

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-16-0021****Úloha mikroRNA v karcinóme prsníka: biologický význam, ciele molekuly a signálne dráhy**Zodpovedný riešiteľ **doc. RNDr. Zuzana Danková, PhD.**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Jesseniova lekárska fakulta, Martin**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Laboratórium genomiky a prenatálnej diagnostiky, Martinské centrum pre biomedicínu, JLF UK v Martine

Gynekologicko-pôrodnícka klinika, Univerzitná nemocnica Martin a JLF UK v Martine

Chirurgická klinika a Transplantačné centrum, Univerzitná nemocnica Martin a JLF UK v Martine

Ústav patologickej anatómie, Univerzitná nemocnica Martin a JLF UK v Martine

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Bez oficiálneho zapojenia zahraničných partnerov.

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

Zatiaľ nie.

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

Počas realizácie projektu sa členovia RK podieľali na 27 vedeckých prácach publikovaných v zahraničných karentových časopisoch, 11 článkoch vydaných v zahraničných časopisoch registrovaných v databázach Web of Science alebo SCOPUS, 6 vedeckých prácach v domácich recenzovaných vedeckých zborníkoch, vydali 1 štúdiu charakteru vedeckej monografie v časopisoch a zborníkoch vydaných v zahraničí a napísali 1 vysokoškolské skriptá. Uvedené články mali spolu 458 ohlasov (396 o a 62 o2). Najviac citované boli prehľadové články (max. 78 ohlasov), výsledkové články mali zatiaľ najviac 2 ohlasy, hoci z nášho pohľadu sú tieto články väčším prínosom nakoľko prinášajú originálne výsledky. Príprava prehľadových článkov však poslúžila RK na získanie najnovších poznatkov a synkretizáciu vedeckých informácií.

Spomedzi publikácií by sme za tie s najväčším prínosom označili:

Danková, Zuzana - Žúbor, Pavol - Grendár, Marián - Zelinová, Katarína - Jagelková, - Šťastný, Igor - Kapinová, Andrea - Vargová, Daniela - Kasajová, Petra - Dvorská, - Kalman, Michal - Danko, Ján - Lasabová, Zora: Predictive accuracy of the breast cancer genetic risk model based on eight common genetic variants: The BACKSIDE study. Journal of Biotechnology. - č. 299 (2019), s. 1-7, IF (JCR) 2019=3,503, Ohlasy (2).

Holubeková, Veronika - Kolková, Zuzana - Grendár, Marián - Braný, Dušan - Dvorská, Dana - Šťastný, Igor - Jagelková, Marianna - Zelinová, Katarína - Samec, Marek - Mazuráková, Alena - Laučková, Zuzana - Kúdela, Erik - Bobrovská, Martina - Kalman, Michal - Žúbor, Pavol - Danková, Zuzana: Pathway analysis of selected circulating mirnas in plasma of breast cancer patients: A preliminary study. International journal of molecular sciences - Roč. 21, č. 19 (2020), s. [1-16], IF (JCR) 2020=5,924, Ohlasy (2).

Kapinová, Andrea - Kubatka, Peter - Golubnitschaja, Olga - Kello, Martin - Žúbor, Pavol - Solár, Peter - Péč, Martin: Dietary phytochemicals in breastcancer research: anticancer effects and potential utility for effective chemoprevention. Environmental Health and Preventive Medicine. Roč. 23, č. 1 (2018), s. [1-18], art. no. 36, IF (JCR) 2018=1.568, Ohlasy (78).

Kúdela, Erik - Samec, Marek - Koklesová, Lenka - Mazuráková, Alena - Kubatka, Peter - Kozubík, Erik - Rokos, Tomáš - Pribulová, Terézia - Kúdelová, Eva - Smolár, Marek - Biringer, Kamil: miRNA expression profiles in luminal a breast cancer implications in biology, prognosis, and prediction of response to hormonal treatment. International journal of molecular sciences. - Roč. 21, č. 20 (2020), s. [1-20], art. no. 7691, IF (JCR) 2020=5,924, Ohlasy (4).

Šťastný, Igor - Žúbor, Pavol - Kajo, Karol - Kubatka, Peter - Golubnitschaja, Olga - Danková, Zuzana: Aberrantly Methylated cfDNA in Body Fluids as a Promising Diagnostic Tool for Early Detection of Breast Cancer. Clinical Breast Cancer [elektronický dokument]. - Roč. 20, č. 6 (2020), s. e 711-e 722. IF (JCR) 2020=3.225, Ohlasy (6).

Žúbor, Pavol - Kubatka, Peter - Danková, Zuzana - Gondová, Alexandra - Kajo, Karol - Hatok, Jozef - Samec, Marek - Jagelková, Marianna - Krivuš, Štefan - Holubeková, Veronika - Bujňák, Ján, ml. - Laučková, Zuzana - Zelinová, Katarína - Šťastný, Igor - Nachajová, Marcela - Danko, Ján - Golubnitschaja, Olga: miRNA in a multiomic context for diagnosis, treatment monitoring and personalized management of metastatic breast cancer. Future Oncology [elektronický dokument]. - Roč. 14, č. 18 (2018), s. 1846-1866. IF (JCR) 2018=2,279, Ohlasy (12).

Žúbor, Pavol - Kubatka, Peter - Kajo, Karol - Danková, Zuzana - Poláček, Hubert - Bielik, Tibor - Kúdela, Erik - Samec, Marek - Mazuráková, Alena - Vlčaková, Dominika - Kulkovská, Tatiana - Šťastný, Igor - Holubeková, Veronika - Bujňák, Ján - Laučková, Zuzana - Büsselberg, Dietrich - Adamek, Mariusz - Kuhn, Walther - Danko, Ján - Golubnitschaja, Olga: Why the Gold Standard Approach by Mammography Demands Extension by Multiomics? Application of Liquid Biopsy miRNA Profiles to Breast Cancer Disease Management. International journal of molecular sciences. Roč. 20, č. 12 (2019), s. [1-31]. IF (JCR) 2019=4,556, Ohlasy (28).

Danková, Zuzana - Grendár, Marián - Dvorská, Dana - Braný, Dušan - Šťastný, Igor - Bobrovská, Martina - Balhárek, Tomáš - Žúbor, Pavol. miRNA profile of luminal breast cancer subtypes in Slovak women. Česká gynekologie. - Roč. 85, č. 3 (2020), s. 174-180. Radi by sme spomenuli aj vysokoškolské skriptá, ktoré autorsky napísal MUDr. Marek Smolár, PhD., MPH: Ochorenia prsníka, rok vydania 2021, s. 165, 8,25 AH. Dostupné online: <https://portal.jfmed.uniba.sk/autori.php?tid=139>.

Okrem vedeckých publikácií sme počas obdobia riešenia projektu pripravili 7 popularizačných aktivít a 2 elektronické dokumenty. V oblasti vzdelávania sme viedli 6 diplomových prác a 3 doktorandi úspešne ukončili a obhájili PhD. prácu.

Výstupy projektu zaujali domácich aj zahraničných pracovníkov a tak počas trvania projektu došlo k 3 vyvolaným domácim projektom a v roku 2021 sme podávali aj TRANSAN-ERA NET EU projekt. Okrem toho sme metodické vedomosti a skúsenosti z tohto projektu využili pri spolupráci na iných projektoch zameraných na bunkové línie, detskú celiaku a AML bunkové línie v spolupráci s BMC Bratislava. Okrem oficiálnych podaných projektov sme upevnili partnerstvo s University of Debrecen a s Clinomics Europe Ltd.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu prinášajú podrobnejšiu molekulárnu profiláciu podtypov karcinómu prsníka v zmysle špecifického zastúpenia jednotlivých SNP, metylácie CpG ostrovčekov a miRNA signatúry. Tieto nové poznatky by mohli byť po relevantnej validácii na nezávislých súboroch zakomponované do diagnostiky ochorenia karcinómu prsníka. Špecifickosť markerov pri rôznych stupňoch nádoru by mohli zaujať aj v prípade sledovania recidívy ochorenia, alebo poslúžiť na terapeutické epigenetické modifikovanie.

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

Hlavné výsledky projektu prinášajú komplexnú analýzu miRNA profilu tkaniva a plazmy vzoriek karcinómu prsníka (KP) ako časti OMICS medicíny komplexného manažmentu pacientok s týmto ochorením. Metódou microarray sme mohli sledovať expresiu všetkých 2549 miRNA, čím sme získali sady miRNA, ktoré sú viac alebo menej exprimované vo vzorkách KP, či už lúminálnych typov, alebo TNBC, v tkanive, alebo v plazme. Analýzy tkanív poukázali na 171 miRNA s vyššou expresiou a 136 s nižšou expresiou v súbore KP v porovnaní s kontrolnou skupinou. V plazmatických vzorkách sme detegovali nižší počet miRNA a výsledky sme validovali metódou RT PCR. Tieto miRNA majú viaceré biologické a molekulárne funkcie, ako zvýšenie bunkovej proliferácie a invazivity, regulácia bunkovej diferenciácie a migrácie, zapojenie sa do signálnej dráhy vaskulárneho endotelového rastu, vplyv na väzbu signálnych receptorov a rastových faktorov a iné.

Do molekulárnej profilácie KP sme pridali aj viaceré SNP so strednou penetranciou, ako FGFR2, MAP3K1, LSP1, CASP8 a FAS/FAS-L. Analýzy metylačného statusu CpG ostrovčekov 25 tumor supresorových génov poukázali predovšetkým na význam metylácií v génoch PAX5, PAX6, WT1 a CDH3. V žiadnej vzorke sme nezachytili metyláciu v génoch CDK2A, KLLN, MGMT, ATM, BRCA2, RB1, THBS-1, STK11. Metabolomické analýzy plazmy zachytili 22 metabolitov, pričom 10 metabolitov malo štatisticky významne znížené hodnoty v skupine žien s KP v porovnaní so zdravými kontrolami BCAA: leucín, izoleucín, valín, BCKA: ketoleucín, ketoizoleucín a ketovalín, alanín, pyruvát, histidín a frakcia lipoproteínov). Iba 3-hydroxybutyrát bol zvýšený u žien s KP. Teplotná mapa poukázala na koreláciu medzi BCAA a BCKA spolu s prepojením na pyruvát a alanín. Hodnoty ki-67 štatisticky významne korelovali s metabolitmi: alanín, citrát, tyrozín, glutamín, histidín a prolín.

Okrem nových vedeckých poznatkov projekt priniesol aj upevnenie spolupráce medzi UNM a JLF UK a zahraničnými partnermi, ktoré vyústilo aj do podania spoločných projektov a k nadviazaniu spolupráce s novými partnermi z Nemecka, Španielska a Turecka. Projekt zároveň priniesol nové možnosti a zvýšil zručnosti (aj mladých) vedeckých pracovníkov v zmysle moderných molekulárno-genetických analýz NK. Popularizačné aktivity, diplomové a dizertačné práce poslúžili na edukáciu širokej a odbornej verejnosti v kontexte závažnosti ochorenia ako je KP.

Na záver by sme skonštatovali, že projekt priniesol mnohé a rozmanité výsledky od vedeckého výskumu, odborných článkov, vzdelávania a spolupráce s existujúcimi aj novými partnermi v rámci SR, ako aj zahraničia. Preto projekt považujeme za úspešný.

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

The main results of this project present a comprehensive analysis of the miRNA profile of tissue and plasma samples of breast cancer (BC) as a part of the OMICS medicine of complex management of patients with this disease. We were able to monitor the expression of all 2549 miRNAs by microarray technology, what resulted into the sets of miRNAs that are more or less expressed in BC samples, either in luminal types or TNBC, as well as in the tissue or plasma samples. Tissue analyzes showed 171 miRNAs with higher expression and 136 with lower expression in the BC compared to the control group. We detected a lower number of miRNAs in plasma samples and validated the results by RT PCR. These miRNAs have several biological and molecular functions, such as increased cell proliferation and invasiveness, regulation of cell differentiation and migration, involvement in the vascular endothelial growth signaling pathway, affecting the binding of signaling receptors and growth factors, and others.

We also added several medium penetrant genes to the BC molecular profile, such as FGFR2, MAP3K1, LSP1, CASP8 and FAS / FAS-L. Another analyzes of the methylation status of the CpG islands of 25 tumor suppressor genes had highlighted the importance of methylation in the PAX5, PAX6, WT1 and CDH3 genes. We did not detect methylation in the CDK2A, KLLN, MGMT, ATM, BRCA2, RB1, THBS-1, STK11 genes in any sample. Metabolomics analyzes of plasma detected 22 metabolites, with 10 metabolites having statistically significantly reduced values in the group of women with BC compared to control samples (BCAA: leucine, isoleucine, valine, BCKA: ketoleucine, ketoisoleucine and

ketovaline, alanine, pyruvate, and lipid fraction). Only 3-hydroxybutyrate was increased in women with BC. The temperature map showed a correlation between BCAA and BCKA along with a link to pyruvate and alanine. Ki-67 values statistically significantly correlated with the metabolites alanine, citrate, tyrosine, glutamine, histidine and proline.

Except new scientific knowledge, the project also strengthened cooperation between Martin University Hospital, Jessenius Faculty of Medicine and foreign partners, which also resulted in the submission of joint projects and in the establishment of cooperation with new partners from Germany, Spain and Turkey. Project brought new opportunities and increased the skills of (even young) scientists in terms of modern molecular-genetic analyzes of nucleic acids. Popularization activities, diploma and dissertation theses educated wide public and professionals in the context of the severity of the disease such breast cancer is.

In conclusion, we would state that the project has brought many and diverse results, such as scientific research, professional articles, education and cooperation with existing and new partners in the Slovak Republic, as well as abroad. Therefore, we consider the project as successfully implemented.