



Věnováno památce
prof. RNDr. Jany Šmardové, Ph.D.
1961-2023



ČESKO-SLOVENSKÁ
BIOLOGICKÁ SPOLEČNOST, z. s.



Organizační výbor

doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D., předsedkyně
doc. RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.
Mgr. Martina Lojová, Ph.D.
Mgr. Lukáš Moráň

Organizační zajištění

Mgr. Martina Lojová, Ph.D.
Tel.: + 420 604 178 156
E-mail: martina.redova@gmail.com

Programový výbor

prof. MUDr. RNDr. Miroslav Červinka, CSc.
prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc.
RNDr. Jiří Jarkovský, Ph. D.
prof. RNDr. Juraj Krajčovič, CSc.
Mgr. Jiří Kohoutek, Ph.D.
doc. MUDr. Miroslava Sedláčková, CSc.
prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
prof. MUDr. Iva Slaninová, Ph.D.
doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
doc. RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.
prof. RNDr. Renata Veselská, Ph.D., M.Sc.
doc. RNDr. Kateřina Komrsková, Ph.D.
doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc.
prof. MVDr. Jiří Rubeš, CSc

Místo konání

**Masarykova univerzita, Univerzitní kampus
Brno-Bohunice**
Kamenice 5, 625 00 Brno

Pavilon B22, Aula
Pavilon F01, Ústav histologie a embryologie LF MU



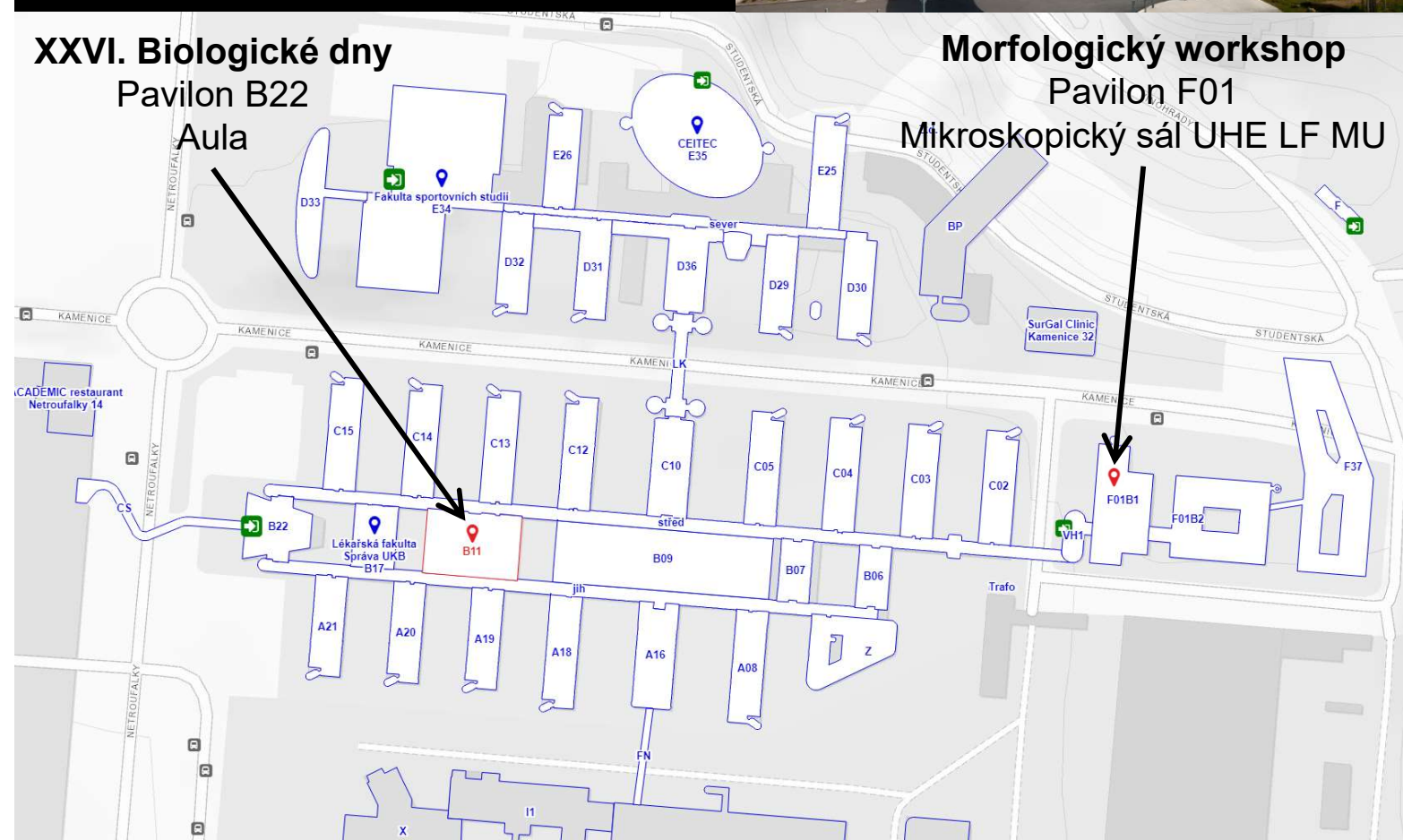
XXVI. Biologické dny

Pavilon B22
Aula

Morfologický workshop

Pavilon F01

Mikroskopický sál UHE LF MU





ČESKO-SLOVENSKÁ
BIOLOGICKÁ SPOLEČNOST, z. s.

CTCAAAAGTCTAGAGCCAC...
GCCGTGCTT...
GCCGC...
AAACA...
GTTCA...
AGTCT...
CCAGGC...
TGCCCT...
CGGCAC...
CCATG...
CGACT...

III. MORFOLOGICKÝ WORKSHOP

Foto: Lukáš Moráň

STRUKTURNÍ A FUNKČNÍ DIVERZITA BUNĚK, TKÁNÍ A ORGÁNŮ

- **Exkurze do embryologických laboratoří** (UHE LF MU)
- **Mikroskopická stavba lidských tkání a orgánů** – hands on ukázka histologických preparátů (UHE LF MU)
- **Exkurze do laboratoří elektronové mikroskopie** (UHE LF MU)
- **Demonstrace pokročilé optické mikroskopie** (CELLIM CEITEC MU)
- **Anatomické muzeum** – komentovaná exkurze (AU LF MU)

7. 9. 2023

Brno – Univerzitní kampus





8. 9. 2022

PROGRAM

Otevření registrace	7:30	
Zahájení konference	8:15	Doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph. D.
Úvodní přednáška	8:20	prof. RNDr. Juraj Krajčovič, CSc. Calpains – Calcium-dependent cysteine proteases and their bioinformatic and biomedical atractivity
1. sekce Neobvyklé nukleové kyseliny a jejich role v biomedicině	8:50	doc. MUDr. Mgr. Marek Mráz, Ph.D. Nekódující RNA v biologii maligních B lymfocytů
	9:15	Mgr. Marek Večeřa Dlouhé nekódující RNA jako potenciální klinické biomarkery a terapeutické cíle solidních nádorů
	9:35	Mgr. František Siegl PIWI-interagující RNA; biologie, využití v diagnostice a kontroverze
doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.		
Babákova přednáška	10:00	prof. RNDr. Ladislav Dušek, PhD Úžasných 100 let cesty matematické biologie
Přestávka	10:40	poster session
Přednáška sponzora	11:00	GENETICA
		doc. Mgr. Jiří Šána, Ph.D. Využití QIAseq miRNA Library Kitu pro analýzu krátkých RNA u nádorů mozku pomocí sekvenování nové generace
		Ing. Mariana Šatrová CLC Genomic Workbench
2. sekce Studentská soutěžní sekce Doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D. Doc. RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D. .	11:30	Mgr. Monika Vlachová Odlišnosti v expresi mikroRNA u pacientů s monoklonálními gamapatiemi
	11:45	Mgr. Bc. Karolína Smolková Validation of a novel reporter system for the identification of eIF4F inhibitors using high-throughput screening
	12:00	MUDr. Volodymyr Porokh Orientace prvního mitotického dělení jako prediktor genetické (in)stability během preimplantačního vývoje lidského embrya
	12:15	Bc. Lenka Krejčí Role stresu endoplazmatického retikula v imunoeditaci u HER2+ karcinomu prsu
	12:30	Mgr. Laura Ondrišová Transkripční faktor FoxO1 v adaptaci chronické lymfocytární leukémie na cílenou léčbu
	12:45	Mgr. Matěj Jasík Development of radioresistant glioblastoma models for the discovery of clinically actionable therapeutic targets.



8. 9. 2022

PROGRAM

Přednáška sponzora	12:45	ACELLA	
		Dagmar Bezděková	Spatial omics and multiplexed imaging to explore new insights in cancer biology
Oběd	13:15	poster session	
3. sekce Modelové organismy I Mgr. Jiří Kohoutek, Ph.D.	14:00	Mgr. Petr Vodička, Ph.D.	Kvantitativní proteomika diferenciacie nervových kmenových buněk
	14:15	Mgr. Jakub Pospíšil, Ph.D.	Co nabízí současná světelná mikroskopie biologům?
	14:30	Mgr. Jarmila Navrátilová, Ph.D.	Prostorová distribuce a biologický efekt inhibitoru kinazy Akt v 3D modelech nádoru stanovený pomocí poloautomatické koregistrace obrazu MALDI MSI a imunofluorescence
	14:45	Mgr. Michaela Kavková	Metoda rentgenové počítačové mikro tomografie a její využití v dentálním výzkumu
4. sekce Modelové organismy II doc. RNDr. Petr Beneš, Ph.D.	15:00	Mgr. Stjepan Uldrijan, CSc.	Nové poznatky v oblasti regulace signální dráhy ERK v maligním melanomu
	15:15	Ing. Stanislava Martínková, Ph.D.	In vitro kultivace a testování nádorů pankreatu jako cesta k personalizované léčbě
	15:30	Mgr. Jiří Pacherník, Ph.D.	Proliferace kardiomyocytů in vitro – úloha duálně specifické fosfatázy 6
	15:45	Mgr. Sandra Thalerová	In vitro studium trombolýzy
přestávka	16:00	poster session	
5. sekce Bioinformatika a biomedicína RNDr. Jiří Jarkovský, Ph.D.	16:30	RNDr. Jiří Jarkovský, Ph.D.	Data NZIS jako příležitost pro aplikaci přístupů umělé inteligence
	16:45	Mgr. Lukáš Pečinka	Využití metod strojového učení a hmotnostní spektrometrie pro klinické aplikace v nádorové biologii
	17:00	doc. RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.	Tkáňové inženýrství, biostatistika a strojové učení
	17:15	Vyhlášení vítěze nejlepší studentské přednášky a nejlepšího posteru	
Ukončení konference	17:30		



ČESKO-SLOVENSKÁ
BIOLOGICKÁ SPOLEČNOST, z. s.



PLATINOVÝ SPONZOR



ZLATÝ SPONZOR



STŘÍBRNÝ SPONZOR



PARTNEŘI KONFERENCE



POD ZÁŠTITOU

prof. MUDr. Martina Bareše, Ph. D., rektora Masarykovy univerzity
prof. Mgr. Tomáše Kašparovského, Ph. D., děkana Přírodovědecké fakulty MU
prof. MUDr. Martina Repka, Ph. D., děkana Lékařské fakulty MU
JUDr. Markéty Vaňkové, primátorky statutárního města Brna

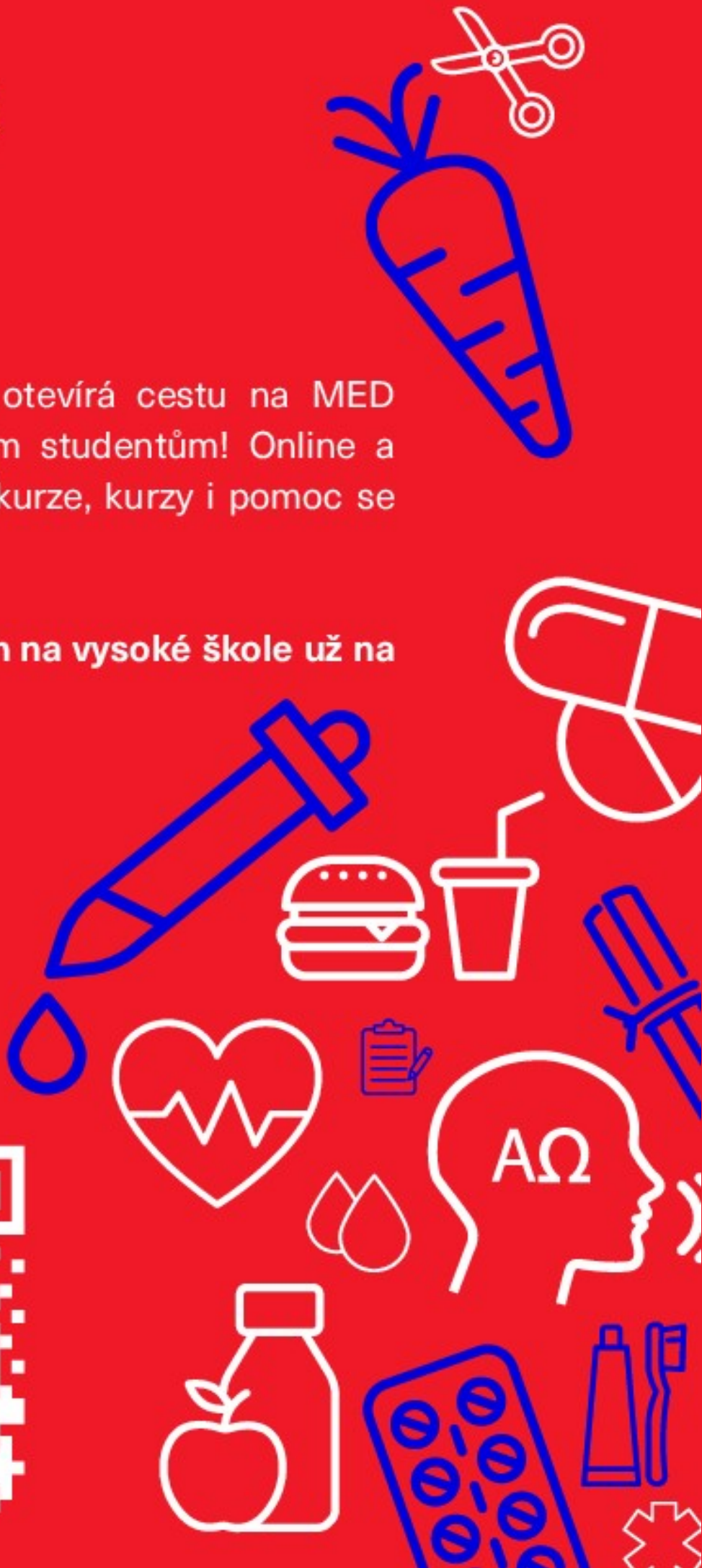
MUNI
MED

Juniorská
akademie

Juniorská akademie otevírá cestu na MED MUNI středoškolským studentům! Online a offline přednášky, exkurze, kurzy i pomoc se SOČ.

Vyzkoušej si studium na vysoké škole už na střední!

Více na webu



KLINICKÝ EMBRYOLOG

MUNI
LÉKAŘSKÁ
FAKULTA

- Láká Vás studium ve zcela novém studijním programu?
- Chcete pomáhat párům s poruchami plodnosti na cestě k vytouženému dítěti?
- Zajímá Vás tajemný mikrosvět, pozorovatelný jen pod mikroskopem?
- Chcete blíže proniknout do podstaty a zákonitostí vzniku a vývoje lidského zárodku?
- Chcete porozumět tomu, jak geny ovlivňují lidské zdraví?
- Bavila by Vás zodpovědná práce zdravotnického pracovníka?



Studium integruje předměty z oblasti všeobecného lékařství, buněčné, molekulární a vývojové biologie, klinické genetiky a embryologie, společenskovedných disciplín a odborné praxe.

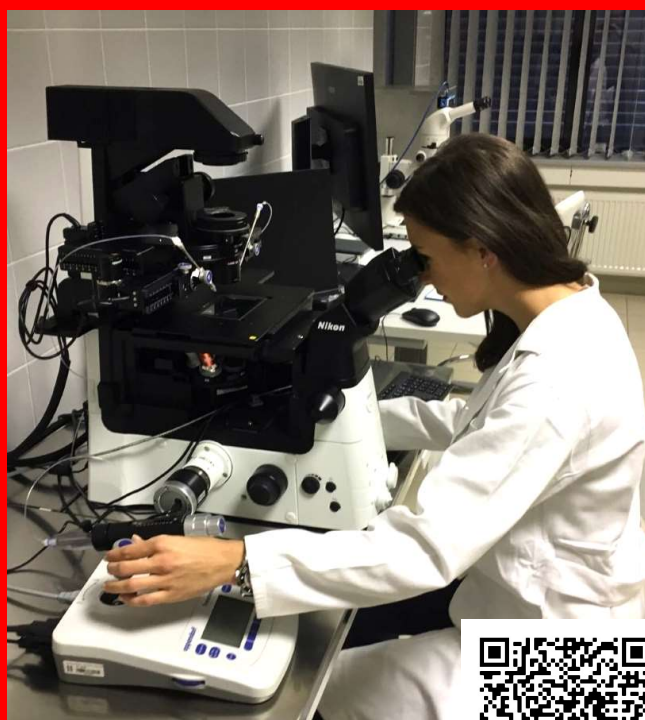
V prvních pěti semestrech převažují teoretické a preklinické předměty v obdobné skladbě a rozsahu, jako při studiu všeobecného lékařství s rozšířenou výukou embryologie a genetiky a s praktickým nácvikem obecné laboratorní práce. V dalších pěti semestrech proniknete hluboko do specifických disciplín klinické embryologie, správné laboratorní praxe a základů reprodukční medicíny. Zároveň získáte znalosti v oblastech managementu kvality, první pomoci, zdravotnické etiky a práva.

Těšit se můžete také na prakticky zaměřenou výuku, kde si v unikátních specializovaných laboratořích dokonale natrénujete všechny úkony nezbytné pro práci s vajíčky, spermii a embryi a naučíte se hodnotit a interpretovat průběh vývojových procesů a výsledky analýz. Kromě tréninku v laboratořích získáte znalosti a dovednosti během odborných praxí ve fakultních nemocnicích a privátních centrech asistované reprodukce.

Absolvováním nově akreditovaného programu „Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví – Embryolog“ se v souladu s platnou legislativou stanete **Odborným pracovníkem v laboratorních metodách a přípravě léčivých přípravků** (jedná se o regulované zdravotnické povolání).

Po absolvování specializačního studia a po složení atestační zkoušky se stanete **klinickými embryology**.

Budete mít znalosti a dovednosti na úrovni **mezinárodního certifikátu** Clinical Embryologist (European Society of Human Reproduction and Embryology - ESHRE) a po ukončení výše zmíněného specializačního studia úroveň Senior Clinical Embryologist (ESHRE).



www.med.muni.cz





BABÁKOVA MEDAILE



*Prof. MUDr. Edward Babák
(1873-1926)*

V roce 1921 prof. Babák spolu s prof. Františkem K. Studničkou a dalšími předními vědeckými a akademickými osobnostmi založil v Brně Biologickou společnost, jako první odbornou platformu pro biologické vědy v českých zemích.

V roce 1924 má Biologická společnost již celonárodní působnost, což se odráží i v jejím názvu - je přejmenována na Československou biologickou společnost. I po sto letech a přes existenci dvou samostatných států je Česko-slovenská biologická společnost stále aktivní a sdružuje české i slovenské biology plně v duchu tradic profesorů Babáka a Studničky.

Babáková medaile je nejvýznamnější ocenění Česko-Slovenské biologické společnosti, z. s. udělované osobnostem biologického výzkumu za zásadní přínos k rozvoji biologických věd. Medaile je pojmenována po významném českém fyziologu a lékaři, **prof. MUDr. Edwardu Babákovi** (1873-1926).

Prof. Babák stál u zrodu Vysoké školy zvěrolékařské jako její první rektor, poté se stal děkanem Lékařské fakulty Masarykovy univerzity následně byl jmenován i jejím rektorem. Stál tak u zrodu hned dvou brněnských univerzit.





Prof. RNDr. LADISLAV DUŠEK, PhD.

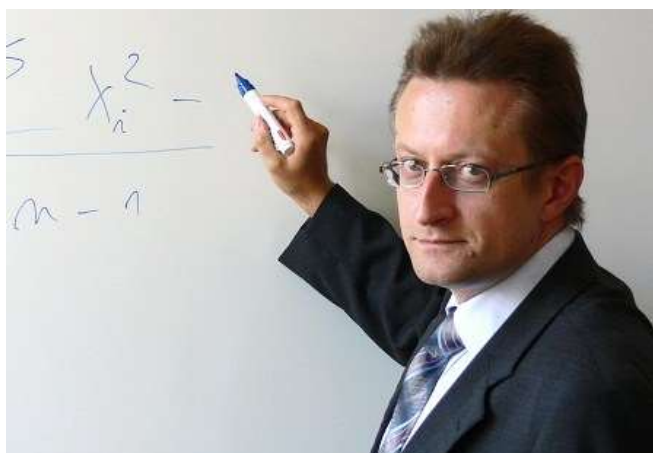
Prof. RNDr. **Ladislav Dušek**, Ph.D., je profesorem na Lékařské a Přírodovědecké fakultě Masarykovy university a vedoucím Institutu biostatistiky a analýz LF MU. Od roku 2014 působí jako ředitel Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR.

Mezi jeho odborné zájmy patří zejména analýza klinických a biologických dat a zdravotnická informatika.



V současnosti se jeho vědecká práce soustředí na vybudování Národního zdravotnického informačního systému a na vývoj moderní datové a informační základny české onkologie. V oblasti numerické a prediktivní onkologie působí v řadě mezinárodních a národních odborných projektů a iniciativ.

Podle databáze Web of Science je autorem či spoluautorem 348 původních vědeckých prací s více než 7 000 citacemi (H index 46). Publikační činnost dále zahrnuje 14 monografií a monografických vydání odborných časopisů a 21 internetových portálů s autorizovaným SW. Prof. Dušek působí v řadě vědeckých a oborových rad odborných institucí a vysokých škol, je školitelem PhD v oborech lékařská biologie, onkologie a biomedicínská informatika. Celkem vedl 12 úspěšně obhájených PhD prací.



Profesor Dušek zásadně přispěl k rozvoji biostatistiky a matematické biologie a jejich aplikaci v klinické medicíně, zejména v onkologii. Mimo to, je prof. Dušek také nepřehlédnutelnou pedagogickou osobností. Jeho přednášky v kurzech biostatistiky se staly pro generace studentů nezapomenutelným zážitkem.



STUDNIČKOVA CENA ZA NEJLEPŠÍ STUDENTSKÝ PŘÍSPĚVEK

Nejlepší studentská přednáška a poster Biologických dnů získají cenu pojmenovanou po profesoru Františku K. Studničkovi, jejíž součástí je i finanční odměna.

prof. MUDr. František K. Studnička, byl světově uznávaný český biolog a lékař první poloviny 20. století. Byl zakladatelem Histologicko-embryologického ústavu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a podílel se i na koncepci a vedení jejího Ústavu pro všeobecnou biologii. Při tom všem stačil vyučovat histologii a embryologii i nějaký čas na Vysoké škole zvěrolékařské a velmi aktivně participovat na vědeckém dění v Brně jako neúnavný přednášející a diskutér, ale i spolkový činovník v Přírodovědeckém klubu nebo v Moravské přírodovědecké společnosti. Společně s fyziologem prof. MUDr. E. Babákem založil Československou biologickou společnost.



*Prof. MUDr. František K. Studnička
(1877-1955)*

Svoji první vědeckou práci uveřejnil ještě jako gymnaziální student ve Verhandl. d. Zool.-botan. Gesellschaft Wien (1888). Spolu se studiem na lékařské fakultě České univerzity v Praze se s nadšením ponořuje do studia zoologie, kde mu byl učitelem významný český anatom a zoolog prof. F. Vejdovský. Ještě jako medik 5. ročníku se prezentoval na sjezdu Společnosti německých anatomů (Anatomische Gesellschaft) ve Strasbourgu (1894). Později byla hlavním vědeckým zájmem prof. Studničky „exoplasmová terorie“ – současnou terminologií se zabýval aktivní rolí extracelulární matrix v biologii buněk a tkání. Studničkova bibliografie zahrnuje ale také studie ze srovnávací anatomie a embryologie, cytologie a histogeneze tkání. Významně také přispěl k rozvoji mikroskopické techniky, jako autor vůbec první metodické příručky praktické mikroskopie. Zásadně se zasloužil o uznání priority objevů J. E. Purkyně v mezinárodní vědecké komunitě. Prof. Studnička byl dvakrát nominovaný na Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství.



ČESKO-SLOVENSKÁ
BIOLOGICKÁ SPOLEČNOST, z. s.



PŘEDNÁŠKY



ÚVODNÍ PŘEDNÁŠKA

KALPAÍNY – CYSTEÍNOVÉ PROTEÁZY ZÁVISLÉ OD VÁPNIKA A ICH BIOINFORMATICKÁ A BIOMEDICÍNSKA PRÍŤAŽLIVOSŤ

Juraj Krajčovič¹, Dominika Vešelényiová¹

¹Ústav biológie a biotechnológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Trnava, Slovenská republika, juraj.krajcovic@ucm.sk

Kalpaíny (EC 3.4.22.17) sú enzýmy, ktoré patria do superrodiny cysteínových proteáz závislých od vápnika. Na rozdiel od iných proteáz, nie je funkciou kalpaínov degradácia ich substrátov, ale ich špecifické štiepenie. Kalpaíny sú štruktúrne rozmanité, no zdieľajú univerzálny a špecifický motív - katalytickú doménu CysPc - bohatú na cysteín, ktorá je vysoko evolučne konzervovaná. Klasické kalpaíny sú heterodiméry, atypické kalpaíny sú monoméry. Kalpaíny sú primárne cytosolické, nelyzozomálne proteíny, ktoré boli identifikované u širokého spektra organizmov, od baktérií až po človeka. Tieto proteázy sú zapojené do mnohých bunkových procesov a ich nesprávne fungovanie vedie k vzniku mnohých patologických procesov nazývaných aj kalpaínopatie, vrátane diabetu typu 2, svalovej dystrofie, neurodegeneratívnych a kardiovaskulárnych ochorení, ale aj rakoviny. Z tohto dôvodu sú kalpaíny predmetom stále vzrastajúceho biomedicínskeho záujmu a ich inhibítory predstavujú sľubnú budúcnosť ako potenciálne terapeutické nástroje. Na druhej strane génová terapia by mohla byť odpoveďou na nedostatočnú aktivitu kalpaínov. Bioinformatická identifikácia nových kalpaínov, resp. ich homológov u druhov organizmov, ktoré sú menej zložité, môže priniesť nové informácie o ich funkcii a byť užitočná pre ich biomedicínske a biotechnologické aplikácie. Na in-silico identifikáciu kalpaínov v jednobunkových eukaryotických organizmoch z taxónu Euglenozoa sme pripravili skrytý Markovov model (HMM), ktorý sme potom použili na hľadanie proteínov podobných kalpaínom v transkriptómoch týchto prvokov. Sekvencie, ktoré boli nájdené pomocou HMM, sme ďalej analyzovali, aby sme určili ich štruktúru: konzervované domény a katalytické zvyšky, bunkovú lokalizáciu, 3D štruktúru, ako aj na určenie ich homológie s kalpaínmi z iných organizmov. Tiež sme sa bližšie pozreli na pôvod a evolúciu kalpaínov, a to aj medzi prokaryotickými organizmami, najmä vybranými cyanobaktériami a archeónmi vrátane archaického taxónu Azgard. U väčšiny cicavcov je exprimovaných 16 génov kódujúcich kalpaíny, u ľudí 15, no u rastlín iba jeden. Avšak u prvokov z taxónu Euglenozoa (napr. z rodov *Leishmania* a *Euglena*) bolo identifikovaných viac ako 20 kalpaínov

1. Sekce: Neobvyklé nukleové kyseliny a jejich role v biomedicině

Nekódující RNA v biologii maligních B lymfocytů

Pedro Zeni¹, Daniel Filip^{1,2}, Mirek Boudný^{1,2}, Michaela Medková^{1,2}, Libuše Jánská¹, Androniki Michaelou¹, Laura Ondrišová^{1,2}, Eva Vojáčková^{1,2}, Josef Večeřa^{1,2}, Kryštof Hlaváč^{1,2}, Lenka Košťálová^{1,2}, Petra Pavelková¹, Erika Bajusová¹, Peter Kaczl, Šárka Pospíšilová², Michael Doubek², Jiří Mayer², Václav Šeda^{1,2}, **Marek Mráz^{1,2*}**

✉ marek.mraz@email.cz

¹ Molekulární medicína, CEITEC Masarykova univerzita, Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno a LF MU, Brno

Signalizace prostřednictvím B buněčného receptoru (BCR) je zásadní pro zrání, přežití a proliferaci normálních i maligních B lymfocytů. Význam BCR signalizace je zdůrazněn vysokou klinickou účinností inhibitorů zacílených na kinázy BTK a PI3K asociované s BCR, zejména u chronické lymfocytární leukémie (CLL). Rozdíly v míře BCR signalizace přispívají k variabilní prognóze u CLL a dalších „maturovaných“ B malignit a bylo prokázáno, že krátké nekódující RNA jako miR-150, miR-155, miR-34a nebo miR-17-92 hrají v tomto procesu důležitou roli. Nicméně zůstává nejasné, zda dlouhé nekódující RNA (lncRNA) také regulují BCR signalizaci a související interakce v mikroprostředí. Přednáška se zaměří na roli nekódujících RNA (ncRNA) v regulaci BCR signalizace a dalších interakcí v mikroprostředí maligních B buněk a také na související změny během terapie cílenými léčivy. Přednáška bude zahrnovat poznatky o ncRNA působících jako synchronizátory BCR signalizace a interakcí B-T buněk.

Podpořeno Evropskou radou pro výzkum (ERC) pod H2020 - 8. rámcovým programem EU pro výzkum a inovace (grantová dohoda č. 802644); Národním ústavem pro výzkum rakoviny (Program EXCELES č. LX22NPO5102) - Financováno Evropskou unií - Next Generation EU). Podpořeno ministerstvem zdravotnictví ČR (grant NU20-03-00292, NU22-03-00117 a NU23-08-00448). MH CZ-DRO (FNBr,65269705) a MUNI/A/1224/2022.

1. Sekce: Neobvyklé nukleové kyseliny a jejich role v biomedicině

Dlouhé nekódující RNA jako potenciální klinické biomarkery a terapeutické cíle u solidních nádorů

Marek Večeřa¹, Radim Lipina², Martin Smrčka³, Radim Jančálek⁴, Markéta Hermanová⁵, Leoš Křen⁶, Jiří Šána^{1,6,7}, Ondřej Slabý^{1,8}

¹Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova univerzita, Brno,

²Neurochirurgická klinika, Fakultní nemocnice Ostrava, Ostrava,

³Neurochirurgická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Brno,

⁴Neurochirurgická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno,

⁵I. ústav patologie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno,

⁶Ústav patologie, Fakultní nemocnice Brno, Brno,

⁷Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno,

⁸Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno.

✉ marek.vecera@ceitec.muni.cz

Protože největší překážky léčby nádorových onemocnění, jako je rezistence na léčbu a časná recidiva, nebyly dosud překonány, hledání nových klinických biomarkerů a terapeutických cílů v těchto agresivních onemocněních neustále pokračuje. Velice slibnou skupinou jsou tzv. nekódující RNA – transkripty značně různé délky bez schopnosti kódování proteinů. Ačkoli se dříve myslelo, že jde o transkripční šum bez zjevné funkce, bylo později potvrzeno, že plní strukturní a regulační roli jak v normální buněčné fyziologii, tak ve vývoji a progresi onemocnění včetně nádorů. Nekódující RNA se dělí na dva odlišné podtypy dle délky transkriptu – krátké a dlouhé nekódující RNA (lncRNA; delší než 200 nukleotidů). LncRNA jsou charakterizovány přítomností v buněčném jádře a cytoplazmě, tkáňově specifickou expresí, nižší mírou mezidruhové konzervace a podílejí se na regulaci genové exprese na všech úrovních. Naše dosavadní studie ukazují, že lncRNA jsou dysregulované v solidních nádorech a mohly by potenciálně sloužit jako klinické biomarkery glioblastomu (GBM), nádoru mozku s původem v astrocytech, který se vyznačuje agresivním difuzním růstem a časným relapsem. Náplní přednášky bude shrnutí nejnovějších poznatků o lncRNA v kontextu solidních nádorových onemocnění a dosavadních výsledků naší studie týkající se klinické využitelnosti a role lncRNA v GBM. Výzkum byl podpořen projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (program EXCELES, ID: LX22NPO5102 – financováno Evropskou unií – Next Generation EU).

Tato práce byla podpořena GA20-18889S, MZE-RO0518, BBMRI-CZ LM2018125, a CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000495.

PIWI-interagující RNA; biologie, využití v diagnostice a kontroverze

František Siegl¹, Jiří Šána^{1,2,3}

¹Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova univerzita, Kamenice 753/5, 625 00 Brno

²Klinika komplexní onkologické péče, MOÚ, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno

³Ústav patologie, Fakultní nemocnice Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno

✉ siegl.franta1@gmail.com

PIWI-interagující RNA (piRNA) jsou krátké nekódující RNA, jejichž hlavní funkcí je udržování stability genomu skrze inhibici mobilizace transpozibilních elementů u zárodečných buněk, napříč řadou organismů. piRNA vykonávají svou funkci v rámci piRISC komplexu, kde interagují se specifickými PIWI proteiny, které navádějí na komplementární sekvence RNA. V případě interakce s přepisujícími se transpozonálními sekvencemi dochází k zastavení transkripce a navození heterochromatinizace cíleného lokusu. V případě cílení již transkribované transpozonální RNA dochází k jejímu štěpení a vzniku nových piRNA molekul. V somatických buňkách byla řada piRNA molekul popsána jako zapojená do regulace genové exprese na posttranskripční úrovni, stabilizace mRNA či aktivaci translace. Jejich přesná role v těchto buňkách však stále zůstává neobjasněná. piRNA byly také popsány jako významně dysregulované u řady onemocnění a jsou považovány za potenciální biomarkery, schopné časné a přesné diagnózy onemocnění, stanovení jeho prognózy či predikce léčebné odpovědi. Navzdory řadě slibných studií zabývajících se piRNA molekulami ve vztahu k léčbě a diagnostice onemocnění, jejich budoucí využití je limitováno především nízkou replikovatelností výsledků, špatným stavem piRNA databází, nevhodným experimentálním designem či malým souborem pacientů. Pro naprostou většinu těchto molekul navíc chybí validační experimenty, potvrzující jejich správnou anotaci jako piRNA. V současném stavu, piRNA databáze z části fungují jako odkládiště pro řadu molekul, které nelze zařadit do jiných, lépe specifikovaných, skupin krátkých nekódujících RNA. Budoucí výzkum na poli piRNA biologie tak stojí před několika výzvami, jako jsou identifikace a popis přesných rolí těchto molekul v rámci biologie somatických buněk, kompletní popis jejich biogeneze včetně transkripce specifických klastrů a v neposlední řadě identifikace zda-li molekuly popsané jako piRNA, do této skupiny skutečně patří a jaký biologický kontext může jejich dysregulace mít u patologických stavů.

Tato studie je podpořena z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NV19-03-00501. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Odlišnosti v expresi mikroRNA u pacientů s monoklonálními gamapatiemi

Monika Vlachová¹, Jana Gregorová¹, Tereza Růžičková¹, Klára Baďurová¹, Monika Brychtová¹, Jana Kotašková², Lenka Radová³, Jiří Jarkovský⁴, Martin Štork⁵, Luděk Pour⁵, Bezděková Renata⁶, Martina Almáši⁶, Říhová L.⁶, Sabina Ševčíková^{1,6}

¹ Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, ČR

² Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno a Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno ČR

³ Ceitec, Masarykova univerzita, Brno, ČR

⁴ Institut biostatistiky a analýz, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, ČR

⁵ Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno, ČR

⁶ Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Brno, ČR

✉ monikavlachova@gmail.com

Monoklonální gamapatie jsou skupinou onemocnění charakteristických zvýšenou produkcí monoklonálního imunoglobulinu, k čemuž dochází v důsledku klonální expanze maligně transformovaných plazmatických buněk. Onemocnění z této skupiny zahrnují například mnohočetný myelom (MM), extramedulární onemocnění (EMD) či plazmocelulární leukémii (PCL). Řada těchto onemocnění zůstává bohužel jen obtížně léčitelná. V případě MM plazmatické buňky infiltrují kostní dřeň, u EMD naproti tomu dochází ke ztrátě jejich závislosti na kostní dřeni a tvorbě lézí v měkkých tkáních. Plazmocelulární leukémie je pak charakteristická přítomností plazmatických buněk v periferní krvi.

MikroRNA (miRNA), jednořetězcové nekódující RNA o délce cca 20-25 nt, se podílejí na regulaci genové exprese, čímž ovlivňují mnoho biologických procesů, a to jak fyziologických, tak i patologických. V případě nádorových onemocnění tyto procesy mohou být součástí progresu onemocnění, relapsu či rozvíjející se rezistence. Molekuly miRNA jsou mimo jiné složkou exozomů, tedy extracelulárních vezikulů o velikosti 30-100 nm, jejichž přítomnost byla prokázána v řadě tkání i tělních tekutin (periferní krev, mateřské mléko, moč etc.).

Cílem naší práce bylo identifikovat odlišně exprimované miRNA získané z exozomů plazmy kostní dřene od pacientů s MM, EMD a PCL, k čemuž bylo využito sekvenování nové generace na platformě Illumina. Kandidátní miRNA byly validovány s využitím RT-qPCR, jejich analýza zahrnovala také porovnání s klinickými daty. Výsledky naznačují, že miRNA by v budoucnu mohly být využity jako minimálně invazivní diagnostické či prognostické biomarkery.

Podpora: Výzkum byl podpořen grantem AZV ČR NU21-03-00076 a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

Validation of a novel reporter system for the identification of eIF4F inhibitors using high-throughput screening

Karolina Smolkova^{1,2}, Barbora Valcikova^{1,2}, Michaela Lisova³, Petr Bartunek³, Stjepan Uldrijan^{1,2}

¹Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

²International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital, Brno, Czech Republic

³CZ-OPENSREEN, Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

✉ 451389@mail.muni.cz

The eIF4F translation initiation complex is a promising therapeutic target in cancer cells. However, the spectrum of available eIF4F inhibitors is limited, and none is in clinical use. One of the reasons could lie in the relative complexity of techniques used to identify new inhibitors of eIF4F-mediated translation. Here we report a unique cell-based reporter system suitable for the high-throughput identification of novel eIF4F inhibitors in small molecule compound libraries. We identified several eIF4F-regulated pathways controlling cancer cell proliferation in a proteomic screen. Using a promoter of one of the eIF4F-controlled genes, we built a reporter system, responding to eIF4F inhibition by changes in luciferase expression in a dose-dependent manner. The system was then validated in a panel of cell lines, determining the impact of eIF4F inhibition on luciferase activity. We assessed the performance of the luciferase-based reporter system and confirmed its high sensitivity to eIF4F inhibition. The system validation in 384- and 1536-well format brought excellent results, with a stable dose-dependent response to Rocaglamide A, known to block eIF4F by trapping its eIF4A subunit. These analyses verified the system's applicability for HTS of bioactive compounds. The current state-of-the-art eIF4F inhibitor screening assays, such as the proximity ligation (PLA), have several limitations in the high-throughput mode. Our novel eIF4F activity reporter system is not only specific and suitable for HTS; it is also less cost-intensive, significantly faster, and does not require expensive fluorescent microscopy/image analysis equipment.

This work was funded by the European Regional Development Fund -Project ENOCH (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000868), the European Union -Next Generation EU -the project National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, Project No. LX22NPO5102), Masaryk University (MUNI/11/ACC/2/2022), Brno city municipality (Brno Ph.D. Talent Scholarship), RVO: 68378050-KAV-NPUI and by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (project number LM2023052).

Orientace prvního mitotického dělení jako prediktor genetické (in)stability během preimplantačního vývoje lidského embrya

Volodymyr Porokh¹, Drahomíra Kyjovská², Martina Martonová², Tereza Klenková², Pavel Otevřel², Soňa Kloudová^{1,2}, Zuzana Holubcová^{1,2}

¹Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita

²Reprofit International, Klinika reprodukční medicíny

✉ Volodymyr.porokh@gmail.com

První mitotické dělení oplozeného vajíčka představuje zásadní milník během vývoje nového jedince. U mnoha živočišných druhů prostorová organizace prvního mitotického dělení je precizně regulována, jelikož následná segregace chromozomů a cytoplazmatických faktorů ovlivňuje vývojové trajektorie vzniklých buněk. Lidská embrya často vykazují abnormální průběh mitotického dělení, které ve mnoha případech vede k zástavě dalšího vývoje. Mechanismus abnormální segregace chromozomů během první embryonální mitózy však zůstává nejasný.

V prezentované studii jsme se zaměřili na analýzu prostorové organizace prvního mitotického dělení v 300 lidských zygotách, jejichž vývoj byl zakončen porodem zdravého dítěte. Analýza klinických retrospektivních záznamů získaných pomocí časosběrné mikroskopie preimplantačních embryí ukázala, že první embryonální mitóza v lidských embryích probíhá typicky v pravém úhlu ke konečné poloze prvojader. Odchylka od této optimální konfigurace byla asociována se sníženou schopností kondenzovat obsah prvojader na jejich rozhraní a jako následek vedla k multinukleaci ve dvoubuněčném stadiu. Dále, výskyt alternativní prostorové organizace první embryonální mitózy vykazoval silnou pozitivní korelaci s věkem ženy. Naše data tak ukazují, že orientace prvního mitotického dělení u lidí předurčuje přesnost segregace chromozomů po oplození a přispívá k nárůstu aneuploidie spojené s věkem.

Tato studie vznikla za podpory Masarykovy Univerzity (MUNI/IGA/1127/2021; MUNI/A/1301/2022). Přístup k anonymizovaným klinickým záznamům byl poskytnut na základě smlouvy o spolupráci s akreditovaným klinickým pracovištěm. Projekt byl schválen etickou komisí každé instituce.

2. sekce: Studentská soutěžní sekce

Role stresu endoplazmatického retikula v imunoeditaci u HER2+ karcinomu prsu

Lenka Krejčí¹, Barbora Vavrušáková^a, Lukáš Morán², Marek Svoboda¹

¹Výzkumné centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

²Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

✉ lkrejci45@gmail.com

HER2+ karcinom prsu (BC) představuje jeden z nejagresivnějších subtypů BC. Jsou s ním asociovány časté relapsy, vysoká incidence metastáz a rozvoj rezistence vůči léčbě. BC se řadí mezi imunogenní typy nádorů. Interakce imunitních (IC) a nádorových buněk (CC) probíhá v nádorovém mikroprostředí (TME), charakteristickém nízkým pH, hypoxií a dalšími faktory přispívajícími k rozvoji stresu endoplazmatického retikula (ERS). Hlavní buněčnou odpovědí je aktivace signálních drah „reakce nesbalených proteinů“ (UPR), které u CC vedou ke snížené expresi MHC1 molekul, zvýšené rezistenci k terapii a hypoxii, zatímco u IC k expresi protumorigenních cytokinů, snížené antigenní prezentaci, a indukci apoptózy. U BC se zdá, že se ERS a UPR podílí na většině hlavních nádorových rysů, a protože je UPR ve zdravé tkáni převážně inaktivní, mohly by molekuly UPR signalizace představovat vhodné kandidáty pro cílenou terapii BC. Předpokládáme, že IC jsou v TME vystaveny působení ERS, což brání efektivní imunitní reakci. Zmírnění ERS by mohlo představovat vhodnou cestu k podpoře protinádorové imunity. Cílem práce je studium role ERS v interakci IC a HER2+ buněk BC (BCC), v efektivitě cílené anti-HER2 terapie v in vitro preklinických modelech, a v odpovědi na rezistenci na terapii v klinických vzorcích HER2+ BC. U ko-kultur BCC s IC modulujeme ERS chemickým chaperonem TUDCA a inhibítorem N-glykosylace Tunicamycinem. Analyzujeme buněčnou viabilitu, genovou expresi a hladiny proteinů ve 2D i 3D podmínkách. Výsledky korelujeme s patientskými vzorky HER2+ BC, kde porovnáваме expresní profily u kohort: (1) relaps do 1 roku od ukončení léčby, (2) dlouhodobá remise. Utlumení ERS vedlo u IC k poklesu exprese markerů ERS, především HSPA5/BiP a DDIT3/CHOP. Společně s dalšími výsledky to poukazuje na vyšší efektivitu imunitní reakce po snížení ERS. U klinických vzorků pozorujeme pozitivní korelaci mezi zvýšenou infiltrací IC, hladinou stresových markerů v BCC a pozitivním výsledkem terapie. Další výzkum může přispět ke zlepšení možností současné terapie.

Transkripční faktor FoxO1 v adaptaci chronické lymfocytární leukémie na cílenou léčbu

Laura Ondrišová^{1,2}, Václav Šeda^{1,2}, Eva Hoferková^{1,2}, Lenka Košťálová^{1,2}, Kryštof Hlaváč^{1,2}, Petra Pavelková^{1,3}, Gabriela Mladonická Pavlasová^{1,2}, Pedro Faria Zeni^{1,3}, Karla Plevová², Filip Daniel^{1,2}, Michael Doubek², Jiří Mayer², Marek Mráz,^{1,2}

¹ Molekulární medicína, CEITEC MU, Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno a LF MU, Brno

³ Přírodovědecká fakulta MU, Brno

✉ laura.ondrisova@gmail.com

Inhibitory signální dráhy B-buněčného receptoru (tzv. BCR inhibitory) zaznamenaly revoluci v léčbě chronické lymfocytární leukémie (CLL). Mezi mechanismy jejich účinku patří zablokování důležitých interakcí leukemických buněk v mikroprostředí lymfatických orgánů vedoucí k vyplavení leukemických buněk do periferní krve, tj. lymfocytóze, kde překvapivě dlouho přežívají. Mechanismus této brzké adaptace na BCR inhibitory zatím není jasný.

Již dříve jsme ukázali, že transkripční faktor FoxO1 přispívá k přežívání buněk v periferní krvi CLL pacientů a zároveň se podílí na migraci CLL buněk zpátky do mikroprostředí (Šeda *et al.*, 2021). Zde ukazujeme, že hladiny FoxO1 jsou zvýšené po léčbě ibrutinibem tj. BCR inhibítorem cílícím kinázu BTK. Analýza vazby FoxO1 na lidský genom metodou CUT&RUN odhalila jeho vyšší aktivitu v buněčné linii MEC1, která byla vystavena ibrutinibu *in vitro*. Studium signálních drah regulovaných FoxO1 a následná analýza párových primárních vzorků od pacientů léčených ibrutinibem odhalila, že zvýšená aktivita FoxO1 vede k navýšení hladin proteinu Rictor, který následně v mTORC2 komplexu aktivuje Akt kinázu, molekulu důležitou pro přežívání CLL buněk. Zvýšené hladiny aktivovaného Akt asociovaly s vyšší a delší lymfocytózou indukovanou ibrutinibem. Inhibice FoxO1 vedla ke snížení viability a proliferace CLL buněk, a tento efekt byl potencován kombinací FoxO1 inhibítoru s ibrutinibem.

Naše experimenty poprvé popsaly negenetický mechanismus adaptace na cílenou léčbu BCR inhibitory u CLL, který zahrnuje FoxO1-Rictor-Akt dráhu. Dále jsme ukázali, že FoxO1 může být potenciálním novým terapeutickým cílem u CLL, a to samostatně nebo v kombinaci s BCR inhibitory.

Podpořeno Evropskou radou pro výzkum (ERC) pod H2020 - 8. rámcovým programem EU pro výzkum a inovace (grantová dohoda č. 802644); Národním ústavem pro výzkum rakoviny (Program EXCELES č. LX22NPO5102) - Financováno Evropskou unií - Next Generation EU. Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU22-03-00117, NU20-03-00292 a NU23-08-00448. Podpořeno MH CZ-DRO (FNBr,65269705) a MUNI/A/1224/2022.

Development of radioresistant glioblastoma models for the discovery of clinically actionable therapeutic targets

Matej Jasík¹, Kamila Součková¹, Martina Vodinská¹, Jiří Šána^{1,2}, Ondřej Slabý^{1,2,3}

¹Central European Institute of Technology, Masaryk University

²Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University

³Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

✉ Jasik.matej@gmail.com

Glioblastoma, IDH-wildtype (GBM), is the most aggressive primary brain tumor among adults. It's marked by its significant resistance to radiation therapy and a limited array of treatment options. The need to create cell models that accurately replicate the radioresistant nature of GBM is vital for identifying new targets for therapy and improving patient outcomes. Our objective in this research was to establish and thoroughly characterize GBM cell models that mirror the radioresistant traits observed in clinical contexts. These models could serve to uncover the genes driving radioresistance. Presently, the M059J and M059K cell lines, both originating from a single patient, constitute the sole existing GBM radioresistance model accessible through major cell line repositories. The distinction in radiosensitivity between these lines is attributed to DNA-PK deficiency in M059J cells. However, this model represents an instance of treatment-independent radiosensitivity, not acquired radioresistance which is the topic of our study. Inspired by existing literature, we performed a comparative study using two distinct establishment methods with a focus on ensuring the clinical relevance of these models, achieved either through radiation dose per fraction or an administration regimen. Given that the cells *in vitro* do not survive 30 fractions of 2 Gy radiation over 5 weeks, which corresponds to the clinical treatment, we tailored our accordingly to closely simulate clinical treatment while allowing cells to survive and evolve radioresistant characteristics. Preliminary findings indicate that the dose-escalation protocol, commencing at 0.5 Gy with increments after each cycle up to 2 Gy/day, is superior in establishing radioresistant phenotype. This contrasts with the widely employed approach of a single 2 Gy dose per week as reported in the literature. Additionally, the dose-escalation protocol proved more time efficient and likely more clinically relevant due to the radiation delivery schedule fully mimicking the clinical setting in the last two weeks of the establishment process. Our investigation revealed unique patterns of radiation response among cell lines in terms of dose-dependent survival, apoptosis rates, and G2/M cell cycle arrest and escape within our radioresistant models. Our future course involves delving deeper into the driver genes behind these traits. We plan to conduct functional genomics CRISPR screening coupled with transcriptomic profiling and survival analysis of GBM patients, with the aim of identifying clinically actionable therapeutic targets.

Kvantitativní proteomika diferenciaci nervových kmenových buněk

Petr Vodička¹, Jakub Červenka¹, Rita Suchá¹, Jiřina Tylečková¹, Helena Kupcová Skalníková¹, Kateřina Vodičková Kepková¹, Ievgeniia Poliakh¹, Ivona Valeková², Lucie Pfeiferová³, Michal Kolář³, Michaela Vaškovičová⁴, Tereza Pánková¹, Martina Kubičková¹, Marián Hruška-Plochán⁵, Dáša Bohačiaková⁶, Kateřina Budková¹, Andrej Šušor⁷, Martin Maršala⁸, Jan Motlík², Hana Kovářová¹

¹Laboratoř aplikovaných proteomových analýz, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Liběchov.

²Laboratoř buněčné regenerace a plasticity, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Liběchov.

³Laboratoř genomiky a bioinformatiky, Ústav molekulární genetiky AV ČR, v.v.i., Praha

⁴Laboratoř integrity DNA, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Liběchov.

⁵Department of Quantitative Biomedicine, University of Zurich, Zürich, Switzerland.

⁶Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno.

⁷Laboratoř biochemie a molekulární biologie zárodečných buněk, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Liběchov.

⁸Neuroregeneration Laboratory, Sanford Consortium for Regenerative Medicine, Department of Anesthesiology, University of California, San Diego, USA.

✉ vodicka@iapg.cas.cz

Necílená/screeningová LC-MS/MS proteomika je klasickou metodou pro studium souboru proteinů přítomných v dané buněčné populaci či tkáni. Cílená proteomika, založená na sledování vybraných reakcí (selected reaction monitoring; SRM), oproti necíleným metodám nabízí vysokou citlivost, reprodučibilitu a přesnost kvantifikace menší skupiny předem vybraných proteinů. Výhody obou těchto přístupů se pak snaží kombinovat metody na datech nezávislé akvizice (data independent acquisition, DIA), jako je například metoda sekvenční akvizice všech teoretických fragmentových MS spekter (SWATH).

Na příkladu modelového systému *in vitro* diferenciaci lidských nervových kmenových buněk v komitované populaci neuronů a glií ukazujeme možnosti DIA/SWATH analýzy v charakterizaci proteomu buněčných populací. Lidské H9 NSC byly diferencovány *in vitro* po dobu 28 dnů buď pouze odebráním růstových faktorů EGF a bFGF z kultivačního média nebo odebráním EGF/bFGF a suplementací BDNF/GDNF. SWATH MS analýza odhalila změny v regulaci velkého množství proteinů zejména v časných stádiích diferenciaci, a větší rozdíly mezi spontánní a BDNF/GDNF podpořenou diferenciací v pozdějších stádiích. Mezi identifikované regulované signální dráhy patří zejména HIF-1, Wnt a VEGF signalizace. Dále jsme na stejném modelu vyvinuli a ověřili cílenou SRM metodu pro rychlou citlivou multiplexní analýzu vybraných biomarkerů jednotlivých buněčných typů (např. SOX2, MAP2, GFAP). Tato metoda může sloužit k rychlé charakterizaci populací kmenových buněk například při praktickém využití v regenerativní medicíně.

Tato práce byla podpořena projektem GAČR 22-24983S.

Co nabízí současná světelná mikroskopie biologům?

Jakub Pospíšil¹

¹Sdílená laboratoř Buněčné zobrazování, CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

✉ 357959@mail.muni.cz

Světelná mikroskopie je nepostradatelným nástrojem biologického výzkumu, který nám umožňuje nahlédnout do jinak neviditelného světa živých organismů. Pomocí viditelného světla a speciálních barvicích technik jsme schopni pozorovat nejen morfologii organel/buněk/tkání, ale i dynamické procesy, které v nich právě probíhají. Svými rozlišovacími schopnostmi se navíc současné světelné mikroskopy blíží k mikroskopům elektronovým, které ale mohou pozorovat pouze fixované/zmražené preparáty.

Díky tomu tak dokážeme sledovat živé nativní preparáty s nanometrovou přesností.

Sdílená laboratoř Buněčného zobrazování (CELLIM) je core facility, která zajišťuje přístup uživatelům k nejmodernějšímu přístrojovému vybavení a technikám v oblasti světelné mikroskopie. Naše laboratoř nabízí nejen standardní epifluorescenční a konfokální mikroskopy, ale i pokročilé super rozlišovací a lightsheet mikroskopy. Nedílnou součástí našich služeb jsou také analytické metody kvantifikace obrazových dat. Sdílená laboratoř je součástí evropské výzkumné infrastruktury EuroBioImaging a národní výzkumné infrastruktury Czech-BioImaging, která je financována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Prostorová distribuce a biologický efekt inhibitoru kinazy Akt v 3D modelech nádoru stanovený pomocí poloautomatické koregistrace obrazu MALDI MSI a imunofluorescence

Markéta Machálková¹, Barbora Pavlatovská², Jan Michálek³, Adam Pruška¹, Karel Štěpka³, Tereza Nečasová³, Katarzyna Anna Radaszkiewicz², Michal Kozubek³, Jan Šmarda², Jan Preisler¹, **Jarmila Navrátilová^{2,4*}**

¹ Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

² Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

³ Centrum analýzy biomedicínského obrazu, Fakulta informatiky, Masarykova univerzita, Brno

⁴ Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u Sv. Anny v Brně, Brno

✉ jnavratilova@sci.muni.cz

Klinická úspěšnost léčiv je velmi nízká. Jedním z důvodů jsou nevhodné modely používané pro jejich pre-klinické testování. Do výzkumu jsou proto zaváděny 3D modely nádorové tkáně, které na rozdíl od tradičně využívaných monovrstev lépe vystihují nádorově specifické mikroprostředí, mezibuněčné interakce a bariéry pro průnik léčiv. V současnosti chybí nástroje pro korelaci hladiny léčiv v 3D podmínkách s biologickou odezvou. V naší práci jsme vystavili sféroidy rostoucí z buněk kolorektálního karcinomu působení perifosinu, klinicky testovaného inhibitoru kinázy Akt. Průnik léčiva do sféroidu jsme stanovili metodou zobrazovací hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací za pomoci matrice (matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging - MALDI MSI). Ve stejném řezu analyzovaném MSI jsme fluorescenční imunohistochemií detekovali markery apoptózy (štěpená kaspáza 8), proliferace (Ki67) a migrace/invazivity (SNAIL/SLUG). Koregistrace obrazů MS a IHC byla provedena pomocí referenčních značek. Kvantifikace signálu MS a fluorescenční mikroskopie na koregistrovaném obrazu proběhla s pomocí speciálně vytvořených algoritmů. Tímto způsobem jsme stanovili omezený a velmi heterogenní průnik léčiva do sféroidu. V oblastech se zvýšenou hladinou perifosinu jsme zaznamenali pokles hladiny SNAIL/SLUG a vzrůst štěpené formy kaspázy 8. Vzrůst apoptózy indukované perifosinem jsme odlišili od apoptózy vznikající v důsledku hypoxie/nedostatku živin. I po 24 hod. působení léčiva se ve sféroidu vyskytovaly oblasti bez perifosinu pozitivní na SNAIL/SLUG a/nebo Ki67. Námi navrhovaná metodologie multimodálního zobrazení a následné analýzy obrazu umožňuje přesnější testování efektivity léčiv ve sféroidech.

Metoda rentgenové počítačové mikro tomografie a její využití v dentálním výzkumu

Michaela Kavková¹, Marcos Gonzalez Lopez¹, Josef Lavický¹, Jan Křivánek¹

¹Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

✉ michaela.kavkova@med.muni.cz

Rentgenová počítačová tomografie (CT, X-ray Computed Tomography) se řadí mezi široce rozšířené 3D zobrazovací metody používané nejen k pokročilé diagnostice v medicíně ale také pro analýzu vzorků a optimalizace v rámci průmyslové výroby. Využití této metody však v poslední době nachází stále větší uplatnění také v oblasti primárního biologického a biomedicínského výzkumu. Pro účely velmi přesného 3D zobrazování biologických vzorků jsou pak využívány jak primárně průmyslové CT zařízení, tak i speciální vědecké CT, které jsou schopné generovat datasety s vysokým prostorovým rozlišením.

Z pohledu biologického výzkumu přináší mikro CT analýza možnost přesného kvalitativního i kvantitativního srovnání fenotypových změn a patologických stavů zasažených jedinců se zdravou kontrolou. V rámci pokročilé analýzy získaných dat ve speciálních programech je možné porovnávat vzorky na základě přesného měření objemů a délek sledované struktury nebo například měření šířky stěn a orientací vláken. Tyto pokročilé analýzy 3D modelů dokáží zachytit i drobnější změny anatomických struktur v 3D prostoru, které by klasické 2D histologické metody neidentifikovaly a zasadit tyto změny do kontextu ke svému okolí.

Předmětem této přednášky bude popsat principy mikro CT analýzy, nastínění možností analýzy dat ve specializovaných programech a ukázky aplikace těchto postupů v rámci projektů výzkumu a regenerace zubů.

Nové poznatky v oblasti regulace signální dráhy ERK v maligním melanomu

Valčíková B.,^{1,2} Vadovičová N.,^{1,2} Uldrijan S.^{1,2}

¹Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, ²Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně (FNUSA-ICRC), Brno

✉ uldrijan@med.muni.cz

Maligní melanom je agresivní nádorové onemocnění, na jehož vývoji se podílí konstitutivní aktivace signální dráhy kinázy ERK mutacemi onkogenů *NRAS* a *BRAF*. Klinicky využívané inhibitory kináz BRAF a MEK, které cílí na signální dráhu ERK, mohou účinně zpomalit progresi tohoto onemocnění, u většiny pacientů se však brzy rozvine rezistence na léčbu. Proto je třeba pochopit molekulární mechanismy vedoucí k rezistenci s cílem nalézt nové možnosti léčby pacientů s rezistentními nádory.

Jedním z nedávno popsaných mechanismů podílejících se na vzniku rezistence melanomu je zvýšení proteosyntézy závislé na translačním iniciačním faktoru eIF4F. Zdá se, že zvýšení aktivity tohoto proteinového komplexu může částečně kompenzovat snížení aktivity dráhy ERK za přítomnosti inhibitorů BRAF a MEK. V našem výzkumu jsme se proto zaměřili na hlubší pochopení vzájemných interakcí eIF4F a signální dráhy ERK. Naše výsledky ukazují, že eIF4F se nepodílí jen na vzniku rezistence melanomu k cílené léčbě, ale aktivita tohoto komplexu je nezbytná pro udržení optimální aktivity dráhy ERK v buňkách melanomu. Inhibitory eIF4F mohou vyvolat hyperaktivaci ERK, která není slučitelná s růstem a přežitím nádorových buněk. Naše výsledky tedy naznačují terapeutický potenciál nízkomolekulárních inhibitorů eIF4F v maligním melanomu.

Podpořeno z Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt ENOCH (reg.č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000868), grantem GA ČR (reg. č. 22-30397S) a projektem Národní ústav pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

***In vitro* kultivace a testování nádorů pankreatu jako cesta k personalizované léčbě**

Stanislava Martínková¹, Jana Vorel¹, Lucie Josefa Lamačová¹, Mário Boďo², Jan Hajer² a Jan Trnka¹

¹ Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie; 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

² Interní klinika; 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha

✉ stanislava.martinkova@lf3.cuni.cz

Pankreatický duktální adenokarcinom (PDAC) představuje nejagresivnější formu rakoviny slinivky břišní a často bývá diagnostikován až v pokročilém stadiu nemoci. PDAC je známý svou schopností vyvinout rezistenci vůči léčebným metodám, což zhoršuje prognózu pacientů. Komplexní genetické analýzy a *in vitro* testování citlivosti PDAC na chemoterapeutika, případně na kombinace jiných terapeutických látek, ještě před samotným zahájením léčby mohou přispět k přesnějšímu zacílení a zvýšení efektivity léčby u pacientů s PDAC. Cílená terapie by mohla, s ohledem na velkou heterogenitu nádoru mezi jednotlivými pacienty, představovat způsob nejvhodnějšího výběru léčebného režimu a zlepšit tak prognózu pacientů.

Proliferace kardiomyocytů *in vitro* – úloha duálně specifické fosfatázy 6

Eliška¹Kramná, Stanislava Sladeček¹, Martina¹Böhmová, Katarzyna Anna Radaszkiewicz¹,
Jiří Pacherník¹

¹Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

✉ jipa@sci.muni.cz

Pracovní buňky myokardu, kardiomyocyty, připravené *in vitro* z pluripotentních kmenových buněk (PSC – pluripotent stem cell) případně přímým reprogramováním např. fibroblastů, představují atraktivní zdroj materiálu pro výzkum a buněčnou terapii myokardu. Jejich příprava je však stále náročná a výtěžnost buněk je pro širší praktické využití nízká. Proto se zaměřujeme na hledání mechanismů, které by proliferaci těchto buněk podpořily. Jedním z cílů pro podporu proliferace kardiomyocytů se jeví duálně specifická fosfatáza 6 (DUSP6), jejíž aktivita je spojena s inhibicí mitogenní signalizace zprostředkované extracelulárně regulovanými kinázami 1 a 2 (ERK1/2). Pomocí linií embryonálních kmenových buněk s deplecí DUSP6 a pomocí inhibitorů DUSP6 jsme ukázali, že v závislosti na stupni vývoje kardiomyocytu, kombinace inhibice aktivity DUSP6 spolu s mitogenní stimulací podporuje proliferaci těchto kardiomyocytů *in vitro*. Díky tomu tak můžeme významně navýšit počty *in vitro* vzniklých kardiomyocytů pro další použití.

Data NZIS jako příležitost pro aplikaci přístupů umělé inteligence

Jiří Jarkovský^{1,2}

¹Institut biostatistiky a analýz, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

²Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR

✉ jiri.jarkovsky@uzis.cz

Národní zdravotnický informační systém (NZIS), který je v gesci Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS) ČR představuje propojenou soustavu zdravotnických registrů s cílem sběru informací k hodnocení zdravotního stavu obyvatelstva a jeho vývoje, epidemiologii onemocnění, jako podklad pro hodnocení účelnosti a efektivity diagnostických a léčebných postupů a řadě dalších otázek souvisejících se zdravotním stavem obyvatel a zdravotnictvím ČR.

Zpracování obsáhlých zdravotnických dat NZIS doposud vyžaduje velký podíl ruční expertní práce a jejich využití je proto výrazně limitované lidskou kapacitou. Tato data však obsahují velké množství informací, které mají potenciál včas a s vysokou granularitou odhalit potřeby občanů v přístupu ke zdravotní péči, definovat heterogenity v jejím poskytování i bílá místa, kde konkrétní typ péče není občanům přístupný. Zavedení užívání umělé inteligence ve zpracování dat NZIS může výrazně zvýšit jejich využití pro plánování a efektivizaci poskytování zdravotních služeb. Nový přístup ke zpracování zdravotnických dat tak napomůže zlepšit kvalitu veřejných služeb a zajistí občanům České republiky rovný přístup ke zdravotním službám.

Využití metod strojového učení a hmotnostní spektrometrie pro klinické aplikace v nádorové biologii

Pečinka Lukáš^{1,2}, Moráň Lukáš^{3,4}, Vlachová Monika⁵, Kovačovicová Petra^{2,3}, Hampl Aleš^{2,3}, Havel Josef^{1,2}, Ševčíková Sabina⁵, Vaňhara Petr^{2,3}

¹Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, ²Mezinárodní centrum klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, ³Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, ⁴Výzkumné centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, ⁵Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

✉ lukas.pecinka@med.muni.cz

S rostoucími nároky na analýzy biologických vzorků ve složitých maticích roste i zájem o vývoj a optimalizaci hmotnostně spektrometrických (MS) metod. MS analýza intaktních buněk, vzorků plazmy, ale také i ostatních biologických materiálů má velký význam pro sledování a objasňování biologických procesů v organismu a poskytuje důležité informace o pheno/genotypu organismu. Ve dvou zde prezentovaných tématech jsou představeny různé techniky, které se zabývají studií těchto biologických vzorků. MALDI MS intaktních buněk se již používá v klinické mikrobiologii a diagnostice. V posledních letech byla zavedena také do buněčné biologie, imunologie a studie nádorů.

První téma se zaměřuje na klasifikaci buněk rakoviny vaječníků s různým procentuálním podílem buněčných populací s potlačenou expresí genu (TUSC3). Metoda MS byla kombinována s vícerozměrnými statistickými algoritmy a metodami strojového učení (ML), např. PLS-DA, ANN a RF. Všechny výpočetní modely byly sestaveny s využitím programovacího jazyka R. Optimalizací byla MS intaktních buněk spojena s metodami ML pro sledování změn TUSC3 genu. Data získaná z hmotnostních spekter byla analyzována pomocí vyvinutého skriptu v jazyce R. Byla popsána metodika pro předzpracování dat, která vedla ke snížení technické variability datasetu. Metodika byla popsána s využitím souboru dat čítajícím 175 hmotnostních spekter. Celkem bylo vytvořeno a porovnáno 5 klasifikátorů založených na různých algoritmech, které byly dále optimalizovány. Jako model s nejlepší klasifikační schopností se 100% přesností (95% interval spolehlivosti, CI = 94,7-100 %) pro validační data byla určena diskriminační analýza částečných nejmenších čtverců (PLS-DA). Výše popsaná metoda byla použita i pro další modelové studie, například pro sledování diferenciac embryonálních kmenových buněk (hESCs) do expandovatelných plicních epitelů (ELEP) a případných odchylek od optimální trajektorie. Zde byla provedena vizualizace diferenciacní trajektorie pouze na základě spektrálních dat a odhalili jsme také některé fenotypové abnormality související s počtem pasáží a zástupně s aneuploidním stavem hESC.

Druhým tématem je vývoj metody pro analýzu vzorků lidské plazmy pomocí MALDI MS. Cílem je vyvinutí metody pro rozlišení pacientů s mnohočetným myelomem (MM) a pacienty s plazmocelulární leukémií (PCL) a extramedulárním onemocněním (EMD). Pro analýzu vzorků byl vyvinut dvoustupňový protokol extrakce proteinů. Intenzita v celém použitém rozsahu m/z se při použití extrakčního protokolu zvýšila přibližně 50× (v porovnání s neupravenými vzorky plazmy). Klasifikace pomocí ML algoritmů (RF, PLS-DA a ANN)

dosáhla přesnosti 80-90 % pro trénovací soubor dat a 79-87 % pro testovací soubor dat. Tato zjištění mohou pomoci urychlit integraci MALDI MS do klinického použití a zpřesnit diagnózu těchto onemocnění.

Podpořeno Masarykovou univerzitou projekt č.: MUNI/A/1298/2022, MUNI/A/1301/2022, MUNI/11/ACC/3/2022, ministerstvem zdravotnictví ČR projekt č.: NU21-03-00076 a grantovou agentura České republiky projekt č.: GA23-06675S.

Tkáňové inženýrství, biostatistika a strojové učení.

Petr Vaňhara^{1,2}

¹Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

²Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno

✉ pvanhara@med.muni.cz

Tvorba funkčních buněčných typů a tkání *in vitro* představuje významný nástroj pro biomedicínský výzkum, regenerativní medicínu a vývoj pokročilých personalizovaných medicínských přípravků. Pluripotentní kmenové buňky jsou díky své neomezené proliferační kapacitě schopnosti diferenciaci do derivátů všech tří zárodečných listů potom nezastupitelným zdrojem pro histogenezi *in vitro*. Nicméně, jako u každého buněčného systému, genetická nestabilita, nežádoucí plasticita kmenových buněk a progenitorů a jejich adaptace ke kultivačním podmínkám významně limitují jejich technologické i klinické aplikace. Metody, které umožní odhalit takové nežádoucí změny jsou proto klíčové pro jejich bezpečné využití. V současné době nabývají na významu robustní modely strojového učení, které dokáží identifikovat a klasifikovat specifické vzory v komplexních bioanalytických datech, a přiřadit je konkrétnímu buněčnému stavu nebo fenotypu. S využitím modelu expandovatelných plicních epitelí (ELEP) připravených z pluripotentních kmenových buněk *in vitro*, a primárních pankreatických nádorových buněk, jsme demonstrovali využití hmotnostní spektrometrie intaktních buněk a pokročilé biostatistiky a strojového učení pro identifikaci nežádoucích fenotypových alterací a monitorování diferenciačních trajektorií.

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou ČR (č. projektu GA23-06675S), Ministerstvem zdravotnictví ČR (č. projektu NU23-08-00241), Masarykovou univerzitou (č. projektu MUNI/A/1301/2022) a Interní grantovou agenturou Lékařské fakulty Masarykovy univerzity (č. projektu MUNI/11/ACC/3/2022).



ČESKO-SLOVENSKÁ
BIOLOGICKÁ SPOLEČNOST, z. s.



ABSTRAKTA PLAKÁTOVÝCH SDĚLENÍ

Fosfatidylserin-pozitivní extracelulární váčky a jejich role v mezibuněčné komunikaci

Jan Balvan^{1,2}, Martina Raudenská^{1,2}, Klára Hánělová², Květa Pilařová², Mária Bugajová¹, Jiří Navrátil^{1,2}, Jaromír Gumulec¹, Michal Masařík^{1,2}.

¹Fyziologický ústav LF MU Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

²Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

✉ masarik@med.muni.cz

Extracelulární váčky (EVs) jsou uvolňovány téměř všemi buňkami mnohobuněčných organismů. Nacházejí se ve všech tělních tekutinách, a jejich výzkum v posledních dekadách přilákal velkou pozornost. Existují různé typy EVs, lišící se jak mechanismem jejich vzniku, tak i velikostí, densitou či biomechanickými vlastnostmi. Zatímco původně byly považovány za „kontejnery“ exportující odpadní látky z buňky, v dnešní době je známa jejich důležitá role v mezibuněčné komunikaci, zejména v komunikaci nádorových buněk s dalšími buňkami v mikroprostředí nádoru.

Fosfatidylserin (PS) je záporně nabitý fosfolipid, jehož lokalizace je obvykle omezena na vnitřní část plazmatické membrány. Během apoptózy se PS přesouvá na povrch plazmatické membrány, což je charakteristické i pro EVs produkované apoptotickými buňkami. Bylo však prokázáno, že nádorové buňky vystavují PS také během nekroptózy nebo ferroptózy. Extracelulární váčky pozitivní na fosfatidylserin (PS+EVs) jsou tedy často spojovány s procesy buněčné smrti. Nicméně, zvýšenou hladinu exponovaného PS mohou mít i životaschopné nádorové buňky. PS+EVs se mohou podílet na buněčné signalizaci v nádorovém mikroprostředí.

V této práci jsme izolovali PS+EVs nádorových buněk hlavy a krku i fibroblastů asociovaných s nádorem a analyzovali jejich proteinové složení, morfologické, biomechanické a funkční vlastnosti. Zjistili jsme, že pozitivita na fosfatidylserin není pouze znakem EVs produkovaných během procesů buněčné smrti, ale naopak je přítomnost PS typická pro membrány téměř všech EVs uvolňovaných nádorovými buňkami s velikostí a markery typickými pro EVs, které nazýváme exozomy (50-150 nm). Zjistili jsme také, že PS+EVs mohou přispívat k modulaci metabolismu a fenotypu fibroblastů. PS+EVs produkované specifickým typem fibroblastů asociovaných s nádorem (fibroblasty s vysokou expresí α SMA/smooth muscle actin) působí protektivně na nádorovou buněčnou linii FaDu a chrání tyto buňky před apoptózou.

Navození neovaskularizace keramického nosiče pomocí lidských mikrovaskulárních fragmentů

Leoš Benák¹, Martin Kučírek^{1,2}, Jan Kocanda^{1,2}, Jan Sklenský², Daniel Drdlík³, Přemysl Šťastný³, Lenka Novotná³, Pavlína Safry³, Eliška Šiška-Virágová³, Václav Chochola¹, Libor Streit¹, Milan Filipovič², Vladimír Proks⁴, Irena Koutná¹, Lenka Veverková¹, Jaroslav Cihlár³, Klára Částková³, Aleš Hampl^{1,2}, Martin Repko²

¹Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

²Ortopedická klinika, Fakultní nemocnice Brno

³CEITEC VUT, Brno

⁴Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v. v. i., Praha

Vaskularizace představuje zásadní proces, který se uplatňuje při vývoji, reparaci nebo regeneraci tkáně. Cévy zajišťují přívod živin včetně kyslíku pro buňky, ale zároveň také odvádí odpadní produkty metabolismu, čímž se podílí na homeostáze. Vaskularizace má také velký význam v oblasti tkáňového inženýrství. Difúze živin do arteficiálních konstruktů je limitována jeho velikostí. Tudíž časné navození vaskularizace je klíčový element pro přežití buněk štepů v těle pacienta. Slibným prostředkem pro navození vaskularizace jsou lidské **mikrovaskulární fragmenty (MVF)**, které spolu s lidskými **mesenchymální stromálními buňkami (MSC)** izolujeme z lidské tukové tkáně. MVF i MSC využíváme pro kolonizaci keramických nosičů za účelem navození neovaskularizace a osteogeneze nosiče. Námi připravené štepy by mohly v budoucnu posloužit pro meziobratlovou fúzi páteře.

V rámci projektu (NU20-08-00402, AZV 2020-2023) jsme společně s týmem ortopedů a týmem odborníků na materiálové inženýrství z CEITEC VUT optimalizovali postupy pro izolaci lidských MSC a MVF z lidské tukové tkáně. Izolované MVF jsme charakterizovali a potvrdili, že hydrogel z metakrylované želatiny představuje vhodné prostředí pro jejich růst a větvení. Zjistili jsme, že MVF dosahují nejbohatšího větvení 14. den kultivace, a že v podmínkách *in vitro* kultury neztrácejí svůj fenotyp. Optimalizovali jsme poměr kokultivace MSC ku MVF v prostředí hydrogelu a navrhli jsme způsob, jak suspenzí buněk v hydrogelu kolonizovat keramické nosiče. Vytvořili jsme protokoly pro zpracování a vizualizaci buňkami kolonizovaných keramických nosičů a v současné době zkoumáme chování takto kolonizovaných nosičů *in vivo* v imunodeficientních myších.

Projekt je podpořen grantem Agentury pro zdravotnický výzkum MZ ČR (reg. č. NU20-08-00402).

Změny v dynamické funkční konektivité u prodromálního stádia demence s Lewyho tělísky

Martin Gajdoš^{1,3}, Marie Nováková³, Marin Lamoš^{1,3}, Pavel Říha¹, Michal Mikl^{1,3}, Irena Rektorová^{2,4}

¹Výzkumná skupina Multimodální a funkční neurovizuální, CEITEC Masarykova Univerzita, Brno, Česká Republika

²Výzkumná skupina Aplikované neurovědy, CEITEC Masarykova Univerzita, Brno, Česká Republika

³Laboratoř Multimodálního a funkčního neurovizuální, CEITEC Masarykova Univerzita, Brno, Česká Republika

⁴I. neurologická klinika FNUSA a Lékařská Fakulta Masarykova Univerzita, Brno, Česká Republika

✉ martin.gajdos@ceitec.muni.cz

Dynamická funkční konektivita (DFC) rozšiřuje metody běžné funkční konektivity o dynamické charakteristiky konektivity v časové doméně. Tato práce se zaměřuje na využití DFC k nalezení charakteristických rysů prodromálního stádia demence s Lewyho tělísky (MCI-LB) v klidových fMRI datech (resting state fMRI). K DFC analýze jsme využili dataset 30 účastníků s MCI-LB (věk 68.3 ± 6.0 , 15 žen) a 55 zdravých kontrol (HC) (67.7 ± 6.4 , 33 žen). Z předzpracovaných fMRI dat bylo vyřazeno prvních 10 skenů signálu pro odstranění přechodových jevů. Provedli jsme DFC analýzu metodou plovoucího okna (okno délky 61 skenů, 32 seedů (Gao a Lin 2012), které jsou uzly 5 klidových sítí): frontální parietální kontrolní síť (FPCN), zraková síť, dorzální pozornostní síť (DAN), motorická síť a default mode síť (DMN). Z DFC parametrů byl použit průměrný čas strávený v daném stavu. Byla identifikována přítomnost 4 stavů mozku. Ve stavu 4 (přípravný stav, pozitivní korelace DMN se zrakovou, pozornostní a DAN sítí) tráví HC v průměru více času, než MCI-LB (Wilcoxon $p = 0.033$). Průměrná doba strávená ve stavu 4 navíc u MCI-LB koreluje se z-skórem pro paměť (Pearson $r = 0.37$, $p = 0.046$). U HC tato korelace není přítomná (Pearson $r = 0.08$, $p = 0.554$). Analýza DFC parametrů ukazuje užitečné rozšíření běžných metod statické konektivity. Odhalený rozdíl mezi skupinou MCI-LB a zdravými účastníky v průměrné době strávené ve stavu 4 (přípravném stavu) může souviset s kompenzačními mechanismy, které jsou v prodromální fázi demence s Lewyho tělísky aktivní. Pozorovaná přímá pozitivní korelace mezi dobou strávenou ve stavu 4 a skórem pro paměť a vizuospeciální paměťový test může souviset s různou fází MCI-LB onemocnění. Účastníci s vyššími skóry tráví v přípravném stavu 4 více času, čímž se dynamika tohoto stavu více blíží kontrolní skupině.

Tento příspěvek vznikl za podpory grantu AZV NU21J-04-00077.

Matematické modelování subklonální kooperace nádorů

Jiří Hatina¹, Martina Dolejšová^b, Filip Tichánek^c, Michalela Kripnerová^a, Martin Pešta^a

¹Ústav biologie, Lékařská fakulta v Plzni· Universita Karlova, ²Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni· Universita Karlova, ³Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta v Plzni· Universita Karlova, Plzeň

✉ jiri.hatina@lfp.cuni.cz

Suklonální heterogenita představuje jeden ze základních mechanismů nádorové heterogenity. Komplexní nádory tak prakticky vždy zahrnují více nádorových klonů lišících se spektrem mutací i řadou konkrétních fenotypových charakteristik, včetně těch, které definují stupeň nádorové transformace, jako je rychlost proliferace, motilita a invazivita, charakteristiky buněčného metabolismu nebo terapeutická citlivost či rezistence. Koexistence různých geneticky a biologicky odlišných klonů v rámci komplexních nádorů s sebou nese koncepční problém, jak vysvětlit, že nejrychleji proliferující klon neeliminuje pomaleji proliferující klony, čímž by se nádor stal monoklonální. Nejpravděpodobnějším mechanismem je růstová interakce mezi klony. Biologicky odlišné nádorové buněčné linie ustavené na identickém genovém pozadí, nejlépe z jednoho individuálního nádoru, umožňují přímý průkaz růstové interklonální interakce porovnáním buněčné proliferace v kokultuře s proliferací čistých nádorových buněčných linií, a porovnáním kalkulované a skutečné populační dynamiky v kokultuře. S využitím tohoto principu matematického modelování se nám podařilo prokázat růstovou interakci u dvou dvojic klonálně příbuzných sarkomových buněčných linií, a to myších fibrosarkomových linií JUN-2 – JUN-3 (1), a lidských mixofibrosarkomových linií MUG-Myx 2a a MUG-Myx 2b (2)

1. Kripnerova M, Parmar HS, Šána J, et al. J Clin Med. 2021 May 25;10(11):2297
2. Lohberger B, Stundl N, Glaenger D, et al. Sci Rep. 2020 Feb 3;10(1):1682

Štúdium DNA markerov asociovaných s parodontitídou a autoimunitnými ochoreniami

Kozáčiková R. ¹, Wachsmannová L. ², Eliáš V. ², Krasňanská G. ^{1,2}, Bľandová G. ³, Baldovič M. ², Kovaľová E. ⁴, Krajčovič J. ¹, Konečný M. ^{1,2}

¹Katedra biológie FPV UCM, Trnava

²Laboratórium genomickej medicíny, GHC GENETICS SK s.r.o., Vedecký Park UK, Bratislava

³Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

⁴Katedra dentálnej hygieny, FZO PU, Prešov

✉ kozacikova1@ucm.sk

Parodontitída predstavuje multifaktoriálne zápalové ochorenia orálnej dutiny, ktoré vedie ku deštrukcii spojivového tkaniva a alveolárnej kosti. K najhlavnejším faktorom indukujúcim vznik uvedeného ochorenia sú predovšetkým gram-negatívne obligátne anaeróbne baktérie. Pri kolonizácii ústnej dutiny týmito patogénmi v miestach tzv. gingiválneho vaku dochádza k nadmernej produkcii prozápalových mediátorov. Neregulovaná imunitná reakcia organizmu na uvedenú infekciu môže viesť ku vzniku ochorenia parodontitídy. V rámci mechanizmu rozvoja tohto ochorenia plnia významnú úlohu najmä cytokíny IL1A a IL1B, ktoré sú zodpovedné za silný prozápalový efekt. Ďalším dôležitým faktorom je aj modulátor imunitných odpovedí TNFA, zodpovedný za deštrukciu kostného tkaniva. V odbornej literatúre je TNFA asociovaný so zvýšeným rizikom psoriázy a reumatoidnej artritídy, autoimunitných ochorení, ako aj so zvýšeným rizikom srdcového infarktu či mŕtvice. Kľúčovú úlohu v patogenéze ochorenia parodontu taktiež plní aj prítomnosť alely *04 v géne *HLA-DRB1*, ktorá je považovaná za rizikový faktor resorpcie kostnej hmoty. Alely HLA-C*06 sa podieľajú na prezentácii auto-antigénov CD8⁺ T lymfocytom, ktoré následne aktivujú produkciu ďalších cytokínov a chemokínov. Podľa odbornej literatúry je prítomnosť uvedenej alely asociovaná s autozápalovým procesom vedúcim k vzniku ochorenia psoriázy. Cieľom nášho výskumu je sledovať u vybranej skupiny pacientov s parodontitídou asociácie DNA polymorfizmov u zápalových markerov príp. ich spoločnú prítomnosť s paropatogénnymi baktériami červeného komplexu.

Sekvenování dlouhých nekódujících RNA v exozómech u pacientů s kolorektálním karcinomem

Marie Madrzyk^{1,2}, Táňa Macháčková¹, Karolína Trachtová¹, Tina Ivković Catela¹, Kamila Součková¹, Jan Kotouček³, Josef Mašek³, Tomáš Loja¹, Milana Šachlová⁴, Ondřej Slabý¹

¹ CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

² Fakulta medicíny, Masarykova univerzita, Brno

³ Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

⁴ Gastroenterologické oddělení, Masarykův onkologický ústav, Brno

✉ madrzyk@ceitec.muni.cz

Prognóza pacientů s kolorektálním karcinomem (CRC) závisí především na rozsahu onemocnění v době stanovení diagnózy, proto je včasný záchyt jedním z hlavních předpokladů úspěšné léčby. Současný výzkum ukazuje, že exozomální dlouhé nekódující RNA (lncRNA) jsou spojeny s rozvojem nádorového onemocnění. Vzhledem k tomu, že lncRNA jsou často tkáňově specifické, jejich kvantifikace v exozómech by mohla sloužit jako neinvazivní metoda pro včasnou detekci CRC. V této studii jsme se zaměřili na optimalizaci protokolu pro analýzu exozomálních lncRNA z krevního séra pacientů s CRC jako potenciálních diagnostických biomarkerů.

Exozómy byly izolovány pomocí gelové chromatografie ze 150 µl séra pacientů s CRC a zdravých dárců. Jejich kvalita a množství byly potvrzeny elektronovou mikroskopií a DLS analýzou a proteinové markery byly detekovány pomocí Western blotu. Po izolaci RNA byly ze vzorků připraveny knihovny cDNA a sekvenovány pomocí NextSeq 550.

Úspěšně jsme izolovali exozómy a ověřili jejich vlastnosti několika různými metodami. Knihovny byly připraveny ze všech vzorků i přes velmi malý objem vstupního materiálu. Sekvenační data potvrdila přítomnost jak protein-kódujících (50 %), tak nekódujících RNA, kterou tvořily především lncRNA (28,2 %), pseudogeny (15,2 %) a jiné typy RNA (6,5 %). Výsledky také ukázaly významně změněné hladiny některých lncRNA, jejichž exprese dokázala odlišit vzorky od pacientů s CRC od zdravých kontrol. Pomocí analýzy GSEA jsme pozorovali významně obohacené třídy genů souvisejících s opravami DNA nebo regulací buněčného cyklu.

Naše pilotní data naznačují, že lncRNA představují významnou část RNA přítomné v exozómech a jejich rozdílné hladiny mají schopnost odlišit pacienty s CRC od zdravých kontrol. Analýza obohacených genů také ukázala významné zastoupení lncRNA zapojených do regulace buněčného cyklu a oprav DNA, což naznačuje jejich možnou účast v karcinogenezi. Výsledky je však třeba ověřit na větším souboru pacientů.

Porovnání výsledků sekvenčních analýz zaměřených na oblasti V1/V2 a V3/V4 v genu pro 16S rRNA z orálních a ezofageálních vzorků

MLčúchová N.^{1,2*}, Slámová T.¹, Brenerová P.¹, Deissová T.^{1,2}, Böhm J.¹, Kunovský L.^{3,4,5}, Kroupa R.⁴, Dolina J.⁴, Procházka V.³, Grolich T.³, Vaculová J.⁶, Andrla P.¹, Navrátil V.⁵, Urban O.⁵, Haruštiak T.⁷, Lischke R.⁷, Izakovičová Hollá L.^{2,8}, Slabý O.^{9,10}, Lochman J.^{2,11}, Kala Z.³, Budinská E.¹, Bořilová Linhartová P.^{1,2,8,12}

¹RECETOX, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

²Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

³Chirurgická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

⁴Interní gastroenterologická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

⁵II. interní klinika – gastroenterologická a geriatrická, Fakultní nemocnice Olomouc, Lékařská fakulta a Stomatologická klinika Univerzity Palackého, Olomouc

⁶Gastroenterologické oddělení, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁷III. chirurgická klinika, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha

⁸Stomatologická klinika, Fakultní nemocnice u svaté Anny, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno

⁹Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno

¹⁰Ústav lékařské biologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

¹¹Ústav biochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Brno

¹²Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie, Fakultní nemocnice Brno, Masarykova univerzita, Brno

✉ natalie.mlcuchova@recetox.muni.cz

Sekvenace 16S ribozomální DNA (rDNA) se používá při studiu lidského bakteriomu. Výběr hypervariabilních podoblastí *16S rDNA* genu pro sekvenaci může ovlivnit výsledná data v několika rovinách, a tedy i přesnost molekulárního taxonomického rozlišení. Cílem této metodické studie bylo porovnat výsledky získané sekvenováním oblastí V1/V2 a V3/V4 *16S rDNA* genu.

Do studie jsme zařadili 6 pacientů s refluxní chorobou jícnu. U každého pacienta proběhla analýza z orálního stěru, biopsie z jícnu s patologickým nálezem a biopsie bez viditelné patologie. DNA z celkem 18 vzorků byla izolována pomocí AllPrep DNA/RNA Kit (Qiagen). Oblast V1/V2 *16S rDNA* genu byla amplifikována pomocí PCR za použití modifikovaných primerů 68Fmod a 338R. Metagenomická knihovna byla sekvenována na přístroji Miniseq za využití MiniSeq High Output Kit (Illumina). Sekvenční knihovna pro analýzu V3/V4 *16S rDNA* genu na stejných vzorcích byla připravena pomocí Illumina primerů. DNA byla navíc obohacena o komerční mock komunitu (Zymo Research; interní standard). Metagenomická knihovna byla sekvenována na přístroji MiSeq pomocí MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina).

Všechny vzorky byly osekvenovány s počtem více než 10 000 čtení na vzorek. Počet čtení na vzorek byl vyšší u vzorků sekvenovaných pomocí přístupu zaměřeného na V3/V4 oblast, což vedlo k lepšímu taxonomickému rozlišení, než tomu bylo u sekvenace V1/V2 oblastí. U nálezů z V1/V2 analýzy dominovaly rody *Haemophilus*, *Veillonella*, *Fusobacterium* a *Rhodopseudomonas*. Mezi nejvíce abundantní rody při V3/V4 analýze patřily *Streptococcus*, *Veillonella*, *Haemophilus*, *Prevotella* a *Fusobacterium*.

Zatímco při sekvenaci V1/V2 oblasti *16S rDNA* genu je orální a ezofageální zastoupení rodu *Streptococcus* překvapivě minoritní, tak zvolený sekvenční přístup V3/V4 oblasti poskytuje výsledky komparabilní se studii zaměřenými na analýzu bakteriomu dutiny ústní a jícnu.

Tato studie byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví České republiky, grant č. NU20-03-00126 a Ministerstvem zdravotnictví České republiky – koncepční rozvoj výzkumné organizace (FNBr, 65269705). Část práce byla provedena za podpory Výzkumné infrastruktury RECETOX (ID LM2023069, MŠMT). Děkujeme za sekvenční služby core facilitě Genomics CEITEC podporované výzkumnou infrastrukturou NCMG (LM2023067 financované MŠMT ČR).

Sekvenování cirkulující mikroRNA u dětských pacientů s idiopatickou skoliózou

Jana Orličková^{1,3}, Michael Lujc², Dagmar Al Tukmachi^{1,3}, Denisa Rozkydalová^{1,3}, Táňa Macháčková^{1,3}, Tereza Diessová^{1,3}, Júlia Bohošová^{1,3}, Michal Galko², Milan Filipovič², Martin Repko², Ondřej Slabý¹

¹CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno

²Ortopedická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

³Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

✉ jana.orlickova@med.muni.cz

Skolióza je jednou z nejčastěji se vyskytujících deformit páteře, a to zejména u dětí pod 13 let. Až 80 % případů vzniká z neznámých příčin, hovoříme tedy o tzv. idiopatické skolióze (IS), která je považována za komplexní onemocnění. Do dnešního dne neexistují žádné klinické biomarkery progresu, které by skýtaly možnost individualizace léčby. Takovými biomarkery by mohly být cirkulující mikroRNA (miRNA). Změna hladin těchto molekul byla pozorována u různých patologických stavů. Cílem této studie je zhodnocení prognostického potenciálu cirkulujících miRNA u pacientů s IS.

V rámci prospektivní monocentrické studie ve Fakultní nemocnici Brno byly odebrány vzorky krevní plazmy od 24 pacientů (12 s progresí, 12 bez progresu) diagnostikovaných s juvenilní či adolescentní IS, a to ve čtyřech časových bodech. Dále byly jednorázově odebrány vzorky krevní plazmy 24 zdravým jedincům pro účely sestavení kontrolní kohorty. Celková RNA byla izolována pomocí komerční sady miRNeasy Serum/Plasma kit. Sekvenační knihovny byly připraveny pomocí komerční sady Qiaseq miRNA UDI Library kit (obojí QIAGEN, USA). Kvalita a kvantita sekvenačních knihoven byla ověřena pomocí přístrojů Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA) a 2200 TapeStation (Agilent Technologies, USA). Sekvenační analýza proběhla za použití komerční sady NovaSeq 6000 S1 v1.5 Kit (100 cyklů), na přístroji NovaSeq 6000 (obojí Illumina, USA). Po zpracování dat následovalo mapování získaných dat, a to pomocí databáze miRBase v 22 a miraligner tool v 3.2. Získaná data byla statisticky zhodnocena v programu R environment v 4.0.4. Analýza diferenciální exprese byla provedena pomocí DESeq2 package v 1.30.1.

Při porovnání pacientů s a bez progresu bylo identifikováno 26 významně dysregulovaných miRNA ($p > 0,05$). Dále byl mezi těmito dvěma skupinami porovnán vývoj hladin miRNA v průběhu čtyř časových bodů.

Naše pozorování naznačují, že by cirkulující miRNA mohly sloužit jako potenciální biomarkery progresu u pacientů s IS.

Podporováno grantem MZ ČR AZV (reg. č. NU21-08-00521).

Princip a užití multimodálních zobrazovacích metod v diagnostice epilepsie

Pavel Říha^{1,2}, Ivan Rektor^{1,2}

¹CEITEC-Central European Institute of Technology, Multimodal and Functional Neuroimaging Research Group, Masaryk University, Brno, Czech Republic

²The First Department of Neurology, St. Anne's University Hospital and Medical Faculty of Masaryk University, Brno, Czech Republic

Úvod: Nejčastějším způsobem léčby farmakorezistentní epilepsie s vysokou šancí na zlepšení stavu je resekce epileptické zóny (EZ). Úspěšnost těchto operací přímo závisí na přesnosti lokalizace EZ, k jejímuž zpřesnění lze s výhodou využít pokročilé neuro-zobrazovací techniky.

Metodika: Do studie bylo zahrnuto 25 úspěšně operovaných MR-negativních pacientů, všichni pacienti podstoupili standardní předoperační vyšetření a experimentální MR protokol. V rámci klinického vyšetření a experimentálního protokolu byla na MR, PET a SPECT změřena a následně zpracována široká paleta zobrazovacích metod, které lze rozdělit na strukturní a funkční. Strukturní metody byly měřeny pomocí MR, konkrétně T1 + FLAIR sekvence pro morfologické analýzy a difuzní zobrazování pro zkoumání tkáňové mikrostruktury. V multimodálním funkčním zobrazování založeném na MR, PET a SPECT jsme se následně zaměřili na analýzu prokrvení mozku v iktálním (SPECT) i interiktálním (ASL) stavu, metabolickou aktivitu mozku (PET) a fMRI analýzy založené na přirozených fluktuacích mozkové aktivity (ReHo, ALFF) měřených pomocí BOLD odezvy. Celkem bylo zpracováno až 37 metod na pacienta, ve kterých byly pomocí hierarchického clusterování identifikovány vzájemně si podobné metody a z jednotlivých podobných clusterů vybráni nejpřesnější reprezentanti. Následně byla u vybraných metod vyhodnocena přesnost detekce epileptické zóny pomocí porovnání s resekovanou oblastí u úspěšně operovaných pacientů.

Výsledky: Nejlepších výsledků v lokalizaci EZ u operovaných pacientů dosáhl PET a ictal/interiktal SPECT (SISCOM) následovaný MRI výpočetními metodami, jmenovitě: šířka kortexu (cortical thickness), mean diffusivity, mean kurtosis, objem šedé hmoty (GMV), funkční regionální homegenita (ReHo) a intenzita šedé hmoty (GMC).

Závěr: Srovnání nám poskytlo žebříček nejúspěšnějších metod pro lokalizaci EZ u MR-negativní epilepsie. Na prvním místě je PET, SISCOM a vybrané metody zpracování MR dat. Shoda s těmito metodami nejlépe predikuje lokalizaci EZ vedoucí k úspěšné chirurgické léčbě.

Bioenergetic parameters of the lymphoma cells under the action of thiazole derivative in complex with polymeric nanoparticle

Shalai Ya., Ilkiv M., Mazur H., Manko B., Babsky A.

Biology Faculty, Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevskyyi Str., 4, 79005 Lviv, Ukraine

✉ Yaryna.Shalay@lnu.edu.ua

Mitochondria play an important role in cancer cells' survival through an indirect action mediated by reactive oxygen species or directly through mitochondrial biogenesis because energy production also enables the synthesis of many molecules required for cellular biosynthesis, growth and proliferation (Liu et al., 2020). Studying the mechanisms of glycolysis, oxidative phosphorylation and changes in the mitochondrial membrane potential of tumor cells is a perspective direction in design of effective next-generation anticancer drugs.

The effects of BF-1 (N-(5-benzyl-1,3-thiazol-2-yl)-3,5-dimethyl-1-benzofuran-2-carboxamide) (Ostapiuk et al., 2022), PEG-based polymeric nanoparticle Th3 (Mitina et al., 2020) and their complex Th4 on the processes of cellular respiration and changes of mitochondrial membrane potential of murine NK/Ly lymphoma cells were studied. The rate of oxygen uptake in intact and permeabilized NK/Ly cells was recorded by a polarographic method using a Clark electrode. The mitochondrial potential relative values were registered using fluorescence TPM (Tetramethylrhodamine) dye. Fluorescence microscopy data were analyzed using the ImageJ computer program. Mathematical and statistical processing of research results was carried out using the Microsoft Office Excel program.

It was investigated that complex of BF1 + PEG-PN (Th4, 10 μ M), but not unconjugated BF1, significantly increased the glucose-based basal respiration rate of tumor cells. Fluorescent microscopy showed a significant decrease in mitochondrial potential of cells with Th4, but not with unconjugated BF1.

BF1 and its complex with PEG-containing polymeric nanoparticle significantly increase the respiration rate and decrease mitochondrial potential of NK/Ly cells. Thus, thiazole derivative BF1 may realize its antitumor effect on cancer cells by promoting mitochondrial dysfunction.

Optimalizace přípravy syngenních myších modelů pro účely studia procesů souvisejících se stresem endoplazmatického retikula

Kamila Součková¹, Barbora Vavrušáková², Kateřina Vašíčková², Lukáš Morán^{2,3}, Táňa Macháčková¹, Matej Jasík¹, Zuzana Nimmertondlová¹, Lenka Krejčí², Ondřej Slabý^{1,4}, Marek Svoboda²

¹Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova univerzita, Brno 11949@mail.muni.cz

²Výzkumné centrum aplikované molekulární onkologie (RECAMO), Masarykův onkologický ústav, Brno

³Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

⁴Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

✉ 11949@mail.muni.cz

Karcinom ovaria (OC) a karcinom ledviny (RCC) jsou z důvodu vysoké infiltrace T-buňkami považovány za imunogenní typ nádoru. Navzdory tomu, že v posledních letech bylo úspěšně zavedeno mnoho nových imunomodulačních léčebných postupů, prognóza pacientů s pokročilým nebo metastazujícím onemocněním je stále nepříznivá. Protinádorová imunoterapie se stala jedním ze základních přístupů v oblasti léčby nádorových onemocnění a prokázala terapeutickou účinnost u řady onkologických onemocnění. Imunitní odpověď hraje v komplexní interakci mezi nádorem a jeho hostitelským prostředím (nádorové mikroprostředí) dvojí roli – může růst nádoru buď stimulovat, nebo tlumit. Stres endoplazmatického retikula (ERS), charakteristický hromaděním chybně složených proteinů, je klíčovým induktorem zánětu podporujícího vznik nádoru. Zmírnění nebo modulace ERS by mohla potenciálně zlepšit „imunitní dohled“ a tedy i odpověď na imunoterapii. Podle naší hypotézy jsou imunitní buňky významně ovlivňovány nepříznivými podmínkami panujícími v nádorovém mikroprostředí. Aby se vypořádaly s vnějšími i vnitřními stresovými podněty, musí zapojit signální dráhy pro odpověď na ERS. Zmírnění ERS pomocí modulátorů stresu, kterým je například tauroursodeoxycholová kyselina (TUDCA), by mohlo posílit protinádorovou imunitu. Jedním z cílů naší studie bylo ověřit, zda zmírnění ERS pomocí TUDCA může zvýšit protinádorový účinek imunoterapie *in vivo* pomocí syngenních myších modelů OC (myší kmen C57BL/6J01a + myší buněčná linie ID8 modifikovaná VEGF) a RCC (myší kmen Balb/c + myší buněčná linie RenCa). Náš příspěvek shrnuje dosavadní výsledky a pozorování vyplývající z optimalizace přípravy myších modelů, podávání TUDCA a imunoterapie.

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví České republiky, grant č. NU21-03-00539.

Vliv stresu endoplazmatického retikula na imunitní dohled u ovariálního a renálního karcinomu

Barbora Vavrušáková¹, Lukáš Moráň^{1,2}, Lenka Krejčí¹, Kamila Součková³, Marek Svoboda¹

¹Výzkumné centrum aplikované molekulární onkologie (RECAMO), Masarykův onkologický ústav

²Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

³Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova univerzita

✉ barbora.vavrusakova@mou.cz

U mnoha onkologických onemocnění vykazuje imunoterapie značnou terapeutickou účinnost a stává se základem protinádorové léčby. U řady pacientů se však vyvinou mechanismy rezistence spojené s progresí onemocnění. Pro pacienty s pokročilým onemocněním představují renální (RCC) i ovariální karcinom (OC) značné riziko, s 5letým přežitím méně než 20 %.

V nádorovém mikroprostředí hraje imunitní reakce v komplexní interakci s nádorem dvojí roli (pro-/protinádorová), se schopností podporovat i potlačovat růst nádoru. Faktory nádorového mikroprostředí jako nízké pH a hypoxie, způsobují stres endoplazmatického retikula (ERS). Imunitní buňky vystavené ERS postrádají antigenní prezentaci, vykazují supresorový fenotyp a mohou iniciovat apoptózu. Zmírnění ERS může být prospěšné pro imunitní dohled a odpověď na imunoterapii.

V našem výzkumu se zaměřujeme na studium nádorově-imunitní interakce ve vztahu k ERS u OC a RCC. V podmínkách *in vitro* jsme modulovali ERS u kokultur nádorových a imunitních buněk pomocí ERS induktoru tunicamycinu a chemického chaperonu TUDCA. Poté jsme analyzovali buněčnou viabilitu, genovou expresi a hladiny markerů ERS (BiP, CHOP, PERK) a imunitní buněčné aktivity (IL-2, IFN γ , FoxP3, PD-1), migraci, interakci a formaci nádorových sféroidů a infiltraci imunitních buněk. Dále jsme analyzovali ERS a imunitní profily v klinických vzorcích nádorů od pacientů s OC a RCC léčených konvenční terapií/imunoterapií.

Zmírnění ERS zvýšilo infiltraci imunitních buněk do nádorových sféroidů a snížilo expresi BiP a PERK v PBMC. Zmírnění ERS snížilo viabilitu nádorových buněk v kokultivaci, což naznačuje zvýšenou účinnost reakce imunitních buněk. Navíc jsme pozorovali omezený růst a migraci nádorových buněk v těchto kokulturách spolu se zvýšenou expresí BiP a CHOP a zvýšeným poměrem CHOP/BiP. Tyto výsledky dáváme do souvislosti s molekulárním pozadím ERS ve vzorcích pacientů, kde pozorujeme pozitivní korelaci mezi dobrým klinickým výsledkem, vyšší infiltrací lymfocytů v místě nádoru a zvýšenými hladinami BiP a CHOP u nádorových buněk.

Tato studie je podporována Ministerstvem zdravotnictví České republiky (NU21-03-00539).



ČESKO-SLOVENSKÁ
BIOLOGICKÁ SPOLEČNOST, z. s.

CTCAAAGTCTAGAGCCACCTTGGACAGCTAGTCTTGGGCTCCGGGGACACTTTGCGTTCGGGCTGGGA
GCGTGCCTTCCGCTGACGCTTGGAGCCAGACTGCCTTCCGGGTCAGTCCATGGAGGA
GCCGCCTGCTGCTGAGCCCCCTCTGAGTCCGAAACATTTTCAGACCTATGGAAACTACTTCCCTGA
AAACAAGTTCTCTCCCCCTTGCCGTCCCAAGCAATGGATGATTTGATGCTGTCCCCGGACGATATTGAACAATG
GTTCACTAGACCCAGGTCCAGATGAAGCTCCCAGAATGCCAGAGGCTGCTGCCCCCGTGGCCCTGCACCAGC
AGCTCCTACCTGGCGGCCCTGCACCAGGCCCTCCTGGCCCTGTATCTTCGTCCCTTCCCAGAAAACCTA
CCAGGGCAGCTATTTTCTTCTGCTTCTCCCTTCTGGGACAGCSAAATCTTCTGACTTGCACGTACTCCC
TGCCCTCAACAAGATCTTTTCTAACCTCCCTGAACTCTGAGCACTGTCTTCTTATTCCACACCCCCGCC
CGGCACCCGGTCCCGGCCATGGCCATCTACAAGATCCAGGACATGACGGACTTGTGAGGGCGTGCSSCC
CCATGAGCGCTGCTCAGATAGCGATGGTCTGGCCCCCTCAGCACTTATCCAGTGBAAGGAATTTGCGTGT
GGACTATTTGGATCAGAGAAACACTTTTCCACATAGTCTGCTGCTGCCCCCTTCCGCTCCTGACCTTGGCTCTGA