

Received: 2014.04.10
Accepted: 2015.03.18
Published: 2015.05.17

Długość telomerów i transrenalne DNA izolowane z moczu biorców nerki przeszczepionej*

Telomere length and transrenal DNA isolated from transplanted kidney recipients' urine

Karolina Kłoda¹, Arleta Drozd², Ewa Borowiecka¹, Leszek Domański¹

¹Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

²Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Streszczenie

Transplantacja, ze względu na lepszą jakość i wydłużenie długości życia pacjentów, jest preferowaną metodą leczenia schyłkowej niewydolności nerek. Poszukuje się nieinwazyjnego badania oceniającego ryzyko wystąpienia ostrego i przewlekłego odrzucania oraz pogorszenia funkcji przeszczepionego narządu. Obserwowano wzrost stężenia transrenalnego DNA w moczu u pacjentów z zakażeniem układu moczowego oraz u biorców nerki podczas epizodu ostrego odrzucania. Pojawiły się także doniesienia o skracaniu się telomerów w chromosomach przeszczepionego narządu, jako skutku przyspieszonego starzenia się komórek i ich związku z wystąpieniem przewlekłej nefropatii przeszczepu i stopnia jej zaawansowania, a tym samym pogorszenia funkcji nerki. Celem pracy jest przybliżenie zastosowania analizy genetycznej moczu przez określenie długości telomerów oraz zawartości transrenalnego DNA do monitorowania funkcji nerki, a także oceny występowania ostrego i przewlekłego odrzucania u pacjentów po przeszczepieniu nerki. Analiza genetyczna materiału wiąże się z określeniem zawartości transrenalnego DNA oraz długości telomerów DNA izolowanego z moczu biorców nerki. Zaprezentowane metody zakładają oznaczenie profilu genetycznego zarówno biorcy przeszczepionego narządu, jak i dawcy nerki, dzięki któremu można zidentyfikować źródło materiału genetycznego w moczu pacjenta. Wymiernym efektem stosowania tych metod mogłoby być uzupełnienie oceny występowania ostrego i przewlekłego odrzucania oraz funkcji przeszczepionych nerek o nowoczesną, nieinwazyjną metodę badawczą, jaką jest analiza długości telomerów z osadu moczu i zawartości transrenalnego DNA w moczu.

Słowa kluczowe:

biorca nerki • transplantacja • transrenalne DNA • telomery

Summary

Transplantation is the preferred method of end stage renal insufficiency treatment due to better quality of life and extended life of transplanted patients. Currently a non-invasive test, which evaluates the risk of acute or chronic rejection or deterioration of the transplanted organ's function, is being sought. An increase of the transrenal DNA concentration in the urine of urinary tract infection patients and in renal graft recipients during an episode of acute rejection was observed. There were also reports on shortening of telomeres in transplanted organ chromosomes, as the result of accelerated aging of cells, and its connection with the onset of chronic allograft nephropathy and the degree of its completion, and thus the deterioration of kidney function. The aim of this paper is to describe the urine genetic analysis through determining the length of the telomeres and the content of transrenal DNA to monitor kidney function and to

*Praca finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2013-2015 jako projekt badawczy nr rej. N N402 487739.

	evaluate the prevalence of acute and chronic rejection in patients after kidney transplantation. The genetic analysis of the biological material collected from patients relies on the determination of transrenal DNA content and length of DNA telomeres isolated from the urine of kidney recipients. The presented methods assume that the genetic profile of the transplanted organ recipient as well as kidney donor can be determined, so the source of the genetic material in the urine of the patient can be identified. A measurable effect of these methods' use would be to complement the evaluation of the prevalence of acute and chronic rejection and transplanted kidney function with a modern, non-invasive method, which is the analysis of telomere length from sediment of urine and the content of transrenal DNA in the urine.
Key words:	kidney recipient • transplantation • transrenal DNA • telomeres
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1153083
Word count:	1602
Tables:	–
Figures:	–
References:	40

Adres autorki: dr n. med. Karolina Kłoda, Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych PUM w Szczecinie, ul. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin; e-mail: wikarla@gazeta.pl

WSTĘP

Transplantacja jest preferowaną metodą leczenia schyłkowej niewydolności nerek ze względu na lepszą jakość i wydłużenie długości życia pacjentów [6]. Sukces zabiegu, wyrażony funkcjonowaniem narządu po przeszczepieniu, zależy od wielu czynników immunologicznych i nieimmunologicznych [4]. Wymienia się wśród nich: wiek dawcy i biorcy, zgodność antygenów tkankowych (HLA), czas zimnego niedokrwienia, uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne, opóźnione podjęcie funkcji przez nerkę przeszczepioną (DGF), zastosowane leczenie immunosupresyjne, infekcje, czynniki genetyczne i wiele innych [12,13,17,34]. Nadal jednak patogeneza występowania ostrego i przewlekłego odrzucania oraz utraty funkcji przez nerkę przeszczepioną nie została w pełni wyjaśniona, nie ma nieinwazyjnego badania, które mogłoby ocenić ryzyko wystąpienia ostrego i przewlekłego odrzucania czy pogorszenia funkcji przeszczepionego narządu. Dlatego poszukuje się miarodajnych metod analizy czynników immunologicznych i nieimmunologicznych, w tym związanych ze starzeniem się, w celu maksymalnego wydłużenia przeżywalności nerki przeszczepionej.

Odkrycia ostatnich lat dowodzą obecności w moczu transrenalnego DNA, pochodzącego zarówno z obumarłych komórek biorcy, jak i komórek przeszczepionego narządu. Obserwowano wzrost stężenia transrenalnego DNA w moczu u pacjentów z zakażeniem układu moczowego oraz u biorców nerki podczas epizodu ostrego odrzucania [9,10]. Powstały też doniesienia na temat skracania się telomerów w chromosomach przeszczepionego narządu jako skutku przyspieszonego starzenia się

komórek. Zauważono związek skracania się telomerów z wystąpieniem przewlekłej nefropatii przeszczepionej nerki oraz stopnia jej zaawansowania, a tym samym pogorszenia funkcjonowania narządu [15]. Badania pilotażowe wykazały, że średnia długość telomerów izolowanych z moczu pozwala określić poziom upośledzenia funkcji nerek, wyrażony przez współczynnik filtracji kłębuszkowej u osób z nefropatią IgA [35]. Niedawne doniesienia potwierdziły związek między długością telomerów izolowanych z krwi obwodowej a funkcją nerek u osób z objawami dysfunkcji nerek, przy przewlekłej chorobie niedokrwiennej serca [37].

TELOMERY

Telomery są strukturami umiejscowionymi na końcach chromosomów eukariotycznych [39]. Ich rolą funkcjonalną jest zabezpieczenie przed degradacją chromosomów oraz utrzymanie integralności i stabilności genomu [20]. Telomerowe DNA składa się z sekwencji tandemowych nukleotydów (TTAGGG). Funkcja ochronna telomerów zależy od wielu czynników: odpowiedniej kompozycji białek związanych z telomerami (TRAF1, TRAF2, Ku86), poziomu aktywności telomerazy czy też długości telomerów. Liczba podziałów komórek somatycznych jest ograniczona określoną liczbą cykli (limit Hayflicka). Skrócenie telomerów następuje podczas każdego podziału komórkowego o 50-200 bp, przy braku aktywnej telomerazy [39]. Krótkie telomery przyczyniają się do niestabilności chromosomów, co powoduje utratę informacji genetycznej. Po osiągnięciu krytycznej długości telomerów, komórka z niezaburzonym mechanizmem podziału ulega apoptozie. Gdy z różnych przyczyn komórka ma zdolność odtwarzania telomerów, nabiera cech nieśmiertelnych – prekursora



się w komórkę rakową [30]. Po wykorzystaniu potencjału replikacyjnego może się także zatrzymać w fazie G1 (*cellular senescence*). Komórka nie odpowiada wówczas na zewnętrzną stymulację do podziałów, jednak zachowuje aktywność metaboliczną i może się przyczynić do powstania procesu zapalnego [3].

Molekularny mechanizm powodujący, że erozja telomerów limituje potencjał proliferacyjny komórki nie jest jeszcze znany. Jedną z hipotez zakłada, że bardzo krótkie telomery są niezdolne do przyłączania białek telomerycznych [15]. Dane literaturowe wskazują na istnienie kilku jednonukleotydowych polimorfizmów (SNP), zaangażowanych w genetyczną regulację długości telomerów u ludzi. Scharakteryzowano *loci* cech ilościowych (QTL) na chromosomach 14q23.2 i 12q12.22 [1,38]. Mangino i wsp. zidentyfikowali polimorfizm rs2630778 w genie *BICD1* w regionie chromosomu 12 [18]. Ci sami autorzy wskazują na istnienie jednonukleotydowych polimorfizmów rs2162440 i rs7235755 umiejscowionych na chromosomie 18q12.2 [19]. Związek z aktywnością enzymu oraz długością telomerów przypisuje się również tranzykcji T na C w pozycji -1327 w podjednostce enzymu telomerazy (hTERT) rs 2735940 [14]. Potwierdzili to Matsubara i wsp. po zaobserwowaniu mniejszej aktywności enzymu telomerazy, a w związku z tym, krótszych telomerów u osób z genotypem -1327 CC [20].

TRANSRENALNE DNA

Transrenalne DNA jest pozakomórkowym materiałem genetycznym, uwolnionym z obumierających komórek całego organizmu, dlatego jest określane mianem postapoptycznego DNA [33]. Można je wykryć w krwi każdego człowieka, ale wyniki wielu badań wykazały, że część materiału genetycznego pokonuje barierę, jaką są błębuszki nerkowe i pojawia się w moczu [10]. Istnieją doniesienia o jego obecności u pacjentów z guzami okrężnicy i trzustki (w badanym transrenalnym DNA wykazano mutacje charakterystyczne dla danych typów nowotworu), wykazano obecność płodowego materiału genetycznego w moczu ciężarnych kobiet, a także wyizolowano DNA dawcy w moczu biorców nerek [9,32]. W moczu znajdowano również materiał genetyczny wirusów, bakterii oraz pasożytów zakażonych nimi pacjentów [5,11]. Publikowano pojedyncze doniesienia o potencjalnej możliwości zastosowania analizy obecności transrenalnego DNA w moczu do monitorowania ciężkości przebiegu chorób infekcyjnych, wykluczania wad wrodzonych u płodu, diagnostyki nowotworów czy oceny funkcji przeszczepionego narządu [36]. Jednak mimo wysokiego potencjału, jaki ma analiza transrenalnego DNA w moczu, istnieje niewiele testów laboratoryjnych opartych na tej metodzie. Jest to spowodowane ograniczoną długością transrenalnego DNA oraz stopniowym i jeszcze niepełnym rozwojem sposobów wykrywania materiału genetycznego w moczu oraz jego analizy. Pojawiają się jednak coraz nowsze publikacje dotyczące skutecznej amplifikacji nawet bardzo krótkich fragmentów DNA metodą PCR [23]. Tylko w jednej z powyższych publikacji oceniono przydatność obecno-

ści transrenalnego DNA w moczu biorców przeszczepionej nerki jako wskaźnika procesu ostrego odrzucania [9].

POTENCJAŁ OZNACZANIA TRANSRENALNEGO DNA I DŁUGOŚCI TELOMERÓW

Transplantacja nerki, poza wydłużeniem przeżycia pacjentów o około 70% w porównaniu do osób dializowanych, pozwala na jakość życia zbliżoną do osób zdrowych [25]. W Polsce wykonuje się obecnie około tysiąca przeszczepień nerki w ciągu roku [31]. Mimo skutecznego leczenia immunosupresyjnego i zapobiegania procesowi ostrego odrzucania, problemem pozostaje utrata funkcji i ograniczone przeżycie przeszczepionego narządu [16]. Rozwój diagnostyki i leczenia epizodów ostrego odrzucania oraz spadek śmiertelności na tle powikłań infekcyjnych przyczyniły się do stopniowej poprawy przeżywalności przeszczepionej nerki w pierwszym roku od transplantacji. W późniejszym okresie główną przyczyną wygaśnięcia funkcji narządu jest rozwój procesu przewlekłego odrzucania [25]. Istotne zatem jest zastosowanie nieinwazyjnego badania, jakim jest analiza moczu, pozwalającego określić ryzyko wystąpienia procesu odrzucania ostrego i przewlekłego oraz pogarszania się funkcji nerki przeszczepionej, prowadzącej do narastania jej niewydolności i do utraty narządu. Określenie funkcji nerki u osób po przeszczepieniu oraz wczesne rozpoznanie pogorszenia jej czynności ma wpływ na wcześniejsze podjęcie terapii i w rezultacie stwarza szanse na dłuższe przeżycie organu [6]. Pomiar długości telomerów i transrenalnego DNA, wykonane podczas rutynowego badania moczu, bez narażania pacjenta na dodatkowe ryzyko, może spełnić warunek nieinwazyjności.

Potwierdzono związek wielu chorób nowotworowych i nienowotworowych (nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa) z długością telomerów czy aktywnością telomerazy [21,24,28,29]. Parametry te mogą służyć także jako marker diagnostyczny, ponieważ wykazano związek między długością telomerów a przeżywalnością kobiet z rakiem piersi [7]. Zaobserwowano także korelację między długością telomerów a pogorszeniem funkcji nerek czy też starzeniem się nerki. Różnice obserwowano zarówno między rdzeniem a korą nerek, jak i wiekiem pacjenta [8,15,22]. Nie są jednak znane mechanizmy prowadzące do pogorszenia funkcji nerek. Najprawdopodobniej, w odpowiedzi na czynniki stresowe komórki nerkowe (mezzangium) ulegają procesowi naprawy podczas nasilonej replikacji. Następstwem tego procesu jest skracanie się telomerów, które wpływają na przedwczesne starzenie się komórek nerkowych zaangażowanych w postępujący proces zapalny [8]. W procesie nasilonego starzenia się komórek nerkowych wielu autorów upatruje przyczynę przewlekłego odrzucania przeszczepionej nerki. Badacze zaobserwowali znaczną utratę długości telomerów, niecharakterystyczną dla podziału komórkowego, poprzedzającą odrzucanie przeszczepionej nerki [15]. Z naukowego i praktycznego punktu widzenia interesujące wydaje się wykorzystanie istniejącego stanu wiedzy na temat telomerów u osób po przeszczepieniu nerki.

Celem wielu projektów badawczych, w tym prowadzonych przez autorów, jest zastosowanie analizy moczu przez określenie długości telomerów oraz zawartości transrenalnego DNA do monitorowania funkcji nerki oraz oceny występowania ostrego i przewlekłego odrzucania u pacjentów po przeszczepieniu nerki [27]. Doniesienia literaturowe wskazują na istnienie co najmniej czterech SNP zaangażowanych w dynamikę regulacji długości telomerów [18,19,20]. Są to: polimorfizm regionu promotorowego podjednostki telomerazy hTERT⁻¹³²⁷ C (rs 2735940), polimorfizm genu *BICD1* (rs2630578), polimorfizm dwóch loci na chromosomie 18q12.2 w regionie analogicznym do genu *VPS34/PIKC3C* u drożdży (rs2162440 i rs7235755). Związki powyższych polimorfizmów z długością telomerów i funkcjonowaniem nerki przeszczepionej zostały potwierdzone przez autorów w badaniach wstępnych.

Materiałem biologicznym odpowiednim do badań genetycznych zarówno długości telomerów w komórkach, jak i transrenalnego DNA jest mocz. W przypadku pacjentów po przeszczepieniu nerki, komórki dawcy i biorcy mieszają się w drogach moczowych. Dlatego konieczne jest określenie długości telomerów zarówno dawcy (materiał pobrany podczas biopsji nerki), jak i biorcy (próbka krwi lub wymaz z wewnętrznej części policzka) w celu oznaczenia indywidualnego profilu genetycznego. Taką analizę można wykonać za pomocą stosowanych standardowo w medycynie sądowej zestawów do identyfikacji osobniczej (AmpFSTRYfiler PCR Amplification Kit), opartych na analizie polimorfizmów loci STR. Również oznaczenie zawartości transrenalnego DNA można wykonać przez identyfikację polimorfizmów loci STR dla DNA dawcy i biorcy przeszczepu. Do analizy transrenalnego DNA można zastosować metodę zaproponowaną przez Zhanga i wsp. wykorzystującą porównanie ilości i stosunku amplikonów genu *SRY* do genu β -globiny przez analizę fluorescencji [40]. Ocena polimorfizmów wykazujących związek z długością telomerów może być wykonana za

pomocą gotowych zestawów wykorzystujących sondy molekularne znakowane fluorescencyjnie. Analiza zmienności jest wówczas przeprowadzona automatycznie przez analizę fluorescencji. O'Callaghan i wsp. zaproponowali określenie długości telomerów metodą ilościowego PCR w czasie rzeczywistym (quantitative Real-Time PCR) [26]. Jest to modyfikacja metody opracowanej przez Cawthona i wsp [2]. Pomiar średniej długości telomerów według tych autorów polega na obliczeniu różnicy między próbą badaną a referencyjnym DNA (amplifikacja genu 36B4). Wyznaczenie długości telomerów w badanej próbce określa się na podstawie współczynnika T/S, gdzie T odpowiada ilości produktu telomerowego DNA, a S ilości DNA referencyjnego. Modyfikacje O'Callaghana i wsp. dotyczą głównie wyznaczania krzywej wzorcowej, względem której jest obliczana bezwzględna długość telomerów. Badana wartość jest średnią z trzech powtórzeń. Metoda pozwala na bardzo dokładne oszacowanie długości telomerów w badanej próbce.

PODSUMOWANIE

Pomiary zawartości transrenalnego DNA oraz długości telomerów z komórek obecnych w moczu mogą się stać nowymi i szybkimi metodami diagnostycznymi, umożliwiającymi monitorowanie funkcjonowania przeszczepionej nerki. Mogłyby umożliwić wczesną ocenę występowania epizodów ostrego odrzucania oraz odrzucania przewlekłego. Porównanie wyników z czynnością przeszczepionego narządu pozwoliłoby na analizę znaczenia immunologicznego obecności transrenalnego DNA w moczu biorców nerki. Praktycznym wymiarem zastosowania oznaczeń długości telomerów i transrenalnego DNA w moczu jest rozszerzenie zakresu obecnie stosowanych narzędzi diagnostycznych o metody nieinwazyjne, monitorujące funkcjonowanie nerki przeszczepionej. Jest to istotne dla poprawy przeżycia narządu oraz jego biorcy dzięki diagnostyce na bardzo wczesnym etapie rozpoczynającego się procesu chorobowego.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Andrew T., Aviv A., Falchi M., Surdulescu G.L., Gardner J.P., Lu X., Kimura M., Kato B.S., Valdes A.M., Spector T.D.: Mapping genetic loci that determine leukocyte telomere length in a large sample of unselected female sibling pairs. *Am. J. Hum. Genet.*, 2006; 78: 480-486
- [2] Cawthon R.M.: Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res.*, 2002; 30: e47
- [3] Cawthon R.M., Smith K.R., O'Brien E., Sivatchenko A., Kerber R.A.: Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet*, 2003; 361: 393-395
- [4] Cecka J.M.: Kidney transplantation in the United States. *Clin. Transpl.*, 2008; 22: 1-18
- [5] Chan R.W., Szeto C.C.: Advances in the clinical laboratory assessment of urinary sediment. *Clin. Chim. Acta*, 2004; 340: 67-78
- [6] Domański L., Bobrek-Lesiakowska K., Kłoda K., Pawlik A., Safranow K., Kurzawski M., Wiśniewska M., Sulikowski T., Ciechanowski K.: Lack of association of the rs2476601 PTPN22 gene polymorphism with transplanted kidney function. *Ann. Transplant.*, 2011; 16: 63-68
- [7] Duggan C., Risques R., Alfano C., Prunkard D., Imayama I., Holte S., Baumgartner K., Baumgartner R., Bernstein L., Ballard-Barbash R., Rabinovitch P., McTiernan A.: Change in peripheral blood leukocyte telomere length and mortality in breast cancer survivors. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2014; 106: dju035
- [8] Ferlicot S., Durrbach A., Bâ N., Desvaux D., Bedossa P., Paradis V.: The role of replicative senescence in chronic allograft nephropathy. *Hum. Pathol.*, 2003; 34: 924-928
- [9] García Moreira V., Prieto García B., Baltar Martín J.M., Ortega Suárez F., Alvarez F.V.: Cell-free DNA as a noninvasive acute rejection marker in renal transplantation. *Clin. Chem.*, 2009; 55: 1958-1966
- [10] García Moreira V., Prieto García B., de la Cera Martínez T., Alvarez Menéndez F.V.: Elevated transrenal DNA (cell-free urine DNA) in patients with urinary tract infection compared to healthy controls. *Clin. Biochem.*, 2009; 42: 729-731
- [11] Green C., Huggett J.F., Talbot E., Mwaba P., Reither K., Zumla A.I.: Rapid diagnosis of tuberculosis through the detection of mycobacte-



rial DNA in urine by nucleic acid amplification methods. *Lancet Infect. Dis.*, 2009; 9: 505-511

- [12] Hamidian Jahromi A., Jalali G.A., Roozbeh J.: Impact of obesity on development of chronic renal allograft dysfunction. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.*, 2009; 20: 375-377
- [13] Heinze G., Oberbauer R., Kainz A., Mitterbauer C., Koppelstaetter C., Hörl W.H., Mayer G.: Calcineurin inhibitor-based immunosuppressive therapy, donor age, and long-term outcome after kidney transplantation. *Transplantation*, 2009; 87: 1821-1829
- [14] Horikawa I., Cable P.L., Afshari C., Barrett J.C.: Cloning and characterization of the promoter region of *human telomerase reverse transcriptase* gene. *Cancer Res.*, 1999; 59: 826-830
- [15] Joosten S.A., van Ham V., Nolan C.E., Borrias M.C., Jardine A.G., Shiels P.G., van Kooten C., Paul L.C.: Telomere shortening and cellular senescence in a model of chronic renal allograft rejection. *Am. J. Pathol.*, 2003; 162: 1305-1312
- [16] Kłoda K., Domanski L., Pawlik A., Kurzawski M., Safranow K., Ciechanowski K.: Effect of the ICAM1 and VCAM1 gene polymorphisms on delayed graft function and acute kidney allograft rejection. *Ann. Transplant.*, 2010; 15: 15-20
- [17] Kłoda K., Domański L., Pawlik A., Safranow K., Ciechanowski K.: The impact of ICAM1 and VCAM1 gene polymorphisms on long-term renal transplant function and recipient outcomes. *Ann. Transplant.*, 2013; 18: 231-237
- [18] Mangino M., Brouillette S., Braund P., Tirmizi N., Vasa-Nicotera M., Thompson J.R., Samani N.J.: A regulatory SNP of the *BICD1* gene contributes to telomere length variation in humans. *Hum. Mol. Genet.*, 2008; 17: 2518-2523
- [19] Mangino M., Richards J.B., Soranzo N., Zhai G., Aviv A., Valdes A.M., Samani N.J., Deloukas P., Spector T.D.: A genome-wide association study identifies a novel locus on chromosome 18q12.2 influencing white cell telomere length. *J. Med. Genet.*, 2009; 46: 451-454
- [20] Matsubara Y., Murata M., Yoshida T., Watanabe K., Saito I., Miyaki K., Omae K., Ikeda Y.: Telomere length of normal leukocytes is affected by a functional polymorphism of hTERT. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 341: 128-131
- [21] Maubaret C.G., Salpea K.D., Romanoski C.E., Folkersen L., Cooper J.A., Stephanou C., Li K.W., Palmén J., Hamsten A., Neil A., Stephens J.W., Lusis A.J., Eriksson P., Talmud P.J., Humphries S.E. i wsp.: Association of *TERC* and *OBFC1* haplotypes with mean leukocyte telomere length and risk for coronary heart disease. *PLoS One*, 2013; 8: e83122
- [22] Melk A., Ramassar V., Helms L.M., Moore R., Rayner D., Solez K., Halloran P.F.: Telomere shortening in kidneys with age. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2000; 11: 444-453
- [23] Melkonyan H.S., Feaver W.J., Meyer E., Scheinker V., Shekhtman E.M., Xin Z., Umansky S.R.: Transrenal nucleic acids: from proof of principle to clinical tests. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2008; 1137: 73-81
- [24] Morgan R.G., Ives S.J., Walker A.E., Cawthon R.M., Andtbacka R.H., Noyes D., Lesniewski L.A., Richardson R.S., Donato A.J.: Role of arterial telomere dysfunction in hypertension: relative contributions of telomere shortening and telomere uncapping. *J. Hypertens.*, 2014; 32: 1293-1299
- [25] Morris P.J., Knechtle S.J.: *Kidney transplantation: principles and practice*. Saunders-Elsevier, Philadelphia 2008
- [26] O'Callaghan N., Dhillon V.S., Thomas P., Fenech M.: A quantitative real-time PCR method for absolute telomere length. *Biotechniques*, 2008; 44: 807-809
- [27] Oetting W.S., Guan W., Schladt D.P., Wildebush W.A., Becker J., Thyagarajan B., Jacobson P.A., Matas A.J., Israni A.K.: Telomere length of recipients and living kidney donors and chronic graft dysfunction in kidney transplants. *Transplantation*, 2014; 97: 325-329
- [28] Ornish D., Lin J., Chan J.M., Epel E., Kemp C., Weidner G., Marlin R., Frenda S.J., Magbanua M.J., Daubenmier J., Estay I., Hills N.K., Chainani-Wu N., Carroll P.R., Blackburn E.H.: Effect of comprehensive lifestyle changes on telomerase activity and telomere length in men with biopsy-proven low-risk prostate cancer: 5-year follow-up of a descriptive pilot study. *Lancet Oncol.*, 2013; 14: 1112-1120
- [29] Richter T., von Zglinicki T.: A continuous correlation between oxidative stress and telomere shortening in fibroblasts. *Exp. Gerontol.*, 2007; 42: 1039-1042
- [30] Rodier F., Kim S.H., Nijjar T., Yaswen P., Campisi J.: Cancer and aging: the importance of telomeres in genome maintenance. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2005; 37: 977-990
- [31] Rutkowski B., Kaliciński P., Śledziński Z., Wujtewicz M., Mielecka A.: Wytyczne dotyczące zasad zgłaszania kwalifikacji i przygotowania zmarłych dawców do pobrania narządów. *Via Medica, Gdańsk* 2009, 3-11
- [32] Shekhtman E.M., Anne K., Melkonyan H.S., Robbins D.J., Warsol S.L., Umansky S.R.: Optimization of transrenal DNA analysis: detection of fetal DNA in maternal urine. *Clin. Chem.*, 2009; 55: 723-729
- [33] Su Y.H., Wang M., Block T.M., Landt O., Botezatu I., Serdyuk O., Lichtenstein A., Melkonyan H., Tomei L.D., Umansky S.: Transrenal DNA as a diagnostic tool: important technical notes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004; 1022: 81-89
- [34] Süsal C., Döhler B., Sadeghi M., Ovens J., Opelz G.: HLA antibodies and the occurrence of early adverse events in the modern era of transplantation: a collaborative transplant study report. *Transplantation*, 2009; 87: 1367-1371
- [35] Szeto C.C., Poon P.Y., Lai F.M., Chow K.M., Szeto C.Y., Li P.K.: Chromosomal telomere shortening of kidney cells in IgA nephropathy by the measurement of DNA in urinary sediment. *Clin. Nephrol.*, 2005; 64: 337-342
- [36] Umansky S.R., Tomei L.D.: Transrenal DNA testing: progress and perspectives. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2006; 6: 153-163
- [37] van der Harst P., Wong L.S., de Boer R.A., Brouillette S.W., van der Steege G., Voors A.A., Hall A.S., Samani N.J., Wikstrand J., van Gilst W.H., van Veldhuisen D.J., MERIT-HF Study Group: Possible association between telomere length and renal dysfunction in patients with chronic heart failure. *Am. J. Cardiol.*, 2008; 102: 207-210
- [38] Vasa-Nicotera M., Brouillette S., Mangino M., Thompson J.R., Braund P., Clemitson J.R., Mason A., Bodycote C.L., Raleigh S.M., Louis E., Samani N.J.: Mapping of a major locus that determines telomere length in humans. *Am. J. Hum. Genet.*, 2005; 76: 147-151
- [39] Wysoczańska B.: Zachowanie długości telomerów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1319-1330
- [40] Zhang J., Tong K.L., Li P.K., Chan A.Y., Yeung C.K., Pang C.C., Wong T.Y., Lee K.C., Lo Y.M.: Presence of donor- and recipient-derived DNA in cell-free urine samples of renal transplantation recipients: urinary DNA chimerism. *Clin. Chem.*, 1999; 45: 1741-1746

 Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.