

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0117-07****Infekcie močových ciest u detí z imunologického, genetického a mikrobiologického pohľadu**Zodpovedný riešiteľ **Doc. MUDr. Adriána Liptáková, PhD.**Príjemca **Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Imunologický ústav LF UK v Bratislave
2. Ústav Molekulárnej BioMedicíny LF UK, Bratislava
3. Ústav lekárskej mikrobiológie a klinickej mikrobiológie LF UPJŠ v Košiciach
4. I. Detská klinika, DFNSP Bratislava
5. III.DK SZU VsNsP Lučenec Fakulta zdravotníctva SZU Banská Bystrica
6. NefroSa s.r.o.Košice

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Tothova L, Hodosy J, Kamodyova N, Janega P, Slobodnikova L, Liptakova A, Boor P, Celec P: Bactofection with Toll-like receptor 4 in a murine model of urinary tract infection. Current Microbiology, 62(6): 1739-1742
2. Sapák M, Buc M, Bucová M, Čižnár P, Ďurmanová V, Homolová M, Liptáková A, Shawkatová I, Staneková D, Suchánková M: Vyšetrovacie metódy v imunológii. Vysokoškolské skriptá. Univerzita Komenského, 2011 ISBN 978-80-223-3028-2
3. Sádová E, Liptáková A: CD "ABC o IMC", 2011

4. Vlčková B, Szemes T, Minarik G, Tothová L, Drahořská H, Turna J, Celec P: Food-borne enterococci and their resistance to oxidative stress. Journal of Microbiology, manuscript in press
5. Tothová L, Celec P, Vlčková B, Babicková J, Gajdosová J, Al-Alami H, Kamodyová N, Drahořská H, Liptáková A, Turna J, Hodosy J: Phage therapy of Cronobacter-induced urinary tract infection in mice. Medical Science Monitor, manuscript in press
6. Článok v recenznom konaní: HRABOVSKÝ et al. : Expression of the cathelicidine gene in patients with urinary tract infection. Brazilian Journal of Microbiology.

Uplatnenie výsledkov projektu

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Akútna pyelonefritída predstavuje najzávažnejšiu formu infekcií močového traktu, spájajúcu sa s významnou morbiditou a vznikom neskorších komplikácií. Jej etiopatogenéza je ešte stále nedostatočne objasnená, a na významných inter-individuálnych rozdieloch vo vnímavosti k chorobe sa zrejme podieľajú aj genetické faktory hostiteľa. Vzhľadom na kľúčovú úlohu nešpecifickej imunity a neutrofilov pri odstraňovaní patogénov z močových ciest sa ako atraktívni kandidáti javia gény kódujúce prozápalové alebo protizápalové cytokíny a chemokíny. V našej asociačnej štúdií sme sa preto zamerali na skúmanie úlohy takmer 30 funkčných polymorfizmov v 16 génoch pre rôzne cytokíny, chemokíny, ich receptory a antagonistov, kedy sme zisťovali rozdiely v distribúcii aliel, genotypov a haplotypov jednotlivých polymorfizmov medzi viac ako 200 zdravými kontrolami a takmer 150 detskými pacientami s akútnou pyelonefritídou, ako aj medzi podsúbormi pacientov s epizodickou resp. rekurentnou APN. Výsledkom nášho výskumu bola identifikácia génových variánt v génoch pre CXCR1, CXCR2, IL-8 a IL-10, ktoré by sa mohli podieľať na vytváraní vnímavosti k APN alebo naopak na protekcii pred chorobou. Kým v prípade génov pre CXCR1 a IL-8 ide o replikáciu výsledkov zatiaľ ojedinelých štúdií v zahraničnej literatúre, u polymorfizmov v génoch pre CXCR2 a IL-10 ide o originálne a doposiaľ nepublikované asociácie, ktorých skutočný význam následne musia potvrdiť ďalšie štúdie v iných kaukazoidných populáciách. Výsledky štúdie by sa v budúcnosti mohli okrem iného stať aj základom pre identifikáciu pacientov so zvýšeným rizikom vzniku rekurencií po prekonaní prvého ataku APN, príp. pre vyhľadávanie jedincov so zvýšeným rizikom vzniku APN medzi príbuznými pacientov s opakovanými pyelonefritídami.

Katelicidin LL-37 je kationický, α -helixatný, amfipatický peptid. Patri do rodiny antimikrobiálnych peptidov a spolu s ostatnými členmi rodiny je považovaný za "prirodzene antibiotikum" vyskytujúce sa v živom organizme. Táto štúdia hodnotila expresiu katelicidinového génu (camp) u pacientov s infekciou močového traktu. Z močového sedimentu boli odseparované leukocyty a v uroepitelových bunkách bola expresia katelicidinového génu camp stanovená Real Plex RT - PCR systémom založenom na metode $\Delta\Delta CT$ pomocou monoplexnej analýzy, využitím Tagman sondy a Housekeeping gapdh eukaryotického ľudského génu. U pacientov s infekciou močového traktu bolo pozorované zvýšenie aktivity katelicidinového génu (camp). Výsledky naznačujú, že imunologická aktivita ľudských uroepitelialnych buniek je stimulovaná prítomnosťou mikroorganizmov a prispieva v obrane voči rôznym uropatogenom. Bol zavedený animálny model infekcie močových ciest a pripravený kmeň na baktófeckiu TLR4. V pokuse sme ukázali efektívnosť preventívnej aplikácie baktófeckie TLR4 na kolonizáciu obličiek, ako aj na zápalové markery a markery oxidačného stresu v obličkách.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Acute pyelonephritis is the most severe form of urinary tract infections, and is associated with substantial morbidity and risk of late complications including renal scarring and end-stage renal disease. Its etiopathogenesis is still not well understood, and marked inter-individual differences in susceptibility to the infection are likely due to host genetic factors. Considering the crucial role of innate immune mechanisms, including neutrophils, in the clearance of pathogens invading the urinary tract, genes encoding pro- and anti-inflammatory cytokines and chemokines are attractive candidates for participation on genetic susceptibility. Therefore, we conducted an association case-control study to investigate the role of almost 30 functional polymorphisms in 16 different genes encoding various cytokines, chemokines, their receptors or antagonists in predisposition to the disease. We compared the differences in allele, genotype and haplotype distribution of polymorphisms between more than 200 healthy controls and almost 150 pediatric patients with acute pyelonephritis, as well as between both patient subgroups with episodic or recurrent forms of infection. As a result, we identified gene variations within genes for CXCR1, CXCR2, IL-8 and IL-10 as those contributing to susceptibility to APN or participating on the protection, respectively. In this way, we managed to confirm results of previous 2 studies reporting the association of CXCR1 and IL-8 polymorphisms, respectively, with susceptibility to APN. On the other hand, our results on CXCR2 and IL-10 genes are original and the real importance of their polymorphisms requires replication in independent samples from other populations. Our results may provide future basis for identification of patients at higher risk to develop recurrences after their first episode of APN, or for detection of susceptible first-degree relatives of patients suffering from recurrent APN. This study evaluated the expression of the cathelicidin gene (camp) in patients with urinary tract infection (UTI). Conventional culture-based assays were performed for identification of microbial pathogens in urine samples. Real-time PCR with CAMP Taqman probe and housekeeping human GAPDH gene were used for relative quantification of the camp expression in the cells obtained from the urine sediment. In all cases with confirmed UTI the relative expression of camp was higher compared to the reference. Our data show that the increase of camp activity is associated with the microbial presence in the urinary tract. An animal model of urinary tract infection was established and a strain was prepared for bacteriofection of TLR4. In an experiment we have shown the effectivity of preventive application of TLR4 bacteriofection on the colonization of kidneys, as well as on inflammatory markers and markers of oxidative stress in the kidneys..

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Doc. MUDr. Adriána Liptáková, PhD.

V Bratislave 30.7.2011

Štatutárny zástupca príjemcu

Prof. MUDr. Peter Lobaš, PhD.

V Bratislave 30.7.2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu