

Výsledky DNA microarray a biochemické aplikace neurotraumatologii

Vajtr D., Springer D., Kukačka J., Matěk J., Krška Z., Průša R, Zima T.

Ústav soudního lékařství a toxikologie VFN a UK 1.LF

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnost

Úvod: Rozvoj laboratorních metod umožňuje používat nové nástroje k monitoraci patofysiologických pochodů podílejících se na sekundárním poranění mozku. DNA microarray umožňuje lokalizaci exprimovaných genů po extrakci mRNA, transkripci do cDNA a navázání nukleotidů dATP značených radioizotopem P32. Atlas Nylon cDNA Expresní array (Cancer 1.2 array CLONTECH) testuje profil 1.176 genů buněčného cyklu, adheze, cytokiny, apoptozy a invaze. Cíl práce: Využití genetických poznatků k porozumění některým patobiochemickým dějům v neurotraumatologii (dobarvování kontuzí, opakované krvácení do ložiska kontuze) a aplikaci biochemických markerů v chirurgické praxi (diferenciální diagnostika komocí mozku, monitorace a nástup smrti mozku, kinetika expanzních kontuzí mozku). Metoda: Extrakce celkové RNA, přepis do cDNA, eluce frakcí s označenou cDNA, hybridizace na nylonovou membránu a lokalizace exprimovaných genů Atlas Nylon cDNA Expresní array (CLONTECH). Detekce overexprimovaných genů srovnáním s expresí housekeeping genů. Výsledky: Ve vzorku expanzní kontuze mozku byly zjištěny overexprimované geny kontrolující buněčný cyklus (serine/threonine protein kinase 6 (CDK6), p21-activated kinase alpha and B-raf proto-oncogene (RAFB1), geny zánětlivé reakce (membrane attack complex inhibition factor (MA-CIF)- protectin), buněčné proliferace (brain-derived neurotrophic factor (BDNF)/NT-3 growth factors receptor precursor and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and cévní růstový faktor (vascular endothelial growth factor precursor VEGF). Nízká exprese byla pozorována u genů: p53 cellular tumor antigen, p53-induced protein, interleukins- proteins and receptors, tumor necrosis factor receptor associated death domain protein (TRADD), TRAIL receptor, MMP-1,3, 8, 2. FAS soluble protein (Apo1). Závěr: Exprese genů zánětlivých kaskád a buněčné proliferace může přispívat k rozvoji sekundárního poranění mozku.