



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0366

Význam NETózy v etiopatogenéze reumatoidnej artritídy

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Barbora Vlková, PhD.**

Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Lekárska fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav molekulárnej biomedicíny
Lekárska fakulta
Univerzita Komenského V Bratislave
Sasinkova 4
811 08 Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

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

1.
Sex differences in long-term effects of collagen-induced arthritis in middle-aged mice. Schuh BM, Macáková K, Feješ A, Groß T, Belvončíková P, Janko J, Juskanič D, Hollý S, Borbélyová V, Šteňová E, Pastorek M, Vlková B, Celec P. Front Physiol. 2023 Jun 28;14:1195604. doi: 10.3389/fphys.2023.1195604.
2.
The dynamics of extracellular DNA associates with treatment response in patients with rheumatoid arthritis. Macáková K, Illésová J, Mlynáriková V, Lesayová A, Konečná B, Vlková B, Celec P, Šteňová E. Sci Rep. 2022 Dec 6;12(1):21099. doi: 10.1038/s41598-022-23954-8.
3.
Biological Anti-TNF- α Therapy and Markers of Oxidative and Carbonyl Stress in Patients with Rheumatoid Arthritis. Šteňová E, Bakošová M, Lauková L, Celec P, Vlková B. Oxid Med Cell Longev. 2021 Dec 22;2021:5575479. doi: 10.1155/2021/5575479.

Uplatnenie výsledkov projektu

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

Cieľ 1 Pomocou neintervenčnej klinickej štúdie overiť a kvantifikovať markery NETózy vrátane extracelulárnej DNA u pacientov s RA.

Výsledky kvantifikácie NETov potvrdzujú informácie z odbornej literatúry, ktorá popisuje NETy ako dôležitú zložku zápalu pri RA. Podľa našich výsledkov je koncentrácia NETov vyššia u naivných pacientov v porovnaní s pacientami, ktorým bola podávaná biologická protizápalová liečba, po nastavení liečby sme zistili ich mierny pokles. V ďalších krokoch projektu sme analyzovali príčiny, ktorá môže prispievať k zvýšenej tvorbe NETov.

Cieľ 2 Popísať mechanizmy vedúce k NETóze pomocou in vitro testov na neutrofiloch a sledovania zmien indukovaných biologickou protizápalovou liečbou.

Neutrofily od naivných pacientov s RA sú náchylnejšie na produkciu NETov, ale zároveň plazma od naivných pacientov s RA obsahuje induktory, ktoré podnecujú neutrofily zdravých jedincov k NETóze. Interakcia nadbytočných plazmatických induktorov a hypersenzitivity neutrofilov spôsobuje zvýšenú NETózu pri RA.

Výsledky teda potvrdzujú, že NETy sú vo veľkej miere zapojené do patogenézy RA.

Potrebné sú ďalšie experimenty a štúdie, ktoré objasnia circulus vitiosus, ktorý je prítomný u RA pacientov. Nie je zrejmé, či samotné NETy sú induktormi sterilného zápalu v RA alebo je smer zápalu opačný a zápal je induktorom NETov.

Cieľ 3 V animálnych modeloch RA testovať terapeutický, resp. preventívny efekt modulácie dôsledkov NETózy vrátane odstraňovania extracelulárnej DNA.

RA ako komplexná choroba predstavuje veľkú výzvu na výber resp. dizajn animálneho modelu. Pracovali sme publikovanými modelmi CIA a CAIA. CAIA model predstavuje rýchly model, ktorý je indukovaný monoklonálnymi protilátkami voči kolagénu II. typu. Tento akútny model RA bol využitý na sledovanie inhibítorov NETózy a taktiež na sledovanie aplikácie plazmidu, kódujúceho DNázu, ktorá bola podaná za účelom zníženia ecDNA a tým k zníženiu prejavov artritídy na modelových organizmoch. Aplikácie látok viedli k zníženiu reumatoidného skóre určeného pre animálne modely u hlodavcov ale rozvoju RA nezabránili.

Pozitívnym výstupom z animálnych modelov RA je pozorovanie pohlavných rozdielov, nakoľko využitie samíc alebo samcov príslušného kmeňa nemá vplyv na samotné prejavy artritídy a samice dosahujú takmer identické RA skóre ako samci. Prevalencia RA u ľudí je až trojnásobne častejšia u žien ako u mužov, ale odborná literatúra popisuje RA modely primárne na samcoch.

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

Objective 1 Using a non-interventional clinical trial, to validate and quantify markers of NETosis including extracellular DNA in RA patients.

The results of NET quantification confirm the information from the literature, which describes NETs as an important component of inflammation in RA. According to our results, the concentration of NETs is higher in naïve patients compared to patients who were given biological anti-inflammatory treatment, we found a slight decrease after setting up the treatment. In the next steps of the project, we analyzed the causes that may contribute to the increased formation of NETs.

Aim 2 To describe the mechanisms leading to NETosis using in vitro tests on neutrophils and monitoring changes induced by biological anti-inflammatory treatment.

Neutrophils from naïve RA patients are more prone to produce NETs, but at the same time, plasma from naïve RA patients contains inducers that stimulate neutrophils from healthy subjects to NETosis. The interaction of excess plasma inducers and neutrophil hypersensitivity causes increased NETosis in RA.

Thus, the results confirm that NETs are largely involved in the pathogenesis of RA. Further experiments and studies are needed to clarify the circulus vitiosus that is present in RA patients. It is not clear whether NETs themselves are inducers of sterile inflammation in RA or whether the direction of inflammation is reversed and inflammation is the inducer of NETs.

Objective 3 In animal models of RA, test therapeutic or the preventive effect of modulating the consequences of NETosis, including the removal of extracellular DNA.

RA as a complex disease presents a great challenge for the selection or design of an animal

model. We worked with published CIA and CAIA models. The CAIA model represents a rapid model that is induced by monoclonal antibodies to collagen II. type. This acute RA model was used to monitor NETosis inhibitors and also to monitor the application of a plasmid encoding DNase, which was administered in order to reduce ecDNA and thereby reduce the manifestations of arthritis in model organisms. The applications of the substances led to a reduction in the rheumatoid score determined for animal models in rodents, but did not prevent the development of RA.

A positive result of RA animal models is the observation of gender differences, as the use of females or males does not affect the manifestations of arthritis and females achieve almost identical RA scores to males. The prevalence of RA in humans is up to three times more common in women than in men, but the literature describes RA models primarily in males.