

Průběžná zpráva o čerpání institucionální podpory v roce 2022

Výše podpory - 15 099 972 Kč

Institucionální podpora poskytnutá Fakultní Thomayerově nemocnici v roce 2022 byla využita na úhradu nákladů spojených s 32 projekty vybranými na základě interní grantové soutěže.

Jednoleté projekty nebyly v roce 2022 realizovány.

Projekty ukončené v roce 2022 (včetně prodloužených do r. 2023 bez nároku na finanční podporu)

	Název projektu	Řešitel	Od	Typ projektu
1	Komplexní řešení nestabilního poranění distálního radia u dětí	MUDr. Lucián Zařko	2020	Interní soutěž, víceletý
2	Prevalence protilátek SARS-Cov-2 u zaměstnanců Thomayerovy nemocnice	MUDr. Klára Bořecká/ RNDr. Markéta Ibrahimová, Ph.D.	2020	Interní soutěž, víceletý
3	Zpřesnění diagnostiky neurodegenerativních onemocnění stanovením fyziologických norem proteinových biomarkerů v mozkomíšním moku a zavedením dalších vyšetření.	Ing. Magdalena Brůžová (Smětáková)	2020	Interní soutěž, víceletý
4	Využití amplikonového sekvenování k profilování genů zodpovědných za neurodegenerativní onemocnění metodou NGS (sekvenování nové generace)	MUDr. Nikol Jankovská	2020	Interní soutěž, víceletý
5	Kognitivní a emoční profil u dětí ve věku 3-10 let vystavených násilí a dalším traumatickým zkušenostem	PhDr. Markéta Hrdličková, Ph.D.	2020	Interní soutěž, víceletý
6	Klinická snášenlivost radioterapie u heterozygotů radiosenzitivních syndromů	MUDr. Radka Lohynská, Ph.D.	2020	Interní soutěž, víceletý
7	Porovnání komplikací a komfortu u PICC katétrů zavedených z různých žilních přístupů	MUDr. Oliver Kuchař	2020	Interní soutěž, víceletý
8	Vyšetření tělesného složení u pacientů s IBD na biologické léčbě metodami bioimpedance a kostní denzitometrie	MUDr. Natálie Friedová	2020	Interní soutěž, víceletý
9	Využití a význam hybridních zobrazovacích metod (PET-CT) v onkologii hlavy a krku	MUDr. Zuzana Krátká	2020	Interní soutěž, víceletý

Závěrečné zprávy projektů ukončených v roce 2022 (včetně prodloužených do r- 2023 bez nároku na finanční podporu)

1. **Komplexní řešení nestabilního poranění distálního radia u dětí**

Hlavní řešitel: MUDr. Lucián Zaťko

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

Řešení projektu: 2020 - 2023

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 řešení projektu:

Během řešení projektu byla studována a vypracována metodika osteosyntézy prográdního ESIN zlomenin distální metafýzy radia, včetně stanovení přesného operačního postupu a použitých implantátů. Metodika byla vypracována jako fýzu šetřící výkon k prevenci závažných komplikací v podobě poruch růstu, které byly pozorovány u jiných metod ošetření zlomenin distálního předloktí. Celkem bylo metodikou ošetřeno 39 pacientů. Dále byla v rámci projektu vyvinuta nová fýzu šetřící metoda ošetření fyzárních poranění distálního radia s palmární dislokací pomocí zavedení kanylovaného šroubu. Touto metodou bylo ošetřeno celkem 12 pacientů. Metodika prográdního ESIN byla prezentována na mezinárodním kongresu a obě metody byly představeny a vyučovány v rámci prestižního AO Trauma kurzu.

Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

Vývoj metodiky prográdního ESIN předloktí proběhl dle stanovaných cílů s výbornými výsledky. Celkový počet 39 pacientů představuje je vzhledem k četnosti poranění dostatečný a vyšší, než původně očekávaný a představuje soubor s dobrou výpovědní hodnotou. Nad rámec stanovaných cílů byla vyvinuta i nová metoda ošetření fyzárních poranění distálního radia s celkovým počtem 12 pacientů. Výsledky byly prezentovány na mezinárodních symposiích s kladným přijetím. Nedošlo dosud k předpokládané publikaci výsledků v zahraničním časopise s IF, kterou předpokládáme během následujícího roku.

Seznam publikací:

- 7th World Congress of Pediatric Surgery, Prague, Czech Republic (12.-15.10.2022) – přednáška Management of the fracture of distal diaphysis and metaphysis of the radius by growth plate protecting technique (Zaťko, Pešl, Čepelík, Havránek)
- AO Trauma - Managing Pediatric Musculoskeletal Injuries, Šamorín, Slovakia (23.-25.11.2022)

2. **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)

Řešení projektu: 2020 - 2022

Cíle projektu:

- 1) Nastavení algoritmu testování a výběr vhodných diagnostických souprav pro stanovení protilátek proti viru SARS-CoV-2.
- 2) Stanovení a vyhodnocení hladin protilátek jako epidemiologického markeru šíření nemoci covid-19 u zaměstnanců FTN, jakožto vysoce exponovaného pracoviště v době pandemie.

Průběh řešení projektu:

Pro srovnání nových metod na detekci protilátek anti-SARS-CoV-2 bylo vybráno 134 vzorků séra od 90 pacientů, zaměstnanců FTN a dárců konvalescentní plazmy (33 PCR-negativních a 57 PCR-pozitivních) s různým odstupem od začátku klinických symptomů (1–136 dní). Protilátky anti-SARS-CoV-2 byly simultánně vyšetřeny metodou ECLIA (Cobas e602) na OKB a dvěma metodami ELISA IgG a IgA (DSX) v IL. Výsledky byly statisticky zpracovány.

Následně od 30. června 2020 do 12. listopadu 2021 proběhly tři kola dobrovolného testování 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 byly vždy potvrzeny ELISA testem na stanovení protilátek proti spike proteinu anti-SARS-CoV-2 S ve třídě IgG (Euroimmun).

Ve třetím kole byli všichni zaměstnanci navíc testováni na přítomnost postvakcinačních spike 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). Celkem bylo změřeno 4 026 vzorků a bylo provedeno statistické vyhodnocení RNDr. V. Lánskou (IKEM).

Projekt byl schválen Etickou komisí IKEM+FTN.

Celkový počet změřených vzorků

0. kolo	1. kolo	2. kolo	3. kolo	CELKEM
červen 2020	30.6.–7.9.2020	11.12.2020–8.2.2021	13.9.–12.11.2021	
134 vzorků	808 vzorků	1 381 vzorků	1 703	4 026 vzorků

Výsledky řešení projektu v porovnání s nastavenými cíli:

U obou vybraných metod ECLIA a ELISA jsme našli vysokou míru shody (koeficient shody kappa 0,983), metody byly validovány pro sledování stavu protilátkové odpovědi po infekci SARS-CoV-2. Specifita i senzitivita byla velmi vysoká u obou testů, senzitivita narůstala s odstupem od začátku symptomů (SN 96,1 % při > 20 dnech od začátku příznaků, SP 100 %). Pro rychlý screening všech tříd protilátek byla vhodnější ECLIA metoda využívající vysoce imunogenní nukleokapsidový antigen. Ke confirmaci a následnému rozlišení IgA a IgG tříd pak bylo možné u pozitivních vzorků využít ELISA testy se spike proteinem. Tento test se stal také velmi užitečným po zavedení vakcinace pro stanovení postvakcinačních protilátek.

V prvním kole testování bylo zjištěno, že se virem SARS-CoV-2 infikovalo pouze 15 zaměstnanců, tj. 2 % všech testovaných. Většina měla sice těžší průběh onemocnění, ale nebyla hospitalizována. Většina osob s pozitivními protilátkami (n = 13) se nakazila virem SARS-CoV-2 na pracovišti po opakovaném kontaktu s pozitivními pacienty. Pouze jedna osoba měla pozitivní protilátky bez klinických příznaků.

Ve druhém podzimním kole mělo pozitivní protilátky 29 % testovaných a hospitalizovaných bylo již 13 z nich. Známý kontakt se SARS-CoV-2 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 mělo 21 % pozitivně testovaných, z toho necelá polovina nevěděla, že byla

virem infikována (negativní nebo neprovedený test PCR). 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 situace musela nemocnice při druhé vlně pandemie čelit.

Třetí kolo testování, které proběhlo po první vakcinaci, ukázalo vysokou proočkovanost zaměstnanců (92 %) a jen mírný nárůst nově infikovaných (7 %). Nejvyšší hladiny protilátek proti spike proteinu byly naměřeny po prodělané infekci v kombinaci s vakcinací. Vyšetření specifické T-buněčné imunity mělo pozitivní 87 % testovaných zaměstnanců.

Procentuální zastoupení pozitivních výsledků v jednotlivých kolech studie

Počet pozitivních	1. kolo	2. kolo	3. kolo
Anti-SARS-CoV-2 N	2 %	29 %	36 %
Anti-SARS-CoV-2 S	2 %	26 %	96 %
Buněčná imunita	nd	nd	87 %
Celkem účastníků	808	1 381	1 703

Závěry:

- Do podzimu 2021 prodělalo covid-19 ve FTN na základě stanovení protilátek proti nukleokapsidu 36 % zaměstnanců.
- Ve 2. i 3. kole jsme infekci SARS-CoV-2 jen na základě nukleokapsidových protilátek odhalili u přibližně 10 % probandů, kteří neměli onemocnění potvrzené pozitivním PCR testem.
- Jen velmi malý počet zaměstnanců byl kvůli onemocnění covid-19 hospitalizován.
- Většina účastníků 3. kola byla vakcinována (92 %) s prokázanou humorální i buněčnou odpovědí.
- Kombinace prodělaného onemocnění a očkování navozuje nejvyšší protilátkovou i buněčnou odpověď.

Původní cíle studie byly splněny a projekt byl rozšířen o sledování dynamiky protilátek, stanovení postvakcinačních protilátek a buněčné imunity.

Výstupy:

zahraniční publikace:

články v impaktovaných časopisech:

- Ibrahimová M., Jamriková V., Bořecká K.: Nucleocapsid antibodies as a serological marker of SARS-CoV-2 infection: logitudinal study in the Thomayer University Hospital staff. *J Clin Lab Anal.* (příprava k odeslání), IF = 3,124

domácí publikace:

články v impaktovaném časopise:

- Ibrahimová M., Jamriková V., Sojka P., Khaznadar Z., Bořecká K.: Prevalence protilátek proti SARS-CoV-2 u zaměstnanců Fakultní Thomayerovy nemocnice po první vlně covid-19. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2022; 71(1): 3–8. IF = 0,444

články v recenzovaném časopise:

- 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.* 2021; 29(1): 19–24.

- Ibrahimová M., Jamriková V., Bořecká K.: Prevalence protilátek proti SARS-CoV-2 a buněčná imunita u zaměstnanců Fakultní Thomayerovy nemocnice v průběhu pandemie covid-19. Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL, 2022; 19(S1): 13–14.
- Ibrahimová M., Jamriková V., Bořecká K.: Prevalence protilátek a buněčná imunita proti SARS-CoV-2 u zaměstnanců Fakultní Thomayerovy nemocnice Praha v průběhu pandemie covid-19. Alergie, 2022; 24(S1): 102.

Přednášky:

- Ibrahimová M.: Prevalence protilátek proti SARS-CoV-2 a buněčná imunita u zaměstnanců Fakultní Thomayerovy nemocnice v průběhu pandemie covid-19 - XXVII. setkání pneumologů a IX. setkání pneumologů a pneumochirurgů, 2.6.2022, Emauzský klášter Praha
- Ibrahimová M., Bořecká K.: Jak se náš imunitní systém setkal s virem SARS-CoV-2 - zhodnocení studie Prevalence protilátek u zaměstnanců FTN (prezentace výsledků studie zaměstnancům FTN), 14.12.2022, FTN

Postery:

- Ibrahimová M., Jamriková V., Bořecká K.: Prevalence protilátek a buněčná imunita proti SARS-CoV-2 u zaměstnanců Fakultní Thomayerovy nemocnice Praha v průběhu pandemie covid-19. - XXXIX. sjezd českých a slovenských alergologů a klinických imunologů a XVIII. kongres českých a slovenských imunologů, 5.–8.10.2022, Praha

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

Řešitelé: Ing. Magdalena Brůžová

Spoluřešitelé: prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D., doc. MUDr. Robert Rusina, Ph.D., doc. Ing. Jaromír Kukul, Ph.D., Mgr. Halyna Pidhorodetska

Řešení projektu: 2020 -2022

Anotace:

Diferenciální diagnostika neurodegenerativních onemocnění je, i přes stále se zlepšující vyšetřovací metody, v některých případech složitá a definitivní diagnóza je s jistotou určena až post mortem. Naše laboratoř se dlouhodobě zabývá stanovením neurodegenerativních markerů v mozkomíšním moku (CSF), nicméně dále rozšiřuje spektrum stanovovaných proteinů, které výrazně zkvalitní diagnostiku neurodegenerací. Pro správnou reprodukci výsledků je však nezbytné v laboratoři vytvořit vlastní fyziologické normy.

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 β 40, dále pak stanovení koncentrací NfL, progranulinu a TDP-43

Průběh řešení projektu:

- Metodou ELISA byly v CSF stanoveny koncentrace vybraných markerů neurodegenerativního procesu (celkový a fosforylovaný tau protein (h-tau a p-tau), β -amyloid 42 (A β 42), TAR DNA vazebný protein-43 (TDP-43), progranulin (PGRN) a lehké řetězce neurofilament (NfL) ve vzorcích pacientů s neuropatologicky potvrzenými neurodegeneracemi (Creutzfeldtova-Jakobova nemoc – CJD, Alzheimerova nemoc – AD, frontotemporální lobární degenerace – FTLD, nemoc s Lewyho tělísky – DLB), které byly statisticky vyhodnoceny.
- Koncentrace p-tau naměřené metodou ELISA původní a novou diagnostickou soupravou byly statisticky vyhodnoceny a došlo k aktualizaci fyziologických hodnot výsledků vydávaných laboratoří. Zároveň byla rozšířena původní kohorta, fyziologické normy tudíž byly mírně upraveny i u dalších analytů, které se v laboratoři rutinně stanovují (h-tau, A β 42).
- Analýza přítomnosti 14-3-3 proteinu různými protilátkami pomocí metody western blot ve vzorcích pacientů později zemřelých na CJD nebyla prozatím dokončena, objevují se rozporuplné výsledky, které bude třeba ověřit dalšími postupy.

Výsledky:

- Na základě získaných výsledků byla v recenzovaném zahraničním časopise Scientific Reports v květnu 2021 publikována práce porovnávající hladiny současných i nově navržených markerů u vybraných neurodegenerací. Vyšetření CSF metodou ELISA ukázalo, že přidání nově navrhovaných markerů, především TDP-43 a 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 β 42 je u AD signifikantně vyšší a může ji odlišit od ostatních neurodegenerací lépe než hladina A β 42. Poměr PGRN/t-tau je u FTLD-tau signifikantně vyšší než u ostatních onemocněních. Zároveň byla porovnáním hladin t-tau, p-tau a A β 42 verifikovány dříve publikované poznatky – snížená hladina A β 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. Specifita 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 od jednoho výrobce byla do rutinního provozu zařazena nová diagnostická souprava. Nové normy jsou zároveň předmětem dopisu redakci České a slovenské neurologie a neurochirurgie (ČSNN), jenž byl v listopadu 2022 přijat k publikaci.
- Podstatný nárůst negativních výsledků stanovení přítomnosti 14-3-3 proteinu v CSF u později neuropatologicky potvrzených případů CJD v roce 2021 vedl k úpravě zaběhnutého postupu výměnou detekční protilátky jiného výrobce. Bylo zjištěno, že dříve používaná protilátka nebyla dostatečně citlivá, čímž došlo ke snížení specifity testu. Výsledky byly ověřeny dalšími protilátkami od různých výrobců, které potvrdily výše uvedené. U jednotlivých protilátek však dochází k rozporům v síle signálu (slabá vs. silná pozitivita). Bylo by jistě zajímavé ověřit přítomnost proteinu, resp. jeho zastoupení ve vzorcích, metodou ELISA, kdy dostaneme přesnou koncentraci proteinu v jednotlivých vzorcích.

Výsledek řešení projektu v porovnání s nastavenými cíli:

- 1) Vzhledem k tomu, že a) podstatná část studie probíhala za pandemie COVID-19, kdy došlo k omezení provozu neurologického oddělení, a b) po obnovení plného provozu nebyl dostatečný zájem stran pacientů, jejichž vzorky by byly vhodné pro stanovení fyziologických norem rutinně stanovovaných biomarkerů u pacientů mladších 55 let, nebylo získáno dostatečné množství vzorků. Nicméně se nám podařilo aktualizovat fyziologické normy pro pacienty starší 55 let rozšířením kohorty, na základě toho byl

sepsán dopis redakci ČSNN, kde je o nových fyziologických normách pro naši laboratoř informovaná odborná veřejnost.

- 2) Tento cíl se podařilo splnit. Výsledkem je již výše zmíněná publikace v zahraničním recenzovaném časopise, což svědčí o přínosu našeho výzkumu v této problematice.
- 3) Tento cíl se zatím naplnit nepodařilo. I když jsme (viz bod 2)) získali zajímavé výsledky, pro zavedení navržených markerů pro zpřesnění diagnostiky bude nicméně potřeba ověřit získaná data na širším vzorku pacientů a zároveň stanovit fyziologické normy na velkém souboru kontrolních vzorků.

Výstupy:

- 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 May 25;11(1):10837. doi: 10.1038/s41598-021-90366-5. PMID: 34035398; PMCID: PMC8149718. IF 4,996 (2021)
- Bartoš A., Brůžová M., Fialová L.: Hraniční koncentrace likvorového tripletu tau proteinů a beta-amyloidu 42 v diagnostice Alzheimerovy nemoci a dalších neurodegenerativních demencí, *Cesk Slov Neurol N* (v tisku). IF 0,411 (2021)

4. Zavedení amplikonového 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.

Řešení projektu: 2020 -2022

Anotace:

Diagnóza a klasifikace neurodegenerativních chorob byla dříve založena na klinické manifestaci a věku pacienta při začátku onemocnění. Navíc se předpokládalo, že neurodegenerativní choroby se vyskytují jako samostatné jednotky. Dnes ovšem víme, že neurodegenerativní procesy jsou mnohdy vyvolány koexpresí různých patologických proteinů a jediným možným způsobem, jak konkomitantní působení více entit odhalit, je neuropatologické vyšetření post mortem. Klinická diagnóza je pak následným vyšetřováním doplněna nebo zcela přehodnocena až u 35 % pacientů.

Zároveň je známo, že při vzniku a vývoji neurodegenerativních onemocnění hraje významnou roli genetická komponenta. Obecně lze tvrdit, že mutace mají za následek extra- či intracelulární akumulaci agregátů patologických proteinů, což v dalším kroku vede ke ztrátě specifických skupin neuronů a vyvolání klinických obtíží. U Alzheimerovy choroby (AD) jsou popsány tři vysoce penetrující geny s autozomálně dominantní dědičností a tedy teoretickým 50% rizikem pro další generace (amyloid precursor protein – APP, presenilin 1 – PSEN1, presenilin 2 – PSEN2). Do středu zájmu se dostávají i další geny zvyšující riziko např. cestou zhoršené clearance, zvýšené agregability amyloidu beta (A β) či indukce hyperfosforylace tau proteinu, což platí pro apolipoproteinu E – APOE nebo gen SORL1 ovlivňující mj. APP.

U prionopatií dochází k ovlivnění fenotypu polymorfismy na kodonu 129 genu PRNP kódujícího methionin (M) a valin (V), s dalším rozlišením patologicky konformovaného prionového proteinu (PrP^{Sc}) na typ 1 a 2 dle velikosti jádra rezistentního vůči působení proteáz. K tomu známe více jako 50 mutací majících vliv na zahájení čtecího rámce genu PRNP.

Jelikož se výše zmíněná AD, ale také primary age-related tauopathy (PART) či ageing-related tau astroglipathy (ARTAG) běžně vyskytují jako souběžné patologie u pacientů s diagnózou CJD, je na místě otázka, zda pouze dochází k ovlivnění na molekulární úrovni vzájemnou inducibilitou, nebo lze navíc vysledovat různý rozsah postižení při odlišných polymorfismech a genových mutacích. Byť se

jedná o problematiku prozkoumanou jen marginálně, recentní výzkumy již existenci jistých odlišností nastínily. U pacientů s genetickou variantou CJD (gCJD) s mutací V210I je popisováno rozsáhlejší postižení depozity A β i tau proteinu. V některých zahraničních pracích je také popisováno signifikantně nižší postižení neurofibrilárními klubky (NFTs) u subtypů CJD VV2 a MV2K při s ostatními subtypy srovnatelném postižení depozity A β .

U pacientů s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS), u nichž dochází k hromadění inkluzí patologického proteinu v motoneuronech předních rohů míšních, jsou popisovány kauzativní mutace v genech SOD1 pro Cu/Zn superoxid-dismutázu, MAPT, GRN, TARDP či FUS. Ve spojitosti s touto neurodegenerativní chorobou je třeba jmenovat i gen C9orf72, jehož expanze v GGGGCC má stejné důsledky jako mutace TARDP. Ovšem vzhledem k faktu, že nejde o bodovou mutaci, ale expanzi, musí být detekována pomocí repeat-primer PCR a fragmentační analýzy. Vzhledem k významnému genetickému překryvu ALS a frontotemporální lobární degenerace (FTLD) jsou sledovány identické mutace i u druhé jmenované choroby. A nakonec neméně důležitá Parkinsonova choroba může být spojena s autozomálně dominantně (LRRK2, SNCA) i recesivně (PARK2) dědičnými mutacemi genů, jejichž následkem dochází k ukládání α -synukleinových Lewyho tělísek zapříčiňujících ztrátu pigmentových neuronů v substantia nigra a locus coeruleus.

Cíle projektu:

1. Navržení neuro-brain diseases (NBD) panelu obsahujícího minimálně 15 genů pro sekvenování nové generace (NGS).
2. Navržení primerů pro jednotlivé amplikony nesoucí adaptorovou sekvenci podle přímo zvolené sekvenační platformy.
3. Navržení multiplexového identifikátoru (MID) pro odlišení jednotlivých vzorků sekvenovaných dohromady v jednom běhu sekvenátoru.
4. Optimalizování PCR podmínek a příprava primermixů pro jednotlivé amplikony.
5. Vytvoření mixačního schématu pro všechny multiplex PCR pro finální sekvenování.
6. Cíle po zavedení a optimalizaci metody
7. Analýza genů ovlivňujících patogenezu AD, PD, FTLD a ALS.
8. Analýza genů ovlivňujících patogenezu konkomitantních proteinopatií u pacientů s sCJD (tj. AD, PART, ARTAG) obsahujících jednak depozita patologického prionového proteinu, jednak A β a patologického tau proteinu.
9. Analýza dosud neidentifikované susceptibility (ochranný faktor nebo protektivní alely), bránící v tvorbě dalších depozit v mozcích jedinců s prionopatií.
10. Určení frekvence minoritních alel (MAF \leq 1%) a vyloučení sdílené varianty (>5 pacientů) z důvodu nepravděpodobné patogenity.
11. Validace nalezených variant Sangerovým sekvenováním.

Průběh řešení projektu:

- Většina vybraných vzorků byla zpracována a vyhodnocena
- NGS panel byl optimalizován a je vyhovující pro potřeby laboratoře
- Metoda byla řádně validována a splnila podmínky pro akreditaci

Výsledek řešení projektu v porovnání s nastavenými cíli:

- a) navržený neuro-brain panel byl rozšířen na 118 genů za využití platformy Illumina DNA Prep with Enrichment. Následně bylo provedeno sekvenování nové generace (NGS) na přístroji NextSeq 550/550Dx.
- b) bioinformatická analýza dat byla optimalizována pomocí Sotwaru Genovesa k potřebám laboratoře a splnila podmínky pro akreditaci.
- c) metoda byla zavedena do nabízených laboratorních vyšetření PAT a je evidována pod akreditační značkou SOPV-540-21 Analýza genetických alterací pomocí masivně paralelního

sekvenování (NGS), metody s využitím flexibilního rozsahu jsou uvedeny v příloze č. 4
Laboratorní příručky LP-540-01

- d) hodnocení 118 genů asociovaných s různými formami neurodegenerativního onemocnění odhalilo patogenní a pravděpodobně patogenní varianty, které by vysvětlovaly neurologické potíže u pacienta. Dále byly nalezeny sekvenční varianty, které na základě současných poznatků nemají vliv na predispozici k neurologickým onemocněním anebo nebyly v databázích popsány. Tyto změny jsou vedeny v laboratorních systémech a jejich klinický význam je pravidelně retrospektivně přezkoumáván na žádost lékaře.

Výstupy za dobu řešení projektu:

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)
6. Biomarkers Analysis and Clinical Manifestations in Comorbid Creutzfeldt-Jakob Disease: A Retrospective Study in 215 Autopsy Cases. Jankovska N, Rusina R, Keller J, Kukal J, Bruzova M, Parobkova E, Olejar T, Matej R. *Biomedicines*. 2022 Mar 16;10(3):680. doi: 10.3390/biomedicines10030680.

Přednášky, poster:

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 Kukal, Magdalena Brůžová, Eva Parobková, Tomáš Olejář, Radoslav Matěj. A clinical-neuropathological retrospective study of 215 cases of Creutzfeldt-Jakob disease 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.

5. 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

Řešení projektu: 2020 -2022

Anotace:

V České republice není dosud běžnou praxí pohlížet na problematiku násilí jako na zdravotní problém. Na základě řady zahraničních studií realizovaných během posledních dvaceti let došlo k zásadní změně paradigmatu a násilí bylo deklarováno jako závažný zdravotní problém, který významně přispívá ke snížení průměrné délky života a významně zvyšuje riziko rozvoje některých závažných onemocnění (některá onkologická onemocnění, kardiovaskulární onemocnění apod.).

Thomayerova nemocnice je první nemocnicí v ČR, kde se od roku 2015, díky finančním prostředkům poskytnutým v rámci tzv. Norských fondů, systematicky věnujeme násilí a traumatickým událostem a jejich vlivu na celkový psychický stav dítěte. Jedním z důležitých výstupů byla standardizace dotazníku Hodnocení traumatických symptomů u malých dětí (TSCYC), která proběhla v průběhu roku 2017 a následně byla tato metoda vydána u nakladatelství Hogrefe-Testcentrum (2018). Jedná se o standardizovanou metodu, která stanovuje pravděpodobnost přítomnosti PTSD (posttraumatická stresová porucha) u malých dětí (3-12 let).

Aby byla péče o traumatizované dítě skutečně komplexní, musí zahrnovat jednak přesnou diagnostiku a jednak správné nastavení další léčby (psychoterapie, psychiatrie). V současné době můžeme konstatovat, že nesprávná diagnostika u traumatizovaných dětí s PTSD je poměrně častá a tento fakt velmi často oddaluje, případně znemožňuje včasnou a správně zacílenou léčbu.

Komplexní klinicko-psychologická diagnostika se zaměřuje na stanovení kognitivního a sociálně emočního profilu, který není u mladších traumatizovaných dětí v České republice dosud podrobně zhodnocen. Na úspěšnost léčby má rovněž zásadní vliv poradenská a terapeutická podpora celé rodiny a mezioborová spolupráce (škola, školka, OSPOD apod.).

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.
- standardizace TSCC, R-CMAS 2
- prezentace výsledků na vybrané konferenci.

Průběh řešení projektu:

V rámci výzkumu jsme sledovaly dvě základní skupiny dětí: ty, které byly prokazatelně vystaveny násilí nebo jiné traumatické zkušenosti a ty, které tuto zkušenost v anamnéze nemají. Nasbírali jsme vzorek celkem 160 dětí (80 traumatizovaných a 80 netraumatizovaných) v předem stanovené věkové kategorii. Můžeme konstatovat, že ve shodě se studii realizovanými v zahraničí, traumatické

zkušenosti negativně ovlivňují jak kognitivní profil dětí, a tedy mají negativní dopad na jejich akademický výkon, tak negativně ovlivňují jejich socioemoční vývoj, ve smyslu snížených schopností navazovat adekvátní vrstevnické vztahy a představují do budoucna potencionální riziko rozvoje hlubší psychopatologie.

V rámci projektu se nám podařilo naplnit stanovený cíl, a to standardizovat metody, které přispívají k včasnému záchytu potencionálně traumatizovaných dětí a které dosud v českém prostředí chyběly: **TSCC-hodnocení traumatických symptomů u dětí**, Praha Hogrefe, 2022 a **R-CMAS 2 Revidovaná dětská škála zjevné úzkosti**, Praha Hogrefe 2022.

Výsledky plánujeme prezentovat na letošní konferenci ve FTN v listopadu 2023.

6. 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).

Řešení projektu: 2020 -2022

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 očekávatelné toxicity či zda jsou zásadně vyšší a je vhodné snížení celkové dávky záření či úprava frakcionace. Srovnání dotazníků kvality života s publikovanými daty.

Průběh řešení projektu:

Během studie bylo v radioterapeutické ambulanci identifikováno a zařazeno 34 pacientek/pacientů, kteří podstoupili radioterapii a mají prokázanou germinální mutací genu pro reparaci DNA (6x CHEK2, 5x ATM, 5x geny Fanconioho anémie (FANCF, I, M, J-BRIP a O-RAD51), 4x NBN, 5x MUTHYH, 3x BLM, 2x geny pro Xeroderma pigmentosum (ERCC 3), 2x SBDS, 3x 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 a nebyla u nich hodnocena kvalita života, jen retrospektivně případná přítomnost poradiační reakce dle klinické dokumentace.

Pacienti/pacientky po seznámení s cíli studie a po podepsání informovaného souhlasu klinicky vyšetřeni/y (se zaměřením na hodnocení případných poradiačních reakcí) a byl vyplněn dotazník kvality života EORTC. U nově příchozích probíhalo prospektivní sledování akutní (během záření) a pozdní poradiační reakce v odstupu 6-12 měsíců. U pacientů s radioterapií v minulosti byly hodnoceny pozdní reakce minimálně s 12 měsíčním odstupem. 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.

Během radioterapie nebyla retrospektivně, ani prospektivně zaznamenána akutní toxicita grade 3 či vyšší. Pozdní poradiační reakce byla u všech kromě 1 pacientky mírná stupně grade G0-G1. U 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 G2 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 průběhu řešení projektu byla na kongresu Prague Onco a na Brněnských onkologických dnech prezentována kasuistika pacientky s mutací rs879254095 v genu ATM a zvýšenou poradiační pozdní reakcí.

Bylo vypracováno přehledné doporučení pro radioterapii pacientů s vrozeným rizikem zvýšených poradiačních reakcí u nejčastějších v ČR se vyskytujících mutací radiosenzitivních syndromů v článku publikovaném v 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, v literatuře bylo publikováno několik případů pacientů s různými heterozygotními mutacemi v genu ATM a zvýšenou poradiační toxicitou. 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, pouze je vhodné před zahájením léčby projít genové databáze (Clinvar, Varsome...), zda u konkrétní mutace není popsáno výskytu zvýšené poradiační reakce.

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) a to i u pacientů s výskytem pozdní poradiační reakce.

V porovnání s nastavenými cíli chybí k dokončení projektu přijetí článku k publikaci v impaktovaném časopisu, článek je připraven.

Výstupy za rok 2022:

- Lohynská R, Pechačová Z, Mazaná E, Čejková J, Nováková-Jirešová A, Hornová J, Langová M. Radiotherapy and radiosensitivity syndromes in DNA repair gene mutations. Klin Onkol. 2022 Spring;35(2):119-127. English. doi: 10.48095/ccko2022119. PMID: 35459336.
- Lohynska R, Mazana E, Cejkova C, Novakova-Jiresova A, Hornova J, Boublikova L, Pala M, Pechacova Z, Kozevnikovova R, Oplustilova A, Langova M. Heterozygous carriers of DNA damage repair gene mutations and quality of life after adjuvant radiotherapy for breast cancer. (v recenzním řízení)

7. Porovnání komplikací a komfortu u PICC katétrů zavedených z různých žilních přístupů

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

Řešení projektu: 2020 -2022

Vzhledem k již dohodnuté přednáškové aktivitě a plánované publikační činnosti v roce 2023 bude řešení projektu prodlouženo do r. 2023 bez nároku na finanční podporu.

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.

Průběh řešení projektu:

V prvních dvou letech studie docházelo k postupnému nabírání klientů. V poslední roce projektu proběhlo zejména vyhodnocení získaných dat s následnou přípravou odborné publikace.

Výběr mezi „klasickou“ a „off label“ metodou určoval lékař (dle doporučených postupů) a to s ohledem na preferenci pacienta. Každý pacient byl zkontrolován do 1 týdne od zavedení PICC katétru, poté minimálně jednou za půl roku, či při jakékoliv komplikaci nebo ukončení léčby. Otázka komfortu byla s pacientem probrána jednorázově s časovým odstupem několika měsíců (max. ½ roku) od zavedení katétru. Tuto veličinu hodnotíme škálou spokojenosti od 1 do 5 (1 - výborná spokojenost).

Hodnotili jsme následující komplikace: pneumotorax, hemotorax, chylothorax, vzduchová embolie, nemožnost zavedení PICC, punkce tepny, trombosa, krvácení, flebitida, lokální infekce, katéetrová sepse, obturace katétru, perforace katétru, dehiscence operační ranky, samovolné povytažení a spontánní vytažení PICC.

Indikace k explantaci katétru: okluze systému, katéetrová sepse, ruptura katétru, výslovné přání pacienta a ukončení léčby.

Do projektu jsme celkem zařadili 34 pacientů, z toho 26 pacientů bylo zařazeno do skupiny se zavedenými PICC katétrů cestou pažních žil. Tento výrazný početní rozdíl mezi skupinami je dán preferencí pacientů ke „klasické“ metodě zavádění PICC katétrů. U pacientů s „klasickou“ cestou zavádění PICC katétrů se vyskytla 1,25 infekční komplikace/1000 katetrizačních dní a 0,625 trombotické komplikace/1000 katetrizačních dní. Naproti tomu ve skupině s „off label“ zavedenými PICC katétrů se vyskytla 0,66 infekční komplikace/1000 katetrizačních dní a žádná trombotická komplikace.

Výsledek řešení projektu v porovnání s nastavenými cíli:

Hypotézy:

1. Při zkušeném kanyláčnickém týmu je riziko komplikací srovnatelné.

Výsledek studie: Výskyt všech komplikací (trombotické, infekční a jiné) je vyšší u „klasické“ metody zavádění PICC katétrů.

2. Zavedení PICC katétru cestou „off label“ přináší lepší komfort pro pacienta.

Výsledek studie: Komfort pacientů je v obou skupinách srovnatelný.

Plán na rok 2023:

Přednášková činnost – Mezinárodní vědecká konference SPPK.

Publikační činnost – odborný článek v přípravě.

8. *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

Řešení projektu: 2020 -2022

Anotace projektu:

Trendem léčby v posledních dvaceti letech je u pacientů s idiopatickými střevními záněty (IBD) biologická léčba. Pacienti jsou dispenzarizováni ve specializovaných centrech, jedno z center funguje i v Thomayerově nemocnici na Interní klinice 3.LF UK a FTN. V České republice jsou nejužívanějšími preparáty monoklonální protilátky proti tumor nekrotizujícímu faktoru α a protilátky proti intergrinovým receptorům $\alpha 4\beta 7$. Tělesné složení u pacientů s IBD se mění v závislosti na trvání nemoci, zánětlivé aktivitě, komplikacích a léčebné modalitě. Recentní studie prokázaly vliv biologické léčby na tělesné složení pacientů. Pomocí antropometrie, bioimpedance, DEXA jsme schopni přesně analyzovat tělesné složení pacientů. Tento fakt by mohlo vézt v budoucnosti k personalizaci terapie a zefektivnění účinku podané biologické léčby.

Cíle projektu:

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.

Hypotézy:

1. U pacientů s akutní exacerbací IBD dojde ke snížení aktivní svalové hmoty.
2. Bude docházet ke zvýšení svalové hmoty v průběhu léčby zánětu,
3. Anti-TNF alfa ovlivní míru zánětu svalové hmoty a k úpravě svalové hmoty bude docházet rychleji.
4. Tělesné složení vyšetřené pomocí bioimpedance za standardních podmínek bude odpovídat zlatému standardu, to znamená vyšetření duální absorpciometrií (DEXA).

Metodika:

Interní klinika 3.LF UK a TN se specializuje na léčbu idiopatických střevních zánětů. Na naší klinice je rovněž Centrum pro biologickou léčbu. Lékaři mají zkušenost s péčí o pacienty, jak ambulantními, tak hospitalizovanými, v léčbě aktivního onemocnění, přípravě k chirurgickým výkonům, léčbě komplikací. U pacientů s IBD bylo plánováno se zaměřit na měření aktivity zánětu – formou laboratorního a klinického vyšetření včetně indexů, endoskopické i histologické aktivity onemocnění. Tělesné složení pacientů bylo porovnáno pomocí dvou metod – DEXA a bioimpedance.

Denzitometrie – DEXA dual-emission X-ray absorptiometry, je vyšetření vycházející z charakteristické schopnosti jednotlivých tkání pohlcovat v různé míře záření o rozličných vlnových délkách. Ozářením tkáně dvěma fotony o různých délkách a výpočtu jejich absorpce tak lze celkem dobře zjistit složení dané tkáně. Při opakovaném měření lze pak určit případný vývoj v čase. Vyšetření dokáže podat přehled o denzitě kostní tkáně, množství tuku či svalové hmoty v jednotlivých částech těla. Vyšetření se provádí jednou ročně, s vybranými zónami zájmu v tomto případě jistě TBLH (celé tělo bez hlavy), Lp (oblast L1-4 páteře), a oblast pF (horní část kosti stehenní – oboustranně. Provedeno bylo vstupní a následné vyšetření v ročních intervalech. Vyšetření bude prováděno na přístroji – LUNAR- iDEXA od firmy GE.

Bioelektrická impedanční analýza (BIA) je metoda užívaná pro odhad tělesného složení, zejména podíl tělesného tuku (FM – fat mass) a netukové (libové) tělesné hmoty (FFM – fat free mass, BM – lean body mass), kterou tvoří především svalstvo. Principem dané metody je průtok slabého elektrického proudu tělem pacienta. Měřeno je napětí, za účelem výpočtu impedance (odporu) těla. V lidském těle je uložena většina vody ve svalovém aparátu. Pokud má pacient vyšší podíl svalové

hmoty, má větší podíl tělesné vody. To vede k nižší impedanci. Naměřenou elektrickou impedanci nebo opozici vůči toku elektrického proudu tkáněmi tělními lze následně využít k odhadu obsahu celkové tělesné vody (TBW), kterou lze použít k odhadu netukové tělesné hmoty, v porovnání s celkovou tělesnou hmotností, a celkové tělesné tukové hmoty.

Pro laboratorní analýzu bylo z našeho pohledu významné sledování - urea, kreatinin (monitorace renálních poměrů), Ca, P, Mg, ALP (monitorace vlastního Ca/P metabolismu), Vit D (vhodné doplnění Ca/P metabolismu), CRP, KO + diferenciál (laboratorní parametry zánětu), CDAI, CDIES (Crohnova choroba – hodnocení aktivity zánětu), Mayo kritéria (ulcerózní kolitida – hodnocení aktivity zánětu), albumin, CB (laboratorní odběry zaměřené na stav výživy).

Postup prací:

Celkem 135 pacientů s IBD bylo vyšetřeno metodami DXA a BIA. Tělesné složení bylo měřeno za standardizovaných podmínek ráno po 12hodinovém hladovění pomocí DXA (GE Lunar iDXA) a BIA (mBCA Seca 515). Byly provedeny Pearsonovy korelace. Bland-Altmanova analýza byla použita k nalezení středního vychýlení a mezí shody mezi referenčním standardem (DXA) a dvojitě nepřímou metodou (BIA) pro hodnoty Fat Free Mass (FFM – beztukové hmoty) a Fat Mass (FM – tukové hmoty).

Výsledky v průběhu řešení projektu:

Hodnoty FFM získané pomocí DXA a BIA silně korelovaly ($r = 0,98$, $p < 0,001$, Pearsonova korelace). Podobná korelace byla pozorována pro FM ($r = 0,96$, $p < 0,001$). Bland-Altmanův graf ukázal průměrnou odchylku \pm SD mezi DXA a BIA pro FFM jako $1,53 \pm 2,31$ kg, hranice shody byly $+6,05$ a $-2,99$. Meze shody však byly velké pro hodnoty FFM i FM.

Podle předběžných výsledků bylo u významné části pacientů s IBD zařazených do studie ve srovnání se zdravou populací identifikováno změněné složení těla, charakterizované: sníženým SMM (63 %), zvýšeným viscerálním tukem (VAT) (58 % žen, 57 % mužů) a snížením BCM (71 %).

Předběžné výsledky naznačují, že metody DXA a BIA vykazují srovnatelné zkreslení v hodnocení tělesného složení ve skupině pacientů s IBD, jak je uvedeno ve velkých kohortových studiích. V průměru BIA nadhodnotila FFM o 1,53 kg oproti DXA.

Výsledek řešení projektu v porovnání s nastavenými cíli:

Průběh studie byl komplikován epidemií COVID 2019. Oproti předpokládaným cílům došlo k menšímu množství vyšetření a vzhledem k tomuto faktu k větší časové prodlevě. Vzhledem k protražované době sběru dat byla posunuta doba plánované publikace výsledků, a i jejich prezentace na konferencích.

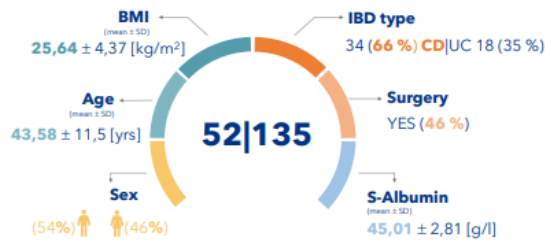
Seznam publikovaných výsledků v roce 2022:

- COMPARISON OF BODY COMPOSITION ASSESSMENT BY DXA AND BIA IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE ON BIOLOGICAL THERAPY: PRELIMINARY RESULTS; M. Kollerová, I. Pražanová, N. Friedová, J. Běhounek, P. Kohout – poster – ESPEN 2022 Vienna (European Society for Clinical Nutrition and Metabolism) – abstrakt bude publikován v Clinical Nutrition (ESPEN)

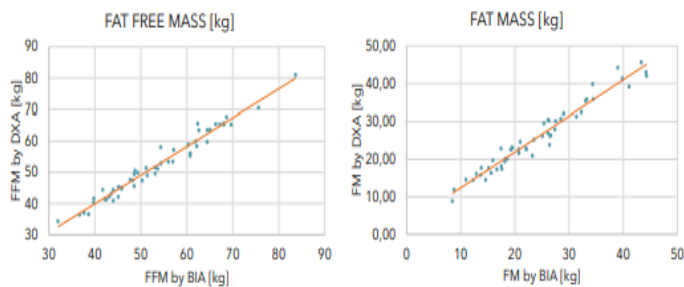
Příloha (publikované grafy s výsledky)

METHODS

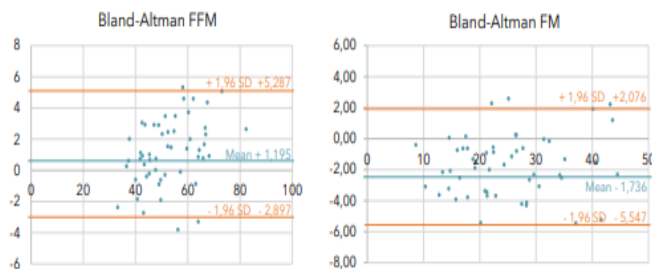
- A total of 135 IBD patients from the Centre for Biological Therapy of the Internal Medicine Clinic are examined by DXA and BIA.
- Body composition is measured under standardized conditions in the morning, after a fasting period of 12 hours, by DXA (GE Lunar iDXA) and BIA (mBCA Seca 515).



- **Values of FFM obtained by DXA and BIA were strongly correlated** ($r = 0.983$, $p < 0.001$, Pearson correlation). Similar correlation was observed for FM ($r = 0.977$, $p < 0.001$).



- Bland-Altman plot showed the **mean bias \pm SD between DXA and BIA for FFM as 1.19 ± 2.09 kg**, the limits of agreement were $+5.29$ and -2.90 . However, limits of agreement were large for both FFM and FM values.



9. **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

Řešení projektu: 2020 -2022

Anotace projektu:

70 až 80% nádorů ORL oblasti je diagnostikováno v pokročilých stadiích, kdy stoupá riziko vzdálených metastáz. Pokročilejší diagnostické metody jako je PET/CT, které v jednom diagnostickém kroku zobrazuje primární nádor, spádové lymfatické uzliny, event. vzdálené metastázy či duplicitní nádory by výrazně napomohly v péči o tyto pacienty. Metodu ale limituje vysoká radiační zátěž, falešná pozitivita a nadhodnocení velikosti tumoru. Tento projekt testuje použitelnost vyšetření a jeho využitelnost pro staging a dále se pokouší zhodnotit využitelnost volumetrického měření nádoru jakožto zpřesňujícího prognostického faktoru a jeho využitelnost pro staging.

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 v průběhu řešení projektu:

- 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.
- Publikace článku v zahraničním periodiku.

Výsledky:

Z výsledků můžeme potvrdit vysoký význam PET/CT v hodnocení vzdálených metastáz u pokročilých karcinomů hlavy a krku (sensitivity 96,6 %, specificita 87 %, negativní prediktivní hodnota 99,3%). Vyšetření poskytuje celotělový staging v jednom kroku, proto také výrazně urychluje diagnostický proces. Snímky z PET/CT navíc následně mohou být využity onkology pro případnou pooperační radioterapii. 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 32 % případů a v tom smyslu je vyšetření výrazně více výtěžné než ostatní zobrazovací metody. Na druhou stranu vede často k nadhodnocení klinického nálezu, a to obzvláště ve skupině pacientů s malými nádory (T1 a T2), u hodnocení metastáz do krčních lymfatických uzlin a u HPV pozitivních karcinomů orofaryngu. Výše uvedené výsledky byly zpracovány a byl sepsán článek, který byl přijat v zahraničním periodiku (Polish Journal of Otolaryngology). Výsledky z volumetrického vyšetření jsou dále vyhodnocovány a doposud zpracovaná data se jeví jako nadějná pro zpřesnění vyšetření, definitivní zhodnocení a sepsání článku je v plánu v příštím roce, tudíž až po skončení období institucionální podpory.

Publikované výsledky v roce 2022:

- Kratka Z., Paska J., Kavka A., Jaruskova M., Lohynska R., Lickova K., Cocek A. Use of positron emission tomography/computed tomography in the initial staging of head and neck squamous cell carcinoma: Accuracy in evaluation of the primary site of the tumor, metastases to cervical lymph nodes, and distant metastases. Polish Journal of Otolaryngology, 2022, vol. 76 (6): 1-5, GICID: 01.3001.0015.9817. Přístupné z <https://otolaryngologypl.com/resources/html/article/details?id=231513>
- Příprava publikace s dílčími výsledky v časopise s IF.

Výstupy:

Články:

- 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, Příklad PET/CT v diagnostice primárního nádoru u krčních uzlinových metastáz neznámé primární lokalizace, Krátká Z., Paska J., Licková K., Lohynská R., Čoček A.

Projekty pokračující v roce 2023

	Název projektu	Řešitel	Od	Typ projektu
Pokračující projekty soutěžní				
10	Hmotnostně spektrometrická analýza konfenzátu dechu v diagnostice zánětlivých stavů lidského organismu	Doc.MUDr. Roman Zazula, Ph.D.	2022	Interní soutěž, víceletý
11	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
12	Detekce mikrobiomu dolních močových cest u mužů	MUDr. Jan Hrbáček Ph.D.	2022	Interní soutěž, víceletý
13	Zavedení a validace metod pro stanovení 5 fluorouracilu, uracilu a dihydrouracilu v plazmě	Mgr. Ilona Burianová, Ph.D.	2022	Interní soutěž, víceletý
14	Analýza mutací a polymorfismů DPYD u pacientů v FTN léčených protinádorovou chemoterapií s 5-fluorouracilem	Ing. Hana Šulcová	2021	Interní soutěž, víceletý
15	Analýza genových interakcí v neurodegeneracích prostřednictvím sítové biologie	RNDr. Eva Parobková	2021	Interní soutěž, víceletý
16	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
17	Koexprese 3R a 4R izoformy proteinu tau u komorbidit tauopatií s Alzheimerovou nemocí a tzv. „nových“ tauopatií	MUDr. Tomáš Olejář, Ph.D.	2022	Interní soutěž, víceletý
18	Genové a proteinové markery subtypů primárně plicního malobuněčného neuroendokrinního karcinomu a neuroendokrinního tumoru s vyšší mitotickou aktivitou/vyšším indexem Ki-67	prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.	2022	Interní soutěž, víceletý
19	Prognostický význam primárních řasinek ve vztahu k vybraným parametrům nádorového mikroprostředí karcinomu endometria	MUDr. Blanka Rosová	2020	Interní soutěž, víceletý
20	Renální komplikace u pediatrických pacientů s nespecifickými střevními záněty	MUDr. Lucie Gonsorčíková, Ph.D.	2021	Interní soutěž, víceletý
21	Sekundární prevence ICHS ve vybraném vzorku populace – česká část studie EUROASPIRE VI.	Doc. MUDr. Jan Bruthans, CSc., FESC	2022	Interní soutěž, víceletý
22	Poměr pohlaví u narozených dětí v České republice u vybraných typů vrozených vad	MUDr. Antonín Šípek, CSC.	2022	Interní soutěž, víceletý

23	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
24	Nové metody léčby COVID-19	MUDr. Lucie Hoznauerová	2021	Interní soutěž, víceletý
25	Komplexní intenzivní rehabilitační program v rámci následné péče lidí po cévní mozkové příhodě	doc. PhDr. Kamila Řasová, PhD.	2021	Interní soutěž, víceletý
26	Nové laboratorní přístupy identifikace endogenních a exogenních spouštěčů intersticiálních plicních procesů	MUDr. Tomáš Slisz	2020	Interní soutěž, víceletý
27	Hodnocení rutinných a experimentálních biomarkerů kardiotoxicity po radioterapii levostranných karcinomů prsu	MUDr. Eva Mazaná	2021	Interní soutěž, víceletý
28	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
29	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
30	Vztah mezi výskytem benigních fascikulací, fenotypem pacienta a mutace v SMN 1 genu	MUDr. Petr Ridzoň	2020	Interní soutěž, víceletý
31	Nově diagnostikovaný diabetes 2.typu s těžkou dekompenzací: dosažitelnost a udržitelnost remise na metforminu, vliv běžně sledovaných faktorů, rizikové faktory kardiovaskulárních komplikací diabetu. Retrospektivní observační kohortová studie, pilotní projekt	MUDr. Magdalena Lejsková	2022	Interní soutěž, víceletý

Průběžné zprávy pokračujících projektů

10. Hmotnostně spektrometrická analýza kondenzátu dechu v diagnostice zánětlivých stavů lidského organismu

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

Spoluřešitelé: prim. MUDr. Michal Moravec, MUDr. Martin Müller, MUDr. Jan Moravec, MUDr. Jan Anton, Plicní klinika 1. LF UK a FTN

Rok zahájení projektu: 2022

Hypotézy:

- 1) Ve vydechovaném vzduchu jedince jsou přítomny látky, které jsou specifické pro zánětlivou reakci nebo se jejich koncentrace, či spektrum významně mění.
- 2) Ve vydechovaném vzduchu pacienta se systémovou zánětlivou reakcí je možné detekovat jednotlivé látky či jejich kombinaci, jejichž přítomnost nebo změny koncentrací mají diskriminační potenciál pro rozlišení etiologie zánětlivé odpovědi.
- 3) V případě infekční etiologie jejich spektrum je obrazem vyvolávajícího agens.

Cíle studie:

- 1) Pomocí vysoce citlivých analytických metod identifikovat ve vydechovaném vzduchu pacientů na umělé plicní ventilaci látky, nebo kombinaci látek specifických pro systémovou zánětlivou reakci.
- 2) Identifikovat látky nebo jejich kombinaci, jejichž přítomnost nebo významné změny koncentrací ve vydechovaném vzduchu má diskriminační potenciál pro rozlišení etiologie systémové zánětlivé odpovědi
- 3) Identifikovat látky nebo kombinaci látek, jejichž stanovení odpovídá etiologii systémové zánětlivé odpovědi
- 4) Analyzovat spektrum metabolitů v kondenzátu spontánně vydechovaného vzduchu u pacientů s primární plicní fibrózou a případně identifikovat další potenciálně zajímavé substance.

Postup prací/metodika a výsledky v roce 2022:

V průběhu roku 2022 byla ověřena funkčnost návrhu odběrových soustav sloužících k vymrazení kondenzovaného exspirovaného vzduchu z plic, a to jak souprava pro odběr v rámci okruhu UPV (viz. příložené foto), tak i pro odběr od spontánně ventilujících jedinců. Obě soupravy byly použity k úspěšnému sběru vzorků. Celkem bylo získáno 11 vzorků – 1 vzorek okolního prostředí patientského pokoje ARK, 6 vzorků od pacientů se sepsí na UPV a 3 kontrolní vzorky od zdravých jedinců.

Odebrané vzorky byly upraveny několika technickými způsoby (head-space analýzy, extrakce vzorku polární i nepolární fází, derivatizace vzorku) a následně analyzovány hmotnostním spektrometrem. Většina přítomných látek byla identifikována hmotnostní spektrometrií, nicméně zůstávají látky, jejichž spektra jsou neznámá a budou předmětem dalšího bádání (hmotnostně-spektrometrické analýzy v módu chemické ionizace). Rovněž s rozbohem individuální medikace pacientů vyloučit analyzované látky, které jsou produkty metabolického rozkladu léčiv.

Data, získané od pacientů, byly následně porovnány s kontrolními daty od zdravých jedinců, kdy u studijních skupiny byly oproti zdravým jedincům identifikovány tyto látky: ethylacetát, kyselina octová, isopropen, methanol, kyselina propionová, kyselina thiobarbiturová, kyselina máselná a ethanol.

Plán na rok 2023:

- S ohledem na úspěšně ověřený návrh metodiky jak v samotném způsobu sběru vzorků, tak v jejich dalším zpracování jak v preanalytické i analytické části budeme v projektu nadále pokračovat již v rutinním režimu, vyjma otázek zmíněných výše.
- Předpokládáme vyšetření expirovaných těkavých látek u 50 (40 – 60) pacientů s umělou plicní ventilací s pracovním cílem identifikace takových látek či skupin, které jsou asociované se zánětem, či s konkrétním patogenem.
- Pro porovnání budou odebrány vzorky pacientů se zánětlivou reakcí nemikrobiálního původu a rovněž dalším probandům ve skupině zdravých dobrovolníků.
- Zkoumání kondenzátu u jedinců s plicní fibrózou bude prováděno po získání více dat od současných skupin (septičtí pacienti na UPV s plicním či mimoplicní infekcí), plánovaně v roce 2024.

Výsledky nejsou dosud publikovány.

11. 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 sledování mechanismů imunitní odpovědi významných pro plicní zánět a infekci zhodnotit jejich korelaci s daným infekčním agens CAP a klinickým průběhem nemoci.

Průběh projektu 2022:

Pokračuje nábor pacientů do studie, od zahájení projektu zařazeno 70 pacientů, za rok 2022 14 pacientů. Sběr a dokumentace dat dle protokolu studie, průběžně probíhá analytická část studie (stanovení hladin sledovaných zánětlivých a imunitních parametrů)

Plán na rok 2023:

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 IF:

Za rok 2022 publikační výstupy nejsou.

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.

12. Diagnostika akutní pyelonefritidy pomocí sideroforů

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

Spolupracující instituce: Oddělení klinické mikrobiologie FTN, Oddělení klinické biochemie FTN, Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR

Rok zahájení: 2022

Cíl projektu:

Zhodnocení možnosti diagnostiky akutní pyelonefritidy a komplikovaných infekcí močových cest včetně určení etiologického agens metodou detekce metaloforů v moči.

Postup prací v r. 2022:

Zahájili jsme nábor pacientů do všech 3 ramen studie: kontrolní skupina 1: 4 pacienti, kontrolní skupina 2: 30 pacientů, výzkumná skupina: 7 pacientů. Vzorky jsme průběžně zpracovávali na Mikrobiologickém ústavu AV hmotnostně spektrometrickou analýzou, izolací bakteriální DNA z moči a sekvenováním 16S rDNA bakteriálních nukleových kyselin. První vyhodnocení získaných výsledků očekáváme koncem ledna 2023.

Plán na rok 2023:

Pokračovat v náboru pacientů a průběžném zpracování vzorků. Přihlásit abstrakt z dosavadních dat k prezentaci na výroční konferenci České urologické společnosti a případně (dle získaných výsledků) na některé z mezinárodních odborných setkání. Připravit přehledový článek k problematice do recenzovaného časopisu.

Seznam publikovaných výsledků s dedikací:

- Hrbáček J, Tlaskal V, Cermak P, Hanacek V, Zachoval R. Bladder Microbiota Are Associated with Clinical Conditions That Extend beyond the Urinary Tract. *Microorganisms*. 2022;10(5):1-14. doi:10.3390/microorganisms10050874; IF 4,9
- Hrbáček J, Tláškal V, Čermák P, Hanáček V, Zachoval R. Bladder cancer is associated with decreased urinary microbiota diversity and alterations in microbial community composition. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2022;přijato k publikaci.; IF 3,5
- Hrbáček J, Hanáček V, Tláškal V, et al. Detekce mikrobiomu horních močových cest u pacientů s urolitiázou : studie proveditelnosti. *Ces Urol*. 2022;26(4):242-249. recenzovaný, bez IF
- Abstrakt prezentovaný na výroční konferenci České urologické společnosti v Olomouci 19.-21.10.2022: Hrbáček J, Hanáček V, Tláškal V, Čermák P, Zachoval R: Pacienti s karcinomem močového měchýře mají nižší diverzitu močového mikrobiomu než kontroly s benigním onemocněním. *Ces Urol*. 2022;26(3):38

13. Zavedení a validace metod pro stanovení 5-fluorouracilu, uracilu a dihydrouracilu v plazmě

Řešitelé: Mgr. Ilona Burianová Ph.D. (OKB FTN)

Spoluřešitelé: MUDr. Klára Bořecká, Ph.D (OKB FTN), Mgr. Jiřina Mottlová (OKB FTN), RNDr. Veronika Kremláčková (OKB FTN), PharmDr. Lenka Dundelová (Oddělení klinické farmacie, lékárna FTN), RNDr. Karla Možná Bednářová (OKB FTN), MUDr. Lucie Žitňanská (Onkologická klinika 1. LF UK/FTN)

Rok zahájení: 2022

Anotace:

Evropská agentura pro léčivé přípravky doporučuje stanovení dihydropyrimidin dehydrogenázy (DPD) před nasazením léčby fluoropyrimidiny z důvodu závažných projevů toxicity při nedostatečné aktivitě tohoto enzymu. U pacientů, kteří jsou léčeni kontinuální infuzí, může úprava dávkování pomocí terapeutického monitorování (TDM) 5-fluorouracilu (5-FU) zlepšit výsledky léčby. I přes uvedená doporučení není stanovení aktivity DPD v rutinní praxi běžné, stejně jako TDM. Pro fenotypovou charakterizaci deficience DPD se doporučuje přímé měření hladiny uracilu, resp. poměru dihydrouracilu/uracilu v krvi. Předmětem studie je zavedení a validace metody pro stanovení dihydrouracilu, uracilu a 5-fluorouracilu.

Hypotéza:

poměr koncentrací dihydrouracilu/uracilu v plazmě před léčbou a koncentrace 5-fluorouracilu při léčbě, včetně AUC v rámci TDM, koreluje s aktivitou DPD a rizikem komplikací léčby.

Cíle projektu:

- zavedení a validace metody pro stanovení koncentrace 5-fluorouracilu v plazmě
- zavedení a validace metody pro stanovení koncentrace uracilu a dihydrouracilu v plazmě
- zavedení terapeutického monitorování (TDM) 5-fluorouracilu (monitorování farmakokinetiky 5-FU, hodnoty AUC) ve spolupráci s klinickým farmaceutem
- korelace výsledků fenotypizace DPD s genotypizací DPYD ve spolupráci s Ústavem patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN
- korelace výsledků farmakokinetiky 5-FU (hodnoty AUC) s poměrem dihydrouracil/uracil

Postup prací v roce 2022:

- projekt, informované souhlasy a informace pro pacienta byly schváleny Etickou komisí FTN+IKEM
- byl nastaven postup sběru vzorků na Onkologické klinice 1. LF UK a FTN ve spolupráci s klinickým farmaceutem
- na automatickém analyzátoru cobas® pro (modul c503), Roche byla zavedena metoda pro stanovení 5-fluorouracilu za použití kitu od firmy Saladax (homogenní imunoanalýza). V průběhu roku byl vydán firmou nový aplikační protokol validovaný pro modul c503. Podle nařízení IVD 98/79 EC smí výrobce uvádět na trh Evropské unie pouze validované měřicí systémy, přičemž postup a rozsah validace IVD MD je dán normou ČSN EN 13612. Příslušná metoda byla validována výrobcem; validační údaje pocházejí z dokumentace výrobce. Řešitelka (OKB FTN) analytické charakteristiky metody tedy pouze verifikovala, výstupem je verifikační protokol.
- k 30.6.2022 byl na OKB instalován nový kapalinový chromatograf s hmotnostním detektorem typu trojitý kvadrupól (LC-MS/MS) a provedeno základní zaškolení
- byl optimalizován postup přípravy vzorků (dvojitá extrakce, evaporace, filtrace) pro stanovení uracilu a dihydrouracilu na LC-MS/MS
- byly připraveny roztoky pro kalibraci, kontrolu a ladící roztoky pro zavedení metody na LC-MS/MS, byly nastaveny vhodné MRM přechody a optimalizována kolizní energie na detektoru pro stanovení uracilu a dihydrouracilu
- byl zahájen sběr vzorků z Onkologické kliniky 1. LF UK a FTN

Výsledky v roce 2022:

- na automatickém analyzátoru Cobas® pro byla zavedena imunochemická metoda pro stanovení 5-fluorouracilu

- verifikací jsme doložili, že metoda je schopna vykazovat v podmínkách laboratoře požadovanou výkonnost (analytické charakteristiky), a tedy může být pro zamýšlený účel rutinně používána
- podařilo se nám optimalizovat náročný postup přípravy vzorků pro stanovení uracilu/dihydrouracilu na LC-MS/MS
- byly změřeny první zkušební vzorky pacientů podstupujících chemoterapii 5-FU (režim FOLFOX)

Plán na rok 2023

- sběr vzorků pacientů
- validace metody pro stanovení uracilu, dihydrouracilu: stanovení validačních parametrů (opakovatelnost, mezilehlá preciznost, mez detekce...)
- měření koncentrace uracilu/dihydrouracilu u vzorků pacientů ve spolupráci s Ústavem patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN
- korelace výsledků fenotypizace DPD s genotypizací DPYD
- zavedení terapeutického monitorování 5-FU, výpočet AUC (plocha pod křivkou plazmatických koncentrací v čase od startu infuze) v programu MWPharm ve spolupráci s klinickým farmaceutem
- průběžné hodnocení korelace výsledků farmakokinetiky 5-FU (hodnoty AUC) s poměrem dihydrouracil/uracil
- publikace výsledků

14. 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 2022:

V letech 2021-2022 bylo shromážděno 133 vzorků, u nichž průběžně probíhá analýza mutací a polymorfismů DPYD. Tato metoda je připravována k validaci, aby mohla být nabízena jako rutinní vyšetření Ústavu patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN.

Současně byla shromažďováno sérum k měření hladiny uracilu.

Plán na rok 2023:

Spolupráce s Ústavem soudního lékařství a toxikologie VFN na vývoji metody měření hladiny uracilu byla z důvodu vyčerpání pracovníků VFN a obtížnosti zavedení metody ukončena. Byla navázána spolupráce z Oddělením klinické biochemie FTN v oblasti vývoje metody měření hladiny uracilu na kapalinovém chromatografu ve spojení s hmotnostním detektorem typu trojitý kvadrupól (LCMS-8050CL, Shimadzu).

V roce 2023 bude pokračovat sběr vzorků a analýza DNA. Uchovávané sérum bude předáno na OKB FTN na změření hladiny uracilu. Dále budou zkompletována data z genotypizace (výskyt mutací) a fenotypizace (hladina uracilu v krvi) a vyhodnocena vzhledem k nežádoucím účinkům podávané chemoterapie s 5-FU.

Současně bude probíhat příprava publikace.

Výstupy

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

15. 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 v roce 2022:

- 1) Byly již provedeny analýzy pomocí TruSeq Neurodegeneration Sequencing Panle Nextera Flex for Enrichment
- 2) Počty pacientů za celý projekt: předpokládaný počet vzorků je 40 za 3 roky, nyní metodicky zpracováno kolem 30 vzorků. Probíhá rozsáhlá bioinformatická analýza dat dle nastavených kritérií již ze zpracovaných vzorků.

Plán pro rok 2023:

V posledním roce projektu budeme zpracovávat další vzorky, budeme dokončovat bioinformatické analýzy, analýzy patologických cest, genotypově-fenotypovou korelaci, konzultace s biostatistikem a předložíme jeden hlavní rukopis.

Výstupy:

1. V průběhu dvou let realizace projektu byly již realizovány 4 publikace v mezinárodních časopisech s impakt faktorem, které vychází ze získaných analýz.
2. V přípravě je publikace „Co jsme se naučili ze sekvenování nové generace: Příspěvky ke genetické diagnóze a pochopení patomechanismů neurodegenerativních onemocnění“

Výstupy za rok 2022:

- Jankovska N, Rusina R, Keller J, Kukul J, Bruzova M, Parobkova E, Olejar T, Matej Biomarkers Analysis and Clinical Manifestations in Comorbid Creutzfeldt-Jakob Disease: A Retrospective Study in 215 Autopsy Cases. R.Biomedicines. 2022 Mar 16;10(3):680. doi: 10.3390/biomedicines10030680.PMID: 35327482

16. 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

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

Rok zahájení: 2021

Anotace projektu:

Exokrinní a endokrinní části pankreatu jsou často vnímány jako odděleně fungující kompartmenty, které nezávisle zajišťují produkci trávicích enzymů, respektive hormonů regulujících glukózový metabolismus. PAR-2 (proteinase-activated receptor 2) je receptor aktivovatelný specifickou proteolýzou pankreatickým trypsinem, a jím zprostředkovaná signalizace se uplatňuje při regulaci fyziologických i patologických procesů exokrinního pankreatu. Nově byla popsána i jeho nenahraditelná role při sekreci inzulínu beta buňkami, ba dokonce jejich regeneraci a transdiferenciaci za některých patologických stavů.

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.

Postup prací v roce 2022:

- Vypracování metodiky práce s buněčnými kulturami na modelové buněčné kultuře ductálního karcinomu (BxPC3)

- Pořízení buněk INS-1e (buňky krysího insulinomu), vytvoření buněčných kultur, v nátěru z centrifugy (Cytospin) a následnou imunohistochemickou reakcí jsme prokázali přítomnost PAR2 na membránách buněk
- momentálně probíhá stimulace INS-1e buněk pomocí selektivního aktivátoru PAR2 (SLIGKV-NH₂), případné změny sekrece insulinu budou analyzovány metodou Western-blot / ELISA
- Příprava originálního článku: PPY-cell hyperplasia: Immunohistochemical and scintigraphic analysis Pancreatic NEN: multi-hormonality analysis

Výstupy za rok 2022:

- Suhaj P, Olejar T, Matej R. PAR2: The Cornerstone of Pancreatic Diseases. *Physiol Res.* 2022 Nov 28;71(5):583-596. doi: 10.33549/physiolres.934931. Epub 2022 Sep 8. PMID: 36073735. IF = 2,3
- Hyperplazie PPY-buněk v pankreatu. (Plakát, 47. sjezd českých patologů, 2022)

17. Koexprese 3R a 4R izoformy proteinu tau u komorbidit tauopatií s Alzheimerovou nemocí a tzv. „nových“ tauopatií

Řešitel: MUDr. Tomáš Olejář, Ph.D.

Spolupracovníci: MUDr. Nikol Jankovská, Ph.D., Mgr. Alena Poláková, prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.

Řešitelské pracoviště: Ústav patologie a molekulární medicíny, Fakultní Thomayerova Nemocnice v Praze

Zahájení projektu: 2022

Anotace projektu:

Charakteristickým znakem tzv. tauopatií jsou intracelulární depozita proteinu tau ve dvou základních izoformách (3R nebo 4R), predominantně podle typu onemocnění. Málo je však známo o zastoupení uvedených izoform v komorbiditách jako např. s Alzheimerovou chorobou, anebo v případě tzv. nových tauopatií. Podstatou navrhovaného projektu je proto primárně pomocí konfokálního mikroskopu analyzovat vzájemnou koexpresi obou izoform tau u „čistých“ 3R nebo 4R tauopatií v komorbiditách s Alzheimerovou nemocí i tzv. novými tauopatiemi. Budou analyzovány vzorky archivní mozkové tkáně zemřelých pacientů z archivu pracoviště řešitele.

Cíl projektu:

Cílem navrhovaného projektu je pomocí vícekanálové konfokální mikroskopie analyzovat koexpresi jednotlivých izoform proteinu tau u „čistých“ 3R nebo 4R tauopatií samostatně, anebo v komorbiditách s Alzheimerovou nemocí nebo tzv. novými tauopatiemi. Dále bude sledována koexprese obou izoform proteinu tau s dalšími známými komponenty intracelulárních depozit (ubiquitin, p62).

Postup prací v roce 2022:

Průběh prací odpovídá harmonogramu, který byl navržen pro první rok projektu: výběr a testování primárních protilátek a pilotní analýza vytypovaných vzorků mozkové tkáně z archivu pracoviště:

- Do praxe byla zavedena vícekanálová fluorescenční a konfokální mikroskopie mozkové tkáně pacientů s Alzheimerovou nemocí v komorbiditě s 3R+4R tauopatiemi v rámci stávající spolupráce s 3. LF UK a pracovištěm světelné mikroskopie ÚMG AVČR.
- Konkrétně byly nově pozitivně testovány králičí protilátky proti izoformě 4R paralelně s běžně používanou myší protilátkou proti izoformě 3R. Byla zavedena metodika simultánního sledování obou jmenovaných izoform spolu s dalšími známými intracelulárními agregáty, konkrétně ubiquitinem a p62.

Plán práce na rok 2023:

- c) Pomocí vícekanálové fluorescenční a konfokální mikroskopie budou cíleně vyšetřeny sledované části mozku (hippocampus a mozková kůra) u všech pacientů s AD v komorbiditě s 3R+4R tauopatiemi diagnostikovaných v průběhu roků 2022 a 2023.
- d) Publikace imunohistochemické a imunofluorescenční studie koexprese izoform 3R a 4R u jednotlivých typů tauopatií.

Výstupy za rok 2022:

- Jankovska N, Rusina R, Keller J, Kukul J, Bruzova M, Parobkova E, Olejar T, Matej R. Biomarkers Analysis and Clinical Manifestations in Comorbid Creutzfeldt-Jakob Disease: A Retrospective Study in 215 Autopsy Cases. *Biomedicines*. 2022 16;10(3):680. doi: 10.3390/biomedicines10030680. PMID: 35327482; PMCID: PMC8944998. IF=4,757, Q2/2021.

18. Genové a proteinové markery subtypů primárně plicního malobuněčného neuroendokrinního karcinomu a neuroendokrinního tumoru s vyšší mitotickou aktivitou/vyšším indexem Ki-67.

Řešitel a řešitelský tým: prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D. (řešitel), RNDr. Eva Parobková, Ph.D., MUDr. Klára Pavlíčková (vzhledem k PGS na obdobné téma výměna za MUDr. Blanku Rosovou), mgr. Alena Poláková (všichni Ústav patologie a molekulární medicíny 3.LF UK a FTN), MUDr. Marie Drösslerová – kooperace na klinické prospektivní části projektu (Pneumologická klinika 1.LF UK a FTN).

Rok zahájení: 2022

Anotace projektu:

Malobuněčný neuroendokrinní karcinom (SCLC) je vysoce maligní nádor s extrémně špatnou prognózou zcela odlišnou od low grade neuroendokrinních nádorů (NET). V nové klasifikaci WHO byla ustanovena nová jednotka neuroendokrinního tumoru se zvýšenou mitotickou aktivitou/vyšším Ki-67, jejíž přesné biologické vlastnosti nejsou dosud známé. Cílem projektu bude porovnání spektra genových aberací genů asociovaných s onkogenezí solidních nádorů a s proteinovými biomarkery neuroendokrinní diferenciací (nejmž INSM1, NEUROD1, YAP1, POU2F3) i potenciálně využitelných biomarkerů pro moderní biologickou protinádorovou léčbu (PD-L1, N-TRK, TKI atd.) u SCLC a NET.

Cíle projektu:

Hlavním cílem studie je nalezení genomických a proteomických biomarkerů umožňujících subtypizaci SCLC a porovnání těchto znaků u nádorů v nově vzniklé kategorii neuroendokrinních karcinomů s vyšší mitotickou aktivitou/proliferacním indexem Ki-67. Předpokládáme využití některých z těchto znaků ke zpřesnění diagnostiky a jejich zavedení do rutinní diagnostické praxe. Dalším cílem je analýza přežití pacientů a korelace s jednotlivými expresními profily subtypů SCLC. Tato zjištění mohou pomoci lépe stratifikovat pacienty do prognosticky významných skupin, a vést k případným odlišným léčebným modalitám. Zásadní bude pátrání po případných "drugabilních" biomarkerech s cílem zlepšení přežívání pacientů s různými subtypy malobuněčného neuroendokrinního karcinomu. Takové znaky mohou přinést velmi důležitou prediktivní informaci cílené využití moderní léčby "šité na míru".

Postup prací v roce 2022:

- Výběr vzorků pro genetickou analýzu a expresní profil – vybráno bylo 100 případů SCLC a 20 případů NET se zvýšeným Ki-67. Z případů jsou postupně zhotoveny tkáňové mikroereje, případy, které nebudou reprezentativní, budou nahrazeny jinými
- Zakoupené protilátky (Rb1, INSM1, NEUROD1, YAP1, POU2F3, p16, p53, Ki-67) byly optimalizovány na kontrolních vzorcích
- Optimalizovány byly diagnostické panely pro analýzu DNA a RNA fúzí zahrnující i možnost detekce mikrosatelitové instability (MSI) a tumorové mutační nálože (TMB).

Plán postupu prací pro rok 2023:

- Imunohistochemická detekce proteinových markerů na připravených tkáňových řezech
- Izolace DNA a RNA ze vzorků nádorů a jejich genetická analýza metodou masivního paralelního sekvenování nové generace (NGS)
- Iničiální analýza hrubých dat expresní a genové analýzy
- Shromáždění dostupných klinických dat

Výsledky za rok 2022

- Přehledový článek přijatý do tisku v zahraničním impaktovaném časopise
- Přehledový článek přijatý do tisku v domácím neimpaktovaném časopise
- Prezentace prvních výsledků formou posterového sdělení a přednášky na Sjezdu SČP, Praha

19. 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 Smoothened 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:

Během výzkumného projektu jsme z archivu Ústavu patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN vytvořili soubor 89 pacientek, u kterých jsme vybrali vhodný histologický materiál (FFPE), imunoflorescenčně vyšetřili frekvenci primárních řasinek (poměr přítomných řasinek ku počtu všech zastoupených buněk) a imunohistochemicky vyšetřili hustotu CD8+ tumor infiltrujících lymfocytů a expresi markerů PD-1, PD-L1 a β -catenin (dle již dříve použitého škálového hodnocení pozitivit). Dále jsme zkompletovali klinické údaje jako jsou doba do recidivy a celková doba přežití, tyto údaje jsou stále aktualizovány s ohledem na zpracování statistických dat.

Oproti původnímu předpokladu se značně zpozdilo získání výstupních statistických dat a s tím související absence publikace původní práce v impaktovaném časopise. Z tohoto důvodu požádal řešitelský tým o prodloužení řešení projektu do r. 2023.

Plán na rok 2023:

Získání dat od nového statistika, sepsání článku a jeho publikování v impaktovaném časopise.

Výstupy za rok 2022

Prezentace na kongresech:

- B. Rosová, J. Dvořák, R. Matěj Prognostický význam primárních řasinek u nemalobuněčných plicních karcinomů, sdělení na 47. Sjezdu českých patologů, 3.-5. 11. 2022

20. Renální komplikace u pediatrických pacientů s nespecifickými střevními záněty

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

Spoluřešitelé: MUDr. David Bauer, MUDr. Tamara Čábelová, Pediatrická 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 v roce 2022:

- únor-září 2022 byly provedeny ve FTN sběry vzorků a moči celkem 26 pacientů s IBD
- září-prosinec 2022 byl proveden odběr 10 vzorků zdravých kontrol
- kasuistika pacienta s IBD, u kterého byla identifikována porucha ledvin prezentována během Dnů dětské gastroenterologie v Bratislavě a kasuistika jiného pacienta formou posteru na Liver transplant school v Groningen

Plán na rok 2022:

- leden-duben pokračování v odběru vzorků zdravých kontrol (cílem je nasbírat dohromady 50 vzorků)
- vyšetření tubulárního markeru KIM-1 u nasbíraných vzorků
- statistické zpracování dat - psaní publikací, prezentace výsledků na tuzemské event. I zahraniční konferenci

21. Sekundární prevence ICHS ve vybraném vzorku populace – česká část studie EUROASPIRE VI.

Řešitel: Doc. MUDr. Jan Bruthans, CSc, FESC, Centrum kardiovaskulární prevence 1. LF UK a Fakultní Thomayerovy nemocnice, Praha

Spoluřešitelé: Doc. MUDr Jitka Mlíková Seidlerová, PhD, II. Interní klinika Fakultní nemocnice Plzeň a Prof. MUDr Otto Mayer, CSc, II. Interní klinika Lékařské fakulty UK v Plzni, Prim. MUDr Jan Němec, Interní odd Nemocnice Říčany

Rok zahájení: 2022

Anotace projektu:

Zjistit, jak jsou u pacientů s potvrzenou ICHS - pacienti po prodělaném AIM a/nebo po provedené katetrizační nebo chirurgické revaskularizaci myokardu (základní soubor) aktuálně dodržována doporučení KV (kardiovaskulární) prevence a jaké kontroly rizikových faktorů je dosaženo. Metodika vychází z mezinárodních studií EUROASPIRE I-V (1995-1996, 1999-2000, 2006-2007, 2012-2013 a 2017-2018). Všechny těchto studií se ČR zúčastnila, je možné mezinárodní i longitudinální srovnání

výsledků/trendů. Budou analyzována hospitalizační data a data získaná ambulantním vyšetřením. Dále bude analyzována primární KV prevence v souboru pacientů se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem ve spolupráci s praktickými lékaři u jimi léčených pacientů.

Cíle projektu:

Vyšetření a analýza 400 respondentů v souboru pacientů s prokázanou ICHS („nemocniční soubor“) a 300 respondentů v souboru se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem („soubor primární kardiovaskulární prevence“).

Postup prací v roce 2022:

Sestavujeme soubor a zahájili jsme analýzu nemocničních dat pacientů s prokázanou ICHS (soubor pacientů s anamnézou hospitalizace v IKEM, ve spolupráci s dr Wohlfahrtem a souboru pacientů hospitalizovaných na interním oddělení nemocnice Říčany (prim. Němec). Vytvořili jsme protokol vyšetření nemocničního souboru, vychází z Case Record Forms předchozích studií EUROASPIRE, především EA V.

Vyšetření pacientů odložila dále probíhající covidová pandemie a skutečnost, že Evropská studie EUROASPIRE VI dosud nebyla zahájena, v důsledku prokrastinace Evropské kardiologické společnosti. Analyzovali jsme, ve spolupráci s Katedrou demografie a geodemografie Přírodovědecké fakulty UK Praha (Prof. RNDr J. Rychtaříková, CSc) a Ústavem zdravotnických informací ČR (RNDr J. Jarkovský, PhD) vývoj kardiovaskulární morbidity a mortality v průběhu covidové pandemie v ČR, Analýzu řešitel přednesl na Evropském kardiologickém kongresu v Barceloně a sjezdu v Mikulově, byla publikována v EHJ.

Budou nám předána data Centrálního registru studie EUROASPIRE IV a V k naší další analýze.

Pokračovali jsme v analýzách našich dat předchozích studií EUROASPIRE a v publikování výsledků těchto analýz

Plán na rok 2023:

- Vyšetřit ambulantně podle protokolu soubor pacientů s prokázanou ICHS (nemocniční soubor).
- Prim. Němec pokračuje v doktorandském studiu.
- Nadále kontakty s výzkumným centrem a zahraničními pracovišti, podílejícími se na projektu EUROASPIRE VI, pokračující spolupráce na publikační činnosti.
- Prezentace našich výsledků na Výročním sjezdu ČKS, na konferenci EUROPREVENT 2023, na Evropském kardiologickém kongresu 2023, na konferenci ČSH, Asociace KV prevence a Asociaci srdečního selhání 2023.

Seznam publikovaných výsledků v roce 2022

Zahraniční publikace, impaktované časopisy

- Mayer O, Bruthans J, Seidlerová J, et al. High leptin status indicates an increased risk of mortality and heart failure in stable coronary artery disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2022;32:2137-2146, doi 10.1016/j.numecd.2022.06.006
- De Bacquer D, Jennings CS, Bruthans J, et al. Potential for optimizing management of obesity in the secondary prevention of coronary heart disease. *European Heart Journal - Quality of Care and Clinical Outcomes* 2022;8:568-576, doi 10.1093/ehjqcco/qcab043
- Mayer O, Kielbergerová L, Bruthans J. The mortality risk in patients hospitalized for ischemic stroke between 2003 and 2019. *Journal of Hypertension* 2022;40: Suppl E148
- Bruthans J, Rychtaříková J, Jarkovský J. Covid-19 pandemic and cardiovascular mortality and morbidity in the Czech Republic. *European Heart Journal* 2022;43, Issue Supplement 2, doi 10.1093/eurheartj/ehac544.2242

Domácí publikace, impaktované časopisy

- Mayer O, Bruthans J, Bilková S. The prognosis and therapeutic management of patients hospitalized for heart failure in 2010-2020, Biomedical Papers 2022;166:312-321, doi 10.5507/bp.2022.020

Přednášky:

- Bruthans J, Rychtaříková J, Jarkovský J. Covid-19 pandemic and cardiovascular mortality and morbidity in the Czech Republic. ESC Congress 2022 – Barcelona, 26.-29.srpna 2022.
- Bruthans J, Rychtaříková J, Jarkovský J, Binder A. kardiovaskulární morbidita a mortalita v České republice v průběhu epidemie Covid-19. XXXIX konference České společnosti pro hypertenzi, XXXI konference Pracovní skupiny Preventivní kardiologie, blok České asociace srdečního selhání, Mikulov 5.-8. října 2022.

22. Poměr pohlaví u narozených dětí v České republice u vybraných typů vrozených vad.

Řešitel: MUDr. Antonín Šípek, CSc.

Spoluřešitelé: MUDr. Antonín Šípek, Ph.D., MUDr. Vladimír Gregor

Rok zahájení: 2022

Anotace:

V současné době neexistuje v ČR studie zabývající se poměrem pohlaví narozených dětí v souvislosti s výskytem vrozených vad. Výskyt vrozených vad u narozených dětí výrazně ovlivňuje perinatální morbiditu a mortalitu. Teoreticky lze předpokládat, že primární poměr pohlaví se zakládá v poměru 1:1 a sekundární poměr pohlaví je pozorovanou realitou ovlivněnou celou řadou faktorů. Literárně uváděný sekundární poměr pohlaví se nejčastěji pohybuje v rozmezí 1040 - 1060 narozených chlapců na narozených 1000 dívek.

Cíl a hypotézy:

Hlavní těžiště výzkumu bude zaměřeno na analýzu sekundárního poměru pohlaví všech narozených v České republice za období 1994 - 2020. Tato celostátní data především umožní komparovat děti narozené s a bez vrozené vady. Zkoumanými proměnnými bude diagnóza vrozené vady a její vazba na pohlaví a možné asociace s proměnnými biologického (týden těhotenství při narození, věk matky). V projektu půjde o retrospektivní epidemiologickou analýzu sekundárního poměru pohlaví (sex ratio) u dětí narozených v ČR s vrozenou vadou. Hlavním cílem bude analýza dvou souborů: děti narozené s vrozenou vadou a děti narozené bez vrozené vady. V první etapě projektu se v roce 2022 zaměříme na skupinu vrozených vad Q00-Q07 – Vrozené vady nervové soustavy dle MKN -X. revize. Data budou získána z oficiální povinné národní registrace – z Národního registru vrozených vad vedeného v Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS) ČR.

Hypotéza 1: Je ve skupině narozených dětí s VV jiný poměr pohlaví než u narozených dětí bez VV?

Hypotéza 2: Je odchýlný poměr pohlaví u narozených dětí s VV i ve skupině Q000-Q007?

Hypotéza 3: Je odchýlný poměr pohlaví u narozených dětí s VV stejný u všech diagnóz ze skupiny Q00 – Q007?

Hypotéza 4: Jsou případné rozdíly závislé na týdnu těhotenství při narození nebo věku matky?

Postup projektu v roce 2022:

V průběhu řešení projektu se nám podařilo získat data z ÚZIS pro zpracování a analýzy vrozených vad skupiny Q00-Q07 – Vrozené vady nervové soustavy dle MKN -X. revize. Následně jsme analyzovali data o prvních třech plánovaných diagnózách: anencefalie, spina bifida, encefalokéla za období 1994–2020 z oficiálních dat získaných z ÚZIS. Některé z našich výsledků byly prezentovány na odborných

konferencích, tuzemských i zahraničních. Pro zvýšení robustnosti souboru a pro dosažení možnosti podrobnějších analýz jsme k souboru dat za období 1994–2020 doplnily údaje z ÚZIS za starší období, 1961–1993.

Dosažené výsledky:

V případě anencefalie jsme prokázaly trendové změny poměru pohlaví. V prvních dekádách celkového období 1961–2020 jsme prokázali, že procento dívek mezi dětmi narozenými s anencefalií bylo vysoce statisticky významně vyšší než mezi dětmi bez VV. Tento stav se však změnil s nástupem prenatální diagnostiky této vady. Zastoupení pohlaví mezi dětmi narozenými s anencefalií se v 90. letech lišilo nevýznamně od populace dětí bez VV. U druhé sledované diagnózy – spina bifida (=rozštěp páteře) jsme opět prokázali, že v prvních 30 letech bylo procento dívek mezi dětmi narozenými se SB vysoce významně vyšší než ve skupině bez VV (i když zde převaha dívek není tak výrazná jako u anencefalie). Tento abnormální poměr však je ve všech 6 hodnocených dekádách, a i při menších absolutních počtech než v prvních dekádách je rozdíl oproti skupině zdravých dětí statisticky významný. I v případě třetí analyzované diagnózy bylo procento dívek mezi dětmi narozenými s encefalokélou vysoce statisticky významně vyšší než mezi dětmi bez VV. Tento poměr se mění v devadesátých letech, rozdíl oproti populaci dětí bez vrozené vady přestává být statisticky významný a v poslední dekádě je ve skupině narozených s encefalokélou výrazně více chlapců (2/3) než v populaci bez VV, vzhledem k celkově malým počtům je ale rozdíl statisticky nevýznamný. V závěru roku jsme zahájili práce na analýzách dalších diagnóz ze skupiny Q00-Q07 – Vrozené vady nervové soustavy dle MKN -X. revize, konkrétně na diagnóze hydrocefalu a mikrocefalie.

Plán na rok 2023 :

Ve druhém roce řešení projektu budou dokončeny analýzy zbývajících výše uvedených dvou diagnóz VV CNS. Doplnění datového souboru z ÚZIS. Následně provedeme analýzy vybraných diagnóz ze skupin defekty břišní stěny a rozštěp rtu a patra. Prezentace a publikace dosažených výsledků.

Článek odeslaný do redakce časopisu: Československá Pediatrie:

Rozštěp páteře v České Republice. Šípek A., Gregor V., Šípek A. Jr., Klaschka J., Malý M.

Výstupy v roce 2022:

- Neural tube defects in the Czech Republic: incidence, prenatal diagnostics and sex ratio. 48 th Annual Meeting of the International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research (ICBDSR). September 18th – 21st, 2022 Bologna, Italy
- Neural tube defects in the Czech Republic: incidence, prenatal diagnostics and sex ratio. 2nd International Conference on Gynecology & Obstetrics, Dubai, 14-15. 11. 2022
- Defekty neurální trubice v České republice: výskyt, prenatální diagnostika a poměr pohlaví. Celostátní sjezd Společnosti lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP a 55. výroční cytogenetická konference. 15. -16. 9. 2022 Wellness Hotel Step, Praha

23. 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

Řešení projektu: 2020 -2022

Cíle projektu:

Cílem projektu bylo stanovení nových metod detekce latentní tuberkulosní 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 (IGRA) nedokážou tyto stavy odlišit, navíc u pacientů po prodělané TB a s LTBI, která již byla odléčena, nemá již sledování IGRA testy význam, pokud pozitivita testu přetrvává. Možnou cestou vývoje jsou cytometrické metody vhodné pro diagnostiku TB, cílící nejen na T-buněčnou reaktivitu a zahrnující sledování exprese více cytokinů. Tyto testy by měly dokázat sledovat i pacienta po proděláním infekce či nemoci a po přeléčení v čase, zda nedochází k opětovné reaktivaci procesu. Cílem je optimalizovat a validovat test na detekci intracelulárních cytokinů pomocí průtokového cytometru. Jednalo by se v prvním kroku o kvantifikaci především interferonu-gama (IFN- γ), případně IL-4, IL-17A. Jedná se o cytokiny produkované CD4+ T lymfocyty po stimulaci příslušnými antigeny M. tuberculosis. V druhém kroku bude panel cytokinů rozšířen o TNF- α a IL-2. Výsledná metodika bude přizpůsobena pro rutinní klinické použití. Plánujeme pak registraci patentu-průmyslového vzoru a pokračování v hodnocení metody v rámci grantu AZV ve spolupráci s Revmatologickou klinikou a Nefrologickou klinikou IKEM

Metodika

Plánujeme ověřit stávající cytometrický panel detekčních protilátek na širším panelu stimulujících imunodominantních antigenů pro CD4+ a CD8+ T-buňky v kombinaci s adjuvans² 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.

Průběžné řešení projektu od roku 2020:

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

- Dětské pacienti s TB a LTBI: Pediatrická klinika 1.LF UK a FTN.

Do studie jsme po dobu jejího trvání zařadili 26 dětí.

Publikace s odkazem na IP v roce 2021:

- 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
- DOLEŽALOVÁ, Karolína — KOBLÍŽEK, Vladimír — POHUNEK, Petr — VAŠÁKOVÁ, Martina. Doporučený postup pro vyšetření a léčbu dětských kontaktů s tuberkulózou. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 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.

Pokračování projektu 2022

Přebírání projektu a metodiky plně pouze do FTN, ukončování spolupráce s Přírodovědeckou fakultou. Je prováděno testování metody v Imunologické laboratoři FTN. Vyšetřovány jsou vzorky z čerstvé periferní krve pacientů s TB (náběry z Pneumologické kliniky) pro optimalizaci metody v imunologické laboratoři. Plánován převoz zamražených vzorků z PŘFUK. Je připravována publikace ve spolupráci s Mgr. Hadlovou (nyní ve FN Motol pod novým školitelem, prof. Tomášem Kalinou).

Antigeny pro stimulaci: Je používána 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 a tuberkulin. Negativní kontrola představuje nestimulované, neovlivněné buňky, pozitivní kontrolou jsou buňky stimulované mitogenem.

Stimulace plné krve směsí antigenních peptidů a zabránění vyplavení cytokinů z Golgiho komplexu pomocí Brefeldinu A. Fixace stimulované krve. Promytí. Permeabilizace, povrchové a intracelulární značení. Promytí. Měření a sběr dat.

Optimalizace vyvíjené metody průtokové cytometrie: V prvním kroku využíváme 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.

Stav řešení cílů v roce 2022:

- **Převádíme biobanku** zamražených krví z PŘFUK- M. Ibrahimová, K. Doležalová
- **Poskytujeme krve pro nastavení testu průtokové cytometrie** v našich lab. podmínkách- Pneumologická a Dětská klinika- E. Kopecká, M. Sukholytka, K. Doležalová, L. Bača
- **Optimalizujeme metody pro průtokový cytometr – změřené vzorky-** M. Ibrahimová
 - Dětské pacienti – kontakt s TBC: celkem 12 pacientů z toho 11 s negativním QF testem a 1 s pozitivním QF testem, optimalizace stimulace pomocí pozitivní kontroly.
 - Dospělí pacienti s tuberkulózou: celkem 12 pacientů z toho 4 s negativním QF testem a 8 s pozitivním QF testem, optimalizace stimulace antigenními peptidy nebo tuberkulinem.
- **Píšeme pilotní článek s předběžnými výsledky** a přehledem dosavadních metod pro diagnostiku LTBI a TB- nyní rukopis již koluje mezi spoluautory

Publikační výstupy

- Abstrakt poster pro Evropský pediatriký kongres: K. Dolezalova. Firts year's experience with increasing incidence of TB in a low burden TB country
- Journal Article: Karolína Doležalová, Vojtěch Kika, Dana Göpfertová, Jiří Wallenfels, Trends in incidence of extrapulmonary tuberculosis in children in the Czech Republic in the past 35 years, Cent Eur J Public Health 2022; 30 (4): 207–212, <https://doi.org/10.21101/cejph.a7499>

Plán na rok 2023

- Požádáme o znovupřidělení IP pro další rok
- Doplníme další vzorky ve vyšetřovaných kategoriích (kontakt s TB, LTBI, aktivní TB)
- Založíme sdílenou databázi vzorků (Pneumologická a Pediatriká klinika a Imunologická laboratoř) na bázi sdílené excelové tabulky s jednoduchými deskriptory /věk, pohlaví, BCG-status, TST, IGRA test, SKG/ pro jednodušší orientaci v počtu pacientů v jednotlivých vyšetřovaných kategoriích

- Budeme nadále vyšetřovat vzorky TB a LTBI a zdravých dobrovolníků s cílem nastavit optimální cytometrický panel v naší imunologické laboratoři
- Budeme porovnávat výsledky cytometrického testu s IGRA testy a TST
- Metodu zavedeme jako experimentální ve FTN s cílem dalšího vývoje a komercializace
- Pokud bude metoda připravena pro pokračování klinického výzkumu v květnu 2023 a bude publikován pilotní článek, požádáme o grant AZV

24. 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

Anotace projektu:

Projekt ‚Nové metody léčby u COVID-19‘ je zaměřen na cílené ověřování již využívaných preparátů v nové indikaci v souvislosti s pandemií onemocnění COVID-19. Potřeba realizace tohoto projektu a jeho finanční podpory je založena na současné absenci kurativní terapie při infekci SARS-Cov-2. Aktuálně je již jisté, že toto infekční onemocnění nebude pouze jednorázově proběhlou vlnou, ale zařadí se po bok ve vlnách probíhajících chorob, jakou je například chřipka. Kromě tlaku na vývoj účinné prevence, tj. očkování, je dalším logickým krokem nalezení látek, které je možné využít u již probíhajícího onemocnění pro snížení závažnosti a mortality, což návazně ovlivňuje zatížení zdravotního systému.

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 2022 bylo vyhodnoceno, že použití IL-6 inhibitoru v tabletové formě bezpečné. Nábor pacientů do bezpečnostní části studie pro IL-6 inhibitor je tím ukončen. Celkový počet zařazených pacientů v bezpečnostní studii: 3. Dále bylo zahájeno testování inhalační formy léku na zdravých dobrovolnících, které proběhlo v režii klinicko-farmakologické jednotky FTN. Nábor do této části byl již také ukončen. V rámci studie na zdravých dobrovolnících byla kontrolována bezpečnost, optimalizován způsob podávání a dávkování s ohledem na odlišnou distribuci při lokální aplikaci. V roce 2023 je v plánu analýza výsledků ze souboru zdravých dobrovolníků a event. Návazná klinická studie.

Studie s hemarginátem byla primárně ukončena v roce 2021. Celkový počet účastníků: 8. V průběhu roku 2022 proběhla externě analýza dat a rozhodnutí o rozšíření studie na starší populaci vzhledem k posunu patientské základny. V roce 2023 je v plánu nábor min. 4 pacientů a dodatečná analýza dat.

Plán 2023:

- Vyhodnocení všech výsledků bezpečnostní studie s IL-6 inhibitorem.
- Vyhodnocení studie se zdravými dobrovolníky pro inhalační formu IL-6 inhibitoru.
- Zahájení nábory pacientů se SARS-CoV-2 pro studii účinnosti.
- Rozšířený nábor pacientů do studie s hemarginátem a finální analýza dat.

Výsledky:

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. Z předběžných výsledků vychází, že inhalační forma IL-6 je při použití bezpečná a lokální aplikace umožňuje lepší titraci dávek.

Seznam publikací:

V současné době výsledky nejsou publikovány.

25. 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

Anotace projektu:

Význam komplexní intenzivní rehabilitace u lidí po cévní mozkové příhodě je nesporný. Doposud však chybí jasné důkazy o efektivitě různých rehabilitačních přístupů (interdisciplinární model implementující ICF koncept vs. multidisciplinární model) a různých kategorií fyzioterapie (neuroproprioceptivní „facilitace, inhibice“ vs. získávání motorických dovedností využívající technologie).

V této studii jsou dospělí po první ischemické cévní mozkové příhodě v časném stádiu subakutní fáze s motorickým postižením náhodně zařazeni do jedné ze čtyř skupin a absolvují 3týdenní program komplexní intenzivní rehabilitace na Klinice revmatologie a rehabilitace 3. LF UK a FTN. Je sledován okamžitý a dlouhodobý vliv na celou řadu klinických parametrů (funkce horních končetin, posturální funkce a schopnost chůze, logopedické, psychologické a kognitivní testy) včetně kvality života. Navíc je kladen důraz identifikaci nových biologických molekul odrážejících účinnost rehabilitace (dlouhé nekódující RNA).

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

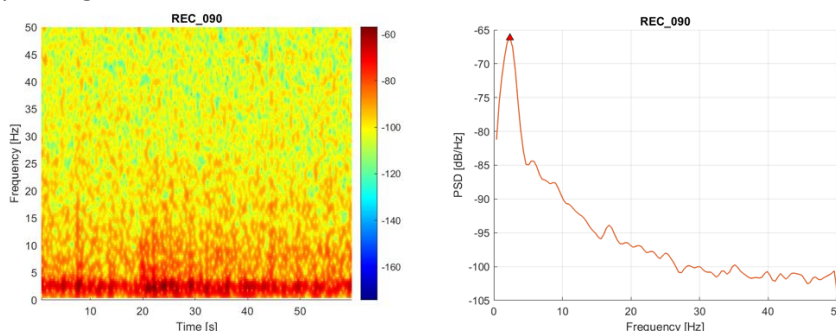
Projekt bude logisticky připravený do veřejné soutěže o účelovou podporu MZ ČR na řešení projektů zdravotnického výzkumu a vývoje „Program na podporu zdravotnického aplikovaného výzkumu na léta 2020–2026“

Postup prací v roce 2022:

1. Vývoj metodiky byl dokončen, protokol byl publikován v časopise v Q2 (1). Protokol studie je připraven do veřejné soutěže o účelovou podporu MZ ČR (byl získán nový souhlas etické komise).
2. Pokračuje sběr dat. V současné době jsou analyzována data z pilotní části projektu. Je připravován rukopis článku.
3. Díky realizaci tohoto projektu byla zkvalitněna klinická práce (je implementováno systematické vyšetřování nezávislým vyšetřujícím a sběr dat, metodiky komplexní a intenzivní rehabilitace lidí po CMP je zařazena do běžného provozu oddělení, byl vyvinut systém k opakovanému záznamu testů vyšetření a analýze úspěšnosti terapie).
4. Projekt je 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“.

Předběžné výsledky:

Analyzována jsou data z pilotního projektu, do kterého bylo zařazeno 37 probandů po cévní mozkové příhodě (průměrný stupeň neurologického deficitu dle National Institute of Health Stroke Scale 7.25 ± 6.47 a modifikované Rankinovy škály 3.59 ± 0.8). Připravujeme publikaci dokumentující zlepšení funkce horních končetin. Po intenzivním třínedělním komplexním rehabilitačním programu došlo ke zlepšení jemné motoriky (průměrný pokles v Nine Hole Peg Test dominantní horní končetiny o -4.22 ± 7.45 , $p=0.028$ a nedominantní o $-8,11 \pm 21.18$, $p=0.2$; a průměrnému zvýšení v Action Research Arm Test dominantní horní končetiny o 4.25 ± 8.65 , $p=0.037$ a nedominantní o 2.92 ± 6.41 , $p=0.066$). Byly navrženy a implementovány algoritmy pro zpracování signálů z akcelerometrických sensorů. Zaznamenané signály jsou analyzovány ve frekvenční, případně v časově-frekvenční oblasti. Pro každý jednotlivý záznam byl proveden odhad spektrální výkonové hustoty, určeno jeho spektrum a spektrogram.



Následně byly pro všechny záznamy vypočteny parametry charakterizující průběh spektra – parametry PSDmax, fmax a PSD0-4Hz. Parametr PSDmax popisuje maximální hodnotu spektrální výkonové hustoty PSD, parametr fmax je kmitočet, na kterém je PSDmax dosaženo, a parametr PSD0-4Hz určuje množství energie signálu v kmitočtovém pásmu 0 – 4 Hz.

Výstupy:

- Řasová K, Martinková P, Vařejková M, Miznerová B, Pavlíková M, Hlinovská J, et al. COMIRESTROKE-A clinical study protocol for monitoring clinical effect and molecular biological

readouts of COMprehensive Intensive REhabilitation program after STROKE: A four-arm parallel-group randomized double blinded controlled trial with a longitudinal design. Front Neurol. 2022;13:954712.

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

Hlavní řešitel: MUDr. Tomáš Slisz, MUDr. Ladislav Lacina, Mgr. Pavel Sojka (Pneumologická klinika 1. LF UK a FTN)

Spoluřešitelé: Doc. MUDr. Martina Šterclová, Ph.D.; Prof. MUDr. Martina Koziar Vašáková, Ph.D. (Pneumologická klinika 1. LF UK a FTN); Ing. Magdalena Brůžová, Ph.D. (Ústav patologie a molekulární medicíny 3. LF UK/FTN); RNDr. Veronika Kremláčková, Mgr. Jiřina Mottlová (OKB FTN)

Rok zahájení: 2020

Řešení projektu je prodlouženo do r. 2023 z důvodu rozšíření souboru pacientů a vyšetření jejich biologického materiálu.

Cíle projektu:

- A) Stanovení vztahu mezi nebuněčnými parametry měřenými v tekutině získané bronchoalveolární laváží (BALT) a séru pacienta v době stanovení diagnózy a jejich vlivu na progresi onemocnění u pacientů s exogenními alergickými alveolitidami (EAA), resp. Idiopatickou plicní fibrózou (IPF) s ohledem na demografické parametry. Jako definice progresu byla použita změna plicních funkcí po roce od stanovení diagnózy.
- B) Stanovení míry postižení plicní tkáně – posouzení podílu zánětu a fibrózy (stanoveno pomocí počítačové tomografie s vysokou rozlišovací schopností (HRCT) v době stanovení diagnózy a posouzení korelace postižení s koncentrací nebuněčných markerů v BALT a séru pacienta u pacientů s EAA, resp. IPF.
- C) Stanovení míry postižení plicní tkáně – posouzení podílu zánětu a fibrózy (stanoveno pomocí HRCT) v době stanovení diagnózy a jejich vlivu na progresi onemocnění u pacientů s EAA, resp. IPF s ohledem na demografické parametry. Jako definice progresu byla použita změna plicních funkcí po roce od stanovení diagnózy.
- D) Stanovení specifického IgG v antigenním extraktu ve vzorcích z pacientova okolí a posouzení jeho vlivu na určení spouštěče onemocnění.

Postup prací:

V průběhu trvání studie bylo v důsledku pandemie COVID19 nasbíráno celkem 125 patientských vzorků. Do analýzy byli zařazeni pacienti s definitivní diagnózou EAA (15 pacientů) a IPF (16 pacientů) vyšetřených na Pneumologické klinice FTN. V rámci standardního diagnostického procesu byl u pacientů indikován odběr žilní krve, tekutiny získané bronchoalveolární laváží, vyšetření plicních funkcí a vyšetření plic pomocí HRCT. Po roce od stanovení diagnózy byly u těchto pacientů opět vyšetřeny plicní funkce.

Pacientům byla v době stanovení diagnózy indikována v souladu s doporučenými postupy pro diagnostiku intersticiálních plicních procesů rutinní imunologická vyšetření BALT a plné krve. V BALT diferenciální rozpočet a základní imunofenotypizace (vyšetření znaků CD3, CD4, CD8, CD19, NK a imunoregulačního indexu) a v periferní krvi stanovení imunoglobulinů, základní imunofenotypizace (vyšetření znaků CD3, CD4, CD8, CD19, NK a imunoregulačního indexu) a stanovení autoprotilátek (ANA a extrahovatelných jaderných antigenů, dsDNA, ANCA, MPO, PR3, MCV, CCP a RF).

Dále pak byly v rámci studie stanoveny nebuněčné markery ve vzorcích BALT a séra pacientů, a to pomocí metody ELISA: Celkové IgG (MyBioSource, USA), APRIL (CloudClone, USA), BAFF (CloudClone,

USA) a MMP7 (Abnova, Taiwan). Získaná data byla vyhodnocena s ohledem na demografické parametry.

V důsledku pandemie COVID19 nebylo k odběru antigenního extraktu přistoupeno. Jeho stanovení proběhlo z dříve odebraných vzorků pacientů, kteří do této studie nebyli zahrnuti. Nyní se pokračuje s náběrem vzorků pro izolaci a stanovení antigenního extraktu od dalších pacientů.

Výsledky:

Ze souboru vyšetřovaných pacientů měli pacienti s diagnózou EAA (15 z toho 6 nekuřáků) věkový průměr 64 let (9 mužů; 3 nekuřáci; 63,5 let a 6 žen; 3 nekuřačky; 65,5 let), pacienti s IPF (16 z toho 8 nekuřáků) měli věkový průměr 72,1 roku (10 mužů; 3 nekuřáci; 70,7 roku a 6 žen; 5 nekuřaček; 74,3 roku).

Pacienti s EAA měli průměrnou hodnotu celkového IgG 0,99 ng/mL v séru a 11,82 ng/mL v BALT, APRIL 208 pg/mL v séru a 46 pg/mL v BALT, MMP7 34 880 pg/mL v séru a 15 683 pg/mL v BALT. Cytokin BAFF nebyl u pacientů detekován v séru ani v BALT.

Pacienti s IPF měli průměrnou hodnotu celkového IgG 1,01 ng/mL v séru a 17,11 ng/mL v BALT, APRIL 149 pg/mL v séru a 28 pg/mL v BALT, MMP7 31 413 pg/mL v séru a 12 981 pg/mL v BALT. Cytokin BAFF nebyl u pacientů detekován v séru ani v BALT.

V současné době probíhá hodnocení snímků HRCT, které bude následně korelováno s výsledky analýzy BALT, a kontrolní vyšetření pacientů za účelem posouzení dynamiky plicních funkcí v čase bez ohledu na léčbu. Jakmile budou všechna data k dispozici, bude přistoupeno k souhrnnému statistickému vyhodnocení všech naměřených dat a studování nalezených korelací. Získané výstupy budou podkladem pro připravovanou publikaci cílenou do mezinárodního periodika.

Bylo provedeno stanovení citlivosti séra (slgG) odebraného pacientům ke vzorkům antigenního extraktu izolovaného ze vzorků z pacientova okolí. Celkem byly získány vzorky od 6 pacientů v množství 5 – 12 vzorků různých antigenních extraktů od každého pacienta. U stejných pacientů bylo provedeno stanovení slgG v séru pomocí rutinní laboratorní metody (ImmunoCAP) – celý panel nabízený imunologickou laboratoří FTN.

U 3 z 6 pacientů byla prokázána citlivost jejich séra k antigenním extraktům, kde je s vysokou pravděpodobností přítomen stejný nebo podobný antigen, pro který byla prokázána citlivost pomocí metody ImmunoCAP. U 2 pacientů byla citlivost jejich séra vůči vzorkům antigenního extraktu z jejich okolí negativní, stejně jako u stanovení slgG metodou ImmunoCAP.

Výstupy s dedikací RVO:

- 1) *V přípravě: Sojka P, Sterclova M, Slisz T, Bruzova M, Ibrahimova M, Koziar Vasakova M.* Role míry postižení plicní tkáně, nebuněčných markerů v BALT a séru a plicních funkcí na vývoji onemocnění u pacientů s EAA a IPF.
- 2) *V přípravě: Sojka P, Sterclova M, Slisz T, Kremlackova V, Mottlova J, Bruzova M, Ibrahimova M, Koziar Vasakova M.* Stanovení specifického IgG v antigenním extraktů ve vzorcích z okolí pacienta s EAA a jeho vliv na určení spouštěče onemocnění.

Prezentace na kongresech a odborných akcích:

23. Kongres ČPFS a SPFS a XXXI. Moravskoslezské pneumologické dny (září 2023)

ERS International Congress 2024

27. Hodnocení rutinních 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 substrukтуры 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 byla 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.

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 substrukтуры 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 substrukтуры. 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.

V prvním roce projektu (2021) proběhlo vyšetření experimentálních biomarkerů MMP2, MMP9, EN-RAGE, Osteopontin a PIGF.

V druhém roce řešení projektu (2022) byl vyšetřen další soubor experimentálních kardiomarkerů: GDF-15, TIMP-1, TIMP-2, sRAGE. V rámci kompletizace dat proběhlo zpracování a evaluace fyzikálních ozařovacích plánů a přiřazení dávek na myokard a jeho substrukury k rozdílům hodnot kardiálních biomarkerů.

Plán na rok 2023:

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 substrukury k rozdílům hodnot 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 statistickému zpracování 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.

28. 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:

Pokračovalo prospektivní zařazování pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem, k současnému datu zařazeno celkem 98 pacientů, současně již ale také vyřazujeme některé pacienty z důvodu krátkého follow-upu kvůli úmrtí pacienta. Dále sbíráme vzorky primárních nádorů a periferní krve v daných časových bodech. Ze vzorků postupně extrahujeme DNA resp. cfDNA. U pacientů primárně diagnostikovaných nebo operovaných mimo FTN se snažíme získat FFPE vzorky a dále je zpracovávat. Ze vzorků jsou, po kontrole množství a kvality extrahované DNA/cfDNA, připravovány knihovny – panel 150 genů asociovaných s nádory a vzorky sekvenovány technikou NGS. Ve vzorcích jsme identifikovali řadu aberací – např. mutace v genech *KRAS*, *NRAS*, *TP53*, *PIK3CA*, *BRAF*, *SMAD4*, *APC*, *ATM*, *PDGFRA*, *BRCA1*, a d., jejichž přítomnost sledujeme dále v průběhu onemocnění a léčby. U pacientů, kde již máme vyšetřené vícečetné vzorky, jsme potvrdili přítomnost tumor-specifických mutací ve všech vzorcích primárního nádoru a metastáz a cfDNA z periferní krve odebrané v době vícečetné metastatické choroby, kdy byla u pacientů přítomná signifikantní nádorová masa. Ve

vzorcích krve z období relapsu ve formě malé solitární metastázy nebyly tumor-specifické aberace prokazatelné, vyšetřením více pacientů se budeme snažit lépe definovat tento limit senzitivity tekuté biopsie- vyšetření cfDNA. Z dosavadních výsledků jsme schopní predikovat odpověď na léčbu a průběh onemocnění, monitorovat molekulární profil nádorového onemocnění v čase, potvrdit metastatický původ nádorového ložiska tam, kde i rozšířené IHC vyšetření nedokázalo jednoznačně rozhodnout. Zařazování pacientů a vyšetřování vzorků dále pokračuje.

Průběh prací na projektu byl částečně již v roce 2021 a následně v roce 2022 nepříznivě ovlivněný koincencí více faktorů – doznívající situace kolem COVIDu, dlouhodobým onemocněním a odchodem na mateřskou dovolenou některých členů týmu, zpožděním dodávky sekvenovacích kitů a také personální reorganizací na pracovišti, kdy hlavní řešitelka přebírala práci ještě na dalších grantech. Vzhledem k tomu, že se nám nicméně podařilo zařadit hodně pacientů a zařazování dále probíhá, metodika funguje dobře a dosavadní výsledky jsou slibné, chtěli bychom vyšetřit celý velký soubor pacientů a dále je sledovat v čase. Proto žádáme o prodloužení grantu na další 2 roky.

Výstupy za rok 2022:

- Ludmila Boublíková et al.: Molekulární aberace u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem, jejich vývoj a význam pro terapii. 13. PragueOnco, leden 2022, poster
- Ludmila Boublíková et al.: Totální neoadjuvantní terapie u karcinomu rekta. 17. konference Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky, Olomouc, červen 2022, přednáška
- Ludmila Boublikova et al.: Molecular markers for disease monitoring and response prediction in solid tumors. 17th Czech Annual Cancer Research Meeting, Olomouc, prosinec 2022, přednáška

Plán pro rok 2023:

Pokračovat v zařazování a vyšetřování dalších pacientů s generalizovaným kolorektálním karcinomem, získat vzorky primárních nádorů od pacientů mimo FTN, analyzovat molekulární aberace v těchto vzorcích, sledovat jejich vývoj v průběhu onemocnění a význam pro plánování onkologické léčby.

Publikace výsledků – tento rok plánujeme alespoň 1 přednášku na české konferenci a publikování článku v impaktovaném časopisu.

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

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

Spoluřešitel: MUDr Ludmila Boublíková

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:

Pokračovali jsme v zařazování pacientů a sběru a analýze vzorků. Do studie bylo postupně zařazeno do současných doby celkem 36 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. Kompletně vyšetřeno je zatím 15 pacientů. Identifikovali molekulární aberace, které jsou patrně spojené s patogenezi TGCT a/nebo vznikem rezistence na cisplatinu (TPTE2, TSPAN16 CDC27, RBMX, PRDM1), které s výjimkou CDC27 dosud nebyly ve spojení s TGCT popsány, i když mají významnou roli v karcinogenezi a také ve vývoji vaječků nebo spermiogenezi. Navrhujeme a testujeme bioinformatické modely pro analýzu dlouhých variant z celomaximálního sekvenování.

Plán pro rok 2023:

Pokračuje zařazování pacientů a analýzy vzorků. Budeme dále testovat možnosti metylačního sekvenování cfDNA, protože se zdá, že epigenetické regulační mechanismy jsou v patogenezi TGCT a rozvoji rezistence na cisplatinu minimálně stejně tak důležité, jako mutace DNA.

Výstupy:

- Boublikova L, Zwyrkova 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*).
- Ludmila Boubliková et al. Léčba neseminomových testikulárních germinálních nádorů, 27. Jihočeské onkologické dny, Český Krumlov, břez-en-duben 2022, přednáška
- Ludmila Boublikova et al.: Molecular markers for disease monitoring and response prediction in solid tumors. 17th Czech Annual Cancer Research Meeting, Olomouc, prosinec 2022, přednáška

30. 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

Hlavní řešitel požádal o prodloužení řešení projektu do r. 2023 z důvodu jeho delší pracovní neschopnosti bez nároku na finanční podporu. V r. 2023 bude publikován článek v impaktovaném časopise jako výstup z projektu.

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

Další menší zkoumanou skupinou byli rodiče pacientů se spinální svalovou atrofií (SMA), kteří jsou automaticky nositeli genu bez projevů nemoci SMA. Tito byli vyšetřeni v opačném pořadí – tedy genetické vyšetření, klinické, EMG a biochemické vyšetření. Doteď bylo vyšetřeno 44 pacientů. Omezení počtu vyšetření bylo způsobeno Covidem v letech 2020, 2021 a 2022. Menší část pacientů

nesouhlasila s genetickým vyšetřením, vyšetření tedy nebylo provedeno v kompletním rozsahu. Celkový počet kompletně vyšetřených pacientů ale už umožňuje statistické zpracování a publikace. Výsledky byly s dobrým ohlasem předneseny na domácích a mezinárodních sjezdech, viz příloha. Připravujeme závěrečnou publikaci výsledků do impaktovaného časopisu.

Plán prací pro rok 2023:

Publikace dat.

Seznam publikací:

- Výskyt mutací v SMN1 genu u pacientů s fascikulačním syndromem. Langová M, Ridzoň P, Tajtlová J, Kejkulová R, Krejčí R.; 24. celostátní konference DNA diagnostiky, České Budějovice 18.-19.5.2022; Sborník 24 dna 2022.pdf - Disk Google str 15, kopie práce přiložena
- Vztah mezi výskytem benigních fascikulací, metabolickoendokrinními parametry a případným výskytem mutací v SMN1 genu. Ridzoň P, Langová M, Krejčí R, Tajtlová J, Kejkulová R. Slovenský a český neurologický zjazd, Bratislava, Slovensko, 16.-18.11.2022, (kopie práce a abstraktu přiložena).

31. *Diabetes 2.typu s primozáchytem při těžké dekompenzaci: dosažitelnost a udržitelnost remise na metforminu, faktory ovlivňující dlouhodobou kompenzaci a perspektivu komplikací. Retrospektivní kohortová studie, pilotní projekt s prospektivní částí*

Řešitel: MUDr. Magdalena Lejsková, Ph.D (Interní klinika III. LF UK, FTN)

Spoluřešitelé: MUDr. Ivana Hájková (Interní klinika III. LF UK, FTN), MUDr. Tomáš Adámek, Ph.D. (Interní klinika III. LF UK, FTN), MUDr. Matěj Bronec (Interní klinika III. LF UK, FTN), MUDr. Martin Kováčik (Interní klinika III. LF UK, FTN), Doc. Mgr. Zdeněk Valenta Ph.D.(Ústav informatiky AV ČR)

Rok zahájení: 2022

Anotace:

Probíhající výzkumná práce se zaměřuje na dosažitelnost a udržitelnost dlouhodobé remise diabetu 2. typu po primozáchytu s velmi závažnou dekompenzací. V retrospektivní části jsou studovány asociace běžně ambulantně sledovaných faktorů s dosažitelností a udržitelností remise podle glykovaného hemoglobinu <48 mmol/mol. V prospektivní části jsou navíc sledovány změny střevní mikrobioty v souvislosti s redukční dietou nutnou pro redukci a udržení redukované hmotnosti, což je východiskem pro remisi diabetu 2.typu. Výsledky přispějí ke zlepšení péče po primozáchytu diabetu 2. typu s velmi závažnou dekompenzací.

Cíle projektu:

Na základě dat extrahovatelných z databáze dlouhodobého sledování pacientů v diabetologické ambulanci (retrospektivní část) zhodnotit kompenzovatelnost diabetu s cílem dlouhodobé remise diabetu na metforminu v kohortě pacientů po primozáchytu DM2t s těžkou dekompenzací. V pilotní prospektivní části projektu zhodnotit vliv změn diety v úvodu na střevní mikrobiom.

Postup prací/metodika a výsledky v roce 2022:

Byl splněn harmonogram projektu pro 1. rok – příprava retrospektivních dat, zahájení odběrů pro prospektivní část u prvních pacientů.

Pro retrospektivní část projektu bylo dohledáno celkem 75 pacientů, kteří splňovali podmínku primozáchytu diabetu s těžkou vstupní dekompenzací a kteří byli dále sledováni a léčeni

v diabetologické ambulanci Thomayerovy nemocnice. U všech byla podrobně zhodnocena vstupní kritéria: zařazeno 54 pacientů a 21 pacientů bylo vyřazeno: (8 pacientů pro vývoj kompenzace směrem k jinému diabetu než 2.typu: z toho 4 pro diabetes 1.typu a další 4 pro rychlý vývoj k inzulindeficitnímu diabetu, u 2 pacientů nešlo o primozáchyt, u dalšího 1 pacienta chyběla důležitá data; nejvíce - 10 pacientů bylo vyřazeno pro příliš krátké sledování, z toho 7 pacientů pro nespolupráci hned v prvním roce sledování). U všech zařazených pacientů byly v dohledány laboratorní výsledky, údaje o preskripci a dostupné parametry základního fyzikálního vyšetření. Průběžně jsou se statistikem prováděny konzultace k přípravě dat na budoucí statistické hodnocení. Propojení získaných dat pro statistické zpracování vývoje sledovaných parametrů v čase však zatím naráží na problémy se změnami názvů a metodiky vytěžených laboratorních vyšetření u pacientů s primozáchytem před 8-15 lety, řešení těchto problémů je pracné a časově náročné, ale průběžně pokračuje.

Prospektivní část: Přestože během prvního půlroku projektu byly trvale problémy s příjmem k hospitalizaci vhodných zařaditelných pacientů, podařilo se do prospektivní pilotní části studie s 1. odběrem mikrobiomu zařazeno zatím 7 pacientů splňujících vstupní kritéria, které se daří velmi dobře kompenzovat. Na přelomu roku pokračuje pouze 5 (1 pacient odstoupil, u 1 pacientky diagnostikován karcinom pankreatu).

Předběžné výsledky:

V retrospektivní části studie se zatím jeví získané výsledky kompenzace diabetiků s cílem remise (orientačně, dosud statisticky nehodnocené) jako velmi úspěšné zejména během prvních let sledování. Dlouhodobější kompenzace diabetu závisí zejména na úspěšném udržení redukované hmotnosti při adhezenci k nefarmakologickým doporučením. Přestože se jedná o specifickou kohortu s těžkou vstupní dekompenzací diabetu, jsou výsledky minimálně noninferiorní ve srovnání s výsledky publikovanými k remisi diabetu v dostupné literatuře.

Byl publikován stručný přehled aktuálních informací a literatury k remisi diabetu 2.typu. Přesné statistické výsledky budou k dispozici až po kompletním zpracování dat zařazených pacientů.

Seznam publikovaných výsledků v roce 2022:

Článek

- Lejsková M, Hájková I, Adámek T, Bronec M. Remise nově diagnostikovaného diabetu 2.typu. Remission of newly diagnosed diabetes type 2. Atherosklerosa 2022, 34-43, ISBN 978-80-905595-8-5

Přednáška

- Lejsková M, Hájková I, Adámek T, Bronec M. Remise nově diagnostikovaného diabetu 2.typu. Remission of newly diagnosed diabetes type 2. Symposium IV.interní kliniky 1.LF UK Atherosklerosa 2022, 14.-15.9.2022 Praha.

Plán na rok 2023:

Je plánováno dokončení statistického zpracování dat z retrospektivní části studie a jejich zpracování pro publikaci a prezentaci. V prospektivní části bude kontinuálně pokračovat zařazování dalších vhodných pacientů a proběhne první fáze vyhodnocení získaných mikrobiomových vzorků. Pacienti z obou větví budou nadále průběžně sledováni v diabetologické ambulanci.