

### [Akceptuje](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)  
[Kontakt](#)



[Laboratoria](#)  
[.net](#)  
[Innowacje](#)  
[Nauka](#)  
[Technologie](#)

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

[zapisz się](#)



[Strona główna](#) > [Start](#)

## Model zwierzęcy w badaniach interdyscyplinarnych



Zastanawialiście się kiedyś, jak to się dzieje, że tak wielu ludzi na świecie ma problemy z krążeniem i wadami serca? Oczywiście powiecie, że to przez złe odżywianie, niezdrowy tryb życia, stres i pewnie będziecie mieli rację. Jednak czy wszyscy mamy takie same szanse „na starcie”? Na pewno nie. Mamy różne geny, które determinują naszą podatność na choroby układu krążenia. Wiele laboratoriów na świecie zajmuje się ich szukaniem i określaniem ich wpływu na naszą podatność. Nie jest to jednak pełny obraz sytuacji. Możemy przez całe życie przestrzegać bardzo zdrowej diety i nie wykazywać obciążenia genetycznego, a jednak mieć kłopoty z krążeniem. Źródłem tego problemu trzeba szukać w naszym życiu, ale płodowym...

Jednym z winowajców może być niedorozwinięte łożysko, główne źródło wewnątrzmacicznego

ograniczenia wzrostu (ang. IUGR). Dziecko dotknięte tym schorzeniem rodzi się zazwyczaj mniejsze niż normalnie rozwijające się pociechy. W trakcie życia płodowego zmniejsza się dostęp tlenu oraz składników odżywczych. Jeśli nie jest to dramatyczne ograniczenie, płód reorganizuje swój system krążenia, aby móc sobie poradzić z patologiczną sytuacją. Niestety zmiany, które w trakcie rozwoju płodowego ratują rozwijający się organizm, w dorosłym życiu mogą się okazać bardzo niebezpieczne. Dodatkowym problemem staje się chroniczne niedotlenienie mózgu, które może skutkować opóźnionym rozwojem mentalnym w przyszłości.□

### **Królik też człowiek**□

Wykrycie dziecka z IUGR jest trudne i wymaga wnikliwej obserwacji ciąży. Do zrozumienia charakteru schorzenia niezbędne jest użycie skomplikowanych metod wizualizacji ciąży oraz dobrego poznania molekularnego podłoża zjawiska. Współpraca ludzi z różnych dziedzin nauki jest niezbędna do zbadania zjawiska.□

Miałem niewątpliwą przyjemność być członkiem takiej właśnie interdyscyplinarnej grupy podczas pobytu badawczego w ramach stypendium Marie Curie dla młodych naukowców w pięknej Barcelonie. Moja grupa składała się z lekarzy, fizyków, inżynierów oraz biologów molekularnych. Należałem do tych ostatnich. Naszym zadaniem było rozwinięcie modelu potrzebnego do badania zjawiska wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrostu. Najlepszym kandydatem okazał się królik. Tak, to miłe puchate stworzenie ma budowę łożyska podobną do ludzkiego.□

Model zwierzęcy stał się niezbędny do badania wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrostu. Umożliwia on kontrolowane i powtarzalne pomiary pracy serca, połączone z badaniami na poziomie molekularnym. Macica u królików składa się z dwóch rogów, a płodów w jednym rogu może być od kilku do nawet dziesięciu. W celu odtworzenia sytuacji stresowej ograniczenia dopływu krwi przez łożysko, w jednym rogu wszystkie naczynia krwionośne były podwiązywane, tak aby dopływ krwi do płodu zmniejszył się o ok. 40-50 proc. Zaletą tej metody jest obecność zwierząt kontrolnych w drugim rogu macicy, tak więc są to zwierzęta, które także przeszły inwazyjną operację matki, ale nie są poddane ograniczeniu dopływu krwi w rozwoju płodowym. Wstępne wyniki echokardiografii z użyciem opisanego modelu ujawniły nieprawidłowości w fazie rozkurczowej pracy serca (diastole) rozwijających się płodów. Hipoteza, która wynikała z tych badań zakładała, że na tym etapie, na poziomie komórkowym, rozkurczenie mięśnia sercowego opiera się w największym stopniu na gospodarce wapnia.□

Wkroczyłem w ten projekt właśnie w tym miejscu, urzeczony wizją badań, które miały pomóc normalnie się rozwijać dzieciom z IUGR i jednocześnie przerażony perspektywą pracy z królikami. Smutny los poświęcanych zwierząt, które dopiero co przyszły na świat, nie powinien nigdy przesłaniać istotnego celu, jakim jest pomoc wielu rodzinom w szybszym diagnozowaniu oraz stworzeniu dobrej metody leczenia chorych dzieci. Zaletą modelu zwierzęcego jest to, że daje on dużą pulę jednorodnego materiału (mamy do czynienia ze zwierzętami z hodowli wsobnej), do którego można „zajrzeć” metodami biologii molekularnej. W badaniach skoncentrowaliśmy się na białkach zaangażowanych w gospodarkę wapniem, głównie na wymienniku jonowym sodowo-wapniowym NCX oraz ATP-azie wapniowo-zależnej SERCA. Są to głównie białka odpowiedzialne za obniżenie poziomu wolnego wapnia w fazie rozkurczu komórek mięśnia sercowego i zaburzenie ich pracy mogłoby tłumaczyć wyniki echokardiografii, o której pisałem wcześniej.□

Badania NCX oraz SERCA pobięły trzytorowo: ilościowa ocena poziomu białek w komórkach mięśnia sercowego kontrolnego w porównaniu do IUGR przy zastosowaniu metody Western blot; lokalizacja białek oceniana metodą immunohistochemii; badanie funkcji/wydajności systemu wchłaniania wapnia przez NCX i SERCA za pomocą mikroskopii konfokalnej w komórkach mięśnia sercowego.□

### **Czas relaksacji**□

Chciałbym się skupić na ostatnim punkcie. Grupa naukowa z przepięknego zabytkowego szpitala Santa Pau (nadmienię, że jest on wpisany na listę zabytków UNESCO, co pozwalało mi na pracę w niezwykle secesyjnej zabudowie, przypominającej bardziej katedrę niż szpital) rozwinęła i pozwoliła nam używać protokołu do przyżyciowej stymulacji elektrycznej komórek mięśnia sercowego.□

Kardiomiocyty uzyskiwane były z serc nowo narodzonych królików tego samego dnia poprzez złożoną procedurę izolacji zmodyfikowaną metodą Langendorfa. W tym samym dniu komórki były wybarwiane znacznikiem FLUO-4, który wiąże wolne kationy wapnia w cytozolu komórek. Podczas stymulacji elektrycznej, dzięki zastosowaniu tego fluorescencyjnego barwnika, możliwa jest obserwacja natężenia wapnia w komórce, a dzięki zastosowaniu techniki mikroskopii konfokalnej jesteśmy w stanie zobaczyć ten proces w dowolnej płaszczyźnie badanej komórki. Stosując różne częstotliwości stymulacji elektrycznej jesteśmy w stanie odtworzyć warunki normalnej pracy serca, jak i warunki stresowe (wysokie częstotliwości). Znacznik FLUO-4 emituje fluorescencje, jeśli zostanie pobudzony przez wiązkę lasera. Najwięcej wolnego wapnia, który zostaje wprowadzony do cytoplazmy komórki, znajduje się w fazie skurczu komórki, następnie bardzo szybko następuje rozkurczenie, które wiąże się ze spadkiem poziomu badanego jonu. Zmiany stężenia wapnia są odwzorowane przez zmiany poziomu świecenia znacznika FLUO-4. Efektem i głównym obiektem badań po tego rodzaju badaniu dynamiki gospodarki wapnia jest wykres zależności fluorescencji od czasu po stymulacji. Oceniliśmy kilka parametrów, które miały ujawnić różnicę pomiędzy badanymi komórkami (Rys. 1).□

Najważniejszym parametrem dla nas był czas relaksacji (RT) i jak mieliśmy nadzieję potwierdzić, czas ten był dłuższy w przypadku komórek ze zwierząt IURG. Jest to dowód na to, że proces opróżniania kardiomiocytów z wapnia jest mniej efektywny w przypadku zwierząt dotkniętych chorobą. Warto tu nadmienić, że analiza wyników okazała się bardzo złożona i była możliwa dzięki bliskiej współpracy z informatykami i inżynierami z naszej grupy naukowej.□

## **Kanały jonowe**□

Mając potwierdzenie naszej teorii o zaburzeniu gospodarki wapniowej, trzeba było się zastanowić, co jest źródłem tych zmian. Białka mogą odmiennie działać w różnych komórkach z różnych powodów (Rys. 2).□

Poziom białek, jak wcześniej wspominałem, był badany metodą Western blot. Nie wykryliśmy istotnych różnic między komórkami kontrolnymi i IUGR. Lokalizacja białek była badana metodą immunohistochemii klasycznej oraz z zastosowaniem mikroskopii konfokalnej. Odkryliśmy różnice w ułożeniu kanałów jonowych SERCA we włóknach mięśniowych. Efektywność systemu opróżniającego komórkę z wapnia jest z dużym

prawdopodobieństwem nie tylko uzależniona od ilości białek (ich poziomu ekspresji) biorących udział w tym procesie, ale również od ich ułożenia w komórce. Wzór ułożenia tych kanałów zmienia się w trakcie życia płodowego. Można by spekulować, czy inna lokalizacja nie jest strategią przetrwania dla tych komórek i umożliwia normalne funkcjonowanie przy niedostatku tlenu i składników odżywczych. Pytanie tylko, czy te zmiany są przenoszone do późniejszego etapu życia i czy nie stanowią niebezpiecznego obciążenia z okresu płodowego. Badania na starszych królikach, które dotknięte były IUGR, są już zaplanowane i może odpowiedzą na te pytania.□

Odnosząc się jeszcze do rysunku drugiego trzeba wspomnieć o stanie funkcjonalnym. Nie jest niczym zaskakującym, że białka działają w sieci niezwykle skomplikowanych powiązań funkcjonalnych. Mogą wpływać na siebie poprzez modyfikacje chemiczne, takie jak fosforylacja, a także oddziałując bezpośrednio, zmieniając konformacje białka. Istnieje wiele opisanych białek oddziałujących na kanały jonowe. Ich poziom został sprawdzony poprzez mikromacierze, które określają ekspresję danego genu w badanej tkance. Poziom transkryptu (mRNA) interesujących białek został porównany i jest w trakcie analizy prowadzonej przez oddanych sprawie bioinformatyków.□

Najważniejszy w tej mojej pierwszej poważnej przygodzie naukowej jest fakt, że udało się na poziomie komórki udowodnić pierwotną hipotezę z badań lekarzy. Model zwierzęcy ponad wszelką wątpliwość udowodnił swoją skuteczność i może dojście do tych wniosków i postęp w badaniu wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrostu byłyby niemożliwe bez tej możliwości. W ostatnich latach poczyniono olbrzymie postępy w ograniczeniu liczby badań z użyciem zwierząt i uważam, że to bardzo dobrze. Istnieją pewne dziedziny, jak na przykład toksykologia, gdzie z dużymi sukcesami zastępuje się badania na zwierzętach eksperymentami na kulturach komórkowych. Jednak nie da się ukryć, że wciąż pewnych odpowiedzi nie uzyskamy nie używając modeli eksperymentalnych z użyciem zwierząt. Badania nad wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrostu jest jednym z takich przykładów, w którym sama wiedza kliniczna nie daje odpowiedzi na podstawowe pytania dotyczące tego schorzenia. Połączenie doświadczeń lekarzy, inżynierów, informatyków i biologów dało świetne rezultaty i przekonało mnie do idei badań interdyscyplinarnych. Sama idea wyjazdów w ramach programów takich jak Marie Curie znacznie poszerza horyzonty, pozwala pracować w niezwykłym międzynarodowym środowisku naukowym oraz zdobyć doświadczenie, które okazuje się nieocenione w późniejszej pracy.□

Chciałem podziękować wszystkim moim współpracownikom, kolegom oraz opiekunom mojej pracy naukowej wykonanej w Barcelonie. Zawsze będą to dla mnie jedne z najpiękniejszych wspomnień z mojej kariery zawodowej.□

*Autor: Mgr inż. Bartosz Wojtaś, biotechnolog, doktorant Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.*

*Źródło: <http://forumakademickie.pl>*

<https://laboratoria.net/home/12754.html>

**Informacje dnia:** [Stypendia ministra nauki za znaczące osiągnięcia Doktor z TikToka: fajnie by było, gdyby w sieci to jednak naukowcy mówili o nauce](#) [Kierownik wyprawy polarnej](#) [Mikrolasery mogą wykrywać pojedyncze cząsteczki](#) [Duże teleskopy sfotografowały dwie formujące się planety](#) [Bakteriofagi mogą chronić żywność przed salmonellą](#) [Stypendia ministra nauki za znaczące osiągnięcia Doktor z TikToka: fajnie by było, gdyby w sieci to jednak naukowcy mówili o nauce](#) [Kierownik wyprawy polarnej](#) [Mikrolasery mogą wykrywać pojedyncze cząsteczki](#) [Duże teleskopy sfotografowały dwie formujące się planety](#) [Bakteriofagi mogą chronić żywność przed salmonellą](#) [Stypendia ministra nauki za znaczące osiągnięcia Doktor z TikToka: fajnie by było, gdyby w sieci to jednak naukowcy mówili o nauce](#) [Kierownik wyprawy polarnej](#) [Mikrolasery mogą wykrywać pojedyncze cząsteczki](#) [Duże teleskopy sfotografowały dwie formujące się planety](#) [Bakteriofagi mogą chronić żywność przed salmonellą](#)

## **Partnerzy**