

# Průběžná zpráva o čerpání institucionální podpory v roce 2023

## Úvod

Příjemce podpory: Fakultní Thomayerova nemocnice  
IČ: 00064190  
Sídlo: Vídeňská 800, Praha 4, 140 59  
Odpovědný řešitel: doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D.  
Číslo podpory: RVO-TN/2022  
Výše podpory: 15 099 972 Kč

## Projekty - Výzkumná část

Institucionální podpora poskytnutá Fakultní Thomayerově nemocnici v roce 2023 byla využita na úhradu nákladů spojených s 32 projekty vybranými na základě interní grantové soutěže.

### Projekty ukončené v roce 2023

	Název projektu	Řešitel	Od	Typ projektu
<b>Víceleté projekty ukončené v roce 2023</b>				
1	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
2	Analýza mutací a polymorfismů DPYD u pacientů v FTN léčených protinádorovou chemoterapií s 5-fluorouracilem	Ing. Hana Šulcová	2021	Interní soutěž, víceletý
3	Analýza genových interakcí v neurodegeneracích prostřednictvím síťové biologie	RNDr. Eva Parobková	2021	Interní soutěž, víceletý
4	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
5	Prognostický význam primárních řasinek ve vztahu k vybraným parametrům nádorového mikroprostředí karcinomu endometria	MUDr. Blanka Rosová	2020	Interní soutěž, víceletý
6	Renální komplikace u pediatrických pacientů s nespecifickými střevními záněty	MUDr. Lucie Gonsorčíková, Ph.D.	2021	Interní soutěž, víceletý

7	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
8	Nové metody léčby COVID-19	MUDr. Lucie Hoznauerová	2021	Interní soutěž, víceletý
9	Komplexní intenzivní rehabilitační program v rámci následné péče lidí po cévní mozkové příhodě	doc. PhDr. Kamila Řasová, PhD.	2021	Interní soutěž, víceletý
10	Nové laboratorní přístupy identifikace endogenních a exogenních spouštěčů intersticiálních plicních procesů	Mgr. Pavel Sojka	2020	Interní soutěž, víceletý
11	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
12	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

# Závěrečné zprávy projektů ukončených v roce 2023

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

Hlavní řešitel: MUDr. Michal Moravec

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

Doba řešení projektu: 2020 – 2023

### Anotace projektu:

Studie souboru pacientů s diagnózou těžké komunitní pneumonie (sCAP) se sledováním vybraných parametrů buněčné a humorální imunity a dynamiky některých zánětlivých biomarkerů v průběhu choroby, jejich vztah k vyvolávajícímu patogenu, tíži, komplikacím, prognóze a celkovému klinickému výsledku onemocnění. Zhodnocení klinického významu těchto parametrů může mít vliv na zlepšení výsledků diagnostiky a léčby a je jednou z možností, jak v této problematice přispět k aplikaci konceptu „precision medicine“ do terapie těžkých infekčních onemocnění a sepse. Studie je designována jako observační a neintervenciální

### Hypotézy:

Sledované biomarkery infekčního zánětu mají klinický přínos pro diagnostiku a prognózu sCAP. Rozšíření imunologických vyšetření v průběhu sCAP a jejich hodnoty korelují se specifickými patogeny komunitní pneumonie a odrážejí tíži klinického stavu, predikují klinický outcome a jsou užitečným podkladem ke zvážení cílené imunomodulační terapie popřípadě mají výzkumný potenciál pro vakcinologii v problematice komunitních pneumonií.

### Cíle projektu:

Stanovit, jakou výpovědní hodnotu pro predikci tíže průběhu sCAP mají vybrané zánětlivé parametry a porovnat jejich užití ve studii se standardně používanými biomarkery. Rozšířit běžně užívané parametry imunity o komplexnější imunologická vyšetření – průtoková cytometrie, hladiny imunoglobulinů a zároveň sledováním mechanismů imunitní odpovědi významných pro plicní zánět a infekci zhodnotit jejich korelaci s daným infekčním agens CAP a klinickým průběhem nemoci.

### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

2020-2023 do projektu zařazeno podle protokolu studie 75 pacientů

Podle protokolu vytvořen dataset k dokumentaci a statistickému zpracování sledovaných parametrů  
Infekční původce komunitní pneumonie kombinací mikrobiologických vyšetření identifikován u 71 pacientů

(38 SARS CoV2, 8 SARS CoV2 + bakteriální patogen, 2 Influenza A, 23 bakteriálních patogenů), u 4 pacientů byl patogen neznámý

V celém souboru byla sledována 30denní a 90denní mortalita

### **Sledované biomarkery zánětu**

#### I. rutinní biomarkery

CRP, prokalcitonin vyšetřeny u všech subjektů minimálně v časech T0, D1, D3 a D7

#### II. experimentální biomarkery

- 1) IL6 37 pacientů v čase D1
- 2) MRproADM 70 pacientů v časech T0, D1, D3
- 3) Kyselina myristová 64 pacientů v časech T0, D1, D3, D5

## Sledované parametry imunity

### I. rutinní parametry

Krevní obraz a diferenciální rozpočet u všech pacientů minimálně v časech T0, D1, D3 a D7  
Imunoglobuliny včetně podtříd 70 pacientů v časech D1, D3 a D7

### II. experimentální parametry

1) Th17 v krvi	získána data od 69 subjektů
2) Th17 v BALu	30 subjektů
3) IL17A v krvi	66 subjektů
4) IL17A v BALu	30 subjektů
5) NLR (neutrophil/lymphocyte ratio)	75 subjektů
6) Průtoková cytometrie/subpolupace lymfocytů	72 subjektů

## Sledované parametry koagulace a krvetvorby

1) D dimery a fibrinogen	získána data	65 subjektů
2) Retikulocyty		49 subjektů

## Kardiomarkery

NTproBNP	71 subjektů
----------	-------------

### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

Do studie se podařilo zařadit plánovaný počet pacientů – 75 , v plánu 75-100 pacientů

Demografická a klinická data vyhodnocena včetně 30 a 90 denní mortality

Experimentální laboratorní analýzy podle protokolu studie byly úspěšně navázány na rutinní klinickou praxi a všechny výzkumné parametry zahrnuté v designu studie se podařilo nasbírat a zdokumentovat u většiny pacientů ze souboru

Proběhlo téměř kompletní statistické zpracování souboru, sběr dat ukončen 10/2023

Vyhodnocena mikrobiální etiologie původců komunitní pneumonie, tato byla porovnána se sledovanými experimentálními parametry imunity i zánětu, nad rámec původního výzkumného záměru sledovány i vybrané parametry koagulace a srdečního selhání

Sledovaná data byla využita po statistickém zpracování do publikačních výstupů v zahraničním i domácím odborném tisku s impaktem nebo recenzním řízením – hlavní řešitel jako spoluautor, ostatní řešitelé jako autoři nebo spoluautoři (viz publikace níže)

Po kompletním statistickém zpracování dat bude publikován autorský článek v odborném periodiku s IF

Hlavní řešitel je autorem posteru ke sledované problematice prezentovaném na mezinárodní odborné konferenci

Hlavní řešitel a spoluřešitelé prezentovali odborná sdělení na několika odborných akcích ke studované problematice (viz přehled níže)

### Závěry:

Těžká komunitní pneumonie (sCAP) zůstává i přes komplexní terapii současné intenzivní péče rozvinutých zdravotních služeb závažným onemocněním s vysokou mortalitou (40-50% v našem souboru).

Podíl pacientů přijatých na nejvyšší stupeň pracovišť IP ve spádové superkonziliární nemocnici odhadujeme každoročně na 3- 5 % všech přijatých pacientů za kalendářní rok (výjimkou byla anomálie při pandemii Covid19).

PCR diagnostika původce pneumonie se jeví jako rychlý a účinný nástroj k časnému průkazu etiologického agens sCAP, její prokazatelný benefit je ještě zvýrazněn u „atypických“ plicních patogenů – Legionella pneumophilla, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae.

V časném průběhu sCAP dochází k významné aktivaci některých složek systémové a zejména slizniční buněčné imunity – lymfocyty Th17 a jejich cytokin IL17A, nepodařilo se však prokázat korelaci intenzity této odpovědi s klinickým průběhem nemoci a zejména s vlivem na časnou i pozdní mortalitu.

V časném průběhu sCAP jsme potvrdili signifikantní pokles lymfocytů v periferní krvi u většiny pacientů, opět však bez prokazatelného vlivu na outcome pacientů.

Sledování rozšířených zánětlivých biomarkerů či metabolitů (MRproADM, IL6, kyselina myristová) v průběhu sCAP prokázalo jejich nárůst v prvních dnech onemocnění, ale tento fenomen neměl signifikantní vliv na celkovou morbiditu a mortalitu ve sledovaném souboru.

Aktivace koagulace (D dimery, fibrinogen) a laboratorní známky významného srdečního selhání (NTproBNP) jsou nedílnou součástí patofyziologických změn navozených v organismu v průběhu sCAP. Hypotéza patogen-specifické zánětlivé a imunitní odpovědi nebyla v našem souboru potvrzena.

#### Výstupy za celou dobu řešení projektu:

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech:

Džupová O, Moravec M, Bartoš H, Brestovanský P, Tencer T, Hyánek T, Beroušek J, Krupková Z, Mošna F, Vymazal T, Beneš J. COVID-19 severe pneumonia: Prospective multicentre study on demands on intensive care capacities. *Cent Eur J Public Health*. 2021 Mar;29(1):3-8. doi: 10.21101/cejph.a6672. PMID: 33831279.

Zazula R, Moravec M, Pechal F, Nejtek T, Protuš M, Müller M. Myristic Acid Serum Levels and Their Significance for Diagnosis of Systemic Inflammatory Response, Sepsis, and Bacteraemia. *J Pers Med*. 2021 Apr 16;11(4):306. doi: 10.3390/jpm11040306. PMID: 33923419; PMCID: PMC8074080.

Nejtek T, Müller M, Moravec M, Průcha M, Zazula R. Bacteremia in Patients with Sepsis in the ICU: Does It Make a Difference? *Microorganisms*. 2023 Sep 20;11(9):2357. doi: 10.3390/microorganisms11092357. PMID: 37764201; PMCID: PMC10534394.

##### **Domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: -
3. články v recenzovaném časopise:

Předběžné zhodnocení účinnosti experimentální léčby rekonvalescentní plazmou u pacientů s těžkým průběhem covid – 19 ve Fakultní Thomayerově nemocnici J. Moravec, M. Müller, P. Turek, M. Moravec, M. Vašáková, R. Zazula, Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL. 2021, roč. 18, č. 1, s. 10.

Porovnání hladin prokalcitoninu a C-reaktivního proteinu s výsledky hemokultur u septických pacientů s infekcí dolních cest dýchacích T. Nejtek, M. Müller, M. Moravec, R. Zazula, Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL. 2021, roč. 18, č. 1, s. 23

Moravec J, Müller M, Turek P, Moravec M, Nejtek T, Zazula R. Effect of Convalescent Plasma Therapy on Mortality and Viral Load in Severely Ill Patients with COVID-19. *Prague Med Rep*. 2023;124(3):230-241. doi: 10.14712/23362936.2023.18. PMID: 37736947. *Prague Medical Report / Vol. 124 (2023) No. 3, p. 230–241*

Přednášky:

- Vybrané parametry imunity a zánětlivé odpovědi u pacientů s těžkou komunitní pneumonií 3 prezentace (2021,2022,2023) v rámci 15-17. fakultní konferenci studentů doktorských programů Fakulty vojenského zdravotnictví při Univerzitě obrany ČR
- Naše zkušenosti s léčbou pacientů s těžkým průběhem onemocnění COVID-19 Prezentace na XIII. ročníku celostátní konference Kvalita zdravotní péče a akreditace (2021)

Postery:

- Th17 cells and IL17A in serum and BAL fluid in Covid19 and nonCovid19 severe community acquired pneumonia  
Moravec M (1,2, Nejtek T (1,2), Müller M (1), Moravec J (1), Ibrahimová M (3), Zazula R (1)  
*Sepsis 11th Update 2023, Weimar, Germany, section Clinical Sepsis / COVID-19 Research – Diagnostics*

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

Hlavní 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; MUDr. Lucie Žitňanská, MUDr. Jana Čejková, Onkologická klinika 1. LF UK a FTN

Doba řešení projektu: 2021 – 2023

Anotace projektu:

Dihydropyrimidin dehydrogenáza (DPD), enzym zodpovědný za katabolismus 5-fluorouracilu (5-FU), je zapojený v třístupňové katabolické dráze uracilu a thyminu. 5-FU působí jako antagonist pyrimidinu a je hlavním chemoterapeutickým lékem používaným k léčbě nádorů.

Stanovení aktivity DPD u pacientů před léčbou 5-FU a nastavení individuální terapie může pomoci předcházet možnému riziku toxicity. Vzhledem k tomu, že jedinci se sníženou nebo úplnou nepřítomností aktivity DPD mají po podání 5-FU závažné nežádoucí účinky, je optimální provést genotypizaci a fenotypizaci DPD ještě před zahájením léčby.

Hypotézy:

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.

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.
- d. 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.

#### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

V průběhu let 2021 – 2023 bylo testováno 205 pacientů z Onkologické kliniky 1. LF UK a FTN. Byla jim odebrána nesrážlivá krev na vyšetření 4 mutací v genu DPYD a srážlivá krev na vyšetření hladiny uracilu ze séra. Molekulárně genetické vyšetření na mutace genu DPYD probíhalo v laboratoři molekulární genetiky Ústavu patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN. Byla průběžně izolována DNA a probíhala analýza mutací a polymorfismů DPYD. Při analýze bylo detekováno 6 pacientů s mutací ve vyšetřovaném genu. U třech z těchto pacientů byla zjištěna heterozygotní mutace c.1905+1G>A (DPYD\*2A) a u třech pacientů heterozygotní mutace c.1236G>A/HapB3.

Vyšetření hladiny uracilu zpočátku probíhalo na Ústavu soudního lékařství a toxikologie VFN Praha. Spolupráce s Ústavem soudního lékařství a toxikologie VFN na vývoji metody měření hladiny uracilu byla z důvodu vytiženosti pracoviště 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). Z důvodu obtížnosti zavedení metody je stále tato část studie bez výstupu, avšak vzhledem k provázanosti tohoto končícího projektu s projektem probíhajícím na OKB se bude nadále v zavedení této metody pokračovat.

#### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

V tomto projektu bylo testováno 205 pacientů, přičemž u 6 z nich byla zachycena mutace v genu DPYD, což odpovídá 2,92 %. Tato hodnota odpovídá 3-5 % jedinců s nižší aktivitou enzymu DPD uvedené v naší hypotéze.

V prvním roce byl záchyt mutace c.1905+1G>A (DPYD\*2A) u dvou pacientů. U nich se projevil nežádoucí účinky. U jednoho pacienta s mutací c.1236G>A/HapB3 byla tolerance na léčbu dobrá.

Ve druhém roce byl jeden záchyt mutace c.1236G>A/HapB3. U tohoto pacienta došlo ke snížení dávky 5-FU o 25 %. Ve třetím roce byla zachycena mutace c.1236G>A/HapB3 u jednoho pacienta, který toleroval léčbu v plné dávce. U druhého pacienta byla detekována mutace c.1905+1G>A (DPYD\*2A). Léčebná dávka byla snížena o 25 % s výbornou tolerancí.

Vzhledem k tomu, že ještě nejsou k dispozici výsledky hladiny uracilu u vyšetřovaných pacientů, nelze korelovat tyto výsledky s výsledky získané molekulární analýzou vybraných mutací DPYD a souborem klinických dat, zejména ve vztahu k pozorovaným nežádoucím účinkům podávané chemoterapie s 5-FU.

#### Závěry:

Molekulárně genetické vyšetření mutací a polymorfismů genu DPYD bylo díky této studii připraveno k validaci a v tuto chvíli je metoda úspěšně zakreditována a je nabízena k rutinnímu vyšetření na Ústavu patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN Praha. Lékaři z Onkologické kliniky 1. LF UK a FTN mohou tak na základě genotypizace přizpůsobit dávkování léků s 5-FU onkologicky léčeným pacientům dle doporučení CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium), přičemž se minimalizuje riziko toxicity těchto chemoterapeutik. K dalšímu snížení nežádoucích účinků a zvýšení efektivity léčby 5-FU přispěje terapeutické monitorování 5-FU, které je jedním z cílů probíhajícího projektu na OKB FTN.

Publikace, konference?

---

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

Hlavní řešitel: RNDr. Eva Parobková Ph.D.

Spoluřešitelé: Ing. Hana Šulcová, prof. MUDr. R. Matěj, Ph.D., Renáta Barcajová

Doba řešení projektu: 2021 – 2023

#### Anotace projektu:

Neurodegenerativní onemocnění jsou zřídka způsobena mutací v jediném genu, ale jsou spíše ovlivněna kombinací genetických, epigenetických a environmentálních faktorů. Výkonné technologie, jako je sekvenování RNA, pomohly při dešifrování molekulárního prostředí neurodegenerativních onemocnění a síťová biologie se stala výkonnou platformou pro integraci dat pro komplexní prozkoumání molekulárních sítí v kontextu zdraví a nemoci.

Hypotézy:

- a) Síťové přístupy identifikují cesty specifické pro Alzheimerovu chorobu (AD)
- b) Síťové přístupy u Parkinsonovy choroby (PD)
- c) Síťové přístupy k porozumění souvislosti mezi neurodegenerativními chorobami

#### 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.

#### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

DNA vzorky pro sekvenování nové generace byly připraveny pomocí příslušných sad na přípravu knihoven kombinací vhodné chemie (Illumina prep, SureSelect,.); postup zahrnoval fragmentaci a přípravu knihoven. Sekvence DNA knihoven byla kvantifikována a sekvenována pomocí přístroje Illumina NextSeq 550/550Dx. Pomocí systémů 4150 TapeStation od Agilent jsme provedli analýzu píku pro stanovení průměrné délky knihovny v rozsahu velikosti 150–1000 bp.

Bylo vyšetřeno více než 40 pacientů a proběhla rozsáhlá bioinformatická analýza dat dle nastavených algoritmů a statistické zpracování.

#### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

Z našich dat a výstupů vyplynulo, že v případě komplexních neurodegenerativních onemocnění se na vlastnosti podílí více genetických markerů s malou velikostí účinku. U komplexních neurodegenerativních onemocnění je genetická složka pro většinu případů (sporadických) skutečně definována velkým množstvím variant, tj. genetickou architekturou onemocnění, která jedince připravuje k rozvoji onemocnění v určité fázi života. V menšině případů komplexní neurodegenerace (familiární) jsou izolovány mutace v jednotlivých genech. I když tyto mutace mají silné kauzální účinky,



modifikátory v rámci genetické architektury modulují nástup a progresi onemocnění. Ukázalo se, že cestami pro možnou iniciaci Parkinsonovy choroby mohou být extracelulární ligandy, jako jsou CX3CL1, IL12B. Nicméně, limitací byla menší skupina vyšetřovaných pacientů, která ne zcela postačila k modelování genetické architektury rizika nemoci. Je žádoucí, aby bylo současně analyzováno více kauzativních markerů. Zkonstruovali jsme aspoň částečně genovou síť pro AD, která bude využívána a upravována pro další modelování genetické architektury nemoci.

#### Závěry:

Během projektu se nám podařilo vydat 4 publikace v impaktovaných časopisech a v recenzovaném časopise máme 1 publikaci „Analýza genů asociovaných s neurodegenerativními onemocněními: Praktické zkušenosti s využitím metodiky NGS“. Upravený projekt pokusíme podat na AZV, který rozšíříme o větší skupinu pacientů z neurologických klinik v Praze, v Brně a v Olomouci.

#### Výstupy za celou dobu řešení projektu:

zahraniční publikace:

1. články v impaktovaných časopisech:

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. PMID: 33805659; PMCID: PMC7998502.

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 Mar 16;10(3):680. doi: 10.3390/biomedicines10030680. PMID: 35327482

Menšíková K, Matěj R, Parobková E, Smětáková M, Kaňovský P. PART and ARTAG tauopathies at a relatively young age as a concomitant finding in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Prion*. 2021 Dec;15(1):138-142. doi: 10.1080/19336896.2021.1946378. PMID: 34224311; PMCID: PMC8259715.

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. PMID: 34679519; PMCID: PMC8534461.

domácí publikace:

2. články v recenzovaném časopise: Analýza genů asociovaných s neurodegenerativními onemocněními: Praktické zkušenosti s využitím metodiky NGS- probíhá recenzní řízení.

Přednášky: příprava na kongres- Molekulárně biologická sekce – Český kongres molekulární patologie

---

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

Hlavní řešitel: MUDr. Petr Šuhaj

Spoluřešitelé: MUDr. Tomáš Olejář Ph.D., prof. MUDr. Radoslav Matěj Ph.D., Mgr. Alena Poláková

Doba řešení projektu: **2021 – 2023**

##### 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.

##### Hypotézy:

Endokrinní a exokrinní pankreas jsou struktury v těsném kontaktu a pravděpodobně se vzájemně ovlivňují. Jedním z těchto komunikačních prostředků může být interakce trypsin – PAR2. Popsat případnou PAR2 indukovanou sekreci inzulínu beta-buněk či transdiferenciaci endokrinních buněk Langerhansových ostrůvku na archivních tkáních pankreatů.

##### Cíle projektu:

- 1) porovnat expresi PAR-2 a současně dalších markerů mezi archivními humánními vzorky pankreatů a data získaná in vitro stimulací PAR-2 v buněčné kultuře lidských beta buněk
- 2) přímým průkazem zjistit distribuci trypsinu v archivních vzorcích tkání a zhodnotit, zda může docházet k přímému ovlivnění endokrinního pankreatu
- 3) vyhodnotit kompozici Langerhansových ostrůvků z hlediska hormonálního zastoupení v koexpresi s PAR-2 v archivních humánních vzorcích v korelaci s in vitro buněčným modelem.

##### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

Vytvoření databáze archivních případů fyziologických pankreatů a pankreatických lézí (archivní bioptické a nekroptické bloky). Nákup protilátek pro imunohistochemické (IHC) reakce a vytvoření příslušných laboratorních protokolů (PAR2, SSTR2, NKX6.1, INS, GLC, SST, PPY, SER, GAST). Zaškolení v práci se světelným a konfokálním mikroskopem včetně pořizování snímků. Provedení IHC analýz ve fyziologických pankreatech a pankreatických lézích, ve vybraných vzorcích provedeno vyšetření konfokálním mikroskopem. Na základě IHC zpětná analýza předoperačních tektrotydových skenech (nukleární medicína). Výsledky byli následně publikovány v originálním článku a přehledových člancích. V laboratoři pro práci s buněčnými kulturami proběhlo zaškolení ohledně principů práce s buněčnými kulturami, byly vypracovány protokoly pro práci s buněčnými kulturami INS-1e a BxPC3. Byly vyzkoušeny různé metody přípravy histologických preparátů (přímá kultivace na podložní skličku, cytoblok a nátěr vytvořený cytopsinem). Na stimulovaných a nestimulovaných buňkách byly provedeny imunocytochemické vyšetření (PAR2, SSTR2, INS, GLC, SST, PPY, NKX6.1). Pokusili jsme se prokázat zvýšenou přítomnost inzulínu v kultivačním roztoku pomocí metod Western-blot a ELISA.

V rámci spolupráce s oddělením chirurgie Nemocnice Na Bulovce byly hodnoceny i exprese receptoru RAGE a metaloproteináz, což vyústilo v publikaci spoluautorského článku. Rovněž v rámci navázané spolupráce s oddělením nukleární medicíny vznikla spoluautorská publikace zajímavého případu mozkové smrti, na níž jsme participovali neuropatologickou pitvou.

#### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

Vypracovali jsme přehledové články, v nichž jsme ujednotili přirozenou expresi receptoru PAR2. Rovněž jsme pozorovali expresi PAR2 na buňkách Langerhansových ostrůvků i na buněčných kulturách INS-1e, nicméně transdiferenciaci jsme nepozorovali. Na buněčných kulturách se nám nezdařilo prokázat PAR2 indukovanou sekreci inzulinu.

Oproti stanoveným cílům jsme identifikovali v blízkosti neuroendokrinních neoplazií identifikovali hyperplazii buněk produkujících pankreatický polypeptid, jež vznikají změnou fenotypu výstelky ductů a následnou proliferací, vznik transdiferenciací buněk Langerhansových ostrůvků jsme nepozorovali. PPY-H jsme dále korelovali s rozvojem symptomů v gastro-entero-pankreatické oblasti. Vzhledem výrazné expresi somatostatinového receptoru typu 2 (SSTR-2) v PPY-H lze lézi zobrazit pomocí metod nukleární medicíny a případně využít receptor jako cíl léčby.

#### Závěr:

Publikované výsledky přinesli vzhled do PAR2 exprese ve fyziologickém pankreatu a rozšířili znalosti ohledně PPY-H. Zavedeny byly nové IHC markery pro průkaz produkce hormonů (INS, GLC, SST, PPY, SER, GAST) v neuroendokrinních tumorech, což umožní zpětnou klinickou korelaci se symptomy pacientů. V průběhu řešení projektu byla navázána spolupráce s oddělením nukleární medicíny. Korelace nálezů jejich vyšetřovacích metod s histopatologickými nálezy a imunohistochemicky prokázanou expresí molekulárních cílů by mohlo být přínosné pro zpřesnění diagnostiky a případnou triáž pacientů vzhledem k pravděpodobnosti odpovědi na léčbu radiofarmaky.

#### Výstupy za celou dobu řešení projektu:

**zahraniční publikace** - články v impaktovaných časopisech:

- Suhaj P, Do D, Olejar T, Pichova R, Lang O, Matej R. PPY-cell hyperplasia accompanying NENs: Immunohistochemical and nuclear medicine analysis. *Pathol Res Pract.* 2023 Nov 14;253:154941. doi: 10.1016/j.prp.2023.154941. Epub ahead of print. PMID: 38000200.
- Do D, Suhaj P, Benes J, Matej R, Lang O. Aneurysmal [99mTc]Tc-HMPAO uptake in brain death. *Clin. Nucl. Med.* 2024 Feb (přijato k publikaci).
- 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; PMCID: PMC9841802.
- Vetvicka D, Suhaj P, Olejar T, Sivak L, Benes J, Pouckova P. Proteinase-activated Receptor 2: Springboard of Tumors. *Anticancer Res.* 2024 Jan;44(1):1-12. doi: 10.21873/anticancer.16782. PMID: 38159988.
- Horak P, Suhaj P, Matej R, Cervinkova M. Potential novel markers in IBD and CRC diagnostics. Are MMP-19 and RAGE promising candidates? *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2022 Dec;166(4):380-385. doi: 10.5507/bp.2022.014. Epub 2022 Mar 24. PMID: 35352707.

#### **domácí publikace:**

články v impaktovaném časopise: nejsou

články v recenzovaném časopise: nejsou

#### **Přednášky:**

nejsou

---

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

Hlavní řešitel: MUDr. Blanka Rosová, Ústav patologie a molekulární medicíny, 3. LF UK a FTN

Spoluřešitelé: doc. MUDr. Josef Dvořák, Ph.D., Onkologická klinika, 1. LF UK a FTN; MUDr. Jakub Tůma, Gynekologicko-porodnického oddělení FTN; Mgr. Alena Poláková, Ústav patologie a molekulární medicíny, 3. LF UK a FTN

Doba řešení projektu: 2020–2023

### Anotace projektu:

Endometroidní adenokarcinom dělohy patří mezi nejčastější nádorové onemocnění ženského genitálního traktu. Jeho incidence má ve vyspělých zemích rostoucí tendenci. Frekvence primárních řasinek (PŘ) je v tomto druhu tumoru málo prozkoumána, stejně tak není podrobněji zmapována korelace výskytu PŘ s biomarkery nádorového mikroprostředí.

Z důvodu analogií v architektuře primární řasinky a imunologické synapse je imunologická synapse považována za funkční homolog primární řasinky. Zatímco lze přímo zobrazit (a spočítat) primární řasinky protilátkou proti acetylovanému tubulinu alfa, je obtížné zobrazit ty CD8+ tumor infiltrující lymfocyty, které mají polarizovaný centrosom - vytváří imunologickou synapsi. Nejblíže realitě je vyšetřit expresi PD-1 a hustotu CD8+ tumor infiltrujících lymfocytů.

### Hypotézy:

V našem projektu předpokládáme nalezení vztahu frekvence PŘ k vybraným markerům imunitního systému (CD8+ TIL, PD-1, PD-L1) u low grade karcinomu endometria dělohy endometroidního typu.

Zhodnocení porovnatelnosti výskytu PŘ a dalších hodnocených markerů ve vzorcích z kyreáže a po definitivní resekci dělohy u stejné pacientky.

### Cíle projektu:

Cílem projektu je nalezení korelace frekvence výskytu primárních řasinek a vybraných imunohistochemických parametrů (CD8+TIL, PD-1, PD-L1 a beta-cateninu) v nádorovém mikroprostředí časných stadií (T1a-T2 N0 M0) low grade primárního karcinomu endometria ve vztahu ke známým klinickým a patologickým údajům.

### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

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  $\beta$ -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.

### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

Byla provedena všechna plánovaná vyšetření, byla provedena statistická analýza. Nyní probíhá příprava publikace do impaktovaného časopisu.

### Závěry:

Z 9 hodnocených markerů imunitního systému a nádorového mikroprostředí karcinomu endometria byl nalezen jeden nezávislý prediktor výskytu primárních řasinek, a to exprese PD-1. Pravděpodobnost, že pacientka s expresí PD-1 (5-25%) má přítomny primární řasinky je 8,25-krát větší v porovnání s

pacientkou, která má expresi PD-1 (<5%). Pravděpodobnost, že pacientka s expresí PD-1 (26-50%) má přítomny primární řasinky je 5,867-krát větší v porovnání s pacientkou, která má expresi PD-1 (<5%).

Výstupy za celou dobu řešení projektu:

**Jiné výstupy/ Ocenění:**

Rosova B, Proks J, Filipova A, Hadzi Nikolov D, Chloupkova R, Richter I, Szabo A, Rozsypalova A, Matej R, Melichar B, Buchler T, Dvorak J. Favorable prognostic significance of membranous  $\beta$ -catenin expression and negative prognostic significance of cytoplasmic  $\beta$ -catenin expression in pancreatic cancer. *Neoplasma*. 2023 Dec;70(6):796-803. doi: 10.4149/neo\_2023\_230721N380. PMID: 38247336. **(IF 50,5, Q1)**

---

## **6. Onemocnění ledvin u dětských pacientů se zánětlivým střevním onemocněním**

### Hlavní řešitel:

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

### Spoluřešitelé:

MUDr. David Bauer, MUDr. Tamara Čábelová, Pediatriká klinika 1. LF UK a FTN

MUDr. Iva Pospíšilová, Oddělení klinické biochemie FTN

Ing. Martin Hill, DrSc., Endokrinologický ústav, Oddělení steroidních hormonů a proteohormonů, Praha

Projekt probíhá ve spolupráci s Pediatrikou klinikou FN Motol, za tuto část projektu zodpovídá MUDr. Eva Švábová

Doba řešení projektu: 2021 – 2024

### Anotace projektu:

Z dostupné literatury je známo, že extraintestinální manifestace se vyskytuje u 20 – 35% pediatrikých pacientů s Crohnovou nemocí (CD) a u 15% pacientů s ulcerózní kolitidou (UC) [2-3]. Nejčastěji jsou postiženy klouby, kůže, oči, játra a žlučové cesty [4]. Dalším orgánem, který může být u pacientů se zánětlivým střevním onemocněním (IBD) postižen, jsou ledviny. Renální postižení je popisováno u 4% - 23% dospělých pacientů [5-9]. Je nedostatek prací, které by se této problematice u pediatrikých pacientů věnovaly komplexněji [5, 9-11]. Popisovány jsou nejrůznější typy renálního postižení, jako nefrolitiáza, tubulointerstickální nefritida, glomerulopatie a vzácně amyloidóza [8]. Není zcela jasné, do jaké míry se v etiologii těchto změn uplatňuje vliv imunopatologických a metabolických mechanismů při aktivitě vlastního onemocnění a do jaké míry mohou být dány nežádoucím účinkem léků, které jsou v léčbě IBD používány, jako jsou např. 5-aminosalicyláty nebo inhibitory TNF.

### Hypotézy:

- Předpokládáme, že u pacientů s IBD zjistíme zvýšené hodnoty markerů tubulárního postižení ledvin oproti zdravým kontrolám.
- Předpokládáme, že již v dětském věku nalezneme u pacientů s IBD vyšší koncentrace litogenních látek v rámci metabolického vyšetření moči a že tyto budou korelovat s tíží střevního postižení.
- Předpokládáme, že u pacientů s IBD bude míra postižení ledvin korelovat se závažností základního onemocnění.

### Cíle projektu:

#### Primární cíl:

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

#### Sekundární cíle:

- Ozřejmit, zda u pacientů s IBD bude míra postižení ledvin korelovat se závažností základního onemocnění.
- Stanovit koncentrace tubulárních markerů v moči u pacientů s IBD a tyto srovnat s koncentracemi u dětí v kontrolní skupině.

### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

Dosud bylo do studie zařazeno 140 dětí se zánětlivým střevním onemocněním (IBD) – 82 s Crohnovou chorobou (CD), 53 s ulcerózní kolitidou (UC) a 5 s neklasifikovatelným zánětlivým střevním onemocněním (IBD-U). Z těchto 140 dětí bylo 85 chlapců a 55 dívek. Median věku 15 let.

U všech dětí byly provedeny krevní odběry, vyšetřeny vzorky moči (odpady iontů; odpady proteinů – albumin, tubulární markery alfa-1-mikroglobulin, N-acetyl-β-D-glukosaminidáza; 200μl moči zamraženo na analýzu KIM-1; hladina litogenních oxalátů a protektivně působících citrátů), byla zhodnocena klinická situace v době odběru biologického materiálu (věk, pohlaví, hmotnost, výška, typ onemocnění, doba trvání onemocnění, skóre aktivity onemocnění – Pediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI), Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index (PUCAI), hladina fekálního kalprotektinu, současná i v minulosti užívaná medikace k terapii IBD, extraintestinální manifestace, chirurgické komplikace). Dále bylo provedeno sonografické vyšetření ledvin zejména za účelem změření velikosti ledvin a zhodnocení případné přítomnosti litiázy či dilatace kalichopánvičkového systému.

V současné chvíli probíhá odběr zdravých kontrol, které jsou stěžejní pro definitivní výstup studie.

### ***Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:***

U 9 pacientů (6,4 %) z našeho souboru byla identifikována hematurie, u 4 (2,9 %) proteinurie. Odhadnutá glomerulární filtrace pod 90 ml/min/1,73m<sup>2</sup> s použitím vzorců uvažujících hladinu kreatininu a cystatinu C byla zaznamenána u 41 pacientů, respektive 29,4 %, z toho u 23 s Crohnovou chorobou, u 17 s ulcerózní kolitidou a u 1 pacienta s neklasifikovatelným zánětlivým střevním onemocněním. Patologie na ultrasonografickém vyšetření nebyla doposud u pacientů z našeho souboru zjištěna.

U jednoho pacienta s Crohnovou chorobou byla histologicky potvrzena IgA nefropatie. Tubulointersticiální nefritida byla histologicky potvrzena u dvou pacientů s ulcerózní kolitidou.

### Závěry:

V současné chvíli probíhá ještě ukončování sběru zdravých kontrol. Definitivní závěry bude možné stanovit až srovnáním skupiny zdravých a nemocných dětí. Zároveň po ukončení sběru všech vzorků proběhne i vyhodnocení moči na stanovení markeru KIM-1. Předběžné výsledky jsou shrnuty v níže uvedené tabulce.

## Ledivinné funkce a IBD

### Přehled renálních postižení

	CD (N=82)	IBD-U (N=5)	UC (N=53)	Overall (N=140)
vek				
Median [Q1,Q3]	15.0 [13.0,17.0]	16.0 [16.0,18.0]	14.0 [13.0,16.0]	15.0 [13.0,17.0]
pohlaví				
F	33 (40.2%)	2 (40.0%)	20 (37.7%)	55 (39.3%)
M	49 (59.8%)	3 (60.0%)	33 (62.3%)	85 (60.7%)
as.numeric(doba sledovani)				
Median [Q1,Q3]	2.88 [1.15,5.31]	5.75 [4.02,7.33]	1.88 [1.27,4.39]	2.60 [1.25,5.45]
as.factor(EIM)				
0	62 (75.6%)	5 (100%)	47 (88.7%)	114 (81.4%)
1	20 (24.4%)	0 (0%)	6 (11.3%)	26 (18.6%)
eGFR				
Median [Q1,Q3]	93.9 [89.5,100]	98.9 [97.2,99.3]	93.9 [88.9,103]	94.1 [89.4,101]
CKD2				
no	59 (72.0%)	4 (80.0%)	36 (67.9%)	99 (70.7%)
yes	23 (28.0%)	1 (20.0%)	17 (32.1%)	41 (29.3%)
as.factor(hematurie)				
0	76 (92.7%)	5 (100%)	50 (94.3%)	131 (93.6%)
1	6 (7.3%)	0 (0%)	3 (5.7%)	9 (6.4%)
as.factor(proteinurie)				
0	80 (97.6%)	5 (100%)	51 (96.2%)	136 (97.1%)
1	2 (2.4%)	0 (0%)	2 (3.8%)	4 (2.9%)
as.factor(albuminurie)				
0	80 (97.6%)	5 (100%)	52 (98.1%)	137 (97.9%)
1	2 (2.4%)	0 (0%)	1 (1.9%)	3 (2.1%)
tubul.fee				
Median [Q1,Q3]	0.359 [0.241,0.482]	0.238 [0.233,0.346]	0.495 [0.345,0.774]	0.396 [0.243,0.630]
Missing	25 (30.5%)	0 (0%)	12 (22.6%)	37 (26.4%)
NAG				
Median [Q1,Q3]	0.472 [0.244,1.17]	0.960 [0.691,1.03]	0.529 [0.230,0.876]	0.485 [0.233,0.975]
Missing	9 (11.0%)	2 (40.0%)	12 (22.6%)	23 (16.4%)

#### Výstupy za celou dobu řešení projektu:

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: probíhá příprava článku

##### **domácí publikace:**

Renální postižení u pediatrických pacientů se zánětlivým střevním onemocněním. E.Švabová et al., ČS Pediatrie, 2023

##### **Přednášky:**

Symposium dětských IBD 2023, Pasohlávky

44. Pracovní dny dětské nefrologie, 2023, Třebíč

ESPN 55th Annual Meeting, Vilnius – „Vedolizumab induced interstitial nephritis in a child with very early onset inflammatory bowel disease: a case report“

---



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

Hlavní řešitel: prof. MUDr. Martina Koziar Vašáková, Ph.D.

Spoluřešitelé: MUDr. Emília Kopecká, MUDr. Mariya Sukholytka, MUDr. Karolína Doležalová, Ph.D., MUDr. Luboš Bača, RNDr. Markéta Ibrahimová, Ph.D., Mgr. Petra Hadlová

Doba řešení projektu: 2020 – 2023

Anotace projektu: Latentní tuberkulózní infekce (TBI) je charakterizována absencí klinických příznaků a radiologického obrazu tuberkulózy a pozitivitou imunologického testu, prokazujícího imunitní odpověď proti *M. tuberculosis*. V současné době máme k dispozici buď kožní test s tuberkulinem nebo imunologické testy z krve založené na detekci interferonu gama uvolněného lymfocyty v reakci na setkání s antigeny *M. tuberculosis*. Současné testy bohužel nedokáží odlišit aktivní tuberkulózu od TBI a nedokáží kvantifikovat riziko vzplanutí infekce a vývoje klinicky manifestní tuberkulózy. Proto je velká snaha a vyvinutí jednoduchého a spolehlivého testu, který by byl opakovatelný a s vysokou mírou spolehlivosti dokázal předpovědět aktivitu infekce a riziko rozvoje nemoci.

### Hypotézy:

- Pro detekci imunitní reakce na *M. tuberculosis* lze využít metodu průtokové cytometrie s detekcí intracelulárních cytokinů.
- Pokud použijeme více cytokinů než jen interferon gama, dokážeme lépe odlišit vývoj vztahu *M. tuberculosis* a hostitel a odlišit tedy TBI od rizika rozvoje TB a aktivní TB
- Vhodné cytokiny pro využití diagnostiky TBI a TB metodou průtokové cytometrie jsou IFN-g, IL-4, IL-17, TNF-a a IL-2

### Cíle projektu:

Cílem projektu je odlišení tuberkulózní infekce (TBI) a tuberkulózy (TB). Současné metody detekce TBI založené na uvolňování interferonu gama (IGRA) nedokážou tyto stavy odlišit, navíc u pacientů po prodělané TB a s TBI, která již byla odléčena, nemá již sledování IGRA testy význam, pokud pozitivita testu přetrvává. Možnou cestou vývoje jsou cytometrické metody vhodné pro diagnostiku TB, cílicí nejen na T-buněčnou reaktivitu a zahrnující sledování exprese více cytokinů. Tyto testy by měly dokázat sledovat i pacienta po proděláné 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-g), 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-alfa 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

Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

### Úvod projektu - rok 2020, 2021

V roce 2020 a 2021 jsme nabrali vzorky od dospělých a dětských pacientů s TB a dětí v kontaktu s TB na Pneumologické klinice 1. LF UK a FTN a na Pediatrické klinice 1.LF UK a FTN. Bylo zařazeno celkem 26 dětí a 20 dospělých. Vzorky byly převáženy na Přírodovědeckou fakultu, kde byla část z nich zpracována Mgr. Hadlovou pod vedením RNDr. Drbala.

## **Pokračování projektu 2022**

Vzhledem k neplnění úkolů ze strany spoluřešitele, dr. Drbala, se rozhodujeme o ukončení spolupráce a převzetí metodiky plně pouze do FTN. Spolupráci s Mgr. Hadlovou zachováváme za souhlasu jejího nového školitele. 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 PŘF UK. 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) a CFP-10 (culture filtrate protein-10) (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:**

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

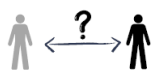
### **Stav řešení cílů v roce 2023:**

Dle plánu jsme doplnili další vzorky ve vyšetřovaných kategoriích (kontakt s TB, TBI, aktivní TB), celkem vzorky od 68 zařazených jedinců (Obrázek 1). Založili jsme sdílenou databázi vzorků (Pneumologická a Pediatrická 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.

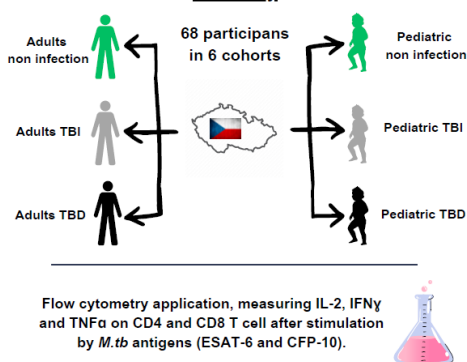
Flow cytometry based method using diversity of cytokine production differentiates between *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease.

**Why do we need a new test?**

Currently available tests cannot discriminate between latent TB infection (TBI) and active tuberculosis disease (TBD).

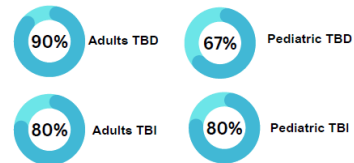


**Our study**



**Results**

Correct classification of patients with discriminant test



Major advantages of our test

- ✓ low price
- ✓ small volume of blood sample
- ✓ simple protocol and good feasibility

Vzorky byly vyšetřeny a vyhodnoceny. Bylo optimalizováno nastavení cytometrického panelu v Imunologické laboratoři. Výsledky z této nové cytometrické metody detekce TBI jsme porovnávali s IGRA testy a TST. Připravili jsme a submitovali rukopis s pilotním projektem (hlavní autorky Dr. Doležalová a Mgr. Hadlová). Kontaktovali jsme právní oddělení FTN, abychom zahájili jednání o patentu- průmyslovém vzoru. Cílem je validace a komercializace metody. Plánujeme validaci v rámci grantu AZV- optimálně ve spolupráci s Revmatologickou klinikou FTN a Nefrologickou klinikou IKEM.

Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

Cíle projektu splněny. Nová metoda detekce TBI vyvinuta a odzkoušena v Imunologické laboratoři FTN. Publikace připravena. Osloveno právní oddělení FTN se žádostí o součinnost v patentovém řízení

Závěry:

Vyvinuli jsme slibnou a potenciálně komercializovatelnou metodu detekce TBI a jejího odlišení od TB s možností opakovaného vyšetření v průběhu sledování. Plánujeme validaci na kohortě pacientů vyšetřovaných pro TBI na chronické dialýze a před transplantací ledvin a u pacientů indikovaných k biologické léčbě v revmatologii. Žádost o pokračovací projekt IP na validaci testu na dalších 100 vzorcích je odeslána.

Výstupy za celou dobu řešení projektu:

**Publikační výstupy:**

**zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech:

Doležalová K, Göpfertová D. 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: [https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy\\_85\\_21](https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_85_21). PMID: 34558474.

Doležalová K, Kika V, Göpfertová D, Wallenfels J. Trends in incidence of extrapulmonary tuberculosis in children in the Czech Republic in the past 35 years. *Cent Eur J Public Health.* 2022 Dec;30(4):207-212. doi: 10.21101/cejph.a7499. PMID: 36718921.

Doležalová K. First years' experience with increasing incidence of TB in low burden TB country due to migration from Ukraine. Letter to editor. *International journal of tuberculosis and lung disease.* *Akceptováno k publikaci. PDF článku zatím není k dispozici.*

Karolina Dolezalova, Petra Hadlova, Marketa Ibrahimova, Jaroslav Golias, Lubos Baca, Kopecká Emilia, Sukholytka Maria and Koziar Vasakova Martina. Flow cytometry-based method using diversity of cytokine production differentiates between Mycobacterium tuberculosis infection and disease.

*Článek prochází recenzním řízením v Immunology letters*

TB index case tracing in the Roma community in the Czech Republic

*submitováno v prosinci 2023 do Epidemiology and Infection, Cambridge. Článek je v recenzním řízení.*

**domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: NA

3. články v recenzovaném časopise:

DOLEŽALOVÁ, Karolína — KOBLÍŽEK, Vladimír — POHUNEK, Petr — VAŠÁKOVÁ, Martina. Doporučený postup pro vyšetření a léčbu dětských kontaktů s tuberkulózou. *Studia Pneumologica et Phtiseologica*, 2021, roč. 81, č. 1, s. 5-9. ISSN: 1213-810X.

**Přednášky:**

Prezentace projektu v rámci 19. konference dětské pneumologie dne 10.4.2021, které předsedala MUDr. Karolína Doležalová.

Představení tohoto projektu na XXVIII. Setkání pneumologů a XII. setkání pneumologů a pneumochirurgů, Praha Emauzy, červen 2023.

**Postery:**

K. Doležalová. First years' experience with increasing incidence of tuberculosis in a low burden country due to migration from Ukraine.

INSPIRED Congress 2023 June 29 – July 2, 2023 Antibes, France

K. Doležalová. Current perspective on flow cytometry based method for diagnosis of interaction of Mycobacterium tuberculosis with host immune system. Potential for clinical use.

INSPIRED Congress 2023 June 29 – July 2, 2023 Antibes, France

**Jiné výstupy/ Ocenění:**

Příprava patentu metodiky

---

## **8. Nové metody léčby Covid-19**

Hlavní řešitel: MUDr. Lucie Hoznauerová

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

Doba řešení projektu: 2021 – 2023

### 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.

### Hypotézy:

- Inhibitory IL-6 jako mediátory - utlumení extrémní imunitní odpovědi, která je v pozdějších fázích onemocnění dominujícím patologickým procesem. Převod p.o. forem se systémovými účinky do inhalační formy s lokálními účinky s cílem dosáhnout lepších výsledků při lokální aplikaci
- Hemarginát, jehož hlavním efektem by měla být časná regenerace nosičů O<sub>2</sub> v krevním řečišti

### Cíle projektu:

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

### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

2021:

- byl ukončen nábor pacientů do bezpečnostní části studie pro IL-6 inhibitor
- proběhla kontrola dokumentace a částečné zpracování výsledků se zaměřením na volbu vhodných parametrů pro navazující studii účinnosti
- celkový počet zařazených pacientů v bezpečnostní studii: 3.
- zahájeno testování inhalační formy IL-6 inhibitoru na zdravých dobrovolnících, byla kontrolována bezpečnost, optimalizován způsob podávání a dávkování s ohledem na odlišnou distribuci při lokální aplikaci
- Zařazeno 8 pacientů do studie s hemarginátem. Nábor ukončen.

2022:

- Zhodnocení bezpečnosti IL-6 inhibitoru. Léčivo je bezpečné. Nábor do bezpečnostní části studie ukončen. Celkový počet zařazených pac. = 3.
- Ukončen nábor do souboru zdravých dobrovolníků pro inhalační podání. Provedení zhodnocení dávkovacích schémat a bezpečnosti.
- Externí analýza dat pro Hemarginát

2023:

- Pozastaven projekt s IL-6 pro změnu klinického průběhu onemocnění Covid-19. Neproběhl nábor pacientů do klinické studie. Vyhodnocování dostupných dat s možností využití inhalační formy interleukinu 6 i jiných diagnóz.

- Dokončená externí analýza dat pro hemarginát, výběr kontrolních pacientů ze souboru hospitalizovaných s Covid-19 a srovnání obou skupin vzájemně. Příprava publikace.

Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

- Oba testované preparáty se ukázaly jako bezpečné pro použití u Covid-19.
- Z předběžných výsledků vychází, že hemarginát má potenciál k překlenutí kritického období s hrozící nutností hospitalitace na JIP.
- IL-6 inhibitor se podařilo převést do inhalační formy, jeho účinnost v inhalační formě se nepodařilo ověřit. Klinické testování nebylo zahájeno pro změnu dynamiky plicních nálezů u pacientů s Covid-19 infekcí.

Závěry:

- IL-6 inhibitor je bezpečný v indikaci Covid-19.
- Formu k p.o. podání je možné převést na formu inhalační pro lokální distribuci v dýchacích cestách.
- Hemarginát je bezpečný v indikaci Covid-19.
- Hemarginát je potenciálním modulátorem závažného průběhu Covid-19 s prevencí zhoršení stavu do potřeby JIP péče.

Výstupy za celou dobu řešení projektu:

Publikace k projektu jsou t.č. v přípravě na rok 2024.

---

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

Hlavní řešitel: doc. PhDr. Kamila Řasová, Ph.D.

Spoluřešitelé:

Klinika rehabilitace a revmatologie, FTN v Praze: MUDr. Tom Philipp, Ph.D., MBA; Mgr. Jana Hlinovská, Mgr. Markéta Pavlíková, MUDr. Barbora Miznerová, Mgr. Štěpánka Philippová, Mgr. Veronika Kubešová, Romana Vojíková, DiS., Mgr. Darina Havlíková, Bc. Lenka Lebdušková, Simona Marhanová DiS., MUDr. Jiří Běhounek, MUDr. Jana Zakouřilová, Mgr. Martina Pelclová

Neurologická klinika, FTN v Praze: MUDr. David Hlinovský

Fakulta elektrotechnická, ČVUT v Praze: as. Ing. Jan Havlík, Ph.D.

Ústav informatiky, AV ČR: doc. RNDr. Patrícia Martinková, Ph.D.

Ústav lékařské genetiky 3. LF UK: prof. MUDr. Marie Černá, DrSc., Valerie Brid O'Leary

Doba řešení projektu: 2021–2023

Anotace projektu: Cévní mozková příhoda (CMP) patří mezi nejčastější získaná poškození centrálního nervového systému, které nezpůsobuje pouze senzorické, motorické, kognitivní, a psychické neurologické příznaky, ale také zásadně snižuje soběstačnost a zhoršuje kvalitu života.

Ačkoliv o významu komplexní intenzivní rehabilitace nikdo nepochyboval, doposud chyběly jasné důkazy o její účinnosti. Nikdo také neporovnával efektivitu různě řízených rehabilitačních týmů: 1) multidisciplinární management, kde specialisté pracují paralelně na řešení problémů souvisejících s jejich profesí; 2) Interdisciplinární management, kdy specialisté pracují jako tým na dosažení společného cíle, který je definován pomocí tzv. ICF core setu, tj. zohledňuje potřeby a přání rehabilitovaného; ani různé kategorie fyzioterapeutických intervencí: 1) neuroproprioceptivní „facilitace, inhibice“, 2) získávání motorické dovednosti, 3) terapie využívající technologií.

V této randomizované kontrolované studii jsme u lidí hospitalizovaných po první ischemické CMP v časně subakutní fázi, kteří měli alespoň minimální motorický deficit, porovnávali čtyři způsoby komplexní intenzivní rehabilitace lišící se jak řízením týmu, tak obsahem fyzioterapie.

Primárně jsme sledovali subjektivní vnímání sociální role, celkového zdraví a kvality života, a zda bylo dosaženo cílů terapie – jde o inovativní vyšetřovací přístup orientovaný na subjektivní vnímání člověka (Patient-Reported Outcomes Measurement Information System). Sekundárně pak vliv terapie na funkce horních končetin, rovnováhu a chůzi, funkční soběstačnost, řeč a polykání, kognitivní a psychické funkce. Zajímali nás také neurofyziologické mechanismy účinku rehabilitace, které jsme sledovali pomocí dlouhých nekódujících RNA (lncRNA). Ty se podílejí na důležitých buněčných regulacích, včetně regulace genomového imprintingu, epigenetické modifikace chromatinu, transkripční interference a exportu z jádra. Podle nejnovějších poznatků regulují lncRNA klíčové faktory podílející se na ischemickém poškození, např. přetížení vápníkem. Inhibice pomocí lncRNA GAS5 by mohla potenciálně snížit apoptózu a velikost infarktu u ischemické CMP a snížit tak stupeň neurologického deficitu.

Hypotézy:

I. Komplexní intenzivní rehabilitační program po CMP (COMIRESTROKE) má pozitivní vliv na primární i sekundární výstupy, a to jak v krátkodobém, tak v dlouhodobém horizontu. Intenzivní komplexní rehabilitace (všechny tři typy) má vyšší efekt než standardní komplexní rehabilitace (kontrolní skupina).  
II. Interdisciplinární management implementující model ICF má vyšší efekt než multidisciplinární management na primární výstupy a na takové sekundární výsledky, které byly identifikovány jako cíle léčby pro jednotlivého pacienta. Dále očekáváme nejvyšší dopad na primární výstupy v dlouhodobém sledování (3 a 12 měsíců po ukončení programu).

III. Neuroproprioceptivní „facilitace, inhibice“ má vyšší účinek než fyzioterapie využívající technologie na sekundární výstupy, zejména na motorické funkce. Navíc vede k silnější iniciaci plastických a adaptačních procesů (hodnoceno hladinou lncRNA v periferní krvi).

IV. Změny v molekulárně biologických hodnotách budou korelovat se změnami klinických parametrů a budou citlivěji dokumentovat účinek terapie.

V. Nejdůležitějším prediktorem efektivní rehabilitace je míra postižení v době přijetí.

#### Cíle projektu:

Cílem tohoto projektu bylo vytvořit metodiku různých způsobů komplexního intenzivního rehabilitačního programu a porovnat jejich efektivitu, definovat indikátory efektivní rehabilitace a porozumět neurofyzilogickým mechanismům účinku rehabilitace u lidí po cévní mozkové příhodě.

#### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

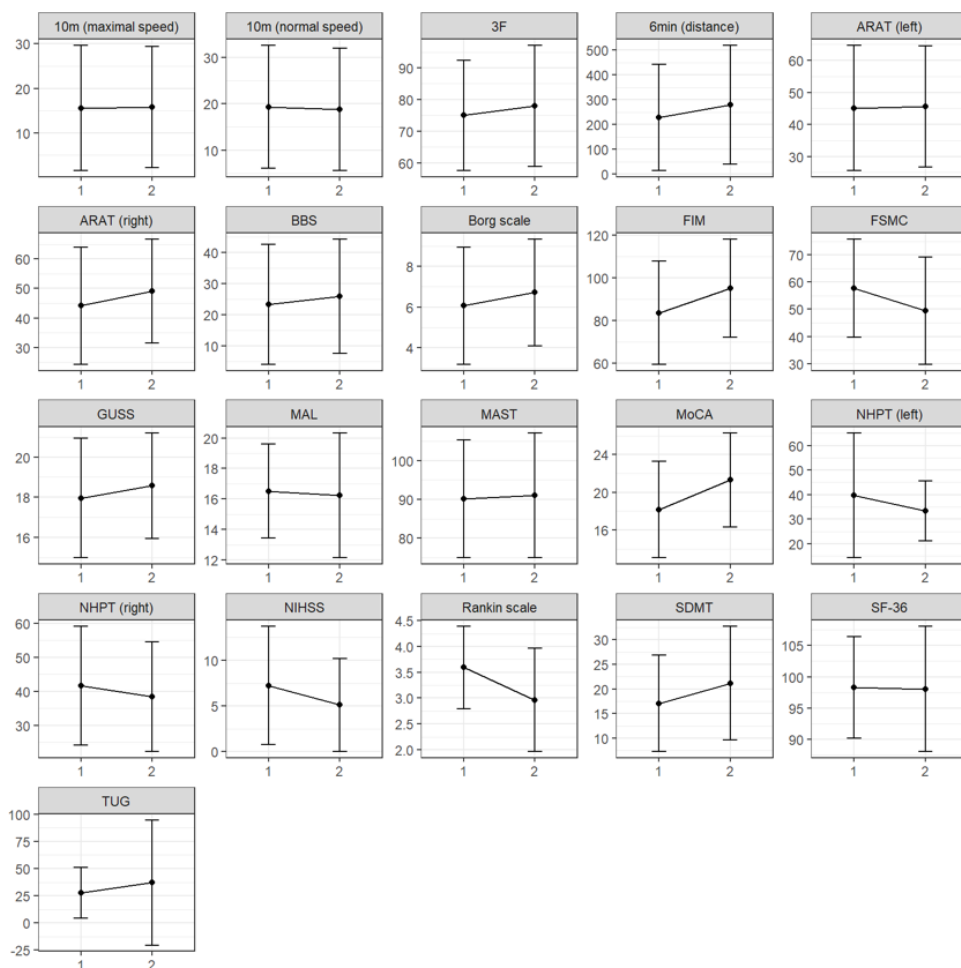
- 1) V roce 2021 proběhla pilotní část projektu.
- 2) V roce 2022 byl publikován protokol studie, ve kterém byl původní design studie optimalizován na základě pre-analýz z pilotního projektu. Nová metodika byla odsouhlasena etickou komisí a proběhla registrace protokolu. Byl vyvinut systém k opakovanému záznamu testů vyšetření a analýze úspěšnosti terapie. Byly realizovány dva workshopy, na kterých byla prezentována nová metodika. Byl zahájen sběr dat dle nové metodiky.
- 3) V roce 2023 pokračoval sběr dat a byla analyzována data z pilotní části projektu.

#### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

- 1) Došlo k zefektivnění klinické práce:
  - a. Byly vyvinuty různé způsoby komplexní intenzivní rehabilitace a zavedeny do klinické praxe na Klinice revmatologie a rehabilitace, FTN v Praze.
  - b. Bylo vyvinuto a zavedeno systematické vyšetřování nezávislým vyšetřujícím.
  - c. Byl vyvinut systém k opakovanému záznamu testů vyšetření a analýze úspěšnosti terapie.
- 2) Design studie byl připraven na základě doporučení Ministerstva zdravotnictví České republiky v registračním listu. Díky tomu se Klinice revmatologie a rehabilitace, FTN v Praze podařilo získat kód pojišťovny 00033 „Ošetřovatelský den následné komplexní intenzivní rehabilitační léčby u pacientů se získaným poškozením mozku.
- 3) V současné době pokračuje sběr dat, pracuje se na potvrzení vědeckých hypotéz. Sběr dat je oproti původnímu předpokladu pomalejší – vstupní kritéria splňovalo jen malé množství indikovaných pacientů. Na základě analýzy dat z pilotního projektu byla potvrzena hypotéza I.: Komplexní intenzivní rehabilitace má pozitivní vliv na stupeň neurologického deficitu jak dle NIHSS i modifikované Rankinovy škály, nezávislost dle Functional Independence Measure, kognitivní funkce, jemnou motoriku, statickou i dynamickou rovnováhu, parametry chůze na krátkou i dlouhou vzdálenost, poruchám řeči i polykání. Podařilo se připravit rukopis analyzující část zaměřenou na funkci horních končetin. Postupně budou publikovány výsledky z jednotlivých oblastí (t logopedické, psychologické části, data hodnotící lncRNA). K potvrzení hypotéz II. – V. je potřeba dokončit sběr plánovaného množství probandů, tj. 210. Díky institucionální podpoře se podařilo dobře nastavit podmínky pro výzkum a potenciální vědecké výstupy v budoucnosti.

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





- 4) Projekt je 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“.

#### Závěry:

Komplexní intenzivní rehabilitační program po CMP má pozitivní vliv na primární i sekundární výstupy. Díky institucionální podpoře se podařilo dobře nastavit podmínky pro sběr dat v rámci standardní klinické praxe, což z dlouhodobého hlediska povede k systematické vědecké práci a publikačním výstupům.

#### Výstupy za celou dobu řešení projektu:

zahraniční publikace:

- ŘASOVÁ, Kamila (K); MARTINKOVÁ, Patrícia (K); VAŘEJKOVÁ, Michaela; MIZNEROVÁ, Barbora; PAVLÍKOVÁ, Markéta; HLINOVSKÁ, Jana; HLINOVSKÝ, David; PHILIPPOVÁ, Štěpánka; NOVOTNÝ, Michal; POSPÍŠILOVÁ, Karolína; BIEDKOVÁ, Paula; VOJÍKOVÁ, Romana; HAVLÍK, Jan; O'LEARY, Valerie B.; ČERNÁ, Marie; BARTOŠ, Aleš; PHILIPP, Tom (K): 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.

Frontiers in Neurology, 2022, 13(November): 954712. DOI: 10.3389/fneur.2022.954712. (původní)

WoS ID: 000885967500001 Scopus ID: 2-s2.0-85142091139 PubMed ID: 36388199

IF metriky WoS k roku publikace: IF: 3.400/2022; Kvartil IF: Q2/2022

AIS metriky WoS k roku publikace: AiS: 0.991/2022; Kvartil AiS: Q2/2022

ŘASOVÁ, Kamila; MARTINKOVÁ, Patrícia; VAŘEJKOVÁ, Michaela; MIZNEROVÁ, Barbora; HLINOVSKÁ, Jana; HLINOVSKÝ, David; VOJÍKOVÁ, Romana; HAVLÍK, Jan; PHILIPP, Tom: New tremor measurement approach (TREme) can predict the clinical condition and its development in connection with rehabilitation in people with subacute stroke: the prospective observational case-control study. rukopis

domácí publikace:

Pavlíková M. Stanovení a vyhodnocování cílů rehabilitace In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2023, ISBN 9788024656267, v tisku.

Miznerová B, Pavlíková M, Pospíšilová K. Stanovení a vyhodnocení cílů s využitím ICF In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2023, ISBN 9788024656267, v tisku.

Řasová K, Martínková P. Vyšetřování dle ICF klasifikace In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2023, ISBN 9788024656267, v tisku.

Pavlíková M. Goal attainment scaling, GAS In: Řasová K, editor. Neurorehabilitace. Praha: Karolinum; 2022, 2023, ISBN 9788024656267, v tisku.

---

### **10. Integrace laboratorních a klinických přístupů k identifikaci endogenních a exogenních spouštěčů intersticiálních plicních procesů**

Hlavní řešitel: MUDr. Tomáš Slisz, Mgr. Pavel Sojka

Spoluřešitelé: Doc. MUDr. Martina Šterclová, Ph.D.; Prof. MUDr. Martina Koziar Vašáková, Ph.D. Pneumologická klinika 1. LF UK/FTN

Doba řešení projektu: 2020 – 2023

Anotace projektu: Intersticiální plicní procesy lze zjednodušeně rozdělit na skupinu idiopatických intersticiálních plicních procesů a na skupinu chorob, v jejichž etiologii hraje úlohu endogenní nebo exogenní noxa. Na rozvoji EAA se mohou podílet i endogenní spouštěče (genetické faktory, autoimunitní mechanismy. Pomocí imunologických metod (ELISA, FACS) budou během čtyř let analyzovány odebrané vzorky BALT. Získaná experimentální data budou statisticky zpracována. Projekt si klade za cíl prohloubit znalosti etiologie EAA a ulehčit identifikaci jejich spouštěčů.

Hypotézy:

#### 1) Prognostické faktory u pacientů s EAA

A) Demografické parametry, hodnoty IRI v BALTe, léčba SKS a hodnoty plicních funkcí a radiologický obraz v čase stanovení diagnózy mají vliv na hladiny nebuněčných markerů v BALTe v době stanovení diagnózy.

A1) U pacientů starší 50 let byla v BALT v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota total IgG  $\geq$  10 ng/mL AND MMP7  $\geq$  15 ng/mL než u pacientů mladších 50 let.

A2) U pacientů mužského pohlaví byla v BALT v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota total IgG  $\geq$  10 ng/mL AND MMP7  $\geq$  15 ng/mL než u pacientů ženského pohlaví.

A3) U pacientů kuřáků OR exkuřáků byla v BALT v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota total IgG  $\geq$  10 ng/mL AND MMP7  $\geq$  15 ng/mL než u pacientů nekuřáků.

A4) U pacientů s nízkou hodnotou IRI ( $<1,00$ ) v BALTe byla v BALT v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota total IgG  $\geq$  10 ng/mL AND MMP7  $\geq$  15 ng/mL než u pacientů s vysokou hodnotou IRI.

A5) U pacientů s indikovanou léčbou SKS v čase stanovení diagnózy byla v BALT v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota total IgG  $\geq 10$  ng/mL AND MMP7  $\geq 15$  pg/mL než u pacientů bez indikované léčby.

A6) U pacientů s hodnotou (VC OR FVC)  $\leq 80$  % OR (DLCO OR TLCO)  $\leq 80$  % v čase stanovení diagnózy byla v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota total IgG  $\geq 10$  ng/mL AND MMP7  $\geq 15$  ng/mL než u pacientů s hodnotou (VC OR FVC)  $> 80$  % OR (DLCO OR TLCO)  $> 80$  %.

A7) U pacientů s alveolárním HRCT skóre  $\geq 3$  OR s fibrotickým HRCT skóre  $\geq 3$  v čase stanovení diagnózy byla v BALT v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota total IgG  $\geq 10$  ng/mL AND MMP7  $\geq 15$  ng/mL než u pacientů s alveolárním HRCT skóre  $< 3$  OR s fibrotickým HRCT skóre  $< 3$ .

B) Radiologický obraz v čase stanovení diagnózy má vliv na hodnoty plicních funkcí v době stanovení diagnózy.

B1) U pacientů s alveolárním HRCT skóre  $\geq 3$  OR s fibrotickým HRCT skóre  $\geq 3$  v čase stanovení diagnózy byla v čase stanovení diagnózy zjištěna hodnota (VC OR FVC)  $\leq 80$  % OR (DLCO OR TLCO)  $\leq 80$  % než u pacientů s alveolárním HRCT skóre  $< 3$  OR s fibrotickým HRCT skóre  $< 3$ .

C) Progresi onemocnění lze odhadnout na základě demografických faktorů, hodnoty IRI v BALTe, indikace léčby SKS a hladiny nebuněčných markerů v BALTe v době stanovení diagnózy.

C1) U pacientů starších 50 let docházelo 1 rok od stanovení diagnózy k progresi onemocnění.

C2) U pacientů mužského pohlaví docházelo 1 rok od stanovení diagnózy k progresi onemocnění.

C3) U pacientů kuřáků nebo exkuřáků docházelo 1 rok od stanovení diagnózy k progresi onemocnění.

C4) U pacientů s nízkou hodnotou IRI ( $< 1,00$ ) v BALTe docházelo 1 rok od stanovení diagnózy k progresi onemocnění.

C5) U pacientů bez indikované léčby SKS docházelo 1 rok od stanovení diagnózy k progresi onemocnění.

C6) U pacientů s hodnotou total IgG  $\leq 10$  ng/mL AND MMP7  $\geq 15$  ng/mL v BALTe docházelo 1 rok od stanovení diagnózy k progresi onemocnění.

Definice progresu 1: Pokles VC/FVC o 10% nebo DLCO/TLCO o 15%

Definice progresu 2: Pokles HRCT skóre o 1 (alveolární změny) "AND" nebo "OR" o 1 (fibrotické změny)

## 2) Stanovení Ag extraktu z pacientova okolí vs. stanovení sIgG pomocí komerční soupravy.

Stanovení reaktivity pacientova séra vůči antigenním extraktům z pacientova okolí napomáhu stanovení zdroje expozice

2a) U pacientů s pozitivním výsledkem stanovení sIgG pomocí komerční soupravy byla minimálně v 65 % případů prokázána pozitivní reakce jejich séra vůči alespoň 1 antigennímu extraktu získaného ze vzorků odebraných v místech pobytu pacienta (byt, práce, chata...).

2b) U pacientů s negativním výsledkem stanovení sIgG pomocí komerční soupravy byla minimálně v 65 % případů prokázána pozitivní reakce jejich séra vůči alespoň 1 antigennímu extraktu získaného ze vzorků odebraných v místech pobytu pacienta (byt, práce, chata...).

## Cíle projektu:

A) Stanovení vztahu mezi nebuněčnými parametry měřenými v tekutině získané bronchoalveolární laváží (BALT) v době stanovení diagnózy a jejich vlivu na progresi onemocnění u pacientů s exogenními alergickými alveolitidami (EAA) s ohledem na demografické parametry. Jako definice progresu byla použita změna plicních funkcí a 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 pacienta u pacientů s EAA.

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 s ohledem na demografické parametry. Jako definice progresu byla použita změna plicních funkcí po roce od stanovení diagnózy.

C) Stanovení specifického IgG v antigenním extraktu ve vzorcích z pacientova okolí a posouzení jeho vlivu na určení spouštěče onemocnění.

Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

Část 1) Prognostické faktory u pacientů s EAA

A) V průběhu trvání studie bylo v důsledku pandemie COVID19 nasbíráno celkem 69 vzorků od pacientů s EAA patientských vzorků vyšetřených na Pneumologické klinice FTN. V rámci standardního diagnostického procesu byl u pacientů indikován odběr 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 a provedeno kontrolní HRCT.

Pacientům byla v době stanovení diagnózy indikována v souladu s doporučenými postupy pro diagnostiku intersticiálních plicních procesů rutinní imunologická vyšetření BALT. V BALT diferenciální rozpočet a základní imunofenotypizace (vyšetření znaků CD3, CD4, CD8, CD19, NK a imunoregulačního indexu).

Dále pak byly v rámci studie stanoveny nebuněčné markery ve vzorcích BALT, a to pomocí metody ELISA: Celkové IgG (MyBioSource, USA) a MMP7 (Abnova, Taiwan). Získaná data byla vyhodnocena s ohledem na demografické parametry.

Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

Ze souboru vyšetřovaných pacientů měli pacienti s diagnózou EAA (69 z toho 36 kuřáků nebo exkuřáků) věkový průměr 63 let (35 mužů; z toho 23 kuřáci nebo exkuřáci; 34 žen; z toho 13 kuřačky nebo exkuřačky.

B) V současné době probíhá hodnocení snímků HRCT a stanovení cytokinů v BALT, které bude následně korelováno s výsledky analýzy BALT, 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.

Část 2) Stanovení Ag extraktu z pacientova okolí vs. stanovení sIgG pomocí komerční soupravy.

Bylo navázáno na předchozí projekt stanovení antigenních extraktů a po vynucené přestávce dané covid pokračoval sběr antigenních extraktů v prostředí pacientů Pro následné stanovení individuální reaktivity na potenciální zdroje senzitivace.

Celkem byly získány vzorky od dalších 22 pacientů v množství 4 – 14 vzorků různých antigenních extraktů od každého pacienta. U stejných pacientů bylo provedeno stanovení sIgG v séru pomocí komerční laboratorní metody – celý panel nabízený imunologickou laboratoří FTN.

U 6 z 9 pacientů, tj. 66,7 % byla prokázána citlivost jejich séra alespoň k jednomu vzorku z jejich antigenních extraktů, kde je s vysokou pravděpodobností přítomen stejný nebo podobný antigen, pro který byla prokázána citlivost pomocí komerční metody. U 9 ze 13 pacientů, tj. 69,2 % s negativním výsledkem stanovení sIgG komerční metodou byla zjištěna pozitivní citlivost jejich séra vůči alespoň jednomu vzorku antigenního extraktu z jejich okolí. Celkem byla prokázána citlivost séra pacienta vůči alespoň jednomu vzorku antigenního extraktu u 15 z 22 pacientů, tj. 68,2 % případů.

Závěry:

Obě hypotézy, vztahující se ke stanovení citlivosti séra pacienta k alespoň jednomu antigennímu extraktu z jeho okolí, byly potvrzeny. Z výsledků plyne, že stanovení citlivosti séra pacientů vůči antigennímu

extraktu z jejich okolí je v případě negativního výsledku stanovení sIgG pomocí komerční metody přínosná metoda pro potenciální prokázání zdroje spouštěče EAA.

Výstupy za celou dobu řešení projektu:

**zahraniční publikace:**

- 1) *V přípravě: Sojka P, Sterclova M, Slisz T, Bruzova M, Ibrahimova M, Koziar Vasakova M.* The role of the extent of lung tissue involvement, non-cellular markers in BALT and lung function on disease progression in patients with EAA.
- 2) *V přípravě: V přípravě: Lacina L., Sojka P, Sterclova M, Slisz T, Kremlackova V, Mottlova J, Ibrahimova M, Koziar Vasakova M.* Quantitative assessment of specific serum IgG in antigenic extracts in samples from the surroundings of a patient with extrinsic allergic alveolitis (EAA) and its impact on determining the trigger of the disease.

**Přednášky:**

**Zahraniční přednášky: ERS international congress 2023 Milan**

M. Koziar Vašáková „Hypersensitivity pneumonitis: multiple exposures and one disease“; Session Type: Symposium; Date: Tuesday, 12-09-2023, 11:00 - 11:15 CEST; Part of session: Occupational and environmental determinants of common respiratory diseases

*v přípravě:* XXVIII. Hradecké pneumologické dny (květen 2024)

Postery:

*v přípravě:* XXVIII. Hradecké pneumologické dny (květen 2024)

*v přípravě:* ERS International Congress 2024 Vienna (září 2024)

---

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

Hlavní řešitel: prof. MUDr. Tomáš Büchler, PhD, MUDr. Ludmila Boublíková, PhD

Doba řešení projektu: 2021 – 2023

Anotace projektu:

Testikulární germinální nádory (TGCT) jsou celkově vzácné, ale současně nejčastější solidní malignita a příčina úmrtí na nádory u mladých dospělých mužů. V jejich terapii dlouhodobě nedošlo k výraznějšímu pokroku, na rozdíl od ostatních nádorů se u nich zatím neuplatňuje žádná molekulární klasifikace ani cílená léčba. Podstatou projektu je vyšetřování molekulárních aberací u pokročilých/progredujících TGCT metodou celoexomového sekvenování ve vzorcích primárních nádorů, metastáz perzistujících po chemoterapii a cirkulující volné nádorové DNA v plazmě odebrané v různých fázích onemocnění s cílem identifikovat ty aberace, které mohou souviset s progresí TGCT a odpovědí na léčbu.

Hypotézy:

Projekt má přinést nové informace o molekulární podstatě progresu TGCT, které by mohly ovlivnit současné terapeutické postupy u pacientů s těmito nádory.

Cíle projektu:

1. Stanovení přítomnosti a procentuálního zastoupení molekulárních aberací v genech *ATRX*, *NSD1* a *RBMX* u pacientů s pokročilými/relabujícími/rezistentními TGCT ve vzorcích z různých

období léčby (v době diagnózy, po chemoterapii, v době relapsu, progresu, apod.), jejich korelace s klinickými údaji, fází onemocnění, odpovědí na léčbu a přežitím pacientů. Posouzení jejich klinické využitelnosti jako možných prediktivních či prognostických faktorů nebo potenciálních markerů pro monitorování vývoje onemocnění.

2. Identifikace dalších aberací, vyskytujících se opakovaně u pacientů s pokročilými TGCT a posouzení jejich klinického významu a možností využití v praxi.

#### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

Do studie bylo zařazeno 18 pacientů s refrakterními TGCT s vícečetnými vzorky, přičemž zařazování a vyšetřování pacientů dále probíhá. Metodika NGS vyšetřování vzorků byla zavedená a fungovala bez problémů, v posledním roce studie jsme začali zavádět a optimalizovat kromě celoexomového sekvenování také metylační sekvenování primárních nádorových vzorků i cfDNA. Průběh vlastních prací na projektu byl nepříznivě ovlivněný po celou dobu trvání projektu koincidencí více faktorů – pandemií COVIDu, chaoticky probíhajícími rekonstrukčními pracemi na budově naší kliniky s výrazným narušením provozu, personálními změnami ve vedení kliniky a s tím souvisejícím přebíráním účasti a zodpovědnosti za další grantové aktivity, včetně naší účasti v programu NPO – Národní ústav pro výzkum rakoviny, což především v prvním roce plnění (2022/23) představovalo nečekanou a obrovskou administrativní zátěž. Všechny tyto faktory částečně zpomalily průběh prací, interpretaci a prezentaci výsledků. V rámci spolupráce s kolegy z 2. LF UK jsme nicméně v posledním roce nově a navíc oproti původnímu plánu zahájili experimentální ověřování funkčního významu detekovaných aberací.

#### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

1. Aberace genů *ATRX* a *NSD1* byly v předchozí části projektu identifikovány ve vztahu k navození cisplatinové rezistence u testikulárních buněčných linií, proto jsme je cíleně hledali i ve vzorcích pacientů s refrakterními nádory. Mutace genu *ATRX* jsme našli u 11 pacientů, z toho u 4 typu frameshift. Většina mutací se vyskytovala v nižších frekvencích 5 – 10 % a byly detekovatelné v primárním nádoru nebo metastázách, jen u 3 pacientů též v cfDNA. Mutace genu *NSD1* byly prokazatelné u 8 pacientů, opět nejčastěji s frekvencí do 10 %. U 3 pacientů nebyly mutace *NSD1* nalezené v primárním nádoru, ale byly prokazatelné v metastázách resektovaných po iniciální chemoterapii a/nebo cfDNA z pozdějších fází onemocnění. V případě *ATRX* byly také některé mutace nalezené až ve vzorcích po léčbě, ale i naopak – jiné mutace byly přítomné jen v primárním nádoru a v následných vzorcích se nevyskytovaly. Konečně, mutace v genu *RBMX* byly detekovatelné u 4 pacientů s frekvencemi 20 – 50 %; u 3 pacientů ve všech vzorcích se stoupající frekvencí v metastázách a cfDNA při progresi po léčbě, u čtvrtého pacienta jsme mutaci nenalezli v primárním tumoru, ale detekovali v cfDNA již krátce po diagnóze a ve vyšší frekvenci v době progresu.

Vzhledem k tomu, že některé mutace genů *ATRX* a *NSD1* byly typu frameshift a nonsense, tj. inaktivační, a vzhledem k downregulaci těchto genů u cisplatinu-rezistentní buněčné linie, jsme se rozhodli pro experimentální ověření vlivu mutací těchto genů na vznik cisplatinové rezistence. Provedli jsme knockout těchto genů pomocí CRISPR/Cas9 genového editingu, který byl úspěšný, ale nevedl k signifikantní změně citlivosti buněk na cisplatinu při jejich krátkodobé expozici.

2. K další genům, jejichž mutace se vyskytly u více pacientů a ve vyšších frekvencích, patří geny *TPTE2*, *PRAMEF8*, *TSPAN16*, *CDC27*, *PRDM9*, *DNAH12*, *ANKRD30A* a *HGC6.3*. Protože ověřování funkčního významu mutací těchto genů v single-gene experimentech je pracné a často

neúspěšné, rozhodli jsme se pro CRISPR-KO screening, jehož jednotlivé fáze nyní optimalizujeme.

#### Závěry:

U části pacientů s pokročilými TGCT dochází v průběhu onemocnění a léčby ke vzniku cisplatinové rezistence, která je spojená s velmi nepříznivou prognózou a o jejíž podstatě se stále mnoho neví. V našem projektu jsme identifikovali molekulární aberace v několika genech, které jsou spojené s cisplatinovou rezistencí a mohly by se na jejím vzniku podílet. Jejich skutečný význam ověřujeme experimentálně pomocí CRISPR/Cas9 editovaných buněčných modelů. Vzhledem k raritnosti této diagnózy pokračujeme dále ve vyhledávání a zařazování pacientů s refrakterními TGCT do projektu a analýzách všech dostupných vzorků. Vzhledem k roli identifikovaných genů v epigenetických regulacích a remodelaci chromatinu, a vzhledem k známým změnám v metylačních profilech u TGCT, se domníváme, že to mohou být právě epigenetické alterace, které mohou vznik rezistence na cisplatinu navodit. Proto začínáme vzorky pacientů vyšetřovat i pomocí metylačního sekvenování.

Výsledky projektu chceme použít jako pilotní data pro žádost o grant AZV, kterou chceme v roce 2024 podat. Dále plánujeme společnou publikaci výsledků patientského souboru a experimentální části CRISPR-KO screeningu, až bude tato část dokončena.

Dále plánujeme v roce 2024 zahájit mezinárodní klinickou studii zaměřenou na podrobné molekulární vyšetřování a precizní cílenou léčbu u rezistentních TGCT, kde chceme dosavadních metod a poznatků využít.

#### Výstupy za celou dobu řešení projektu:

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech:

Boublikova L, Skvarova Kramarzova K, Zwyrtkova M, Bakardjieva-Mihaylova V, Stuchly J, Rosova B, Kolostova K, Sonsky J, Kindlova E, Zchoval R, Buchler T, Trka J. **The clinical value of circulating free tumor DNA in testicular germ cell tumor patients.** *Urol Oncol.* 2022, 18: S1078-1439(22)00150-8.

##### **domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: ne
3. články v recenzovaném časopise: ne

##### **Přednášky:**

Matouskova L., Bakardjieva-Mihaylova V., Zwyrtkova M., Soffrova K., Krivonoskova S., Stuchy J., Rosova B., Buchler T., Trka J., Skvarova Kramarzova K., Boublikova L. Molecular basis of cisplatin resistance in testicular germ cell tumors. 18th Czech Annual Cancer Research Meeting, listopad 2023, Olomouc – přednáška

Boubliková L., Donátová Z., Křivonosková S., Matoušková L., Bakardjieva-Mihaylova V., Škvárová Kramarzová K., Rosová B., Buchler T., Lohynská R. Testikulární germinální nádory refrakterní na cisplatinu – příčina a možnosti léčby. 47. Brněnské onkologické dny, listopad 2023, Brno - přednáška

Boubliková L., Bakardjieva-Mihaylova V., Zwyrtková M., Matoušková L., Křivonosková S., Hrušák K., Škvárová-Kramarzová K., Stuchý J., Rosová B., Buchler T., Trka J. Rezistence na cisplatinu u testikulárních germinálních nádorů a její molekulární příčiny. 14. PragueOnco, leden 2023, Praha – přednáška

Boublikova L., Bakardjieva-Mihaylova V., Zwyrtkova M., Matouskova L., Skvarova Kramarzova K., Stuchy J., Rosova B., Buchler T., Trka J. Molecular markers for disease monitoring and response prediction in solid tumors. 17th Czech Annual Cancer Research Meeting, prosinec 2022, Olomouc - přednáška

Boublíková L., Buchler T. Léčba neseminomových testikulárních germinálních nádorů. 27. Jihočeské onkologické dny, duben 2022, Český Krumlov – přednáška

**Postery:**

Boublikova L, Matouskova L, Bakardjieva-Mihaylova V, Zwyrtkova M, Skvarova Kramarzova K, Stuchly J, Krivonoskova S, Rosova B, Trka J. Novel molecular aberrations involved in testicular germ cell tumor (TGCT) development and cisplatin resistance. ASCO Genitourinary Cancers Symposium, January 2024, San Francisco – poster (akceptováno k prezentaci)

**Jiné výstupy/ Ocenění:**

**obhájená diplomová práce:**

Laura Matoušková, školitel Ludmila Boublíková: Molekulární aberace u testikulárních germinálních nádorů a jejich význam v nádorové patogenezi a klinické praxi. Praha 2022

**pořádání mezinárodní konference:**

na základě navázané mezinárodní spolupráce nám bylo svěřeno uspořádání jubilejního 10. Evropského testikulárního workshopu v říjnu 2024 v Praze, jedná se celosvětově o největší odbornou událost v oblasti výzkumu i klinického managementu testikulárních tumorů, v ČR by měla být uspořádána poprvé, FTN by měla být hlavní organizátor, akce by měla proběhnout pod záštitou českých a evropských onkologických a urologických společností; na přípravě této akce nyní intenzivně pracujeme

---



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

Hlavní řešitel: prof. MUDr. Tomáš Büchler, PhD, MUDr. Ludmila Boublíková, PhD

Doba řešení projektu: 2021 – 2023

### Anotace projektu:

Testikulární germinální nádory (TGCT) jsou celkově vzácné, ale současně nejčastější solidní malignita a příčina úmrtí na nádory u mladých dospělých mužů. V jejich terapii dlouhodobě nedošlo k výraznějšímu pokroku, na rozdíl od ostatních nádorů se u nich zatím neuplatňuje žádná molekulární klasifikace ani cílená léčba. Podstatou projektu je vyšetřování molekulárních aberací u pokročilých/progredujících TGCT metodou celoexomového sekvenování ve vzorcích primárních nádorů, metastáz perzistujících po chemoterapii a cirkulující volné nádorové DNA v plazmě odebrané v různých fázích onemocnění s cílem identifikovat ty aberace, které mohou souviset s progresí TGCT a odpovědí na léčbu.

### Hypotézy:

Projekt má přinést nové informace o molekulární podstatě progresu TGCT, které by mohly ovlivnit současné terapeutické postupy u pacientů s těmito nádory.

### Cíle projektu:

1. Stanovení přítomnosti a procentuálního zastoupení molekulárních aberací v genech *ATRX*, *NSD1* a *RBMX* u pacientů s pokročilými/relabujícími/rezistentními TGCT ve vzorcích z různých období léčby (v době diagnózy, po chemoterapii, v době relapsu, progresu, apod.), jejich korelace s klinickými údaji, fází onemocnění, odpovědí na léčbu a přežitím pacientů. Posouzení jejich klinické využitelnosti jako možných prediktivních či prognostických faktorů nebo potenciálních markerů pro monitorování vývoje onemocnění.
2. Identifikace dalších aberací, vyskytujících se opakovaně u pacientů s pokročilými TGCT a posouzení jejich klinického významu a možností využití v praxi.

### Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

Do studie bylo zařazeno 18 pacientů s refrakterními TGCT s vícečetnými vzorky, přičemž zařazování a vyšetřování pacientů dále probíhá. Metodika NGS vyšetřování vzorků byla zavedená a fungovala bez problémů, v posledním roce studie jsme začali zavádět a optimalizovat kromě celoexomového sekvenování také metylační sekvenování primárních nádorových vzorků i cfDNA. Průběh vlastních prací na projektu byl nepříznivě ovlivněný po celou dobu trvání projektu koincidencí více faktorů – pandemií COVIDu, chaoticky probíhajícími rekonstrukčními pracemi na budově naší kliniky s výrazným narušením provozu, personálními změnami ve vedení kliniky a s tím souvisejícím přebíráním účasti a zodpovědnosti za další grantové aktivity, včetně naší účasti v programu NPO – Národní ústav pro výzkum rakoviny, což především v prvním roce plnění (2022/23) představovalo nečekanou a obrovskou administrativní zátěž. Všechny tyto faktory částečně zpomalily průběh prací, interpretaci a prezentaci výsledků. V rámci spolupráce s kolegy z 2. LF UK jsme nicméně v posledním roce nově a navíc oproti původnímu plánu zahájili experimentální ověřování funkčního významu detekovaných aberací.

### Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

1. Aberace genů *ATRX* a *NSD1* byly v předchozí části projektu identifikovány ve vztahu k navození cisplatinové rezistence u testikulárních buněčných linií, proto jsme je cíleně hledali i ve vzorcích pacientů s refrakterními nádory. Mutace genu *ATRX* jsme našli u 11 pacientů, z toho u 4 typu

frameshift. Většina mutací se vyskytovala v nižších frekvencích 5 – 10 % a byly detekovatelné v primárním nádoru nebo metastázách, jen u 3 pacientů též v cfDNA. Mutace genu *NSD1* byly prokazatelné u 8 pacientů, opět nejčastěji s frekvencí do 10 %. U 3 pacientů nebyly mutace *NSD1* nalezené v primárním nádoru, ale byly prokazatelné v metastázách resekovaných po iniciační chemoterapii a/nebo cfDNA z pozdějších fází onemocnění. V případě *ATRX* byly také některé mutace nalezené až ve vzorcích po léčbě, ale i naopak – jiné mutace byly přítomné jen v primárním nádoru a v následných vzorcích se nevyskytovaly. Konečně, mutace v genu *RBMX* byly detekovatelné u 4 pacientů s frekvencemi 20 – 50 %; u 3 pacientů ve všech vzorcích se stoupající frekvencí v metastázách a cfDNA při progresi po léčbě, u čtvrtého pacienta jsme mutaci nenalezli v primárním tumoru, ale detekovali v cfDNA již krátce po diagnóze a ve vyšší frekvenci v době progresu.

Vzhledem k tomu, že některé mutace genů *ATRX* a *NSD1* byly typu frameshift a nonsense, tj. inaktivační, a vzhledem k downregulaci těchto genů u cisplatina-rezistentní buněčné linie, jsme se rozhodli pro experimentální ověření vlivu mutací těchto genů na vznik cisplatinové rezistence. Provedli jsme knockout těchto genů pomocí CRISPR/Cas9 genového editingu, který byl úspěšný, ale nevedl k signifikantní změně citlivosti buněk na cisplatinu při jejich krátkodobé expozici.

2. K další genům, jejichž mutace se vyskytly u více pacientů a ve vyšších frekvencích, patří geny *TPTE2*, *PRAMEF8*, *TSPAN16*, *CDC27*, *PRDM9*, *DNAH12*, *ANKRD30A* a *HGC6.3*. Protože ověřování funkčního významu mutací těchto genů v single-gene experimentech je pracné a často neúspěšné, rozhodli jsme se pro CRISPR-KO screening, jehož jednotlivé fáze nyní optimalizujeme.

#### Závěry:

U části pacientů s pokročilými TGCT dochází v průběhu onemocnění a léčby ke vzniku cisplatinové rezistence, která je spojená s velmi nepříznivou prognózou a o jejíž podstatě se stále mnoho neví. V našem projektu jsme identifikovali molekulární aberace v několika genech, které jsou spojené s cisplatinovou rezistencí a mohly by se na jejím vzniku podílet. Jejich skutečný význam ověřujeme experimentálně pomocí CRISPR/Cas9 editovaných buněčných modelů. Vzhledem k raritnosti této diagnózy pokračujeme dále ve vyhledávání a zařazování pacientů s refrakterními TGCT do projektu a analýzách všech dostupných vzorků. Vzhledem k roli identifikovaných genů v epigenetických regulacích a remodelaci chromatinu, a vzhledem k známým změnám v metylačních profilech u TGCT, se domníváme, že to mohou být právě epigenetické alterace, které mohou vznik rezistence na cisplatinu navodit. Proto začínáme vzorky pacientů vyšetřovat i pomocí metylačního sekvenování.

Výsledky projektu chceme použít jako pilotní data pro žádost o grant AZV, kterou chceme v roce 2024 podat. Dále plánujeme společnou publikaci výsledků patientského souboru a experimentální části CRISPR-KO screeningu, až bude tato část dokončená.

Dále plánujeme v roce 2024 zahájit mezinárodní klinickou studii zaměřenou na podrobné molekulární vyšetřování a precizní cílenou léčbu u rezistentních TGCT, kde chceme dosavadních metod a poznatků využít.

#### Výstupy za celou dobu řešení projektu:

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech:

Boublikova L, Skvarova Kramarzova K, Zwyrtkova M, Bakardjieva-Mihaylova V, Stuchly J, Rosova B, Kolostova K, Sonsky J, Kindlova E, Zchoval R, Buchler T, Trka J. **The clinical value of circulating free tumor DNA in testicular germ cell tumor patients.** *Urol Oncol.* 2022, 18: S1078-1439(22)00150-8.

**domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: ne
3. články v recenzovaném časopise: ne

**Přednášky:**

Matouskova L., Bakardjieva-Mihaylova V., Zwyrtkova M., Soffrova K., Krivonoskova S., Stuchy J., Rosova B., Buchler T., Trka J., Skvarova Kramarzova K., Boublikova L. Molecular basis of cisplatin resistance in testicular germ cell tumors. 18th Czech Annual Cancer Research Meeting, listopad 2023, Olomouc - přednáška

Boublíková L., Donátová Z., Křivonosková S., Matoušková L., Bakardjieva-Mihaylova V., Škvárová Kramarzová K., Rosová B., Buchler T., Lohynská R. Testikulární germinální nádory refrakterní na cisplatinu – příčina a možnosti léčby. 47. Brněnské onkologické dny, listopad 2023, Brno - přednáška

Boublíková L., Bakardjieva-Mihaylova V., Zwyrtková M., Matoušková L., Křivonosková S., Hrušák K., Škvárová-Kramarzová K., Stuchý J., Rosová B., Buchler T., Trka J. Rezistence na cisplatinu u testikulárních germinálních nádorů a její molekulární příčiny. 14. PragueOnco, leden 2023, Praha – přednáška

Boublikova L., Bakardjieva-Mihaylova V., Zwyrtkova M., Matouskova L., Skvarova Kramarzova K., Stuchy J., Rosova B., Buchler T., Trka J. Molecular markers for disease monitoring and response prediction in solid tumors. 17th Czech Annual Cancer Research Meeting, prosinec 2022, Olomouc - přednáška

Boublíková L., Buchler T. Léčba neseminomových testikulárních germinálních nádorů. 27. Jihočeské onkologické dny, duben 2022, Český Krumlov – přednáška

**Postery:**

Boublikova L, Matouskova L, Bakardjieva-Mihaylova V, Zwyrtkova M, Skvarova Kramarzova K, Stuchy J, Krivonoskova S, Rosova B, Trka J. Novel molecular aberrations involved in testicular germ cell tumor (TGCT) development and cisplatin resistance. ASCO Genitourinary Cancers Symposium, January 2024, San Francisco – poster (akceptováno k prezentaci)

**Jiné výstupy/ Ocenění:****obhájená diplomová práce:**

Laura Matoušková, školitel Ludmila Boublíková: Molekulární aberace u testikulárních germinálních nádorů a jejich význam v nádorové patogenezi a klinické praxi. Praha 2022

**pořádání mezinárodní konference:**

na základě navázané mezinárodní spolupráce nám bylo svěřeno uspořádání jubilejního 10. Evropského testikulárního workshopu v říjnu 2024 v Praze, jedná se celosvětově o největší odbornou událost v oblasti výzkumu i klinického managementu testikulárních tumorů, v ČR by měla být uspořádána poprvé, FTN by měla být hlavní organizátor, akce by měla proběhnout pod záštitou českých a evropských onkologických a urologických společností; na přípravě této akce nyní intenzivně pracujeme

---

## Projekty pokračující v roce 2024

	Název projektu	Řešitel	Od	Typ projektu
<b>Pokračující projekty soutěžní</b>				
13	Hodnocení rutinních a experimentálních biomarkerů kardiotoxicity po radioterapii levostranných karcinomů prsu	MUDr. Eva Mazaná	2021	Interní soutěž, víceletý pokračující bez finanční podpory
14	Hmotnostně spektrometrická analýza konfenzátu dechu v diagnostice zánětlivých stavů lidského organismu	Doc.MUDr. Roman Zazula, Ph.D.	2022	Interní soutěž, víceletý
15	Detekce mikrobiomu dolních močových cest u mužů	MUDr. Jan Hrbáček Ph.D.	2022	Interní soutěž, víceletý
16	Zavedení a validace metod pro stanovení 5 fluorouracilu, uracilu a dihydrouracilu v plazmě	Mgr. Ilona Burianová, Ph.D.	2022	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	Sekundární prevence ICHS ve vybraném vzorku populace – česká část studie EUROASPIRE VI.	Doc. MUDr. Jan Bruthans, CSc., FESC	2022	Interní soutěž, víceletý
20	Poměr pohlaví u narozených dětí v České republice u vybraných typů vrozených vad	MUDr. Antonín Šípek, CSC.	2022	Interní soutěž, víceletý
21	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
22	Bezdrátová telemetrická monitorace v pooperační péči s cílem včasné diagnostiky kardiopulmonálních komplikací	MUDr. Martin Müller, Ph.D.	2023	Interní soutěž, víceletý
23	Vliv vybraných epileptických syndromů na konsolidaci paměťových stop v průběhu spánku - pilotní studie	Mgr. Michal Voldřich, Ph.D.	2023	Interní soutěž, víceletý
24	Monitorování pacientů s p16-pozitivním karcinomem hlavy a krku pomocí analýzy HPV-cfDNA	MUDr. Aleš Čoček Ph.D.	2023	Interní soutěž, víceletý

25	Komorbidní neurodegenerativní choroby: Neuropatologické, molekulárně-genetické, biochemické a klinické korelace	MUDr. Nikol Jankovská, Ph.D.	2023	Interní soutěž, víceletý
26	DMT (N,N-dimethyltryptamin) jako možný marker neurologického poškození u pacientů po kardiopulmonální resuscitaci – pilotní studie	MUDr. Jaroslava Kovářová	2023	Interní soutěž, víceletý
27	Detekce kauzálních patogenních variant celoexomovým sekvenováním (WES) u pacientů s podezřením na vzácné choroby	MUDr. Martina Langová, PhD.	2023	Interní soutěž, víceletý
28	Analýza genetických příčin potratů metodou celoexomového sekvenování (WES)	MUDr. Natálie Friedová	2023	Interní soutěž, víceletý
29	Hypereozinofilie - četnost výskytu v r. 2019 a v 2022	MUDr. Lucie Heribanová	2023	Interní soutěž, víceletý
30	Validace české verze dotazníku kvality života EORTC QLQ-ANL27	doc. MUDr. Radka Lohynská, Ph.D.	2023	Interní soutěž, víceletý
31	TOP FIVE Choosing WISELY doporučení pro interní oddělení	MUDr. Dan Rakušan, MHA	2023	Interní soutěž, víceletý
32	Přínos kognitivní rehabilitace u seniorů s poruchou paměti	Mgr. Kvetoslava Hošková	2023	Interní soutěž, víceletý

## Průběžné zprávy pokračujících projektů

### **13. Hodnocení rutinních a experimentálních biomarkerů kardiotoxicity po radioterapii levostranných karcinomů prsu.**

Hlavní řešitel: MUDr. Eva Mazaná, Onkologická klinika 1.LF UK a FTN

Spoluřešitelé: MUDr. Eva Strecková, Onkologická klinika 1.LF UK a FTN (ukončení pracovního poměru ve FTN k 8/2023)

MUDr. Hrehor Martin, Interní klinika 3.LF UK a FTN

MUDr. Klára Bořecká, Ph.D., primářka, Odd. klinické biochemie FTN

Doba řešení projektu: 2021 – 2023

#### Anotace projektu:

U pacientek s diagnózou karcinomu prsu je pooperační ozařování významnou součástí léčby s určitým rizikem pozdní kardiotoxicity u levostranného postižení v závislosti na výši dávky, kterou srdce a srdeční substruktury při radioterapii obdrží. K prokázání akutního subklinického postižení myokardu lze použít jak rutinní biomarkery kardiálního stresu (TnT, NT pro-BNP), tak experimentální biomarkery (MMP-2, MMP-9, PIGF, EN-RAGE, osteopontin a GDF-15). Ve studii bude stanovena výše dávky na srdce či substruktury, při které nedochází ke zvýšení biochemických kardiomarkerů a definována předpokládaná korelace mezi elevací biomarkerů a dávkou aplikovanou na myokard a jednotlivé srdeční substruktury. Cílem je využít vybrané kardiální markery k detekci časného kardiálního poškození při radioterapii levostranného prsu a hrudní stěny a identifikovat podskupinu pacientek se zvýšeným rizikem kardiálních příhod v budoucnosti, navrhnout vhodné sledovací schéma rizikových pacientek v interní ambulanci.

#### Hypotézy:

Projekt má zhodnotit vztah dosimetrických dat a rutinních a experimentálních kardiomarkerů u pooperační radioterapie levostranného hrudníku, najít nástroje pro identifikaci podskupiny zvýšeně ohroženou kardiotoxickými nežádoucími účinky radioterapie v oblasti hrudníku, která vyžaduje po ozařování kardiologické sledování a intervenci.

#### Cíle projektu:

1. Kvantifikace případného akutního subklinického kardiálního poškození v závislosti na dávce na myokard při radioterapii v oblasti hrudníku za pomoci rutinních kardiomarkerů (hs TnT, NT pro BNP) na souboru pacientek s diagnózou karcinomu mammy, které přicházejí k pooperačnímu ozařování levostranného prsu či hrudní stěny.
2. Identifikace potenciálního biomarkeru kardiálního stresu z řady experimentálních působků s potenciálem predikovat riziko kardiálních příhod po RT v budoucnosti.
3. Popsání korelace mezi elevací biochemických markerů a fyzikálními dávkami na srdce (střední dávka na srdce Dmean) a zaměřením se i na substruktury srdce (levá komora, RIA, 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.

## Průběh řešení projektu po celou dobu jeho řešení:

Do projektu bylo zařazeno celkem 40 pacientek, které byly indikovány k pooperačnímu ozáření levostranné mammy nebo hrudní stěny.

Během prvního roku projektu (2021) proběhla na oddělení radioterapie Onkologické kliniky 1. LF UK a FTN rekonstrukce ozařoven a výměna přístrojového vybavení (instalování a zprovoznění 2 nových lineárních urychlovačů TrueBeam) s nevyhnutelným kompletním přerušением provozu, s nutnými školeními personálu, se zaváděním nových ozařovacích technik, a došlo i k pozdržení nábory pacientek do studie, který se protáhl až do 2. roku projektu. Se získáním nového technického vybavení došlo k zavedení pokročilých technik radioterapie - zavedení ozařování hrudníku v hlubokém inspiriu – a tím i k výraznému snížení dávek na rizikové struktury (v průměru snížení dávky na srdce o téměř 50% ve srovnání s dřívější technikou). Zavádění nových technik do provozu bylo organizačně i časově náročné a zkomplikovalo zahájení a průběh projektu.

Práce na projektu byly komplikovány koincencí dobíhající pandemie COVID 19, nepředvídatelnými fázemi protražované rekonstrukce budovy kliniky s výrazným narušením provozu, a personálními změnami při změně vedení Onkologické kliniky. V roce 2023 z řešitelského týmu vypadla spoluřešitelka - MUDr. Eva Strecková, která ukončila pracovní poměr ve FTN.

V souvislosti s posunem nábory pacientek došlo i k časovému posunu vyšetření experimentálních kardiomarkerů (poslední kity vyšetřeny až na podzim 2023), celkem byly vyšetřeny biomarkery: MMP2, MMP9, EnRAGE, OPN, PIGF, GDF-15, TIMP1, TIMP2, sRAGE, HMGB1, IL1 $\beta$ , IL6, TGF $\beta$ 1, TNF $\alpha$ , hsCRP.

V roce 2022 byly publikovány mezinárodní "2022 ESC guidelines on cardio-oncology" - doporučení pro diagnostiku a sledování kardiotoxických nežádoucích účinků různých modalit onkologické léčby. Zpracování dat a prezentace výsledků byly dále vloženy do kontextu těchto doporučení.

Ve 3. roce projektu (2023) proběhlo statistické zpracování anamnestických, fyzikálních, biochemických a dosimetrických dat ve spolupráci s externí statistickou společností. První výsledky byly prezentovány na odborných konferencích v průběhu roku 2023. Dále probíhá příprava odborných textů k publikaci získaných dat.

Při zpracování dat vznikla potřeba vytvořit kontrolní skupinu pacientů, která by potvrdila, že k elevaci některých potenciálních biomarkerů nedochází vlivem ozáření svaloviny hrudní stěny - kontrolní skupinou by mělo být 20 pacientek s ozářením pravostranného prsu či hrudní stěny a prakticky nulovou dávkou na srdce.

Druhá kontrolní skupina – 20 pacientů/tek s karcinomem plic v centrální části hrudníku - by měla prověřit chování vytipovaných biomarkerů v pásmu vysokých dávek na srdce. U ozařování karcinomu plic je limit průměrné dávky na srdce výrazně vyšší (26Gy) než u pooperačního ozařování karcinomu prsu (5Gy).

## Výsledky projektu ve srovnání s nastavenými cíli:

1. Průměrná dávka (Dmean) na srdce všech pacientek nepřesáhla doporučené dávkové limity. Při výrazně sublimitních dávkách na myokard nedochází k signifikantnímu zvýšení hladin rutinních kardiomarkerů, u kterých byla historicky (při dosahování téměř limitních dávek Dmean na srdce) prokazována závislost na dávce, a také nebyl prokázán žádný vztah odchylek kardiomarkerů k výši obdržené dávky na srdce.

2. S nízkými dávkami na myokard při RT nelze ani pomocí nejsenzitivnějších sérových biomarkerů detekovat subklinické poškození a identifikovat podskupinu pacientek se zvýšeným rizikem kardiálních příhod v budoucnosti. Statisticky nesignifikantní korelace hladin experimentálních biomarkerů s obdrženou dávkou na myokard je nutné podpořit daty kontrolních skupin s nulovou a relativně vyšší dávkou na myokard.

3. Velikost jednotlivých srdečních pododdílů a jejich obdržená průměrná dávka ( $D_{mean}$ ) velmi těsně korelují s velikostí a průměrnou dávkou celého srdce. V běžné klinické praxi postačí konturovat celé srdce v souladu s mezinárodními doporučeními.

4. Ze získaných dat byly popsány korelace, které je vhodné zohlednit při plánování a volbě techniky radioterapie. Čím vyšší má pacientka BMI, tím objemnější je srdce, ale nepříznivě uložené v hrudníku. Čím větší je objem plic, tím nižší je průměrná dávka na srdce. Ke snížení kardiotoxicity při ozařování pro levostranný karcinom prsu je proto doporučeno využívat nejmodernějších technik (RT v řízeném hlubokém nádechu DIBH) a precizní provedení RT (RT řízená obrazem IGRT).

5. Identifikace rizikové podskupiny by měla probíhat dle doporučení mezinárodních 2022 ESC kardi-onkologických guidelines a měla by být provedena již vstupně zhodnocením kardiovaskulárního rizika před potenciálně kardiotoxickou léčbou. Bylo navrženo u pacientů s pokračující kardiotoxickou léčbou nebo u skupiny se zvýšeným rizikem po léčbě pravidelně monitorovat hladiny kardiomarkerů po 3 cyklech ev. 3 měsících kardiotoxické léčby. Izolované zvýšení kardiomarkerů není důvodem k ukončení onkologické léčby, ale k zvýšení frekvence monitorování a zahájení kardioprotektivní terapie.

#### Závěry:

S nízkými dávkami na myokard při RT levostranného hrudníku nelze ani pomocí nejsenzitivnějších sérových biomarkerů detekovat subklinické kardiální poškození (na rozdíl od historických dat s vyššími dávkami na myokard) a identifikovat podskupinu pacientek se zvýšeným rizikem kardiálních příhod v budoucnosti.

Při výrazně sublimitních průměrných dávkách na myokard nebyl prokázán statisticky signifikantní vztah změny hladin sérových biomarkerů k výši obdržené dávky na srdce. Velikost i obdržená průměrná dávka všech srdečních pododdílů se zvětšuje symetricky s velikostí srdce, v běžné klinické praxi postačí konturovat celé srdce v souladu s mezinárodními guidelines. Ke snížení kardiotoxicity při ozařování pro levostranný karcinom prsu je doporučeno využívat nejmodernějších technik RT (ozařování v řízeném hlubokém nádechu DIBH) a precizní provedení RT (RT řízená obrazem IGRT).

Vstupně je doporučeno zhodnocení kardiovaskulárního rizika před potenciálně kardiotoxickou léčbou dle mezinárodních doporučení: 2022 ESC guidelines on cardio-oncology. Do klinického provozu je nutné zavést spolupráci s kardiologickou ambulancí, která by se systematicky věnovala kardiotoxickým následkům multimodální onkologické léčby.

#### **Žádost o prodloužení projektu o 2 roky:**

V návaznosti na získaná data plánujeme v projektu dále pokračovat rozšířením o kontrolní skupinu 20 pacientek s prakticky nulovou dávkou na srdce (pacientky s ozařením pravostranného prsu či hrudní stěny) pro odlišení případných elevací markerů v důsledku ozaření svaloviny hrudní stěny, a o kontrolní skupinu s výrazně vyšší dávkou na srdce (20 pacientů ozařovaných pro karcinom plic). U kontrolní skupiny bychom chtěli otestovat rutinní kardiomarkery a vybrané experimentální biomarkery z již dříve testovaného panelu, které u studované skupiny vykazovaly vztah k obdrženým dávkám na hranici statistické signifikance: GDF15, PIGF, MMP9, sRAGE, TIMP1, IL6, TNF $\alpha$ .



V roce 2023 hlavní řešitelka MUDr. Eva Mazaná zahájila postgraduální doktorské studium na 1. LF UK na téma projektu "Hodnocení rutinních a experimentálních biomarkerů kardiotoxicity po radioterapii levostranných karcinomů prsu" pod vedením školitelky Doc. MUDr. Radky Lohynské, Ph.D.

Výstupy za celou dobu řešení projektu:

**Publikace:** v přípravě

**Přednášky:**

Lohynská R., Mazaná E., Hrehor M., Bořecká K., Kalousová M. Biomarkery kardiotoxicity po radioterapii levostranného karcinomu prsu. 11. Ročník Kontroverze v onkologii, Pardubice 18.-19.5.2023.

Mazaná E., Lohynská R., Hrehor M., Bořecká K., Kalousová M. Hodnocení rutinních a experimentálních biomarkerů kardiotoxicity po radioterapii levostranných karcinomů prsu. 47. Brněnské onkologické dny, 1.-3.11.2023, přednáška v sekci Kardiotoxicita a kardioprotekce v radioterapii.

**Postery:**

Mazaná E, Strecková E., Lohynská R., Hrehor M., Bořecká K., Zima T., Kalousová M. Vztah dozimetrických dat a rutinních a experimentálních kardiomarkerů v radioterapii levostranných karcinomů prsu. XXVIII. Jihočeské onkologické dny, 30.3. - 1.4.2023 Český Krumlov.

---

## **14. Hmotnostně spektrometrická analýza kondenzátu dechu v diagnostice zánětlivých stavů lidského organismu**

### Hlavní řešitel:

doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D., Anesteziologicko-resuscitační klinika 1. LF UK a FTN

### Spoluřešitelé:

prim. MUDr. Michal Moravec, Anesteziologicko-resuscitační klinika 1. LF UK a FTN

MUDr. Martin Müller, Ph.D. Anesteziologicko-resuscitační klinika 1. LF UK a FTN

MUDr. Jan Moravec, Anesteziologicko-resuscitační klinika 1. LF UK a FTN

MUDr. Jan Anton, Pneumologická klinika 1. LF UK a FTN

Doba řešení projektu: 2022–2025

### Anotace projektu:

Zvýšené hladiny některých těkavých organických látek (volatile organic compounds – VOC) v kondenzátu vydechaného vzduchu (EBC) pacienta mohou být potencionálním biomarkerem umožňujícím včasné odhalení sepse. K analýze EBC bude použita autorům prakticky známá plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií s unikátním způsobem derivatizace chloroformáty, což umožňuje sekundovou derivatizaci všech funkčních skupin sledovaných látek a tzv. rychlou propustnost vzorku v jediné analýze. Na základě uchování hmotnostních spekter se lze kdykoliv k těmto analýzám vrátit a případně dohledat a identifikovat další potenciálně zajímavé substance.

### Hypotézy:

- 1) Ve vydechaném vzduchu jedince jsou přítomny látky, které jsou specifické pro zánětlivou reakci nebo se jejich koncentrace, či spektrum významně mění.
- 2) Ve vydechaném 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 projektu:

- 1) Pomocí vysoce citlivých analytických metod identifikovat ve vydechaném 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 vydechaném 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 vydechaného vzduchu u pacientů s primární plicní fibrózou a případně identifikovat další potenciálně zajímavé substance.

### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

V roce 2023 pokračovala podle plánu klinická část studie. Byly analyzovány vzorky kondenzátu vydechaného vzduchu od pacientů na UPV se sepsí a se SIRS neinfekční etiologie.

Nad rámec plánovaných vyšetření bylo provedeno širší spektrum analýz, s využitím unikátní metody derivatizace chloroformátem, kterými bylo vytypováno 42 látek, které by mohly mít souvislost se systémovou zánětlivou odpovědí infekční a neinfekční etiologie, a které by mohly mít diskriminační potenciál pro rozlišení etiologie systémové zánětlivé odpovědi. Tyto dílčí výsledky byly přijaty německou společností intenzivní medicíny k prezentaci formou posteru a také vyžádanou přednáškou na mezinárodním kongresu pořádaném ve Výmaru.

Parciálním výstupem před prováděním rozšířených analýz je studie etiologií septických stavů zpracovaná Nejtekem et al., coby téma disertační doktorandské práce, jejíž výsledky byly publikovány v recenzovaném časopise s impakt faktorem *Microorganisms*, Q2.

#### Plán na rok 2024:

V roce 2024 je plánováno dokončení klinické části studie s provedením zbývajících analýz, statistické vyhodnocení výsledků a příprava jejich publikace v recenzovaném časopise s impakt faktorem a prezentace na mezinárodních kongresech.

#### **Výstupy projektu v roce 2023:**

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: 1

Nejtek T et al.: Bacteremia in Patients with Sepsis in the ICU: Does It Make a Difference? *Microorganisms* **2023**, 11, 2357. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092357>

##### **Přednášky, prezentace na konferencích:**

Vyžádaná přednáška na mezinárodním kongresu 11<sup>th</sup> Sepsis Update 2023, Weimar 6. - 8. 9. 2023. Martin Müller, Prague, Czech Republic: Mass-spectrometry analysis of exhaled breath condensate in SIRS/sepsis diagnostics of mechanically ventilated patients—preliminary results.

##### **Postery:**

Zazula R, Pehal F, Moravec J, et al Sepsis Update 2023. Weimar: Deutsche Sepsis-Gesellschaft e.V. Berlin, Germany; 2023.

---

## **15. Detekce původce akutní pyelonefritidy pomocí bakteriálních metaloforů**

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

Doba řešení projektu: 2022–2025

Anotace projektu:

Náplní předkládaného projektu je diagnostika etiologických agens akutní pyelonefritidy a komplikovaných infekcí močových cest hmotnostně spektrometrickou detekcí bakteriálních metaloforů. Tyto sekundární metabolity tvořené mikroorganismy za účelem sekvestrace železa a jiných kovů z organismu hostitele jsou druhově specifické a lze je detekovat v tělesých tekutinách (včetně moči). Cílem projektu je zhodnotit možnost stanovení původce uroinfekce detekcí jím vytvářených metaloforů. Význam a aplikace výsledků by spočívaly ve zrychleném stanovení původce uroinfekce metodou nezávislou na kultivaci.

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. 2023:

Dokončili jsme nábor pacientů do všech 3 ramen studie: kontrolní skupina 1: 34 pacienti, kontrolní skupina 2: 69 pacientů, výzkumná skupina: 23 pacientů. Vzorky jsme průběžně zpracovávali na Mikrobiologickém ústavu AV hmotnostně spektrometrickou analýzou, izolací bakteriální DNA z moči a sekvenováním 16S rDNA bakteriálních nukleových kyselin. Nyní je soubor pacientů kompletní a provádíme analýzu výsledků hmotnostně spektrometrických analýz – detekovaných metaloforů. Předběžné výsledky potvrzují předpoklad, že metalofory jsou detekovatelné u pacientů s uroinfekcí, ale ne u zdravých kontrol (tj. osob bez příznaků infekce močového traktu a s negativním kultivačním nálezem v moči).

Plán na rok 2024: Publikace výsledků v recenzovaném periodiku s IF.

**Výstupy projektu v roce 2023:**

Abstrakt prezentovaný na 69. výroční konferenci České urologické společnosti v Českých Budějovicích 11.-13.10.2023:<sup>4</sup>

Hrbáček J, Houšť J, Pluháček T, Luptáková D, Palyzová A, Havlíček V, Zachoval R: Stanovení původce akutní pyelonefritidy/komplikované infekce močových cest pomocí detekce bakteriálních metaloforů. *Ces Urol.* 2023;27(3):89

Článek v časopise s IF:

Hrbáček J, Hanáček V, Kadlečková D, Cirbusová A, Čermák P, Tachezy R, Zachoval R, Saláková M. Urinary shedding of common DNA viruses and their possible association with bladder cancer: a qPCR-based study. *Neoplasma.* 2023 Apr;70(2):311-318. doi: 10.4149/neo\_2023\_220703N681

(IF 3,0)

---

## **16. Zavedení a validace metod pro stanovení 5-fluorouracilu, uracilu a dihydrouracilu v plazmě**

Hlavní řešitel: 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)

Doba řešení projektu: 2022 – 2024

Anotace projektu: 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.

Hypotézy: 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. Vysoká hodnota AUC uprostřed cyklu by mohla upozornit na pacienta v riziku vyšší toxicity.

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
- terapeutické monitorování (TDM) 5-fluorouracilu (monitorování farmakokinetiky 5-FU, hodnoty AUC, porovnání hodnot s doporučeným referenčním rozmezím) 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/metodika a výsledky v roce 2023:

- během roku 2022 a 2023 bylo do studie zařazeno 15 pacientů
  - u každého pacienta zařazeného do studie byl proveden odběr před plánovanou chemoterapií pro stanovení uracilu a dihydrouracilu a dále odběr během chemoterapie 5-FU v ustáleném stavu, tedy po 18h kontinuální infuzi a to vždy v prvním cyklu a čtvrtém cyklu (případně v jiném cyklu).
- 73 % pacientů podstoupilo chemoterapii v režimu FOLFOX, 20 % v režimu FUFA a 7 % v režimu FLOT.

- pacientům (n=15) byla změřena koncentrace 5-FU a vypočtena plocha pod křivkou AUC
- průměrná hodnota AUC byla  $20,92 \pm 8,4$  mgxh/l. 47 % pacientů mělo hodnoty AUC pod spodní hranici doporučeného rozmezí hodnot AUC, 40 % pacientů bylo v doporučeném rozmezí a 13 % se nacházelo nad horní hranici doporučeného rozmezí hodnot AUC. Kvůli malému souboru pacientů (n=15) nebyla provedena podrobnější statistika a zhodnocení TDM.
- v roce 2022 byla zavedena metoda pro stanovení uracilu a dihydrouracilu v plazmě metodou LC-MS/MS. Časem se však ukázalo, že během měření dochází k postupnému nárůstu tlaku na koloně, nestabilitě retenčních časů a rozšiřování píků a tedy i nemožnosti exaktně vyhodnotit koncentrace měřených analytů. Byla proto optimalizována příprava vzorku pro zbavení se interferujících látek, problémy s kolonou však přetrvávaly a byla pořízena kolona nová včetně předkolony. Pro přetrvávající problémy se stávající kolonou byly pořízeny i nové typy kolon od jiné firmy vhodné pro stanovení uracilu a dihydrouracilu a také pořízeny SPE kolony pro jinou přípravu vzorku. Vývoj a validace nové metody je časově náročný proces a proto nebylo možné splnit cíle dané v předchozím roce.

#### Plán na rok 2024:

- sběr vzorků pacientů
- testování nových kolon a optimalizace přípravy vzorku pomocí SPE kolonek, zavedení finální metody pro stanovení uracilu a dihydrouracilu, validace metody, měření patientských vzorků, měření vzorků ve spolupráci s Ústavem patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN
- pokračování měření koncentrace 5-FU, výpočet AUC, zhodnocení TDM
- průběžné hodnocení korelace výsledků farmakokinetiky 5-FU (hodnoty AUC) s poměrem dihydrouracil/uracil (po validaci metody)
- publikace výsledků

#### Výstupy projektu v roce 2023:

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: 0

##### **domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise:0
3. články v recenzovaném časopise:0

##### **Přednášky, prezentace na konferencích:0**

##### **Postery:0**

##### **Jiné výstupy/ Ocenění:0**

---

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

Hlavní řešitel: MUDr. Tomáš Olejář, Ph.D.

Spoluřešitelé: MUDr. Nikol Jankovská, Ph.D., Mgr. Alena Poláková, Prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.

Doba řešení projektu: 2022 – 2024

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 izoforem 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 izoforem tau u „čistých“ 3R nebo 4R tauopatií v komorbiditách s Alzheimerovou nemocí i tzv. novými tauopatiemi. V rámci projektu jsou analyzovány vzorky archivní mozkové tkáně zemřelých pacientů z archivu pracoviště řešitele.

Hypotézy: V rámci projektu je testována hypotéza, že v komorbiditách se mění predominance obou izoforem (3R a 4R) v kompozici intracelulárních depozit proteinu tau.

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

Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023: Průběh prací odpovídá harmonogramu, který byl navržen pro druhý rok projektu: systematická analýza vzorků mozkové tkáně z archivu pracoviště i aktuálně řešených kazuistik, publikace pilotních výsledků:

- a) Pokračování v systematické analýze pomocí vícekanálové fluorescenční a konfokální mikroskopie mozkové tkáně pacientů s Alzheimerovou nemocí v komorbiditě s 3R+4R tauopatiemi v rámci stávající spolupráce s pracovištěm světelné mikroskopie ÚMG AVČR.
- b) Na základě poznatků vzešlých z výsledků prací na grantu byla autorským kolektivem připravena původní publikace, která je připravena k odeslání k recenznímu řízení s názvem: **„Alzheimer disease as a membrane dysfunction tauopathy? New insights on the amyloid cascade hypothesis.“**

Plán na rok 2024:

1. Pokračování v systematickém cíleném vyšetřování sledovaných částí mozku (hippocampus a mozková kůra) u pacientů s AD v komorbiditě s 3R+4R tauopatiemi nově diagnostikovaných v průběhu roků 2023 až 2024.
2. finální zpracování dat, jejich statistické vyhodnocení,
3. příprava publikace.

Výstupy projektu v roce 2023:

**zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: Publikace s názvem „Alzheimer disease as a membrane dysfunction tauopathy? New insights on the amyloid cascade hypothesis.“ je připravena k odeslání k recenznímu řízení do konce ledna 2024.
-

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

Hlavní řešitel: prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.

Spoluřešitelé: RNDr. Eva Parobková, Ph.D., MUDr. Klára Pavlíčková, Mgr. Alena Poláková (všichni Ústav patologie a molekulární medicíny 3.LF UK a FTN), MUDr. Marie Drösslerová (Pneumologická klinika 1.LF UK a FTN).

Doba řešení projektu: 2022 – 2024

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 diferenciace (nejmě INSM1, NEUROD1, YAP1, POU2F3) i potenciálně využitelných biomarkerů pro moderní biologickou protinádorovou léčbu (PD-L1, N-TRK, TKI atd.) u SCLC a NET.

Hypotézy: H1: Neuroendokrinní tumor s vyšší mitotickou aktivitou jeví transkriptomický profil obdobný low grade NET spíše než SCLC

H2: Smíšené nádory (neuroendokrinní a adenokarcinom či dlaždicobuněčný karcinom) jeví překryvné genetické aberace

H3: Smíšené nádory exprimují markery charakteristické pro NEC i v non-neuroendokrinní části.

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/metodika a výsledky v roce 2023:

Imunohistochemická detekce proteinových markerů na připravených tkáňových řezech byla provedena na 50 NET s vyšší mitotickou aktivitou a 20 smíšených nádorech stejně jako na 200 SCLC. Izolace DNA a RNA ze vzorků nádorů a jejich genetická analýza metodou masivního paralelního sekvenování nové generace (NGS) byla částečně provedena, zbylé případy budou provedeny v letošním roce.

Iniciální analýza raw dat expresní a genové analýzy proběhla a je podkladem podrobné biostatistické analýzy.

Shromáždění dostupných klinických dat se zaměřením na přežití, odpovědi na léčbu, doby do progresu byla provedena pro soubor sclC, smíšených tumorů a NET s vyšší mitotickou aktivitou.

### Plán na rok 2024:

1/ Dokončení imunohistochemické detekce proteinových markerů na připravených tkáňových řezech včetně skel připravených metodou tissue arrays s dalšími markery (DLL-3, PTEN, RB-1, P53)



- 2/ Izolace DNA a RNA ze vzorků dosud neanalyzovaných nádorů a jejich genetická analýza metodou masivního paralelního sekvenování nové generace (NGS)
- 3/ Podrobná analýza hrubých dat expresního a genového profilu nádorových lézí
- 4/ Korelace a biostatistická analýza dostupných klinických dat v závislosti na získaných transkriptomických a proteomických profilech.

#### Výstupy projektu v roce 2023:

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech:

1/ Borilova S, Dusek L, Jakubikova L, Turcani P, Matej R, Hanke I, Dymackova R, Bilek O, Pauk N, Svoboda M. Lung Cancer in the Czech Republic| Thorac Oncol. 2023 Mar;18(3):271-277. doi: 10.1016/j.jtho.2022.11.023. **IF: 20,121**

2/ Hrudka J, Hojný J, Prouzová Z, Kendall Bártů M, Čapka D, Zavillová N, Matěj R, Waldauf P. High tumour mutational burden is associated with strong PD-L1 expression, HPV negativity, and worse survival in penile squamous cell carcinoma: an analysis of 165 cases. Pathology. 2023 <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2023.10.010>. in press **IF: 5,335**

3/ Jakša R, Stružinská I, Kendall Bártů M, Trča S, Matěj R, Dundr P. Clear cell stromal tumor of the lung with multinucleated giant cells: a report of a case with YAP1-TFE3 fusion. Diagn Pathol. 2023 Jan 27;18(1):9. doi: 10.1186/s13000-023-01304-0 **IF: 3,196**

##### **domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise:

3. články v recenzovaném časopise:

1/ Matěj R. Současné možnosti odlišení histopatologického obrazu idiopatické plicní fibrózy od fibrotické hypersenzitivní pneumonie: Jak na to? Cesk Patol. 2023 Spring;59(1):10-17.

2/ Pavlíčková K., Matěj R. Malobuněčný karcinom plic – nové poznatky o biologii nádoru. Cesk Patol. 2023 Spring;59(1):18-22.

##### **Přednášky, prezentace na konferencích:**

1/ R. Matěj: Prionové nemoci v ČR: 20 let zkušeností NRL pro diagnostiku lidských prionových nemocí.

2/ R. Matěj: Praktické aspekty diagnostiky a subtypizace malobuněčného neuroendokrinního karcinomu plic.

3/ R. Matěj, H. Hornychová: Diferenciální diagnóza granulomatózních lézí v plicích

4/ R. Matěj: Užití NGS v běžné praxi patologa:

##### **Postery:**

Jan Hrudka, Markéta Kalinová, Andrej Nikov, Petr Waldauf, Radoslav Matěj. Koloréktální karcinom s agresivním "non-intestinálním" imunofenotypem: molekulárně genetická analýza.

##### **Jiné výstupy/ Ocenění:**

---

## **19. Sekundární prevence ICHS ve vybraném vzorku populace – česká část studie EUROASPIRE VI.**

Hlavní 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

Doba řešení projektu: 2022-2025

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 tyto studie 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.

Hypotézy: Lze předpokládat, též s ohledem na předchozí studie EUROASPIRE, že nebude dosaženo optimálního stavu ani v primární, ani v sekundární prevenci ICHS, a to v ČR i celoevropsky. Při kontrole KV rizikových faktorů lze předpokládat další pokrok v medikamentózní léčbě rizikových faktorů (arter. hypertenze, hyperlipidemie, diabetes mellitus), v léčbě ICHS a doprovázejících onemocnění. Kontrolu rizikových faktorů životního stylu (obezita, kouření, nedostatečná pohybová aktivita) ale předpokládáme horší a dosažený pokrok v adhezenci k doporučením omezený a adhezenci nadále nedostatečnou.

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/metodika a výsledky v roce 2023. 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 proponovaného Protokolu a Case Record Form připravované studie EUROASPIRE VI. Prim. Němec dále připravil dotazník pro pacienty s KV rizikem sledované v ambulantní péči.

Vyšetření pacientů bylo nutno dále odložit pro doznívající covidovou pandemii a zejména pak skutečnost, že Evropská studie EUROASPIRE VI dosud nebyla zahájena v důsledku dalších odkladů souhlasu Evropské kardiologické společnosti. Nicméně, již závazně, bude studie zahájena v dubnu 2024, k dispozici je jak Protokol, tak CRF studie a je připraveno centrální školení.

Dále 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) analyzovali vývoj kardiovaskulární morbidity a mortality v průběhu covidové pandemie v ČR. Analýzu řešitel přednesl na konferenci České asociace preventivní kardiologie v říjnu 2024 v Praze.

Byla nám předána data Centrálního registru studie EUROASPIRE IV a V která dále analyzujeme.

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

Pokračujeme ve spolupráci a publikační činnosti s plzeňským pracovištěm (prof. Mayer, prof. Filipovský).

### Plán na rok 2024

1. Vyšetřit ambulantně podle protokolu soubor pacientů s prokázanou ICHS (nemocniční soubor).

2. Prim. Němec pokračuje v doktorandském studiu.
3. Nadále kontakty se zahraničními pracovišti, podílejícími se na projektu EUROASPIRE VI, pokračující spolupráce v publikační činnosti.
4. Prezentace našich výsledků na Výročním sjezdu ČKS, na konferenci EUROPREVENT 2024, na Evropském kardiologickém kongresu 2024 (Londýn), na konferenci ČSH, Asociace KV prevence a Asociace srdečního selhání 2024.

#### Výstupy projektu v roce 2023:

##### **zahraniční publikace**

##### 1. články v impaktovaných časopisech

1. Cífková R., Bruthans J., Wohlfahrt P., Hruběš Krajčoviechová A., Šulc P., Jozífová M., Eremiášová L., Pudil J., Lihart A., Widimský J. Jr, Filipovský J., Mayer O. Jr. Stávek P., Poledne R., Lánská V., Strilchuk L. Longitudinal trends in severe dyslipidemia in the Czech population. Czech MONICA and Czech post-MONICA Study. Journal of Cardiovascular Development and Disease. Přijato k publikaci 21.7.2023
2. Mayer O., Bruthans J., Bílková S., Filipovský J. The prognostic impact of renal function decline during hospitalization for heart failure. Kidney and Blood Pressure Research. Přijato k publikaci 20.10.2023
3. Mayer O., Bruthans J., Jiráček J., Filipovský J. The long-term prognostic impact of increased red blood cell distribution width detected during hospitalization for heart failure. Journal of Cardiology. Přijato k publikaci 30.10.2023
4. Cífková R., Harazny J.M., Bruthans J., Wohlfahrt P., Hruběš Krajčoviechová A., Lánská V., Gelžinský J., Mateřánková M., Mareš Š, Filipovský J., Mayer O., Smieder R.E. Early vascular damage in retinal microcirculation in arterial hypertension: the Czech post-MONICA study. Journal of Hypertension 2023;42:000-000

##### **domácí publikace:**

##### 2. články v impaktovaném časopise

##### 3. články v recenzovaném časopise

1. Bruthans J. Může diabetolog ve své ambulanci rozpoznat (a zahájit léčbu) srdečního selhání? Aktuální medicína 2023;1:8-11
2. Bruthans J. Postavení betablokátorů v léčbě arteriální hypertenze. Profi Medicína 2023;8(17):4,5

##### **Přednášky, prezentace na konferencích:**

1. Bruthans J, Rychtaříková J, Jarkovský J, Němec J. Morbidita a mortalita na srdeční selhání v České republice v průběhu epidemie Covid-19. XL konference České společnosti pro hypertenzi, XXXII konference České asociace preventivní kardiologie, blok České asociace srdečního selhání, Praha 7.-10. října 2023.
-

## **20. Poměr pohlaví u narozených dětí v České republice u vybraných typů vrozených vad**

Hlavní řešitel: MUDr. Antonín Šípek, CSc.

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

Doba řešení projektu: 2022-2025

Anotace projektu: 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 významně 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 je zaměřeno na analýzu sekundárního poměru pohlaví všech narozených v České republice za období 1994 - 2020. Tato celostátní data především umožní komparovat děti narozené s vrozenou vadou a bez ní. Zkoumanými proměnnými bude diagnóza vrozené vady a její vazba na pohlaví a možné asociace s proměnnými biologické povahy (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. Data byla získána z oficiální povinné národní registrace – z Národního registru vrozených vad vedeného v Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS) ČR. Výsledky obdobných epidemiologických studií jsou velmi důležité jako výchozí bod pro podrobnější studium působení etiologických faktorů na molekulární úrovni.

### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023

V roce 2023 se nám podařilo získat aktualizaci a doplnění dat našeho základního souboru za rok 2020. Po aktualizaci a doplnění dat jsme zpracovali incidence a poměr pohlaví u defektů neurální trubice (anencefalie, spina bifida, encefalokéla) ještě jednou. Ve zpracování jsme dále pokračovali analýzou vady – vrozený (kongenitální) hydrocefalus ze skupiny vrozených vad Q00-Q07 – Vrozené vady nervové soustavy dle MKN-10. Dále jsme pokračovali analýzou poměru pohlaví a změn incidence pro vrozenou vadu – brániční kýla. V další fázi jsme se zaměřili na další skupinu vrozených vad – defekty břišní stěny. Zpracovali jsme kompletní analýzu pro incidence a poměr pohlaví pro VV – gastroschíza. Při zpracování další vady z této skupiny – omfalokély jsme zjistili v datech do roku 1993 nedostatky, které nám bránily v analýze dat. Z tohoto důvodu jsme zahájili práce na analýzách pouze z datového souboru 1994–2020. Výsledky analýz budou brzy k dispozici a budou prezentovány. Mimo plán jsme provedli navíc analýzy a zpracování dat pro vrozené vady kůže a pro vadu ze skupiny vad urogenitálního traktu – cystické postižení ledvin. I v těchto skupinách vad jsme analyzovali poměr pohlaví a zjistili statisticky významné odchylky od populace dětí narozených bez vrozené vady.

Dosažené výsledky: V naší aktualizované analýze jsme prokázali významné snížení incidencí defektů neurální trubice díky narůstající úspěšnosti prenatální diagnostiky. Nicméně celkové četnosti těchto vad se v populaci nesnížily. Dále jsme našli situaci, kdy vyšší podíl postižených dívek oproti chlapcům se v případě anencefalie a spina bifida změnil v posledních dvaceti letech a nyní diagnostikujeme tyto vady častěji u chlapců. V případě spina bifida je vyšší podíl postižených dívek oproti chlapcům v průběhu celého analyzovaného období.

V naší analýze věnované vrozenému hydrocefalu jsme prokázali fakt, že do roku 1991 dochází k poklesu celkové incidence v České republice. V dalších letech se incidence této vady opět zvyšuje na podobné hodnoty jako na začátku sledovaného období. V období 2001-2005 podíl prenatální diagnostiky stoupl významně oproti dvěma předchozím pětiletým hodnotám a poté se dále zvyšoval a dosáhl nejvyšší

hodnoty v posledním sledovaném období let 2016-2020. Z naší analýzy dále vyplývá významně vyšší zastoupení této vady u narozených chlapců oproti dívkám, významně zvýšené především u matek od 35 let. Podrobnější analýza dat však ukázala, že zastoupení pohlaví u dětí narozených s vrozeným hydrocefalem v průběhu času kolísalo.

V naší další analýze jsme prokázali, že celková četnost gastroschízy v České republice se zvyšuje. Dále stoupá efektivita prenatálního zachytu této vady díky systému prenatálního screeningu a prenatální diagnostiky. Při rozdělení podle pohlaví jsme celkově našli statisticky nevýznamně vyšší podíl postižených chlapců oproti dětem bez VV.

V naší analýze věnované incidenci brániční kýly jsme zjistili, že celková incidence této vady se v průběhu námi sledovaného období v České republice výrazně nemění. Dále jsme prokázali u dětí s brániční kýlou statisticky významně více postižených chlapců oproti dětem bez VV.

V průběhu roku jsme také pro některé typy vrozených vad zpracovali mimo plán incidence a poměr pohlaví u populace dětí narozených po asistované reprodukci, incidence a poměr pohlaví vybraných diagnóz vrozených vad ledvin a kůže. V tomto případě bylo u diagnózy cystická nemoc ledvin zjištěno významně vyšší zastoupení postižených chlapců.

#### Plán na rok 2024

Ve třetím roce řešení projektu budou dokončeny analýzy vad, které jsou již rozpracované: omfalokéla, extrofie močového měchýře a obličejové rozštěpy. V průběhu roku 2024 pak budou následovat analýzy dalších typů vrozených vad dle anotace – vrozené vady oběhové soustavy. Prezentace a publikace nově dosažených výsledků plánujeme průběžně, samozřejmě se budeme snažit prezentovat a publikovat i dosud neprezentované výsledky z roku 2023.

#### Výstupy projektu v roce 2023:

Prezentace:

- Aspire 2023, Adelaide (7.-10.9.2023) postery
  - 1) CONGENITAL ANOMALIES IN CHILDREN BORN AFTER ASSISTED REPRODUCTION IN THE CZECH REPUBLIC
  - 2) SEX RATIO IN CHILDREN BORN AFTER ASSISTED REPRODUCTION AND AFTER SPONTANEOUS CONCEPTION IN THE CZECH REPUBLIC
- 27th European Nephrology Conference, Barcelona (15.-16.11.2023), přednáška  
Cystic kidney disease in the Czech Republic between 1994 -2020: Incidence and sex ratio.
- ICBDSR Annual Meeting 2023 Malta, (5.-8.11.2023), přednáška  
Diaphragmatic hernia in the Czech Republic. Incidence, prenatal diagnosis and sex ratio
  - ICBDSR Annual Meeting 2023 Malta, (5.-8.11.2023), poster  
Sex ratio and congenital anomalies in children born after assisted reproduction.
- Kaprasův den, 15.2.2023, Praha, přednáška  
Vrozené vady u narozených v České republice: 1994–2020.
- 56. Výroční cytogenomická konference, Ostrava (5.-8.9.2023), poster  
Poměr pohlaví a vrozené vady u dětí narozených po asistované reprodukci.

Publikace:

1) Domácí publikace v časopisech s IF

Články: v recenzním řízení: Actual Gynecology and Obstetrics, (IF, Q4)

- Vrozený hydrocefalus v České republice: incidence, poměr pohlaví a prenatalní diagnostika.

- Brániční kýla v České republice: incidence, poměr pohlaví a prenatalní diagnostika.

2) Domácí publikace v recenzovaných časopisech

Článek přijatý k publikaci: Referátový výběr z dermatovenerologie:

Poměr pohlaví u vrozených vad kůže v České republice, vyjde v č. 1/2024

Odesláno redakci: Česká a Slovenská neurologie a neurochirurgie

Defekty neurální trubice v České republice: Incidence, prenatalní diagnostika a poměr pohlaví

Odesláno redakci: Česká gynekologie a porodnictví

Gastroschíza v České republice, incidence, prenatalní diagnostika a poměr pohlaví

---

***21. 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***

Hlavní řešitel: MUDr. Magdalena Lejsková

Spoluřešitelé: MUDr. Ivana Hájková, MUDr. Tomáš Adámek, Ph.D., MUDr. Martin Kováčik, DiS., MUDr. Matěj Bronec do 2023, od 2024 MUDr. Lenka Bartošová.

SZP: Helena Formanová, Petra Kalát (roz. Vejvarová), Jana Štíhová

Doba řešení projektu: 2022 – 2024

Anotace projektu: Výzkumná práce se zaměřuje na dosažitelnost 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  $\leq 48$  mmol/mol. V prospektivní části budou navíc sledovány změny střevní mikrobioty v souvislosti s redukční dietou nutnou pro redukci hmotnosti, která je základem remise diabetu 2. typu. Výsledky přispějí ke zlepšení péče po primozáchytu diabetu 2. typu s velmi závažnou dekompenzací.

Hypotézy:

1. Dlouhodobá výrazná redukce hmotnosti pod životní maximum hmotnosti je rozhodující pro dosažení těsné kompenzace diabetu 2. typu (DM2t) a pro tzv. remisi DM2t. Zvýšení hmotnosti je prediktorem zhoršení DM2t.

2. Dlouhodobá adherence k doporučením je prediktorem udržitelnosti remise DM2t.

3. Dlouhodobá udržitelnost redukované hmotnosti v kohortě je prediktorem vývoje některých metabolických faktorů.

4. Dlouhodobá adherence k doporučením predikuje dopady pandemie COVID-19 na morbiditu v kohortě.

5. Dlouhodobá a udržitelná redukce hmotnosti je asociována se změnou střevního mikrobiomu ve srovnání s mikrobiomem při primozáchytu diabetu (pilotní studie).

Cíle projektu: Primární cíl - na základě dat extrahovatelných z databáze dlouhodobého sledování pacientů v diabetologické ambulanci zhodnotit kompenzovatelnost diabetu v kohortě pacientů po primozáchytu DM2t s těžkou dekompenzací.

#### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

V prvním pololetí roku 2023 byla finalizována databáze retrospektivních dat pacientů léčených v Diabetologické ambulanci FTN po nově diagnostikovaném DM2t s velmi vysokým HbA1c. Statistické zpracování se sestavením trajektorií sledovaných parametrů z dlouholeté dispenzarizace těchto pacientů vyžadovalo detailní individuální manuální zpracování dat každého z pacientů zvláště, protože v průběhu let docházelo zejména u označení laboratorních výsledků ke změnám. Byla manuálně očištěna a zařazena data 50 parametrů do roku 2021, v němž došlo k radikální změně nemocničního informačního systému. Po pečlivém vyloučení pacientů nesplňujících kritéria diagnózy, komorbidit a sledování je zařazeno 41 pacientů, s mediánem věku v době sledování 56 let (26-77 let), s mediánem sledování 5 let (1-12,5 let). Vstupní medián HbA1c, který je markerem kompenzace DM2t, byl 109 mmol/mol (87-145) a následně ve fázi dlouhodobého sledování po redukci hmotnosti v prvním půlroce byl medián průměrů HbA1c zařazených pacientů „person-specific means“ 44 mmol/mol (34-69).

Pečlivé manuální vyčištění dat umožnilo využití lineárních aproximací pro trajektorie sledovaných parametrů a statistické zpracování metodou lineárních smíšených modelů (Gaussian Mixed Effects Models) se 1463 událostmi u 41 pacientů. Touto metodou byly nalezeny významné asociace 9 kontinuálních a 4 kategoriálních parametrů s HbA1c. Parametry ovlivňující šanci na remisi diabetu (HbA1c  $\leq$ 48 mmol/mol) byly vyhodnoceny jinou statistickou metodou, Weibullovy PH modely pro intervalově cenzurovaná data opakujících se událostí s časově proměnnými kovariáty, a byly nalezeny významné asociace 5 parametrů se šancí na remisi.

Byl vypracován a v současnosti je doupravován překlad článku s výsledky z lineárních smíšených modelů, připravovaný k publikaci v Diabetes Research and Clinical Practice (IF 5,1/2022). Výběr časopisu byl proveden na základě toho, že naše výsledky s trajektorií HbA1c při zvoleném postupu léčby u nově diagnostikovaného DM2t se vztahují k výsledkům recentně publikovaného článku (McCoy RG *et al.* Diabetes Res Clin Pract. 2023. PMID: 37918637). Ve spolupráci se statistikem a překladatelem jsou nyní na přelomu roku dokončovány úpravy tabulek a grafů do článku podle požadavků časopisu.

Byly dokončeny odběry a sběr vzorků mikrobiomu u 10 pacientů (každý 3 vzorky) zařazených do pilotní studie výzkumu vývoje mikrobioty na redukční dietě u nově diagnostikovaných DM2t.

V září 2023 byla prezentována přednáška týkající se kardiovaskulárního prospěchu antidiabetické léčby včetně nejnovějších informací o přínosech nových typů antidiabetik.

Poznámka: Ověření hypotéz týkajících se dlouhodobé adherence k doporučením je limitováno komplikacemi při stahování a sjednocování dat z nově uspořádaného NIS (Fons Enterprise) k již vyčištěným datům. Vzhledem k náročnosti dosud provedeného manuálního sjednocování dat nebyla tato fáze výzkumu zatím podrobněji prováděna.

#### Plán na rok 2024:

1. **Publikace** dokončovaného článku **Long-term tight glycaemic control in newly diagnosed type 2 diabetes with severe baseline hyperglycaemia....**
2. **Vypracování dalšího článku** na základě výše zmíněných statistických výsledků z Weibullových modelů pro remisi diabetu do dalšího článku.
3. **Zpracování mikrobiomu+mykobiomu** z uchovávaných vzorků stolice pro pilotní část studie, statistické zpracování a příprava na publikování těchto pilotních výsledků.

4. Domácí prezentace výsledků z dokončovaného článku - **bohužel podle podmínek časopisu je striktně zakázáno publikovat i jen částečné výsledky dříve než bude publikován originální článek, proto zatím nebyla předběžná data prezentována.**

#### **Výstupy projektu v roce 2023:**

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: **dokončován** článek k publikaci v Diabetes Research and Clinical Practice, (**Long-term tight glycaemic control in newly diagnosed type 2 diabetes with severe baseline hyperglycaemia: ...**).

##### **domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise:
3. články v recenzovaném časopise:

**Nové přístupy ke snížení kardiovaskulárního rizika:** Nová antidiabetika jsou kardiovaskulárně prospěšná i pro nediabetiky. New approaches to reduce cardiovascular risk: New antidiabetic drugs are cardiovascular beneficial even for non-diabetics. M. Lejsková, I. Hájková, T. Adámek, M. Bronec, M. Kováčik. In: ATHEROSKLEROSA 2023 září 2023 str. 58-65. ISBN 978-80-905595-9-2.

##### **Přednášky, prezentace na konferencích:**

**Nové přístupy ke snížení kardiovaskulárního rizika (CVOT summit 2022):** nová antidiabetika jsou kardiovaskulárně prospěšná i pro nediabetiky. Přednáška k **publikovanému 8-stránkovému textu** ve sborníku, předneseno dne 13.9.2023 na symposiu Atherosklerosa 2023, 13.-14.9.2023, Lékařský dům Praha (podle přiloženého programu). Navíc spoluúčast v předsednictví a v programovém výboru symposia dle přiložených dokumentů.

##### **Postery –**

---



## **22. Bezdrátová telemetrická monitorace v pooperační péči s cílem včasné diagnostiky kardiopulmonálních komplikací**

Hlavní řešitel: MUDr. Martin Müller, Ph.D.

Spoluřešitelé: doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D., prim. MUDr. Michal Moravec, prim. MUDr. Marek Mráček, MUDr. Tomáš Nejtek, MUDr. Eva Reinbergerová

Doba řešení projektu: 2023 – 2026

### Anotace projektu:

Komplikace spojené s alterací vitálních funkcí se významně podílejí na morbiditě a mortalitě pacientů hospitalizovaných pooperačně na standardním oddělení. Bezdrátová telemetrická monitorace vybraných parametrů vitálních funkcí je nová, slibná metoda, která má potenciál časně detekovat zhoršující se stav pacienta a umožnit tak adekvátní terapeutickou intervenci. Projekt má za cíl ověření efektivity využití telemetrické monitorace na snížení závažných komplikací spojených s alterací vitálních funkcí u pacientů hospitalizovaných v časném pooperačním období na standardním oddělení.

### Hypotézy:

Významný počet komplikací spojených s alterací vitálních funkcí u pacientů hospitalizovaných po operaci na standardním oddělení je preventabilní. Použití bezdrátové telemetrické monitorace vybraných parametrů vitálních funkcí u pacientů hospitalizovaných na standardním oddělení může snížit počet závažných pooperačních komplikací a zlepšit tak klinický výsledek, bezpečnost pacientů a snížit potřebu hospitalizace na JIP/ARO.

### Cíle projektu:

#### *Primární cíl*

Porovnat počet komplikací s alterací vitálních funkcí u pacientů hospitalizovaných na standardním oddělení v časném pooperačním období mezi skupinou s telemetrickou monitorací vybraných parametrů vitálních funkcí a skupinou se standardní monitorací vitálních funkcí.

#### *Sekundární cíle*

Porovnat mezi skupinou s telemetrickou monitorací a skupinou se standardní monitorací vitálních funkcí:

- počet neplánovaných přijetí na JIP/ARO,
- mortalitu,
- délku hospitalizace (celkovou, na JIP/ARO).

### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

V roce 2023 byla zahájena technická příprava pro instalaci bezdrátové monitorovací technologie GE Portrait Mobile (modernizace bezdrátové sítě Wi-Fi, které je nutné pro připojení monitorovacího systému). Vlivem zpoždění na straně výrobce technologie, které je způsobeno prodlevou v certifikaci zařízení pro použití v Evropské unii (CE), není zatím monitorovací systém pro Českou republiku k dispozici a nemohlo být tudíž zatím dodavatelem dodáno. Z tohoto důvodu nebyly čerpány rozpočtované položky, budeme vděční za roční posun řešitelského období.

Souběžně s technickými pracemi na přípravě instalace monitorovací technologie probíhala příprava protokolu studie.

#### Plán na rok 2024:

Na začátek roku 2024 je plánováno dokončení technické části projektu – instalace monitorovací technologie GE Portrait Mobile nejprve na Chirurgické klinice a následně ORL oddělení. Po dokončení instalace monitorovací technologie na Chirurgické klinice je plánováno provedení probatorní studie k ověření technické funkčnosti monitorovacího zařízení, zacvičení personálu a doladění protokolu. Probatorní studie proběhne u 20 pacientů v telemetrické skupině a u 20 pacientů v kontrolní skupině. Provedení probatorní studie je plánováno na 1. polovinu roku 2024. Po dokončení a vyhodnocení probatorní studie proběhne finalizace protokolu studie a bude zahájena vlastní klinická část studie (2. polovina roku 2024), do které je v roce 2024 plánováno zařadit celkem 500 pacientů, 250 pacientů do telemetrické skupiny a 250 pacientů do kontrolní skupiny.

#### Výstupy projektu v roce 2023:

##### **Zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: 0

##### **Domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: 0
3. články v recenzovaném časopise: 0

##### **Přednášky, prezentace na konferencích: 0**

##### **Postery: 0**

##### **Jiné výstupy/Ocenění: 0**

---

### ***23. Vliv vybraných epileptických syndromů na konsolidaci paměťových stop v průběhu spánku - pilotní studie***

Hlavní řešitel: Mgr. Michal Voldřich, Ph.D.

Spoluřešitelé: MUDr. Matúš Bašovský, MUDr. Ondřej Kočí, MUDr. Jan Hadač, Ph.D., prim. MUDr. Klára Brožová

Doba řešení projektu: 4/2023 – 1/2024, projekt plánován na další 2 roky (do prosince 2025)

Anotace projektu: Studie si klade za cíl prozkoumat vliv epilepsie, konkrétně interiktálních epileptiformních výbojů v průběhu spánku, na paměťové funkce. Chceme tím přispět ke stále diskutované a zkoumané otázce vlivu epilepsie na kognitivní vývoj, který má sekundárně vliv na školní úspěšnost, ale i budoucí profesní uplatnění. Naším záměrem je ověřit hypotézu, zda četnost epileptiformních výbojů v průběhu spánku ovlivní konsolidaci paměťových stop. Pro tyto účely chceme ověřit užitečnost testování paměti a vybavování po spaní, následný den po učení, tedy v delším časovém období, než umožňují běžně dostupné neuropsychologické testy.

#### Hypotézy:

1. Interiktální epileptiformní výboje v průběhu spánku negativně ovlivňují konsolidaci paměťových stop.
2. Skupina pacientů a kontrolní skupina složená z dětí bez epilepsie se nebude lišit v paměťových výkonech při vybavení maximálně do 30 minut, ale rozdíl bude patrný v oddáleném vybavení po nočním spánku.

3. Kvantita interiktálních epileptiformních výbojů bude negativně korelovat s výkonem v oddáleném vybavení následující den, tedy po období spánku.

4. Zlepšení EEG grafu bude pozitivně korelovat se zlepšením v oddáleném vybavení po spánku.

#### Cíle projektu:

Prozkoumat vliv epileptiformních výbojů u věkově vázaných benigních fokálních epilepsií na spánkovou konsolidaci paměťových stop a případný efekt snížení jejich četnosti po nasazení antiepileptické medikace

#### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

Sběr dat byl zahájený na jaře 2023 po udělení grantu institucionální podpory a schválení etickou komisí FTN a IKEM. Od dubna 2023 do začátku ledna 2024 bylo k účasti ve studii osloveno 9 pacientů s diagnózou věkově vázané benigní epilepsie s centrotemporálními hroty (dále jen BECTS) a s occipitálními hroty (BEOS) ve věku od 5 do 10 let a jejich zákonných zástupců. Z důvodu nutnosti zahájení okamžité léčby se dva oslovení pacienti nemohli výzkumu účastnit, protože měli nasazenou antiepileptickou medikaci dříve, než mohli být výzkumně testováni. Jedna z rodin osloveného pacienta účast ve výzkumu odmítla. V průběhu 1. roku tedy bylo do výzkumu zařazeno 6 pacientů. U 2 z těchto pacientů byla na základě lékařské indikace zahájena léčba pomocí antiepileptické medikace. Tito 2 pacienti se v roce 2024 podrobí znovu neuropsychologickému testování za účelem sledování vlivu případného snížení epileptiformní aktivity.

Neuropsychologické zkoušky. Výzkumné neuropsychologické testování pacientů zahrnovalo zkoušky oddáleného vybavení verbální a neverbální deklarativní paměti po spánku, tedy po delším čase než umožňují běžné zkoušky dlouhodobé paměti. Vzhledem k absenci standardizované neuropsychologické metody určené k testování oddáleného paměťového vybavení v intervalu delším než je 30 minut v ČR i ve světě testování proběhlo dle metodických doporučení určených pro sestavování takových neuropsychologické zkoušek paměťového vybavení (Elliot et al, 2014, Baddeley a kol., 2019, Baddeley a kol 2021). Podle této metodiky jsme použili zkoušku verbální deklarativní paměti (konsolidace verbální paměti) a vizuální paměti (konsolidace vizuální paměti), u kterých jsme sledovali počet pokusů, za který se dítě dokáže naučit požadované množství verbálního či vizuálního materiálu před spaním, vybavení informací před spaním a vybavení po spánku.

Psychologické testování bylo doplněno o zhodnocení úrovně vývoje mentálních dovedností pomocí metody IDS 5–10. Metoda byla zvolena vzhledem k věkovým normám, které pokrývají skupinu námi testovaných pacientů. Vedle zjištění kognitivní úrovně ve formě IQ, jsou součástí baterie i testy krátkodobé vizuální paměti (vizuálně-prostorová paměť) a dlouhodobé verbální paměti s vybavením po 20 minutách (sluchová paměť). Využití těchto metod společně s testy paměťové konsolidace umožňuje sledovat křivku paměťového procesu v delším časovém období.

Neurologické testování. Kvantita epileptiformní aktivity byla hodnocena pomocí spánkového EEG s rozšířenou polysomnografií. Na základě dat z polysomnografického vyšetření byl spánek rozdělen na jednotlivá spánková stadia NREM 1-3 a REM. EEG monitorace byla provedena mezinárodním systémem elektrod 10-20. Z nasbíraných dat byl u jednotlivých pacientů vypočten spike – wave index (SWI) podle dříve publikovaného výpočtu (Aeby A, a kol., 2005, ). Jedná se vyjádření procenta času NREM 1-3 spánku, který je ovlivněn interiktálními epileptiformními výboji. SWI byl vypočten pod vizuální kontrolou specializovaného elektroencefalografisty z dat prvních 20 minut spánku stadií NREM1-3 prvního a posledního spánkového cyklu. Výpočet SWI z těchto fází spánku v tomto časovém rozsahu je

dostačující pro zhodnocení celkové zátěže spánku epileptiformní aktivitou (Storz, S. A kol 2020). Vedle toho jsme sledovali kvalitu spánku.

Průběžné výsledky za rok 2023. Získaná data byla podrobena statistickému zpracování. Průběžná analýza dat vzorku šesti pacientů, u kterých byly sledovány demografické údaje (pohlaví, věk, vzdělání), anamnestické (základní somatické a specifické a somnologické diagnózy), neurologické (typ epilepsie, počet epileptických záchvatů v anamnéze, SWI, hodnocení kvality spánku) a testové (proměnné v testech konsolidace verbální paměti a konsolidace vizuální paměti, IQ v testu IDS, skóre v subtestech IDS – sluchová paměť a vizuálně-prostorová paměť) proměnné byla provedena v programech SPSS and JASP 0.18.2.

Ověření normality rozložení dat Shapiro-Wilkovým testem neprokázalo normální rozložení u žádné ze sledovaných proměnných, z tohoto důvodu byly pro následnou analýzu užity neparametrické statistické metody. S ohledem na to byla korelační analýza posuzována Spearmanovým korelačním koeficientem.

V první fázi výzkumného šetření byla analyzována data 3 chlapců a 3 dívek průměrného věku 7.33 (SD=2.05), z nichž všichni v čase šetření navštěvovali vzdělávací instituci (3 MŠ, 3 ZŠ). Z klinického vzorku se žádné z dětí při vstupu do studie neléčilo pro specifickou neurologickou, somatickou ani somnologickou diagnózu, nicméně 1 dítě a jeho rodiče popisovali projevy poruchy spánku. Na základě administrace kognitivního testu IDS bylo zjištěno průměrné IQ dětí 82 ( $\pm 16.1$ ).

Statistická analýza ukázala vztah nepřímé úměry mezi SWI indexem a IDS sluchová paměť ( $\rho = -0.943$ ,  $p = 0.017^*$ ), tedy že množství epileptiformní aktivity ve spánku negativně koreluje s paměťovým výkonem v testu učení a verbálního vybavení po 20 minutách. Jinými slovy, čím více epileptiformní výbojů ve spánku pacient měl, tím horší byl výkon ve zkoušce, při které se verbální materiál nekonsoliduje během spánku, ale během bdělého stavu v průběhu 20 minut. Jedná se o zajímavý průběžný výsledek, který může pomoci k lepšímu porozumění paměťového procesu. Podrobnější interpretace bude možná v dalších fázích výzkumu, až bude k dispozici více dat.

Vztah nepřímé úměry byl dále zaznamenán mezi testem IDS sluchová paměť a počtem pokusů nutných k naučení požadovaného materiálu v testu verbální paměťová konsolidace ( $\rho = -0.926$ ,  $p = 0.008^{**}$ ), tedy, že lepší výsledek v testu vybavení naučeného verbálního materiálu po 20 minutách koreluje s menším počtem pokusů, které probandi potřebovali pro naučení se materiálu verbální paměťové konsolidace před spaním. Zdá se, že tyto výsledky poukazují na validitu testu verbální paměťové konsolidace, neboť očekáváme, že paměťové procesy potřebné pro učení a vybavení před spánkem vyžadují podobné neurokognitivní procesy.

Podobně byl nalezen vztah nepřímé úměry mezi testem vizuálně-prostorové paměti v IDS a počtem pokusů nutných pro naučení materiálu v testu vizuální paměťová konsolidace před spaním ( $\rho = -0.845$ ,  $p = 0.034^*$ ). Ačkoliv test vizuálně-prostorová paměť z IDS zkoumá krátkodobou vizuální paměť, je pravděpodobné, že některé kognitivní procesy jsou potřebné i při procesu učení při testu vizuální paměťové konsolidace (např. proces dekodování vizuální informace a jeho přechodné uložení do systému krátkodobé paměti).

Vedle toho, že výsledky poukazují na validitu námi použitých testů, při postupu do dalších fází výzkumu jsou příslibem možnosti hlubšímu porozumění vývoje paměťových procesů u pacientů s epilepsií.

U skupiny 6 pacientů jsme nezaznamenali statisticky významné rozdíly ve vybavení informací před spaním ani po spaní. Podobně analýza neprokázala statisticky významný vztah mezi SWI a vybavení po spánku v testech verbální a vizuální paměťové konsolidace. Jinými slovy množství epileptiformních výbojů nekoreluje s rozdílem mezi vybavením před a po spaní. S ohledem na dosavadní publikované studie nejsou tyto výsledky překvapivé a navazují na zjištění zahraničních výzkumů (Sud a kol, 2013, Storz a kol, 2020), kde u skupiny pacientů s fokální epilepsií nedošlo k úbytku paměťové stopy, nicméně oproti tomu u kontrolní skupiny zdravých probandů došlo po spánku ke zvýšení počtu vybavených informací. K tomu abychom mohli podrobněji porozumět vztahu mezi spánkovou paměťovou konsolidací a epilepsií by mělo pomoci další testování u skupiny léčených pacientů a srovnání se zdravou kontrolou, což máme plánované na příští rok.

#### Literatura

Aeby A, a kol. Levetiracetam efficacy in epileptic syndromes with continuous spikes and waves during slow sleep: experience in 12 cases. *Epilepsia*. 2005 Dec;46(12):1937-42. doi: 10.1111/j.1528-1167.2005.00337.x. PMID: 16393159.

Storz, Sarah a kol. Sleep-dependent memory consolidation in children with self-limited focal epilepsies. *Epilepsy and Behavior*. 2020(113), 7. Dostupné z: doi:/10.1016/j.yebeh.2020.107513

Sud. S. a kol. Memory consolidation in children with epilepsy: Does sleep matter? *Epilepsy and Behavior*. 2014 (31).

#### Plán na rok 2024:

V roce 2024 budeme nabírat další probandy do skupiny pacientů, kterou budeme testovat podle stejné metodologie jako doposud. U skupiny léčených pomocí antiepileptické medikace znovu nové zhodnocení paměťové konsolidace pomocí alternativní verze již použitých testů a dále EEG s rozšířenou polysomnografií. Bude nás zajímat, zda případné snížení SWI indexu bude mít vztah k výkonům v testech paměťové konsolidace.

Vedle toho začneme s testováním kontrolní skupiny, kterou podrobíme stejnému procesu neuropsychologického testování jako skupinu léčených pacientů. U kontrolní skupiny bude provedeno základní neurologické hodnocení a denní záznam bdělého EEG pro vyloučení epileptického onemocnění.

#### Výstupy projektu v roce 2023:

Aktuálně probíhá příprava přehledové studie s názvem Vývoj paměťových funkcí u dětí a možnosti jejího testování, zatím nepublikováno, plánováno v roce 2024.

V plánu vystoupení na konferenci Dny dětské neurologie 2024, kde chceme prezentovat předběžné výsledky.

---

## **24. Monitorování pacientů s p16-positivními karcinomy hlavy a krku pomocí analýzy HPV-cfDNA**

Hlavní řešitel: MUDr. Aleš Čoček, Ph.D., Dr.med.

Spoluřešitelé: doc. MUDr. Radka Lohynská, Ph.D.

MUDr. Zuzana Krátká

MUDr. Anna Opluštilová

Doba řešení projektu: 2023–2025

### Anotace projektu:

Vyšetření cirkulující nádorové (cf) HPV DNA, která se může z uvolňovat s HPV asociovaných karcinomů do krevního oběhu a její stanovení využít k monitorování léčebné odpovědi a upřesnění prognózy onemocnění.

### Hypotézy:

- Vstupní vysoké hladiny (cf) HPV DNA jsou spojeny s nepříznivými klinickými charakteristikami nádoru (objem nádoru, vysoký proliferační index...) či pacienta (malnutrice...).
- Vymizení cf HPV DNA je spojeno s příznivou prognózou.
- Stanovení (cf) HPV DNA je možný biomarker predikce odpovědi na léčbu i prognózu pacienta.

### Cíle projektu:

Vytvoření sestavy pacientů s HPV asociovanými karcinomy, kteří budou pravidelně vyšetřováni na přítomnost HPV DNA v periferním krevním oběhu (před zahájením, v průběhu a po ukončení léčby). Vyhodnocení výsledků a odpověď na hypotézy. Výsledky budou publikovány v odborné literatuře.

### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

Zahájeno vytváření sestavy pacientů s HPV asociovanými karcinomy orofaryngu, zatím zařazeno a sledováno 18 pacientů.

### Plán na rok 2024:

Pokračování ve vytváření sestavy pacientů.

### Výstupy projektu v roce 2023:

#### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: -

#### **domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: -
3. články v recenzovaném časopise: -

#### **Přednášky, prezentace na konferencích: -**

#### **Postery: -**

#### **Jiné výstupy/ Ocenění: -**

---

## **25. Komorbidní neurodegenerativní choroby: Neuropatologické, molekulárně-genetické, biochemické a klinické korelace**

Hlavní řešitel: MUDr. Nikol Jankovská, Ph.D.

Spoluřešitelé: RNDr. Eva Parobková, Ph.D.

prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.

Mgr. Alena Poláková

Doba řešení projektu: 2023 – 2026

### Anotace projektu:

Neurodegenerativní onemocnění se v majoritě případů vyskytují v komorbiditě, tzn. pacient povětšinou trpí současně více chorobami ze skupiny neurodegenerativních chorob. Kombinující se jednotky často ovlivňují hladiny biomarkerů v mozkomíšním moku, pozměňují obraz základního onemocnění na magnetické rezonanci a mění i klinický průběh onemocnění. Jedinou možností, jak s určitou pravděpodobností ještě za života pacienta odhalit veškeré neurodegenerace podílející se na jeho klinických obtížích, je zevrubná analýza a korelace jednotlivých hodnot u co největšího množství již zemřelých, neuropatologicky vyšetřených pacientů.

### Hypotézy:

Obecnou hypotézou platnou pro všechna komorbidní neurodegenerativní onemocnění je, že koexistence více neurodegenerativních jednotek ovlivňuje hladiny biochemických markerů, dobu nástupu, průběh i trvání onemocnění a nález na zobrazovacích metodách. Mimo to je šance, že mezi případy nalezneme vzácné genetické polymorfismy, které rovněž mají vliv na průběh onemocnění u konkrétního pacienta či celé rodiny.

### Cíle projektu:

Cílem projektu je v následujících letech zpracovat kohorty pacientů s neurodegenerativními onemocněními – celkově se jedná o více než 1 000 vzorků. Komplexně je zatím zpracována kohorta pacientů s Creutzfeldtovou-Jakobovou nemocí za posledních 10 let a kohorta vzácného Gerstmannova-Sträusslerova-Scheinkerova syndromu. Jako první by měla být podobným způsobem dokončena podrobná studie pacientů se základní diagnózou AD. Výsledkem by mělo být zpřesnění ante mortem diagnostického procesu jednotlivých komorbidních případů.

### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

K analýze je využíván archivní materiál Ústavu patologie a molekulární medicíny FTN a 3. LF UK/Národní referenční laboratoře prionových chorob spolu s nově přicházejícími případy. Za více než 20 let rutinní neuropatologické praxe se podařilo nashromáždit a neuropatologicky vyšetřit přes tisíc vzorků mozků postižených neurodegenerativními chorobami ve všech možných kombinacích. Metodika tak zahrnuje molekulárně-genetické vyšetření, biochemické vyšetření mozkomíšního moku u žijících pacientů i post mortem, podrobné neuropatologické vyšetření čítající široké spektrum využívaných imunohistochemických markerů i imunofluorescenční metody. Nálezy jsou korelovány s informacemi získanými kolegy v klinické praxi.

V roce 2023 bylo započato vyšetřování kohorty pacientů s Alzheimerovou chorobou. Přijaty k publikaci byly dva články do recenzovaného časopisu.

### Plán na rok 2024:

V roce 2024 předpokládáme publikaci několika zajímavých kazuistických sdělení a jednoho původního článku.

### Výstupy projektu v roce 2023:

#### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: -

#### **domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: -
3. články v recenzovaném časopise:

1) Jankovská N, Waishaupt J, Holada K, Matěj R. Komorbidní Creutzfeldtova–Jakobova choroba jako diagnostická svízel: Kazuistické sdělení kombinace čtyř různých neurodegenerací a pokročilých vaskulárních změn. 2023. *Neurol. praxi*. 2023: v tisku.

2) Jankovská N, Matěj R. Lidské prionové nemoci v ČR: 22 let zkušeností Národní referenční laboratoře pro diagnostiku lidských prionových chorob. 2023. *Neurol. praxi*. 2023: v tisku.

3) Parobková E, Šulcová H, Šuhaj P, Matěj R. Analýza genů asociovaných s neurodegenerativními onemocněními: Praktické zkušenosti s využitím metodiky NGS. 2024. *Neurol. praxi*. 2023: v recenzním řízení.

**Přednášky, prezentace na konferencích: -**

**Postery: -**

**Jiné výstupy/ Ocenění: -**

---

### **26. DMT (*N,N*-dimetyltryptamin) jako možný marker neurologického poškození u pacientů po kardiopulmonální resuscitaci – pilotní studie**

Hlavní řešitel: MUDr. Jaroslava Kovářová – Centrum kardiovaskulární prevence 1.LF UK a FTN

Spoluřešitelé: Prof. MUDr. Renata Cífková, CSc – Centrum kardiovaskulární prevence 1.LF UK a FTN

Doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D. – Anesteziologicko-resuscitační klinika 1.LF UK a FTN

MUDr. Michal Moravec – Anesteziologicko-resuscitační klinika 1.LF UK a FTN

Bc. Jiřina Holasová – Anesteziologicko-resuscitační klinika 1.LF UK a FTN

Doba řešení projektu: 2023 – 2025, 3 roky

#### Anotace projektu:

Hlavní příčinou úmrtí u pacientů hospitalizovaných na JIP po kardiopulmonální resuscitaci (KPR) je v počáteční fázi hospitalizace oběhové selhání, zatímco v pozdější fázi dominuje neurologické poškození v důsledku mozkové hypoxie. Zatím nebyl nalezen spolehlivý marker, který by v relativně časně fázi hospitalizace identifikoval pokročilost hypoxického poškození mozku. V experimentu na krysách bylo prokázáno, že podání *N,N*-dimetyltryptaminu (DMT) snižuje rozsah ischemického poškození mozku. Cílem této pilotní studie je zjistit, zda DMT je detegovatelný v séru pacientů po srdeční zástavě a KPR a zda existuje korelace mezi hladinami DMT a výslednou tíží neurologického poškození.

#### Hypotézy:

- U pacientů po úspěšné KPR, tj. s obnovením spontánní cirkulace, lze detegovat DMT v séru.
- Koncentrace DMT v séru negativně koreluje s mírou neurologického postižení (deficitu) po KPR.
- V některé fázi mozkové hypoxie dochází ke zlomovému navýšení koncentrace DMT v séru.
- Určitá hladina DMT je asociovaná s NDE (near death experience, zážitky blízké smrti).

#### Cíle projektu:

- Zjistit, zda u osob po srdeční zástavě a kardiopulmonální resuscitaci je v séru detegovatelný DMT.
- U osob s detegovatelným DMT po srdeční zástavě a KPR analyzovat dynamiku hladin DMT.



- Zjistit, zda existuje korelace mezi vstupními hladinami DMT a výslednou tíží neurologického poškození (hodnoceno podle škály CPC)
- Zjistit, zda existuje vztah mezi koncentrací DMT v séru a zážitky blízkými smrti (NDE), hodnocenými pomocí standardního dotazníku.

#### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

Od zahájení práce na grantu bylo na ARO FTN zařazeno 26 pacientů (původně na rok 2023 plánováno 20 pacientů). Pacienti často odběr všech 6 vzorků nedokončili z důvodu úmrtí. Celkem jsme získali zatím 111 vzorků k analýze. Velké zdržení zahájení analýz bylo způsobeno charakterem analyzované látky, která patří mezi přísně střežené návykové látky a její nákup podléhá na několika úrovních povinným a velmi dlouhým schvalovacím procedurám. V první analýze, která byla uskutečněna 2.10.2023 nebylo nalezeno žádné DMT a v souladu s nově publikovanou literaturou (Good, Joel, Benway et al: Pharmacokinetics of N,N-dimethyltryptamine fumarate in Humans. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 2023, 48(3): 311-327) jsme zvýšili citlivost analýzy DMT z původních 0.25ng/ml na současných 5pg/ml. Vzhledem k nízké stabilitě stanovovaných látek (DMT, IAA) jsme se rozhodli stanovovat i jiné látky s psychedelickým účinkem, některé současně i produkty metabolismu DMT. Toto bylo však doprovázeno nutností objednání dalších standardů s dalšími schvalovacími procedurami.

6.12. jsme zahájili analýzy prvních 59 z letošních celkových 111 vzorků. DMT nebylo nalezeno v žádném séru s citlivostí na 5pg/ml. V těchto vzorcích nebyla nalezena ani hladina 3-IAA jako koncového produktu metabolismu DMT v hladinách výrazněji vyšších oproti standardním pacientům-s výjimkou testovacího vzorku. Dá se však očekávat spíše malé množství DMT a tedy i malý vliv na finální hodnotu 3-IAA. Nepřítomnost DMT ve vzorcích našich pacientů může mít více příčin. I při snaze o co nejrychlejší manipulaci s krví pacientů jak na pracovišti ARO, tak v biochemické laboratoři, mohlo dojít k degradaci DMT mezi odběrem vzorku krve, jeho umístěním do lednice, následné centrifugaci a zmrazením na -80 stupňů Celsia. Dále mohlo dojít k degradaci DMT i při analýze vzorků, což je však méně pravděpodobné.

Abychom vyloučili tyto příčiny absence DMT v séru našich pacientů, rozhodli jsme se spojit síly s pracovištěm VŠCHT ( Laboratoř pro studium biogenních aminů, Doc. Kuchař) a s pomocí biochemiků se budeme snažit vytvořit modifikaci odběrové zkumavky tak, aby DMT mělo větší šanci být analyticky zachyceno – konkrétně se pokusíme použít nejen klasické, ale i lithium-heparinové vacutainery, které obohatíme různými inhibitory monoaminoxidázy.

Režim odběrů centrální žíla – laboratoř – mrazák -80 stupňů Celsia bude probíhat v režimu STATIM.

Na začátku ledna jsme zahájili analýzy 5-metoxy-DMT a 5-hydroxy-DMT (bufotenin), jakožto dalších látek s psychedelickým účinkem, které by taktéž potenciálně mohly být zodpovědné za NDE (near death experience – zážitky blízké smrti). V prvních 48 vzorcích nebyly tyto látky zachyceny. Ani zde však nemůžeme vyloučit, že látky podlehly degradaci v průběhu zpracování.

Mezi našimi pacienty nelze bohužel v drtivé většině vyhodnocovat NDE. Jde o velmi těžké pacienty, se kterými se většinou po KPR již nepodaří navázat takový kontakt, aby mohl být dotazník NDE prodiskutován. Je i v naší primární hypotéze, že u těchto těžkých pacientů očekáváme hladiny DMT spíše nižší. Pokud by se podařilo v krvi pacientů po KPR DMT, 5-OH-DMT nebo 5-MeO-DMT stanovit, zvážili bychom eventuelně rozšíření spektra pacientů i na pacienty dalších pracovišť, kde lze předpokládat větší záchyt pacientů po srdeční zástavě s dobrým neurologickým výstupem (koronární jednotky).

#### Plán na rok 2024:

1. Snaha o modifikaci odběrové metody tak, abychom zabránili degradaci DMT pomocí inhibitorů monoaminoxidázy a zachytili u pacientů DMT nebo některý z produktů jeho metabolismu.

1. Dovyšetření zbylých 53 vzorků na DMT, 5-OH-DMT, 5-MeO-DMT a 3-IAA – ke zvážení dovyšetření v alternativní laboratoři taktéž metodou LC-MS k eliminaci možné chyby v analytickém zpracování vzorků, kompletace databáze, statistické hodnocení.

2. Odběr nových pacientů do modifikovaných zkumavek – počet v závislosti na finančním zajištění projektu. (v minulém roce výrazně podhodnocena cena LC-MS analýzy s možným vlivem na průběh analytického zpracování)

Příprava publikací: publikace ani prezentace nebyly v r. 2023 plánovány

---

### ***27. Detekce kauzálních patogenních variant celoexomovým sekvenováním (WES) u pacientů s podezřením na vzácné choroby.***

Hlavní řešitel: prim. MUDr. Langová Martina Ph.D.,

Spoluřešitelé: prim. MUDr. Klára Brožová, MUDr. Natálie Friedová, Mgr. Jana Tajtlová, RNDr. Renáta Kejkulová, Mgr. Magdalena Vítková

Doba řešení projektu: 2023 – 2025

#### Anotace projektu:

Metoda masivně paralelního sekvenování na úrovni celoexomového sekvenování může být zásadním přínosem v diagnostice genetické příčiny onemocnění u pacientů, u kterých dosavadní vyšetřovací metody selhaly a nebylo dosaženo klinicky relevantního výsledku.

Cílovou skupinou projektu jsou pacienti s neurologickými klinickými projevy (epilepsie, epileptické encefalopatie často v kombinaci s různými neurovývojovými poruchami) jejichž etiologie nebyla objasněna.

#### Hypotézy:

Předpokladem je nález patogenních nebo pravděpodobně patogenních změn v germinálním genomu pacientů.

Vytvoření algoritmu, který zohlední klinické aspekty a výsledky provedených pomocných vyšetření (MRI, EEG, neuropsychologického vyšetření) k precizní indikaci genetického vyšetření a zhodnocení jeho nálezu (v případě mutací s nejasným klinickým významem).

V případě detekce kauzálních patogenních variant, které vedou ke klinickým projevům vyšetřovaných pacientů, bude možné přistoupit k individuálnímu sledování a multidisciplinární péči o jednotlivé pacienty a jejich rodiny, jež jsou těmito vzácnými chorobami zatíženy. V neposlední řadě usnadní konzultujícím lékařům poradenství a plánování reprodukční strategie rodiny.

#### Cíle projektu:

Cílem projektu je využití molekulárně genetické diagnostické metody WES (whole exome sequencing) k přesné genetické diagnostice vzácných neurogenetických chorob u pacientů, kteří již byli vyšetřeni pomocí jiných diagnostických metod jako jsou karyotypování, array CGH a vyšetření panelů genů asociovaných s předpokládaným onemocněním bez přesvědčivého nálezu. U těchto pacientů jsou klinické předpoklady, že jejich onemocnění je podmíněno genetickou změnou, kterou se zatím

nepodařilo diagnostikovat. Rychlejší diagnostika je cestou k léčbě u pacientů s vzácnými geneticky podmíněnými neurologickými onemocněními.

#### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

Vyšetření bylo provedeno u pacientů, kteří byli v minulosti vyšetřeni na ambulanci Oddělení lékařské genetiky FTN ať již z indikace lékařů FTN nebo extramurálních specialistů z důvodu choroby s variabilními neurologickými příznaky a v té době dostupnými metodami u nich nebyl dosaženo diagnostického závěru a současně přetrvává klinické podezření, že jejich onemocnění má genetický podklad, byli vyšetřeni metodou masivně paralelního sekvenování na úrovni celoexomu (WES). K vyšetření byla použita genomická DNA získaná izolací z periferní krve po souhlasu pacienta nebo jeho zákonného zástupce.

Metoda masivně paralelního sekvenování (MPS) byla provedena kitem SSELXT HS Human All Exon V8+NCV (Agilent Technologies). Byly osekvenovány všechny exony a přilehlé exon/intronové hranice indikovaných genů.

Celoexomové sekvenování bylo provedeno na Oddělení lékařské genetiky FTN na sekvenátoru NextSeq 500/550Dx (Illumina, Inc.) (umístěn v multioborové laboratoři pavilon H)

Použitý software pro analýzu dat: GENOVESA (BIOXSYS) (reference kanonický ranskript pro konkrétní gen)

Používané databáze: program VARSOME/premium používá jako referenční sekvenci kanonický transkript pro konkrétní gen podle Ensembl

Použitý referenční genom pro analýzu dat: GRCh38

Analýza nalezených variant: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/snp>),

LOVD (<http://chromium.lovd.nl/LOVD2/cancer/home.php>),

ClinVar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) a kritéria ACMG

In silico analýzy predikční programy:

SIFT (<http://sift.jcvi.org>),

PolyPhen2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/index.shtml>),

Align-GVGD (<http://agvgd.iarc.fr>), CADD (<http://cadd.gs.washington.edu>).

Předpokládaný počet vyšetření byl 36 pacientů v letech 2023-2025.

Doposud bylo provedeno vyšetření u 18 pacientů včetně vyhodnocení dat. Z toho 12 dospělých a jedno dítě byli vyšetřeni jednotlivě a u dalších dvou dětí bylo vyšetření provedeno paralelně s jejich rodiči.

U dvou dospělých pacientů se podařilo uzavřít diagnostiku nálezem patogenních variant.

U dětí probíhá dodatečná analýza na základě postupně získávaných informací z pomocných vyšetření.

Dalších 21 vyšetření bylo technicky provedeno a analýza získaných dat probíhá.

#### Plán na rok 2024:

Dokončení bioinformatické analýzy již provedených vyšetření.

Analýza dalších vzorků.

Prezentace výsledků: Kaprasův den 2024 pořádaný 14. 2. 2024 v Praze - přihlášeno,  
další dle nabídky konferencí v roce 2024

#### Výstupy projektu v roce 2023:

##### **zahraniční publikace:**

- články v impaktovaných časopisech: -

##### **domácí publikace:**

- články v impaktovaném časopise: -

- články v recenzovaném časopise: -
- Přednášky, prezentace na konferencích: -**  
**Postery: -**  
**Jiné výstupy/ Ocenění: -**
- 

## **28. Analýza genetických příčin potratů metodou celoexomového sekvenování (WES)**

Hlavní řešitel: MUDr. Natálie Friedová

Spoluřešitelé: prim.MUDr.Langová, Ph.D.; Mgr. Jana Tajtlová; RNDr. Renáta Kejkulová; MUDr. Helena Cinegrová; Dagmar Vávrová

Doba řešení projektu: 2023 – 2025

Anotace projektu: Ve Fakultní Thomayerově nemocnici probíhá analýza spontánních abortů v rámci multioborové spolupráce gynekologicko-porodického oddělení a oddělení lékařské genetiky. V plánované interdisciplinární studii plánujeme vyšetřit produkty koncepce v první fázi 30 pacientek s opakovanými reprodukčními ztrátami metodou celoexomového sekvenování. Celoexomové sekvenování způsobilo revoluci v postnatální diagnostice genetických onemocnění, avšak stále se stále velmi málo používá ke studiu reprodukčních poruch. Metoda celoexomového sekvenování může být zásadním přínosem v diagnostice genetické příčiny abortu u pacientek, u kterých dosavadní vyšetřovací metody selhaly a nebylo dosaženo klinicky relevantního výsledku.

Hypotézy: Celoexomové sekvenování může identifikovat genetické příčiny opakovaných spontánních potratů u pacientek, u nichž konvenčními užívanými metodami (karyotypování, QF-PCR, arrayCGH) nedošlo k objasnění příčiny abortu.

Cíle projektu: Cílem projektu je využití molekulárně genetické diagnostické metody WES (Whole exome sequencing) k upřesnění genetické diagnostice analýzy příčiny potratů, které již byli vyšetřeni pomocí jiných diagnostických metod jako jsou karyotypování, QF-PCR, array CGH bez přesvědčivého nálezu. U těchto produktů koncepce jsou klinické předpoklady, že reprodukční ztráta je podmíněna genetickou změnou, kterou se zatím nepodařilo diagnostikovat. Opakované spontánní potraty (dle definice končí potratem alespoň tři po sobě jdoucí gravidity – a to se stejným partnerem) postihují přibližně 1-2 % žen (některé zdroje uvádějí až 5% potratů) v reprodukčním věku. Výsledek vyšetření přinese cenné informace páru a ošetřujícímu lékaři ohledně příčiny potratu. Tato informace může mít i důležitý přínos pro plánování další reprodukce páru.

### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

Projekt probíhá ve spolupráci oddělení lékařské genetiky a gynekologicko-porodického oddělení.

K vyšetření je používána tkáň plodu, pacientky s vyšetřením sepisují informovaný souhlas.

Vyšetření metodou masivně paralelního sekvenování na úrovni celoexomu (WES) probíhá u produktů koncepce pacientek, u nichž nebyla běžně užívanými metodami nalezena genetická příčina abortu a současně přetrvává klinické podezření, že příčina měla genetický podklad. Nyní je prováděna bioanalýza získaných dat, pokračujeme v odběru vyšetřovaných vzorků, jsou připravovány podklady pro prezentaci získaných dat.

Pozn. Metoda masivně paralelního sekvenování (MPS) byla provedena kitem SSELXT HS Human All Exon V8+NCV (Agilent Technologies). Byly osekvenovány všechny exony a přilehlé exon/intronové hranice indikovaných genů. Celoexomové sekvenování bylo provedeno na Oddělení lékařské genetiky FTN na sekvenátoru NextSeq 500/550Dx (Illumina, Inc.) Použitý software pro analýzu dat: GENOVESA (BIOXSYS) (reference kanonický transkript pro konkrétní gen). Používané databáze: program VARSOME/premium používá jako referenční sekvenci kanonický transkript pro konkrétní gen podle

Ensembl. Použitý referenční genom pro analýzu dat:GRCh38 Analýza nalezených variant:), LOVD, ClinVar a kritéria ACMG. In silico analýzy predikční programy: SIFT, PolyPhen2, Align-GVGD, CADD.

Plán na rok 2024: V roce 2024 bychom rádi pokračovali v rozšiřování souboru vyšetřovaných pacientek, budeme rovněž pokračovat v bioinformatické analýze získaných dat. Plánujeme prezentování průběžných výsledků na českých i mezinárodních konferencích, např. Kaprasův den 2024, 26. celostátní konference DNA diagnostiky Brno, ESHG konference 2024 Berlín, dle možností budeme zvažovat i prezentaci na: ESHRE 2024 Amsterdam a 24. Izakovičův memoriál, SVK. Budeme pokračovat v rozšiřování souboru dat pro plánované publikace v zahraničních i mezinárodních časopisech.

Výstupy projektu v roce 2023:

**zahraniční publikace:**

- články v impaktovaných časopisech: připravují se, bude rovněž publikován abstrakt z ESHG 2023, viz. Níže v European Journal of Human Genetics

**domácí publikace:**

- články v impaktovaném časopise: připravují se
- články v recenzovaném časopise: připravují se

**Přednášky, prezentace na konferencích:** plánováno v letošním roce

**Postery:** ESHG Conference 2023 - European Society of Human Genetics Conference 2023, Glasgow – poster (hlavní autor), abstrakt bude publikován v European Journal of Human Genetics: " Detection of genetic causes of miscarriage in the products of conception: Analysis of fetal tissues from a miscarriage using QF-PCR and Array CGH" - MUDr. Natálie Friedová

Jiné výstupy/ Ocenění: 0

**Jiné výstupy/ Ocenění:** -

---

## **29. Hypereozinofilie - četnost výskytu v r.2019 a v 2022**

Hlavní řešitel: MUDr. Lucie Heribanová

Spoluřešitelé: prof.MUDr. Martina Vašáková, PhD, MUDr.Klára Bořecká, PhD

Doba řešení projektu: 2023 – 2025

Anotace projektu: Porovnání počtu zjištěných hypereozinofilí v roce před výskytem SARS-CoV2 a v roce výskytu SARS-CoV-2.

U akutní infekce SARS-CoV-2 je pozorován výrazný pokles počtu eozinofilů v krvi. Naopak po proběhlém SARS-CoV-2 jsou kazuisticky popisovány výskyty onemocnění spojených s hypereozinofilí. Není zatím známo, jaký je vliv proběhlé pandemie Covid19, na celkový výskyt počtu těchto onemocnění. Zvýšená frekvence záchytu hypereozinofilí je zatím pozorován pouze klinicky nejen na našem pracovišti, chybí vyšetření většího vzorku obyvatel

Hypotézy: Pokud by onemocnění Covid-19 nebo vakcinace proti Covid-19 byly významnými rizikovými faktory hypereozinofilie, měl by tento vliv být při vyšetření dostatečně velké vzorku populace prokazatelný.

Cíle projektu: Cílem projektu bylo prokázat vyšší výskyt hypereozinofilí v roce 2022, tedy po výrazné expozici populace SARS-CoV-2, v porovnání s rokem 2019, kdy na našem území ještě výskyt

SARS-CoV-2 hlášen nebyl. Vedlejším cílem bylo určení horní hranice incidence hypereozinofilie u naší populace.

#### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

##### Materiál a metodika

Retrospektivně byly hodnoceny výsledky všech vyšetření počtu eozinofilů v krvi ze všech validních vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem provedených v laboratoři Fakultní Thomayerovy nemocnice v roce 2019 a v roce 2022 ( hospitalizovaní i ambulantně vyšetření pacienti) . Následně byl porovnán počet pacientů, u kterých byla alespoň jedenkrát zachycena hypereozinofilie, definovaná jako počet eozinofilů v krvi  $\geq 1,5 \times 10^9/l$ , v roce 2019 ( před expozicí populace onemocnění SARS-CoV-19) a v roce 2022 ( po/při expozici populace SARS-CoV-2) . Současně byl vyhodnocen i počet pacientů, u kterých nebyla hypereozinofilie zachycena ani v jednom z u nich vyšetřovaných krevních obrazů s diferenciálním rozpočtem, opět v obou sledovaných letech. Za roky 2019 a 2022 bylo následně porovnáno celkové množství provedených vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem, počet pacientů, u kterých bylo toto vyšetření provedeno, stanovení výskytu hypereozinofilie v jednotlivých souborech a statisticky zhodnocen rozdíl v počtu pacientů s alespoň jedenkrát zachycenou hypereozinofilií v roce 2022 oproti roku 2019. Analyzovány byly výsledky všech pacientů, výsledky pacientů ve věku  $\geq 12$  let a pacientů ve věku  $< 12$  let v době vyšetření. Ke statistickému zhodnocení rozdílu výskytu hypereozinofilie v obou hodnocených letech byl použit chí-kvadrát test nezávislosti a stanovení relativního rizika ( RR) včetně stanovení intervalu spolehlivosti 95% (95% IS) pro pacientky vyšetřené v roce 2022 oproti vyšetřeným v roce 2019.

##### Výsledky:

Celkový počet provedených vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem s validním výsledkem byl ve Fakultní Thomayerově nemocnici byl 65 459 v roce 2019 a 78 281 v roce 2022, a to u 28 066 pacientů v roce 2019 a 31 181 pacientů v roce 2022, z toho 3546 vyšetřených byly děti  $< 12$  let v roce 2019 a 3610 dětí  $< 12$  let v roce 2022. Mezi oběma roky byl zaznamenán mírný nárůst počtu provedených vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem s validním výsledkem – v roce 2022 se jednalo o 119,6% počtu z roku 2019, vyšetření bylo provedeno i u mírně vyššího počtu pacientů ( v roce 2022 o 11% více než v roce 2019). V roce 2019 byla hypereozinofilie  $\geq 1,5 \times 10^9/l$  zachycena alespoň jedenkrát u 146 pacientů ( 0,52% všech vyšetřených pacientů), z toho u 59,8% se jednalo o opakovaný záchyt. V roce 2022 byla hypereozinofilie  $\geq 1,5 \times 10^9/l$  zjištěna alespoň jedenkrát u 176 pacientů ( 0,56% všech vyšetřených pacientů), z toho u 57,7% se jednalo o opakovaně pozitivní výsledek z hlediska přítomnosti hypereozinofilie.

Na základě výše uvedených výsledků bylo stanoveno relativní riziko ( RR) záchytu hypereozinofilie u pacientů vyšetřených v roce 2022 ( tedy po vysoké populační expozici SARS-COV-2) oproti vyšetřeným v roce 2019 - pro všechny vyšetřené pacienty RR ( 95% IS) 1,086 (0,87; 1,35), pro pacienty ve věku  $\geq 12$  let RR ( 95% IS) 1,212 ( 0,93; 1,57), pro děti  $< 12$  let věku RR ( 95% IS) 0,857 (0,57; 1,3). Pro žádnou z testovaných skupin tedy nebylo zjištěno významně vyšší RR záchytu hypereozinofilie v roce 2022 oproti roku 2019. Chí-kvadrát testem nezávislosti také nebyl na hladině významnosti 5% potvrzen vyšší počet pozitivních výsledků z hlediska jednorázového výskytu hypereozinofilie v roce 2022 oproti roku 2019 u žádné z testovaných skupin ( pro všechny vyšetřené pacienty  $p = 0,46$ , pro pacienty ve věku  $\geq 12$  let  $p = 0,14$ , pro vyšetřené ve věku  $< 12$  let  $p = 0,47$ ).

Závěr: Vliv populační expozice SARS-CoV-2 na incidenci hypereozinofilie nebyl analýzou výsledků vyšetření ambulaních i hospitalizovaných pacientů Fakultní Thomayerovy nemocnice prokázán. Incidence hypereozinofilie byla u vyšetřených pacientů 0,52% v roce 2019 a 0,57% v roce 2022.

##### Plán na rok 2024:

Projekt dokončen, připraveno k publikaci – v plánu odeslání do časopisu *Studia pneumologica et phthiseologica* , se svolením vydavatele následně prezentace na kongresu ČPFS.

Výhledově bude soubor dat použit ke zhodnocení incidence mírné a střední eozinofilie.

Výstupy projektu v roce 2023:

Viz plán pro rok 2024

**zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: 0

**domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: 0
3. články v recenzovaném časopise: 0

**Přednášky, prezentace na konferencích: 0**

**Postery: 0**

**Jiné výstupy/ Ocenění: 0**

---

### **30. Validace české verze dotazníku kvality života EORTC QLQ-ANL27**

Hlavní řešitel: Doc. MUDr. Radka Lohynská, Ph.D.

Spoluřešitelé: MUDr. Jana Čejková, MUDr. Alena Nováková-Jirešová, Ph.D., MUDr. Anna Opluštilová

Doba řešení projektu: 2023 – 2026

Anotace projektu: Po přeložení a několikastupňové validaci dotazníku QLQ-ANL27 v souladu s EORTC Guidelines [Dewolf L 2009, Koller M 2012] bude možné po schválení EORTC Translation Unit využít přeložený dotazník celonárodně v ČR pro hodnocení kvality života pacientů po léčbě análního karcinomu (oficiálně bude dostupné na <http://groups.eortc.be/qol> a pro akademické účely je zdarma) a provést srovnání kvality života pacientů léčených pro anální karcinom v České republice se zahraničními daty.

Hypotézy a cíle projektu: Cílem práce je přeložení a validace dotazníku kvality života EORTC QLQ-ANL27 do češtiny v souladu s EORTC translation guidelines [Johnson CD 2011, Cull A 1998, Cull A 2002] a umožnění implementace mezinárodně platného dotazníku do hodnocení úspěšnosti léčby pacientů s karcinomem anu v ČR. Pilotní překlad bude validován na skupině 10 žen a 5 mužů s karcinomem anu a po oficiálním vydání české verze dotazníku QLQ-ANL27 bude poté vyhodnocen soubor pacientů léčených na našem pracovišti a zhodnocena kvalita života a korelace s prognostickými a rizikovými faktory před léčbou u cca 100 pacientů (ve spolupráci s ostatními pražskými onkologiemi). Zhodnocení hypotézy, jak významně je kvalita života pacientů po léčbě závislá na vstupních charakteristikách nádoru, pacienta a léčby (nádorový objem, stadium TNM, BMI, dávka technika RT...) a zda jsou reálná česká data srovnatelná s publikovanými zahraničními daty.

Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

1. V prvním kroku projektu byl proveden čtyřstupňový proces překladu mezinárodního dotazníku kvality života EORTC QLQ-ANL27 [Sodergren SC 2023] z angličtiny do češtiny v souladu s EORTC translation guidelines [Johnson CD 2011, Kuliš D 2017, Koller M 2012].
  - Ve spolupráci **místního překladového koordinátora s vedoucí překladového týmu** z EORTC Anaïs Simon byl naplánován překlad a validace dotazníku.
  - Procesu překladu EORTC QLQ-ANL27 dotazníku se účastnilo 7 osob (5 českých rodilých mluvčích s dobrou znalostí angličtiny, 1 profesionální překladatel z angličtiny do češtiny z EORTC a vedoucí překladového centra EORTC v Bruselu).
  - V první fázi proběhl překlad z anglického originálu do češtiny (2 nezávislé rodilí mluvčí - **forward translations**).

- Následně třetí rodilý mluvčí (místní překladový koordinátor) vytvoří z obou překladů jedna nejvhodnější formulaci (**reconciled translation**). Tato formulace je jinými česky hovořícími osobami s dobrou znalostí angličtiny přeložena zpět do angličtiny (**backward translation**).
  - Překlady byly po každém kroku zaznamenávány do tabulky (forward translation, reconciled translation a backward translation s poznámkami) a průběžně zasílány do překladového centra EORTC k revizi.
  - Po zodpovězení dotazů k nejasným formulacím vedoucího překladového týmu EORTC byla předběžná česká verze předložena ke kontrole profesionálnímu překladateli (**external proofreader**) a překladový koordinátor revidoval znění otázek dle jeho poznámek.
2. V druhé fázi byl tzv. **pilotní překlad** validován na skupině 10 žen a 5 mužů s karcinomem anu. Pacienti po léčbě chemoradioterapií v kompletní remisi minimálně 3 měsíce po radikální CHRT otázky v dotazníku prošli a připomínkovali srozumitelnost a vhodnost či jednoznačnost překladu u jednotlivých otázek.
  3. Překladový koordinátor ve spolupráci s překladovým centrem EORTC vytvořil na základě poznámek a komentářů pacientů **finální verzi** překladu dotazníku QLQ-ANL27, která je pro akademické účely dostupná zdarma na stránkách EORTC: <https://qol.eortc.org/questionnaire/qlq-anl27/>.

#### Plán na rok 2024:

V druhém roce řešení projektu je v plánu vyhodnotit soubor minimálně 100 pacientů léčených chemoradioterapií pro anální karcinom na našem pracovišti a zhodnotit kvalitu života (dotazníky EORTC QLQ-C30 + QLQ-ANL27 + hodnocení kvality anorektální funkce pomocí dotazníku LARS) a korelaci s vstupními charakteristikami nádoru, pacienta a léčby (nádorový objem, stadium TNM, BMI, dávka technika RT...). Dotazníky budou vydávány při kontrole nebo zaslány emailem, či poštou.

Bylo zahájeno vytvoření sítě spolupracujících pracovišť napříč ČR (zatím kromě FTN zapojeny FN Bulovka, Nemocnice Liberec, FN Motol) s plánem vyhodnotit a publikovat výsledky hodnocení kvality života pomocí anonymizovaných dotazníků po léčbě.

Analýza výsledků bude publikována na konferenci Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky 2024, na Brněnských onkologických dnech 2024 a na Prague Onco 2025.

#### Výstupy projektu v roce 2023:

##### **zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: 0

##### **domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: 0
3. články v recenzovaném časopise: 0

**Přednášky, prezentace na konferencích: 0**

**Postery: 0**

**Jiné výstupy/ Ocenění: 0**

---



### **31. TOP FIVE Choosing Wisely doporučení pro interní oddělení**

Hlavní řešitel: MUDr. Rakušan Dan, MHA

Spoluřešitelé: MUDr. Bartošová Lenka, MUDr. Machava Michal, MUDr. Molitorová

Alžběta, MUDr. Šišková Tereza, MUDr. Vrdlovec Jan, MUDr. Kováčik Martin / od 8/2023 /, MUDr. Knopp Matěj / do 7/2023 /

Doba řešení projektu: 2023 – 2025

#### Anotace projektu:

V rámci probíhajícího projektu bychom se rádi pokusili o implementaci kampaně Choosing Wisely na úrovni interního oddělení Interní kliniky FTN a 3.LF UK. Vybrali jsme pět oblastí ve kterých předpokládáme, že současná praxe není ideální. Pokusili bychom se o zmapování aktuálního stavu, zjištění podílu „overdiagnosis“ a „overtreatment“ ve vybraných okruzích. Poté bychom se snažili o edukaci kolegů a implementaci vlastních vytvořených Top Five Choosing Wisely doporučení na úrovni našeho oddělení a monitorovali jejich medicínský a ekonomický dopad.

Hypotézy: Cílem našeho projektu je pokusit se o implementaci kampaně Choosing Wisely na úrovni interního oddělení. Vybrali jsme pět oblastí ve kterých předpokládáme, že současná diagnostická a terapeutická praxe není ideální:

1. nadužívání CT angiografie při diagnostice plicní embolie
2. nerespektování zásad restriktivní transfusní politiky
3. nedostatečná redukce zbytné medikace geriatrických pacientů během hospitalizace
4. Podání mražené plazmy je často indikováno ke korekci koagulopatie u různých skupin pacientů, nicméně tato terapie často nebývá účelná, nevede ke korekci a představuje tak ekonomickou zátěž a potenciální riziko pro pacienta.
5. sporné indikace a přínos endoskopických vyšetření u křehkých geriatrických pacientů.

#### Cíle projektu:

Pokoušíme se o zmapování současného stavu, zjištění podílu „overdiagnosis „ a „overtreatment“ ve vybraných okruzích. Poté bychom se snažili o edukaci kolegů a implementaci vlastních vytvořených Top Five Choosing Wisely doporučení na úrovni našeho oddělení.

#### Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

Březen 2023- spuštění platformy iniciativy Choosing Wisely na stránkách České internistické společnosti <https://www.cisweb.cz/choosing-wisely>

Květen 2023 - interní seminář Choosing Wisely na interním oddělení

Květen 2023 - Srpen 2023 - tedy během čtyř celých měsíců probíhal sběr dat u hospitalizovaných pacientů dotýkající se vybraných témat. Jejich analýzou nyní zjišťujeme podíl „overdiagnosis“ nebo „overtreatment“ případů v každé z pěti kategorií.

Říjen 2023 - Leden 2024 - vyhodnocování získaných dat, pracovní verze výsledků z některých větví projektu pro ukázkou přiloženy- viz příloha 2-3

Listopad 2023 - Blok „ Choosing Wisely „ na XXX. Kongresu ČIS viz níže

#### Plán na rok 2024:

Leden 2024- Duben 2024 - série pěti edukačních seminářů na každé z pěti sledovaných témat tzn: restriktivní transfusní politiky, podávání mražených plasem , polypragmatie u geriatrických pacientů, endoskopických vyšetření u pacientů se syndromem geriatrické křehkosti, racionální diagnostiky plicní embolie . Prezentace dat ze čtyřměsíčního období roku 2023 / květen- srpen / , diskuse, návrhy na zlepšení a formulování doporučení

k implementaci žádoucích změn, dále vytvoření a distribuce edukačních materiálů.

Květen – Srpen 2024 revize zdravotnické dokumentace všech hospitalizovaných pacientů a zopakování celého procesu sběru dat s porovnáním , zda a v jaké míře došlo dodržováním nově vytvořených vlastních ChoosingWisely doporučení k žádoucí změně.

Září 2024 – Březen 2025 analýza získaných dat, srovnání s obdobím před edukací a pokusem o implementaci CH doporučení / tzn. srovnání období květen- srpen 2024 s obdobím květen- srpen 2023, prezentace výsledků kolegům, dále samozřejmě ideálně v rámci některého z odborných fór / ideálně prezentace opět na internistickém kongresu ČIS v rámci ChoosingWisely sekce atd. / , publikace výsledků , formou článku do časopisu Vnitřní lékařství a dalších odborných časopisů.

Výstupy projektu v roce 2023:

**zahraniční publikace:**

1. články v impaktovaných časopisech: -

**domácí publikace:**

2. články v impaktovaném časopise: -

3. články v recenzovaném časopise:

Aktuální medicína - 2/2023 - Choosing Wisely: „Když méně je více ...“

**Přednášky, prezentace na konferencích:**

- XXX.kongres České internistické společnosti - blok Choosing Wisely  
Dr.Rakušan - přednáška „ Když méně je více ...“ , plus předsedání bloku  
9.11.2023, Brno, ČLK – ID aktivity - 113422  
Záznam celého bloku na stránkách České internistické společnosti viz níže jako první odkaz ze záznamu z akce,dedikace grantu viz slidy první přednášky „ Když méně je více ...“  
<https://www.cisweb.cz/xxx-kongres-cis-cls-jep-zaznam-vybranych-bloku>
- Seminář Katedry interních oborů LF UK a FN HK, Choosing wisely v České republice, "Když méně je více..." , přednášející Dr. Rakušan, 4.10. 2023 Hradec Králové , ČLK - ID aktivity 112293
- Přednáškový večer ČLS JEP , Choosing Wisely , přednášející Dr. Rakušan , 16.11. 2023, Pardubice, ČLK -ID aktivity 113961
- Další odkazy na aktivity iniciativy Choosing Wisely na stránkách ČIS – platformě CHW  
<https://www.cisweb.cz/choosing-wisely>
- Mediální výstupy se zmíněním probíhajícího grantového nemocničního projektu :  
<https://www.reflex.cz/clanek/prostor-x/121989/rakusan-nektere-nemoci-se-nevyplati-lecitnadbytecna-lecba-skodi-a-stoji-tricet-procent-nakladu-na-zdravotnictvi.html>  
<https://www.ceskatelevize.cz/porady/1096902795-studio-6/223411010101108/cast/1010336/>  
<https://www.ceskenoviny.cz/zpravy/2437788>  
<https://zpravy.aktualne.cz/domaci/cesi-a-leky/r~4503eeda820d11eabc030cc47ab5f122/>  
<https://www.seznamzpravy.cz/clanek/domaci-zivot-v-cesku-zbytecne-moc-vysetreni-i-leku-lekarivaruji-pred-peci-ktera-muze-skodit-239376>  
<https://radiozurnal.rozhlas.cz/naduzivani-leku-u-starsich-pacientu-je-stale-castejsi-medikaci-melilekari-9116446>

---

**32. Přínos kognitivní rehabilitace u seniorů s poruchou paměti**

Hlavní řešitel: Mgr. Kvetoslava Hošková  
Spoluřešitelé: PhDr. Blanka Jirkovská PhD.

Doba řešení projektu: 2023– 2023

Anotace projektu:

Cílem projektu je zhodnotit přínos nefarmakologické intervence – kognitivní rehabilitace využívané u hospitalizovaných seniorů s poruchami paměti (N = 150 respondentů) za využití škály pro měření deprese GDS-15 a dotazníku měřícího kognitivní funkcí ACE-CZ. Získaná data budou statisticky vyhodnocena s využitím vybraných sociodemografických údajů. Vliv nefarmakologické intervence bude posouzen porovnáním experimentální a kontrolní skupiny. Výstupem bude manuál s tematickými listy pro účely kognitivní rehabilitace, který bude šířen do organizací pečujících o seniory s kognitivním deficitem.

Hypotézy:

HP č. 1: Kognitivní výkon měřený kognitivním testem ACE-CZ u experimentální skupiny bude po absolvování kognitivní rehabilitace signifikantně vyšší oproti výkonu před intervencí. HP č. 2: Kognitivní rehabilitace aplikovaná u pacientů s poruchou paměti u experimentální skupiny statisticky významně ovlivní pozitivní výsledky v GDS-15 měřených po intervenci v porovnání s měřením před intervencí. HP č. 3: Experimentální skupina bude mít při retestu statisticky významnější výsledky v kognitivních testech po intervenci než kontrolní skupina. HP č. 4: Experimentální skupina po absolvování kognitivní rehabilitace bude mít při retestu statisticky významnější výsledky v GDS-15 než kontrolní skupina.

Cíle projektu:

Cílem projektu je zjistit kvalitativní i kvantitativní přínos kognitivní rehabilitace u seniorů s poruchami paměti v oblastech kvality života, kognice, nálady, zvládnání aktivit denního života před a po absolvování u experimentální skupiny a její porovnání s kontrolní skupinou.

Postup prací/metodika a výsledky v roce 2023:

- příprava tematických listů ke kognitivní rehabilitaci
- sběr dat do pilotního souboru a zpracování dat
- prezentace výsledků na zahraniční i domácí konferenci
- uspořádání konference ve FTN – aktivní účast členů týmu
- tištěné tematické listy a brožury rozdané v rámci workshopů, seniorům a jejich příbuzným anebo mailem v pdf zaslané na mailové adresy zařízení pro seniory, dobrovolníkům, oddělení psychologie

Plán na rok 2024:

- pokračování ve sběru dat a jejich statistické zpracování
- aktivní účast na konferencích
- publikace pilotní studie v recenzovaném periodiku
- pokračování v přípravě tematických listů ke kognitivnímu tréninku
- knižní vydání tematických listů

Výstupy projektu v roce 2023:

**zahraniční publikace: 0**

1. články v impaktovaných časopisech:

**domácí publikace: 0**

2. články v impaktovaném časopise:
3. články v recenzovaném časopise:

### **Přednášky, prezentace na konferencích**

- Reminiscence approach to cognitive rehabilitation
- Síla nefarmakologických metod pro seniory s poruchou paměti - PhDr. Blanka Jirkovská PhD.
- Kognitivní trénink v nemocničním prostředí
- Geriatrie přátelská seniorům

### **Postery: 0**

### **Jiné výstupy/ Ocenění:**

Uspořádání konference ve FTN – Nefarmakologické přístupy k seniorům s poruchou paměti

### **Brožury k workshopům:**

- Worksheet for the workshop Cognitive Rehabilitation for participants in the Amsterdam 2023 conference
- Trénování kognitivních funkcí s využitím emotikonu, symbolů a piktogramů.
- Metody podpory kognitivních funkcí v rámci sociální aktivizace zaměřené na osoby staršího věku
- Trénování kognitivních funkcí s využitím piktogramů.

### **Prezentace pro akreditovaný kurz Ošetřovatel**

- Metody podpory kognitivních funkcí v rámci sociální aktivizace zaměřené na osoby staršího věku
- Kolokvium se study

### **Prezentace pro dobrovolníky v CPP FTN**

- Náplň práce dobrovolníka zaměřená na trénování paměti a kognitivní funkce.
-