

NABÍDKOVÝ LIST

Biomedicínské centrum Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy v Praze



Odborné zaměření

Biomedicínské centrum je novým ústavem Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy v Praze zaměřeným na výzkum v oblasti náhrady a podpory funkce životně důležitých orgánů. Výzkumná činnost centra je rozdělena do 2 výzkumných programů, které se ovšem v jednotlivých projektech prolínají a doplňují. Výzkumný program 1 „Náhrada a podpora funkce životně důležitých orgánů“ se obecně zaměřuje na výzkum mechanismů poškození životně důležitých orgánů a na základě nových poznatků o etiopatogenezi těchto poškození vývoj nových a zdokonalení stávajících preventivních, diagnostických a terapeutických opatření. Výzkumný program 2 „Regenerace a reparace životně důležitých orgánů“ usiluje o podobné cíle prostřednictvím široce pojatého výzkumu vlastností kmenových buněk včetně nádorových a jejich potenciálního využití pro tkáňovou terapii, regeneraci a reparaci tkání, embryogenezi a in vitro fertilizaci i personalizovanou léčbu onkologických onemocnění. Výzkum probíhá v duchu translační medicíny a zahrnuje celou škálu výzkumných postupů od molekulárních a preklinických studií na vhodných biomodelech až ke klinickým pracím.

Centrum zahrnuje celou řadu specializovaných pracovišť s různým zaměřením:

Centrum pro klinický výzkum cévních a srdečních onemocnění (prevence, klinická fyziologie a farmakologie cévních a srdečních nemocí).

Biofyzikální laboratoř (problematika ovlivňování, měření a regulace fyzikálních veličin, a to hlavně teploty a tlaku. Aplikovaný výzkum zaměřený převážně na vývoj a prototypové konstrukce přístrojové techniky převážně se zaměřením na zdravotnické a laboratorní aplikace).

Laboratoř všeobecné biochemie a hematologie (biochemická analýza biologických vzorků, hematologická vyšetření).

Experimentální kardiologie (fyziologie a patofyziologie srdeční činnosti v různých experimentálních zvířecích modelech na více úrovních biologické komplexity od měření in vivo po molekulární úroveň).

Laserová mikrodisekce (identifikace a následná izolace jednotlivých buněk z tkáňových řezů či buněčných kultur. Zpracování čerstvých vzorků i archivních preparátů zalitých médiiem. Izolace konkrétních buněk z heterogenních buněčných kultur a následná kultivace).

Mitochondriální laboratoř (hodnocení respirační aktivity mitochondrií v izolovaném stavu nebo in situ, tj. v chemicky nebo mechanicky permeabilizované tkáni a v izolovaných buňkách. Analýza aktivity jednotlivých komplexů mitochondriálního respiračního systému).

Laboratoř neurodegenerativních poruch (testování motorických a kognitivních funkcí, excitability, anxiety a exploračního chování u laboratorních myší. Neurotransplantace).

Stomatologická experimentální laboratoř (výzkum nových stomatologických materiálů a postupů. Hodnocení buněčných interakcí tkáně a implantovaného materiálu).

Experimentální neurofyzilogie (registrace a analýza mozkové aktivity u zvířecích a případně lidských modelů, především vztah mezi aktivitou jednotlivých neuronů či jejich populací, EEG a chováním v kognitivních testech).

Genomika (studium nádorových onemocnění s využitím molekulárně biologických metod. Analýza nukleových kyselin izolovaných z buněčných kultur, čerstvých i zmražených tkáňových vzorků a z parafinových bločků).

Kvantitativní histologie (vyhodnocování histopatologie tkáňových bločků pomocí spojených kvantitativních proměnných, což v kombinaci se systematickým a nestranným vzorkováním orgánů, tkáňových bločků a řezů umožňuje porovnávat skupiny vzorků pomocí standardních statistických postupů).

Buněčná a molekulární biologie (izolace a kultivace různých buněčných typů, studium interakce buněk s bio-materiály a možnosti diferenciací kmenových buněk. Vývoj nových materiálů, metodik a technologií pro účely regenerativní medicíny).

Proteomika (vyšetřování komplexních proteinových směsí, včetně lidských a zvířecích tkání a tělních tekutin resp. jejich derivátů, pomocí proteomické technologie. Zkušenost se zpracováním a identifikací reálných klinických vzorků, především uremické krevní plazmy, dialyzátu/ultrafiltrátu uremické krevní plazmy a biofilmu dialyzační membrány).

Experimentální pracoviště intenzivní medicíny (komplexně vybavené experimentální pracoviště intenzivní medicíny. Objasnění mechanismů akutního orgánového poškození, identifikace a testování nových léčebných cílů a molekul a testování účinnosti, bezpečnosti a analýza mechanismů nových metod náhrady a podpory funkce orgánů. Využívání dlouhodobých, klinicky relevantních biomodelů).

Transplantace ledvin, náhrada funkce ledvin (výzkum infekčních komplikací a jejich prevence u pacientů po transplantaci ledviny. Biokompatibilita dialyzátorů a dialyzačních roztoků, antikoagulační léčba v průběhu procedury. Randomizované studie).

Laboratoř preklinických studií (vývoj vhodných zvířecích biomodelů).

Nabízené služby

Biomedicínské centrum nabízí širokou škálu služeb v oblasti biomedicínského výzkumu a testování formou projektů spolupráce nebo smluvního výzkumu. Nabízené služby jednotlivých pracovišť zahrnují:

Centrum pro klinický výzkum cévních a srdečních onemocnění

provádění screeningových vyšetření a longitudinálních sledování nemocných s rizikem kardiovaskulárních onemocnění; genetické studie rizikových jedinců; provádění farmakologických studií v kardiovaskulární oblasti (fáze II - IV); výzkum různých aspektů krevního tlaku a hypertenze; výzkum vlastností tepenného systému za použití neinvazivních metod: měření tuhosti tepenného systému a endoteliální dysfunkce; výzkum biologických markerů.

Biofyzikální laboratoř

Poradenské služby při vývoji přístrojové techniky se zaměřením na zdravotnické a laboratorní aplikace, hlavně v oblasti ovlivňování teploty a tlaku; zakázkový vývoj a konstrukce prototypů vybrané přístrojové techniky se zaměřením na zdravotnické a laboratorní aplikace; testování, ověřování, zatěžování přístrojů, biologických, potravinářských a jiných materiálů v klimatické skříni; technická endoskopie do vzdálenosti 3m a od průměru 4mm; měření UZ tloušťkoměrem; měření vlastností materiálů – pevnost v tahu a tlaku; přímá radiografie – prosvěcování malých předmětů do velikosti cca 10 cm RTG zářením 10 – 35kV; přímá radiografie – prosvěcování malých předmětů do

velikosti cca 3 cm RTG zářením 60, 70kV; měření absolutní a relativní density transparentních materiálů s různým stupněm šedi.

Laboratoř všeobecné biochemie a hematologie

Rutinní i speciální biochemické analýzy (substráty, enzymy, minerály); vyšetření krevního obrazu včetně pětipopulačního diferenciálního rozpočtu leukocytů; základní i speciální hemokoagulační vyšetření; kvantitativní stanovení biomarkerů ve velmi nízkých koncentracích (cytokiny, adhezni molekuly, biomarkery orgánového poškození, markery oxidačního stresu, hormony aj.) metodou ELISA ve vzorcích humánního i zvířecího biologického materiálu.

Experimentální kardiologie

Vývoj experimentálních modelů a analýza srdeční činnosti; popis srdeční činnosti (EKG včetně analýzy variability měřené in vivo nebo v izolovaném srdci, měření kontrakce a membránového napětí v multicelulárním preparátu, měření membránových proudů v izolovaných kardiomyocytech). Popis a analýza srdečních účinků látek. Farmakologické účinky testovány in vivo, v izolovaném srdci, v multicelulárním srdečním preparátu, v izolovaných kardiomyocytech. Různé druhy experimentálních zvířat (potkan, králík, prase). Testování srdeční bezpečnosti látek; analýza kontraktálních, elektrofyziologických a možných proarytmických účinků.

Laserová mikrodisekce

Nabarvení řezů běžnými histologickými barvivy; disekce vybraných buněk z řezu a jejich přenesení do mikroskopavky, následná izolace nukleových kyselin; sterlní disekce živých buněk z tkáňových kultur pro následné kultivace; vyhotovení fotodokumentace celého procesu mikrodisekce pro každý vzorek.

Mitochondriální laboratoř

Izolace mitochondrií z čerstvé tkáně a buněk, optimalizace postupů pro izolaci mitochondrií z různých tkání, kontrola kvality organel; příprava postupů pro optimální permeabilizaci a homogenizaci tkáně pro oxygrafii; analýza mitochondriální respirační aktivity biologického materiálu vysokoúčinnou respirometrií; stanovení aktivity vybraných mitochondriálních enzymů; stanovení vlivu experimentálně navozených patologických stavů a farmak na mitochondriální respirační parametry ve studiích na zvířatech. Analýza mitochondriální aktivity čerstvě odebraných lidských buněk (trombocytů, spermií) nebo buněčných linií lidských buněk.

Laboratoř neurodegenerativních poruch

Testování vlivu chemických látek včetně léčiv na nervové funkce; provedení motorických a behaviorálních testů; aplikace kmenových buněk a látek do myšího mozku in vivo.

Stomatologická experimentální laboratoř

Návrh optimálních postupů při testování nových implantabilních materiálů; zavedení určených implantátů do tkáně testovaného subjektu a management pooperační fáze a období vhojování; odběr vzorků tkáně potřebných pro zhotovení histologických preparátů.

Experimentální neurofyziologie

Registrace extracelulárně snímané aktivity jednotlivých neuronů a jejich populací chronicky implantovanými mikroelektrodami; EEG snímané zanořenými či povrchovými elektrodami; paměťové úlohy u zvířecích modelů. Analýza vztahu aktivity EEG a jednotlivých neuronů k různým typům chování (spánek, lokomoce, kognitivní testy); komplexní EEG analýza; vyhodnocení paměťových testů.

Genomika

Konzultace designu experimentu a pomoc s výběrem vhodné metodiky; návrh postupu včetně časové a finanční rozvahy; izolace nukleových kyselin z různých typů buněk; izolace nukleových kyselin z tkání zmražených i v podobě parafinových bločků; stanovení relativní genové exprese a porovnání expresního profilu mezi požadovanými vzorky/skupinami vzorků; detekce jednonukleotidových polymorfismů a mutací.

Kvantitativní histologie

zhotovení histologických preparátů z dodaných tkáňových bločků v rozsahu přehledných barvení a imunohistochemie; hledání vhodných spojitých proměnných použitelných pro morfometrii biologické otázky dle zadání partnerského výzkumného týmu; testování variability mezi různými částmi dodaných biologických vzorků (porovnání tkáňových bločků z velkých orgánů, porovnání sériových řezů z týchž bločků); provedení pilotní studie a návrh optimální strategie vzorkování vyšetřovaných orgánů pro histologickou analýzu při maximální efektivitě výroby preparátů a současně únosnou mírou vzorkovací chyby; kvantitativní stereologická analýza dodaných histologických řezů biologickými vzorky v oblasti mikroskopie světlého pole, počítání mikroskopických objektů, měření délek, ploch, objemů, hodnocení mikrovazální hustoty, plošných a objemových podílů vícefázových struktur, tortuozity vláknitých struktur, shlukování objektů; kvantitativní stereologická analýza dodaných mikrofotografií libovolných mikroskopických objektů - biologických tkání, anorganických materiálových vzorků, vláken apod.; základní statistické vyhodnocení kvantitativních dat z histologické morfometrie.

Buněčná a molekulární biologie

Izolace a kultivace primárních buněk z různých tkání; kultivace komerčně dostupných buněčných linií; měření buněčné proliferace a viability; testování cytotoxicity látek; testování imunogenicity látek; testování biokompatibility materiálů; testování buněčné adheze a migrace na bio-materiálech; fluorescenční a konfokální mikroskopie včetně sledování buněk v reálném čase; sledování proteinové exprese pomocí metody ELISA a Luminex; transformace eukaryotických buněk – transfekce, elektroporace; Analýza obrazu (měření počtu, délek, ploch, úhlů objektů, prahování objektů, skládání do velkého obrazu).

Proteomika

příprava biologického materiálu k proteomické identifikaci; jednorozměrná elektroforéza proteinových směsí na polyakrylamidovém gelu; dvourozměrná elektroforéza proteinových směsí na polyakrylamidovém gelu; diferenční elektroforéza na polyakrylamidovém gelu (DIGE); pořizování obrazů gelů ve viditelném a UV spektru; analýza obrazů gelů včetně statistického hodnocení; identifikace proteinů tandemovou hmotnostní spektrometrií; analýza biofilmu implantabilních systémů a extrakorporálních okruhů.

Experimentální pracoviště intenzivní medicíny

Nezávislé testování účinnosti a bezpečnosti perspektivních léčebných molekul; nezávislé testování účinnosti a bezpečnosti perspektivních metod náhrady a podpory funkce orgánů. Rychlé poskytnutí vysoce kvalitních proof-of-concept výsledků. Poradenství při tvorbě designu experimentálních studií. Tvorba protokolů experimentální studie. Konzultace při vývoji a volbě experimentálního modelu.

Transplantace ledvin, náhrada funkce ledvin

Vypracování designu a návržení metodiky klinických studií v oblasti virových infekcí po transplantaci ledviny, biokompatibilitě dialyzačních membrán a roztoků pro peritoneální dialýzu, antikoagulační léčby pro hemodialýzu a infekčních komplikací u hemodialyzované populace. Posouzení biokompatibility dialyzačních membrán. Molekulárně biologická diagnostika cytomegalovirové a polyomavirové infekce v krvi a tkáních. Stanovení rezistence cytomegaloviru k antivirovým přípravkům.

Laboratoř preklinických studií

Vývoj vhodných zvířecích biomodelů. Experimentální zvířata: prase, králík, potkan, myš.

Dosažené výsledky, reference a příklady spolupráce

Kompletní výčet dosažených výsledků je nad rámec stručného nabídkového listu. Pracovníci Biomedicínského centra se podílejí ročně na desítkách impaktovaných publikací, účastní se řady projektů národních i mezinárodních, získali národní i zahraniční (USA) patenty, certifikovali metody.

Vybrané výstupy:

Publikace:

- Seidlerová J, Filipovský J, Mayer O, Wohlfahrt P, Cífková R. Positive effects of antihypertensive treatment on aortic stiffness in the general population. *Hypertens Res.* 2014; 37, 64–68.
- Růžička J, Štengl M, Bolek L, Beneš J, Matějovič M, Kroužecký A. Hypothermic anticoagulation: testing individual responses to graded severe hypothermia with thromboelastography. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2012; 23:285-289
- Stengl M, Ledvinova L, Chvojka J, Benes J, Jarkovska D, Holas J, Soukup P, Svirglerová J, Matejovic M. Effects of clinically relevant acute hypercapnic and metabolic acidosis on the cardiovascular system: an experimental porcine study. *Crit Care* 2013; 17:R303.
- Farar V, Mohr F, Legrand M, Lamotte d'Incamps B, Cendelin J, Leroy J, Abitbol M, Bernard V, Baud F, Fournet V, Houze P, Klein J, Plaud B, Tuma J, Zimmermann M, Ascher P, Hrabovska A, Myslivecek J, Krejci E: Near-complete adaptation of the PRiMA knockout to the lack of central acetylcholinesterase. *J. Neurochem.* 2012; 122: 1065-1080.
- Rose T, Schoenenberger P, Jezek K, Oertner TG. Developmental Refinement of Vesicle Cycling at Schaffer Collateral Synapses. *Neuron* 2013;77:1109-1121.
- Ehrlichova M, Mohelnikova-Duchonova B, Hrdy J, Brynychova V, Mrhalova M, Kodet R, Rob L, Pluta M, Gut I, Soucek P, Vaclavikova R. The association of taxane resistance genes with the clinical course of ovarian carcinoma. *Genomics.* 2013; 102:96-101.
- Mohelnikova-Duchonova B, Brynychova V, Hlavac V, Kocik M, Oliverius M, Hlavsa J, Honsova E, Mazanec J, Kala Z, Melichar B, Soucek P. The association between the expression of solute carrier transporters and the prognosis of pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2013; 72:669-82.
- Houdek K, Moláček J, Třeška V, Křížková V, Eberlová L, Boudová L, Nedorost L, Tolinger P, Kočová J, Kobr J, Baxa J, Liška V, Witter K, Tonar Z. Focal histopathological progression of porcine experimental abdominal aortic aneurysm is mitigated by atorvastatin. *Int Angiol.* 2013;32: 291-306.
- Hubalek Kalbacova M, Verdanova M, Broz A, Vetushka A, Fejfar A, Kalbac M, Modulated surface of single-layer graphene controls cell behavior. *Carbon* 2014.
- Molacek J, Mares J, Treska V, Houdek K, Baxa J: Proteomic analysis of the abdominal aortic aneurysm wall. *Surg Today* 2014, 44:142-151.
- Reischig T, Hribova P, Jindra P, Hes O, Bouda M, Treska V, Viklicky O. Pre-emptive valganciclovir therapy compared with valacyclovir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus: 4- year results of a randomized trial in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2012, 23(9): 1588-97.

Patenty:

- Růžička J, Petránková Z, Beneš J, Bolek L, Kroužecký A, Sýkora R, Matějovič M. Method to suppress blood coagulation in the circuit of the device substituting the kidney function and apparatus realizing this method . US patent 8,529,489 B2
- Bolek L, Dejmeck J, Růžička J, Beneš J, Petránková Z. Tepelný výměník s laminarizérem. CZ patent 303190.

Metodiky:

- Testování tepelného výměníku s laminarizérem. TUV SŮD

06.845.412

Měření koagulačních vlastností krve v závislosti na její teplotě pomocí tromboelastografie. TUV SÜD
06.800.604

Hodnocení osteointegrace implantabilních materiálů použitím metodiky výpočtu BIC. TUV SÜD
Czech 06.383.190.

Biomedicínské centrum spolupracuje s řadou společností v rámci projektů spolupráce i smluvního výzkumu, např. AM-Pharma B.V., Fresenius Medical Care, Medites Pharma, Asahi Kasei, BBraun, CB Bio, Nanoprogress, Areko, Comtes FHT, Genetika Plzeň, Contipro, Vivocell Foundation. Vedle komerčního sektoru pracovníci centra spolupracují s řadou národních i zahraničních akademických partnerů (např. Západočeská univerzita, IKEM, University of Utrecht, University of Giessen, NTNU Trondheim a další).

Kompletnější informace jsou k dispozici na webových stránkách Biomedicínského centra
<http://www.biomedic-plzen.cz>.

Kontaktní osoba

Jméno: doc. MUDr. Milan Štengl, Ph.D.

Název instituce: Biomedicínské centrum Lékařské fakulty v Plzni Karlovy univerzity v Praze

E-mail: milan.stengl@lfp.cuni.cz

Tel.: (+420) 377 593 345

Web: <http://www.biomedic-plzen.cz>