

04

## V y j á d ř e n í

k údajnému *scientific misconduct* profesora RNDr. Karla Bezoušky, DSc.

### **1. Pozadí případu**

#### **1.1**

Dne 21. 3. 2012 byl ředitel Mikrobiologického ústavu AV ČR, v. v. i., (dále jen MBÚ) RNDr. Martin Bilej, DrSc. v pozdních večerních hodinách informován VK o vniknutí cizí osoby do laboratoře jeho oddělení a o podezření s manipulací se vzorky v lednici téže laboratoře. Pomocí kamerového systému instalovaného v laboratoři VK byla identifikována tato osoba jako prof. Karel Bezouška. Vzhledem k tomu, že prof. Bezouška byl, kromě malého pracovního úvazku v MBÚ, zaměstnancem Přírodovědecké fakulty UK, a to v pozici vedoucího Katedry biochemie, informoval VK o možné manipulaci se vzorky hned následující den MS, zástupkyni vedoucího Katedry biochemie. Následně byl o případě informován i prof. RNDr. Bohuslav Gaš, CSc., děkan Přírodovědecké fakulty UK.

#### **1.2**

Děkan Přírodovědecké fakulty UK a ředitel MBÚ AV ČR, v.v.i., jmenovali společnou Etickou komisi k vyšetření možných etických pochybení v případě prof. Bezoušky ve složení: prof. Ing. Karel Štulík, DrSc., Přírodovědecká fakulta UK (předseda); doc. RNDr. Jan Černý, Ph.D., Přírodovědecká fakulta UK; RNDr. Jiří Gabriel, DrSc., MBÚ AV ČR, v.v.i.; prof. RNDr. Helena Illnerová, DrSc., Fyziologický ústav AV ČR; a prof. RNDr. Stanislav Komárek, Dr., Přírodovědecká fakulta UK.

### 1.3

Etická komise se sešla k projednání případu jedenáctkrát. Z vážných zdravotních důvodů se od června jednání neúčastnil prof. Karel Štulík. Komise měla k dispozici kromě jiného vyjádření studentů z laboratoře VK, vyjádření VK, vyjádření prof. Bezoušky, četné publikace, kde prvním, korespondujícím či jen spoluautorem byl prof. Bezouška, vyjádření LM z oddělení VK, důvěrné stanovisko britského Medical Research Council (MRC) z roku 1999 k možnému špatnému chování ve vědě („*scientific misconduct*“) prof. K. Bezoušky, a další podklady. Seznam materiálů, které měla Etická komise k dispozici, je Přílohou č. 1 Vyjádření.

Komise vyslechla, či opakovaně vyslechla účastníky, spoluúčastníky a možné svědky tohoto případu, jmenovitě prof. Bezoušku, jeho spolupracovníky a studenty, VK a jeho spolupracovníky a studenty, a další osoby. Celkem Komise vyslechla 22 svědků – jejich jmenný seznam tvoří Přílohu č. 2 Vyjádření.

### 1.4

Zvlášť cenným materiálem bylo pro Komisi stanovisko MRC, které se vyjadřovalo ke spolupráci skupiny TF z Glycosciences Laboratory v Harrow s laboratoří MBÚ v Praze, vedené MP (spolupracovníci AF a zejména Dr. K. Bezouška), v letech 1993 až 1995. Investigativní komise MRC našla v jedné ze 4 prací, kde skupina TF nebyla schopna zopakovat výsledky pražské laboratoře, jmenovitě v experimentálních datech pro článek zasláný do časopisu Cell, časopisem ihned nepřijatý a následně stažený TF, nesrovnalosti, které Dr. Bezouška jako autor těchto dat nemohl uspokojivě vysvětlit: tužkou provedené změny v tištěném výstupu z gamma-counteru, anomální podobu vzoru separovaných proteinů po gelové elektroforéze a následné autoradiografii („*unusual gel bandings*“) vedoucí k podezření z úprav primárních dat dokreslením, a kontaminaci experimentálních vzorků proteiny užívanými jinak jako standardní molekulové hmotnostní markery. Komise MRC vyslovila také hluboké znepokojení nad skutečností, že do práce byly v několika případech zahrnuty nezopakované výsledky jen z jednoho pokusu (které se následně nepodařilo zreprodukovat) a rozhodla, že definice „špatného vědeckého chování“, která je nejvýstižnější pro data zahrnutá do

nepublikovaného manuskriptu určeného původně pro Cell, je „nebezpečná nebo nezodpovědná odchylka od přijaté praxe jak provádět výzkum“ („*the definition of scientific misconduct most cogent to the data included in the unpublished Cell paper was that of dangerous or negligent deviations from accepted practice in carrying out research*“). Dopisy z 9. srpna 1999, podepsanými generálním ředitelem MRC (prof. G. K. Radda CBE FRS), pak byli individuálně Dr. Bezouška, MP a AF vyzváni, aby se zprávou Investigativní komise seznámili předsedu Akademie věd ČR (v dopisu nesprávně uvedeno „*Director of the Academy of Medical Sciences in Prague*“). Ani předseda AV ČR, ani vedení MBÚ či Přírodovědecké fakulty UK však podle dostupných informací o existenci zprávy této Investigativní komise nebyli zpraveni. Tomuto bodu věnovala Etická komise zvýšenou pozornost; komunikovala se všemi potenciálně informovatelnými pracovníky (předseda AV ČR v inkriminovaném období, ředitel/ředitelka a vedoucí Sektoru imunologie MBÚ, děkan a vedoucí Katedry biochemie PřF UK. O výše zmíněném vyšetřování bylo v ČR povědomí. Etická komise dospěla k názoru, že závěry komise MRC byly spoluautory hodnocených článků bagatelizovány. Na druhé straně zřejmě nebyl vyvinut dostatečný tlak na trojici autorů (K. Bezouška, MP, AF), aby celou věc uspokojivě a vyčerpávajícím způsobem vysvětlili – zvláště s ohledem na retrakci článků TF. Existence problémů s manuskriptem zasláným do časopisu Cell byla pro Etickou komisi překvapením, o jejich existenci se dozvěděla až z dodatečně vyžádané zprávy z MRC a nalezené v materiálech prof. Bezoušky. Pochybnosti nad validitou experimentálních dat v tomto článku dle komise MRC zpochybňují data v časopise Nature.

## 2. Zjištění Komise ustavené děkanem Přírodovědecké fakulty UK a ředitelem MBÚ AV ČR, v. v. i.

### 2.1 Možný *scientific misconduct*

#### 2.1.1

Tři studentky z oddělení VK pojalý podezření z manipulace s výsledky při testování vazby fluorescenčně značeného rekombinantního fragmentu proteinu NKR-P1 na vybrané sacharidy (již dříve odhalené jako specifické vazebné molekuly pro tento lektin NK buněk). Důvodem byla nekonzistence experimentálních dat, kterou dle jejich názoru nebylo možné vysvětlit bez vnějšího zásahu. Bez vědomí kohokoliv v oddělení, včetně vedoucího laboratoře VK, provedla jedna z nich záměnu jedné ze dvou napipetovaných destiček uložených v lednici a určených ke stanovení fluorescence následujícího dne: jednu destičku uložila do lednice do jiné místnosti a na její místo uložila jinou destičku, do které napipetovala čistou vodu. Následující ráno zkontrolovala, spolu s další studentkou, destičky uložené v původní lednici; obě obsahovaly žlutě zbarvené roztoky s jasnými koncentračními řadami, tedy včetně té, do níž byla napipetována jen voda. Naopak v lednici v jiné místnosti zůstal roztok v originální destičce čirý. Studentky o této skutečnosti informovaly KK, který předešlého dne pipetoval do destiček patřičné roztoky, a spolu s ním pak informovaly o celé záležitosti napřed LW, a ještě téhož dne všichni společně VK. KK pak sám provedl pokus v obdobném uspořádání jako dříve studentky. Výsledek byl stejný jako v předchozím případě: opět destička, do níž nikdy nebyl přidán žádný fluorescenčně značený protein a sacharid, obsahovala žlutě zbarvené koncentrační řady. O tomto pokusu, stejně jako o předchozích pokusech, které „vyšly“, byl vždy dopředu informován prof. Bezouška, aby se zajistilo měření na fluorometru jeho laboratoře následující den. Prof. Bezouška se vždy mohl seznámit s rozpisem pokusů, který ležival na pracovním stole KK. Po zjištění manipulace s destičkami instaloval 18. 3. 2012 KK a manžel LW do místnosti kamerový systém, který umožňoval sledovat děj před inkriminovanou lednicí. V noci z 19. na 20. 3. do místnosti dvakrát vnikl a 21. 3. v pozdní večer do ní opět vnikl prof. Bezouška a manipuloval s deskami v lednici.

Komise po vyloučení všech svědků, včetně vysvětlení prof. Bezoušky usoudila, že s nejvyšší pravděpodobností došlo u prof. Bezoušky k *scientific misconduct* v oblasti pozitivních výsledků při zjišťování vazby sacharidů na protein NKR-P1, a to opakovaně. Zejména výpovědi studentek, nejmladších členek skupiny VK, byly vysoce hodnověrné svou silnou motivací po nalezení pravdy. Nepodařilo se nalézt jiné než toto vysvětlení pro velice konzistentní fakta získaná z celé řady zdrojů. Pro alternativní vysvětlení, tj. konspirační teorii „nastražené pastí“ na prof. Bezoušku, se Etické komisi nepodařilo získat sebemenší důkaz.

### 2.1.2

Skupina autorů PK; DR; et al., kde jedním ze spoluautorů byl i prof. K. Bezouška, zaslala v roce 2011 do časopisu *Journal of Experimental Medicine* článek „*Structural changes of mouse activating NKR-P1 receptors upon complex formation with Clr ligands are essential for their signaling*“, který byl časopisem odmítnut (viz Příloha č. 3 Vyjádření). Tento rukopis nebyl nikdy publikován. Skupina ho očistila od kontroverzních dat, dodaných prof. Bezouškou, a publikovala pak již jen samotnou přípravu proteinu, jeho vlastnosti a strukturu v *Journal of Structural Biology*. V rukopisu zasláném do *J Exp Med*, který má Komise k dispozici, se nalézají v obrázku 5 B spektrometrická data ve dvou kolonkách, teoretická a nalezená. V rozhovoru prof. Bezouška řekl, že „nalezená“ data ve skutečnosti naměřena nebyla a jejich změření bylo plánováno v Hradci Králové (jakákoliv komunikace s prof. Bezouškou o měření proteinových vzorků hmotnostní spektrometrií byla z Hradce Králové popřena), a že šlo jen o návrh obrázkového layoutu v manuskriptu. Dále se v rukopisu nalézá i kontroverzní obrázek 5, zachycující výsledek SDS-PAGE elektroforézy evidentně sestavený z několika gelů, aniž je to v legendě k obrázkům uvedeno. Po konzultaci s několika experty tento výsledek (zanedbáme-li nepatřičné sestavení z několika gelů) není reálný – množství izolovaného materiálu separovaného pomocí elektroforézy je mnohonásobně větší, než odpovídá realitě. Další nedůvěryhodnou částí této práce jsou výsledky z BN-PAGE kombinované s SDS-PAGE. Nepodařilo se objasnit průběh tohoto experimentu. Osoby, které jej kompletně realizovaly, nebyly schopné dohledat primární data. Zmíněné nálezy s vysokou mírou

pravděpodobnosti ukazují, že i v tomto případě došlo u prof. Bezoušky k *scientific misconduct* a komunikaci o experimentálních datech s členy vlastní laboratoře neprováděl prof. Bezouška způsobem správné laboratorní praxe.

### 2.1.3

Paní MV, původně studentka prof. Bezoušky, uvedla v rozhovoru s Komisí, že byla v roce 2008 spoluautorkou plakátového sdělení s prof. Bezouškou na „*Tatra Immunology Conference*“ a posléze i rukopisu připravovaného pro tisk. V plakátovém sdělení i v rukopisu se objevila data, která MV neznala. Na její dotaz, kde byla tato data naměřena, odpověděl prof. Bezouška, že v Brně. V Brně ale údajně měření vzorků nepotvrdili. Připravovaný rukopis byl nakonec prof. Bezouškou stažen. Ačkoliv Komise neměla v rukou připravovaný rukopis, přiklání se vzhledem k věrohodnosti a konzistenci výpovědi k názoru, že i v tomto případě šlo o *scientific misconduct*.

### 2.1.4

V publikacích Bezouška, et al.; *Bioconjugate Chemistry* 2012; 23; 2032-2041 a K, et al.; *J. Med. Chem.* 2010; 53; 4050–4065 (v obou případech K. Bezouška jako korespondující autor, viz Přílohy č. 4 a 5 Vyjádření) se vyskytují nápadně podobná až identická data, týkající se zcela odlišných experimentálních systémů (v jednom případě se jedná o interakci peptidu – fragmentu bakteriálního proteinu s proteinem NKR-P1, ve druhém případě o interakci sacharidu s NKR-P1). Po kritické analýze těchto dat byl Katedrou biochemie profesoru Bezouškovi zakázán do odvolání jakýkoli publikační výstup s uvedením adresy Katedry biochemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy (viz Příloha č. 6 Vyjádření). Etická komise se přiklání k názoru, že K. Bezouška k duplikaci výsledků ve dvou nezávislých pracích nepodal dostatečně přesvědčivé vysvětlení. Jak úmysl, tak i nedbalost, které mohly vést k výše uvedenému publikačnímu pochybení, jsou dalším příkladem problematičnosti publikačních výstupů K. Bezoušky.

## 2.2 Nebezpečné odchylky od přijaté praxe jak provádět výzkum.

Tyto „odchylky“ jsou přímo vysloveny v 10-stránkovém „Vyjádření prof. RNDr. Karla Bezoušky, DSc., pro společnou etickou komisi UK PřF a AV ČR jmenovanou dne 26. 4. 2012 s cílem ověřit podezření ze „*Scientific Misconduct*“ (viz Příloha č. 7 Vyjádření).

V úvodu vyjádření hodnotí prof. Bezouška situaci tak, že počet prací obsahujících chybné výsledky či jejich neadekvátní (chybné) interpretace je velmi nízký. Uvědomuje si však, že to měl být on, kdo měl při vědecké výchově studentů udávat kritický tón.

K možným pochybením ze své strany uvádí publikaci tří recentních článků, k níž dal své svolení, i když věděl, že skupina TF v Anglii a navíc i jeho doktorand DR mají pochybnosti o vazbě sacharidů monomerními formami homologních myších receptorů (mNKR-P1) užitými v daných studiích. Současně si uvědomuje, že v jedné z těchto studií popsané biologické testy měly být provedeny vícekrát, neboť výsledky biologických testů mohou být variabilní a nelze vycházet z výsledků jediného stanovení. Z dalších pochybností uvádí prof. Bezouška čtyři příklady, v nichž vzhledem ke kolektivní kontrole k publikování nesprávných údajů nedošlo. (viz též 2.1.2 a 2.1.3). V jednom případě upozornil na chyby v experimentech a interpretacích přímo recenzent článku a studie nebyla uveřejněna, v jiném připravovaném manuskriptu o sacharidových vazebných vlastnostech rozpustné formy receptoru CD 69 při přípravě vzorků jednotlivých CD proteinů došlo k záměně těchto proteinů za proteinové standardy používané v laboratoři a data byla tedy z publikace odstraněna. U článku pro J Exp Med (viz též 2.1.2) prof. Bezouška přiznává, že byl do připravované studie zařazen i soubor několika výsledkových tabulí, za jejichž přípravu byl odpovědný, a které vykazovaly některé nelogické vlastnosti. Po upozornění studenty byla tato data z publikace odstraněna. Prof. Bezouška ještě zmiňuje velké pochybnosti několika studentů z jejich laboratoře o oligosacharidových arrayích prováděných na 384 jamkových mikrotitračních destičkách, a to vzhledem ke skutečnosti, že odečtené hodnoty fluorescencí v jednotlivých jamkách dosahovaly dokonce vyšších intenzit, než tomu bylo u přidaného proteinu.

Na základě Vyjádření se Komise domnívá, že u prof. Bezoušky mohlo docházet k závažnému porušování přijaté praxe jak provádět výzkum, ať již z nedbalosti (neopakování pokusů, záměna vzorků), která mohla být dána velkým počtem studentů a vysokým pracovním zatížením prof. Bezoušky, či mohlo přímo dojít ze strany prof. Bezoušky k *scientific misconduct*. Toto porušování je o to problematičtější, že podobné připomínky byly již uvedeny ve vyjádření MRC z r. 1999. Další přitěžující okolností je fakt, že Karel Bezouška působil jako vedoucí katedry na vědecko-pedagogickém pracovišti, garantoval studijní obor Biochemie a působil jako příklad pro velké množství studentů. Ve světle výše uvedených faktů je paradoxní, že K. Bezouška byl jedním z přednášejících kurzu Management biochemie (MC250P50), kde spolu se svými kolegy studenty bakalářských oborů seznamoval s příklady správné laboratorní a publikační praxe.

## 2.3 Opakovatelnost naměřených výsledků

### 2.3.1

Kromě skupiny TF v Anglii i jiné skupiny měly problémy s reprodukovatelností výsledků publikovaných prof. Bezouškou a jeho spolupracovníky. Jde zejména o vazebné vlastnosti membránových proteinů NK buněk vzhledem k sacharidům. I prof. Bezouška se ve svém Vyjádření domnívá, že cílem ověřovacích pokusů experimentů musí být nejen vazebné vlastnosti použitého NKR-P1 proteinu per se, ale i ověření vlastní metodiky destičkového vazebného a inhibičního testu, který jejich laboratoř dlouhodobě zajišťuje.

Uvědomuje si také, že se objevily i další pochybnosti ve vztahu k používaným sacharidovým ligandům, tj. BSA sacharidovým konjugátům použitým k pokrytí desek.



### 2.3.2

Nesrovnalosti s opakováním výsledků se objevily i ve vyjádření LM z laboratoře VK, která uvedla, že i při řešení problematiky nitrilasy z *Aspergillus niger* ve spolupráci s prof. K. Bezouškou došlo z jeho strany k dodání nesprávných údajů (N-terminální sekvence enzymu neodpovídala skutečné sekvenci předaného vzorku, přičemž byl dodán pouze finální obrázek; primární data nebyla nikdy dohledána). Tento závěr vyplynul z opakovaného experimentu po téměř dvou letech a nové purifikaci a charakterizaci uvedené nitrilázy (viz Příloha č. 8 Vyjádření).

## 3. Závěry Etické komise

### 3.1

Komise na základě svých zjištění konstatuje, že s nejvyšší pravděpodobností docházelo ze strany prof. RNDr. Karla Bezoušky, DSc., k *scientific misconduct* a opakovaně k nezodpovědnému chování při provádění výzkumu. Je to velká škoda, neboť profesor Bezouška je vynikající biochemik, jeden ze zakladatelů proteomiky v českých zemích, výborný přednášející a obětavý pracovník. Publikační aktivita prof. Bezoušky je vysoká – více než 100 článků v recenzovaných mezinárodních časopisech. Bezpochyby je zde obsaženo značné množství kvalitní experimentální práce, bohužel v některých případech obsahuje s velkou pravděpodobností neopakovaná a nereprodukovatelná data. Jak již bylo uvedeno v závěrečné zprávě komise MRC, nedůvěryhodnost experimentálních dat v jedné publikaci logicky znedůvěryhodňuje i publikace ostatní.

### 3.2

V roce 1999 dostali stanovisko Investigativní komise MRC vyšetřující „*scientific misconduct*“ tři pracovníci, jmenovitě Dr. K. Bezouška, MP a AF spolu s dopisem generálního ředitele, aby o stanovisku informovali ředitele Akademie lékařských věd v Praze. Stanovisko konstatovalo „*scientific misconduct*“ ze strany Dr. Bezoušky a nesplnění očekávaných odpovědností ze strany pracovníků – seniorů, jmenovitě TF a MP. Příjemci dopisu

neinformovali ani předsedu AV ČR, ani vedení Mikrobiologického ústavu AV ČR či Přírodovědecké fakulty UK. Dle sdělení prof. Bezoušky a AF se společně dohodli, že „vedení bude informováno“ MP. Ten se již k tomuto tvrzení nemohl vyjádřit, neboť v roce 2007 zemřel. Kdyby v té době byl případ prošetřen českou stranou, mohlo se patrně předejít dalšímu „*scientific misconduct*“ prof. Bezoušky.

### 3.3

V MBÚ panovala důvěra k práci prof. Bezoušky i vzhledem k tomu, že on sám každého ujišťoval, že vyšetřování MRC bylo ukončeno s dobrým výsledkem pro celou skupinu. Například na obhajobě své DSc. disertační práce v roce 2005 na přímý dotaz JK celou problematiku bagatelizoval s odkazem na osobní nevraživost TF. I přesto v poslední době počala probleskovat podezření o nesprávnosti některých jeho výsledků. O skutečné důkazy možné manipulace s výsledky se poprvé postaraly studentky VK, zpočátku bez jeho vědomí, konkrétně JH, BF a zejména DG. Důkaz manipulace se vzorky prof. Bezouškou pak přineslo kamerovým záznamem oddělení VK.

### 3.4

Přesto, že důvěra ve spolupracovníky je nezbytná, případ ukazuje, že neustálá kontrola a ověřování výsledků celým týmem a zejména jeho vedením je zapotřebí, aby se předešlo obdobným událostem. Především starší vědeckí pracovníci si musí uvědomovat svou odpovědnost nejen za vlastní tým, ale i za kontrolu výsledků spolupracujících týmů. Ze své podstaty je vědecká práce týmová, kdy jednotliví autoři přispívají jako specialisté, a autor hlavní/korespondující je zásadním způsobem zodpovědný za kvalitu a reprodukovatelnost publikovaných dat. Omluvou pro jinou než správnou laboratorní a publikační praxi by neměl být enormní institucionální tlak, kladený v dnešní době na publikační aktivitu a její scientometrické charakteristiky.

### 3.5

Etická komise vyslovuje své uznání zejména třem výše uvedeným studentkám, které jako první přinesly důkazy o možných podvodech. Je nutné vyslovovat uznání tzv. „whistleblowerům“, kteří se nezaleknou veřejného, často i nepřátelského mínění, a přinesou skutečné důkazy o podvodech ve vědě.

### 3.6

Šetření též ukázalo, jak nezbytné je, aby rukopisy před odesláním do tisku byly zevrubně diskutovány celým týmem pracovníků i spolupracujícími týmy. Při těchto diskusích by měla být k dispozici i primární data, aby nedocházelo ke zveřejňování chybných výsledků a interpretací.

3.7 Komise doporučuje, aby všichni spoluautoři prací prof. K. Bezoušky kriticky posoudili své publikace, a to zejména po stránce kvality primárních dat a jejich interpretací.

3.8 Úkolem Etické komise nebylo přímo experimentálně ověřovat validitu inkriminovaných metodik a reagentů. Za tímto účelem byly Radou MBÚ jmenovány příslušné Komise. Při vzniku stanoviska bohužel nebyly k dispozici výsledky ověřovacích experimentů, které by následně uvedly celou problematiku do obecnějšího kontextu. E-mailová komunikace ředitele MBÚ RNDr. M. Bileje, DrSc. s příslušnými laboratořemi, které měly zajistit testování vzorků, tvoří Přílohu č. 9 Vyjádření.

3.9 Komise opakovaně při své činnosti konstatovala potřebu kvalitních etických kodexů/manuálů, tj. jak posuzovat tzv. „scientific misconduct“, ve všech organizacích zabývajících se vědou a výzkumem.

#### 4.0

Na závěr své činnosti Etická komise vyjadřuje víru, že tento případ „špatného chování ve vědě“ byl ojedinělou událostí v české vědě a nebude se již opakovat.

V Praze 21. 1. 2013

Prof. Helena Illnerová

Doc. RNDr. Jan Černý

RNDr. Jiří Gabriel

Prof. Stanislav Komárek



DŮVĚRNĚ