

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část A

Žádost o udělení účelové podpory (dále návrh projektu)

Veřejná soutěž v rámci Programu na podporu zdravotnického aplikovaného výzkumu a vývoje na léta 2015 – 2022

Datum podání návrhu projektu: **totožné s datem odeslání návrhu projektu prostřednictvím ISDS**Číslo panelu(ů): **P05**

Dílčí cíl priority Zdravá populace
2.2.2. - Identifikace nových terapeutických cílů, nové metody a postupy pro biologické testování
3.3.1. - Skrining a prevence výskytu nádorů

Registrační číslo: **15-28064A**

Uchazeč a navrhovatel

Uchazeč:	Institut klinické a experimentální medicíny
IČ:	00023001
Sídlo:	Videňská 1958/9, Praha
Navrhovatel:	doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.
Datum narození/rodné číslo:	1963-05-22 630522/1736
Telefon:	(+420) 603869913
Fax:	
E-mail:	padr@ikem.cz

Spoluuchazeč a spolunavrhovatel 1

Spoluuchazeč:	Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.
IČ:	61388971
Sídlo:	Videňská 1083, Praha 4
Spolunavrhovatel:	MUDr. Miloslav Kverka Ph.D.
Datum narození/rodné číslo:	1978-09-13 780913/0219
Telefon:	241062361
Fax:	
E-mail:	kverka@biomed.cas.cz

Název projektu česky:

Imunologické biomarkery pro neinvazivní diagnostiku, volbu vhodné léčby a predikci komplikací idiopatických střevních zánětů

Název projektu anglicky:

Immunological biomarkers for noninvasive diagnosis, outcome prediction and therapy selection in inflammatory bowel disease

Klíčová slova česky:

Idiopatické střevní záněty; kolorektální karcinom; primární sklerozující cholangitida; biomarkery; mikrobiota; střevní bariéra; sérologie; časná diagnostika

Klíčová slova anglicky:

Inflammatory bowel disease; colorectal cancer; primary sclerosing cholangitis; biomarkers; microbiota; cytokines; gut barrier function; serology; early diagnostics

Datum zahájení: **2015-05-01**

Doba řešení (v letech): **4**

Zařazení do číselníku CEP:

FE

Podáním návrhu projektu uchazeč stvrzuje, že:

- navrhovatel je v pracovněprávním poměru k uchazeči nebo tento vztah vznikne nejpozději ke dni zahájení řešení projektu;
- zavazuje se, že po uzavření smlouvy o podpoře projektu bude plnit všechny povinnosti příjemce vyplývající ze zákona č. 130/2002 Sb., zadávací dokumentace a uzavřené smlouvy nebo vydaného rozhodnutí o poskytnutí podpory;
- zajistí, aby řešitel po uzavření smlouvy o podpoře projektu plnil všechny své povinnosti, zejména odpovídal za odbornou úroveň řešení projektu; nastane-li situace, že podmínky na straně řešitele či příjemce znemožní řešiteli pokračovat v řešení projektu v navrhovaném termínu a nedojde-li k ukončení projektu, příjemce zajistí se souhlasem poskytovatele jiného řešitele, pokračování řešení projektu a jeho dokončení v souladu s uzavřenou smlouvou;
- všechny údaje uvedené v návrhu projektu jsou pravdivé, úplné a nezkreslené a jsou totožné s údaji vloženými do návrhu projektu pomocí aplikace, a že návrh projektu byl vypracován v souladu se zadávací dokumentací;
- navrhovatel, všichni spoluuchazeči, spolunavrhovatelé a odborní i další spolupracovníci uvedení v návrhu projektu byli seznámeni s věcným obsahem návrhu projektu i s finančními požadavky v něm uvedenými a se zadávací dokumentací;
- před podáním návrhu projektu zajistil souhlas výše uvedených osob s účastí na řešení projektu uvedeného v návrhu projektu;
- na jiný projekt s totožnou nebo obdobnou problematikou nepřijal, nepřijímá a nepřijme podporu z jiného zdroje;
- obsah návrhu projektu, jehož se v jiných grantových nebo programových projektech účastní stejný navrhovatel nebo spolunavrhovatel je rozdílný od tohoto návrhu projektu a navržené rozsahy prací umožní navrhovateli nebo spolunavrhovateli řešit všechny jejich projekty;
- souhlasí, aby údaje uvedené v návrhu projektu byly použity pro vnitřní informační systém poskytovatele a uveřejněny v rozsahu stanoveném zákonem č. 130/2002 Sb. a zadávací dokumentací;
- v případě uzavření smlouvy nebo vydání rozhodnutí o poskytnutí podpory na řešení projektu se bude při jeho řešení řídit podmínkami pro řešení projektů uvedenými v Příloze 8 zadávací dokumentace.

Kopie speciálních oprávnění podle zvláštního právního předpisu (viz § 18 odst. (2) písm. b) zákona č. 130/2002 Sb.) jsou přiloženy, zahrnuje-li projekt činnosti je vyžadující.

Uchazeč bere na vědomí, že zaslání jiné než FINAL verze dokumentu bude důvodem k vyřazení návrhu projektu z veřejné soutěže.

Pro vyhodnocení návrhu bude do soutěže přijata pouze poslední verze návrhu projektu, která bude doručena do Datové schránky GAČR vyhrazené pro systém GRIS (ID Datové schránky: ntq92qs) v řádném termínu soutěže. Uchazeč potvrzuje, že byla zkontrolována úplnost a správnost údajů.

Statutární zástupce uchazeče

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část Abstrakt a Cíle projektu

Navrhovatel: **doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.**Registrační číslo: **15-28064A**Název projektu: **Imunologické biomarkery pro neinvazivní diagnostiku, volbu vhodné léčby a predikci komplikací idiopatických střevních zánětů****Abstrakt - český**

Idiopatické střevní záněty (ISZ), jakými jsou ulcerózní kolitida a Crohnova choroba, jsou závažná chronická zánětlivá onemocnění. I přes významný pokrok ve výzkumu jejich patogenese není zcela objasněna, jejich progresi nelze předvídat, a jejich léčba často selhává, nebo je provázena závažnými nežádoucími účinky. U některých pacientů také dochází ke vzniku kolorektálního karcinomu či primární sklerozující cholangitidy. Pomocí špičkových imunologických a mikrobiologických metod budeme analyzovat potenciální biomarkery, které jsou odrazem patogenetických procesů u ISZ. Těmito patogenetickými procesy jsou: změny střevní mikrobioty, porucha bariérové funkce střeva, imunitní odpověď proti mikrobiotě a porucha regulace imunitního systému. Identifikace pacientů ohrožených závažnými komplikacemi by umožnila racionálnější využití preventivních i léčebných postupů, a vedla tak ke snížení morbiditu, mortality a finančních nákladů.

cíle projektu - český

(Tento text bude v případě udělení podpory uveden ve smlouvě o řešení projektu.)

Cílem projektu je najít vhodné biomarkery, které umožní spolehlivou diagnostiku, usnadní volbu vhodné léčby a umožní předvídat některé komplikace choroby a nežádoucí účinky léčby.

Abstrakt - anglický

Inflammatory bowel diseases (IBD), such as Ulcerative colitis and Chron's disease, are severe chronic inflammatory diseases. Despite the tremendous progress in this field, their pathogenesis remains unclear, their course cannot be predicted and their therapy often fails or is accompanied by severe side-effects. Moreover, IBD is accompanied by colorectal cancer or primary sclerosing cholangitis in some patients. By using cutting-edge immunological and microbiological methods, we will search for biomarkers closely related to key pathogenetic mechanisms. These includes: changes in gut microbial ecology, immune response against microbiota, gut barrier dysfunction and dysregulation of immune system. By identifying the patients with high risk of unfavorable disease progression will lead to more rational use of preventive and therapeutic measures, thus reduces the morbidity, mortality and the cost of the therapy.

cíle projektu - anglický

The aim of this project is to find suitable biomarkers of IBD that could allow reliable non-invasive diagnostics, select the best therapy and predict disease relapses and consequences.

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část B - finanční prostředky celkem

Uchazeč: **Institut klinické a experimentální medicíny**

Navrhovatel: **doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.**

Registrační číslo: **15-28064A**

1. Celkové předpokládané uznané náklady na řešení projektu ze všech zdrojů financování na jednotlivé roky jeho řešení

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok	Celkem
Náklady ze všech zdrojů financování	1399	2246	2176	2170	0	7991

2. Celkové předpokládané uznané náklady na řešení projektu z jednotlivých zdrojů za celou dobu jeho řešení

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

Jednotlivé zdroje finančních prostředků na řešení projektu	tis. Kč
Celková účelová podpora požadovaná od MZ ČR	7991
Podpora z jiných tuzemských veřejných zdrojů (z jiné kapitoly státního rozpočtu nebo rozpočtů územních celků), pokud existuje	0
Podpora z ostatních veřejných zdrojů (nepatřících do státního rozpočtu nebo rozpočtů územních správních celků), pokud existuje. (veřejné zdroje v ČR i v zahraničí)	0
Podpora z neveřejných zdrojů (zahraniční zdroje, neveřejné tuzemské zdroje, vlastní neveřejné zdroje), pokud existuje	0
Celkem	7991
Míra podpory	100 %

3. Poměr druhů výzkumu a vývoje projektu

Jednotlivé druhy výzkumů a vývoje na projektu	Částka(tis.)	Podíl na projektu
Základní výzkum	799	10%
Aplikovaný výzkum	7192	90%
Experimentální vývoj	0	0%
Celkem	7991	100%

4. Celkové náklady na řešení projektu požadované od MZ ČR

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
Ostatní provozní náklady	660	1146	1068	1020	0
Náklady na pořízení dlouhodobého majetku	0	0	0	0	0
Osobní náklady celkem	739	1100	1108	1150	0
Náklady na řešení projektu celkem	1399	2246	2176	2170	0

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část B - rozpis finančních položek

Uchazeč: Institut klinické a experimentální medicíny

Navrhovatel: doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.

Registrační číslo: 15-28064A

Finanční prostředky požadované od MZ ČR pro uchazeče

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

Ostatní provozní náklady	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
Materiální náklady	180	300	220	130	0
Cestovní náklady	0	50	75	85	0
Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady	15	20	20	35	0
Doplňkové (režijní) náklady	65	123	105	83	0
Ostatní provozní náklady celkem	260	493	420	333	0

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

Osobní náklady (Podrobný rozpis v části B - osobní náklady)	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
Mzdy navrhovatele a spolupracovníků	156	233	233	233	0
Mzdy technických a administrativních pracovníků	21	31	31	31	0
Ostatní osobní náklady (celkem)	0	0	0	0	0
Sociální a zdravotní pojištění a SF (FKSP)	62	92	92	92	0
Osobní náklady celkem	239	356	356	356	0

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

Náklady na pořízení dlouhodobého majetku	Celková pořizovací cena	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
nic není	0	0	0	0	0	0
Náklady na pořízení dlouhodobého majetku celkem	0	0	0	0	0	0

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
Náklady od poskytovatele celkem	499	849	776	689	0

Náklady z dalších zdrojů předpokládané za celou dobu řešení projektu

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

	1. rok	2. rok	3. rok	4. rok	5. rok
Podpora z jiných tuzemských veřejných zdrojů (z jiné kapitoly státního rozpočtu nebo z rozpočtů územních správních celků)	0	0	0	0	0
Podpora z ostatních tuzemských veřejných zdrojů (nepatřících do státního rozpočtu nebo z rozpočtů územních správních celků)	0	0	0	0	0
Podpora z neveřejných zdrojů	0	0	0	0	0
Další zdroje celkem	0	0	0	0	0

Celkové náklady na projekt a míra podpory účastníka

	1. rok	2. rok	3. rok	4. rok	5. rok
Celkové náklady na projekt	499	849	776	689	0

Typ organizace	Výzkumná organizace
Povolují VVI/VVS zveřejnit její výsledky	Smí zveřejnit
Prohlašují, že	nejde o přeshraniční spolupráci
Výsledky (aplikovaný výzkum)	Budou volně šířeny (open/free access)

Kategorie výzkumu	Částka(tis.)	Podíl na projektu	Max. podp. částka	Max. míra podpory
Základní výzkum	281	9.99%	281	100%
Aplikovaný výzkum	2532	90.01%	2532	100%
Experimentální vývoj	0	0%	0	100%
Celkem	2813	100%	2813	100%

Žádaná míra podpory

Náklady na projekt	Fin. z dalších zdrojů	Požadovaná částka	Míra podpory
2813	0	2813	100 %

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část B - rozpis finančních položek

Spoluuchazeč: **Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.**

Spolunavrhovatel: **MUDr. Miloslav Kverka Ph.D.**

Registrační číslo: **15-28064A**

Finanční prostředky požadované od MZ ČR pro spoluuchazeče

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

Ostatní provozní náklady	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
Materiální náklady	230	350	350	330	0
Cestovní náklady	0	20	45	60	0
Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady	20	50	20	50	0
Doplňkové (režijní) náklady	150	233	233	247	0
Ostatní provozní náklady celkem	400	653	648	687	0

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

Osobní náklady (Podrobný rozpis v části B - osobní náklady)	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
Mzdy navrhovatele a spolupracovníků	310	468	474	505	0
Mzdy technických a administrativních pracovníků	44	66	66	66	0
Ostatní osobní náklady (celkem)	18	18	18	18	0
Sociální a zdravotní pojištění a SF (FKSP)	128	192	194	205	0
Osobní náklady celkem	500	744	752	794	0

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

Náklady na pořízení dlouhodobého majetku	Celková pořizovací cena	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
nic není	0	0	0	0	0	0
Náklady na pořízení dlouhodobého majetku celkem	0	0	0	0	0	0

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

	1. rok	2.rok	3.rok	4.rok	5.rok
Náklady od poskytovatele celkem	900	1397	1400	1481	0

Náklady z dalších zdrojů předpokládané za celou dobu řešení projektu

(finanční údaje se uvádějí jako celočíselné hodnoty v tisících Kč)

	1. rok	2. rok	3. rok	4. rok	5. rok
Podpora z jiných tuzemských veřejných zdrojů (z jiné kapitoly státního rozpočtu nebo z rozpočtů územních správních celků)	0	0	0	0	0
Podpora z ostatních tuzemských veřejných zdrojů (nepatřících do státního rozpočtu nebo z rozpočtů územních správních celků)	0	0	0	0	0
Podpora z neveřejných zdrojů	0	0	0	0	0
Další zdroje celkem	0	0	0	0	0

Celkové náklady na projekt a míra podpory účastníka

	1. rok	2. rok	3. rok	4. rok	5. rok
Celkové náklady na projekt	900	1397	1400	1481	0

Typ organizace	Výzkumná organizace
Povolují VVI/VVS zveřejnit její výsledky	Smí zveřejnit
Prohlašují, že	nejde o přeshraniční spolupráci
Výsledky (aplikovaný výzkum)	Budou volně šířeny (open/free access)

Kategorie výzkumu	Částka(tis.)	Podíl na projektu	Max. podp. částka	Max. míra podpory
Základní výzkum	518	10%	518	100%
Aplikovaný výzkum	4660	90%	4660	100%
Experimentální vývoj	0	0%	0	100%
Celkem	5178	100%	5178	100%

Žádaná míra podpory

Náklady na projekt	Fin. z dalších zdrojů	Požadovaná částka	Míra podpory
5178	0	5178	100 %

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část B - zdůvodnění finančních položek

Uchazeč: **Institut klinické a experimentální medicíny**

Navrhovatel: **doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.**

Registrační číslo: **15-28064A**

Specifikace a zdůvodnění nákladů pro 1. rok řešení

Část B - zdůvodnění finančních položek je nedílnou součástí návrhu projektu a obsahuje specifikaci a zdůvodnění všech požadovaných nákladů ze všech zdrojů

Materiální náklady:

Provozní náklady 180 tis. Kč v 1. roce řešení (8 měsíců), v dalších letech 300-220-130 tis. Kč budou použity na: materiál nutný pro řešení projektu. Patří sem zejména laboratorní plast - např. špičky, zkumavky, mikrozskumavky, mikrotitrační a kultivační destičky (cca 25 tis.), chemikálie a pufr, kity na detekci proteinů včetně chemikálií pro metodu Luminex (cca 60 tis.), reagentia na PCR a qPCR (cca 30 tis.). Dále budou použity pro endoskopické příslušenství, odběrové soupravy, jehly, stříkačky a další laboratorní, spotřební a všeobecný materiál (cca 20 tis.). Kancelářské potřeby jako jsou šanony, papír, tonery, záznamová média, zvýrazňovače, apod. (cca 15 tis.), materiál pro prezentaci výsledků, odborná literatura a další materiál (cca 10 tis.), drobný hmotný majetek či potřeby aktuálně nutné pro řešení projektu (cca 20 tis.).

Cestovní náklady:

Cestovné v 1. roce řešení není požadováno.

v dalších letech 50-75-85 tis. Kč:

cestovné použito na krytí nákladů spojených s aktivní účastí a prezentací výsledků řešeného projektu členy řešitelského týmu na domácích i zahraničních konferencích, například na DDW (Digestive Disease Week), UEGW (United European Gastroenterology: Week), kongres ECCO (European Crohn's and Colitis Organisation), Evropském imunologickém sjezdu, Světovém sjezdu slizniční imunologie, a dalších gastroenterologických a imunologických kongresech, apod. Z tuzemských akcí například na Kongres České gastroenterologické společnosti. Další případné tuzemské/zahraniční pracovní cesty členů řešitelského týmu související s aktivním řešením projektu.

Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady:

Služby v 1. roce 15 tis. Kč,

v dalších letech 20-20-35 tis. Kč

náklady spojené s provozem, opravami a udržováním majetku využívaného při řešení projektu, pořízení drobného nehmotného majetku, registrační a členské poplatky v odborných společnostech výhodné pro řešení projektu, telefonní poplatky, bankovní poplatky, kurýrní služby, překlady a jazykové korektury, tisk posterů, grafické služby, v dalších letech publikační a ediční náklady (např. World Journal of Gastroenterology, Gut, Journal of Crohn's and Colitis, Inflammatory Bowel Diseases, Gastroenterologie a hepatologie apod.), online přístupy k elektronickým verzím odborné literatury a další služby aktuálně potřebné pro řešení projektu.

Náklady na pořízení dlouhodobého majetku:

Není požadováno.

Zdůvodnění osobních nákladů pro jednotlivé osoby:

Osobní náklady tvoří mzdy a odvody na povinné zákonné odvody SP, ZP, a dále FKSP v celkové výši 35 % z hrubých mezd: 239 tis. Kč v 1. roce řešení, v dalších letech 356 tis. Kč

V prvním roce řešení odpovídají osobní náklady 8 měsícům řešení (05-12/2015).

Jednotliví členové budou v rámci řešení projektu vykonávat tyto činnosti:

doc. MUDr. Pavel Drastich, Ph.D. (úvazek 10 %, 1. roce 67 tis. Kč, v dalších letech 100 tis. Kč/rok): povšechná koordinace projektu, evaluace klinického stavu pacientů, tvorba publikací, prezentace výsledků

MUDr. Lukáš Bajér (úvazek 10 %, v 1. roce 23 tis. Kč, v dalších letech 34 tis. Kč/rok): koordinace sběru vzorků od pacientů (sérum, střešní biopsie), analýza systémové zánětlivé odpovědi (metoda Luminex), vyhodnocování výsledků a jejich korelace s klinickými údaji

MUDr. Jan Březina (úvazek 10 %, v 1. roce 22 tis. Kč, v dalších letech 33 tis. Kč/rok): koordinace sběru vzorků od pacientů (stolice), příprava templátů pro paralelní sekvenování (PCR), kvantifikace nalezených změn (real-time PCR), vyhodnocování výsledků a jejich korelace s klinickými údaji

prof. MUDr. Julius Špičák, CSc. (úvazek 5 %, v 1. roce 44 tis. Kč, v dalších letech 66 tis. Kč/rok): supervize projektu a připravovaných publikací, prezentace výsledků na mezinárodních fórech, evaluace výsledků pro účely klinické praxe

2 techničtí pracovníci: (úvazek 10 %, v 1. roce 21 tis. Kč, v dalších letech 31 tis. Kč/rok):

1. pracovník (úvazek 5 %, v 1. roce řešení 11 tis. Kč, v dalších letech 16 tis. Kč/rok): technické zajištění sběru vzorků od pacientů (ambulantní odběry, endoskopie), fixace, katalogizace a archivace vzorků

2. pracovník (úvazek 5 %, v 1. roce řešení 10 tis. Kč, v dalších letech 15 tis. Kč/rok): příprava databáze s klinickými údaji vybraných skupin pacientů, administrativní zajištění

Účast všech uvedených osob řešitelského týmu v rozsahu stanovených úvazků a anotovaných dílčích pracovních činností je nezbytná pro

dosažení uvedených výstupů projektu.

Požadované osobní náklady pro členy řešitelského týmu jsou stanoveny dle mzdových předpisů IKEM s přihlédnutím na hospodárnost a efektivitu.

Final

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část B - zdůvodnění finančních položek

Spoluúčast: **Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.**

Spolunavrhovatel: **MUDr. Miloslav Kverka Ph.D.**

Registrační číslo: **15-28064A**

Specifikace a zdůvodnění nákladů pro 1. rok řešení

Část B - zdůvodnění finančních položek je nedílnou součástí návrhu projektu a obsahuje specifikaci a zdůvodnění všech požadovaných nákladů ze všech zdrojů

Materiální náklady:

Provozní náklady (230 tis. Kč v 1. roce řešení; 8 měsíců, v dalších letech 350 tis. Kč/rok, v posledním roce 330 tis. Kč) budou použity na materiál nutný pro řešení projektu. Patří sem zejména mikročipy na detekci biomarkerů (asi za 70 tis. Kč), laboratorní plast (asi za 40 tis. Kč, např. špičky, zkumavky, mikrozukavky, mikrotitrační a kultivační destičky), chemikálie a pufrý, média a suplementy pro kultivaci, protilátky, kity na detekci proteinů (asi za 60 tis. Kč). Dále budou použity na materiál pro molekulárně biologické metodiky (asi za 50 tis. Kč, např. kity na purifikaci nukleových kyselin a přípravu DNA knihoven, oligonukleotidy, próby a reakční pufrý), spotřební a všeobecný materiál, kancelářské potřeby (např. šanony, papír, tonery, záznamová média, zvýrazňovače), odbornou literaturu a další materiál (asi za 10 tis. Kč).

Cestovní náklady:

V prvním roce řešení neplánujeme krytí nákladů na cestovné. V dalších letech (20 tis. Kč, 45 tis. Kč a 60 tis. Kč) bude cestovné použito na krytí nákladů spojených s aktivní prezentací výsledků řešeného projektu členy řešitelského týmu na domácích i zahraničních konferencích, například na Evropském imunologickém sjezdu, Světovém sjezdu slizniční imunologie a Českém a Slovenském imunologickém sjezdu.

Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady:

Náklady na služby (20 tis. Kč, 50 tis. Kč, 20 tis. Kč, 50 tis. Kč) budou použity na krytí služeb laboratoře průtokové cytometrie a fluorescenční mikroskopie na MBÚ (asi 8 tis. Kč), služby spojů, poplatky za přepravní a kurýrní služby, služby spojené s publikací a prezentací výsledků (asi 6 tis. Kč, např. jazykové a korektorské služby, výroba posterů, poplatky za publikaci), dále bankovní poplatky, recyklace tonerů do tiskáren a poplatky za odbornou údržbu a kalibraci laboratorních přístrojů a vybavení a podobně (celkem asi 6 tis. Kč).

V dalších letech plánujeme nárůst finančních prostředků zejména kvůli nárůstu nákladů na publikace v odborných časopisech (např. PLoS ONE nebo BMC Gastroenterology).

Náklady na pořízení dlouhodobého majetku:

Není požadováno.

Zdůvodnění osobních nákladů pro jednotlivé osoby:

Osobní náklady tvoří mzdy a odvody na povinné zákonné odvody SP, ZP, a přiděl do fondu kulturních a sociálních potřeb v celkové výši 36 % z mezd. V prvním roce řešení odpovídají osobní náklady 8 měsícům řešení (05-12/2015). Jednotliví členové budou v rámci řešení projektu vykonávat tyto činnosti:

- MUDr. Miloslav Kverka, Ph.D. (úvazek 50 %, 130 tis. Kč): Koordinace prací na MBÚ AV ČR, v.v.i., mentoring studentů zapojených do projektu, analýza a interpretace dat z dílčích experimentů, prezentace výsledků, podíl na tvorbě publikací.
 - prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc. (úvazek 10 %, 33 tis. Kč): analýza a interpretace dat z dílčích experimentů, prezentace výsledků, podíl na tvorbě publikací.
 - Mgr. Adéla Dusilová (úvazek 30 %, 59 tis. Kč): Provádění metod stimulace in vitro, provádění analýz pomocí průtokové cytometrie, asistence při provádění metod molekulární mikrobiologie.
 - Postgraduální student (S1, který bude přijat pro práci na projektu, úvazek 50 %, 88 tis. Kč): provádění analýzy biomarkerů metodou ELISA a protilátkovým mikročipem.
 - Technicko-administrativní pracovník (celkem 20 %, 44 tis. Kč): Provádění provádění rutinní laboratorní práce (např. analýza obrazu), pokročilá bioinformatická analýza a administrativní činnost
- Ostatní osobní náklady (OON) zahrnují výplatu kmenového pracovníka jiné instituce (např. UŽFG AV ČR, v.v.i.) formou Dohody o provedení práce (18 tis. Kč). V rámci této spolupráce bude provedena paralelní sekvenace metodami nové generace.
- Účast všech uvedených osob řešitelského týmu v rozsahu stanovených úvazků a anotovaných dílčích pracovních činností je nezbytná pro dosažení uvedených výstupů projektu. Požadované osobní náklady pro členy řešitelského týmu jsou stanoveny dle mzdových předpisů MBÚ AV ČR s přihlédnutím na hospodárnost a efektivitu. Je zohledněn předpokládaný meziroční nárůst mzdových nákladů u členů základního řešitelského týmu.

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část B - osobní náklady

Uchazeč: **Institut klinické a experimentální medicíny**

Navrhovatel: **doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.**

Registrační číslo: **15-28064A**

Osobní náklady pro uchazeče pro první rok řešení

Mzdy odborných pracovníků

Jméno	Příjmení	Pracovní úvazek na řešení (v % úvazku)	Požadavky na mzdy od MZ ČR
doc. MUDr. Pavel	Drastich, Ph.D.	10 %	67
MUDr. Lukáš	Bajer	10 %	23
MUDr. Jan	Březina	10 %	22
prof. MUDr. Julius	Špičák, CSc.	5 %	44

Mzdy technických a administrativních pracovníků

Souhrnný pracovní úvazek technických a administrativních pracovníků (v % úvazku)	Požadavky na mzdy od MZ ČR
10	21

Ostatní osobní náklady (na základě dohod o provedení práce nebo dohod o provedení činnosti)

Jméno, příjmení, případně označení (s) u studenta	Požadavky od MZ ČR
---	--------------------

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část B - osobní náklady

Spoluuchazeč: **Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.**

Spolunavrhovatel: **MUDr. Miloslav Kverka Ph.D.**

Registrační číslo: **15-28064A**

Osobní náklady pro spoluuchazeče pro první rok řešení

Mzdy odborných pracovníků

Jméno	Příjmení	Pracovní úvazek na řešení (v % úvazku)	Požadavky na mzdy od MZ ČR
MUDr. Miloslav	Kverka, Ph.D.	50 %	130
Prof. MUDr. Helena	Tlaskalová-Hogenová, DrSc.	10 %	33
Mgr. Adéla	Dusilová	30 %	59
Postgraduální student	S1 (bude přijat)	50 %	88

Mzdy technických a administrativních pracovníků

Souhrnný pracovní úvazek technických a administrativních pracovníků (v % úvazku)	Požadavky na mzdy od MZ ČR
20	44

Ostatní osobní náklady (na základě dohod o provedení práce nebo dohod o provedení činnosti)

Jméno, příjmení, případně označení (s) u studenta	Požadavky od MZ ČR
Ing. Jakub Mrázek, Ph.D.	18
sekvenace	

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část C2

15-28064A

Část C2

Předpokládané výsledky projektu

Jimp - článek v odborném periodiku impaktovaném	3
Jsc - článek v odborném periodiku obsaženém v databázi Scopus	0
Jneimp - článek v odborném periodiku neimpaktovaném	0
Jrec - článek v českém odborném recenzovaném časopise	2
B - odborná kniha	0
C - kapitola v odborné knize	0
D - článek ve sborníku	3
F - užitný vzor, průmyslový vzor	0
G - prototyp, funkční vzorek	0
N - certifikovaná metodika, léčebný postup, specializované mapy	0
P - patent	0
R - software	0
Z - poloprovoz, ověřená technologie	0

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část D2 - bibliografie

Uchazeč: Institut klinické a experimentální medicíny

Navrhovatel: doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.

Registrační číslo: 15-28064A

Úplné bibliografické údaje o nejvýznamnějších výsledcích vědecké a výzkumné činnosti definovaných v aktuálně platné Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje

Výsledek	kód druhu výsledku	Počet citací (bez autocitací) podle WOS	Impaktní faktor časopisu nebo kategorie ERIH	Počet citací v oborech NRRE	Časopis je zařazen v databázi SCOPUS
1 TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H., STEPÁNKOVÁ, R., HUDCOVIC, T., TUCKOVÁ, L., CUKROWSAK, B., LODINOVÁ-ZÁDNÍKOVÁ, R., KOZÁKOVÁ, H., ROSSMANN, P., BÁRTOVÁ, J., SOKOL, D., FUNDA, DP., BOROVSÁ, D., REHÁKOVÁ, Z., SINKORA, J., HORMAN, J., DRASTICH, P., KOKESOVÁ, A. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. Immunology Letters. 2004, 93(2-3), 97-108. ISSN 0165-2478.	J imp	233	2,367		
2 TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H., STĚPÁNKOVÁ, R., KOZÁKOVÁ, H., HUDCOVIC, T., VANNUCCI, L., TUČKOVÁ, L., ROSSMANN, P., HRNČÍŘ, T., KVERKA, M., ZÁKOSTELSKÁ, Z., KLIMEŠOVÁ, K., PŘIBYLOVÁ, J., BÁRTOVÁ, J., SANCHEZ, D., FUNDOVÁ, P., BOROVSÁ, D., SRŮTKOVÁ, D., ZÍDEK, Z., SCHWARZER, M., DRASTICH, P., FUNDA, DP. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. Cellular and Molecular Immunology. 2011, 8(2), 110-120. ISSN 1672-7681.	J imp	64	4,185		
3 FROLOVA, L., DRASTICH, P., ROSSMANN, P., KLIMESOVA, K., TLASKALOVA-HOGENOVA, H. Expression of Toll-like receptor 2 (TLR2), TLR4, and CD14 in biopsy samples of patients with inflammatory bowel diseases: upregulated expression of TLR2 in terminal ileum of patients with ulcerative colitis. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2008, 56(3), 267-274. ISSN 0022-1554.	J imp	49	2,403		
4 LUKÁŠ, M., DRASTICH, P., KONEČNÝ, M., GIONCHETTI, P., URBAN, O., CANTONI, F., BORTLÍK, M., DURICOVA, D., BULITTA, M. Exogenous alkaline phosphatase for the treatment of patients with moderate to severe ulcerative colitis. Inflammatory bowel diseases. 2010, 16(7), 1180-1186. ISSN 1078-0998.	J imp	20	5,475		
5 MARTÍNEK, J., BENEŠ, M., HUCL, T., DRASTICH, P., ŠTIRAND, P., ŠPIČÁK, J. Non-erosive and erosive gastroesophageal reflux diseases: No difference with regard to reflux pattern and motility abnormalities. Scandinavian journal of gastroenterology. 2008, 43(7), 794-800. ISSN 0036-5521.	J imp	15	2,329		
6 DRASTICH, P., HONSOVÁ, E., LODEREROVÁ, A., JAREŠOVÁ, M., PEKARIKOVÁ, A., HOFFMANOVÁ, I., TUCKOVÁ, L., TLASKALOVA-HOGENOVA, H., ŠPIČÁK, J., SANCHEZ, D. Celiac disease markers in patients with liver diseases: A single center large scale screening study. World journal of gastroenterology. 2012, 18(43), 6255-6262. ISSN 1007-9327.	J imp	1	2,433		

	Výsledek	kód druhu výsledku	Počet citací (bez autocitací) podle WOS	Impaktní faktor časopisu nebo kategorie ERIH	Počet citací v oborech NRRE	Časopis je zařazen v databázi SCOPUS
7	DRASTICH, P., FROLOVA-BRIZOVA, L., ZANVIT, P., ŠPIČÁK, J., TLASKALOVA-HOGENOVA, H. Spontaneous in vitro IL-6 production in various intestinal segments in patients with inflammatory bowel disease. Folia Microbiologica (Praha). 2011, 56(3), 185-190. ISSN 0015-5632.	J imp	1	1,145		
8	FROL'OVÁ, L., SMETANA, K., BOROVSÁ, D., KITANOVICOVÁ, A., KLIMESOVÁ, K., JANATKOVÁ, I., MALICKOVÁ, K., LUKÁS, M., DRASTICH, P., BENES, Z., TUCKOVÁ, L., MANNING, JC., ANDRÉ, S., GABIUS, HJ., TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. Detection of galectin-3 in patients with inflammatory bowel diseases: new serum marker of active forms of IBD?. Inflammation research. 2009, 58(8), 503-512. ISSN 1023-3830.	J imp	8	2,143		

Celkové počty výsledků definovaných v aktuálně platné Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje za posledních 5 let

Jimp - článek v odborném periodiku impaktovaném	10
Jsc - článek v odborném periodiku obsaženém v databázi Scopus	7
Jneimp - článek v odborném periodiku neimpaktovaném	0
Jrec - článek v českém odborném recenzovaném časopise	8
B - odborná kniha	0
C - kapitola v odborné knize	0
D - článek ve sborníku	0
P - patent	0
F - užitný vzor, průmyslový vzor	0
Z - poloprovoz, ověřená technologie	0
G - prototyp, funkční vzorek	0
H - poskytovatelem realizovaný výsledek	0
L - specializovaná mapa	0
N - certifikovaná metodika, léčebný postup, specializované mapy	0
R - software	0
V - výzkumná zpráva obsahující utajované informace podle zvláštního právního předpisu	0
Celkový počet citací včetně autocitací na všechny práce podle Web of Science	468
H-index podle Web of Science	8

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část D2 - bibliografie

Spoluuchazeč: Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

Spolunavrhovatel: MUDr. Miloslav Kverka Ph.D.

Registrační číslo: 15-28064A

Úplné bibliografické údaje o nejvýznamnějších výsledcích vědecké a výzkumné činnosti definovaných v aktuálně platné Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje

Výsledek	kód druhu výsledku	Počet citací (bez autocitací) podle WOS	Impaktní faktor časopisu nebo kategorie ERIH	Počet citací v oborech NRRE	Časopis je zařazen v databázi SCOPUS
1 Klimesova K, Kverka M, Zakostelska Z, Hudcovic T, Hrnčíř T, Stepankova R, Rossmann P, Ridl J, Kostovcik M, Mrazek J, Kopečný J, Kobayashi KS, Tlaskalova-Hogenova H. Altered gut microbiota promotes colitis-associated cancer in IL-1 receptor-associated kinase M-deficient mice. <i>Inflamm Bowel Dis</i> . 2013 May;19(6):1266-77.	J imp	4	5,475		
2 Hansen CH, Nielsen DS, Kverka M, Zakostelska Z, Klimesova K, Hudcovic T, Tlaskalova-Hogenova H, Hansen AK. Patterns of early gut colonization shape future immune responses of the host. <i>PLoS One</i> . 2012;7(3):e34043.	J imp	23	3,534		
3 Zakostelska Z, Kverka M, Klimesova K, Rossmann P, Mrazek J, Kopečný J, Hornova M, Srutkova D, Hudcovic T, Ridl J, Tlaskalova-Hogenova H. Lysate of Probiotic <i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001 Ameliorates Colitis by Strengthening the Gut Barrier Function and Changing the Gut Microenvironment. <i>PLoS One</i> 2011 Nov 22; 6(11): e27961	J imp	15	3,534		
4 Tlaskalová-Hogenová H, Stěpánková R, Kozáková H, Hudcovic T, Vannucci L, Tučková L, Rossmann P, Hrnčíř T, Kverka M, Zakostelská Z, Klimešová K, Příbylová J, Bártová J, Sanchez D, Fundová P, Borovská D, Srutková D, Zídek Z, Schwarzer M, Drastich P, Funda DP. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. <i>Cell Mol Immunol</i> . 2011 Mar;8(2):110-20.	J imp	72	4,185		
5 Kverka M, Klimesova K, Zakostelska Z, Sokol D, Hudcovic T, Hrnčíř T, Rossmann P, Mrazek J, Jan Kopečný J, Verdu EF, and Tlaskalova-Hogenova H. Oral administration of Parabacteroides distasonis antigens attenuates experimental murine colitis through modulation of immunity and microbiota composition. <i>Clin Exp Immunol</i> . 2011 Feb;163(2):250-9.	J imp	13	3,278		
6 Cinova J, De Palma G, Stepankova R, Kofronova O, Kverka M, Sanz Y, Tuckova L. Role of intestinal bacteria in gliadin-induced changes in intestinal mucosa: study in germ-free rats. <i>PLoS One</i> . 2011 Jan 13;6(1):e16169.	J imp	20	3,534		
7 Kverka M, Burianova J, Lodinova-Zadnikova R, Kocourkova I, Cinova J, Tuckova L, Tlaskalova-Hogenova H. Cytokine profiling in human colostrum and milk by protein array. <i>Clin Chem</i> . 2007;53:955-62.	J imp	25	7,768		
8 Vrabelova Z, Kolouskova S, Bohmova K, Faresjo MK, Sumnik Z, Pechova M, Kverka M, Chudoba D, Zacharovova K, Stadlerova G, Pithova P, Hladikova M, Stechova K. Protein microarray analysis as a tool for monitoring cellular autoreactivity in type 1 diabetes	J imp	6	2,129		

Výsledek	kód druhu výsledku	Počet citací (bez autocitací) podle WOS	Impaktní faktor časopisu nebo kategorie ERIH	Počet citací v oborech NRRE	Časopis je zařazen v databázi SCOPUS
8 patients and their relatives. Pediatr Diabetes. 2007;8: 252-60.	J imp	6	2,129		

Celkové počty výsledků definovaných v aktuálně platné Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje za posledních 5 let

Jimp - článek v odborném periodiku impaktovaném	15
Jsc - článek v odborném periodiku obsaženém v databázi Scopus	0
Jneimp - článek v odborném periodiku neimpaktovaném	0
Jrec - článek v českém odborném recenzovaném časopise	0
B - odborná kniha	0
C - kapitola v odborné knize	0
D - článek ve sborníku	1
P - patent	0
F - užitný vzor, průmyslový vzor	0
Z - poloprovoz, ověřená technologie	0
G - prototyp, funkční vzorek	0
H - poskytovatelem realizovaný výsledek	0
L - specializovaná mapa	0
N - certifikovaná metodika, léčebný postup, specializované mapy	0
R - software	0
V - výzkumná zpráva obsahující utajované informace podle zvláštního právního předpisu	0
Celkový počet citací včetně autocitací na všechny práce podle Web of Science	297
H-index podle Web of Science	9

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část E

Uchazeč: **Institut klinické a experimentální medicíny**Navrhovatel: **doc. MUDr. Pavel Drastich Ph.D.**Registrační číslo: **15-28064A**

Údaje o běžících, navrhovaných a ukončených projektech navrhovatele

Projekty v současné době podporované

Poskytovatel / název programu	Ministerstvo zdravotnictví (IGA MZ) / RPV III
Reg. č./ zařazení do CEP	NT11524-5/2010 / FE
Panel	-
Nezkrácený název projektu	Porovnání účinnosti kolonické kapslové endoskopie a kolonoskopie v detekci polypů a karcinomů tlustého střeva a konečníku: multicentrická, prospektivní, cross over studie
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	1095
Doba řešení od-do (roky)	2010-09-01 - 2014-12-31
Pracovní úvazek (%)	10
Název instituce, která podporu přijímá	Ústřední vojenská nemocnice Praha
Role	člen týmu
Vztah k podávanému návrhu	Nemá vztah k navrhovanému projektu.

Projekty v současné době navrhované

Poskytovatel / název programu	Ministerstvo zdravotnictví / Program na podporu zdravotnického aplikovaného výzkumu a vývoje
Reg. č./ zařazení do CEP	NV15-28685A / FE
Panel	P05
Nezkrácený název projektu	Mikrobiální transplantace u pacientů s ulcerózní kolitidou
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	3536
Doba řešení od-do (roky)	2015-05-01 - 2018-12-31
Pracovní úvazek (%)	10
Název instituce, která se o podporu uchází	Institut klinické a experimentální medicíny
Role	navrhovatel
Vztah k podávanému návrhu	Týká se podobného spektra pacientů, cíle projektu jsou však jiné. U části projektu (sekvence bakteriální DNA ze stolice) budou použity stejné či obdobné metodické postupy. Na projektu se podílí stejný řešitelský kolektiv, spoluřešitelský kolektiv však pochází z jiného pracoviště.

Poskytovatel / název programu	Ministerstvo zdravotnictví / Program na podporu zdravotnického aplikovaného výzkumu a vývoje
Reg. č./ zařazení do CEP	NV15-29772A / FB, FJ, FE
Panel	P01
Nezkrácený název projektu	Porovnání dlouhodobého efektu metod sleeve gastrectomy a EndoBarrier Gastrointestinal Liner na léčbu syndromu insulinové resistance
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	7449
Doba řešení od-do (roky)	2015-05-01 - 2019-12-31
Pracovní úvazek (%)	10
Název instituce, která se o podporu uchází	Ústřední vojenská nemocnice Praha
Role	člen týmu
Vztah k podávanému návrhu	Nemá vztah k navrhovanému projektu.

Přehled hodnocení projektů ukončených v posledních třech letech, u kterých byl navrhovatel (spolunavrhovatel) řešitelem, spoluřešitelem nebo odborným spolupracovníkem:

Poskytovatel / název programu	Ministerstvo zdravotnictví (IGA MZ) / RPV II
Reg. č./ zařazení do CEP	NS9705-4/2008 / FE
Panel	-
Nezkrácený název projektu	VZTAH JATERNÍCH ONEMOCNĚNÍ A CELIAKIE
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	2864
Doba řešení od-do (roky)	2009-01-01 - 2011-12-31
Pracovní úvazek (%)	10
Příjemce podpory - název instituce	Institut klinické a experimentální medicíny
Role	řešitel
Vztah k podávanému návrhu	Nemá vztah k navrhovanému projektu a již skončil.
Hodnocení	vynikající (V/E/A)

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Část E

Spoluuchazeč: **Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.**

Spolunavrhovatel: **MUDr. Miloslav Kverka Ph.D.**

Registrační číslo: **15-28064A**

Údaje o běžících, navrhovaných a ukončených projektech spolunavrhovatele

Projekty v současné době podporované

Poskytovatel / název programu	Ministerstvo zdravotnictví ČR / NT - Resortní program výzkumu a vývoje Ministerstva zdravotnictví III (2010-2015)
Reg. č./ zařazení do CEP	NT13483 / FJ
Panel	-
Nezkrácený název projektu	Novorozenci s vrozenými vadami gastrointestinálního traktu: nové přístupy k prevenci a diagnóze nekrotizující enterokolitidy a sepse
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	4883
Doba řešení od-do (roky)	2012-04-01 - 2015-12-31
Pracovní úvazek (%)	20
Název instituce, která podporu přijímá	Fakultní nemocnice v Motole
Role	člen týmu
Vztah k podávanému návrhu	Nemá vztah k navrhovanému projektu. Dr. Kverka odstoupil z projektu 9/2012, kvůli nástupu na řešení projektu vypsáném v rámci OPVK.

Poskytovatel / název programu	Technologická agentura České republiky / Program na podporu aplikovaného výzkumu a experimentální vývoje ALFA (2011-2019)
Reg. č./ zařazení do CEP	TA01010737 / GM, CE, FB
Panel	-
Nezkrácený název projektu	Vývoj technologického zpracování ve světě nově zaváděných vysoce nutričně hodnotných luštěnin pro využití k přípravě běžných potravin i dietních a výživových výrobků
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	2181
Doba řešení od-do (roky)	2011-01-01 - 2014-12-31
Pracovní úvazek (%)	10
Název instituce, která podporu přijímá	EXTRUDO Bečice s.r.o.
Role	člen týmu
Vztah k podávanému návrhu	Nemá vztah k navrhovanému projektu. Dr. Kverka odstoupil z projektu 9/2012, kvůli nástupu na řešení projektu vypsáném v rámci OPVK.

Projekty v současné době podporované

Poskytovatel / název programu	GA ČR / standardní projekty
Reg. č./ zařazení do CEP	GAP303/12/0172 / FR
Panel	P303
Nezkrácený název projektu	Studie vztahu mezi strukturou a imunosupresivní aktivitou pyrimidinových analogů
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	11286
Doba řešení od-do (roky)	2012-01-01 - 2016-12-31
Pracovní úvazek (%)	25
Název instituce, která podporu přijímá	Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i.
Role	člen týmu
Vztah k podávanému návrhu	Nemá vztah k navrhovanému projektu.

Poskytovatel / název programu	GA ČR / standardní projekty
Reg. č./ zařazení do CEP	GAP303/12/0535 / FR, EC, EE
Panel	P303
Nezkrácený název projektu	Mechanismy ovlivnění zánětu, metabolismu a farmakokinetiky léčiv komenzálními a probiotickými bakteriemi
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	9261
Doba řešení od-do (roky)	2012-01-01 - 2016-12-31
Pracovní úvazek (%)	30
Název instituce, která podporu přijímá	Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i.
Role	řešitel
Vztah k podávanému návrhu	Nemá vztah k navrhovanému projektu. Dr. Kverka odstoupil z projektu 9/2012, kvůli nástupu na řešení projektu vypsáném v rámci OPVK.

Projekty v současné době navrhované

Poskytovatel / název programu	Ministerstvo zdravotnictví (AZV) / Program na podporu zdravotnického aplikovaného výzkumu a vývoje
Reg. č./ zařazení do CEP	NV15-30619A / FL
Panel	P04
Nezkrácený název projektu	Vliv mikrobiomu a imunitní dysfunkce na rozvoj schizofrenie: animální model a klinická studie u pacientů
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	4501
Doba řešení od-do (roky)	2015-05-01 - 2018-12-31
Pracovní úvazek (%)	50
Název instituce, která se o podporu uchází	Psychiatrické centrum Praha
Role	spolunavrhovatel
Vztah k podávanému návrhu	Projekt používá některé analogické metodiky a na projektu se podílí stejný řešitelský kolektiv, skupiny pacientů jsou ale jiné.

Přehled hodnocení projektů ukončených v posledních třech letech, u kterých byl navrhovatel (spolunavrhovatel) řešitelem, spoluřešitelem nebo odborným spolupracovníkem:

Poskytovatel / název programu	Akademie věd České republiky / Juniorské badatelské grantové projekty (2003-2012)
Reg. č./ zařazení do CEP	KJB500200904 / EC
Panel	-
Nezkrácený název projektu	Mechanismus působení protizánětlivých látek bakteriálního a rostlinného původu v prevenci a léčbě experimentálního střevního zánětu
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	2292
Doba řešení od-do (roky)	2009-01-01 - 2011-12-31
Pracovní úvazek (%)	67
Příjemce podpory - název instituce	Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i.
Role	řešitel
Vztah k podávanému návrhu	Projekt neměl vztah k navrhovanému projektu.
Hodnocení	vynikající (V/E/A)

Poskytovatel / název programu	Ministerstvo zdravotnictví ČR / Resortní program výzkumu a vývoje - MZ II na léta 2008-2011
Reg. č./ zařazení do CEP	NS10340 / EC, FB, FN
Panel	-
Nezkrácený název projektu	Intranasální vakcinace v prevenci autoimunitních onemocnění
Celková výše podpory pro uchazeče nebo spoluuchazeče (tis. Kč)	1371
Doba řešení od-do (roky)	2009-01-01 - 2011-12-31
Pracovní úvazek (%)	15
Příjemce podpory - název instituce	Ústřední vojenská nemocnice Praha
Role	člen týmu
Vztah k podávanému návrhu	Projekt neměl vztah k navrhovanému projektu.
Hodnocení	splněno (U/S/B)

Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky

Přílohy

Soubor	Typ	Osoba	Velikost	ID
CV_Drastich_IKEM_partD1_final.pdf	Part D1	doc. MUDr. Pavel Drastich, Ph.D.	145386	119096
2015-AZV_Kverka_Tlaskalova_D1.pdf	Part D1	MUDr. Miloslav Kverka, Ph.D.	180270	118925
navrh_smlouvy_o_spolupraci_IKEM_MBU_AZV_2015_final.pdf	Smlouva mezi uchazečem a spoluuchazečem		181925	117581
cestne_prohlaseni_SUKL_-_IKEM.pdf	Dokument SUKL		1002323	117933
informovany_souhlas_Drastich_IKEM_final.pdf	Spec. oprávnění		359397	119217
stanovisko_eticke_komise_Drastich_IKEM.pdf	Spec. oprávnění		839640	118206
project_description_AZV_Drastich_part_C1.pdf	Part C		132159	119098

CURRICULUM VITAE**APPLICANT**

First Name, Surname: **Ass. Prof. PAVEL DRASTICH, M.D., Ph.D.**

Investigational Site Address: IKEM, Clinic of Hepatogastroenterology
Videnska 1958/9, 140 21, Prague 4
Czech Republic

Date of Birth: 22.05.1963

Languages: English – written, spoken

Education at University/Medical School Level:

Medical Faculty Charles University, Prague from 1981 to 1987

Qualification: M.D.

Details of Medical License, Certifications:

Clinical Gastroenterology, Endoscopy, Advanced Therapeutic Endoscopy

Examinations for Specialties:

Board Examination in Internal Medicine 1st Degree	1991
Board Examination in Gastroenterology	1994
Board Examination in Internal Medicine 2 nd Degree	1997

Post Graduate Positions: Resident, registrar, lecturer, consultant

2009 finished Ph.D. study program (Participation of some mechanisms of mucosal immunity in the pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis) with qualification: Ph.D.

Current position: Head of outpatient department

Associate professor in First Faculty of Medicine, Charles University, Prague 2012

Membership : Czech Gastroenterology Society- IBD group, ECCO
Czech Hepatology Society
Intestinal Transplant Association
The European Crohns and Colitis Organization

Scientific interest in the past 5 years

The scientific interest over the past 5 years consists of a variety of topics in gastroenterology and hepatology including inflammatory bowel disease, portal hypertension, celiac disease and liver transplantation. In inflammatory bowel disease I have been actively involved in experimental projects focused on etiopathogenesis on mucosal level, in portal hypertension on primary prevention of first variceal bleeding, in celiac disease on relationship with various liver diseases and in liver transplantation on primary sclerosing cholangitis and issue of related ulcerative colitis.

Date: 25.Jul.2014

TEAM MEMBER**CURRICULUM VITAE**

First Name, Surname: **JULIUS ŠPIČÁK, MD, CSc., Prof.**

Born: 10. 6. 1952, in Prague, Czech Republic

Education

Medical Faculty, Charles University, Prague, 1970-1976

Postgraduate Education, Training and Certifications

1976-1980: Residency in Internal Medicine

1980-1983: Fellowship in Internal Medicine, Gastroenterology

1980: Specialist in Internal Medicine, 1st degree

1983: Specialist in Internal Medicine, 2nd degree

1992: Specialist in Gastroenterology

Academic and Scientific Degrees

1976 MD

1983 Ass. Prof., Internal Medicine 1992 CSc (PhD)

1992 (Endoscopic Sclerotherapy in the Treatment of Esophageal Variceal Bleeding),

1994 Habilitation (Docent of Internal Medicine), (Endoscopic Treatment of Difficult

Choledocholithiasis – Results and Complications of Various Techniques)

2007 Professor of Internal Medicine

Present Position: Head of the Clinic of Hepatogastroenterology, Institute of Clinical and Experimental Medicine, Videňská 1958/9, 140 21, PRAHA 4, Czech Republic

Membership

Czech Society of Gastroenterology: President

European Society of the Gastrointestinal Endoscopy – Governing Board: Councilor 2000-2004

OMED-OMGE: CRC screening committee,

American Society of Gastrointestinal Endoscopy International Member,

American Gastroenterological Association

German Society of Gastroenterology: Corresponding Member

Slovak Society of Gastroenterology: Honorary member

Hungarian Society of Gastroenterology: Honorary member

Endoscopy: International editorial board

Gastrointestinal endoscopy: International editorial board

Bibliography

Approximately 250 papers on: digestive endoscopy, pancreatology, liver transplantation, colorectal cancer screening, chapters in 14 monographies, textbooks and manuals.

Scientific interest in the past 5 years

The scientific interest over the past 5 years consists of a variety of topics in gastroenterology and hepatology including colorectal cancer, natural orifice transluminal endoscopic surgery, experimental endoscopy, acute and chronic pancreatitis, variceal bleeding and liver transplantation. In colorectal cancer I have been actively involved in numerous clinical scientific projects dealing with cancer screening, polyp detection and therapy, diagnosis and management of colorectal cancer and in experimental projects on molecular biology of colorectal polyps/cancer.

Co-applicant: MUDr. Miloslav Kverka, Ph.D.

Date and place of birth: September 13, 1978, Prague, Czech Republic

Education and Employment:

1997 – 2003 3rd Faculty of Medicine, Charles University in Prague

2003 – 2011 Institute of Microbiology of the AS CR, v.v.i. Department of Immunology and Gnotobiology, Prague. *Topic: Interaction of commensal bacteria with mucosal immunity and its regulation. Supervisor: Prof. Helena Tlaskalová-Hogenová, MD, DSc.*

since 2011 Staff Scientist, Laboratory of Cellular and Molecular Immunology, Department of Immunology and Gnotobiology, Institute of Microbiology of the AS CR, v.v.i. Prague

Memberships, Honors and Committees:

Member of Czech Immunological Society (2003), Czech Society of Gastroenterology (2003), Czech Society of Allergology and Clinical Immunology (since 2003), Society for Mucosal Immunology (2005), European Academy of Allergology and Clinical Immunology (2005), Czech Society for Probiotics and Prebiotics (2006) and Associate Member of the Faculty 1000 Medicine (2007).

Prize awarded by the Czech Immunological Society (2008), Prize for the best poster at the 6th European Mucosal Immunology Group Meeting (2008), Prize for the best Dissertation in 2011 at the Institute of Microbiology AS CR (2012), Jaroslav Šterzl's prize awarded by the Czech Immunological Society (2012 and 2013)

Member of The Technical Committee for Animal Care and Use at Institute of Microbiology, AS CR, v.v.i. (2009)

Stays:

Department of Cell Biology, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands (2006 and 2007, 2 months). Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Chemistry, University of Utah, Salt Lake City, USA (2013, 3 months)

Activities during the last 5 years:

Author and co-author of 15 papers in impacted journals, principal investigator of 3 projects researching mainly in the host-microbe interactions in pathogenesis of chronic inflammatory diseases

Education activities:

Basic course in Clinical Immunology organized for Faculty of Science, Charles University in Prague (Lecturer since 2004 and organizer since 2012).

Supervisor of 1 successful MSc student, currently supervising 2 PhD and 2 MSc students.

Publication activity:

26 publications in Jimp, 2 international patents, 1 chapter in foreign monography, 1 publication in Jrec. Sum of citations (incl. self-citations): 283; H-index: 9 (WoS 29.7.2014)

Team member: Prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.

Date and place of birth: December 29, 1938, Prague, Czech Republic

Education and Employment:

1957 - 1962 Faculty of General Medicine, Charles University, Prague

1962 - 1964 Clinician, Dept. of Hematology, Hospital in Ústí n. Labem

1964 - 1968 PhD student, Institute of Microbiology AS CR (IMIC), Dept. of Immunology

Thesis: Development of immune reactions to antigens of gram-negative microflora, Inst. of Microbiol., Czech Acad. Sci., Prague, Supervisor: Prof. Jaroslav Šterzl, MD, DSc.

1968 - 1991 Staff Scientist, Dept. of Immunology and Gnotobiology, IMIC

1991 - 2004 Head of the Dept. of Immunology and Gnotobiology, IMIC

1994 - DSc - Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague

1995 - Associate Professor (1st Medical Faculty, Charles University, Prague)

2001 - Professor (1st Medical Faculty, Charles University, Prague)

since 2014 Staff Scientist, Laboratory of Cellular and Molecular Immunology, Department of Immunology and Gnotobiology, Institute of Microbiology of the AS CR, v.v.i. Prague

Memberships, Honors and Committees:

Awards of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague 1981, 1982; Membership of the Council of International Union of Immunological Societies 1996-2003; Nihon University Medal, Tokyo 1999; Membership of the External Advisory Group of European Committee (Life Science – Infectious diseases) 2005-present; Member of the Learned Society of the Czech Republic 2001-present; Honorary Member of the Czech and the Slovak Immunological Society 2002; Membership of the International Study Group on New Antimicrobial Strategies (Herborn University Foundation) 2005-present; J.E. Purkyne Medal of Academy of Sciences of the Czech Republic 2006; Medal “Garnet Immunoglobulin” of the Czech Immunological Society 2006; Member of the Royal Society of Arts and Science in Göteborg 2005-present; Patocka Medal of the Czechoslovak Microbiological Society 2006-present

Member of Editorial Boards:

Faculty 1000 Medicine, Mucosal Immunology, Open Allergy Journal; International Journal of Probiotics and Prebiotics, Folia Biologica, Alergie

Activities during the last 5 years:

Author and co-author of 55 papers in impacted journals, mainly in the field of immunology, host-microbe interactions and biomarker research

Publication activity:

With over 237 of published papers, 55 chapters in Czech and English books, over 4093 citations (incl. self-citations) and h-index of 34 (WoS 29.7.2014), is world leading expert in a field of mucosal immunology.

Immunological biomarkers for noninvasive diagnosis, outcome prediction and therapy selection in inflammatory bowel disease

Current knowledge

Inflammatory bowel diseases (IBD), i.e. Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), are severe chronic inflammatory illnesses of the gastrointestinal tract, affecting approximately 0.2 % of the population. Although their etiology and pathogenesis is not fully understood, it is generally accepted that the inflammation results from an aberrant immune response to antigens of resident gut microbiota in genetically susceptible individuals.(1) With 10 times more cells than human body, microbiota represents major stimulus to development of immune system and many other physiological functions.(2-4) This is most striking in the gut, where microbiota reaches the highest numbers. The human gut microbiome is composed of at least 1000 distinct bacterial species, out of which almost 50% cannot be cultivated *ex vivo* and therefore properly studied.(5) It has been proposed, that either imbalances in intestinal microbiota (dysbiosis), or presence of commensal bacteria with increased virulence (e.g. Adherent-invasive *Escherichia coli*, *Mycobacterium avium* s. paratuberculosis) in IBD patients, could both cause excessive immune response to microbiota, by disrupting the microbiota-mucosa interaction, penetrating through the mucosal barrier and stimulate local and systemic immunity.(6-9)

Antigens in the gut lumen are separated from the host's tissue by very sophisticated barrier system made of thick mucus layer and tightly connected line of epithelial cells. This barrier prevents the excessive interaction of these potent antigens with mucosal immune system. Furthermore, the mucus barrier function is strengthened by biologically active substances produced by other epithelial (defensin) or immune (secretory IgA) cells. Apical part of the epithelial cells is sealed by a dynamic complex of proteins regulating cellular connectivity – Tight junctions. Disruption of the barrier (defects of the epithelial continuity) increases permeability and contact with resident microbiota antigens, which is one of the key steps in pathogenesis of IBD and also many other diseases, as we recently reviewed.(10)

The impairment of host-microbe interaction was corroborated by genome-wide association studies, by finding that IBD patients have numerous mutations in genes encoding recognition, processing and killing of microorganisms, autophagy, and regulation of immune processes.(11, 12) Disruption of T lymphocyte regulatory functions and impairment of the mucosal immune response to normal microbiota play a crucial role in the pathogenesis of chronic intestinal inflammation.(13). Although a role of Th1 and Th17 and their effector functions (cytokine production) in the pathogenesis of CD has been proved, the presence of increased antibody levels against some microbial constituents in sera of patients suggest the possible biological role of B cell products.(14) The higher levels of certain antibodies against microbial antigens (e.g. ASCA, Ompc, CBir1 and against saccharide epitopes) or other biomarkers (e.g. fecal calprotectin) in IBD patients could be used for diagnostic purposes, and relapse prediction. However, the utility of these serological markers in daily clinical practice is still rather low.(15, 16) The diagnosis of IBD and its clinical staging is still based mainly on patient's history and medical examination, where endoscopy plays major part.

There are several well-established approaches (both surgical and conservative) to manage IBD, including classical anti-inflammatory drugs and biologicals, and the ideal therapeutic strategy depends on the type and extent of the disease.(17) But despite the well-established headlines in IBD therapy, discontinuation of pharmacological intervention due to the inefficiency or adverse events is very common in IBD for all types of therapy.(17-19) Ability to predict the disease relapses and complications or suggest the ideal therapy for particular patient during the first patient's admission to the hospital is a "Holy Grail" of IBD diagnostics.

The most dreaded complication of the IBD is colorectal cancer. With age-standardized incidence rates of 91.2 per 100000 in males and 44.3 per 100000 in females, colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignant neoplasia in the Czech Republic, reaching the top numbers in Europe.(20) The development of this malignancy is tightly linked with inflammatory changes,(21) and its risk is almost 40 times higher in patients with UC than in general population.(22) New biomarkers, capable to predict the development of this complication, could therefore lead to early diagnosis in this particular risk group. Primary sclerosing cholangitis (PSC) is another serious complication of UC,

which occurs even in 3 – 7.5% of UC patients. Moreover, PSC is a risk factor for development of both cholangiocarcinoma and colorectal carcinoma, in which the risk factor is even higher than in isolated UC.(23) Based on current knowledge the inflammatory bowel disease in patients with PSC could be considered as a distinct phenotype of IBD, in which colitis has a phenotype different from this of conventional IBD.(24) The pathogenesis of gut and liver damage in this complex clinical unit is deeply interconnected. While, the portal bacteremia causes pathological activation of the NF- κ B pathway in the biliary epithelial cells via an aberrant bacterial translocation through the inflamed intestine (gut barrier failure),(25) the alteration of gut microbiota may lead to liver damage by changing the metabolism of bile acids.(26)

Biomarkers Definitions Working Group defined biomarker as a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes, or pharmacological response to a therapeutic intervention.(27) Only by predicting the unfavorable disease progression, therapy failure or even the serious therapy-related adverse events, one may be able to prevent them without useless, unnecessarily aggressive and expensive therapeutic options. The best biomarkers are molecules tightly connected to disease pathogenesis, moreover, some of them could become good target for biological therapy in the future. The ideal biomarkers for IBD should, therefore be molecules related to immune response to commensal microbiota, or even some member of gut microbial community, markers of gut barrier failure and molecules with immunomodulatory properties such as cytokines.

Hypothesis

Recent studies and our previous results imply that development of certain disease-specific and therapy-specific complications could be predicted by use of suitable biomarkers. With reliable biomarkers, clinicians may be able to tailor-made the IBD therapy or follow up for each patient, thus preventing serious disease- or therapy-related complications. This approach will then not only improve the patient's morbidity, but it will also reduce the cost of the therapy. For the best results, these biomarkers should be recruited from known crucial steps in IBD pathogenesis, dysbiosis, gut barrier failure and dysbalance in immune system regulation. We hypothesize that some gut bacteria penetrate into the deeper layers of the mucosa, and elicit an increased immune response which can be detected both on humoral and cellular level. These changes are preceded or followed (vicious circle) by signs of gut barrier failure and immune system dysregulation. Some of these signs may be used to predict the course of the disease, select the best therapy and assign the particular patient to the high risk group, suitable either for aggressive therapy or closer follow up.

Aims and objectives

The general theme of the project is finding the biomarkers in UC and CD patients, that correlate with disease progression (i.e. relapse prediction) and pharmacotherapy outcomes. The general aim of this project is to use these molecules, closely related to IBD pathogenesis, as biomarkers suitable for fast, reliable and non-invasive diagnosis and disease/therapy outcome prediction. This general aim could be divided into several specific aims, following the key moments of IBD pathogenesis. Each parameter will be correlated with the disease course and therapy outcome:

- 1) To screen the cytokines, chemokines and growth factors in the sera of IBD patients with broad-spectrum protein microarray
- 2) To measure the serum levels of specific antibodies (B cell response) directed against bacteria with ELISA.
- 3) To analyze the phenotype and *in vitro* immune response of peripheral blood lymphocytes against microbial antigens in patients with IBD and compare it to healthy controls (T cell response).
- 4) To characterize the intestinal barrier function by measuring specific serum markers of epithelium damage (e.g. i-FABP or caspase-cleaved cytokeratine 18) and antibodies against commensal microbiota.
- 5) To analyze the gut microbiota composition as a biomarker
- 6) To validate new biomarkers by correlations with already used biomarkers (ASCA, ANCA antibodies in serum or calprotectin in stool)

7) By long-term monitoring and retrospective analysis of samples from IBD patients (taken from the IBD serum bank at the IKEM) verify the predictive value of selected serum biomarkers in the development of the disease or its complications

Methods

Patient recruitment and sample collection

Clinical samples - stools, blood for serum and blood cells - will be collected from patients with CD, UC and inflammation-related colon cancer during routine outpatient visits. State of the disease in patients will be evaluated with standard clinical, endoscopic and histopathological criteria (e.g. HBI, CDEIS, Mayo score for UC) as a part of the routine examination.(28-30) The control subjects (without intestinal pathology) will be recruited during the colonoscopy performed as a part of the preventive screening for colorectal cancer. Due to the considerable inter-individual variability in the microbiota composition and in immune response to the microbiota, we will need approximately 70 of each CD patients, UC patients, patients with IBD-related colon neoplasia (including all stages of carcinogenesis such as dysplasia, adenoma and carcinoma), PSC-UC patients and control subjects. We will also collect patients in the different stages of the disease (flare-up vs. remission) and those with concurrent PSC. Informed consent and ethical committee statement is attached below. The stool sample will be collected during scheduled examination at the outpatient unit of the clinic, together with other scheduled sample collection. The patients scheduled for the examination will be contacted and instructed by their physician by phone and if they agree to the enrolment in the study, the standard collection tube for stool sample and basic instructions for the collection will be mailed in advance. The stool sample will be frozen within 5h of collection and stored at -80°C until the DNA extraction.

Extraction of bacterial DNA and microbiota analysis

Bacterial DNA for microbiota taxonomy will be extracted using repeated beat beating method described by Yu and Morrison (31). DNA will be further amplified using the primers from study by Milani et al. (22, 32) and Q5® Hot Start High-Fidelity DNA Polymerase (New England Biolabs). The product consisting of relatively wide region of bacterial 16S rRNA gene will be then sequenced using the Ion Torrent PGM platform (Life Technologies). This should allow us to assess the classification to quite low taxonomic rank and analyze the differences between each groups of patients (PSC, UC, “PSC-UC,” controls). Selected groups of microbes will be then quantified by qPCR, using standard protocols.(33)

Serum cytokine analysis

Serum levels of cytokines will be measured by state-of-the art broad-spectrum protein microarrays (Ray Biotech), and by well - established ELISA and Luminex. With this approach, we can get information about many potential biomarkers (up to 507 in one analysis), and quantify selected ones. Results will be compared between IBD and control group, and in same disease in different time-points (e.g. during both relapse and remission periods in the same patient), and especially in case of therapy failure or if unexpected complication occurs during the study. The biomarkers will be validated and compared with those already known (e.g. high sensitivity CRP, ASCA, ANCA in sera, and calprotectin and lactoferrin in stool) and with disease activity indexes

Analysis of gut barrier function

There are several markers of gut barrier failure that can be measured from serum, and since gut barrier damage is an important step in IBD pathogenesis, these are obvious candidates for biomarker research. These includes intestinal fatty acid binding protein (i-FABP) that is released from the gut epithelium when it is damaged.(34) The ratio of caspase - cleaved fragments of keratin 18 (m30) and its uncleaved form (m65) can be used to measure the damage to epithelium and distinguish between apoptosis and necrosis. This approach has been used to monitor damage to liver epithelium, making it especially interesting to PSC-UC group.(35) All these markers are commercially available as an ELISA kit suitable for human serum, plasma or even urine. Since the immune system is strongly primed against own microbiota during barrier failure, serum titers of IgA and IgG antibodies against the bacterial antigens can give good information on the condition of gut barrier. The anti-microbiota

antibodies will be analyzed by in-house ELISA, which was previously developed in our laboratory.(36)

Phenotyping of blood cells

Since the cellular response against microbiota may be more appropriate biomarker, we will analyze the response of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) to microbiota *in vitro*. The blood will be collected into the tubes containing anticoagulant EDTA and transported at room temperature to the IMIC. Here, the PBMCs will be isolated using discontinuous Percoll gradient and cultivated with the selected bacterial antigens, including those suspected from driving intestinal inflammation (e.g. adherent-invasive *E. coli*). (6, 37) The cytokine response (e.g. IFN- γ , IL-17 and TNF- α) and the T cell phenotype will be measured by ELISA and flow cytometry, respectively.(38)

Statistical analyses and bioinformatics

For the data mining and bioinformatic analyses of the complex data (e.g. microarray or gut microbiota sequencing), we will use state-of-the art approaches, currently used in our laboratory. Typical cytokine pattern that can best discriminate between our groups of subject, will be searched by a semi-supervised prediction analysis using the Prediction analysis of microarray (PAM) method as described previously (39) By calculating the false discovery rate (FDR) in our predicted biomarker set, the power of the prediction will be analyzed with the significance analysis of microarrays (SAM) method as previously described.(40) To identify the biological pathways enriched in our datasets, we will perform pathway analysis using free bioinformatic tools (e.g. The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery - DAVID, KEGG pathway database or COPE cytokine database). The microbiota bioinformatics will be performed using well established pipelines and the identification of microbiota will be done using available databases (e.g. SILVA database of 16S rRNA available at <http://www.arb-silva.de/>) and related web-based toolkit.(41, 42)

The statistical analysis of the data will be done using standard approaches, including both parametric and non-parametric tests comparing quantities between experimental groups, followed by suitable post-hoc tests if appropriate. For the measurements using different methods (e.g. validation of the results found by microarray by ELISA) we will use unbiased (e.g. Passing and Bablok) regression analysis.

Time schedule

2015

During 2015, we will collect first set of clinical samples for the training part of the analysis. The sample collection will continue throughout the project to collect samples for the validation part of the study and follow up. We will also perform first set of peripheral blood cells stimulation *in vitro*. These experiments will also continue throughout the proposed project since they are dependent on the collection of fresh blood. First set of biomarker profiling by protein microarrays will be performed once the sufficient amount of samples will be collected (probably late 2015 or early 2016)

2016

In 2016, we will continue with the experiments outlined during 2015 as well as with the sample collection. We will perform advanced bioinformatic analysis of microarray results and perform and analyze the gut microbiota composition. We will also perform the analysis of markers of gut barrier function, and select the best candidate microbial antigen for the detection of serum antibodies against bacteria and its components by ELISA.

2017

In 2017, we will continue with the gut barrier function analysis, increase of the studied cohort and start validation of the selected panel of biomarkers and transfer the analyses from more complex methods (microarray and sequencing) to the methods more usable in the clinical laboratory settings (ELISA, PCR and bead assays).

2018

In 2018, we will finish the experimental part, perform a final evaluation, analysis of the adverse events and publish the results. We will set up for the longer follow-up and apply for the next project.

Collaboration of participants

There are two institutions, with long and successful history of collaboration, directly involved in the current project: 1) IKEM, which will take part in the project coordination and where the patients will be recruited, examined and clinical samples will be collected. Here also will be performed Luminex analysis 2) Institute of Microbiology ASCR, v.v.i. (IMIC), which will be performing the immunological and microbiological analyses. The long history of collaboration and proximity of both institutes will greatly simplify the project management.

International collaboration

Both participants, IKEM and IMIC, are internationally recognized scientific institutes connected to the broad network of experts that stretches worldwide. Members of the research team have long history of international cooperation, as documented by their publications, and their participation in international projects (e.g. Framework 5th, 6th and 7th of the EU, cooperative projects of NIH, USA). These collaborations included colleagues from the Netherlands (prof. Chris Mulder, prof. Jerry Wells), Denmark (Prof. Axel Hansen), Italy (Dr. Andrea Tringali), USA (Prof. Koichi Kobayashi), Canada (Dr. Elena Verdu) to name few recent ones.

Importance of the proposed project

As briefly outlined in the introduction, IBD results from dysregulated immune response to gut commensal microbiota and it is accompanied by gut barrier failure and dysbiosis. Therefore, we will study these pathogenetic mechanisms by serum protein profiling, analysis of the gut microbiota, and analysis of the humoral and cellular immune response. Recent advances in science and technology now allow to study these mechanisms in more details than ever before. Practical use of serological tests in non-invasive diagnostics of IBD is not widely used because of the lack of reasonable specificity and sensitivity of available tests. It is supposed that finding of the new markers (cytokine panels or new specificities of antibodies directed against intestinal microbiota components) will increase the specificity and sensitivity these non-invasive tests and expediting the diagnostic process in the IBD patients. Moreover, by profiling the biomarkers, we can also unravel new part of IBD pathogenesis or even find suitable targets for future biological therapy. Therefore, this project connects three long-term research interests of laboratory at the IMIC and Hepatogastroenterology clinic of IKEM: microbe interactions with host immune system, intestinal inflammation, cytokine profiling and searching biomarkers suitable for early diagnostics.

Qualification of the research team and preparedness of the laboratories

Patients and healthy individuals' material (blood and fecal samples) will be provided by experienced gastroenterologist Assoc. prof. Pavel Drastich and two of his PhD students (dr. Bajer and dr. Brezina) from the Clinic of Hepatogastroenterology at the IKEM, which is one of the most important health care institutions in the Czech Republic. This is where the examination of all the patients involved will be carried out as well.

Assoc. prof. Drastich will be responsible for general management of the project (including the publication and presentation of the results) and, as a highly experienced physician, will also supervise the clinical evaluation of the patients.

Prof. Spicak, head of the department and president of Czech Gastroenterological Society, will supervise the selection of inclusive patients and evaluation of the results in order to introduce them into clinical practice. He, as a highly respected expert in the field, will also present the results at various international events.

Dr. Bajer and Dr. Brezina are both postgraduate students at IKEM. They will coordinate the collection of the samples from the selected patients. They will also perform and assess the Luminex analyses and PCR and qPCR and correlate the results with clinical condition of the patients, analyses, respectively. Two technicians (10 % of work capacity) be responsible for samples preparation and storage and related administrative tasks.

Laboratories at IKEM are equipped with all equipment required for the successful participation on the project, including Luminex analyzer and both conventional and RT-PCR cyclers.

Research in the Laboratory of cellular and molecular immunology of the IMIC is focused on the developmental and regulatory mechanisms of mucosal and systemic immunity and their use in biomarker research. Several commercially available tests were developed in the laboratory in the past.

Members of the team are highly experienced in immunological methods. Dr. Kverka will mainly coordinate the work at IMIC, mentoring the student involved in the project, analyze and interpret the data from the experiments and participate on the result publication and presentation. Prof. Tlaskalová-Hogenová will interpret the experimental data and participate on presenting and publishing the results. Postgraduate student MSc. Dusilová will perform the experiments in vitro and flow cytometry analyses and perform the molecular microbiology techniques. PhD student will be hired for the proposed project and will perform the immunological analyses. Technician (20 % of work capacity) will perform routine laboratory work (e.g. image analysis) advanced bioinformatics and administrative activities. Laboratories at IMIC AS CR are well equipped and the members of the team have full access to all laboratory equipment needed for the project (including LASER scanner with high resolution, flow cytometer and sequencing analyzers. The last steps in the bacteria sequencing will be performed at the Institute of animal physiology and genetics AS CR, v.v.i. (located on the same campus) using Ion Torrent sequencer by Dr. Mrazek.

Expected results and significance of the project

The proposed project will have significant impact on both basic science and medical practice, because the search for new biomarkers will not only bring new knowledge about IBD pathogenesis, which will be used to prepare a ground for new noninvasive diagnostic and predictive approaches. These approaches might provide the methodological basis enabling swift and reliable determination of diagnosis, possible disease prognosis and definition of patients resistant to the conventional therapy, ultimately improving disease management with positive medical as well as socio-economic output. Moreover, some of the new biomarkers could be considered as targets of new biological therapies. The project will bring important results which will be published in three impacted scientific journals and presented at international and national conferences. The deliverables are quantified in the section C2 of this proposal (3 articles in international impacted journals, 2 articles in Czech peer-reviewed journals and 3 articles in conference proceedings).

Benefits of the project

We presume that new biomarkers will extend the spectrum of noninvasive tests important not only for diagnostics or differential diagnosis of CD and UC, but also in the prediction of these grave diseases. The proposed project is very relevant to the present and future needs of the society. The Czech Republic belongs among the countries with the highest incidence of colorectal cancer as well as IBD. The panel of biomarkers revealed with this study could extend the spectrum of noninvasive tests used in IBD diagnostics, outcome prediction and simplifying the physicians' therapy decision making (applied research), ultimately leading to improvement of quality of life of IBD patients and savings for the health care delivery system. Important part of the project is education of 4 PhD students of biomedicine. The project's aims are in agreement with the international focus on biomarker discovery and early diagnosis, international cooperation between Czech medical research and world science and support of young scientists.

References

1. R. B. Sartor, *Gastroenterology* **134**, 577 (Feb, 2008).
2. J. J. Cebra, *Am J Clin Nutr* **69**, 1046S (May, 1999).
3. H. Kozakova *et al.*, *Microbes Infect* **8**, 2629 (Sep, 2006).
4. H. Tlaskalova *et al.*, *Folia Biol (Praha)* **16**, 177 (Jun, 1970).
5. L. V. Hooper, J. I. Gordon, *Science* **292**, 1115 (May 11, 2001).
6. A. Darfeuille-Michaud *et al.*, *Gastroenterology* **115**, 1405 (Dec, 1998).
7. R. W. Bentley *et al.*, *Am J Gastroenterol* **103**, 1168 (May, 2008).
8. G. W. Tannock, *Mucosal Immunol* **1 Suppl 1**, S15 (Nov, 2008).
9. D. N. Frank *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 13780 (Aug 21, 2007).
10. H. Tlaskalova-Hogenova *et al.*, *Cell Mol Immunol* **8**, 110 (Mar, 2011).
11. C. G. Mathew, *Nat Rev Genet* **9**, 9 (Jan, 2008).
12. D. P. McGovern *et al.*, *Nat Genet* **42**, 332 (Apr, 2010).
13. R. S. Blumberg, *Dig Dis* **27**, 455 (2009).
14. R. J. Adams *et al.*, *Am J Gastroenterol* **103**, 386 (Feb, 2008).

15. M. Papp, G. L. Norman, I. Altorjay, P. L. Lakatos, *World J Gastroenterol* **13**, 2028 (Apr 14, 2007).
16. J. D. Lewis, *Gastroenterology* **140**, 1817 (May, 2011).
17. D. C. Baumgart, W. J. Sandborn, *Lancet* **369**, 1641 (May 12, 2007).
18. R. B. Stein, S. B. Hanauer, *Drug Saf* **23**, 429 (Nov, 2000).
19. J. M. Swoger, D. G. Binion, *Dig Dis* **28**, 452 (2010).
20. J. Ferlay, D. M. Parkin, E. Steliarova-Foucher, *Eur J Cancer* **46**, 765 (Mar, 2010).
21. M. Lukas, *Dig Dis* **28**, 619 (2010).
22. L. Beaugerie, H. Sokol, P. Seksik, *Dig Dis* **27**, 375 (2009).
23. U. Broome, R. Lofberg, B. Veress, L. S. Eriksson, *Hepatology* **22**, 1404 (Nov, 1995).
24. K. Boonstra *et al.*, *Inflamm Bowel Dis* **18**, 2270 (Dec, 2012).
25. K. Harada *et al.*, *Lab Invest* **83**, 1657 (Nov, 2003).
26. G. Kakiyama *et al.*, *J Hepatol* **58**, 949 (May, 2013).
27. G. BDW, *Clin Pharmacol Ther* **69**, 89 (Mar, 2001).
28. K. W. Schroeder, W. J. Tremaine, D. M. Ilstrup, *N Engl J Med* **317**, 1625 (Dec 24, 1987).
29. J. Y. Mary, R. Modigliani, *Gut* **30**, 983 (Jul, 1989).
30. R. F. Harvey, J. M. Bradshaw, *Lancet* **1**, 514 (Mar 8, 1980).
31. Z. Yu, M. Morrison, *Biotechniques* **36**, 808 (May, 2004).
32. C. Milani *et al.*, *PLoS One* **8**, e68739 (2013).
33. T. Matsuki, K. Watanabe, R. Tanaka, H. Oyaizu, *FEMS Microbiol Lett* **167**, 113 (Oct 15, 1998).
34. G. Gollin, C. Marks, W. H. Marks, *Surgery* **113**, 545 (May, 1993).
35. H. Bantel *et al.*, *Hepatology* **40**, 1078 (Nov, 2004).
36. B. Cukrowska *et al.*, *Scand J Immunol* **55**, 204 (Feb, 2002).
37. A. M. Petersen *et al.*, *BMC Microbiol* **9**, 171 (2009).
38. M. Pai, A. Zwerling, D. Menzies, *Ann Intern Med* **149**, 177 (Aug 5, 2008).
39. R. Tibshirani, T. Hastie, B. Narasimhan, G. Chu, *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 6567 (May 14, 2002).
40. V. G. Tusher, R. Tibshirani, G. Chu, *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 5116 (Apr 24, 2001).
41. A. L. Hartman, S. Riddle, T. McPhillips, B. Ludascher, J. A. Eisen, *BMC Bioinformatics* **11**, 317 (2010).
42. C. Quast *et al.*, *Nucleic Acids Res* **41**, D590 (Jan, 2013).

A - Základní údaje

Žádost o udělení účelové podpory (dále jen návrh projektu)

Registrační číslo	16-27477A	Doba řešení (v letech)	4
Datum zahájení	1.4.2016		
Název projektu česky	Diagnostika protilátkami zprostředkované rejekce po transplantaci jater		
Název projektu anglicky	Diagnostics of antibody-mediated rejection after liver transplantation		
Hlavní panel	P06 - Poruchy orgánové funkce a úrazová a intenzivní medicína		
Klíčová slova	transplantace jater; protilátky; HLA; rejekce; C4d		
Klíčová slova anglicky	liver transplantation; antibodies; HLA; rejection; C4d		

Navrhovatel a uchazeč

Jméno a příjmení	doc. MUDr. Antonij Slavčev CSc.	Rodné číslo	600826/2051
E-mail	antonij.slavcev@ikem.cz	Telefon	+420261362347
Organizace	Institut klinické a experimentální medicíny	IČO	00023001
Sídlo	Vídeňská 1958/9, Praha		

Část A - Abstrakt

Zařazení do číselníku CEP	EC - Imunologie
Dílčí cíl priority Zdravá populace	2.7.1. - Chirurgické postupy a transplantace
Abstrakt	

Protilátkami zprostředkovaná, neboli humorální rejekce, je závažná imunologická komplikace u pacientů po transplantaci, která je spojena s produkcí protilátek proti neshodným HLA antigenům dárců orgánů. Na základě literárních studií koreluje humorální rejekce s výrazně horší prognózou štěpu, a proto je včasná diagnóza důležitá pro adekvátní léčbu pacientů. U transplantací jater je diagnóza humorální rejekce obtížnější než u transplantované ledviny a diagnostická kritéria zatím nebyla přesně definována.

Cíle projektu

Cílem navrhovaného projektu je přispět k vysvětlení klinického významu HLA-specifických protilátek určených metodou Luminex pro diagnostiku protilátkami zprostředkované rejekce transplantovaných jater. Imunopatologické nálezy v biopsiích štěpů prováděných v období předpokládané rejekce budou korelovány s profilem HLA specifických protilátek před a po transplantaci. Studie by měla optimalizovat diagnostiku a monitorování léčby protilátkami zprostředkované rejekce a zlepšit prognózu pacientů s transplantovanými orgány v České republice.

Abstrakt anglicky

Cílem projektu je vysvětlení klinického významu HLA-specifických protilátek pro diagnostiku protilátkami zprostředkované rejekce po transplantaci jater. Imunopatologické nálezy v biopsiích štěpů prováděných v období předpokládané rejekce budou korelovány s profilem HLA specifických protilátek.

Antibody-mediated rejection (AMR) is a severe immunological complication in transplant patients, which is associated with production of antibodies against HLA-mismatched antigens of organ donors. AMR correlates with significantly worse graft prognosis and therefore timely diagnosis is essential for adequate treatment. In liver transplants, the diagnosis of antibody-mediated (humoral) rejection is complicated and the diagnostic criteria have not been precisely defined.

The aim of the proposed project is to contribute to the clarification of the clinical relevance of HLA-specific antibodies as detected by the Luminex method for the diagnosis of antibody mediated rejection of the liver transplant. The immunopathological findings in liver allograft biopsies at the time of suspected rejection will be correlated with the profile of HLA specific antibodies before and after transplantation. The study should optimize the diagnostics and monitoring of treatment of antibody-mediated rejection and improve the life and graft prognosis of patients with transplanted organs in the Czech Republic.

Cíle projektu anglicky

The aim of the project is clarification of the clinical relevance of HLA-specific antibodies for the diagnosis of antibody mediated rejection of the liver transplant. Immunopathological findings in liver allograft biopsies will be correlated with the profile of HLA specific antibodies.

Část B - Finanční prostředky celkem

Celkové způsobilé náklady na řešení projektu ze všech zdrojů financování

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	Celkem
Celková dotace poskytovatele na projekt	1 602 tis	2 178 tis	2 198 tis	2 160 tis	8 138 tis
Podpora z ostatních veřejných zdrojů (tuzemských i zahraničních)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Podpora z neveřejných zdrojů (vlastní prostředky, soukromé dotace)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Způsobilé náklady ze všech zdrojů financování	1 602 tis	2 178 tis	2 198 tis	2 160 tis	8 138 tis
Míra podpory u poskytovatele	100 %				
Intenzita podpory dle EK 2014/C 198/01	100 %				

Poměr druhů výzkumů a vývoje na projektu

	Způsobilé náklady	Podíl na projektu
Základní výzkum	0 tis	0 %
Průmyslový výzkum	8 138 tis	100 %
Experimentální vývoj	0 tis	0 %
Celkem	8 138 tis	100%

Rozdělení uznaných nákladů na řešení projektu

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	Celkem
Ostatní provozní náklady	873 tis	1 187 tis	1 187 tis	1 127 tis	4 374 tis
Osobní náklady	729 tis	991 tis	1 011 tis	1 033 tis	3 764 tis
Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Celkem	1 602 tis	2 178 tis	2 198 tis	2 160 tis	8 138 tis

Uchazeč - část B - celkové prostředky

Jméno a příjmení doc. MUDr. Antonij Slavčev CSc.
Organizace Institut klinické a experimentální medicíny

Celkové způsobilé náklady na řešení projektu ze všech zdrojů financování

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	Celkem
Celková dotace poskytovatele na projekt	1 602 tis	2 178 tis	2 198 tis	2 160 tis	8 138 tis
Podpora z ostatních veřejných zdrojů (tuzemských i zahraničních)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Podpora z neveřejných zdrojů (vlastní prostředky, soukromé dotace)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Způsobilé náklady ze všech zdrojů financování	1 602 tis	2 178 tis	2 198 tis	2 160 tis	8 138 tis
Míra podpory u poskytovatele	100 %				
Intenzita podpory dle EK 2014/C 198/01	100 %				

Prohlášení uchazeče o skutečnostech ovlivňujících max. intenzitu podpory

Typ organizace	výzkumná organizace
Prohlašuji, že	nejde o přeshraniční spolupráci
Výsledky výzkumu	budou volně šířeny (open/free access)

Maximální intenzita podpory

	Způsobilé náklady	Podíl na projektu	Maximální podpořená částka	Maximální intenzita podpory
Základní výzkum	0 tis	0 %	0 tis	100 %
Průmyslový výzkum	8 138 tis	100 %	8 138 tis	100 %
Experimentální vývoj	0 tis	0 %	0 tis	100 %
Celkem	8 138 tis	100%	8 138 tis	100 %

Rozdělení uznaných nákladů na řešení projektu

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	Celkem
Ostatní provozní náklady	873 tis	1 187 tis	1 187 tis	1 127 tis	4 374 tis
Osobní náklady	729 tis	991 tis	1 011 tis	1 033 tis	3 764 tis
Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Celkem	1 602 tis	2 178 tis	2 198 tis	2 160 tis	8 138 tis

Uchazeč - část B - rozpis finančních položek

V této části návrhu se vyplňují celkové předpokládané způsobilé náklady projektu (tj. dotace + spolufinancování) !!!!

Ostatní provozní náklady

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	Celkem
Materiální náklady	600 tis	800 tis	800 tis	800 tis	3 000 tis
Cestovní náklady	50 tis	80 tis	80 tis	40 tis	250 tis
Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady	5 tis	10 tis	10 tis	5 tis	30 tis
Doplňkové (režijní) náklady	218 tis	297 tis	297 tis	282 tis	1 094 tis
Celkem	873 tis	1 187 tis	1 187 tis	1 127 tis	4 374 tis

Osobní náklady (souhrn)

	1.rok	2.rok	3.rok	4.rok	Celkem
Mzdy navrhovatele a spolupracovníků	251 tis	341 tis	348 tis	356 tis	1 296 tis
Mzdy technických a administrativních pracovníků	289 tis	393 tis	401 tis	409 tis	1 492 tis
Ostatní osobní náklady (celkem)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Sociální a zdravotní pojištění a SF (FKSP)	189 tis	257 tis	262 tis	268 tis	976 tis
Celkem	729 tis	991 tis	1 011 tis	1 033 tis	3 764 tis

Investiční náklady projektu

		1.rok		2.rok		3.rok		4.rok	
Investice	Poř. cena	Odpisy	Využití	Odpisy	Využití	Odpisy	Využití	Odpisy	Využití
Způsobilé investiční náklady celkem		0 tis		0 tis		0 tis		0 tis	

Rozpis osobních nákladů pro všechny roky řešení

Student	Jméno	Příjmení	Úvazek	Mzda	Úvazek	Mzda	Úvazek	Mzda	Úvazek	Mzda
	Náplň práce / popis činnosti		Za 1.rok		Za 2.rok		Za 3.rok		Za 4.rok	
	doc. MUDr. Antonij Slavčev, CSc.		0,20	93 tis	0,20	126 tis	0,20	129 tis	0,20	132 tis
	Hlavní řešitel/ koordinace řešení projektu, analýza laboratorních dat, publikační výstupy									
	MUDr. Pavel Trunečka, CSc.		0,10	72 tis	0,10	98 tis	0,10	100 tis	0,10	102 tis
	Člen řešitelského týmu / koordinace sběru a analýza klinických dat									
	doc. MUDr. Eva Honsová, Ph.D.		0,10	86 tis	0,10	117 tis	0,10	119 tis	0,10	122 tis
	Člen řešitelského týmu / analýza patologo-anatomických dat									
	Technici a administrace		1,00	140 tis	1,00	190 tis	1,00	194 tis	1,00	198 tis
	VŠ zdravotní pracovník / analýza laboratorních testů									
	Technici a administrace		0,50	127 tis	0,50	173 tis	0,50	176 tis	0,50	180 tis
	Laborantka / metoda Luminex a další laboratorní techniky									
	Technici a administrace		0,10	22 tis	0,10	30 tis	0,10	31 tis	0,10	31 tis
	Laborantka / zpracování patologo-anatomických preparátů									

Uchazeč - část B - zdůvodnění finančních položek

Specifikace a zdůvodnění nákladů pro 1. rok řešení**Materiální náklady**

V prvním roce řešení tvoří materiální náklady 600 tis. Kč (9 měsíců). Z důvodu vyšší materiálové náročnosti (počtů vyšetření) projektu v dalších letech řešení je na materiálové náklady požadováno vždy 800-800-800 tis. Kč/rok.

Materiální náklady se skládají ze zdravotnického materiálu, ostatního materiálu a literatury potřebné pro řešení projektu. Ke zdravotnickému materiálu jsou zapotřebí soupravy pro stanovení přítomnosti a specifity protilátek metodou Luminex, reagentie pro detekci donor-specifických IgG protilátek metodou FACS cross-match. Nejdůležitější soupravy nutné pro řešení projektu jsou uvedeny níže:

OL-PEC1Q C1qScreen (OneLambda)
OL-LS1A04 LABScreen Single Antigen HLA Class I (OneLambda)
OL-LS2A01 LABScreen Single Antigen; Class II (OneLambda)
OL-LSM12 LABScreen® Mixed Class I & II (OneLambda)
OL-LS-NC LABScreen Neg. Control Serum (OneLambda)
Monoclonal reporter antibodies IgG1-4 (Southern Biotech)

Ostatní materiál jsou chemikálie a reagentie pro oddělení klinické a transplantační patologie, monoklonální protilátky, kalibrační kuličky, reagentie pro průtokovou cytometrii, další laboratorní, drobný hmotný majetek, spotřební, všeobecný a kancelářský materiál, materiál pro prezentaci výsledků a další materiál a potřeby aktuálně nutné pro řešení projektu.

Cestovní náklady

V 1. roce řešení 50 tis. Kč, v dalších letech 80-80-40 tis. Kč/rok.

Plánujeme aktivní účast členů řešitelského týmu např. na kongresu American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, St. Louis, Missouri, r. 2016 - aktivní účast hlavního navrhovatele doc. Slavčeva případně dalších členů řešitelského týmu. Dále aktivní účast členů řešitelského týmu na dalších kongresech, konferencích - aktivní prezentace výsledků projektu. Případně další tuzemské/ zahraniční cesty členů řešitelského týmu související s řešením projektu a aktivní prezentací (dílčích) výsledků.

Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady

Služby 5 tis. Kč v 1. roce řešení, v dalších letech 10-10-5 tis. Kč/rok budou využity na:

Opravy a údržbu přístrojů využívaných pro řešení projektu, publikační a ediční náklady (např. Tissue Antigens, International Journal of Immunogenetics případně Transplantation, apod.), grafické služby, překlady a jazykové korektury, notářské služby, online přístupy k elektornickým verzím odborné literatury, výrobu posterů, bankovní poplatky, členské poplatky (členství výhodné pro řešení projektu), registrační poplatky, telefonní poplatky, drobný nehmotný majetek, služby spojů, poštovné, přepravné a další služby aktuálně potřebné pro řešení projektu.

Osobní náklady

Osobní náklady tvoří mzdy a odvody na povinné zákonné odvody SP, ZP, a dále FKSP v celkové výši 35 % z hrubých mezd. Pro 1. rok řešení je nárokováno 729 tis. Kč, v dalších letech (2017-2019) 991-1 011-1 033 tis. Kč/rok. V prvním roce řešení odpovídají osobní náklady 9 měsícům řešení (04-12/2016).

Jednotliví členové budou v rámci řešení projektu vykonávat tyto činnosti:

Doc. MUDr. Antonij Slavčev, CSc. se bude podílet na koordinaci řešení projektu, analýze laboratorních dat ve vztahu ke klinickým nálezům po transplantaci a publikačních výstupech projektu.

MUDr. Pavel Trunečka, CSc. z Transplantcentra IKEM se bude podílet na koordinaci sběru a analýze klinických dat po transplantaci.

Doc. MUDr. Eva Honsová, Ph.D. z Oddělení klinické a transplantační patologie bude spolupracovat na analýze patologo-anatomických výsledků a na publikačních výstupech projektu.

Techničtí pracovníci:

- 1 laborantka na oddělení imunogenetiky bude provádět Luminex a další laboratorní metodiky (průtoková cytometrie)
- 1 laborantka na oddělení klinické a transplantační patologie bude zpracovávat patologo-anatomické preparáty
- 1 odborný VŠ zdravotní pracovník na oddělení imunogenetiky bude pracovat na analýze laboratorních testů (Luminex a průtoková cytometrie)

Účast všech uvedených osob řešitelského týmu v rozsahu stanovených úvazků a anotovaných dílčích pracovních činností je nezbytná pro dosažení uvedených výstupů projektu. Požadované osobní náklady pro členy řešitelského týmu jsou stanoveny dle mzdových předpisů IKEM s přihlédnutím na hospodárnost a efektivitu. Je zohledněn předpokládaný meziroční růst mzdových prostředků v rozsahu cca 2 %.

Investiční náklady

Investiční náklady nejsou v projektu plánované.

Uchazeč - část D2 - bibliografie

Úplné bibliografické údaje o nejvýznamnějších výsledcích vědecké a výzkumné činnosti definovaných v aktuálně platné Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje

Výsledek	Kód výsledku	Databaze	Citací	Impaktní faktor	ERIH
Popis metodiky					
1 STRÍŽ, I., KRÁSNÁ, E., HONSOVÁ, E., LÁCHA, J., PETŘÍČKOVÁ, K., JAREŠOVÁ, M., LODEREROVÁ, A., BÖHMOVÁ, R., VALHOVÁ, S., SLAVČEV, A., VÍTKO, Š. Interleukin 18 (IL-18) upregulation in acute rejection of kidney allograft. Immunology Letters. 2005, 99(1), 30-35. ISSN 0165-2478.	Jimp	WOS	43	2,367	
2 CINEK, O., HRADSKY, O., AHMEDOV, G., SLAVČEV, A., KOLOUSKOVA, S., KULICH, M., SUMNIK, Z. No independent role of the -1123 G>C and +2740 A>G variants in the association of PTPN22 with type 1 diabetes and juvenile idiopathic arthritis in two Caucasian populations. Diabetes research and clinical practice. 2007, 76(2), 297-303. ISSN 0168-8227.	Jimp	WOS	33	2,536	
3 RUFER, N., BREUR-VRIESENDORP, B.S., TIERCY, J.M., SLAVCEV, A.S., LARDY, N.M., FRANCIS, P., KRESSIG, R., SPEISER, D.E., HELG, C., CHAPUIS, B., GRATWOHL, A., JEANNET, M., ROOSNEK, E. High-resolution histocompatibility testing of a group of sixteen B44-positive, ABDR serologically matched unrelated donor-recipient pairs. Analysis of serologically undisclosed incompatibilities by cellular techniques, isoelectrofocusing, and HLA oligotyping. Human Immunology. Nov 1993, 38(3), 235-9. ISSN 0198-8859.	Jimp	WOS	32	2,282	
4 SLAVČEV, A., LÁCHA, J., HONSOVÁ, E., SAJDLOVÁ, H., LODEREROVÁ, A., VÍTKO, Š., SKIBOVÁ, J., STRÍŽ, I. Soluble CD30 and HLA antibodies as potential risk factors for kidney transplant rejection. Transplant Immunology. 2005, 14(2), 117-121. ISSN 0966-3274.	Jimp	WOS	29	1,832	
5 RUFER, N., TIERCY, J.M., BREUR-VRIESENDORP, B., GAUCHAT-FEISS, D., SHI, X., SLAVCEV, A., LARDY, N., SPEISER, D., GRATWOHL, A., CHAPUIS, B., JEANNET, M., ROOSNEK, E. Histo-incompatibilities in ABDR-matched unrelated donor recipient combinations. Bone Marrow Transplantation. Nov 1995, 16(5), 641-6. ISSN 0268-3369.	Jimp	WOS	28	3,466	
6 VAŠÁKOVÁ, M., ŠTERCLOVÁ, M., KOLESÁR, L., SLAVČEV, A., POHUNEK, P., ŠULC, J., SKIBOVÁ, J., STRÍŽ, I. Bronchoalveolar lavage fluid cellular characteristics, functional parameters and cytokine and chemokine levels in Interstitial Lung Diseases. Scandinavian journal of immunology. 2009, 69(3), 268-274. ISSN 0300-9475.	Jimp	WOS	24	1,882	
7 HOLLENBACH, JA., MEENAGH, A., SLEATOR, C., ALAEZ, C., BENGOCHE, M., CANOSSO, A., CONTRERAS, G., CREARY, L., EVSEEVA, I., GORODEZKY, C., HARDIE, RA., HEMMING KARLSEN, T., LIE, B., LUO, M., MARTINETTI, M., NAVARETTE, C., DE OLIVERIA, DC., OZZELLA, G., PASI, A., PAVLOVA, E., PINTO, S., PORTO, LC., SANTOS, P., SLAVČEV, A., SRINAK, D., TAVOULARIS, S., TONKS, S., TRACHTENBERG, E., VEJBAESYA, S., MIDDLETON, D. Report from the killer immunoglobulin-like receptor (KIR) anthropology component of the 15th International Histocompatibility Workshop : worldwide variation in the KIR loci and further evidence for the co-evolution of KIR and HLA. Tissue Antigens. 2010, 76(1), 9-17. ISSN 0001-2815.	Jimp	WOS	24	2,350	
8 CINEK, O., VAVŘINCOVÁ, P., STRÍŽ, I., DŘEVÍNEK, P., SEDLÁKOVÁ, P., VAVŘINEC, J., SLAVČEV, A. Association of single nucleotide polymorphisms within cytokine genes with juvenile idiopathic arthritis in the Czech population. Journal of rheumatology. 2004, 31(6), 1206-1210. ISSN 0315-162X.	Jimp	WOS	23	3,173	

Celkové počty výsledků definovaných v aktuálně platné Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje za posledních 5 let (podle RIV)

J_{imp} - článek v odborném periodiku impaktovaném	10
J_{sc} - článek v odborném periodiku obsaženém v databázi Scopus	1
J_{neimp} - článek v odborném periodiku neimpaktovaném	0
J_{rec} - článek v českém odborném recenzovaném časopise	0
B - odborná kniha	0
C - kapitola v odborné knize	0
D - článek ve sborníku	0
P - patent	0
F - užitný nebo průmyslový vzor	0
Z - poloprovoz, ověřená technologie, odrůda, plemeno	0
G - prototyp, funkční vzorek	0
H - poskytovatelem realizovaný výsledek	0
L - specializovaná mapa	0
N - certifikovaná metodika a postup	0
R - software	0
V - výzkumná zpráva obsahující utajované informace podle zvláštního právního předpisu	0

Celkový počet citací včetně autocitací a H-index WOK

Počet citací včetně autocitací na všechny práce podle	WOS 463
Metodika použitá pro počet citací dle "jiné metodiky"	
H-index podle Web of Knowledge	12,00

Uchazeč - část E - související projekty

Běžící projekty

Poskytovatel	Ministerstvo zdravotnictví	Kategorie CEP	FA - Kardiovaskulární nemoci včetně kardiochirurgie
Název programu	(IGA MZ) / RPV III	Registrační číslo	NT11262-6/2010
Role v projektu	Člen týmu	Panel (pouze GAČR a AZV)	
Celý název projektu	Přístup k pacientům s preformovanými protilátkami před transplantací srdce.	Pracovní úvazek	0,10
Dotace pro příjemce	11 241 tis	Ukončení řešení	[Language: en]31.12.2015
Počátek řešení	[Language: en]1.9.2010		
Příjemce - název instituce	Institut klinické a experimentální medicíny		
Vztah k podávanému návrhu	V obou projektech se detekují protilátky proti HLA antigenům.		
Poskytovatel	Ministerstvo zdravotnictví	Kategorie CEP	FN - Epidemiologie, infekční nemoci a klinická imunologie
Název programu	(IGA MZ) / RPV III	Registrační číslo	NT14022-3/2013
Role v projektu	Řešitel	Panel (pouze GAČR a AZV)	
Celý název projektu	DONOR-SPECIFICKÉ INTERFERON-GAMA PRODUKUJÍCÍ BUŇKY A PREDIKCE REJEKCE TRANSPLANTOVANÉ LEDVINY	Pracovní úvazek	0,20
Dotace pro příjemce	4 335 tis	Ukončení řešení	[Language: en]31.12.2015
Počátek řešení	[Language: en]1.5.2013		
Příjemce - název instituce	Institut klinické a experimentální medicíny		
Vztah k podávanému návrhu	Nemá blízkou tematickou souvislost s podávaným projektem.		
Poskytovatel	Ministerstvo zdravotnictví	Kategorie CEP	FJ - Chirurgie včetně transplantologie
Název programu	Program na podporu zdravotnického aplikovaného výzkumu a vývoje na léta 2015 – 2022	Registrační číslo	15-26865A
Role v projektu	Člen týmu	Panel (pouze GAČR a AZV)	P06
Celý název projektu	Alloreaktivita u transplantací ledvin u žijících dárců	Pracovní úvazek	0,05
Dotace pro příjemce	7 524 tis	Ukončení řešení	[Language: en]31.12.2018
Počátek řešení	[Language: en]1.5.2015		
Příjemce - název instituce	Institut klinické a experimentální medicíny		
Vztah k podávanému návrhu	V obou projektech se detekují protilátky proti HLA antigenům.		

Navrhované projekty

V současné době nejsou žádné projekty navrhované.

Ukončené projekty

V současné době nejsou žádné projekty ukončené.

Část C2 - odhad předpokládaných výsledků

Odhad předpokládaných výsledků projektu

Část C2 – s ohledem na požadavky IS VaVal - CEP se uvádí odhad počtu a druhu předpokládaných výsledků respektující zvyklosti daného oboru, kterých bude dosaženo v rámci řešení projektu, v členění podle druhů výsledků definovaných v aktuálně platné Metodice hodnocení výsledků výzkumných organizací a hodnocení výsledků ukončených programů; údaje jsou požadovány na základě požadavků evidence IS VaVal - CEP a jsou tam předávány.

J _{imp} - článek v odborném periodiku impaktovaném	2
J _{sc} - článek v odborném periodiku obsaženém v databázi Scopus	1
J _{neimp} - článek v odborném periodiku neimpaktovaném	1
J _{rec} - článek v českém odborném recenzovaném časopise	1
B- odborná kniha	0
C- kapitola v odborné knize	0
D- článek ve sborníku	0
P- patent	0
F- užitný vzor, průmyslový vzor	0
Z- poloprovoz, ověřená technologie	0
G- prototyp, funkční vzorek	0
N- certifikovaná metodika, léčebný postup, specializované mapy	0
R- software	0

Přílohy

Návrh projektu má připojeny všechny povinné přílohy.

Životopisy (část D1)

Uchazeč	Jméno souboru	Velikost
Uchazeč	CV_Antonij_Slavcev.pdf	115kB

Ostatní přiložené přílohy

Typ přílohy	Jméno souboru	Velikost
seznam vhodných zahraničních oponentů	Seznam_vhodnych_zahranicnich_oponentu.pdf	53kB
dokument upravující vztah projektu k pravidlům SÚKL	cestne_prohlaseni_SUKL_IKEM.pdf	714kB
seznam zahraničních pracovišť, kterým by nebylo vhodné návrh projektu k posouzení zasílat včetně zdůvodnění	Seznam_nevhodnych_posuzovatelu.pdf	190kB
kopie speciálních oprávnění podle zvláštního právního předpisu	Informovany_souhlas_16_27477A.pdf	66kB
kopie speciálních oprávnění podle zvláštního právního předpisu	Stanovisko_EK_16_27477A.pdf	767kB
část C	Antibody-mediated_rejection_after_liver_transplantation.pdf	94kB

Prohlášení

Podáním návrhu projektu uchazeč stvrzuje, že se seznámil se zadávací dokumentací a zavazuje se dodržovat její ustanovení, zejména že:

1. navrhovatel je v pracovněprávním poměru k uchazeči nebo tento vztah vznikne nejpozději ke dni zahájení řešení projektu;
2. zavazuje se, že po uzavření smlouvy o podpoře projektu bude plnit všechny povinnosti příjemce vyplývající ze zákona č. 130/2002 Sb., zadávací dokumentace a uzavřené smlouvy nebo vydaného rozhodnutí o poskytnutí podpory;
3. zajistí, aby řešitel po uzavření smlouvy o podpoře projektu plnil všechny své povinnosti, zejména odpovídal za odbornou úroveň řešení projektu; nastane-li situace, že podmínky na straně řešitele či příjemce znemožní řešiteli pokračovat v řešení projektu v navrhovaném termínu a nedojde-li k ukončení projektu, příjemce zajistí se souhlasem poskytovatele jiného řešitele, pokračování řešení projektu a jeho dokončení v souladu s uzavřenou smlouvou;
4. všechny údaje uvedené v návrhu projektu jsou pravdivé, úplné a nezkreslené a jsou totožné s údaji vloženými do návrhu projektu pomocí aplikace, a že návrh projektu byl vypracován v souladu se zadávací dokumentací;
5. všichni spoluuchazeči, navrhovatel, spolunavrhovatelé i další spolupracovníci uvedení v návrhu projektu byli seznámeni s věcným obsahem návrhu projektu i s finančními požadavky v něm uvedenými a se zadávací dokumentací;
6. před podáním návrhu projektu zajistil souhlas výše uvedených osob s účastí na řešení projektu uvedeného v návrhu projektu;
7. na jiný projekt s totožnou nebo obdobnou problematikou nepřijal, nepřijímá a nepřijme podporu z jiného zdroje;
8. obsah návrhu projektu, jehož se v jiných grantových nebo programových projektech účastní stejný navrhovatel nebo spolunavrhovatel, je rozdílný od tohoto návrhu projektu a navržené rozsahy prací umožní navrhovateli nebo spolunavrhovateli řešit všechny jejich projekty;
9. souhlasí, aby údaje uvedené v návrhu projektu byly použity pro vnitřní potřebu poskytovatele a uveřejněny v rozsahu stanoveném zákonem č. 130/2002 Sb. a zadávací dokumentací;
10. v případě uzavření smlouvy nebo vydání rozhodnutí o poskytnutí podpory na řešení projektu se bude při jeho řešení řídit podmínkami pro řešení projektů uvedenými v zadávací dokumentaci;
11. v případě, že příjemce nebo další účastník v projektu vystupuje jako výzkumná organizace, využije účelovou podporu pouze pro nehmotné činnosti specifikované v bodu 19 Rámce pro státní podporu výzkumu, vývoje a inovací;
12. v případě, že to povaha projektu vyžaduje, jsou přiložena příslušná oprávnění podle zvláštního právního předpisu.

Uchazeč zároveň potvrzuje, že byly dodrženy podmínky uvedené výše a že byla zkontrolována úplnost a správnost údajů v návrhu projektu.

Poskytovatel pro snazší vyplnění žádosti poskytuje [checklist](http://www.mzcr.cz/Odbornik/obsah/verejna-soutez-2016-2019_3255_3.html) (http://www.mzcr.cz/Odbornik/obsah/verejna-soutez-2016-2019_3255_3.html). Pokud žádost nebude splňovat náležitosti uvedené v [checklistu](http://www.mzcr.cz/Odbornik/obsah/verejna-soutez-2016-2019_3255_3.html) (http://www.mzcr.cz/Odbornik/obsah/verejna-soutez-2016-2019_3255_3.html), žádost buď nebude přijata do soutěže anebo bude ze soutěže vyřazena z důvodu formálního pochybení. Pro vyhodnocení návrhu bude do soutěže přijata pouze poslední verze návrhu projektu, která bude doručena do datové schránky GAČR vyhrazené pro systém GRIS (ID datové schránky:ntq92qs) v řádném termínu soutěže.

CURRICULUM VITAE

Assoc. prof. Antonij Slavcev, MD, PhD

BORN 26 August 1960, Sofia, Bulgaria
NATIONALITY Bulgarian
CITIZENSHIP Czech
ADDRESS Za Kovarskym rybnikem 270, Prague 149 00, Czech Republic
MOBILE PHONE: +420-605 238 016
E-MAIL: antonij.slavcev@ikem.cz; antonij9099@seznam.cz

CURRENT POSITION:

2002- Date Head of the Department of Immunogenetics, Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM), Prague, Czech Republic

PROFESSIONAL RECORD:

1994 - 2002 Researcher, Head of the Laboratory for Cellular Immunology at the Department of Immunogenetics, IKEM
1992 - 1993 Postdoctoral fellowship, Department of Transplantation Immunology, CLB, Amsterdam, The Netherlands
1987 - 1992 PhD student, Department of Immunology, IKEM
1986 - 1987 General practitioner, Radnevo, Bulgaria

EDUCATION

1986 MD, Medical Academy, Sofia, Bulgaria
1992 PhD, Czechoslovak Academy of Sciences Prague, Czechoslovakia (Thesis: Antibodies to Czechoslovak Cyclosporine A - production and characterization)
2012 Associate professor in Medical Immunology, 2nd Medical faculty, Charles University, Prague, Czech Republic (Thesis: Characterization of selected markers of immunological reactivity for organ and stem cell transplantation)
2013 Board certification in laboratory immunology, Czech Association of Allergology and Clinical Immunology

POSTDOCTORAL TRAINING IN IMMUNOLOGY AND IMMUNOGENETICS

1987 - 1992 PhD training in immunology, Department of Immunology, IKEM.
1992 - 1993 Eighteen months postdoctoral fellowship, Training in cellular methods (MLC, CTLp, flow cytometry) and isoelectric focusing of HLA antigens, Department of Transplantation Immunology, CLB, Amsterdam, The Netherlands.
1998 Testing of B27- and HLA-E transgenic mice and ELISA- LATM tests, INSERM, Hopital St. Louis, University of Paris VII
2002 13th Histocompatibility Workshop, Victoria, Canada
2004 3rd International Postgraduate school of Immunogenetics in Transfusion Medicine, Ljubljana, Slovenia
2008 15th Histocompatibility and Immunogenetics Workshop Rio de Janeiro, Brazil
2009 HLA Sequencing-Based Typing Course, Genome Diagnostics, Utrecht

2011	25 th Annual Advanced HLA Technical Workshop, Punta Cana, Dominican Republic
2012	16th International HLA and Immunogenetics Workshop, Liverpool, UK
2013	European Advanced HLA Technical Workshop, Rome, Italy
2002 – 2013	Organizer of several workshops for HLA laboratories from Central Europe on HLA typing, antibody screening, KIR and MICA typing
2006 – 2013	Head of the Organizing committee of six East-West Immunogenetics Conferences, Prague, IKEM (together with Gottfried Fischer, Vienna University)
2011	Head of the Organizing committee of the 25 th EFI Conference, Prague, Czech Republic

BIBLIOMETRIC PARAMETERS

37 publications in journals with IF; 9 publications in journals without IF; 7 review articles /or book chapters

Total number of citations - 463, H-index=12 (as of April, 2015)

MEMBERSHIP AND FUNCTIONS IN ACADEMIC ORGANIZATIONS

1994 – Date	European Federation for Immunogenetics, No.561
1995 – Date	British Society of Histocompatibility and Immunogenetics, No.625
2000 – Date	Transplantation Society, No.3250
2009 – 2011	Member of the Board of the European Federation for Immunogenetics (EFI)
2012 – 2014	Member of the Education committee of the European Society for Organ Transplantation (ESOT)
2014 – Date	Member of the Education committee of the European Federation for Immunogenetics

PROFESSIONAL SKILLS

- Immunogenetics of organ and stem cell transplantation
- Immunogenetics and diagnostics of autoimmune diseases
- Extensive practical experience with serological and molecular biology techniques:
 - Flow cytometry
 - Multiplex techniques
 - SSP and SSOP
 - Immunofluorescence methods for diagnostics of autoimmune diseases

ACTIVITIES IN THE LAST 5 YEARS CONNECTED WITH THE PROPOSED PROJECT

Since 2012 the principal investigator is the main partner for IKEM of the EC (FP7-HEALTH Collaborative project) “A Europe-wide strategy to enhance Transplantation of highly sensitized patients on basis of Acceptable HLA mismatches” (EUROSTAM). This project has a goal to facilitate the transplantation of highly immunized patients by detailed definition of HLA antibodies in high-risk patients. The investigator is also engaged in long-term collaboration with the clinic of nephrology and cardiology in the analysis of HLA and non-HLA antibodies for the diagnostics of antibody-mediated rejection.

DIAGNOSTICS OF ANTIBODY-MEDIATED REJECTION AFTER LIVER TRANSPLANTATION

1. State of the art

Antibody-mediated rejection (AMR) is a severe immunological complication which is associated with production of antibodies against HLA-mismatched antigens of organ donors (donor-specific antibodies, DSA). Even though antibody-mediated rejection is diagnosed in only approximately 10-20% of all cases of acute rejection, its consequences are serious because it often leads to irreversible graft injury. Based on literature studies, AMR correlates with significantly worse graft prognosis [1] [2]; therefore timely diagnosis is essential for adequate treatment of transplanted patients. The identification of AMR of the kidney and heart transplant, besides clinical symptoms like deterioration of graft function, is supported by biopsy (immunofluorescent) detection of C4d deposits in the capillaries of the affected organs and detection of donor-specific antibodies in patients' circulation [3]. The detection of C4d deposits indicates previous binding of antibodies to target (mostly HLA) antigens of the graft and activation of the complement cascade. However, in liver transplants, the diagnosis of antibody-mediated (humoral) rejection is far more complicated than in the transplanted kidney [4] [5]. The liver is relatively resistant to the pathological effects of antibodies, which are absorbed and eliminated by Kupfer cells in the form of immune complexes with bound antigens. In addition, C4d deposits may be detected in the course of viral diseases (hepatitis C, B) or other pathological conditions which activate the complement cascade, like autoimmune hepatitis, biliary obstruction, preservation-reperfusion injury, etc. Hence, up till now, the diagnostic criteria of liver AMR have not been precisely defined [6] [7]. Due to the difficult immunopathological recognition of acute liver AMR, an important diagnostic marker of AMR is the presence of antibodies against donor antigens (donor-specific antibodies, DSA) in the circulation. These are detected either by the Luminex technology and/or by cross-match tests – complement dependent (CDC) and/or flow cytometry crossmatch (FCXM). The application of solid-phase assays for antibody detection and specification has significantly facilitated the diagnosis of AMR. These tests utilize the flow cytometry (Flow PRA, Luminex) or ELISA technology and are multiple times faster and more sensitive than the classical CDC test. The Luminex method for HLA antibody detection and definition is at present regarded as the “golden standard” in most immunogenetic laboratories [8] [9].

2. Objectives

The aim of the proposed project is to contribute to the clarification of the clinical relevance of HLA-specific antibodies as detected by the Luminex method for the diagnosis of antibody mediated rejection of the liver transplant. The immunopathological findings in liver allograft biopsies at the time of suspected rejection will be correlated with the characteristics of HLA specific antibodies before and after transplantation. The project matches the priorities of the Program for Research and Development of the Ministry of Health of the Czech Republic (MZ III, RPV III, ch. 7, p. 08), i.e. has the goal to improve the treatment of rejection of transplanted organs and advance the possibilities for management of end-stage diseases by transplantation. The study should optimize the diagnostics and monitoring of treatment of antibody-mediated rejection and improve the life and graft prognosis of patients with transplanted organs in the Czech Republic.

3. Hypothesis

Our operational hypothesis is that HLA-specific antibodies as specified by the Luminex technique and thorough immunopathological analysis of graft biopsies would be relevant from the clinical point of view for the timely diagnosis of antibody-mediated rejection in patients after liver transplantation. To achieve this goal, we intend to compare the diagnostic value of various approaches for detection and specification of antibodies against HLA with the evaluation of biopsies of transplanted organs (Department of Clinical and Transplant Pathology, IKEM).

4. Methods

The methods we are planning to use are the sensitive tests for detection and definition of HLA specific antibodies (FACS cross-match, Luminex technique).

4.1. Flow cytometry crossmatch (FCXM)

Three color flow cytometry analysis is routinely performed in our laboratory as described in our previous studies. Patient anti-HLA IgG antibodies bound to donor lymphocytes are detected by FITC-labelled goat anti-human IgG (heavy chain) Fab fragment antibody. T and B cells are stained by phycoerythrin (PE)-conjugated anti-CD3 and PerCP anti-CD19 monoclonal antibodies respectively. Samples are then analyzed after cell fixing on a flow cytometer. The fluorescence of patient samples is compared with the mean FITC fluorescence (FL1) of negative control samples (x-mean).

4.2 Luminex method

Detection of anti-HLA antibodies is performed on polystyrene microspheres (including fluorescent dyes) with fixed HLA antigens on their surface. HLA molecules bound on the beads are produced by recombinant technology and are defined at the allele (subtype) level. During the first incubation HLA antibodies are bound to HLA antigens attached to the microspheres. The HLA antigen-antibody complexes are then detected by goat antibody labeled with R-phycoerythrin (PE). Semi-quantitative evaluation of the level of antibodies is performed by assessment of the mean intensity of fluorescence (MFI). The MFI of positive, negative controls (cut off) and samples is evaluated by Luminex 100 IS 2.3 two-laser cytometer. The Luminex technique has also modifications for detection of complement-fixing antibodies (C1q test) and also for detection of various IgG subclasses – IgG₁₋₄. We plan to apply these variations of the technique for the more precise definition of antibodies and their correlation with clinical data.

5. Preparedness for work on the project

The Department of Immunogenetics has adequate staff and equipment for work on the proposed project. The Clinical Immunology department has a flow cytometer and the Department of Immunogenetics has two Luminex instruments for the precise definition of HLA antibody specificities. Besides, all necessary equipment like microscopes, centrifuges, laminar flow boxes etc. is available at the Department of Clinical and Transplantation Pathology.

6. Time schedule of the project

The project is planned for four years and is a continuation of our previous studies on the clinical relevance of HLA specific antibodies and their relation to antibody mediated rejection after organ transplantation (NR7859 “Antibodies to HLA antigens and their relation to chronic rejection” (2004 - 2006) and NR 9403 “Diagnostics of humoral rejection for organ transplantation” (2007 - 2009). Currently, at the Transplantation Centre IKEM are performed approximately 80 - 100 liver transplants per year. We are planning to include into the study two cohorts of patients. The first (retrospective) cohort will be comprised of patients who have been already transplanted in IKEM in the years 2009 – 2015 (approximately 400 patients). The second (prospective) cohort will consist of all patients who will be transplanted in the years 2016 - 2018, approximately 250 patients. The Department of Immunogenetics has stored sera (-20° C) obtained from patients shortly before liver transplantation (retrospective cohort). These sera have been collected in the last 6 years, i.e. since the year 2009. The analysis of HLA-specific antibodies in these samples can begin immediately. In the prospective cohort, patient sera will be collected before, at regular intervals (3, 6 months, one year) and the time of suspected acute rejection. We expect to have around 350 – 400 samples per year obtained from the prospective cohort which will be analyzed in the same way as the retrospective ones. The analysis serum samples of the retrospective and prospective cohort will be compared with:

- Morphological findings in biopsies after transplantation - the presence of signs of humoral, cellular rejection, chronic inflammation, fibrosis, etc.

- The mismatched HLA antigens between patient and donor and the presence of donor-specific antibodies (DSA)
- Efficiency of antirejection immunosuppressive therapy
- Clinical course and graft function during the first up to the third year after transplantation.

Collaborating clinics would be the Department of Immunogenetics, the Transplantation Centre, the Clinic of Hepatology and the Department of Clinical and Transplant Pathology IKEM.

All participants will have the same working assignments during the whole period. A. Slavcev will be coordinating the project and will take part in the analysis of laboratory data in relation to the clinical findings after transplantation. P. Trunecka will take part in the coordination of collection of patient samples and analysis of clinical data after transplantation. E. Honsová will collaborate on the analysis of clinico-pathological data and the publication activities connected with the project. One university-degree member from the Department of Immunogenetics will work on the analysis of laboratory tests (Luminex, flow-cytometry tests). The assistance of two technicians would be needed – one will perform Luminex and other immunogenetic tests (flow cytometry), while the other technician will collaborate on the processing of biopsy samples. We intend to finalize the analysis of data in the years 2018 – 2019.

Statistical evaluation of the data will be performed in the following way: the association between positivity / negativity of tests for detection and definition of antibodies and the occurrence of AMR will be evaluated using the chi-square and Kaplan-Meier tests. Assessment of the risk of AMR will be calculated by defining the sensitivity and specificity of various tests and compared with findings in liver biopsies.

7. Methods for acquisition of data and analysis

7.1. Retrospective part of the project

As indicated above, we will analyze all samples obtained from patients who have received liver transplants in IKEM during the years 2009 - 2015. Every sample will be tested by the FCXM test on donor cells and LabScreen Mixed Class I and Class II kit for the presence/absence of antibodies to HLA class I and II antigens and MICA. Specificity assignment will be further performed by the Luminex LabScreen Single Antigen test (Class I and Class II). The capacity of antibodies to bind complement will be assessed by the C1q Screen test and also by definition of IgG subclasses (IgG₁₋₄). The performance of these tests is not covered by the patients' health insurance.

7.2. Prospective part of the project

All patients transplanted with liver grafts in IKEM in the years 2016 – 2018 will be included. 5 ml of coagulated blood for determination of DSA (Donor-Specific Antibodies) will be obtained from every patient in regular intervals after transplantation – 3 months, 6 months and one year. Every sample will be first tested by the LabScreen Mixed test for anti-HLA and MICA antibodies. Definition of specificity of antibodies will be performed by Luminex LabScreen Single Antigen tests and flowcytometry crossmatch. Patients with suspected rejection will undergo liver graft biopsies and these biopsies will be stained by immunofluorescence for C4d deposits. Further immunopathological signs of acute rejection will be also evaluated, i.e. for confirmation /or exclusion of AMR. Blood samples (3-4 x) will be also obtained for monitoring of treatment (plasmapheresis).

8. Collaboration

Analogous research projects are being carried out in the Reference HLA laboratory of Eurotransplant in Leiden and in the Immunogenetics laboratory of Prof. P. Terasaki in Los Angeles (UCLA). The Department of Immunogenetics has long-term collaboration with these laboratories and has repeatedly obtained support from these centers in the analysis of complicated samples.

9. Discussion and contribution of the project

As indicated above, the proposed study is a continuation of our previous projects. Our results were published in several journals with impact factor [10] [11] [12] [13] [14]. The proposed project would contribute to the precise diagnostics of antibody-mediated rejection after liver transplantation and would have a positive impact on the costs connected with the diagnostics and monitoring of treatment of humoral rejection. From socio-economical point of view, liver transplantation is a life-saving procedure. Patients with suspected antibody-mediated rejection would have a more precise monitoring of the alloantibody response which would have a positive impact on the reduction of costs for immunosuppressive treatment. A contribution of the project would be also creation of conditions for close collaboration with clinicians (hepatologists, surgeons) in the care for patients with end-stage liver failure (priority of the Resort Program for research and development of the Ministry of Health of the Czech Republic (RPV III., ch. 7, p. 08).

Conclusion: the proposed project should help optimize the diagnosis of antibody-mediated rejection after liver transplantation and thus improve the life and graft prognosis of patients with transplanted organs in the Czech Republic.

10. References

- [1] Crespo M, Pascual M, Tolckoff-Rubin N, Mauiyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation*. 2001;71:652-8.
- [2] Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:779-87.
- [3] Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:807-17.
- [4] Hubscher SG. Antibody-mediated rejection in the liver allograft. *Curr Opin Organ Transplant*. 2012;17:280-6.
- [5] O'Leary JG, Klintmalm GB. Impact of donor-specific antibodies on results of liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2013;18:279-84.
- [6] Musat AI, Agni RM, Wai PY, Pirsch JD, Lorentzen DF, Powell A, et al. The significance of donor-specific HLA antibodies in rejection and ductopenia development in ABO compatible liver transplantation. *Am J Transplant*. 2011;11:500-10.
- [7] Kaneku H, O'Leary JG, Taniguchi M, Susskind BM, Terasaki PI, Klintmalm GB. Donorspecific human leukocyte antigen antibodies of the immunoglobulin G3 subclass are associated with chronic rejection and graft loss after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2012;18:984-92.
- [8] Tait BD, Hudson F, Brewin G, Cantwell L, Holdsworth R. Solid phase HLA antibody detection technology--challenges in interpretation. *Tissue Antigens*. 2010;76:87-95.
- [9] Colombo MB, Haworth SE, Poli F, Nocco A, Puglisi G, Innocente A, et al. Luminex technology for anti-HLA antibody screening: evaluation of performance and of impact on laboratory routine. *Cytometry B Clin Cytom*. 2007;72:465-71.
- [10] Pavlova Y, Viklicky O, Slatinska J, Burgelova M, Susal C, Skibova J, et al. Soluble CD30 and Hepatocyte growth factor as predictive markers of antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *Transpl Immunol*. 2011;25:72-6.
- [11] Pavlova YA, Malek I, Honsova E, Netuka I, Sochman J, Lodererova A, et al. Hepatocyte growth factor and antibodies to HLA and MICA antigens in heart transplant recipients. *Tissue Antigens*. 2010;76:380-6.
- [12] Slavcev A, Honsova E, Lodererova A, Pavlova Y, Sajdlova H, Vitko S, et al. Soluble CD30 in patients with antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *Transpl Immunol*. 2007;18:22-7.
- [13] Slavcev A, Lacha J, Honsova E, Sajdlova H, Lodererova A, Vitko S, et al. Soluble CD30 and HLA antibodies as potential risk factors for kidney transplant rejection. *Transpl Immunol*. 2005;14:117-21.

[14] Süsal C, Wettstein D, Döhler B, Morath C, Ruhenstroth A, Scherer S, Tran TH, Gombos P, Schemmer P, Wagner E, Fehr T, Živčić-Čosić S, Balen S, Weimer R, Slavcev A, Bösmüller C, Norman DJ, Zeier M, Opelz G. Association of Kidney Graft Loss With De Novo Produced Donor-Specific and Non-Donor-Specific HLA Antibodies Detected by Single Antigen Testing. Transplantation. 2015 Feb 12. [Epub ahead of print]