

## Biologický význam volně cirkulující DNA

Doc. RNDr. Marie Korabečná, Ph.D.

Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN

Skutečnost, že se v cirkulaci zdravých i nemocných osob nachází volná DNA (cell-free DNA – cfDNA) byla popsána již v roce 1948 (Mendel et Métais). Tento objev však zůstal dlouhou dobu zcela nepovšimnut. Fenomén volně cirkulující DNA se ocitl v centru pozornosti až po roce 1994 (Vasioukhin et al., Sorenson et al.), kdy se zrodil koncept tzv. “tekuté biopsie“ - v cfDNA byly nalezeny nádorově specifické mutace v onkogenu *RAS* a začalo být zřejmé, že analýza cfDNA u onkologických pacientů je schopna přinášet relevantní výsledky v oblasti onkologie. Objev fetální cfDNA v cirkulaci těhotných žen (Lo et al., 1997) dále podnítil vývoj metod založených na analýze cfDNA pro účely neinvazivní prenatální diagnostiky.

Analýza cfDNA je dnes prakticky využívána v onkologii, neinvazivní prenatální diagnostice a také pro monitorování transplantovaných pacientů - je sledován vývoj hladin cfDNA pocházejících z transplantátu. V kontrastu ke všem výše zmíněným diagnostickým aplikacím založených na analýze cfDNA stojí naše do značné míry fragmentární znalosti jejich biologických funkcí.

Volně cirkulující DNA může být dle současných znalostí generována nejrůznějšími mechanismy (např. apoptózou, nekrotózou, netózou, aktivní sekrecí), způsob vzniku pak do značné míry ovlivňuje paletu jejich epigenetických modifikací (methylace DNA, modifikace asociovaných histonů) a formu, v níž se v cirkulaci nachází (volná, ve formě jednotlivých nukleozomů, na povrchu membrán vezikulů, uvnitř vezikulů či exosomů). Volnou DNA nacházíme nejen v plazmě a séru, ale rovněž v širokém spektru dalších tělesných tekutin (sliny, moč, mateřské mléko, mozkomíšní mok atd.).

Plně nejsou objasněny procesy, jimiž je přítomnost cfDNA buňkami vnímána (zde hrají roli především TLR receptory, ale nejsou vyloučeny další mechanismy) a jak je schopna buňky ovlivňovat. Nezpochybnitelným je dnes význam cfDNA pro regulaci funkcí imunitního systému, kumulují se důkazy ve prospěch teorie genometastáz (cfDNA původem z nádoru může vstupovat do nenádorových buněk, začleňovat se do jejich genomu a způsobovat jeho instabilitu).

V rámci přednášky budou diskutovány výsledky prací uchazečky týkající se studia cfDNA - od prvních studií řešících praktické problémy neinvazivní prenatální diagnostiky ve smyslu stanovení pohlaví plodu a Rh inkompatibility mezi matkou a plodem přes soubor prací zabývajících se hladinami cfDNA a methylacemi promotorů vybraných genů u dialyzovaných pacientů až po regulaci funkcí imunitního systému cfDNA obsaženou v plazmě a séru zdravých dobrovolníků.

Výsledky studií budou prezentovány v kontextu současných poznatků.

Ve vztahu k fetální cfDNA se stalo například zřejmým, že přítomnost nemetylovaných sekvencí fetální cfDNA se podílí na regulaci délky těhotenství. Ve vztahu cfDNA a regulace funkcí imunitního systému byl popsán fenomén netózy (NET - Neutrophil Extracellular Trap) a objevily se práce studující roli tzv. G-kvadruplexů v regulaci imunitní odpovědi prostřednictvím cfDNA. Je známo, že tyto struktury je schopna vytvářet např. telomerická DNA, která je v cfDNA plazmy a séra zastoupena.

V závěru přednášky budou nastíněny konkrétní perspektivy dalšího studia biologického chování cfDNA a uvedeny příklady plánovaných experimentů.

### Vybrané publikace k tématu:

ZINKOVÁ, Alžběta, BRYNYCHOVÁ, Iva, SVAČINA, Alexandr, JIRKOVSKÁ, Marie, **KORABEČNÁ, Marie**. Cell-free DNA from human plasma and serum differs in content of telomeric sequences and its ability to promote immune response. *Sci Rep* 2017 Jun 1;7(1):2591. IF (2016) = 4,259

SVOBODOVÁ, Iveta, .., **KORABEČNÁ, Marie**. Performance of Droplet Digital PCR in non-invasive fetal *RHD* genotyping - comparison with a routine Real-Time PCR based approach. *PLoS One* 2015, vol. 10, no. 11: e0142572. IF (2015) = 3,057

**KORABEČNÁ, Marie**, OPATRŇNÁ, Sylvie, WIRTH, Jan, RULCOVÁ, Kamila, EISELT, Jaromír, ŠEFRNA, František, HORŇNEK, Aleš. Cell-free plasma DNA during peritoneal dialysis and hemodialysis and in patients with chronic kidney disease. *Ann NY Acad Sci*, 2008, no. 1137, pp. 296-301. IF (2008) = 1,731