

## **Seznam příloh:**

1. Informace pro pacienty podepisující informovaný souhlas
2. Informovaný souhlas pacientů
3. Abstrakt z konference XVIII. Interdisciplinary meeting of young life scientists v Czech Chemical Society Symposium Series (Chemické listy) Vol. 16 no 1 (2018)

## **PÍSEMNÁ INFORMACE PRO ÚČASTNÍKA STUDIE**

### **PROJEKT: MONOGENNÍ ONEMOCNĚNÍ oka vedoucí k těžkým poruchám zraku**

## **Vývojové anomálie oka a jejich molekulárně genetická příčina**

PROSÍM KONTAKTUJTE NÁS, POKUD SI PŘEJETE NÁSLEDUJÍCÍ INFORMACI VYTIŠTĚNOU VĚTŠÍMI PÍSMENY.

Vážená paní, vážený pane,

obracíme se na Vás, protože u Vás nebo u některých členů Vaší rodiny byla zjištěna abnormalita vývoje oka.

### **Charakteristika vývojových anomálií oka**

Problémy vzniklé během nitroděložního vývoje mohou vést ke vzniku vrozených morfologických odchylek oka, jako jsou např. anoftalmie (oko není vytvořeno), mikroftalmie (oko je malé), kolobomy (nedovření fetální oční štěrbiny), aniridie (chybějící nebo neúplně vytvořená duhovka) a hypoplazie zrakového nervu (nevyvinutí zrakového nervu). Tato onemocnění se navenek projevují jako abnormálně vypadající oko nebo snížením zrakové ostrosti. Řada těchto onemocnění je způsobena změnami v genech a onemocnění se tedy může vyskytnout u více rodinných příslušníků.

Geny se nacházejí v jádrech buněk a je v nich uložena genetická informace tj. informace o tom, jak vypadáme, jak se chováme atd., ale také zda onemocníme určitou chorobu). Dosud bylo identifikováno, popř. byl podán důkaz o existenci řady genů, jejichž mutace buď přímo vedou ke vzniku vývojových anomálií oka, nebo jejich vznik významně ovlivňují.

Oční lékař zjišťuje známky onemocnění vyšetřením na štěrbinové lampě (štěrbinová lampa je v podstatě mikroskop, který umožňuje lékaři pozorovat zvětšené oko pacienta) a měřením nitroočního tlaku. Vyšetření jsou zcela bezbolestná. Jako doplňkové vyšetření se používají různé přístroje měřící rozsah zorného pole, vyšetření komorového úhlu či vyšetření vrstvy nervových buněk na sítnici. U některých pacientů jsou zapotřebí i další celková vyšetření jako magnetická rezonance, CT nebo ultrazvukové vyšetření.

## Účel našeho výzkumu

Rádi bychom o této skupině chorob zjistili co nejvíce, a proto bychom Vás chtěli požádat o spolupráci. Již uvedené a následující informace Vám mohou pomoci v rozhodnutí, zda se tohoto projektu zúčastníte. Naším cílem je zjistit přímou **podstatu vývojových anomálií oka, tj. odpovědného genu a konkrétních změn, které se na vzniku onemocnění podílejí**. Zjištění genetické příčiny je hlavním krokem vpřed v porozumění onemocnění. Navíc, pokud se nám podaří konkrétně zjistit, jaké genetické faktory se na vzniku podíleli, můžeme také upřesnit riziko přenosu na potomstvo.

Aby bylo možné objevit tyto důležité geny a jejich změny, žádáme pacienty a jejich rodinné příslušníky, kteří nemají známky onemocnění, o pomoc s naším výzkumem. Pokud budete souhlasit s účastí, potřebovali bychom Vás vyšetřit a získat údaje o Vaší rodině a vzorek krve, popř. vzorek slin. Tento vzorek umožní vědcům analýzu genetického materiálu s cílem pokusit se určit genetické změny zodpovědné za onemocnění ve Vaší rodině. Pokud bychom spolupracovali při našem výzkumu s jiným domácím nebo zahraničním pracovištěm, budou Vaše vzorky zakódovány, tak aby nemohla být odhalena Vaše identita.

**Je třeba, abyste věděli, že může trvat i několik let, než budou genetické změny zapříčiňující Vaše onemocnění objeveny, pokud vůbec budou objeveny.** V případě, že dojde ve Vaší rodině k významným zjištěním, ze kterých by pro Vás mohl vyplývat praktický význam (např. upřesnění rizika přenosu na další potomky), budeme Vás a Vašeho lékaře o výsledcích informovat, avšak pouze v případě, že budete chtít výsledky znát a dáte nám k tomuto úkonu souhlas.

Pokud darujete krevní vzorek, bude tento registrován a uskladněn (maximálně 20 let) spolu s informací o Vaší rodině v Ústavu dědičných metabolických chorob VFN a 1. LF UK. Bude-li náš výzkum i po této době pokračovat, budete opětovně kontaktováni a požádáni o nový informovaný souhlas. Naše databáze bude vytvořena pouze pro účely výzkumu a bude plně respektovat zákon o ochraně osobních údajů.

Výsledky týkající se zjištěných změn zodpovědných za vaše onemocnění, mohou být publikovány ve vědeckých a lékařských časopisech. Jakékoliv zveřejněné údaje však budou anonymní a identita jedinců, kteří darovali vzorek pro náš výzkum, nebude v žádném případě odhalena. Je také důležité, abyste věděli, že nebudete mít žádný finanční prospěch v případě, že tento výzkum povede k vývoji nové léčby, testů nebo patentů.

S hledáním molekulárně genetické příčiny očních chorob máme již řadu zkušeností a výsledků. Zjišťování podstaty onemocnění se provádí ze vzorku DNA, která se získává nejčastěji z krve. Standardně Vás požádáme o 12 ml krve (2 x 6 ml), množství ale bude

uzpůsobeno věku a zdravotnímu stavu účastníka studie. Ze získaného genetického materiálu se pak určuje pořadí jednotlivých stavebních prvků genů.

V některých případech mohou být při našem výzkumu zjištěny i jiné skutečnosti netýkající se zkoumaného očního onemocnění, které by však mohly mít význam pro Váš zdravotní stav nebo zdravotní stav Vašich rodinných příslušníků. V informovaném souhlasu máte možnost označit, zda chcete být o těchto případně zjištěných skutečnostech informováni.

### **Rizika pro účastníky studie**

Krevní odběr (nejčastěji z loketní žíly) sebou nese malá rizika, především ve formě případně modřiny. Plánované standardní oční vyšetření nenese žádná zvýšená rizika.

### **Vaše práva**

**Vaše rozhodnutí**, zda chcete darovat krevní vzorek k výzkumným účelům, je **zcela dobrovolné** a nejste povinni s tím souhlasit. Navíc, kdykoliv nás o to požádáte, Vaše údaje a vzorky odstraníme.

Pokud se na základě výše uvedených informací rozhodnete účastnit se studie, bude Vám předložen k podpisu formulář Informovaný souhlas pacienta.

### **Kontakty**

Děkujeme Vám za Vaši pomoc. Chcete-li získat **odpovědi na jakékoli otázky** týkající se našeho výzkumného projektu nebo chcete-li se zúčastnit naší studie, kontaktujte prosím doc. MUDr. Petru Liškovou, MD, Ph.D.

Klinika dětského a dorostového lékařství, VFN a 1. LF UK, Ke Karlovu 2, Praha 2, 128 08  
tel.: 22496 7139, email: [petra.liskova@lf1.cuni.cz](mailto:petra.liskova@lf1.cuni.cz), [jana.moravikova@seznam.cz](mailto:jana.moravikova@seznam.cz)



## Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2  
IČ 00064165, tel. 224961111

### Informovaný souhlas

F-VFN-105

Strana 1 z 2

Verze číslo: 1

Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. LF UK a VFN  
Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2  
vedoucí pracoviště: prof. MUDr. Viktor Kožich, CSc.  
tel: 224 967 139

#### **PROJEKT: Vývojové anomálie oka a jejich molekulárně-genetická příčina**

### **Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením**

Jméno vyšetřované/ho:.....

Rodné číslo:.....

#### **Účel genetického laboratorního vyšetření**

- Ověření/potvrzení diagnózy nemoci.....
- Zjištění predispozice pro nemoc.....
- Zjištění přenašečství pro nemoc.....

#### **Předpokládaný prospěch tohoto vyšetření.....**

Znalost přesné příčiny nemoci, která umožňuje zlepšení poradenství pacientům

#### **A. Prohlášení lékaře**

Prohlašuji, že jsem vyšetřované/mu (zákonnému zástupci vyšetřovaného) jasně a srozumitelně vysvětlil/a účel, povahu, předpokládaný prospěch, následky i možná rizika výše uvedeného genetického laboratorního vyšetření. Rovněž jsem vyšetřovanou osobu seznámil/a s možnými výsledky a s důsledky toho, že by vyšetření nebylo možno za výše uvedeným účelem provést (nezdařilo by se) nebo by nemělo potřebnou vypovídací schopnost pro naplnění sledovaného účelu. Seznámil/a jsem vyšetřovanou osobu (zákonného zástupce) i s možnými riziky a důsledky v případě odmítnutí tohoto vyšetření. Výsledky laboratorního vyšetření budou důvěrné a nebudou bez souhlasu vyšetřované osoby/zákonného zástupce sdělovány třetí straně, pokud platné právní předpisy neurčují jinak.

Jméno lékaře:.....

Podpis: ..... Dne..... 201.....

#### **B. Prohlášení vyšetřované osoby**

1. Potvrzuji, že jsem četl(a) a rozumím informacím pro pacienta „Vývojové anomálie oka a jejich molekulárně genetická příčina“, verze 1, 5/2015. Vše mi bylo sděleno a vysvětleno jasně a srozumitelně. Měl/a jsem možnost vše si řádně, v klidu a v dostatečně poskytnutém čase zvážit, měl/a jsem možnost se lékaře zeptat na vše, co jsem považoval/a za pro mne podstatné a potřebné vědět a probrat s ním vše, čemu jsem nerozuměl/a. Na ty to mé dotazy jsem dostal/a jasnou a srozumitelnou odpověď.

2. Jsem si vědom(a), že při zařazení do studie budou moje osobní data / data mého dítěte uchována s plnou ochranou důvěrnosti dle platných zákonů ČR.

3. Souhlasím s odebráním a darováním krevního vzorku / vzorku buněk z dutiny ústní určeného k izolaci genetického materiálu (DNA) a následnému molekulárně genetickému vyšetření vývojového



## Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2  
IČ 00064165, tel. 224961111

### Informovaný souhlas

F-VFN-105

Strana 2 z 2

Verze číslo: 1

onemocnění diagnostikovaného u mě nebo u mých rodinných příslušníků.

4. Souhlasím s tím, že výzkumný tým může nahlížet do částí mé klinické dokumentace / dokumentace mého dítěte, které mají vztah k výzkumnému projektu. Pro tyto případy je zaručena ochrana důvěrnosti mých osobních dat. Jiným subjektům (akademickým nebo komerčním institucím), pokud to bude vyžadovat řešení výzkumného úkolu, mohou být data nebo vzorky DNA poskytnuty pouze bez identifikačních údajů, tj. anonymně.

5. Jsem si vědom(a), že ani já ani mé dítě nezíská v budoucnosti žádný finanční prospěch, povedou-li výsledky tohoto výzkumu k vývoji nových terapií, testů nebo patentů.

6. Souhlasím s tím, aby výsledky a informace získané v rámci této studie byly publikovány ve vědeckých a lékařských časopisech. Porozuměl(a) jsem tomu, že budou odstraněny všechny osobní informace, které by mohly vést k mé identifikaci / k identifikaci mého dítěte.

#### B. 2 Dále si přeji následující:

Abych s výsledky genetického laboratorního vyšetření : byl(a) / nebyl(a) seznámen (a)\* Mé kontaktní údaje pro tento účel jsou (email, telefon, adresa):

.....  
.....

Aby o výsledku vyšetření byly informovány následující osoby:

.....

#### B. 3 Rozhodl (a) jsem, že se vzorkem bude po ukončení testování naloženo takto:

Pokud to bude možné, bude můj vzorek (vzorky) skladován pro další analýzu provedenou k mému prospěchu a prospěchu mé rodiny, ale vždy budu před dalším vyšetřením poučena a nově navrhovaná genetická laboratorní vyšetření budou provedena až s mým aktuálním informovaným souhlasem.

Můj vzorek (vzorky) bude po provedení genetického laboratorního vyšetření zlikvidován s tím rizikem, že nebude již možné v budoucnosti výsledek vyšetření v případě potřeby znovu ověřit a pro další genetické testování bude nutný nový odběr materiálu.

**Na základě tohoto poučení prohlašuji, že souhlasím s odběrem příslušného vzorku a s provedením genetického laboratorního vyšetření s výše uvedenými podmínkami.**

Jsem si vědom, že svůj souhlas mohu kdykoliv odvolat.

**Podpis vyšetřované osoby (zákonného zástupce).....**

V .....

Dne..... 201...

Jméno zákonného zástupce:.....Rodné číslo:.....

Vztah k vyšetřované osobě:.....

Tento informovaný souhlas je vyhotoven ve dvou stejnopisech, z nichž jeden obdrží vyšetřovaná osoba (zákonný zástupce) a druhý informující lékař. Pro potřeby ostatních subjektů, podléhajících se na diagnostice, se poskytuje (lékařem potvrzená) kopie tohoto dokumentu.

Děti starší 12 let podepisují informovaný souhlas současně s rodiči.

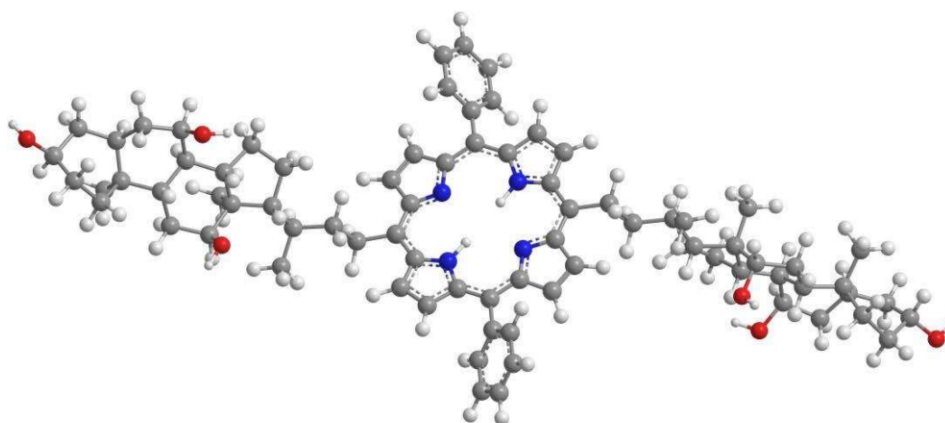


**MERCK**



**IOCB Tech**

**Chemické listy**



**XVIII<sup>th</sup> INTERDISCIPLINARY MEETING  
OF YOUNG RESEARCHERS AND STUDENTS IN THE FIELD  
OF CHEMISTRY, BIOCHEMISTRY, MOLECULAR BIOLOGY,  
AND BIOMATERIALS**

May 14 – May 17, 2018

Devět Skal Milovy hotel

Edited by  
Radmila Řápková, Martin Fusek, Pavel Drašar

## NOVEL ANTICANCER (1,10-PHENANTHROLINE)<sub>2</sub>Cu(II) COMPLEXES ARE INDUCING ER STRESS MEDIATED APOPTOSIS IN OVARIAN CANCER CELLS

**LUKÁŠ MORÁŇ<sup>a</sup>, TIZIANA PIVETTA<sup>b</sup>, KATEŘINA VAŠIČKOVÁ<sup>a</sup>, ALEŠ HAMPL<sup>a</sup>, PETR VAŇHARA<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno; <sup>b</sup>Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche, Università degli Studi di Cagliari, 09042 Monserrato (CA), Italy

Endoplasmic reticulum (ER) is major cellular organelle primarily responsible for protein synthesis, posttranslational modifications, membrane biosynthesis and calcium ions management. The state of ER stress can be induced by various homeostasis disturbing factors and plays role in a number of civilization diseases including cancer.

Cellular response to ER stress is known as Unfolded Protein Response (UPR). UPR consists of several pathways activated in the case of accumulation of misfolded proteins in the lumen of ER. The final cell response can lead to adaptation or apoptosis and depends on a specific activity of individual pathways.

Novel (1,10-phenanthroline)<sub>2</sub>Cu(II) complexes were recently synthesized by Tiziana Pivetta et al.<sup>1</sup> These compounds are promising anti-cancer therapeutics, however, the precise molecular mechanism of action is unclear. In this work we studied their effects on ovarian cancer cells.

We show, that these complexes affect the UPR signalling pathways on both protein and mRNA level and influence the cell morphology and cellular ultrastructure. Importantly, we demonstrated that different chemical modulators of UPR could have either synergistic or antagonistic effects on cytotoxic properties with (1,10-phenanthroline)<sub>2</sub>Cu(II) complexes.

In summary, we characterized cytotoxic effects of new class of anti-cancer candidates and revealed cell structures and molecular pathways involved.

*Supported by the project no. LQ1605 from the National Program of Sustainability II (MEYS CR) and by Masaryk University (MUNI/A/1369/2016). We acknowledge the core facility Cellular Imaging (CELLIM), institution CEITEC MU supported by the Czech-BioImaging large RI project (LM2015062 funded by MEYS CR) for their support with obtaining scientific data presented in this paper. We thank prof. J.H. Prehn from Royal College of Surgeons in Ireland for providing fluorescent reporters.*

### REFERENCE

1. Tiziana P., Cannas M. D., Demartin F., Castellano C., Vascellari S., Verani G., Isaia F.: *J. Inorg. Biochem.* 105, 329 (2011).

## OCULAR ABNORMALITIES IN THREE FAMILIES WITH PAX6 MUTATIONS

**JANA MORAVÍKOVÁ<sup>a</sup>, LUBICA ĐUĐÁKOVÁ<sup>a</sup>, LUCIA HLAVATÁ<sup>a</sup>, ZBYNĚK KOZMÍK<sup>b</sup>, PETRA LIŠKOVÁ<sup>a,c</sup>**

<sup>a</sup>Research Unit for Rare Diseases, 1<sup>st</sup> Fac. Med., Charles University, 128 08 Prague 2; <sup>b</sup>Dept Transcript. Regul., Institute of Molecular Genetics, 142 00 Prague 4; <sup>c</sup>Dept Ophthalmol., 1<sup>st</sup> Fac. Med., Charles University and General University Hospital in Prague, U Nemocnice 2, 128 00 Prague 2  
jana.moravikova@seznam.cz

Anterior segment dysgenesis (ASD) disorders represent genetically and phenotypically a heterogeneous group of developmental conditions affecting the cornea, iris, and lens. Affected individuals may experience severe visual impairment or even total blindness. These kinds of abnormalities are usually caused by defects in neural crest migration and differentiation during embryologic development. Patients with particular types of ASD have high frequency of mutations in *PAX6* gene, encoding a transcriptional regulator involved in oculogenesis and other developmental processes<sup>1</sup>.

We have performed direct sequencing of *PAX6* (NM\_000280) in two families with aniridia and whole-exome sequencing in another individual with aniridia. *In silico* analysis was used to predict the effect of identified rare variants; missense mutations were evaluated by PolyPhen2, MutPred, Mutation Taster2, SIFT and SNPs&GO, splicing variants by Human Splicing Finder, NNSPLICE, NetGene2. Pathogenicity of splicing variants was further experimentally confirmed by exon-trapping assay using pET01 vector<sup>2</sup>. Direct sequencing was also used for segregation analysis within the families.

In one proband, we found in a heterozygous state c.622C>T; p.(Arg208Trp) previously reported as disease causing<sup>3</sup>. In two other probands, two intronic variants located in canonical splice sites were identified; c.1183+1G>T and c.1032+1G>A. Both variants were evaluated by prediction tools as pathogenic for loss of splice site and subjected to the exon-trapping assay. Mutations segregated with disease in six other affected family members and were not present in two unaffected first-degree relatives.

Loss of visual functions in ASD disorders is often very severe, therefore establishing molecular diagnosis highly impacts patient management, enabling prenatal and preimplantation diagnostics.

*This work was supported by SVV 260367/2017.*

### REFERENCES

1. Reis L.M., Semina E.V.: *Curr. Opin. Ophthalmol.* 22, 314 (2011).
2. Duyk G.M., Kim S.W., Myers R.M., Cox D.R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 8995 (1990).
3. Hanson I.M., Seawright A., Hardman K., Hodgson S., Zaletayev D., Fekete G., van Heyningen V.: *Hum. Mol. Genet.* 2, 915 (1993).