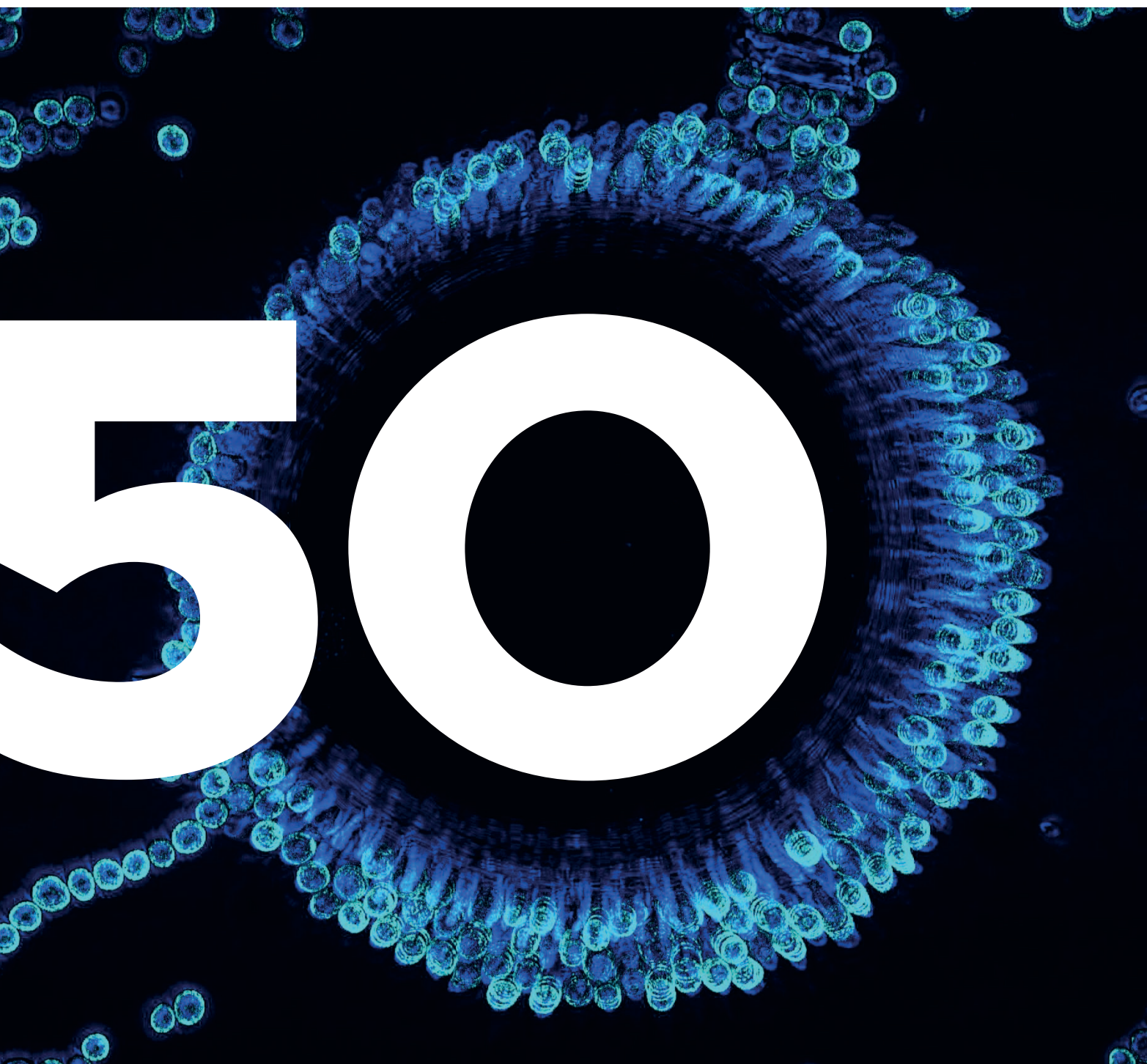


vesmír



speciální neprodejné vydání – www.vesmir.cz



50 let špičkového biomedicínského výzkumu

v Ústavu experimentální medicíny AV ČR

50 let špičkového biomedicínského výzkumu

v Ústavu experimentální medicíny AV ČR



Ústav experimentální medicíny Akademie věd České republiky (ÚEM AV ČR) slaví padesát let své existence. Tento milník je příležitostí ohlédnout se za historií, významnými úspěchy a přínosem ústavu v oblasti biomedicínského výzkumu, ale také zamyslet se nad výzvami, kterým dnes čelí experimentální medicína v České republice i ve světě.

ÚEM AV ČR byl založen v roce 1975 s cílem propojovat základní a aplikovaný výzkum v biomedicině. V tehdejší Československu představoval průkopnickou instituci, která do studia lidského zdraví a nemocí přinesla nové metody a technologie. Zpočátku se výzkumné týmy soustředily na oblast neurobiologie, toxikologie a regenerativní medicíny – obory, které zůstávají významnými pilíři činnosti ústavu dodnes.

Od svého založení ústav těží z interdisciplinárního přístupu a mezinárodní spolupráce. Klíčovým faktorem úspěchu je rovněž podpora mladých vědců a aktivní zapojení do

vzdělávacích programů, které přitahují studenty nejen z České republiky, ale i ze zahraničí.

V současnosti patří ÚEM AV ČR mezi přední vědecko-výzkumné instituce v České republice zaměřené na základní biomedicínský výzkum. Jeho hlavním cílem je objevování základních principů onemocnění lidského těla na buněčné a molekulární úrovni, což má přímý dopad na vývoj nových diagnostických a terapeutických postupů.

Pohled do historie

ÚEM AV ČR vznikl z rozhodnutí prezidia Československé Akademie věd (ČSAV) 1. ledna 1975 sloučením čtyř samostatných laboratoří ČSAV – Laboratoře plastické chirurgie, Laboratoře fyziologie a patofyziologie zrakového analyzátoru, Otolaryngologické laboratoře a Laboratoře ultrastruktury buněk a tkání. Všechny čtyři laboratoře mají svůj původ v padesátých letech, v období, kdy

byla založena převážná většina ústavů Akademie věd. Osobnosti, které stály při zrodu zmíněných pracovišť, patří mezi významné osobnosti české medicíny a výzkumu.

Profesor **František Burian** je považován za zakladatele české školy plastické chirurgie. V roce 1927 založil v Praze první specializované pracoviště rekonstrukční chirurgie, které bylo vůbec jedním z prvních na světě. V roce 1939 se Československo stalo celosvětově také první zemí, kde byla plastická chirurgie oficiálně uznána jako samostatný medicínský obor. Založil Klinikou plastické chirurgie, v níž dlouhá léta působil jako přednosta a v níž roku 1953 vzniklo první oddělení popálenin v Československu. Kromě vynikající klinické kariéry byl profesor Burian zaujat i vědeckými aspekty problematiky a z jeho podnětů vznikly první studie o transplantační imunitě, genetice a terapii vrozených vad, zvláště pak rozštěpů patra. Právě na základě vědeckých poznatků a zájmů prof. Buriana vznikla při jeho klinice Laboratoř plastické chirurgie.

Profesor **Jaromír Kurz** byl významný český oftalmolog, který zásadně přispěl k rozvoji očního lékařství v Československu. Působil jako přednosta 2. oční kliniky na tehdejší Fakultě všeobecného lékařství, dnes 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy. Jeho vědecký zájem se soustředil především na oblast neurooftalmologie. Oftalmologická laboratoř pod jeho vedením intenzivně spolupracovala s profesorem Wichterlem na testování kontaktních čoček.

Profesor **Antonín Přecechtěl** byl klíčovou osobností moderní české otorinolaryngologie a jeho kariéra je nerozlučně spjata s vědeckým pokrokem v této oblasti. Byl znamenitý chirurg a dlouholetý přednosta Ušní, nosní a krční kliniky Fakultě všeobecného lékařství Univerzity Karlovy. Věřil, že lékařská praxe musí být pevně zakotvena ve vědeckém poznání. Založil Otolaryngologickou



laboratoř, která se stala centrem výzkumu v oblasti patofyziologie ušních, nosních a krčních chorob. Laboratoř pod jeho vedením prováděla průkopnický výzkum v oblasti akustiky a sluchových poruch. Tyto studie měly přímý dopad na vývoj sluchových pomůcek a na terapii pacientů se ztrátou sluchu.

Jediný z přednostů, který nebyl klinikem, byl profesor **Jan Wolf** – významný český histolog a zakladatel elektronové mikroskopie v Československu. Zpočátku se věnoval studiu Langerhansových ostrůvků a chrupavky. V roce 1937 vyvinul mikoreliéfní metodu, která umožnila získávat plastické obrazy tkání, čímž položil základy plastické histologie. Po válce získal první elektronový mikroskop a stal se průkopníkem české elektronové mikroskopie.

Jak je vidět, ÚEM AV ČR má za sebou bohatou historii. Jeho počátky jsou spjaty s budovou bývalého Borůvkova sanatoria. Toto známé zdravotnické zařízení, původně sloužící movitější klientele první republiky, se nacházelo v Legerově ulici v Praze. Po druhé světové válce byla budova převedena do rukou státu a přeměněna na Kliniku popálenin, vedenou již zmíněným prof. Burianem. Později budovu získala Akademie věd a zřídila zde společné pracoviště Ústavu experimentální medicíny a Farmakologického ústavu ČSAV, které tyto prostory využívaly k průkopnickému výzkumu v oblasti biomedicíny. Kromě toho zde sídlilo také vydavatelství Academia. V roce 1993 se ústav přestěhoval do nové budovy v areálu biomedicínských ústavů AV ČR na Vídeňské ulici v Praze-Krči, kde sídlí dodnes. Budova bývalého Borůvkova sanatoria byla mezitím několikrát přestavěna, od roku 2023 prochází rekonstrukcí a bude opět sloužit novým účelům. Dědictví těchto prostor však zůstává navždy spojeno nejen s tragickými událostmi úmrtí Josefa Toufara a Jana Palacha, ale také s významnými kapitoly české vědy a medicíny.

Současnost

ÚEM AV ČR se během své padesátileté existence zařadil mezi přední vědecké instituce nejen v České republice, ale i na mezinárodní úrovni. Důkazem je rozsáhlá spolupráce s prestižními zahraničními univerzitami, nemocnicemi a dalšími výzkumnými centry, například s Univerzitou v Cambridge nebo s King's College London. Publikace vědců ÚEM AV ČR jsou pravidelně citovány v renomovaných odborných časopisech, což svědčí o kvalitě a relevanci jejich



práce. Ústav je součástí řady významných výzkumných infrastruktur – EATRIS, CzechBioimaging, Euro-Bioimaging a NanoEnviCz. Od roku 2021 je rovněž držitelem prestižního ocenění HR Award,

pro nové terapeutické přístupy. Mezi klíčové oblasti neurovědního výzkumu na ÚEM AV ČR patří také studium neuronů a gliových buněk a jejich nezastupitelné úlohy například při hojení míšních poranění.

Biomedicínským výzkumem k efektivní diagnostice a léčbě

jež uděluje Evropská komise jako známku kvality v oblasti péče o zaměstnance.

V laboratořích ÚEM AV ČR vznikají poznatky, které mají potenciál ovlivnit životy milionů lidí. Špičkové technologie, mezinárodní týmy vědců a inspirativní pracovní prostředí jsou základem inovací, jež přispívají k pokrokům medicíny.

Výzkum ÚEM AV ČR se zaměřuje na širokou škálu biomedicínských témat. Mezi klíčové oblasti patří:

Neurovědy: Pracovníci ústavu používají experimentální modely, které pomáhají lépe pochopit mechanismy patologií centrálního nervového systému, především neurodegenerativních onemocnění, poruch sluchu a ischemického a traumatického poškození mozku nebo míchy. Tato práce umožňuje identifikovat potenciální cíle

Vědci z ÚEM AV ČR se též intenzivně věnují zkoumání interakcí mezi gliovými buňkami a neurony během ischemického poškození mozku, jejichž pochopení má zásadní význam například při studiu patologických procesů spojených s cévní mozkovou příhodou.

Nádorová onemocnění: Zcela klíčovou oblastí je snaha o porozumění onkologickým onemocněním na molekulární úrovni a studium možností přizpůsobení jejich léčby individuálním potřebám pacientů. Díky genetickému profilování je dnes možné vyvinout cílené terapie, které minimalizují vedlejší účinky a maximalizují účinnost léčby. Vědci z ÚEM AV ČR studují genetické a epigenetické změny, které vedou k transformaci normálních buněk na nádorové. Zvláštní

Věděli jste, že...?

Hlavním cílem základního výzkumu není okamžitá aplikace, ale získání hlubšího pochopení fyziologických a patologických procesů, které slouží jako základ pro aplikovaný výzkum a vývoj nových léčebných postupů.



pozornost je věnována mechanismům mutací, které ovlivňují buněčné cykly, apoptózu (programovanou buněčnou smrt) a imunitní odpověď organismu.

Regenerativní medicína: Výzkum kmenových buněk a genové terapie otevírá možnosti regenerace poškozených orgánů a tkání. Ústav například testuje metody, jak obnovit nervová vlákna u pacientů s poraněním míchy.

Toxikologie a ochrana životního prostředí: ÚEM AV ČR dlouhodobě studuje vliv toxických látek na lidské zdraví a životní prostředí. Vědci se zaměřují na

účinky nanomateriálů, znečišťujících látek a chemikálií, přičemž jejich práce přispívá k tvorbě bezpečnostních standardů a legislativy v této oblasti.

Biomateriály a tkáňové inženýrství:

Další revoluční oblastí výzkumu je vývoj biomateriálů, které mohou nahradit poškozené části těla, například kosti nebo chrupavky. Tyto materiály jsou navrhovány tak, aby byly biokompatibilní a podporovaly regeneraci vlastních tkání.

Vývojová biologie: Cílem výzkumu je porozumět genetickým a buněčným mechanismům, které řídí vývoj organismu. Vědci k tomu využívají pokročilé modely, jako jsou geneticky upravené myši a embrya ryb *Danio rerio*, aby lépe porozuměli příčinám neplodnosti nebo vrozených vad u lidí.

Servisní skupina mikroskopie

Špičkový výzkum se neobejde bez moderních technologií a odborného zázemí. Servisní skupina mikroskopie v ÚEM AV ČR zajišťuje vědcům přístup k nejmodernějším zobrazovacím technologiím. Díky širokému spektru mikroskopických metod umožňuje detailní pohled do struktur živých organismů, a to včetně těch nejjemnějších biologických procesů.

Každé měření biologického vzorku má do určité míry invazivní charakter. V mikroskopii je mírou invazivity především množství světla, kterému vzorek vystavíme. Díky technologickému pokroku lze nyní vzorky vystavit jen minimálním dávkám světla, což umožňuje sledování buněčných procesů bez jejich narušení.

Přesto je většina mikroskopických analýz stále prováděna *in vitro*, tedy „v misce“, a často na fixovaných (umrtvených) preparátech. Unikátní metodou je tzv. intravitální mikroskopie, která umožňuje pozorovat buňky v jejich přirozeném prostředí (*in vivo*), tzn. přímo v organismu. Nejmodernější systémy v ÚEM AV ČR dokážou současně sledovat aktivitu až tisíce neuronů v mozku myši, aniž by ovlivnily jeho funkčnost nebo strukturu. Tento přístup, nazývaný vícefotonová fluorescenční mikroskopie, otevírá nové možnosti pro biologický a neurovědní výzkum. Díky zapojení do národní infrastruktury Czech-Bioimaging a evropské sítě Euro-Bioimaging má Servisní skupina mikroskopie na ÚEM AV ČR přístup k nejvyspělejšími technologiím v biologickém a lékařském zobrazování.

Výuka

ÚEM AV ČR se významně podílí na pregraduální a postgraduální výuce studentů prostřednictvím úzké spolupráce s předními univerzitami, jako je Univerzita Karlova, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze nebo České vysoké učení technické v Praze. Vědci z ústavu se zapojují do výuky formou přednášek, seminářů a praktických laboratorních kurzů, kde studentům zprostředkovávají nejnovější poznatky z biomedicíny a moderních vědeckých metod.

Popularizace vědy

Kromě vlastního biomedicínského výzkumu je jednou z priorit ÚEM AV ČR i aktivní přístup k popularizaci a komunikaci vědy pro širokou veřejnost. Tyto aktivity podporují dialog mezi vědci a společností, inspiřují mladé lidi ke studiu přírodovědných a technických oborů a posilují zájem veřejnosti o aktuální vědecká témata. Ústav pravidelně pořádá veřejné přednášky, exkurze, odborné stáže a účastní se nejvýznamnějších popularizačních akcí, jako je Noc vědců, Týden mozku, Veletrh vědy, Festival vědy nebo Týden Akademie věd ČR. V rámci těchto akcí se vědci z ÚEM AV ČR snaží jednoduchou a srozumitelnou formou přiblížit veřejnosti tajuplný svět vědy.

Na následujících stránkách vás čekají inspirativní popularizační články, které vás provedou jednotlivými odděleními ÚEM AV ČR a přiblíží vám jejich průlomové objevy a výzkumné aktivity.

Expozice ÚEM AV ČR na Veletrhu vědy



Helena Fulková

Když selhává příroda

Moderní přístupy v reprodukční medicíně

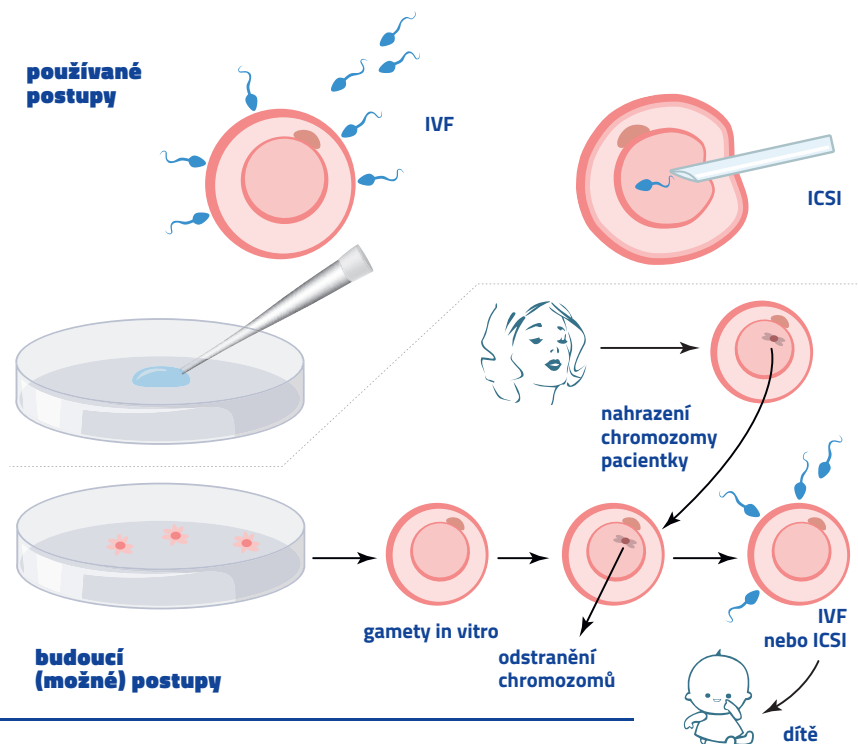
„Omne vivum ex ovo – vše živé pochází z vejce,” konstatoval už před pěti sty lety anglický lékař William Harvey (1578–1657). Co ale dělat, když je samičích zárodečných buněk proklatě málo a přirozené cesty početí selhávají? A co všechno se musí stát, aby bylo vejce schopné přeměny v embryo? Na tyto otázky se snažíme v našem oddělení odpovědět.

Samice savců se rodí s definovaným počtem oocytů. Během života už další nevznikají, a jejich počet tak s postupem času klesá. Stále častěji čelíme tomu, že oocyty nejsou v dobré kondici nebo jich není dostatek, takže nelze spoléhat na přirozenou reprodukci. Týká se to nejenom lidské populace, v níž pozorujeme snižování plodnosti u žen i mužů, ale také populací kriticky ohrožených zvířat, u nichž klesl počet jedinců natolik, že přirozené množení už není možné.

Někdy pomůže „obyčejné“ oplození in vitro (IVF, in vitro fertilization), tedy pouhé smíchání samičích a samičích pohlavních buněk v laboratorních podmínkách. Vzniklá embrya se následně vpraví do dělohy ženy či samice daného druhu. V případě kriticky ohrožených zvířat je možné jako náhradní matku použít i samici příbuzného druhu. První savce (králík) se pomocí IVF narodil již v roce 1959, prvním takto počatým dítětem byla Louise Brownová o devatenáct let později (1978).

Někdy však ani tato cesta nepomáhá a je nutné použít sofistikovanější postupy. V případě omezeného počtu samičích pohlavních buněk či nepohyblivosti spermií můžeme použít i přímou injekci spermie do vejce a doufat, že další vývoj bude probíhat bez komplikací. Tato technika se hojně využívá v lidské asistované reprodukci pod zkratkou ICSI (z angl. intracytoplasmic sperm injection). První použití ICSI je datováno již do r. 1976, kdy Ryuzo Yanagimachi injikoval spermiie do křeččích vajec. První dítě se po úspěšné ICSI narodilo v r. 1992.

Jak je u obou metod vidět, je zapotřebí zhruba dvacet let pro testování efektivity a bezpečnosti na zvířecích modelech, než je daný postup aplikován v lidské medicíně.



Současnost a budoucnost asistované reprodukce. Dnes se používá umělé oplození in vitro (IVF) a injekce spermií do vejce (ICSI). V budoucnu by mohlo být možné vypěstovat umělé oocyty a vnést do nich dědičnou informaci ženy, která jinou cestou mít vlastní dítě nemůže.

V některých případech však ani IVF, ani ICSI nepomohou. Pro ženy tak zbývá jediná možnost: využití oocytů dárkyně. Narozené dítě však nebude s matkou geneticky příbuzné, což není pro spoustu žen přijatelné. U ohrožených druhů je situace ještě komplikovanější, protože vejce prostě nejsou k dispozici. V roce 2012 se však začalo blýskat na lepší časy. Japonským vědcům se u myši podařilo derivovat umělé oocyty zcela in vitro. Od té doby se sice objevila různá vylepšení, avšak efektivita celého procesu je zatím žalostně nízká. A o bezpečnosti gamet derivovaných in vitro zatím nemůže být ani řeč.

Lze očekávat, že v případě umělých gamet bude prvním krokem kombinace cytoplasmů, tj. vajec s odstraněnou genetickou informací, s DNA z oocytu dárkyně. Toho lze docílit jejím přenosem a injekcí do cytoplasmu podobným postupem jako při ICSI. Právě na tyto techniky se specializujeme v našem oddělení. V případě, že od prvního úspěšného použití u zvířat k jeho aplikaci v lidské medicíně uplyne stejná doba jako u předchozích metod, mohli bychom se umělých gamet u lidí dočkat za dalších deset let. Do té doby se budeme držet konvenčnějších přístupů, na umělé gamety však budeme připraveni.

ODDĚLENÍ PLASTICITY BUNĚČNÉHO JÁDRA se zabývá výzkumem časné embryogeneze savců a změnou plasticity buněčného jádra, která provází proces diferenciaci a dediferenciaci. Tyto procesy jsou doprovázeny výraznou změnou morfologie jader i epigenetickou remodelací chromatinu. Cílem oddělení je charakterizovat vliv jednotlivých jaderných komponent a definovat roli subjaderných organel v tomto procesu.

VEDOUcí ODDĚLENÍ: Mgr. Helena Fulková, Ph.D.

Ondřej Machoň

Tajemství embryonálního vývoje

Aktivace genů jako podmínka buněčné diferenciace

Vývojová biologie sleduje cestu od jedné buňky, oplozeného vajíčka, k novorozenci s vyvinutými a funkčními orgány. Snažíme se objasnit biologické principy, jimž embryogeneze, tedy růst zárodku a postupná specializace jeho buněk, podléhá.

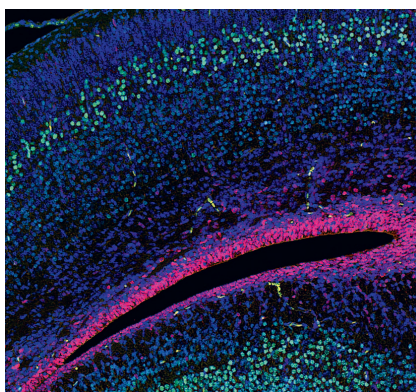
Zárodečný vývoj mnohobuněčných organismů je založen na buněčné diferenciaci, při které se buňky specializují na určitou funkci. Funkční specializace vyžaduje nasazení celé armády enzymů a strukturních proteinů, které buňce umožní plnit daný úkol. Například beta-buňky ve slinivce se neobejdou bez sady enzymů pro produkci inzulínu, ale nepotřebují vyrábět neurotransmitery, které jsou pro změnu nezbytné pro funkci nervových buněk.

Všechny buňky lidského těla (s výjimkou bezjaderných červených krvinek) přitom disponují stejnou genetickou výbavou, sestávající z asi 25 000 genů. Pro správný vývoj organismu je proto zcela zásadní přesný výběr genů, které jsou v jednotlivých buněčných typech aktivní.

Lidský genom si lze představit jako knihu s třemi miliardami písmen, v níž jedna kapitola představuje jeden gen. V žádné specializované buňce se však nečtou všechny kapitoly, ale pouze ty, které buňka potřebuje k plnění své specifické funkce. Při vývoji zárodku proto mluvíme o časové a prostorové aktivaci genů vedoucí k produkci proteinů s požadovanou funkcí. Jaké jsou ale mechanismy, které rozhodují o přečtení správných „kapitol“ (genů) a přeskočení těch nedůležitých?

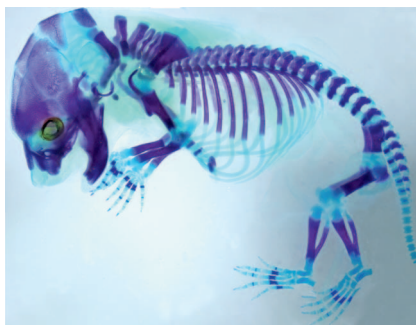
Neurony a pomocné buňky (např. gliové buňky, oligodendrocyty) vznikají z nervových kmenových buněk jejich řízenou diferenciací a specializací. Například v mozkové kůře se nachází během embryogeneze mohutná zárodečná vrstva kmenových buněk, z které nově vznikají

1. *Histologický řez mozkovou kůrou novorozené myši. Kmenové buňky jsou označeny fialově, diferencované nervové buňky v druhé kortikální vrstvě a v hipokampu zeleně.*



neurony a glie migrují do předem daných vrstev mozkové kůry, kde se usazují a začínají tvořit funkční spoje (**obr. 1**). V dospělém mozku je tato zárodečná vrstva minimální a přetrvává pouze v oblastech

2. *Kosti (fialové) a chrupavky (modré) v zárodku myši tři dny před narozením.*



postranních ventrikul a v gyru, části hipokampu.

Nervové kmenové buňky lze kultivovat in vitro, namnožit je a navodit jejich diferenciaci. Pochopení jejich vlastností může v budoucnu pomoci v léčbě neurodegenerativních onemocnění. Naše oddělení například popsalo klíčovou roli transkripčních faktorů Tcf na formování hipokampu. Pokud je gen pro jeden z těchto faktorů v experimentálních myších uměle poškozen, aktivace genů se naruší a velká část hipokampu se nevytvoří. Mozek pak není plně funkční a chybí mu i důležitý zdroj nervových kmenových buněk.¹

K zvlášť fascinujícím embryogenetickým procesům patří formování chrupavek a kostí v hlavové a obličejové části (**obr. 2**). Na rozdíl od dlouhých kostí (např. v končetinách) jsou tvary a velikosti hlavových kostí velmi různorodé. V počátku jsou určovány přesným shlukováním specifických mezenchymálních buněk, z nichž následně vznikají buňky kostní tkáně (osteoblasty) a chrupavky (chondrocyty).

Jak se spolu mezenchymální buňky dohodnou na správném seskupení, aby vznikla chrupavka a kost v požadovaném tvaru? Je podivuhodné, že tyto buňky mají původ v zárodečné nervové tkáni v oblasti neurální lišty, z které migrují do obličejové části. Na buňky neurální lišty můžeme proto nahlížet jako na zárodečné kmenové buňky, z kterých se generují nejen nervy a glie, ale i chrupavky a kosti, pigmentové buňky, chlopně v srdci a další části těla. Nedávno jsme popsali, že transkripční faktor Meis2 řídí aktivaci specifických genů v buňkách neurální lišty tak, aby správně proběhla mezenchymální kondenzace a diferenciace kostních a chrupavkových buněčných prekurzorů. Pokud je tento gen poškozen, ať už uměle v myších, nebo spontánně u některých lidských pacientů, mají tyto jedinci malformované obličejové kosti, narušené některé mozkové funkce nebo srdeční patologie.²

ODDĚLENÍ VÝVOJOVÉ BIOLOGIE se zabývá genetickou regulací zárodečného vývoje. Využíváme technologie tkáňově specifických knock-outů (inaktivace genů) v myších k objasnění funkce některých signálních drah a vybraných transkripčních faktorů, které řídí zárodečný vývoj kraniofaciální a vývoj nervové tkáně. Studie na myších modelech jsou doplněny experimenty s embryi modelové ryby dánía pruhozaného (Danio rerio). V těchto experimentálních organismech se snažíme objasnit genetickou podstatu některých lidských vývojových vad.

VEDOUcí ODDĚLENÍ: RNDr. Ondřej Machoň, Ph.D.

1) DOI: 10.1186/s13064-018-0107-8.

2) DOI: 10.1242/bio.052043;

10.3389/fcell.2022.951063; 10.1002/dvdy.731.

Jan Malínský

Co dělá kvasinkám vrásky

Struktura a funkce membránových žlábků

Všechny živé buňky jsou ohraničeny plazmatickou membránou. Ta zdaleka není pouhou bariérou mezi buňkou a jejím okolím, ale vykonává i řadu biologických funkcí, jako je transport živin, iontů a vody, buněčná signalizace apod. Tato funkční rozmanitost je podmíněna tím, že membrána není homogenní, ale její plocha je rozdělena do funkčních domén. Jednou z nejintenzivněji studovaných membránových domén jsou početné žlábků, jimiž je zvrásněna plazmatická membrána buněk mnohých vřecovýtvarných hub a jednobuněčných řas.

V laboratorních podmínkách, tj. za stálé teploty a dostatečného přísunu živin, modelové buňky pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* příliš netrápí, pokud je například cílenou genetickou manipulací těchto vrásek zbavíme. Ve volné přírodě však opakovaně zmrazení a rozmrazení na povrchu sněhové závěje přežijí pouze ty řasy, které žlábků mají, zatímco druhy s hladkou membránou rychle hynou. A patogenní houby (např. půdní plíseň *Beauveria bassiana*, která napadá různé druhy hmyzu, nebo kvasinka *Candida albicans*, původce obtížných mykóz u savců včetně člověka) při absenci žlábků ztrácejí schopnost prorůst do tkáně hostitele a stávají se do značné míry neškodnými.

Membránové žlábků bývají jen několik desítek nanometrů hluboké a několik set nanometrů dlouhé. Jakým způsobem dodává tato miniaturní struktura buňce odolnost ve stresových situacích? Nedalo by se faktu, že umíme žlábků narušit, terapeuticky využít? To jsou otázky, kterými se dlouhodobě zabýváme.

Víme například, že při nedostatku některých živin buňka hromadí v membráně svých žlábků specifické transportní proteiny. Tím zajišťují, že transportéry nejsou recyklovány předtím, než splní svoji funkci. Teprve když je substrátu dostatek, transportér je ze žlábků uvolněn do okolní membrány a recyklován. Prvním transportérem, u kterého bylo toto chování pozorováno, byl argininový přenašeč Can1. Podle

něj dostaly žlábků jméno MCC (z angl. **M**embrane **C**ompartment of **C**an1).

Při zvýšeném membránovém napětí, například při mechanickém nebo osmotickém stresu, se některé žlábků MCC rozpadnou. Uvolní se tím proteinové komponenty, které aktivují buněčnou odpověď na membránový stres. Tou je zejména aktivace biosyntézy membránových lipidů, především sfingolipidů. Po doplnění membrány nově syntetizovanými lipidy se žlábků opět obnoví.

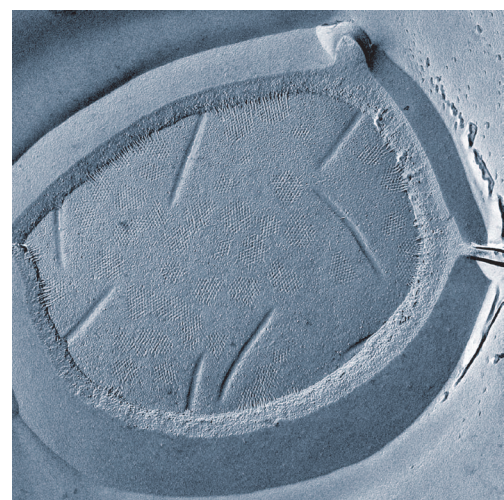
Ne všechny vrásky se však při stresu vyrovnávají. Ukázali jsme, že zatímco se jedny žlábků rozpadnou, jiné se naopak formují, jen s poněkud odlišným složením. Ve spolupráci s kolegy ze Slovenské akademie věd jsme prokázali, že pomocí jednoduchých lipidů lze účinně a obousměrně koordinovat adaptaci na vnější stres s aktivitou mitochondrií, tedy buněčným dýcháním. Konkrétně že prekursor sfingolipidů, ceramidy, regulují metabolismus mitochondriálních fosfolipidů, fosfatidylglycerolu a fosfatidyletanolaminu a že například intenzita degradace fosfatidylglycerolu ovlivňuje množství žlábků MCC na plazmatické membráně.

Kvasinky preferují jako zdroj uhlíku cukr. Když jim dlouhodobě chybí, uloží do žlábků enzym exoribonukleázu, který pro ně bude nezbytný, až se cukr znovu objeví. Kvasinky jsou mistři ve zpracování velkého množství cukru, potřebují k tomu však úplně jiné typy enzymů, než jaké používají k přežití ve stavu nouze. Exoribonukleáza, která rozkládá mRNA, je nezbytná právě tehdy, když je metabolismus buňky třeba od základů přestavět. Její uvolnění ze zásob ve žlábkách poskytne kvasince možnost rychle na změnu prostředí zareagovat. A tady to začíná být obzvlášť zajímavé.

Exoribonukleáza je v evoluci zachována od kvasinek po člověka. A před několika lety se podařilo ukázat, že v synapsích potkaních neuronů reaguje na metabolické podněty úplně stejně jako u kvasinek!

Molekulární podstatu jevu, při kterém se molekuly exoribonukleázy shluknou na jednom místě, aby byly v případě potřeby rychle k dispozici, se teprve snažíme objasnit. Zda tím přispějeme ke zmírnění projevů některých neurodegenerativních chorob nebo zda se látka, která dokáže narušit funkčnost membránových žlábků u patogenních hub, stane antitumorem nové generace, zatím nevíme. Už teď jsme si však jisti, že přijít na to, co dělá kvasinkám vrásky, je důležité.

*Žlábkové mikrodomény v plazmatické membráně kvasinek. Na obrázku z elektronového mikroskopu je část plochy plazmatické membrány kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* zviditelněna metodou mrazového leptání. Typická délka žlábkových invaginací je cca 300 nm.*



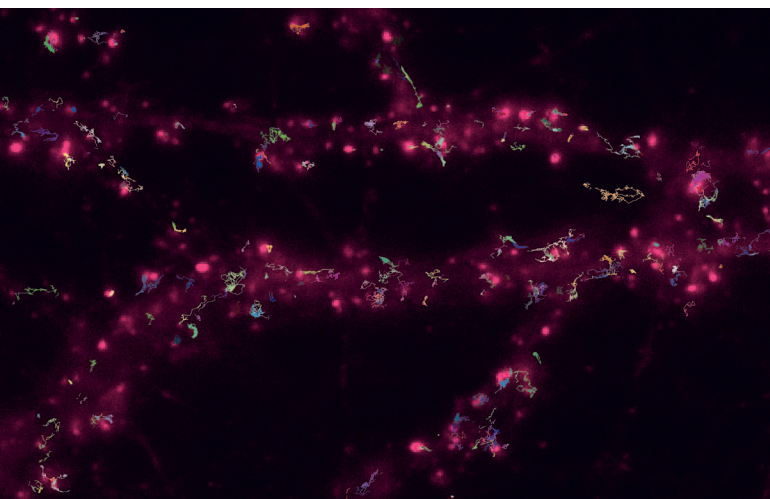
ODDĚLENÍ FUNKČNÍHO USPOŘÁDÁNÍ BIOMEMBRÁN se zabývá výzkumem jemné struktury, dynamiky a biologické funkce membránových mikrodomén. Důraz přitom klademe na jejich zapojení do regulace buněčných procesů v reakci na podněty z okolního prostředí. S maximálním využitím výhod geneticky přístupného kvasinkového modelu zkoumáme zejména roli membránových mikrodomén ve vnímání stresu a stresové adaptaci, v signalizaci a v regulaci buněčného metabolismu.

VEDOUcí ODDĚLENÍ: doc. RNDr. Jan Malínský, Ph.D.

Petra Zahumenská

Receptory v pohybu

Mobilita receptorů NMDA jako klíč k pochopení neurodegenerativních poruch



Mikroskopický snímek trajektorií jednotlivých receptorů NMDA (barevné křivky) a synaptického markeru (červeně) získaný metodou „single-particle tracking“.

Neurony ke své komunikaci využívají jak elektrické, tak chemické signály, které spolu úzce spolupracují. Informace putuje po dlouhém výběžku neuronu (axonu) v podobě elektrického signálu. Když však signál dorazí na konec axonu, nemůže být ve stejné formě předán dalšímu neuronu, protože neurony spolu nejsou v místě kontaktu (synapse) fyzicky spojeny. Elektrický signál se musí v synapsi přeměnit na chemický. K tomu slouží neurotransmitery – chemické látky, které jsou uvolněny do synaptické štěrbině a následně zachyceny receptory, specializovanými bílkovinami v membráně neuronu přijímajícího nervový vzruch.

Jedním typem takových receptorů jsou receptory N-methyl-D-aspartátu (NMDA), které fungují jako iontové kanály. Na ty se váže neurotransmiter glutamát, což způsobí otevření iontového kanálu a umožní vstup iontů vápníku, sodíku a draslíku. Receptory NMDA jsou důležité

pro proces učení a tvorbu paměti, protože hrají zásadní roli v synaptické plasticitě, což je schopnost synapsí měnit svou sílu v reakci na aktivaci neuronu.

Existují dvě hlavní formy synaptické plasticity: dlouhodobá potenciace a dlouhodobá deprese. Při dlouhodobé potenciaci se zvyšuje síla synaptického spojení v důsledku opakované aktivace receptorů NMDA, což zlepšuje komunikaci mezi neurony. Naopak dlouhodobá deprese znamená oslabení synapsí, což může pomoci odstranit nepotřebná nebo neefektivní spojení. Díky synaptické plasticitě může mozek reagovat na měnící se podmínky a ukládat nové informace do paměti. Je to klíčový mechanismus, který nám umožňuje učit se, pamatovat si a adaptovat se na nové situace. Bez správné funkce receptorů NMDA by synaptická plasticita nefungovala efektivně, což by mělo negativní dopad na učení a paměť.

Receptory NMDA se mohou vyskytovat jak v synapsích, tak mimo ně, a také se mohou mezi těmito oblastmi přesouvat, což umožňuje mozku rychle se přizpůsobovat novým informacím a udržovat rovnováhu v přenosu signálů. K udržení rovnováhy přispívá mnoho mechanismů včetně regulace množství receptorů NMDA na povrchu neuronů, jejich lokalizace a povrchové mobility. Narušení této regulace může přispět k různým neurologickým poruchám, jako je epilepsie, schizofrenie či Alzheimerova choroba. Proto je studium lokální organizace a dynamiky receptorů velmi důležité.

V naší laboratoři dokážeme pomocí virových částic vložit do kultivovaných neuronů gen pro receptor NMDA, který chceme zkoumat, s navázanou fluorescenční značkou. Neurony pak pomocí vlastních mechanismů vyrobí příslušný protein a zabudují ho do svých membrán. Díky tomuto značení jsme schopni studovaný protein pozorovat pomocí mikroskopu. Spolu s receptorem NMDA vložíme také gen pro značený synaptický marker k detekci synapsí. Díky velmi specifické drobné sondě, která rozpozná značku na povrchu neuronů, jsme schopni zaznamenávat trajektorie pohybu jednotlivých receptorů pomocí superrezoluční mikroskopické techniky zvané „single-particle tracking“. Z těchto trajektorií získáme informaci o difuzních parametrech jednotlivých receptorů a v kombinaci se signálem synaptického markeru také informaci o jejich lokalizaci v synapsích. Tuto metodu využíváme pro studium mobility a lokalizace receptorů NMDA za přirozených i patologických podmínek. Dále pozorujeme, jak se tyto parametry mění po přidání různých chemických látek, nebo můžeme zkoumat receptory s genetickými změnami, které byly objeveny u pacientů s neurologickými poruchami. To nám umožňuje lépe porozumět procesům, které regulují mobilitu a lokalizaci receptorů NMDA, a tomu, jak narušení této regulace přispívá k patologickým změnám.

ODDĚLENÍ NEUROCHEMIE zkoumá, jak fungují receptory N-methyl-D-aspartátu (NMDA), což jsou iontové kanály v membránách neuronů. Pomocí pokročilých mikroskopických technik studujeme množství receptorů NMDA na povrchu buněk za různých podmínek, jejich povrchovou mobilitu a lokalizaci. Dále zkoumáme, jak genetické změny v receptorech NMDA přispívají k rozvoji nemocí, jako je epilepsie, schizofrenie či Alzheimerova choroba, což je důležité pro pochopení jejich podstaty i pro hledání možných terapií. Součástí naší práce je vývoj nových látek ovlivňujících funkci receptorů NMDA, které by se potenciálně mohly stát základem léčiv pro neurologické poruchy.

VEDOUCÍ ODDĚLENÍ: Mgr. Martin Horák, Ph.D.

Rostislav Tureček a Adolf Melichar

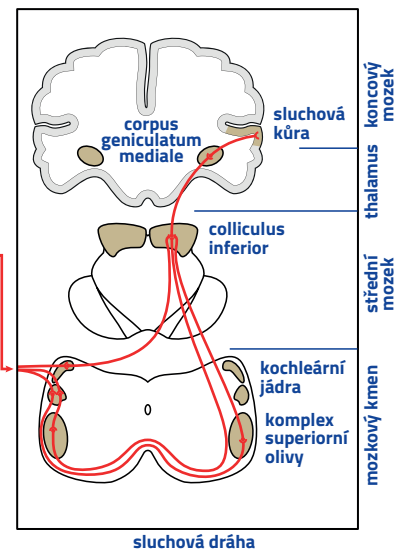
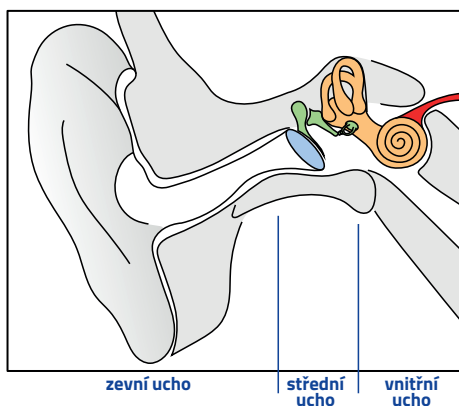
Jak mozek slyší

Zpracování zvukových podnětů ve zdraví i nemoci

Periferní část sluchové soustavy zahrnuje boltec, zevní zvukovod oddělený bubínkem (modrá barva) od středoušní dutiny a v ní uložené tři sluchové kůstky (zelená), které se napojují na hlemýžď ve vnitřním uchu (hnědá). Sluchový nerv (červená) představuje začátek vzestupné centrální sluchové dráhy. Ta je tvořena řetězcem vzájemně propojených shluků neuronů (jader), přenášejícím signály od hlemýžďe do sluchové kůry. Pro přehlednost je znázorněna pouze část vedoucí od jednoho ucha do protilehlé mozkové hemisféry. Dále vidíme hlavní sluchová jádra, která se nacházejí ve vyznačených oblastech mozku a plní specifické funkce při kódování zvukových podnětů. Sluchová kůra ve spánkovém laloku je konečným příjemcem věrné reprezentace spektrálních a časových parametrů zvuku.

Naše sluchové ústrojí představuje komplex periferních struktur vnějšího, středního a vnitřního ucha a centrální nervové sluchové dráhy (viz **obrázek**). Zvukové vlny vstupují do ucha vnějším zvukovodem a rozkmitávají bubínek, který tyto vibrace přenáší přes středoušní kůstky do hlemýžďe ve vnitřním uchu. Uvnitř hlemýžďe, v Cortiho orgánu, se nacházejí vláskové buňky, které mění mechanické vibrace na elektrické signály. Ty jsou pak přenášeny sluchovým nervem do mozku, kde jsou dále zpracovávány a kde nastává vlastní vjem zvukových podnětů. Jedním z cílů neurofyziologického výzkumu je porozumět tomu, jak sluchový systém převádí zvuky do vzorců nervové aktivity, které rozpoznáváme například jako řeč, hudbu nebo blížící se nebezpečí.

K prvotní transformaci akustického podnětu dochází ve vnitřním uchu, kde souhra biomechanických procesů umožňuje zakódování frekvence, intenzity a fáze zvukové vlny do elektrické aktivity sluchového nervu. Mozek díky tomu získává informace o rozmanitosti zvuků v čase. V podkorové části centrální sluchové dráhy jsou signály dále tříděny, integrovány se signály přicházejícími



z nesluchových oblastí a jinak zpracovány. Sluchová jádra mozku hrají klíčovou roli při odfiltrování vjemů nevýznamných zvuků a při kódování rozdílů v čase a intenzitě mezi podněty z levého a pravého ucha. Sluchový systém tak určuje směr a vzdálenost zdrojů zvuku – vytváří topografickou mapu okolního akustického prostoru. Neurony sluchových oblastí středního mozku a thalamu detekují podněty s komplexním vzorem, například frekvenčně a amplitudově modulované zvuky, jejich sekvence nebo kombinace. To je nezbytné pro rozpoznávání komunikačních zvuků včetně řeči.

Vědomé vnímání řeči je jednou z nejdůležitějších funkcí sluchové kůry. Ta je tvořena několika hierarchicky uspořádanými oddíly, které postupně zpracovávají jednotlivé aspekty řeči od jejích základních akustických vlastností až po složité strukturní úrovně jazyka. Sluchová kůra si také vyměňuje širokou škálu informací s ostatními oblastmi mozku, od zrakových přes

motorické až po centra paměti nebo pocitů. Díky tomu můžeme například emocionálně prožívat hudbu.

Správná funkce sluchového systému kriticky závisí na stabilitě nervových obvodů, jejichž základ tvoří vzájemně propojené excitační a inhibiční neurony. Přibývá přitom důkazů, že různé patologické stavy, např. ztráta sluchu po poškození vnitřního ucha, jsou doprovázeny výrazným oslabením inhibiční signalizace ve sluchové dráze. Ukazuje se, že nerovnováha mezi excitací a inhibicí vede k hyperaktivitě sluchových neuronů a k poruchám, jako je tinnitus, nebo dokonce k rozvoji demencí, včetně Alzheimerovy choroby. Současný výzkum na zvířecích modelech lidských onemocnění však naznačuje, že je možné tyto procesy částečně zvrátit a snížit jejich negativní dopady. Podrobné pochopení patofyziologických mechanismů probíhajících ve sluchové dráze je proto důležité pro nalezení nových možností léčby jak sluchu, tak i jiných neurologických onemocnění.

ODDĚLENÍ NEUROFYZIOLOGIE SLUCHU se zaměřuje na pochopení toho, jak sluchový systém detekuje a zpracovává zvukové podněty a jak jejich vjemy ovlivňují fyziologické reakce savců. Zajímá nás zejména zapojení inhibičního synaptického přenosu do těchto procesů a jeho patologické změny u zvířecích modelů sluchových poruch člověka. Používáme vzájemně se doplňující biofyzikální, biochemické a behaviorální přístupy s důrazem na elektrofyziologii a konfokální mikroskopii, včetně zobrazování a řízení aktivity sluchových neuronů in vivo. Spolupracujeme s klinickými pracovišti ve snaze využít poznatky základního výzkumu k identifikaci nových možností léčby ztráty sluchu.

VEDOUcí ODDĚLENÍ: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

Pavel Rössner

Dokážeme se adaptovat?

Znečištěné životní prostředí a naše zdraví

Opakovaně slyšíme, že znečištěné životní prostředí poškozuje naše zdraví, přispívá ke vzniku mnoha nemocí a zkracuje náš život. Platí to však vždy? Nedokáže se organismus se škodlivinami vyrovnávat, zvyknout si na ně – adaptovat se?

Adaptace, definovaná jako schopnost přizpůsobit se nové situaci s cílem zvýšit šanci nebo kvalitu přežití, skutečně v biologii existuje (Vesmír 102, 260, 2023/5). Prvně byla experimentálně doložena u bakterií *Escherichia coli*, kde se projevila zvýšenou odolností vůči opakovanému působení mutagenních látek, pokud byly bakterie nejprve kultivovány v prostředí s nízkými koncentracemi těchto škodlivin. Tato tzv. adaptivní odpověď byla vysvětlena i na molekulární úrovni jako proces založený na zvýšení schopnosti opravy (reparace) DNA stimulovaný nízkými dávkami toxických sloučenin. Později byly obdobné odpovědi pozorované i u dalších, složitějších organismů (rostlin, živočichů).

V lidských populacích je existence adaptivní odpovědi stále zdrojem kontroverze, byly však popsány případy

ukázal, že dlouhodobá expozice arsenu vedla v průběhu generací k indukci specifických polymorfismů v genu kódujícím metyltransferázu AS3MT, enzymu podílejícího se na metabolismu této škodliviny. Organismus si tedy vybudoval způsob, jak se vyrovnat s nepříznivými vlivy životního prostředí.

Dosud popsané mechanismy adaptace mají jedno společné – předpokládají změny na úrovni sekvence nukleotidů v DNA, tj. modifikaci genetické informace. Hovoříme o tzv. genetické cestě adaptace, která je obecně spojena s pomalými procesy, jako je indukce mutací nebo selekce konkrétní sady genetických polymorfismů. Tato strategie je charakteristická pro dlouhodobou expozici škodlivému faktoru. Přestože je tento proces trvalý, jeho hlavní nevýhodou, zejména pro pomalu se množící organismy včetně člověka, je jeho velmi nízká rychlost. Většinou trvá mnoho generací.

Alternativní adaptační strategie je dynamičtější, avšak relativně krátkodobá: epigenetická cesta adaptace je založena na tzv. epigenetických změnách. Ty nejsou

malých molekul RNA s regulační funkcí¹ na kódující oblasti genů, čímž je ovlivněna intenzita translace (překlady) genetické informace. Epigenetická adaptace umožňuje přizpůsobení se novým, dlouhodobě působícím environmentálním stresorům v relativně krátké době, dokonce i během života jedince.

Každý člověk je během svého života, a to včetně prenatálního vývoje, vystaven řadě faktorů, které ovlivňují jeho zdravotní stav. Ukazuje se, že faktory životního stylu působí i na metylaci DNA, a tím přispívají k epigenetické adaptaci. Změny v dynamice metylace DNA byly např. nalezeny u bývalých kuřáků, stejně jako v souvislosti s pohybovou aktivitou. Naše výzkumy odhalily, že chronická expozice znečištěnému ovzduší má na epigenetickou adaptaci zásadní vliv. Sledovali jsme skupiny osob žijících v lokalitách s různě vysokými koncentracemi škodlivin v ovzduší a hodnotili jsme míru poškození DNA. Obecným předpokladem je nárůst frekvence zlomů v DNA v souvislosti s vyšším znečištěním ovzduší. To jsme však u osob chronicky vystavených vysokým koncentracím škodlivých látek nepozorovali. Na molekulární úrovni jsme pak zjistili změny v intenzitě genové exprese u genů zodpovědných za opravu DNA a současně specifický vzorec metylace DNA. To ukazuje na indukci epigenetické adaptace působením vysokých koncentrací škodlivin v ovzduší. Obdobná pozorování jsme učinili u zaměstnanců, kteří byli při výrobním procesu dlouhodobě vystaveni vlivu nanočástic (částic o průměru menším než 100 nm).

Obecně platí, že znečištěné životní prostředí se na zdravotním stavu člověka negativně podepisuje. Pokud jsou však škodlivé vlivy dlouhodobé a v přijatelné míře, organismus se jim dokáže (částečně) přizpůsobit a mírnit negativní dopady. To však neznamená, že bychom se neměli o svůj zdravotní stav starat a aktivně se škodlivinám vyhýbat.

„Ukazuje se, že faktory životního stylu působí i na metylaci DNA, a tím přispívají k epigenetické adaptaci.“

vzniku takové adaptace. Za všechny lze uvést selekci specifických genetických polymorfismů (změn v DNA, které se vyskytují s větší frekvencí než mutace) v populaci obyvatel Argentiny vystavené vysoké koncentraci arsenu v pitné vodě. I když je známo, že je arsen toxický a způsobuje poškození DNA, uvedená populace nevykazuje zvýšenou frekvenci chromozomálních změn, parametru ukazujícího na nežádoucí změny v genetické informaci. Následný výzkum

spojený se změnou genetické informace a mohou se formovat v průběhu života. Na molekulární úrovni může docházet k vazbě různých chemických skupin, velmi často metylové skupiny CH₃, na molekulu DNA (metylaci DNA), případně na histony, proteiny ovlivňující prostorové uspořádání DNA v jádru buněk. Přítomnost těchto chemických skupin ovlivní (zpomalí či zablokuje) transkripci, tj. realizaci genetické informace. Další možností epigenetické regulace je vazba mikroRNA (miRNA,

ODDĚLENÍ TOXIKOLOGIE A MOLEKULÁRNÍ EPIDEMIOLOGIE se věnuje výzkumu vlivu znečištěného životního prostředí, zejména ovzduší, na živé organismy – člověka a modelové buněčné systémy. S využitím biomarkerů se snažíme identifikovat a popsat molekulární mechanismy indukované působením toxických látek. Součástí našich studií je i popis adaptivní odpovědi u člověka.

VEDOUCÍ ODDĚLENÍ: RNDr. Pavel Rössner, Ph.D.

¹) Za jejich objev byla letos udělena Nobelova cena, viz Vesmír 103, 600, 2024/11.

Pavla Jendelová

Regenerace nervové tkáně

Cesta k novým léčebným metodám

Poranění mozku a míchy představují vážné zdravotní problémy, jejichž léčba je stále velmi omezená. V *oddělení regenerace nervové tkáně* se snažíme nalézt nové způsoby, jak tyto škody napravit. Náš výzkum se zaměřuje na několik klíčových oblastí: regeneraci axonů (nervových vláken), zlepšení prostředí v oblasti poranění, náhradu poškozených buněk a využití biomateriálů pro překlenutí místa poškození.

Proč je regenerace axonů v centrální nervové soustavě (CNS) dospělých jedinců tak obtížná? Nedávno se ukázalo, že problém spočívá ve špatném transportu molekul potřebných pro růst axonů. Jedněmi z klíčových molekul tohoto procesu jsou transmembránové receptory zvané integriny. A dospělým neuronům chybí specifický integrin, který by interagoval s molekulami v poraněné oblasti CNS. Ve spolupráci s vědci z Univerzity v Cambridge jsme do těl senzorických neuronů pokusných potkanů injikovali virové vektory nesoucí integrin $\alpha 9$ a zjistili jsme, že nervová vlákna těchto neuronů v poškozené míše výrazně regenerovala a zlepšily se senzorické funkce (viz **obrázek**).

Další studie ukázaly, že důležitou roli v růstu axonů hraje molekula PIP3, která stimuluje buněčné procesy podporující růst. Hladiny této molekuly jsou u mladých axonů vysoké, ale postupně klesají. Náš výzkum zaměřený na enzym PI3K δ , který se běžně vyskytuje v neuronech a PIP3 v nich vytváří, ukázal, že jeho aktivace v neuronech v mozku vede k regeneraci přerušovaných axonů v míše.

Klíčovým procesem při regeneraci axonů je také autofagie, což je mechanismus, kterým buňky likvidují poškozené části (Vesmír 95, 696, 2016/12). Během růstu axonů se autofagosomy (buněčné struktury zapojené do autofagie) tvoří v růstových kuželech na koncích axonů. Ale pokud jsou přítomny inhibiční molekuly, jako jsou proteoglykany s navázaným chondroitin sulfátem, je jejich pohyb omezen, což blokuje růst axonů. Na základě našich experimentů jsme zjistili, že autofagie hraje důležitou

roli v transportu receptorů nezbytných pro růst axonů. Tento proces sledujeme na našich laboratorních modelech, které nám umožňují studovat tvorbu a transport autofagosomů a testovat účinky na růst neuronů.

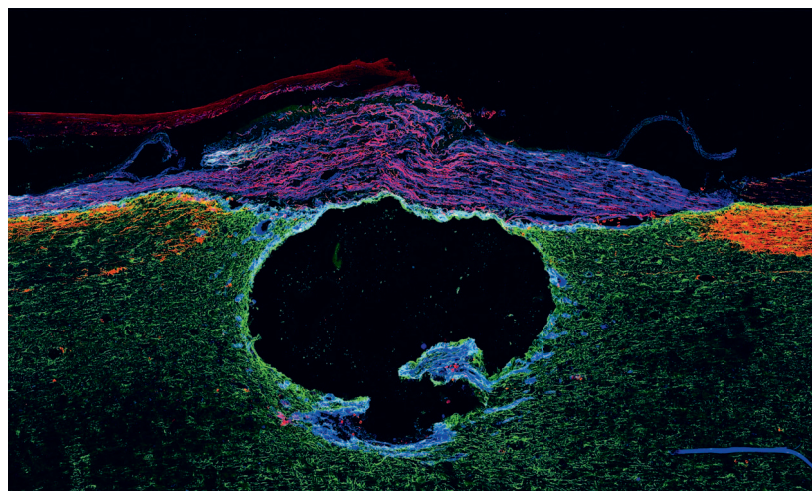
Kromě buněčných faktorů, které omezují regeneraci, je dalším problémem přítomnost inhibičních molekul v gliové jizvě a myelinu. Tyto molekuly brání regeneraci axonů v poraněné oblasti. Molekuly mezibuněčné hmoty, které tvoří část gliové jizvy, lze rozštěpit enzymem chondroitinázou. Kvůli nízké stabilitě a bezpečnostním rizikům však má jen omezené využití. Proto jsme testovali látku 4-metylmethylferon (4MU), která inhibuje syntézu kyseliny hyaluronové. V experimentech na zvířatech s chronickým poraněním míchy vedlo podávání 4MU k významné redukci gliové jizvy a k zvýšení plasticity nervové tkáně. Pokud se podaří podávání této látky optimalizovat, mohla by v budoucnu pomoci pacientům s poraněním CNS. Je již schváleným lékem pro jiné účely, což

zjednodušuje její potenciální schválení pro léčbu poranění mozku a míchy.

Výzkum se také zaměřuje na neuroprotektci, tedy ochranu nervové tkáně před dalším poškozením. Zkoumáme zejména kmenové buňky a jejich produkty, jako jsou exozomy. Tyto malé váčky obsahují různé biologicky aktivní molekuly, které mohou podporovat regeneraci nervové tkáně, snižovat zánět, a dokonce překonávat hematoencefalickou bariéru, což z nich činí slibnou alternativu k samotné buněčné terapii.

Mladý tým vědců v detašovaném pracovišti ÚEM AV ČR v centru BIOCEV pracuje na několika dalších projektech zaměřených na regenerativní medicínu a tkáňové inženýrství. Jejich cílem je například vytvořit 3D modely mozkových nádorů nebo zlepšit terapeutické schopnosti kmenových buněk. Spolupracují s dalšími výzkumnými ústavami a soukromými společnostmi na vývoji nových technologií, které by mohly být použity jak v laboratořích, tak přímo v klinické praxi.

*Axoný
(červeně,
fialově)
po genové
terapii
přerůstají
přes míšní
lézi.*

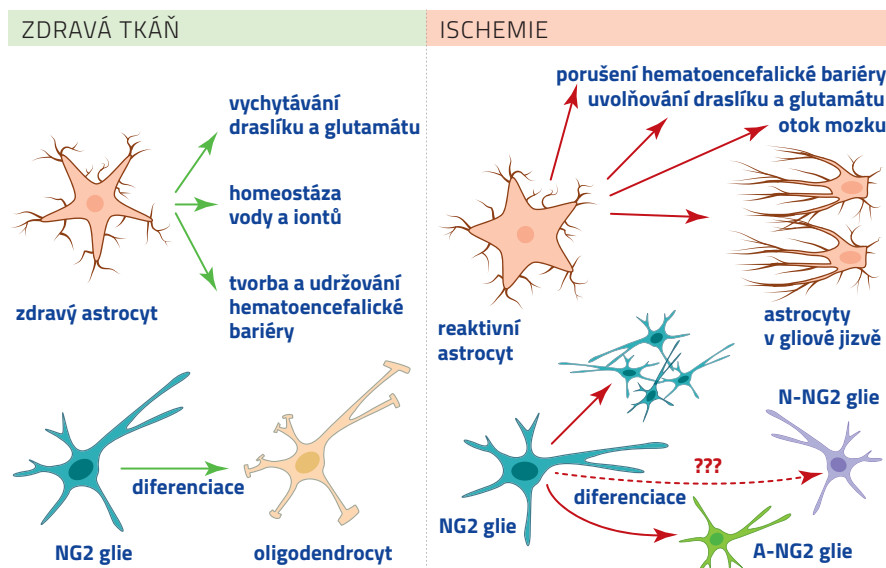


ODDĚLENÍ REGENERACE NERVOVÉ TKÁNĚ má jako své hlavní výzkumné směry regeneraci nervových drah po míšním poranění, zvýšení plasticity nervové tkáně po chronickém míšním poranění a zlepšení paměti během stárnutí a neurodegenerativních stavů. Vytváříme in vitro 3D modely pro testování léků a výzkum mozkových nádorů. Zkoumáme roli exozomů z kmenových buněk v regeneraci poraněné míchy, vývoji mozkových aneurysmat a mikroprostředí glioblastomů. Spolupracujeme s chemiky na vývoji polymerů pro regeneraci tkání a materiálů pro cílené doručování léčiv a in vivo zobrazování. **VEDOUCÍ ODDĚLENÍ:** doc. RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

Tomáš Knotek, Zuzana Heřmanová, Natália Sirotová

Astrocyty a NG2 glie

Klíč k budoucí léčbě následků mrtvice?



Funkční změny gliových buněk po cévní mozkové příhodě ischemického typu. Vlevo zdravá tkáň. Astrocyty s dlouhými, komplexně větvenými výběžky zajišťují základní homeostatické funkce. NG2 glie diferencují v oligodendrocyty, které obalují výběžky neuronů a urychlují přenos neuronálních signálů. Vpravo schematické znázornění změn, které se odehrávají v astrocytech a v NG2 gliích v důsledku ischemického poškození. Astrocyty se stanou reaktivními a postupně začnou vytvářet tzv. gliovou jizvu. NG2 glie se množí (proliferují), migrují do místa poškození a také se mění v buňky, které vykazují některé vlastnosti astrocytů (A-NG2 glie) nebo neuronů (N-NG2 glie).

Možnosti léčby následků cévní mozkové příhody (CMP, lidově mozkové mrtvice) jsou navzdory všem pokrokům, které medicínský výzkum za poslední dekády prodělal, stále velmi omezené.

Při mozkové mrtvici je přerušeno přívod krve do části mozku. To bývá nejčastěji způsobeno ucpáním cévy krevní sraženinou (ischemická mrtvice). Buňky tak nedostávají kyslík a živiny, což vede k buněčné smrti. Z odumřelých neuronů se vylévá glutamát, který je ve vysokých koncentracích neurotoxický, což vede k řetězové reakci: čím víc buněk umírá, tím více glutamátu se vylévá a poškozuje další buňky.

Kromě neuronů se v mozku nacházejí také gliové buňky. Svou roli hrají i v ochraně neuronů po mrtvici, a některé dokonce umějí vychytávat a zpracovávat glutamát. V souvislosti s CMP ischemického typu je velká pozornost věnována především

gliovým buňkám zvaným astrocyty a NG2 glie.

Astrocyty během mozkové ischemie vytvářejí tzv. gliovou jizvu – fyzickou i funkční bariéru mezi ischemií postiženou tkání a relativně nepoškozeným zbytkem mozku. V prvních fázích se snaží „vybalancovat“ změněné podmínky a zachovat tím funkčnost neuronů, ale brzy jejich schopnosti nestačují. Z našich experimentů víme, že astrocyty odpovídají na rozvoj CMP velmi různorodě. Významně se na tom podílí zastoupení jednotlivých iontových kanálů a transportérů na jejich membránách. Spolu s ionty a dalšími látkami se totiž v mozku pohybují i molekuly vody, které se v důsledku změněných podmínek po CMP hromadí v okolí poškození. To vede k otoku, který přispívá ke zvýšení tlaku v lebce, a tím k celkovému poškození mozkové

tkáň. Tato problematika je jedním z výzkumných témat našeho oddělení.

NG2 glie jsou nezbytné už během vývoje embrya, ale také v dospělosti. Vznikají z nich totiž oligodendrocyty, gliové buňky zodpovědné za tvorbu myelinové pochvy (elektrické izolace) axonů. NG2 glie proto hrají roli i v patologii CMP, kdy myelinový obal vlivem nedostatku živin a kyslíku degraduje. Během CMP se NG2 glie aktivují, namnoží a po komunikaci s postiženými neurony se přeměňují v myelinizující oligodendrocyty. Výsledky výzkumu našeho oddělení dokonce naznačují, že tyto buňky mohou v průběhu CMP dávat vznik buňkám, které se podobají astrocytům a neuronům, což je staví do centra pozornosti v oblasti regenerativního výzkumu. Právě proto se také zkoumají v rámci experimentů zjišťujících, jak tyto buňky cíleně přeměnit v jiný buněčný typ, zejména v neurony. V našem oddělení se o takové „přeprogramování“ pokoušíme pomocí syntetické mRNA. Tvorba nových neuronů z NG2 glií by mohla sehrát klíčovou roli v nahrazení buněk odumřelých při různých patologiích mozku, a tím například i v léčbě mrtvice.

ODDĚLENÍ BUNĚČNÉ NEUROFYZIOLOGIE se zabývá studiem vlastností gliových buněk, především astrocytů a glií NG2, známých též jako prekurzory oligodendrocytů. Jejich funkce zkoumáme v patofyziologii centrálního nervového systému, jako jsou fokální mozková ischemie, amyotrofická laterální skleróza, Alzheimerova choroba, schizofrenie či tumorigeneze, kde studujeme roli iontových a vodních kanálů ve vzniku mozkového edému a v postischemické regeneraci.

VEDOUCÍ ODDĚLENÍ: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Michala Klusáček Rampichová, Eva Filová

Pokroky v tkáňovém inženýrství

Inovativní materiály pro regeneraci kožních a kostních defektů

Tkáňové inženýrství představuje jedno z nejdynamičtěji se rozvíjejících odvětví moderní medicíny. Vědci po celém světě intenzivně hledají řešení, která by umožnila obnovit poškozené tkáně a zlepšit kvalitu života pacientů. Jedním z klíčových směrů výzkumu je vývoj inovativních biomateriálů, které podporují regeneraci tkání. Tyto materiály kombinují pokročilé technologie, jako je 3D tisk, nanotechnologie a bioaktivní složky.

Schopnost lidského těla regenerovat poškozené tkáně je fascinující, ale často narazí na své limity, zejména u složitějších struktur, jako je kloubní chrupavka, kost či kůže. Proto se věnujeme vývoji a testování nových materiálů, které regeneraci napomáhají. Tyto materiály slouží buňkám v místě poranění jako lešení. Buňky se na něm uchytí, postupně jej osídlí a po čase nahradí vlastní buněčnou masou. Materiály mohou také obsahovat léčiva nebo stimulační látky a aktivně pomáhají procesu hojení. Mezi takové materiály patří například nanovlákná, hydrogely, porézní pěny, keramické materiály i 3D tisknuté materiály.

Kostní tkáň se po celý život přestavuje a reaguje tak na drobná poškození a námahu. Tento proces je umožněn souhrou buněk, které resorbují kostní tkáň (osteoklasty), a buněk, jež vytvářejí novou kost (osteoblasty). Pokud je tento proces narušen onemocněním, jako je například

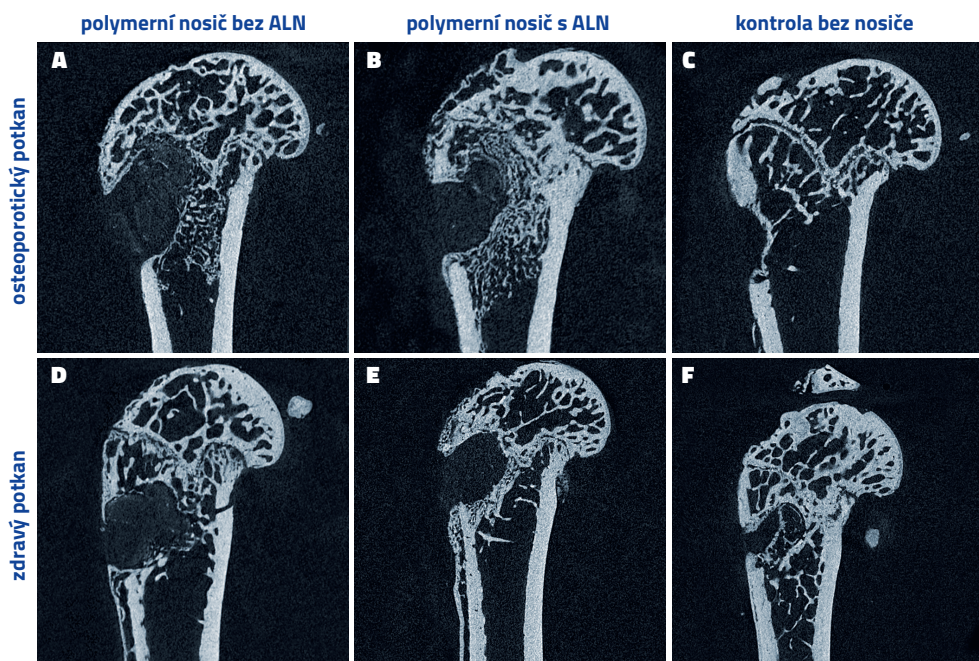
osteoporóza, může dojít k úbytku kostní hmoty a k častým zlomeninám.

Léčba těžších forem osteoporózy spočívá v užívání léčiv, která snižují aktivitu buněk resorbujících kost, jako je např. alendronát (ALN). Celkové podávání takových léků má však řadu nežádoucích vedlejších účinků. Proto jsme vyvinuli materiál, který vyplní defekt v kosti a uvolňuje léčivo přímo v oblasti poškození. Tím se zamezí nežádoucím účinkům souvisejícím s celkovým podáním. Pozitivní vliv uvolněného alendronátu v místě poškození byl prokázán u potkanů s osteoporózou (**obrázek**).

Dalším výzkumným směrem je vývoj nosičů pro hojení chronických ran, které

vyžadují dlouhodobou a komplexní terapii. Chronické rány, vyskytující se například u diabetiků, jsou často provázeny bakteriální infekcí a nedostatečným prokrvením, což komplikuje jejich hojení. V naší studii jsme společně s Grand Medical, s. r. o., a Fakultou biomedicínského inženýrství ČVUT vyvinuli kožní kryt z polymerních nanovláken. Kryt byl navržen tak, že umožnil řízené uvolňování antibiotika (gentamicinu) a antioxidační látky (tokoferol acetátu) v místě kožního defektu. Tento materiál snížil růst bakterií typických pro kožní infekce. Kožní rány myši ošetřené tímto krytem vykazovaly rychlejší hojení a snížené množství bakterií v ráně.

ODDĚLENÍ TKÁŇOVÉHO INŽENÝRSTVÍ je zaměřeno na vývoj tkáňových náhrad, zejména z biodegradabilních materiálů (hydrogelů, nanovláken, pěn a 3D tištěných nosičů) s důrazem na klinické aplikace. Vyvíjíme technologie pro řízené uvolňování bioaktivních látek pomocí nanovláknenných nosičů, které umožňují cílený přísun živin a léků přímo do místa poškození. Pracujeme na vývoji umělých náhrad chrupavek a kostí a nanovláknenných i hydrogelových nosičů pro hojení kožních ran a břišních kýl. **VEDOUcí ODDĚLENÍ:** Mgr. Eva Filová, Ph.D.



Snímky stehenní kosti potkanů po šesti týdnech hojení kostního defektu (rentgenová mikrotomografie – μ CT). Je patrné, že v okolí kostního defektu ošetřeného nosičem obsahujícím léčivo (ALN) došlo ke zvýšené tvorbě kostní hmoty. To se prokázalo jak u osteoporotických (B), tak u zdravých potkanů (E). Převzato z DOI: 10.2147/IJN.S386784.

Klára Vokáčová

Krev místo tkáně

Tekutá biopsie v diagnostice a léčbě rakoviny tlustého střeva

Kolorektální karcinom (KRK) patří mezi nejčastější nádorová onemocnění a v České republice představuje jednu z hlavních příčin úmrtí. Prognóza přežití se zásadně liší dle stadia, ve kterém je nemoc diagnostikována. V prvním stadiu

nukleových kyselin nebo cirkulujících nádorových buněk z tělních tekutin, následovaná nejrůznějšími genomickými či proteomickými analýzami. Tekutá biopsie přináší i řadu dalších výhod, např. možnost opakovaného odběru vzorků pro

Pro tekutou biopsii by mohly mít význam i telomery – specializované struktury na koncích chromozomů, které hrají klíčovou roli v ochraně genetického materiálu a udržování stability genomu. Zjistili jsme, že délka telomer v periferní krvi pacientů je ovlivňována léčbou, např. chemoterapií. V periferní krvi pacientek s ovariálním karcinomem délka telomer dokonce reflektovala odpověď na léčbu založenou na bázi platiny – pacientky, které byly k této léčbě rezistentní, měly telomery významně delší než pacientky k této terapii citlivé.

Na úrovni RNA se v posledních dekádách upřela pozornost na malé molekuly RNA, tzv. mikroRNA (miRNA, viz Vesmír 91, 668, 2012/11), které ovlivňují vznik proteinů. Tyto proteiny mohou být přímo nebo nepřímo zapojené do vzniku nádoru nebo do jiných důležitých procesů v lidském těle. V naší studii se povedlo nalézt v krevní plazmě dvě miRNA, které by mohly pomoci diagnostikovat nové pacienty s nádory konečníku, protože hladiny těchto miRNA u nich byly výrazně odlišné od hladin u zdravé populace. Mohly by také pomoci předpovědět úspěšnost chemoterapie u konkrétního pacienta. Úspěšná byla u pacientů, u kterých se hladina těchto miRNA po roce od diagnózy prudce zvýšila. Naopak u pacientů, jejichž hladiny zůstaly nízké, nastal v následujících letech relaps, projevila se toxicita léčby či dokonce zemřeli. Výsledky našich pozorování by mohly být prvním signálem pro lékaře, že léčba nemusí být účinná.

Kromě malých RNA jsme v tekuté biopsii prokázali také význam dlouhé RNA s názvem *MALAT1*, jejíž funkce je obdobná jako u miRNA. Přítomnost *MALAT1* v krevní plazmě by mohla pomoci s časnější diagnostikou KRK právě již v prekancerózních polypech.

Ačkoli naše studie a mnoho dalších poukazují na slibné možnosti aplikace tekuté biopsie v onkologickém výzkumu, je třeba provést další rozsáhlé výzkumy. Je důležité zdokonalit metody, testovat jednotlivé potenciální biomarkery na početnější skupině pacientů, a usnadnit tak jejich přechod do klinické praxe.

„Tekutá biopsie může poskytnout detailnější informace o celkovém genetickém profilu nádoru než tradiční tkáňová biopsie.“

je pětiletá míra přežití nejvyšší a může dosahovat až 90 %. Naopak u čtvrtého stadia, které se vyznačuje přítomností metastáz, klesá tato míra na pouhých 11–14 %. Z tohoto důvodu je zásadní detekovat KRK co nejdříve, ideálně již v prekancerózních polypech.

I přes značný pokrok v diagnostice i léčbě zůstává účinnost léčby často nedostatečná, a to především kvůli přílišné toxicitě pro pacienta nebo rezistenci nádoru. Proto se stále intenzivně hledají nové biomarkery, které by umožnily odhalit nádor či návrat nádorového onemocnění časněji nebo nastavit léčbu pacientů s KRK na míru.

Invazivní metody, jako je tkáňová biopsie, jsou postupně nahrazovány minimálně invazivními technikami, které lze souhrnně označit jako tekutou biopsii. Dosavadní základní i klinické výzkumy naznačují, že může poskytnout detailnější informace o celkovém genetickém profilu nádoru než tradiční tkáňová biopsie. Tekutá biopsie zahrnuje sběr a analýzu nádorových biomarkerů, které se nacházejí v krvi nebo jiných tělních tekutinách (v mateřském mléce, slinách, moči...). Základem této metody je izolace

monitorování onemocnění v reálném čase nebo nižší finanční náročnost.

Nukleové kyseliny se do cirkulace uvolňují dvěma způsoby. První je pasivní uvolňování z poškozených, nekrotických či apoptotických buněk. Příkladem může být chronický zánět, při kterém dochází k nekróze buněk, jejichž obsah včetně nukleových kyselin se uvolňuje např. do krevního řečiště. Druhým způsobem je aktivní uvolňování prostřednictvím mimobuněčných váčků. Ty slouží jako komunikátor se vzdálenými částmi lidského těla a mohou představovat efektivní nástroj pro přípravu vhodného prostředí pro usídlení cirkulujících nádorových buněk a založení metastáz. V našem výzkumu se zabýváme několika biomarkery nacházejícími se ve vzorcích z tekuté biopsie, a to na úrovni DNA i RNA.

U volně cirkulující nádorové DNA stanovujeme jak její přítomnost, tak výskyt mutací v důležitých genech. Nedávno jsme u pacientů, kteří na léčbu neodpovídali, našli v jejich cirkulující DNA v průběhu celé nemoci i léčby specifické mutace. Sledování těchto mutací nám může napomoci při časném odhalení návratu onemocnění nebo rezistence na podávanou léčbu.

ODDĚLENÍ MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE NÁDORŮ se na molekulárně-epidemiologické úrovni zabývá výzkumem charakteristik nádorových onemocnění, především tlustého střeva a konečníku. Cílem je identifikovat biologické biomarkery spjaté se zvýšenou predispozicí k nádorovému onemocnění, umožňující časnou diagnostiku či predikující individuální odpověď na protinádorovou léčbu. V rámci oddělení pracujeme s různými typy biologického materiálu od pacientů s nádorovým onemocněním, jako jsou solidní tkáň, krevní buňky, plazma nebo stolice.

VEDOUCÍ ODDĚLENÍ: Ing. Veronika Vymetálková, Ph.D.