

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0273****Pilotná štúdia využiteľnosti mutačnej analýzy DNA tkanivových a tzv. tekutých biopsií v diagnostike a predikcii terapeutickje odpovede dvoch zhubných nádorových ochorení**Zodpovedný riešiteľ **prof., MUDr. Lukáš Plank, CSc.**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**Univerzita Komenského v Bratislave
Jeséniova lekárska fakulta
Martin
Slovensko**Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení**

žiadne

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. Plank L, Buzalkova V, Szepe P, Lasabova Z, Jasek K, Stanclova A, Minarik G, Suflarsky J. Gastrointestinal stromal tumor after tyrosine kinase inhibition therapy: a review of biopsies of 34 patients with clinically suspected relapse and/or progression of the tumor. *Neoplasma*. 2017;64(3):464-473. doi: 10.4149/neo_2017_319.
2. Jasek K, Kasubova I, Holubekova V, Stanclova A, Plank L, Lasabova Z. Epigenetics: an alternative pathway in GISTs tumorigenesis. *Neoplasma*. 2018;65(4):477-493. doi: 10.4149/neo_2018_170726N504.
3. Kašubová I, Holubeková V, Janíková K, Váňová B, Sňahničanová Z, Kalman M, Plank L, Lasabová Z. Next Generation Sequencing in Molecular Diagnosis of Lynch Syndrome - a Pilot Study Using New Stratification Criteria. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2018;61(3):98-102. doi: 10.14712/18059694.2018.125.
4. Malicherova B, Burjanivova T, Minarikova E, Kasubova I, Pecova T, Bobrovská M, Homola I, Lasabova Z, Plank L. Detection of driver mutations in FFPE samples from patients with verified malignant melanoma. *Neoplasma*. 2018 Aug 9. pii: 180115N31. doi:10.4149/neo_2018_180115N31. [Epub ahead of print]
5. Jasek K, Buzalkova V, Minarik G, Stanclova A, Szepe P, Plank L, Lasabova Z. Detection of mutations in the BRAF gene in patients with KIT and PDGFRA wild-type gastrointestinal stromal tumors. *Virchows Arch*. 2017 Jan;470(1):29-36. doi: 10.1007/s00428-016-2044-4.

Uplatnenie výsledkov projektu

V rámci projektu boli v jednotlivých pracovných balíkoch získané výstupu uplatniteľné ako v následnom klinickom výskume tak aj v rutinej klinicko-diagnostickej praxi. Dôležitým výstupom je biobanka vzoriek a súhrn detailných klinických údajov, pričom ako zber vzoriek tak aj klinických údajov naďalej pokračuje. To dáva dobrý predpoklad na realizáciu následných klinických štúdií a hodnotení získaných výsledkov z pohľadu potenciálu využiteľnosti získaných výsledkov pre budúce štatistické, asociačné, resp. korelačné analýzy, ktoré sú špecificky pre štúdium nádorových ochorení veľmi dôležité, pričom hodnotiace obdobie býva pri nádorových ochoreniach až 5 rokov. Vďaka projektu je teda možné spätne hodnotiť získané výsledky či doplniť a rozšíriť výsledky aj s výrazným odstupom času, predpokladom je však takémuto hodnoteniu predchádzajúca detailná analýza takýchto vzoriek. V projekte boli zavedené a zvalidované unikátne molekulárno-genetické postupy, medzi ktoré patria: celogenómové profilovanie cirkulujúcej DNA pre detekciu variantov typu CNV, ktoré predstavujú marker nádorových zmien, v organizme; panelové resekvenovanie umožňujúce detekciu nádorovo-špecifických zmien typu SNV analýzou cirkulujúcej DNA aj s ich kvantitatívnym a dynamickým hodnotením v čase, ktoré patria medzi personalizované metódy determinácie dynamiky nádorovo-špecifických zmien v organizme; digitálnej PCR založenej na analýze cirkulujúcej DNA, ktoré patria medzi ultrasenzitívne metódy determinácie personalizácie terapie nádorového ochorenia, špecificky u pacientov s KRK. Zároveň ako pridaná hodnota projektu bolo možné zistiť aké sú limitácie jednotlivých metód a klinickej validity ich výsledkov s ohľadom na neustály vývoj v oblasti klinického výskumu využitia tekutej biopsie u pacientov s nádorovými ochoreniami. Tieto limitácie sú rozhodujúce pri dizajne následných klinických štúdií, ktorých náplňou by malo byť predovšetkým rozšírenie analyzovaných súborov patientských vzoriek pre rôzne druhy nádorových ochorení, aby získané výsledky nadobudli potrebnú robustnosť a klinickú validitu a umožnila sa tak ich translácia do rutinej klinickej laboratórnej praxe.

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

V nadväznosti na úspešné naplnenie plánovaných cieľov projektu bola vytvorená rozsiahla biobanka a databáza klinických údajov obsahujúca viac ako 240 patientských vzoriek priamo využitých pri v projekte realizovaných analýzach. Zber vzoriek ako aj klinických údajov trvá aj naďalej a s potrebným časovým odstupom na ďalšie hodnotenie možných asociácií a korelácií medzi zistenými molekulárnymi markermi, klinickými parametrami ochorenia a zdravotného stavu pacientov zaradených do štúdie budú realizované ďalšie priebežné hodnotenia výsledkov. Počas projektu boli postupne do rutinej laboratórnej praxe zavedené nové laboratórne metódy umožňujúce detekciu nádorovo-špecifických zmien analýzou cirkulujúcej DNA, teda formou tzv. tekutej biopsie. S využitím v čase projektu dostupných poznatkov a metód bolo možné dosiahnuť pri cieľovej analýze senzitivitu detekcie nádorovo-špecifických zmien na úrovni do limitu ~1% nádorovo-špecifického signálu. Táto úroveň senzitivity bola dosiahnutá vďaka v projekte zavedeným laboratórnym ale aj bioinformatickým nástrojom umožňujúcim spracovanie a hodnotenie dát získaných prostredníctvom celogenómového sekvenovania s nízkym pokrytím, cieľného resekvenovania panelov génov a digitálnej PCR zameranej na klinicky relevantné mutácie prepojitelné s personalizáciou terapie u pacientov s nádorovými ochoreniami. Získané výsledky nami realizovanej pilotnej štúdie umožnili okrem úspešného naplnenia plánovaných cieľov aj vytvoriť odporúčania pre realizáciu následných rozsiahlejších klinických štúdií, ktoré by mali na tento projekt nadväzovať, resp. byť ich priamym pokračovaním a rozšíriť tak možnosti ich skorej translácie do rutinej laboratórnej a klinickej praxe.

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

Following the successful completion of the project's objectives, a comprehensive bio-bank and a clinical data database containing over 240 patient samples directly used in the project's analyzes were created. Sample as well as clinical data collection continues within the necessary time after original sample collection to be available for further evaluation of possible associations and correlations between identified molecular markers, clinical

parameters of the disease and the health status of the patients included in the study, further interim evaluations of the results will be carried out later on. During the project, novel laboratory methods have been introduced into routine laboratory practice to detect tumor-specific changes by analyzing circulating DNA, fluid biopsy. Using the available knowledge and methods at the time of the project, it was possible to achieve a sensitivity of tumor-specific changes at a level of ~ 1% of the tumor-specific signal in the targeted analysis. This level of sensitivity has been achieved thanks to the project's established laboratory and bioinformatics tools allowing the processing and evaluation of data obtained through low coverage whole genome sequencing, targeted resequencing of gene panels and digital PCR focused on clinically relevant mutations that are usable in personalization of therapy in patients with cancer diseases. The results obtained by our pilot study provided, in addition to successfully fulfilling the planned objectives, also list of recommendations to be implemented in the subsequent larger scale clinical studies that should follow the project, potentially performed as a direct follow-up to the pilot study, to extend the possibilities of their early translation into routine laboratory and clinical practice.

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

Zodpovedný riešiteľ

prof., MUDr. Lukáš Plank, CSc.

Štatutárny zástupca príjemcu

prof., RNDr. Karol Mičieta, PhD.

V dňa

V dňa

.....
Podpis zodpovedného riešiteľa

.....
Podpis štatutárneho zástupcu príjemcu