



Fyziologický ústav  
Akademie věd  
České republiky

## **Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i.**

**IČ:** 67985823

**Sídlo:** Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

### **Výroční zpráva o činnosti a hospodaření za rok 2007**

**Dozorčí radou pracoviště projednána dne: 6. 6. 2008**

**Radou pracoviště schválena dne: 11. 6. 2008**

**V Praze dne 26. 6. 2008**

# I. Informace o složení orgánů veřejné výzkumné instituce a o jejich činnosti či o jejich změnách

## a) Výchozí složení orgánů pracoviště

**Pověřen vedením od 1. 1. 2007:** RNDr. Jaroslav Kuneš, DrSc.

**Ředitel pracoviště:** RNDr. Jaroslav Kuneš, DrSc.

**Jmenován s účinností od:** 1. května 2007

**Rada pracoviště zvolena dne 9. 1. 2007 ve složení:**

### **předseda:**

RNDr. Jaroslav Kuneš, DrSc.

FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [kunes@biomed.cas.cz](mailto:kunes@biomed.cas.cz)

### **místopředseda:**

doc. RNDr. Jiří Pácha, DrSc.

FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [pacha@biomed.cas.cz](mailto:pacha@biomed.cas.cz)

### **členové:**

prof. RNDr. Helena Illnerová, DrSc.

FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [illner@biomed.cas.cz](mailto:illner@biomed.cas.cz).

prof. RNDr. František Kolář, CSc.

FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [kolar@biomed.cas.cz](mailto:kolar@biomed.cas.cz)

RNDr. Hana Sychrová, DrSc.

FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [sychrova@biomed.cas.cz](mailto:sychrova@biomed.cas.cz)

RNDr. Viktorie Vlachová, DrSc.

FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [vlachova@biomed.cas.cz](mailto:vlachova@biomed.cas.cz)

### **Externí členové**

prof. MUDr. Jan Herget, DrSc.  
2. LF UK, Ústav fyziologie, Plzeňská 221/130  
150 00 Praha 5

e-mail: [jan.herget@lfmotol.cuni.cz](mailto:jan.herget@lfmotol.cuni.cz)

prof. Ing. Rudolf Poledne, DrSc.  
IKEM, Vídeňská 800, 142 20 Praha 4

e-mail: [rupo@ikem.cz](mailto:rupo@ikem.cz)

prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.  
MBÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [tlaskalo@biomed.cas.cz](mailto:tlaskalo@biomed.cas.cz)

### **Tajemnice**

Eva Parobečková  
FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [parobec@biomed.cas.cz](mailto:parobec@biomed.cas.cz)

**Dozorčí rada Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i.  
jmenována dne 1. 5. 2007 ve složení:**

#### **předseda:**

prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.  
ÚEM AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [syka@biomed.cas.cz](mailto:syka@biomed.cas.cz)

#### **místopředsedkyně:**

doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc.  
FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [kubova@biomed.cas.cz](mailto:kubova@biomed.cas.cz)

#### **členové:**

RNDr. Petr Dráber, DrSc.  
ÚMG AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: [draberpe@biomed.cas.cz](mailto:draberpe@biomed.cas.cz)

prof. MUDr. PhDr. Jana Mačáková, CSc.  
LF UP Olomouc, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc  
[jana.macakova@upol.cz](mailto:jana.macakova@upol.cz)

doc. RNDr. František Sedláček, CSc.  
BF JU České Budějovice  
Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice  
[sedlacek@usbe.cas.cz](mailto:sedlacek@usbe.cas.cz)

### **Tajemník**

Ing. Jan Stoklasa  
FGÚ AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4  
[stoklasa@biomed.cas.cz](mailto:stoklasa@biomed.cas.cz)

### **b) Změny ve složení orgánů:**

V průběhu roku 2007 k žádným změnám.

### **c) Informace o činnosti orgánů:**

#### **Ředitel:**

Hlavní aktivity ředitele se soustředily především na zajištění plnění úkolů vyplývajících ze zřizovací listiny a dané výzkumným záměrem. Jeho činnost byla v souladu se Stanovami AV ČR a §17 zákona 341/2005 Sb. Ve spolupráci s Radou pracoviště zajistil přípravu návrhu na prodloužení Výzkumného záměru, přijetí všech důležitých dokumentů týkající se fungování v.v.i. a rovnoměrné čerpání rozpočtu. V oblasti investiční výstavby byl hlavní úkol, dokončit dostavbu budovy „Da“.

#### **Rada FGÚ, v.v.i.:**

Rada FGÚ AV ČR, v.v.i. (dále jen Rada) se v roce 2007 sešla celkem pětkrát. Podrobné zápisy z jednání Rady jsou pravidelně zveřejňovány na Intranetu FGÚ AV ČR, v.v.i. a veřejné nástěnce, čímž je zajištěna informovanost všech zaměstnanců ústavu. Z těchto jednání vyjímáme nejdůležitější body.

Na ustavující schůzi dne 16. ledna proběhla volba předsedy a místopředsedy a byla jmenována tajemnice Rady. V tajném hlasování byl do funkce předsedy zvolen jednomyslně RNDr. Jaroslav Kuneš, DrSc. a místopředsedou doc. RNDr. Jiří Pácha, DrSc. Tajemnicí Rady

byla jednomyslně schválena vedoucí HSÚ pí. Eva Parobečková. Rada schválila Vnitřní mzdový předpis a připravila pravidla pro vyhlášení výběrového řízení na obsazení funkce ředitele.

Na jednání Rady dne 21. února byly schváleny další důležité dokumenty nutné pro normální chod ústavu jako v.v.i.. Jednalo se o – Jednací řád Rady, Pravidla pro hospodaření s fondy, Organizační řád a Pracovní řád. Rada vzala na vědomí, že inzerát na výběrové řízení na obsazení místa ředitele ústavu vyšel dne 19. 2.

Dne 26. března proběhla schůze Rady jejímž hlavním bodem programu bylo výběrové řízení na obsazení místa ředitele. Rada projednala doporučení výběrové komise a souhlasila, aby jako kandidát na funkci ředitele byl předložen návrh na RNDr. Jaroslava Kuneše, DrSc.

Na schůzi 24. května se Rada zabývala rámcovým rozpočtem ústavu pro rok 2007 a schválila navrženou skladbu čerpání rozpočtu. Členové Rady se seznámili s informacemi o pokračujících přípravách projektu na vybudování Biotechnologického a biomedicínského centra ve Vestci. Rada podpořila účast ústavu v tomto projektu.

Na svém jednání dne 12. prosince Rada vyslovila dodatečný souhlas s vytvořením právnické osoby BIOCEV z.s.p.o. Předseda seznámil Radu s plánem investičních projektů na příští několikaleté období, s průběžným čerpáním rozpočtu a s úmyslem využít možnosti fondu účelově určených prostředků k převodu max. 5% těchto prostředků do příštího roku. Rada schválila návrh na navýšení stávající mzdové tabulky o 5% a souhlasila, aby sociální fond byl v roce 2008 čerpán stejným způsobem jako v roce 2007. Rada projednala a schválila vytvoření nového oddělení Biologických kontrol, které se bude zabývat diagnostikou, přípravou krevních derivátů a testacemi. Vedoucím tohoto oddělení byl jmenován doc. Ing. Lukáš Jebavý, CSc.

### **Dozorčí rada:**

Dozorčí rada (dále jen DR) Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i. (dále jen FGÚ) měla v roce 2007 dvě zasedání – 24. 5. 2007 a 14. 11. 2007. Mimo tato zasedání projednala DR dva návrhy „per rollam“ – a to v souladu s článkem č. 4 Jednacího řádu DR.

#### **1) Zasedání DR dne 24. 5. 2007**

a. zasedání se zúčastnili tito členové DR - Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc., Doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc., Prof. MUDr. PhDr. Jana

Mačáková, CSc., Doc. RNDr. František Sedláček, CSc., RNDr. Petr Dráber, DrSc.

b. hosté: RNDr. Jaroslav Kuneš, DrSc., Ing. Jan Stoklasa

c. hlavní body projednané na zasedání DR

- I. DR schválila jmenování tajemníka DR – Ing. Stoklasa.
- II. DR schválila zřizovací listinu FgÚ.
- III. DR schválila jednací řád DR FgÚ.
- IV. DR vydala podmíněčný souhlas k bezúplatnému převodu nemovitostí v katastrálním území Tišnov na MěÚ Tišnov.
- V. DR vzala na vědomí záměr vstupu FGÚ do zájmového sdružení právnických osob BIOCEV z.s.p.o. za účelem vybudování Biotechnologického a biomedicínského centra AV a University Karlovy v lokalitě Vestec.
- VI. DR vzala na vědomí rozpočet FGÚ na rok 2007.

## **2) Projednání návrhu „per rollam“ DR dne 13. 6. 2007**

a. projednání se zúčastnili tito členové DR - Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc., Doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc., Prof. MUDr. PhDr. Jana Mačáková, CSc., Doc. RNDr. František Sedláček, CSc., RNDr. Petr Dráber, DrSc.

b. hlavním bodem projednaným DR :

- I. DR schvaluje vstup Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i. do zájmového sdružení právnických osob BIOCEV z.s.p.o. za účelem vybudování Biotechnologického a biomedicínského centra AV a University Karlovy v lokalitě Vestec.

## **3) Projednání návrhu „per rollam“ DR dne 12.09.2007**

a. projednání se zúčastnili tito členové DR - Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc., Doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc., Prof. MUDr. PhDr. Jana Mačáková, CSc., Doc. RNDr. František Sedláček, CSc., RNDr. Petr Dráber, DrSc.

b. hlavním bodem projednaným DR :

- I. DR schvaluje znění návrhu dodatku č. 1 ke zřizovací listině, jímž se FgU vkládají v souladu s usnesením 26. zasedání Akademické rady a opravným usnesením 30. zasedání Akademické rady spoluvlastnické podíly k nemovitostem v k.u. Krč (Kunratice, Libuš) a dále schvaluje znění přílohy ke zřizovací listině, v níž jsou v souladu s § 3 odst. 2, písm. f)

zákona o VVI vymezeny závazky přecházející na pracoviště s vkládaným majetkem.

#### **4) Zasedání DR dne 14.11.2007**

- a. zasedání se zúčastnili tito členové DR - Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc., Doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc., Prof. MUDr. PhDr. Jana Mačáková, CSc., Doc. RNDr. František Sedláček, CSc., RNDr. Petr Dráber, DrSc.
- b. hosté: RNDr. Jaroslav Kuneš, DrSc., Ing. Jan Stoklasa
- c. hlavní body projednané na zasedání DR

I. DR schvaluje bezúplatný převod nemovitostí - pozemků parc. č. st. 1991 o výměře 71 m<sup>2</sup> zastavěná plocha a nádvoří, parc. č. st. 1992 o výměře 15 m<sup>2</sup> zastavěná plocha a nádvoří, parc. č. st. 1993 o výměře 17 m<sup>2</sup> zastavěná plocha a nádvoří parc. č. 1512/7 o výměře 1606 m<sup>2</sup> ostatní plocha, zapsaných v katastru nemovitostí na LV č. 2181 pro katastrální území a obec Tišnov, vedeném u Katastrálního úřadu pro Jihomoravský kraj, Katastrální pracoviště Brno-venkov na Město Tišnov. DR dále schvaluje bezúplatný převod objektů, které nepodléhají zápisu do katastru nemovitostí, nacházejících se na shora uvedených pozemcích. Jedná se o inženýrskou a speciální pozemní stavbu (dříve výzkumné podzemní pracoviště ČSAV) a vedlejší stavbu (dříve laboratoř a dílnu) na Město Tišnov.

II. DR schvaluje vstup Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i. do zájmového sdružení právnických osob BIOCEV z.s.p.o., za účelem vybudování Biotechnologického a biomedicinského centra AV a University Karlovy v lokalitě Vestec.

*(Pozn.:schváleno per rollam – viz bod 2) této zprávy).*

III. DR schvaluje znění návrhu dodatku č. 1 ke zřizovací listině, jímž se FGÚ vkládají v souladu s usnesením 26. zasedání Akademické rady a opravným usnesením 30. zasedání Akademické rady spoluvlastnické podíly k nemovitostem v k.ú. Krč (Kunratice, Libuš) a dále schvaluje znění přílohy ke zřizovací listině, v níž jsou v souladu s § 3 odst. 2, písm. f) zákona o VVI vymezeny závazky přecházející na pracoviště s vkládaným majetkem.

*(Pozn.:schváleno per rollam – viz bod 3) této zprávy).*

Za DR: Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc. předseda DR

## II. Informace o změnách zřizovací listiny:

ZL FGÚ AV ČR, v.v.i. nabývá účinnosti dnem 1. 1. 2007  
(podepsáno 28. 6. 2006)

Dodatek č. 1 ke ZL nabývá účinnosti dnem podpisu, t.j. 14. 11. 2007

Příloha č. 1 ZL ze dne 14. 11. 2007 (stanoví seznam závazků)

## III. Hodnocení hlavní činnosti:

Cílem výzkumu, který je hlavní činností FGÚ AV ČR, v. v. i. je získávat nové poznatky o fyziologických a patofyziologických procesech na úrovni molekulární, buněčné, orgánové i celého organismu směřující k prohloubení znalostí teoretických základů humánní medicíny. Z hlediska společenské důležitosti celé problematiky je nejdůležitější objasnění patogeneze závažných metabolických, kardiovaskulárních a nervových onemocnění člověka s cílem zlepšit jejich diagnostiku a hledat nové cesty účinné terapie a prevence. V těchto klíčových otázkách bylo ve sledovaném údobí dosaženo řady významných výsledků. Hlavními výstupy byly publikace v mezinárodních časopisech s IF, přičemž dlouhodobý průměrný IF je 3.3 / publikaci.

Z hlediska rozvoje oboru lze vyzdvihnout dva výzkumné směry, které jsou dlouhodobě na ústavu rozvíjeny a které patří ke světové špičce. První směr, který navazuje na dlouholetou tradici ústavu, je ontogenetický aspekt při řešení otázek spojených se studiem patogeneze řady závažných civilizačních chorob, jakými jsou ischemická choroba srdeční, metabolický syndrom, hypertenze a obezita. Pojem „kritická vývojová perioda“ byl zaveden do světového písemnictví právě pracovníky ústavu v průběhu šedesátých let minulého století. Tento přístup představuje v současné době obecnou biologickou zákonitost - teorii tzv. „vývojových oken“. Ta vysvětluje, proč ovlivnění organismu v nejranějších stádiích vývoje (prenatálně i postnatálně) může podmínit řadu změn v dospělosti. Přitom je zřejmé, že vzájemná interakce genetických faktorů a faktorů vnějšího prostředí hraje v tomto procesu velmi důležitou úlohu. Dalším špičkovým přístupem je cílený vývoj unikátních biomodelů, jejichž pomocí lze vytvořit další terapeutické a preventivní přístupy aplikovatelné i u člověka. Z celosvětového hlediska je zcela ojedinělý soubor rekombinantních inbredních kmenů potkanů, který byl odvozen od F<sub>2</sub> generace kříženců mezi kmenem spontánně hypertenzivních potkanů (SHR) a normotenzivním kmenem Brown Norway (BN). Vznikl tak ojedinělý genetický materiál, který v současné době slouží k mapování genů nejen v rámci ústavu, ale i v rámci spoluprací s řadou dalších špičkových pracovišť Evropy, USA a Kanady. Vedle toho ústav vyvinul a vyvíjí řadu dalších biomodelů, které jsou využívány pro studium fyziologie i patofyziologie, slouží k přípravě tkáňových kultur, izolovaných orgánů či tkání atd.

Při řešení výzkumného záměru bylo v roce 2007 dosaženo řady významných výsledků, které odrážejí nejen spolupráci s vysokými školami a zahraničními partnery, ale mají také různé praktické využití.

### ***Dosažené hlavní výsledky***

1. Při studiu epitelálních buněk tlustého střeva bylo zjištěno, že tyto buňky obsahují denní, neboli cirkadiánní hodiny. Ukázalo se, že v epitelu tlustého střeva jsou během dne a noci rytmicky s 24-hod. periodou spínány geny zodpovědné za chod cirkadiánních hodin, tzv. hodinové geny, a že se rytmicky mění i hladiny proteinových produktů těchto genů, které jsou základními prvky molekulárního hodinového mechanismu. Cirkadiánní hodiny v tlustém střevě běží ve stejné fázi s cirkadiánními hodinami v játrech, ale jsou fázově opožděny za centrálními hodinami v suprachiasmatických jádrech v mozku. Dále bylo prokázáno, že tyto nově popsané cirkadiánní hodiny ve střevním epitelu řídí rytmické funkce střeva, neboť například kontrolují expresi dominantního elektroneutrálního  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  přenašeče NHE3. Výsledky také přinášejí nový poznatek o tom, že změna režimu v příjmu potravy významně seřizuje střevní hodiny, a to i zcela nezávisle na signálech z řídicích centrálních hodin uložených v mozku. Tyto výsledky ukazují na význam existence cirkadiánních hodin v tlustém střevě a jejich synchronizace s vnějším prostředím pro správnou funkci střeva. **Porucha synchronizace těchto hodin, např. při směnném provozu nebo při častých přeletech přes časová pásma, by mohla souviset s rozvojem chorob gastrointestinálního traktu, včetně nádorového bujení v tlustém střevě.** (Sládek M., Rybová M., Jindráková Z., Zemanová Z., Polidarová L., Mrnka L., O'Neil J., Pácha J., Sumová A.: *Insight into circadian clock within the rat colonic epithelial cells. Gastroenterology 133: 1240-1249, 2007 (IF 12.457)*).

2. Modulace chování potkanů v úloze aktivního vyhýbání se místu pomocí ligandů D1 receptorů (D1 agonisty A77636 a D1 antagonisty SCH23390) je závislá na předchozí zkušenosti zvířete. Výsledky ukázaly, že modulační vliv těchto ligandů vymizí, pokud jsou zvířata přetrénována v úloze bez aplikace látek (Stuchlik, 2007). To naznačuje, že tyto látky ovlivňují neprostorové aspekty této úlohy. Pouze vyšší dávky D1 antagonisty způsobily rovněž narušení motorické aktivity, což je v souladu s výsledky předchozích studií. V další studii jsme se zaměřili na ovlivnění dopaminových D2 receptorů pomocí specifického agonisty quinpirolu a antagonisty sulpiridu. Testování takto ovlivněných potkanů v úloze aktivního vyhýbání se místu ukázalo, že manipulace D2 receptorů postihuje především motorickou aktivitu, a teprve ve vyšších dávkách může dojít i k poškození prostorového vyhýbavého chování

v této úloze (Stuchlík a kol., 2007a). To naznačuje, že dopaminové D2 receptory mohou hrát v této úloze roli především v regulaci motoriky. Následující studie zkoumala, jak se projeví antagonismus dopaminových D1 a D2 receptorů pomocí SCH23390 a sulpiridu na schopnosti potkanů učit se úlohu Morrisova vodního bludiště. Byly použity 2 verze této úlohy a to a) navigace k viditelné platformě (ukazující vliv látek na procedurální aspekt úlohy) a b) navigace k zanořené platformě (ukazující vliv na kognitivní funkce). **Výsledky této práce ukázaly, že oba typy receptorů hrají rozdílnou roli v řešení úlohy vodního bludiště, a toto ovlivnění bylo rovněž rozdílné od ovlivnění úlohy aktivního vyhýbání se místu** (Stuchlík a kol., 2007b). To naznačuje, že výsledky získané v dané prostorové úloze je problematické generalizovat na úlohu jinou. (*Stuchlík A. Further study of the effects of dopaminergic D1 drugs on place avoidance behavior using pretraining: some negative evidence. Behav. Brain Res. 178: 47-52, 2007a (IF 1,953); Stuchlík A, Řeháková L, Rambousek L, Svoboda J, Valeš K.: Manipulation of D2 receptors with quinpirole and sulpiride affects locomotor activity before spatial behavior of rats in an active place avoidance task. Neurosci. Res. 58: 233-239, 2007b (IF 2,092)*).

3. 14-3-3 proteiny jsou regulační bílkoviny, které se hojně vyskytují ve všech eukaryotních buňkách. Jejich hlavní úlohou je regulace funkce celé řady jiných buněčných bílkovin. Díky velkému počtu vazebných partnerů se 14-3-3 proteiny účastní mnoha klíčových buněčných procesů. Mezi bílkoviny jejichž funkce jsou regulovány prostřednictvím vazby 14-3-3 proteinů patří i FOXO forkhead transkripční faktory. Tyto proteiny aktivují transkripci genů, které jsou důležité např. pro ochranu buněk před oxidativním stresem, kontrolu buněčného dělení, diferenciaci buněk, nebo řízenou buněčnou smrt (apoptosu). FOXO faktory jsou také řazeny mezi tzv. onkoproteiny, protože jejich dysfunkce se podílí na vzniku některých typů nádorů. Regulace FOXO je řízena proteinkinasou B, která je fosforyluje na třech místech. Díky fosforylaci dojde k navázání 14-3-3 proteinu a poté k rychlému transportu komplexu 14-3-3/FOXO z jádra buňky do cytoplasmy. Tím je funkce FOXO faktorů zcela zablokována. Molekulární mechanismus vlivu 14-3-3 proteinu na strukturu a funkci FOXO faktorů je však stále nejasný. Nové výsledky ukázaly, že samotná fosforylace FOXO nemá významný vliv na vazbu DNA. Hlavním důvodem inhibice interakce FOXO s DNA je navázání 14-3-3 proteinu na fosforylovaný FOXO faktor. Dále bylo ukázáno, že pro interakci FOXO faktoru s DNA jsou důležité oba konce DNA-vazebné domény. **Tyto výsledky přispěly k lepšímu pochopení molekulárního mechanismu regulace FOXO transkripčních faktorů.** (*Bouřa E., Šilhan J., Herman P., Večer J., Šulc M., Teisinger J., Obšilová V., Obšil T.: Both the N-terminal loop*

*and wing W2 of the forkhead domain of transcription factor Foxo4 are important for DNA binding. J. Biol. Chem. 282: 8265-8275, 2007 (IF 5,808)).*

4. Kapsaicin, výtažek z červených paprik, je v tradiční a současné medicíně užíván k léčení některých forem bolesti. Jeho lokální podání vyvolává u člověka palčivou bolest, která je paradoxně následována místním znecitlivěním. Mechanizmy těchto analgetických účinků nejsou dosud známy. Autoři charakterizovali molekulární mechanismy aktivace a akutní desenzitizace (snížení citlivosti) vaniloidního (kapsaicinového) receptoru podtypu 1 TRPV1, který je fyziologicky lokalizován v plazmatické membráně periferních neuronů přenášejících informaci o bolestivém dráždění. Na základě studia vlivu experimentálně vnesených mutací aminokyselinových zbytků v předpokládané intracelulární oblasti póru TRPV1 iontového kanálu bylo zjištěno, že tyto mutace vedou k výrazným změnám funkce receptoru: snižují teplotní práh pro jeho aktivaci a citlivost k chemickým, teplotním a napěťovým podnětům. **Tato zcela nová informace o molekulární struktuře TRPV1 receptoru v jeho různých funkčních stavech pomohla identifikovat specifickou oblast proteinového komplexu, jejíž konformační změny se přímo podílejí na otvírání iontového kanálu.** Autoři rovněž vyslovili hypotézu, že konformační změny, v jejichž důsledku dochází k akutní desenzitizaci TRPV1 receptoru závislé na vápníku, zahrnují oblast vazebného místa, v jehož blízkosti se nachází doména, která prostřednictvím kladně nabitého aminokyselinového zbytku zajišťuje interakci proteinu s fosfatidylinozitol-4,5-bisfosfátem, lipidem plazmatické membrány, který je v důsledku průniku vápníku do buňky hydrolyzován. **Tyto nové poznatky přispívají k objasnění patogeneze některých bolestivých stavů a hledání účinnějších prostředků k jejich léčení.** (Sušánková K., Ettrich R., Vyklický L., Teisinger J., Vlachová V.: *Contribution of the putative inner-pore region to the gating of the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel (TRPV1). J. Neurosci 27: 7578-7585, 2007 (IF 7,453)).*

5. Při studiu mechanismu, jakým délka dne, tj. fotoperioda, seřizuje cirkadiánní hodiny v suprachiasmatických jádrech mozku bylo zjištěno, že profily denních rytmů v expresi jednotlivých genů zodpovědných za chod cirkadiánních hodin, tzv. hodinových genů, se přizpůsobují změně fotoperiody různým způsobem. Při asymetrickém zkrácení dlouhé fotoperiody (LD16:8) na krátkou (LD8:16) se rytmické profily exprese *Per1* a *Bmall* přizpůsobily s odlišnou dynamikou ve srovnání s profilem exprese *Cry1*, což ukazuje na **komplexnost fotoperiodické modulace molekulárního hodinového mechanismu v suprachiasmatických jádrech.** (Sumová A., Kováčiková Z., Illnerová H.: *Dynamics of the adjustment of clock gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus*

*to a asymmetrical change from a long to a short photoperiod. J. Biol. Rhythms 22: 259-267, 2007 (IF 4,367)).*

6. Snížení obsahu cholesterolu v buněčné membráně snižuje funkční aktivitu receptorů pro thyreoliberin. Citlivost odpovědi hladin vápenatých iontů v intaktních buňkách je snížena o dva řády; schopnost receptoru aktivovat G protein třídy G<sub>q</sub>/G<sub>11</sub> v izolovaných buněčných membránách je snížena o řád. Současně jsou degradovány membránové domény izolované jako detergent-resistantní membránová frakce s nízkou hustotou. To prokazuje, že **přítomnost cholesterolu v buněčné membráně je nezbytná pro optimální funkci jedné z klíčových signálních kaskád indukovaných receptory spřaženými s G proteiny.** (Ostašov, P., Bouřová, L., Hejnová, L., Novotný J., Svoboda P.: *Disruption of the plasma membrane integrity by cholesterol depletion impairs effectiveness of TRH receptor-mediated signal transduction via G<sub>q</sub>/G<sub>11</sub>α proteins. J. Recept. Signal Transduct. Res. 27: 335-352, 2007 (IF 2,000).*)

7. Kvalitu života pacientů s epilepsií nezhoršují jen epileptické záchvaty, ale i období po záchvatech, kdy se nervové funkce pomalu vrací do normálního stavu. Zkrácení tohoto období by mělo pozitivní účinek na život pacientů. Experimentální studie se pozáchvatovému období věnují výjimečně. Proto byl vyvinut model, vhodný pro studium tohoto období. Autoři srovnávali chování laboratorních potkanů po dvou typech záchvatů vyvolaných elektrickým drážděním mozkové kůry. Bylo zjištěno, že **chování i délka pozáchvatového útlumu závisí na typu záchvatu.** Tento model bude využit pro farmakologické studie. (Mikulecká A., Mareš P.: *Postictal behavior after two types of cortical epileptic afterdischarges in rats. Epilepsy Behav. 10: 213-218, 2007 (IF 2,026).*)

8. Při studiu úlohy mitochondrií během křečí vyvolaných u mláďat laboratorního potkana kyselinou homocysteovou, byl zjištěn výrazný pokles aktivity mitochondriální NADH-ubichinonoxidoredukasy, t.j. komplexu I., způsobený pravděpodobně oxidativní modifikací enzymu. Zvýšená tvorba volných radikálů v důsledku inhibice komplexu I může přispívat ke vzniku neuronálního poškození pozorovaného za tohoto modelu křečí. Významné **protektce bylo dosaženo po podání látek s antikonvulzivním účinkem a po aplikaci vybraných „scavengerů“ volných radikálů.** (Folbergrová J., Ješina P., Drahotka Z., Lisý V., Haugvicová R., Vojtišková A., Houšťek J.: *Mitochondrial complex I inhibition in cerebral cortex of immature rats following homocysteic acid-induced seizures. Exp. Neurol. 204: 597-609, 2007 (IF 4,156).*)

9. Předpokládaný M<sub>1</sub> selektivní muskarinový agonista xanomelin interaguje nejen reverzibilně s ortosterickým vazebným místem receptoru ale váže se též neodmyvatelně do jiného místa. Všechny

podtypy muskarinového receptoru exprimované ve fibroblastech vykazují neodmyvatelnou vazbu. Neodmyvatelná vazba na muskarinové M<sub>2</sub> a M<sub>4</sub> receptory v krysím mozku ex vivo vede k opožděné stimulaci těchto receptorů a snížení uvolňování acetylcholinu. Tento účinek má ortosterickou i alosterickou složku. **Tato pozorování poskytují příklad agonisty s dlouhodobou aktivitou přetrvávající v nepřítomnosti volného ligandu.** (Machová E., Jakubík J., El-Fakahany E.E., Doležal V.: *Wash-resistantly bound xantomeline inhibits acetylcholine release by persistent activation of presynaptic M2 and M4 muscarinic receptors in rat brain. J. Pharmacol. Exp. Ther.:* 322: 316-323, 2007 (IF 3,956)).

10. Analýzou jaderné prostorové organizace kompetentních a nekompetentních NORů a chromozomů nesoucích NORy byl nalezen pozitivní vztah mezi jadérkovou asociací NOR-chromozómů a počtem transkripčně kompetentních NORů na příslušných homologních chromozomech. Za významný nález je možno považovat zjištění, že **v jadérku jsou lokalizovány nejen transkripčně kompetentní, ale i transkripčně nekompetentní NORy.** Analýzou poloh dvou typů homologních NOR-chromozómů v dceřinných buňkách bylo zjištěno, že distribuce pozic NOR-chromozómů vzhledem k jadérkům se u dceřinných buněk částečně zachovává. (Kalmárová M., Smirnov E., Mašata M., Koberna K., Ligasová A., Popov A., Raška I.: *Positioning of NORs and NOR-bearing chromosomes in relation to nucleoli. J Struct Biol.* 160: 49-56, 2007 (IF 3,496)).

11. Kompozity s uhlíkovou maticí vyztuženou uhlíkovými vlákny a pokryté vrstvou fullerenu C<sub>60</sub>, terpolymery složené z polytetrafluoroethylenu, polyvinylidifluoridu a polypropylénu smíchané s uhlíkovými nanotrubičkami a vrstvy nanokrystalického diamantu nanosené na silikonové substráty podporovaly svou nanostrukturou adhezi, růst a vyžrávání lidských kostních buněk linie MG 63. Uhlíkové nanotrubičky dekorující stěny pórů v 3D polymerních nosičích buněk by proto mohly být použity k inženýrství kostní tkáně. **Pokryv kostních implantátů nanokrystalickým diamantem může zvýšit jejich integraci do okolní tkáně.** (Bačáková L., Grausová L., Vacík J., Fraczek A., Blazewicz S., Kromka A., Vaněček M., Švorčík V.: *Improved adhesion and growth of human osteoblast-like MG 63 cells on biomaterials modified with carbon nanoparticles. Diamond Rel. Mater.* 16: 2133-2140, 2007 (IF 1,935)).

### ***Výsledky dosažené v rámci spolupráce s vysokými školami a dalšími výzkumnými institucemi***

12. U myšího modelu lipoatrofického diabetu (transgenní A-ZIP/F-1 myši) byl zjištěn významně zvýšený krevní tlak, ačkoliv u tohoto modelu chybí bílá tuková tkáň i její hormony. Nález zvýšeného

krevního tlaku je však v souladu s insulinovou rezistencí popsanou u tohoto modelu. Tyto nálezy ukazují, že lipodystrofie u A-ZIP/F-1 myši je provázena hypertenzí, která je pravděpodobně dána zvýšenou produkcí glukokortikoidů (kortikosteronu) (spolupráce s 1. LF UK Praha). (*Llamounier-Zepter a kol. Mol Cell Endocrinol* 280: 39-46, 2008) (IF 2,918).

13. Rozvoj střevního zánětu je spojen v zanícené tkáni s poklesem degradace protizánětlivých glukokortikoidů a s nárůstem jejich lokální syntézy prostřednictvím redukce neaktivních 11-oxo steroidů krevní plasmy na biologicky aktivní glukokortikoid, tj. zánět je schopen lokálně tlumit svůj další rozvoj imunosupresivními signály (spolupráce s 3. LF UK Praha). (*Žbánková a kol. J. Gastroenterol. Hepatol.* 22: 1019-1023, 2007) (IF 1,785).

14. V Laboratoři biologie nádorové buňky 1. Lékařské fakulty UK a FGÚ AV ČR a ve spolupráci s Nemocnicí Na Homolce v Praze, byla ve skupině mozkových nádorů skupiny anaplastického astrocytomu a glioblastoma multiforme zjištěna upregulace aktivity dipeptidylpeptidasy-IV a jejích strukturálních a funkčních homologů, spolu se zvýšenou expresí chemokinového receptoru CXCR4. Změny těchto molekulárních komplexů, spolu s upregulací gama-glutamyltranspeptidasy, pozorované jak v parenchymovém tak i vaskulárním kompartmentu, ovlivňují růstové vlastnosti těchto nádorů (spolupráce s 1. LF UK Praha). (*Stremeňová a kol. Int. J. Oncol.* 31:785-792, 2007) (IF 2,556).

15. Byly vyvinuty nové a účinné stereologické metody pro měření geometrických charakteristik fotosyntetických pletiv v jehlicích smrku, zejména vnitřního povrchu jehlice a průměrného objemu mezofylových buněk. Tyto nové metody jsou založeny na počítání interakcí mezi virtuálními, počítačově generovanými testovacími sondami s měřenými strukturami, nasnímanými konfokální mikroskopií, a nevyžadují fixaci ani barvení materiálu. Bylo zjištěno, že působením kyselého deště dochází k zmenšení vnitřního povrchu jehlice smrku ztepilého a k snížení počtu mezofylových buněk na jednotku objemu jehlice (spolupráce s 1. PřF UK Praha). (*Albrechtová a kol. J. Exp. Botany* 58, 1451-1461, 2007) (IF 3,630).

16. Bylo prokázáno, že vznik neurogenního plicního edému po stlačení hrudní míchy je provázen výraznou aktivací sympatického nervového systému s následným vzestupem krevního tlaku, poklesem srdeční frekvence a přesunem krve do plicního řečiště, což je nezbytnou podmínkou vzniku této komplikace poranění míchy. Podaří-li se potlačit sympatickou hyperaktivitu prohloubením isofluranové narkózy nebo předejít jejím periferním účinkům pomocí gangliové blokády, plicní

edém se nevyvine (spolupráce s ÚEM AV ČR, v.v.i.) (*Šedý et al. J. Neurotrauma 24: 1487-1501, 2007*) (IF 3,453).

17. Byly připraveny fibrinové sítě pro podporu kolonizace biomateriálů buňkami. Nově vyvíjené fibrinové sítě měly definovanou tloušťku a tzv. dvou- i třírozměrnou strukturu (2D, 3D). Byly připraveny s použitím inhibitorů trombinu volného i adsorbovaného. Na fibrinových sítích byla pak hodnocena adheze, růst a diferenciaci zvířecích i lidských cévních endotelových buněk. Ultratenké fibrinové 2D povrchy významně zvýšily rozprostření endotelových buněk v porovnání s 3D sítí. Počet buněk po 7 dnech kultivace byl na 2D i 3D vrstvách signifikantně vyšší než na kontrolním polystyrénovém kultivačním povrchu s výjimkou vzorků připravených pomocí heparinu, které se od kontroly nelišily. Enzymatická imunisorbentní esej (ELISA) ukázala, že koncentrace von Willebrandova faktoru, markeru diferenciaci cévních endotelových buněk, je v buňkách kultivovaných na 3D fibrinových sítích statisticky významně zvýšena. U buněk na všech fibrinových vzorcích byly dobře vytvořené fokální adhezní plaky obsahující proteiny zprostředkující adhezi buněk, jako jsou alfa<sub>v</sub>-integriny, vinkulin a talin (spolupráce s ÚMCH AV ČR, v.v.i. a Univ. Victor Ségalen, Bordeaux, Francie) (*Filová E., Brynda E., Riedel T., Bačáková L., Chlupáč J., Lisá V., Houska M., Dyr J. E.: Vascular Endothelial Cells on Two- and Three-Dimensional Fibrin Assemblies for Biomaterial Coatings.: J. Biomed. Mater. Res., v tisku*).

### ***Výsledky dosažené v rámci výzkumných Center***

#### **Centrum výzkumu chorob srdce a cév (1M0510)**

U většiny forem experimentální i lidské hypertenze je zvýšená aktivita sympatického nervového systému, která vede k výraznější úloze napětově řízených vápníkových kanálů L typu (L-VDCC) při udržování zvýšeného krevního tlaku (TK). U spontánně hypertenzních potkanů (SHR) jsme zjistili, že změny TK po akutním podání nifedipinu (blokátor L-VDCC) odrážejí podíl těchto kanálů na dlouhodobé sympatické vasokonstrikci, která se realizuje na základě vstupu vápníku do buněk hladkého svalu cestou L-VDCC. Navíc jsme zjistili, že tyto vápníkové kanály jsou také kontrolovány endoteliálními vasodilatačními faktory, které zmenšují tonickou noradrenergí vasokonstrikci. Chronická blokáda renin-angiotensinového systému (RAS) zabrání vzniku hypertenze u mladých SHR především díky centrálnímu útlumu sympatické aktivity, zatímco periferní účinky chronické blokády RAS jsou méně významné. Na velkém souboru hypertenzních a normotenzních potkanů jsme ukázali, že napětově řízené vápníkové kanály jsou odpovědné za 80 % variability TK v rozmezí 80-220 mmHg. Při studiu mechanismů, jimiž noradrenalin aktivuje otevření L-

VDCC, jsme prokázali, že vyřazení inhibičních G ( $G_i$ ) proteinů pomocí pertusis toxinu (PTX) nejen výrazně snižuje presorické působení exogenních i endogenních katecholaminů, ale také omezuje pokles TK po akutní blokádě L-VDCC pomocí nifedipinu. Je zřejmé, že katecholaminy aktivují L-VDCC prostřednictvím  $G_i$ -dependentních mechanismů, neboť účinky PTX a nifedipinu na krevní tlak nejsou aditivní. V pokusech u zvířat ovlivněných PTX jsme pozorovali posun dávkově závislého presorického působení noradrenalinu doprava, což vysvětluje pokles krevního tlaku po vyřazení  $G_i$  proteinů, který je větší u SHR potkanů charakterizovaných sympatickou hyperaktivitou než u normotenzních zvířat. (Paulis L., Lišková S., Pintérová M., Dobešová Z., Kuneš J., Zicha J.: *Nifedipine-sensitive noradrenergic vasoconstriction is enhanced in spontaneously hypertensive rats: the influence of chronic captopril treatment. Acta Physiol (Oxford) 191: 255-266, 2007 (IF 2,230); Lišková, S., Zicha, J., Kuneš, J.: Nifedipine-sensitive vascular reactivity of femoral arteries in WKY: the effect of pertussis toxin pretreatment and endothelium removal. Physiol. Res. 56: 663-666, 2007 (IF 2,093)).*

### **Centrum Aplikované Genomiky (1M6837805002)**

Podarilo se prokázat přímou vazbu mezi variantami mitochondriálního genomu (mtDNA) a rizikovými faktory pro diabetes pomocí konplastických kmenů. V nedávné době byly získány nepřímé důkazy pro vztah mezi variantami mtDNA a rizikovými faktory pro diabetes 2. typu. Získání přímých důkazů je však obtížné, protože (1) fenotypické účinky asociované s variabilitou mtDNA se dají těžko odhadnout vzhledem k nedefinovaným interakcím s jaderným genomem a faktory prostředí nebo v důsledku imprintingu a (2) nejsou dostupné zvířecí modely, které by umožnily in vivo analýzy účinků variant mtDNA na komplexní metabolické fenotypy. Nahrazení různých mitochondriálních genomů v rámci identického jaderného genetického pozadí u konplastických inbredních kmenů umožňuje získat přímé důkazy pro účinky variant mtDNA na komplexní znaky. Vytvořili jsme SHR.BN-mtDNA konplastické kmeny přenesením mtDNA z kmene Brown Norway (BN/Crl) na genetické pozadí spontánně hypertenzních potkanů kmene SHR/Ola. Kmeny SHR a SHR.BN-mtDNA mají identický jaderný genom, ale liší se v řadě mutací v mtDNA, z nichž 7 podmiňuje záměny aminokyselin v proteinech důležitých pro oxidační fosforylacii, včetně unikátní mutace v COX1 genu, který kóduje katalytickou podjednotku cytochrom-c-oxidasy, terminálního enzymu respiračního řetězce. Konplastické kmeny se liší v důležitých rizikových faktorech pro diabetes 2. typu, jako jsou hladiny glykogenu a ATP ve svalech, tolerance ke glukóze nebo v sérových koncentracích lipidů.

Tyto výsledky představují první přímé důkazy pro vztah mezi variantami mtDNA a rizikovými faktory pro diabetes 2. typu a potvrzují, že spontánní variabilita mitochondriálního genomu může sama o sobě být příčinou metabolických poruch relevantních pro patogenezi komplexních chorob. (M. Pravenec, M. Hyakukoku, J. Houštěk, V. Zidek, V. Landa, P. Mlejnek, I. Mikšik, K. Dudová-Mothejzíková, P. Pecina, M. Vrbacký, Z. Dražota, A. Vojtišková, T. Mráček, L. Kazdová, O. Oliyarnyk, J. Wang, C. Ho, N. Qi, K. Sugimoto, T. W. Kurtz: *Direct linkage of mitochondrial genome variation to risk factors for type 2 diabetes in conplastic strains. Genome Res 17:1319-1326, 2007* (IF 10,256)).

### **Centrum neurověd (LC554)**

Pomocí elektrofyziologické techniky patch-clamp byla studována citlivost amplitudy a kinetiky deaktivace proudových odpovědí rekombinantních NMDA receptorů s podjednotkovým složením NR1-1a/NR2B exprimovaných v HEK 293 buňkách ke změnám teploty. Analýzou experimentálních dat a kinetickým modelováním se podařilo stanovit rychlostní konstanty přechodových stavů v kinetickém schématu NMDA receptoru vyvolané aplikací 1 mM glutamátu při teplotách 21.9 – 46.5°C. Transformace získaných dat a přepočtení teplotní závislosti jednotlivých rychlostních konstant na teplotní koeficient ( $Q_{10}$ ) pomocí Arrheniovy rovnice ukázala, že nejvyšší teplotní závislost mají rychlostní konstanty desenzitizace ( $Q_{10} = 10.3$ ), resenzitizace ( $Q_{10} = 4.6$ ) a odvazování glutamátu z molekuly NMDA receptoru ( $Q_{10} = 3.6$ ). Vazba glutamátu, otevírání/zavírání iontového kanálu spojeného s NMDA receptorem či změna vodivosti jednotlivých iontových kanálů vykazovaly nízkou teplotní závislost. Kinetika deaktivace odpovědí NR1-1a/NR2B receptorů po krátké (2 ms) aplikaci 1 mM glutamátu byla nejlépe popsatelná dvěma exponenciálními funkcemi, přičemž teplotní závislost pro rychlou a pomalou komponentu deaktivace byla vysoká ( $Q_{10}$  pro  $\tau_{\text{rychlé}} = 3.7$ ; pro  $\tau_{\text{pomalé}} = 2.7$ ). Výsledky této studie naznačují, že desenzitizace/resenzitizace rekombinantních NMDA receptorů, stejně jako odvazování glutamátu jsou výrazně citlivé ke změnám teploty v rozsahu 21.9 - 46.5°C. Na základě těchto dat lze předpokládat, že při fyziologické teplotě může hrát kinetika NMDA receptorů významnou roli v určování amplitudy a časového průběhu excitačních postsynaptických proudů zprostředkovaných NMDA receptory. (Cais O., Horák M., Sedláček M., Dittert I., Vyklický Jr., L.: *Temperature dependence of NR1/NR2B N-methyl-D-aspartate receptor channels. Neuroscience (2007), doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.11.002*) (IF 3,427).

### **Centrum neuropsychiatrických studií (1M0002375201)**

Byly zkoumány funkční a morfologické vlastnosti neuronů lamina I kaudální části trigeminálního jádra (Sp5C). Výsledky pokusů ukázaly, že jádro obsahuje několik morfologicky a fyziologicky odlišitelných typů neuronů. Podle odpovědí ve formě akčních potenciálů, kterými odpovídaly na depolarizující proud lze neurony lamina I Sp5C fyziologicky klasifikovat jako neurony tonické, fazické, s opožděným nástupem akčních potenciálů, a se samostatným akčním potenciálem. Elektrická stimulace trigeminálního traktu vyvolávala excitační postsynaptické proudy zprostředkované AMPA a NMDA podtypem glutamátových receptorů (AMPA, NMDAR EPSC), přičemž izolovaná AMPA komponenta byla ve většině případů polysynaptická. Miniaturní AMPAR EPSC vykazovaly 10-90% doby nástupu  $0.50 \pm 0.06$  ms a časová konstanta doby jejich deaktivace byla  $2.5 \pm 0.5$  ms. NMDAR EPSC měly 10-90% doby nástupu  $8 \pm 2$  ms, časový průběh deaktivace byl nejlépe popsitelný dvěma exponenciálními funkcemi s rychlou a pomalou komponentou  $94 \pm 31$  ms a  $339 \pm 72$  ms. Intracelulární plnění biocytinem a fluorescenční značení neuronů komplexem Streptavidin-Alexa 488 umožnilo morfologickou analýzu neuronů. Ta ukázala, že v lamina I Sp5C existují neurony fusiformní, pyramidové a multipolární s tím, že tonické a fazické neurony morfologicky odpovídají fusiformním nebo pyramidovým neuronům a neurony s opožděným nástupem akčních potenciálů a se samostatným akčním potenciálem představují multipolární neurony. (Sedláček M., Horák M., Vyklický Jr., L.: *Morphology and physiology of lamina I neurons of the caudal part of the trigeminal nucleus. Neuroscience 147: 325-333, 2007*) (IF 3,427).

Alzheimerova nemoc je neurodegenerativní chorobou vyššího věku, která se projevuje především poruchami paměti. U lidí postižených touto nemocí se často objevují problémy s orientací v prostoru. Tyto poruchy, jako je například ztráta orientace na známých místech, mohou vést k časnému rozpoznání nemoci. Této nemoci ve většině případů předchází mírná kognitivní porucha, která se projevuje postižením kognitivních (poznávacích) funkcí při neporušených dovednostech běžného života. Přestože případné postižení prostorové navigace u této poruchy by mohlo přispět k včasné předpovědi vývoje Alzheimerovy nemoci a tak k účinnější léčbě, nebylo zatím studováno. Pro náš experiment jsme využili zařízení na studium prostorové kognice, které je v současné době umístěné ve Fakultní nemocnici Motol v Praze. Hlavní součástí tohoto zařízení je kruhový stan o průměru 2,8 m, ve kterém je možné promítat orientační značky na stěny, pozici cíle na podlahu a přesně zaznamenávat pohyb testovaných lidí. Úkolem v našem experimentu bylo opakovaně nacházet polohu skrytého cíle, a to podle

startovní polohy u stěny stanu a/nebo podle dvou orientačních značek na stěně. Pacienty s mírnou kognitivní poruchou a s Alzheimerovou nemocí jsme porovnávali s kontrolní skupinou zdravých dobrovolníků. Pacienti s Alzheimerovou nemocí, a kupodivu i s těžší formou mírné kognitivní poruchy, měli špatné výsledky ve všech částech testu. Dokonce i pacienti s mírnější formou kognitivní poruchy byli v orientaci podle dvou orientačních značek na stěně horší než kontrolní skupina. Otázkou je, jak se toto postižení lidí s mírnou kognitivní poruchou projevuje v jejich běžném denním životě. Výsledky naznačují, že postižení prostorové navigace se objevuje časně ve vývoji Alzheimerovy nemoci, spolu s paměťovým postižením. (Hort J., Laczo J., Vyhnálek M., Bojar M., Bureš J., Vlček K.: *Spatial navigation deficit in amnesic Mild cognitive impairment. Proc Natl Acad Sci U S A 104: 4042-4047, 2007* (IF 9,643)).

### ***Spolupráce s vysokými školami na uskutečňování bakalářských, magisterských a doktorských studijních programů a vzdělávání středoškoláků***

Pracovníci ústavu se v uplynulém roce opět velmi výrazně podíleli na pregraduální výuce studentů řady fakult, především UK Praha. V rámci této aktivity bylo na ústavu realizováno celkem 9 diplomových prací. Velmi hojná je účast pracovníků ústavu v postgraduálním vzdělávání nejen formou přednášek, odborných kurzů, ale především vedením experimentálních prací, které vedou absolventy k získání titulu PhD. V roce 2007 bylo na ústavu 77 postgraduálních studentů (z toho 12 cizinců) a v průběhu roku obhájilo 14 studentů (z toho 1 cizinec).

Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i. se také zapojil do projektu „Otevřená věda“, při kterém bylo umožněno studentům středních škol provádět experimentální práce v laboratořích ústavu pod odborným vedením vědeckých a odborných pracovníků ústavu. Práce, kterou vypracovala na našem ústavu v rámci projektu „Otevřená věda“ středoškolská studentka Lucie Zemanová, zvítězila v rámci Středoškolské odborné činnosti (SOČ) v oboru zdravotnictví a zároveň získala její autorka ocenění v rámci projektu „Česká hlavička“ za vynikající středoškolskou práci. Projekt je zaměřen na středoškolskou mládež a je realizován ve spolupráci projektu Česká hlava s VŠE v Praze, Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy, Asociací pro mládež, vědu a techniku (AMAVET) a Sdružením na podporu talentované mládeže České republiky.

Rovněž jsme zorganizovali pravidelné „Dny otevřených dveří“ především se zaměřením na zájemce z řad středoškolských studentů a studentů PřF UK v Praze.

Ústav ve spolupráci se Zemědělskou univerzitou v Praze organizuje pravidelné kurzy pro vysokoškoláky a technický personál týkající se zákona na ochranu zvířat proti týrání a práce s laboratorními zvířaty. V roce 2007 se uskutečnily 3 kurzy pro vysokoškoláky a 2 kurzy pro středoškoláky.

### ***Spolupráce s aplikovaným výzkumem a výrobní sférou***

Ve spolupráci s norskou firmou Pronova Biocare je prováděn výzkum v oblasti působení omega 3 polynenasycených mastných kyselin v tukové tkáni a jejich léčebného využití. Tuhy z mořských ryb jsou důležitou složkou potravy, zejména díky vysokému obsahu omega 3 polynenasycených mastných kyselin, kyseliny dokosahexaenové (DHA) a eikosapentaenové (EPA). Tyto látky působí blahodárně, jsou nezbytné pro normální vývoj a v dospělosti snižují hladinu lipidů a působí též preventivně na rozvoj kardiovaskulárních onemocnění, obezity a cukrovky. V rámci spolupráce mezi norskou firmou Pronova Biocare a Oddělením biologie tukové tkáně Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i. bylo snahou: (1) objasnit zda a jakým způsobem působí omega 3 mastné kyseliny přímo na metabolismus tukové tkáně; a (2) najít nové cesty pro efektivnější využití těchto látek pro prevenci a léčbu obezity a cukrovky. V pokusech na laboratorních myších pracovníci oddělení prokázali, že omega 3 mastné kyseliny zvyšují obsah mitochondrií a spalování tuků a brzdí tvorbu lipidů přímo v buňkách tukové tkáně. Tento mechanismus se zřejmě uplatňuje v preventivním vlivu omega 3 mastných kyselin na vznik obezity. Dále bylo zjištěno, že omega 3 mastné kyseliny ovlivňují sekreci hormonů z tukové tkáně. Zejména se podařilo prokázat, že vlivem omega 3 mastných kyselin stoupá sekrece adiponektinu, hormonu tukové tkáně, který zvyšuje citlivost k inzulinu. Tento mechanismus se zřejmě uplatňuje v preventivním vlivu omega 3 mastných kyselin na rozvoj rezistence k inzulinu při obezitě. Část výsledků již byla dříve publikována. Dále se podařilo prokázat, že preventivní působení omega 3 mastných kyselin na obezitu závisí na poměru DHA a EPA v potravě, a že silnějšího účinku je dosahováno při převažujícím obsahu DHA. Ve spolupráci s firmou Pronova Biocare se také podařilo vyvinout deriváty DHA, které účinně brání rozvoji rezistence k inzulinu. Tyto nálezy jsou podkladem třech patentových přihlášek (PCT/IB2004/004178, PCT/IB2006/001155, PCT/IB2006/001164), z nichž dvě již byly schváleny ve Švédsku. Ústav spolupracuje s firmou při schvalování patentů v dalších zemích.

Ve spolupráci s KDS Dobřichovice je prováděn výzkum při přípravě liposomálního gelového ftalocyaninového preparátu pro fotodynamickou terapii nádorových onemocnění. Fotodynamická terapie je léčba zhoubných nádorů světlem s využitím účinné látky, tzv.

fotosenzitizátoru. Byla podána patentová přihláška (č. 2006743) “Liposomální gelový ftalocyaninový preparát pro fotodynamickou terapii nádorových onemocnění a způsob jeho přípravy“ u Českého úřadu pro patenty a vynálezy, a rovněž PCT přihláška ochrany pro EU a svět. Technické řešení se týká aplikačního gelu s liposomy pro fotodynamickou terapii nádorových onemocnění, který obsahuje hydrofobní formu ftalocyaninu hydroxyhlinitého (resp. hliník-Al substituován Si, Zn, aj. kovy) modifikovanou pro následné zpracování vysokým tlakem na mikrofluidizéru. Výsledný gel obsahující liposomy se zainkorporovanou účinnou látkou je při terapii aplikován na povrchové nádory v dermatologii či na další nádory dostupné světlovody, a po několika minutách je ozáren světlem příslušnou vlnovou délkou. Navržená soustava umožňuje okamžité pronikání účinné látky do nádoru a téměř okamžité osvětlení (v min intervalech od aplikace) s následujícím ověřeným dezintegračním účinkem na nádor, který je podmíněn navrženou soustavou. Tento poloprovazně průmyslově připravený preparát byl podrobně testován při experimentální fotodynamické terapii lidského kolorektálního karcinomu, karcinomu prsu, melanomu a basaliomu, implantovaných athymickým nu-nu myším, s výsledkem 100% účinnosti ve vyšších dávkách a účinnosti klesající se zvyšující se viabilitou tumorů v dávkách nižších (účinnost klesala v pořadí basaliom > karcinom prsu > melanom > kolorektální karcinom). Tyto výsledky byly dosaženy pro interval  $T_{DL}$  mezi aplikací gelu s liposomy a ozářením pouhých 10 min. Navržený postup je předmětem patentového řízení.

Ve spolupráci s firmami Bezoska s.r.o. a HVM Plasma s.r.o. jsou vyvíjeny povrchové úpravy pro části náhrad kyčelního a kolenního kloubu, které budou ukotveny do kosti. Titan či slitina TiAlV byly modifikovány elektroerozí, plasmatickým nástřikem, soustružením a leštěním. Na kompozity s uhlíkovou maticí vyztuženou uhlíkovými vlákny, tj. materiály považované za perspektivní pro inženýrství kostní tkáně, byly nanášeny vrstvy ZrN. Hladší povrchy podporovaly adhezi a rozprostření lidských kostních buněk MG 63, kdežto povrchy s nerovnostmi ve stovkách  $\mu\text{m}$  spíše jejich vyžrávání (Bačáková a kol. *Engineering Biomat.* 9 (58-60): 1-3 (2006); Paul a kol. *Engineering Biomat.* 10 (67-68): 5-8 (2007)).

Nově vyvíjené 2D fibrinové sítě se zdají vhodné především k pokrývání povrchu uvnitř 3D polymerních matic s póry o průměru několik desítek či stovek mikrometrů, kde neuzavřou póry a urychlí vrůstání buněk dovnitř matrice. 3D fibrinovými sítěmi pak lze upravit vnitřní povrch umělých cévních protéz. Je možno je připravit přímo z krve daného pacienta, čímž se lze vyhnout případné imunitní reakci pacienta na cizorodý materiál. Některé z nich byly i prakticky použity

k urychlení endotelializace, a tím k inovaci klinicky užívaných polyetylentereftalátových cévních protéz komerčně vyráběných v podniku VÚP a.s., Brno. (Brynda E., Riedel T., Dyr J., Houska M., Bačáková L., Filová E., Chlupáč J., Lesný P., Jendelová P., Syková E.: *Způsob přípravy regulovaných vrstev fibrinu na pevných površích. Přihláška vynálezu do oblasti techniky „Povrchové modifikace materiálů biologicky aktivními látkami pro přípravu podpurných struktur vhodných jako matrice pro pěstování buněk v tkáňovém inženýrství“; patent v ČR).*

### **Mezinárodní spolupráce**

Již tradičně probíhala mezinárodní spolupráce na bázi dvoustranných dohod a nebo v rámci řešení společných projektů. Byly dosaženy následující výsledky.

ATP je multifunkční organická makromolekula, která je primárně známá v biochemii jako „buněčné platidlo“ přenášející energii. ATP se nalézá v každé živé buňce, je produkováno během procesu fotosyntézy a buněčného dýchání a je také jedním z pěti nukleotidů potřebných pro syntézu ribonukleových kyselin. Méně je známo o extracelulárním působení ATP a jeho receptorech na povrchu buněk, purinergních P2X receptorech, které fungují jako iontový kanál. Dosud bylo objeveno sedm podtypů P2X receptorů, P2X<sub>1-7</sub>, které se vyskytují u obratlovců i bezobratlých a byly nalezeny i u člověka. Struktura a aminokyselinové složení vazebného místa pro ATP v molekule P2X receptoru nejsou dosud známé. Receptor se skládá ze dvou transmembránových úseků spojených extracelulární kličkou. Předpokládá se, že se ATP váže v oblasti v extracelulární kličce, která má v případě P2X<sub>4</sub> receptoru přes 200 aminokyselin, a že pro vazbu ATP jsou důležité nabitě či aromatické aminokyselinové zbytky. Ve spolupráci s Laboratoří buněčné signalizace (NICHD/NIH, Bethesda, USA) jsme vytvořili 21 alaninových a záchranných mutací vybraných aromatických a nabitých aminokyselinových zbytků, které jsme elektrofyziologicky testovali. Použili jsme pozitivní účinek ivermektinu jako farmakologický nástroj, kterým jsme mohli porovnat rozdíly mezi mutovanými receptory a určit pořadí důležitosti aminokyselinových zbytků pro funkci receptoru. Ukázali jsme, že řada mutantních receptorů dříve označovaných jako nefunkční byla v přítomnosti ivermektinu funkční. Zjistili jsme, že dva zbytky lysinu a jeden zbytek argininu v extracelulární kličce P2X<sub>4</sub> receptoru v blízkosti transmembránových domén jsou kritické pro vazbu ATP a otevírání iontového kanálu. Ukazuje se, že purinergní signalizace je klíčový mechanismus ve vnímání bolesti, při poranění mozku a v zánětlivých procesech. Podrobná znalost struktury a funkce purinergních receptorů tak vzbuzuje naději, že se otevře cesta k novým

farmakům, která pomohou zabránit chronické neuropatické bolesti a budou účinná v ochraně před celou řadou nemocí. (Zemková H., Yan Z., Liang Z., Jelínková I., Tomic M., Stojilkovic S.S.: *Role of Aromatic and Charged Ectodomain Residues in the P2X<sub>4</sub> Receptor Functions*. – *J. Neurochem.* 102: 1139-1150, 2007) (IF 4,260).

Konvulsivní status epilepticus (SE, epileptický záchvat trvající déle než 30 minut) představuje závažný neurologický stav často spojený se vznikem morfologického či funkčního poškození mozku. Na vzniku funkčního poškození včetně možného vzniku epilepsie se kromě jiných molekulárních a celulárních změn mohou podílet i změny neurotransmiterových systémů v mozku, především změny ve struktuře a počtu receptorů. Charakter těchto změn závisí na věku, intervalu po SE, mozkové struktuře a typu neurotransmiteru. V naší studii jsme sledovali změny dvou funkčně spojených transmitterových systémů GABAergního a opiodního. S pomocí autoradiografie byly sledovány změny vazby benzodiazepinových (BZD) a  $\mu$ -opiodních receptorů u 12ti (P12), 25ti (P25) denních a dospělých potkanů týden a 3 měsíce po chemicky vyvolaném SE v 27 strukturách mozku, zahrnujících oblasti korové, thalamické i temporální. Naše studie dokazuje, že 1 týden po SE je BZD vazba zvýšena u mládřat potkana (P12 a P25) ve většině oblastí mozku, zatímco u dospělých jedinců se v tomto intervalu neliší od kontrol i přes rozsáhlou ztrátu neuronů, která je v této době patrná v mnoha oblastech mozku. Tři měsíce po SE dochází k poklesu vazby ve všech oblastech mozku dospělých a P25 zvířat, u 12denních zůstávají hodnoty na kontrolní úrovni. Opioidní receptory jsou ovlivněny méně. Zjištěna byla pouze výrazná tendence ke snížení vazby v korových a thalamických oblastech a amygdale dospělých zvířat týden po SE. U mládřat byly změny méně výrazné. Změny nalezené v BZD vazbě korelují se změnami ve struktuře receptorů, popsané jinými autory a podporují hypotézu, že se věkově vázané změny receptorů, vyvolané SE, mohou podílet na rozdílných funkčních důsledcích SE včetně vzniku epilepsie a poruch chování či paměti. (Rocha L., Suchomelová L., Mareš P., Kubová H.: *Effects of LiCl/pilocarpine-induced status epilepticus on rat brain mu and benzodiazepine receptor binding: regional and ontogenetic studies*. *Brain Res.* 1181: 104-117, 2007 (IF 2,341)).

Učebnicové obrázky mitochondrií, tj. organel transformujících energii i řídicích molekulární fyziologii buněk, dosud ukazují izolované ledvinovité útvary brázděné vnitřními membránami (kristami). Po dvě dekády je však známo, že u většiny buněk (s výjimkou axonů, retiny, aj.) mitochondrie vytváří síť, dynamicky měněnou dezintegrací a fúzí, na nichž se podílejí proteiny tzv. mitodynaminy. Morfologie této sítě závisí na bioenergetice a patogeneze, čímž může představovat velmi

elegantní, byť invazivní diagnostiku. Ve spolupráci oddělení Biofyziky membránového transportu FGÚ, Inst. Molecular Biophysics, The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, USA, a Leica Microsystems, Mannheim, SRN byla tato síť a její změny při simulovaných patologických stavech studována pomocí unikátní 4Pi mikroskopie, mikroskopie prostorového úhlu, na jejíž konstrukci se Dr. Bewersdorf podílel. Byly získány světově prioritní výsledky a poprvé 3D zobrazení savčích mitochondrií s rozlišením 100 nm, ukazující, že v modelových buňkách beta buněk pankreatu INS-1E secernujících inzulin existuje v podstatě jediná propojená velmi hustá mitochondriální síť s tubuly o téměř unifikovaném průměru 260 nm (klasická konfokální mikroskopie dala artefakty - hodnoty až 4krát vyšší). Při nedostatku autokrinního insulínu se část tubulů změnila v objemnější cisterny. Fragmentace sítě nastala při inhibování respirace (dýchání) rotenonem (odštěpeny krátké segmenty a ~300 nm kulovité útvary), při odpražení tj. dissipací energie (navíc se tvořily prstence), či obou těchto manipulací (navíc se vytvořily zespojující prstence, „popelníky“). Zjištění nových morfologických útvarů svědčí o funkci pro-fúzních mitodynaminů i při dezintegraci sítě a poukazuje na nutnost 3D mikroskopie s vysokým rozlišením pro studium mitochondriální sítě. (Hlavatá L., Lessard M., Šantorová J., Bewersdorf J., Ježek P.: *Mitochondrial oxidative phosphorylation and energetic status as reflected by morphology of mitochondrial network in INS-1E and HEP-G2 cells viewed by 4Pi microscopy. In press (zvaný článek) Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics) (IF 4,237)*).

#### **IV. Hodnocení další a jiné činnosti:**

FGÚ AV ČR, v.v.i. se věnoval své hlavní činnosti.

#### **V. Informace o opatřeních k odstranění nedostatků v hospodaření a zpráva, jak byla splněna opatření k odstranění nedostatků uložená v předchozím roce:**

V roce 2006 proběhla kontrola o hospodaření pracovníky Kontrolního odboru Kanceláře AV ČR. Zjištěné nedostatky byly charakterizovány jako minimální s tím, že vedení ústavu přijme opatření k jejich odstranění. Nedostatky se týkaly následujících bodů k jejichž odstranění v průběhu roku 2007 přijalo vedení příslušná opatření.

### ***1. Uzavírání dohod o hmotné odpovědnosti***

Dbá se, aby se zaměstnanci, kterým organizace poskytne jednorázovou zálohu, byla uzavírána dohoda o hmotné odpovědnosti.

### ***2. Pracovní cesty a jejich vyúčtování***

Při vyúčtování tuzemských a zahraničních cest se dbá, aby bylo postupováno podle ZP. Byla přijata opatření, aby vědečtí pracovníci zodpovědně vyplňovali tiskopis pro vyúčtování pracovní cesty a rovněž byli důrazně upozorněni na včasné vyúčtování cest.

### ***3. Hospodaření s majetkem***

#### Evidenze a účtování dlouhodobého majetku

Dbá se, aby bylo postupováno podle příslušných ustanovení zákona o účetnictví

#### Inventarizace majetku a závazku

Dbá se, aby inventarizace proběhla vždy v termínu a byla provedena dokladová inventura.

### ***4. Projekty výzkumu a vývoje***

Při hospodaření s grantovými prostředky se důsledně dbá na dodržování rozpočtových pravidel ČR, zákona o účetnictví a grantových pravidel příslušných grantových agentur. Zaměstnanci byli seznámeni s výsledky kontroly a znovu upozorněni na povinnost čerpat finanční prostředky pouze k účelům, na které byly poskytnuty.

### ***5. Fungování vnitřního kontrolního systému***

Je zajišťováno lepší fungování vnitřní kontroly a to na všech stupních řízení, aby nedocházelo k dalším nedostatkům v jednotlivých oblastech činnosti ústavu.

## **VI. Finanční informace o skutečnostech, které jsou významné z hlediska posouzení hospodářského postavení instituce a mohou mít vliv na její vývoj:**

Účetní jednotka nepoužívá investiční instrumenty ani další obdobná aktiva a pasiva. Neexistují tedy skutečnosti, které jsou významné z hlediska posouzení hospodářského postavení instituce a které by mohly mít vliv na její vývoj.

## **VII. Předpokládaný vývoj pracoviště:**

Vývoj činnosti ústavu v následujících letech se nemůže výrazně odchýlit od základní činnosti definované ve Zřizovací listině a dané Výzkumným záměrem. V průběhu řešení výzkumného záměru během posledních let byla získána řada významných výsledků, které by měly být dále analyzovány i v příštích letech. Jedná se především o studium mechanismů podílejících se na vzniku řady společensky závažných chorob (epilepsie, obezity, hypertenze, ischemické choroby srdeční, Alzheimerovy demence, apod.). Specifickým rysem bude studium většiny uvedených patofyziologických změn ve vývojovém kontextu se zvláštním zřetelem k možnému poškození organismu v ranných fázích ontogenetického vývoje. Dále bude pokračovat rozpracovávání výsledků získaných v oblasti chronobiologie, studia paměti a bolesti, energetického metabolismu ale i neurohumorálních regulací a molekulárních mechanismů přenosu signálů. I nadále bude snahou ústavu podporovat výzkum v oblasti aplikací a to hledání nových materiálů pro cévní a kostní náhrady, hledání nových postupů při aplikaci protinádorových léčiv a spolupráce v oblasti využití rybích olejů v prevenci obezity. Hlavními výstupy budou vědecké publikace v mezinárodních časopisech, prezentace na domácích a mezinárodních sympoziích a kongresech a popularizační články v odborném tisku.

Nedílnou součástí činnosti ústavu bude spolupráce s vysokými školami v pregraduální výuce i v doktorských studijních programech. Bude pokračovat úsilí pracovníků popularizovat vědu ať už formou vědeckých sympozií, tak i účastí v diskusních pořadech či formou popularizačních článků ve sdělovacích prostředcích. I nadále bude ústav hlavním garantem školení stědoškoláků a vysokoškoláků pro práci s laboratorními zvířaty ve smyslu zákona na ochranu zvířat proti týrání a navazující legislativy EU.

Vedení ústavu ve spolupráci s příslušnými vědeckými odděleními bude pokračovat v úsilí o vybudování pracoviště, které by získalo akreditaci k provádění testací léčiv a chemických látek. Vzhledem k tomu, že je nutné splnit přísné legislativní požadavky, má tento úkol dlouhodobější charakter.

## **VIII. Aktivity v oblasti ochrany životního prostředí:**

Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i. se podílí na třídění odpadu v rámci areálu Krč a jako každý rok i v roce 2007 předal Odboru životního

prostředí v Praze 4 informaci o nakládání s odpady. Ústav ve spolupráci se specializovanými firmami kromě běžných odpadů zajišťuje sběr a recyklaci dalších nebezpečných odpadů jako např.:

- použité baterie
- roztoky vývojek a aktivátorů
- roztoky ustalovačů
- zdravotní odpad
- etidium bromid
- injekční jehly
- skleněné lahve od chemikálií
- rozpouštědla
- teploměry a další odpad s obsahem rtuti
- lednice a mrazáky

a různé druhy chemikálií.

## **IX. Aktivity v oblasti pracovněprávních vztahů:**

- pro vlastní potřebu i pro potřebu dalších vědeckých pracovišť vyhledáváme a vychováváme jako školící pracoviště, zejména ve spolupráci s vysokými školami, vysoce kvalifikované vědecké pracovníky
- vytváříme vhodné pracovní podmínky pro zaměstnávání mladých vědeckých pracovníků, dále cizinců jak z Evropské unie, tak z třetích zemí
- umožňujeme vědeckým pracovníkům, kteří jsou již delší dobu ve starobním důchodu se i nadále věnovat vědě (emeritní člen)
- umožňujeme trvalé zvyšování kvalifikace
- zajišťujeme preventivní zdravotní péči
- dbáme o bezpečnost a ochranu zdraví zaměstnanců
- umožňujeme mladým vědeckým pracovníkům, kteří se vrací z dlouhodobého pracovního pobytu v cizině a mají zájem pracovat v FGÚ, vybudování vlastního oddělení.

razítko

podpis ředitele FGÚ AV ČR, v.v.i.

**Přílohou výroční zprávy je účetní závěrka a zpráva o jejím auditu**