



**Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.**

EU Centre of Excellence

Vídeňská 1083 • 142 20 Praha 4-Krč
tel.: 241 062 230 • e-mail: uemavcr@biomed.cas.cz
www.iem.cas.cz

VÝROČNÍ ZPRÁVA 2010

k 35. výročí založení ústavu

OBSAH

Zaměření a činnost ústavu	3
Z historie ústavu	4
Orgány ústavu, kontaktní informace	5
Organizační schémata ústavu a výzkumných center	6
Výsledky vědy a výzkumu v grafech	8
Mezinárodní grantové a programové projekty	14
Grantové a programové projekty podporované ze státního rozpočtu ČR	16
Oddělení neurověd	20
Oddělení neurofyziologie sluchu	26
Oddělení buněčné neurofyziologie	30
Oddělení teratologie	33
Oddělení genetické ekotoxikologie	35
Oddělení molekulární biologie nádorů	39
Oddělení molekulární embryologie	41
Oddělení farmakologie	43
Laboratoř tkáňového inženýrství	45
Laboratoř buněčné biologie	47
Oddělení mikroskopie	48
Oddělení technologického transferu	51
Publikace	53

ZAMĚŘENÍ A ČINNOST ÚSTAVU



Ústav experimentální medicíny Akademie věd, v.v.i. (ÚEM AV ČR) se zabývá vybranými problémy biomedicíny se zaměřením na aplikaci v klinické medicíně. V oblasti základního neurovědního výzkumu jsou studovány iontové změny a difúzní parametry v CNS v průběhu fyziologických a patologických stavů; nesynaptický přenos v CNS, receptory a iontové kanály, funkce gliových buněk, úloha glutamátergních receptorů a vápníkových iontů v průběhu komunikace mezi neurony a gliovými buňkami, morfologické a funkční charakteristiky nervových buněk sluchového systému

a jejich poškození patologickými procesy. Ve spolupráci s Centrem buněčné terapie a tkáňových náhrad probíhá výzkum v oblasti embryonálních kmenových buněk, regulace buněčného cyklu v průběhu gametogeneze a diferenciaci, řízení diferenciaci a implantace neurálních a embryonálních kmenových buněk, tvorby tkáňových náhrad na bázi hydrogelů, autologních chondrocytů a biodegradabilních matic z netkaných nanovláken. V oblasti buněčné biologie se výzkum zabývá strukturně-funkční organizací buněčného jádra, dále pak studiem problematiky molekulárních mechanismů rozvoje rakoviny a podstatou vnímavosti vůči nádorovým onemocněním. Součástí tohoto výzkumu je vyhledávání časných ukazatelů, indikujících možnost maligní transformace a napomáhajících časné diagnostice.

Mezi další oblasti výzkumu patří genotoxické a embryotoxické účinky xenobiotik, mechanismy vzniku vrozených vad, vznik a průběh toxických reakcí na buněčné a tkáňové úrovni, histochemie a farmakologie oka, biochemie enzymů jako markerů metabolických procesů a sledování účinků farmak na imunitní reakce v průběhu infekčních onemocnění.

V oblasti biotechnologických inovací je činnost ústavu zaměřena na technologický transfer a podporu spolupráce mezi ÚEM AVČR a podnikatelskou sférou v oboru regenerativní medicíny prostřednictvím vzdělávání a společné výzkumné a vývojové činnosti. Ústav je od r. 2000 Centrem Excellence EU s názvem MEDIPRA.



Obr. Evropská spolupráce.

ENINET - SÍŤ EVROPSKÝCH NEUROVĚDNÍCH ÚSTAVŮ

Evropský výzkum významným způsobem závisí na tvůrčí činnosti mladých výzkumných pracovníků. Jako odpověď na tento důležitý aspekt vytvořilo 12 předních evropských neurovědních ústavů tématickou síť ENINET (European Neuroscience Institutes Network), věnovanou podpoře samostatné práce mladých vědců. ÚEM AV ČR je zakládajícím členem této sítě. Jejím zakladatelem je prof. Erwin Neher z European Neuroscience Institute v Göttingenu. Činnost sítě zahrnuje pravidelná setkání, workshopy, stáže studentů a výměnu know-how. Cílem sítě je vytvořit pro mladé vědecké pracovníky komplexní podmínky pro rozvoj jejich samostatné badatelské práce. Ústavy zabezpečují laboratorní prostory, infrastrukturu, vzdělávací potřeby a další formy podpory, umožňující mladým vědcům založit a rozvinout malé výzkumné týmy a vykonávat samostatnou činnost. Kromě oddělení, vedených seniorními a mezinárodně uznávanými vědci, tak vytvořil ÚEM AV ČR laboratoře pod vedením mladých vědců v lékařsky orientovaných oblastech výzkumu.

Další informace o síti ENINET a jejích aktivitách lze nalézt na internetových stránkách: <http://www.eni-net.org/>

Z HISTORIE ÚSTAVU

Dnešní oblasti výzkumu ÚEM AV ČR navazují na jeho historii. Ústav byl oficiálně založen v roce 1975 sloučením čtyř vědeckých laboratoří, které vznikly o dvacet let dříve. Tři z nich byly přidruženy ke klinickým oddělením Univerzity Karlovy, tj. k Oddělení plastické chirurgie, Oddělení oftalmologie a Oddělení otorinolaryngologie. Čtvrtá laboratoř byla úzce spjata s Oddělením histologie na 1. Lékařské fakultě UK, se zaměřením na buněčné ultrastruktury. Pod vedením uznávaných profesorů Buriana, Kurze, Přecechtěla a Wolfa se laboratoře etablovaly v lékařském světě a významně přispívaly k uznání československého lékařského výzkumu i na mezinárodní úrovni. Tyto čtyři laboratoře, přestože intelektuálně silné a poměrně dobře vybavené, doplácely na svou izolovanost a nedostatek možností pro spolupráci. Proto došlo ke spojení těchto laboratoří a založení ústavu v rámci Československé akademie věd. Otolaryngologista, profesor Vlastimil Kusák byl jmenován jeho prvním ředitelem (1975–1984). Výzkumné spektrum bylo rozšířeno přizváním skupiny imunologů do ústavu (MUDr. Jiřího Fraňka a MUDr. Karla Nouzy), a založením Laboratoře pro výzkum vlivu mykotoxinů na zdraví ve východních Čechách (Olešnice, Orlické hory).

V sedmdesátých a osmdesátých letech se profil ústavu vytříbil, obzvláště po přesunu většiny laboratoří do budovy v Legerově ulici a následným jmenováním profesora Jiřího Elise ředitelem (1984–1990). Oblasti výzkumu byly rozšířeny o výzkum buněčného jádra a jadérka využitím elektronové mikroskopie, zejména v krevních buňkách, mapování morfologie nukleových kyselin, morfologii a imunohistochemii štítné žlázy a slinivky, mechanismy lokální imunity, zkoumání rakovinné imunity a reakce transplantátu u příjemce, biochemii a histochemii oka, korneální patologii a testování kontaktních čoček, morfologii vnitřního ucha a její změny pod vlivem hluku, elektrofyziologii centrálního sluchového systému, základy genotoxicity a teratologie, mechanismy a epidemiologii kraniofokálních malformací, a testování mykotoxinů.

Zatímco některé skupiny a jednotlivci dosáhli vysoké úrovně vědecké práce, ústav jako celek trpěl roztržitostí výzkumných témat, nedostatkem vnitřní komunikace a dalšími překážkami, charakteristickými pro sedmdesátá a osmdesátá léta dvacátého století.

Na začátku devadesátých let vedlo několik souběžných událostí ke sladění vědeckého zaměření ústavu a jeho lidského potenciálu. Tyto procesy zahrnovaly nejen změny politické situace v zemi, ale také významné oživení ústavu. V roce 1990 byl ředitelem jmenován profesor Richard Jelínek, vedoucí laboratoře teratologie (1990–1994). Došlo k reorganizaci ústavu na základě otevřené soutěže interních projektů, která byla dále posílena vysokou úspěšností v soutěži o přidělení grantů Grantovou agenturou Akademie věd. Vzrostlo zapojení členů ústavu do výuky studentů medicíny a do ekologicky zaměřených projektů, obzvláště do výzkumu zaměřeného na nepříznivý vliv exogenních faktorů na organismus.

K celkovému zlepšení výsledků ústavu významně přispěl příchod dvou nově vzniklých vědeckých skupin v roce 1991- Laboratoře buněčné neurofyziologie z Ústavu fyziologických regulací, vedené profesorkou Evou Sykovou a Laboratoře genetické ekotoxikologie, vedené MUDr. Radimem Šrámem (sdružená laboratoř s Krajskou hygienickou stanicí Středočeského kraje). Skupiny orientované na klinický výzkum buď zanikly nebo byly přesunuty na příslušné kliniky. V roce 1993 se ústav přestěhoval do nové budovy v Praze 4 - Krči, kde se nachází několik dalších institucí biomedicínského výzkumu Akademie věd ČR. V roce 1994 byl ředitelem ústavu jmenován profesor Josef Syka (1994–2001). Ve stejném roce prošel ústav úspěšně interním hodnocením Akademie věd. Od té doby došlo k několika významným změnám v organizaci ústavu, které sjednotily jeho zaměření a vědecký profil.

V roce 2001 byla do funkce ředitelky jmenována profesorka Eva Syková. V následujícím roce se výzkumný program ústavu rozšířil zformováním čtyř nových skupin a dosáhl tak současné velikosti. Důvodem této změny bylo přidružení bývalého Ústavu farmakologie AV ČR a Oddělení molekulární embryologie z Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR.

Od 1. ledna 2007 se ústav přeměnil na veřejnou výzkumnou instituci zřízenou zákonem č. 341/2005 Sb., O veřejných výzkumných institucích.

V roce 2010 oslavil ústav 35. výročí od svého vzniku. V současnosti patří Ústav experimentální medicíny ke skupině institucí AV ČR zaměřených na biomedicínský výzkum. Je jedinou institucí v České republice zabývající se komplexním lékařským výzkumem. Profil jednotlivých oddělení uvádíme ve výroční zprávě za rok 2010.

ORGÁNY ÚSTAVU

Zákon o veřejných výzkumných institucích stanoví orgány veřejné výzkumné instituce a vymezuje jejich působnost. Orgány instituce ve smyslu zákona jsou tři – ředitel, rada instituce a dozorčí rada. Ředitel je statutárním orgánem instituce a rozhoduje ve své působnosti ve všech věcech organizace, pokud nejsou zákonem svěřeny do působnosti rady instituce, dozorčí rady nebo zřizovatele. Radu instituce (ÚEM AV ČR) volí shromáždění vědeckých pracovníků. Skládá se z předsedy, místopředsedy, interních a externích členů. Rada instituce dbá na zachování účelu zřízení organizace, na uplatnění veřejného zájmu v její činnosti a na řádné hospodaření, stanovuje hlavní směry činnosti organizace, schvaluje vnitřní předpisy a rozpočet organizace, projednává návrhy na změny zřizovací listiny a vykonává další činnosti dle zákona.

Dozorčí rada vykonává dohled nad činností, hospodařením a nad nakládáním s majetkem veřejné výzkumné instituce a vydává předchozí písemný souhlas k vybraným právním úkonům. Schází se nejméně dvakrát ročně. Dozorčí rada ÚEM AV ČR má 5 členů.

ŘEDITELKA

prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.

RADA INSTITUCE

• interní členové:

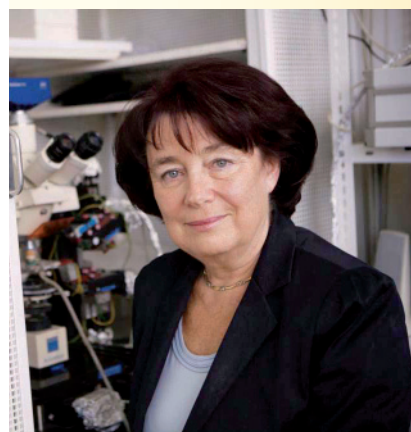
prof. MUDr. Eva Syková, DrSc. – **předsedkyně**
MUDr. Radim J. Šrám, DrSc. – *místopředseda*
prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.
doc. MUDr. Miroslav Peterka, DrSc.
doc. RNDr. Alexandr Chvátal, DrSc., MBA
RNDr. Zdeněk Zídek, DrSc.
doc. MVDr. Aleš Hampel, CSc.
RNDr. Pavla Jendelová, PhD.
MUDr. Pavel Vodička, CSc.

• externí členové:

Ing. Milan Hájek, DrSc.
prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.
prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc.
prof. MUDr. Karel Smetana, ml., DrSc.

DOZORČÍ RADA

RNDr. Jan Hrušák, CSc. – **předseda**
(Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.)
Ing. Petr Bažant, CSc., MBA – *místopředseda*
(Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.)
prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.
(Univerzita Karlova v Praze, 1. Lékařská fakulta)
prof. MVDr. Ivan Míšek, CSc.
(Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i.)
prof. MUDr. Eduard Zvěřina, DrSc.
(Karlova Univerzita v Praze, 1. a 3. Lékařská fakulta)



VEDENÍ ÚSTAVU

Ředitelka:

prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.

Zástupce ředitelky:

doc. RNDr. Alexandr Chvátal,
DrSc., MBA

Předsedkyně Rady instituce:

prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.

Předseda Dozorčí rady:

RNDr. Jan Hrušák, CSc.



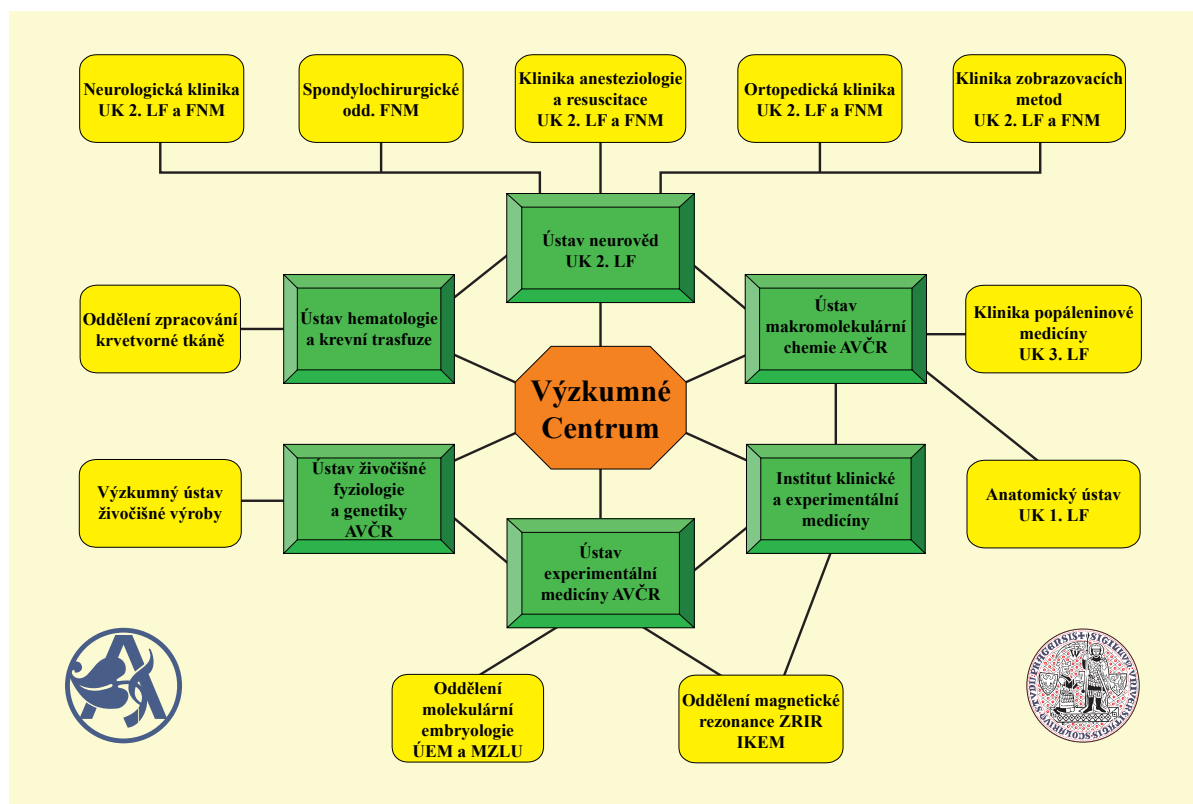
KONTAKTNÍ ÚDAJE

Ústav experimentální medicíny
Akademie věd ČR, v. v. i.

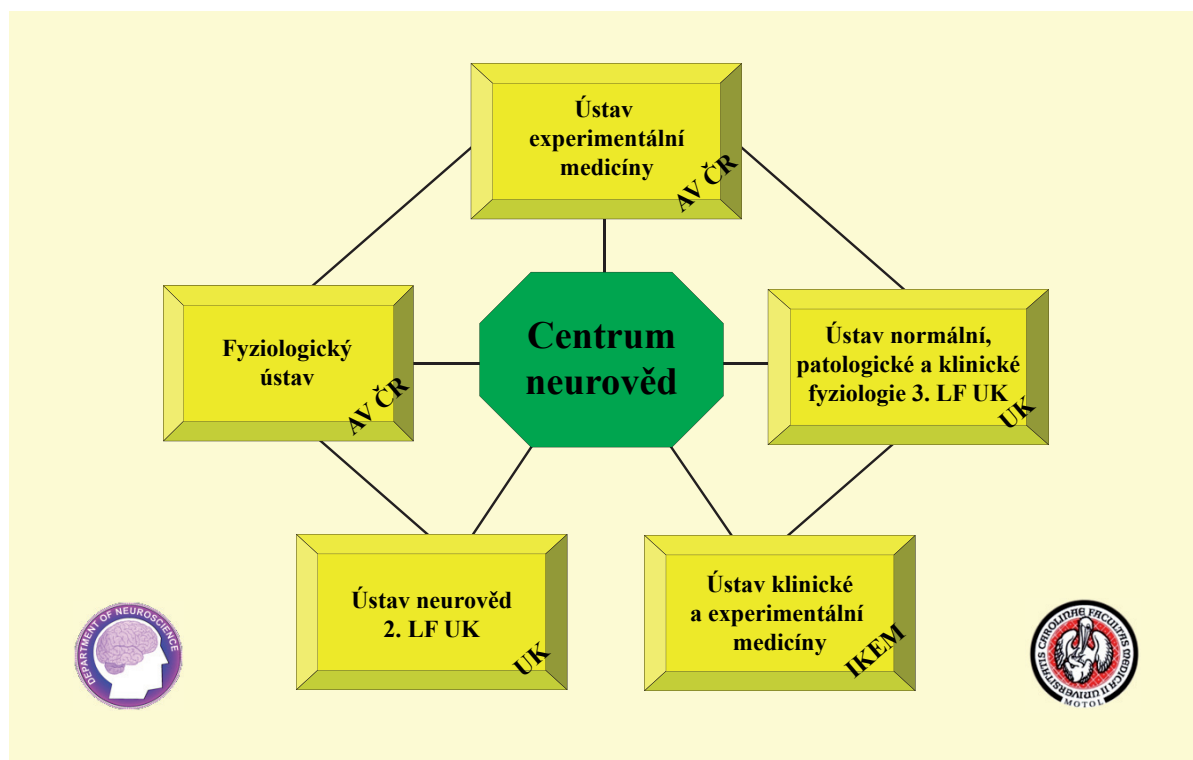
Vídeňská 1083
142 20 Praha 4-Krč
Česká republika
IČ: 68378041

Tel.: +420 241 062 230
Fax: +420 241 062 782
uemavcr@biomed.cas.cz
www.iem.cas.cz

VÝZKUMNÁ CENTRA

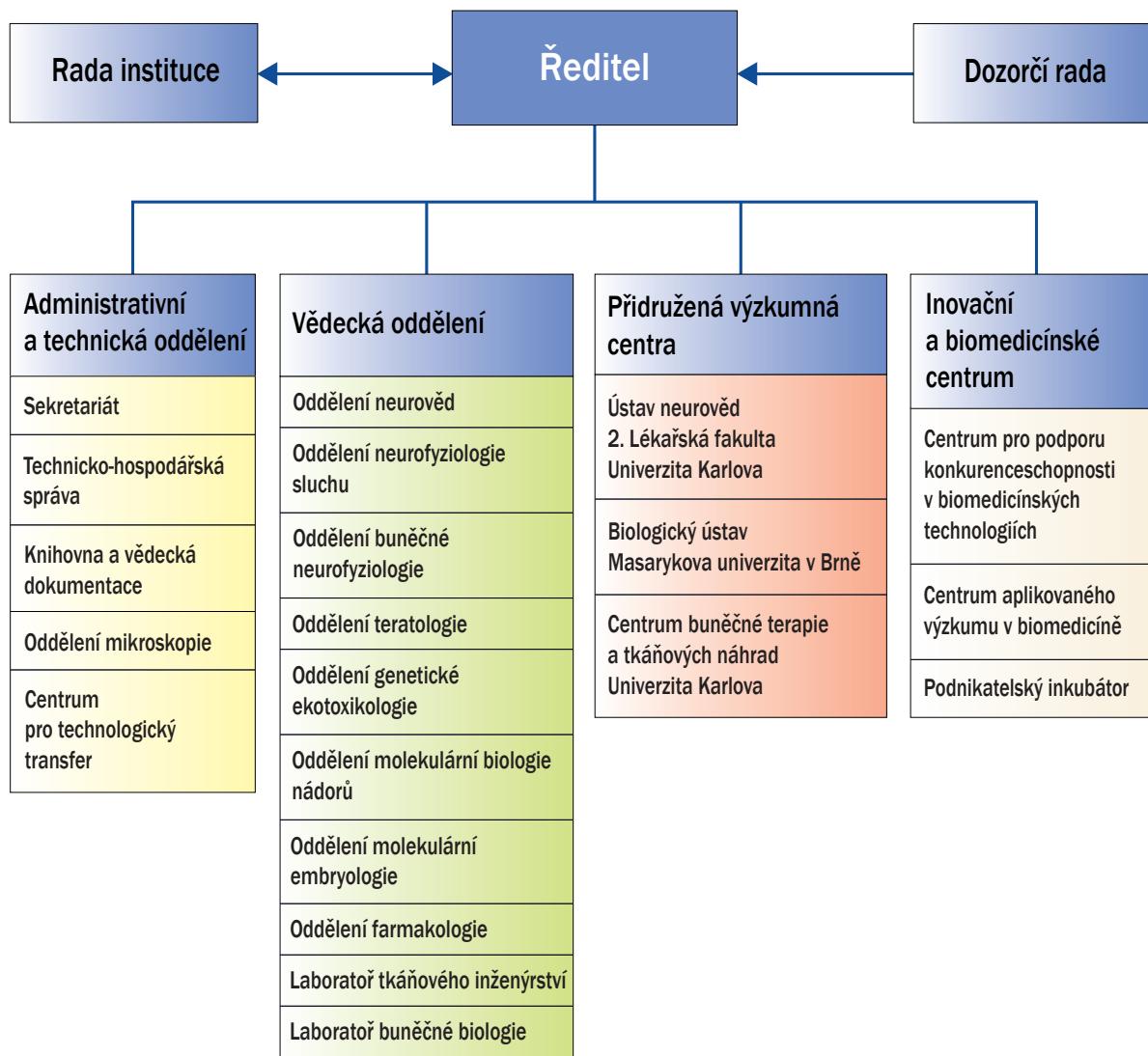


- Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad UK

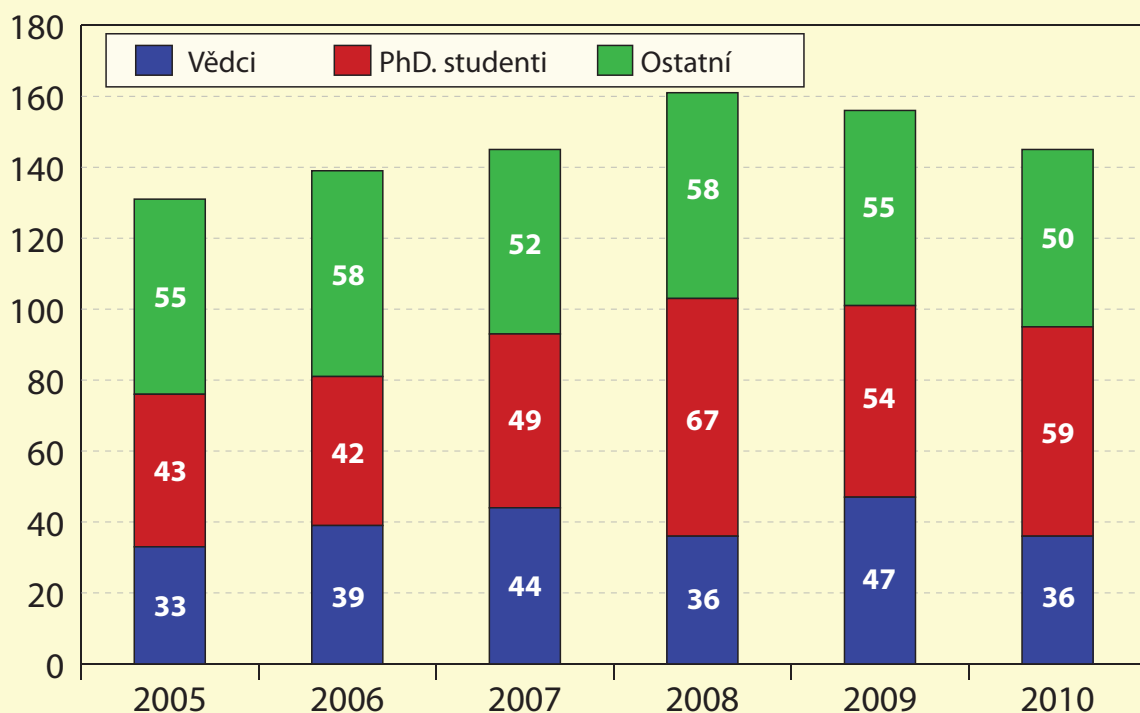


- Centrum neurověd

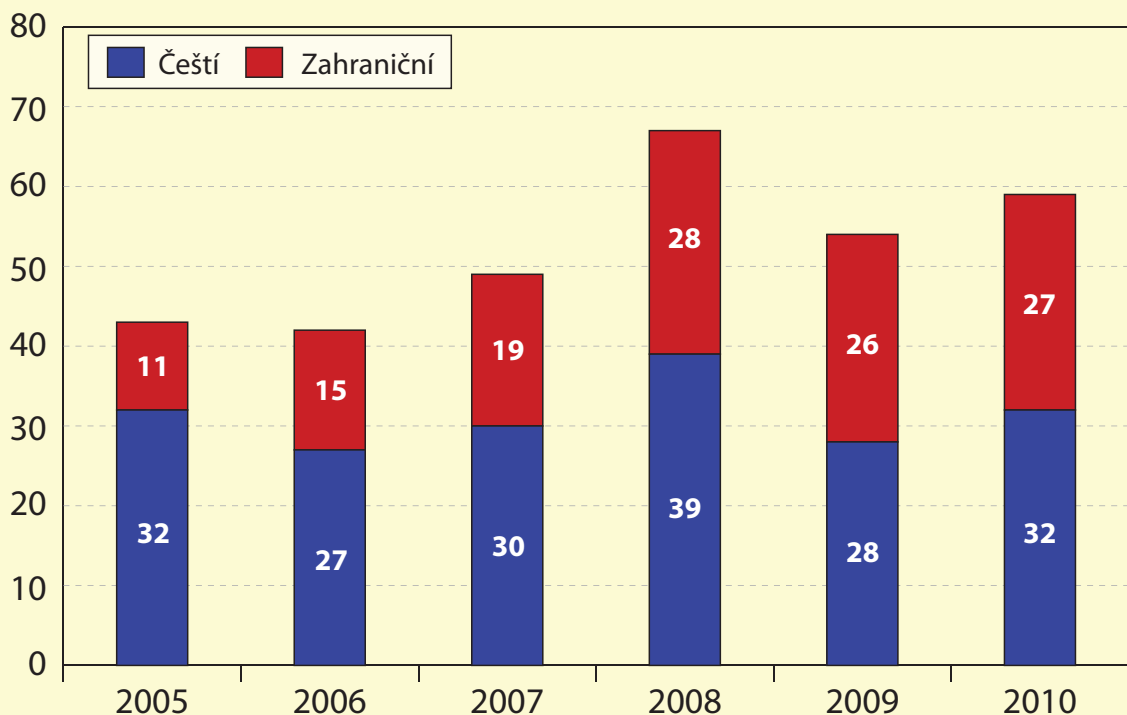
ORGANIZAČNÍ SCHÉMA ÚSTAVU



VÝSLEDKY VĚDY A VÝZKUMU V GRAFECH

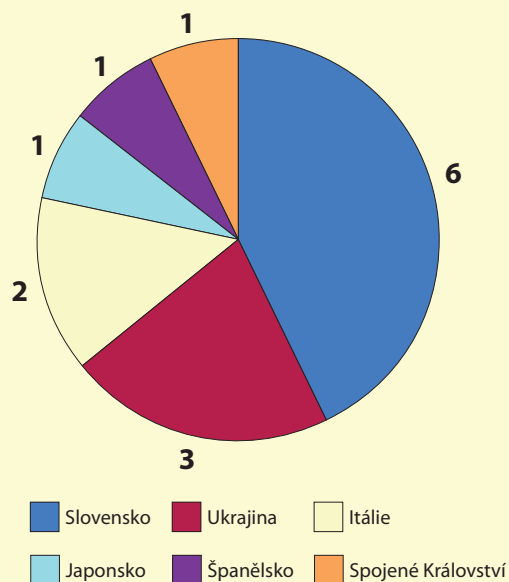


• Počet zaměstnanců na plné úvazky

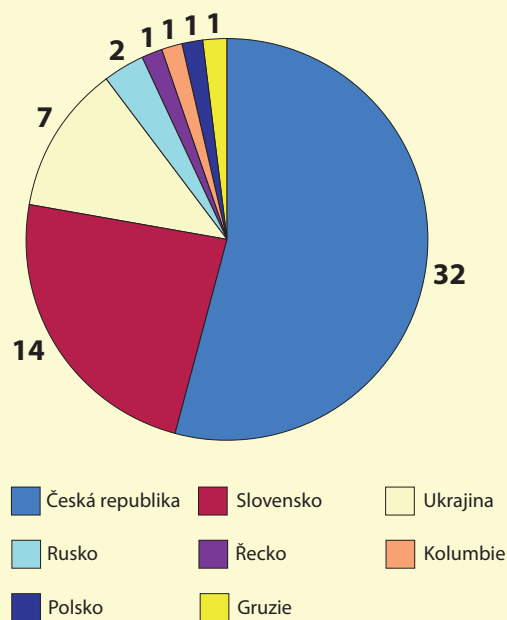


• Počet PhD. studentů

Zahraníční vědci (14)



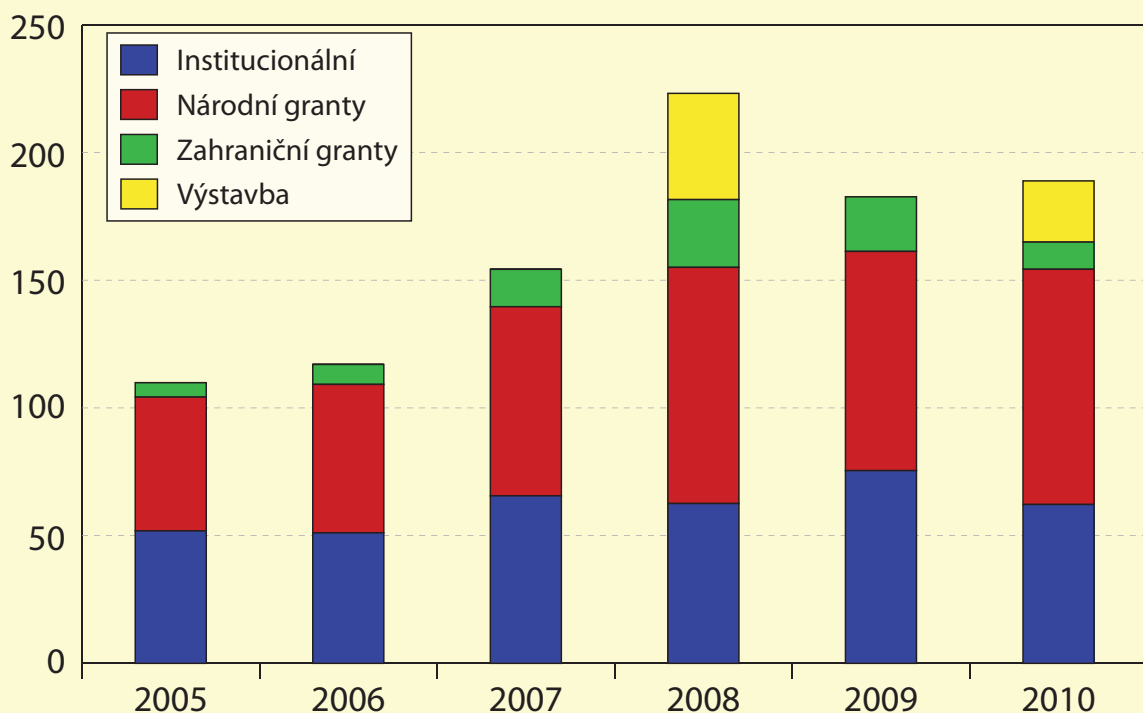
PhD. studenti (59)



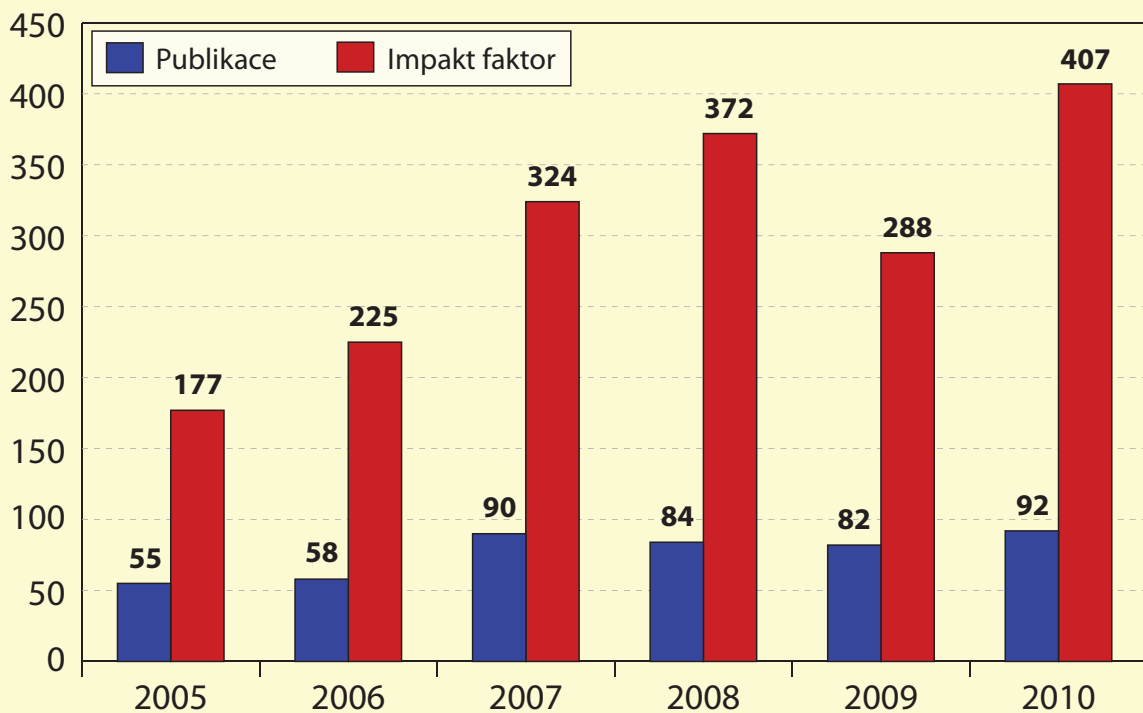
• Zahraníční vědeckí pracovníci a PhD. studenti podle zemí

14 × ÚEM AV ČR	35,0 %
13 × Česká republika	32,5 %
2 × Slovensko	5,0 %
9 × USA	22,5 %
1 × Švédsko	2,5 %
1 × Švýcarsko	2,5 %

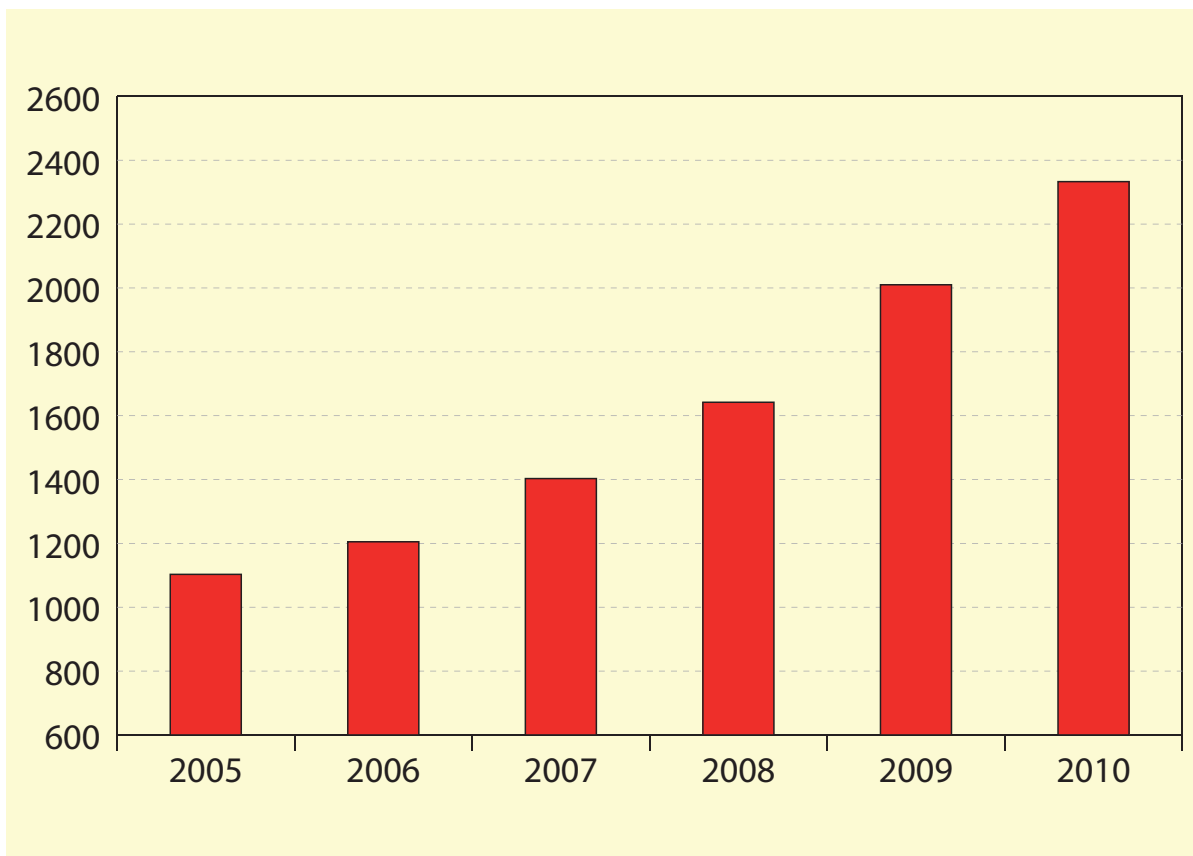
• Postdoktorandské uplatnění PhD. studentů ústavu



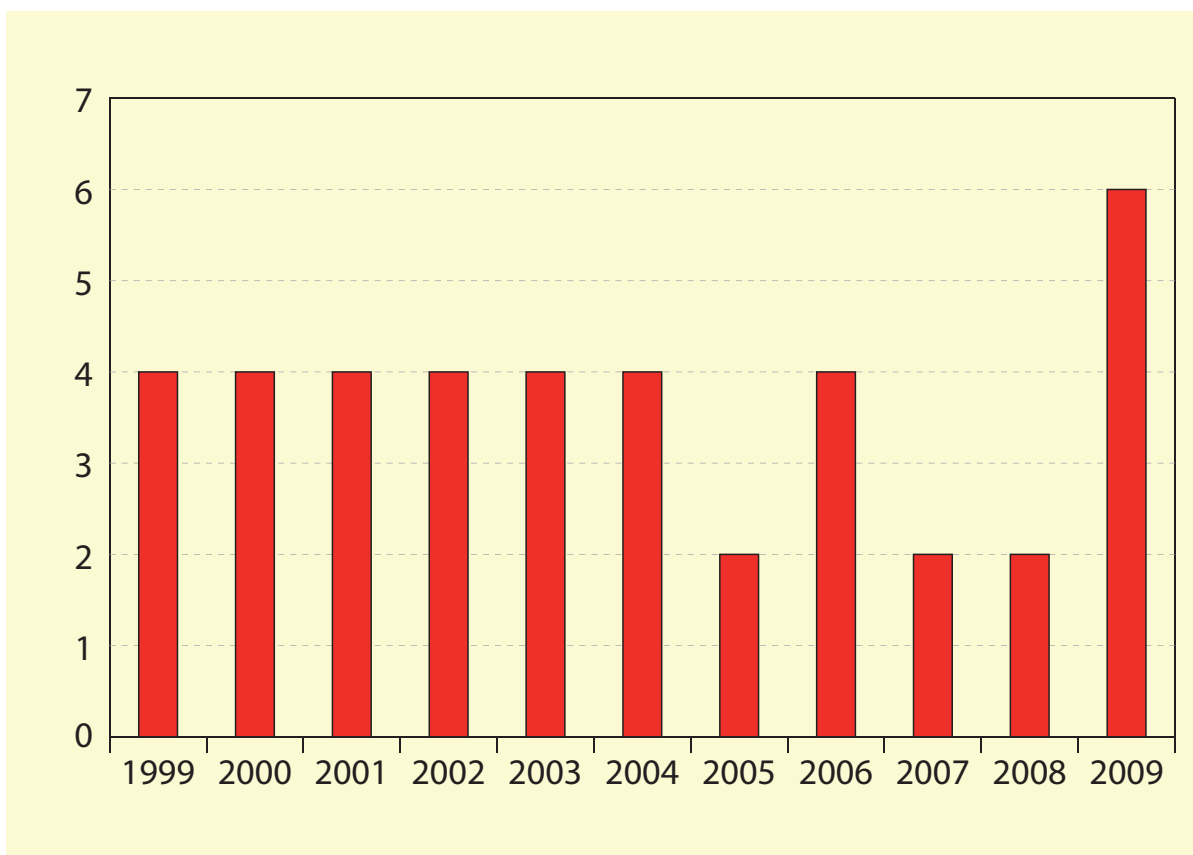
• Zdroje financování (mil. Kč)



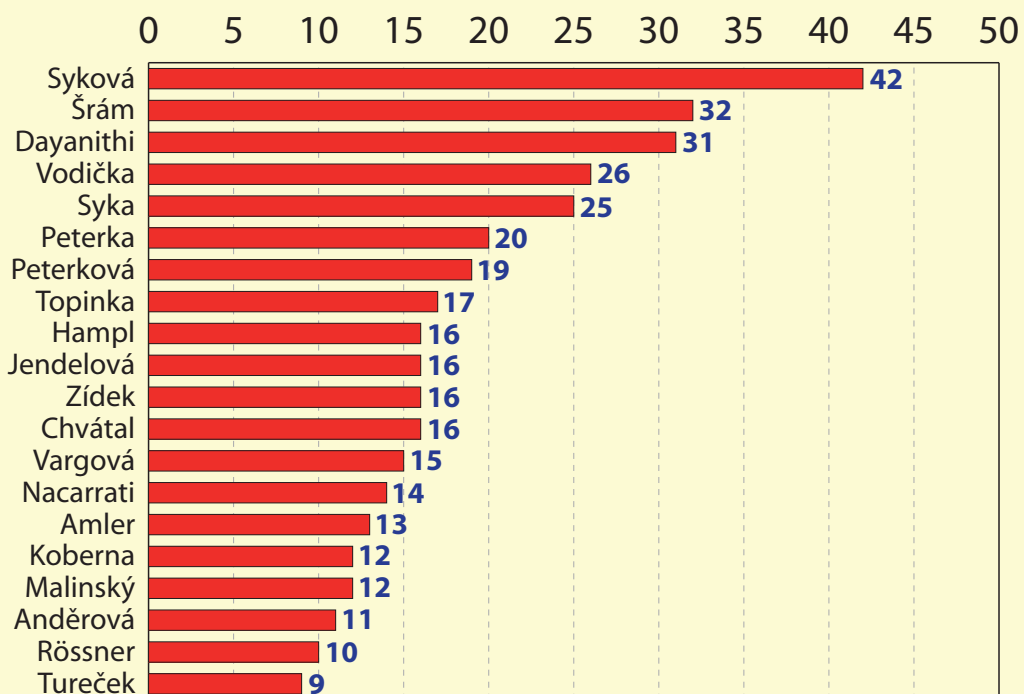
• Počet publikací a jejich impakt faktor



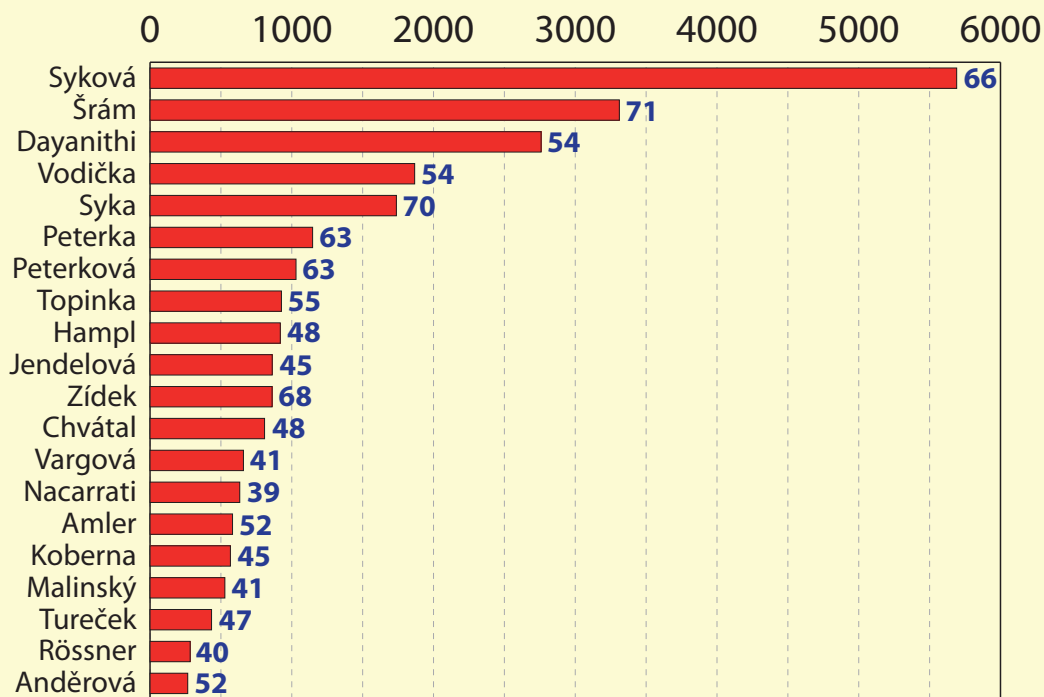
• Počet citací publikačních výsledků ústavu



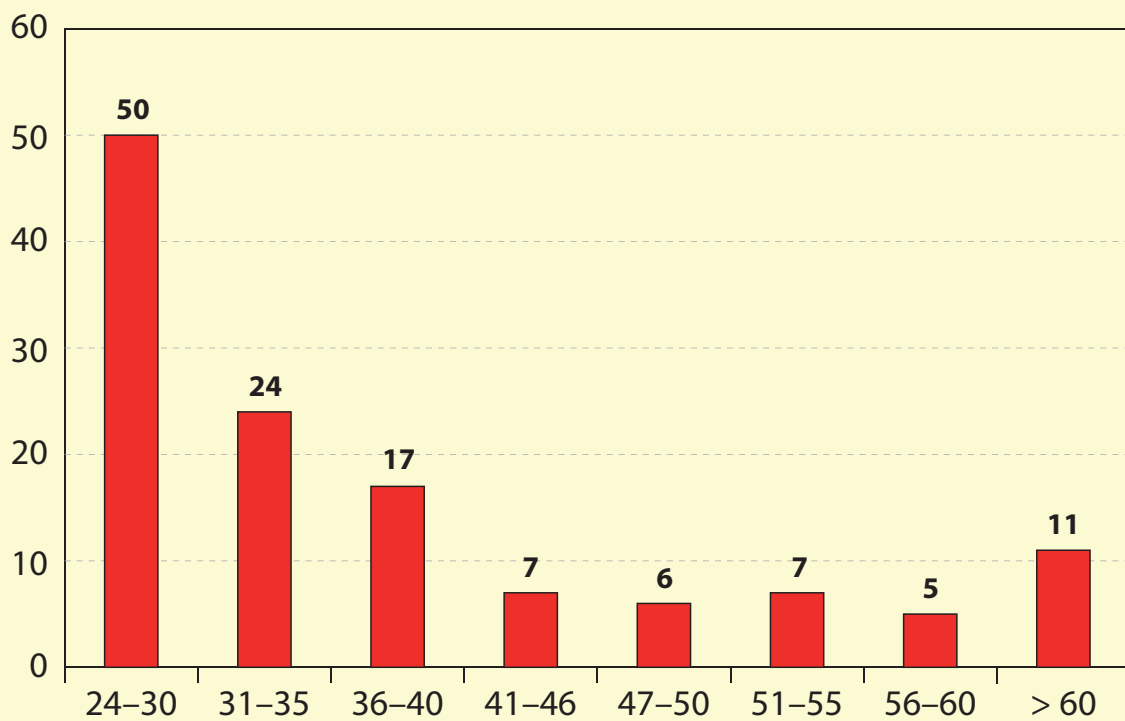
• Počet obhájených dizertačních prací (40)



• H – index vedoucích pracovníků oddělení a laboratoří



• Celkový počet citací (vzhledem k věku)



- Složení vědeckých pracovníků podle věku

MEZINÁRODNÍ GRANTOVÉ A PROGRAMOVÉ PROJEKTY PODPOROVANÉ Z EVROPSKÝCH FONDŮ ŘEŠENÉ V PRŮBĚHU ROKU 2010

Název zastřešující organizace	Název programu	Název projektu	Koordinátor / řešitel	Spoluřešitel	Řešitelské státy	Aktivita
EU	NOE	DiMI – Molekulární zobrazování v diagnostice: Síť pracovišť excelence pro identifikaci nových markerů molekulárního zobrazování pro diagnostické účely. / Diagnostic molecular imaging: A network of excellence for identification of NEW molecular imaging markers for diagnostic purposes.	prof. Andreas Jacobs, University of Cologne, Germany	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	Itálie, Belgie, Francie, Švédsko, Německo, Holandsko	Molekulární zobrazování v diagnostice: Síť pracovišť excelence pro identifikaci nových markerů molekulárního zobrazování pro diagnostické účely.
EU	CA	ENINET – Síť evropských ústavů v oboru neurověd / Network of European Neuroscience Institutes.	prof. Erwin Neher, Max-Planck-Gesellschaft zur Forderung der Wissenschaften, Goettingen, Germany	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	Německo, Francie, Velká Británie, Španělsko, Norsko, Švédsko, Švýcarsko	Síť evropských ústavů v oboru neurověd.
EU	STREP	STEMS – Preklinické hodnocení terapie mrtvice kmenovými buňkami / Pre-clinical evaluation of stem cell therapy in stroke.	Dr. Brigitte Onteniente, Institut National de la Santé et de la Recherche Medicale, Paris, France	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	Švédsko, Dánsko, Francie, Německo	Preklinické hodnocení terapie mrtvice kmenovými buňkami.
EU	ITN	AXREGEN Axonal regeneration, plasticity and stem cells / Regenerace axonů, plasticita a kmenové buňky.	prof. James Fawcett, University of Cambridge, Cambridge, UK	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	UK, Švédsko, Francie, Polsko, Španělsko, Itálie, Švýcarsko, Holandsko, Německo	Kooperace ve výzkumu a ve výuce v oboru neurověd pro Evropskou excelenci.
EU	Marie Curie Conferences and Training courses	RegMegTeach – Jarní škola regenerativní medicíny aneb jak využít kmenové buňky ve vědě a v praxi/Spring School on Regenerative Medicine – how to use neuronal stem cells for science and business.	prof. Arndt Rolfs, University of Rostock, Rostock, Germany	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	Švédsko, Norsko, Německo, Dánsko	Pořádání Školy regenerativní medicíny.
EU	IP	NANOEAR – Nanotechnology based targeted drug delivery using the inner ear as a model target organ.	prof. Ilmari Pyykkö, University of Tampere, Finland	prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.	Finsko, Švédsko, Itálie, Německo, Francie, Rakousko, Švýcarsko, Řecko, Velká Británie, ČR	Výzkum metody aplikace aktivních látek do vnitřního ucha využitím nanočástic.
EU	NoE	INTARESE – Hodnocení zdravotního rizika environmentálních stresorů v Evropě / Integrated assessment of health risk of environmental stressors in Europe.	D. Briggs, Imperial College, London, U.K.	MUDr. Radim Šrám, DrSc.	Velká Británie, Holandsko, Itálie, Finsko, Francie, Řecko, Německo, Švédsko, Španělsko, Belgie, Srbsko, SR, ČR	Hodnocení zdravotního rizika environmentálních stresorů v Evropě.

Název zastřešující organizace	Název programu	Název projektu	Koordinátor / řešitel	Spoluřešitel	Řešitelské státy	Aktivita
EU	IP	ESTOOLS Platformy pro biomedicínské výzkumy s kmenovými buňkami / Platforms for biomedical discovery with human ES cells.	prof. Peter Andrews, University of Sheffield, UK	doc. Ing. Petr Dvořák, CSc., doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.	ČR, UK, Německo, Švédsko, Itálie, Finsko, Švýcarsko, Izrael, Španělsko	Biomedicínský výzkum v oblasti kmenových buněk.
EU	ITN	EdU-GLIA Nové techniky a modely pro studium neuro-gliových interakcí/ Innovative techniques and models to study glia-neuron interactions.	prof. Andreas Reichenbach, Leipzig University, Germany	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	ČR, Německo, UK, Izrael, Francie, Švédsko, Slovinsko	Vzdělávání a výzkum v oblasti neuro-gliálních vztahů.
EU	(CP)	Bioaktivní a vysoce porózní a injektabilní polymerní nosiče schopné formovat tkáň z disociovaných kmenových buněk pro tvorbu autologních kardiovaskulárních náhrad / BIOactive highly porous and injectable Scaffolds controlling stem cell recruitment, proliferation and differentiation and enabling angiogenesis for Cardiovascular ENGINEERED Tissues.	prof. Paolo Giusti, University of Pisa, Italy	doc. RNDr. Evžen Amler, CSc.	ČR, Itálie, UK, Německo, Francie, Holandsko, Dánsko, Rumunsko	Vývoj nových bioaktivních polymerních nosičů schopných formovat tkáň z disociovaných kmenových buněk pro tvorbu autologních kardiovaskulárních náhrad.
ISCF	International Stem Cell Forum / Mezinárodní fórum pro kmenové buňky	International Stem Cell Initiative / Mezinárodní iniciativa pro kmenové buňky.	prof. Peter Andrews, University of Sheffield / Univerzita Sheffield	doc. Ing. Petr Dvořák, CSc.	Austrálie, Česká republika, Finsko, Izrael, Japonsko, Kanada, Singapur, Španělsko, Švédsko, USA, Velká Británie	Celosvětová mezinárodní aktivita, která má za cíl srovnání biologických a molekulárních vlastností linií lidských embryonálních kmenových buněk.
EEA Grants	Národní vzdělávací fond	Kvalita a bezpečí potravy ve vztahu ke kolorektálnímu karcinomu. Předběžná studie. Quality and safety of food in relation to colorectal cancer predisposition. A pilot study.	MUDr. Pavel Vodička, PhD., Ústav experimentální medicíny AV ČR Institute of Experimental Medicine, AS CR		Česká Republika, Norsko	Vědecká spolupráce v oblasti kolorektálního karcinomu.

GRANTOVÉ A PROGRAMOVÉ PROJEKTY PODPOROVANÉ ZE STÁTNÍHO ROZPOČTU ČR ŘEŠENÉ V PRŮBĚHU ROKU 2010

Vědecký útvar	Řešitel	Registrační číslo projektu	Poskytovatel	Název projektu	Hl. příjemce	Řešení projektu	
	Spoluřešitel					od	do
Oddělení neurofyziologie sluchu	prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.	LC554	MŠMT ČR	Centrum neurověd.		2005	2011
Oddělení buněčné neurofyziologie	doc. RNDr. Alexandr Chvátal, DrSc., MBA	1M0538	MŠMT ČR	Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad.	UK 2. LF	2005	2011
Oddělení farmakologie	RNDr. Zdeněk Zídek, DrSc.	1M0508	MŠMT ČR	Nová antivirotika a antineoplastika.	ÚOCHB AV ČR	2005	2011
Oddělení genetické ekotoxikologie	Ing. Jan Topinka, DrSc.	2B06150	MŠMT ČR	Modulace hladiny protilátěk proti polycyklickým aromatickým uhlovodíkům (PAU) ve vztahu ke kouření, nádorovému a nenádorovému onemocnění plic a výzkum možnosti zvyšování odolnosti organismu vůči působení PAU imunizací.	VIDIA s.r.o.	2006	2010
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	KAN201110651	AV ČR	Kombinované kontrastní látky pro molekulární MR zobrazování.	UK/PF	2006	2010
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	2B06130	MŠMT ČR	Využití nově syntetizovaných biomateriálů v kombinaci s kmenovými buňkami v léčbě chorob, které postihují lidské tkáně derivované z mesodermu: chrupavku, kost, vazy a menisky.	VFU Brno/FVL	2006	2011
Oddělení genetické ekotoxikologie	MUDr. Radim Šrám, DrSc.	2B06088	MŠMT ČR	Využití toxikogenomiky při studiu mechanismů působení cizorodých látek v životním prostředí na lidské zdraví.		2006	2011
Oddělení genetické ekotoxikologie	Ing. Jan Topinka, DrSc.	GA310/07/0961	GA ČR	Úloha environmentálních polutantů v mechanismech regulujících vznik a vývoj karcinomu prostaty.		2007	2010
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	LA321	MŠMT ČR	Účast České společnosti pro neurovědy na činnosti Federace evropských neurovědních společností (FENS) a Mezinárodní organizace pro výzkum mozku (IBRO).		2007	2010
Oddělení genetické ekotoxikologie	MUDr. Radim Šrám, DrSc.	SP/1B3/50/07	MŽP ČR	Vliv variability genomu na interakci lidského organismu a životního prostředí.		2007	2011
Laboratoř tkáňového inženýrství	doc. RNDr. Evžen Amler, CSc.	IAA500390702	GA AV ČR	Tkáňové nosiče z nanovláknenných materiálů s vestavěnými liposomy.		2007	2011
Laboratoř buněčné biologie	RNDr. Karel Koberna, CSc.	GA206/07/0233	GA ČR	Biochemická, ultrastrukturální a částečná proteomická analýza penetračního aparátu cerkárií ptačích schistosom.	UK/PF	2007	2011
Oddělení mikroskopie	RNDr. Jan Malínský, Ph.D.	GA204/07/0133	GA ČR	Princip samovolného uspořádání membránu postrádajících organel v eukaryotických buňkách.		2007	2011
Oddělení teratologie	MUDr. Renata Peterková, CSc.	GA304/07/0223	GA ČR	Vývojové poruchy dentice v kontextu fylogeneze.		2007	2011

Vědecký útvar	Řešitel	Registrační číslo projektu	Poskytovatel	Název projektu	Hl. příjemce	Řešení projektu	
	Spoluřešitel					od	do
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	GA304/07/1129	GA ČR	Polarizované kultury hepatocytů a mezenchymových buněk na nanovláknenných vrstvách v experimentálním bioreaktoru.	UK 2. LF	2007	2011
Oddělení farmakologie	doc. RNDr. Eva Kmoníčková, CSc.	GA305/07/0061	GA ČR	Imunofarmakologický potenciál inhibitorů endoplazmatické Ca(2+)-ATPasy (SERCA).		2007	2011
Oddělení neurofyziologie sluchu	RNDr. Jiří Popelář, CSc.	GA309/07/1336	GA ČR	Zpracování akustického signálu v neuronových okruzích sluchového systému.		2007	2011
Oddělení molekulární biologie nádorů	MUDr. Pavel Vodička, PhD.	GA310/07/1430	GA ČR	Molekulární a genetické charakteristiky sporadických nádorů tlustého střeva a konečníku sledované v české populaci.		2007	2011
Oddělení genetické ekotoxikologie	MUDr. Radim Šrám, DrSc.	SP/1B3/8/08	MŽP ČR	Studium zdravotních důsledků znečištěného ovzduší na Ostravsku s využitím genomiky - AIRGEN.		2008	2010
Oddělení molekulární biologie nádorů	MUDr. Pavel Vodička, PhD.	IAA500390806	GA AV ČR	Stanovení exprese genů DNA reparační a genů buněčného cyklu v periferních lymfocytech lidí exponovaných styrenu.		2008	2010
Oddělení farmakologie	RNDr. Zdeněk Zídek, DrSc.	GA305/08/0535	GA ČR	Vliv probiotik na procesy určující farmakokinetiku léčiv		2008	2011
Oddělení genetické ekotoxikologie	MUDr. Radim Šrám, DrSc.	2B08005	MŠMT ČR	Nové přístupy ke studiu toxicity ovzduší a jejich příspěvek ke stanovení limitních hodnot vybraných polutantů.		2008	2011
Laboratoř buněčné biologie	RNDr. Karel Koberna, CSc.	KAN200520801	AV ČR	Cílená exprese a transport bioaktivních molekul.	ÚMG AV ČR	2008	2012
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	KAN200520804	AV ČR	Biokompatibilní nanovláknenné konstrukty vytvářející nové léčivé formy pro aplikaci biologicky a farmakologicky aktivních látek.	ÚMG AV ČR	2008	2012
Oddělení buněčné neurofyziologie	doc. RNDr. Alexandr Chváta, DrSc.	GA309/08/1381	GA ČR	Fyziologické a patologické vlastnosti NMDA receptorů astrocytů.		2008	2012
Oddělení pro technologický transfer	Ing. Jan Prokšík	CZ2.17/1.1.00/31330	MHMP	O.P.P.A Vzdělávání vědeckých pracovníků oblasti transferu biomedicínských technologií do praxe.		2009	2010
Laboratoř buněčné biologie	RNDr. Karel Koberna, CSc.	GA204/09/0973	GA ČR	Organizace lidského jaderného chromatinu.		2009	2011
Oddělení molekulární embryologie	doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.	GA204/09/2044	GA ČR	Molekulární zdroje centrozomálních abnormalit u lidských embryonálních kmenových buněk.		2009	2011
Oddělení buněčné neurofyziologie	Ing. Miroslava Anděrová, CSc.	GA305/09/0717	GA ČR	Indukce neuro- a gliogeneze po ischemickém poškození mozku potkana-úloha morfogenů a růstových faktorů v průběhu regenerace nervové tkáně.		2009	2011
Oddělení neurověd	RNDr. Pavla Jendelová, PhD.	GA203/09/1242	GA ČR	Modifikace povrchu magnetických nanočástic pro buněčné značení a <i>in vivo</i> a <i>in vitro</i> diagnostiku.	ÚMCH AV ČR	2009	2011

Vědecký útvar	Řešitel	Registrační číslo projektu	Poskytovatel	Název projektu	Hl. příjemce	Řešení projektu	
	Spoluřešitel					od	do
Oddělení genetické ekotoxikologie	prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.	NS9804	IGA MZ ČR	Genetické databáze jejich struktura a používání.		2009	2011
Oddělení buněčné neurofyziologie	Dr. José Julio Rodríguez Arellano, PhD.	GA309/09/1696	GA ČR	Patologický potenciál astroglie v průběhu Alzheimerovy choroby.		2009	2011
Oddělení molekulární biologie nádorů	MUDr. Pavel Vodička, PhD.	NS10230	IGA MZ ČR	Racionalizace strategie onkologické léčby radikálně neoperabilních jaterních metastáz kolorektálního karcinomu.	UK/LF v Plzni	2009	2011
Oddělení molekulární biologie nádorů	Dr. Barbara Pardini, PhD.	GP305/09/P194	GA ČR	Genetické polymorfismy v genu MTHFR: modulace rizika CRC a vliv na vnímavost k terapii.		2009	2011
Oddělení buněčné neurofyziologie	Ing. Miroslava Anděrová, CSc.	P303/10/1338	GA ČR	Regulace buněčného objemu u gliových buněk v průběhu ischemie/ reperfuze mozku.		2010	2012
Oddělení teratologie	doc. MUDr. Miroslav Peterka, CSc.	GA304/09/1579	GA ČR	Vznik vývojových vad řezáků na myším modelu.		2009	2012
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	IAA500390902	GA AV ČR	Využití kmenových buněk a biomateriálů v léčbě míšního poranění.		2009	2012
Oddělení neurověd	doc. MUDr. Lýdia Vargová, PhD.	GA309/09/1597	GA ČR	Vliv extracelulární matrix na změny difúzních parametrů extracelulárního prostoru během stárnutí a při metabolickém syndromu.		2009	2012
Oddělení molekulární biologie nádorů	MUDr. Pavel Vodička, PhD.	IAA500200917	GA AV ČR	Genetická a imunologická studie časných stádií kolorektálního adenokarcinomu: prostředí zánětu na konvenčních vs germ free zvířecích modelech a na vzorcích z lidské tkáně.	MÚ AV ČR	2009	2013
Laboratoř tkáňového inženýrství	doc. RNDr. Evžen Amler, CSc.	7E09088	MŠMT ČR	BIOactive active highly porous and injectable Scaffolds controlling stem cell recruitment, proliferation and differentiation and enabling angiogenesis for Cardiovascular ENgineered Tissues.		2009	2013
Oddělení molekulární biologie nádorů	MUDr. Pavel Vodička, PhD.	7F10069	MŠMT ČR	Quality and safety of food in relation to colorectal cancer predisposition. A pilot study.		2010	2010
Oddělení neurofyziologie sluchu	prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.	GAP304/10/1872	GA ČR	Vliv stárnutí na sluchovou kůru člověka - MR studie.		2010	2012
Oddělení neurověd	MUDr. Taras Ardan, PhD.	P302/10/P155	GA ČR	Matrix metaloproteinázy v závažně poškozené rohovce a po její rekonstrukci transplantací kmenových buněk.		2010	2012
Laboratoř tkáňového inženýrství	doc. RNDr. Evžen Amler, CSc.	P304/10/1307	GA ČR	Inteligentní nanovláknenné kompozitní nosiče s liposomy pro kostní regeneraci.		2010	2012
Oddělení neurověd	RNDr. Pavla Jendelová, PhD.	P108/10/1560	GA ČR	Nová generace reduktivně biodegradovaných funkcionalizovaných matric pro tkáňové inženýrství nervového systému.	ÚMCH AV ČR	2010	2013

Vědecký útvar	Řešitel	Registrační číslo projektu	Poskytovatel	Název projektu	Hl. příjemce	Řešení projektu	
	Spoluřešitel					od	do
Oddělení neurověd	RNDr. Pavla Jendelová, PhD.	P108/10/1560	GA ČR	Nová generace reduktivně biodegradovaných funkcionalizovaných matric pro tkáňové inženýrství nervového systému.	ÚMCH AV ČR	2010	2013
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	GAP304/10/0320	GA ČR	Využití autologních mezenchymových buněk při posterolaterální fúzi u degenerativních onemocnění páteře: preklinická a klinická studie.	UK 2. LF	2010	2013
Oddělení neurověd	prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.	GAP304/10/0326	GA ČR	Aplikace autologních mesenchymových kmenových buněk při ošetření ruptury rotátorové manžety: preklinická a klinická studie.	UK 2. LF	2010	2013
Oddělení farmakologie	RNDr. Zdeněk Zídek, DrSc.	ME10116	MŠMT ČR	Imunomodulační vlastnosti látek izolovaných z rostlin tradiční čínské medicíny.		2010	2013
Oddělení molekulární biologie nádorů	Dr. Alessio Naccarati, PhD.	P304/10/1286	GA ČR	Oprava DNA a sporadická forma rakoviny tlustého střeva a konečníku.		2010	2013

ODDĚLENÍ NEUROVĚD

Vedoucí: prof. MUDr. EVA SYKOVÁ, DrSc.

V oddělení jsou studovány mechanismy onemocnění CNS, poranění mozku a míchy, užití kmenových buněk a biomateriálů v jejich léčbě. Dále jsou studovány iontové změny a difúzní parametry v CNS v průběhu fyziologických a patologických stavů, nesynaptický přenos v CNS, receptory a iontové kanály, funkce gliových buněk.



• LABORATOŘ TKÁŇOVÝCH KULTUR A KMENOVÝCH BUNĚK

vedoucí: RNDr. Pavla Jendelová, PhD.

se zabývá izolací, značením a užitím kmenových buněk k léčbě poranění mozku a míchy. Jsou studovány různé typy buněk (mezenchymové kmenové buňky, olfaktorická glie a embryonální kmenové buňky) z hlediska jejich potenciálu napomáhat regeneraci nervové tkáně. Makroporézní polymerní hydrogely nebo nanovláknenné struktury jsou využívány jako vhodné nosiče pro růst buněk jak v kulturách *in vitro*, tak v *in vivo* implantacích jako cílené nosiče buněk, které podporují regeneraci poraněné tkáně. Cílem buněčné terapie je opravit nebo nahradit, případně vylepšit biologické funkce poškozené nervové tkáně.

Vědečtí pracovníci:

prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.
RNDr. Pavla Jendelová, PhD.
MVDr. Takashi Amemori, CSc.
PharmDr. Šárka Kubinová, PhD.
Mgr. Nataliya Kozubenko, PhD.
MUDr. Jiří Šedý, PhD.
MUDr. Aleš Hejčl, PhD.

Pregraduální studenti:

Bc. Jiří Růžička

Techničtí pracovníci:

Pavína Macková
Michal Douděra

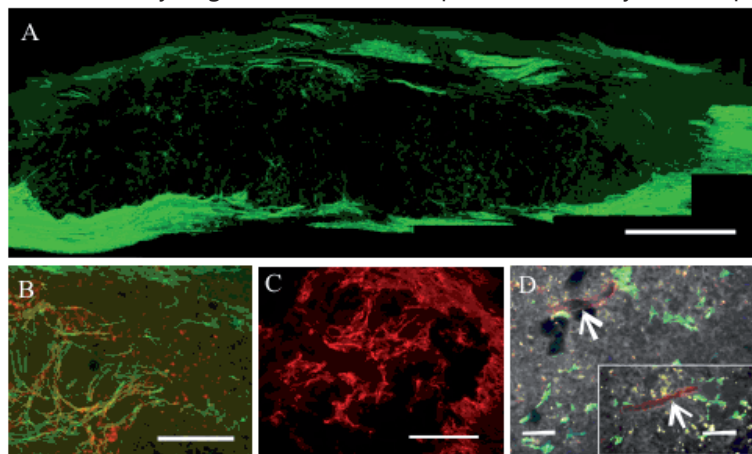
Postgraduální studenti:

Mgr. David Arboleda
Mgr. Miroslava Kapcalová
MUDr. Karolína Turnovcová
MUDr. Serhiy Forostyak
MUDr. Petr Lesný
Mgr. Václav Vaněček
Mgr. Magdalena Kulijewicz
Mgr. Dana Mareková
Mgr. Lenka Baranovičová
Mgr. Assimina Argyriou

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

1) LÉČBA CHRONICKÉHO PORANĚNÍ MÍCHY POMOCÍ HYDROGELŮ OSÁZENÝCH KMENOVÝMI BUŇKAMI.

Kmenové buňky patří mezi nadějnou terapii pro léčbu úrazů i degenerativních onemocnění mozku a míchy. Jejich jednotlivé typy mohou různým způsobem přispět k funkční i morfologické rekonstrukci poraněné tkáně. Embryonální kmenové buňky nebo prekurzorové buňky CNS jsou schopny generovat nové neurony a glie a nahradit tak poraněné buňky (tzv. Repair effect). Naopak, hlavním přínosem dospělých kmenových buněk, např. mezenchymových buněk z kostní dřeně (MSC) je záchrana poškozených buněk v rozvíjející se lézi (tzv. Rescue effect).



dospělých kmenových buněk, např. mezenchymových buněk z kostní dřeně (MSC) je záchrana poškozených buněk v rozvíjející se lézi (tzv. Rescue effect).

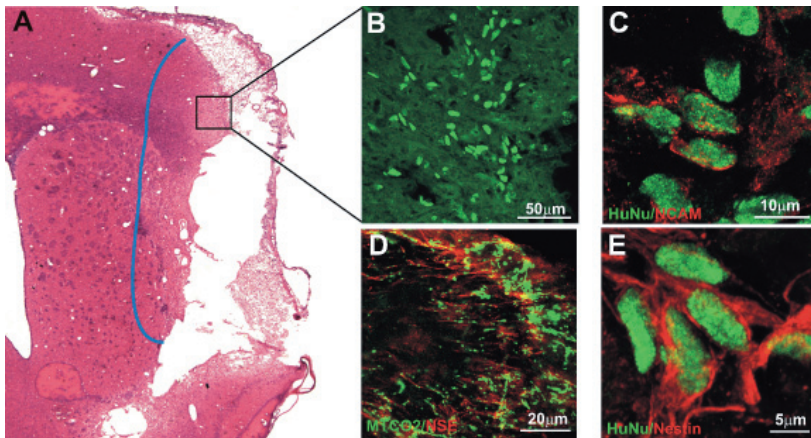
Obr. 1. (A) Hydrogelový implantát je po 5 měsících od implantace prorostlý vrůstajícími axony, které jsou myelinizovány Schwannovými buňkami (B). V implantátu jsou rovněž astrocyty (C) a cévy (D, bílé šipky). Kmenové buňky kostní dřeně v implantátu přežily po celou dobu (D, zelené buňky).

Dospělé kmenové buňky působí tím, že produkují růstové faktory, cytokiny, indukují proliferaci endogenních kmenových buněk, podporují myelinizaci axonů, revaskularizaci, redukují atrofii a rozvoj posttraumatických kavit a astrogliální jizvu. U modelu chronického poranění míchy bylo možné vzniklou lézi v míše přemostit biokompatibilním hydrogelem osázeným kmenovými buňkami kostní dřevě („spinobridge“). U implantovaných zvířat se statisticky významně zlepšila motorika a senzitivita zadních končetin. Po 6 měsících byl implantát infiltrován axony (obr. 1A, B), astrocyty (obr. 1C), cévami (obr. 1D) i Schwannovými buňkami, které myelinizovaly vrůstající axony (obr. 1B). Kmenové buňky v hydrogelu přežily do konce sledování, tj. ještě 5 měsíců po implantaci (obr. 1D). Morfometrická analýza ukázala, že implantace hydrogelu s kmenovými buňkami kostní dřevě statisticky významně redukuje míšní atrofii kaudálně i kranálně od centra poškození. Z těchto pokusů vyplývá, že kombinovaná implantace biomateriálů a kmenových buněk se může uplatnit při léčbě chronického míšního poranění.

2) CHARAKTERIZACE A VYUŽITÍ NEURÁLNÍCH PREKURSORŮ DERIVOVANÝCH Z LIDSKÝCH EMBRYONÁLNÍCH KMENOVÝCH BUNĚK.

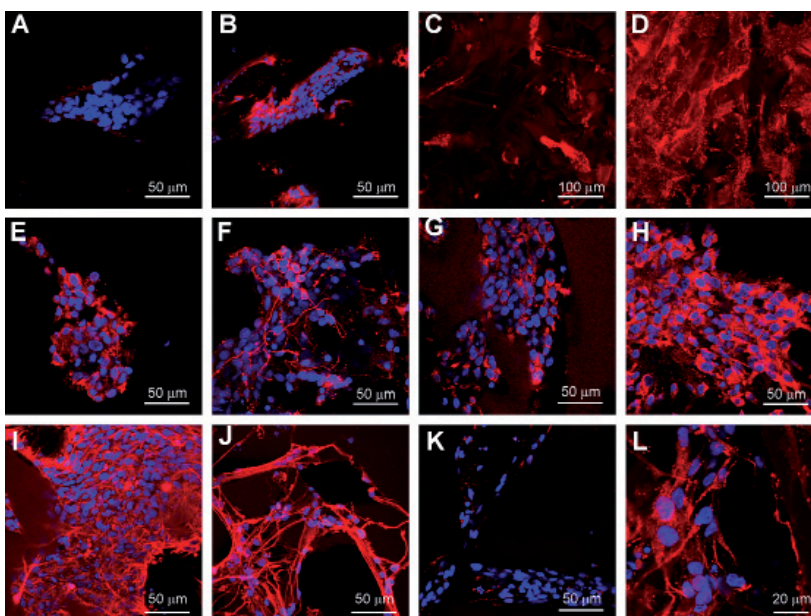
Lidské embryonální kmenové buňky (ESC) mají ohromný diferenciační potenciál. Nicméně riziko tvorby tumorů nebo teratomů je velké. Plně diferencované neurony není možné transplantovat a proto je třeba vytvořit populaci neurálních precursorů, které by bylo možné transplantovat do poškozené nervové tkáně. Z české linie ESC jsme pomocí diferenciačního protokolu vytvořili populaci neurálních precursorů, které jsme charakterizovali povrchovými znaky v závislosti na délce a podmínkách kultivace. Různé populace (pasáže) těchto buněk jsme transplantovali potkanům s modelem iktu a sledovali jsme přežití, diferenciaci a tvorbu tumorů. Z takto získaných výsledků jsme sestavili ideální profil povrchových znaků námi vytvořených neurálních precursorů. Nejlépe vyhovovala pasáž 8, ze které transplantované

buňky migrovaly do okolí poranění (obr. 2A, B) a vykazovaly řadu znaků typických pro dozrávající nervové buňky (obr. 2C–E).



Obr. 2. (A) Rozložení transplantovaných neurálních precursorů v okolí ischemické léze. (B) Detekce transplantovaných buněk pomocí lidského jaderného proteinu. Transplantované buňky nesly znaky dozrávajících nervových buněk (C) NCAM, (D) NSE, (E) Nestin

3) VÝVOJ NOVÝCH TYPŮ BIOMODIFIKOVANÝCH HYDROGELŮ PRO APLIKACE V TKÁŇOVÉM INŽENÝRSTVÍ.



Jako vhodný materiál pro vývoj konstruktů k náhradám a reparaci poškozené tkáně jsou vyvíjeny hydrogely na bázi poly(2-hydroxyethyl methakrylátu) (PHEMA), které jsou biokompatibilní a jejich fyzikálně-chemické vlastnosti lze různě modifikovat.

Obr. 3. Neurální kmenové buňky kultivované na (A, C, E, G, I, K) PHEMA-SH a (B, D, F, H, J, L) AcCGGASIKVAVS-OH-modifikovaném porézním PHEMA hydrogelu (A–D) 1 týden, (E–H) 2 týdny a (I–L) 4 týdny. Immunofluorescenční barvení na (A, B, E, F, I, J) β III-tubulin/DAPI, (C, D) nestin, (G, H) NF70/DAPI a (K, L) synaptophysin/DAPI.

Modifikace PHEMA pomocí peptidické sekvence Ac-CGGASIKVAVS-OH odvozené od lamininu, byla vyvinuta k vytvoření porézního hydrogelu, který umožňuje buněčnou adhezi a podporuje neurální diferenciaci. Peptid Ac-CGGASIKVAVS-OH byl imobilizován prostřednictvím sulfhydrylových skupin vazbou na 2,2'-dithiodipyridin reakcí s 2-[4-(2-pyridyldisulfanyl)butanamido]ethyl methakrylátem. Superporézní Ac-CGGASIKVAVS-OH-modifikovaný PHEMA hydrogel významně zvyšoval počet a celkovou plochu adherovaných mesenchymálních kmenových buněk v přítomnosti i absenci séra v kultivačním médiu. Ac-CGGASIKVAVS-OH peptid dále zvyšoval adhezi, proliferaci, diferenciaci a tvorbu výběžků lidských fetálních neurálních kmenových buněk během prvních dvou týdnů expanze a přispíval k tvorbě vyššího procentuálního zastoupení zralých neurálních buněk po čtyřtýdenní expanzi. Modifikace peptidickou sekvencí SIKVAV efektivně zvyšuje bioadhezivní vlastnosti PHEMA hydrogelu a umožňuje jeho využití pro aplikace v tkáňovém inženýrství. Vývoj takto biomodifikovaných hydrogelů se dále zaměřuje na jejich použití jako konstruktů k přenosu kmenových buněk a náhradě poškozené míšní tkáně. Připravují se biokompatibilní hydrogelové implantáty s orientovanou porozitou a vhodnými mechanickými vlastnostmi.

PATENT UDĚLENÝ V ROCE 2010

Horák, D., Syková, E., Babič, M., Jendelová, P., Hájek, M., Methods of preparation of superparamagnetic nanoparticles based on iron oxides with modified surface and superparamagnetic nanoparticles obtained by such a method. Ústav makromolekulární chemie AV ČR / Ústav experimentální medicíny AV ČR. Datum podání přihlášky: 23. 2. 2007. Datum udělení patentu: 8. 9. 2010. EP 1991503 B1

• LABORATOŘ DIFÚZNÍCH STUDIÍ A ZOBRAZOVACÍCH METOD vedoucí: prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.

studuje změny extracelulárního prostoru, které vznikají během fyziologických a patologických stavů. K tomuto účelu se používá několik modelů na zvířatech, které napodobují patologické stavy a nemoci nervového systému, např. ischemického poškození, nádorů, změn během stárnutí, poranění mozku a míchy, Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby. Cílem výzkumu je zlepšení terapeutických a diagnostických metod pro onemocnění CNS a prevence poškození nervového systému. Studie jsou zaměřeny na výzkum a pochopení mechanismů udržování iontové a objemové homeostázy v CNS, extracelulárního prostoru a jeho funkce komunikačního kanálu, difúzních parametrů, nesynaptického „objemového“ přenosu a úlohy gliových buněk při přenosu signálů, chování a regenerace.

vědečtí pracovníci:

prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.
Doc. MUDr. Lýdia Vargová, PhD.
Mgr. Ivan Voříšek, PhD.
MUDr. Aleš Homola, PhD.

doktorandi:

Mgr. Lesia Dmytrenko
MUDr. Michal Cicanič

laboranti/technický personál:

Hana Hronová
Helena Pavlíková

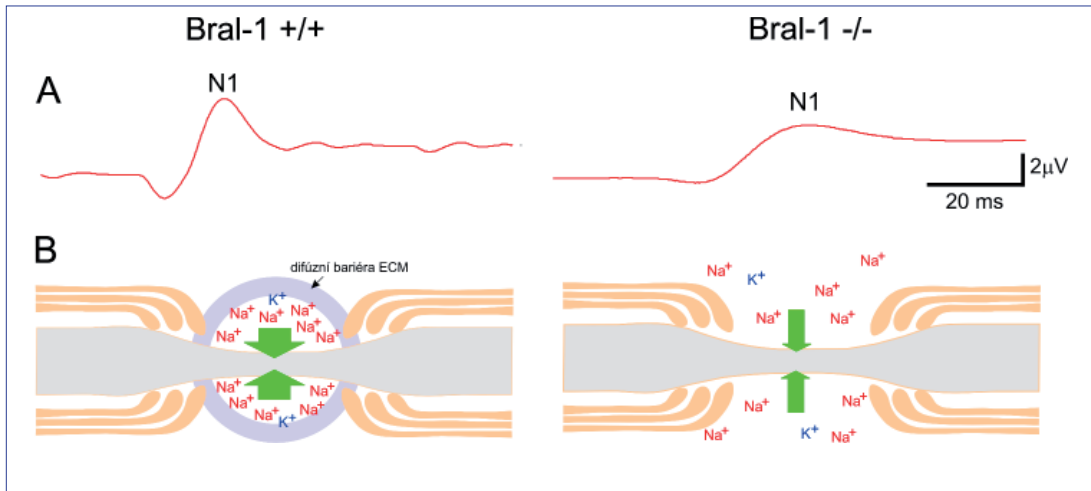
VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

1) VLIV PROTEINU BRAL-1 NA FORMOVÁNÍ DIFÚZNÍCH BARIÉR A RYCHLOST VEDENÍ NERVOVÉHO SIGNÁLU.

Během saltatorního šíření akčního potenciálu přeskokem mezi Ranvierovými zářezy (RV) myelinizovaných axonů probíhá při depolarizaci membrány rychlá výměna iontů mezi extracelulárním prostředím a vnitřkem axonu. Dosud málo prozkoumanou oblast vlivu vlastností extracelulárního mikroprostředí v okolí RV na rychlost propagace signálu jsme studovali za použití unikátního kmene geneticky modifikovaných myší, deficientních pro spojovací protein Bral-1.

Bral-1 je pro mozek specifický spojovací protein (brain-derived link protein), který stabilizuje extracelulární matrix v oblasti RV bílé hmoty mozku tvořenou komplexem hyaluronové kyseliny s glykoproteiny. Ukázali jsme, že u Bral-1 deficientních myší dochází k poruše struktury a k vymizení typické akumulace extracelulární matrix v těsné blízkosti Ranvierova zářezu. Měření rychlosti propagace signálu v optickém nervu prokázalo, že vodivost myelinizovaných axonů u Bral-1 deficientních myší je značně zpomalena (**obr. 4**).

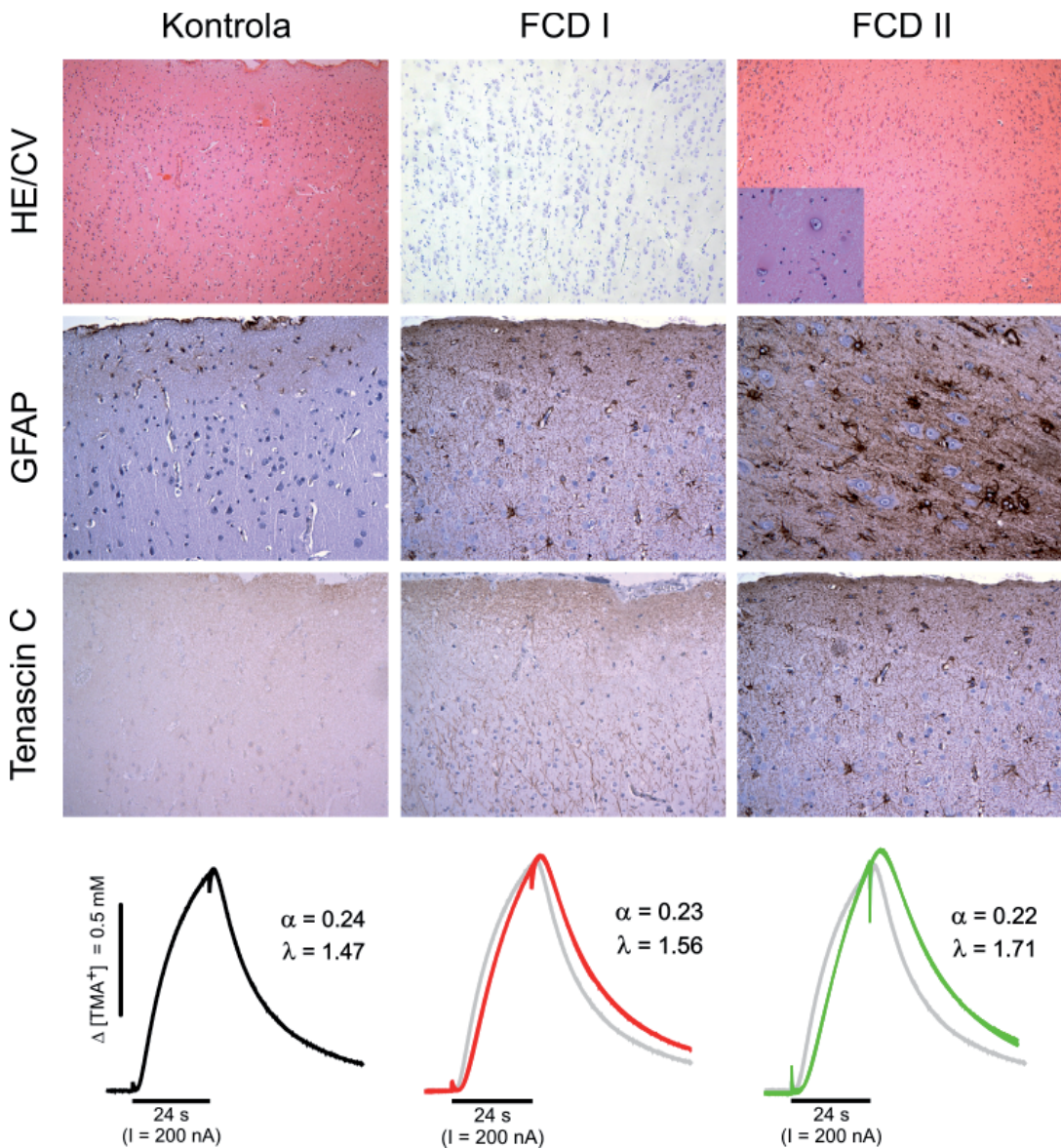
Použití iontoforetické metody v reálném čase a difúzně-vážené magnetické rezonance odhalilo, že množství difúzních bariér je z důvodu absence extracelulární matrix sníženo a difúze v extracelulárním prostředí je do značné míry usnadněna. Naše výsledky naznačují, že extracelulární matrix napomáhá vyšší akumulaci především sodných iontů (Na^+) v blízkosti RV a to pravděpodobně jak vazbou kationtů na negativně nabitě skupiny, tak tím, že extracelulární matrix tvoří difúzní bariéry, omezující difúzi volných iontů v bezprostředním okolí Ranvierova zářezu. Tím se vytvoří "zásobárna" sodných iontů, které při otevření kanálů během propagace akčního potenciálu masivně vstupují dovnitř axonu a depolarizují membránu (**obr. 4**). Chybění této "zásobárny" u Bral-1 negativních zvířat vede k prodloužení času potřebného k depolarizaci membrány a vzniku akčního potenciálu a tudíž ke zpomalení šíření nervového signálu axonem.



Obr. 4. (A) Reprezentativní záznamy evokovaných potenciálů v optickém nervu Bral-1 pozitivních (+/+) a negativních zvířat (-/-). Evokovaný potenciál u Bral-1 deficientních myši má nižší amplitudu a prodlouženou dobu trvání ve srovnání s kontrolou. (B) Schema mikroprostředí Ranvierova zářezu. U Bral-1 pozitivních zvířat s intaktní extracelulární matrix jsou ionty akumulovány v těsné blízkosti Ranvierova zářezu a v okamžiku akčního potenciálu dochází k rychlému vstupu Na^+ do axonu. U Bral-1 -/- tato akumulace chybí a depolarizace je menší a pomalejší.

2) DIFÚZNÍ PARAMETRY V EPILEPTICKÉ TKÁNI U LIDÍ – FOKÁLNÍ KOROVÉ DYSPLAZIE.

Vývojové malformace mozkové kůry, jako jsou fokální korové dysplázie (FCD), jsou jednou z nejčastějších příčin farmakorezistentní epilepsie u lidí. Mechanismus vzniku epilepsie u FCD je pravděpodobně multifaktoriální a známé příčiny způsobující poruchy synaptického přenosu v epileptickém ložisku zahrnují např. přítomnost aberantních neuronálních okruhů, porušenou rovnováhu mezi excitačními a inhibičními neurony, a poruchy homeostatických funkcí glie. Nervové buňky však mohou kromě synaptického přenosu komunikovat rovněž extrasynapticky, tj. pomocí difúze neuroaktivních látek extracelulárním prostorem (ECP). Tato komunikace je ovlivňována změnami velikosti a geometrie ECP, které doprovázejí různé fyziologické i patologické stavy, především ty, u kterých dochází ke strukturální přestavbě tkáně. Iontoforetickou metodou v reálném čase jsme studovali změny difúzních parametrů ECP ve vzorcích tkáně chirurgicky léčených epileptických pacientů a korelovali jsme je s histologickým nálezem (FCD typu I, typu II) (**obr. 5**). Vzorky tkáně bez strukturální aberace byly použity jako kontrola. Objem ECP ve fokálních dyspláziích I. ani II. typu se nelišil od kontrolních hodnot, ale hodnota tortuozity, odrážející množství difúzních bariér, byla u obou typů zvýšená (více u FCD II; **obr. 5**). Zpomalení difúze v ECP byly u FCD I a II spojeny s vyšší intenzitou barvení na GFAP a astrogliotickou přestavbou tkáně, u FCD II navíc představují velkou část difúzních bariér molekuly extracelulární matrix (**obr. 5**). Společně s nižším počtem inhibičních interneuronů, může zpomalení difúze přispívat k lokální akumulaci neuroaktivních látek, jako je glutamát a usnadnit tak vznik a rozvoj epileptické aktivity. Změna difúzních parametrů ECP a s ní spojená porucha extrasynaptického přenosu může tudíž reprezentovat další faktor epileptogenicity ve fokálních dyspláziích kůry.



Obr. 5. Histologický obraz zdravé tkáně (kontrola), FCD typu I a II (orig. zvětšení 100x) a odpovídajících difúzních křivek, jejichž matematickou analýzou byly získány hodnoty extracelulární objemové frakce (α) a tortuozity (λ). Základní barvení na hematoxylin-eosin (HE) nebo kresyl-violet' (CV u FCD typu I) ukazuje, že typická struktura vrstev zdravé tkáně u obou typů fokálních dysplázií chybí, u FCD II jsou navíc přítomné aberantní balónové buňky (inset, orig. zvětšení 400x). U obou typů dysplázií bylo zvýšené barvení na GFAP pozitivní reaktivní glii; patologická akumulace extracelulární matrix (např. tenascin C) byla detekována pouze u FCD typu II. Tvar difúzních křivek i vypočítané parametry ukazují zvýšenou tortuozitu v obou typech FCD (více u FCD II), tj. pomalejší extracelulární difúzi, zatímco objem extracelulárního prostoru se významně neliší od kontrolní tkáně (pro srovnání šedá silueta reprezentuje křivku ve zdravé tkáni).

• LABORATOŘ HISTOCHEMIE A FARMAKOLOGIE OKA

vedoucí: doc. MUDr. Jitka Čejková, DrSc.

zkoumá příčiny špatně se hojících lézí předního očního segmentu při různých očních onemocněních nebo poraněních. Hledá pozitivní možnosti jejich prevence nebo léčby umožňující hojení, připravují se postupy využívající k léčbě defektů rohovky kmenové buňky.

Vědeční pracovníci:

doc. MUDr. Jitka Čejková, DrSc.
MUDr. Taras Ardan, PhD.

Postgraduální student:

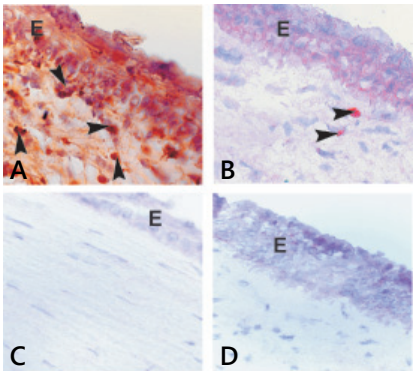
Ing. Čestmír Čejka

Technický pracovník:

Jana Herlová

1) TREHALOZA REDUKUJE POŠKOZENÍ OKA, VYVOLANÉ OXIDAČNÍM A NITROSAČNÍM STRESEM.

Disacharid trehaloza je syntetizován nižšími i vyššími organizmy (ne savci) jako obrana proti stresu různého původu. U savčích buněk je popsáno, že je trehaloza účinně chrání proti vysychání (desikačnímu stresu). My jsme prokázali, že trehaloza aplikovaná lokálně na povrch králičího oka, snižuje poškození oka, vyvolané oxidačním a nitrosačním stresem, indukovaným UVB zářením. Trehaloza snižuje změny transmise světla rohovkou, snižuje apoptozu rohovkových epiteliálních buněk a redukuje rohovkové poškození, vyvolané reaktivními produkty kyslíku a oxidem dusnatým. Protože u keratoconjunctivitis sicca, suchého oka, jsou změny povrchu oka způsobené desikačním, oxidačním a nitrosačním stresem, je trehaloza perspektivní pro jeho léčení (**obr. 6**).



Obr. 6 Imunohistochemický průkaz peroxynitritu (márkru oxidačního stresu), vzniklého reakcí superoxidu s oxidem dusnatým v kryostatových řezech králičí rohovky (pomocí nitrotyrosinových residuí) po aplikaci fyziologického roztoku, nebo trehalozy na povrch oka během ozařování UVB paprsky (dávkou 0,5 J/cm² po dobu 4 dnů).

(A) V rohovce, na kterou byl aplikován fyziologický roztok v průběhu ozařování UVB paprsky, je v epitelu rohovky E a v buňkách zánětlivého infiltrátu (šípky) ve stromatu rohovky vysoká exprese peroxynitritu.

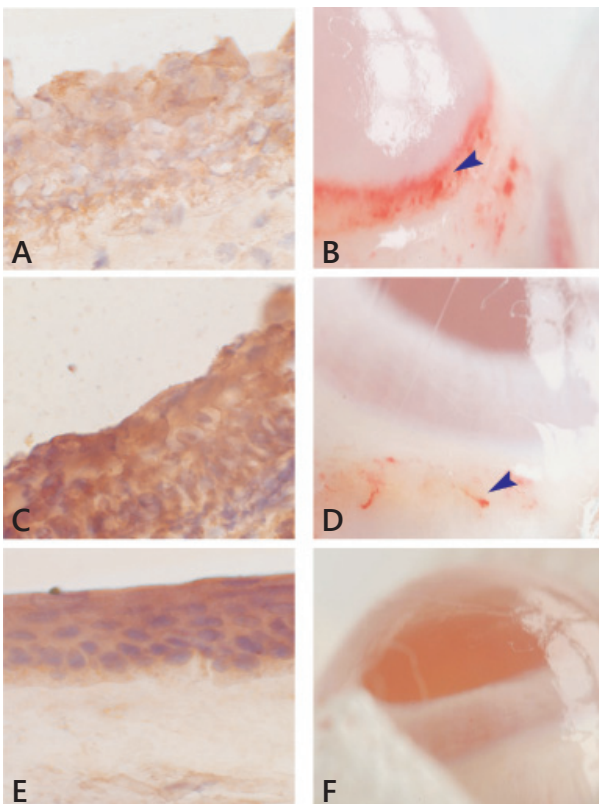
(B) Po aplikaci trehalozy v průběhu ozařování je exprese peroxynitritu podstatně nižší v epitelu rohovky E i ve stromatu v zánětlivých buňkách (šípky), které jsou ojedinělé.

(C) V normální rohovce se peroxynitrit nevyskytuje.

(D) V kontrolním řezu (bez primární protilátky v inkubačním médiu) se barví pouze buněčná jádra dobarvením.

2) AKTINOQUINOL V KOMBINACI S KYSELINOU HYALURONOVOU V OČNÍCH KAPKÁCH CHRÁNÍ OKO PŘED POŠKOZENÍM UV ZÁŘENÍM.

Zánět oka způsobený slunečním UV zářením je velmi nebezpečný. Je vyvolán UV zářením o kratší vlnové délce, UVB zářením. Účinná ochrana oka je nezbytná. Až doposud byla známá ochrana oka před slunečním zářením pomocí brýlí s UV filtrem, anebo kontaktních čoček s účinným UV filtrem. My jsme zjistili na modelu králičího oka, že actinoquinol v kombinaci s kyselinou hyaluronovou ve formě očních kapek je velmi účinným UV absorbérem. Chrání oko před mikroskopickými i optickými poruchami, vyvolanými UV zářením. Oční kapky s UV absorbérem jsou perspektivní pro sportovní aktivity lidí za slunečního počasí.



Obr. 7. Makroskopický a mikroskopický obraz králičí rohovky (imunohistochemická exprese antioxidačního enzymu aldehyddehydrogenázy 3A1, ochraňující oko před účinkem oxyradikálů, indukovaných UVB zářením), na kterou byl aplikován (kapáním) aktinoquinol kombinovaný s kyselinou hyaluronovou, nebo fyziologický roztok, v průběhu ozařování UVB paprsky dávkou (0.5 J/cm²) odpovídající UVB paprskům ze slunečního UV záření, dopadajících na lidskou rohovku v průběhu 5 hod pobytu na slunci.

(A) Exprese aldehyddehydrogenázy 3A1 je snížena v rohovkovém epitelu E po aplikaci fyziologického roztoku v průběhu ozařování UVB paprsky.

(B) Rohovka je po aplikaci fyziologického roztoku v průběhu ozařování UVB paprsky vaskularizována (šípka) a neprůhledná.

(C) Po aplikaci UV absorbéru v průběhu ozařování UVB paprsky není exprese aldehyddehydrogenázy 3A1 v rohovkovém epitelu E signifikantně snížena v porovnání k normálu (vlevo dole).

(D) Rohovka není po aplikaci aktinoquinolu s kyselinou hyaluronovou v průběhu UVB ozařování vaskularizována a transparence rohovky je zachována. Cévy (šípka) jsou pouze připraveny na korneosklerálním rozhraní.

(E) Normální rohovka s výraznou expresí aldehyddehydrogenázy 3A1 v rohovkovém epitelu E.

(F) Normální oko s průhlednou rohovkou.

ODDĚLENÍ NEUROFYZIOLOGIE SLUCHU

Vedoucí: prof. MUDr. JOSEF SYKA, DrSc.

studuje morfologické a funkční charakteristiky nervových buněk sluchového systému a jejich poškození patologickými procesy. Elektrofyziologické a histologické nálezy jsou korelovány se změnami v chování laboratorních zvířat hodnocených na základě behaviorálních testů.



• LABORATOŘ FYZIOLOGIE A PATOFYZIOLOGIE SLUCHU

vedoucí: prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.

studuje především struktury a funkce sluchového systému u zvířat za normálních podmínek a sleduje změny během vývoje, stárnutí a po působení různých patologických činitelů na sluchový systém, jako je např. hluk nebo léky poškozující sluch. Při výzkumu jsou používány imunohistochemické techniky, registrace aktivity jednotlivých neuronů nebo sluchových vyvolaných odpovědí z mozku, měření otoakustických emisí a behaviorální testy. Změny sluchu během stárnutí jsou sledovány u rychle stárnoucího kmene potkana Fischer 344, který slouží jako experimentální model pro poznání mechanismů vzniku a vývoje presbyakuze u člověka. Výsledky výzkumu mechanismů poškození sluchu po expozici intenzivnímu hluku, prováděného na potkanech, jsou v praxi ověřovány na pacientech a dobrovolnících v rámci spolupráce s ORL klinikami pražských nemocnic. Na tento výzkum navazuje projekt EU NANOEAR, zabývající se vlivem lokálně podaných nanočástic na funkci vnitřního ucha. Další směr představuje analýza kódování akustických signálů sítěmi neuronů v centrálním sluchovém systému. Bylo prokázáno, že sluchová kůra potkana má lateralizovanou funkci, pravá hemisféra se specializuje na změny ve frekvenci zvuku, levá na časové parametry zvukového signálu. Poznatek mění představu o fylogenezi savčího mozku.

Vědeckí pracovníci:

prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.
MUDr. Daniela Buckiová, CSc.
Ing. Zbyněk Bureš, PhD
Ing. Milan Jilek
RNDr. Jiří Popelář, CSc.
RNDr. Natalia Rybalko, CSc.
Dr. Ing. Daniel Šuta
MUDr. Ladislav Ouda, PhD

Postgraduální studenti:

MUDr. Zuzana Balogová
Mgr. Jana Burianová
Mgr. Jolana Grécová
MUDr. Tetyana Chumak
Mgr. Ondřej Novák
Mgr. Kateryna Pysaněnko
MUDr. Oliver Profant

Techničtí pracovníci:

Jana Janoušková
Jan Setnička

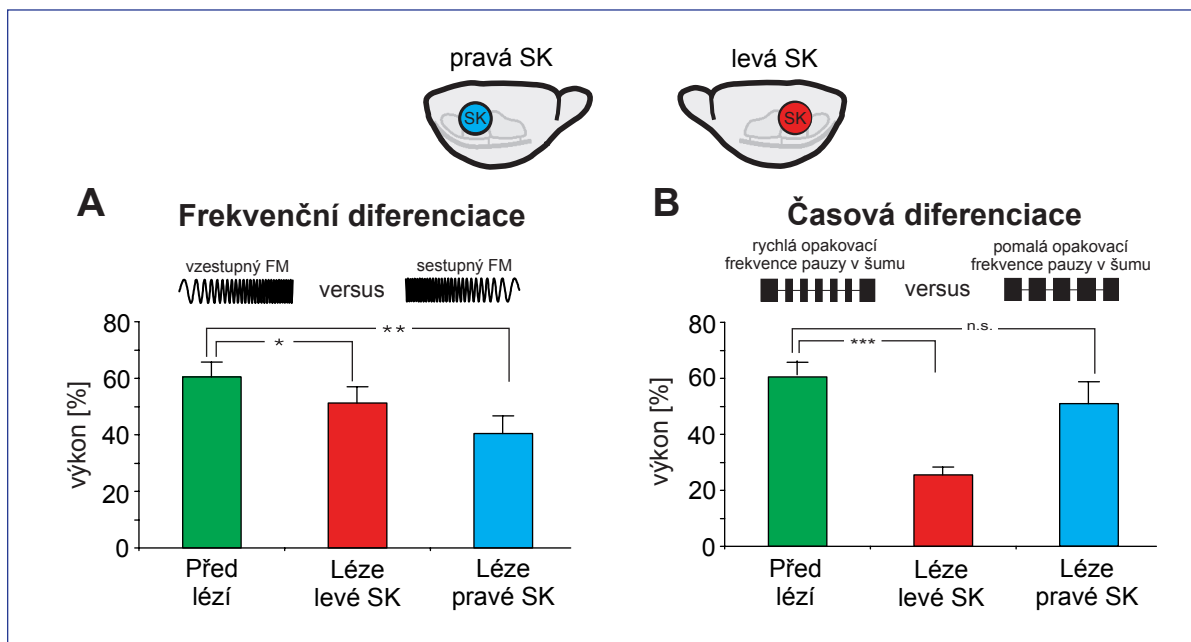
VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

1) LATERALIZACE FUNKCÍ SLUCHOVÉ KŮRY JE PŘÍTOMNA I U NIŽŠÍCH SAVCŮ, JAKO JSOU POTKANI

Schopnost diferenciaci směru frekvenční modulace (frekvenční diferenciaci) je u potkana porušena po lézi sluchové kůry vpravo, zatímco schopnost diferenciaci časových parametrů zvukového podnětu jako je rozdílný rytmus či trvání pauzy v šumu (časová diferenciaci) je významně horší po inaktivaci sluchové kůry vlevo. Účinek léze pravé a levé sluchové kůry je tedy podobný jako u člověka.

Schopnost frekvenčního nebo časového rozlišování byla u potkana testována behaviorální metodou operantního podmiňování s negativním posílením. Vyživení potkani byly naučeni pít vodu při zaznění jednoho podnětu (například stoupající frekvence tónu nebo rychle se opakujícího výskytu pauzy v šumu) a museli přestat pít při zaznění opačného podnětu (klesající frekvence tónu nebo řídkěji se vyskytující pauzy v šumu).

Nesprávná reakce byla trestána slabým elektrickým podnětem do packy. Po dosažení výkonu 60–70 % správných odpovědí byla provedena u narkotizovaného zvířete léze buď pravé nebo levé sluchové kůry (permanentní mechanická léze nebo dočasná inaktivace sluchové kůry aplikací 30 µg muscimolu). Po zotavení zvířete byl potkan opět testován na schopnost frekvenčního nebo časového rozlišování a jeho výkon byl porovnán s dosaženým výkonem před lézí sluchové kůry.



Obr. 1. Schopnost rozlišování směru frekvenční modulace (A) je u potkana více porušena po lézi sluchové kůry vpravo (modrý sloupec), zatímco schopnost rozlišování výskytu pauzy v šumu (B) je významně horší po inaktivaci sluchové kůry vlevo (červený sloupec).

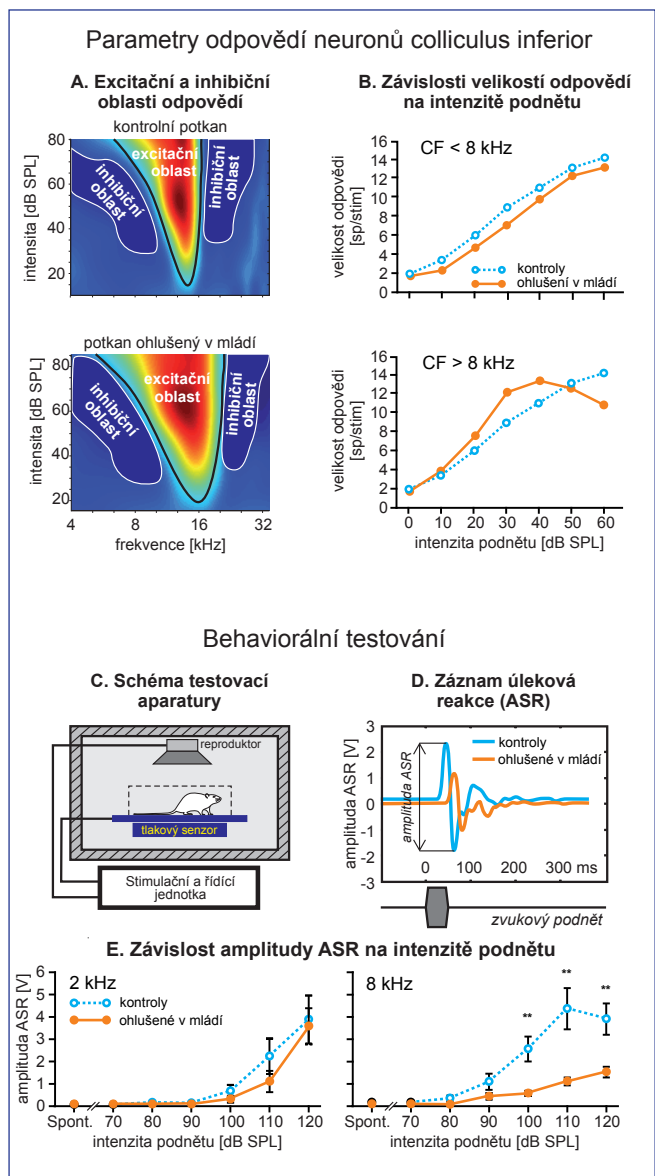
Výsledky ukázaly, že schopnost frekvenčního rozlišování byla výrazně zhoršena u potkanů s lézí sluchové kůry vpravo (Rybalko a spol., 2006; obr. 1A), zatímco schopnost časového rozlišování byla signifikantně snížena u potkanů, u nichž byla provedena léze levé sluchové kůry (Rybalko a spol., 2010; obr. 1B). Tento výsledek ukazuje, že lateralizace funkcí sluchové kůry levé a pravé hemisféry, která je známa u člověka, je přítomna i u nižších savců jako jsou potkani.

2) KRÁTKÁ EXPOZICE INTENZIVNÍMU HLUKU V MLÁDÍ MŮŽE ZPŮSOBIT VÁŽNÉ PORUCHY SLUCHOVÉ FUNKCE U DOSPĚLÝCH JEDINCŮ

Potkan se rodí s nevyzrálým sluchovým systémem, začíná slyšet až 12. den po narození. Proto slouží jako vhodný model pro studium vlivu hluku na sluch v raných stádiích vývoje. Krátká expozice intenzivnímu hluku, kterou jsme provedli u potkana 14. den po narození (širokopásmový šum, 125 dB SPL, 8 min), vyvolala trvalé změny funkce neuronů sluchového jádra středního mozku colliculus inferior v dospělosti, které je možné charakterizovat jako zhoršení frekvenční citlivosti nervových buněk zvláště na vysokých frekvencích (Grécová a spol., 2009), ale také jako změny reaktivity neuronů colliculus inferior na intenzitní parametry podnětu (Bureš a spol., 2010).

Zhoršená citlivost neuronů colliculus inferior se projevila především v rozšíření tzv. frekvenčních prahových křivek zejména neuronů, naladěných na frekvence zvuku přesahující 8 kHz, sluchový práh přitom nebyl zhoršen proti neuronům u kontrolních dospělých potkanů. Změny frekvenčních prahových křivek se týkaly jejich excitačních částí, inhibiční zóny nebyly proti kontrolám změněny (obr. 2A). Současná studie prokázala, že krátkodobá hluková expozice v raném stadiu vývoje má za následek i změny reakcí neuronů colliculus inferior dospělého potkana na intenzitní parametry zvukových podnětů (obr. 2B). Přestože odpovědi neuronů snímané ve sluchovém jádře colliculus inferior u potkanů ohlušených v mládí měly stejný sluchový práh jako kontrolní potkani, dynamický rozsah odpovědí zejména vysokofrekvenčních neuronů na změny intenzity zvuku byl proti kontrolám signifikantně užší, reakce neuronů se vyznačovaly větším sklonem závislosti velikosti odpovědi na zvyšování intenzity podnětu, menší maximální odpovědi, menším podílem neuronů s monotonním průběhem závislosti a tudíž bylo přítomno větší procento neuronů s nemonotonním typem odpovědi. Testovali jsme také subjektivní vnímání změny v intenzitě zvuku u v mládí ohlušených potkanů. Použili jsme behaviorální metodu registrace úlekové reakce, tj. motorické odpovědi na krátký zvukový podnět (acoustic startle response, obr. 2C, D) a její inhibici předcházejícím podnětem (prepulsní inhibice). Výsledky ukázaly, že u dospělých potkanů, kteří byli v mládí exponováni hluku, byla maximální velikost úlekové reakce na zvukový podnět výrazně snížena při použití vysokých frekvencí zvuku (např. 8 kHz) v porovnání s kontrolními potkany (obr. 2E). Také závislost účinku prepulsní inhibice byla u hlukem exponovaných potkanů rozdílná oproti neovlivněným kontrolním jedincům. Výsledky behaviorální práce úzce korelují s výše popsány

změny funkce neuronů colliculus inferior a jsou zajímavé především proto, že colliculus inferior má významnou úlohu v dráze úlekové reakce. V souhrnu naše nálezy naznačují, že krátká intenzivní expozice hluku v mládí, která nevyvolá trvalé změny sluchového prahu v dospělosti, může způsobit vážné poruchy sluchové funkce u dospělých jedinců, které se nemusí potvrdit při běžném vyšetření sluchového prahu. S podobným efektem se zřejmě při dostatečně intenzivní hlukové zátěži můžeme setkat i v případě hlukové expozice dětí v raném stadiu vývoje, například u nedonošenců.



Obr. 2. (A) Excitační a inhibiční oblasti odpovědi neuronů colliculus inferior u kontrolních potkanů a potkanů ohlušených v mládí. (B) Křivky závislosti velikostí odpovědi na intenzitě podnětu u nízkofrekvenčních (CF < 8 kHz) a vysokofrekvenčních (CF > 8 kHz) neuronů colliculus inferior kontrolního potkana a potkana ohlušeného v mládí. (C) Schéma komory pro měření úlekové reakce (ASR). (D) Typický záznam ASR u kontrolních a v mládí ohlušených potkanů. (E) Závislost amplitudy ASR, vyvolanou tónem o frekvenci 2 kHz a 8 kHz, na intenzitě podnětu u kontrolních a v mládí ohlušených potkanů.

• LABORATOŘ SYNAPTICKÉ FYZIOLOGIE

vedoucí: RNDr. Rostislav Tureček, CSc.

se zaměřuje na zkoumání mechanismů excitačního a inhibičního synaptického přenosu pomocí elektrofyziologických a imunohistochemických technik. Studium je prováděno na supravitálních řezech mozkového kmene potkana nebo myši.

Vědeční pracovníci:

RNDr. Rostislav Tureček, CSc.

Ing. Michaela Králiková, PhD.

Postgraduální studenti:

Mgr. Bohdana Hrušková

Mgr. Kateryna Pysaněnko

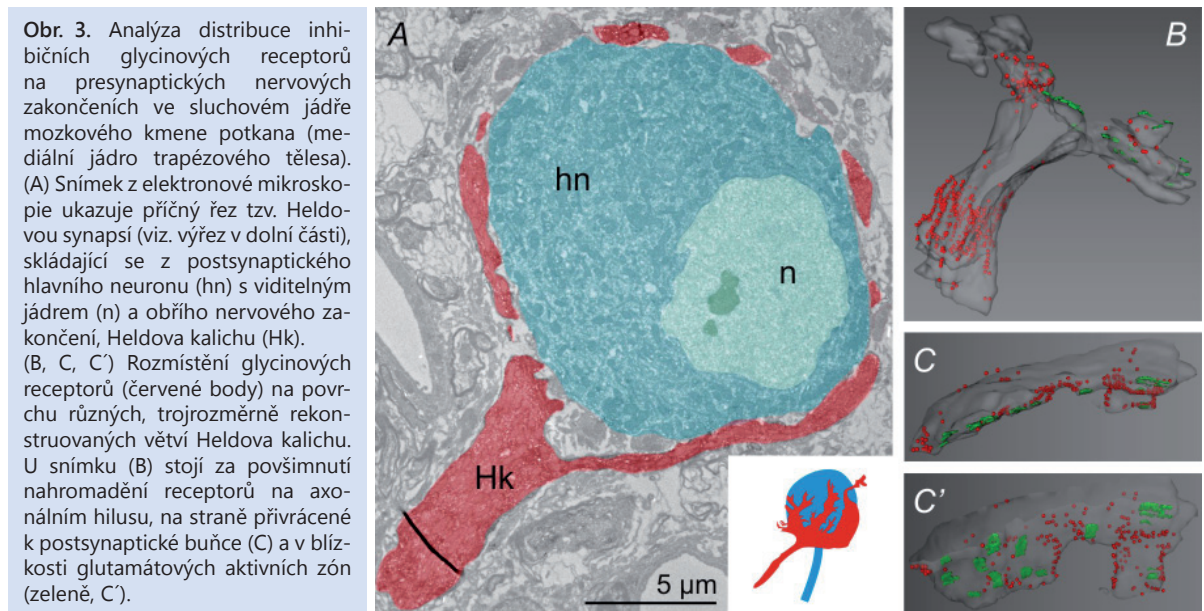
Mgr. Johana Trojanová

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

- DISTRIBUCE PRESYNAPTICKÝCH GLYCINOVÝCH RECEPTORŮ SLEDUJE VÝSKYT ENDOGENNÍCH ZDROJŮ GLYCINU.

Glycin je hlavní inhibiční neuropřenašeč v mozkovém kmene a páteřní míše. Jeho činnost je zprostředkována aniontovými kanály aktivovanými glycinovými receptory (GlyR), což jsou pentamerické

proteiny složené z podjednotek α 1-4 a β . Pomocí imunohistochemických a elektrofyziologických metod se nám dříve podařilo identifikovat α 1 homomerické GlyR na obřích glutamátergních nervových zakončeních, tzv. Heldových kališích ve sluchovém jádře mozku potkana (mediální jádro trapézového tělesa). Aktivace těchto receptorů exogenními agonisty vedla ke zvýšenému výlevu glutamátu z Heldova kalichu. V roce 2010 jsme zkoumali mechanismus zvýšeného výlevu a způsoby aktivace GlyR endogenními agonisty pomocí imunoelektronové mikroskopie. Sledovali jsme distribuci presynaptických GlyR na trojrozměrně rekonstruovaných částech Heldova kalichu (**obr. 3**). Zjistili jsme, že presynaptické GlyR vykazují difúzní distribuci se zvýšenou četností výskytu v bezprostředním okolí glutamátových aktivních zón, inhibičních nervových zakončení a při povrchu postsynaptického neuronu. To naznačilo, že GlyR jsou *in vivo* aktivovány jak somatodendritickými přenašeči, tak i glycinem pocházejícím z glycinergních vláken. Naše nálezy dále ukazují, že GlyR zvyšují výlev glutamátu přímo aktivací napětově závislých vápníkových kanálů.



SOFTWARE

Bureš, Z.

Softwarový generátor signálu pro měření spektrotemporálních receptivních polí neuronů (STRF).
[Software generator for spectrotemporal receptive field (STRF) measurement.]

Bureš, Z., Rybalko, N.

Softwarový systém pro řízení a vyhodnocování behaviorálních experimentů.
[Software system for controlling and evaluation of behavioral experiments.]

Bureš, Z., Popelář, J.

Softwarový systém pro vyhodnocování odpovědí neuronů.
[Software system for evaluation of neuronal responses.]

Jilek, M.

Technologie výroby miniaturní kuličkové elektrody.
[The miniature ballpoint wire electrode technology.]

Jilek, M., Popelář, J.

Zařízení pro chlazení a měření teploty mozkové kůry.
[Brain cortex cooling and temperature measuring device.]

ODDĚLENÍ BUNĚČNÉ NEUROFYZIOLOGIE

Vedoucí: Ing. MIROSLAVA ANDĚROVÁ, CSc.

se zabývá morfologickými a elektrofyziologickými vlastnostmi astrocytů a NG2 gliových buněk v patofyziologii mozkové ischemie a progresi Alzheimerovy choroby, a mechanismy vápníkové signalizace u arginin-vasopresin- a oxytocin systémů za fyziologických i patologických podmínek.



• LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ NEUROFYZIOLOGIE

vedoucí: doc. RNDr. Alexandr Chvátal, DrSc., MBA

je zaměřena na studium buněčných a molekulárních základů integrace neurálních sítí prostřednictvím charakterizace mezibuněčných signálů mezi neurony a gliovými buňkami a vnitrobuněčných signálních mechanismů v neuronech a gliových buňkách v průběhu fyziologických a patologických stavů.

Vědeckí pracovníci:

doc. RNDr. Alexandr Chvátal, DrSc., MBA
prof. MUDr. Alexei Verkhratsky, PhD., DSc.
José Julio Rodríguez Arellano, PhD.

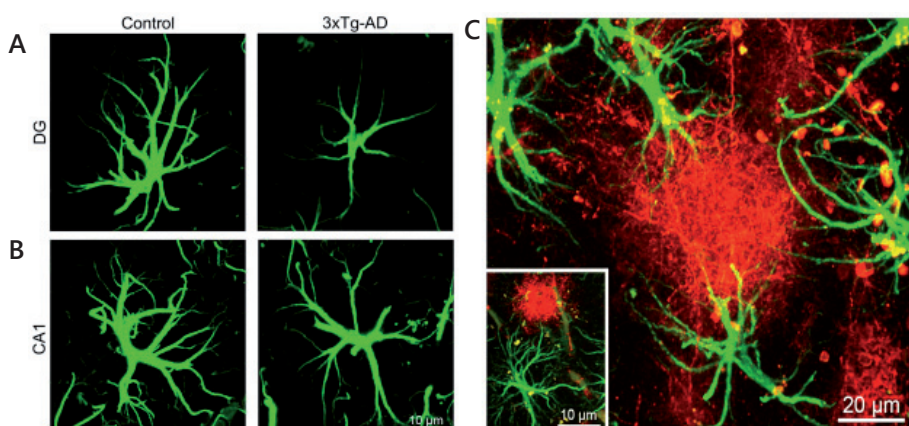
Postgraduální student:

Mgr. Magdaléna Kuliewicz

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

• SOUČASNÁ ATROFIE ASTROCYTŮ A ASTROGLIÓZA U MYŠÍHO MODELU ALZHEIMEROVY CHOROBY – U TRANSGENNÍCH MYŠÍ S MUTACÍ TŘÍ GENŮ.

Astrocyty, které nezbytné pro udržování homeostázy mozku, jsou středem zájmu výzkumu neurologických onemocnění, včetně Alzheimerovy choroby (ACH). V této studii jsme sledovali změny v morfologii astrocytů v závislosti na progresi ACH během stárnutí. Použili jsme imunohistochemickou analýzu, jež nám umožnila určit doménu gliálního cytoskeletonu změřením plochy a objemu astrocytů, a současně objasnit vztah mezi astrocyty a neuritickými plakami. Astroglie jsme studovali v hipokampu transgenních myší, u kterých jsou mutovány tři geny (3xTg-AD). Tento model simuluje progresi ACH u lidí. Ukázali jsme, že celkový počet astrocytů není ovlivněn ani věkem ani progresí ACH, nicméně, již u 6 měsíčních myší jsme zaznamenali signifikantní snížení povrchu i objemu astrocytů na základě GFAP immunoreactivity, které přetrvávalo v gyru dentatu 12–18 měsíčních myší, zatímco v CA1 oblasti se u těchto myší atrofie astrocytů objevuje až ve věku 18 měsíců. Tato atrofie cytoskeletonu je provázána signifikantním poklesem objemu buněčného těla. Přestože atrofie astrocytů se zdá být obecným procesem, současně se v hipokampu v blízkosti plaků objevují i hypertrofované astrocyty, které na



Obr. 1. (A) Mikrograf získaný pomocí konfokálního mikroskopu ilustruje na základě GFAP barvení atrofii astrocytů u 3xTg-AD myší v gyru dentatus DG a CA1 oblasti hipokampu CA1 ve srovnání s kontrolou. (C) Mikrograf získaný pomocí konfokálního mikroskopu ilustruje na základě GFAP barvení a beta-amyloid imunoreactivity změny v profilu GFAP u astrocytů v blízkosti plaků (B). S využitím kombinované imunohistochemické analýzy (GFAP -zelená a beta-amyloid -červená) obrázek (C) ukazuje akumulaci astrocytů v blízkosti plaků beta-amyloidu a deposita beta-amyloidu u cév u 3xTg-AD myší. Astrocyty, které obklopují plakky vykazují charakteristiky hypertrofovaných-reaktivních astrocytů.

základě GFAP profilu vykazují zvýšený povrch i objem buněčného těla. Progrese ACH má tak rozdílný vliv na populaci astrocytů v závislosti na jejich asociaci s plaky; atrofie/hypertrofie astrocytů poukazuje na progresivní porušení neuronových sítí a narušení homeostázy neurotransmiterů, která má za následek kognitivní dysfunkci u Alzheimerovy choroby.

• LABORATOŘ NEUROBIOLOGIE

vedoucí: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

se zabývá objasněním úlohy gliových buněk v patofyziologii mozkové ischemie a v následné regeneraci nervové tkáně s využitím elektrofyziologických, imunohistochemických, fluorescenčních zobrazovacích metod a 3D-kofokální morfometrie.

Vědečtí pracovníci:

Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Mgr. Iva Prajerová, PhD.

Pregraduální studenti:

Bc. Veronika Dlouhá

Bc. Michaela Mikešová

Bc. Lenka Harantová

Bc. Marcela Filipová

Postgraduální studenti:

MUDr. Helena Neprašová

Mgr. Jana Benešová

Mgr. Olena Butenko

Mgr. Pavel Honsa

Mgr. Dávid Džamba

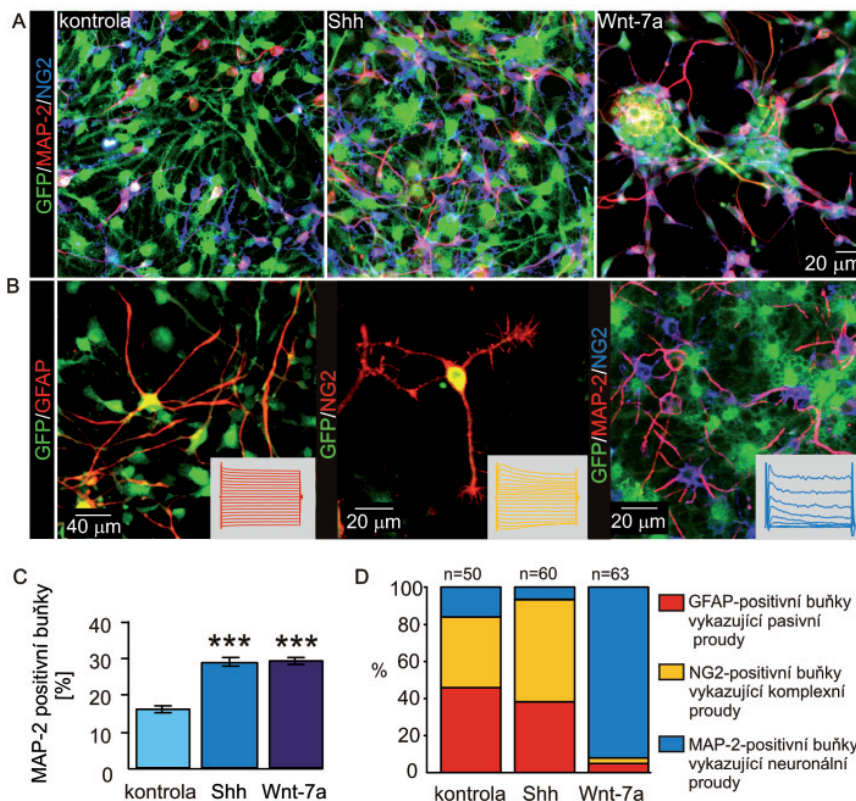
Techničtí pracovníci:

Helena Pavlíková

Markéta Valová

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

• ROZDÍLNÝ VLIV SONIC HEDGEHOG A WNT-7A NA DIFERENCIACI NEONATÁLNÍCH NEURÁLNÍCH KMENOVÝCH/PROGENITOROVÝCH BUNĚK



Obr. 2. Vliv morfogenů Sonic hedgehog (Shh) a Wnt-7a na diferenciaci neonatálních kmenových/progenitorových (NK/P) buněk (A, C) Imunocytochemické barvení na neurální marker MAP-2 ukazuje, že oba morfogeny podporují diferenciaci v neurony. (B) Typické morfologie, proudové charakteristiky a imunocytochemická identifikace 3 buněčných typů 8 dní po indukci diferenciace a jejich procentické zastoupení v kontrole a v buněčných kulturách exprimujících Shh nebo Wnt-7a. (D) Hvězdičky zobrazují statisticky významný rozdíl mezi kontrolou a kulturou exprimující morfogen.

Morfogeny Sonic hedgehog (Shh) a Wnt mají významnou úlohu jak ve vývoji nervového systému, tak i v neurogenezi a gliogenezi nervové tkáně dospělého jedince. Jejich role v postnatální neurogenezi a v regeneraci poškozené nervové tkáně není plně objasněna a je proto předmětem intenzivního výzkumu. Studie byla zaměřena na objasnění úlohy Shh a Wnt-7a v proliferaci a diferenciaci neonatálních neurálních kmenových/progenitorových (NK/P) buněk *in vitro*, které byly transdukovány plasmidem nesoucím Shh nebo Wnt-7a. Současná exprese morfogenů a GFP nám umožnila studovat morfologii diferenciovaných buněk, buňky exprimující pouze GFP byly použity jako kontrola. Ukázali jsme, že Shh a Wnt-7a odlišně ovlivňují diferenciaci neonatálních NK/P buněk a podporují morfologicky, imunocytochemicky a elektrofyziologicky odlišné populace neurálních progenitorových buněk. Zatímco oba morfogeny zvyšují expresi neuronálních markerů během *in vitro* diferenciaci, pouze Wnt-7a podporuje růst a vývoj neuronálních výběžků a významně potlačuje gliogenezi. Elektrofyziologická analýza ukázala, že Wnt-7a zvyšuje výskyt buněk, které vykazují membránové vlastnosti charakteristické pro neurony, zatímco Shh udržuje populaci buněk, která vyazuje membránové vlastnosti neurálních progenitorů a potlačuje jejich další diferenciaci ve funkční neurony.

• LABORATOŘ FYZIOLOGIE VÁPŇÍKOVÉ SIGNALIZACE

vedoucí: Govindan Dayanithi, PhD.

je zaměřena na vápníkové signalizace arginin-vasopresin a oxytocin systémů za fyziologických i patologických podmínek. Neurony dorzálních ganglií a gliové buňky jsou analyzovány s použitím fluorescenční zobrazovací metody, která umožňuje sledování intracelulárních hladin vápníku.

Vědecký pracovník:
Govindan Dayanithi, PhD.

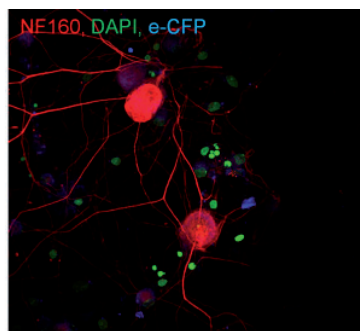
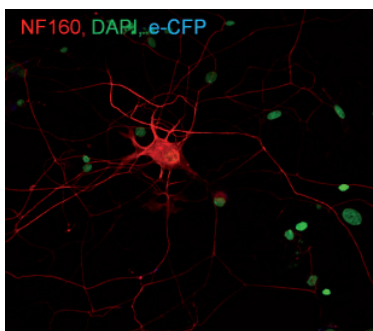
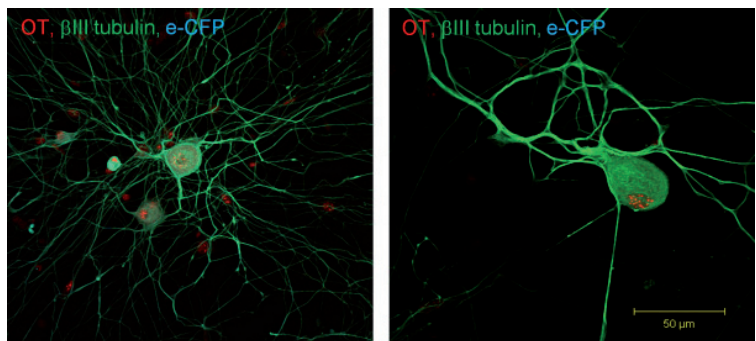
Postgraduální student:
MUDr. Oksana Forostyak

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

1) TRANSGENNÍ POTKANI EXPRIMUJÍCÍ FLUORESCENČNÍ PROTEINY POD PROMOTOREM OXYTOCINU NEBO VASOPRESINU.

V rámci projektu, který je zaměřen na vazopresinové a oxytocinové signalizace v centrálním a periferním nervovém systému, tj. v komunikaci neuronů a gliových buněk, v nocicepci, při poranění, graviditě a laktaci, byli vygenerováni transgenní potkani, u kterých je gen pro oxytocin (OXT) fúzován s modrým fluorescenčním proteinem (eCFP) a gen pro vazopresin (AVP) fúzován se zeleným fluorescenčním proteinem (eGFP). OXT-eCFP a AVP-eGFP potkani jsou vhodným modelem pro identifikaci a studium fyziologie neuronů produkujících oxytocin/vazopresin a jejich terminálů.

Obr. 3. Konfokální snímky neuronů dorzálních ganglií izolovaných z OXT-eCFP transgenních potkanů - doba kultivace 48 hodin. Kombinované barvení pro oxytocin (OT, červeně) a neuronální marker – β -III tubulin (zeleně). Neurony vysílají dlouhé neurity a vytvářejí kontakty s gliovými buňkami. CFP fluorescence kolokalizuje s OT barvením a je intenzivní v jádře neuronů i glií.



Obr. 4. Konfokální snímky neuronů dorzálních ganglií izolovaných z OXT-eCFP transgenních potkanů - doba kultivace 115 hodin. Endogenní e-CFP fluorescence, DAPI barvení a imunobarvení na NF-160. Buňky pozitivní na neuronální marker NF160, vysílají mnohočetné dlouhé výběžky a vytvářejí kontakty s gliovými buňkami. Endogenní e-CFP fluorescence je detekována především u neuronů.

ODDĚLENÍ TERATOLOGIE

Vedoucí: doc. MUDr. MIROSLAV PETERKA, DSc.

studuje příčiny a mechanismy vzniku vrozených vad pomocí dvou experimentálních modelů (vyvíjející se kuřecí zárodek a vyvíjející se zuby u myši) a pomocí klinicko-epidemiologických studií. Cílem je přispět k poznatkům o normálním a abnormálním vývoji, etiopatogenezi vývojových vad a možnostech jejich prevence.



• **LABORATOŘ EMBRYOLOGIE**

vedoucí: **doc. MUDr. Miroslav Peterka, DSc.**

je zaměřena na výzkum obličejových rozštěpů a ostatních vývojových vad.

Vědečtí pracovníci:

doc. MUDr. Miroslav Peterka, DSc.

RNDr. Zbyněk Likovský

Pregraduální student:

Bc. Michaela Janíková

Postgraduální student:

Mgr. Natálie Hrozinková

Techničtí pracovníci:

Ivana Koppová

Mgr. Petra Herlová

Bc. Bronislava Rokytová

RNDr. Simona Vojtěchová

Zdeňka Lisá

• **LABORATOŘ ODONTOLOGIE**

vedoucí: **MUDr. Renata Peterková, CSc.**

se zaměřuje na vývoj zubů za normálních, patologických a experimentálních podmínek.

Vědečtí pracovníci:

MUDr. Renata Peterková, CSc.

Mgr. Maria Hovořáková, PhD.

Mgr. František Špoutil, PhD.

Pregraduální student:

Bc. Lucie Smrčková

Postgraduální studenti:

Mgr. Svatava Churavá

Mgr. Jan Procházka

Mgr. Michaela Rothová

Techničtí pracovníci:

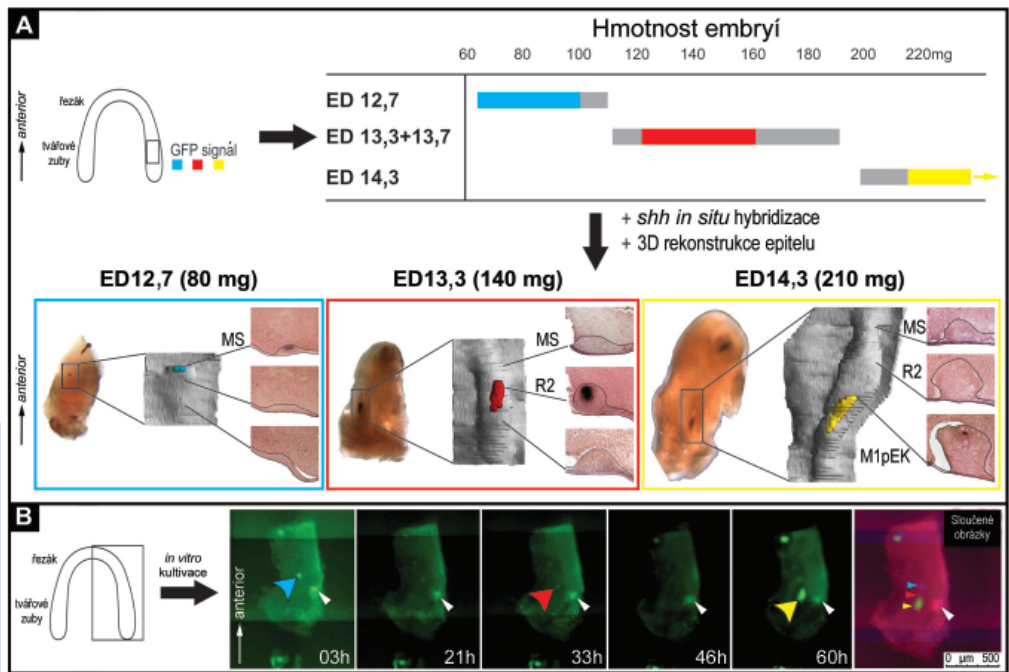
Ing. Lenka Hajná

Šárka Dvořáková

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY ODDĚLENÍ V ROCE 2010

1) DĚDICTVÍ EVOLUCE VE VÝVOJI ZUBŮ.

Během evoluce hlodavců postupně vymizely zuby mezi řezákem a stoličkami a vznikla bezzubá mezera - diastema. Přestože k redukci zubů došlo před více než 50 miliony let, naše dřívější studie prokázaly u myších embryí existenci rudimentární primordií zaniklých zubů, jejichž další vývoj je potlačen za účasti buněčné smrti (apoptózy). Rudimenty zaniklých třenových zubů (premolárů) dosahují přechodně takové velikosti, že jejich struktura, specifické signální centrum i k nim se vztahující molekulární nálezy jsou všeobecně přisuzovány různým stupňům vývoje budoucí první funkční stoličky (M1). Takováto záměna však může vést ke zkreslené interpretaci výsledků vývojových studií na nejčastěji používaném modelu odontogeneze u myši. S použitím hybridizace *in situ*, DiI mikroinjekčního značení signálních center a časoprostorového snímání *in vitro*, histologie a 3D rekonstrukcí se nám podařilo prokázat, že vývojově nejpokročilejší zubní primordium v dolní čelisti myši na časných stádiích je opravdu pouze rudimentární struktura, a nikoli M1, která vzniká později a více vzadu (**obr. 1**). Rudimentární zubní primordia tak determinují polohu M1 v sekvenční řadě tvářových zubů. Experimentálně jsme prokázali, že nejvíce vzadu lokalizované rudimentární premolárové primordium se posléze připojuje k přednímu pólu M1, a tato fúze odpovídá za vznik specifického prodloužení přední části M1 oproti zadnějším stoličkám (M2, M3). Naše výsledky nabízejí zcela nový pohled na regulaci počátku zubního vývoje a na interpretaci existujících molekulárních dat získaných doposud na myším modelu: část z nich se totiž nevyhnutelně vztahuje k regulaci zániku rudimentárních zubních primordií, nikoli k regulaci progresivního vývoje budoucího funkčního zubu – M1. Zmíněná fúze zubních primordií za vzniku komplexnějšího zubu M1 experimentálně dokládá existenci mechanismu, který může být efektivně využit při přípravě biologických zubních implantátů: z jednoduchých zubních primordií *in vitro* by bylo možné jejich spojováním vytvářet patřičné typy mnohohrbolkových zubů. Výsledky studie také prakticky dokumentují názor Darwina o významu rudimentů při vývoji funkčních struktur.



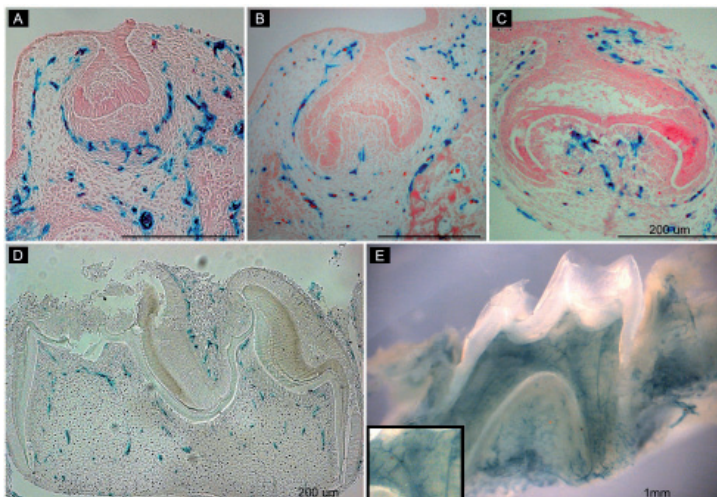
Obr. 1. Expresse Shh v dolní čelisti myších embryí odráží postupné objevování signálních center rudimentárních zubních primordií a prvního moláru.

(A) Výskyt exprese Shh v zadní části dolních čelistí embryí Shh-EGFP myši seřazených podle jejich vývojové pokročilosti. Barevná pole označují výskyt Shh exprese na embryonálním dni (ED) 12,7 – modrá, ED 13,3+13,7 – červená, ED 14,3 – žlutá. Perioda, ve které nebyla exprese Shh detekovatelná, je označena šedě. Pod tabulkou je fotografie Shh pozitivní mandibuly z každé expresní periody; její další zpracování umožnilo kolokalizovat Shh expresní doménu s morfologicky popsanými zubními primordií (předním premolárovým rudimentem - MS, zadním premolárovým rudimentem – R2, nebo první stoličkou/molárem – M1) na 3D rekonstrukcích a histologických řezech zubního epitelu (černě obtaženy).

(B) Časo-sběrná mikroskopie orgánové kultury *in vitro*. Barevné šipky ukazují Shh pozitivní periody (srv. A) během 60 h kultivace. Bílá šipka směřuje na oblast nekrotických buněk s vysokou autofluorescencí. Sloučení obrázků (Overlay picture), kde byla pozorována Shh exprese ukázalo, že jednotlivé expresní domény se nepřekrývají, ale leží v předo-zadní sérii.

2) MESODERM PŘÍSPÍVÁ KE VZNIKU ZUBŮ.

Zuby se vyvíjejí z epitelu a mezenchymu a tyto dvě komponenty se vzájemně ovlivňují za vzniku zubního orgánu, který produkuje zub. Zubní papila, která vzniká během embryonálního vývoje, je z převážné většiny tvořena buňkami mezenchymovými, které pocházejí z buněk neurální lišty. Naším cílem bylo zjistit, zda také buňky mezodermového původu přispívají ke vzniku zubní papily, ze které později vzniká zubní dřeň. K této studii jsme využili transgenní reportérovou myš *Mesp1cre/R26R*, u které jsou specificky označeny buňky mezodermového původu. Naše výsledky ukázaly, že u myši buňky mezodermového původu migrují do zubní papily během pozdního stádia zubního pohárku (myši embryonální den 15) (**obr. 2**). Následnou analýzou jsme určili, že tyto buňky vytváří síť endotelových buněk tvořící kapiláry, které budou zajišťovat přísun krve do zubní dřene plně vyvinutého zubu. Znalost původu a přesného načasování migrace buněk mezodermového původu je důležitým přínosem pro porozumění zubnímu vývoji a pro následné studie s cílem vytvářet bionáhrady zubů.



Obr. 2. Imigrace buněk mezodermového původu během vývoje první stoličky u transgenní myši *Mesp1cre/R26R*. Modré jsou buňky mezodermového původu (některé označeny šipkou).

(A) Embryonální den 14,0, stádium, kdy epitel (Epi) má podobu tzv. pozdního pupene. Přiléhající zubní mesenchym se kondensuje v místě budoucí zubní papily (P).

(B) Embryonální den 15,5, modré buňky původem z mezodermu vstupují do zubní papily (P) a během dalšího vývoje (C, D) jich v papile přibývá.

(C) Embryonální den 16,5, stádium zvonku.

(D) Postnatální den 5, vznikající zubní dřeň.

(E) Postnatální den 18. Prořezaný zub se zřetelnou sítí modrých, původem mezodermových, buněk v zubní dřeni.

ODDĚLENÍ GENETICKÉ EKOTOXIKOLOGIE

Vedoucí: MUDr. RADIM ŠRÁM, DrSc.

má jako hlavní náplň výzkumu genetické poškození způsobené toxickými a karcinogenními látkami jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich deriváty, alkeny, apod. Účinek těchto látek je studován jak na buněčných kulturách, tak in vivo v lidských translačních molekulárně epidemiologických studiích a pozorovacích epidemiologických studiích.



• LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ EPIDEMIOLOGIE

vedoucí: MUDr. Radim Šrám, DrSc.

provádí molekulárně epidemiologické studie s použitím biomarkerů expozice mutagenům a karcinogenům (DNA adukty, chromosomové aberace, mikrojádra, oxidační poškození DNA, proteinů a lipidů, genotypizace, stanovení RNA expresních profilů), studie vlivu životního prostředí na výsledky těhotenství a studium zdravotního stavu dětí ve vztahu k životnímu prostředí.

Vědečtí pracovníci:

MUDr. Radim Šrám, DrSc.

Mgr. Olena Beskid, PhD.

MUDr. Miroslav Dostál, DrSc.

RNDr. Božena Novotná, CSc.

MUDr. Anna Pastorková, CSc.

Techničtí pracovníci:

PhDr. Eva Dejmková

Ing. Ivo Solanský

RNDr. Milada Špátová

Olga Štveráková

Jolana Vaňková

Postgraduální studenti:

Mgr. Andrea Rössnerová

Ing. Vlasta Švecová

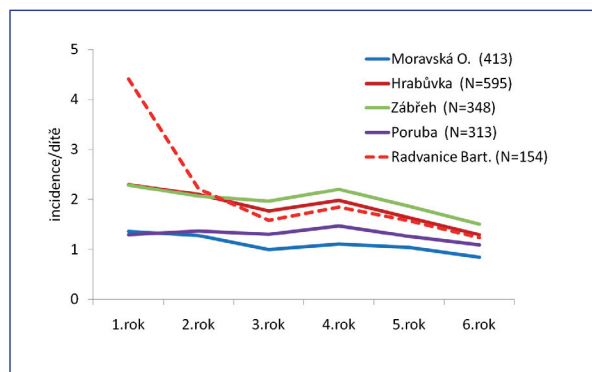
VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

• STUDIE ZDRAVOTNÍHO STAVU DĚTÍ Z OSTRAVY - RADVANIC A BARTOVIC.

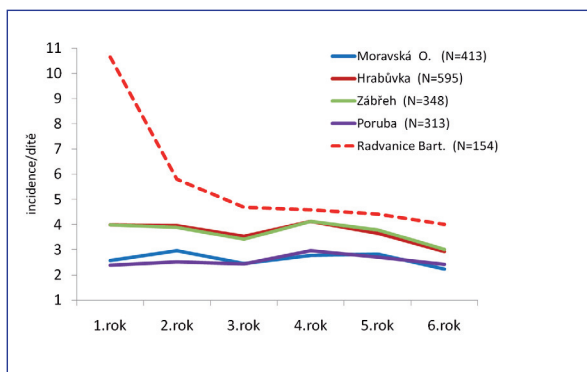
Cílem bylo porovnat v prvních šesti letech života nemocnost dětí narozených a žijících v Ostravě - Radvanicích a Bartovicích s nemocností dětí narozených a žijících v jiných městských částech Ostravy. Důvodem je, že tato lokalita je v emisní vlečce železáren Arcelor Mittal a vysoké znečištění ovzduší je dáváno do souvislosti s vysokou nemocností dětí tam žijících. Porovnávali jsme výskyt akutních, převážně zánětlivých, onemocnění a výskyt alergických onemocnění. Pro studii bylo vybráno 10 dětských středisek v pěti obvodech Ostravy: středisko v Radvanicích a Bartovicích, a střediska v Moravské Ostravě, Hrabůvce, Zábřehu a Porubě. Z výpisů dokumentace pediatrů jsme analyzovali prodělaná onemocnění dětí od narození do věku 6 let, ať již byla léčena pouze pediatrem, nebo byla nutná hospitalizace (v kódech Mezinárodní klasifikace nemocí, desátá revize). Jednotlivé diagnózy (N= 38901) byly sdruženy do 14 skupin onemocnění. Nejčastěji se vyskytovala onemocnění horních cest dýchacích (HCD: J00-J02, J06 – záněty nosohltanu, hltanu, vedlejších nosních dutin a hrtanu).

Incidence zánětů HCD je průměrný výskyt nově vzniklých onemocnění za jeden rok na jedno dítě. Po celé období byla incidence onemocnění HCD u dětí ze středisek v Moravské Ostravě a Porubě nižší než u dětí ze středisek v Zábřehu a Hrabůvce. Incidence zánětů HCD u dětí z Radvanic a Bartovic (RaB) byla vysoká v prvním roce života, od druhého roku se blížila incidenci zánětů HCD u dětí registrovaných ve třech střediscích v Hrabůvce (**obr. 1**). V RaB je z celkového počtu 218 registrovaných dětí uváděna incidence onemocnění HCD pro 154 dětí, které se narodily a celých šest let žily v RaB, incidence onemocnění HCD u 64 dětí pouze registrovaných a nežijících v RaB byla statisticky významně nižší. Z ostatních akutních onemocnění byla v RaB v prvních šesti letech nejvyšší incidence viróz, zánětů spojivek, střevních infekcí, zažívacích potíží, angín a zánětů plic. Při porovnání souhrnné incidence všech 14 skupin akutních onemocnění byla jejich incidence v RaB v celém sledovaném období statisticky významně vyšší než v Porubě a Moravské Ostravě a v 1. až 3. a v 6. roce života vyšší než v Zábřehu a Hrabůvce (**obr. 2**).

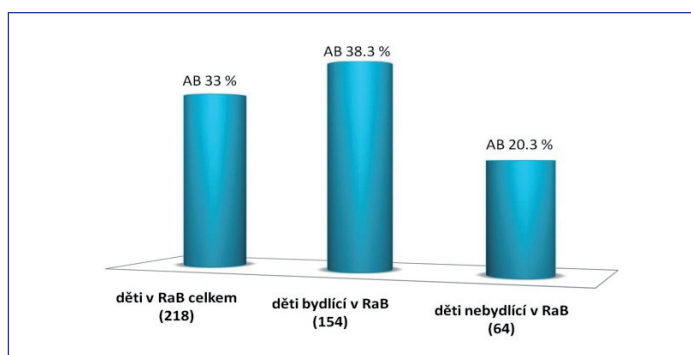
Co se týká alergií, v souboru dětí narozených a žijících celých 6 let v RaB bylo u 38 % dětí lékařem diagnostikováno bronchiální astma (**obr. 3**), a rovněž výskyt atopické dermatitidy (31 %) a alergické rýmy (21 %) byl významně vyšší než u dětí v ostatních sledovaných obvodech Ostravy.



Obr. 1. Incidence akutních zánětů horních cest dýchacích (J00 + J01 + J02 + J06).



Obr. 2. Souhrnná incidence akutních onemocnění.



Obr. 3. Prevalence bronchiálního astmatu u dětí registrovaných v dětském středisku v Radvanicích a Bartovicích.

• LABORATOŘ GENETICKÉ TOXIKOLOGIE

vedoucí: Ing. Jan Topinka, DrSc.

se zabývá mechanismy genotoxických i epigenetických účinků xenobiotik a oxidačním poškozením DNA, proteinů a lipidů v buněčných kulturách (HepG2, lidské diploidní embryonální fibroblasty a další). Studuje také vliv environmentálních polutantů na mechanismy ovlivňující vznik a vývoj rakoviny prostaty.

Vědečtí pracovníci:

Ing. Jan Topinka, DrSc.

RNDr. Jana Schmuczerová, PhD.

Postgraduální student:

Mgr. Helena Líbalová

Technický pracovník:

Mgr. Alena Milcová

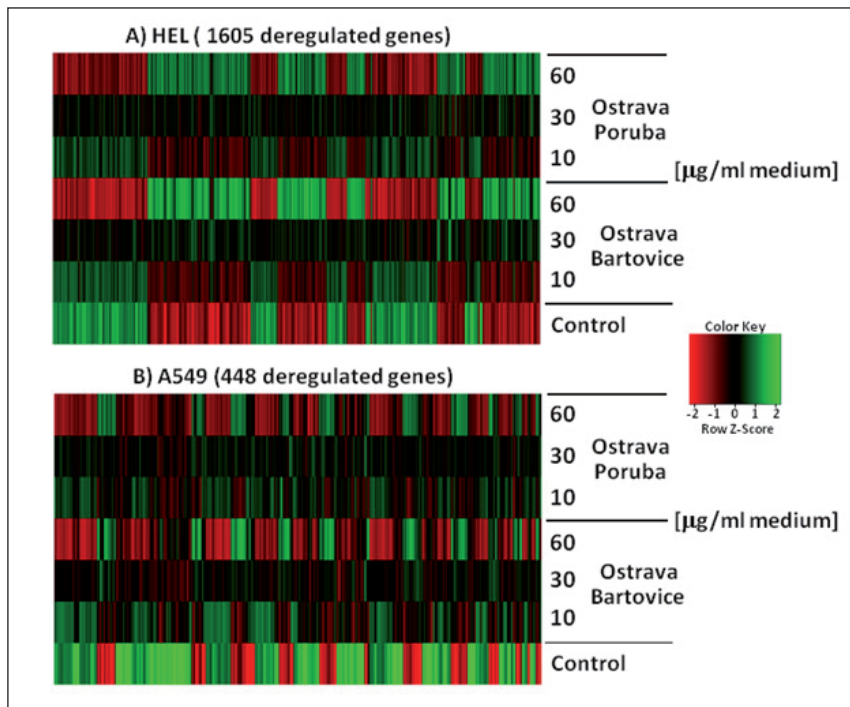
VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

• STUDIUM MECHANISMŮ PŮSOBENÍ AEROSOLŮ NA AKTIVITU GENŮ V *IN VITRO* MODELECH LIDSKÝCH PLICNÍCH BUNĚK

S použitím nejmodernějších metod genomiky jsme na modelech lidských plicních buněk (plicní embryonální fibroblasty HEL, buňky plicního adenokarcinomu A549) prokázali, že směsi toxických organických látek vázaných na jemné prachové částice ve vnějším ovzduší ovlivňují aktivitu stovek genů v závislosti na dávce (**obr. 4**).

Ukázali jsme, že zvýšená či snížená aktivita těchto genů je spojována s fungováním řady velmi důležitých metabolických, signálních a dalších biologických drah – buněčný cyklus, mezibuněčná

komunikace, metabolismus xenobiotik, signální dráha p53, nukleotidová a básová excisní oprava DNA, metabolismus glutationu a arachidonové kyseliny apod. Tyto procesy souvisí s řadou významných onemocnění a proto je podrobnější studium těchto změn pro nás hlavním úkolem pro nejbližší období. Vedle obvykle prokazovaných genotoxických a mutagenních účinků polycyklických aromatických uhlovodíků jsme prokázali velmi významnou tzv. dioxinovou aktivitu těchto látek, které se hojně vyskytují ve vnějším ovzduší, zejména v průmyslově zatížených lokalitách.



Obr. 4. Dávková závislost deregulace vybraných genů v lidských plicích embryonálních fibroblastech (HEL) a buňkách lidského plicního adenokarcinomu (A549) působením extraktů z jemných prachových částic odebraných v lokalitách Ostravy-Poruby a Ostravy-Bartovic.

• LABORATOŘ GENOMIKY

vedoucí: RNDr. Pavel Rössner, Jr., PhD.

je zaměřena na studium celogenomové i specifické genové exprese a jednonukleotidové polymorfismy (SNPs) v lidském genomu s použitím čipových technologií s cílem proniknout hlouběji do mechanismů toxického působení komplexních směsí látek v životním prostředí. V rámci molekulárně epidemiologických studií je studována řada genetických polymorfismů ovlivňujících individuální vnímavost jedince k působení xenobiotik.

Vědečtí pracovníci:

RNDr. Pavel Rössner, Jr., PhD.
prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

Technický pracovník:

Mgr. Zuzana Nováková

Postgraduální studenti:

Mgr. Nana Tabashidze
Mgr. Kateřina Uhlířová

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

• VZTAH ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ K ASTMATICKÉMU ONEMOCNĚNÍ.

Asthma bronchiale je onemocnění dýchacích cest, při kterém dochází k dlouhodobému zánětu sliznic v dýchacím ústrojí v reakci na různé podněty z vnějšího prostředí. Onemocnění je charakterizováno záchvaty a stavy dechové nedostatečnosti, které jsou důsledkem zhoršené průchodnosti dýchacích cest (obr. 5).

Astma je komplexní onemocnění, na jehož vzniku a vývoji se podílí několik faktorů – genetické predispozice, životní prostředí a zejména jejich vzájemná kombinace. V důsledku působení životního prostředí dochází ke změnám v expresi (= aktivitě) mnoha různých genů které mají větší či menší význam v astmatu.

Program Ostrava

Cílem Programu Ostrava je vyhodnotit dopad znečištěného ovzduší na zdraví lidí v Ostravském regionu, který patří rozsahem znečištění k nejzatíženějším místům v České republice, dokonce i v Evropské unii. Podprojekt zabývající se astmatem u dětí byl iniciován výrazným zvýšením bronchiálního astmatu u dětí v Ostravě – Radvanicích, procento astmatických dětí zde třikrát převyšuje celorepublikový průměr. Pro studii bylo vybráno 100 dětí s diagnózou asthma bronchiale a 100 kontrolních (zdravých) dětí z okresu Ostrava – Radvanice a dále 100 astmatických a 100 kontrolních dětí z okresu Prachatice (kontrolní oblast s neznečištěným ovzduším). Principem studie je nalezení genů, jejichž exprese je značně změněna (zvýšena nebo snížena) u astmatických dětí v porovnání s kontrolními dětmi, dále srovnání výsledků dvou lokalit, které se liší stupněm znečištění ovzduší a vyhodnocení dopadu životního prostředí na astma. Výsledky výzkumu mohou přispět k objasnění mechanismu vzniku a vývoje astmatu a tím i k vývoji včasné diagnostiky a vhodné léčby.

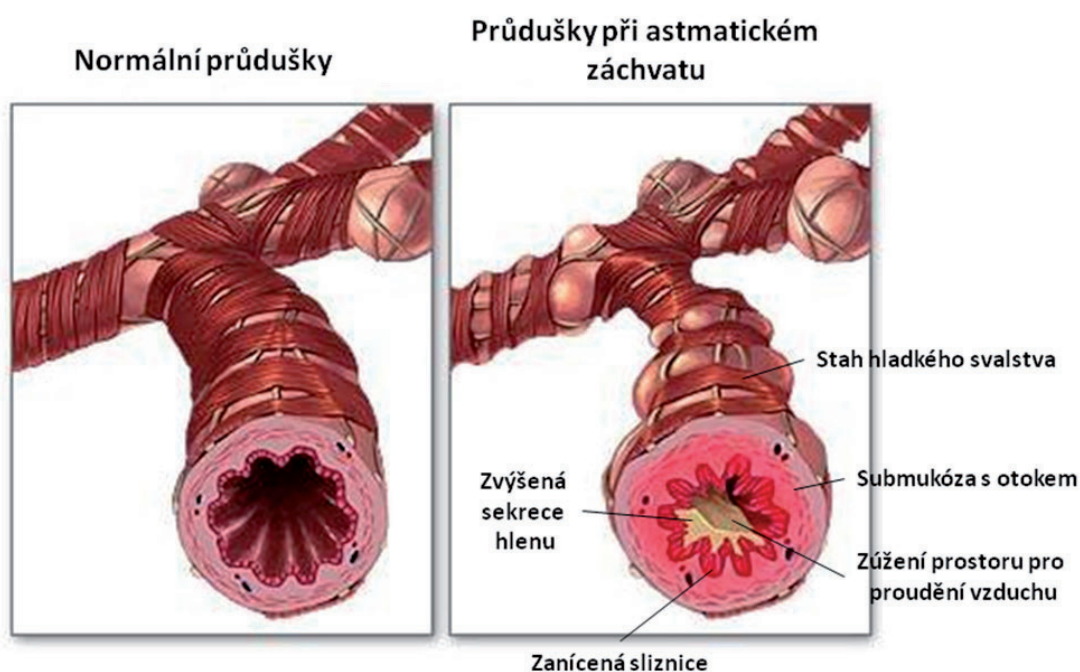
Analýza byla provedena pomocí čipové (microarray) technologie, která je v současnosti jednou z nejperspektivnějších moderních technologií, umožňuje analýzu tisíců genů zároveň.

Výsledky studie

Porovnáním skupiny astmatických dětí se skupinou kontrolních dětí z Ostravy jsme získali informaci o změněných genech, které jsou charakteristické pro astmatiky žijící v Ostravě. Stejnou analýzu jsme provedli také pro skupinu astmatických a kontrolních dětí žijících na Prachaticku. Zjistili jsme, že změněné geny, které jsou charakteristické pro astma v Ostravě, jsou překvapivě zcela odlišné od změněných genů charakteristických pro astma na Prachaticku. Po detailním prozkoumání funkcí nejvíce změněných genů v obou oblastech předpokládáme, že se jedná o různé subtypy astmatického onemocnění, které se liší mechanismem a typem imunitní odpovědi.

Astma u dětí na Prachaticku představuje tzv. alergický typ, který se projevuje u atopických jedinců, vzniká odpovědí na alergen a tvorbou protilátek IgE, charakteristický je pro něj zánět způsobený degranulací eozinofilů (imunitní buňky). Oproti tomu astma u dětí v Ostravě odpovídá tzv. nealergickému typu, který vzniká u nealergických jedinců a vyznačuje se absencí eozinofilů, zánět je zprostředkován jinými typy imunitních buněk (neutrofilů). Tento typ astmatu je vyvoláván iritanty, zejména znečištěným ovzduším, pasivním kouřením nebo virovými infekcemi.

Zjištěné výsledky naznačují významný vliv znečištěného ovzduší na astmatické onemocnění u dětí žijících v Ostravském regionu.



Obr. 5. Patofyziologie astmatu.

ODDĚLENÍ MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE NÁDORŮ

Vedoucí: MUDr. PAVEL VODIČKA, PhD.



zkoumá molekulární mechanismy vzniku a rozvoje rakoviny, především tlustého střeva a konečníku.

• LABORATOŘ GENETIKY NÁDORŮ
vedoucí: MUDr. Pavel Vodička, PhD.

• LABORATOŘ DNA REPARACÍ
vedoucí: Alessio Naccarati, PhD.

se zaměřuje na studium základních molekulárních mechanismů kaskády genotoxických a karcinogenních účinků v souvislosti s expozicí cizorodým látkám a s faktory individuální vnímavosti. Pozornost je zvláště zaměřena na výzkum úlohy genů nízké penetrance při vzniku karcinomů sporadického typu, především pak rakoviny tlustého střeva a konečníku.

Vědeckí pracovníci:
MUDr. Pavel Vodička, PhD.
Barbara Pardini, PhD.
Veronika Poláková, PhD.

Pregraduální studenti:
Bc. Jitka Bílá
Bc. Renáta Hájková

Postgraduální student:
Mgr. Ludovít Bielik

je zaměřena na molekulární jevy zahrnuté v mechanismech DNA reparací. Oprava DNA hraje klíčovou roli v odstraňování poškození bází DNA, což vyúsťuje v prevenci mutagenních a karcinogenních účinků.

Vědeckí pracovníci:
Ludmila Vodičková, PhD.

Pregraduální studenti:
Bc. Nina Stojčeva
Bc. Fabián Čaja

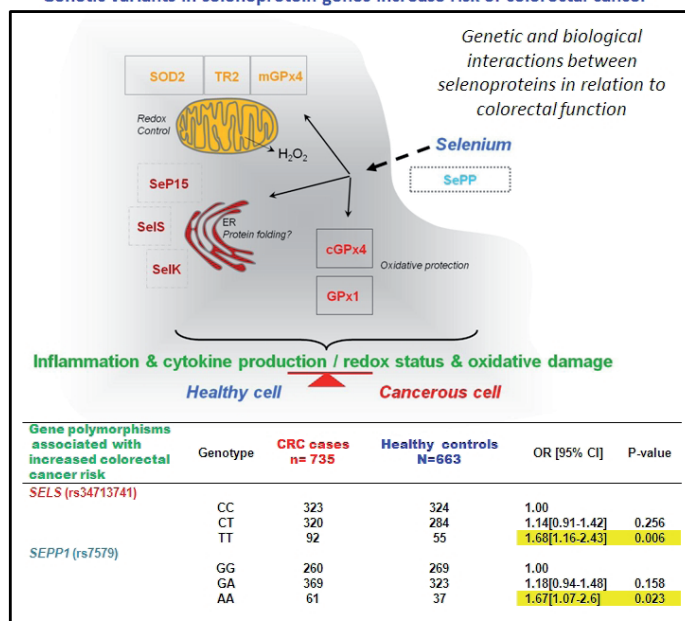
Postgraduální student:
Mgr. Jana Slyšková

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY ODDĚLENÍ V ROCE 2010

1) GENETICKÉ VARIANTY V GENECH KÓDUJÍCÍCH SELENOPROTEINY A JEJICH VLIV NA RIZIKO NÁDORŮ TLUSTÉHO STŘEVA A KONEČNÍKU

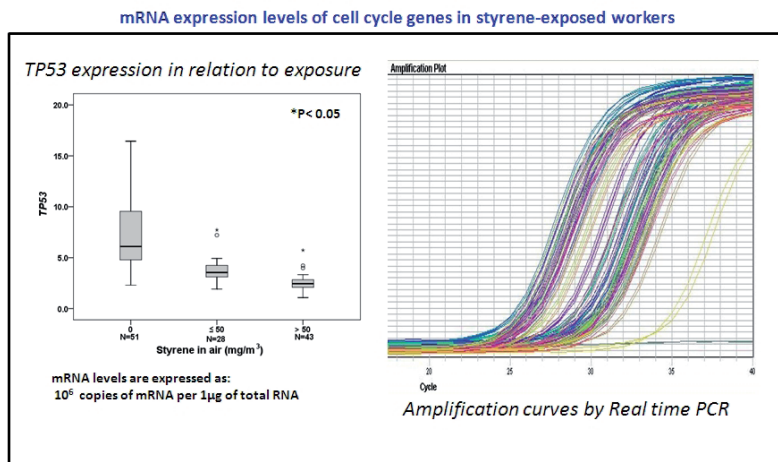
Nízký příjem selenu koreluje se zvýšeným rizikem nádorů tlustého střeva a konečníku (CRC). V této práci jsme studovali genetické varianty v genech kódujících selenoproteiny ve vztahu k vnímavosti vůči CRC. Využití logistické regrese odhalilo, že varianty v SEPP1, GPX4 a SELS genech významně ovlivňovaly riziko nádorů tlustého střeva a konečníku, a to bez ohledu na lokalizaci a stádium nádoru a po zahrnutí rozdílných životních faktorů a pohlaví. Binární interakce mezi genovými variantami SOD2 a GPX4 proti TXNRD2 a SEPP1 či GPX4 proti SELS zvyšovaly riziko CRC ještě výrazněji. Binární interakce mezi genovými variantami lépe ilustrují funkční interakce mezi genovými produkty. Geny kódující selenoproteiny hrají roli ve vývoji nádorů tlustého střeva a konečníku a představují možný biomarker nádorového rizika.

Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer



Meplan et al., Carcinogenesis 2010

2) POŠKOZENÍ DNA, OPRAVA DNA A MRNA EXPRESNÍ HLADINY GENŮ DNA OPRAVY (HOGG1, XRCC1 A XPC) A REGULACE BUNĚČNÉHO CYKLU (TP53, P21CDKN1A, BCL2 AND BAX) U OSOB PROFESIONÁLNĚ EXPOHOVANÝCH STYRÉNU.



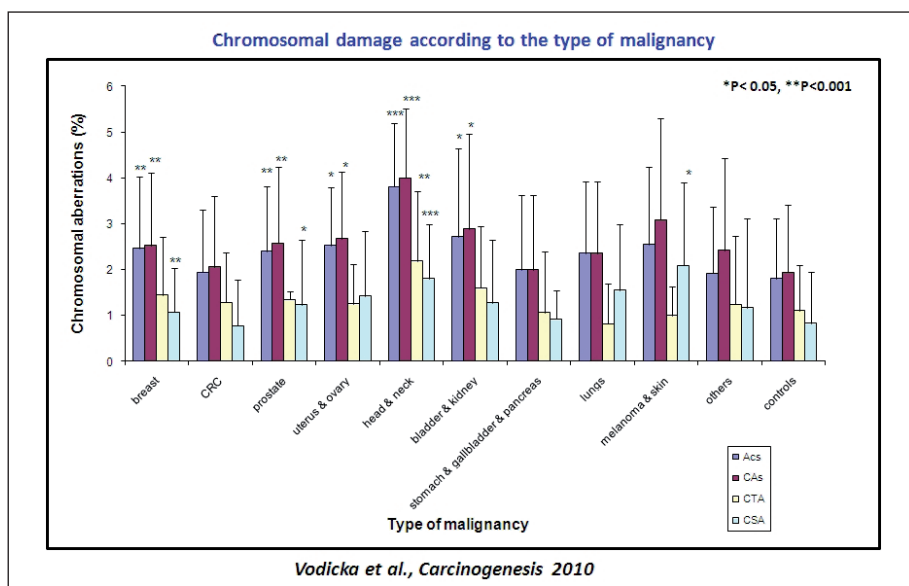
Hanova et al., *Toxicol App Pharmacology* 2010, Hanova et al., *Carcinogenesis* 2010

U osob profesionálně exponovaných potenciálně-karcinogennímu styrénu jsme studovali vztahy mezi poškozením DNA, schopností opravy DNA a mRNA expresními hladinami genů DNA reparací (hOGG1, XRCC1 a XPC) a regulace buněčného cyklu (TP53, p21CDKN1A, BCL2 and BAX). Zatímco hladina poškození DNA klesala s rostoucí expozicí, DNA reparační kapacita se jevila být dostatečnou k eliminaci vznikajících poškození DNA. S rostoucí expozicí styrénu klesaly

expres DNA reparačních genů, negativní korelace s expozicí byly nalezeny rovněž u mRNA expresí TP53, BCL2 a BAX. Tyto nálezy kontrastují s hladinou exprese p21CDKN1A, která se zvyšuje s rostoucí expozicí styrénu a s rostoucí kapacitou báze excizní opravy u vyšetřovaných osob. Tyto výsledky potvrzují vztah mezi genem p21 buněčného cyklu a báze excizní opravou. Naše studie ukázala na biologické souvislosti mezi expozicí chemickým karcinogenům, poškozením DNA a schopnostmi její opravy a transkripty klíčových genů DNA opravy a buněčného cyklu.

3) CHROMOZOMÁLNÍ POŠKOZENÍ V PERIFERÁLNÍCH LYMFOCYTECH U NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÝCH ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ A U ZDRAVÝCH KONTROLNÍCH OSOB.

Lidská nádorová onemocnění jsou založena na neschopnosti buněk udržet stabilitu genomu. V naší studii jsme zkoumali hladinu chromozomálního poškození (odrážející genomovou nestabilitu) v lymfocytech 300 nově diagnostikovaných nádorových pacientů a 300 zdravých kontrolních osob. Frekvence celkového chromozomálního poškození, jakož i chromatidových a chromozomových zlomů, byly významně vyšší u pacientů s nádory ve srovnání s kontrolními osobami. Metodou binomiální logistické regrese jsme zjistili, že vzestup frekvence chromozomálního poškození o jedno procento odpovídá zvýšení rizika nádorového onemocnění o 20 %. Stratifikace pro jednotlivé typy maligního onemocnění ukazuje, že frekvence chromozomálního poškození byly nejvyšší u pacientů s nádory prsu, prostaty, hlavy a krku, zatímco prakticky žádné zvýšení nebylo zaznamenáno u pacientů s novotvory zažívacího traktu. Naše studie poprvé prokázala zvýšení chromozomálních poškození v lymfocytech incidentních, neléčených, pacientů.



ODDĚLENÍ MOLEKULÁRNÍ EMBRYOLOGIE

Vedoucí: doc. MVDr. ALEŠ HAMPL, CSc.



je detašované pracoviště ústavu v Brně. Zkoumá zejména lidské embryonální buňky. V ÚEM, jako jediné instituci v ČR, se podařilo izolovat linie lidských embryonálních kmenových buněk již v roce 2003. Vědečtí pracovníci tohoto oddělení se účastní dvou významných mezinárodních aktivit zaměřených na výzkum embryonálních buněk (ESTOOLS a International Stem Cell Initiative).

Vědečtí pracovníci:

doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.
doc. Ing. Petr Dvořák, CSc.
Mgr. Monika Kubíčková, PhD.

Mgr. Dáša Doležalová
Mgr. Vladimír Vinarský

Techničtí pracovníci:

MVDr. Martina Vodinská
MUDr. Klára Koudelková
Bc. Ivana Hanáková

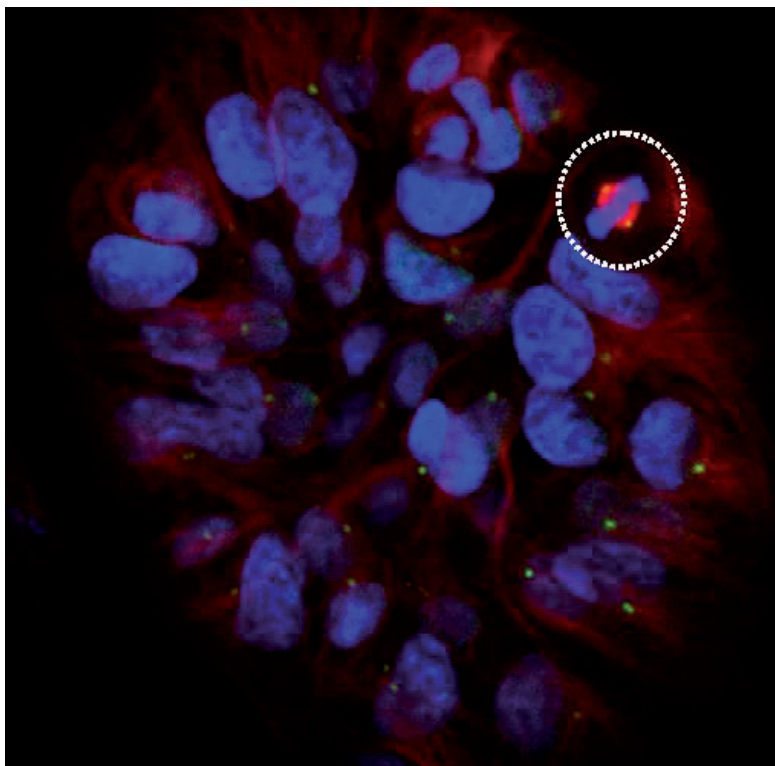
Postgraduální studenti:

Mgr. Tomáš Bárta

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY ODDĚLENÍ V ROCE 2010

1) ODHALENÍ ZDROJŮ A BARIÉR GENETICKÝCH ZMĚN U LIDSKÝCH EMBRYONÁLNÍCH KMENOVÝCH BUNĚK.

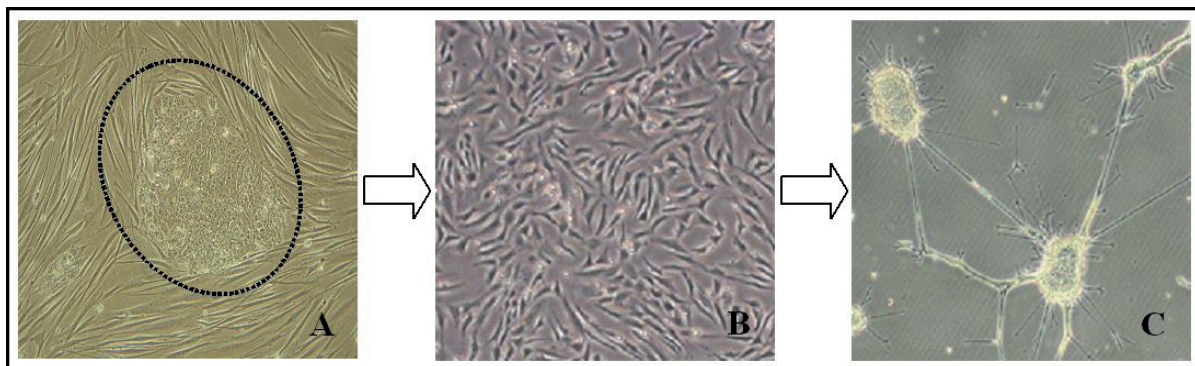
Embryonální kmenové (ES) buňky jsou unikátní buňky, které mají svůj původ v časném embryu – blastocystě. Jsou nejen schopné neomezeného dělení v podmínkách *in vitro*, ale současně mají také schopnost diferencovat se do libovolného buněčného typu dospělého organismu, což je činí velmi slibným nástrojem pro buněčné terapie. Ačkoli jsou lidské ES buňky studovány ve stovkách laboratoří na celém světě, stále zůstává mnoho otázek, které musí být zodpovězeny, aby se očekávaná buněčná terapie mohla stát realitou. Jednou z těchto otázek je genetická stabilita lidských ES buněk, jejíž nedostatečná úroveň by mohla být zdrojem abnormálního chování buněk po jejich implantaci pacientovi. V roce 2010 jsme dokončili a publikovali dvě studie, které se těmito problémy zabývají. V první z nich jsme našli odpověď na otázku, zda jsou lidské ES buňky rostoucí *in vitro* schopny aktivovat molekulární dráhy, které mají za úkol v reakci na poškození DNA brzdit progresi buněčného cyklu. Ukázali jsme, že při určité míře poškození dokáže lidské ES buňky zastavit buněčný cyklus před započítím syntézy DNA a že klíčovou molekulou pro tento fenomén je fosfatáza CDC25A. Naopak klasický mediátor reakce na poškození DNA, molekula p53, se v lidských ES buňkách neuplatňuje. Tyto poznatky jsou velmi významné, protože ukazují, že lidské ES buňky nejsou v boji se změnami jejich genetické informace zcela bezbranné.



Obr. 1. Kolonie lidských embryonálních kmenových buněk rostoucích na Petriho misce. Modře jsou zbarvena jádra buněk, červeně jejich cytoplazma a zelené tečky zobrazují centrozomy. Obrázek byl získán na konfokálním laserovém skenovacím mikroskopu Olympus.

Ve druhé studii jsme se snažili odhalit, zda lidské ES buňky mají nějaké vlastnosti, které mohou vysvětlit jejich náchylnost ke vzniku chromozomálních abnormalit. Zjistili jsme, že velké procento lidských ES buněk rostoucích *in vitro* obsahuje abnormální počet centrozomů – organel, účastnících se tvorby mitotického vřeténka.

Podobným problémem často trpí také buňky různých lidských nádorů. Typickým následkem změněného počtu centrozomů jsou abnormální mitotické figury s tendencí nerovnoměrné distribuce chromozomů do dceřinných buněk. Kromě tohoto prostého odhalení jsme také popsali faktory, které se na vzniku nadpočetných centrozomů v lidských ES buňkách podílejí. Zejména identifikace těchto faktorů je extrémně významná, protože nám nabízí cíle pro ovlivnění a tím eliminaci rizikového fenomenu, kterým nadpočetné centrozomy bezesporu jsou. Výsledky těchto studií byly publikovány ve dvou samostatných vědeckých pracích v prestižním časopisu zaměřeném na biologii kmenových buněk – Stem Cells. Stejně fenomény v současnosti studujeme také u neurálních buněk diferencovaných *in vitro* z lidských ES buněk.



Obr. 2. Diferenciace lidských embryonálních kmenových (ES) buněk do buněk neurální linie.

(A) Kolonie nediferencovaných lidských ES buněk (označená oblast) rostoucí na podpůrné vrstvě fibroblastů.

(B) Dělicí se prekuzory neurálních buněk vzniklé *in vitro* diferenciací lidských ES buněk.

(C) Terminálně diferencované nervové buňky s typickými vzájemně komunikujícími výběžky. Foceno ve viditelném světle.

ODDĚLENÍ FARMAKOLOGIE

Vedoucí: RNDr. ZDENĚK ZÍDEK, DrSc.



vyhodnocuje trendy ve vývoji nových léčiv, zvláště imunofarmak. Perspektivní je výzkum nových látek posilujících přirozené obranné mechanismy organismu, což je významné v souvislosti s narůstajícím výskytem rezistence na antibiotika. Pracoviště vyvinulo postupy pro racionální, ekonomicky poměrně nenáročnou vyhledávání imunostimulačních vlastností látek syntetického a přírodního původu.

Vědeckí pracovníci:

Doc. RNDr. Eva Kmoníčková, CSc.
RNDr. Zdeněk Zídek, DrSc.

Techničtí pracovníci:

Mgr. Jana Křížková
Iveta Zelenková

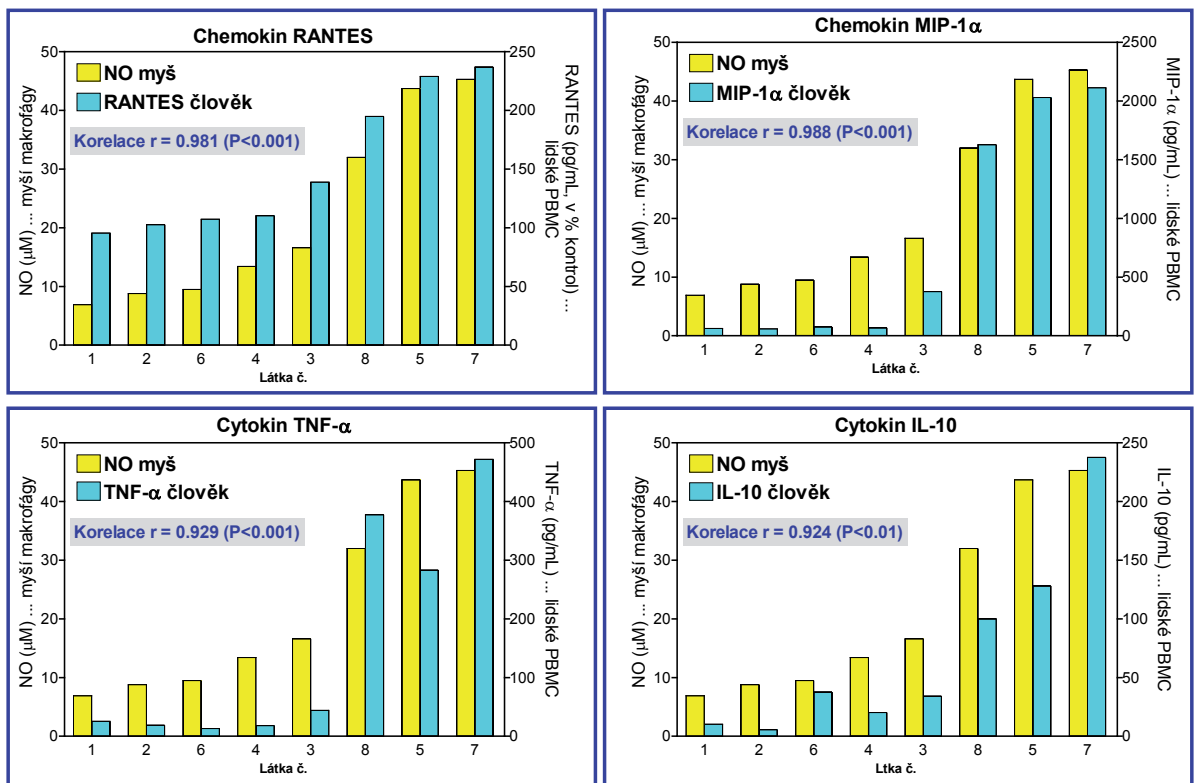
Studenti:

Ing. Petra Kostecká
Jana Kračmerová

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY ODDĚLENÍ V ROCE 2010

1) METODOLOGIE IMUNOFARMAKOLOGICKÉHO VÝZKUMU, EXTRAPOLACE DAT

Oddělení farmakologie se zabývá výzkumem imunobiologických vlastností látek s cílem přispět k vývoji nových léčiv, především ze skupiny imunofarmak. Koncepte vychází ze skutečnosti, že etiopatogeneze četných onemocnění je spojena s abnormální aktivitou imunitního systému, např. se změnami v produkci oxidu dusnatého, cytokinů, prostaglandinů aj. Cílem vývoje nových léčiv je využití jak imunostimulačních, tak i, a to především, imunosupresivních vlastností látek. První kategorie léčiv nalézá uplatnění ve farmakoterapii infekčních onemocnění. Indikace imunosupresivních léčiv je mnohem širší, protože ta se mohou uplatnit v léčbě chronických zánětových, alergických, nádorových a dalších onemocnění s významným podílem imunitní složky.



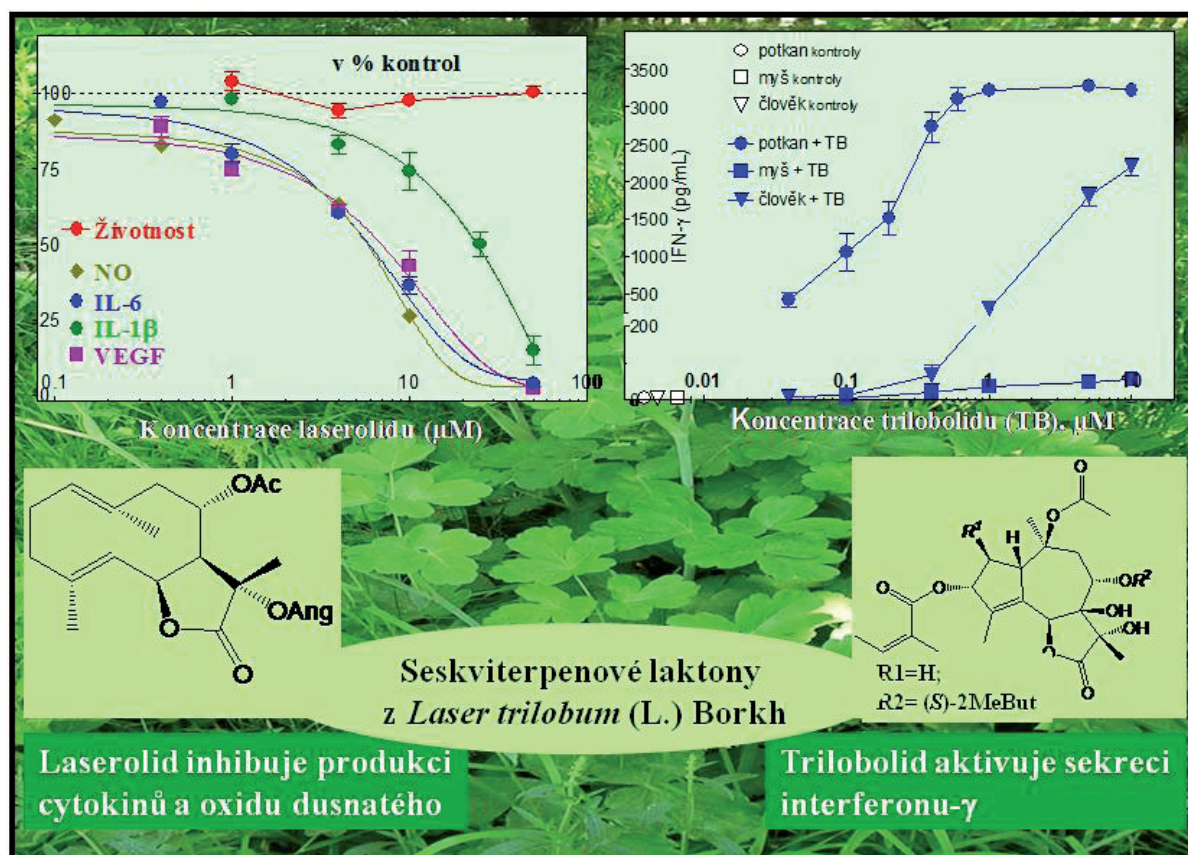
Obr. 1. Obrázek dokumentuje možnosti predikce imunostimulačních účinků látek u lidských buněk na základě stanovení jejich vlivu na biosyntézu oxidu dusnatého v makrofágách myši.

Hodnocení imunobiologických vlastností látek je poměrně komplikovaný problém, jehož řešení není určeno žádnými jednotnými předpisy. Oddělení farmakologie vypracovalo a navrhlo pro tyto účely originální metodologii, která je založena na analýze biosyntézy oxidu dusnatého (NO) makrofágy myši a potkanů. Vzhledem k tomu, že aktivace indukibilní NO syntasy (iNOS) je podmíněna zvýšenými koncentracemi cytokinů, stanovení produkce NO umožňuje současně i predikci vlivu látek na sekreci cytokinů.

Na základě testování velmi početné skupiny antivirotik prof. Holého jsme prokázali, že experimentální údaje získané na buňkách laboratorních zvířat jsou extrapolovatelné na buňky původu lidského. **Obr. 1** dokumentuje tuto skutečnost pro sekreci cytokinů včetně chemokinů RANTES a MIP-1 α , které zabraňují průniku HIV do buňky.

2) VÝZKUM LÁTEK PŘÍRODNÍHO PŮVODU - SESKVITERPENOVÉ LAKTONY

V souladu s celosvětovým návratem k výzkumu látek přírodního původu, který byl v posledním desetiletí umožněn pokroky v oblasti separační a analytické chemie, se oddělení farmakologie rovněž věnuje této problematice. Na rostliny je možno pohlížet jako na velmi efektivní farmaceutickou dílnu. Mnoho látek přítomných v tkáních rostlin neumí chemické laboratoře zatím syntetizovat. Pozornost oddělení farmakologie je věnována seskviterpenovým laktonům, především z rostliny *Laser trilobum* L. (**obr. 2**). Objevili jsme zcela nové, dosud neznámé vlastnosti laktonů guinalodivého typu. Trilobolid, představitel této skupiny, aktivuje produkci interferonu- α , který má výrazné účinky protiinfekční. Jiný typ laktonu, laserolid, má naproti tomu účinky inhibiční. Inhibuje mj. vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF). Vzhledem k tomu, že VEGF, který je produkován také nádorovými buňkami, patří mezi nejsilnější pro-angiogenní cytokiny, je jeho inhibice považována za úspěšný přístup při léčbě nádorů.



Obr. 2. V rostlinách se nacházejí farmakologicky zajímavé látky s biologicky protichůdnými účinky. Z rostliny *Laser trilobum* L. byl izolován seskviterpenový lakton trilobolid, který má účinky stimulační, zatímco jiný typ laktonu, laserolid, má účinky inhibiční (včetně inhibice angiogenního cytokinu VEGF).

LABORATOŘ TKÁŇOVÉHO INŽENÝRSTVÍ

Vedoucí: doc. RNDr. EVŽEN AMLER, CSc.

je především zaměřena na přípravu tkáňových náhrad, tvorbu buněčných nosičů, především biodegradabilních a na bázi nanovláken, modelování proteinových struktur, ale také vyhledávání možností praktického využití výsledků. Pracoviště vyvíjí technologii uvolňování bioaktivních látek s využitím nanovláčkových nosičů obohacených o liposomy, což umožňuje řízený přísun živin a léků přímo do místa defektu. Připravují se umělé chrupavčité náhrady pro klinické využití v ortopedii.



Vědečtí pracovníci:

doc. RNDr. Evžen Amler, CSc.

RNDr. Lucie Koláčná, PhD.

Mgr. Eva Filová, PhD.

Mgr. Andrij Lytvynets

Mgr. Eva Prosecká

Mgr. Martin Plencner

Mgr. Matej Buzgo

Techničtí pracovníci:

Ing. Hana Pokorná

Jana Závodská st.

Jana Závodská ml.

Iveta Hanušová

Postgraduální studenti:

Mgr. Michala Rampichová

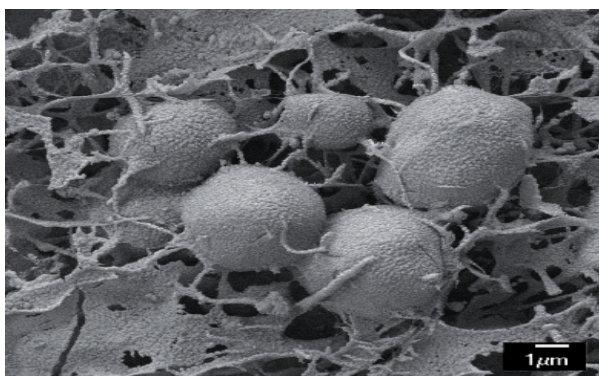
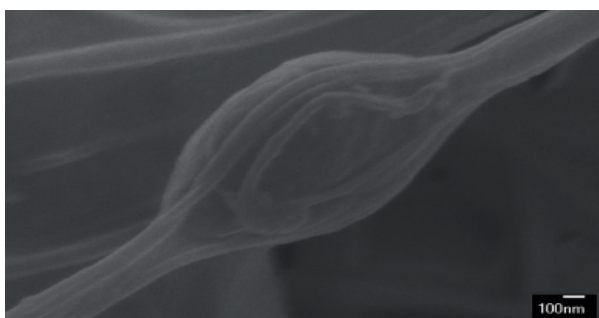
Mgr. Andrea Míčková

Mgr. Radka Jakubová

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

1) FUNKCIONALIZOVANÝ NANOSYSTÉM PRO ŘÍZENÉ DODÁVÁNÍ BIOAKTIVNÍCH LÁTEK

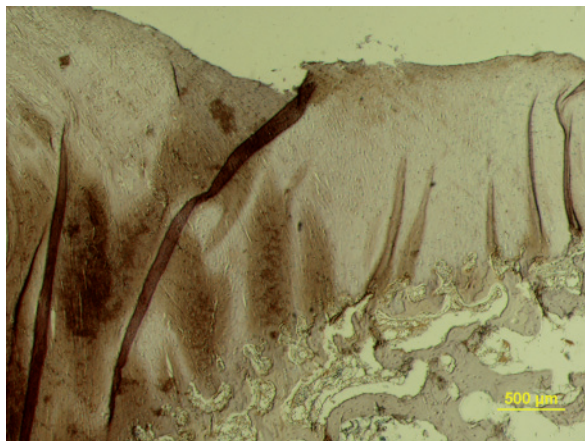
Podařilo se nám vytvořit nanovláčkové struktury na bázi jádro/plášť a funkcionalizovat je díky imobilizaci liposomů na nanovláčkovém povrchu. Zatímco tvorba nanovláčků z polymerní směsi s liposomy nevedla k úspěchu, zvýšenou adhezí a lokalizací liposomů jsme detekovali u povrchově upravených nanovláčků s využitím plasmové úpravy v různých atmosférách. Podařilo se nám též inkorporovat do nitra některých nanovláčkových struktur liposomy obsahující bioaktivní látky. Tento systém jsme vizualizovali s využitím speciálních technik elektronové mikroskopie (cryoSEM). Podařilo se nám též prokázat, že lze udržet vodu a aktivní enzymy v nativní struktuře enkapsulované v nanovláčcích i v případě, kdy nanovláčková jsou uchovávána v suchém prostředí (nejsou inkubována v pufrech). Tento funkcionalizovaný nanosystém jsme použili *in vitro* pro zvýšení adheze a proliferace chondrocytů, fibroblastů a mesenchymálních buněk.



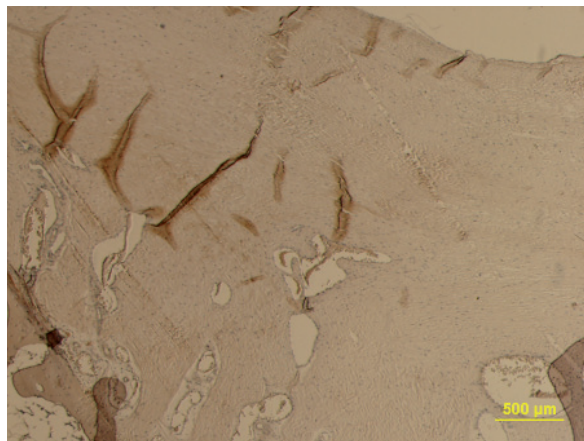
Obr. 1. Funkcionalizovaná nanovláčková.

2) REGENERACE OSTEOCHONDRÁLNÍCH DEFEKTŮ *IN VIVO*

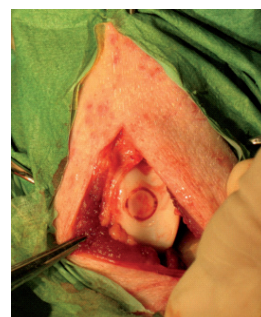
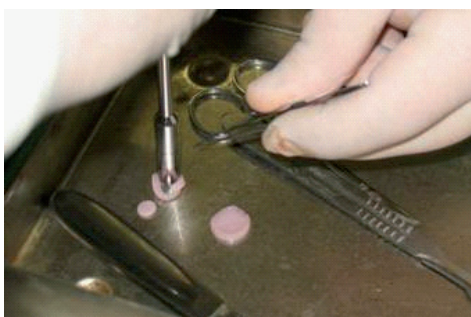
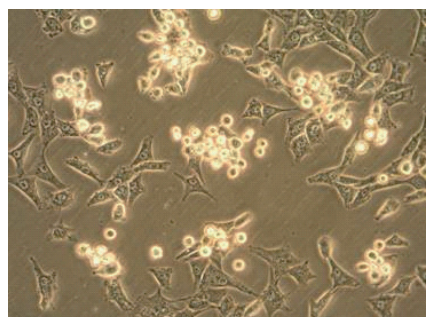
Nově vyvinutý nanovláknový funkcionalizovaný systém byl již použit pro první *in vivo* studii. Byla provedena preklinická studie s cílem řešení osteochondrálních defektů v koleni miniprasete. Bylo použito buněčných i nebuněčných hydrogelových nosičů obohacených o funkcionalizovaný nanovláknový systém, který sloužil pro postupné uvolňování bioaktivních látek, regenerovaná tkáň byla charakterizována šest měsíců po implantaci makroskopicky, biomechanicky, histologicky i imunohistologicky. Ve všech zkoumaných parametrech bylo dosaženo dobrých výsledků. Regenerace tkáně závisela na množství implantovaných buněk a měla svou optimální koncentraci.



Obr. 2. Silně pozitivní imunohistochemické barvení s použitím monoklonální protilátky proti kolagenu II v osteochondrálním defektu miniprasete ze skupiny s implantovaným nosičem z fibrinu, kyseliny hyaluronové a kolagenu I, osazeným autologními chondrocyty po 24 týdnech od implantace dokazuje tvorbu hyalinní chrupavky. Zvětšení 40×.



Obr. 3. Negativní imunohistochemické barvení s použitím monoklonální protilátky kolagenu II v osteochondrálním defektu miniprasete z kontrolní skupiny s neléčeným defektem ukazuje tvorbu řídké fibrózní tkáně. Zvětšení 40×.



Obr. 4. (A) Kolonie chondrocytů, (B) Izotropní gelový nosič, (C) Implantace.

PATENTY UDĚLENÉ V ROCE 2010

- PUV 2009 -21119 Kolagen/fibrinová síť s nanovláknem z polykaprolaktonu
- PUV 2009 -21120 Síťka z polykaprolaktonu nebo z polyglykolové kyseliny nebo ze směsi kyseliny polymléčné a polyglykolové s nanovláknem
- PUV 2009 -21121 Síťka obohacená nanovláknem z polykaprolaktonu nebo ze směsi kyseliny polymléčné a polyglykolové či polyvinylchloridu s adherovanými liposomy
- PUV 2009 -21122 Nanovláknenná síťka s nanovláknem s dotovanými liposomy
- PUV 2009 -21123 Dutá nanovláknena obohacená liposomy

PATENTOVÉ PŘIHLÁŠKY ZVEŘEJNĚNÉ V ROCE 2010

- Způsob a zařízení k výrobě nanovláken přelavovacími elektrostatickými zvlákněvacími
- Způsob výroby nanokapslí připravených na bázi nanovláken
- Nanovláknenné nosiče s fotoafinně vázanými mikrosférami a způsob jejich výroby

LABORATOŘ BUNĚČNÉ BIOLOGIE

Vedoucí: RNDr. KAREL KOBERNA, CSc.

se zabývá strukturou chromatinu, replikací DNA, cílenou expresí a transportem bioaktivních molekul do lidských buněk v rámci programu „Nanotechnologie pro společnost“. Vědci popsali např. organizaci lidského replikonu v průběhu jeho replikace nebo roli ATP-závislého chromatinového remodelačního komplexu genů.



Vědečtí pracovníci:

RNDr. Karel Koberna, CSc.
RNDr. Anna Ligasová, PhD.
Alexey Karpushev, PhD.

Postgraduální student:

Mgr. Dmytro Strunin

Technický pracovník:

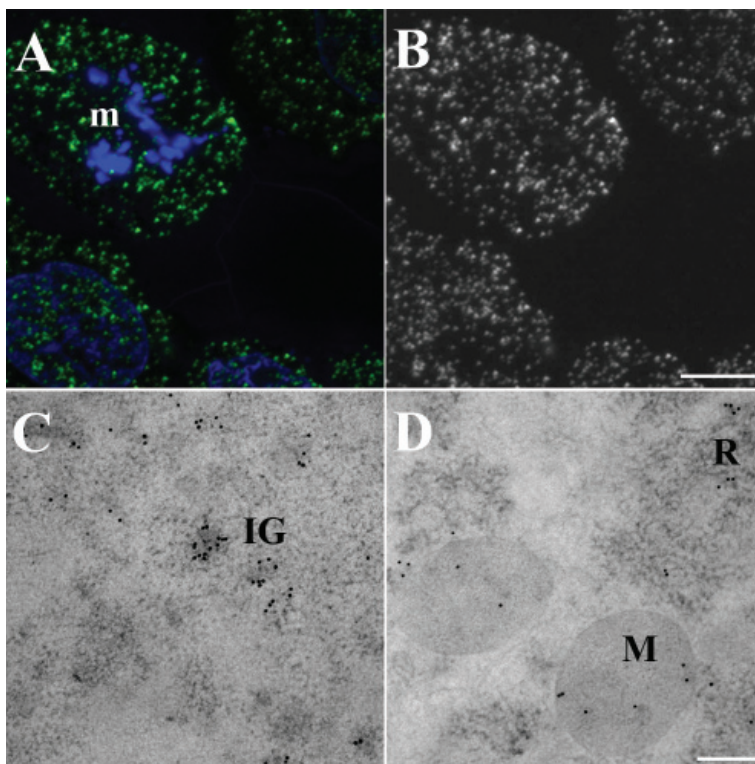
Ing. Markéta Hemerová

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

1) ZPŮSOB DETEKCE POLYADENYLOVANÝCH SEKVENCÍ IN SITU.

Vyvinuli jsme nový přístup, který umožňuje vysoce efektivně a specificky odhalit polyadenylované sekvenční RNA v permeabilizovaných buňkách a na buněčných řezech. Tento přístup je založen na inkorporaci 5'-bromo-2'-deoxyuridinu do nově syntetizovaného komplementárního řetězce cDNA pomocí reverzní transkriptázy a jeho následné detekci pomocí protilátek. Ukázali jsme, že 5'-bromo-2'-deoxyuridin je na rozdíl od dříve používaného deoxyuridinu značeného biotinem nebo digoxigeninem „neviditelný“ v duplexu DNA-DNA, ale lehce odhalitelný v RNA-DNA duplexu. Navíc jsme ukázali, že náhrada deoxytymidinu 5'-bromo-2'-deoxyuridinem výrazně stabilizuje vznikající duplex RNA a DNA. Tato pozorování dovolila vyvinout techniku, která nevyžaduje individuální hybridizační krok a tudíž je daleko šetrnější k buněčné struktuře než dříve používané techniky. Popsaná metoda poskytuje signál s poměrem signál/šum vyšším než 130 pro permeabilizované buňky, 25 pro buňky zalité do akrylátové pryskyřice LR White a 80 pro řezy mrazově fixovanými a substituovanými buňkami.

Rovněž jsme zjistili, že kromě 5'-bromo-2'-deoxyuridinu je možné využít pro stabilizaci komplexu RNA a DNA 5'-iodo-2'-deoxyuridin a 5'-chloro-2'-deoxyuridin. Využití výše uvedených modifikovaných nukleotidů pro detekci polyadenylovaných sekvencí je momentálně předmětem patentové přihlášky.

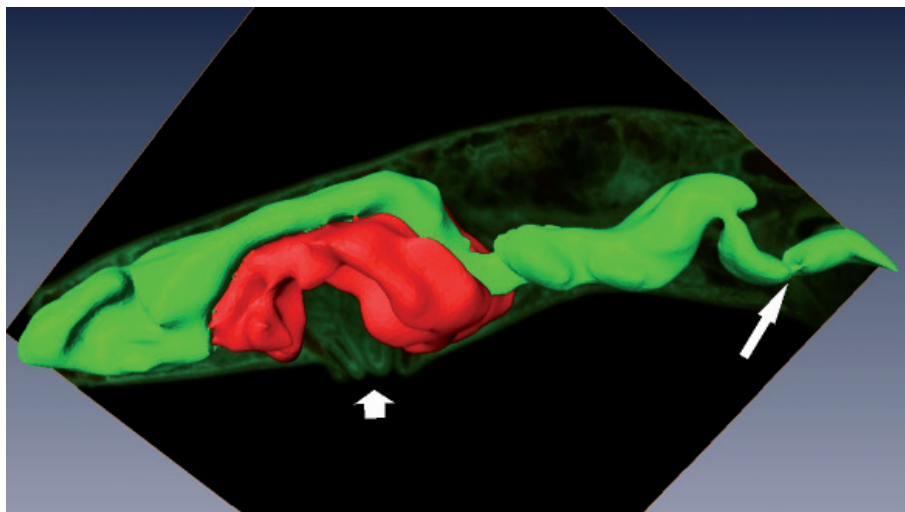


Obr. 1. Detekce polyadenylované RNA na 200 nm (A, B) a 70 nm (C, D) řezech HeLa buňkami.

Buňky byly fixovány vysokotlakou mrazovou fixací, dále zpracovány pomocí mrazové substituce a zalité do Lowikrylu HM20. Polyadenylovaná RNA byla následně detekována pomocí fluorescence (A, B, zeleně) nebo pomocí elektronové mikroskopie (C, D, zlaté částice). Zelený signál byl pro usnadnění vizualizace značených oblastí zesílen. Neupravený signál je zobrazen v části 1B. Modrá odpovídá značení DNA pomocí DAPI. (m) mitotická buňka, (IG) interchromatinová granula, (M) mitochondrie, (R) ribozomy. Měřítka: 10 μ m (A, B), 200 nm (C, D).

2) STEREOLOGICKÝ A ULTRASTRUKTURÁLNÍ POPIS ŽLÁZ PTAČÍ SCHISTOSOMY TRICHOBIHARZIA REGENTI.

Provedli jsme stereologický a ultrastrukturální popis postacetabulárních a circumacetabulárních žláz a hlavové žlázy cercárií ptačí schistosomy *Trichobilharzia regenti*. Dále jsme stanovili pH postacetabulárních a circumacetabulárních žláz. Uvedené žlázy produkují speciální bioaktivní molekuly, které slouží k penetraci do jejich hostitele. Tyto ptačí schistosomy mohou rovněž penetrovat lidskou kůži a způsobovat cercariální dermatitidy. Stereologická analýza ukázala, že hlavová žláza tvoří přibližně 6 %, postacetabulární žlázy 15 % a circumacetabulární žlázy 12 % celkového objemu těla cercárie. pH naměřené v circumacetabulárních žlázách bylo cca 7,44 a v postacetabulárních žlázách cca 7,1. Naše výsledky rovněž ukázaly významné ultrastrukturální změny, ke kterým dochází v důsledku použití chemické fixace v porovnání s mrazovou fixací a následnou mrazovou substitucí. Dále jsme provedli 3D rekonstrukci sledovaných žláz. Jednalo se o první rekonstrukci cercariálních žláz vůbec. V souhrnu naše výsledky ukázaly velkou podobnost mezi studovanými žlázami u *Trichobilharzia regenti* a žlázami lidské schistosomy *Schistosoma mansoni*.



Obr. 2. 3-D model acetabulárních žláz. Postacetabulární žlázy jsou zeleně, circumacetabulární žlázy červeně.

ODDĚLENÍ MIKROSKOPIE

Vedoucí: RNDr. JAN MALÍNSKÝ, PhD.

je zaměřeno na formování, distribuci a dynamiku buněčných struktur neohraničených membránou. Řada biomolekul je v buňce soustředěna ve specializovaných kompartmentech, které postrádají jasně definované hranice, v důsledku toho komunikují se svým okolím přímou difúzí. Pomocí moderních mikroskopických metod je možné nejen přesně lokalizovat různé buněčné struktury, ale detekovat též jejich pohyb a potenciální interakce na molekulární úrovni.



Vědecký pracovník:
RNDr. Jan Malínský, PhD.

Postgraduální studenti:
Mgr. Vendula Strádalová
Mgr. Michaela Blažíková

Techničtí pracovníci:
Bc. Tomáš Červinka
Jitka Eisensteinová
Lenka Hlavínová
Bc. Petra Veselá

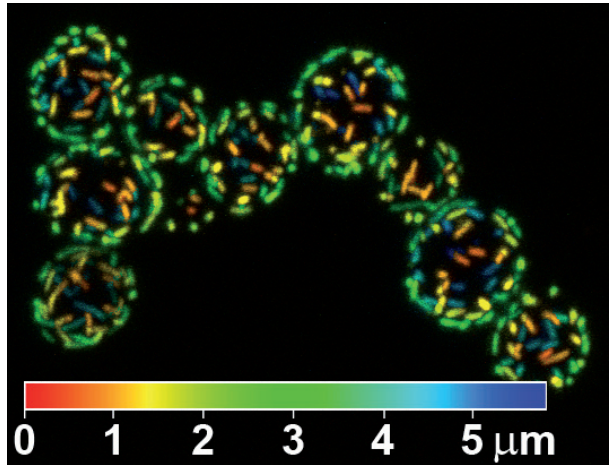
VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY LABORATOŘE V ROCE 2010

1) NÁVRH MODELU FORMOVÁNÍ STRUKTURNĚ FUNKČNÍCH DOMÉN PLASMATICKÉ MEMBRÁNY.

V rámci plasmatické membrány koexistují zřetelné laterální domény specifického složení a funkce. Formou přehledného článku jsme shrnuli dosud publikované poznatky o doménách v plasmatické membráně buněk rostlin a hub, které byly popsány na základě mikroskopických přístupů. Plasmatická membrána kvasinky obsahuje velké mikrodomény, které se účastní regulace koloběhu proteinů

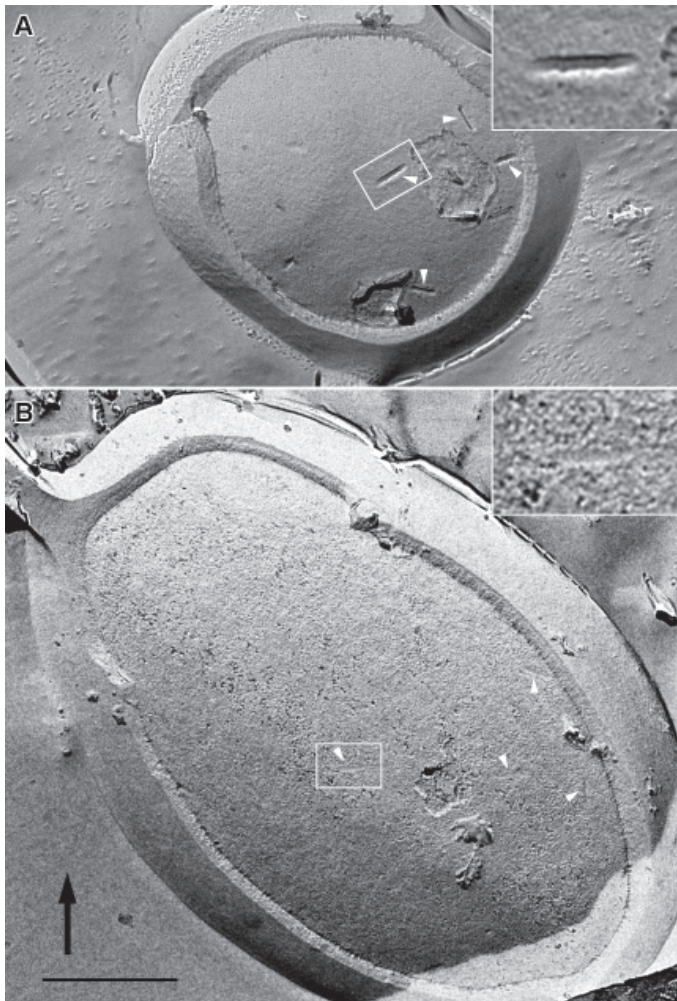
(obr. 1). Podle argininového přenašeče Can1, jehož segregace do těchto domén byla pozorována jako první, byly nazvány MCC (z angl. membrane compartment of Can1). Popsali jsme jemnou strukturu těchto domén a ztotožnili je se žlábkovými invaginacemi plasmatické membrány kvasinek. Shrnuli jsme dosavadní poznatky o těchto strukturně-funkčních jednotkách kvasniční plasmatické membrány a navrhli jsme model jejich formování.

Obr. 1. Abnormálně prodloužené MCC domény v plasmatické membráně kvasinky. Absence Mak3, proteinu zúčastněného v N-terminální acetylaci proteinů, má za následek prodloužení MCC domén v plasmatické membráně pekařské kvasinky. Projekce maximálních intenzit distribuce MCC markeru Sur7-GFP je prezentována ve falešných barvách kódujících třetí rozměr (hloubku) preparátu.



2) OBJASNĚNÍ ROLE PROTEINU NCE102 V USPOŘÁDÁNÍ PLASMATICKÉ MEMBRÁNY S. CEREVISIAE.

Plasmatická membrána kvasinky obsahuje stabilně rozprostřené laterální domény specifického složení a struktury, nazývané MCC. Akumulace specifických protonových symportérů uvnitř MCC je kontrolována dalším MCC proteinem, Nce102, který je sám součástí MCC. Ukázali jsme, že akumulace Nce102 v MCC má za následek

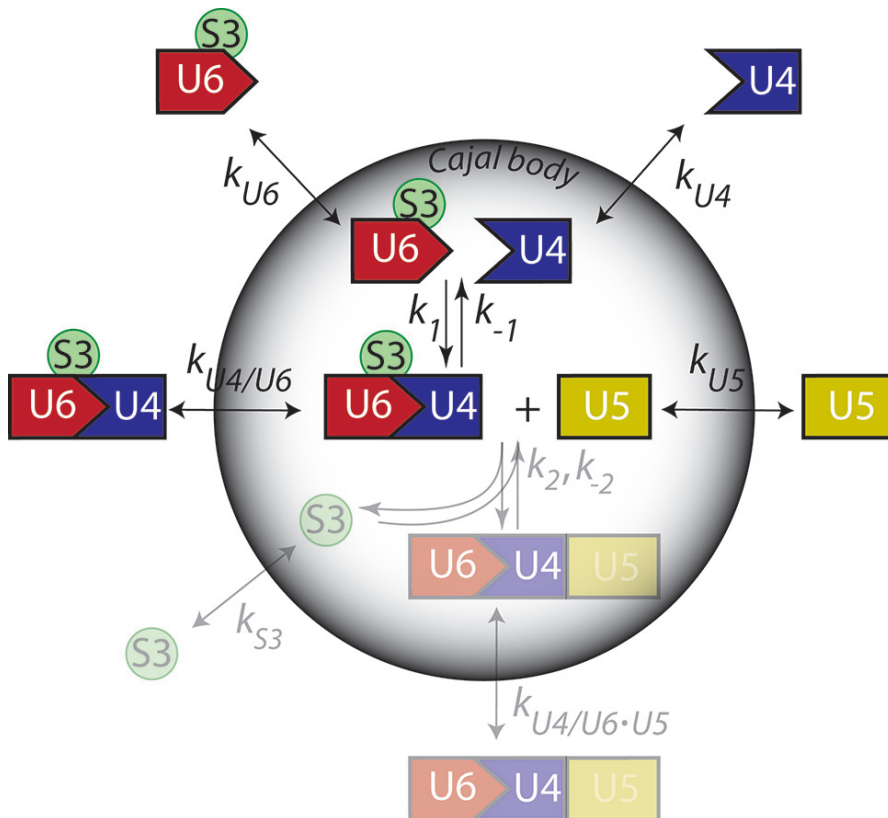


lokální zakřivení plasmatické membrány v těchto doménách a formování specifické a mimořádně stabilní struktury – žlábkové invaginace. Zesílenou expresí proteinových analogů Nce102 jsme prokázali, že funkce těchto proteinů v doménové organizaci plasmatické membrány je zachována v rámci kmene vřeckovýtusných hub. Diskutovali jsme možné fylogenetické přesahy a molekulární mechanismy této funkce. Cílenou mutagenézí jsme označili C-terminální doménu Nce102 jako tu část molekuly proteinu, která je zodpovědná za popsanou funkci Nce102.

Obr. 2. C-terminálně zkrácená verze Nce102 není schopna vytvářet žlábkové invaginace plasmatické membrány. Jemná struktura plasmatické membrány v divokém kmeni (A) a v kmeni exprimujícím C-terminálně zkrácenou verzi (B) byla porovnána na replikách pořízených technikou mrazového leptání. MCC domény jsou vyznačeny (hroty šipek). Namísto invaginací (A), buňky exprimující neúplný protein obsahovaly plochou membránu (B). Na povrchu těchto buněk byly často detekovány hladké, podlouhlé oblasti membrány (detail v B). Podobná situace nastává při úplné absenci Nce102 (nezobrazeno). Měřítka: 1 μ m.

3) VYTVOŘENÍ NUMERICKÉHO MODELU FORMOVÁNÍ SESTŘIHOVÉHO KOMPLEXU V CAJALOVÝCH TĚLÍSKÁCH.

Vystřížení nekódujících sekvencí z primárního transkriptu genu neboli sestřih pre-mRNA je jednou ze základních podmínek úspěšné exprese genu u vyšších eukaryot. U4/U6•U5 tri-snRNP je esenciální sestřihový, jenž je krok za krokem formován znovu a znovu po každé reakci, jíž se zúčastní. Ačkoli sled reakcí vedoucích k formování U4/U6•U5 tri-snRNP je dostatečně popsán, málo se ví o kinetice tohoto děje. Ve spolupráci se skupinou Dr. Staňka z ÚMG AV ČR jsme vytvořili úplný matematický model formování U4/U6•U5 v Cajalových tělískách v buněčném jádře (**obr. 3**). Pomocí experimentálních dat získaných technikou postupného obnovení fluorescence po vybělení (Fluorescence Recovery After Photobleaching, FRAP) v podmínkách buněčné kultury lidského původu (HeLa) proliferaující na skle jsme tento model použili k výpočtu kinetiky jednotlivých snRNP komplexů a k určení klíčových parametrů reakcí vedoucích ke složení tri-snRNP komplexu. Vůbec poprvé jsme tak např. odhadli rychlost formování tri-snRNP. Naše výsledky ukazují, že v Cajalových tělískách probíhá proces skládání tri-snRNP asi desetkrát rychleji než v okolní nukleoplasmě, což plně odpovídá dřívějším pozorováním důležitosti Cajalových tělísek v rychle se vyvíjejících biologických systémech.



Obr. 3. Schéma postupného formování tri-snRNP v Cajalově tělísku. Přehlednou formou je uveden výčet základních kroků postupného formování U4/U6•U5 tri-snRNP z U4, U6, U5 a U4/U6 snRNP komplexů, včetně disociace proteinu SART3 (S3) ve finální fázi tohoto procesu. Během fitování parametrů modelu byla tato poslední reakce odprávena pomocí specifického knock-downu hPrp6, proteinu nezbytného pro vazbu U5 na U4/U6 di-snRNP.

ODDĚLENÍ TECHNOLOGICKÉHO TRANSFERU / INOVAČNÍ BIOMEDICÍNSKÉ CENTRUM

Vedoucí: Ing. PETR BAŽANT, CSc., MBA

Oddělení monitoruje a vyhodnocuje výzvy k podávání projektů v tuzemských i zahraničních programech podpory v oblasti podnikání, základního i aplikovaného výzkumu, inovací a vzdělávání. Ve vybraných případech pak společně s výzkumnými odděleními ústavu připravuje projektové žádosti, podílí se na realizaci schválených projektů a připravuje periodické monitorovací zprávy o průběhu projektů a jejich udržitelnosti v postrealizačním období.

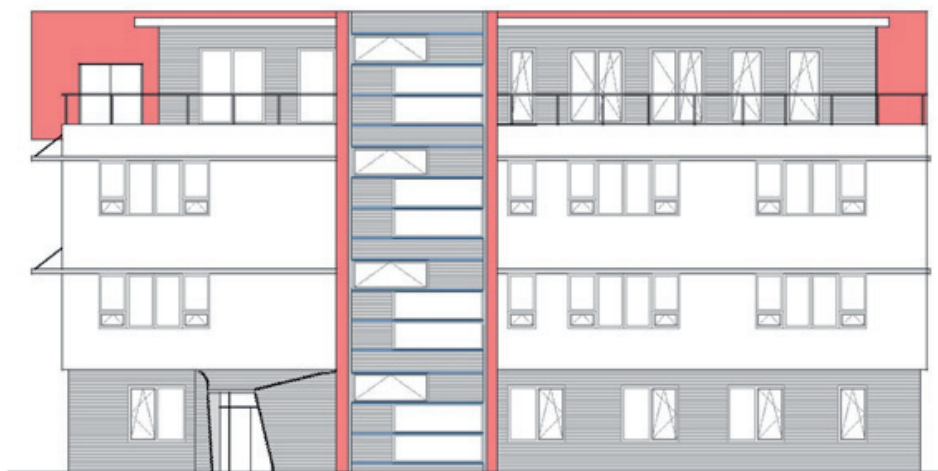


Pracovník: Ing. Jan Prokšík

VÝZNAMNÉ VÝSLEDKY ODDĚLENÍ ZA ROK 2010

1) V ROCE 2010 BYLY PŘIPRAVENY A PODÁNY NÍŽE UVEDENÉ PROJEKTOVÉ ŽÁDOSTI:

- A) Makroporézní hydrogel pro výplň defektů míšňí a mozkové tkáně a přenos kmenových buněk do programu ALFA - Podpora aplikovaného výzkumu a experimentálního vývoje Technologické agentury ČR. Žadatelem byl ÚEM AV ČR, v.v.i., dalšími účastníky projektu jsou CellNova, s.r.o., CellMaGel, s.r.o. a Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i.
- B) Nanotechnologické systémy pro cílenou aplikaci a dlouhodobé skladování léčebně působících kmenových buněk do Rezortního programu TIP 2011 MPO ČR.
- C) NEUROREGION - Neurovědní výzkum a jeho aplikace v medicíně a bioinženýrství v Ústeckém kraji a v kraji Vysočina do programu Vzdělávání pro konkurenceschopnost MŠMT ČR, oblasti podpory 2.3 – Lidské zdroje ve výzkumu a vývoji. Cílem je vybudování nových výzkumných týmů v oboru neurověd u partnerů projektu - Krajské zdravotní a.s. v Ústí nad Labem a Polytechniky v Jihlavě.
- D) Národní biotechnologické a biomedicínské centrum do programu Prosperita MPO. Příjemcem projektu je Středočeský kraj, ÚEM AV ČR je odborným garantem projektu.
- E) Výzkumné centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad (VCBT) do programu Praha Konkurenceschopnost. Předmětem projektu je výstavba a technologické vybavení nové budovy vybavené laboratorními prostory pro biomedicínský výzkum.
- F) K projektu Inovačního biomedicínského centra vybudovaného v rámci programu JPD2 byla obhájena periodická monitorovací zpráva v období udržitelnosti.



Obr. 1. Výzkumné centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad (stávající levá část z r. 2008, pravá polovina bude dokončena v červnu 2012).



Obr. 2. Pohled do konferenčního sálu v IBC.

3) DALŠÍ OKRUHY ČINNOSTI ODDĚLENÍ

A) Oddělení bylo v roce 2010 pověřeno správou Inovačního biomedicínského centra, jehož součástí je: (1) podnikatelský inkubátor pro začínající firmy v oboru biomedicíny (2) centrum aplikovaného výzkumu v biomedicině (3) centrum na podporu konkurenceschopnosti na zdravotnickém trhu.

B) Oddělení vede pro ústav agendu inovačních spin-off firem a ochrany duševního vlastnictví. ÚEM iniciuje vznik komerčně orientovaných spin-off firem, které se stávají partnery vědeckých týmů ústavu. Jsou to vesměs společnosti vlastněné soukromými investory nebo s jejich významným podílem. V roce 2008 ÚEM se soukromým investorem založil dceřinou společnost BioInova, s.r.o. (produktově orientovaná firma s licenci na výrobu buněčných léčivých přípravků). V roce 2009 pak byla založena CellNova, s.r.o. (společnost pro uplatnění kmenových buněk v lékařské praxi), v roce 2010 vznikly firmy EponaCell, s.r.o. (společnost pro uplatnění kmenových buněk v oboru veterinární medicíny) a ArtiCell, s.r.o. (firma zaměřená na aplikaci kmenových buněk při léčbě poranění a poškození pohybového ústrojí v humánní medicíně).

C) Oddělení vede agendu vzdělávání zaměstnanců v oboru inovačního managementu v medicíně, kam patří i národní i evropská regulační legislativa a schvalovací procesy při zavádění nových léků a léčivých přípravků. ÚEM dosáhl v několika medicínských oborech významných vědeckých výstupů se značným komerčním potenciálem. Legislativní podmínky komerčního uplatnění výsledků medicínsky orientovaného výzkumu však znamenají finančně, časově i organizačně velmi náročný proces. Přitom outsourcing odborných služeb je finančně velmi náročný a zvyšuje tak riziko úspěšného uplatnění produktu na trhu. Proto ÚEM volí spíše strategicky důležitou cestu vzdělávání zaměstnanců a budování infrastruktury na podporu inovačního cyklu.

V roce 2010 získala společnost BioInova, s.r.o., za asistence Oddělení technologického transferu, povolení k výrobě buněčných léčivých přípravků pro humánní medicínu v rámci klinických studií.

2) REALIZACE PROGRAMU OPPA

V roce 2010 byl druhým rokem realizován projekt „Vzdělávání vědeckých pracovníků v oblasti přenosu biomedicínských technologií do praxe“ v rámci programu OPPA. Hlavním cílem projektu bylo poskytnout vybraným vědeckým pracovníkům ústavu rozšiřující profesní vzdělání zaměřené na transfer poznatků základního výzkumu do klinické praxe.



Obr. 3. A Inovační biomedicínské centrum ÚEM AV ČR.



Obr. 4. Pohled do čistých prostor v IBC.

ODDĚLENÍ NEUROVĚD

Amemori T., Jendelová, P., Růžičková, K., Arboleda, D., Syková, E.: (2010) Co-transplantation of olfactory ensheathing glia and mesenchymal stromal cells does not have synergistic effects after spinal cord injury in the rat. *Cytotherapy* 12(2): 212-225.

IF 2.204

Anděrová, M., Voříšek, I., Pivoňková, H., Benešová, J., Vargová, L., Cicanič, M., Chvátal, A., Syková, E.: (2010) Cell death/proliferation and alterations in glial morphology contribute to changes in diffusivity in the rat hippocampus after hypoxia-ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* In press.

IF 5.457

Bekku, Y., Vargová, L., Goto, Y., Voříšek, I., Dmytrenko, L., Narasaki, M., Ohtsuka, A., Fässler, R., Ninomiya, Y., Syková, E., Oohashi, T.: (2010) Bral1: its role in diffusion barrier formation and conduction velocity in the CNS. *J. Neurosci.* 30(8): 3113-3123.

IF 7.178

Brejchová, K., Lisková, P., Čejková, J., Jirsová, K.: (2010) Role of matrix metalloproteinases in recurrent corneal melting. *Exp. Eye Res.* 90(5): 583-590.

IF 2.538

Carulli, D., Pizzorusso, T., Kwok J. C., Putignano, E., Poli, A., Forostyak, S., Andrews, M. R., Deepa, S. S., Glant, T., Fawcett, J. W.: (2010) Animals lacking link protein have attenuated perineuronal nets and persistent plasticity. *Brain.* 133(8): 2331-2347.

IF 9.490

Čejka, Č., Pláteník, J., Širc, J., Ardan, T., Michálek, J., Brůnová, B., Čejková, J.: (2010) Changes of corneal optical properties after UVB irradiation investigated spectrophotometrically. *Physiol. Res.* 59(4): 591-597.

IF 1.653

Čejková, J., Čejka, Č., Ardan, T., Širc, J., Michálek, J., Luyckx, J.: (2010) Reduced UVB-induced corneal damage caused by reactive oxygen and nitrogen species and decreased changes in corneal optics after trehalose treatment. *Histol. Histopathol.* 25(11): 1403-1416.

IF 2.404

Čejka, Č., Luyckx, J., Ardan, T., Pláteník, J., Širc, J., Michálek, J., Čejková, J.: (2010) The Effect of Actinoquinol with Hyaluronic Acid in Eye Drops on the Optical Properties and Oxidative Damage of the Rabbit Cornea Irradiated with UVB Rays. *Photochem. Photobiol.* 86(6): 1294-1306.

IF 2.253

Čejka, Č., Ardan, T., Širc, J., Michálek, J., Brůnová, B., Čejková, J.: (2010) The influence of various toxic effects on the cornea and changes in corneal light transmission. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 248(12): 1749-1756.

IF 2.102

Hanzelka, T., Foltán, R., Horká, E., Šedý, J.: (2010) Reduction of the negative influence of patient motion on quality of CBCT scan. *Med. Hypotheses.* 75(6): 610-612.

IF 1.393

Hejčl, A., Šedý, J., Kapcalová, M., Arboleda Toro, D., Amemori, T., Likavčanová-Mašínová, K., Lesný, P., Krumbholcová, E., Příkladný, M., Michálek, J., Burian, M., Hájek, M., Jendelová, P., Syková, E.: (2010) HPMARGD hydrogels seeded with mesenchymal stem cells improve functional outcome in chronic spinal cord injury. *Stem Cells Dev.* 19(10): 1535-1546.

IF 4.146

Hoffmannová, J., Foltán, R., Vlk, M., Sipos, M., Horká, E., Pavlíková, G., Kufa, R., Bulík, O., Šedý, J.: (2010) Hemimandibulectomy and therapeutic neck dissection with radiotherapy in the treatment of oral squamous cell carcinoma involving mandible: a critical review of treatment protocol in the years 1994-2004. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 39(6): 561-567.

IF 1.444

Kotková, Z., Kotek, J., Jiráček, D., **Jendelová, P.**, Herynek, V., Berková, Z., Hermann, P., Lukeš, I.: (2010) Cyclodextrin-Based Bimodal Fluorescence/MRI Contrast Agents: An Efficient Approach to Cellular Imaging. *Chem.-Eur. J.* 16: 10094-10102.

IF 5.382

Kozubenko, N., Turnovcová, K., Kapcalová, M., Butenko, O., Anděrová, M., Rusnaková, V., Kubista, M., Hampl, A., Jendelová, P., Syková, E.: (2010) Analysis of *in vitro* and *in vivo* characteristics of human embryonic stem cell-derived neural precursors. *Cell Transplant.* 19(4): 471-486.

IF 5.126

Kubinová, Š., Syková E.: (2010) Nanotechnology for treatment of stroke and spinal cord injury. *Nanomed.* 5(1): 99-108.

IF 5.982

Kubinová, Š., Syková, E.: (2010) Nanotechnologies in regenerative medicine. *Minim. Invasive Ther. Allied Technol.* 19(3): 144-156.

IF 1.330

Kubinová, Š., Horák, D., Kozubenko, N., Vaněček, V., Proks, V., Price, J., Cocks, G., Syková, E.: (2010) The use of superporous Ac-CGGASIKVAVS-OH-modified PHEMA scaffolds to promote cell adhesion and the differentiation of human fetal neural precursors. *Biomaterials* 31(23): 5966-5975.

IF 7.365

Pavlíková, G., Foltán, R., Horká, M., Hanzelka, T., Borunská, H., **Šedý, J.:** (2010) Piezosurgery in oral and maxillofacial surgery. *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* In press.

IF 1.444

Pollert, E., Kaman, O., Veverka, P., Maryško, M., Závěta, K., Kačenka, M., Lukeš, I., **Jendelová, P., Kašpar, P., Burian, M., Herynek, V.:** (2010) Core-shell La_{1-x}Sr_xMnO₃ nanoparticles as colloidal mediators for magnetic fluid hyperthermia. *Phil. Trans. R. Soc. A* 368: 4389-4405.

IF 2.295

Seminatore, C., Polentes, J., Ellman, D., **Kozubenko, N., Itier, V., Tine, S., Tritschler, L., Brenot, M., Guidou, E., Blondeau, J., Lhuillier, M., Bugi, A., Aubry, L., Jendelová, P., Syková, E., Perrier, A.L., Finsen, B., Onteniente, B.:** (2010) The postischemic environment differentially impacts teratoma or tumour formation following transplantation of human embryonic stem cells-derived neural progenitors. *Stroke* 41(4): 153-159.

IF 7.041

Šedý, J., Horká, E., Foltán, R., Špačková, J., Dušková, J.: (2010) Mechanism of increased mortality in hemodialysed patients with periodontitis. *Med. Hypotheses* 74(2): 374-376.

IF 1.393

Viero, C., Shibuya, I., Kitamura, N., **Verkhatsky, A., Fujihara, H., Katoh, A., Ueta, Y., Zingg, H. H., Chvátal, A., Syková, E., Dayanithi, G.:** (2010) Oxytocin: Crossing the Bridge between Basic Science and Pharmacotherapy. *CNS Neurosci. Ther.* 16(5): e138-156.

IF 2.690

Zajícová, A., Pokorná, K., Lencová, A., Krulová, M., Svobodová, E., **Kubinová, Š., Syková, E., Příkladný, M., Michálek, J., Svobodová, J., Munzarová, M., Holáň, V.:** (2010) Treatment of Ocular Surface Injuries by Limbal and Mesenchymal Stem Cells Growing on Nanofiber Scaffolds. *Cell. Transplant.* 19(10): 1281-1290.

IF 5.126

ODDĚLENÍ NEUROFYZIOLOGIE SLUCHU

Albizu, L., Cottet, M., **Kralíková, M.**, Stoev, S., Seyer, R., Brabet, I., Roux, T., Bazin, H., Bourrier, E., Lamarque, L., Breton, C., Rives, M. L., Newman, A., Javitch, J., Trinquet E., Manning, M., Pin, J. P., Mouillac, B., Durrour, T.: (2010) Time-resolved FRET between GPCR ligands reveals oligomers in native tissues. *Nat Chem Biol.* 6(8): 587-94.

IF 16.058

Bureš, Z., Grécová, J., Popelář, J., Syka, J.: (2010) Noise exposure during early development impairs the processing of sound intensity in adult rats. *Eur. J. Neurosci.* 32(1): 155-164.

IF 3.418

Floody, O. R., **Ouda, L.**, Porter B. A., Kilgard M. P.: (2010) Effects of damage to auditory cortex on the discrimination of speech sounds by rats. *Physiol. Behav.* 101: 260-268.

IF 3.295

Guetg, N., Aziz, S. A., Holbro, N., **Tureček, R.**, Rose, T., Seddik, R., Gassmann, M., Moes, S., Jenoe, P., Oertner, T. G., Casanova, E., Bettler, B.: (2010) NMDA receptor-dependent GABAB receptor internalization via CaMKII phosphorylation of serine 867 in GABAB1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107(31): 13924-13929.

IF 9.432

Maurice, P., Daulat, A. M., **Tureček, R.**, Ivankova-Susankova, K., Zamponi, F., Kamal, M., Clement, N., Guillaume, J. L., Bettler, B., Galès, C., Delagrange, P., Jockers, R.: (2010) Molecular organization and dynamics of the melatonin MT(1) receptor/RGS20/G(i) protein complex reveal asymmetry of receptor dimers for RGS and G(i) coupling. *EMBO J.* 29(21): 3646-3659.

IF 8.993

Pawlas, Z., Klebanov, L. B., Beneš, V., Prokešová, M., **Popelář, J.**, Lánský, P.: (2010) First-Spike Latency in the Presence of Spontaneous Activity. *Neural Comput.* 22(7): 1675-1693.

IF 2.175

Rybalko, N., Šuta, D., Popelář, J., Syka, J.: (2010) Inactivation of the left auditory cortex impairs temporal discrimination in the rat. *Behav. Brain Res.* 209: 123-130.

IF 3.220

Schwenk, J., Metz, M., Zolles, G., **Tureček, R.**, Fritzius, T., Bildl, W., Tarusawa, E., Kulik, A., Unger, A., Ivankova, K., Seddik, R., Tiao, J. Y., Rajalu, M., **Trojanová, J.**, Rohde, V., Gassmann, M., Schulte, U., Fakler, B., Bettler, B.: (2010) Native GABA(B) receptors are heteromultimers with a family of auxiliary subunits. *Nature* 165(7295): 231-235.

IF 34.480

Syka, J.: (2010) The Fischer 344 rat as a model of presbycusis. *Hearing Res.* 264(1-2): 70-78.

IF 2.177

ODDĚLENÍ BUNĚČNÉ NEUROFYZIOLOGIE

Anděrová, M., Voříšek, I., Pivoňková, H., Benešová, J., Vargová, L., Cicanič, M., Chvátal, A., Syková, E.: (2010) Cell death/proliferation and alterations in glial morphology contribute to changes in diffusivity in the rat hippocampus after hypoxia-ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* In press.

IF 5.457

Dayanithi, G., Chen-Kuo-Chang, M., Viero, C., Hamel, C., Muller, A., Lenaers, G.: (2010) Characterization of Ca²⁺ signalling in postnatal mouse retinal ganglion cells: involvement of OPA1 in Ca²⁺ clearance. *Ophthalmic Genet.* 31(2): 53-65.

IF 1.406

Heneka, M. T., **Rodríguez, J. J., Verkhratsky, A.:** (2010) Neuroglia in neurodegeneration. *Brain Res. Rev.* 63(1-2): 189-211.

IF 7.390

Katoh, A., Fujihara, H., Ohbuchi, T., Onaka, T., Yong, W. S., **Dayanithi, G.**, Yamasaki, Y., Kawata, M., Suzuki, H., Otsubo, H., Suzuki, H., Murphy, D., Yochi, U.: (2010) Specific expression of an oxytocin-enhanced cyan fluorescent protein fusion transgene in the rat hypothalamus and posterior pituitary. *J. Endocrinol.* 204(3): 275-285.

IF 2.860

Kayano, T., Kitamura, N., Moriya, T., Tsutsumi, A., Ozaki, Y., **Dayanithi, G.**, Shibuya, I.: (2010) Chronic Treatment with NGF Induces Spontaneous Fluctuations of Intracellular Ca(2+) in Icilin-Sensitive Dorsal Root Ganglion Neurons of the Rat. *J. Vet. Med. Sci.* 72(12): 1531-1538.

IF 0.713

Komori, Y., Tanaka, M., Kuba, M., Ishii, M., Abe, M., Kitamura, N., **Verkhatsky, A.**, Shibuya, I., **Dayanithi, G.**: (2011) Ca²⁺ homeostasis, Ca²⁺ signalling and somatodendritic vasopressin release in adult rat supraoptic nucleus neurons. *Cell Calcium* 48(6): 324-332.

IF 4.288

Kozubenko, N., Turnovcová, K., Kapcalová, M., Butenko, O., Anděrová, M., Rusnaková, V., Kubista, M., Hampl, A., Jendelová, P., Syková, E.: (2010) Analysis of *in vitro* and *in vivo* characteristics of human embryonic stem cell-derived neural precursors. *Cell Transplant.* 19(4): 471-486.

IF 5.126

Mamenko, M. V., Chizhnikov, I. V., Volkova, T. M., **Verkhatsky, A.**, Krishtal, O. A.: (2010) Extracellular cAMP inhibits P2X₃ receptors in rat sensory neurones through G-protein mediated mechanism. *Acta Physiol.(Oxf)* 199(2): 199-204.

IF 2.810

Maruyama, T., Ohbuchi, T., Fujihara, H., Shibata, M., Mori, K., Murphy, D., **Dayanithi, G.**, Ueta, A.: (2010) Diurnal changes of arginine vasopressin-enhanced green fluorescent protein fusion transgene expression in the rat suprachiasmatic nucleus. *Peptides* 31(11): 2089-2093.

IF 2.705

Medvedev, N. I., Popov, V.I., Dallérac, G., Davies, H. A., Laroche, S., Kraev, I. V., **Rodríguez, J. J.**, Doyère, V., Stewart, M. G.: (2010) Alterations in synaptic curvature in the dentate gyrus following induction of long-term potentiation, long-term depression, and treatment with the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist CPP. *Neuroscience* 171(2): 390-391.

IF 3.292

Nedergaard, M., **Rodríguez, J. J., Verkhatsky, A.**: (2010) Glial calcium and diseases of the nervous system. *Cell Calcium* 47(2): 140-149.

IF 4.288

Noristani, H. N., Olabarria, M., **Verkhatsky, A., Rodríguez, J. J.**: (2010) Serotonin fibre sprouting and increase in serotonin transporter immunoreactivity in the CA1 area of hippocampus in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Eur. J. Neurosci.* 32(1): 71-79.

IF 3.418

Ohbuchi, Z., Sato, K., Suzuki, H., Okada, Y., **Dayanithi, G.**, Murphy, D., Ueta, Y.: (2010) Acid-sensing ion channels in rat hypothalamic vasopressin neurons of the supraoptic nucleus. *J. Physiol.* 588(Pt 12): 2147-2162.

IF 4.764

Olabarria, M., Noristani, H. N., **Verkhatsky, A., Rodríguez, J. J.**: (2010) Concomitant astroglial atrophy and astrogliosis in a triple transgenic animal model of Alzheimer's disease. *Glia* 58(7): 831-838.

IF 4.932

Ortiz-Miranda, S. I., **Dayanithi, G.**, Velázquez-Marrero, C., Custer, E. E., Treisman, S. N., Lemos, J. R.: (2010) Differential modulation of N-type calcium channels by micro-opioid receptors in oxytocinergic versus vasopressinergic neurohypophysial terminals. *J. Cell Physiol.* 225: 276-288.

IF 4.586

Palygin, O., Lalo, U., **Verkhatsky, A.**, Pankratov, Y.: (2010) Ionotropic NMDA and P2X_{1/5} receptors mediate synaptically induced Ca²⁺ signalling in cortical astrocytes. *Cell Calcium.* 48(4): 225-231.

IF 4.288

Pivoňková, H., Benešová, J., Butenko, O., Chvátal, A., Anděrová, M.: (2010) Impact of Global Cerebral Ischemia on K(+) Channel Expression and Membrane Properties of Glial Cells in the Rat Hippocampus. *Neurochem. Int.* 57(7): 783-794.

IF 3.541

Prajerová, I., Honsa, P., Chvátal, A., Anděrová, M.: (2010) Neural Stem/Progenitor Cells Derived from the Embryonic Dorsal Telencephalon of D6/GFP Mice Differentiate Primarily into Neurons After Transplantation into a Cortical Lesion. *Cell. Mol. Neurobiol.* 30(2): 199-218.

IF 2.107

Prajerová, I., Honsa, P., Chvátal, A., Anděrová, M.: (2010) Distinct effects of Sonic hedgehog and Wnt-7a on differentiation of neonatal neural stem/progenitor cells *in vitro*. *Neuroscience* 171(3): 693-711.

IF 3.292

Todoroki, M., Ueta, Y., Fujihara, H., Otsubo, H., Shibata, M., Sakamoto, H., Kawata, M., Dayanithi, G., Murphy, D., Hiro, H., Nagata, S.: (2010) Induction of the arginine vasopressin-enhanced green fluorescent protein fusion gene in the rat Locus Coeruleus. *Stress* 13(4): 281-291.

IF 3.205

Verlhratsky, A.: (2010) Physiology of neuronal-glia networking. *Neurochem. Int.* 57(4): 332-343.

IF 3.541

Verkhratsky, A., Olabarria, M., Noristani, H. N., Yeh, C. Y., Rodriguez, J. J.: (2010) Astrocytes in Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* (4): 399-412.

IF 5.381

Viero, C., Shibuya, I., Kitamura, N., Verkhratsky, A., Fujihara, H., Katoh, A., Ueta, Y., Zingg, H. H., Chvátal, A., Syková, E., Dayanithi, G.: (2010) Oxytocin: Crossing the Bridge between Basic Science and Pharmacotherapy. *CNS Neurosci. Ther.* 16(5): e138-e156.

IF 2.690

ODDĚLENÍ TERATOLOGIE

Peterka, M., Sire, J. Y., Hovořáková, M., Procházka, J., Fougeirol, L., Peterková, R., Viriot, L.: (2010) Prenatal development of *Crocodylus niloticus niloticus* Laurenti, 1768. *J. Exp. Zool. Part B* 314(5): 353-368.

IF 2.938

Procházka, J., Pantalacci, S., Churavá, S., Rothová, M., Lambert, A., Lesot, H., Klein, O., Peterka, M., Laudet, V., Peterková, R.: (2010) Patterning by heritage in mouse molar row development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107(35): 15497-15502.

IF 9.432

Rothová, M., Feng, J., Sharpe, P. T., Peterková, R., Tucker, A. S.: (2010) Contribution of mesoderm to the developing dental papilla. *Int. J. Dev. Biol.* In press.

IF 2.161

ODDĚLENÍ GENETICKÉ EKOTOXIKOLOGIE

Bagryantseva, Y., Novotná, B., Rössner, P. Jr., Chvátalová, I., Milcová, A., Švecová, V., Lněničková, Z., Solanský, I., Šrám, R. J.: (2010) Oxidative damage to biological macromolecules in Prague bus drivers and garagemen: impact of air pollution and genetic polymorphisms. *Toxicol. Lett.* 199(1): 60-68.

IF 3.479

Bruchová, H., Vašíková, A., Merkerová, M., Milcová, A., Topinka, J., Balascak, I., Pastorková, A., Šrám, R. J., Brdička, R.: (2010) Effect of Maternal Tobacco Smoke Exposure on the Placental Transcriptome. *Placenta* 31(3): 186-191.

IF 2.767

Dostál, M., Topinka, J., Šrám, R. J.: (2010) Comparison of the health of Roma and non-Roma children living in the district of Teplice. *Int. J. Public Health.* 55(5): 435-441.

IF 1.333

Evans, M.D., Olinski, R., Loft, S., Cooke, M. S., **Rössner, P. Jr., Šrám, R. J.**, Henriksen, T., Poulsen, H. E., Weimann, A., Barbieri, A., Sabatini, L., Violante, F., Kino, S., Ochi, T., Tairin, K., Takeuchi, M., Kasai, H., Meerman, J. H., Gackowski, D., Rozalski, R., Siomek A., Halliwell, B., Jenner, A. M., Wang, H., Cerda, C., Saez, G., Haghdoost, S., Svoboda, P., Hu, C. W., Chao, M. R., Peng, K. Y., Shih, W. C., Wu, K. Y., Orhan, H., Istanbullu, N. S., Mistry, V., Farmer, P. B., Sandhu, J., Singh, R., Cortez, C., Su, Y., Santella, R. M., Lambert, P., Smith, R.: (2010) ESCULA Toward consensus in the analysis of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a noninvasive biomarker of oxidative stress. *Faseb J.* 24(4): 1249-1260.

IF 6.401

Hanzalová, K., Rössner, P. Jr., Šrám, R. J.: (2010) Oxidative damage induced by carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons and organic extracts from urban air particulate matter. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen* 696(2): 114-121.

IF 2.552

Herr, C. E., **Dostál, M.**, Ghosh, R., Ashwood, P., Lipsett, M., Pinkerton, K. E., **Šrám, R. J.**, Hertz-Picciotto, I.: (2010) Air pollution exposure during critical time periods in gestation and alterations in cord blood lymphocyte distribution: a cohort of livebirths. *Environ. Health.* 9(1) : 46-59.

IF 2.481

Hrubá, E., Trilecová, L., Marvanová, S., Krčmář, P., Vykopalová, L., **Milcová, A., Líbalová, H., Topinka, J., Staršíchová, A., Souček, K., Vondráček, J., Machala, M.**: (2010) Genotoxic polycyclic aromatic hydrocarbons fail to induce the p53-dependent DNA damage response, apoptosis or cell-cycle arrest in human prostate carcinoma LNCaP cells. *Toxicol. Lett.* 197(3): 227-235.

IF 3.479

Mordukhovich, I., **Rössner, P. Jr.**, Terry, M. B., Santella, R., Zhang, Y.J., Hibshoosh, H., Memeo, L., Mansukhani, M., Long, C. M., Garbowski, G., Agrawal, M., Gaudet, M. M., Steck, S. E., Sagiv, S. K., Eng, S. M., Teitelbaum, S. L., Neugut, A. I., Conway-Dorsey, K., Gammon, M.D.: (2010) Associations between polycyclic aromatic hydrocarbon-related exposures and p53 mutations in breast tumors. *Environ. Health Perspect.* 118(4): 511-518.

IF 6.191

Novotná, B., Petr, J., Sedmíková, M., Kratochvílová, J., Jílek, F.: (2010) Effect of different activation modes on DNA integrity of porcine M II oocytes matured *in vitro*. *Zygote* 18(1): 81-87.

IF 1.262

Petr, J., Chmelíková, E., Krejčová, T., Řehák, D., **Novotná, B., Jílek, F.**: (2010) Parthenogenetic Activation of Pig Oocytes Using Pulsatile Treatment with a Nitric Oxide Donor. *Reprod. Dom. Anim.* 45(3): 493-499.

IF 1.606

Ragin, C., Minor, A., Agudo, A., Farmer, P., Garte, S., Gonzales, C., Kalina, I., Matullo, P., Popov, T., Palli, D., Peluso, M., Ricceri, F., **Šrám, R. J., Vineis, P., Taioli, E.**: (2010) Pooled analysis of studies on DNA adducts and dietary vitamins. *Mutat. Res.-Rev. Mutat. Res.* 705(2): 77-82.

IF 7.097

Ricceri, F., Godschalk, R. W., Peluso, M., Phillips, D., Agudo, A., Georgiadis, P. A., Loft, S., Tjonneland, A. M., Raaschou-Nielsen, O., Palli, D., Perera, F., Vermeulen, R., Taioli, E., **Šrám, R. J., Munnia, A., Rosa, F., Allione, A., Matullo, G., Vineis, P. P.**: (2010) Bulky DNA adducts in white blood cells: a pooled analysis of 3600 subjects. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 19(12): 3174-3181.

IF 4.310

Rössner, P. Jr., Topinka, J., Hovorka, J., Milcová, A., Schmuczerová, J., Krouzek, J., Šrám, R. J.: (2010) An acellular assay to assess the genotoxicity of complex mixtures of organic pollutants bound on size segregated aerosol. Part II: Oxidative damage to DNA. *Toxicol. Lett.* 198(3): 312-316.

IF 3.479

Rössnerová, A., Balascak, I., Rössner, P., Jr., Šrám, R. J.: (2010) Frequency of chromosomal aberrations in Prague mothers and their newborns. *Mutat. Res.- Genet. Toxicol. Environ Mutagen.* 699(1-2): 29-34.

IF 2.552

Rubeš, J., Rybař, R., Přinosilová, P., Věžník, Z., Chvátalová, I., Solanský, I., **Šrám, R.J.**: (2010) Genetic polymorphisms influence the susceptibility of men to sperm DNA damage associated with exposure to air pollution. *Mutat. Res. -Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 683(1-2): 9-15.

IF 3.556

Smolders, R., Bartoňová, A., Boogaard, P. J., Dušinská, M., Koppen, G., Merlo, F., Šrám, R. J., Vineis, P., Schoeters, G.: (2010) The use of biomarkers for risk assessment: Reporting from the INTARESE/ENVIRISK Workshop in Prague. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 213(5): 395-400.

IF 2.640

Swenberg, J. A., Bordeerat, N. K., Boysen, G., Carro, S., Georgieva, N. I., Nakamura, J., Troutman, J. M., Upton, P. B., Albertini, R. J., Vacek, P. M., Walker, V.E., Šrám, R. J., Goggin, M., Tretyakova, N.: (2010) 1,3-Butadiene: Biomarkers And Application To Risk Assessment. *Chem. Biol. Interact.* In press.

IF 2.457

Topinka, J., Hovorka, J., Milcová, A., Schmuczerová, J., Krouzek, J., Rössner, P. Jr., Šrám, R. J.: (2010) An acellular assay to assess the genotoxicity of complex mixtures of organic pollutants bound on size segregated aerosol. Part I: DNA adducts. *Toxicol. Lett.* 193(3): 304-311.

IF 3.479

Vacek, P. M., Albertini, R. J., Šrám, R. J., Upton, P., Swenberg, J. A.: (2010) Hemoglobin adducts in 1,3-butadiene exposed Czech workers: Female-male comparisons. *Chem.-Biol. Interact.* 188(3): 668-676.

IF 2.457

ODDĚLENÍ MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE NÁDORŮ

Campa, D., Vodička, P., Pardini, B., Naccarati, A., Carrai, M., Vodičková, L., Novotný, J., Hemminki, K., Försti, A., Barale, R., Canzian, F.: (2010) A gene-wide investigation on polymorphisms in the taste receptor 2R14 (TAS2R14) and susceptibility to colorectal cancer. *BMC Med. Genet.* 11: 88-93.

IF 2.840

Campa, D., Pardini, B., Naccarati, A., Vodičková, L., Novotný, J., Steinke, V., Rahner, N., Holinski-Feder, E., Morak, M., Schackert, H. K., Gorgens, H., Kottling, J., Betz, B., Kloor, M., Engel, C., Buttner, R., Propping, P., Forsti, A., Hemminki, K., Barale, R., Vodička, P., Canzian, F.: (2010) Polymorphisms of genes coding for ghrelin and its receptor in relation to colorectal cancer risk: a two-step gene-wide case-control study. *BMC Gastroenterol.* 10(1): 112-117.

IF 1.886

Hánová, M., Štětina, R., Vodičková, L., Vaclavíková, R., Hlaváč, P., Šmerhovský, Z., Naccarati, A., Poláková, V., Souček, P., Kuricova, M., Manini, P., Kumar, R., Hemminki, K., Vodička, P.: (2010) Modulation of DNA repair capacity and mRNA expression levels of XRCC1, hOGG1 and XPC genes in styrene-exposed workers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 248(3): 194-200.

IF 3.359

Hlavatá, I., Vrána, D., Šmerhovský, Z., Pardini, B., Naccarati, A., Vodička, P., Novotný, J., Mohelníková-Duchonová, B., Souček, P.: (2010) Association between exposure-relevant polymorphisms in CYP1B1, EPHX1, NQO1, GSTM1, GSTP1 and GSTT1 and risk of colorectal cancer in a Czech population. *Oncol. Rep.* 24(5): 1347-1353.

IF 1.588

Hughes, D., Hlavatá, I., Souček, P., Pardini, B., Naccarati, A., Vodičková, L., O'Morain, C., Vodička, P.: (2010) Ornithine Decarboxylase G316A Genotype and Colorectal Cancer Risk. *Colorectal. Dis.* In press.

IF 2.410

Landi, D., Moreno, V., Guino, E., Vodička, P., Pardini, B., Naccarati, A., Canzian, F., Barale, R., Gemignani, F., Landi, S.: (2010) Polymorphisms affecting micro-RNA regulation and associated with the risk of dietary-related cancers: A review from the literature and new evidence for a functional role of rs17281995 (CD86) and rs1051690 (INSR), previously associated with colorectal cancer. *Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* In press.

IF 3.556

Lascorz, J., Försti, A., Chen, B., Buch, S., Steink, e V., Rahner, N., Holinski-Feder, E., Morak, M., Schackert, H. K., Görgens, H., Schulmann, K., Goecke, T., Kloor, M., Engel, C., Büttner, R., Kunkel, N., Weires, M., Hoffmeister, M., **Pardini, B., Naccarati, A., Vodičková, L.**, Novotný, J., Schreiber, S., Krawczak, M., Bröring, C. D., Völzke, H., Schafmayer, C., **Vodička, P.**, Chang-Claude, J., Brenner, H., Burwinkel, B., Propping, P., Hampe, J., Hemminki, K.: (2010) Genome-wide association study for colorectal cancer identifies risk polymorphisms in German familial cases and implicates MAPK signalling pathways in disease susceptibility. *Carcinogenesis* 31(9): 1612-1619.

IF 4.795

Méplan, C., Hughes, D.J., **Pardini, B., Naccarati, A.**, Souček, P., **Vodičková, L.**, Hlavatá, I., Vrána, D., **Vodička, P.**, Hesketh, J.: (2010) Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. *Carcinogenesis* 31(6): 1074-1079.

IF 4.795

Naccarati, A., Pardini, B., Polaková, V., Šmerhovský, Z., Vodičková, L., Souček, P., Vrána, D., Holcátová, I., Ryska, M., Vodička, P.: (2010) Genotype and haplotype analysis of TP53 gene and the risk of pancreatic cancer: an association study in the Czech Republic. *Carcinogenesis* 31(4): 666-670.

IF 4.795

Souček, P., Sůsová, S., Mohelníková-Duchonová, B., Gromadzinská, J., Moraviec-Sztandera, A., **Vodička, P., Vodičková, L.**: (2010) Polymorphisms in metabolizing enzymes and the risk of head and neck squamous cell carcinoma in the Slavic population of the central Europe. *Neoplasma* 57(5): 415-421.

IF 1.192

Tomlinson, I. P., Dunlop, M., Campbell, H., Zanke, B., Gallinger, S., Hudson, T., Koessler, T., Pharoah, P. D., Niittymäki, I., Tuupanen, S., Aaltonen, L. A., Hemminki, K., Lindblom, A., Försti, A., Sieber, O., Lipton, L., van Wezel, T., Morreau, H., Wijnen, J. T., Devilee, P., Matsuda, K., Nakamura, Y., Castellví-Bel, S., Ruiz-Ponte, C., Castells, A., Carracedo, A., Ho, J. W., Sham, P., Hofstra R. M., **Vodička, P.**, Brenner, H., Hampe, J., Schafmayer, C., Tepel, J., Schreiber, S., Völzke, H., Lerch, M. M., Schmidt, C. A., Buch, S., Moreno, V., Villanueva, C. M., Peterlongo, P., Radice, P., Echeverry, M. M., Velez, A., Carvajal-Carmona, L., Scott, R., Penegar, S., Broderick, P., Tenesa, A., Houlston, R. S.: (2010) COGENT (COlorectal cancer GENEtics): an international consortium to study the role of polymorphic variation on the risk of colorectal cancer. *Br. J. Cancer* 102(2): 447-454.

IF 4.346

Vodička, P., Polívková, Z., Sytarová, S., Demová, H., Kučerová, M., Vodičková, L., Poláková, V., Naccarati, A., Šmerhovský, Z., Ambruš, M., Černá, M., Hemminki, K.: (2010) Chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes of newly diagnosed cancer patients and healthy controls. *Carcinogenesis* 31(7): 1238-1241.

IF 4.795

ODDĚLENÍ MOLEKULÁRNÍ EMBRYOLOGIE

Bárta, T., Vinarský, V., Holubcová, Z., Doležalová, D., Verner, J., Pospíšilová, S., **Dvořák, P., Hampl, A.**: (2010) Human embryonic stem cells are capable of executing G1/S checkpoint activation. *Stem Cells* 28(7): 1143-1152.

IF 7.747

Borghese, L., **Doležalová, D.**, Opitz, T., Haupt, S., Leinhass, A., Steinfarz, B., Koch, P., Edenhofer, F., **Hampl, A.**, Brüstle, O.: (2010) Inhibition of Notch Signaling in Human Embryonic Stem Cell-Derived Neural Stem Cells Delays G1/S Phase Transition and Accelerates Neuronal Differentiation In Vitro and In Vivo. *Stem Cells* 28(5): 955-964.

IF 7.747

Kollár, P., Závalová, V., **Bárta, T.**, Smejkal, K., **Hampl, A.**: (2010) Geranylated flavanone tomentodiplacone B arrests progression of the cell cycle in human monocytic leukemia (THP-1) cells. *Br. J. Pharmacol.* In press.

IF 5.204

Kozubenko, N., Turnovcová, K., Kapcalová, M., Butenko, O., Anděrová, M., Rusnaková, V., Kubista, M., **Hampl, A., Jendelová, P., Syková, E.**: (2010) Analysis of *in vitro* and *in vivo* characteristics of human embryonic stem cell-derived neural precursors. *Cell Transplant.* 19(4): 471-486.

IF 5.126

Kunová, M., Matulka, K., Eiselleová, L., Trčková, P., **Hápl, A., Dvořák, P.** (2010) Development of humanized culture medium with plant-derived serum replacement for human pluripotent stem cells. *Reprod. Biomed. Online.* 21(5): 676-686.

IF 2.380

Närvä, E., Autio, R., Rahkonen, N., Kong, L., Harrison, N., Kitsberg, D., Borghese, L., Itskonitz-Eldor, J., Rasool, O., **Dvořák, P.**, Hovaltta, O., Otonkoski, T., Tuuri, T., Cui, W., Brüstle, O., Baker, D., Maltby, E., Moore, H. D., Benvenisty, N., Andrews, P. W., Yli-Harja, O., Lahesmaa, R.: (2010) High-resolution DNA analysis of human embryonic stem cell lines reveals culture-induced copy number changes and loss of heterozygosity. *Nat. Biotechnol.* 28(4): 371-377.

IF 29.495

Souček, K., Lincová, E., Ovesná, E., Malenovská, A., Kozubík, A., **Hápl, A.** (2010) Growth/Differentiation Factor-15 is an abundant cytokine in human seminal plasma. *Hum. Reprod.* 25(12): 2962-2971.

IF 3.859

ODDĚLENÍ FARMAKOLOGIE

Kmoníčková, E., Harmatha, J., Vokáč, K., Kostecká, P., Farghali, H., Zídek, Z.: (2010) Sesquiterpene lactone trilobolide activates production of interferon-gamma and nitric oxide. *Fitoterapia.* 81(8): 1213-1219.

IF 1.363

Matušková, Z., Tunková, A., Anzenbacherová, E., Večeřa, R., Siller, M., Tlaskalová-Hogenová, H., **Zídek, Z., Anzenbacher, P.**: (2010) Effects of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 on expression of cytochromes P450 along the gastrointestinal tract of male rats. *Neuroendocrinol. Lett.* 31(Suppl2): In press.

IF 1.047

Šmidrkal, J., Harmatha, J., Buděšínský, M., Vokáč, K., **Zídek, Z., Kmoníčková, E., Merkl, R., Filip, V.**: (2010) Modified approach for preparing (E)-stilbenes related to resveratrol, and evaluation of their potential immunobiological effects. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 75(2): 175-186.

IF 0.856

Štětinová, V., Smetanová, L., Květina, J., Svoboda, Z., **Zídek, Z., Tlaskalová-Hogenová, H.**: (2010) Caco-2 cell monolayer integrity and effect of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 components. *Neuroendocrinol. Lett.* 31(Suppl2): In press.

IF 1.047

Zídek, Z., Kmoníčková, E., Kostecká, P., Tlaskalová-Hogenová, H.: (2010) Decisive role of lipopolysaccharide in activating nitric oxide and cytokine production by the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *Folia Microbiol.* 55(2): 181-189.

IF 0.978

Zídek, Z., Farghali, H., Komíčková, E.: (2010) Intrinsic nitric oxide-stimulatory activity of lipoteichoic acids from different Gram-positive bacteria. *Nitric. Oxide.* 23(4): 300-310.

IF 2.506

ODDĚLENÍ TKÁŇOVÉHO INŽENÝRSTVÍ

Filová, E., Burdíková, Z., Rampichová, M., Bianchini, P., Čapek, M., Košťáková, E., Amler, E., Kubínová, L.: (2010) Analysis and three-dimensional visualization of collagen in artificial scaffolds using nonlinear microscopy techniques. *J.Biomed. Opt.* 15(6): 066011-1-066011-7.

IF 2.501

Lukáš, D., Pan, N., Sarkar, A., Weng, M., Chaloupek, J., Kostakova, E., Ocheretna, L., Mikes, P., Pociute, M., **Amler, E.**: (2010) Auto-model based computer simulation of Plateau-Rayleigh instability of mixtures of immiscible liquids. *Physica A.* 389(11): 2164-2176.

IF 1.562

Nečas, A., Plánka, L., Srnec, R., Crha, M., Hlučilová, J., Klíma, J., Starý, D., Křen, L., **Amler, E.**, Vojtová, L., Jančář, J., Gál, P.: (2010) Quality of newly formed cartilaginous tissue in defects of articular surface after transplantation of mesenchymal stem cells in a composite scaffold based on collagen I with chitosan micro- and nanofibres. *Physiol. Res.* 59(4): 605-614.

IF 1.653

Rampichová, M., Košťáková, E., Filová, E., Prosecká, E., Plencner, M., Ocheretná, L., Lytvynets, A., Lukáš, D., Amler, E.: (2010) Non-woven PGA/PVA Fibrous Mesh as an Appropriate Scaffold for Chondrocyte Proliferation. *Physiol. Res.* 56(6): 773-781.

IF 1.430

Rampichová, M., Filová, E., Varga, F., Lytvynets, A., Prosecká, E., Koláčná, L., Motlík, J., Nečas, A., Vajner, L., Uhlík, J., Amler, E.: (2010) Fibrin/Hyaluronic Acid Composite Hydrogels as Appropriate Scaffolds for In Vivo Artificial Cartilage Implantation. *ASAIO J.* 56(6): 563-568.

IF 1.389

ODDĚLENÍ BUNĚČNÉ BIOLOGIE

Ligasová, A., Koberna, K.: (2010) In situ reverse transcription: the magic of strength and anonymity. *Nucleic Acids Res.* 38(16): e167.

IF 7.479

ODDĚLENÍ MIKROSKOPIE

Loibl, M., Grossmann, G., **Strádalová, V.**, Klingl, A., Rachel, R., Tanner, W., **Malínský, J.**, Opekarová, M.: (2010) C terminus of Nce102 determines the structure and function of microdomains in the *Saccharomyces cerevisiae* plasma membrane. *Eukaryot. Cell* (8): 1184-1192.

IF 3.806

Malínský, J., Opekarová, M., Tanner, W.: (2010) The lateral compartmentation of the yeast plasma membrane. *Yeast* 27(8): 473-478.

IF 1.805

Opekarová, M., **Malínský, J.**, Tanner, W.: (2010) Plants and fungi in the era of heterogeneous plasma membranes. *Plant Biol (Stuttg). Suppl.1:* 94-98.

IF 2.223

MONOGRAFIE

Peterka, M., Novotná, B.

Úvod do teratologie. Příčiny a mechanismy vzniku vrozených vad.
[Introduction to teratology. Causes and mechanisms of birth defects.]
Praha: Nakladatelství Karolinum, 2010. 89 s. ISBN 978-80-246-1780-0

Šedý, J., Jarolím, L., Naňka, O.

Klinická anatomie penisu.
[Clinical anatomy of penis.]
Praha : TRITON, 2010. 86 s. ISBN 978-80-7387-320-2

KAPITOLA V MONOGRAFII

Blažíková, M., Malínský, J., Staněk, D., Heřman, D.

Modeling of snRNP Motion in the Nucleoplasm.
Introductory Biophysics: Perspectives on the Living State. Boston: Jones & Bartlett Publishers, 2010.
ISBN 978-0763779986

DIZERTACE

Prajerová, I.

Membránové vlastnosti neurálních kmenových/progenitorových buněk v průběhu *in vitro* diferenciaci a po transplantaci do mozku potkana.
Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.
Školitel: doc. RNDr. A. Chvátal, DSc., MBA.
Obhájeno: Neurologická klinika UK 1. LF. 04.10.2010. 174 s.

Hejčl, A.

Náhrady defektů CNS s využitím implantace kmenových buněk v polymerních nosičích. 1. Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.
Školitel: prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.
Obhájeno: Neurologická klinika UK 1. LF. 04.10.2010.

POZNÁMKA

Na adrese KNAV jsou statistiky za ústav všech vyšších publikací včetně grafů za rok 2010.
Statistika pro ústav a oddělení: <http://www.lib.cas.cz/ar/>