

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0505****Biologické aspekty extracelulárnych nukleových kyselín pri zápale hrubého čreva**Zodpovedný riešiteľ **RNDr. MUDr. Roman Gardlík, PhD.**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Lekárska fakulta**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Univerzita Komenského v Bratislave  
Lekárska fakulta

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Harvard Medical School, USA

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

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

Oxidative stress in the oral cavity is driven by individual-specific bacterial communities. NPJ Biofilms and Microbiomes; 2018; Džunková M, Martinez-Martinez D, Gardlík R, Behuliak M, Janšáková K, Jiménez N, Vázquez-Castellanos JF, Martí JM, D'Auria G, Bandara HMHN, Latorre A, Celec P, Moya A; 4:29.

Extracellular DNA is increased in dextran sulphate sodium-induced colitis in mice. Folia Biologica (Praha); 2018; Maronek M, Gromova B, Liptak R, Klimova D, Cechova B, Gardlík R; 64:167-172.

Cell-Free Nucleic Acids and their Emerging Role in the Pathogenesis and Clinical Management of Inflammatory Bowel Disease. International Journal of Molecular Sciences. Kubiritova Z, Radvanszky J, Gardlík R. 2019; 20(15).

Reverse phenotype transfer via fecal microbial transplantation in inflammatory bowel disease. Medical Hypotheses. Liptak R, Gromova B, Maronek M, Gardlík R. 2019; 122:41-44.

Extracellular DNA is Increased in Dextran Sulphate Sodium-Induced Colitis in Mice. Folia Biologica. Maronek M, Gromova B, Liptak R, Klimova D, Cechova B, Gardlík R. 2018; 64(5-6):167-172.

Gardlík R, Tothova L, Konecna B, Tomova K, Leskova Z, Hlavaty T. Extracelulárna DNA ako potencionalny prognostický a terapeutický marker u pacientov so zápalovým ochorením čreva – rozšírený súbor. Ružinovský gastroenterologický deň. 19. októbra 2019.

Suchonova M, Lassova E, Gardlík R, Celec P. Neinvazívne sledovanie krvi v stolici v experimentálnom modeli kolitídy. Ružinovský gastroenterologický deň, 19. októbra 2019.

Gardlík R, Maronek M, Liptak R, Gromova B, Cechova B. The role of extracellular DNA in

the pathogenesis of DSS-induced colitis in mice. Digestive Disease Week (DDW). San Diego, CA, MAY 18-21, 2019. Gastroenterology 156(6) Suppl 1, Abstract Mo1119.

Marônek M, Link R, Monteleone G, Gardlík R, Stolfi C. Viruses in Cancers of the Digestive System: Active Contributors or Idle Bystanders? Int J Mol Sci. 2020; 21(21):8133.

Laudisi F, Marônek M, Di Grazia A, Monteleone G, Stolfi C. Repositioning of Anthelmintic Drugs for the Treatment of Cancers of the Digestive System. Int J Mol Sci. 2020; 21(14):4957.

Maronek M, Link R, Ambro L, Gardlik R. Phages and Their Role in Gastrointestinal Disease: Focus on Inflammatory Bowel Disease. Cells. 2020; 9(4):1013.

Vrablicova Z, Tomova K, Tothova L, Babickova J, Gromova B, Konecna B, Liptak R, Hlavaty T, Gardlik R. Nuclear and Mitochondrial Circulating Cell-Free DNA Is Increased in Patients With Inflammatory Bowel Disease in Clinical Remission. Front Med (Lausanne). 2020; 7:593316.

Harshe RP, Xie A, Vuerich M, Frank LA, Gromova B, Zhang H, Robles RJ, Mukherjee S, Csizmadia E, Kokkotou E, Cheifetz AS, Moss AC, Kota SK, Robson SC, Longhi MS. Endogenous antisense RNA curbs CD39 expression in Crohn's disease. Nat Commun. 2020; 11(1):5894.

Džunková M, Lipták R, Vlková B, Gardlík R, Čierny M, Moya A, Celec P. Salivary microbiome composition changes after bariatric surgery. Sci Rep. 2020; 10(1):20086.

Liptak R, Gromova B, Gardlik R. Fecal microbiota transplantation as a tool for therapeutic modulation of non-gastrointestinal disorders. Front Med (Lausanne). 2021; accepted for publication.

Gardlik R, Suchonova M, Tothova L, Konecna B, Pastorek M, Gromova B, Pasztor S, Budis J, Radvanszky J, Machala M. The use of plasma activated water in a mouse model of colitis. 8th International Conference on Plasma Medicine, Incheon, Korea. August 3-6, 2021. Invited lecture.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Poznatky získané počas riešenia projektu sú aplikovateľné do ďalšieho výskumu zameraného na objasnenie patogenézy zápalových črevných chorôb. Svedčia o tom aj citácie na doterajšie výstupy projektu. Okrem základného výstupu sú však výsledky využiteľné aj v klinickom výskume zameranom na terapiu zápalových črevných chorôb, úlohu mikrobioty a s tým spojenú fekálnu mikrobiálnu transplantáciu. Okrem toho tvoria výstupy projektu základný racionálny rámec pre ďalšie projekty, ale aj nové spolupráce a doktorandské a diplomové témy.

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

Popísali sme dynamiku ecDNA, jej podtypov (nukleárna a mitochondriálna DNA) a aktivity DNázy v rôznych štádiách experimentálnej kolitídy, pričom sme ukázali, že množstvo neutrofilových extracelulárnych pascí narastá so zvyšujúcou sa závažnosťou choroby. Koncentrácie niektorých typov ecDNA korelovali s markermi závažnosti choroby. Preštudovali sme molekulárne mechanizmy účinku ecDNA pomocou inhibítorov NETózy (streptonigrín a chloramidín). Čiastočný terapeutický efekt bol prezentovaný aj vizuálne pomocou unikátnej kolonoskopie.

Ďalej sme popísali koncentrácie celkovej, nukleárnej a mitochondriálnej DNA ako aj aktivitu DNázy v plazme pacientov so zápalovými črevnými chorobami. Navyše sme ukázali aj pohlavné rozdiely v nukleárnej, no nie v mitochondriálnej DNA a prezentovali sme negatívnu koreláciu medzi aktivitou DNázy a koncentráciou nukleárnej DNA špecificky u mužských pacientov. Unikátnym poznatkom bolo, že koncentrácie niektorých typov ecDNA sú vyššie aj u pacientov s IBD v remisii, čiže bez klinických prejavov choroby.

Preštudovali sme aj mechanizmus transplantácie fekálnej mikrobioty a popísali takzvaný transfer reverzného fenotypu. V rámci spolupráce so zahraničným pracoviskom sme ukázali, že silencing antisense RNA proti CD39 vedie k upregulácii CD39 a zmierneniu závažnosti choroby, čo môže predstavovať potenciálny terapeutický prístup v liečbe IBD. V priebehu riešenia projektu sme napísali viacero prehľadových článkov súvisiacich s témou IBD, ktoré ponúkajú ucelený a kritický pohľad na nové možnosti terapie vychádzajúcej z aktuálnych poznatkov o patofyziológii IBD. Písali sme o črevnom viróme, o úlohe bakteriofágov a metaloproteináz, o repozícii protiparazitických liečiv, či o možnostiach

fekálnej mikrobiálnej transplantácie pri IBD, ale aj iných chorobách.

Niektoré plánované aktivity sa nám však z dôvodu pandémie nepodarilo skompletizovať do skončenia projektu. Ide hlavne o použitie knock-out myší (TLR9 KO myši) pre štúdium mechanizmov ecDNA a aplikáciu bakteriálneho transferu génov kódujúcich DNázy ako možnosti experimentálnej terapie IBD zameranej na odstránenie ecDNA priamo v čreve. Vzhľadom na to, že tieto aktivity sú súčasťou širšieho zamerania výskumu na našom pracovisku, budú postupne realizované v období po oficiálnom skončení riešenia projektu.

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

We have described the dynamics of ecDNA, its subtypes (nuclear and mitochondrial DNA) and DNase activity at different stages of experimental colitis, showing that the number of neutrophil extracellular traps increases with increasing disease severity. Concentrations of some types of ecDNA correlated with disease severity markers. We studied the molecular mechanisms of action of ecDNA using NETosis inhibitors (streptonigrin and chloramidine). The partial therapeutic effect was also presented visually using a unique colonoscopy. We also described the concentrations of total, nuclear and mitochondrial DNA as well as the DNase activity in the plasma of patients with inflammatory bowel diseases. In addition, we showed gender differences in nuclear but not mitochondrial DNA and presented a negative correlation between DNase activity and nuclear DNA concentration specifically in male patients. The unique finding was that the concentrations of some types of ecDNA are higher even in patients with IBD in remission, i.e. without clinical manifestations of the disease. We also studied the mechanism of fecal microbiota transplantation and described the so-called reverse phenotype transfer. In collaboration with a foreign institution, we have shown that silencing antisense RNA against CD39 leads to upregulation of CD39 and alleviation of disease severity, which may represent a potential therapeutic approach in the treatment of IBD.

During the project, we wrote several review articles related to the topic of IBD, which offer a comprehensive and critical view of new treatment options based on current knowledge about the pathophysiology of IBD. We wrote about the intestinal virome, the role of bacteriophages and metalloproteinases, the repositioning of antihelminthic drugs, or the possibilities of fecal microbial transplantation in IBD, but also other diseases. However, due to the pandemic, we were not able to complete some of the planned activities by the end of the project. It is mainly the use of TLR9 knock-out mice to study the mechanisms of ecDNA and the application of bacterial transfer of genes encoding DNases as an option for experimental IBD therapy aimed at removing ecDNA directly in the gut. Due to the fact that these activities are part of a broader focus of research at our workplace, they will be gradually implemented in the period after the official end of the project.