,  $p < 0.001$ ). Signifikantně se zlepšily i kognitivní funkce (průměrné zvýšení v Montreal Cognitive Assessment, MoCa o  $3.23 \pm 2.91$ ,  $p < 0.001$ ; Symbol Digit Modalities Test, SDMT o  $4.20 \pm 6.60$ ,  $p = 0.005$ ), únava (průměrný pokles v The Fatigue Scale for Motor and Cognitive Functions, FSMC o  $-8.43 \pm 14.68$ ,  $p = 0.009$ ), jemná motorika (průměrný pokles v Nine Hole Peg Test, NHPT vpravo o  $-4.09 \pm 7.40$ ,  $p = 0.019$  a vlevo

o  $-7.99 \pm 20.60$ ,  $p=0.122$ ; průměrné zvýšení v Action Research Arm Test, ARAT vpravo o  $4.25 \pm 8.50$ ,  $p=0.021$ , vlevo o  $2.81 \pm 6.31$ ,  $p=0.045$ ), statická i dynamická rovnováha (průměrný pokles v Timed Up and Go, TUG o  $-7.36 \pm 8.72$ ,  $p=0.012$  a zvýšení v Berg Balance Scale, BBS o  $5.79 \pm 6.9$ ,  $p=0.001$ ), chůze na krátkou i dlouhou vzdálenost (průměrné snížení v 10 min testu chůze maximální rychlostí o  $-0.97 \pm 1.47$ ,  $p=0.045$ ; průměrné zvýšení vzdálenosti při šestiminutovém testu chůze o  $84.38 \pm 88.33$ ,  $p=0.009$ ), poruchy řeči i polykání (průměrné zvýšení v The 3F Test – Dysarthric Profile, 3 F o  $4.65 \pm 5.53$ ,  $p=0.005$ , v The Mississippi Aphasia Screening Test, MAST o  $1.20 \pm 1.99$ ,  $p=0.021$  a v The Gugging Swallowing Screen, GUSS o  $1.02 \pm 1.61$ ,  $p=0.019$ ). V kvalitě života (36-Item Short Form Survey, SF - 36) nedošlo k žádné změně (graf 1).

Graf 1: vývoj naměřených parametrů před a po třínedělním komplexním rehabilitačním programu



### Výstupy:

1. Řasová K, Martinková P, Vařejková M, Miznerová B, Pavlíková M, Hlinovská J, et al. Motor recovery following the Comprehensive Intensive Rehabilitation Program After Stroke implementing the International Classification of Functioning, Disability and Health model: Study protocol for a Three-Arm Parallel-Group Randomised Double Blinded Controlled Trial with a longitudinal design. Brain Sciences. připraven manuskript
2. Pavlíková M. Stanovení a vyhodnocování cílů rehabilitace In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2022, v tisku.
3. Miznerová B, Pavlíková M, Pospíšilová K. Stanovení a vyhodnocení cílů s využitím ICF In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2022, v tisku.
4. Řasová K, Martinková P. Vyšetřování dle ICF klasifikace In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2022, v tisku.
5. Pavlíková M. Goal attainment scaling, GAS In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2022, v tisku.

---

### **31. Hodnocení rutinných a experimentálních biomarkerů kardiotoxicity po radioterapii levostranných karcinomů prsu**

Řešitel projektu: MUDr. Eva Mazaná, Onkologická klinika 1.LF UK a TN

Řešitelský tým: MUDr. Eva Střečková, Onkologická klinika 1.LF UK a TN; MUDr. Hrehor Martin, Interní klinika 3.LF UK a TN; MUDr. Klára Bořecká, Ph.D., primářka, Odd. klinické biochemie TN

Rok zahájení: 2021

#### Cíle projektu:

1. Cílem práce je vytvoření souboru pacientek s diagnózou karcinomu mammy, které přicházejí k pooperačnímu ozařování levostranného prsu či hrudní stěny a na tomto souboru kvantifikace případného akutního subklinického kardiálního poškození v závislosti na dávce na myokard při radioterapii za pomoci rutinních kardiomarkerů (hs TnT, NT pro BNP).
2. Identifikace potenciálního biomarkeru kardiálního stresu z řady experimentálních působků s potenciálem predikovat riziko kardiálních příhod po RT v budoucnosti.
3. Popsání korelace mezi elevací biochemických markerů a fyzikálními dávkami na srdce (střední dávka na srdce Dmean) a zaměřením se i na substruktury srdce (levá komora, RIA, chlopně, pravá síň se sinoatriálním uzlem ...).
4. Identifikace rizikové podskupiny v rámci našeho souboru, která vyžaduje po levostranné radioterapii hrudníku kardiologické sledování k včasné terapeutické intervenci.
5. Zhodnocení dávkově limitních parametrů na srdce podle návrhu odborné společnosti DEGRO (německá radioterapeutická společnost) a vytvoření vlastních limitních parametrů v rámci místních radiologických standardů.

### Postup prací/metodika a výsledky:

Před samotným nábořem pacientek do souboru proběhlo vypracování poučení pro pacientky a informovaného souhlasu, zajištění materiálního vybavení (laboratorní výbava pro odběr, zpracování a uchování vzorků) a vypracování postupů na jednotlivých spolupracujících pracovištích. V rámci náboru do studie byly osloveny pacientky před zahájením standardního pooperačního ozáření levostranné mammy nebo hrudní stěny. Několik pacientek bylo po zařazení do studie vyřazeno - důvodem bylo např. zjištěné kardiální poškození po proběhlé biologické léčbě nebo nově zjištěná generalizace onemocnění - počet byl doplněn náhradnicemi do celkového počtu 40 pacientek. Po poučení a podepsání informovaného souhlasu v rámci vstupního vyšetření před pooperační RT proběhlo u pacientky fyzikální vyšetření a odebrání anamnézy. Následně byla pacientka odeslána na interní ambulanci k echokardiografickému vyšetření a EKG k zhodnocení kardiálních funkcí a vyloučení zásadních anatomicko-funkčních abnormalit. V rámci standardních vstupních odběrů (KO+diff + základní biochemie) před a po radioterapii byl odebrán panel rutinních markerů kardiálního stresu. Vzorky pro vyšetření experimentálních kardiomarkerů byly zmrazeny a uskladněny do doby vyšetření, aby byly vyhodnoceny v jednom vyšetřovacím kitu, a aby bylo možné porovnat párové vzorky. Část odebraného materiálu je určena k vyšetření v laboratoři oddělení lékařské biochemie Thomayerovy nemocnice a část byla odeslána k vyšetření do Ústavu lékařské biochemie 1.LF UK a VFN. V prvním roce projektu proběhlo vyšetření experimentálních biomarkerů MMP2, MMP9, EN-RAGE, Osteopontin a PIGF.

Plánování a provedení radioterapie probíhalo standardně. Vzhledem k obnově přístrojového vybavení radioterapie bylo možné u části pacientek provést ozařování technikou DIBH (deep inspiration breath hold) s cílem zredukovat dávky na rizikové orgány (srdce). Při plánování radioterapie lékař do plánovacího CT kromě standardních struktur zakonturoval i substruktury srdce (pravá a levá komora, pravá a levá síň, systém koronárních cév) podle konturovacího atlasu a tím byl získán dávkově-objemový histogram doplněný o tyto substruktury. Kontroly při radioterapii byly prováděny minimálně 1x týdně a byla sledována akutní toxicita dle škály RTOG. Po ukončení radioterapie bylo provedeno funkčně-anatomické vyšetření srdce echokardiografií a EKG ke zhodnocení případných odchylek od vstupního vyšetření.

### Plán na rok 2022

V druhém roce řešení projektu je plánováno vyšetření experimentálních kardiomarkerů (GDF-15, TIMP-1, TIMP-2, sRAGE, Sclerostin) a převedení ozařovacích plánů z původních plánovacích systémů do nového (týká se celkem 20 pacientek). Po kompletizaci dat bude probíhat evaluace fyzikálních ozařovacích plánů a přiřazení dávek na myokard a jeho substruktury k rozdílným hodnotám kardiálních biomarkerů. Proběhne statistické zpracování shromážděných dat a příprava podkladů pro odborné publikace. V případě nalezení rizikové podskupiny bude ve spolupráci s kardiologem připravena další strategie péče o tyto pacientky.

## Seznam publikovaných výsledků

Vzhledem k probíhajícímu sběru dat zatím výsledky nelze prezentovat, pouze lze uzavřít, že aplikované dávky na srdce při adjuvantní radioterapii ca prsu 3D konformní radioterapií nepřesáhly doporučené dávkové limity.

---

### **32. Molekulární monitoring pacientů s pokročilými testikulárními germinálními nádory a jeho potenciální význam pro klinickou praxi**

Řešitel: doc. MUDr Tomáš Büchler, PhD, Onkologická klinika

Rok zahájení: 2021

#### Cíle projektu:

Analýza vícečetných nádorových vzorků pacientů s progredujícími testikulárními nádory, identifikace molekulárních a genomických aberací, které jsou asociované a mohou funkčně souviset s progresí nádoru a vznikem rezistence na chemoterapii.

#### Průběh prací:

Práce navazuje na předchozí projekt. Byla zavedená a optimalizovaná metoda masivního paralelního sekvenování (NGS) cirkulující volné nádorové DNA (cfDNA) a obtížně sekvenovatelných archivních parafinových vzorků (FFPE) na úrovni exomu. Do studie bylo postupně zařazeno 31 pacientů s pokročilým nebo relabujícím TGCT, s dostupnými vícečetnými vzorky (primární nádor, metastáza, cfDNA z vícečetných časových bodů, především z období progresu, germinální DNA jako kontrola), které se postupně zpracovávají. Probíhají komplexní analýzy vzorků, identifikace tumor-specifických aberací a tracing jejich vývoje během onemocnění a léčby. U tohoto typu nádorů většinou nejsou přítomné mutace v typických genech spojovaných se solidními nádory, ale identifikujeme tumor-specifické varianty ve více genech, s větším vývojem v průběhu nemoci v porovnání např. s kolorektálními nádory. Testujeme bioinformatické modely, které by spolehlivě detekovaly a monitorovaly tumor-specifické varianty.

#### Plán pro rok 2022:

Pokračuje zařazování pacientů a analýzy vzorků. Dále chceme zavést techniku extrakce mRNA z periferní plazmy a její NGS sekvenování na úrovni transkriptomu s cílem získat nádorově specifické signatures, které by dále přispěly k stratifikaci pacientů s testikulárními nádory.

#### Výstupy:

- Boublikova L, Zwyrtkova M, Skvarova Kramarzova K, Bakardjieva-Mihaylova V, Triska P, Rosova B, Kolostova K, Klezl P, Kindlova E, Zachoval R, Buchler T, Trka J. *The clinical impact of circulating free tumor DNA in testicular germ cell tumor patients*. Původní článek (zahrnuje i část výsledků předchozího projektu, submitováno do *Urologic Oncology*).