

# Forskningsnytt

I denne spalten vil ny, relevant forskning omkring krybbedød, dødfødsler og sorg omtales. Dersom det er spesielle problemstillinger du som leser av bladet ønsker få belyst, kan du sende inn ditt spørsmål til redaktør Line Schrader på line@lub.no.

**Ny studie om sammenhengen mellom krybbedød og svikt i immunsystemet:**

## Kan en feilregulering i cytokin-nettverket medvirke til krybbedød?

Tekst: Linda Ferrante Foto: Kristiane Myckland

Bakgrunnen for prosjektet er flere uavhengige observasjoner som tyder på at de krybbedødstilfellene som ikke kan forklares med kjente sykdomstilstander kan skyldes en forstyrret likevekt i immunsystemet og sentralnervesystemet (CNS). Det er påvist forhøyet interleukin-6 i hjernevæske hos omtrent halvparten av barna som dør i krybbedød. Disse har også immunstimulert slimhinne i strupen, og har dessuten forkjølelssymptomer de siste dagene før de døde. Man kan derfor tenke seg at barn som dør i krybbedød er mer sårbare overfor både infeksjoner og ulike miljøfaktorer enn andre barn, og at deres immunapparat reagerer uhensiktsmessig overfor slike stimuli. En mulighet er at en slik uhensiktsmessig immunreaksjon skyldes en feilregulering av cytokin-nettverket, et nettverk der de såkalte interleukinene utgjør en viktig bestanddel.

### Den fatale trekanten

Siden 1990 har krybbedødsforskningen ved Rettsmedisinsk institutt vært konsentrert rundt hypotesen om den ”fatale trekanten”. Denne modellen er basert på både kroppslige, biokjemiske og immunologiske funn; krybbedød skyldes en kombinasjon av et sårbart utviklingstrinn, predisponerende faktorer og utløserhendelser (figur 1). De genetiske variasjonene i krybbedød kan deles inn i to kategorier: mutasjoner som gir sykdom som kan føre til død og polymorfismer som er normale (ikke dødelige) genvarianter, men som i noen situasjoner kan være ugunstig. De predisponerende faktorene kan være en uheldig kombinasjon av mutasjoner og polymorfismer i gener som spiller en

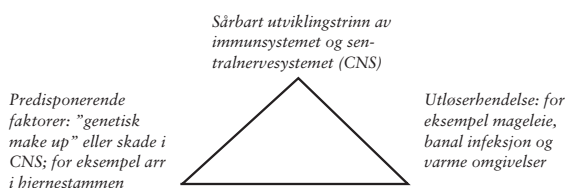


Fig. 1. Hypotesen om den «fatale trekanten» ved SIDS



Linda Ferrante og hennes kollegaer ved RMI benytter topp moderne teknologi i krybbedødsforskningen. Her holder hun en 3x2 cm liten mikromatrise der man kan undersøke så mye som 40 genområder og 384 genprøver på en gang.

viktig rolle for immunforsvaret og stoffskifteprosesser. Hvis barnet samtidig utsettes for risikofaktorer som mageleie, røyking eller overoppheting, kan dette utløse en fatal reaksjon som fører til døden.

Disse observasjonene retter oppmerksomheten mot det kompliserte samspillet mellom de ulike aktørene i immunforsvaret, og på en mulig feilregulering av cytokin-nettverket. Interleukiner er en gruppe proteiner som regulerer immunsvaret, ved at de virker som signalmolekyler mellom de ulike cellene i immunsystemet. De forskjellige interleukinene påvirker dessuten produksjonen av hverandre, og medvirker på denne måten til å regulere intensiteten og varigheten av immunresponsen. I dette prosjektet har vi valgt ut de 13 interleukinene vi tror kan være relevante i forhold til krybbedød og infeksjon, med det mål å studere genetiske forandringer som kan disponere for at cytokin-nettverket kommer ut av kontroll. Vi ønsker å kartlegge mutasjoner og polymorfismer i cytokin-gener i DNA fra krybbedødsfelle, for så å sammenligne disse funnene med observasjoner gjort både i barn som dør plutselig og uventet av en infeksjon, og i kontroller. Vi håper med dette å kunne påvise genetiske variasjoner som kan tenkes å disponere for en forstyrret likevekt i regulering av immunsvaret.

### MassARRAY-teknologi

Når et tilsynelatende friskt barn dør av en infeksjon i løpet av noen få timer kan dette skyldes en genetisk betinget, uhen-siktsmessig (for høy eller for lav) interleukinproduksjon. Vi vil undersøke om dette er tilfelle ved å se på forskjellige varianter av genene som koder for de viktigste interleukinene hos krybbedøde, infeksjonsdødsfall og kontroller. Disse undersøkelsene gjennomføres ved såkalt MassARRAY™ teknologi ved bruk av SEQUENOM® platform. Dette er en rask og effektiv måte å analysere genvariasjoner på og det er første gang vi bruker slik teknologi ved RMI.

Vi har designet en Multiplex analyse (et analyseoppsett hvor man kan studere mange genområder samtidig) for alle genområdene vi ønsket å undersøke. Ved at korte gensekvenser fester seg til DNA-tråden, kan vi ved å tilsette en kjemisk miks lese av viktig informasjon. Massen, den kjemiske miksen, blir lagt på en plate for å analyseres i forhold til hvilke genotyper prøvene innehar.

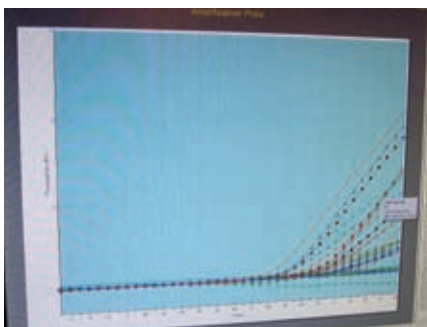
### TNF $\alpha$ og plutselig spedbarnsdød

TNF $\alpha$  er en av genvariantene vi har sett på med denne metoden. Genvarianter i genet for interleukinet TNF $\alpha$  er av stor interesse i mange forskningssammenhenger. Analyser av TNF $\alpha$ -genet tyder blant



Ferrante bruker RMIs Real-Time maskin til bl.a. å avdekke ulike genvarianter.

annet på at TNF $\alpha$  kan være viktig når det gjelder plutselig uventet spedbarnsdød. Det ble funnet at krybbedøde oftere hadde polymorfismen -238GG enn kontroller, det samme gjaldt genotypen -308GA. Det er imidlertid viktig å merke seg at dette er normale genvariasjoner, som ikke i seg selv er farlig. Genotypene ble også sett på i forhold til risikofaktorer. Vi fant at krybbedøde med feber før døden oftere hadde genvarianten -238AG, mens-1031CC ble oftere observert i barn som samsov. Vi vil på bakgrunn av disse observasjonene arbeide videre med TNF $\alpha$  genet ved å se på større deler av genet. Avdekkes det assosiasjon mellom en eller flere genvariasjoner og SIDS, vil vi gå videre og kartlegge en eventuell funksjonell effekt, samt eventuelt om dette er arvelig.



Kurvene som sees på skjermen viser genvariantene til de analyserte barna.

### Immunstimulering hos SIDS

I det videre studiet vil vi bruke SIDS tilfellene benyttet i genstudiene og kartlegge hvilke av disse som var immunstimulert. Dette gjør vi for å kunne se om de har en annerledes gensammensetning enn SIDS uten immunstimulering. Vi vil da se på snitt fra strupehodet (larynx- og epiglott-tisslimhinne) med hensyn til HLA-DR trykk. HLA-DR er en markør for at det har skjedd en immunstimulering, man kan godt tenke seg at det er likhetstrekk mellom krybbedøde med et aktivert

immunforsvar og barn som dør plutselig av en infeksjon.

Ut fra det vi ser i snittene kan gruppen av krybbedøde deles i to: de med og de uten immunstimulering. Ved så å sammenlikne genfunnene i disse gruppene kan man få enda større forståelse for betydningen av immunstimulering hos krybbedøde.

### Identifisere økt risiko

Vi håper at prosjektet kan gi økt forståelse for predisponerende faktorer både for plutselig uventede infeksjonsdødsfall og krybbedød. I tillegg er en slik kartlegging av interleukinsystemets polymorfismer av stor generell interesse når det gjelder forståelsen av infeksjonstilstander hos barn. Ulike genstudier kan imidlertid raskt reise spørsmålet om det er farlig at barnet blir forkjølet, og hva gjør vi da? Dersom prosjektet avdekker kombinasjoner av genetiske varianter som kan være med på å identifisere barn med økt risiko for plutselig uventet død, for eksempel på grunn av en infeksjon, kan det tenkes at slike barn i fremtiden kan tilbys tettere oppfølging.

Det er ennå langt igjen før vi har en full forståelse av samspillet mellom de tre hjørnene i den fatale trekanten. Vi vil jobbe videre for å få ytterligere svar på hvilken relevans de predisponerende faktorene som genene er, kan ha for krybbedød.

Cand. scient Linda Ferrante er ansatt ved Rettsmedisinsk Institutt, Rikshospitalet. Hun jobber for tiden med sin doktorgrad "Genetisk regulering av interleukinproduksjonen ved krybbedød og infeksjonsdødsfall".

Prosjektet er finansiert av:

