



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0287

Neinvazívne a predsa nevyužívané markery obličkových funkcií: problémy, príčiny a príležitosti

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Ľubomíra Tóthová, PhD.**

Príjemca

Univerzita Komenského v Bratislave - Lekárska fakulta

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav Molekulárnej Biomedicíny, Lekárska Fakulta Univerzita Komenského v Bratislave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Department of Clinical Science, Intervention and Technology-CLINTEC, Karolinska Institutet, Sweden

Department of Clinical Medicine, University of Bergen, Bergen, Norway

Department of Nephrology, University Clinic of the RWTH Aachen, Germany

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

Žiadne

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

1. Gyurászová M, Gurecká R, Bábíčková J, Tóthová Ľ. Oxidative Stress in the Pathophysiology of Kidney Disease: Implications for Noninvasive Monitoring and Identification of Biomarkers. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Jan 23;2020:5478708. doi: 10.1155/2020/5478708. (Q2, 66 citácií WoS)
2. Kovalčíková AG, Pavlov K, Lipták R, Hladová M, Renczés E, Boor P, Podracká Ľ, Šebeková K, Hodosy J, Tóthová Ľ, Celec P. Dynamics of salivary markers of kidney functions in acute and chronic kidney diseases. *Sci Rep*. 2020 Dec 4;10(1):21260. doi: 10.1038/s41598-020-78209-1. (Q1, 4 citácie WoS)
3. Homolová J, Janovičová Ľ, Konečná B, Vlková B, Celec P, Tóthová Ľ, Bábíčková J. Plasma Concentrations of Extracellular DNA in Acute Kidney Injury. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Mar 11;10(3):152. doi: 10.3390/diagnostics10030152. (Q2, 6 citácií WoS)
4. Jančuška A, Potočárová A, Kovalčíková AG, Podracká Ľ, Bábíčková J, Celec P, Tóthová Ľ. Dynamics of Plasma and Urinary Extracellular DNA in Acute Kidney Injury. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 21;23(6):3402. doi: 10.3390/ijms23063402. (Q1, 2 citácie WoS)
5. Gaál Kovalčíková A, Janovičová Ľ, Hodosy J, Bábíčková J, Vavrincová-Yaghi D, Vavrínek P, Boor P, Podracká Ľ, Šebeková K, Celec P, Tóthová Ľ. Extracellular DNA concentrations in various aetiologies of acute kidney injury. *Sci Rep*. 2022 Oct 7;12(1):16812. doi: 10.1038/s41598-022-21248-7. (Q1, 0 citácií WoS)

Uplatnenie výsledkov projektu

Predložený projekt mal charakter základného výskumu. Poznatky získané počas jeho riešenia sú aplikovateľné do ďalšieho výskumu zameraného na včasnú diagnostiku obličkových chorôb, ale tiež na hlbšie objasnenie patogenézy týchto chorôb. Dôležitým výstupom sú optimalizované protokoly pre odber a spracovanie slín za účelom stanovenia močoviny a kreatinínu, zavedený protokol pre odber a spracovanie moča pre analýzu extracelulárnej DNA (jej kvantifikácia, fragmentácia) pri obličkovom zlyhávaní. Naše výstupy sú dobre využiteľné aj v klinickom výskume zameranom na včasnú diagnostiku a terapiu obličkových chorôb. O uplatnení našich výsledkov hovorí nová nadviazaná zahraničná spolupráca s vedecko-klinickým pracoviskom na Karolinska Institutet (Švédsko), ale svedčia o tom aj citačné ohlasy na publikované výstupy projektu. Okrem toho počas riešenia projektu sme vytvorili hypotézy a návrhy pre ďalšie štúdie/projekty, ale aj nové domáce či zahraničné spolupráce, doktorandské a diplomové témy.

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

Predložený projekt mal tri hlavné ciele, ktoré sa nám podarilo počas doby riešenia projektu aj naplniť.

Cieľ 1. Validácia kandidátnych markerov v slinách a moči na klinických vzorkách
Z výsledkov série klinických, ako aj animálnych experimentov sme ukázali, že vybrané markery oxidačného statusu sú merateľné v slinách aj moči. Popísali sme, že u zdravých jedincov koncentrácie markerov obličkových funkcií - močoviny a kreatinínu - v slinách sú veľmi nízke (pod detekčným limitom), avšak sú spoľahlivo merateľné u pacientov s obličkovým zlyhávaním. Ďalej sa nám podarilo validovať nový marker - extracelulárnu DNA. Na základe týchto výsledkov považujeme tento cieľ za splnený.

Cieľ 2. Definovať technickú a biologickú variabilitu biomarkerov v slinách a moči
Preštudovali sme viaceré faktory biologickej a technickej variability spomínaných biomarkerov. Spracovaním vzoriek od zdravých dobrovoľníkov sme zistili, že muži aj ženy majú mimoriadne vysokú intra- aj inter-individuálnu variabilitu meraných markerov. Ďalšie štúdie sú potrebné na detailné objasnenie týchto výsledkov.

Z technických príčin variability sme zistili, že zmrazenie a spôsob spracovania (centrifugácia) vzoriek patria k najvýznamnejším faktorom, ktoré ovplyvňujú koncentrácie daných markerov v slinách aj moči. Súhrnne, výsledky výskumu viedli k zavedeniu štandardizovaného protokolu pre odber a spracovanie moču/slín za účelom ich diagnostického využitia. Aj tento cieľ preto považujeme za splnený.

Cieľ 3. Popísať dynamiku biomarkerov v slinách a moči na rôznych modeloch obličkových chorôb

Prostredníctvom viacerých experimentálnych modelov zlyhávania obličiek sme zistili, že pri zlyhávaní obličiek kreatinín a močovina v slinách stúpa. Na druhej strane, tento nárast koncentrácií v slinách je v porovnaní s plazmou zaznamenaný neskôr, preto sa nedá hovoriť o včasných markeroch. Experimentálne výsledky sa nám podarilo potvrdiť aj v klinickej štúdii u pacientov s poškodením obličiek. Napriek tomu je možné tieto markery použiť na neinvazívne domáce sledovanie pacientov vo vyšších štádiách renálneho poškodenia. Popísali sme tiež dynamiku extracelulárnej DNA aj jej podtypov v plazme aj moči počas progresie obličkového zlyhávania. Koncentrácie niektorých jej typov korelovali so závažnosťou/progresiou ochorenia. Zaujímavým zistením je, že extracelulárna DNA je zvýšená v moči v závislosti od etiopatogenézy poškodenia obličiek. Aj tento cieľ považujeme za splnený.

V priebehu riešenia projektu sme najdôležitejšie výsledky spísali do viacerých impaktovaných publikácií.

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

The submitted project had three main aims, which we managed to achieve during the project period.

Aim 1. Validation of candidate markers in saliva and urine on clinical samples

From the results of a series of clinical as well as animal experiments, we have shown that selected markers of oxidative status are measurable in both saliva and urine. We have

described that the concentrations of the markers of renal function - urea and creatinine - in saliva are very low (below the detection limit) in healthy subjects, but are reliably measurable in patients with renal failure. Furthermore, we were able to validate a new marker - extracellular DNA. Based on these results, we consider this aim to be fulfilled.

Aim 2. To define the technical and biological variability of candidate biomarkers in saliva and urine

We have studied several factors of biological and technical variability of the selected biomarkers. By processing samples from healthy volunteers, we found that both men and women have extremely high intra- and inter-individual variability of the measured markers. Further studies are needed to elucidate these results in detail.

Among the causes of technical variability, we found that freezing and sample processing (centrifugation) are the most important factors affecting the concentrations of the markers in both saliva and urine. In summary, the results of our research have led to defining the standardized protocol for the collection and processing of urine/saliva for diagnostic use. We, therefore, consider this objective to have been met as well.

Aim 3. To describe the dynamics of biomarkers in saliva and urine in different models of kidney disease

Through several experimental models of renal failure, we have found that salivary creatinine and urea increase in renal failure. On the other hand, this increase in salivary concentrations is recorded later compared to plasma, so salivary creatinine and urea could not serve as early markers of renal failure. We were able to confirm these results also in a clinical study of patients with renal impairment. Nevertheless, these markers can be used for non-invasive home monitoring of patients in higher stages of renal impairment.

We have also described the dynamics of both extracellular DNA and its subtypes in plasma and urine during the progression of renal failure. Concentrations of some of its types correlated with disease severity/progression. An interesting finding is that extracellular DNA is increased in urine depending on the etiopathogenesis of renal damage. We consider this objective to have been met as well.

During the presented project, the most important results were summarized and published in several impacted manuscripts.