

Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

Mladí vědci a vědkyně LF UP

Abstrakty 1. Konference Mladé Vědy

26. května 2026

Malá levá posluchárna Teoretických ústavů LF UP

Olomouc

Obsah

Anna Bartáková	3
Antonín Bednář.....	4
Adéla Burianová.....	5
Alica Čutková	6
Jan Dehner	7
Miroslav Haltmar	8
Martina Kadláčková	9
Kateřina Koubová.....	10
Ihor Kozlov.....	11
Jan Macháň	12
Jiřina Maňáková	13
Tereza Marková	14
Richard Masař	15
Lukáš Mlynár	16
Romana Nesnadná	17
Jakub Savara.....	18
Anna Sekyrová.....	19
Lenka Slavičková	20
Martin Sněhota	21
Markéta Trajerová	22
Viktor Valentini	23
Alexander Varečka	24
Karolína Wojewodová	25
Bedirhan Savas Yigit.....	26
Harmonogram.....	27

Anna Bartáková, Dušan Holub, Petr Džubák, Václav Ranc, Marian Hajdúch

Ústav molekulární a translační medicíny LF UP

Proteomická charakterizace proteinové korony plazmatických proteinů na povrchu melaminových mikroplastů

Úvod: Mikroplasty vznikají rozpadem plastů v důsledku fyzikálních či chemických vlivů. Jedná se o široce rozšířené kontaminanty vyskytující se v životním prostředí, které mohou mít vliv na lidské zdraví. Tato studie je zaměřena na studium interakce proteinů plazmy s povrchem mikroplastů a jejich možných dopadů na lidské zdraví.

Metodika: Pro počáteční experimenty byly zvoleny melaminové mikroplasty. Melamin se hojně používá pro výrobu různých typů spotřebního zboží od kuchyňského nádobí, přes čisticí prostředky až po nábytek. Z těchto produktů se mohou uvolňovat mikroplasty do prostředí. Z prostředí se mohou dostávat do lidského organismu, kde mohou interagovat s tělními tekutinami a buňkami, a tak ovlivnit různé biologické procesy.

Pro studium interakce proteinů plazmy s mikroplasty byly melaminové mikročástice inkubovány ve zředěné lidské plazmě pro zformování proteinové korony na povrchu mikročástic. Proteiny z proteinové korony byly následně promyty a připraveny pro LC-MS/MS analýzu. Během vyhodnocení bylo provedeno srovnání s kontrolními vzorky zředěné plazmy zpracovanými podobným způsobem.

Výsledky a závěr: Na povrchu melaminových mikroplastů bylo v průměru identifikováno 383 proteinů. Byly zde selektivně akumulovány proteiny podílející se na buněčné adhezi, organizaci mezibuněčné hmoty, srážení krve a imunitních procesech. Mezi nejvýrazněji obohacené proteiny patřily ty, které souvisejí s aktivací komplementu, hemostázou a regulací proteolytických kaskád. Následující experimenty budou zaměřeny na studium vlivu délky inkubace mikroplastů v plazmě na výsledné složení proteinové korony a na studium interakce plazmatických proteinů s dalšími typy mikroplastů.

Tato studie byla podpořena těmito granty: CZ-OPENSUREN (LM2023052), EATRIS-CZ (LM2023053), Interní grantová agentura Univerzity Palackého v Olomouci (IGA_LF_2025_021), a MEYS CR (Large Research Infrastructure Project LM2018129 – Czech Bio-imaging).

Antonín Bednář, Radana Brumarová, Martina Kadláčková, Eliška Ivanovová, David Friedecký

Laboratoř dědičných metabolických poruch FNOL

Multiomická analýza sklivce pacientů s amocí sítnice

Úvod: Amoce sítnice je závažný stav, při kterém dochází k oddělení sítnice od pigmentového epitelu, který ji za normálního stavu vyživuje. Pokud dojde k odchlípení sítnice, přestává být dostatečně zásobena kyslíkem a živinami, což může vést k remodelaci tkáně, trvalým proliferativním změnám, nebo až k trvalé ztrátě zraku. Cílem této práce bylo odhalit molekulární procesy a změny stojící za tímto patologickým stavem a případné odhalení spolehlivého způsobu diagnostiky u budoucích pacientů.

Metodika: Pro tuto studii byly měřeny vzorky pacientů s trváním amoce sítnice déle než 10 dní, méně než 5 dní a kontrolní skupiny, která sestávala z pacientů s jinými neproliferativními patologiemi. Pro analýzu vzorků byla použita semicílená metabolická a lipidomická analýza za použití kapalinové chromatografie spřažené s tandemovou hmotnostní spektrometrií.

Výsledky: Ve sklivci byly identifikovány významné změny metabolického i lipidomického profilu mezi sledovanými skupinami. Ve srovnání skupiny s amocí déle než 10 dní s kontrolní skupinou bylo zaznamenáno nejvíce signifikantně změněných metabolitů, zejména v oblasti acylkarnitinů, aminokyselin a energetického metabolismu, včetně zvýšených hladin butyrylkarnitinu, dokosahexaenové kyseliny, sperminu a tryptofanu. Současně byly pozorovány výrazné změny ve fosfolipidech, především fosfatidylcholinech a fosfatidylethanolaminech. Menší, ale stále významné rozdíly byly detekovány také mezi skupinami s amocí méně než 5 dní a kontrolní skupinou.

Závěr: Zjištěné změny metabolického a lipidomického profilu sklivce potvrzují, že amoce sítnice je provázena výrazným narušením energetického metabolismu, oxidativního stresu a metabolismu membránových lipidů. Nejvýraznější odchylky byly pozorovány u pacientů 10 dní od vzniku onemocnění, což naznačuje progresivní metabolické změny v průběhu trvání amoce. Identifikované rozdíly v hladinách acylkarnitinů, aminokyselin, fosfatidylcholinů a fosfatidylethanolaminů mohou odrážet poškození buněčných membrán, změny mitochondriální funkce a probíhající degenerativní procesy v sítnici. Tyto výsledky mohou přispět k lepšímu pochopení patofyziologie amoce sítnice a mohou sloužit jako základ pro identifikaci nových biomarkerů.

Adéla Burianová

Ústav histologie a embryologie LF UP

Placenta v diabetickém prostředí: co dělá hyperglykémie s diferenciací trofoblastu?

Úvod: Diabetes mellitus (DM) je skupina metabolických onemocnění charakterizovaných dlouhodobě zvýšenou hladinou glukózy v krvi. Rozlišujeme tři hlavní typy diabetes mellitus: diabetes 1. typu, diabetes 2. typu a gestační diabetes. Je známo, že diabetes u těhotných žen významně ovlivňuje průběh těhotenství a funkci i morfolonii placenty, ovšem molekulární mechanismy stojící v pozadí placentární dysfunkce způsobené diabetickými komplikacemi dosud nejsou zcela objasněny a vyžadují další výzkum.

Během vývoje lidské placenty dává trofoektoderm vzniknout cytotrofoblastu, který se dále diferencuje buď směrem k vilózní, nebo extravilózní trofoblastové dráze. Ve vilózní dráze buňky cytotrofoblastu splývají a vytvářejí mnohojaderný syncytiotrofoblast. Syncytiotrofoblast se následně podílí na transportu látek mezi matkou a plodem. Cílem této práce je blíže objasnit, jak je proces diferenciaci buněk trofoblastu vilózní cestou ovlivněn hyperglykemií.

Metodika: Jako in vitro model byly využity buněčné linie odvozené od choriokarcinomu – BeWo a JEG-3. Fúze buněk linie BeWo za vzniku syncytií byla indukována přidávkou forskolinu. Buněčné linie BeWo a JEG-3 byly kultivovány v podmínkách se zvýšenou koncentrací glukózy, následně byly pomocí metody in-cell ELISA sledovány změny exprese vybraných markerů. Současně bylo provedeno imunohistochemické barvení tkáňových vzorků placent pocházejících od žen s gestačním diabetem, diabetem 1. typu a od kontrolních pacientek, zaměřené na vybrané markery.

Závěr: Cílem této práce je bližší pochopení vlivu hyperglykémie na proces diferenciaci buněk trofoblastu.

Alica Čutková

Ústav imunologie LF UP

Vývoj in vitro modelu aktivovaného mukózného mikroprostredia pre štúdium IgA nefropatie

Úvod: IgA nefropatia (IgAN) je najčastejšia primárna glomerulonefritida, charakterizovaná ukladaním imunokomplexov obsahujúcich galaktozyl-deficitný IgA1 (Gd-IgA1) do obličiek. Exacerbácie ochorenia sú často spojené s infekciami slizníc, čo poukazuje na význam mukózneho imunity v patogenéze ochorenia. Mechanizmy, ktorými zápalové mukózne prostredie ovplyvňuje diferenciáciu B buniek a produkciu patogénneho IgA, však zostávajú nedostatočne objasnené. Cieľom tejto práce bolo vytvoriť a optimalizovať in vitro model napodobňujúci aktivované mukózne mikroprostredie pre štúdium patogenézy IgAN.

Metodika: Periférne mononukleárne bunky (PBMC) od pacientov s IgAN a zdravých kontrol boli kultivované v prítomnosti vybraných cytokínov (IL-2, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-21, CD40-L, APRIL, BAFF) a ich kombinácií. Najefektívnejší cytokínový model bol následne validovaný na súbore 10 pacientov s IgAN a 10 zdravých kontrol. Bunkové populácie boli analyzované pomocou spektrálnej prietokovej cytometrie, produkcia IgA a Gd-IgA1 bola stanovená metódou ELISA a polymérny charakter IgA a Gd-IgA1 bol hodnotený pomocou metódy Western blot.

Výsledky: Jednotlivé cytokíny a niektoré kombinácie viedli len k obmedzenej diferenciácii a produkcii imunoglobulínov, prípadne preferenčne indukovali diferenciáciu smerom k IgG⁺ bunkám. Naopak, kombinácia IL-6, IL-21, APRIL a BAFF predstavovala najefektívnejšiu stimuláciu, ktorá viedla k diferenciácii na Gd-IgA1⁺λ⁺CD138⁺ plazmatické bunky a k zvýšenej sekrécii IgA a polymérneho Gd-IgA1. Tento efekt bol výraznejší u pacientov s IgAN v porovnaní so zdravými kontrolami.

Záver: Kombinácia IL-6, IL-21, APRIL a BAFF predstavuje robustný in vitro model aktivovaného mukózného mikroprostredia, ktorý vedie k produkcii patogénneho Gd-IgA1. Tento model umožňuje detailné štúdium mechanizmov IgA nefropatie a predstavuje vhodnú platformu pre testovanie cielených terapeutických prístupov zameraných na mukóznou imunitnú odpoveď.

Jan Dehner

Ústav lékařské chemie a biochemie LF UP

CB1 a CB2 receptory a jejich ligandy: interakční síť v nervovém systému

Výzkum konopí, fytokanabinoidů a endokanabinoidního systému představuje jedinečný a několika úroňový terén, ve kterém se navzájem ovlivňuje a doplňuje čistě odborná argumentace s mnoha dalšími celospolečenskými aspekty. Mezi tyto aspekty řadíme nejen vědecké a zdravotnické souvislosti, ale také politické, kulturní, historické a exekutivní postoje, rekreační využití, potravinářskou výrobu, samoléčitelství a v neposlední řadě toxikologické/adiktologické dopady v kontextu chronických uživatelů. Endokanabinoidní systém hraje klíčovou roli v udržování homeostázy a regulaci funkcí, jako jsou vnímání bolesti, imunitní odpověď, chuť k jídlu, paměť či nálada. Vzhledem k významu u neurodegenerativních a zánětlivých onemocnění prošel výzkum v posledních dekádách dynamickým rozvojem. Složitost celého systému a pleiotropní účinky ligandů však překonávají klasické paradigma „jeden ligand – jeden receptor“. Do endokanabinoidního systému řadíme tři hlavní komponenty: kanabinoidní receptory, jejich endogenní ligandy a metabolické enzymy tyto ligandy syntetizující a degradující. Prostřednictvím navržených interakčních sítí jsou zde vysvětleny mechanismy účinků ligandů v rámci centrálního nervového systému i mimo něj. Ligandy kanabinoidních CB1 a CB2 receptorů jsou rozděleny do čtyř kategorií: endokanabinoidy, fytokanabinoidy, syntetické kanabinoidy a kanabimimetika. Diskutovány jsou také další receptory, se kterými tyto látky interagují, a jejich biologické odpovědi. Hodnoceny jsou rovněž experimentální modely in vitro a in vivo používané ke studiu funkcí ECS a jeho fyziologická i patofyziologická role v CNS. Zdůrazněna je potřeba komplexního hodnocení kanabinoidů a vymezení neurobiologických oblastí se skutečným terapeutickým potenciálem.

Miroslav Haltmar, Barbora Kolářová

Neurologická klinika LF UP a FNOL

Oddělení rehabilitace FNOL

Představa pohybu a její okamžitý vliv na provedení funkčního pohybu horní končetinou u pacientů po cévní mozkové příhodě

Úvod: Představa pohybu patří mezi doplňkové fyzioterapeutické techniky, které jsou využívány v terapii neurologicky podmíněných pohybových poruch, například u pacientů po cévní mozkové příhodě (CMP). Tato mentální technika zahrnuje představu konkrétního pohybu bez jeho skutečného provedení.

Cíl: Cílem studie bylo zhodnocení okamžitého vlivu představy pohybu na provedení funkčního pohybu horní končetinou (HK) u pacientů po CMP prostřednictvím povrchové elektromyografie (sEMG).

Metodika: Jednalo se o jednoduše zaslepenou randomizovanou studii s celkem 56 pacienty po primoatace ischemické CMP s vyjádřenou lehkou či středně těžkou hemiparézou HK náhodně rozdělených do experimentální (ES) nebo kontrolní (KS) skupiny. Všichni pacienti měli za úkol před i po intervenci vykonat stejný funkční pohyb HK. Ten se skládal z natažení se, uchopení a přenesení kelímku směrem k sobě v celkem 10 opakováních, zvláště pro paretickou a neparetickou HK. Rozdíl mezi skupinami byl v samotné intervenci. V ES si pacienti představovali konkrétní funkční pohyb a v KS si pacienti zpívali v představě píseň „hodně štěstí, zdraví“, v obou skupinách po dobu dvou minut. Prostřednictvím sEMG byla snímána při provedení funkčního pohybu svalová aktivita z přední části m. deltoideus, m. biceps brachii, m. triceps brachii a horní části m. trapezius. Získaný surový sEMG signál byl filtračně upraven a následně normalizován k maximálnímu průměrnému signálu. Získaný průměrný sEMG signál pro jednotlivé svaly byl poté statisticky vyhodnocen s $p < 0,05$.

Výsledky a závěr: Z výsledků studie je patrné, že po intervenci došlo ke snížení svalové aktivity sledovaných svalů bez ohledu na končetinu i bez ohledu na typ intervence. Získané výsledky tak nepotvrdily okamžitý efekt představy pohybu na svalovou aktivitu. Zaznamenané snížení svalové aktivity sledovaných svalů lze pravděpodobně přisuzovat bezprostřednímu efektu motorického učení.

Martina Kadláčková^{1,2}, Aleš Kvasnička³, Markéta Trajerová⁴, Eva Kriegová⁴, David Friedecký^{1,2}, Radana Brumarová^{1,2}, Jiří Gallo⁵

¹ *Laboratoř dědičných metabolických poruch LF UP*

² *Laboratoř dědičných metabolických poruch, Oddělení klinické biochemie FNOL*

³ *Department of Medical Biochemistry, Oslo University Hospital, Oslo, Norsko*

⁴ *Ústav imunologie FNOL*

⁵ *Ortopedická klinika FNOL*

Lipidomika synoviální tekutiny jako nástroj diferenciální diagnostiky infekční artritidy

Úvod: Přesná diferenciální diagnostika mezi infekční a neinfekční artritidou zůstává zásadní klinickou výzvou, neboť běžně využívané testy vykazují neúplnou přesnost. Lipidomické profilování synoviální tekutiny (SF) představuje perspektivní přístup k identifikaci biomarkerů infekce vzhledem k zásadní roli lipidů v zánětlivé signalizaci a funkci imunitních buněk.

Metody: Cílená lipidomická analýza SF pomocí LC-MS/MS byla provedena u 250 pacientů s osteoartrózou (OA), nativní kloubní infekcí (INF), aseptickou revizí (OA/TJR) a periprotetickou infekcí (PPI). Studie probíhala v exploratorní a zaslepené validační fázi. Celkem bylo detekováno 378 lipidů napříč 20 třídami, které byly hodnoceny pomocí univariantní a multivariantní statistiky a logistické regrese LASSO.

Výsledky: Skupina INF vykazovala reprodukovatelný lipidomický profil charakterizovaný deplecí lysofosfolipidů a obohacením o etherové fosfolipidy a nenasycené triacylglyceroly. Klasifikační model dosáhl v objevné kohortě správnosti určení 93,1 % pro INF a 99,0 % pro OA, přičemž ve validační fázi správnost činila 100 % a 97,6 %. LASSO model založený na devíti lipidech vykázal ve validační fázi senzitivitu až 1,00 a specifitu 0,93–0,98. LASSO skóre sice korelovalo s podílem neutrofilů, avšak si zachovalo vysokou diskriminační schopnost, což značí hlubokou metabolickou remodelaci tkáně.

Závěr: Lipidomika synoviální tekutiny umožňuje robustní rozlišení infekční a neinfekční artritidy a představuje slibný nástroj pro časnou diagnostiku kloubní infekce. Etherové fosfolipidy a lysofosfolipidy vykazují potenciál jako biologicky relevantní biomarkery infekčního zánětu.

Tato studie byla podpořena těmito granty: MZ ČR (**DRO FNOL, 00098892**) a Evropským fondem pro regionální rozvoj v rámci projektu „Interdisciplinární přístupy pro vývoj a aplikaci nových materiálů v lékařské praxi – Nové omické technologie“ (**No. CZ.02.01.01/00/23_021/0009224**).

Kateřina Koubová

Ústav histologie a embryologie LF UP

Inhibice solubilní epoxid hydrolázy jako nová naděje nebo skrytá hrozba

Úvod: Solubilní epoxid hydroláza (sEH) je enzym zapojený do metabolismu kyseliny arachidonové, která je běžnou součástí buněčných membrán a uplatňuje se při zánětlivé reakci, proliferaci buněk i regulaci kardiovaskulárního systému. Aktivita sEH tlumí protektivní účinky metabolitů kyseliny arachidonové, a proto jsou inhibitory sEH intenzivně studovány jako potenciální léčba civilizačních onemocnění jako diabetes, hypertenze, Alzheimerova nemoc aj.

Metodika: V in vitro experimentech byly použity buněčné linie HT-29 a Caco2, které byly vystaveny inhibitoru sEH (TPPU, 10 μ M) po dobu 72 hod. Buňky byly testovány ve dvou stavech – diferencovaném a nediferencovaném. Expres vybraných markerů (PI3K signální dráha, ezrin, p-p38, villin) byla měřena pomocí metody In-Cell ELISA a Western blotu. Dále bylo provedeno imunofluorescenční a imunocytochemické barvení. Výsledky byly porovnány s expresí markerů v lidských tkáních (prenatálních, dospělých normálních a nádorových), které byly barveny imunohistochemicky.

Výsledky: Inhibice sEH vedla ke změnám v expresi proteinů spojených s diferenciací střevních buněk (PTEN, ezrin, p-p38) a byla doprovázena narušením struktury mikrokloků. Expres markerů v lidských nádorových tkáních vykazovala podobné změny jako u buněk po inhibici sEH (snížená exprese).

Závěr: Ačkoliv inhibitory sEH představují slibný terapeutický přístup u civilizačních onemocnění, naše výsledky naznačují možné negativní účinky na strukturu a funkci střevních buněk. Tyto aspekty by měly být pečlivě monitorovány a zohledněny při dalším vývoji inhibitorů sEH, z nichž některé jsou již v klinických studiích.

Tato studie byla podpořena těmito granty: Interní grantová agentura Univerzity Palackého v Olomouci (**JG_2026_022**).

Ihor Kozlov

Ústav molekulární a translační medicíny LF UP

Modelování tauopatií na neuroblastomových buňkách za účelem testování léčiv

Úvod: Rostoucí výskyt demencí spojených s tauopatií vyžaduje levné a spolehlivé modely pro studium patologické agregace a šíření tau proteinu. Současné léčebné postupy se zaměřují především na cholinesterázu, NMDA receptory a beta-amyloid, často nedokážou zabránit šíření onemocnění. Náš zájem se přesunul k inhibitorům zaměřeným na motiv TAU VQIVYK. Projekt vychází z hypotézy, že specifické mutace v blízkosti motivu VQIVYK v oblasti R2R3 mají zásadní vliv na to, jak účinně mohou potenciální inhibitory zabránit prionovému šíření patologického TAU.

Metody: Tento projekt využívá multidisciplinární přístup zahrnující in vitro kinetiku a pokročilé buněčné modelování. Zpočátku bude testována sada inhibitorů zaměřených na VQIVYK s porovnáním divokého typu proti mutovanému TAU pomocí testů vazby na thioflavin T a ANS za účelem sledování nukleace a prodlužování protofibril. Nakonec budou účinky inhibitorů na šíření agregovaného TAU testovány na komplexních modelech, včetně 2D kultur diferencovaných buněk SH-SY5Y, 3D mozkových organoidů a modifikované mikroglií HMC3, s použitím konfokální mikroskopie a testů cytotoxicity. Centrifugační frakcionace a WB po elektroforéze pak posoudí změny v polymerizaci TAU.

Výsledky: Projekt by měl odhalit, jestli náš model je spolehlivý pro testování inhibitorů agregace TAU a odpovědět jestli mutace spojené s onemocněním mění konformace proteinu TAU in vitro a in vivo. Prostřednictvím postupného testování si výzkum klade za cíl zúžit výběr z původních sloučenin na tři až čtyři vysoce účinné inhibitory, které úspěšně zabrání prodlužování fibril a omezí buněčnou toxicitu v různých neuronálních modelech.

Závěr: Očekává se, že tento výzkum nakonec objasní mechanistické interakce mezi mutacemi TAU a inhibitory zaměřenými na VQIVYK. Vytvořením robustních in vitro a 3D buněčných modelů tauopatie si projekt klade za cíl identifikovat terapeutické kandidáty schopné zastavit patologické šíření neurodegenerativních onemocnění.

Jan Macháň¹, Vojtěch Sedláček², Richard Masař¹, Martin Trnečka², Lukáš Najdekr¹

¹ *Ústav molekulární a translační medicíny LF UP*

² *Katedra informatiky, PŘF UP*

PySPRESSO: A Python workflow framework for multi-batch LC–MS data analysis

In this work, we present PySPRESSO, an open-source Python framework designed for reproducible and automated processing of large-scale multi-batch LC–MS datasets. The software provides a modular workflow system integrating data filtering, batch correction, normalization, and both univariate and multivariate statistical analyses. PySPRESSO is designed as a solution following peak-picking tools such as MZmine or Compound Discoverer, enabling flexible adaptation of processing steps to specific experimental designs. A key feature of the framework is the automated generation of publication-ready visualizations and comprehensive PDF reports, documenting each step of the analysis. This facilitates transparency, reproducibility, and rapid interpretation of results. The offline nature of the tool makes it suitable for handling sensitive or large datasets that cannot be processed using web-based platforms. The workflow-oriented design, implemented entirely in Python, allows straightforward customization and extension, including integration of advanced statistical or machine learning methods. In addition, we are currently developing a graphical user interface (GUI) to make PySPRESSO easier to use for a wider range of researchers. The goal is to allow users to build and run analysis workflows in a more intuitive way, without needing to write code, while still keeping the flexibility of the underlying Python framework. PySPRESSO aims to streamline LC–MS data analysis while supporting more standardized and reproducible workflows across research groups.

Jiřina Maňáková¹, J Schovánek², Z Tudoš³, F Čtvrtlík³, I Hartmann⁵, Jakub Savara^{1,4},
Eva Kriegová¹

¹ Ústav imunologie LF UP a FNOL

² III. Interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická LF UP a FNOL

³ Radiologická klinika LF UP a FNOL

⁴ Katedra informatiky, Fakulta elektrotechniky a informatiky, VŠB – Technická univerzita Ostrava, Ostrava

⁵ Urologická klinika LF UP a FNOL

Strukturní varianty v nádorové tkáni pacientů s feochromocytomem detekované celogenomovým optickým mapováním

Úvod: Genetické testování je klíčové pro klinický management pacientů s feochromocytomem (PCC), protože může ovlivnit volbu léčby a prognózu. Současná diagnostika je založena především na analýze sekvenčních variant, zatímco význam strukturních variant (SV) v postižené nádorové tkáni není dostatečně znám.

Materiál a metody: Do studie jsme zařadili sedm pacientů s PCC (5 mužů/2 ženy, průměrný věk 55 let). K detekci SVs v postižené nádorové tkáni bylo použito celogenomové optické mapování (Saphyr, Bionano Genomics, pokrytí ~250x) a u sekvenčních variant celogenomové sekvenování (WES).

Výsledky a diskuze: Germinální varianty v genech asociovaných s PCC byly zjištěny pouze u jednoho (14%) pacienta (P6; gen NF1, c.3871-2A>G). Celogenomové optické mapování odhalilo u dalších čtyř (57%) pacientů SVs, které zahrnovaly geny asociované s PCC: i) pacient (P1) nesl translokaci t(3;10) v blízkosti genu RET, ii) pacient (P3) měl translokaci t(9;17) ovlivňující gen NF1, iii) pacient (P7) translokaci t(4;17) v genu MAML3 a iv) u pacienta (P5) byla nalezena delece (1,18 kb) v genu RB1. Čtyři pacienti (P2/P3/P5/P6) měli translokace na chromozomu 1 v oblasti 1q21.3-1q44, každý k kombinaci s různými chromozomy (3, 5, 8, 17). Medián detekovaných translokací byl 5/pacienta, delecí (7–18 /pacient; velikost 0,5 kbp–124 Mbp) a inverzí (0–2/pacient; 9,1–230 kbp) v analyzovaných tkáních. Pouze u jednoho pacienta (P4) jsme neodhalili žádnou SV asociovanou s PCCs.

Závěr: Celogenomové optické mapování odhalilo u většiny pacientů s PCC komplexní strukturní přestavby nádorového genomu, včetně změn zasahujících geny související s patogenezi PCC. Analýza SV tak může vhodně doplnit standardní genetické testování a přispět k lepšímu pochopení molekulární heterogenity, diagnostiky a klinického managementu PCC.

Tato studie byla podpořena těmito granty: Interní grantová agentura Univerzity Palackého v Olomouci (JG_2024_035), (IGA_LF_2026_013) a MH CZ – DRO (FNOL,00098892).

Tereza Marková

Neurologická klinika LF UP a FNOL

Posouzení možnosti zvýšení intenzity rehabilitace chůze v podmínkách subakutní rehabilitační péče po cévních mozkových příhodách

Úvod: Schopnost samostatné chůze je základním předpokladem pro nezávislost v běžných denních činnostech u pacientů po cévní mozkové příhodě (CMP). Tito jedinci mají zvýšené riziko pádů, strach ze samostatné chůze, což postupně zvyšuje jejich závislost na pomoci okolí. Včasná reedukace chůze po CMP je klíčová, protože pomáhá předcházet vzniku kompenzačních mechanismů a patologických vzorců chůze. Dostupné studie ukazují, že terapie na chodicím páse musí mít dostatečnou intenzitu, aby významně ovlivnila rychlost, kvalitu i vytrvalost chůze. V běžné klinické praxi však bývá skutečná intenzita terapie nedostatečná.

Cíl: Hlavním cílem je zhodnotit proveditelnost studie s navýšeným počtem terapií na dynamickém chodicím páse s ohledem na stav pacientů, kapacitu personálu i pracoviště.

Metodika: Do studie byli zařazeni pacienti po primoatace CMP, kteří na začátku nebyli plně samostatní v chůzi, tedy Functional Ambulatory Category (FAC) ≤ 3 . Vyšetření, která byla realizována na začátku a na konci hospitalizace na Oddělení rehabilitace FNOL, zahrnovala FAC k posouzení samostatnosti chůze, Balanční škálu dle Bergové k hodnocení posturální stability, analýzu časoprostorových parametrů chůze na dynamickém chodicím páse Zebris, Timed Up and Go Test, 10metrový test chůze v komfortní a maximální rychlosti, Fugl-Meyer hodnocení senzomotoriky dolní končetiny. Mezi prvním a druhým vyšetřením pacienti podstoupili standardní rehabilitaci, navíc dvakrát denně absolvovali fyzioterapii na chodicím páse Zebris.

Očekávané výsledky: Proveditelnost studie není snadná především u pacientů s FAC ≤ 2 , kteří se potýkají s vyšší únavou. Pacienti s FAC 3 byli schopni absolvovat intenzivnější terapii bez větších problémů. Studie představuje také organizační výzvu pro celý tým Oddělení rehabilitace. Dále očekáváme na základě dostupné evidence zlepšení pacientů ve sledovaných parametrech, především v samostatnosti a rychlosti chůze, včetně časoprostorových parametrů chůze.

Richard Masař^{1,2}, Martina Kadláčková^{1,2}, Eliška Ivanovová^{1,2}, Petr Jahn³, Eva Šamonilová³, David Friedecký^{1,2}, Radana Brumarová^{1,2}

¹ *Laboratoř dědičných metabolických poruch LF UP*

² *Laboratoř dědičných metabolických poruch, Oddělení klinické biochemie FNOL*

³ *Klinika chorob koní, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární univerzita Brno*

Vývoj a validace FIA-MS/MS metody ze suché krevní skvrny pro diagnostiku atypické myopatie: simultánní stanovení hypoglycinu A, MCPA-karnitinu a panelu acylkarnitinů

Úvod: Atypická myopatie je akutní, často fatální onemocnění koní spojené s intoxikací hypoglycinem A (HGA), při níž vzniká jeho metabolit, diagnostický biomarker methylenocyklopropylacetyl-karnitin (MCPA-karnitin). Současná laboratorní diagnostika je analyticky náročná a obvykle vyžaduje separační krok nebo derivatizaci. Cílem práce bylo vyvinout a validovat metodu založenou na rychlé průtokové injekční analýze ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (FIA-MS/MS) pro diagnostiku atypické myopatie ze suché krevní skvrny (DBS).

Metodika: Byla zavedena FIA-MS/MS metoda bez derivatizace pro simultánní analýzu HGA, MCPA-karnitinu a panelu karnitinů s krátkým a středně dlouhým řetězcem z DBS. Příprava vzorku byla založena na jednoduché extrakci a přímé injekci, přičemž celková doba analýzy činila 1 minutu na vzorek. Validace zahrnovala hodnocení linearity, limitů kvantifikace, přesnosti, správnosti, stability a matricových efektů. Diagnostická použitelnost byla ověřena na souboru 20 případů atypické myopatie a 15 kontrolních vzorků, přičemž identifikace analytů byla potvrzena na základě iontových poměrů.

Výsledky: Metoda splnila kritéria pro identifikaci analytů na základě iontových poměrů. Bylo dosaženo linearity s $R^2 > 0,994$ a mezemi kvantifikace (LOQ) v rozmezí 0,01–0,1 $\mu\text{mol/l}$. Analyty v DBS byly stabilní 7 dní při laboratorní teplotě a 30 dní při $-20\text{ }^\circ\text{C}$. HGA a MCPA-karnitin byly u koní s atypickou myopatií detekovány výhradně u postižené skupiny, která současně vykazovala zvýšené koncentrace sledovaných acylkarnitinů.

Závěr: Navržená FIA-MS/MS metoda představuje rychlý a prakticky využitelný nástroj pro diagnostiku atypické myopatie z DBS. Výhodou je minimální nárok na přípravu vzorku, absence derivatizace a možnost snadného transportu a skladování DBS.

Tato studie byla podpořena těmito granty: Ministerstvem zemědělství ČR (**NAZV, Grant QL24010403**), ITI OP JAK (**CZ.02.01.01/00/23_021/0009224**) a Ministerstvem zdravotnictví ČR – DRO (**FNOL, 00098892**).

Lukáš Mlynár

Ústav imunologie LF UP

Príprava a testovanie rekombinantných vírusu podobných častíc (virus-like particles) ako nosičovej platformy pre konštrukciu experimentálnych vakcín

Virus-like particles (VLPs) predstavujú platformu pre vývoj vakcín založenú na ich schopnosti fungovať ako efektívne nosiče antigénov a zabezpečiť ich priestorovo organizovanú expozíciu na povrchu častíc. Takto usporiadané antigény umožňujú husté a repetitívne vystavenie epitopov, čo vedie k efektívnemu zosieťovaniu B-bunkových receptorov a následnej indukcií silnej imunitnej odpovede. V tejto práci bude ako nosičová platforma skúmaný HBcAg, kapsidový proteín vírusu hepatitídy B, ktorý sa spontánne samoorganizuje do usporiadaných častíc. Jeho štruktúra umožňuje pripojenie cudzorodých sekvencií, ktoré môžu byť následne exponované na povrchu VLPs, čím HBcAg efektívne funguje ako nosič pre povrchovú vystavenie antigénnych epitopov. V prvej fáze výskumu je tento systém využitý v spojení s mimotopom napodobňujúcim antigénne determinanty hepatitídy C, ktorá predstavuje prvú cieľovú aplikáciu tejto platformy. Hlavným cieľom je príprava a charakterizácia rekombinantných HBcAg VLPs so zameraním na ich schopnosť efektívne exponovať pripojené antigény na svojom povrchu. Výskum zahŕňa optimalizáciu expresie, purifikácie a podmienok samoorganizácie, ako aj analýzu fyzikálno-chemických vlastností pripravených častíc, vrátane veľkosti, homogenity a stability. Rekombinantné HBcAg konštrukty boli úspešne pripravené, exprimované a purifikované, čím bol vytvorený základ pre ďalšie štúdium ich štruktúrnych a funkčných vlastností. Po potvrdení tvorby stabilných VLPs a efektívnej povrchovej expozície antigénov budú realizované imunizačné experimenty na myšacom modeli s cieľom zhodnotiť schopnosť tejto platformy indukovať špecifickú imunitnú odpoveď. V prípade potvrdenia jej účinnosti má tento systém potenciál byť využitý ako vhodná nosičová platforma aj pre antigény iných patogénov.

Tato studie byla podpořena těmito granty: Interní grantová agentura Univerzity Palackého v Olomouci (IGA_LF_2026_013) a TAČR RETEMED (reg. č. TN02000122).

Romana Nesnadná¹, Anna Petráčková¹, V Látal², Jiřina Maňáková¹, J Minařík², T Papajík², Eva Kriegová¹

¹ Ústav imunologie LF UP a FNOL

² Ústav hematookologie LF UP a FNOL

Multi-hit TP53 jako marker nepříznivé prognózy u pacientů s mnohočetným myelomem

Úvod: Mnohočetný myelom (MM) je klinicky heterogenní nádorové onemocnění. Pacienti s vysoce rizikovými (HR) genetickými abnormalitami vykazují i přes moderní léčebné možnosti horší prognózu. Cílem této studie bylo zhodnotit prognostický význam multi-hit postižení genu TP53, definovaného jako kombinace del(17p) a mutace TP53, případně jako přítomnost alespoň dvou mutací TP53, ve srovnání s dalšími HR abnormalitami.

Metody: Do analýzy bylo zařazeno 204 pacientů léčených moderními terapeutickými režimy. Mutace TP53 byly detekovány pomocí sekvenování nové generace z CD138-positivních plazmatických buňkách izolovaných z aspirátu kostní dřeně; cytogenetické abnormality byly hodnoceny pomocí fluorescenční in situ hybridizace. Přežití bez progresu (PFS) a celkové přežití (OS) bylo hodnoceno pomocí log-rank testu.

Výsledky: Pacienti byli rozděleni do tří skupin dle přítomnosti genetických abnormalit: i) multi-hit TP53 (24/204, 11.9 %). ii) HR bez multi-hit TP53 (108/204, 52.9 %) a iii) pacienti se standardním rizikem (SR) (72/204, 35.2 %). Pacienti s multi-hit TP53 měli nejkratší PFS a OS ve srovnání s HR ($p \leq 0.002$) i SR skupinou ($p < 0.001$). Pacienti s multi-hit TP53 měli současně kratší PFS a OS oproti pacientům s jednou HR abnormalitou ($p \leq 0.011$) a pacientům s alespoň dvěma jinými HR abnormalitami ($p \leq 0.002$). Výskyt multi-hit TP53 narůstal se zvyšujícím se počtem linií léčby: z 7.6 % u pacientů s ≤ 1 předchozí linií léčby na 36.4 % u pacientů s ≥ 2 předchozími liniemi léčby.

Závěr: Multi-hit TP53 identifikuje podskupinu pacientů s MM s nejhorší prognózou i v éře moderní léčby a poukazuje na nutnost zahrnutí vyšetření mutací TP53 do běžné diagnostické praxe.

Tato studie byla podpořena těmito granty: Interní grantová agentura Univerzity Palackého v Olomouci (JG_2024_035), (IGA_LF_2026_013) a MH CZ – DRO (FNOL.00098892).

Jakub Savara^{1,2}, Tomas Novosad², Petr Gajdos², Anna Petrackova¹, Jirina Manakova¹, Filip Ctvrtlik³, Jiri Minarik⁴, Tomas Papajik⁴, Eva Kriegova¹

¹ *Ústav imunologie LF UP*

² *Department of Computer Science, Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, VSB-Technical University of Ostrava*

³ *Radiologická klinika LF UP a FNOL*

⁴ *Hemato-onkologická klinika LF UP a FNOL*

Sekvenování dlouhých čtení a T2T reference zlepšují detekci strukturních variant v klinické diagnostice

Úvod: Strukturní varianty (SV) se mohou významně podílet na patogenezi dědičných i nádorových onemocnění, jejich detekce a klinická interpretace však zatím nejsou běžnou součástí rutinní genetické diagnostiky. Tato studie se zaměřila na porovnání klinické využitelnosti sekvenování krátkých čtení (SRS) a dlouhých čtení (LRS) pro detekci SVs a na zhodnocení přínosu nové referenční sekvence T2T-CHM13.

Metodika: Porovnali jsme veřejně dostupná i vlastní celogenomová data získaná pomocí SRS (Illumina), LRS na platformách Pacific Biosciences (PacBio) a Oxford Nanopore Technologies (ONT) a syntetických dlouhých čtení. SV byly analyzovány vůči referenčním genomům hg38/GRCh38 a T2T-CHM13. Pro systematické porovnání a anotaci SV jsme vyvinuli nástroj LongReadChecker (LoReC), který hodnotí vzdálenost genomových koordinát, míru průniku, poměr velikostí, genový překryv a nejbližší odpovídající SV v klinických databázích.

Výsledky: Pomocí SRS bylo detekováno přibližně 12 000 SVs na genom, přičemž většina těchto variant byla potvrzena také pomocí LRS. Platformy PacBio a ONT však identifikovaly přibližně dvojnásobný počet SVs (~25 000 na genom), a umožnily přesnější mapování problematických oblastí genomu. Přibližně 80 % SV detekovaných pomocí SRS a LRS bylo menších než 0,5 kbp. Použití referenčního genomu T2T-CHM13 vedlo u LRS dat ve srovnání s hg38/GRCh38 k detekci přibližně o 20 % více delecí a o 20 % méně inzercí. Nástroj LoReC umožnil porovnání SV napříč technologiemi, referenčními genomy a klinickými databázemi; anotace však zůstává limitována neúplností současných databázových zdrojů, zejména u inzercí.

Závěr: LRS v kombinaci s referenčním genomem T2T-CHM13 významně rozšiřuje možnosti detekce a interpretace SVs oproti standardnímu SRS. Nástroj LoReC poskytuje praktický nástroj pro systematické porovnání a klinickou anotaci SVs a může přispět k zavedení komplexnější analýzy SV do diagnostiky geneticky podmíněných a nádorových onemocnění.

Tato studie byla podpořena těmito granty: **JG_2025_035, CZ.02.01.01/00/23_021/0009224, NW24-10-00395, MH CZ–DRO (FNOL, 00098892).**

Anna Sekyrová, Pavel Stejskal, Josef Srovnal

Laboratoř experimentální medicíny, Ústav molekulární a translační medicíny LF UP a FNOL

Kvantifikace RNA izolované z plasmatických extracelulárních vesikul

Úvod: Extracelulární vesikuly (EV) představují významné nosiče biologických informací a v nich obsažená RNA (EV-RNA) je považována za perspektivní zdroj biomarkerů různých patologických stavů. Kvantifikace EV-RNA je však metodicky komplikovaná, protože RNA izolovaná z plasmy se vyskytuje ve velmi nízkých koncentracích a běžně používané fluorometrické a elektroforetické metody často neposkytují spolehlivé výsledky. Dalším problémem je volba vhodné referenční strategie pro RT-qPCR, jelikož klasické housekeeping geny nejsou pro EV-RNA dostatečně stabilní ani zastoupené. Cílem této práce bylo zavést protokol pro kvantifikaci EV-RNA pomocí real-time kvantitativní PCR (RT-qPCR) za použití vhodných referenčních genů.

Metodika: EV byly izolovány z plasmy zdravých dárců pomocí komerčního kitu Norgen ExtraClean Plasma/Serum Exosome Purification and RNA Isolation Kit. Izolovaná EV-RNA byla převedena na cDNA reverzní transkripcí kitem SuperScript IV First-Strand Synthesis System. Pro kvantifikaci byla využita metoda RT-qPCR pomocí PrimePCR SYBR Green Assay. Jako referenční geny byly testovány EV-asociované SNRPG, TOMM7, NOP10 a OST4. Pro sestavení standardních křivek byly použity DNA templáty těchto genů. RT-qPCR a vyhodnocení dat probíhaly na platformě CFX96 Real-Time PCR Detection System.

Výsledky: RT-qPCR umožnila spolehlivou detekci a kvantifikaci EV-RNA i v případě velmi nízkých vstupních koncentrací. U všech testovaných referenčních genů byly standardní křivky dostatečně lineární a amplifikační účinnost se pohybovala v optimálním rozmezí, což potvrzuje vhodnost zvoleného experimentálního designu pro absolutní kvantifikaci. Testované vzorky EV-RNA izolované z plasmy i referenční cDNA se nacházely uvnitř koncentračního rozsahu standardních křivek všech čtyřech testovaných genů, bylo tedy možné vypočítat počet kopií jednotlivých transkriptů na mikrolitr vzorku.

Závěr: RT-qPCR s využitím absolutní standardní křivky představuje citlivý a spolehlivý přístup ke kvantifikaci EV-RNA z plasmy i při velmi nízkém výtěžku RNA. Použití EV-specifických referenčních genů zároveň umožňuje přesnější normalizaci a přispívá k lepší reprodukovatelnosti analýz EV-RNA biomarkerů.

Tato studie byla podpořena těmito granty: Evropská unie – Next Generation EU (LX22NPO5102), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (SALVAGE – CZ.02.01.01/00/22_008/0004644), a Univerzitou Palackého v Olomouci (IGA LF UP 2026_005).

Lenka Slavičková, Kateřina Smešný Trtková

Ústav klinické a molekulární patologie LF UP

Zebularin ovlivňuje expresi genů DNA-methyltransferáz prostřednictvím reorganizace chromatinu

Úvod: Metylace DNA je klíčový epigenetický mechanismus regulace genové exprese, řízený DNA metyltransferázami (DNMT). DNMT se podílejí na udržování metylačních vzorců v genomu a tím ovlivňují stabilitu epigenetické informace v buňce. Jejich dysregulace a abnormální vzorce metylace DNA jsou často pozorovány u nádorových onemocnění a přispívají k jejich progresi prostřednictvím změn v expresi genů. Zebularin je nukleosidový analog cytidinu, který inhibuje DNMT tvorbou kovalentního komplexu s DNA a tím narušuje proces metylace DNA. Tato inhibice může vést k reaktivaci umlčených genů.

Cíl: Zhodnotit vliv zebularinu na expresi DNMT genů a histonové modifikace v místech genů DNA-methyltransferáz u buněčných linií mnohočetného myelomu.

Materiál a metody: Tři linie mnohočetného myelomu (KMS-12-BM, KMS-12-PE, U266) byly ošetřeny 10–250 μM zebularinem. Expresie genů DNA-methyltransferáz byla stanovena RT-PCR. Chromatinové změny byly analyzovány ChIP-qPCR s protilátkami proti histonovým markerům aktivní transkripce H3K36me₃, H3K4me₃ a markerům represe transkripce H3K36me₂, H3K9me₃ v oblastech genů DNMT1, DNMT3A a DNMT3B.

Výsledky: 250 μM zebularin snížil primárně expresi genů DNMT1 a DNMT3B v KMS-12-PE a KMS-12-BM ($p < 0,05$). ChIP-qPCR ukázala zvýšení zastoupení histonových markerů represe transkripce H3K9me₃ a H3K36me₂ a zároveň pokles histonových markerů aktivní transkripce H3K36me₃ a H3K4me₃ u genů DNMT1 a DNMT3B, výrazněji u linie KMS-12-PE. U KMS-12-BM byly pozorovány obdobné změny směrem k represivnímu chromatinu.

Závěr: Zebularin významně snížil expresi DNMT1 a DNMT3B v buněčných liniích KMS-12-PE a KMS-12-BM a indukoval přestavbu chromatinu v oblastech těchto genů směrem k represivnímu stavu, což vedlo k útlumu transkripce.

Martin Sněhota

Ústav lékařské biofyziky LF UP

Centrum telemedicíny, simulátorů a praktických dovedností LF UP

Využití 3D tisku ve výuce, výzkumu a klinické praxi

Úvod: V posledních letech dochází v různých oblastech lidské činnosti k rapidnímu rozmachu využití 3D tisku. Cílem této práce je představit využití 3D tisku ve výuce, výzkumu a klinické praxi na LF UP.

Metodika: 3D modely byly získávány 3D modelováním de novo, 3D skenováním nebo extrakcí 3D modelů z medicínských zobrazovacích metod jako počítačová tomografie či magnetická rezonance. Uvedené metody byly rovněž volně kombinovány. 3D tisk probíhal na standardní stolní 3D tiskárně využívající termoplastický filament. 3D modelování a 3D tisk byly rovněž využity k tvorbě řady forem pro vytváření silikonových odlitků.

Výsledky: Bylo vytvořeno několik jednoduchých anatomických modelů - hrtanové chrupavky, mozkové komory, středoušní kůstky. Dále byla pro účely výuky vytvořena řada modelů s funkční / tréninkovou složkou – nácvik chirurgického šití, trénink subkutánní injekce, zavedení intraoseálního vstupu, pořízení rentgenových snímků hrudníku pomocí zubního rentgenu a detektoru velikosti 2x3 cm, modely fetálních hlaviček pro určení gestačního stáří pomocí ultrazvuku či modely pro nácvik hysteroskopie. Pro lékaře v oblasti radiologie byl vytvořen model pro punkci žlučníku. Pro postgraduální vzdělávání lékařů v oblasti ORL byl vytvořen model pro trénink provedení paracentézy, zavedení tympanostomické trubičky a stapedoplastiky. Na modelu středouší byl rovněž zkoumán rozsah zorného pole různých typů optických endoskopů používaných při středoušních operacích. Rovněž byly rekonstruovány zlomeniny pánve a lopatky pro účely předoperačního plánování v traumatologii.

Závěr: 3D tisk nachází v oblasti medicíny a vzdělávání široké uplatnění. Velkou výhodou je možnost tvořit řadu individualizovaných modelů s ohledem na konkrétní potřeby konečných uživatelů. Vyvíjené modely jsou podstatně levnější a mnohdy věrohodnější než komerčně dostupné produkty. V případě absence komerčního modelu je možné vyvinout vlastní model se všemi potřebnými komponentami. Dalším benefitem 3D tisku je snadná reprodukovatelnost modelů.

Tato studie byla podpořena těmito granty: Interní grantová agentura Univerzity Palackého v Olomouci **IGA_LF_2026_004**.

Markéta Trajerová¹, Jiří Gallo², Eva Kriegová¹

¹ Ústav imunologie LF UP a FNOL

² Ortopedická klinika LF UP a FNOL

Imunitní buňky v kloubním výpotku pacientů s osteoartrózou

Úvod: Osteoartróza (OA) je degenerativní onemocnění kloubů charakterizované postupným rozpadem chrupavky, zánětem synoviální membrány a u části pacientů i patologickou tvorbou nadměrného množství kloubního výpotku. V současnosti je OA vnímána jako komplexní onemocnění celého kloubu a výpotek, díky kontaktu s jednotlivými kloubními strukturami, poskytuje cenné informace o lokálním mikroprostředí. Důležitou součástí výpotku jsou imunitní buňky, jejichž zastoupení a aktivační stav může přispět k objasnění patofyziologie OA.

Metodika: Zastoupení imunitních buněk ve výpotku a jejich aktivace byly analyzovány u 730 pacientů s OA pomocí průtokové cytometrie na přístroji BD FACSAria fusion. Data byla vyhodnocena pomocí softwaru FlowJo (BD) a sekvenční gatingové strategie. Solubilní mediátory ve výpotku byly kvantifikovány pomocí ELISA metod.

Výsledky: Analýza výpotků ukázala, že kloubní mikroprostředí lze popsat pomocí buněčných imunitních vzorců, které odrážejí klinický průběh onemocnění. U OA byly identifikovány odlišné imunitní fenotypy asociované s rozdílnou klinickou trajektorií; příznivější průběh byl spojen mimo jiné s vyšší hladinou CXCL10 a nižší expresí CXCR4/CCR7 na makrofázích. Monocyto-makrofágová linie je ve výpotcích vysoce heterogenní; převaha inaktivních myeloidních dendritických buněk typu cDC2 byla spojena s nižším poškozením kloubu a mírnější bolestí, zatímco jejich nízké zastoupení bylo asociováno s bakteriálním zánětem. Dílčí analýza prokázala významnou roli neutrofilů ve výpotcích; jejich vyšší zastoupení bylo spojeno s progresí onemocnění, častější tvorbou nadměrného množství kloubního výpotku a bolestí postiženého kloubu.

Závěr: Buněčný imunofenotyp kloubního výpotku může být využit jako nástroj pro stratifikaci pacientů s OA, odhad klinického průběhu a potenciálně i pro přesnější diagnostiku infekcí tam, kde klasické biomarkery selhávají.

Tato studie byla podpořena těmito granty: **NW24-10-00395, NW26-10-00408, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2026_013**

Viktor Valentini, Juan De Sanctis, Jenny Garmendia, Helena Besta-Smrčková, Hana Duchová, Marián Hajdúch

Ústav molekulární a translační medicíny LF UP

Decoding CuEt-Mediated Immune Activation: LCK Signaling and Immunogenic Changes in Cancer Cells

The involvement of LCK (leukocyte-specific tyrosine kinase) in T-cell receptor signaling is well established, particularly through the phosphorylation of tyrosine residues that regulate its activity. CuEt, a compound with emerging anti-cancer properties, has been shown to activate T-cells and macrophages at nanomolar concentrations. However, the specific intracellular pathways underlying this effect remain to be clarified. Another key issue this kind of activation is that immune cells activated in this manner stop responding to further stimulation if they are treated again at a later time, displaying a state similar to exhaustion. In this study, we investigated the impact of CuEt at nM concentrations on CD8⁺ T cells as well as macrophages and the possible immunogenic changes it induces on HCT116 cancer cell line, including both parental and p53-knockout (KO) variants. We are also investigating the specific way of interaction of CuEt with immune cells specifically as we tested CuEt being bound to nanobeads inhibiting its ability to penetrate inside of cells compared to classic in-solution CuEt. Our analysis focused on the phosphorylation status of LCK at tyrosine 394 (activating) and tyrosine 505 (inhibitory) residues. We further examined downstream signaling components such as Zap70, LAT, NFκB and ERK1/2. In addition, we evaluated the expression levels of NKG2D ligands—including ULBP1, ULBP2/5/6, MICA, and MICB—in HCT116 cells to explore potential immunogenic changes induced by CuEt treatment.

This work was supported by the project: National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID Project No. **LX22NPO5102**) - Funded by the European Union – Next Generation EU Saving lives through research in early cancer detection and prevention: Molecular, genomic and societal factors (Programme: Operational program Johannes Amos Comenius. Project acronym: SALVAGE, Project No. **CZ.02.01.01/00/22_008/0004644**) – Funded by Ministry of Education, Youth and Sports

Alexander Varečka

Ústav molekulární a translační medicíny LF UP

Translační hodnocení peptidových inhibitorů proti patologickému seedingu α -synukleinu

Úvod: Parkinsonova choroba (PD) a příbuzné synukleinopatie jsou charakterizovány patologickou akumulací misfoldovaného α -synukleinu (α Syn), který podléhá samotemplované agregaci do fibril bohatých na β -skládaný list a šíří se prostřednictvím prionům podobného seedingu. Testy amplifikace seedingu, zejména real-time quaking-induced conversion (RT-QuIC), těchto vlastností využívají a umožňují citlivou detekci nízko zastoupených α Syn seedů v mozkomíšním moku a čichové sliznici. Vzorky získané z krve jsou dostupnější a minimálně invazivní, avšak patologické α Syn seedy se v nich očekávají ve výrazně nižších koncentracích a jejich detekce je navíc komplikována přítomností dalších proteinů. Imunoprecipitací založený RT-QuIC (IP/RT-QuIC) tuto limitaci překonává tím, že před amplifikací obohacuje α Syn. Tyto platformy poskytují funkční odezvu seedingové aktivity a jsou vhodné pro hodnocení peptidových inhibitorů synukleinu (SYNPEPi), cílených na hydrofobní zbytky v oblasti non-amyloid- β component (NAC), která je klíčová pro nukleaci. Interferencí s interakcemi zprostředkovanými NAC se očekává, že SYNPEPi naruší vznik seedů, a tím inhibují agregaci a propagaci α Syn.

Hypotéza: SYNPEPi, cílením na hydrofobní zbytky v doméně NAC, naruší nukleaci a seeding α Syn a sníží seedingovou kompetenci patologických forem α Syn v plazmě získané od pacientů.

Metody: α Syn seedy budou izolovány z plazmy pacientů s PD a kontrolních osob pomocí imunoprecipitace. Izolované seedy budou analyzovány metodou RT-QuIC za účelem porovnání seedingové aktivity mezi patientskými a kontrolními vzorky. Současně budou vzorky ošetřeny SYNPEPi za účelem posouzení jejich účinku na seedy indukovanou agregaci. Agregace bude hodnocena podle délky lag fáze, intenzity fluorescence a procenta inhibice. Výsledné agregáty budou následně analyzovány pomocí Western blot, transmisní elektronové mikroskopie a mikroskopie atomárních sil.

Očekávané výsledky: Předpokládá se, že IP/RT-QuIC prokáže ve vzorcích ošetřených SYNPEPi ve srovnání s neošetřenými kontrolami sníženou seedingovou aktivitu, což se projeví prodlouženou lag fází, nižším fluorescenčním signálem a nižší amplifikační účinností α Syn seedů.

Tato studie byla podpořena těmito granty: **NW26-07-00429, GAČR, 23-06301J, LX22NPO5107, LM2023052**; EATRIS-CZ (**LM2023053**); BBMRI (**LM2023033**); Czech-Biolmaging (**LM2023050, LM2018129**) a TAČR (projekt č. **TN02000109**).

Karolína Wojewodová, Romana Nesnadná, Anna Petráčková, Eva Kriegová

Ústav Imunologie LF UP a FNOL

Malé vezikuly, velké rozdíly: izolace exosomů pro molekulární analýzu

Úvod: Exosomy představují nejmenší subtyp extracelulárních vezikul o velikosti přibližně 50–100 nm, které se podílejí na mezibuněčné komunikaci prostřednictvím přenosu biologicky aktivních molekul, včetně proteinů, lipidů a nukleových kyselin. V posledních letech se exosomy dostávají do popředí biomedicínského výzkumu díky svému potenciálu v diagnostice, monitorování patologických procesů i cílené terapii. Význam exosomálního cargo je intenzivně studován také u hematologických malignit, včetně chronické lymfocytární leukemie (CLL). Klíčovým předpokladem pro následnou molekulární analýzu exosomů je však jejich kvalitní a reprodukovatelná izolace.

Metodika: Prezentovaný výzkum se zaměřuje na optimalizaci izolace exosomů z biologických vzorků pacientů s CLL a následnou analýzu nukleových kyselin asociovaných s exosomy. V rámci projektu jsou porovnávány různé přístupy izolace exosomů, včetně komerčně dostupných kitů, ultracentrifugace a metod založených na využití specifických peptidů interagujících s membránou extracelulárních vezikul.

Výsledky: Výzkum byl zaměřen na metodologické aspekty, reprodukovatelnost a optimalizaci podmínek experimentálních postupů pro izolaci a další studium exosomální DNA ze séra a plazmy. Srovnávali jsme jednotlivé přístupy z hlediska výtěžnosti, čistoty izolované populace a vhodnosti pro downstream molekulárně-biologické analýzy. Dále se porovnávaly genetické analýzy u genomické DNA s DNA asociovanou s exosomy s cílem zjistit, do jaké míry exosomální DNA odráží genetickou informaci mateřských buněk a v jakých aspektech se může lišit. Součástí studie byla také analýza a srovnání metylačních profilů genomické a exosomální DNA.

Závěr: Očekáváme, že získané poznatky přispějí k lepšímu porozumění biologickému významu exosomálního cargo a posouzení potenciálu exosomálních nukleových kyselin jako zdroje biomarkerů u pacientů s CLL a dalších hematologických malignit.

Tato studie byla podpořena těmito granty: **NW24-10-00395, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2026_013**

Bedirhan Savas Yigit¹, Marwan Al-Akkad^{1,2}, Iva Voborná¹, Zdeněk Chlup³, Jindra Reisingerová⁴, Radek Mounajjed^{1,2}

¹ Institute of Dentistry and Oral Sciences, Palacky University Olomouc

² Private Clinician, DCM clinic, Hradec Králové

³ Academy of Science of the Czech Republic, Institute of Physics of Materials, Brno

⁴ Department of Statistical Modelling, Institute of Computer Science of the Czech Academy of Sciences, Prague

Effect of Usage of 10-MDP Functional Monomer with Two Different Resin Modified Glass Ionomer to Zirconia Ceramics

Zirconia ceramics have become a widely used material in contemporary restorative dentistry due to their excellent mechanical properties, high fracture toughness, and favorable esthetics. However, achieving a reliable and durable bond to zirconia remains a clinical challenge.

The aim of this study is to evaluate the effect of 10-MDP functional monomer on the bond strength between zirconia ceramics and different resin-modified glass ionomer cements. Three types of cement were used: two resin-modified glass ionomer cements (ZirCad cement and Ketac cem Plus cement) and one self-adhesive resin cement (Maxcem Elite Chroma) as a control group. Zirconia samples were prepared and cemented according to the manufacturer's instructions. After cementation, all samples were stored in distilled water for 24 hours.

The tensile tests were performed on a universal electromechanical testing system equipped with a Dynacell 5 kN load cell. The results showed that the use of 10 MDP functional monomer increased the bond strength in ZirCad cement and Max Cem Elite Chroma groups. On the other hand, in Ketac Cem Plus groups use of 10 MDP decreased the bond strength.

In conclusion, the application of 10-MDP functional monomer improves bond strength between zirconia ceramics and cements, indicating its significant role in achieving durable bonding to zirconia restorations.

Harmonogram

1. část konference – workshop

13:30 – 14:30 Workshop Jak na publikace?
Vedený prof. RNDr. Janem Hlaváčem, PhD.

2. část konference – prezentace ve formátu 333

14:40 – 14:45 **Úvodní slovo**

14:45 – 15:25 **Blok 1**

Antonín Bednář
Karolína Wojewodová
Multiomická analýza sklivce pacientů s amocií sítnice
Malé vezikuly, velké rozdíly: izolace exosomů pro molekulární analýzu

Martina Kadláčková
Lipidomika synoviální tekutiny jako nástroj diferenciální diagnostiky infekční artritidy

Alexander Varečka
Translational evaluation of peptide inhibitors against pathological α -Synuclein seeding

Jan Macháň
PySPRESSO: A Python workflow framework for multi-batch LC-MS data analysis

Markéta Trajerová
Imunitní buňky v kloubním výpotku pacientů s osteoartrózou

15:25 – 15:35 **Přestávka**

15:35 – 16:15 **Blok 2**

Ihor Kozlov
Modelování tauopatií na neuroblastomových buňkách za účelem testování léčiv

Richard Masař
Vývoj a validace FIA-MS/MS metody ze suché krevní skvrny pro diagnostiku atypické myopatie: simultánní stanovení hypoglycinu A, MCPA-karnitinu a panelu acylkarnitinů

Anna Bartáková
Proteomická charakterizace proteinové korony plazmatických proteinů na povrchu melaminových mikroplastů

Lenka Slavíčková
Zebularin ovlivňuje expresi genů DNA-methyltransferáz prostřednictvím reorganizace chromatinu

Jiřina Maňáková
Strukturní varianty v nádorové tkáni pacientů s feochromocytomem detekované celogenomovým optickým mapováním

Tereza Marková
Posouzení možnosti zvýšení intenzity rehabilitace chůze v podmínkách subakutní rehabilitační péče po cévních mozkových příhodách

16:15 – 16:25 **Přestávka**

1. Konference Mladé Vědy



16:25 – 17:05

Blok 3

Anna Sekyrová	Kvantifikace RNA izolované z plasmatických extracelulárních vesikul
Martin Sněhota Jakub Savara	Využití 3D tisku ve výuce, výzkumu a klinické praxi Sekvenování dlouhých čtení a T2T reference zlepšují detekci strukturních variant v klinické diagnostice
Bedirhan Savas Yigit	Effect of Usage of 10-MDP Functional Monomer with Two Different Resin Modified Glass Ionomer to Zirconia Ceramics
Adéla Burianová	Placenta v diabetickém prostředí: co dělá hyperglykémie s diferenciací trofoblastu?
Kateřina Koubová	Inhibice solubilní epoxid hydrolázy jako nová naděje nebo skrytá hrozba

17:05 – 17:15

Přestávka

17:15 – 17:55

Blok 4

Romana Nesnadná	Multi-hit <i>TP53</i> jako marker nepříznivé prognózy u pacientů s mnohočetným myelomem
Viktor Valentini	Investigating the pathways connected to LCK in immune cell activation against cancer
Jan Dehner	CB1 a CB2 receptory a jejich ligandy: interakční síť v nervovém systému
Miroslav Haltmar	Představa pohybu a její okamžitý vliv na provedení funkčního pohybu horní končetinou u pacientů po cévní mozkové příhodě
Alica Čutková	Vývoj <i>in vitro</i> modelu aktivovaného mukózného mikroprostředí pro štúdium IgA nefropatie
Lukáš Mlynár	Príprava a testovanie rekombinantných vírusu podobných častíc (virus-like particles) ako nosičovej platformy pre konštrukciu experimentálnych vakcín

17:55 – 18:00

Vyhlášení soutěže

3. část konference– networking

18:00 – ??