

INFORMAČNÍ LISTY



Zápis ze schůze výboru Genetické společnosti Gregora Mendela, z.s., konané dne 8.12.2016 v Brně

Přítomni: Doškař, Holá, Mašek, Miadoková, Nešvera, Slaninová, Relichová, Šeda, Šmarda, Tomáška, Zadražil

Omluveni: Čellárová, Kočová, Knoll, Zelený

Program schůze:

1. Informace o činnosti společnosti od minulé schůze
2. Projednání záležitostí spojených s registrací spolku (sídlo spolku a s tím související povinnosti).
3. Informace o konečné podobě, procesu schvalování a registraci nových stanov
4. Zhodnocení náplně posledního čísla IL a projednání obsahu dalších čísel
5. Informace o stavu členské základny
6. Zhodnocení 2. ročníku Edukačního semináře a projednání případných návrhů na další podobně zaměřené akce
7. Plán akcí GSGM na další období
8. Různé

ad 1) Schůzi zahájil prof. Doškař stručnou zprávou o činnosti GSGM za období od minulé schůze. Hlavní akcí bylo uspořádání Edukačního semináře 26.5.2016 v Mendelově muzeu v Brně (viz dále bod 6), dále bylo zorganizováno hlasování o změně stanov spolku (viz dále bod 3) a proběhla jednání s vedením Masarykovy univerzity (MU) o administrativních záležitostech spojených se sídlem GSGM (viz dále bod 2).

ad 2) Prof. Doškař informoval členy výboru o důvodech, proč potvrzení stávající korespondenční adresy/sídla GSGM ze strany MU nabralo určité zpoždění. Konstatoval nicméně, že v posledních dnech došlo k pozitivnímu posunu v těchto jednáních a v nejbližší době očekává od vedení MU potvrzení všech nezbytných dokumentů souvisejících s touto záležitostí, které poté do konce roku 2016 předá na příslušné úřední orgány (podle zákonné povinnosti). Informoval také, že očekávaný poplatek MU za použití stávajícího sídla spolku by neměl převýšit 5000 Kč, což společnost momentálně finančně nijak zvláště nezatíží. Navrhl nicméně, že zahájí předběžná jednání s ředitelem Mendelova muzea v Brně, Dr. Dostálem, o případné možnosti přesunout sídlo GSGM do této instituce. Přítomní členové výboru s návrhem souhlasili.

ad 3) Dr. Holá v zastoupení nepřítomné dr. Kočové informovala výbor o průběhu schvalování nové podoby stanov GSGM, které společně připravily. V souladu s dosud platnými stanovami proběhly všechny příslušné kroky, různé pozměňovací návrhy předložené členy GSGM byly do nové podoby stanov zapracovány, stanov byly předloženy valnému shromáždění GSGM, které je 26.5.2016 na svém usnášeníschopném jednání schválilo, a poté byly předloženy plénu GSGM. Dr. Kočová a doc. Slaninová zorganizovaly hlasování o jejich schválení/neschválení v české, resp. slovenské části pléna společnos-

ti. Celkem pro novou podobu stanov hlasovalo 74 členů ze 123, což je 60,2 %, proti nehlasoval žádný člen GSGM. Nová podoba stanov GSGM tedy byla právoplatně schválena a tyto stanovy nabývají platnosti dnem 1.1.2017.

ad 4) Prof. Doškařem byla pozitivně hodnocena vysoká úroveň grafické podoby posledního čísla IL. Prof. Šmarda informoval o přípravě nadcházejícího čísla, pro které má již připraveno nebo přislíbeno několik příspěvků (jeden autoreferát obhájené doktorské dizertační práce z MU, informace o akcích pořádaných Mendelianem, které během uplynulé části roku proběhly, od dr. Matalové). Zveřejněn bude i seznam všech členů GSGM, dále oznámení o soutěži GSGM, která bude vypsána po dohodě s dr. Zeleným v souvislosti s pořádáním pravidelné konference GSGM, která se uskuteční v r. 2018 v Bratislavě (viz dále bod 8), oznámení o konání třetího ročníku Edukačního semináře (viz dále bod 7) a oznámení o očekávaném novém vydání českého překladu vysokoškolské učebnice genetiky (viz dále bod 8). Prof. Doškař kromě toho oslovil dr. Dostála z Mendelova muzea v Brně s žádostí o krátký příspěvek na téma akcí pořádaných tímto muzeem v uplynulém období, případně i stručné historie vzniku Mendelova muzea. Prof. Šmarda zároveň požádal přítomné členy výboru a redaktory IL o další příspěvky (byly přislíbeny další autoreferáty z PŘF, resp. LF UK v Praze, případně PriF UK v Bratislavě, dále „perličky ze školních lavic“ na základě zkoušek z genetiky na PŘF UK v Praze). Všechny příspěvky budou dodány do konce roku 2016.

ad 5) Výbor byl informován o aktuálním stavu členské základny a bylo konstatováno, že seznam členů GSGM zveřejněný na webových stránkách společnosti je k datu 8.12.2016 aktuální. Od minulé schůze byla výboru doručena jedna nová přihláška z ČR za člena společnosti, kterou podal ing. Svatopluk Kovařík. Výbor tuto přihlášku jednomyslně schválil a bude zajištěno zařazení nového člena do databáze. Doc. Slaninová rámcově informovala o některých změnách členské základny GSGM v SR, aktualizaci seznamu nových členů připraví ve spolupráci s dr. Kočovou.

ad 6) Prof. Doškař velmi pozitivně zhodnotil 2. ročník Edukačního semináře, který proběhl 26.5.2016 v Mendelově muzeu v Brně a který po organizační stránce ve spolupráci s ředitelem tohoto muzea, dr. Dostálem, zorganizoval prof. Tomáška. Kromě výborné úrovně semináře po obsahové stránce velmi pozitivně zhodnotil i jeho celkový bezproblémový průběh včetně zajištění občerstvení a organizace obědové pauzy. Všichni účastníci tohoto semináře byli s jeho průběhem spokojeni. Prof. Tomáška konstatoval, že některé poznatky a závěry, které ze semináře vyplynuly, se na PriF UK v Bratislavě již snaží zavádět do praxe a implementovat do příslušných studijních plánů.

ad 7) V návaznosti na předchozí bod prof. Doškař informoval o konání třetího ročníku Edukačního semináře pořádaného GSGM, opět ve spolupráci s Mendelovým muzeem. Datum konání tohoto semináře je již dohodnuto na pátek 26.5.2017. Poté předal slovo prof. Tomáškoví, který informoval o tom, že třetí ročník tohoto semináře by měl být zaměřen na doktorské studium genetiky a příbuzných oborů na různých univerzitách v ČR a SR. Zazněly různé náměty na obsahovou náplň semináře (je doktorské studium skutečně třetím stupněm vzdělávání nebo jen výzkumnou prací?, kurzy či letní školy pořádané specificky pro doktorandy, kritéria používaná při státních doktorských zkouškách, podoba doktorské dizertační práce, další podmínky, které musejí studenti splnit před

získáním titulu Ph.D. – jazyková zkouška, zahraniční stáže ..., maximální doba studia a případné poplatky spojené s nadstandardní dobou studia, zkušenosti doktorských studentů se získáváním vlastních grantů, s pobytem v zahraničí, atd.). Prof. Tomáška přislíbil, že vytvoří souhrn předběžných námětů tohoto typu a rozešle je kontaktním osobám na různých vysokých školách, které se aktivně účastnily již minulých ročníků edukačního semináře. Poté dojde k dalšímu upřesnění obsahové náplně semináře a konkrétních osob, které na něm vystoupí. Opět by se mělo jednat o dva bloky, dopolední (ze strany „organizátorů“ doktorského studia) a odpolední (ze strany studentů).

ad 8) Prof. Zadražil navrhl udělit čestné členství v GSGM dr. Anně Matalové za značné zásluhy o propagaci Mendelova jména. Prof. Šmarda přislíbil, že tento návrh s dr. Matalovou projedná a pokud bude její odezva kladná, výbor přistoupí k hlasování o udělení čestného členství podle platných stanov GSGM.

Prof. Miadoková požádala výbor GSGM o uvolnění z funkce, nahradí ji dr. Ševčovičová. Tento návrh byl přítomnými členy výboru jednomyslně schválen.

Prof. Tomáška informoval o tom, že konference GSGM v r. 2018 se bude velmi pravděpodobně konat v září. Zároveň informoval i o tom, že 13.12.2016 na PrF UK v Bratislavě proběhne nultý ročník nové ceny určené na podporu genetiky v SR, tzv. Ceny dr. Sedlárové-Rabanové. Tuto cenu finančně podporuje manžel této (bohužel již zesnulé) významné osobnosti slovenské genetiky.

Dr. Mašek navrhl, aby podmínky soutěže o cenu GSGM byly rozšířeny o povinnost žadatelů napsat krátký příspěvek (ať už formou stručného literárního přehledu typu „vzhled do daného oboru“ nebo informací o průběhu vlastního výzkumu) o výzkumném tématu, kterému se věnují, do IL GSGM. Dr. Holá navrhla otevřít soutěž i nečlenům GSGM, dr. Mašek tento návrh doplnil o podmínku afiliace žadatele k některému pracovišti v ČR nebo SR. Oba návrhy byly přítomnými členy výboru schváleny a prof. Šmarda podle toho upraví informaci o vyhlášení soutěže v prosincovém čísle IL 2016.

Prof. Relichová informovala o tom, že brněnský kolektiv připravuje překlad 7. vydání Snustadovy Genetiky (tj. 2. české přepracované vydání), což bylo řadou přítomných členů výboru komentováno velmi pozitivně. Vydání se závazně očekává na jaře r. 2018, je možné, že by případný křest knihy mohl být spojen i s pořádáním 3. ročníku edukačního semináře, ale to bude nutné ještě upřesnit.

Prof. Doškař požádal přítomné členy výboru o informace o různých akcích, které by členy společnosti mohly zajímat; tyto informace budou vyvěšovány na webových stránkách GSGM a dr. Kočová je bude i nadále všem členům společnosti rozesílat elektronickou poštou (informace tedy mohou být posílány rovnou na její e-mailovou adresu).

Zapsala: D. Holá

Vyhlášení dalšího kola soutěže o Cenu GSGM pro období 2017 - 2018

Další kolo soutěže vyhlašuje výbor GSGM na léta 2017 – 2018. Cena bude udělena a přednáška oceněného autora přednesena na konferenci GSGM, která se bude konat v Bratislavě v roce 2018.

Statut Ceny GSGM

1. Cena je vypisována za významný přínos v oblasti genetiky a/nebo molekulární biologie a je sponzorována firmou M.G.P., s.r.o., Zlín.

2. Cenu ve výši **2000 EUR** může získat osoba ve věku do 35 let (v době uzávěrky soutěže), přičemž podmínkou je afiliace žadatele k některému vědeckému pracovišti v České nebo Slovenské republice. Cena se uděluje za vědeckou práci nebo soubor prací publikovaných v posledních třech letech před podáním přihlášky do soutěžního kola.

3. Přihláška do soutěže se podává na příslušném formuláři, který je předkladatelům k dispozici na internetových stránkách společnosti (www.gsgm.cz, Přihláška). Společně s přihláškou musí být předložena i jednostránková anotace práce a po jednom výtisku každé položky souboru prací přihlašovaných k ocenění, z nichž je zřejmý podíl předkladatele na publikovaných vědeckých výsledcích (první autor, korespondující autor, vyjádření spoluautorů apod.). Soutěžící je kromě toho povinnen (bez ohledu na to, zda mu cena bude nebo nebude udělena) napsat krátký příspěvek formou literárního přehledu týkající se tématu jeho výzkumu do Informačních listů, které vydává Genetická společnost Gregora Mendela, z.s.

4. Udělení ceny není omezeno žádnými zvláštními kvalifikačními požadavky na předkladatele, avšak oceněný autor nemůže být vyhlášen vítězem soutěže opakovaně. Udělení ceny zahrnuje kromě finanční odměny i povinnost autora přednést plenární přednášku na konferenci společnosti. O udělení ceny rozhoduje výbor společnosti po zhodnocení přihlášek na návrh odborné posuzovatelské komise, kterou výbor společnosti k tomuto účelu *ad hoc* ustavuje. Výbor společnosti má právo v daném kole soutěže cenu neudělit nebo ji rozdělit mezi dva vyhodnocené předkladatele.

Přihlášky do soutěže se přijímají do 30. dubna 2018 na adrese:

Výbor Genetické společnosti Gregora Mendela, z.s.

Ústav experimentální biologie

Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity

Kotlářská 2

611 37 Brno

Aktuální seznam členů GSGM (česká část)

RNDr. Karel Angelis, CSc.
Mgr. Zuzana Bayerová
doc. Mgr. Vítězslav Bryja, Ph.D.
Ing. Radka Burdychová, Ph.D.
Mgr. Jiří Červeň
RNDr. Jarmila Číhalíková, CSc.
RNDr. Pavlína Daňková, Ph.D.
prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc.
RNDr. Petr Dráber, CSc.
prof. Ing. Josef Dvořák, CSc.
RNDr. Martin Falk, Ph.D.
Mgr. Zuzana Feketová
Mgr. Miloslava Fojtová, CSc.
prof. MUDr. Petr Goetz, CSc.
Mgr. Igor Grekov, Ph.D.
Mgr. Petr Hanák, Ph.D.
prof. RNDr. Ladislav Havel, CSc.
doc. MUDr. Marie Havelková, CSc.
Helena Havelková
RNDr. Dana Holá, Ph.D.
Ing. Eliška Horecká
Ing. Čeněk Horecký
Ing. Matuš Hornáček
prof. RNDr. MVDr. Petr Hořín, CSc.
Ing. Alena Jurčková
RNDr. Jana Kailerová, CSc.
prof. RNDr. Aleš Knoll, Ph.D.
Mgr. Tetyana Kobets, Ph.D.
RNDr. Marie Kočová, CSc.
RNDr. Blažena Koukalová, CSc.
RNDr. Aleš Kovařík, CSc.
Ing. Svatopluk Kovařík
doc. RNDr. Petr Kuglík, CSc.
RNDr. Pavlína Kušnierová, Ph.D.
doc. Marie Lipoldová, CSc.
RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.
doc. MUDr. František Lošan, CSc.
prof. Ing. Milan Lstibůrek, Ph.D.
doc. Mgr. Martin Lysák, Ph.D.
prof. RNDr. Kateřina Malachová, CSc.
RNDr. Jitka Malčíková, Ph.D.
prof. RNDr. František Marec, CSc.

RNDr. Tomáš Mašek, Ph.D.
MUDr. Mgr. Marek Mráz, Ph.D.
RNDr. Jan Nešvera, CSc.
doc. RNDr. Roman Pantůček, Ph.D.
doc. RNDr. Petr Pečinka, CSc.
Mgr. Jiří Pergner
doc. RNDr. Petr Pikálek, CSc.
RNDr. Jiří Plachý, DrSc.
RNDr. Martin Pospíšek, Ph.D.
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.
prof. RNDr. Jiřina Relichová, CSc.
doc. Ing. Bohuslav Rittich, CSc.
RNDr. Olga Rothová, Ph.D.
doc. RNDr. Vladislava Růžičková, CSc.
doc. RNDr. Jana Řepková, CSc.
Mgr. Alexandr Sember, Ph.D.
Mgr. Hana Sezimová, Ph.D.
RNDr. Michaela Schierová, Ph.D.
doc. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
Mgr. Yahya Sohrabi
RNDr. Kamila Součková, Ph.D.
prof. Ing. Antonín Stratil, DrSc.
Mgr. Dana Šafářová, Ph.D.
prof. MUDr. Ondřej Šeda, Ph.D.
PharmDr. Lucie Šedová, Ph.D.
MUDr. Antonín Šípek Jr.
prof. MUDr. Jan Šmarda, DrSc.
prof. RNDr. Jan Šmarda, CSc., Jr.
prof. RNDr. Jana Šmardová, CSc.
Mgr. Roman Šolc
doc. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.
RNDr. Vladimíra Vallová (Vranová)
RNDr. Jarmila Vojtíšková, CSc.
Mgr. Valeriya Volkova
Mgr. Václav Vopálenský, Ph.D.
Ing. Tomáš Vyhnánek, Ph.D.
Mgr. Veronika Vymětalová
prof. MUDr. Evžen Weigl, CSc.
prof. RNDr. Stanislav Zadražil, DrSc.
Mgr. Blanka Zámostná, Ph.D.
RNDr. Karel Zelený, CSc.
RNDr. Magda Zrzavá, Ph.D.

Aktuální seznam členů GSGM (slovenská část)

Mgr. Lucia Achbergerová, Ph.D.
Mgr. Zuzana Babincová
RNDr. Eva Bozsaky, Ph.D.
Ing. Július Csuka, DrSc.
prof. RNDr. Eva Čellárová, DrSc.
Mgr. Peter Daniš
Mgr. Andrej Dudáš, Ph.D.
RNDr. Vladimíra Džugasová, Ph.D.
doc. RNDr. Vladimír Ferák, CSc.
doc. RNDr. Eliška Gálová, Ph.D.
RNDr. Martin Galgóci, Ph.D.
RNDr. Erika Halašová, CSc.
Ing. Pavol Hauptvogel, CSc.
RNDr. Ivan Chalupa, CSc.
Mgr. Martin Chovan
Mgr. Miroslav Chovanec, Ph.D.
prof. RNDr. Ľudovít Kádasi, DrSc.
Mgr. Katarína Klubicová
RNDr. Andrej Kormuťák, DrSc.
Mgr. Ján Košuth
RNDr. Hedviga Košuthová, Ph.D.

Mgr. Ines Kováčiková, Ph.D.
RNDr. Vladimíra Krajčovičová, Ph.D.
Ing. Peter Maňka, Ph.D.
Mgr. Lucia Mentelová, Ph.D.
prof. RNDr. Eva Miadoková, DrSc.
RNDr. Darina Muchová
PaeDr. Melinda Nagy, Ph.D.
prof. RNDr. Jozef Nosek, DrSc.
RNDr. Miroslav Piršel, CSc.
RNDr. Ján Rafay CSc.
RNDr. Patrícia Saxová
doc. Mgr. Miroslava Slaninová, Ph.D.
RNDr. Regina Sepšiová, Ph.D.
doc. RNDr. Andrea Ševčovičová, Ph.D.
doc. RNDr. Dana Šubová. CSc.
doc. RNDr. Miroslav Švec. CSc.
prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, DrSc.
Michal Valent
prof. RNDr. Daniel Vlček, DrSc.
RNDr. Juraj Zvarik, CSc.

Tretí seminár o univerzitnom vzdelávaní genetiky

Genetická spoločnosť Gregora Mendela (GSGM) organizuje 26. mája 2017 v Mendelovom múzeu v Brne 3. ročník edukačného workshopu venovaného univerzitnému vzdelávaniu genetiky. Po seminároch venovaných študijným plánom a praktickým cvičeniam bude workshop zameraný na problematiku **doktorandského štúdia na českých a slovenských univerzitách**.

Cieľom workshopu bude spoločne hľadať odpovede na otázky týkajúce sa (1) náplne doktorandských študijných plánov, (2) kurzov pre doktorandov, ktoré ponúkajú jednotlivé univerzity, a možností ich zdieľania, (3) spôsobom organizácie doktorandského štúdia, (4) hodnotenia doktorandov, (5) formálnych požiadaviek pre dizertačné skúšky a obhajoby dizertačných prác. Program workshopu, ktorý bude tak ako v minulých rokoch (vďaka podpore GSGM, Mendelovho muzea MU a firmy M.G.P) bez registračného poplatku, bude zverejnený do konca marca 2017. Sledujte stránku: <http://fns.uniba.sk/pracoviska/biologicka-sekcia/kge/univerzitie-vzdelavanie-genetiky/> ktorá bude priebežne aktualizovaná. Tešíme sa na príjemné a informatívne stretnutie v inšpiratívnom prostredí.

prof. RNDr. Ľubomír Tomáška
Katedra genetiky
Univerzita Komenského v Bratislave
Prírodovedecká fakulta

Bola udelená prvá Cena dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej

Lubomír Tomáška

Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

O každej skupine ľudí je možné niečo podstatné sa dozvedieť (okrem iného) na základe dvoch jej charakteristík. Prvou sú tradície, na ktorých základoch stojí. Tradície v podobe ľudí, ktorí stáli pri jej zrode a ktorí ju formovali. Druhou charakteristikou je ochota podporovať tých najlepších z mladej generácie. Ľudí, na ktorých pleciach stojí úspech skupiny v budúcnosti. 13. decembra 2016 sa na Prírodovedeckej fakulte Univerzity Komenského v Bratislave (PriF UK) uskutočnila akcia, ktorej ústredným motívom bolo spájanie uvedených charakteristík v rámci skupiny slovenských biológov. Cena, nesúca meno jednej z významných predstaviteľiek biológie na Slovensku, bola udelená jednej z jej mladých úspešných nasledovníčok.



Dr. Ludmila Sedlárová-Rabanová vyštudovala biológiu na Univerzite Karlovej v Prahe ako jedna z absolventiek školy vynikajúceho českého genetika prof. Karla Hrubého. Doc. Vlasta Kováčová, ktorá stála pri zrode Katedry genetiky na PriF UK a sama vychovala niekoľko generácií slovenských genetikov, vo svojom pútavom a veľmi osobnom príhovore, spomínala na „dobu temna“ v 50. rokoch minulého storočia. Dobu, keď komunistická ideológia zakazovala vzdelávať základy modernej genetiky na školách, označujúc práce Gregora Mendela, či Thomasa Morgana za buržoázny prežitok a ich vyučovanie na školách za formu nepriateľskej diverzie. Oficiálnou doktrínou bol „lysenkizmus“, pseudovedecký paškvil podvodníka Trofima D. Lysenka, ktorý by nebol hodný ani povšimnutia, keby nespôsobil nielen stagnáciu biologických vied v krajinách vtedajšieho sovietskeho bloku, ale aj stratu kariéry i životov mnohých výnimočných prírodovedcov. Vďaka ľuďom ako Karel Hrubý však do komunity biológov pribúdali mladí absolventi, ktorí po uvoľnení tohto ideologického embarga boli pripravení dohnať čas stratený lysenkovskými nezmyslami. Keď sa dr. Sedlárová-Rabanová vrátila na Slovensko, v duchu Hrubého školy rozširovala genetiku medzi slovenskými študentmi. Najprv na Katedre fyziológie rastlín Pri FUK, ktorá sa zásluhou prof. Bohumila Němca (1873-1966) stala liahňou mnohých významných slovenských biológov, a následne na Botanickom ústave Slovenskej akadémie vied a Výskumnom ústave potravinárskom. Zo spomienok pamätníkov prof. Alexander Lux predstavil Ludmilu Sedlárovú-Rabanovú ako výnimočne pracovitú, motivovanú, technicky zdatnú experimentátorku s ohromným odborným záberom, zaoberajúcou sa rozmanitými problémami od moniliózy marhúľ, cez šľachtenie nových odrôd jačmeňa až po prípravu nových kmeňov potravinárskych kvasiniek. Práve tieto jej vlastnosti boli spolu s jej talentom a vzdelaním predpokladom veľmi sľubnej vedeckej kariéry. Jej pokračovanie na Slovensku však bolo zastavené v

roku 1968. Po invázii vojsk Varšavskej zmluvy do Československa sa spolu s manželom Ing. Viliamom Sedlárom rozhodli emigrovať do Švajčiarska, kde až do odchodu do dôchodku pôsobila na prestížnej ETH (Eidgenössische Technische Hochschule) v Zürichu.

Vďaka finančnej podpore od Viliama Sedlára vznikla v priebehu roku 2016 iniciatíva s cieľom podporiť a oceniť ľudí, ktorí dosahujú výnimočné výsledky v oblasti genetiky, teda práve v oblasti, ktorej „reštart“ na Slovensku bol možný aj vďaka Ludmile Sedlárovej-Rabanovej. Odborná komisia vymenovaná dekanom PriF UK z viacerých kandidátov vybrala ako prvú laureátku Ceny dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej dr. Silviu Bágelovú-Polákovú (Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV). Toto ocenenie získala „za významný príspevok k odhaleniu vzťahu molekulárnych mechanizmov opravy poškodení DNA s meiotickým delením a tvorbou genetickej diverzity“ publikovaný v práci Poláková a kol. (2016). *PLoS Genetics* 12: e1006102. Laureátka v spolupráci s kolektívom doc. Juraja Gregáňa z Katedry genetiky PriF UK odhalila, že proteín Dbl2 je v bunkách kvasiniek spoluzodpovedný za opravu poškodení DNA, pričom zohráva aj úlohu pri tvorbe pohlavných buniek. Komisia pri svojom výbere zohľadnila nielen význam tejto práce pre pochopenie molekulárnych mechanizmov podieľajúcich sa na oprave lézií v DNA. Podstatným bol aj fakt, že Silvia Bágelová-Poláková je prvou i korešpondujúcou autorkou publikácie, podčiarkujúc tak jej zásadný príspevok k jej realizácii. Podstatným argumentom tiež bolo, že práca vznikla primárne na pôde slovenských laboratórií. V neposlednom rade, publikácia nadväzuje na sériu ďalších významných prác, na ktorých sa laureátka podieľala, ilustrujúc tak dlhodobu vysoký štandard jej vedeckej práce.



Silvia Bágelová-Poláková (1978) získala magisterský i doktorský titul na Katedre biochémie PriF UK. Pod vedením Ing. Pavla Sula, nadväzujúc na tradície bratislavskej bioenergetickej školy prof. Ladislava Kováča, sa venovala problematike komunikácie medzi dvomi organelami (jadrom a mitochondriou) v eukaryotickej bunke. Podieľala sa na zaujímavých zisteniach naznačujúcich, ako schopnosť (či neschopnosť) tejto komunikácie môže zohrávať úlohu pri vzniku nových druhov organizmov. Už počas doktorandského štúdia strávila niekoľko rokov v laboratóriu prof. Jureho Piškura na Univerzite v Lunde (Švédsko), kde sa jej podaril unikátny objav. So spolupracovníkmi zistila, že patogénne kvasinky *Candida glabrata* kompenzujú absenciu pohlavného rozmnožovania dramatickou prestavbou genómu (Poláková a kol., 2009, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 2688-2693).

Na rozdiel od asexuálnych kvasiniek, pohlavne sa rozmnožujúce druhy na zvyšovanie genetickej diverzity potomstva primárne využívajú špeciálny typ bunkového delenia, tzv. meiózu. Výsledkom meiózy sú pohlavné bunky, z ktorých každá ma jedinečnú genetickú výbavu. Hoci základy meiotického delenia sú známe už pomerne dlho, ako tento zložitý proces prebieha na molekulárnej úrovni je stále záhadou. Jej rozlúšteniu sa dlhodobu venuje veľa svetových laboratórií, včítane kolektívu Juraja Gregáňa. Silvia Bágelová-Poláková strávila v jeho viedenskom laboratóriu veľmi produktívne obdobie, ktoré pokračuje aj po ich príchode na Slovensko. Silvia si vďaka grantovej schéme SAV SASPRO založila vlastnú výskumnú skupinu a v spolupráci s Gregáňovým tímom postupne dešifrujú jednotlivé kroky meiózy. Výsledkom ich úsilia,

ktorý určite nie je posledným, je aj publikácia, ktorá bola základom pre udelenie prvej Ceny dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej.

Obidve ženy, ktoré sú ústrednými postavami tohto textu ilustrujú veľmi podstatný odkaz najmä pre našich študentov. Talent je esenciálnym, ale nepostačujúcim predpokladom úspechu. Bez odhodlania, pracovitosti a pozitívneho prístupu by sa Ludmile Sedlárovej-Rabanovej nepodarilo preklenúť následky „doby temna“ a Silvia Bágelová-Poláková by neuspela v ohromnej kompetícii, ktorá panuje v modernom genetickom výskume. Obe sú svojimi príbehmi tými pravými vzormi a zdrojom inšpirácie pre mladú generáciu.



Cenu od Viliama Sedlára (vľavo) prevzal manžel Silvie Bágelovej-Polákovej Juraj Bágel.

Vlasta Kováčová a Juraj Gregáň.



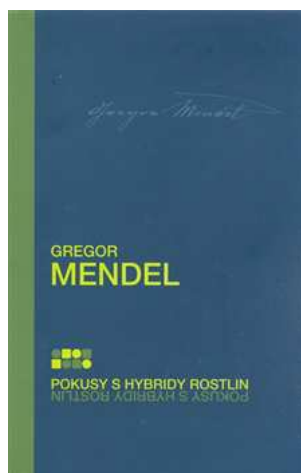
Prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, CSc. je vedúcim Katedry genetiky Prírodovedecké fakulty UK v Bratislave (e-mail: tomaska@fns.uniba.sk). Zabýva sa mitochondriálnou genetikou, biológiou telomer, bioenergetikou a morfogenezou kvasiniek.

**Mendelovy nadějně vyhlídky
(připomenutí korespondence J. G. Mendela s C. Nägelim)**

Anna Matalová¹, Jan Šmarda²

¹Centrum Mendelianum, Moravské zemské muzeum, Zelný trh 6, 659 37 Brno
Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU, Kamenice 5, 625 00 Brno

Před 150 lety byl Mendel plný očekávání na ohlasy své právě vytištěné práce Pokusy s hybridy rostlin, která vyšla v Brně ve Verhandlungen des naturforschenden Vereines. Rukopis Mendelovy práce si od Mendela vyžádal sekretář Přírodokumného spolku Gustav von Niessl. Ten jej 10. února 1866 předložil ke schválení pro tisk na zasedání spolkového výboru, kterého se zúčastnili J. Weiner, F. Haslinger, Ed. Wallauschek a K. Schwippel. Práce ale vyšla až v závěru roku 1866. Časopis tiskla Rohrerova tiskárna v Brně a vydání se zřejmě opozdilo kvůli válečným událostem. V létě Brno obsadila pruská vojska a způsobila zde epidemii cholery, která si vyžádala více než 3000 mrtvých. Svízelnou situaci ve starobrněnském klášteře v tomto období Mendel podrobně popsal ve svém dopise švagrovi Leopoldu Schindlerovi. Tehdy byl Mendel řadovým knězem, který těžce snášel pastorační činnost a nakonec našel uplatnění mimo faru jako suplující učitel na státní vyšší reálné škole na Janské ulici, kde učil fyziku a přírodopis. Na reálce měl své sídlo Přírodokumný spolek, který rozeslal Mendelovu práci jako součást svého časopisu na více než 100 adres stálých odběratelů v Evropě a v zámoří. Celkový náklad časopisu byl 500 exemplářů. Mendel si nechal navíc zhotovit 40 separátů své práce a v některých z nich udělal ručně opravy tiskových chyb. První separátní výtisk zaslal profesoru C. Nägelimu do Mnichova s doprovodným dopisem právě před 150 lety - 31. prosince 1866. U příležitosti tohoto výročí jej otiskujeme v českém překladu převzatém z knihy Gregor Mendel, Pokusy s hybridy rostlin (ISBN 9788087028025, 2008, překlad: PhDr. Anna Matalová, odborný editor: prof. RNDr. Ivo Cetl, CSc.).



Informační listy GSGM, 2016, 48: 11-14

„Velevážený pane!

Uznávané zásluhy, kterých Vaše Blahorodí nabylo v oblasti určování a zařazování planě rostoucích kříženců rostlin, vedou mě k příjemné povinnosti, abych předložil k Vaší laskavé pozornosti popis některých pokusů s umělým oplozením rostlin.

Pokusy jsem prováděl s různými formami *Pisum* a vedly k výsledku, že potomstvo hybridů tvoří zcela zvláštní řady, jejichž členy se přiklánějí rovnoměrně k oběma kmenovým druhům. Zvláštní pozornost zasluhuje výskyt konstantních středních forem, které se potvrdily v každém pokusu. Ve vývojových řadách pro dva nebo tři dvojice rozdílných znaků, které jsem zahrnul do pojednání (pag. 21 a 22), bylo upřednostněno označení pro konstantní formy, protože členy jsou řazeny podle koeficientů; ale správnější postavení získají, když jsou přiřazeny podle své přirozené příbuznosti k oběma kmenovým druhům, přičemž onen člen, který je ve všech znacích hybridní a současně má nejvyšší koeficient, patří svým postavením přesně na střed.

Znám výsledky, ke kterým dospěl ve svých pokusech Gärtner, opakovaně a přesně jsem jeho dílo četl, abych mohl prokázat shodu s vývojovými zákony, které jsem našel pro své pokusné rostliny. I když jsem o to hodně usiloval, nemohl jsem přesto ani v jednom případě získat jasný náhled. Musíme velmi litovat, že tento zasloužilý muž nezveřejnil ani jeden podrobný popis svých jednotlivých pokusů, ani si nedal práci s dostatečnou diagnózou forem kříženců, jmenovitě těch, které pocházejí ze stejného oplození. Údaje jako „někteří jedinci se více blížili mateřskému, jiné otcovskému typu“, nebo „potomci se vraceli víc k typu kmenové matky“ atd. jsou příliš obecné, příliš neurčité, než aby se z nich dal odvodit jistý soud. Nicméně můžeme ve většině případů rozpoznat alespoň tolik, že možnost shody s *Pisum* není vyloučená. Rozhodnutí však můžeme očekávat pouze od pokusů, u kterých bude diagnosticky doložen stupeň příbuznosti mezi hybridními formami a jejich kmenovými druhy a nebude hodnocen jen podle celkového dojmu.

K ověření shody s *Pisum* by mělo ve všech případech stačit prozkoumání forem, které se objevují v první generaci. Pokud by se daly prokázat stejné číselné poměry a jednoduché vývojové řady pro každé dva rozdílné znaky jako u *Pisum*, potom by věc byla rozhodnuta. Ani uzavření během doby květu nebude ve většině případů činit potíže, protože se jedná jen o jednotlivé rostliny, o ty, jejichž květy budou oplozeny a o několik hybridů, které jsou určeny na semeno. Kříženci získaní z volné přírody, pokud jejich původ není zcela nepochybný, mohou najít uplatnění však až ve druhé linii.

Pro další pokusy jsem zvolil *Hieracium*, *Cirsium* a *Geum*. U prvních dvou je manipulace při umělém oplození velmi obtížná a nejistá, protože květy jsou drobné a mají zvláštní stavbu. V uplynulém létě jsem se pokusil o spojení *H. Pilosella* s *pratense*, *praealtum* a *Auricula*, stejně jako *H. murorum* s *umbellatum* a *pratense*, a získal jsem také klíčivá semena; jen se obávám, že při vši opatrnosti přece jen došlo k samooplození. Ze vzhledu mladých rostlin můžeme sotva usuzovat, že se dosáhlo kýženého úspěchu. Druhy *Hieracium* se dají snadno pěstovat v květináčích a bohatě nasazují semena, i když jsou během kvetení uzavřena v místnosti nebo skleníku.

U *Cirsium* bylo oplodněno dvoudomé *arvense* s *oleraceum* a *canum*. Květy jsem chránil proti návštěvě hmyzu obalem z flóru a zdá se, že pro ochranu rostlin *Cirsium* je to zcela dostačující. Dále jsem se pokusil oplodnit *C. canum* a *C. lanceolatum* pouhým přenesením pylu z *C. oleraceum*, aniž bych odstranil tyčinky z opylovaných květů. Co může udělat hmyz ve volné přírodě, musí být nakonec dosažitelné i lidskou rukou a při

velkém počtu semenáčků se přece jen dá získat ten či onen hybrid. Stejně chci postupovat v příštím létě také u *Hieracium*.

Větší pozornost jsem věnoval také křížení *Geum urbanum* + *rivale*. Podle Gärtnera patří tato rostlina k těm několika málo dosud známým hybridům, které zůstávají ve svém potomstvu beze změny, když se oplodní vlastním pylem. Ostatně se mi nezdá zcela jisté, zda hybrid, který Gärtner získal, byl opravdu *G. intermedium*. Ehrh. Gärtner nazývá svou rostlinu středním typem, jako takový se však *G. intermedium* označit nedá. Při přeměně *G. urbanum* na *rivale* Gärtner výslovně podotýká, že oplozením hybridu pylem z *rivale* získal úplně stejná individua, která se rozhodně blížila otcovskému typu. Nedovídáme se však, v čem toto přiblížení spočívalo a do jaké míry se podařilo potlačovat charakteristiky *G. urbanum* jednotlivými po sobě následujícími oplozeními, až nakonec vystoupil čistý typ *rivale*. Nemůže se ani zpochybňovat, že postupná přestavba probíhá podle určitého zákona, který, pokud by se ho podařilo nalézt, by mohl dát také vysvětlení o chování jiných hybridů tohoto druhu. Doufám, že v příštím létě přivedu do květu křížence z umělého oplození.

Možná, že není zcela neopodstatněná domněnka, že mnohé druhy *Hieracium* v hybridním spojení se chovají stejně jako *Geum*. Tak je např. velmi nápadné, že vidličnaté dělení lodyhy, které může být u *Pilosella* považováno jen za střední stavbu, se objevuje také jako zcela konstantní znak, jak jsem mohl pozorovat v posledním létě u semenáčků *H. stoloniflorum* W. K.

Plánovanými pokusy s druhy *Cirsium* a *Hieracium* vstupuji do oblasti, ve které má Vaše Blahorodí nejrozsáhlejší znalosti, které je možno osobně získat jen dlouhodobým úsilím, pozorováním a srovnáváním tak rozmanitých forem tohoto rodu na jeho stanovištích. Mně tato zkušenost z velké části chybí; namáhavá služba ve škole mi brání, abych se častěji dostal do přírody a během prázdnin je už pro mnohé příliš pozdě. Mám obavu, že v průběhu pokusů, jmenovitě s *Hieracium*, možná narazím na nějakou obtíž, proto se s důvěrou obracím na Vaše Blahorodí s prosbou, aby mi neodmítlo svou vážnou pomoc, pokud budu v nějakém případě potřebovat radu.

S největší úctou k vašemu Blahorodí

znamená se

Gregor Mendel
člen řádové kapituly
a učitel na vyšší reálné škole

Brno 31. prosince 1866“

Nägeliho odpověď je datována 25. února 1867 a zachovala se z ní tato část:

„ ... velmi bych doporučoval, abyste zvážil ověření dalšími pokusy. Vůbec se mi zdá, jakoby pokusy s *Pisum* nebyly uzavřeny, jakoby teprve teď měly opravdu začít. Chybou všech novějších experimentátorů je, že vytrvalostí zůstávají daleko za Kölreuterem a Gärtnerem. S potěšením vidím, že se této chyby nedopouštíte a jdete ve šlépějích obou Vašich věhlasných předchůdců. Měl byste je však překonat a podle mého mínění je toho možné dosáhnout, a vůbec v nauce o křížencích bude dosaženo pokroku jen tehdy, až budou vyčerpány pokusy s jedním objektem ve všech směrech. Takovou úplnou pokusnou řadu, která poskytne nezvratné důkazy pro nejdůležitější závěry, zatím zcela postrádáme. – Máte-li v zásobě semena z Vašeho křížení, která sám nevyužijete k výsevům, tak o ně rád požádám pro pěstění v naší zahradě, abych viděl, jak se konstantnost osvědčí v jiných podmínkách. Přál bych si proto především *A*, *a* (potomky *Aa*), *AB*, *ab*, *Ab*, *aB* (potomky *AaBb*). Budete-li s tím souhlasit, pak bych Vás chtěl poprosit, abyste mi poslal tato semena co nejdříve s přesným uvedením jejich původu. Výběr ponechávám samozřejmě na Vás a poznamenávám pouze, že nemám k dispozici ani mnoho času, ani mnoho místa. Upouštím od toho, abych se věnoval jiným bodům sdělení, protože bez podrobné znalosti pokusů, na nichž se zakládají, bych vyslovoval jen domněnky. – Vaše předsevzetí, že zahrnete do okruhu svých pokusů další rostliny, je vynikající a jsem přesvědčen, že u mnoha rozdílných forem získáte podstatně jiné výsledky (co se týče zděděných znaků). Zvláště by bylo žádoucí, kdyby se Vám podařilo dosáhnout kříženců u *Hieracia*, protože to asi bude v krátké době onen rod, který bude nejlépe prozkoumán z hlediska středních forem. K pokusům bych doporučoval zvláště *H. pilosella*, *H. auricula*, *H. praealtum*, *H. pratense*, *H. aurantiacum*, *H. cymosum*, na druhé straně *H. murorum*, *H. vulgatum*, *H. glaucum*, *H. alpinum*, *H. amplexicaule*, *H. prenanthoides*, *H. tridentatum*. Je zbytečná námaha, chtít spojit nějakou rostlinu z první řady s nějakou rostlinou z druhé řady. Manipulace umělého oplození je bohužel téměř neproveditelná. Nejlépe by bylo, kdybychom měli rostliny, u nichž dochází k aborci pylu (což se někdy stává), nebo kdyby bylo možno navodit tento nedostatek uměle. Podobně je tomu u *Cirsia*. – Velmi rád bych Vás požádal o *Hieracia* z Vaší oblasti; když ale podnikáte, jak říkáte, málo exkursí, nemohu Vás tím obtěžovat.

S výrazem dokonalé úcty

Váš oddaný

C. Nägeli.

Mnichov 25. února 1867.“

Tyto dopisy zahájily pětiletou korespondenci Mendela s Nægelim, kdy si vyměňovali nejenom dopisy, ale také semena i živé rostliny. Od června 1868 Mendel Nægeliho oslovoval jako přítele. Není známo, že by kromě Nægeliho někdo s Mendelem sdílel zájem o předmět jeho výzkumu a podílel se na něm. Mendel zaslal svou práci také botanikům A. Kerneru von Marilaun, T. Boverimu, M. W. Beijerinckovi a také F. Ungerovi. Nægeli Mendelovi posílal své publikace a nazýval ho svým spolupracovníkem. Jejich teoretická východiska byla rozdílná, ale studium hybridů rostlin je spojovalo.

Pozvánka na mezinárodní Mendelův den 2017

Anna Matalová

Centrum Mendelianum, Moravské zemské muzeum, Zelný trh 6, 659 37 Brno

V letošním roce proběhl první mezinárodní Mendelův den zaštitěný Českou komisí pro UNESCO a podpořený řadou zahraničních i domácích expertů, institucí a měst. Akci již byl věnován článek v Informačních listech GSGM, číslo 47, 2016. Hlavním tématem bylo připomenutí 150 let od zveřejnění Mendelova objevu v časopise brněnského Přírodovědeckého spolku a jeho rozeslání na více než stovku adres v Evropě i zámoří. Díky tomu vstoupil Mendel na mezinárodní scénu a jeho vědecký přínos mohl být v roce 1900 pochopen a oceněn. Mendelův den 2016 oživil kontakty s Mendelovými městy, kam byla jeho práce poslána, a přilákal pozornost celého světa k Brnu, které je díky Mendelovi kolébkou genetiky. Kromě Brna byl program Mendelova dne realizován ve Vídni, jako zástupci evropských měst a v Tucsonu, který reprezentoval USA. Trio klíčových měst doplnilo ještě australské Sydney a Canberra, Mendelův den byl aktivně podpořen také z Japonska. Zdravice přišly z celé řady dalších měst, z nichž mnohé dosud vlastní originál Mendelovy tištěné práce, stejně jako od významných vědců, včetně nositelů Nobelových cen.

V příštím roce uplyne 200 let od založení dnešního Moravského zemského muzea. Toto muzeum je pevně spjato s Mendelovou vědeckou společností, tehdejší Moravskoslezskou hospodářskou společností pro zvelebení orby, přírodovědnosti a vlastivědy. Tato společnost, ve které Mendel získal inspiraci pro svůj výzkum, a kde se třicet let setkával se svými kolegy, založila v roce 1817 muzeum, jenž ve své činnosti pokračuje dodnes. Moravské zemské muzeum je tedy přímým pokračovatelem činnosti spojené s Mendelovou společností. Mendelův mezinárodní den 2017 je proto součástí oslav 200. výročí této instituce.

Kromě odborných příspěvků je na programu Mendelova dne vernisáž unikátní výstavy s názvem *Ve stopách Mendela*. Výstavu pro Mendelianum připravuje Daniel Fairbanks, profesor biologie na univerzitě v americkém Utahu. Profesor Fairbanks je autorem řady odborných publikací týkajících se výzkumu Mendelovy práce, v letošním roce zveřejnil v časopise *Genetika* nový anglický překlad *Pokusů s hybridy rostlin*. Mendel však profesora Fairbankse neinspiroval pouze jako vědce, ale také umělce. Výstava nabídne výběr jeho tvorby spjaté s Mendelem, první exponát byl již autorem představen v rámci tiskové konference a akce *Odpoledne s Mendelem* dne 22. listopadu 2016 (obr. 1). Součástí Mendelova dne bude také koncert s výběrem hudby z díla Leoše Janáčka a Pavla Křížkovského, Mendelova souputníka, který je společně s ním pochován na brněnském ústředním hřbitově.

Mezinárodní Mendelův den se bude konat 8. března 2017 v prostorách Mendelianu Moravského zemského muzea. Všichni jste srdečně zváni!



Obr. 1: Terakotová busta J. G. Mendela představená jejím autorem, profesorem Danielem Fairbanksem v Mendelianu s pozvánkou na vernisáž výstavy v rámci Mendelova dne 2017.



PhDr. Anna Matalová je dlouholetou pracovnící Mendeliana Moravského zemského muzea v Brně (do odchodu do důchodu působila jako vedoucí). Aktuálně je hlavním odborným konzultantem projektu Mendelianum – atraktivní svět genetiky a koordinátorkou projektu Mendelova interaktivní škola genetiky.

Mendelovy narozeniny a jeho rodný kraj

Eva Matalová

Centrum Mendelianum, Moravské zemské muzeum, Zelný trh 6, 659 37 Brno

Prázdninovým tématem v Mendelianu MZM Brno byly Mendelovy narozeniny, jeho rodný kraj a výpravy po stopách J. G. Mendela. Zápis v matrice uvádí jako den Mendelova narození 20. červenec 1822 a od tohoto záznamu je odvozen pozdější křestní list z roku 1834, který byl Mendelovi vystaven u příležitosti zahájení jeho studií na gymnáziu v Opavě. Všechny další dokumenty však datují Mendelovo narození výlučně 22. července 1822 a v tento den si Johannův příchod na svět připomínala i jeho rodina. V Mendelianu byly Mendelovým narozeninám zasvěceny oba dny a akce probíhaly od středy 20. 7. do pátku 22. 7. s víkendovým pokračováním programu v Mendelově rodišti.

Středeční Odpoledne s Mendelem na téma Jak chutná genetika nabídlo nejenom pohled do aktuální výstavy na toto téma, ale také ochutnávku z Mendelovy kuchařky. Kniha Luisy Ondráčkové, která dlouhodobě pracovala v kuchyni augustiniánského kláštera v Brně, je součástí archivu Mendeliana MZM Brno a umožňuje „vařit jako za časů Mendela“ (obr. 1). Středu s Mendelem ukončila podvečerní komentovaná procházka Mendelovým Brnem.

JIŽNÍ MORAVA – VYSOČINA
STRANA 12 SOBOTA 23. ČERVENCE 2016 ○ PŘÁVO

Muzejníci vařili jako za časů Mendela

Vladimír Klepáč

Milovníci historie a zároveň gurmáni si mohli v pátek připomenout letošní, 190. výročí od narození slavného přírodovědce, zakladatele moderní genetiky a objevitele základních zákonů dědičnosti Johanna Gregora Mendela ochutnávku jídel z jeho doby. Připravilo ji Moravské zemské muzeum v Brně v Biskupském dvoře, kde loni vznikla expozice

Kuchařka, která vědci podstrojovala v brněnském klášteře, vydala své recepty knižně

věnovaná tomuto slavnému vědci. Muzejníci nechali pro příchod uvařit jídla jeho kuchařky Luisy Ondráčkové. „Některá z nich upadla zcela v zapomnění. Na dnešní dobu je část těchto pokrmů opravdu velmi, velmi netradiční. Ochutnávku dobových kulinařských speciálů jsme uspořádali poprvé. Tento výlet do historie přilákal mnoho lidí.“ řekla Právo mluvčí muzea Eva Pánková.



O jídla z doby slavného vědce byl mezi návštěvníky velký zájem.

Mendel působil jako opar v brněnském augustiniánském klášteře, kde byla Ondráčková léta zaměstnaná jako kuchařka. Jeho obyvatelům servirovala například chroustovou potěšku, nadívané vepřové hlavy, na stolech mňichů nescházely chlebové dorty a smažený jehel, škvarkové koblížky, sláma ze syra, ale i pernatkové nebo ořechové bábovky. Ondráčková vydala kdy si kuchařku se svými nejlepšími recepty. Zřejmě byla oblíbená, protože v roce 1928 vyšlo už její třetí vydání. Muzejníci teď nechali právě podle této kuchařky uvařit pro návštěvníky Biskupského dvora. Po gastronomickém výletu do 19. století si pak mohli vychutnat šálek kávy na terase s výhledem do zeleně v areálu této historické stavby. „Součástí akce byla také návštěva loni vytvořené Mendelovy expozice. Tvoří ji jeho pracovna, v níž jsou věci, které s největší pravděpodobností používal. Neschází v ní ani jeho vosková socha. Haed vedle této místnosti je moderní laboratoř, v níž představujeme podmínky, které mají dnes vědci z oblasti genetiky ke své práci.“ doplnila Pánková.

Obr. 1: Ohlas akce v denním tisku.

Informační listy GSGM, 2016, 48: 17-19

Ve čtvrtek 21.7. 2016 byla otevřena nová část letní expozice Mendeliana, která představila výletní cíle po stopách JGM v rámci naší republiky (obr. 2).



Obr. 2: Část výstavních panelů s tipy na výlety po stopách JGM (design: AÑO Agency).

Vzhledem k narozeninovému výročí se pozvánka týkala také Mendelova rodiště, kde se během navazujícího víkendu konaly tradiční slavnosti obce Vražné s bohatým kulturním programem. Cestou zpět do Brna se k zastavení nabízí Lipník nad Bečvou, kde Mendel strávil dva roky na krajské hlavní škole, kam byl vyslán jako mimořádně nadaný žák z hynčické obecné školy. Malá zajižďka na sever umožňuje návštěvu Opavy, kde je dosud k vidění budova, kde Mendel studoval gymnázium. Z Opavy vedla Mendela touha po dalším vzdělání na univerzitní filosofický ústav v Olomouci, kde se však již kromě zdravotních problémů začaly projevovat i nesnáze finanční, které Mendelovy kroky nasměrovaly do Brna. Z výletů na jih pozvala výstava do Znojma, kde Mendel krátce působil jako zastupující učitel a poté zamířil ještě více na jih, do Vídně. Západním směrem od Brna se nabízí Rožnov pod Radhoštěm, kam Mendel zavítal na lázeňský pobyt.

V pátek 22. 7. 2016 se konalo narozeninové posezení u Mendela otevřené pro všechny zájemce. Setkání probíhalo na Terasě Mendelových rostlin s výhledem do Biskupského dvora, kde si návštěvníci mohli vychutnat dopolední nebo odpolední kávu spolu s pamlsky připravenými podle Mendelovy kuchařky paní Daňkovou z Mendeliana (obr. 3).



Obr. 3: Dobroty ke kávě při posezení u Mendela připravené podle dobové kuchařky.

Program Mendelových narozenin byl připraven v rámci dlouhodobé spolupráce Mendeliana s Mendelovým rodným domem. Za nabídku víkendového programu patří poděkování starostovi obce Vražné, Ing. Vladimíru Nippertovi.



Prof. RNDr. Eva Matalová, Ph.D. (e-mail: matalova@iach.cz) je vědeckou pracovnící Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR, v.v.i., profesorkou na Fakultě veterinárního lékařství VFU Brno a dlouholetou spolupracovnicí Mendeliana MZM Brno, kde je také odbornou garantkou projektů Mendelianum – atraktivní svět genetiky a Mendelova interaktivní škola genetiky.

Mendelova pamětní medaile 2016

Eva Janečková

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Veverčí 97, 602 00 Brno

Mendelianum Moravského zemského muzea uděluje dlouhodobě pamětní medaile odborníkům, kteří se významně zasloužili o rozvoj a propagaci vědeckého a kulturního odkazu J. G. Mendela. Mezi její držitele patří řada zahraničních expertů, včetně nositelů Nobelových cen. Od roku 1992, kdy se konalo první porevoluční mezinárodní symposium, uděluje Mendelianum Mendelovy medaile každoročně.

V letošním roce byl z navržených kandidátů vybrán Dr. Johann Vollmann (*1962, Leibnitz, Rakousko). Dr. Vollmann aktuálně působí na univerzitě BOKU (Universität für Bodenkultur) ve Vídni, kde se věnuje výzkumu a výuce v oblasti šlechtění rostlin a aplikované genetiky. Jeho primárním vědeckým zájmem je šlechtění sóji s ohledem na kvalitu sójových bobů, zejména obsah proteinů, ale také další faktory důležité pro konzumenty a průmysl. Dr. Vollmann působil jako generální tajemník EUCARPIA (European Association for Research in Plant Breeding) a je členem vědeckého výboru organizace Danube Soya ve Vídni. Při práci v oblasti šlechtění rostlin byl inspirován dílem Gregora Mendela, o které se začal blíže zajímat. Dr. Vollmann je členem rakouské Gregor Mendel Gesellschaft a přispěl k organizaci mnoha akcí jak pro odbornou, tak laickou veřejnost. V letošním roce se jednalo například o Gregor Mendel Symposium ke 150. výročí zveřejnění Mendelova objevu, které se konalo 17. – 18. 3. 2016 ve Vídni v návaznosti na první Mendelův mezinárodní den. V tento den zajistil Dr. Vollmann pro veřejnost první komentovanou procházku po stopách J. G. Mendela ve Vídni, ke které ho přivedly procházky organizované Mendelianem v Brně. Aktuálně Dr. Vollmann připravuje Mendelovu stezku ve Vídni jako návaznost na Mendelovu stezku v Brně. Mendelova pamětní medaile byla Dr. Vollmannovi udělena v roce, kdy vychází ve Folia Mendeliana jeho významný příspěvek o nových poznatcích týkajících se J. G. Mendela ve vztahu k Vídni. Dr. Vollmann je přesvědčen, že znalost počátků historie genetiky a šlechtění rostlin je základem pro komplexní porozumění moderním poznatkům v aktuální vědě.

Po převzetí Mendelovy pamětní medaile z rukou generálního ředitele Moravského zemského muzea, Mgr. Jiřího Mitáčka, Ph.D. a vedoucího Mendeliana, PhDr. Jiřího Sekeráka, Ph.D. proslovil Dr. Johann Vollmann tradiční *Mendel Lecture* spojenou s udělením Mendelovy medaile (obr. 1). Přednáška na téma *Mendel between Brno and Vienna* byla součástí akce Odpoledne s Mendelem, které se konalo 22. listopadu 2016 v Historickém sále Mendeliana MZM Brno (obr. 2).



Obr. 1: Laureát Mendelovy pamětní medaile za rok 2016 v zasedacím sále někdejší Hospodářské společnosti, dnešního Mendeliana, vedle figuríny jejího činovníka, J. G. Mendela.



Obr. 2: Mendel Lecture Dr. Johanna Vollmanna v Historickém sále Mendeliana MZM.



Mgr. Eva Janečková (e-mail: 323974@mail.muni.cz) je doktorandkou oboru Molekulární a buněčná biologie Přírodovědecké fakulty MU se školícím pracovištěm na Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i. S Mendelianem spolupracuje na projektu Mendelovy interaktivní školy genetiky.

Osamělost skromného génia – Gregor Johann Mendel: 1. díl

Marcela Kusáková

Univerzita Tomáše Bati, nám. T.G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín

Klein Jan, Klein Norman: Osamělost skromného génia - Gregor Johann Mendel: Díl 1. Formativní roky. Moravské zemské muzeum, Brno 2016, 398 s. ISBN 978-80- 7028-465-0 (české vydání); ISBN 978-3-642-35253-9 (English edition).



Právě vyšel český překlad prvního dílu knihy profesora Jana Kleina s ilustracemi jeho syna Normana s titulem Osamělost skromného génia – Gregor Johann Mendel. Druhý, závěrečný díl, autoři dokončují. Profesor Jan Klein je dlouholetým spolupracovníkem Mendeliana, kterému knihu prostřednictvím Anny Matalové věnuje ve svém úvodním poděkování. Právě Moravské zemské muzeum, k němuž Mendelianum patří, realizovalo překlad tohoto díla do češtiny.

Profesor Klein emigroval z naší republiky v roce 1968, od roku 1997 je občanem Spojených států amerických. V USA působil na Stanford University, University of Michigan a University of Texas. Byl také dlouholetým ředitelem Ústavu Maxe Plancka pro biologii v Tübingenu v Německu.

Jak napovídá podtitul knihy, je její obsah zaměřen na formativní roky a vymezuje tak zpracování Mendelova života od narození po zahájení jeho klíčových experimentů. V první části knihy je Mendelova práce spojená s historií genetiky zasazena do kontextu filosofie. Pečlivě je propracováno Mendelovo rodiště, se kterým je spojen sám Jan Klein, rodák z Kravařska. Kniha dále provází Mendela na jeho studiích, z Hynčic do Lipníka a dále do Opavy a Olomouce. Velmi podrobné zpracování se týká Mendelova působení v Brně, kdy autor zasazuje historická data do poutavého příběhu. První díl knihy končí Mendelovým pobytem ve Vídni v rámci jeho úsilí o získání kvalifikace z učitelské způsobilosti a zahájením jeho působení na vyšší státní reálce v Brně jako suplujícího profesora.

Křest českého vydání této jedinečné monografie proběhl dne 22. listopadu 2016 v rámci akce Odpoledne s Mendelem. Autor byl přítomen formou filmového vstupu a také komentářem k českému vydání. Knihu a její autory představil PhDr. Jiří Sekerák, Ph.D., vedoucí Mendeliana Moravského zemského muzea.



Představení českého vydání knihy v Historickém sále Mendeliana Moravského zemského muzea.



Mgr. Marcela Kusáková (e-mail: kusakova@knihovna.utb.cz) působila jako kurátorka v Mendelianu MZM Brno, kde se také věnovala výzkumu v rámci své diplomové práce. Aktuálně pracuje v knihovně Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

Interakce při vývoji kostí a přilehlých struktur: zapojení vybraných signálních molekul

Veronika Oralová

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Veverří 97, 602 00 Brno
a Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita,
Kamenice 5, 625 00 Brno

Abstrakt

Vznik a vývoj kostí, osteogeneze, je regulovaný proces, který je provázen dvěma různými formami osifikace. Většina kostí podstupuje endochondrální osifikaci zahrnující tvorbu chrupavky (chondrogenezi). U intramembranózní osifikace je kost tvořena přímou diferenciací mezenchymových buněk do osteoblastů. Přesto, že je již známa celá řada molekul a signálních drah, které s osteogenezí souvisejí, stále se objevují další poznatky.

Cílem této práce byl výzkum nových interakcí a funkční analýza nových kandidátních molekul s modulačním potenciálem v chondrogenezi s využitím modelů dlouhých kostí myších končetin a souvisejících přístupů *in vitro*. Druhá část práce byla zaměřena na unikátní komplex alveolární (intramembranózní) kosti s dalšími tvrdými tkáněmi (zuby). Zde byly detekovány časoprostorové souvislosti exprese molekul, specifikován osteo-genní potenciál peridentálních mezenchymových populací buněk a sledován vliv molekulárních faktorů na utváření nemineralizovaného rozhraní zubů a kostí.

Transkripční faktor c-Myb se uplatňuje při řízení buněčného cyklu, diferenciace buněk a apoptózy. Výsledky této práce ukazují na novou roli proteinu c-Myb, a to v regulaci a podpoře chondrogeneze. Signální dráhy WNT a FGF jsou důležité při regulaci endochondrální osifikace. Prezentované výsledky potvrzují spolupráci těchto molekul v diferenciálních procesech. Společně aktivují tvorbu osteoblastů, zatímco proces diferenciace chondrocytů je inhibován. Protein BMP6 vykazuje modulační potenciál také u alveolární kosti. Temporospaciální a korelační analýza provedená v této práci ukázala přítomnost BMP6 v oblastech nezbytných při erupci zubu a remodelaci kosti. BMP6 tak zřejmě přispívá ke správné integraci zubu a kostí v průběhu erupce zubu a jeho ukotvení v čelisti. V tomto procesu hraje významnou roli také vytvoření nemineralizovaného rozhraní zubu a kosti (TBI). V průběhu tvorby TBI je nezbytná správná koordinace při odstranění kosti z erupční dráhy zubu aktivními osteoklasty. V případě myší postrádajících c-fos, které mají autonomní deficienci v diferenciaci osteoklastů, bylo ukázáno, že defekty u kořenů a při erupci zubů jsou řízeny ztrátou osteoklastů. Na základě PCR Array analýzy byly stanoveny další kandidátní molekuly v buňkách peridentálního mezenchymu, které mohou být zahrnuty v regulaci vývoje alveolární kosti.

Úspěchy získané v základním výzkumu přispívají k lepšímu pochopení buněčných a molekulárních aspektů signálních drah. Tyto poznatky mohou být dále použity v praktických biomedicínských aplikacích.

Úvod

Vznik a vývoj kostní tkáně je řízen signály, které aktivují proliferaci, diferenciaci, migraci, adhezi a je prostorově a časově koordinován. Mezi nejlépe prostudované signální molekuly účastníci se procesu osteogeneze patří molekuly z rodiny kostních morfogenetických proteinů (BMPs, bone morphogenetic proteins), rodiny WNT (WNT, wingless-int), rodiny HH (HH, hedgehog) a fibroblastové růstové faktory (FGF, fibroblast growth factor) (Guo *et* Wang, 2009).

Vývoj kostí probíhá v souladu s okolními strukturami. Zvláštním případem je integrace zubu a kosti během odontogeneze, kdy se setkávají nejtvrďší tkáň organismu a vzniká jejich rozhraní TBI (tooth bone interface) (Fleischmannova *et al.*, 2008).

Osteogeneze

Kostní tkáň obsahuje mineralizovanou mezibuněčnou hmotu (extracelulární matrix, ECM) – kostní matrix a tři typy buněk – osteoblasty, osteocyty a osteoklasty. Osteoblasty vytvářejí organickou složku mezibuněčné hmoty (kolagen typu I, proteoglykany a glykoproteiny). Nacházejí se na povrchu kosti a mají dlouhé výběžky, jimiž navazují kontakt se sousedními osteoblasty. Jakmile je osteoblast obklopen nově vytvořenou mezibuněčnou hmotou, stává se z něj osteocyt. Osteocyty se nacházejí v malých lakunách mezi lamelami matrix. Osteoklasty jsou velké mnohjaderné buňky, které jsou schopny resorpce kostní tkáně. Vznikají fúzí krevních monocytů a jsou tak součástí mononukleárního fagocytárního systému (Ornitz *et* Marie, 2002). Existují dva základní modely tvorby kostní tkáně, oba zahrnují přeměnu již existující mezenchymové tkáně do kostní hmoty.

Endochondrální osifikace zahrnuje přeměnu hyalinní chrupavky v kost a uplatňuje se především u dlouhých kostí, jako jsou kosti končetin ale i u krátkých kostí skeletu (obratle, žebra). Nejprve dochází ke vzniku perichondriálního vaskularizovaného prstence uprostřed diafýzy, kde jsou buňky na vnitřní straně přeměněny v osteoblasty a perichondrium získává osteogenní vlastnosti (Colnot *et al.*, 2004). Současně také dochází k hypertrofii chondrocytů a vzniku primárního osifikačního centra. Chrupavka následně kalcifikuje a je rozrušována osteoklasty. Během této přestavby je proliferační chrupavka zachována pouze v kloubním pouzdře (artikulární chrupavka), kde přetrvává po celý život, a v růstových ploténkách (epifýzách) zanikajících v dospělosti. Epifyzární chrupavka, neboli růstová ploténka, připojující epifýzu k diafýze, je průběžně nahrazována kostní matrix a s jejím zánikem je i definitivně ukončen růst kosti do délky (Mackie *et al.*, 2008).

Intramembranózní osifikací vznikají např. ploché kosti hlavy, horní i dolní čelist a klíční kosti, ale také alveolární kost. Při vývoji intramembranózních kostí začíná osifikace uvnitř kondenzované mezenchymové tkáně signální dráhou BMP. Dráha BMP aktivuje mezenchymové buňky k tvorbě progenitorových buněk pre-osteoblastů. Tyto buňky exprimují RUNX2, kolagen typu II a IX (Abzhanov *et al.*, 2007). Osteoblasty sekretují matrix tvořenou kolageny, proteoglykany a jsou schopny vázat vápník ke zpevnění matrix během kalcifikace. Takto opouzdřené osteoblasty se mění v osteocyty. Nemine-

ralizované části kosti (osteoidy) neustále pokračují v tvorbě krevních cév a tvoří spongiózní kost.

Odontogeneze

Vývoj zubu (odontogeneze) je komplexní a složitý proces. Zuby jsou tvořeny na základě interakcí mezi dvěma přilehlými strukturami, které mají odlišný embryonální vývoj: epitelem a mezenchymem. Interakcí mezi ektodermem (zubní epitel) ležícím uvnitř vyvíjející se dutiny ústní a ektomezenchymovými buňkami pocházejícími z neurální lišty je aktivován embryonální vývoj savčích zubních zárodků (Tucker *et Sharpe*, 1999; Tucker *et Sharpe*, 2004).

Jedním z nejvíce využívaných modelových organismů pro studium vývoje zubů je myš (*Mus musculus*). U myši nacházíme redukovanou dentici tvořenou jedním řezákem v každém kvadrantu odděleným diastemou od tří molárů, jednu generaci zubů, beze-sklovinné oblasti molárů a neustále dorůstající řezáky. I když jsou patrné rozdíly mezi lidskou a myší denticí, je možné výsledky extrapolovat do humánní sféry (Fleischmannova *et al.*, 2008).

Oblast mezi alveolární kostí a zubním cementem je nazývána jako rozhraní mezi zubem a kostí - TBI (tooth-bone interface) (Fleischmannova *et al.*, 2010). V plně funkční dentici je TBI obklopeno měkkými tkáněmi tvořící PDL, zejména strukturami z mezenchymových neurálních buněk, které zajišťují ukotvení zubu v čelistní kosti (Kaku *et al.*, 2012). Hlavní funkcí PDL je tlumit a rozprostírat mechanický tlak vznikající při žvýkání. Jeho buňky tvoří, udržují a obnovují alveolární kost a cement (Lekic *et al.*, 1996; Sodek *et McKee*, 2000). Hlavní funkcí TBI je vytvářet a udržovat prostor mezi zubním zárodkem a čelistí, neboť v tomto prostoru jsou postupně formovány měkké tkáně, které dávají vznik PDL (Alfaqeeh *et al.*, 2013).

Vybrané signální molekuly podílející se na tvorbě tvrdých tkání

Celý proces tvorby tvrdých tkání je pečlivě řízen morfogenetickými procesy (proliferace, migrace, diferenciaci, adheze) a je prostorově i časově koordinován.

Protein c-Myb je členem rodiny transkripčních faktorů zahrnutých v řízení buněčného cyklu, diferenciaci a buněčné smrti (Oh *et Reddy*, 1999). c-Myb se nejvíce vyskytuje v kostní dřeni, kde funguje jako regulátor progenitorových buněk (Sandberg *et al.*, 2005), dále pak ve střevním epitelu a v mozku (Ramsay *et Gonda*, 2008). Myši postrádající c-*myb* jsou letální před stádiem E15 kvůli nedostatečné krvetvorbě (Mucenski *et al.*, 1991, Malaterre *et al.*, 2008; Lieu *et Reddy*, 2009; Cheasley *et al.*, 2011). Aktuální studie poukazují na možné zapojení c-Myb v odontogenezi a intramembranózní tvorbě kosti (Lungova *et al.*, 2012; Matalova *et al.*, 2011). Specifická role c-Myb byla potvrzena při tvorbě těchto tkání po aplikaci implantátů potažených proteinem c-Myb umístěných do dolní čelisti potkana (Bhattarai *et al.*, 2013).

Signální dráhy FGF a WNT jsou nejlépe prostudovány u myších končetin. Vývoj končetin je zahájen prenatálně po ustavení předozadní osy embrya, které je již segmentováno v somity. Buňky vyvíjející se končetiny si předávají informace o pozičním chování. Za antero-posteriorní, proximo-distální a dorzo-ventrální uspořádání je zodpovědný apikální ektodermální hřeben (AER, apical ectodermal ridge), který se utváří na distálním konci pupenu končetiny. Vnitřní část pupenu je tvořena mezenchymovými buňkami mezodermálního původu a povrch je kryt vrstvou ektodermálních buněk. Ty jsou zodpovědny za signalizaci a aktivaci WNT-7, který stimuluje vznik AER a dorzo-ventrální

orientaci končetinového pupene (Kengaku *et al.*, 1998). Mimo signální dráhu WNT je u myši aktivována signální dráha FGF. Signály FGF10 z mezenchymových buněk končetiny podporují formaci AER a ten následně aktivuje FGF8. Takto je uzavřena zpětnovazebná smyčka mezi epitelem a mezenchymem podporující růst končetiny (Ohuchi *et al.*, 1997).

Proteiny BMP byly identifikovány a pojmenovány díky jejich schopnosti ektopické tvorby kosti (Urist, 1965). Patří do velké nadrodiny transformujících růstových faktorů β (TGF- β). Rodina BMP zahrnuje asi 20 odlišných vysoce konzervovaných sekretovaných proteinů, které jsou následně rozděleny do několika podskupin, a to podle funkce a vlastností (Miayazono *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2007). BMP indukují přeměnu mezenchymových buněk do osteoblastové linie a inhibují diferenciaci v myoblastické a adipogenní linii (Katagiri *et al.*, 1994). BMP hrají důležitou roli i ve skeletogenezi během procesů spojených s vývojem končetin. Jedny z nejméně studovaných členů rodiny BMP jsou BMP2, BMP4 a BMP7, jež jsou všechny zahrnuty v základním procesu tvorby kostní hmoty. Protein BMP6 se podílí na osteogenní diferenciaci lidských buněk dentálního folikulu v časných vývojových stádiích (Wise, 2009; Takahashi *et al.*, 2013). Dále byla zvýšená hladina proteinu BMP6 nalezena u lidského periodontálního ligamenta, což naznačuje jeho možnou roli při erupci zubu (Wescott *et al.*, 2007; Wise *et al.*, 2011).

Protein c-Fos je součástí komplexu transkripčního faktoru AP-1. Je kódován geny, které patří do rodiny příbuzných genů *fos* (*c-fos*, *fosB*, *fra-1*, *fra-2*) a *jun* (*c-jun*, *junB*, *junD*) (Angel *et al.*, 1991). Transkripční faktor AP-1 je nezbytný pro osteoklastogenezi. Nadměrná exprese *c-fos* u transgenních a chimérických myši způsobuje osteosarkomy a chondrosarkomy (Grigoriadis *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 1995). Naopak *c-fos* deficientní myši jsou osteopetrotické, mají nedostatek mnohjaderných osteoklastů (Grigoriadis *et al.*, 1994) a nemají kvůli narušené erupční cestě prořezané zuby (Wang *et al.*, 1992). Homozygotní jedinci jsou menší než heterozygotní a mají zkrácené končetiny a čenich, navíc i menší dutinu v kostní dřeni (Johnson *et al.*, 1992; Wang *et al.*, 1992).

Cíle práce

Cílem předkládané disertační práce byl výzkum nových interakcí, kandidátních molekul a jejich funkcí během osteogeneze. Endochondrální osifikace byla studována na modelu dlouhých kostí myších končetin a souvisejících systémů *in vitro*. Intramembranózní osifikace alveolární kosti byla zkoumána v kontextu s dalšími tvrdými tkáněmi (zuby).

Dílčí cíle práce byly následující:

I) Endochondrální osifikace/chondrogenese dlouhých kostí

1. Detekce exprese transkripčního faktoru c-Myb u myších končetin
2. Modulace exprese c-*myb* v mikromasových kulturách
3. Funkční interakce signálních drah FGF a WNT

II) Intramembranózní osifikace/komplex alveolární kosti a zubu

1. Detekce proteinu BMP6 v souvislosti s erupcí zubů
2. Korelační analýza BMP6 v alveolární kosti
3. Specifikace osteogenního potenciálu peridentálních buněk
4. Funkční analýza role c-Fos při tvorbě komplexu zubu a kosti

Materiál a metody

Biologický materiál

Experimenty byly prováděny na myších *Mus musculus* (kmen CD1) získaných z chovu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity Brno. Myši deficientní v genu *c-fos* (kmen C57BL6) byly získány ve spolupráci s Dr. Tucker (Grigoriadis *et al.*, 1994; Cranifacial Development and Stem Cell Biology, King's College, London). Experimenty byly schváleny projekty pokusů.

Metody

Příprava histologických vzorků

Tkáně byly odebrány a fixovány v 4% paraformaldehydu. K dalšímu zpracování byla použita alkoholová řada, xylen a z parafinových bločků byly zhotoveny série histologických řezů (5 μ m).

Separace epitelu

Pro separaci epitelu byly použity řezy o tloušce 250 μ m z dolních čelistí myších mandibul stádia E13, E14 a E15 připravené pomocí přístroje McIlwain™ Tissue Chopper. Z frontálních řezů byl následně izolován peridentální mezenchym.

Mikromasové kultury

Primární mikromasové kultury byly připraveny z myších hrudních končetin stádia E12. Buňky byly nasazeny na misky v 10 μ l „spotech“ při koncentraci 2×10^7 buněk/ml a kultivovány v médiu.

Přechodná transfekce mikromasových kultur

Transfekce mikromasových kultur byla provedena v koncentraci 100 ng DNA (pcDNA-3-mcMYB, pcDNA-3) a siRNA o koncentraci 200 nM (MYB, negativní kontrola) na 1 „spot“ pomocí transfekčního činidla FUGENE 6.

Hybridizace in situ

Hybridizace *in situ* u myších končetin byla provedena podle Holland *et al.* (1996) za použití sondy *c-myb*, *Col2a1* a *Col10a1*.

Izolace RNA a reverzní transkripce

Celková RNA byla izolována z mikromasových kultur a peridentálního mezenchymu použitím Mini RNeasy Kit podle návodu výrobce. Jednořetězcová cDNA byla syntetizována použitím SuperScript Vilo dle návodu výrobce.

qPCR

qPCR byla provedena k detekci transkriptů myších genů *myb*, *Sox9*, *Col2a1*, *Col10a1*, *Aggrecan* a *Mmp13*. Relativní genová exprese byla stanovena $2^{-\Delta\Delta Ct}$ normalizací k hodnotě *aktinu*.

PCR Array

Pro charakterizaci osteogenních markerů v populaci mezenchymových buněk byla použita PCR Array analýza. Pomocí této analýzy bylo detekováno 84 genů.

Luciferázová assay

Mikromasové kultury byly transfekovány luciferázovým reportérovým vektorem pGL3(4X48)-luc a Renillou pCMV-Renilla-luc. Pro vlastní měření activity luciferázy byl použit komerční kit a aktivita luciferázy byla měřena na luminometru.

Barvení mikromasových kultur alciánovou modří a alizarinovou červení

K analýze tvorby ECM u chrupavčitých nodulů mikromasových kultur bylo použito barvení alciánovou modří. K detekci osteogenního potenciálu mikromasových kultur sloužilo barvení Alizarinové červení.

Imunohistochemie

Imunohistochemická detekce proteinů BMP6, BMP2, BMP7, Osteokalcinu, PCNA, MMP9 a SOX9 byla provedena pomocí specifických protilátek na histologických řezech.

TRAP analýza

Metoda TRAP byla využita k určení metabolicky aktivních osteoklastových buněk. Sklíčka jsou barvena pomocí reakční směsi obsahující naftol, N-N-dimethylformamid, acetátový pufr, tartrát sodný a Fast Red. Následně jsou pro dosažení kontrastu dobarvena Fast Green.

TUNEL

K detekci apoptotických buněk byl použit enzym terminální deoxyribonukleotidyl-transferáza (TdT), který značí zlomy DNA.

MicroCT analýza

MicroCT analýza sloužila ke zjištění morfologie a hodnocení dalších parametrů kostní tkáně. Vzorky hlav *c-fos* deficientních myší získané na pracovišti King's College London byly zpracovány pomocí Locus SPmicroCT scanner.

Kultivace molárových plakod v ledvinné kapsule

Molárové plakody byly odseparovány z embryí heterozygotních *c-fos* myší ve stádiu E15,5 a kultivovány přes noc (Alfaqeeh *et* Tucker, 2013), zatímco byla provedena genotypizace. Všechny procesy spojené s implantací kultur do ledvinné kapsule probíhaly v souladu se schválenými projekty pokusů v laboratoři Craniofacial Development and Stem Cell Biology, King's College, London, UK.

Statistická analýza

Všechna data ke statistické analýze byla vyjádřena jako průměrné hodnoty a směrodatné odchylky. Většina dat byla vyhodnocena pomocí Student t-testu (qPCR, Luciferázová assay, TRAP analýza). One-way ANOVA test byl použit pro vyhodnocení morfologie mikromasových kultur. Jako statisticky signifikantní byla určena data na hladině významnosti $p < 0.05$, $p < 0.01$ a $p < 0.001$ a označena symboly *, ** nebo ***. Analýza byla provedena pomocí software STATISTICA 10 (StatSoft, Inc.).

Výsledky

Exprese a funkce transkripčního faktoru c-Myb

Ke zjištění možného zapojení transkripčního faktoru c-Myb v průběhu endochondrálního vývoje byla analyzována exprese c-*myb* pomocí hybridizace *in situ* v dlouhých kostech končetin (tibie) izolovaných ve stádiu E18. Buňky pozitivní pro c-*myb* mRNA byly pozorovány v klidové zóně vyvíjející se chrupavky, v hypertrofické chrupavce a slabý signál v proliferující zóně chrupavky. Data korelovala s detekcí *Col2a1* sloužící jako marker proliferující chrupavky a *Col10a1* jako marker hypertrofické a kalcifikované chrupavky.

Vliv transkripčního faktoru c-Myb na chondrogenezi byl studován u mikromasových kultur, které byly izolovány z hrudních končetinových pupenů. U mikromasových kultur transfekovaných vektorem c-*myb* (pcDNA-3-MYB) docházelo ke zvýšené aktivaci diferenciaci chondrocytů a produkci extracelulární matrix, ve srovnání s kontrolními vzorky transfekovanými prázdným vektorem pcDNA-3. Dále byla studována tvorba nodulů a ECM při snížené expresi c-*myb* pomocí siRNA. Po snížení exprese c-*myb* bylo pozorováno statisticky signifikantní snížení tvorby nodulů a ECM, a to ve srovnání s kontrolními mikromasovými kulturami.

Zvýšená aktivita tvorby extracelulární matrix a diferenciaci chondrocytů vedla k detailnější analýze mikromasových kultur pomocí qPCR. Vliv zvýšené exprese c-*myb* byl analyzován pomocí markerů rané chondrogenese *Sox9*, *Col2a1* a *Acan* (*Acan*), a také pomocí markerů hypertrofické chrupavky *Col10a1* a *Mmp13*. Rané chondrogenní markery vykazovaly zvýšenou expresi v časových bodech 24 h a 48 h po zvýšení hladiny exprese c-*myb*. V pozdějších časových bodech docházelo k poklesu exprese u *Sox9*, *Col2a1* a *Acan*. V případě markerů pro hypertrofickou chrupavku (*Col10a1* a *Mmp13*) nebyly analyzovány žádné změny v jejich expresi, nebo docházelo jen k mírnému snížení exprese *Col10a1* a *Mmp13* v 24 h časovém bodě.

K analýze určení funkce transkripčního faktoru c-Myb byl použit luciferázový reportérový gen, který je vybavený vazebnými místy pro *Sox5*, *Sox6* a *Sox9* přímo v promotoru pro *Col2a1*, který řídí expresi luciferázového genu. Po zvýšení exprese exogenního c-*myb* docházelo k aktivaci exprese luciferázového genu z reportéru Col2-LUC 48 h po transfekci.

Spolupráce FGF2 a WNT3a při potlačení diferenciaci chondrocytů

Interakce signálních drah FGF a WNT byla studována na modelu mikromasových kultur vhodných pro sledování diferenciaci chondrocytů *in vitro*. Tvorba chrupavčitých nodulů u tohoto systému nastává již po sedmi dnech kultivace a mineralizovaná ECM se tvoří po čtrnácti dnech kultivace.

V případě aplikace FGF2 a WNT3a docházelo ke snížení růstu mikromasových kultur v porovnání s kontrolními buňkami. Potlačení diferenciace chondrocytů v případě aplikace obou molekul současně bylo potvrzeno snížením počtu a velikosti chrupavčitých nodulů. Naopak FGF2 a WNT3a zvyšovaly tvorbu mineralizované matrix po čtrnácti denní kultivaci. Mineralizovaná matrix je tvořena osteoblasty, které diferencují z mezenchymových buněk nebo z hypertrofických chondrocytů. Mineralizace byla nejvýraznější po aplikaci FGF2 a WNT3a současně, a to na vnější straně vytvořených nodulů mikromasových kultur, než v jejich chrupavčitých centrech. V případě aplikace FGF2 a WNT3a samostatně docházelo k nárůstu mineralizované matrix v porovnání s kontrolními vzorky. Mineralizovaná matrix je tedy tvořena spíše nově diferencovanými osteoblasty než hypertrofickými chondrocyty.

Tyto výsledky byly potvrzeny qPCR pro markery proliferačních chondrocytů (*Col2a1*), hypertrofických chondrocytů (*Col10a1*) a osteoblastů (*Runx2*, *Osteocalcin*). Výsledky potvrzují částečné snížení chondrocytových markerů (*Col2a1*, *Col10a1*) a výrazné zvýšení markerů osteoblastů (*Runx2*, *Osteocalcin*) po 14 dnech kultivace.

Detekce proteinu BMP6 v alveolární kosti

V postnatálním stádiu P15 M1 byl protein BMP6 detekován v mezenchymových buňkách nově vytvořeného periodontia a ve vrstvě buněk cementoblastů podél zubního kořene, a zároveň i v buňkách osteoblastů, které leží na povrchu alveolu. Tyto výsledky byly přímo úměrné proliferaci (PCNA) a produkci markeru kostních buněk osteokalcinu (OCN). Aktivita osteoklastů (TRAP) byla nižší a pouze několik buněk v oblasti periodontia a v alveolární kosti zubního lůžka podléhalo apoptóze.

Při srovnání M3 ve stádiu P22 byly BMP6 pozitivní buňky identifikovány ve fibroblastech rostoucího PDL a taktéž v cementoblastech podél kořene. Protein BMP6 byl pozorován taktéž ve spodní části zubního lůžka, zejména v mezenchymových buňkách a osteoblastech na povrchu alveolární kosti. Tyto BMP6 pozitivní buňky korelovaly s proliferací a OCN. Detekce apoptotických buněk a TRAP pozitivních buněk byla redukována.

V pozdějších erupčních stádiích, P19 pro M1 a P26 pro M3, byl protein BMP6 koncentrován v buňkách přilehlých těsně k dentinu a na vnitřním povrchu alveolární kosti. Tato exprese korelovala jak s proliferačními buňkami, tak i s OCN. V alveolární kosti nebyly detekovány aktivní osteoklasty, ani apoptotické buňky a remodelace kosti byla výrazně snížena.

Expresí proteinu BMP6 byla potvrzena detekcí dalších proteinů z rodiny BMP – BMP2 a BMP7. Oba proteiny byly přítomny v osteoblastech/osteocytech na povrchu rostoucí alveolární kosti podél kořene a ve spodní části nově se tvořící alveolární kosti obklopující zub. Také několik odontoblastů bylo BMP2 i BMP7 pozitivních.

Detekce osteogenních markerů peridentálních mezenchymových buněk

Pro získání buněk mezenchymové peridentální populace byly použity frontální řezy embryonálních stádií E13, E14 a E15. Izolované mezenchymové buňky z těchto stádií byly analyzovány pomocí osteogenních PCR Array a jednotlivá stadia byla mezi sebou porovnána. Při korelaci stadia E13 a E15 bylo zjištěno signifikantní zvýšení exprese fibroblastového růstového faktoru *Fgf3*. Zvýšená exprese byla detekována také pro *Ctsk* a *Mmp9*, které se podílejí na degradaci extracelulární matrix, kostní remodelaci a resorpci. Také i u několika typů kolagenu (*Col1a2*, *Col12a1*, *Col14a1* a *Col3a1*) byla

pozorována zvýšená exprese v porovnání s časnějším stádiem E13. Naopak ve stádiu E15 se exprese *Col2a1* snížila. Zvýšená exprese byla detekována u adhezivní molekuly *Icam1* společně s *Itga3*. Transkripční faktor *Sox9*, podobně i růstový faktor *Vegfb* měly sníženou expresi v E15. Při porovnání stádií E13 a E14 byla zjištěna zvýšená exprese *Mmp9* a *Col12a1*. Statisticky signifikantní snížení bylo pozorováno u transkripčního faktoru *Sox9*, což potvrzuje trend při porovnání stádií E13 a E15.

Na základě dat z PCR Array analýzy byla provedena imunofluorescenční detekce vybraných proteinů se zvýšenou expresí (MMP9) a sníženou expresí (SOX9). Ve stádiu E13 byl protein MMP9 lokalizován v mezenchymových buňkách obklopujících zubní pupen a v oblasti budoucí alveolární kosti. Ve stádiu E14 byla detekována exprese MMP9 v buňkách kondenzovaného mezenchymu a také v oblasti alveolární kosti. V pozdějším vývojovém stádiu zubního pohárku (E15), byl protein MMP9 detekován v osteoblastech na povrchu kosti obklopující zubní zárodek. V tomto stádiu byly pozorovány MMP9 pozitivní osteoklasty. Protein SOX9 byl lokalizován v zubním epitelu a mezenchymu ve stádiu E13. Vyvíjející se chondrocyty Meckelovy chrupavky byly pozitivní pro SOX9 protein. Nižší exprese SOX9 pozitivních osteoblastů se nacházela u vyvíjející se alveolární kosti. Ve stádiu E14 byly SOX9 pozitivní buňky distribuovány v blízkosti alveolární kosti. Exprese proteinu SOX9 přetrvávala v zubním mezenchymu a epitelu. Ve stádiu E15 byla patrná exprese SOX9 v zubním epitelu, ale exprese v zubním mezenchymu se redukovala jen na několik málo pozitivních osteoblastů, které se nacházely v blízkosti alveolární kosti. Získaná data potvrdila výsledky PCR Array analýzy, které poukazovaly na zvyšující se genovou expresi *Mmp9* ve stádiu E14 vs. E13 a snižující se expresi proteinu *Sox9* během vývoje alveolární kosti.

Defekty ve vývoji kořenů zubů a v erupci u *c-fos* deficientních myší

K identifikaci defektů v tvrdých tkáních *c-fos* deficientních myší byli homozygotní jedinci pro gen *c-fos* (-/-), heterozygotní jedinci (+/-) a standardní jedinci (+/+) skenováni pomocí microCT. V postnatálním stádiu P21 byly myší moláry i řezáky v dolní čelisti plně prořezány u standardních a heterozygotních jedinců. U myší postrádajících *c-fos* nedocházelo k erupci molárů ani řezáků, které zůstaly zapouzdřeny v kostní hmotě. Mandibula deficientních myší byla zvětšena, stejně jako horní čelist a jařmový oblouk v porovnání se standardními jedinci, a dále byla pozorována zvětšená mezera mezi řezáky. Také u heterozygota byla pozorována zvětšená mezera, což naznačuje vznik jemných kostních defektů. Dále bylo patrné, že zubní kořeny jsou plně vytvořeny u standardních (+/+) i heterozygotních jedinců (+/-). Zvětšená kostní hmota byla detekována v dolní čelisti u *c-fos* (-/-) myší a zároveň bylo patrné srůstání kostní hmoty s kořeny zubů, které se plně nevyvinuly. Zub nebyl prodloužen do délky a kostní hmota obklopovala i korunky zubů. Podobně byly tvořeny i kořeny u M3. Standardní jedinec i heterozygot měl plně formované zubní kořeny a zuby byly erupovány do dutiny ústní. Na rozdíl od deficientního jedince *c-fos* (-/-), kde došlo ke srůstu zubní a kostní tkáně.

Na histologických řezech postnatálního stádia P6 byla pozorována zvětšující se kost procházející až k zubní pulpě a oblasti, kde se začínají formovat kořeny. Vývoj HERS na vrcholu moláru a tvorba rudimentů kořenů u některých myší postrádajících *c-fos* naznačuje, že regrese vývoje kořenu byla způsobena spíše mechanickým narušením kosti, než vrozeným defektem při tvorbě HERS. Na rozdíl od narušeného vývoje kořenu, nebyl vývoj korunek molárů zasažen. U standardního jedince *c-fos* (+/+) byly kořeny formovány a mezi alveolární kostí a zubem bylo vytvořeno TBI.

U *c-fos* (-/-) nebyly detekovány žádné pozitivní osteoklasty pomocí analýzy TRAP, což potvrzuje selhání osteoklastogeneze. Na základě již získaných výsledků u postnatálních jedinců a jejich defektů v kostech byl detekován statisticky signifikantní pokles TRAP pozitivních buněk ve tkáni okolo vyvíjejícího se zubu u heterozygotního jedince (+/-). U standardního jedince ve stádiu E15, byl zjištěn asi o polovinu vyšší výskyt aktivních osteoklastů.

Byly izolovány molárové plakody (E15,5) z *c-fos* deficientních a standardních myši a implantovány do ledvinné kapsule příjemce. Ledvinná kapsule poskytuje krevní zásobení, a je tak zdrojem osteoklastů i pro tkáň kultivovanou uvnitř kapsule. Po čtyřech týdnech kultivace se objevily u obou jedinců (*c-fos* deficientního i standardního jedince) dobře vyvinuté M1 a M2, které byly ukotveny v kostní hmotě. V obou případech bylo pozorováno zachované rozhraní mezi vyvíjejícím se zubem a kostí, naznačující obnovu zubního rozhraní, které je *in vivo* narušeno u mutaních jedinců. Oblast TBI byla lemována TRAP pozitivními osteoklasty, které byly získány z krevního zásobení od hostitelské myši. U takto kultivovaných molárů, které postrádaly gen *c-fos*, nebyl pozorován zásah kosti v oblasti TBI. Tvorba tvrdých tkání, dentinu a pre-enamelu byla stejná u *c-fos* deficitních myši ve srovnání se standardním jedincem.

Diskuze

Transkripční faktor c-Myb podporuje chondrogenezi (Oralova *et al.*, 2015)

Role transkripčního faktoru c-Myb při diferenciaci, proliferaci a zrání různých buněčných typů nediferencovaných a proliferačních buněk byla známá již z dřívějších studií (Ess *et al.*, 1999). Pozdější studie ukazují, že protein c-Myb je přítomen i v diferencovaných osteoblastech alveolární a mandibulární kosti, ameloblastech, odontoblastech a cementoblastech (Matalová *et al.*, 2011). Role transkripčního faktoru c-Myb v průběhu časně chondrogenese v různých vývojových stádiích endochondrální osifikace ještě nebyla popsána.

Hybridizací *in situ* byla detekována exprese c-Myb v oblasti proliferace a několik pozitivních buněk bylo nalezeno i v hypertrofických chondrocytech zajišťujících kalcifikaci kostí. Při srovnání exprese s *Col10a1*, který patří mezi markery hypertrofických chondrocytů (Nakajima *et al.*, 2001), vykazuje transkripční faktor c-Myb specifickou expresi, která naznačuje možnou dvojí roli v chondrogenezi.

Detekce proteinu c-Myb v diferencovaných buňkách vedla k otázce, zda lze modulací hladiny exprese *c-myb* ovlivnit růst chrupavky. Zvýšená exprese *c-myb* u mikomasových kultur byla důsledkem zvýšení chondrogenese projevující se zvětšením počtu chrupavčitých nodulů. To poukazuje na funkci transkripčního faktoru c-Myb jako aktivátoru chondrogenese, podobně jako je tomu např. u TGF- β nebo proteinů BMP (Karamboulas, 2010). Dále aktivace proteinu c-Myb vedla ke zvýšené expresi časného chondrogenního markeru SOX9. SOX9 hraje důležitou roli v chondrogenezi a je exprimován ve všech chondrogenitorových buňkách a chondrocytech, kromě hypertrofických chondrocytů (Akiyama, 2008). Díky vzájemné interakci chondrogenního markeru SOX9 a transkripčního faktoru c-Myb lze předpokládat možné zapojení obou faktorů v endochondrální osifikaci. Jaderný transkripční faktor SOX9 je zodpovědný i za regulaci exprese *Col2a1* (Zhao *et al.*, 1997). Zvýšená hladina *Col2a1* byla detekována při zvýšení hladiny *c-myb* v mikomasových kulturách, což naznačuje možnou úzkou spolupráci jimi kódovaných proteinů. Agrekan je znám jako jaderný proteoglykan speci-

fický pro chrupavku, u člověka je kódován genem *Acan* (Watanabe *et al.*, 1998). *Acan* tvoří společně s *Col2a1* hlavní strukturní složky chrupavky, zejména kloubní. Podobně jako exprese *Col2a1* byla relativní exprese *Acan* zvýšena po 48 h kultivaci mikromasových kultur a následně docházelo k mírnému poklesu v pozdějších časových bodech. Z toho vyplývá, že se *Acan* může spolupodílet na zprostředkování interakcí mezi chondrocyty, popřípadě mezi chondrocyty a ECM (Sandy *et al.*, 1992).

V mikromasových kulturách byl dále sledován efekt působení transkripčního faktoru c-Myb na dozrávání chondrocytů, a to s pomocí detekce exprese specifických genů *Mmp13* a *Col10a1*. MMP13 (kolagenáza-3) má důležitou roli při vývoji kostí, neboť je přítomna v růstové chrupavce a primárních osifikačních centrech v průběhu embryonálního vývoje (Wu *et al.*, 2002). *MMP13* i *COLX* jsou exprimovány v kostech, v kolagenní ECM nezbytné při mineralizaci kosti, a také jsou součástí ECM podílející se na přestavbě kostí. V expresi obou genů byly pozorovány pouze menší změny, a to mírné snížení.

Naše výsledky ukazují, že zvýšená hladina c-Myb udržuje chondrocyty v časném stádiu chondrogenese a zpomaluje tvorbu hypertrofických chondrocytů. Lze tedy usuzovat, že c-Myb aktivuje časně chondrogenní markery, čímž se prodlouží časná fáze vývoje chondrocytů a tvorba hypertrofických chondrocytů je zpožděna.

Signální dráhy FGF a WNT- β -kateninu spolupracují při potlačení diferenciaci chondrocytů (Buchtova *et al.*, 2015)

FGF signalizace hraje důležitou roli při regulaci endochondrální osifikace. Nedávné studie popisují aktivaci kanonické dráhy WNT (závislé na β -kateninu) pomocí FGF signalizace u chondrocytů (Krejci *et al.*, 2012; Tamai *et al.*, 2004). Ligand kanonické WNT dráhy se vyskytuje v chrupavce růstové ploténky a aktivací WNT/ β -kateninové dráhy je aktivována diferenciaci chondrocytů. Následně inhibicí signalizace PTHrP a indukci markerů typických pro konečnou diferenciaci chondrocytů dochází k jejich terminální diferenciaci (Andrade *et al.*, 2007). Výsledky publikované v Buchtová *et al.* (2015) na modelu mikromasových kultur ukázaly, že po kultivaci s FGF2 a WNT3a dochází k částečnému snížení chondrocytových markerů (*Col2a1*, *Col10a1*) a naopak výraznému zvýšení markerů osteoblastů (*Runx2*, *OCN*). Faktory FGF2 a WNT3a se podílejí na snižování diferenciaci chondrocytů, avšak při použití obou faktorů společně dochází k výraznějšímu potlačení diferenciaci chondrocytů. Zároveň dochází k aktivaci tvorby mineralizované matrix po dlouhodobější kultivaci mikromasových kultur. Lze tedy shrnout, že dosažené výsledky potvrzují dřívější studie o propojení těchto signálních drah a jejich funkci při diferenciaci chondrocytů (Andrade *et al.*, 2007; Krejci *et al.*, 2012; Tamai *et al.*, 2004).

BMP6 se uplatňuje v alveolární kosti a při erupci zubů (Oralova *et al.*, 2014)

K nejrozsáhlejším přestavbám alveolární kosti dochází společně s vývojem kořenů a následnou erupcí zubů (Cho *et al.*, 2000). Výsledky publikované v Oralová *et al.* (2014) ukázaly, že protein BMP6 se vyskytuje v alveolární kosti, zejména v bazální části zubního lůžka v pre-erupčním stádiu P15 M1. V této oblasti dochází k formování kosti, což bylo potvrzeno i detekcí proliferačních buněk a zvýšenou expresí pozdního osteoblastového markeru osteokalcinu (OCN) (Lamplot *et al.*, 2013). Kolokalizace proteinu BMP6, OCN a dalších BMP proteinů (BMP2 a BMP7) poukazuje na přestavbu

kostní tkáň v průběhu erupce. Remodelace alveolární kosti u zubního lůžka je nezbytná při prořezání zubů, zejména v průběhu intraosteogenní fáze (Holliday *et al.*, 2005), kdy dochází k pohybu zubu do konečné polohy okluzní roviny. Několik dalších studií ukázalo, že některé proteiny z rodiny BMP se podílejí na tvorbě alveolární kosti u báze zubu, ale protein BMP6 se zdá být nezbytný pro správný vývoj, jak bylo potvrzeno i experimentálně (Wise *et al.*, 2011).

K procesu odbourávání kosti, kde dochází k remodelaci alveolární kosti obklopující myši mandibulární molár, dochází v dřívějších vývojových stádiích (Diep *et al.*, 2009). Proces prodlužování kořene zubu nastává ve stádiu P10 pro M1 a ve stádiu P17 pro M3 (Chlastakova *et al.*, 2011; Lungova *et al.*, 2011). Zároveň dochází ke zvýšené aktivitě osteoklastů, které vytvářejí prostor pro správný vývoj PDL. Funkce správného ukotvení zubu v okolní kosti může naznačovat další možnou roli BMP6 v aktivaci osteoklastů. Wutzl *et al.* (2006) už dříve potvrdili roli rodiny proteinů BMP při vývoji osteoklastů.

Protein BMP6 byl lokalizován i ve vyvíjejícím se PDL a to se zvýšenou expresí v době kdy dochází k největšímu růstu PDL a buněk cementoblastů v oblasti M1 (Lungova *et al.*, 2011). Tyto struktury se vyvíjejí současně s tvorbou kořenů a i při erupci zubů. V tomto vývojovém stádiu byla PDL pozitivní i na proliferaci a počet apoptotických buněk byl velice nízký. Takto získaná data jsou zajímavá i díky podílu PDL při samotném procesu prořezání zubu, což bylo potvrzeno chirurgickými zákroky u psů (Cahill *et al.*, 1980). Studie Wise *et al.* (1995) potvrzuje důležitost zubního vaku při molekulárním řízení osteoklastogeneze. Signální kaskády a interakce probíhající v dentálním folikulu, osteoblastech a osteoklastech jsou nezbytné při regulaci procesu erupce zubu. Protein BMP6 se zdá být potenciální signální molekulou zahrnutou při interakcích v těchto strukturách.

Peridentální mezenchymové buňky vykazují osteogenní potenciál (Minaříková *et al.*, 2015)

Počátek tvorby alveolární kosti, která obklopuje M1, je u myši morfologicky patrný v E14. Osteogenní potenciál jednotlivých oblastí peridentálního mezenchymu vyvíjejících se do mineralizované tkáňe byl potvrzen již dříve (Kim *et al.*, 2007). Srovnáním E13, kdy není ještě patrná alveolární kost, E14, kdy dochází k formování kosti na bukalní straně a E15, kdy alveolární kost již obklopuje zubní zárodek, byly identifikovány nové osteogenní markery. Srovnáním stádia E13 a E15 bylo zjištěno intenzivní zvýšení exprese katepsinu K, cysteinové proteázy produkované osteoklasty (Littlewood-Evans *et al.*, 1997) a kolagenů (*Col1a2* a *Col3a*). Naopak snížená exprese *Col2a1* při srovnání stádií E13 a E15 naznačuje možnou odlišnost při formování alveolární kosti ve srovnání s tvorbou dlouhých kostí (endochondrální osifikace) (Ornitz *et al.*, 2002). Dále bylo identifikováno výrazné zvýšení exprese *Icam1*, který patří mezi adhezní molekuly produkované osteoblasty (Tanaka *et al.*, 1998) a exprese *Itga3*, která byla již dříve prokázána v cementoblastech, progenitorech dentálních folikulů a v osteoblastech alveolární kosti (Dangaria *et al.*, 2011). Změny v expresi transkripčních faktorů v časných stádiích vývoje alveolární kosti zahrnují snížení exprese proteinu SOX9, který je nezbytný pro kondenzaci mezenchymových buněk (Akiyama *et al.*, 2002). Signifikantní zvýšení exprese bylo pozorováno pro MMP9, matrixovou metaloproteinázu, která je zapojena v procesu regulace vaskularizace. MMP9 se podílí i na endochondrálním vývoji (Vu *et al.*,

1998) a myši deficientní v tomto genu mají zpožděnou aktivaci osteoklastů (Engsig *et al.*, 2000).

Expres *Col14a4*, člena skupiny FACIT, byla popsána už v několika buněčných liniích derivovaných z mezenchymu (Schuppan *et al.*, 1990). Expres *Col14a1* v oblasti peridentálního mezenchymu však byla zjištěna poprvé. Další člen ze skupiny FACIT, COL12A1, který je nedílnou součástí PDL, byl detekován ve zkoumaných stádiích a jeho exprese se zvětšovala s postupným embryonálním vývojem. Sugrue *et al.* (1989) popsali expresi *Col12a1* ve šlachách, perichondriu a periosteu dlouhých kostí. Dále se podílí i na diferenciaci osteoblastů dlouhých kostí (Izu *et al.*, 2011). Pravděpodobně dochází k diferenciaci alveolárních osteoblastů v časných stádiích, což by mohlo vysvětlit i změny hladin exprese před vlastní tvorbou alveolární kosti. Tento kolagen v alveolární kosti doposud nebyl identifikován.

Nově byla detekována zvýšená exprese tuftelinu1 ve stádiu E15 ve srovnání se stádiem E14. Tuftelin byl popsán v průběhu odontogeneze, kde se podílí na tvorbě skloviny a diferenciaci odontoblastů (Deutchs *et al.*, 1995; Diekwisch *et al.*, 1997), avšak u kostí byl popsán poprvé.

Defekty v zubních kořenech a při erupci zubu c-fos deficientních myší jsou řízeny ztrátou osteoklastů (Alfaqeeh *et al.*, 2015)

Na základě pozorování vnějších fenotypových znaků u kostí a zubů c-fos deficientních myší bylo zjištěno, že heterozygotní myši mají menší defekty kostí s mezerou mezi předními horními řezáky a ektopické zvětšení kosti u vrcholu zubu. Tyto defekty jsou způsobeny zmenšením počtu osteoklastů u heterozygotních myší, jež jsou známy z časných vývojových stádií alveolární kosti a vyúsťují v tvorbu užšího rozhraní mezi zubem a kostí (TBI). Následkem těchto defektů je kost postnatálně posunuta do oblasti zubní papily u vrcholu zubu. Kostní defekty však nemají vliv na schopnost zubu se prořezat nebo tvořit kořeny. Poruchy při tvorbě kořenů jsou sekundárním následkem nedostatku prostoru v okolí vyvíjejícího se zubního zárodku.

Dřívější studie ukazují, že c-fos je exprimován ve vyvíjejícím se zubu a okolním mezenchymu a tudíž poškození rozhraní zub-kost pozorované u homozygotů se zdá být způsobeno pouze poškozením osteoklastů. V případě implantace zubních plakod do ledvinných kapsulí jsou osteoklasty poskytnuty hostitelským organizmem a zuby jsou schopny se normálně vyvíjet společně s prostorem pro vytvoření TBI.

Ačkoliv některé další studie poukazují na invazi kosti do zubu u jiných deficitních myší (Ida-Yomemochi *et al.*, 2002; Kitahara *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2000), naše studie ukazuje, že kost zůstává neodbouraná v důsledku nedostatku osteoklastů a růst zubního zárodku vede k přímému kontaktu zubu a kosti. Lze spekulovat nad tím, že v průběhu normálního vývoje zubu jsou vyvíjejícím se zárodkem vysílány signály k tvorbě osteoklastů na hranici mezi zubem a kostí. Tato oblast pravděpodobně umožňuje odbourávání kostí a připravuje cestu pro prořezání zubu do dutiny ústní. Tento proces může být ale také spuštěn mechanicky na základě zvýšení síly působící na okolní tkáň vyvolané růstem zubu.

Závěr

Práce byla zaměřena na nové molekulární aspekty vývoje tvrdých tkání. Byla detekována přítomnost RNA c-myb a proteinu c-Myb ve vyvíjející se chrupavce *in vivo*

na modelu dlouhých kostí myších končetin. Zároveň byla potvrzena role c-Myb při endochondrální osifikaci i na modelu mikromasových buněčných kultur *in vitro*. Dále bylo zjištěno, že zvýšením hladiny c-Myb jsou aktivovány časné chondrogenní markery (*Sox9*, *Col2a1*, *Acan*), zatímco u pozdních chondrogenních markerů (*Col10a1*, *Mmp13*) ke změně hladiny exprese nedošlo. Další detailní analýza popisující přesný mechanismus interakce mezi promotorem SOX9 a c-Myb vazebnou doménou je však nezbytná k objasnění všech transaktivačních i represorových funkcí c-Myb.

Bylo zjištěno, že FGF a WNT/ β -kateninové dráhy spolupracují v signalizaci, která inhibuje diferenciaci chondrocytů a zvyšuje diferenciaci osteoblastů.

Proteiny rodiny BMP se podílejí na podpoře zvýšení růstu kostní hmoty během osteogeneze. Protein BMP6 byl detekován v osteoblastech alveolární kosti, vyvíjejícím se PDL a cementoblastech. BMP6 pozitivní buňky navíc korelovaly s výskytem proteinů BMP2, BMP7 a osteokalcinem v osteoblastech při zvýšené kostní remodelaci. Výsledky potvrzují důležitý vliv tohoto proteinu při procesu prořezávání zubů.

Díky detekci osteogenních markerů pomocí PCR Array byly nově identifikovány některé potenciální markery (*Tuft1*, *Col5*) peridentálních mezenchymových buněk, avšak jejich zapojení v signálních drahách a podíl na vývoji alveolární kosti, ale musí být potvrzen dalšími funkčními analýzami.

Fenotypové změny byly dokumentovány u kostí c-*fos* deficientních myší, které mají zablokovanou diferenciaci osteoklastů. Výsledky experimentů ukázaly, že poškození prořezávání zubů u těchto myší je způsobeno narušením tvorby rozhraní mezi zubem a kostí. Nedostatečným odstraněním kostní tkáně dochází k poškození vyvíjejícího se zubního zárodku, nesprávnému ukotvení zubu v čelistní kosti a následně k selhání prořezávání zubů.

Všechny nově získané výsledky mohou být využity k lepšímu pochopení funkce jednotlivých signálních drah, které se podílí na tvorbě tkání kostí a zubů.

Literatura

- Abzhanov A, Rodda SJ, McMahon AP, Tabin CJ. 2007. Regulation of skeletogenic differentiation in cranial dermal bone. *Development*. 134(17):3133-3144.
- Akiyama H. Control of chondrogenesis by the transcription factor Sox9. 2008. *Mod Rheumatol*. 18(3): 213-9.
- Alfaqueeh SA, Gaete M, Tucker AS. 2013. Interactions of the tooth and bone during development. *J Dent Res*. 92(12):1129-1135.
- Andrade AC, Nilsson O, Barnes KM, Barin J. 2007. Wnt gene expression in the post-natal growth plate: regulation with chondrocyte differentiation. *Bone*. 40(5):1361-1369.
- Angel P, Karin M. 1991. The role of Jun, Fos and AP-1 complex in cell proliferation and transformation. *Biochim Biophys. Acta*. 1072(2-3):129-157.
- Bhattarai G, Lee YH, Lee MH, Yi HK. 2013. Gene delivery of c-myc increases bone formation surrounding oral implants. *J Dent Res*. 92(9):840-845.
- Cahill DR, Marks SC Jr. 1980. Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. *J Oral Pathol Med*. 9(4):189-200.
- Colnot C, Lu C, Hu D, Helms JA. 2004. Distinguishing the contributions of the perichondrium, cartilage, and vascular endothelium to skeletal development. *Dev Biol*. 269(1):55-69.

- Dangaria SJ, Ito Y, Luan X, Diekwisch TG. 2011. Differentiation of neural-crest-derived intermediate pluripotent progenitors into committed periodontal populations involves unique molecular signature changes, cohort shifts, and epigenetic modifications. *Stem Cells Dev.* 20(1):39-52.
- Deutsch D, Palmon A, Dafni L, Catalano-Sherman J, Young MF, Fisher LW. 1995. The enamel (tuftelin) gene. *Int J Dev Biol.* 39(1):135-143.
- Diekwisch TG, Ware J, Fincham AG, Zeichner-David M. 1997. Immunohistochemical similarities and differences between amelogenin and tuftelin gene products during tooth development. *J Histochem Cytochem.* 45(6):859-866.
- Diep L, Matalova E, Mitsiadis TA, Tucker AS. 2009. Contribution of the tooth bud mesenchyme to alveolar bone. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 312B(5):510-517.
- Engsig MT, Chen QJ, Vu TH, Pedersen AC, Therkidsen B, Lund LR, Henriksen K, Lenhard T, Foged NT, Werb Z, Delaissé JM. 2000. Matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *J Cell Biol.* 151(4):879-889.
- Ess KC, Witte DP, Bascomb CP, Aronow BJ. 1999. Diverse developing mouse lineages exhibit high-level c-Myb expression in immature cells and loss of expression upon differentiation. *Oncogene.* 18(4):1103-1111.
- Fleischmannova J, Matalova E, Tucker AS, Sharpe PT. 2008. Mouse models of tooth abnormalities. *Eur J Oral Sci.* 116(1):1-10.
- Fleischmannova J, Matalova E, Sharpe PT, Misek I, Radlanski RJ. 2010. Formation of the tooth-bone interface. *J Dent Res.* 89(2):108-115.
- Grigoriadis AE, Schellander K, Wang ZQ, Wagner EF. 1993. Osteoblasts are target cells for transformation in c-fos transgenic mice. *J Cell Biol.* 122(3):685-701.
- Grigoriadis AE, Wang ZQ, Cechini MG, Hofstetter W, Felix R, Fleisch HA, Wagner EF. 1994. c-Fos a key regulator of osteoclast macrophage lineage determination and bone remodelling. *Science.* 266(5184):443-448.
- Guo X, Wang XF. 2009. Signaling cross-talk between TGF-beta/BMP and other pathways. *Cell Res.* 19(1):71-88.
- Holland LZ, Holland PWH, Holland ND. 1996. Revealing homologies between body parts of distantly related animals by in situ hybridization to developmental genes: amphioxus vs vertebrates. New York: Wiley.
- Holliday S, Schneider B, Galang MTS, Fukui T, Yamane A, Luan X, Diekwisch TG. 2005. Bones, teeth and genes: a genomic homage to Harry Sicher's „Axial movement of teeth“. *World J Orthod.* 6(1):61-70.
- Cheasley D, Pereira L, Lightowler S, Vincan E, Malaterre J, Ramsay RG. 2011. Myb controls intestinal stem cell genes and self-renewal. *Stem Cells.* 29(12):2042-2050.
- Chlastakova I, Lungova V, Wells K, Tucker AS, Radlanski RJ, Misek I, Matalova E. 2011. Morphogenesis and bone integration of the mouse mandibular third molar. *Eur J Oral Sci.* 119(4):265–274.
- Cho MI, Garant PR. 2000. Development and general structure of the periodontium. *Periodontol 2000* 24:9-27.
- Ida-Yonemochi H, Noda T, Shinmokawa H, Saku T. 2002. Disturbed tooth eruption in osteopetrotic (op/op) mice: histopathogenesis of tooth malformation and odontomas. *J Oral Pathol Med.* 31(6):365-373.

- Izu Y, Sun M, Zwolanek D, Veit G, Williams V, Cha B, Jepsen KJ, Koch M, Birk DE. 2011. Type XII collagen regulates osteoblast polarity and communication during bone formation. *J Cell Biol* 193(6): 1115 – 1130.
- Johnson RS, Spiegelman BM, Papaioannou V. 1992. Pleiotropic effects of a null mutation in the c-fos proto-oncogene. *Cell*. 71(4):577-586.
- Kaku M, Komatsu Y, Mochida Y, Yamauchi M, Mishina Y, Ko CC. 2012. Identification and characterization of neural crest-derived cells in adult periodontal ligament of mice. *Arch Oral Biol*. 57(12):1668-1675.
- Karamboulas K, Dranse HJ, Underhill TM. 2010. Regulation of BMP-dependent chondrogenesis in early limb mesenchyme by TGFbeta signals. *J Cell Sci*. 123(Pt 12): 2068-76.
- Katagiri T, Yamaguchi A, Komaki M, Abe E, Takahashi N, Ikeda T, Rosen V, Wozney JM, Fujisawa-Sehara A, Suda T. 1994. Bone morphogenetic protein-2 converts the differentiation pathway of C2C12 myoblasts into the osteoblast lineage. *J Cell Biol*. 127(6 Pt 1):1755-1766.
- Kengaku M, Capdevilla J, Rodriguez-Esteban C, De La Pena J, Johnson RL, Ozpisúa Belmonte JC, Tabin CJ. 1998. Distinct WNT pathways regulativ AER formation and dorsoventral polarity in the chick limb bud. *Science*. 280(5367):1274-1277.
- Kim JY, Cho SW, Hwang HJ, Lee MJ, Lee JM, Cai J, Choi SH, Kim CK, Jung HS. 2007. Evidence for expansion-based temporal BMP4/NOGGIN interactions in specifying periodontium morphogenesis. *Cell Tissue Res*. 330(1):123-132.
- Kitahara Y, Suda N, Kuroda T, Beck F, Hammond VE, Takano Y. 2002. Disturbed tooth development in parathyroid hormone-related protein (PTHrP)-gene knockout mice. *Bone*. 30(1):48-56.
- Krejci P, Aklian A, Kaucka M, Sevcikova E, Prochazkova J, Masek JK, Mikolka P, Pospisilova T, Spoustova T, Weis M, Paznekas WA, Wolf JH, Gutkind JS, Wilcox WR, Kozubik A, Jabs EW, Bryja V, Salazar L, Vesela I, Balek L. 2012. Receptor tyrosine kinases activate canonical WNT/ β -catenin signaling via MAP kinase/LRP6 pathway and direct β -catenin phosphorylation. *PLoS One*. 7(4):e35826.
- Lamplot JD, Qin J, Nan G, Wang J, Liu X, Yin L, Tomai J, Li R, Shui W, Zhankg H, Kim SH, Zhang H, Kim SH, Zhang W, Zhang J, Kong Y, Denduluri S, Rogers MR, Pratt A, Haydon RC, Luu HH, Angeles J, Shi LL, He TC. 2013. BMP9 signalling in stem cell differentiation and osteogenesis. *Am J Stem Cell*. (1):1-21.
- Lekic P, Sodek J, McCulloch CA. 1996. Relationship of cellular proliferation to expression of osteopontin and bone sialoprotein in regenerating rat periodontium. *Cell Tissue Res*. 285(3):491-500.
- Lieu YK, Reddy EP. 2009. Conditional c-myc knockout in adult hematopoietic stem cells leads to loss of self-renewal due to impaired proliferation and accelerated differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106(51):21689-21694.
- Liu JG, Tabata MJ, Fujii T, Ohmori T, Abe M, Ohsaki Y, Kato J, Wakisaka S, Iwamoto M, Kurisu K. 2000. Parathyroid hormone-related peptide is involved in protection against invasion of tooth germs by bone via promoting the differentiation of osteoclasts during tooth development. *Mech dev*. 95(1-2):189-200.
- Littlewood-Evans A, Kokubo T, Ishibashi O, Inaoka T, Wlodarski B, Gallagher JA, Bilbe G. 1997. Localization of cathepsin K in human osteoclasts by in situ hybridization and immunohistochemistry. *Bone* 20(2): 81-86.

- Lungova V, Radlanski RJ, Tucker AS, Renz H, Misek I, Matalova E. 2011. Tooth-bone morphogenesis during postnatal stages of mouse first molar development. *J Anat.* 218(6):699–716.
- Lungova V, Buchtova M, Janeckova E, Tucker AS, Knopfova L, Smarda J, Matalova E. 2012. Localization of c-MYB in differentiated cells during postnatal molar and alveolar bone development. *Eur J Oral Sci.* 120(6):495-504.
- Mackie EJ, Ahmed YA, Tatarczuch L, Chen KS, Mirams M. 2008. Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton. *Int J Biochem Cell Biol.* 40(1):46-62.
- Malaterre J, Mantamadiotis T, Dworkin S, Lightowler S, Yang Q, Ransome MJ, Turnley AM, Nichols NR, Emambokus NR, Frampton J, Ramsay RG. 2008. C-Myb is required for neural progenitor cell proliferation and maintenance of the neural stem cell niche in adult brain. *Stem Cells.* 26(1):173-181.
- Matalova E, Buchtova M, Tucker AS, Bender TP, Janeckova E, Lungova E, Balkova S, Smarda J. 2011. Expression and characterization of c-myb in prenatal odontogenesis. *Dev Growth Differ.* 53(6):793-803.
- Miyazono K, Maeda S, Imamura T. 2005. BMP receptor signalling: transcriptional targets, regulation of signals, and signalling cross-talk. *Cytokine Growth Factor Rev.* 16(3):251-263.
- Mucenski ML, McLain K, Kier AB, Swerdlow SH, Schreiner CM, Miller TA, Pietryga DW, Scott WJ Jr, Potter SS. 1991. A functional c-myb gene is required for normal murine fetal hepatic hematopoiesis. *Cell.* 65(4): 677-689.
- Nakajima F, Ogasawara A, Goto K, Moriya H, Ninomiya Y, Einhorn TA, Yamazaki M. 2001. Spatial and temporal gene expression in chondrogenesis during fracture healing and the effects of basic fibroblast growth factor. *J Orthop Res.* 19(5): 935-944.
- Oh IH, Reddy EP. 1999. The myb gene family in cell growth, differentiation and apoptosis. *Oncogene.* 18(19): 3017-33.
- Ohuchi H, Nakagawa T, Yamamoto A, Araga A, Ohata T, Ishimaru Y, Yoshioka H, Kuwana T, Nohno T, Yamasaki M, Itoh N, Noji S. 1997. The mesenchymal factor, FGF10, initiates and maintains the outgrowth of the chick limb bud through interaction with FGF8, an apical ectodermal factor. *Development.* 124(11):2235-2244.
- Ornitz DM, Marie PJ. 2002. FGF signalling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. *Genes Dev.* 16(12):1446-1465.
- Ramsay RG, Gonda TJ. 2008. MYB function in normal and cancer cells. *Nat Rev Cancer.* 8(7): 523-534.
- Sandy JD, Flannery CR, Neame PJ, Lohmander LS. 1992. The structure of aggrecan fragments in human synovial fluid. Evidence for the involvement in osteoarthritis of a novel proteinase which cleaves the Glu 373-Ala 374 bond of the interglobular domain. *J Clin Invest.* 89(5):1512-1516.
- Sandberg ML, Sutton SE, Pletcher MT, Wiltshire T, Tarantino LM, Hogenesch JB, Cooke MP. 2005. C-Myb and p300 regulate hematopoietic stem cell proliferation and differentiation. *Dev Cell.* 8(2):153-166.

- Schuppan D, Cantaluppi MC, Becker J, Veit A, Bunte T, Troyer D, Schuppan F, Schmid M, Ackermann R, Hahn EG. 1990. Undulin, an extracellular matrix glycoprotein associated with collagen fibrils. *J Biol Chem.* 265(15): 8823-8832.
- Sodek J, McKee MD. 2000. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol 2000.* 24:99-126.
- Sugrue SP, Gordon MK, Seyer J, Dublet B, van der Rest M, Olsen BR. 1989. Immunoidentification of type XII collagen in embryonic tissues. *J Cell Biol* 109(2): 939 – 945.
- Takahashi K, Ogura N, Aonuma H, Ito K, Ishigami D, Kamino Y, Kondoh T. 2013. Bone morphogenetic protein 6 stimulates mineralization in human dental follicle cells without dexamethasone. *Arch Oral Biol.* 58(6):690-698.
- Tamai K, Zeng X, Liu C, Zhang X, Harada Y, Chang Z, He X. 2004. A mechanism for Wnt coreceptor activation. *Mol Cell.* 13(1):149-156.
- Tanaka Y, Mine S, Hanagiri T, Hiraga T, Morimoto I, Figdor CG, van Kooyk Y, Ozawa H, Nakamura T, Yasumoto K, Eto S. 1998. Constitutive up-regulation of integrin-mediated adhesion of tumor-infiltrating lymphocytes to osteoblasts and bone marrow-derived stromal cells. *Cancer Res.* 58(18): 4138 -4145.
- Tucker AS, Sharpe PT. 1999. Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning, the right shape in the right place. *J Dent Res.* 78(4):826-834.
- Tucker AS, Sharpe PT. 2004. The cutting-edge of mammalian development; how the embryo makes teeth. *Nat Rev Genet.* 5(7):499-508.
- Urist MR. 1965. Bone: formation by autoinduction. *Science.* 150(3698):893-899.
- Vu TH, Shipley JM, Bergers G, Berger JE, Helms JA, Hanahan D, Shapiro SD, Senior RM, Werb Z. 1998. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell.* 93(3): 411-422.
- Wang ZQ, Ovitt C, Grigoriadis AE, Möhle-Steinlein U, Rütther U, Wagner EF. 1992. Bone and haematopoietic defects in mice lacking c-fos. *Nature.* 360(6406):741-745.
- Wang ZQ, Liang J, Schellander K, Wagner EF, Grigoriadis AE. 1995. c-fos-induced osteosarcoma formativ in transgenic mice: cooperativity with c-jun and the role of endogenous c-fos. *Cancer Res.* 55(24):6244-6251.
- Watanabe H, Yamada Y, Kimata K. 1998. Roles of aggrecan, a large chondroitin sulfate proteoglycan, in cartilage structure and function. *J Biochem.* 124(4): 687-93.
- Wescott DC, Pinkerton MN, Gaffey BJ, Beggs KT, Milne TJ, Meikle MC. 2007. Osteogenic gene expression by human periodontal ligament cells under cyclic pension. *J Dent Res.* 86(12):1212-1216.
- Wise GE, Lin F, Zhao L. 1995. Transcription and translation of CSF-1 in the dental follicle. *J Dent Res.* 74(9):1551-1557.
- Wise GE. 2009. Cellular and molecular basis of tooth eruption. *Orthod Craniofac Res.* 12(2):67-73.
- Wise GE, He H, Gutierrez DL, Ring S, Yao S. 2011. Requirement of alveolar bone formation for eruption of rat molars. *Eur J Oral Sci.* 119(5):333-338.
- Wu CW, Tchetina EV, Mwale F, Hasty K, Pidoux I, Reiner A, Chen J, Van Wart HE, Poole AR. 2002. Proteolysis involving matrix metalloproteinase 13 (collagenase-3) is required for chondrocyte differentiation that is associated with matrix mineralization. *J Bone Miner Res.* 17(4): 639-51.
- Wu X, Shi W, Cao X. 2007. Multiplicity of BMP signalling in skeletal development. *Ann N Y Acad Sci.* 1116:29-49.

Wutzl A, Brozek W, Lernbass I, Rauner M, Hofbauer G, Schopper C, Watzinger F, Peterlik M, Pietschmann P. 2006. Bone morphogenetic proteins 5 and 6 stimulate osteoclast generation. *J Biomed Mater Res A*. 77(1):75-83.

Zhao Q, Eberspaecher H, Lefebvre V, De Crombrughe B. 1997. Parallel expression of Sox9 and Col2a1 in cells undergoing chondrogenesis. *Dev Dyn*. 209(4): 377-386.



Mgr. Veronika Oralová, Ph.D. (e-mail: 211812@mail.muni.cz) absolvovala doktorské studium v oboru Molekulární a buněčná biologie na Přírodovědecké fakultě MU, přičemž školícím pracovištěm byl Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., kde nadále pracuje. Doktorskou disertační práci obhájila dne 27.11. 2015. Aktuálně absolvuje postdoktorandský pobyt na Ghent University v Belgii.

Studium genetických a infekčních rizikových faktorů v patogenezi obezity u českých adolescentů

Lenka Elblová

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty UK a FN Motol. V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Abstrakt

Prevalence obezity i přidružených kardiometabolických komplikací u dětí je celosvětově vysoká. Obezita je multifaktoriální onemocnění, které vzniká zejména vlivem nepříznivých faktorů vnějšího prostředí v interakci s faktory genetickými. Celogenomové asociační studie odhalily desítky jednonukleotidových polymorfismů asociovaných s obezitou. Zvažována je i kauzální role infekce v patogenezi obezity, zejména prostřednictvím lidského adenoviru 36 (Adv36). Cílem dizertační práce bylo prověřit možné asociace vybraných polymorfismů kandidátních genů pro obezitu (TMEM18, SH2B1, KCTD15, PCSK1, BDNF, SEC16B, MC4R, FTO) a infekce Adv36 ve vztahu k fenotypovým charakteristikám obezity a jejím komplikacím u české dospívající populace. Výsledky jsou popsány v celkem osmi publikacích, z nichž je šest původních prací a dvě rešerše. Dílčí studie byly provedeny jak na reprezentativním vzorku české adolescentní populace (1533 jedinců epidemiologické studie), tak u adolescentů s nadměrnou hmotností, kteří podstoupili redukční lázeňskou nebo ambulantní terapii (562 jedinců intervenční studie). Výsledky analýz prokázaly souvislost genových variant TMEM18, SEC16B a FTO s obezitou. Popsána byla rovněž spojitost variant genů zapojených do hypotalamické regulace energetické rovnováhy – MC4R, BDNF a PCSK1 – s výskytem metabolického syndromu, příjmem jednotlivých nutrientů či infekcí Adv36. Potvrzena byla také asociace mezi přítomností protilátek proti Adv36 s obezitou, zejména pak s nadváhou. Adv36 pozitivita dále ovlivňovala úspěšnost redukčního programu. Závěry předkládané práce podporují význam genetických i infekčních faktorů v patogenezi obezity.

Úvod

Obezita patří mezi nejrozšířenější metabolická onemocnění postihující dospělou i dětskou populaci po celém světě. Problematičnost vysoké prevalence obezity spočívá zejména v přidružených zdravotních komplikacích, např. kardiometabolických abnormalitách, metabolickém syndromu či poruchách glukózové tolerance, které se mohou začít vyskytovat již u dětí i dospívajících (Bokor *et al.* 2008, Lambert *et al.* 2008). Celosvětovou epidemii obezity nicméně nelze přisuzovat pouze změnám životního stylu charakterizovaným zvýšeným energetickým příjmem, nevhodnou skladbou jídelníčku a nedostatečnou fyzickou aktivitou.

Informační listy GSGM, 2016, 48: 43-54

Obezita je multifaktoriální onemocnění definované zmnožením tukové tkáně v důsledku energetické nerovnováhy, kdy energetický příjem převáží nad výdejem. Existuje řada faktorů endogenního i exogenního charakteru, které jsou za tuto nerovnováhu zodpovědné a společně ovlivňují neuroendokrinní regulaci energetické bilance a následně tělesnou hmotnost (Hainer 2011). Energetická rovnováha je řízena centrální nervovou soustavou, resp. hypotalamem, kde dochází k interakci periferních signálů z tukové tkáně a gastrointestinálního traktu s hormony nervové tkáně – neuropeptidy. Klíčovým systémem této regulace je tzv. leptin-melanokortinová signalizační kaskáda, jejíž součástí jsou orexigenní neuropeptidy, stimulující příjem potravy a anorexigenní neuropeptidy, které snižují energetický příjem (Stanley *et al.* 2005). Leptin je anorexigenní hormon tukové tkáně, který dále aktivuje a inhibuje tyto neuropeptidy v hypotalamu (Cowley *et al.* 2001).

Tělesná hmotnost je geneticky determinována ze 40–70 % (Allison *et al.* 1996, Stunkard *et al.* 1986). Na základě dědičnosti můžeme obezitu rozdělit na dva typy – monogenní a polygenní „běžnou“ obezitu. Monogenně podmíněná obezita je vzácné onemocnění manifestující se již v raném dětství a je způsobeno mutacemi v genech, které jsou součástí leptin-melanokortinové osy (Hinney *et al.* 2014). Na polygenním typu dědičnosti se naopak podílí velké množství různých genů a genových variant malého účinku, které interagují nejen mezi sebou, ale i s faktory vnějšího prostředí. Díky poznatkům o variabilitě lidského genomu (International HapMap Consortium 2005) a pokročilým čipovým genotypizačním technologiím byla zavedena úspěšná metoda pro výzkum komplexních znaků a onemocnění na populační úrovni – celogenomové asociační studie (genome-wide association studies, GWAS). Gen *FTO* (fat mass and obesity associated) byl v roce 2007 prvním takto objeveným kandidátním genem pro obezitu (Frayling *et al.* 2007). Následovaly tři tzv. vlny GWAS, které identifikovaly celkem 32 variant genů asociovaných s indexem tělesné hmotnosti (body mass index, BMI) (Loos *et al.* 2008, Speliotes *et al.* 2010, Thorleifsson *et al.* 2009, Willer *et al.* 2009). V roce 2015 byla publikovaná dosud nejrozsáhlejší GWAS, která popsala 97 lokusů významně asociovaných s BMI, z nichž 56 bylo popsáno poprvé (Locke *et al.* 2015). Efekt nalezených variant na BMI je nicméně poměrně malý, vysvětluje přibližně 2,7 % celkové variability (Locke *et al.* 2015) a efekt variant genu *FTO* zůstává největší ze všech genů objevených díky strategii GWAS.

Do dizertační práce bylo vybráno jedenáct jednonukleotidových polymorfismů (single nucleotide polymorphisms, SNPs). Na základě výsledků GWAS to byly varianty genů *FTO*, *MC4R* (melanocortin 4 receptor), *TMEM18* (transmembrane protein 18), *SH2B1* (Src-homology-2 /SH2/ domain containing putative adaptor protein 1), *KCTD15* (potassium channel tetramerization domain containing 15), *BDNF* (brain-derived neurotrophic factor), *SEC16B* (SEC16 homolog B *Saccharomyces cerevisiae*). Polymorfismy genu *PCSK1* (proprotein convertase subtilisin/kexin type 1) byly identifikovány díky strategii kandidátního genu a vazebných analýz (Benzinou *et al.* 2008). Úloha těchto polymorfismů a kandidátních genů v patogenezi obezity ale zůstává nejasná. Vzhledem k vysoké expresi většiny uvedených genů v hypotalamu se uvažuje o jejich zapojení například do regulace energetické rovnováhy (Willer *et al.* 2009).

Vedle změn životního stylu a genetických predispozic se na patogenezi obezity mohou podílet další méně známé faktory, například infekční. Obezita je spojována se zvýšenou náchylností obézních jedinců k infekci v důsledku zhoršené imunitní odpovědi, ke které při akumulaci tělesného tuku dochází (Garcia *et al.* 2015, Tanaka *et al.* 1993).

Nicméně infekční agens mohou hrát i kauzální roli v patogenezi obezity. S rozvojem obezity u lidí je nejvíce spojován lidský adenovirus 36 (Adv36), jenž způsobuje zmnožení tukové tkáně u experimentálně infikovaných zvířat (Atkinson *et al.* 2005, Dhurandhar *et al.* 2000). Přítomnost Adv36 u nich navíc vedla ke snížení hladin cholesterolu, triacylglycerolů a zvýšené inzulinové senzitivě (Dhurandhar *et al.* 2000, Pasarica *et al.* 2006). Nedávná meta-analýza potvrdila, že Adv36 významně zvyšuje riziko obezity také u dětí a dospělých (Shang *et al.* 2014). Asociace protilátek proti Adv36 s metabolickými parametry nebyly jednoznačně popsány (Almgren *et al.* 2012, Na *et al.* 2012, Trovato *et al.* 2009).

Předkládaná dizertační práce se zaměřuje na oba aktuální rizikové faktory obezity – polymorfismy kandidátních genů a Adv36. Pro jejich výzkum využívá rozsáhlý a podrobně fenotypově charakterizovaný soubor českých adolescentů.

Cíle práce

1. U českých adolescentů popsat vztah vybraných polymorfismů kandidátních genů pro obezitu k:
 - a. tělesné hmotnosti a tělesnému složení,
 - b. metabolickým parametrům a komplikacím obezity,
 - c. energetickému příjmu.
2. U českých adolescentů analyzovat přítomnost protilátek proti lidskému adenoviru 36 ve vztahu k:
 - a. tělesné hmotnosti a úspěšnosti její redukce,
 - b. metabolickým a hormonálním parametrům,
 - c. energetickému příjmu,
 - d. nosičství rizikových alel kandidátních genů pro obezitu.

Materiál a metodika

Předkládané dílčí studie, které jsou součástí dizertační práce, byly realizovány na souboru českých adolescentů ve věku 13 až 18 let – účastníků projektu Childhood Obesity Prevalence and Treatment (COPAT). V rámci epidemiologické části byl vyšetřen reprezentativní vzorek 1533 adolescentů, v rámci intervenční části 562 dětí s nadváhou a obezitou, které absolvovaly čtyřtýdenní redukční program. U všech jedinců byly získány anamnestické, klinické, antropometrické a tělesné parametry, behaviorální dotazníky, biochemické a hormonální ukazatele a další. Součástí vyšetření byl informovaný souhlas, schválený etickou komisí Endokrinologického ústavu v Praze.

Genetická analýza vybraných SNPs: rs7561317 (*TMEM18*), rs7498665 (*SH2B1*), rs29941 (*KCTD15*), rs6232 a rs6235 (*PCSK1*), rs925946 a rs4923461 (*BDNF*), rs10913469 (*SEC16B*), rs12970134 a rs17782313 (*MC4R*), rs9939609 (*FTO*) byla provedena pomocí následujících metod: *Izolace DNA*: z periferní krve (QuickGene DNA whole blood kit; QuickGene 610L, Fujifilm, Tokyo, Japonsko); *Genotypizace*: alelická diskriminace ve formátu TaqMan sond (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) na přístrojích Real Time PCR LightCycler 480 (Roche, Basilej, Švýcarsko) a Biomark (Fluidigm, South San Francisco, CA, USA).

Adv36 pozitivita byla stanovena prostřednictvím sérologické detekce protilátek metodou kompetitivní Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA), vyvinutou a pro-

vedenou spolupracujícím pracovištěm Obetech Obesity Research Center (Richmond, VA, USA) pod vedením profesora R. Atkinsona. Na základě výše titru protilátek proti Adv36 tak byli vyšetřovaní adolescenti rozděleni na Adv36 pozitivní, resp. Adv36 negativní jedince.

Statistická analýza dat ukládaných do databáze Microsoft Office Access 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) byla provedena pomocí programů NCSS 2004 (NCSS, LLC, Kaysville, UT, USA), Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) a Statgraphics Centurion, version XV (Statpoint Technologies, Warrenton, VA, USA) a zahrnovala neparametrické testy (Mann-Whitneyův test, Kruskal-Wallisův test), chí-kvadrát, odds ratio, lineární regresní analýzu a další.

Výsledky a diskuze

Polymorfismy kandidátních genů pro obezitu ve vztahu k tělesné hmotnosti a tělesnému složení u českých adolescentů

Vybrané polymorfismy kandidátních genů byly sledovány nejen ve vztahu k nadváze a obezitě, ale také k podvážce a tělesnému složení. U české populace byla již dříve potvrzena asociace variant genu *FTO* u dospělých (Hubacek *et al.* 2008) a později *FTO* a *MC4R* u dětí (Zlatohlavek *et al.* 2013). Ostatní polymorfismy nebyly u české adolescentní populace dosud zkoumány. Rovněž naše studie 1443 adolescentů (Dušátková *et al.* 2013) potvrdila souvislost rs9939609 genu *FTO* s nadváhou a obezitou, odds ratio 1,40 odpovídalo efektu zjištěnému v předchozích studiích na dětské evropské populaci (Dina *et al.* 2007, Frayling *et al.* 2007). Neúspěšný záchyt asociace ostatních polymorfismů k BMI byl patrně dán nedostatečnou velikostí souboru s ohledem na pravděpodobně slabý efekt analyzovaných genových variant na tento parametr (den Hoed *et al.* 2010). Na rozšířeném souboru 1953 adolescentů se nám podařilo potvrdit asociaci rizikových alel rs7561317 *TMEM18*, rs10913469 *SEC16B* a *FTO* s vyšším BMI (Dušátková *et al.* 2015b). To koresponduje i s popsáním efektem variant genů *TMEM18* a *SEC16B* na BMI, který je právě u dětí silnější (den Hoed *et al.* 2010).

Dále byla nalezena asociace polymorfismů genů *TMEM18*, *SEC16B* a *FTO* s obvodem pasu a celkovým tělesným tukem. Nicméně po adjustaci na BMI tyto závislosti vymizely. Tento fakt podporuje hypotézu, že se tyto běžné genové varianty podílí na obecném rozvoji obezity, ale ne na distribuci tělesného tuku (Haupt *et al.* 2010).

Přítomnost protilátek proti adenoviru 36 a jejich vztah k tělesné hmotnosti a obezitě u českých adolescentů

Součástí této dizertační práce je studie ověřující souvislost infekce Adv36 s tělesnou hmotností a obezitou u dosud největšího publikovaného dětského souboru téměř 1200 jedinců (Aldhoon-Hainerová *et al.* 2013). Studie identifikovala 26,5% prevalenci Adv36 positivity v rámci celého souboru (z toho 40 % adolescentů mělo nadváhu a 28 % obezitu). Vyšší prevalence jedinců s nadváhou oproti obézním byla publikována rovněž u korejské populace (Na *et al.* 2012). Vysvětlením většího zastoupení Adv36 pozitivních jedinců mezi adolescenty s nadváhou může být jejich

snaha více kontrolovat svou tělesnou hmotnost ve srovnání s jedinci již obézními. Dalším faktorem, který je nutno při interpretaci výsledků zohlednit, je neznámá doba přítomnosti protilátek v organismu po infekci Adv36. Longitudinální pozorování s opakovaným vyšetřením titru protilátek by tak mohlo poskytnout chybějící informace např. o době přetrvání protilátek v krvi či vztahu změny ne/přítomnosti protilátek u konkrétního jedince k tělesné hmotnosti.

Dále byla nalezena významně vyšší prevalence protilátek proti Adv36 u dívek (33 %) oproti chlapcům (20 %). Přestože se ve studiích amerických a korejských dětí podobný rozdíl nenašel (Atkinson *et al.* 2010, Gabbert *et al.* 2010), můžeme uvažovat nad vlivem estrogenů v náchylnosti k infekci Adv36 (James *et al.* 1992). Rovněž asociace s obvodem pasu byla nalezena pouze u dívek. To koresponduje se závěry některých dětských studií (Atkinson *et al.* 2010, Gabbert *et al.* 2010) i s navazující intervenční studií obézních dívek (Zamrazilová *et al.* 2015), kde Adv36 pozitivní dívky více zredukovaly obvod pasu i abdominální tuk oproti dívkám bez protilátek.

Asociace polymorfismů kandidátních genů a Adv36 k metabolickým komplikacím obezity

Obezita souvisí s řadou zdravotních rizik, které zahrnují poruchy metabolismu lipidů a glukózy, inzulinovou rezistenci, diabetes 2. typu a metabolický syndrom (Hainer 2011). Podle naší studie zkoumající poruchy glukózového metabolismu byl výskyt diabetu u českých adolescentů vzácný – u 0,4 % vyšetřených dětí (Aldhoon-Hainerová *et al.* 2014), což je obdobné jako např. v dalších oblastech střední a severní Evropy (Malecka-Tendera *et al.* 2005, Wiegand *et al.* 2004). Riziko porušené lačné glykémie bylo již častější zejména u chlapců (výskyt u 10 %) (Aldhoon-Hainerová *et al.* 2014). To odpovídá i americkým datům (Williams 2005) a zároveň podporuje tvrzení, že muži mají vyšší sklony k abnormalitám glukózové homeostázy oproti ženám (DECODE Study Group 2003, Kuhl *et al.* 2005).

Metabolický syndrom, definovaný podle Mezinárodní diabetické federace (Zimmet *et al.* 2007) byl v naší další studii zaměřené na metabolické komplikace diagnostikován u 16,6 % adolescentů s nadváhou a obezitou (Dušátková *et al.* 2013). Následná analýza vlivu genových polymorfismů na metabolický syndrom, resp. k jeho pěti komponentám odhalila zvýšené riziko metabolického syndromu pro nosiče rizikových alel rs925946 *BDNF* a rs17782313 *MC4R* (Dušátková *et al.* 2013). Navíc byly tyto varianty asociovány u chlapců s abdominální obezitou. Jiné studie sledující tyto polymorfismy ve vztahu k metabolickým parametrům nepřinesly jednoznačné závěry (Kring *et al.* 2010, Sandholt *et al.* 2011). U českých adolescentů byla dále riziková alela rs6235 genu *PCSK1* méně zastoupená u jedinců s vyššími hladinami glukózy. Podobně v dánské studii byla tato alela asociována s nižšími hladinami glykémie (Gjesing *et al.* 2011). Tyto závěry podporují roli genu *PCSK1* v glukózovém metabolismu a rizikové polymorfismy pro obezitu tak mohou mít protektivní roli v rozvoji diabetu.

U zvířat infikovaných virem Adv36 byly nalezeny nízké sérové hladiny celkového cholesterolu a triacylglycerolů a experimentální studie naznačují anti-hyperglykemický efekt Adv36 (Dhurandhar *et al.* 2000, Pasarica *et al.* 2006). Jen některé práce ukázaly v souladu se zvířecími studiemi nižší hladiny cholesterolu nebo triacylglycerolů (Atkinson *et al.* 2005, Na *et al.* 2012) a lepší glykemický profil (Lin *et al.* 2013) u Adv36 pozitivních jedinců. Čeští adolescenti s protilátkami proti Adv36 vykazovali naopak vyšší hladiny celkového cholesterolu a lipoproteinu o nízké denzitě oproti jedincům bez protilátek

(Aldhoon-Hainerová *et al.* 2013) stejně jako korejské děti s obezitou (Na *et al.* 2010). Hladiny lačné glukózy byly signifikantně nižší u českých adolescentů pozitivních na Adv36 protilátky oproti negativním jedincům. V jiných studiích na dětech se asociace s glykemií nebo ukazateli inzulinové rezistence nenašly (Almgren *et al.* 2012, Atkinson *et al.* 2010, Trovato *et al.* 2009). Na rozdíl od experimentálního výzkumu tedy nebyl vliv infekce Adv36 na změny metabolických parametrů u lidí dosud prokázán.

Energetický příjem českých adolescentů ve vztahu k polymorfismům kandidátních genů a Adv36

Nejen tělesná hmotnost, ale i příjem potravy je geneticky determinován (Faith *et al.* 1999). U nově objevených kandidátních genů pro obezitu se na základě jejich vysoké expresi v hypotalamu, předpokládá vliv na energetickou rovnováhu (Willer *et al.* 2009). I z těchto důvodů byla v rámci další studie zkoumána hypotéza, že vybrané polymorfismy kandidátních genů ovlivňují tělesnou hmotnost působením na energetický příjem a výběr jednotlivých nutrientů (Dušátková *et al.* 2015b). Riziková alela rs17782313 genu *MC4R* byla negativně asociována s příjmem proteinů a pozitivně s příjmem vlákniny. Rizikové varianty rs925946 *BDNF* a rs9939609 *FTO* byly asociovány s nižším příjmem vápníku. Po korekci na mnohonásobné testování významnost genů *FTO* a *MC4R* vymizela. Uvedená zjištění navazují na studie poukazující jak na zvýšené riziko obezity při nedostatku vápníku u dětí i dospělých (Chaput *et al.* 2010, Goldberg *et al.* 2009), tak na BDNF jako na klíčový prvek melanokortinové dráhy v hypotalamu (Xu *et al.* 2003). Zda mohou tyto komponenty společně interagovat a regulovat tak tělesnou hmotnost by mohlo být předmětem dalších výzkumů.

Asociace jídelního příjmu s infekcí Adv36 byla hodnocena u 184 obézních dívek (Zamrazilová *et al.* 2015). Publikované výsledky jsou unikátní vzhledem k tomu, že u lidí nebyl tento vztah dosud zkoumán. Ve shodě se závěry na zvířecích modelech (Dhurandhar *et al.* 2000, Pasarica *et al.* 2006), nebyl nalezen rozdíl v příjmu celkové energie a jednotlivých nutrientů mezi Adv36 pozitivními a negativními dívkami.

Role infekce Adv36 v úspěšnosti redukčního režimu

Vyšetřované obézní dívky v rámci intervenční studie prošly čtyřtýdenním pobytovým redukčním programem a byly u nich sledovány úbytky jednotlivých parametrů v závislosti na infekci Adv36 (Zamrazilová *et al.* 2015). U pozitivních dívek byly detekovány větší úbytky abdominálního tuku a naopak menší úbytky tuku podkožního oproti dívkám bez protilátek proti Adv36. Rozdíl v celkové redukci tělesné hmotnosti nebyl nalezen. Roli zde může hrát délka intervence. Podle studie 73 adolescentů Adv36 pozitivita jen slabě snižuje úspěšnost čtyřtýdenního redukčního programu (Vander Wal *et al.* 2013), roční intervenční studie obézních dospělých naopak ukázala významně vyšší hmotnostní úbytky u Adv36 pozitivních jedinců (Trovato *et al.* 2012).

Interakce genetických a infekčních rizikových faktorů a jejich význam v patogenezi obezity

Z deseti sledovaných polymorfismů ukázaly varianty ve dvou kandidátních genech spojitost s adenovirovou infekcí (Dušátková *et al.* 2015a). Rizikové alely rs6232 a

rs6235 *PCSK1* a rs4923461 *BDNF* byly asociovány s přítomností protilátek proti Adv36. U podskupin obézních jedinců se tato závislost potvrdila pro rs6235 *PCSK1*, u dívek ještě pro rs925946 *BDNF*. Oba geny – *BDNF* a *PCSK1* – se podílejí na hypotalamické regulaci energetické rovnováhy (Hinney *et al.* 2014). V centrální nervové soustavě byl rovněž pozorován adipogenní efekt viru Adv36 u laboratorních krys (Pasarica *et al.* 2006). Kromě toho bylo experimentálně zjištěno, že Adv36 inhibuje produkci leptinu (Vangipuram *et al.* 2006). Můžeme však pouze spekulovat, zda jsou nalezené asociace způsobené vyšší náchylností geneticky predisponovaných jedinců k infekci (Chapman & Hill 2012), či zda existuje kombinovaný efekt genových variant a Adv36 na rozvoj obezity.

Kromě genů *BDNF* a *PCSK1* je i *MC4R* zapojen do regulace energetické rovnováhy a mutace ve všech těchto genech jsou příčinou monogenních forem časné obezity (Hinney *et al.* 2014). Z výsledků dizertační práce vyplývá, že mohou hrát významnou úlohu i v patogenezi běžné obezity. Komplikovaný výzkum genetického pozadí běžné obezity byl podrobně diskutován i v české rešerši (Bendlová *et al.* 2014). Je obtížné definovat přesnou úlohu daných variant v organismu i vzhledem k jejich umístění v rámci genu – pouze asi 15 % běžných polymorfismů je v kódujících oblastech genů (Locke *et al.* 2015). Identifikace převážně nekódujících variant byla poměrně překvapivá a upozornila na důležitost regulačních mechanismů genové exprese nejen v patogenezi obezity. Zkoumané varianty mohou být také ve vazebné nerovnováze se vzácnými variantami, které nelze prostřednictvím GWAS detekovat.

Přes řadu popisovaných závislostí variant genu *FTO* s nejrůznějšími metabolickými, behaviorálními, klinickými parametry (Dušátková *et al.* Hainer 2012), nebyl gen *FTO* v našich asociačních studiích spjat s žádným dalším znakem kromě BMI. Za rozdílnými výsledky řady asociačních studií, které byly do této doby publikovány, může být genetická heterogenita i velikost souboru, která je zásadní pro studium genetických asociací. Menší studie nemusí mít dostatečnou statistickou sílu k zachycení slabých efektů rizikových variant detekovaných na rozsáhlých populačních souborech (Speliotes *et al.* 2010). Interakce s faktory vnějšího prostředí pak mohou být ještě obtížněji zachytitelné a víc závislé na individuálním genetickém pozadí sledovaných jedinců (Dempfle *et al.* 2008). I z těchto důvodů je důležité naše pozorování potvrdit na větších souborech a jiných populačních skupinách.

Závěr

Předkládaná dizertační práce se věnovala dvěma významným rizikovým faktorům pro obezitu – polymorfismům kandidátních genů, které byly identifikovány na základě GWAS a infekci Adv36. Výzkum byl realizován na rozsáhlém, detailně charakterizovaném souboru českých adolescentů, jak běžné populace, tak obézních jedinců, kteří podstoupili redukční program. To nám umožnilo hodnotit tyto faktory nejen ve vztahu k obezitě ale i k dalším souvisejícím parametrům.

Ze sledovaných polymorfismů kandidátních genů byla potvrzena asociace s obezitou u tří variant genů *FTO*, *TMEM18* a *SEC16B*. Novým výsledkem byla asociace rizikových alel genů *MC4R* a *BDNF* s metabolickým syndromem. Riziková alela rs6235 genu *PCSK1* může být protektivní k diabetu 2. typu. Ten se u dospívajících sice vyskytuje vzácně, nicméně porušená lačná glykémie u nich již častá je, jak ukázala naše další studie. Vzhledem k expresi většiny kandidátních genů v hypotalamu – centru regulace

energetické rovnováhy, jsme dále hodnotili energetický příjem a zjistili souvislost tří genových variant s příjmem jednotlivých nutrientů. Studie především poukázala na možné ovlivnění příjmu vápníku běžnou variantou genu *BDNF*, a to nezávisle na BMI. Poprvé byl také sledován a potvrzen vztah infekce Adv36 k obezitě u české populace. Zvýšená prevalence protilátek byla nalezena zejména u adolescentů s nadváhou. Adv36 pozitivita dále souvisela s nižší glykemií i s redukcí ukazatelů abdominální obezity. Dosud nezkoumaný vztah genových polymorfismů k infekci Adv36 naznačil spojitost genů *BDNF* a *PCSK1* s přítomností protilátek. Součástí dizertační práce byla i rešerše popisující význam genu *FTO*, jež dosud patří mezi nejzásadnější objevy GWAS a rešerše shrnující dosavadní poznatky o výzkumu genetického pozadí obezity včetně příspěvků českých studií.

Stejně jako u většiny výsledků asociačních studií by bylo vhodné ověřit závěry dizertační práce na jiných a větších populačních souborech. Přesto věřím, že i zde prezentované dílčí výsledky přispívají k poznání jednotlivých kandidátních genů a infekčních faktorů a podporují jejich význam v patogenezi obezity.

Literatura

- Aldhoon-Hainerová I, Zamrazilová H, Atkinson RL, Dušátková L, Sedláčková B, *et al.* 2013. Clinical and laboratory characteristics of 1179 Czech adolescents evaluated for antibodies to human adenovirus 36. *Int. J. Obes. (Lond)*. 38(2):285–91
- Aldhoon-Hainerová I, Zamrazilová H, Dušátková L, Sedláčková B, Hlavatý P, *et al.* 2014. Glucose homeostasis and insulin resistance: prevalence, gender differences and predictors in adolescents. *Diabetol. Metab. Syndr.* 6(1):100
- Allison DB, Kaprio J, Korkeila M, Koskenvuo M, Neale MC, Hayakawa K. 1996. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 20(6):501–6
- Almgren M, Atkinson R, He J, Hilding A, Hagman E, *et al.* 2012. Adenovirus-36 is associated with obesity in children and adults in Sweden as determined by rapid ELISA. *PLoS One.* 7(7):e41652
- Atkinson RL, Dhurandhar N V, Allison DB, Bowen RL, Israel BA, *et al.* 2005. Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids. *Int. J. Obes. (Lond)*. 29(3):281–86
- Atkinson RL, Lee I, Shin H-J, He J. 2010. Human adenovirus-36 antibody status is associated with obesity in children. *Int. J. Pediatr. Obes.* 5(2):157–60
- Bendlová B, Lukášová P, Vaňková M, Vejražková D, Bradnová O, *et al.* 2014. Genetic background in common forms of obesity - from studies on identical twins to candidate genes of obesity. *Cas. lek. ces.* 153(4):193–99
- Benzinou M, Creemers JWM, Choquet H, Lobbens S, Dina C, *et al.* 2008. Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nat. Genet.* 40(8):943–45
- Bokor S, Frelut M-L, Vania A, Hadjiathanasiou CG, Anastasakou M, *et al.* 2008. Prevalence of metabolic syndrome in European obese children. *Int. J. Pediatr. Obes.* 3 Suppl 2:3–8
- Chapman SJ, Hill AVS. 2012. Human genetic susceptibility to infectious disease. *Nat. Rev. Genet.* 13(3):175–88

- Chaput J-P, Sjödín AM, Astrup A, Després J-P, Bouchard C, Tremblay A. 2010. Risk factors for adult overweight and obesity: the importance of looking beyond the “big two”. *Obes. Facts.* 3(5):320–27
- Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdán MG, Diano S, *et al.* 2001. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature.* 411(6836):480–84
- DECODE Study Group. 2003. Age- and sex-specific prevalences of diabetes and impaired glucose regulation in 13 European cohorts. *Diabetes Care.* 26(1):61–69
- Dempfle A, Scherag A, Hein R, Beckmann L, Chang-Claude J, Schäfer H. 2008. Gene-environment interactions for complex traits: definitions, methodological requirements and challenges. *Eur. J. Hum. Genet.* 16(10):1164–72
- Den Hoed M, Ekelund U, Brage S, Grontved A, Zhao JH, *et al.* 2010. Genetic susceptibility to obesity and related traits in childhood and adolescence: influence of loci identified by genome-wide association studies. *Diabetes.* 59(11):2980–88
- Dhurandhar N V, Israel BA, Kolesar JM, Mayhew GF, Cook ME, Atkinson RL. 2000. Increased adiposity in animals due to a human virus. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 24(8):989–96
- Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Körner A, *et al.* 2007. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat. Genet.* 39(6):724–26
- Dušátková L, Hainer V. 2012. FTO gene and his role in genetic determination of obesity. *Vnitř. lek.* 58(3):177–78
- Dušátková L, Zamrazilová H, Aldhoon Hainerová I, Atkinson RL, Sedláčková B, *et al.* 2015a. Association of adenovirus 36 infection with obesity-related gene variants in adolescents. *Physiol. Res.* 64 Suppl 2:S197–202
- Dušátková L, Zamrazilová H, Aldhoon-Hainerová I, Sedláčková B, Včelák J, *et al.* 2015b. A common variant near BDNF is associated with dietary calcium intake in adolescents. *Nutr. Res.* 35(9):766–73
- Dušátková L, Zamrazilová H, Sedláčková B, Včelák J, Hlavatý P, *et al.* 2013. Association of obesity susceptibility gene variants with metabolic syndrome and related traits in 1,443 Czech adolescents. *Folia Biol. (Praha).* 59(3):123–33
- Faith MS, Rha SS, Neale MC, Allison DB. 1999. Evidence for genetic influences on human energy intake: results from a twin study using measured observations. *Behav. Genet.* 29(3):145–54
- Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, *et al.* 2007. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 316(5826):889–94
- Gabbert C, Donohue M, Arnold J, Schwimmer JB. 2010. Adenovirus 36 and obesity in children and adolescents. *Pediatrics.* 126(4):721–26
- Garcia MN, Philpott DC, Murray KO, Ontiveros A, Revell PA, *et al.* 2015. Clinical predictors of disease severity during the 2009-2010 A(H1N1) influenza virus pandemic in a paediatric population. *Epidemiol. Infect.* 1–11
- Gjesing AP, Vestmar MA, Jørgensen T, Heni M, Holst JJ, *et al.* 2011. The effect of PCSK1 variants on waist, waist-hip ratio and glucose metabolism is modified by sex and glucose tolerance status. *PLoS One.* 6(9):e23907
- Goldberg TBL, da Silva CC, Peres LNL, Berbel MN, Heigasi MB, *et al.* 2009. Calcium intake and its relationship with risk of overweight and obesity in adolescents. *Arch. Latinoam. Nutr.* 59(1):14–21

- Hainer V. 2011. *ZÁKLADY KLINICKÉ OBEZITOLOGIE*. Praha: Grada Publishing, a.s. 2. ed.
- Haupt A, Thamer C, Heni M, Machicao F, Machann J, *et al.* 2010. Novel obesity risk loci do not determine distribution of body fat depots: a whole-body MRI/MRS study. *Obesity (Silver Spring)*. 18(6):1212–17
- Hinney A, Volckmar A-L, Antel J. 2014. Genes and the hypothalamic control of metabolism in humans. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 28(5):635–47
- Hubacek JA, Bohuslavova R, Kuthanova L, Kubinova R, Peasey A, *et al.* 2008. The FTO gene and obesity in a large Eastern European population sample: the HAPIEE study. *Obesity (Silver Spring)*. 16(12):2764–66
- International HapMap Consortium. 2005. A haplotype map of the human genome. *Nature*. 437(7063):1299–1320
- James CB, Vanderpool EA, Roane P. 1992. Acceleration of adenovirus replication and increased virion production by treatment with the steroid hormone 17 beta-estradiol. *Microbiol. Immunol.* 36(1):99–103
- Kring SII, Holst C, Toubro S, Astrup A, Hansen T, *et al.* 2010. Common variants near MC4R in relation to body fat, body fat distribution, metabolic traits and energy expenditure. *Int. J. Obes. (Lond)*. 34(1):182–89
- Kuhl J, Hilding A, Ostenson CG, Grill V, Efendic S, Båvenholm P. 2005. Characterisation of subjects with early abnormalities of glucose tolerance in the Stockholm Diabetes Prevention Programme: the impact of sex and type 2 diabetes heredity. *Diabetologia*. 48(1):35–40
- Lambert M, Delvin EE, Levy E, O'Loughlin J, Paradis G, *et al.* 2008. Prevalence of cardiometabolic risk factors by weight status in a population-based sample of Quebec children and adolescents. *Can. J. Cardiol.* 24(7):575–83
- Lin W-Y, Dubuisson O, Rubicz R, Liu N, Allison DB, *et al.* 2013. Long-term changes in adiposity and glycemic control are associated with past adenovirus infection. *Diabetes Care*. 36(3):701–7
- Locke AE, Kahali B, Berndt SI, Justice AE, Pers TH, *et al.* 2015. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*. 518(7538):197–206
- Loos RJJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, *et al.* 2008. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat. Genet.* 40(6):768–75
- Malecka-Tendera E, Erhardt E, Molnár D. 2005. Type 2 diabetes mellitus in European children and adolescents. *Acta Paediatr.* 94(5):543–46
- Na H-N, Hong Y-M, Kim J, Kim H-K, Jo I, Nam J-H. 2010. Association between human adenovirus-36 and lipid disorders in Korean schoolchildren. *Int. J. Obes. (Lond)*. 34(1):89–93
- Na H-N, Kim J, Lee HS, Shim KW, Kimm H, *et al.* 2012. Association of human adenovirus-36 in overweight Korean adults. *Int. J. Obes. (Lond)*. 36(2):281–85
- Pasarica M, Shin AC, Yu M, Ou Yang H-M, Rathod M, *et al.* 2006. Human adenovirus 36 induces adiposity, increases insulin sensitivity, and alters hypothalamic monoamines in rats. *Obesity (Silver Spring)*. 14(11):1905–13
- Sandholt CH, Vestmar MA, Bille DS, Borglykke A, Almind K, *et al.* 2011. Studies of metabolic phenotypic correlates of 15 obesity associated gene variants. *PLoS One*. 6(9):e23531

- Shang Q, Wang H, Song Y, Wei L, Lavebratt C, *et al.* 2014. Serological data analyses show that adenovirus 36 infection is associated with obesity: a meta-analysis involving 5739 subjects. *Obesity (Silver Spring)*. 22(3):895–900
- Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, Monda KL, Thorleifsson G, *et al.* 2010. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat. Genet.* 42(11):937–48
- Stanley S, Wynne K, McGowan B, Bloom S. 2005. Hormonal regulation of food intake. *Physiol. Rev.* 85(4):1131–58
- Stunkard AJ, Foch TT, Hrubec Z. 1986. A twin study of human obesity. *JAMA*. 256(1):51–54
- Tanaka S, Inoue S, Isoda F, Waseda M, Ishihara M, *et al.* 1993. Impaired immunity in obesity: suppressed but reversible lymphocyte responsiveness. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 17(11):631–36
- Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, Steinthorsdottir V, Sulem P, *et al.* 2009. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat. Genet.* 41(1):18–24
- Trovato GM, Castro A, Tonzuso A, Garozzo A, Martines GF, *et al.* 2009. Human obesity relationship with Ad36 adenovirus and insulin resistance. *Int. J. Obes. (Lond)*. 33(12):1402–9
- Trovato GM, Martines GF, Trovato FM, Pirri C, Pace P, *et al.* 2012. Adenovirus-36 seropositivity enhances effects of nutritional intervention on obesity, bright liver, and insulin resistance. *Dig. Dis. Sci.* 57(2):535–44
- Vander Wal JS, Huelsing J, Dubuisson O, Dhurandhar N V. 2013. An observational study of the association between adenovirus 36 antibody status and weight loss among youth. *Obes. Facts*. 6(3):269–78
- Vangipuram SD, Yu M, Tian J, Stanhope KL, Pasarica M, *et al.* 2006. Adipogenic human adenovirus-36 reduces leptin expression and secretion and increases glucose uptake by fat cells. *Int. J. Obes.* 31(1):87–96
- Wiegand S, Maikowski U, Blankenstein O, Biebermann H, Tarnow P, Grüters A. 2004. Type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in European children and adolescents with obesity -- a problem that is no longer restricted to minority groups. *Eur. J. Endocrinol.* 151(2):199–206
- Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJF, Li S, Lindgren CM, *et al.* 2009. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat. Genet.* 41(1):25–34
- Williams DE. 2005. Prevalence of Impaired Fasting Glucose and Its Relationship With Cardiovascular Disease Risk Factors in US Adolescents, 1999-2000. *Pediatrics*. 116(5):1122–26
- Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, *et al.* 2003. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat. Neurosci.* 6(7):736–42
- Zamrazilová H, Aldhoon-Hainerová I, Atkinson RL, Dušátková L, Sedláčková B, *et al.* 2015. Adenovirus 36 infection: a role in dietary intake and response to inpatient weight management in obese girls. *Int. J. Obes. (Lond)*. 39(12):1757–60
- Zimmet P, Alberti KGM, Kaufman F, Tajima N, Silink M, *et al.* 2007. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr. Diabetes*. 8(5):299–306

Zlatohlavek L, Vrablik M, Motykova E, Ceska R, Vasickova L, *et al.* 2013. FTO and MC4R gene variants determine BMI changes in children after intensive lifestyle intervention. *Clin. Biochem.* 46(4-5):313–16



Mgr. Lenka Elblová, Ph.D. (e-mail: lenka.dusatkova@lfmotol.cuni.cz) je absolventkou oboru Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze. Svou doktorskou dizertační práci „Studium genetických a infekčních rizikových faktorů v patogenezi obezity u českých adolescentů“ vypracovala pod vedením RNDr. Hany Zamrazilové, Ph.D. na oddělení obezitologie Endokrinologického ústavu a úspěšně ji obhájila dne 30.3.2016.

**Perličky ze školních lavic
(z písemných zkoušek z genetiky, PŘF UK, Praha, 2013-2015)
RNDr. Dana Holá, Ph.D., Katedra genetiky a mikrobiologie, PŘF UK, Praha**

Caenorhabditis elegans je vhodný modelový organizmus proto, že se doslova může nechat týden na misce a neumře.

Horizontální přenos genetické informace je naučený a předává se dále geneticky. Např. sýkory se naučily otevírat víčko od sklenic mléka a potomci se to už učit nemuseli. Nebo zvíře má geneticky zakódováno bát se svého predátora

Telomery se při každé transkripci zkracují o jeden primer.

První fáze meiózy je velmi podobná mitóze, rozdíl je jen v tom, že se chromozómy rozcházejí příčným dělením a ne podélným.

Mitochondriální genom nese informace o syntéze bílkovin nutných pro fungování a tvoření semiautotrofních organel.

eppendorf



Pipety + dávkovače

Mistrovské nástroje.

cobas® EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD)



cobas® EGFR Mutation Test v2 identifikuje mutace v exonech 18,19, 20 a 21 EGFR genu



COBAS a LIFE NEEDS ANSWERS jsou ochranné známky společnosti Roche.

©2016 Roche

Roche s.r.o.,
Diagnostics Division
Karlovo náměstí 17
120 00 Praha 2

www.roche-diagnostics.cz



Představujeme nový produkt:

cobas® EGFR Mutation Test v2, certifikovaný pro in vitro diagnostiku (CE-IVD).

Nový **cobas® EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD)** identifikuje ve vzorku DNA izolovaném z plazmy nebo tkáně pacientů s nemalobuněčným plicním karcinomem (NSCLC) gen receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR). Test je rovněž užitečným nástrojem pro výběr pacientů s NSCLC vhodných k léčbě inhibitory EGFR tyrosinkinázy (TKI).

Přednosti testu

- **Široké pokrytí mutací** — **cobas® EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD)** je založen na PCR v reálném čase a identifikuje 42 mutací v exonech 18—21, včetně L858R, L861Q a mutace pro rezistenci na TKI, T790M.
- **Vhodný pro vzorky plazmy i tkáně** — **cobas®** test je určen jak pro testování vzorků plazmy, tak tkáně a umožňuje testovat současně oba druhy vzorků na jedné destičce. Firma Roche rovněž investovala do vývoje cell-free DNA (cfDNA) izolačního kitu optimalizovaného pro extrakci volné DNA z plazmy.
- **Kontinuální pracovní postup od izolace k výsledku** — Aby byla zajištěna plynulá integrace kitu **cobas® EGFR Mutation Test v2** do již existujících laboratorních postupů, navázala firma Roche na úspěšný EGFR test první generace. Při testování DNA z plazmy trvá celý pracovní postup od izolace DNA k získání výsledku méně než čtyři hodiny. Při testování vzorku tkáně je celý proces hotový za méně než osm hodin.
- **Semi-Quantitative Index (SQI)** — pro testování vzorků plazmy jsme do výsledného reportu testu **cobas® EGFR Mutation Test v2** zařadili novou hodnotu, tzv. semi-quantitativní index (Semi-Quantitative Index — SQI). Tato hodnota vyjadřuje změnu množství mutované volné DNA (cfDNA) ve vzorku. Při opakovaném testování pomocí EGFR mutačního testu umožňuje hodnota SQI určit tendenci v progresi nádoru.

Pro více informací o produktech na detekci EGFR mutace

- navštivte <http://molecular.roche.com>,
- kontaktujte svého obchodního zástupce,
- napište nám na: prague_marketing.propagace@roche-diagnostics.cz.

cobas®
Life needs answers