

# Nemoci dětí Radvanic a Bartovic výsledků výzkumů

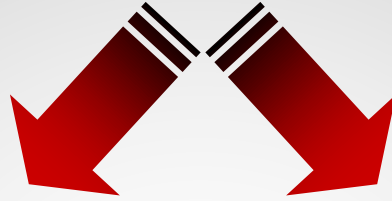
M. Dostál, E. Schallerová, R.J. Šrám

A. Pastorková, P.Rössner

Ústav experimentální medicíny v.v.i., Akademie věd ČR, Praha



# PROGRAM OSTRAVA



**1.**

**Projekt**

**AIRGEN**

**(MŽP ČR  
č. SP/1b3/8/08)**

**2.**

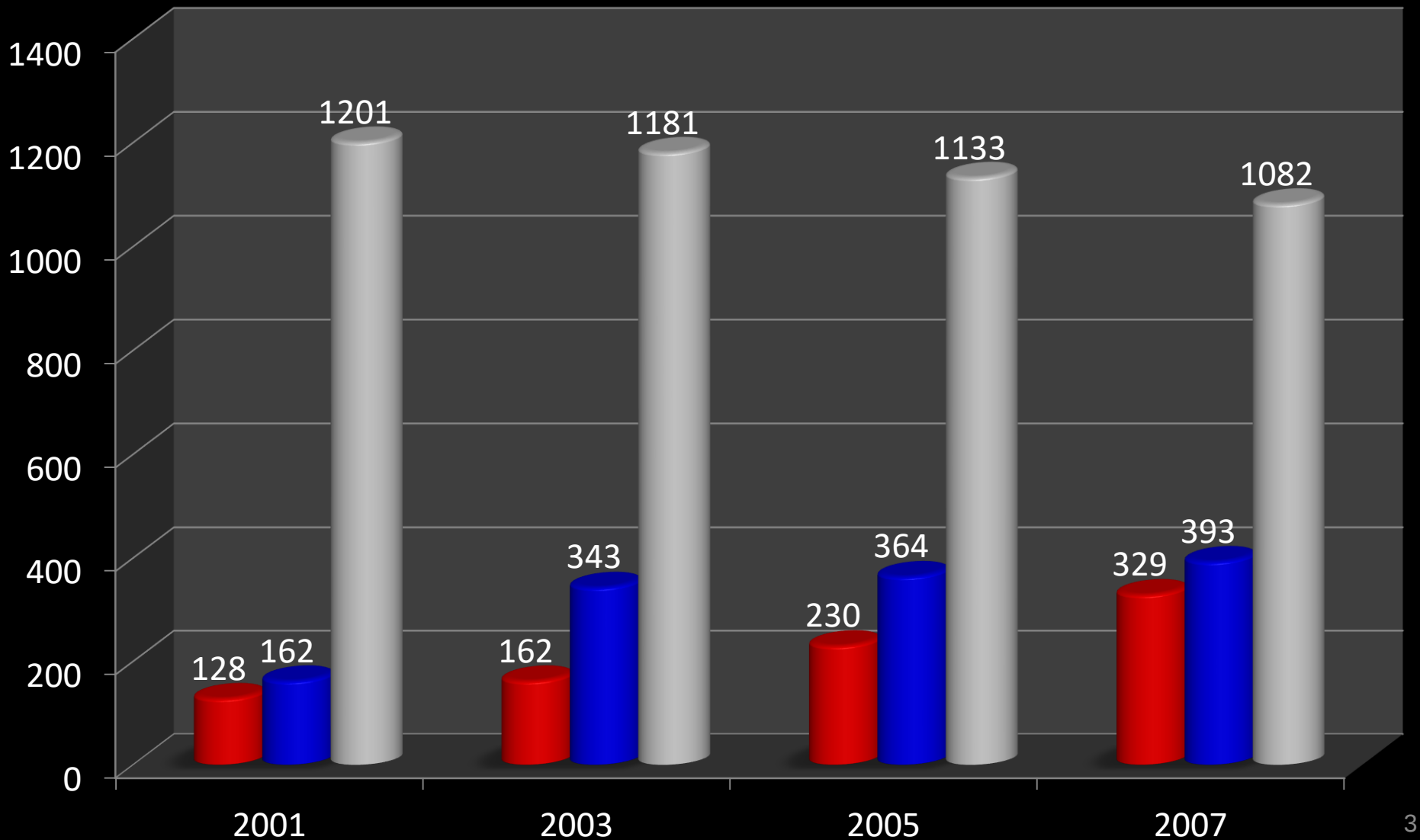
**Projekt**

**AIRTOX**

**(MŠMT ČR  
č. 2B08005)**

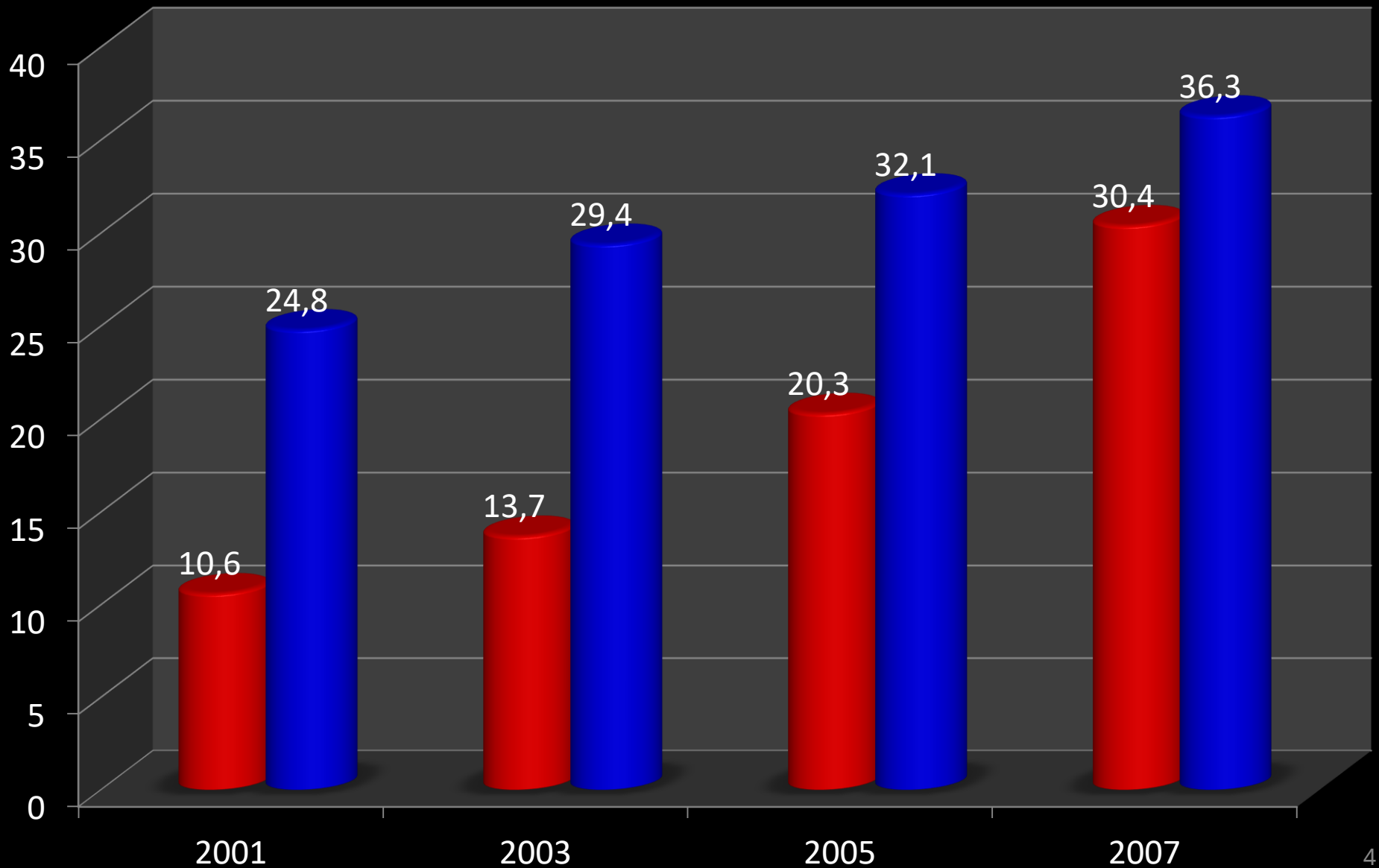
# Statistiky astmatu a alergií v RaB 2001-2007

■ Asthma ■ Alergie ■ Registrovaní



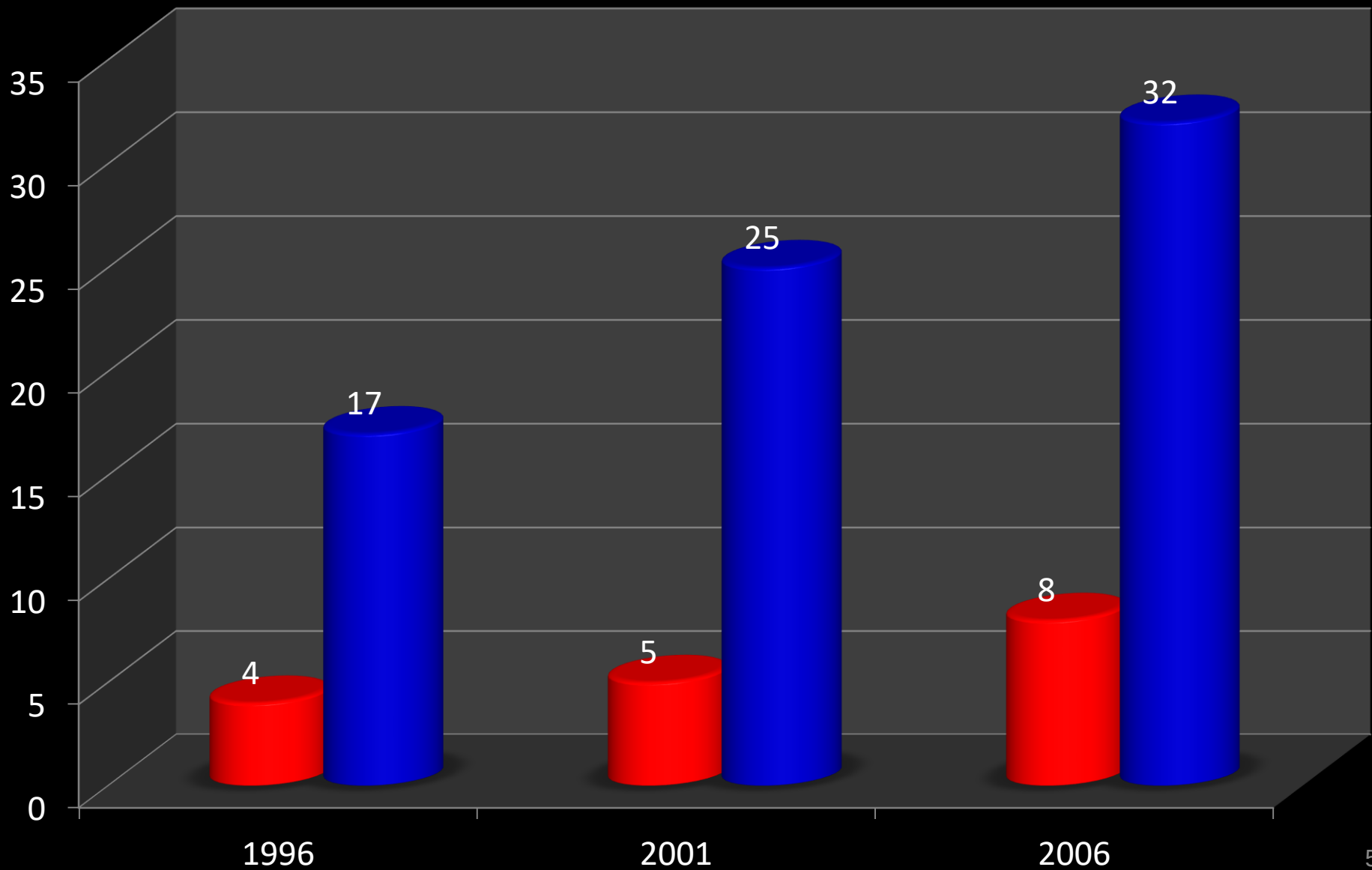
# Děti s astmatem a alergiemi v % v RaB

■ Asthma ■ Alergie

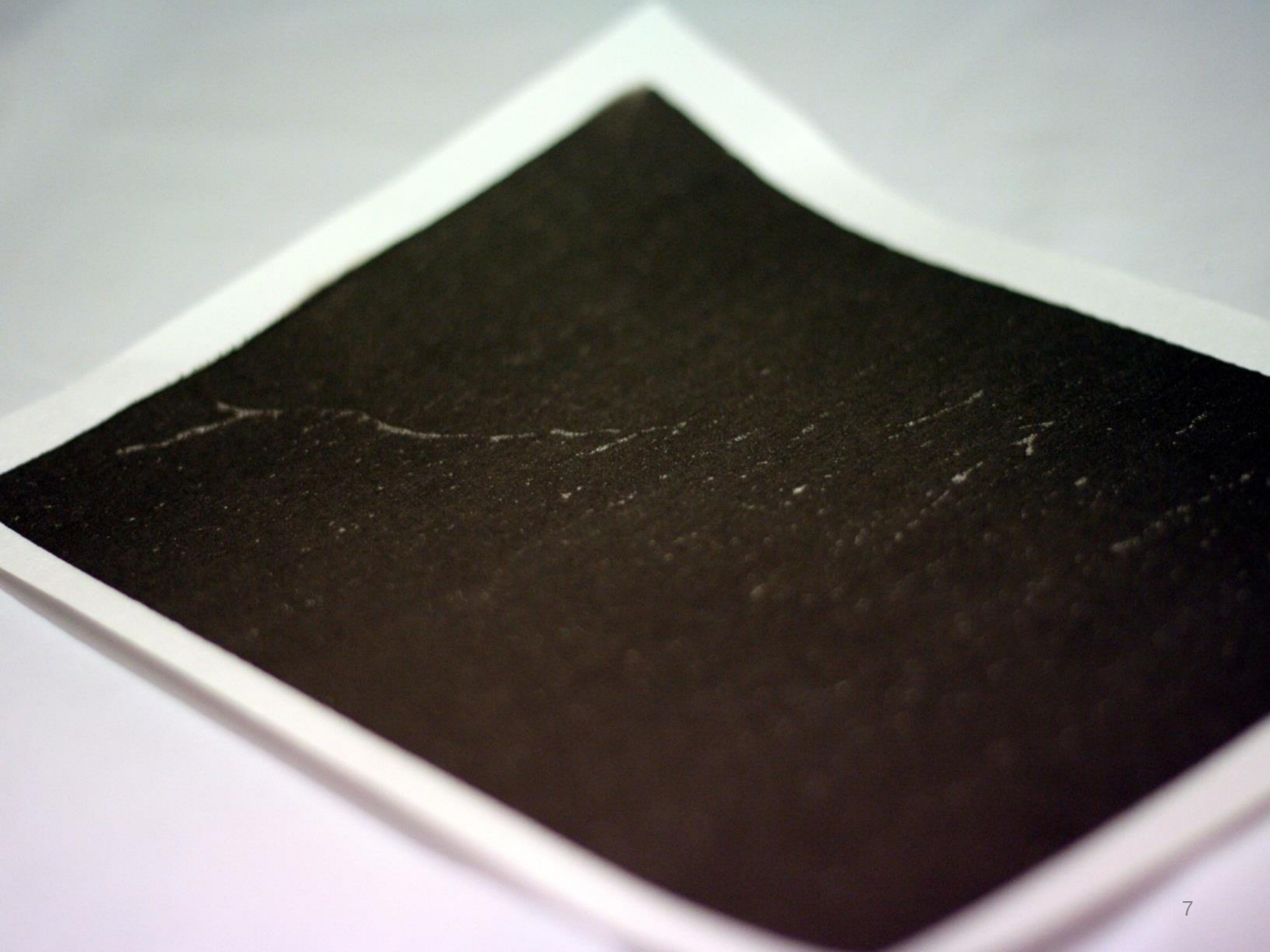


# Děti s astmatem a alergiemi v % v ČR

■ Asthma ■ Alergie

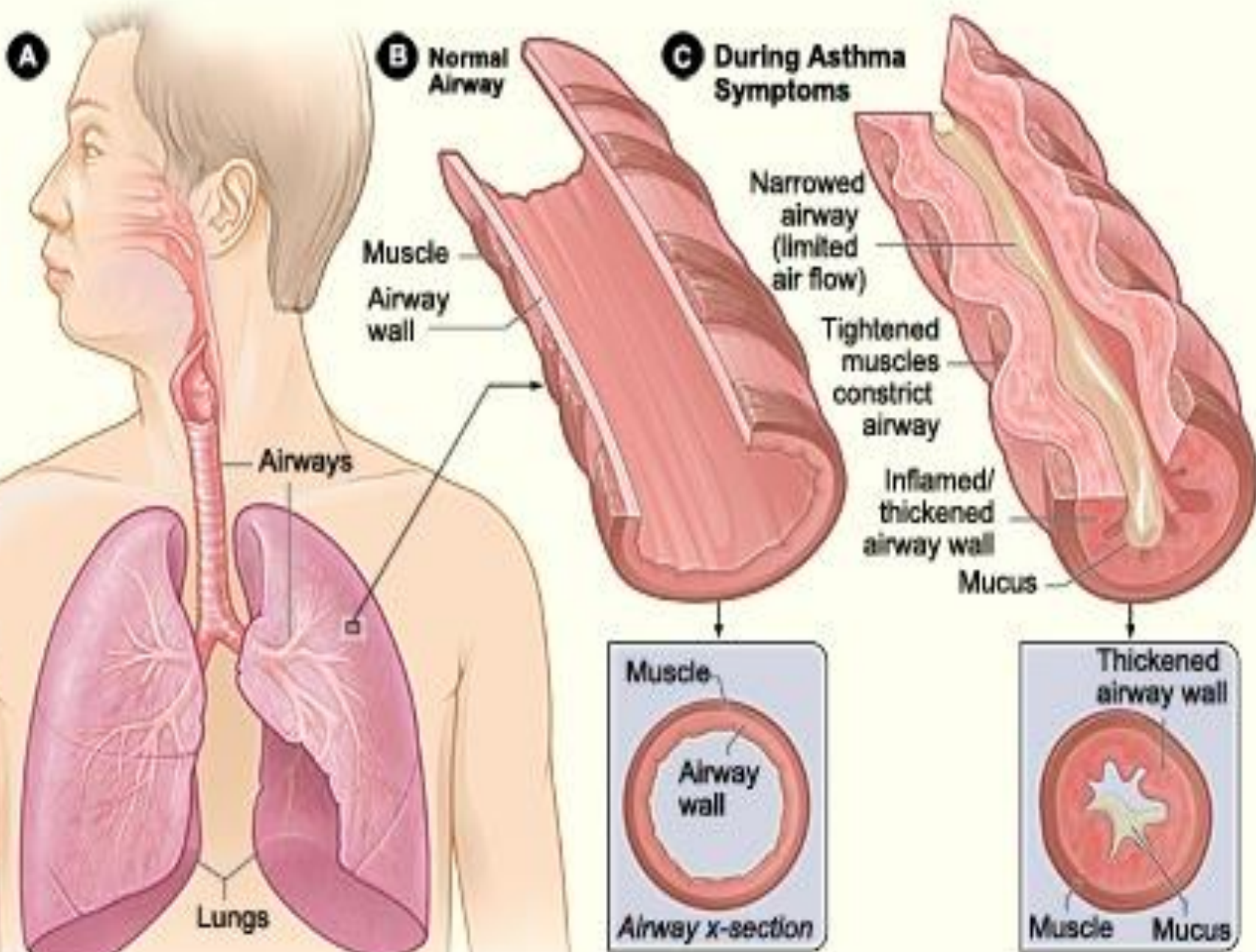






# Astma je chronický zánět dýchacích cest

- zánět je vyvolán **alergenem** nebo **iritantem**
- zánět sliznice zvyšuje tloušťku stěny průdušek a zužuje tak jejich průsvit
- nadměrné množství viskózního hlenu ucpává menší průdušky
- bílé krvinky pronikají do sliznice a poškozují buňky
- odumřelé buňky „odpadají“ dovnitř průdušek a přispívají k zúžení průsvitu
- **akutní záchvat** – stažení svaloviny ve stěně průdušky



# Rizikové faktory AB u dětí

přítomnost alergických onemocnění

rodinný výskyt astmatu nebo alergií

časté infekce dýchacích cest (2-5 let)

znečištěné ovzduší (i v těhotenství)

expozice tabákovému kouři (i v těhotenství)

pohlaví - chlapci mají AB častěji než děvčata

nízká porodní váha

# V roce 2008 – první část výzkumu u dětí

## RaB versus Prachatice

Vzorky moče, slin a krve, lékařské údaje, kožní testy

100 dětí s lékařem stanovenou diagnózou AB

100 kontrolních dětí

Věk – 6 až 15 let.

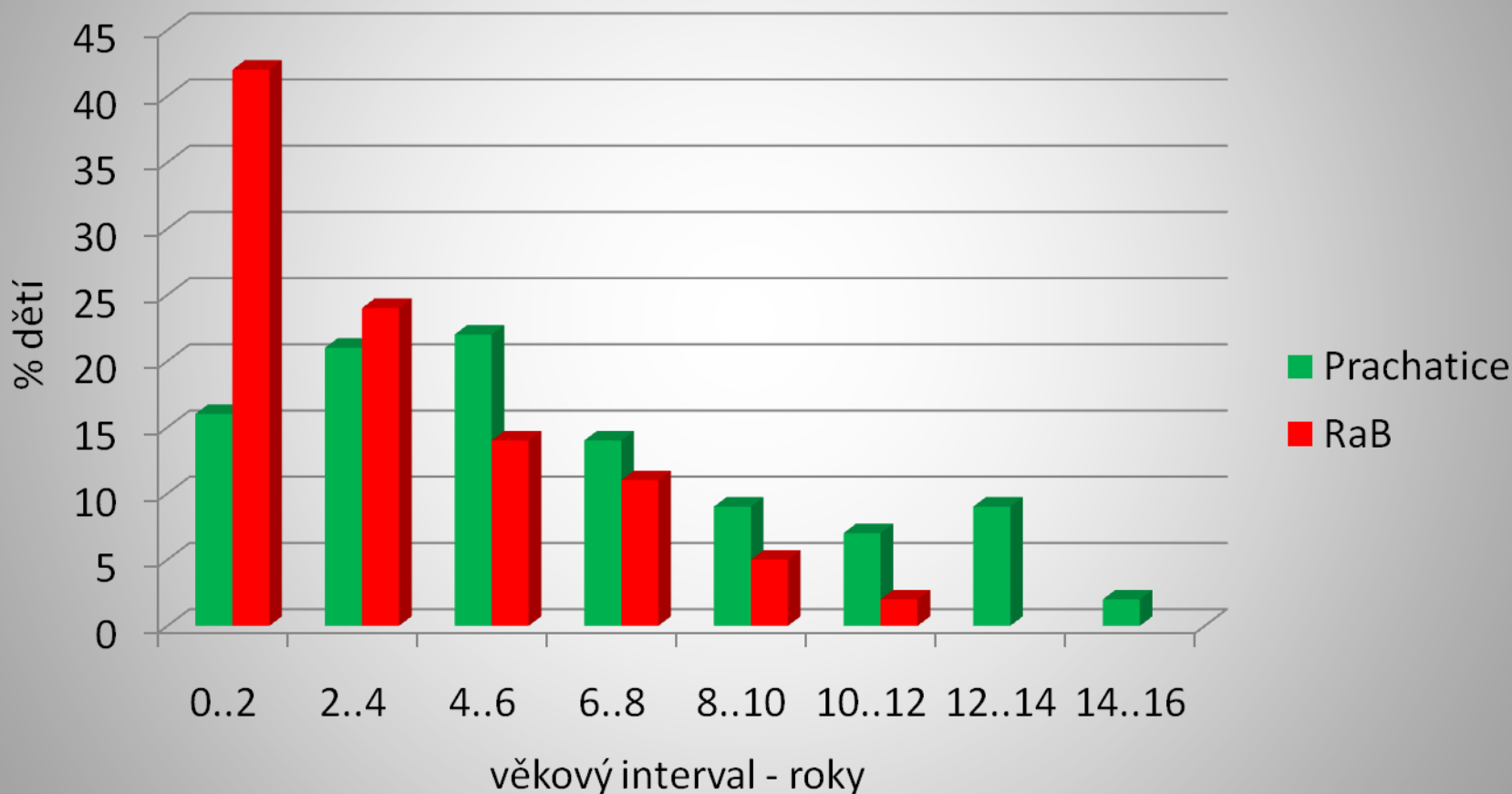
**Ostrava** – Radvanice a Bartovice – 1 dětské středisko

**Okres Prachatice** – 5 dětských středisek

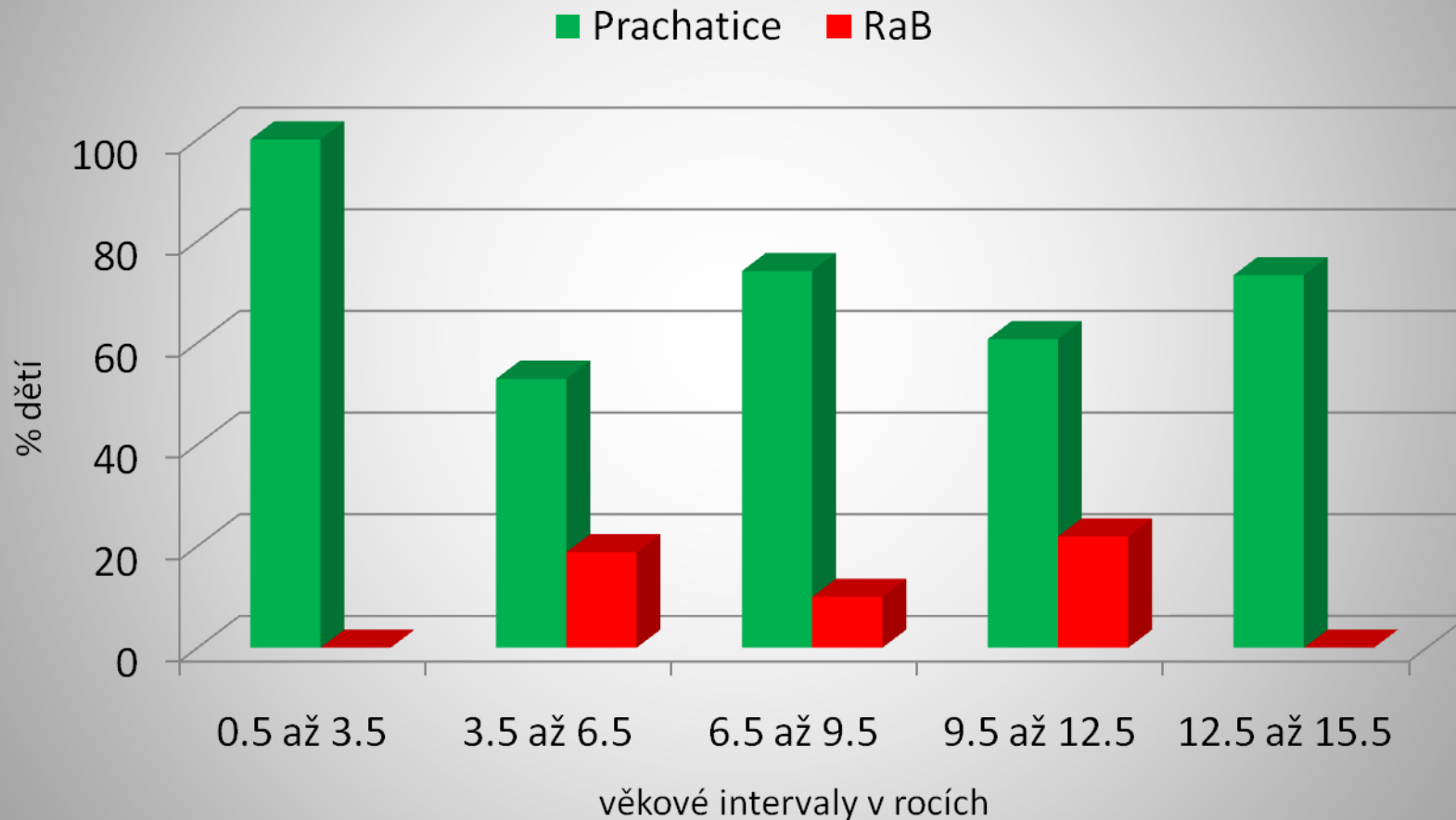
Netolice, Lhenice, Prachatice, Vlachovo Březí, Vimperk

# První příznaky bronchiálního astmatu podle věku.

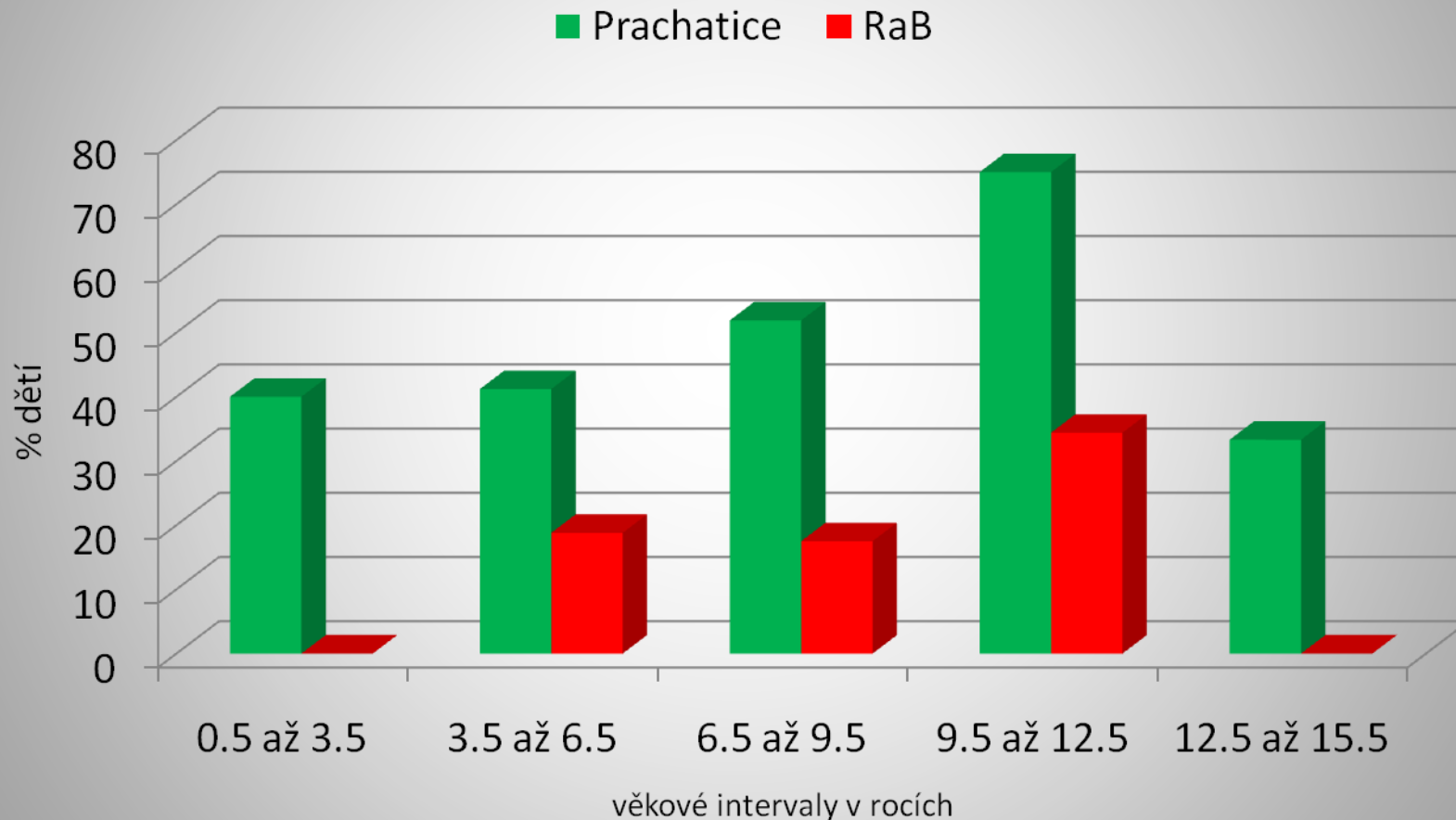
Prachatice N=100, Ostrava N=99



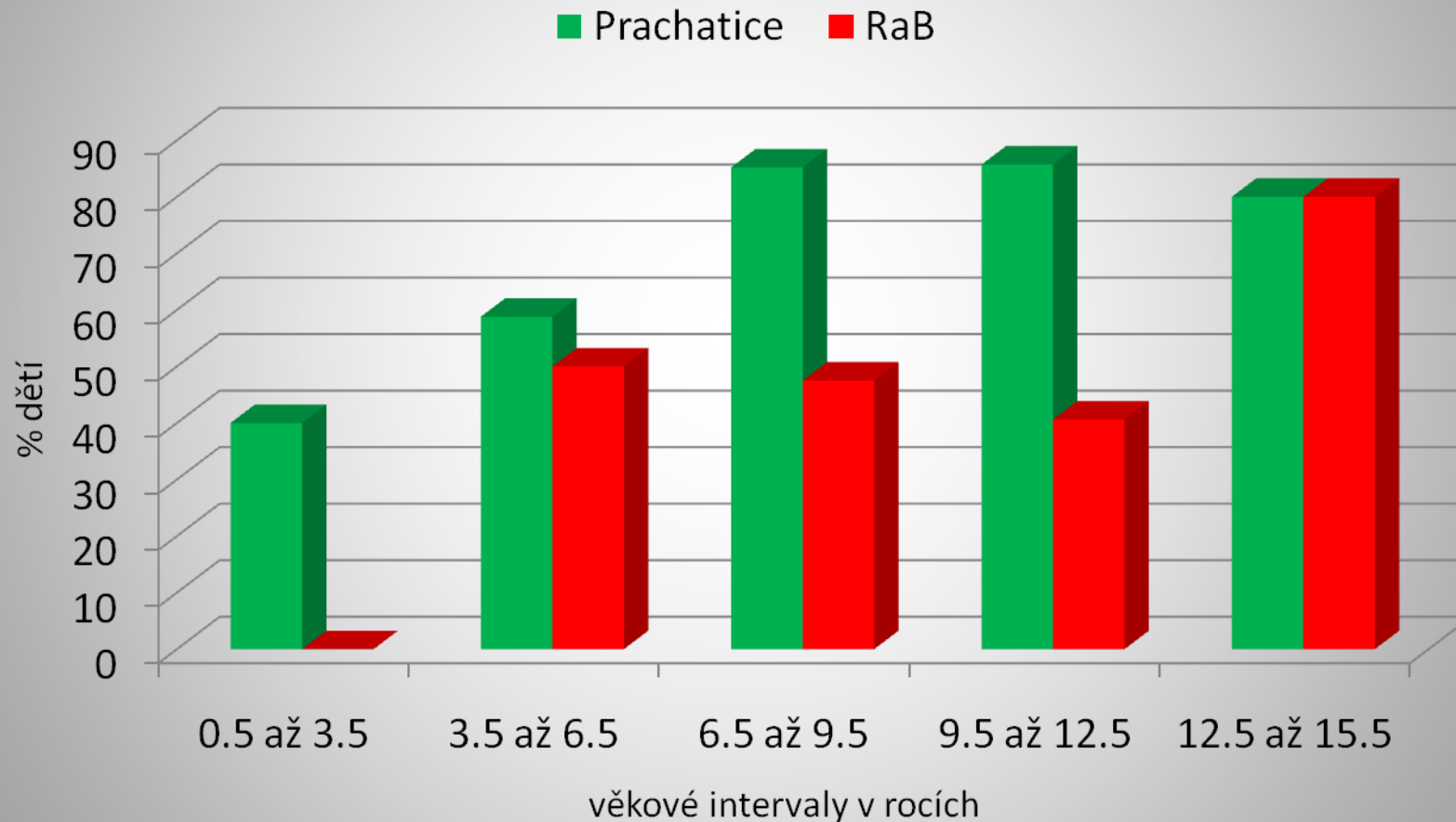
# Kožní testy – plísně, peří, kočka, pes



# Kožní testy – roztoči a prach

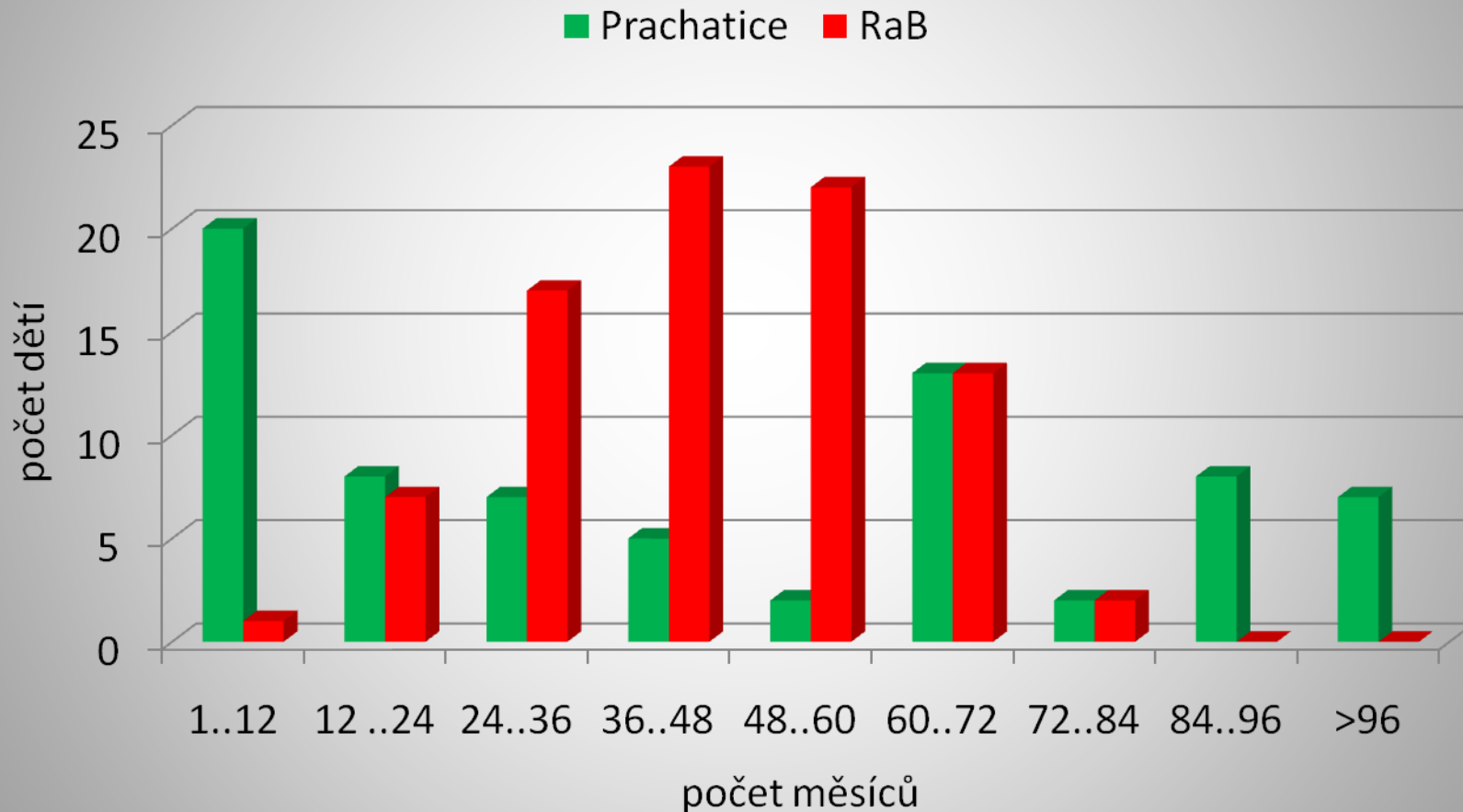


# Kožní testy – pyly trav, bylin a stromů



# Léčba dětí s asthma bronchiale – délka podávání kortikoidů v měsících.

Prachatice N=70 (z 99), Ostrava N=85 (ze 100).



# Ostrava versus Prachatice

*dotazníkové údaje při odběru biologických vzorků*

|                                                | <u>počet dětí</u> |             |
|------------------------------------------------|-------------------|-------------|
| • časté <b>respirační</b> inf. ve věku 2-5 let | <b>98</b>         | <b>32</b>   |
| • aktivní <b>AB</b> v minulých 12ti měs.       | <b>75</b>         | <b>40</b>   |
| • AB častěji v kombinaci s AE či s AR          | <b>80</b>         | <b>44</b>   |
| • časnější výskyt AB                           | <b>3,4 r.</b>     | <b>6 r.</b> |

# Ostrava versus Prachatice

*dotazníkové údaje při odběru biologických vzorků*

|                                                      |     | <u>% dětí</u> |
|------------------------------------------------------|-----|---------------|
| • rodinný výskyt - sourozenec                        | 60% | 26%           |
| • rodinný výskyt - matka                             | 48% | 10%           |
| • rodinný výskyt - otec                              | 9%  | 3%            |
| • v Ostravě méně častá přítomnost atopie             |     |               |
| • v Ostravě těžší průběh – delší podávání kortikoidů |     |               |

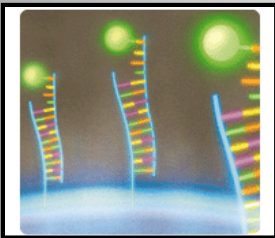
# ANALÝZA GENOVÉ EXPRESE

## Princip čipové technologie

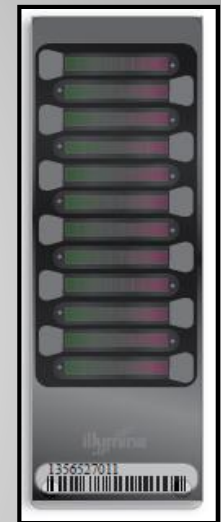


### Human HT-12 v3 Expression BeadChip

- 12 pozic pro 12 různých vzorků; detekce transkriptů téměř celého lidského
- genomu současně (48 804 prób pro stejný počet transkriptů)



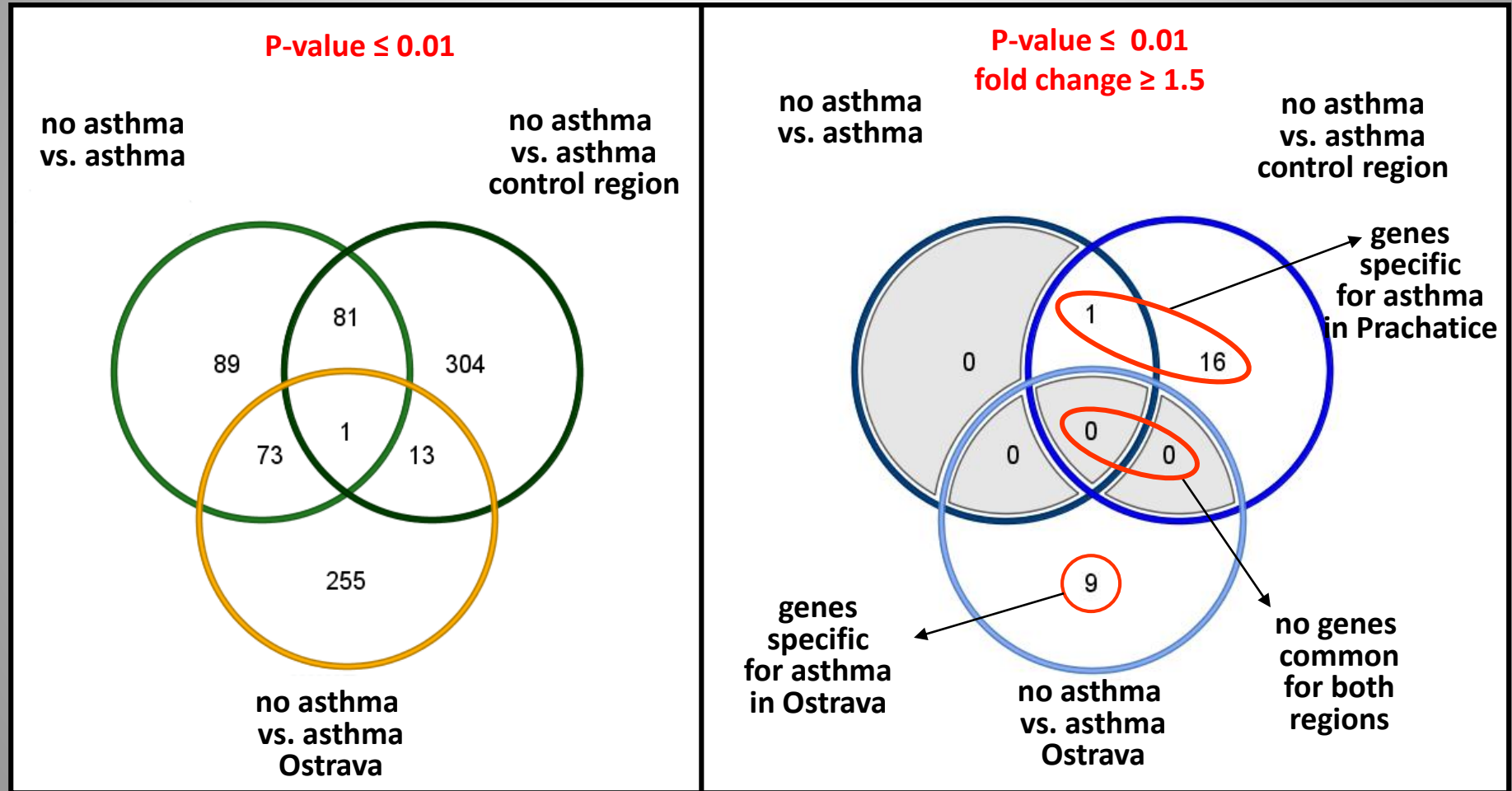
- próba = fragment DNA, představuje 1 gen
- transkripty – značení fluorescenční barvou + vazba na příslušné (komplementární) próby



- **Illumina Beadstation 500 GX**
- detekce intenzity fluorescenčního signálu jednotlivých prób
- čím větší intenzita signálu → větší počet transkriptů
- → větší aktivita genu

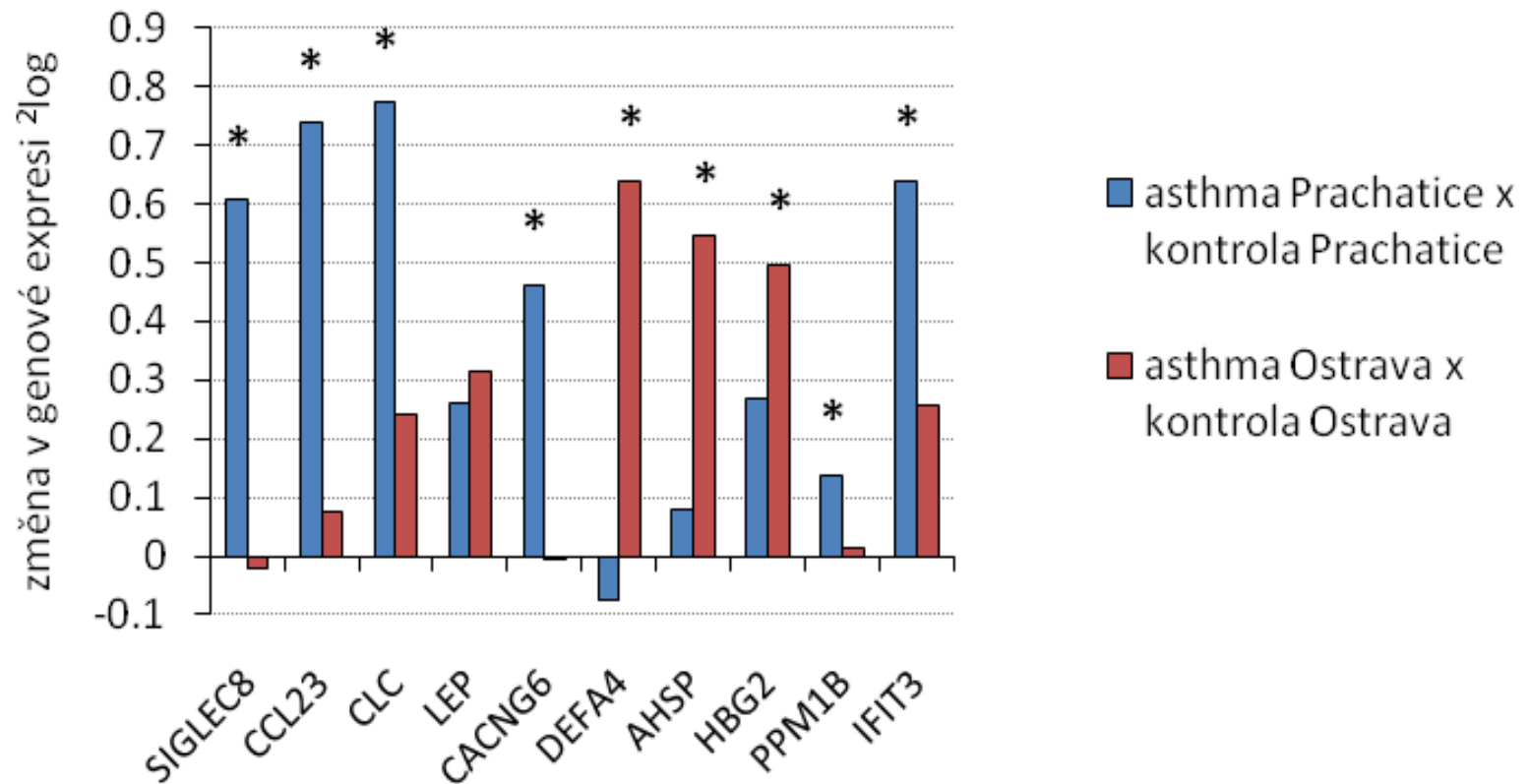
# Comparison of 'no asthma' vs. 'asthma' t-test results

In the Venn diagrams shown below, the t-test results obtained using all experiments either with a p-value cutoff of 0.01 or a p-value cutoff of 0.01 and at least a 1.5 fold change are compared



# qPCR verifikace

## Asthma Prachatice a Ostrava



# Výsledky – geny pro asthma Ostrava a pro asthma Prachatice

## ❖ Prachatice

*SIGLEC8, CCL23, CLC, CACNG6* – souvislost s přítomností eozinofilů; eozinofilní zánět se vyskytuje u alergického typu asthma

*LEP* – také souvislost s asthma

## ❖ Ostrava

*DEFA4* – souvislost s přítomností neutrofilů; neutrofilní zánět – příznak nealergického typu asthma

*AHSP* – stabilizace hemoglobinu  $\alpha$

*HBG2* – souč. fetálního hemoglobinu (obs.  $2\alpha$  a  $2\gamma$  podjednotky), vyšší afinita k  $O_2$

*IFIT3, PPM1B* – souvisí se zánětem, asthma???



# Souhrn



➡ Asthma bronchiale na Prachaticku - **alergický typ** astmatu, odpověď na alergen.

➡ Asthma bronchiale v Ostravě - **nealergický typ** astmatu, vyvolán iritanty - znečištěné ovzduší, virové infekce.

## 2. část výzkumu v letech 2009+2010

### Zdravotní stav dětí v Ostravě ve věku 0-6 let

Cíl – porovnat zdravotní stav dětí žijících v Radvanicích & Bartovicích se zdravotním stavem dětí z jiných částí Ostravy

1800 dětí narozených v letech 2001 - 2004

10 dětských středisek v různých částech Ostravy

Rozbor nemocnosti v prvních 6ti letech života

Výskyt alergických onemocnění

## 5 obvodů, 10 pediatriů, 1888 dětí narozených 2001 - 2004

|                              |            |              |                    |            |
|------------------------------|------------|--------------|--------------------|------------|
| • Mor. Ostrava A             | 226        | 98.3%        |                    |            |
| • Mor. Ostrava B             | 187        | 91.2%        | Mor. Ostrava       | 413        |
| • Hrabůvka A                 | 218        | 92.8%        |                    |            |
| • Hrabůvka B                 | 143        | <u>74.1%</u> |                    |            |
| • Hrabůvka C                 | 234        | 95.9%        | Hrabůvka           | 595        |
| • Zábřeh A                   | 163        | 96.4%        |                    |            |
| • Zábřeh B                   | 185        | 97.9%        | Zábřeh             | 348        |
| • Poruba A                   | 152        | 92.7%        |                    |            |
| • Poruba B                   | 161        | <u>69.7%</u> | Poruba             | 313        |
| • <b>Radvanice Bartovice</b> | <b>218</b> | <b>90.5%</b> | <b>Radv. Bart.</b> | <b>218</b> |

# Do studie bylo zařazeno 1626 dětí

Děti českého etnika, narozené a žijící v Ostravě

Děti bez vážných vrozených vad

Děti s porodní váhou vyšší než 1500 gramů

Děti bez závažných chronických onemocnění

Děti bez dlouhodobého profylaktického podávání ATB

# Kompletní výpisy nemocnosti dětí včetně hospitalizací

Pediatři poskytli výpisy z dokumentace dětí

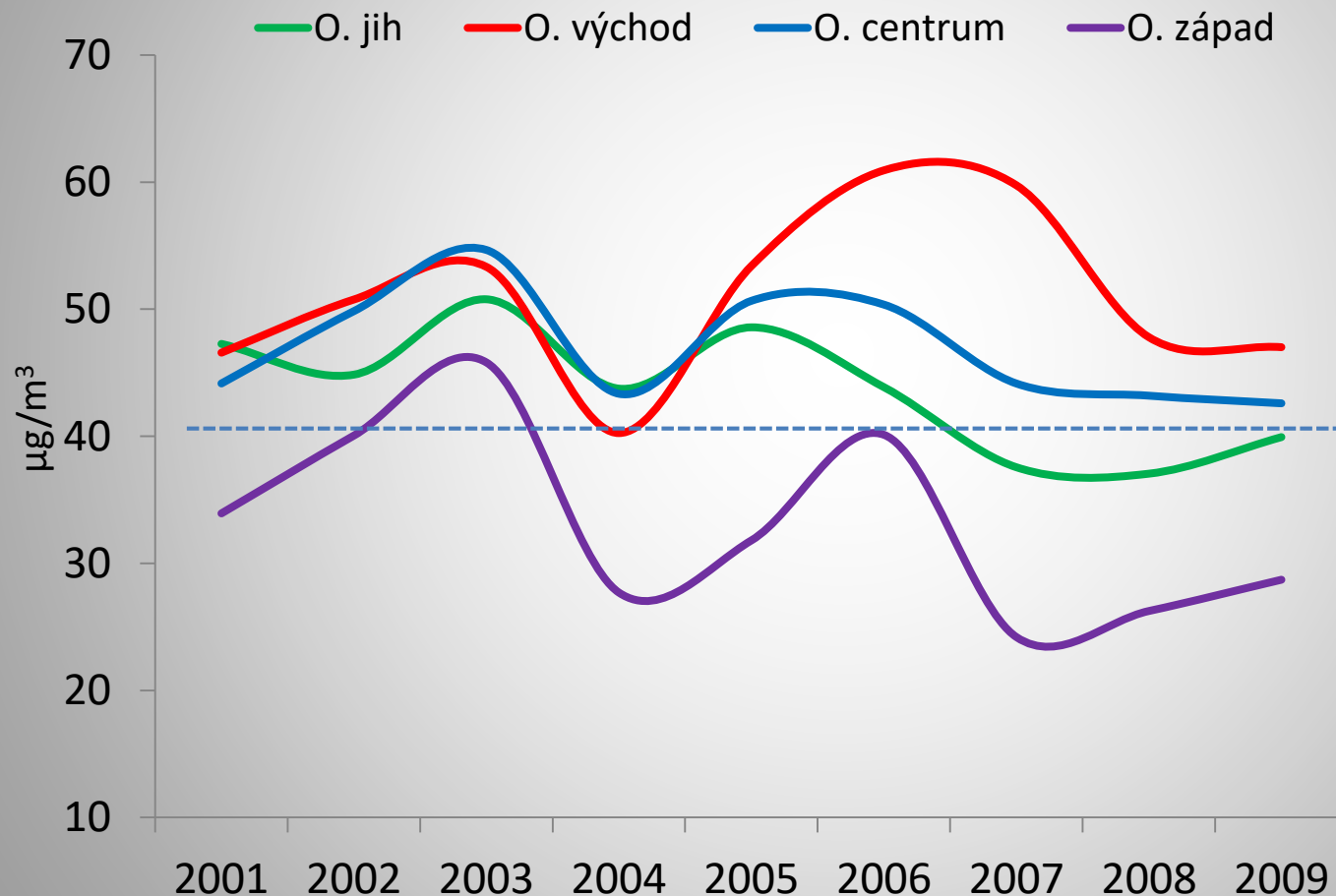
T.j. seznamy všech onemocnění od narození do 6ti let věku v kódech MKN 10.

Diagnózy byly seskupeny do širších skupin.

Alergie - dg, vyšetření alergologem, výsledky kožních testů.



# Roční průměry PM<sub>10</sub> podle adres bydliště při narození



# VÝZNAM k-PAU VE ZNEČIŠTĚNÉM OVZDUŠÍ

## RIZIKO PRO LIDSKÉ ZDRAVÍ



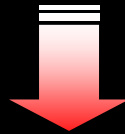
# VÝSLEDKY MOLEKULÁRNĚ EPIDEMIOLOGICKÝCH STUDIÍ

(genomová frekvence translokací-FISH, mikrojadérka, fragmentace DNA ve spermiích)

koncentrace  
**> 1 ng B[a]P/m<sup>3</sup>**  
v ovzduší

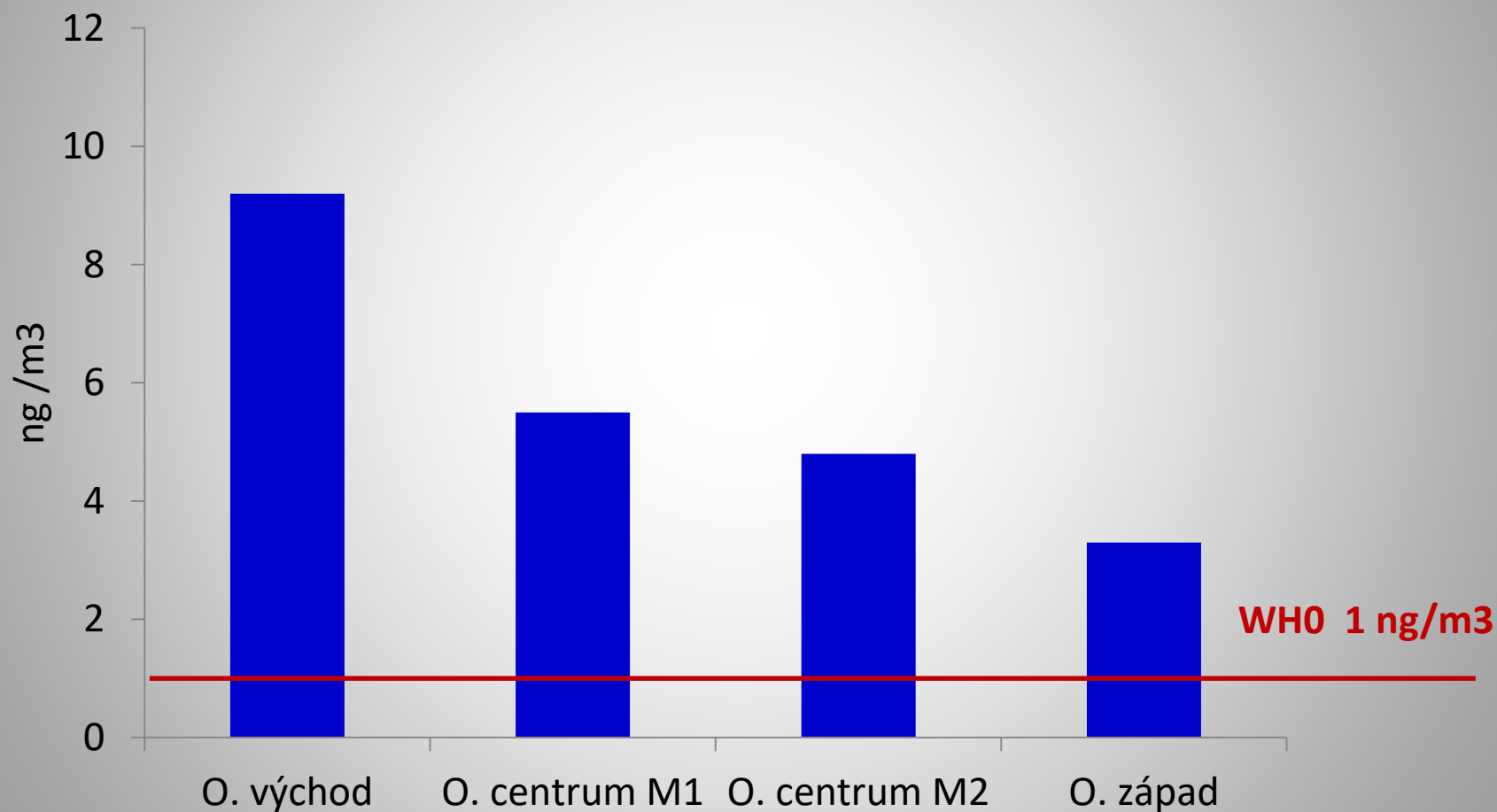


**RIZIKO PRO LIDSKÉ ZDRAVÍ**



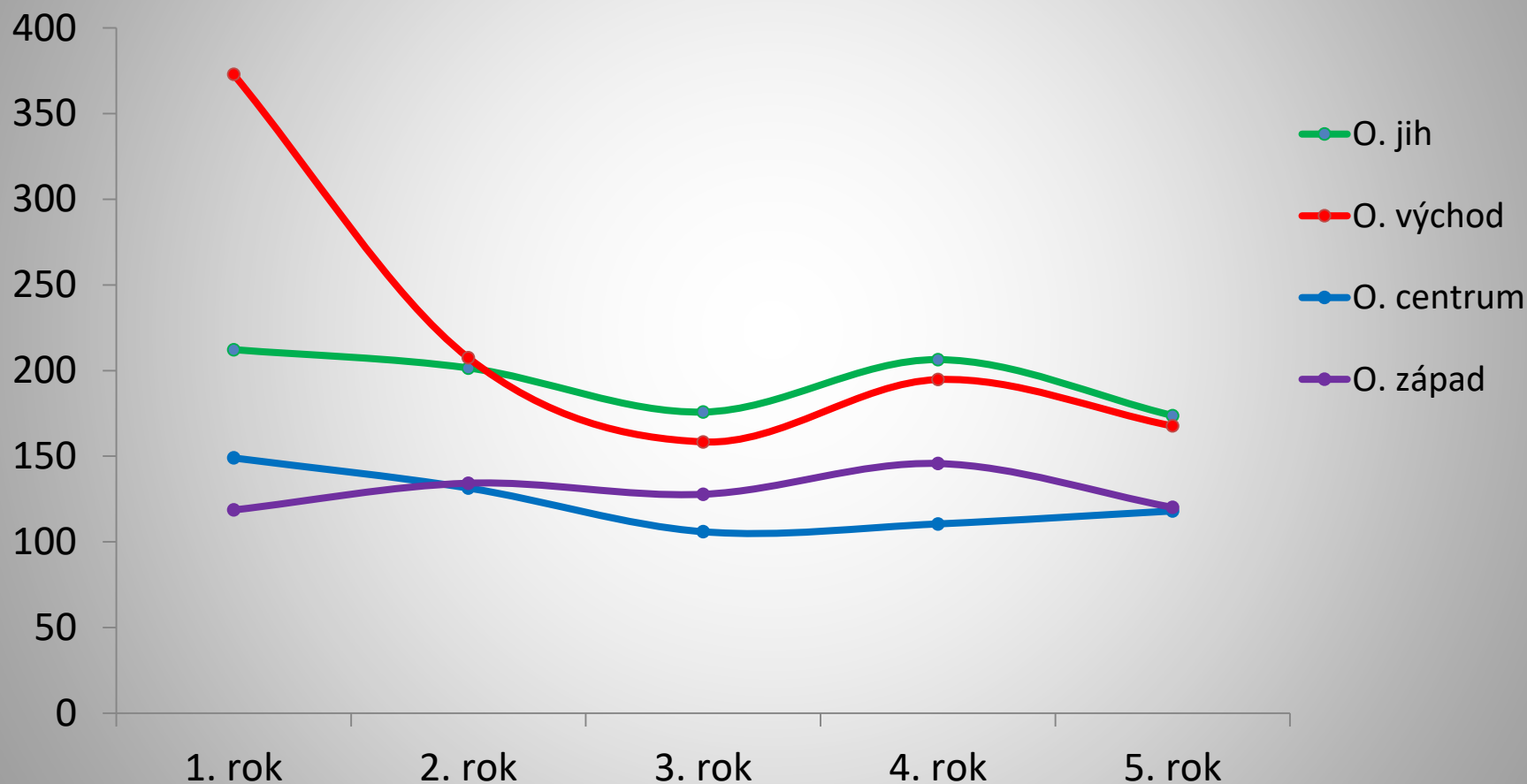
**(WHO Bonn 6. 11. 2009)**

# 2009 Roční průměry benzo[a] pyrenu



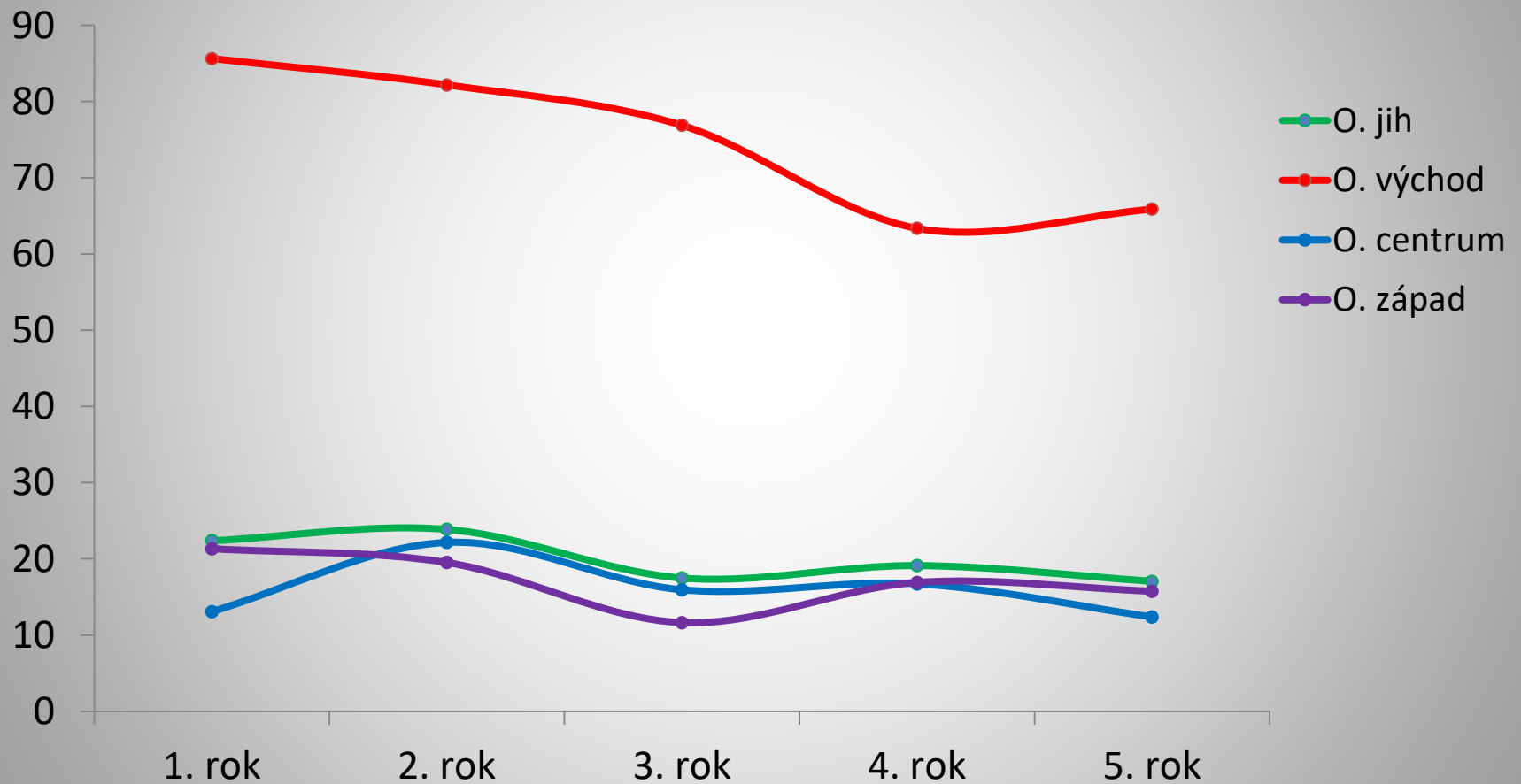
# Záněty HCD

kumulativní incidence/100 dětí/rok



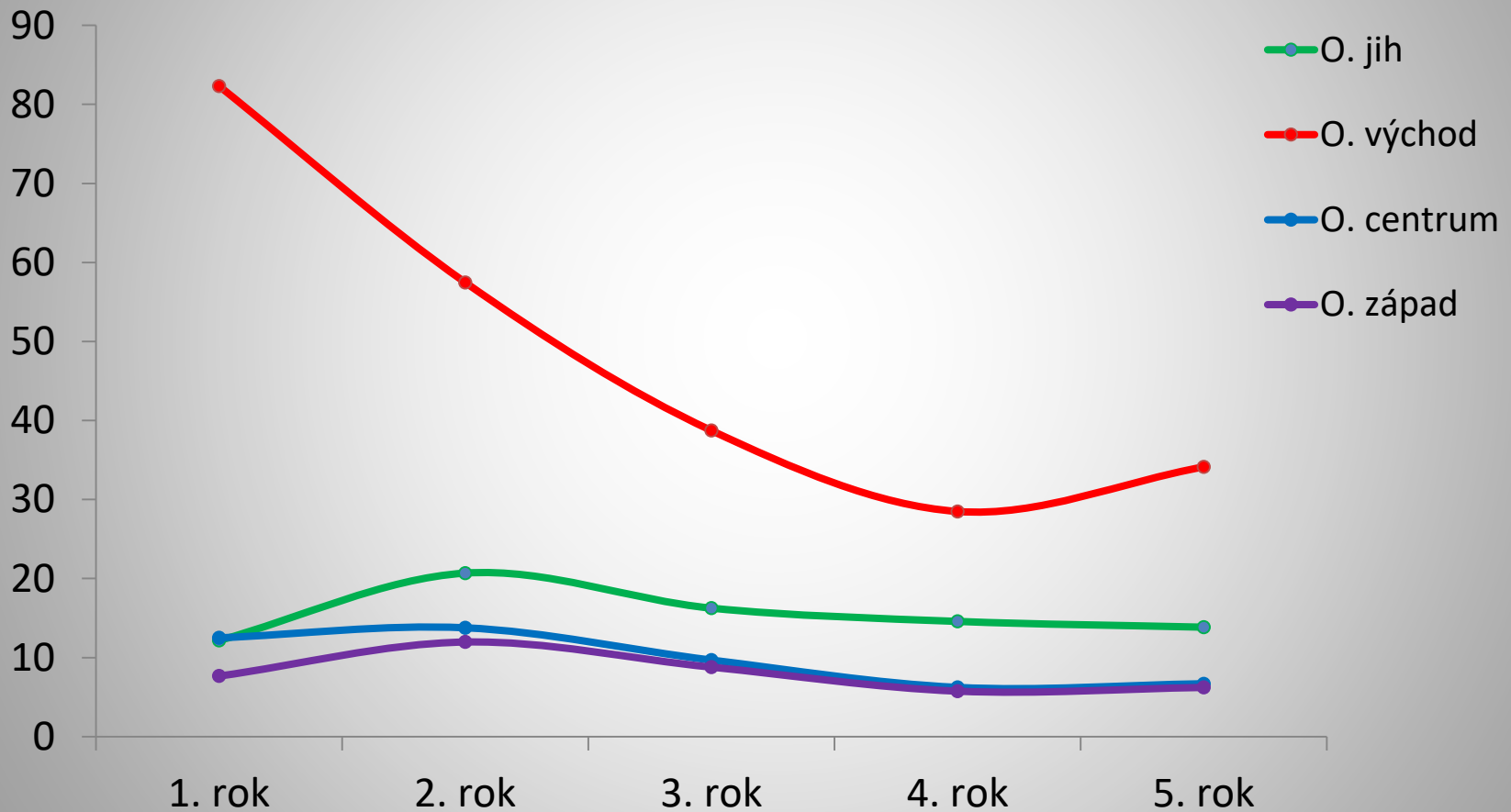
# Viróza

kumulativní incidence/100 dětí/rok



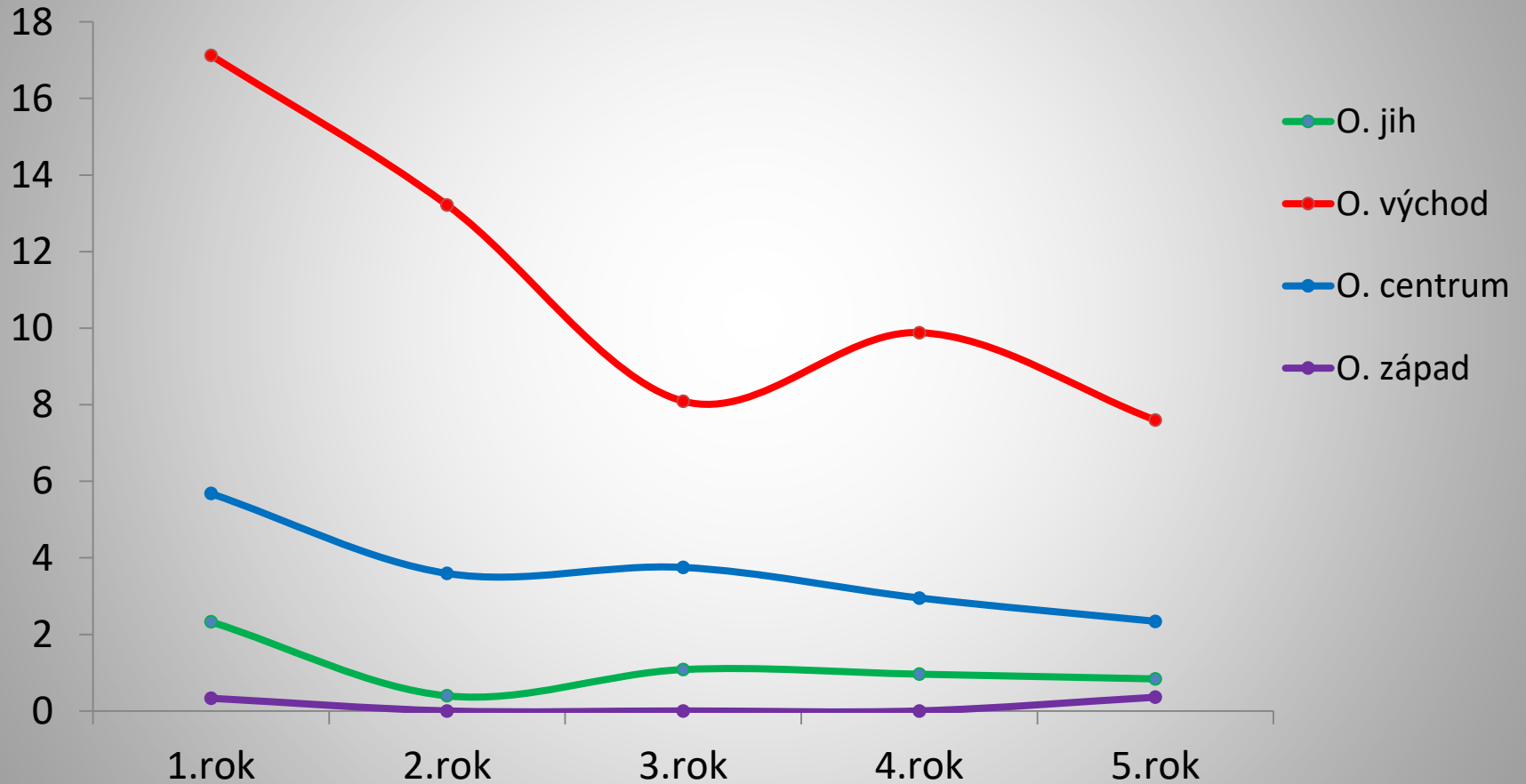
# Střevní onemocnění

incidence/100 dětí/rok



# Pneumonie

kumulativní incidence/100 dětí/rok



# Závěry 1

**Profil respirační nemocnosti dětí předškolního věku žijících v oblasti *Ostrava východ*:**

- vysoká incidence zánětů HCD v 1. roce života
- vysoká incidence angín
- vysoká incidence pneumonií
- vysoká prevalence lékařem/alergologem diagnostikovaného bronchiálního astmatu

# **Závěry 2**

## **Další onemocnění**

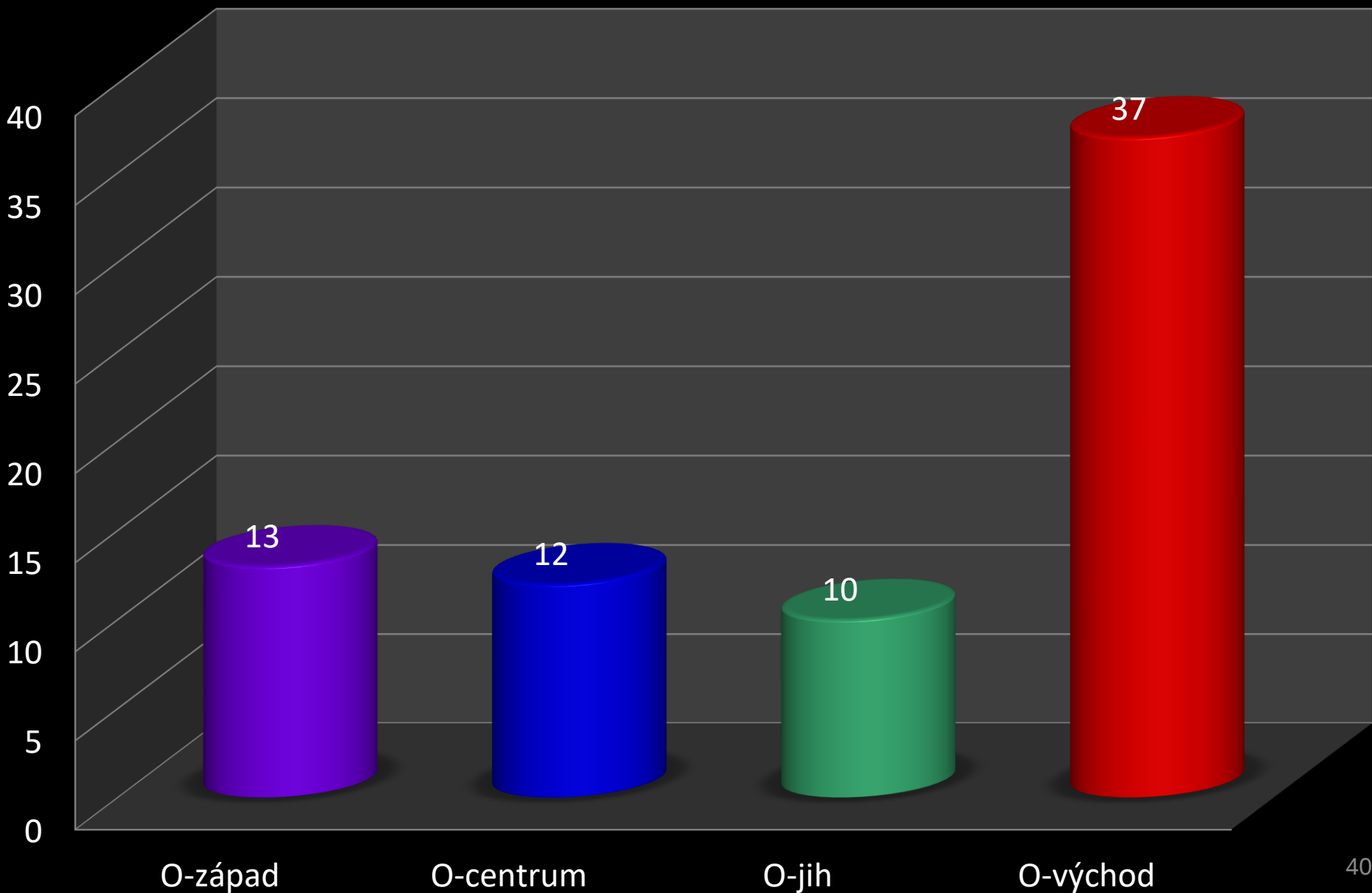
- **vyšoká incidence střevních infekcí**
- **vyšoká incidence viróz**
- vyšoká prevalence atopického ekzému
- vyšoká prevalence alergické rýmy

# Z pediatrických dotazníků

## diagnóza pediatr/alergolog

|            | N   | AB  | AR  | AE  | AB+AR | AB+AE |
|------------|-----|-----|-----|-----|-------|-------|
| O. východ  | 170 | 37% | 24% | 35% | 21%   | 29%   |
| O. jih     | 711 | 10% | 9%  | 15% | 4%    | 6%    |
| O. centrum | 301 | 12% | 10% | 15% | 4%    | 3%    |
| O. západ   | 275 | 13% | 9%  | 17% | 3%    | 5%    |

# AB – astma v % O- 6 let věku



# Dotazník pro matky

kojení

školka

sourozenci

alergická onemocnění

příznaky onemocnění

mazlíčci

obyvatelé bytu

kouření

bydlení

typ bytu

vytápění

plynový spotřebič

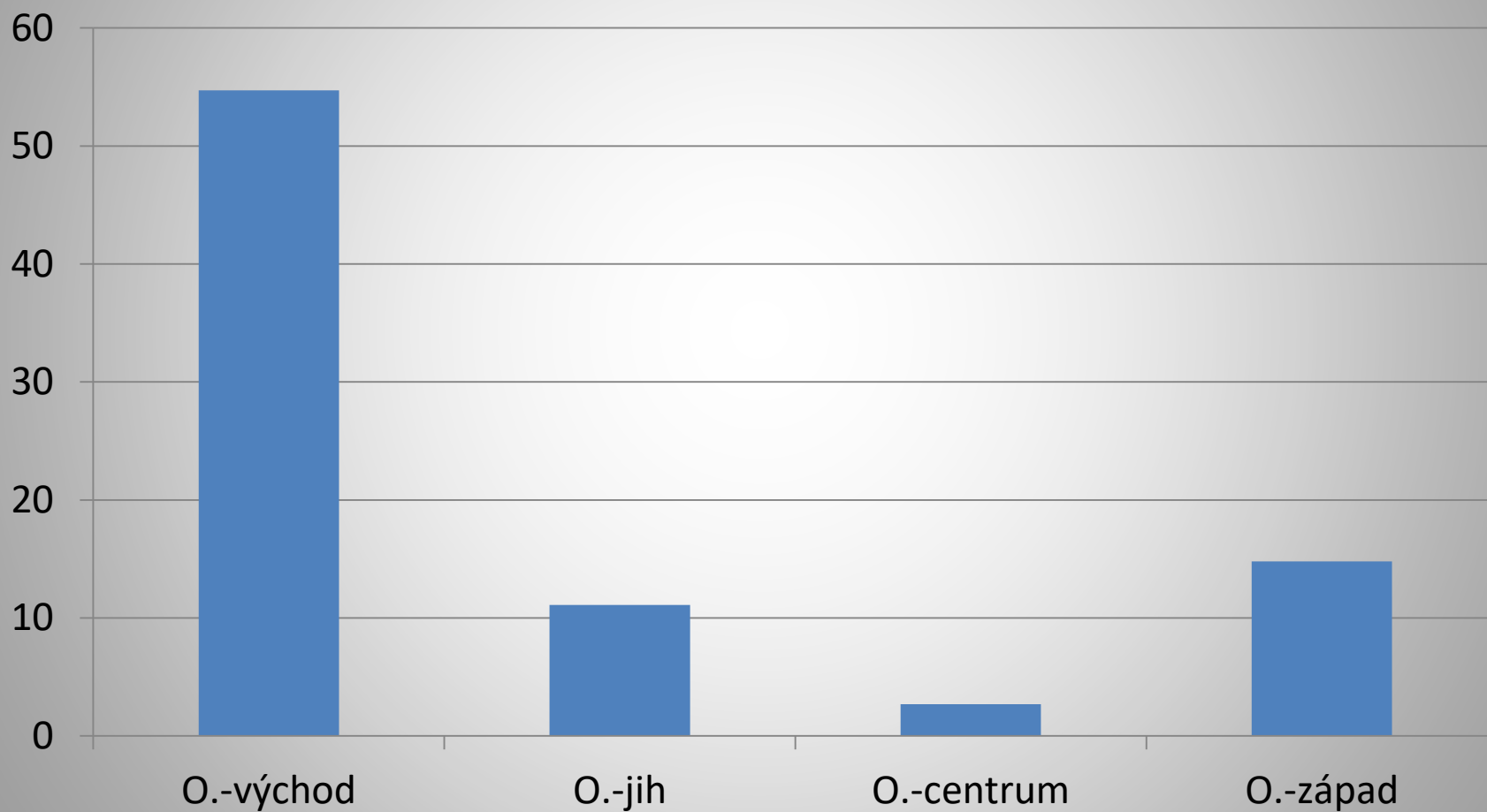
vaření

vhkost

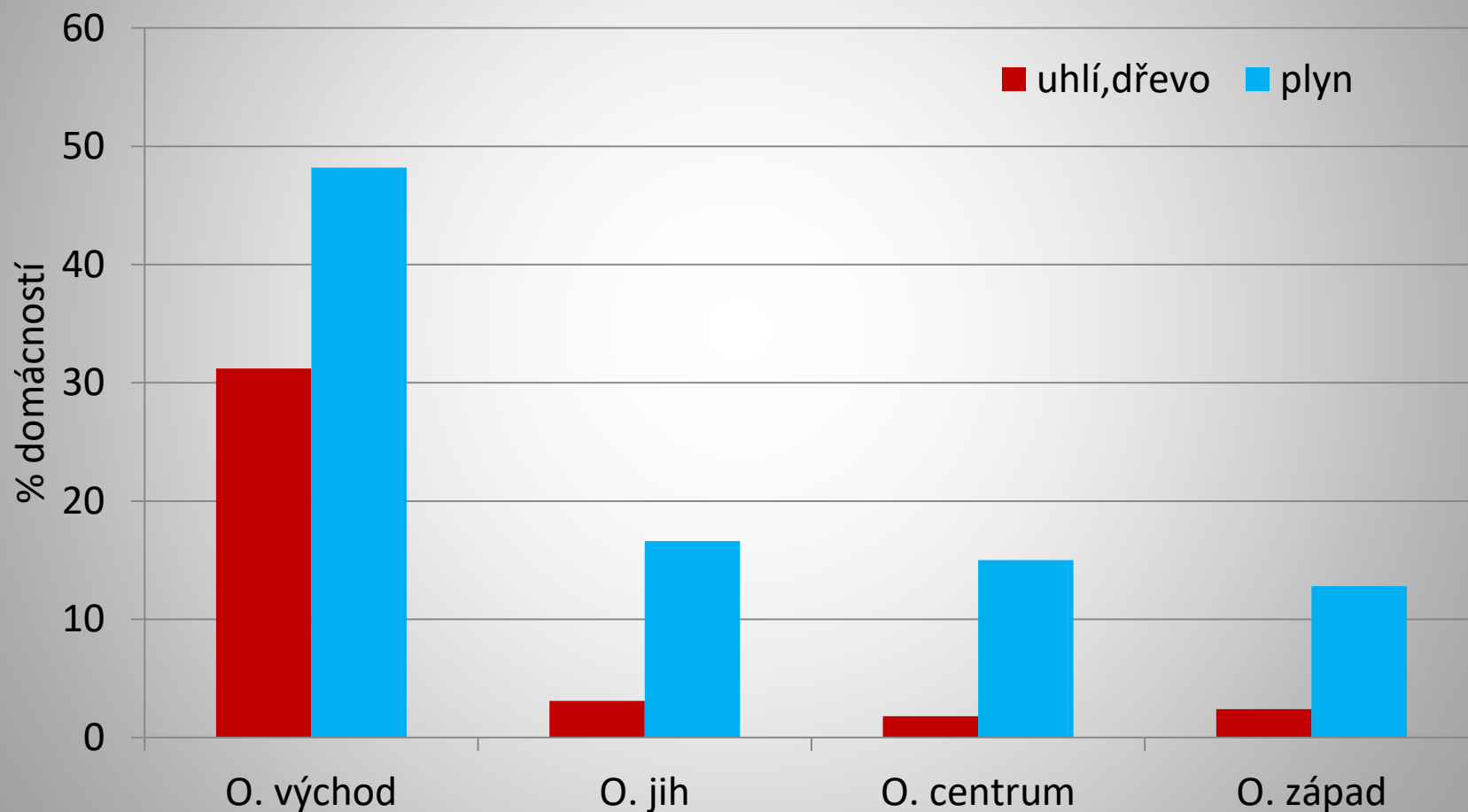
plíseň

# % rodin žijících v rodinném domku

## 1. rok života

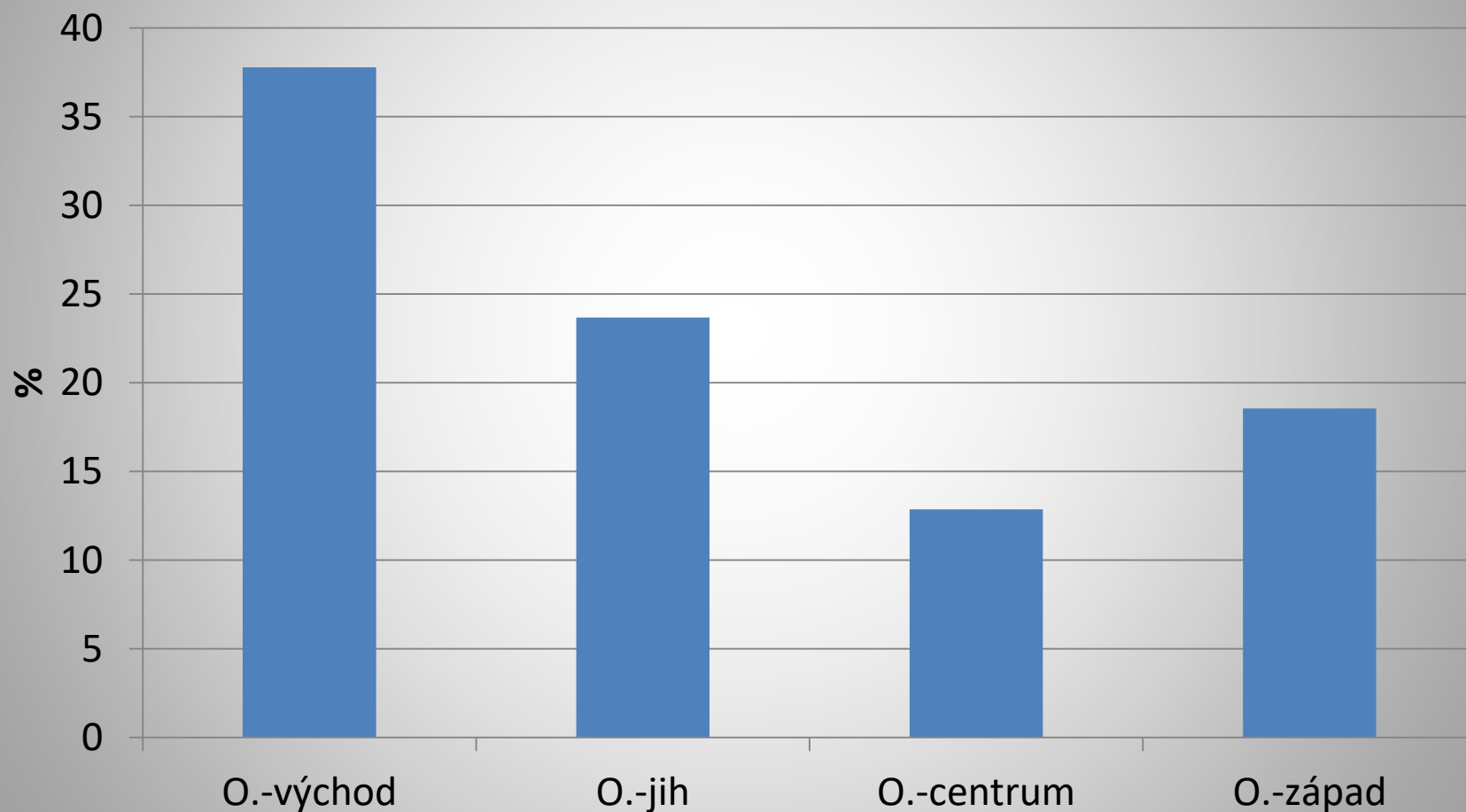


# Vytápění bytu/domu v 1. roce života

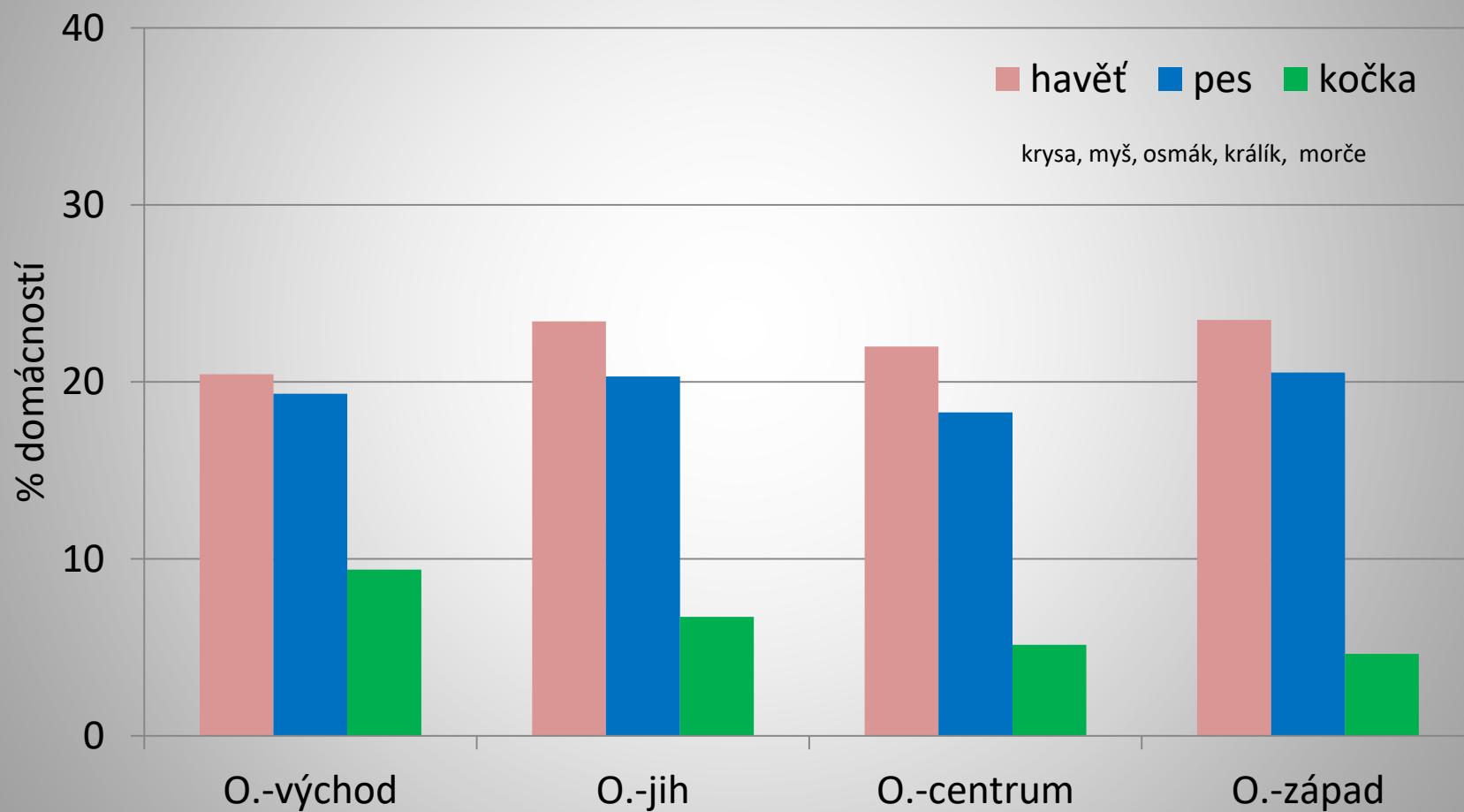


# Výskyt plísně v bytě

1. až 5. rok života, % domácností

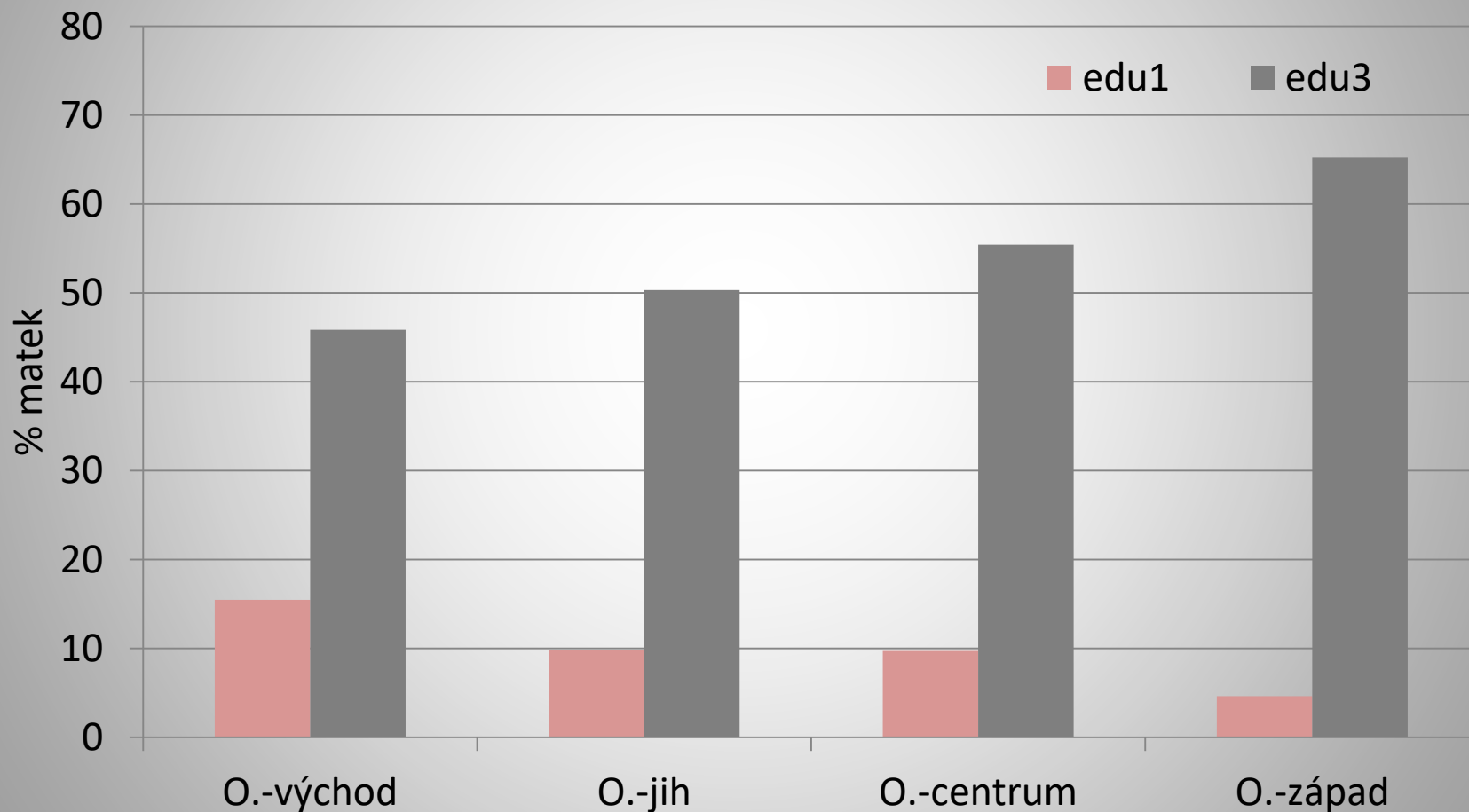


# Domácí mazlíčci

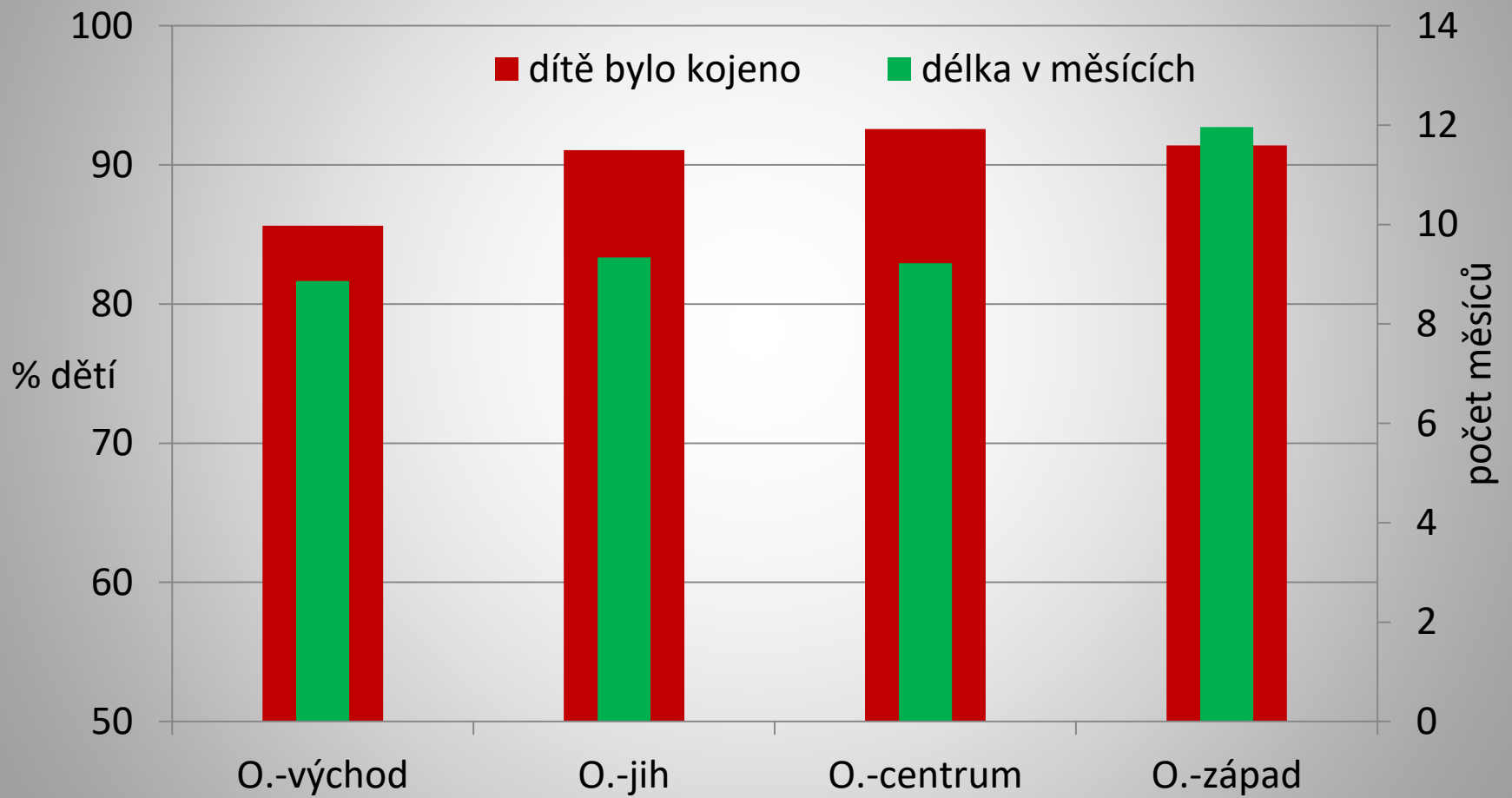


# Vzdělání matek

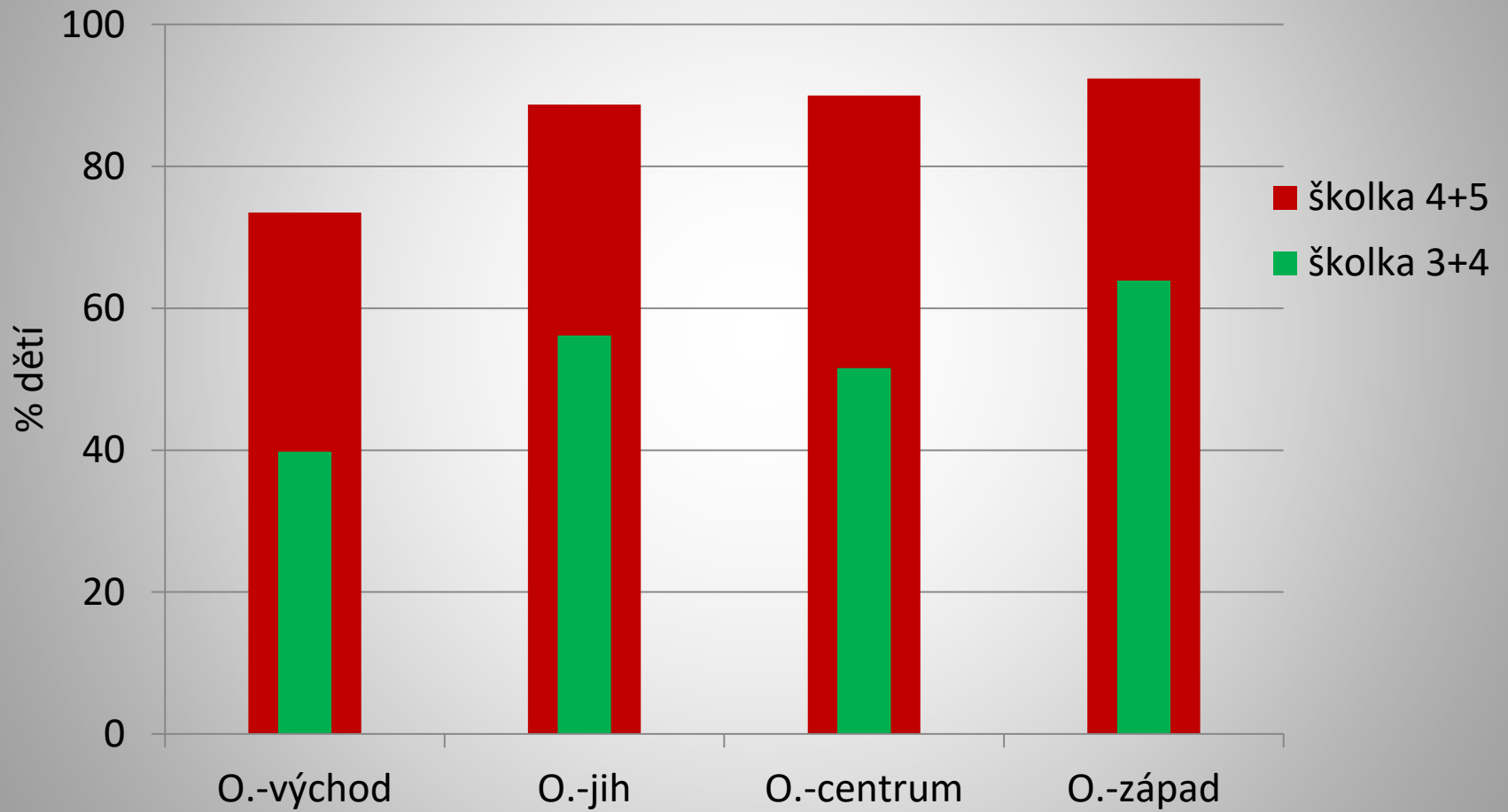
edu1 – neukončené/základní, edu3 – maturita/studující/VŠ



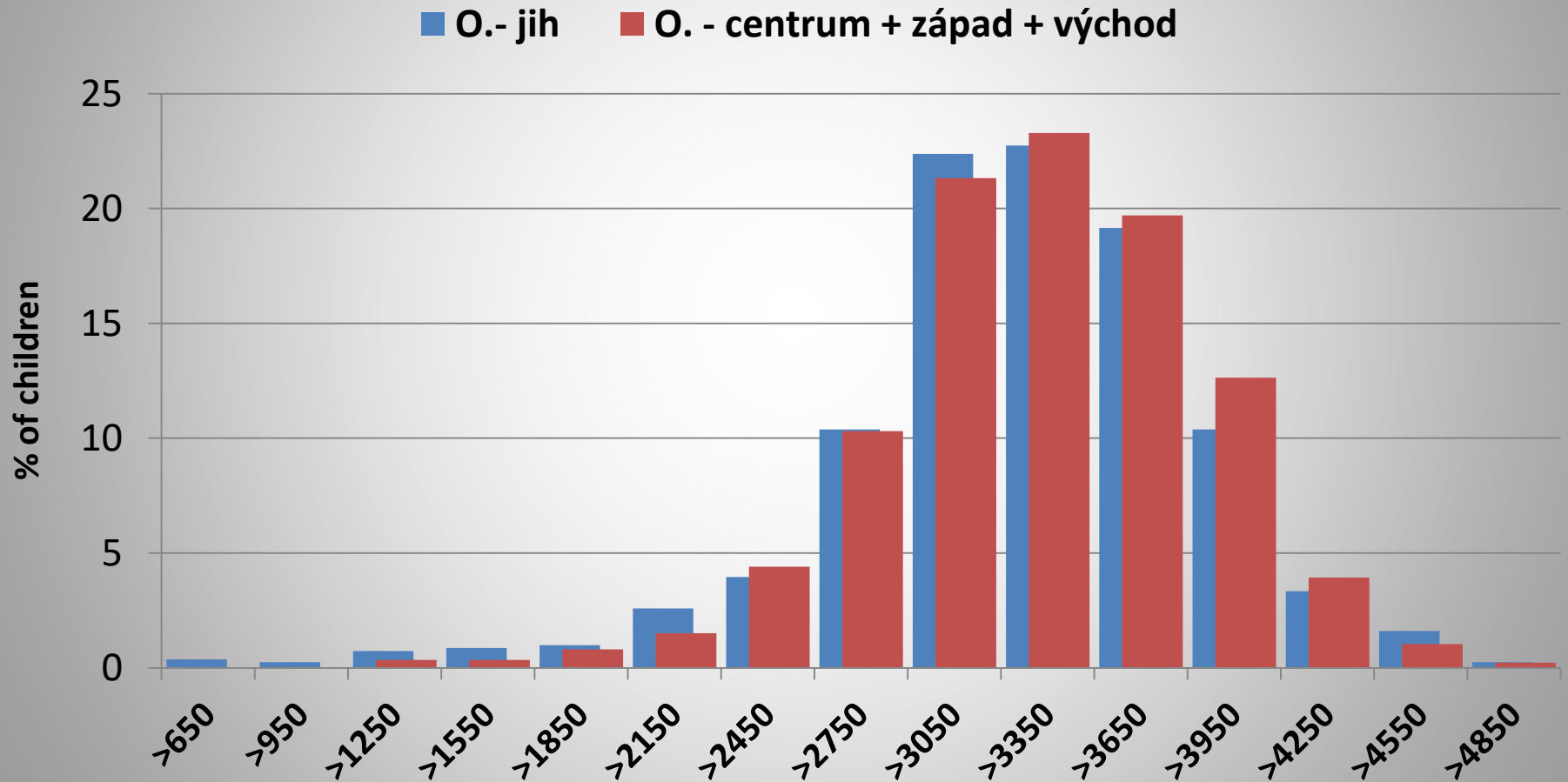
# Kojení a jeho průměrná délka



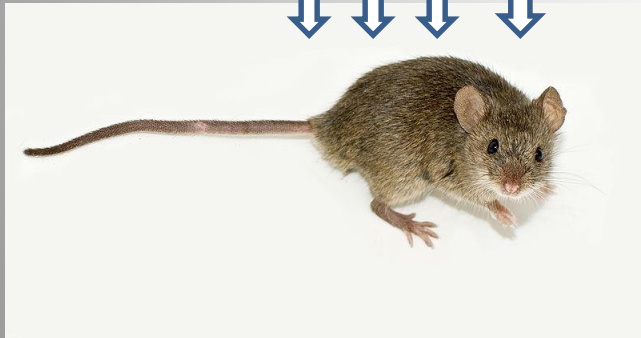
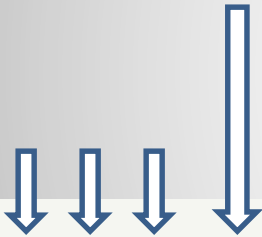
# Docházení dětí do školky



# Histogram porodní hmotnosti



# Co je adaptivní odpověď?



# Rezistence k PCB u tresky

Hudson – znečištění téměř 600 tunami PCB v letech 1947-1976

Treska žijící v řece se stala odolnou k působení PCB

REPORTS

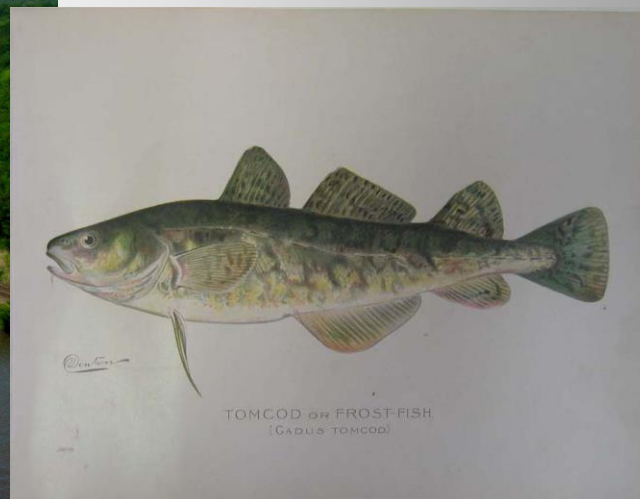
## Mechanistic Basis of Resistance to PCBs in Atlantic Tomcod from the Hudson River

Isaac Wirgin,<sup>1\*</sup> Nirmal K. Roy,<sup>1</sup> Matthew Loftus,<sup>1</sup> R. Christopher Chambers,<sup>2</sup> Diana G. Franks,<sup>3</sup> Mark E. Hahn<sup>3</sup>

### Vysvětlení:

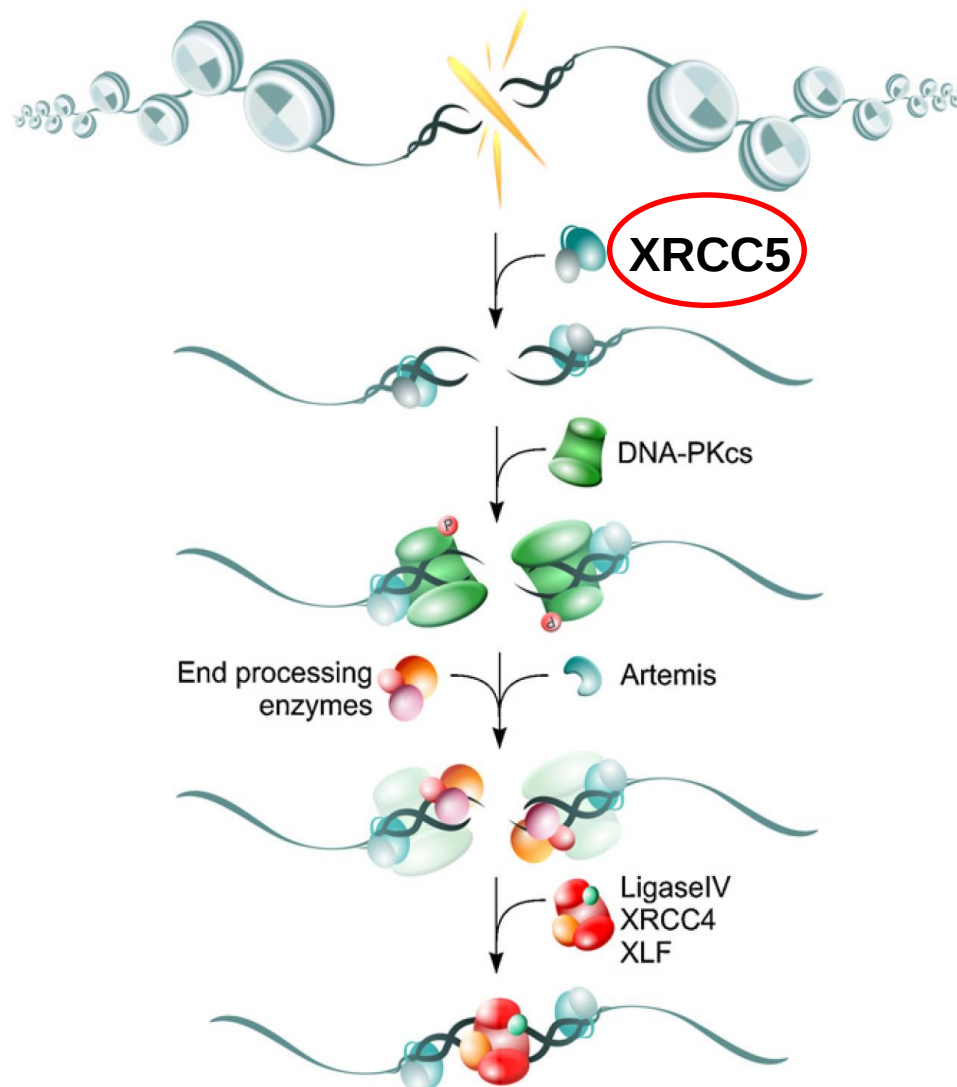
U ryb došlo k mutaci v genu *AHR2*, která zajistila odolnost k PCB a odolní jedinci v řece převládli.

Příklad rychlé evoluce.



# Co dělá „Ostragen“?

## Zlom v DNA



Mladenov a Iliakis, Mutat. Res. 711, 61, 2011

# Závěry I

Jako reakce na znečištění ovzduší jsou u Ostravanů exprimované specifické geny, které přispívají se snížení negativního dopadu znečištění na genetický materiál (adaptivní odpověď).

Adaptivní odpověď neřeší řadu nepříznivých důsledků znečištění na člověka, např. vysokou nemocnost dětí.

Z dlouhodobého hlediska dochází k rychlejšímu „opotřebení“ organismu v důsledku vyšší aktivity opravných a regulačních mechanismů v buňkách, které se pak pravděpodobně projeví v kratší průměrné délce života.

Získané výsledky nejsou definitivní, vyžadují další analýzy a ověření. Otázka je, zda se podaří najít zdroj financování.

## **Závěry II**

**Naše laboratoř jako první ukázala, že lidský organismus je schopen reagovat na velmi vysoké koncentrace k-PAU a dalších škodlivých látek adaptivní odpovědí, která je však z dlouhodobého hlediska pro organismus škodlivá.**

Děkuji za pozornost.

MUDr. Eva Schallerová

17.10.2012