

Opis przedmiotu zamówienia

Przedmiotem zamówienia jest usługa polegająca na zbieraniu i przygotowywaniu materiału biologicznego do badań naukowych w postaci prób krwi pełnej oraz fragmentów tkanek pooperacyjnych od pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą nowotworową prostaty oraz pęcherza, poddawanych zabiegom prostatektomii oraz cystektomii radykalnej w projekcie „Mutacje nabywane w trakcie rozwoju i życia człowieka powodujące zwiększone ryzyko chorób, w szczególności nowotworów”. Program realizowany jest w Programie Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej Międzynarodowej Agencji Badawczej i finansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój (nr umowy MAB/2018/6).

Usługa do tej pory była realizowana na podstawie umowy ZP/3-III/DZZ/2019 i jest niezbędna do wykonania umowy 3/MAB/2020, której realizacja ze względu na pandemię SARS-CoV-2 została przedłużona do 30.06.2023.

ZAKRES USŁUGI

Lp	Rodzaj choroby	Minimalna wymagana liczba zrekrutowanych pacjentów (miesięcznie)	Minimalna liczba próbek od 1 pacjenta chorego (miesięcznie)	Maksymalna liczba próbek od 1 pacjenta chorego (miesięcznie)	Minimalna łączna liczba zrekrutowanych pacjentów
1	Rak prostaty, rak pęcherza	6	6	20	78

1. Rekrutacja pacjentów płci męskiej (6/miesiąc) ze zdiagnozowanym nowotworem prostaty i pęcherza poddawanych zabiegom prostatektomii radykalnej oraz cystektomii radykalnej, polegająca na poinformowaniu pacjenta o zakresie badania i uzyskaniu od niego pisemnej świadomej zgody na udział w programie MAB oraz wypełnieniu ankiety medycznej.
2. Zbieranie i przygotowanie próbek materiału biologicznego od w/w pacjentów w postaci:
 - a) Krwi obwodowej do zamrożenia krwi pełnej i osocza oraz do sortowania subpopulacji leukocytów metodą FACS (niezależna usługa wykonywana w ramach osobnej umowy nr 3/MAB/2020 podpisanej przez Gdański Uniwersytet Medyczny i Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum),
 - b) materiału z guza pierwotnego i nienowotworowej tkanki otaczające guza według przygotowanych przez MAB protokołów pobierania materiału.
3. Prowadzenie dokumentacji danych opisujących próby biologiczne, zbieranie druków świadomych zgód pacjenta oraz ankiety medycznych, wyników histopatologicznych oraz wyników badania morfologii krwi.
4. Udostępnianiu zdjęć i bloczków FFPE.
5. Koordynacja przekazania materiału (krwi obwodowej) do sortowania w godzinach porannych, w ciągu dwóch godzin od momentu pobrania do pracowników Zakładu Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum.

6. Obsłudze i właściwym użytkowaniu wypożyczonych przez MAB na czas realizacji umowy urządzeń znajdujących się w szpitalu: zamrażarki niskotemperaturowej, skanera oraz komputera z oprogramowaniem MABData 1.
7. Wyznaczenie koordynatora działań w zakresie merytorycznym i administracyjnym po stronie Wykonawcy, którego kandydatura musi zostać zaakceptowana przez Zamawiającego.
8. Przygotowanie materiału biologicznego do wysyłki na suchym lodzie wg procedury wysyłki przygotowanej przez MAB, na koszt Zamawiającego.

OPIS POSTĘPOWANIA BADAWCZEGO

1. Wykonawca oświadcza, że każdorazowo dla potrzeb badania:
 - a) przed zabiegiem zostanie pobrana odpowiednia objętość krwi obwodowej (36 ml):
 - do próbek typu CPT w cel sortowania (tego samego dnia) wybranych typów leukocytów przy pomocy FACS w ramach umowy nr 3/MAB/2020 w Instytucie Immunologii Klinicznej i Transplantologii,
 - do próbki typu BD Vacutainer w celu zabezpieczenia krwi pełnej do izolacji DNA.
 - b) po operacji, z usuniętego preparatu chirurgicznego zostaną pobrane wycinki z guza pierwotnego oraz nienowotworowej tkanki otaczającej guza zdrowego według protokołu dla każdej badanej diagnozy przygotowanej przez Zamawiającego.
2. Postępowanie badawcze będące przedmiotem zamówienia zostało przyjęte i zatwierdzone przez Niezależną Komisję Bioetyczną ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym w Gdańsku, powołaną przez Rektora Uczelni, na podstawie rozporządzenia MZiOZ (Dz.U.nr.47, poz.480) i opatrzone jest numerem NKBBN/564/2018.
3. Każdemu pacjentowi zakwalifikowanemu do programu MAB jednostka szpitalna przydzieli indywidualny kod identyfikacyjny.
4. Do systemu elektronicznego MABData 1 dostarczonego do Wykonawcy zostanie wprowadzony kod identyfikacyjny oraz minimalny zestaw danych medycznych odpowiedniego Pacjenta.
5. Każda podpisana zgoda Pacjenta zostanie oznaczona nadanym kodem, aby można było po kodzie zweryfikować dane osobowe Pacjenta.

ZAKRES ZADAŃ KOORDYNATORA

1. Koordynowanie przebiegu pozyskiwania próbek materiału biologicznego zgodnie z dokumentacją i wytycznymi zatwierdzonymi przez Komisję Bioetyczną,
2. Informowanie Pacjentów o badaniu - przekazywanie świadomych zgód do podpisu przez Pacjentów.
3. Wprowadzenia danych Pacjenta oraz danych medycznych do systemu MABData 1 dostarczonym przez Zamawiającego.
4. Przygotowanie podstawowego opisu próbek i wprowadzenie go do systemu MABData 1.
5. Obsługa techniczna zamrażarki niskotemperaturowej, skanera i komputera.
6. Dbłość o dostarczony sprzęt.
7. Przygotowanie próbek do transportu i ich wysyłka.
8. Monitorowanie i raportowanie o ilości pozyskiwanych próbek w okresie miesięcznym.

9. Monitorowanie i raportowanie o zapotrzebowaniu na dostarczenie próbek (wszystkie próbki używane do zbierania materiału zostaną dostarczone przez Zamawiającego).

WARUNKI REALIZACJI

1. Materiał biologiczny wraz z danymi klinicznymi będzie przechowywany w siedzibie Zamawiającego w zespole Międzynarodowej Agencji Badawczej na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym.
2. Pobrane próby materiału biologicznego zostaną wykorzystane na potrzeby ww. projektu oraz w celu realizacji przyszłych projektów naukowych, które mogą zostać opracowane w miarę poszerzania wiedzy na temat mechanizmów rozwoju chorób nowotworowych.
3. Miejscem świadczenia usługi badawczej będzie siedziba Wykonawcy.
4. Zamawiającemu przysługuje prawo odstąpienia od umowy (umowne prawo odstąpienia), po uzyskaniu wystarczającej liczby prób materiału biologicznego pozwalającej na osiągnięcie przez Zamawiającego celów badawczych zakładanych w projekcie.
5. Pobrane próbki, dokumentacja medyczna oraz wypełnione formularze świadomej zgody będą wysyłane przez Wykonawcę przesyłką kurierską w suchym lodzie do siedziby Zamawiającego. Transport prób odbywał się będzie nie rzadziej niż co 3 miesiące. Koszty transportu pokryje Zamawiający.

INFORMACJA O BADANIACH W RAMACH PROJEKTU MAB (dane zgłoszone do Niezależnej Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym w Gdańsku)

a) założenie badań

Mutacje post-zygotyczne (PZMs – Post-Zygotic Mutations), są aberracjami genetycznymi nabywanymi podczas życia i występującymi w klonach normalnych komórek somatycznych. Zjawisko to, nazywane również mozaicyzmem somatycznym, może stanowić predyspozycję do rozwoju wielu chorób, w tym nowotworów i choroby Alzheimera. PZMs obejmują szeroką gamę mutacji, tj. od mutacji pojedynczych nukleotydów do aberracji całych chromosomów. Przez wiele lat uważano, że PZMs są łagodnym i rzadko występującym efektem starzenia się komórek. Jednak stale wzrastająca liczba badań naukowych wskazuje na tak powszechne występowanie PZMs, że zasadniczo w jednym organizmie nie ma dwóch identycznych genetycznie komórek, a PZMs mogą być przyczyną chorób somatycznych [1-5]. Projekt, którego dotyczy niniejszy wniosek, obejmuje głównie (ale nie wyłącznie) problematykę dotyczącą związku PZMs z nowotworami: rakiem piersi u kobiet, rakiem prostaty u mężczyzn, rakiem okrężnicy/odbytnicy, rakiem trzustki, pęcherza moczowego, nerki oraz neurofibromatoz (NF) u obu płci. Dla pacjentów z nowotworem okrężnicy planowane jest także zbieranie prób przerzutów metachronicznych do wątroby. W przypadku pacjentów operowanych z powodu raka pęcherza pobierane będą także próbki z operacji oszczędzających wykonywanych metodą przecewnikowej elektroresekcji guza (ang. TURBT - Transurethral Resection of Bladder Tumor). Takie podejście umożliwi obserwację zmian w zdrowym nabłonku pęcherza na wczesnych etapach nowotworzenia oraz potencjalne wykrycie współistniejącego carcinoma in situ (CIS). Ponadto, projekt obejmuje również zagadnienia dotyczące mechanizmu rozwoju choroby Alzheimer'a w kontekście utraty chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej (ang. Loss Of chromosome Y - LOY) [6].

Nadrzędna hipoteza projektu zakłada, że analiza PZMs u reprezentatywnej liczby pacjentów dostarczy nowych informacji odnośnie molekularnych mechanizmów rozwoju wyżej wymienionych chorób, a w konsekwencji pozwoli na identyfikację nowych, wczesnych biomarkerów tych chorób.

Cele szczegółowe:

Cel 1) Rozwój nowych standardów biobankowania materiału biologicznego pobranego od pacjentów z chorobami nowotworowymi, chorobą Alzheimera oraz grupy kontrolnej

Niniejszy projekt wymaga opracowania nowych standardów biobankowania prób biologicznych obejmujących nie tylko standardowy materiał jak np. krew obwodowa, czy mrożone lub utrwalone fragmenty guzów. W przypadku pacjentów z chorobami

nowotworowymi pobierany materiał będzie uwzględniał również próby niezmienionej nowotworowo tkanki z okolicy guza oraz fragmenty skóry z okolicy cięcia chirurgicznego [7, 8]. Poza mrożeniem i utrwaleniem chemicznym prób, fragmenty niezmienionej nowotworowo tkanki z okolicy guza, a także fibroblasty wyizolowane ze skóry będą wprowadzane i utrzymywane w hodowlach komórkowych. Dodatkowo od wszystkich osób włączonych do badań w ramach niniejszego projektu pobierany będzie wymaz z błony śluzowej jamy ustnej w celu zabezpieczenia komórek nabłonkowych. Ponadto, gromadzone będą dane kliniczne, w tym follow-up, wymagające bezpiecznego deponowania i deidentyfikacji przed przekazaniem do badań. Dodatkowo w kontekście jakości pobieranego materiału biologicznego planowane jest badanie wpływu czasu zimnej ischemii na profil transkryptomyczny tkanki pobranej od pacjentów operowanych z powodu raka okrężnicy/odbytnicy, piersi oraz pacjentów poddawanych zabiegom bariatrycznym. Umożliwi to w konsekwencji optymalizację protokołów pobierania materiału dla wszystkich badanych diagnoz.

Wszystkie te zadania będą realizowane przez Zakład Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej – BioBank GUMed oraz zespół badawczy MAB, które dysponują odpowiednimi kompetencjami oraz zasobami ludzkimi i sprzętowymi. Należy podkreślić, że celem biobankowania prowadzonego w ramach niniejszego projektu jest stworzenie unikatowego repozytorium materiału biologicznego, który będzie mógł być wykorzystany nie tylko na potrzeby planowanych badań, ale także na potrzeby przyszłych projektów naukowych.

Cel 2) Poszukiwanie w tkance nienowotworowej PZMs predysponujących do powszechnie występujących nowotworów.

W trakcie naszych wcześniejszych badań wykazaliśmy, że w nienowotworowej tkance wydzielniczej gruczołu sutkowego występują wczesne genetyczne aberracje strukturalne (mutacje chromosomalne albo subchromosomalne), które mogą być odpowiedzialne za somatyczną predyspozycję do rozwoju guza. Aberracje te współwystępują i są prawdopodobnie warunkowane mutacjami punktowymi genów odpowiedzialnych za zachowanie stabilności genomowej [2, 3]. Rozszerzenie tych badań pozwoli na mocniejsze poparcie hipotezy wskazującej na powiązanie rearanżacji genomowych z mutacjami genów zapewniających zachowanie integralności genomu. Ponadto, badaniami objęci zostaną również pacjenci z: rakiem prostaty, rakiem okrężnicy/odbytnicy, trzustki, rakiem pęcherza moczowego, nerki oraz neurofibromatozami. Wymienione wyżej typy nowotworów zostały wybrane do badań, ponieważ występują z wysoką częstością, a ich etiologia, podobnie jak w przypadku raka piersi, może być powiązana ze stresem komórkowym w odpowiedzi na ekspozycję na czynniki środowiskowe lub hormonalne.

Cel 3) Utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej jako przyczyna krótszego życia mężczyzn.

Krótsza długość życia mężczyzn w porównaniu do kobiet jest znanym faktem [9-16]. W skali globalnej różnica wynosi ok. 4 lata, a w populacjach o dłuższym okresie życia jest jeszcze większa, np. ok. 6 lat w Unii Europejskiej i ok. 7 lat w Japonii. Należy tu podkreślić, że im dłuższa jest średnia długość życia dla danego regionu, tym większa różnica między tym, jak długo żyją mężczyźni i kobiety w tych społeczeństwach (Life expectancy graph w Wikipedii). Badania własne oraz innych zespołów wykazały, że czynnikiem powiązanim z ogólną wcześniejszą śmiertelnością mężczyzn jest mozaikowata utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej [1, 6, 17-25]. W związku z tym planujemy poddać analizom wybrane typy leukocytów wyizolowane z krwi obwodowej mężczyzn ze stwierdzonym rakiem prostaty, okrężnicy/odbytnicy lub pęcherza moczowego, aby sprawdzić czy utrata chromosomu Y w tych komórkach może być związana z wczesnym rozwojem guzów. Zakładamy również, że analogiczny mechanizm jest podłożem zmian neurodegeneracyjnych w ośrodkowym układzie nerwowym u pacjentów z chorobą Alzheimera, co także zostanie poddane analizie. Główna hipoteza tych badań zakłada, że utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej upośledza funkcję nadzoru immunologicznego. Nadzór immunologiczny umożliwia skuteczną eliminację nieprawidłowych komórek, które w przeciwnym razie mogą ewoluować w kierunku komórek nowotworowych lub prowadzić do powstawania blaszek amyloidowych w mózgu [26-33].

Cel 4) Analizy funkcjonalne mutacji scharakteryzowanych w trakcie realizacji celów 1 i 2.

Interpretacja funkcjonalna rzadkich wariantów sekwencyjnych jest utrudniona, ponieważ tylko niektóre warianty wykazują efekt układowy, który może być zaobserwowany w różnych rodzajach komórek. Często efekt jest swoisty i ograniczony do określonych komórek i czasu w trakcie ontogenezy. Dlatego postawiono hipotezę, że efekt rzadkich wariantów sekwencyjnych jest najbardziej widoczny w stymulowanych, podlegających intensywnym podziałom komórkach [34]. Zamierzeniem proponowanych badań jest odtworzenie i monitorowanie tego efektu in vitro poprzez stymulację mitotyczną komórek pozyskanych od pacjentów, w warunkach stresu replikacyjnego. W przypadku badań nad mutacjami predysponującymi do rozwoju NF planowane jest także pozyskanie indukowanych macierzystych komórek pluripotencjalnych (iPSC – induced pluripotent stem cells) z niepluripotencjalnych komórek somatycznych, w tym wypadku fibroblastów. iPSC będą dalej różnicowane do komórek macierzystych grzebienia nerwowego (NCSCs – Neural Crest Stem Cells) w warunkach in vitro, będącymi prekursorami komórek Schwanna. Pozwoli to na badania aktywności genów, które zostały potencjalnie zidentyfikowane jako predysponujące do zachorowania na schwannomatozę (forma NF).

Cel 5) Opracowanie prototypów układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów chorób.

Na podstawie wyników badań otrzymanych w trakcie realizacji celów 1-4 zostaną przygotowane i zwalidowane prototypy prostych układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów raka i choroby Alzheimer'a. Ten cel będzie realizowany retrospektywnie z użyciem wcześniej zgromadzonego materiału (cel 1).

b) metodyka badań (szczegółowo)

Cel 1) Procedura pozyskiwania materiału do badań.

Pacjenci będą rekrutowani w następujących jednostkach przez lekarzy prowadzących wskazanych przez kierowników tych jednostek:

- Klinika Chirurgii Onkologicznej, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk
- Klinika Chirurgii Plastycznej, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk
- Klinika Urologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk
- Klinika Chirurgii Onkologicznej, Endokrynologicznej i Transplantacyjnej, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk
- Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii, Gdański Uniwersytet Medyczny,
- Centrum Medycyny Translacyjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny,
- Centrum Medycyny Rodzinnej, Gdański Uniwersytet Medyczny,
- Klinika Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk
- Klinika Chirurgii Onkologicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Centrum Onkologii w Bydgoszczy;
- Szpital Specjalistyczny w Kościerzynie;
- Zakład Patomorfologii Nowotworów, Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Kraków;
- Oddział Kliniczny Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej, Gastroenterologicznej i Transplantologii, Uniwersytet Jagielloński oraz Szpital Uniwersytecki, Kraków;
- Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej, Szpital Uniwersytecki, Kraków;
- Oddział Urologii i Urologii Onkologicznej, Szpital Uniwersytecki, Kraków;

- Klinika Psychiatrii Dorosłych GUMed, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk
- Katedra Medycyny Rodzinnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk
- Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Uniwersytet Jagielloński

Lekarz prowadzący lub pielęgniarka będzie przedstawiać informację o badaniu i odbierać zgodę pacjentów, którzy wyrażą wolę uczestnictwa w badaniu. Pacjenci będą rekrutowani spośród osób ze wskazaniem do zabiegu chirurgicznego z powodu raka piersi u kobiet, raka prostaty u mężczyzn, raka okrężnicy/odbytnicy, raka trzustki i przerzutów metachronicznych do wątroby oraz pęcherza moczowego u obu płci, zabiegu bariatrycznego lub z chorobą Alzheimer'a. Preferowani będą pacjenci onkologiczni, którzy nie zostali poddani terapii neoadiuwantowej i bez podłoża rodzinnego. Planowane jest pobranie materiału od ok. 800 pacjentów dla każdej z wymienionych diagnoz nowotworowych oraz około 1500 pacjentów z chorobą Alzheimer'a. W szczególności, przed zabiegiem zostanie pobrane 30-35 ml krwi obwodowej (4 probówki Vacutainer o maksymalnej pojemności 10 ml), która zostanie poddana frakcjonowaniu na elementy morfotyczne krwi i osocze. Od pacjentów zostanie także pobrany wymaz z błony śluzowej jamy ustnej, który będzie stanowił dodatkowy/alternatywny materiał badawczy z tkanki nie objętej procesem chorobowym. W przypadku pacjentów z diagnozą choroby Alzheimer'a będą to jedyne pobrane próby. Od pacjentów z diagnozami nowotworowymi wymienionymi w niniejszym wniosku, po wykonaniu operacji, z usuniętych fragmentów tkanek (tzn. odpadów medycznych), zostanie pobrany wycinek nienowotworowej tkanki (ok. 0,5 cm³) (próba stanowiąca główny materiał badawczy), fragment guza pierwotnego (ok. 0,5 cm³), przerzutów, jeśli będą usuwane (ok. 0,5 cm³) (próby porównawcze), fragment skóry (ok. 0,5 cm²) oraz skóry z tkanką tłuszczową podskórną (5-20 cm² w zależności od wielkości cięcia i rozmiaru zabiegu (próby stanowiące dodatkowy/alternatywny materiał badawczy z normalnej tkanki niewłączonej w proces chorobowy). Z tłuszczowej tkanki podskórnej izolowane i namnażane będą komórki macierzyste tkanki tłuszczowej - ASC (ang. Adipose Derived Stem Cells) jako dodatkowy materiał do poszukiwania mutacji somatycznych. W przypadku procedury operacji oszczędzających pęcherza przeprowadzanych metodą TURBT pobierany będzie bardzo niewielki fragment tkanki guza i dwa fragmenty zdrowego nabłonka pęcherza (wielkość około 0,03 – 0,05 cm³) pętłą endoskopu. Pobranie fragmentu zdrowego nabłonka jest elementem procedury operacyjnej i służy do oceny współistnienia carcinoma in situ (CiS). Dla badania mającego na celu zmierzenie wpływu czasu zimnej ischemii na profil transkryptomyczny tkanki pobrany zostanie nieco większy fragment tkanki zdrowej (maks. 1 cm³), który zostanie następnie podzielony na mniejsze w różnych punktach czasowych. Wszystkie próby zostaną niezwłocznie zamrożone w -80 C. Ponadto, z prób nienowotworowej tkanki oraz skóry zostaną założone hodowle pierwotne in vitro, odpowiednio komórek nabłonka oraz fibroblastów.

Osoby stanowiące grupę kontrolną zostaną zrekrutowani przez zespół projektowy MAB oraz we współpracujących jednostkach szpitalnych (kryteria: wiek powyżej 65 roku, bez zdiagnozowanej osobistej choroby nowotworowej i choroby Alzheimera). Lekarz prowadzący lub pielęgniarka będzie przedstawiać informację o badaniu i odbierać świadomą zgodę pacjentów, którzy wyrażą wolę uczestnictwa w badaniu. Od kontroli zostanie pobrane 30-35 ml krwi obwodowej oraz wymaz jamy ustnej. Dodatkowo dla intensywnie prowadzonych przez zespół badań nad mechanizmami molekularnymi rozwoju raka piersi w Klinice Chirurgii Plastycznej UCK rekrutowane będą pacjentki poddawane operacji mammoredukcji. Od tych pacjentek pobierany będzie fragment usuwanej tkanki z gruczołu piersiowego (maks. 1 cm³) oraz 12 ml krwi obwodowej.

W ramach współpracy naukowej MAB z Centrum Medycyny Rodzinnej (CMR) GUMed i Centrum Medycyny Translacyjnej (CMT) GUMed dla pacjentów z grupy kontrolnej zrekrutowanych do MAB zostaną wykonane badania w kierunku schorzeń układu sercowo-naczyniowego w CMT (w ramach zgody NKBBN/116/2020). Po uzyskaniu zgody z Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego dla wspólnie zrekrutowanych pacjentów MAB będzie pozyskiwał dane dotyczące fenotypowania układu sercowo-naczyniowego do celów wspólnych publikacji naukowych.

W przypadku badań neurofibromatoz materiał w postaci DNA z krwi obwodowej pacjentów z podejrzeniem NF, po wcześniejszej anonimizacji, pozyskiwany będzie od współpracującej jednostki zagranicznej. Głównym badaczem jest Prof. Eliabeth Castelanos reprezentującą Clinical Genomics Research Group, Program of Predictive and Personalized Medicine of Cancer (PMPPC), Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Barcelona, Spain oraz Clinical Genomics Unit, Clinical Genetics Service, Northern Metropolitan Clinical Laboratory, Germans Trias i Pujol University Hospital (HUGTiP), Barcelona, Spain. Świadome zgody pacjenta zostały pobrane w ramach prowadzonych tam projektów, po uprzedniej akceptacji właściwej Komisji Bioetycznej. Badania funkcjonalne z wykorzystaniem indukowanych macierzystych komórek pluripotencjalnych (IPSC – induced pluripotent stem cells) wykonane zostaną na materiale pozyskanym w ramach współpracy z Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona), reprezentowanym przez dr Begoña Aran.

Materiał oryginalny do badań (próby oryginalne) przechowywane będą w Międzynarodowej Agencji Badawczej, gdzie wszystkie dane poddane są deidentyfikacji przed przekazaniem do badań naukowych. Próby wtórne (RNA, DNA) będą pozyskiwane, przechowywane i badane w Międzynarodowej Agencji Badawczej, a część specjalistycznych analiz wykonywana będzie w Uppsala University w Szwecji. Proponowane badanie jest poznawczo-porównawcze i nie stanowi zagrożenia dla zdrowia badanych osób.

W ramach współpracy naukowej część materiału biologicznego zgromadzona dla potrzeb Międzynarodowej Agencji Badawczej zostanie udostępniona na realizację własnych badań naukowych dla:

- dr hab. Anny Żaczek z Katedry Biotechnologii Medycznej GUMed,
- prof. dr hab. Jacka Witkowskiego – kierownika Katedry i Zakładu Fizjopatologii.

Cel 2) Poszukiwanie w tkance nienowotworowej PZMs predysponujących do powszechnie występujących nowotworów w tkance nienowotworowej.

Materiał: wg opisu powyżej, pobrany w trakcie realizacji Celu 1.

W celu identyfikacji (i) destabilizacji genomu i (ii) rzadkich wariantów sekwencyjnych, mutacji-kandydatów, zostaną wykonane: (i) całogenomowa ocena genetycznych rearanżacji strukturalnych i ekspresji genów z użyciem mikromacierzy aCGH+SNP oraz wysokoprzepustowego sekwencjonowania równoległego; (ii) celowane wysokoprzepustowe sekwencjonowanie równoległe znanych loci predyspozycji, oraz genów kierujących w somatycznym procesie rozwoju raka, ze szczególnym uwzględnieniem genów związanych z utrzymaniem stabilności genomu oraz genów kontrolujących cykl komórkowy; ponadto sekwencjonowanie obejmie również tzw. bliźny informacyjne w miejscach granicznych rearanżacji strukturalnych oraz analizę ekspresji genów metodą sekwencjonowania pojedynczych cząsteczek DNA i RNA w czasie rzeczywistym (Single Molecule Real-Time Sequencing, SMRT). Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

Cel 3) Utrata chromosomu Y w leukocytach krwi obwodowej jako przyczyna krótszego życia mężczyzn.

Materiał: wg opisu powyżej - pobrany w trakcie realizacji Celu 1 z tym, że analiza będzie ograniczona do leukocytów krwi obwodowej od mężczyzn z następującymi chorobami: rak prostaty, rak okrężnicy/odbytnicy, rak pęcherza moczowego, oraz z choroba Alzheimer'a. Dodatkowo do analiz planujemy włączyć materiał biologiczny tkanek mózgu pobranych od pacjentów z chorobą Alzheimera. Osobą koordynującą udostępnianie materiału do badań naukowych jest prof. Martin Ingelsson z Uniwersytetu w Uppsali. Poszczególne frakcje leukocytów zostaną wyodrębnione z użyciem na przykład cytometru przepływowego z sorterem komórek lub innych metod. Następnie zostaną wykonane analogiczne analizy jak w opisie metodyki Celu 2 powyżej. Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

Cel 4) Analizy funkcjonalne mutacji scharakteryzowanych w trakcie realizacji celów 2 i 3.

Materiał: wg opisu powyżej - pobrany w trakcie realizacji Celu 1 z tym, że ograniczony do hodowli pierwotnych in vitro komórek nabłonka oraz fibroblastów wyprowadzonych z prób nienowotworowej tkanki oraz skóry od pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem piersi, prostaty, okrężnicy/odbytnicy lub pęcherza moczowego (Cel 1).

Komórki z hodowli in vitro zostaną poddane stresowi replikacyjnemu, a następnie zostanie wykonana analiza konsekwencji stresu poprzez monitorowanie załamania widełek replikacyjnych, powstawania dwuniciowych pęknięć DNA, profilu transkryptomycznego mRNA/miRNA. Ponadto, analogiczne doświadczenia zostaną wykonane podczas różnicowania in vitro komórek progenitorowych (otrzymanych ze skóry/fibroblastów) do komórek nabłonka. Dodatkowo, w celach referencyjnych, zostaną podjęte próby modelowania i naprawy mutacji metodą CRISPR/Cas9 w komórkach z hodowli in vitro.

Dalsza analiza genetyczna będzie ograniczona do pacjentów wyselekcjonowanych podczas realizacji Celu 2, tj. ze stwierdzonymi mutacjami somatycznymi. Analizy genetyczne zostaną wykonane analogicznie jak analizy w opisie metodyki Celu 2 powyżej. Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

Cel 5) Opracowanie prototypów układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów chorób.

Na podstawie wyników badań otrzymanych w trakcie realizacji celów 1-4 zostaną przygotowane i zwalidowane prototypy prostych układów diagnostycznych do analiz PZMs jako biomarkerów raka i choroby Alzheimer'a. Od strony metodycznej zostanie wykorzystane celowane wysokoprzepustowe sekwencjonowanie równoległe oraz celowane mikromacierze aCGH+SNP. Ze względu na szybki rozwój technik analizy genomów, planowane jest użycie innych nowszych metod w miarę ich rozwoju.

c) badani: wiek, płeć, stan zdrowia

Wiek 18 - 85 lat

Obie płcie

d) kryteria włączenia

Podpisana zgoda na pobranie materiału do kolekcji Międzynarodowej Agencji Badawczej oraz ZMDL - BioBank

Rozpoznany rak piersi u kobiet, rak prostaty u mężczyzn, rak okrężnicy//odbytnicy wraz z przerzutami metachronicznymi, trzustki i pęcherza moczowego u obu płci. Rozpoznana

choroba Alzheimer'a u mężczyzn. Do badań nad jakością materiału biologicznego (wpływ zimniej ischemii na profil transkryptomyczny tkanki zdrowej) włączeni zostaną pacjenci zakwalifikowani do zabiegów bariatrycznych.

e) kryteria wyłączenia:

Brak zgody na pobranie materiału

f) liczebność grupy badanej

- W przypadku raka piersi u kobiet, raka prostaty u mężczyzn, raka okrężnicy/odbytnicy (także przerzutów metachronicznych), trzustki, pęcherza moczowego i nerki u obu płci – 500-800 pacjentów dla każdego wymienionego rozpoznania.
- W przypadku neurofibromatoz planowane jest pozyskanie materiału od 50 pacjentów z podejrzeniem lub ze zdiagnozowaną chorobą.
- Grupa kontrolna, około 400 osób. Osoby te będą rekrutowane przez zespół projektowy MAB oraz we współpracujących jednostkach szpitalnych, spośród osób, które przychodzą na rutynowe kontrole.
- W przypadku choroby Alzheimer'a – 1500 pacjentów.

f) miejsce wykonywania badań laboratoryjnych

Zakład Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej – Biobank, Gdański Uniwersytet Medyczny
<http://www.informator.gumed.edu.pl/335>

Międzynarodowa Agenda Badawcza, tzn. badania na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym oraz na Uniwersytecie w Uppsali.

Nie wykluczamy też możliwości badań naukowych w innych krajach, po nawiązaniu współpracy z dodatkowymi jednostkami naukowymi.

g) przewidywany okres przeprowadzania badań

60 miesięcy od dnia 1 września 2018 roku, z możliwością przedłużenia, w zależności od uzyskanych wyników i dalszego finansowania.