

„Omics“ je souhrnné pojmenování biologických disciplín, které se věnují globální charakterizaci a kvantifikaci biomolekul, jež mají zásadní význam pro zajištění základních funkcí organismu. „Omics“ metody jsou využívány například v molekulární epidemiologii, která na základě jejich výsledků vyhodnocuje potenciální biomarkery charakterizující dopad faktorů životního prostředí na lidské zdraví. Předložená Disertační práce se zabývá použitím těchto metod u biologických vzorků získaných od novorozenců, kteří se narodili v rozdílných lokalitách České republiky, lišících se zejména mírou průmyslové zátěže. Hlavním záměrem bylo zjistit, zda může vlivem vnějšího prostředí v průběhu prenatálního vývoje novorozenců docházet k významným změnám aktivity genů a jejich regulace, a vyhodnotit míru znečištění ovzduší v době, kdy byl odebrán biologický materiál. S využitím celogenomového přístupu bylo cílem popsat odlišně exprimované geny (DEGs) u novorozenců z Karviné a Českých Budějovic (ČB). U pilotní studie malého souboru novorozenců z Mostu a ČB bylo záměrem identifikovat rozdílně metylovaná CpG místa na DNA, která utlumují genovou aktivitu a mohla by být zodpovědná za dlouhodobé změny na genetické úrovni. Posledním cílem bylo nalézt odlišně exprimované malé nekódující RNA (DE miRNA) mezi novorozenci z Mostu a ČB.

Vzorky pupečnickové krve od 230 novorozenců byly odebrány v porodnicích při porodu a následně zpracovány v laboratoři Ústavu experimentální medicíny AV ČR, v.v.i. „Omics“ metody byly použity pro analýzu celogenomové exprese mRNA a genově-specifické metylace DNA na microarray platformě (iScan, Illumina); exprese miRNA byla vyhodnocena metodou sekvenování nové generace (MiSeq, Illumina). Statistické zpracování všech expresních, metylačních i sekvenačních dat bylo provedeno v R Studiu na základě vlastního skriptování a s použitím balíčků Bioconductor.

Výsledky práce ukázaly, že nejvyšší koncentrace prachových částic o aerodynamickém průměru $\leq 2,5 \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$) a benzo[a]pyrenu (B[a]P) byly naměřeny v Karviné, a to zejména v zimním období. Ve sledovaných letech docházelo v této lokalitě k překračování ročních imisních limitů polutantů. Oproti tomu mezi Mostem a ČB nebyly rozdíly ve znečištění ovzduší zaznamenány. Nejvíce DEGs bylo nalezeno u vzorků z Karviné v zimním období, přičemž vliv období v obou lokalitách hrál podstatnou roli. DEGs pozorované u karvinských vzorků se účastní zejména buněčné obrany proti oxidačnímu a elektrofilnímu stresu a imunitní odpovědi. DEGs, které jsou začleněny v drahách receptorů T- a B-buněk, byly nalezeny při mezisezónním srovnání v Karviné. Na epigenetické úrovni byly zjištěny rozdíly mezi novorozenci z Mostu a ČB. CpG místa lišící se mezi lokalitami cílí na geny a procesy, které jsou začleněny zejména v drahách T-buněk, imunitní odpovědi, a změny v jejich regulaci se objevují také u astmatu a alergií. Nejvýznamnější pozorované DE miRNA mohou regulovat aktivitu genů, které souvisí s vážností stavu chronické obstrukční plicní nemoci, či některých atopických či autoimunitních onemocnění, jako jsou ekzém či psoriáza.

Tato práce demonstruje, že odlišný profil exprese mRNA, stejně jako epigenetický vzorec metylace DNA a exprese miRNA, může být pozorován u novorozenců již v době jejich narození. Výsledky naznačují, že začátek života v odlišném prostředí bez ohledu na aktuální úroveň znečištěného ovzduší může být spojen s alterací imunitního systému, zvýšenou vnímavostí k alergiím, astmatu a narušením funkce biochemických procesů ovlivňujících zdravý vývoj jedince. Vliv na úroveň exprese rozdílných genů může mít i období, ve kterém bylo dítě narozeno, pokud je rozdíl mezi obdobími dán odlišnou úrovní znečištěného ovzduší.