

WNIOSEK NA PROJEKT STATUTOWY NA 2015 ROK	
Kierownik tematu	Dr hab. Małgorzata Zwolińska-Wcisło, Prof. UJ
Jednostka organizacyjna UJ CM	Katedra Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych
Tytuł projektu	Badanie znaczenia stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w celiakii. Ocena wpływu antyoksydantów oraz probiotyków w modulowaniu stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w błonie śluzowej jelita cienkiego.
Numer projektu	K/ZDS/003811
Kod Dziedziny wg GUS	3B NAUKI MEDYCZNE I NAUKI O ZDROWIU-MEDYCYNĄ KLINICZNA
Wnioskowana kwota	20000
Przewidywany czas trwania projektu	1 rok
Wykorzystanie metod biotechnologicznych	nie
Typ badania	stosowany
Projekt będzie prowadzony na terenie szpitali	
Szpital 1	Szpital Uniwersytecki w Krakowie
Rodzaj badania	
Badanie ograniczone do badania pozostających po zabiegach/testach tkanek lub krwi/płynów ustrojowych ew. materiałów pochodzących od osób zmarłych	TAK

OPIS PROJEKTU

Cel realizacji zadania

Celiakia jest przewlekłą chorobą zapalną przewodu pokarmowego o podłożu

autoimmunologicznym, występującą u osób predysponowanych genetycznie.

Jak wykazały dotychczasowe badania, istotna rola gliadyny w etiopatogenezie celiakii polega

na jej wpływie cytotoksycznym na barierę śluzówkową, jak również indukowaniu stresu

oksydacyjnego oraz uwalnianiu cytokin prozapalnych.

Cel ogólny:

Badanie nasilenia zmian zapalnych oraz stresu oksydacyjnego w jelicie cienkim pod

wpływem ekspozycji na gluten.

Cele szczegółowe:

1.Badanie cytotoksycznego wpływu glutenu na stres oksydacyjny i nasilenie stanu zapalnego

w jelicie u chorych z celiakią, nie leczonych lub leczonych dietą bezglutenową w porównaniu z grupą kontrolną.

2. Badanie ochronnego efektu działania antyoksydantów i probiotyków na nasilenie zmian zapalnych i stresu oksydacyjnego w jelicie u chorych z celiakią, w porównaniu z grupą kontrolną.

Planowane efekty naukowe

Stan zapalny oraz stres oksydacyjny, poprzez wzrost uwolnionych rodników tlenowych oraz

spadek mechanizmów obronnych przed działaniem tych rodników odgrywają istotną rolę w

patomechanizmie celiakii. To z kolei prowadzi do niekontrolowanego uaktywnienia

prozapalnych czynników transkrypcji NF- κ B, z następową dalszą produkcją rodników

tlenowych (ROS) i podtrzymywaniem stanu zapalnego w błonie śluzowej jelita.

Zastosowanie leków o działaniu antyoksydacyjnym może przeciwdziałać efektowi

cytotoksycznemu gliadyny na barierę śluzówkową jelita.

Planowane efekty praktyczne

Poznanie mechanizmów modulacji stresu oksydacyjnego za pomocą antyoksydantów

może zaowocować wprowadzeniem tych leków do terapii celiakii, obok diety bezglutenowej.

Zakładamy, że zastosowanie antyoksydantu przyczyni się do zmniejszenia nasilenia stanu

zapalnego błony śluzowej jelita cienkiego i będzie miało wpływ ochronny przed toksycznym

działaniem gliadyny na enterocyty u chorych na celiakię.

Szczegółowa metodyka działania

Do badań planuje się włączyć 100 chorych w wieku 18-52 lat:

- 1/ 30 chorych z celiakią, nie leczonych dietą bezglutenową,
- 2/ 45 chorych z rozpoznaną celiakią leczonych dietą bezglutenową
- 3/ 25 chorych z zespołem jelita nadwrażliwego (ZJN) - grupa kontrolna.

Rozpoznanie ZJN: spełnianie Kryteriów Rzymskich III oraz wykluczenie zmian organicznych w okrężnicy w badaniu kolonoskopowym.

Kryteria wyłączenia: pacjenci z cukrzycą, infekcją przewodu pokarmowego oraz pacjenci zażywający przewlekłe niesteroidowe leki przeciwzapalne.

1. Na wstępie i po 6 miesiącach wywiad chorobowy oraz badanie fizykalne.
2. Badania standardowe krwi: morfologia krwi, próby wątrobowe, poziom żelaza, wapnia.
3. Gastroskopia z pobraniem wycinków z części pozaopuszkowej dwunastnicy do badania histopatologicznego oraz celem badania ekspresji cytokin prozapalnych, białek stresu oksydacyjnego.
4. Ocena histologiczna biopsatów z części pozaopuszkowej dwunastnicy barwionych hematoksyliną-eozyną w kierunku celiakii, zgodnie z klasyfikacją Marsha.

Badania histopatologiczne: Katedra Patomorfologii UJ CM.

5. Badania laboratoryjne

5a. Badania surowicy krwi

- Poziom cytokin prozapalnych: TNF- α , IL-15, IL-21 w surowicy krwi, metoda immunoenzymatyczna, ELISA (Quantikine HS, R&D Systems, Minneapolis, Minn., USA)

- Poziomu dysmutazy nadtlenkowej (SOD), nadtlenków lipidów (LOOH)

5b. Badania w biopsatach błony śluzowej części pozaopuszkowej dwunastnicy

- Ekspresja mRNA dla TNF- α , IL-1, IL-15, IL-21, PPAR, iNOS, reakcja łańcuchowej polimerazy PCR (Perkin Elmer Biosystems, USA).

- Poziomu malondialdehydu (MDA), 4-hydroksynenalu (4-HNE), dysmutazy nadtlenkowej (SOD),

produktów peroksydacji tłuszczów, metodą kolorymetryczną.(Bioxytech ,Portland, USA)

(Pracownia Biologii Molekularnej (Kierownik: dr hab. Agata Ptak-Belowska) Katedry Fizjologii UJ CM w Krakowie (Kierownik: Prof. dr hab. Tomasz Brzozowski).

6.Analiza statystyczna: program Statistica 10.0 (licencja dla UJ). Będzie określana średnia arytmetyczna i odchylenie standardowe SEM. Znamienność statystyczną różnic pomiędzy badanymi grupami będzie obliczona testem 2. Wartość $p < 0,05$ będzie przyjęta za znamienne statystycznie.

HARMONOGRAM

Nazwa zadania badawczego

Rekrutacja pacjentów do grup badawczych.Zbieranie wywiadu, badanie fizykalne chorych.Wykonywanie gastrokopii z pobraniem wycinków z części pozaopuszkowej dwunastnicy na badanie histopatologiczne oraz na badania RT PCR
Pobieranie krwi na badania podstawowe (morfologia krwi, CRP, żelazo, albumina, poziom magnezu i żelaza)

od 2013 roku do 2014 roku

Nazwa zadania badawczego

Kontynuowanie rekrutacji pacjentów do badań, wykonywanie gastrokopii z pobieraniem wycinków z części pozaopuszkowej dwunastnicy. Wykonywanie badań poziomu cytokin prozapalnych w surowicy krwi.Badanie ekspresji cytokin prozapalnych, białek stresu oksydacyjnego, PPAR-, NF-B w biopsjach błony śluzowej jelita cienkiego metodą RT- PCR.

od 2013 roku do 2015 roku

Nazwa zadania badawczego

Wykonywanie badań poziomu cytokin prozapalnych w surowicy krwi.Badanie ekspresji cytokin prozapalnych, białek stresu oksydacyjnego, PPAR-, NF-B w biopsjach błony śluzowej jelita cienkiego metodą RT- PCR. Opracowywanie statystyczne wyników badań.Prezentacja uzyskanych wyników badań w postaci publikacji oraz doniesień zjazdowych.

od 2014 roku do 2015 roku