ALMA MATER

MIESIĘCZNIK UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

luty–marzec 2014 nr 163–164

ISSN 1427-1176

O RYZYKU POWIKŁAŃ U WCZEŚNIAKÓW

Najwyższy poziom opieki medycznej zapewniany dziecku już od pierwszych chwil po narodzinach stwarza obecnie możliwość przeżycia nawet bardzo małych, niedojrzałych noworodków, które urodziły się przedwcześnie. Dziś wcześniactwo jest problemem, który stał się powszechny, obecny zarówno w mediach, jak i w badaniach naukowych.

Z archiwum Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego

Prof. Jacek J. Pietrzyk

W latach 2008–2011 w Klinice Chorób Dzieci i Zakładzie Genetyki Medycznej Katedry Pediatrii we współpracy z Uniwersytetem w Oslo realizowano program badań klinicznych, którego celem było rzucenie nowego spojrzenia na problem odległych powikłań rozwijających się u noworodków urodzonych przedwcześnie. W badaniach oceniano toksyczny wpływ tlenu na pracę wszystkich genów obecnych w ludzkich komórkach (ekspresję genomu). Celem projektu była próba wykazania związku pomiędzy zmienną ekspresją genów a ryzykiem występowania powikłań wcześniactwa pod postacią dysplazji oskrzelowo-płucnej oraz retinopatii wcześniaków. W badaniu wykorzystano również, opracowany w Oslo, zwierzęcy model eksperymentalny, w którym oceniano, jak różne stężenia tlenu wpływają na ekspresję genomu i rozwój uszkodzeń narządów u noworodków mysich. Efektem badań była identyfikacja genetycznych czynników ryzyka wystąpienia odległych powikłań u wcześniaków. Wyniki badań zostały przedstawione w sześciu publikacjach w recenzowanych czasopismach medycznych z listy filadelfijskiej.

W bieżącej edycji grantów norweskich akceptację uzyskał kolejny wniosek badawczy, zatytułowany *Prematurity epigenome and proteome as a clue for prediction of prematurity complications*, który będzie realizowany w latach 2013–2016, jako kontynuacja i rozszerzenie wcześniejszych badań. W skład zespołu badawczego wchodzą ośrodki naukowe z Polski: Klinika Chorób Dzieci UJ CM (jednostka kierująca badaniem, podobnie jak w poprzedniej edycji), OMICRON UJ CM, Uniwersytet Warszawski oraz partner zagraniczny (Uniwersytet w Oslo).

Z archiwum Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego

Celem programu badawczego jest kompleksowa ocena nieprawidłowości w funkcjonowaniu organizmu noworodka urodzonego przedwcześnie na poziomie molekularnym oraz ocena drogi od DNA poprzez cząsteczki RNA do białek, które budują ludzki organizm. Szczegółowej analizie poddane zostaną wzory metylacji DNA (tak zwana „pamięć epigenetyczna"), profile ekspresji genów (świadczące o zwiększonej lub zmniejszonej aktywności poszczególnych genów), zawartość białek w komórce (proteom). Wszystkie zmiany molekularne obserwowane będą w podgrupach noworodków wyróżnionych zależnie od ich wieku płodowego. Oceniony zostanie

ich wpływ na występowanie bliskich i odległych powikłań wcześniactwa. Do najważniejszych z powikłań zaliczyć należy retinopatię wcześniaczą (ROP), czyli zaburzenie unaczynienia siatkówki, które może prowadzić do ślepoty, oraz dysplazję oskrzelowo-płucną (BPD) – przewlekłe zapalne uszkodzenie płuc i oskrzeli, prowadzące do rozwoju przewlekłej choroby płuc.

Badanie składać się będzie z dwóch części: eksperymentalnej (prowadzonej w Department of Pediatric Research, Rikshospitalet, University of Oslo, Norwegia, pod kierunkiem prof. Ola D. Saugstada) oraz klinicznej (realizowanej w Oddziale Patologii i Intensywnej Terapii Noworodka Kliniki Chorób Dzieci pod kierunkiem prof. Jacka J. Pietrzyka).

Część eksperymentalna poświęcona będzie badaniom na wystandaryzowanym modelu mysim. Zwierzęta doświadczalne przebywać będą w warunkach niedotlenienia, a następnie będą poddawane tlenoterapii różnymi stężeniami tlenu. Po zakończeniu eksperymentu narządy wrażliwe na efekt działania tlenu, takie jak siatkówka oka, płuca, mózg, wątroba, jelito, zostaną pobrane od zwierząt w celu zbadania profilu ekspresji genomu myszy.

W części klinicznej przeprowadzone zostanie badanie prospektywne obejmujące 120 noworodków urodzonych przed 30. tygodniem ciąży. Podczas trwania badań u wszystkich dzieci prowadzone będzie dokładne monitorowanie czynników, które mogą wpływać na występowanie i nasilenie powikłań wcześniactwa oraz ekspresję genów. W sposób ciągły rejestrowane będą wysycenie tlenem hemoglobiny, stężenia tlenu w mieszaninie oddechowej, średnie ciśnienie w drogach oddechowych dziecka, składniki odżywiania pozajelitowego oraz stosowane leki.

Od dzieci uczestniczących w badaniu po urodzeniu pobrana zostanie niewielka część pępowiny. Następnie, w wieku 5–7 dni oraz w wieku 36 tygodni (liczonym od daty ostatniej miesiączki matki) – mała próbka krwi w celu wykonania badań genetycznych i oceny białek.

Z archiwum Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego

Oddział Patologii I Intensywnej Terapii Noworodka

Dodatkowym atutem programu badawczego jest próba oceny profilu białek w eksperymencie przeprowadzanym na hodowlach *in vitro* leukocytów krwi obwodowej wcześniaków, które poddawane będą inkubacjom w podwyższonych wartościach tlenu.

Badania genetyczne (ocena ekspresji genów oraz metylacji DNA) zarówno w przypadku noworodków, jak i modelu mysiego wykonane zostaną w oparciu o jedną z najnowocześniejszych technik biologii molekularnej – metodę mikromacierzy. Ocena całościowej zawartości białka w komórce (proteomu) przeprowadzana będzie techniką chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią masową (2 DE-LC-MS; *2 Dimension, Liquid Chromatography Interfaced with Mass Spectrometry)*. Całość badań genetycznych oraz eksperymenty *in vitro* przeprowadzi zespół badawczy z Zakładu Genetyki Medycznej Katedry Pediatrii we współpracy z laboratorium OMICRON UJ w zakresie analiz proteomicznych techniką 2 DE-LC-MS.

Po zakończeniu eksperymentów planowana jest analiza statystyczna uzyskanych wyników, która przeprowadzona zostanie przez norweskiego partnera (Microarray Core Facility, University of Oslo). Najważniejszym, końcowym etapem oceny będzie synteza danych uzyskanych w eksperymentach z wykorzystaniem zwierząt, danych zebranych od noworodków urodzonych przedwcześnie oraz w praktyce klinicznej. Efektem badań będzie weryfikacja hipotezy zakładającej odmienność profili ekspresji genów oraz zawartości białek w komórkach w przypadku dzieci dotkniętych różnymi powikłaniami wcześniactwa.

Planowane badania, łączące elementy eksperymentu na modelu zwierzęcym z badaniami prowadzonymi w grupie noworodków z porodów przedwczesnych, mają oryginalny i nowatorski charakter. Wynika to przede wszystkim z kompleksowego podejścia do postawionych celów, polegającego na kolejnych etapach oceny funkcji całego genomu człowieka oraz myszy. Badania obejmują profil metylacji cząsteczek DNA, ekspresji genów, a następnie końcowy efekt pracy genów w postaci produkcji białek przez komórkę.

Jeżeli weryfikacja hipotez badawczych zakończy się powodzeniem, można oczekiwać, że badania dostarczą ważnych informacji o genetycznych i środowiskowych czynnikach ryzyka powikłań u wcześniaków.

Jacek J. Pietrzyk
dyrektor Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii UJ CM, kierownik Katedry Pediatrii UJ CM

Nowatorski projekt badawczy NEOMICS – poświęcony powikłaniom wcześniactwa, realizowany jest przez Katedrę Pediatrii UJ CM w ramach Norweskiego Mechanizmu Finansowego; numer umowy Pol/Nor/196065/54/2013