

Patofyziologické aspekty extracelulárnej DNA

Doc. MUDr. Ing. RNDr. Peter Celec, DrSc., MPH

Ústav Molekulárnej Biomedicíny, Lekárska fakulta Univerzity Komenského

DNA sa v ľudských bunkách nachádza v jadre a v mitochondriách. Keď bunka umiera, dostáva sa DNA mimo bunky a voláme ju extracelulárna DNA (ecDNA). V odbornej literatúre dominuje výraz cell-free DNA, keďže sa táto DNA rutinne izoluje z krvnej plazmy a tá je bez buniek. Lenže in vivo ecDNA nie je „cell-free“. Naopak interaguje s množstvom buniek a minimálne tie imunitné ju rozpoznávajú pomocou rôznych DNA receptorov ako tzv. damage-associated molecular pattern. V závislosti od kontextu môže dôjsť kvôli ecDNA k indukcii sterilného zápalu.

EcDNA bola objavená a popísaná už tesne po 2. svetovej vojne, ale až jej znovuobjavenie po 50 rokoch prof. Dennisom Lo v plazme tehotných žien viedlo k jej využitiu v rutínnej neinvazívnej prenatalnej diagnostike. Onedlho môžeme očakávať širšie využitie v rámci univerzálneho skríningu rakoviny alebo monitorovania rejekcie transplantátov. Náš výskum je zameraný na biológiu ecDNA a jej prípadnú úlohu v patogenéze chorôb. V sérii klinických štúdií a experimentov na animálnych modeloch príslušných chorôb sme ukázali, že koncentrácia ecDNA je vyššia pri preeklampsii, metabolickom syndróme, sepse, ale aj pri hepatorenálnom poškodení. V experimentoch sme ukázali, že fetálna DNA neindukuje preeklampsii podobný fenotyp u myší. Odstránenie ecDNA deoxyribonukleázou (DNázou) však redukovalo mortalitu pri sepse a zmiernovalo toxické poškodenie pečene a obličiek. To indikuje, že ecDNA je súčasťou patogenézy aspoň použitých modelov chorôb.

Jedným zo zdrojov ecDNA sú extracelulárna pasce neutrofilov (NETs). Počas pandémie sme si uvedomili, že práve indukcia tvorby NETs môže byť zodpovedná za imunotrombózu pri ťažkom priebehu Covid-19. Keďže najdôležitejším klinickým rizikovým faktorom bol vysoký vek, porovnávali sme neutrofilu od geriatrických pacientov s neutrofilmi od detí, dospelých, ale aj od tehotných žien a pacientov s reumatoidnou artritídou. Zistili sme, že práve neutrofilu od starších pacientov vykazujú najvyššiu produkciu NETs pri stimulácii pomocou mitochondrií. In vitro testy ukázali, že tento fenomén je zrejme sprostredkovaný cez Toll-like receptor 9 a to opäť poukazuje na možnú úlohu ecDNA, špeciálne mitochondriálnej DNA v patogenéze sterilného zápalu.

Nie je úplne jasné, ako sa ecDNA metabolizuje, ale zrejme budú pri jej degradácii dôležité endogénne DNázy. Pri medzidruhovom porovnaní sme zistili, že experimentálne hľadavce majú v porovnaní s ľuďmi výrazne vyššiu DNázovú aktivitu. Ak napriek tomu pri niektorých modeloch chorôb má u myší a potkanov efekt exogénna DNáza, dá sa predpokladať, že u ľudí to bude ešte výraznejšie. Okrem toho sme ale zistili vysokú variabilitu endogénnej DNázovej aktivity ako u zvierat, tak u ľudí. To nás viedlo k hypotéze, že nízka endogénna DNázová aktivita bez dôsledkov za fyziologických okolností by mohla byť rizikovým faktorom pri chorobách asociovaných s vysokou ecDNA. V modeli hepatorenálneho poškodenia indukovaného tioacetamidom sa táto hypotéza potvrdila a zvieratá s vyššou bazálnou endogénnou DNázovou aktivitou mali o 25% nižšiu mortalitu.

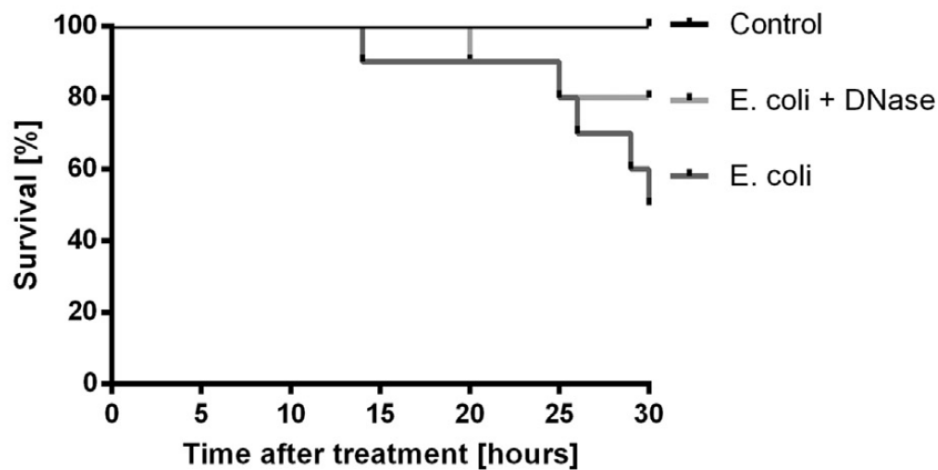
Koncentrácia celkovej, nukleárnej a mitochondriálnej ecDNA je veľmi nešpecifický marker, ktorého praktické využitie bude zrejme veľmi obmedzené. Dôkazy o význame ecDNA v patogenéze chorôb však pribúdajú a to z ecDNA robí naopak celkom sľubný terapeutický cieľ. DNáza I a upravená DNáza 113 sú testované v klinických štúdiách. O to dôležitejšie bude skúmať ďalšie charakteristiky ecDNA. Momentálne nie je jasné, aký význam má cirkulárna ecDNA, ecDNA asociovaná s vezikulami, prípadne, ako sú zastúpené krátke fragmenty, ktoré nie sú zachytené pomocou PCR ani sekvenovaním. Z patofyziologického hľadiska možno za neprebádanú považovať aj úlohu ecDNA v patogenéze metabolického syndrómu, obličkových chorôb alebo pri neurozápale. Je čo skúmať – máme čo robiť.

Vybrané najvýznamnejšie práce

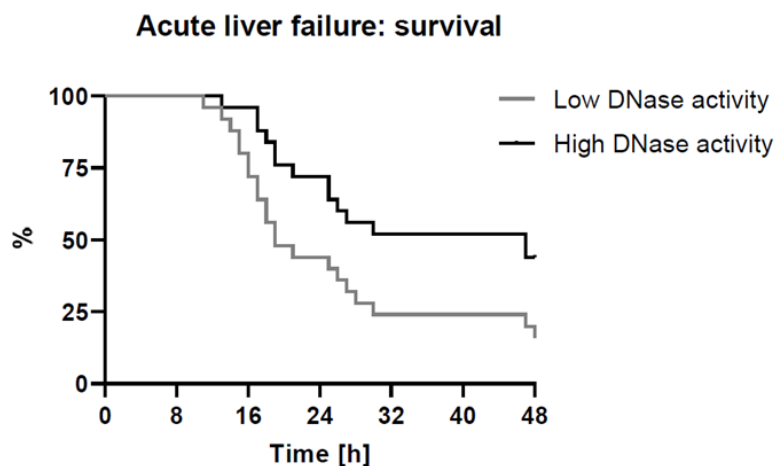
Vokálová L, Lauková L, Čonka J, Melišková V, Borbélyová V, Bábíčková J, Tóthová L, Hodosy J, Vlková B, **Celec P**. Deoxyribonuclease partially ameliorates thioacetamide-induced hepatorenal injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017 May 1;312(5):G457-G463. IF=3,3, Q2, 20 citácií podľa WoS

Celec P, Janovičová Ľ, Gurecká R, Koborová I, Gardlík R, Šebeková K. Circulating extracellular DNA is in association with continuous metabolic syndrome score in healthy adolescents. *Physiol Genomics*. 2021 Jul 1;53(7):309-318. IF=4,3, Q2, 6 citácií podľa WoS

Pastorek M, Konečná B, Janko J, Janovičová Ľ, Podracká Ľ, Záhumenský J, Šteňová E, Dúbrava M, Hodosy J, Vlková B, **Celec P**. Mitochondria-induced formation of neutrophil extracellular traps is enhanced in the elderly via Toll-like receptor 9. *J Leukoc Biol*. 2023 Nov 24;114(6):651-665. IF=5,5, Q2, 1 citácia podľa WoS



Prežívanie v modeli sepsy u myší liečených exogénnou deoxyribonukleázou.



Prežívanie myší v modeli poškodenia pečene závisí od endogénnej deoxyribonukleázovej aktivity.