



## Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

**APVV-17-0369**

**Metylácia DNA ako cieľ epigenetického editovania a jej využitie pri personalizácii diagnostiky a terapie u melanómu uvey**

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Božena Smolková, PhD.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV, v. v. i.**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied

Koordinátor

2. Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta

Partner 1. Klinika oftalmológie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice, pracovisko Nemocnica Ružinov

Partner 2. Biomedicínske centrum Martin, Jeseniova LF UK v Martine

### 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

Publikácie v current content časopisoch:

1. FURDOVÁ, Alena – FURDA, Róbert - ŠRAMKA, Miron – CHORVÁTH, Martin, RYBÁR, Ján – VESELÝ, Pavol – VALÁŠKOVÁ, Jela – ŠISKA, Vladimír. Stereotactic irradiation on linear accelerator - ultrasound versus MRI in choroidal melanoma volume calculation. BMC Ophthalmology, 2022, vol. 22, no. 1, p 333. Dostupné na: <https://doi.org/10.1186/s12886-022-02558-w>.

2. ALTANEROVÁ, Uršula - JAKUBECHOVÁ, Jana - BENEJOVÁ, K. - PRISCAKOVÁ, Petra - REPISKÁ, V. - BÁBELOVÁ, Andrea - SMOLKOVÁ, Božena - ALTANER, Čestmír. Intracellular prodrug gene therapy for cancer mediated by tumor cell suicide gene exosomes. In International Journal of Cancer, 2021, vol. 148, no. 1, p. 128-139. (2020: 7.396 - IF, Q1 - JCR, 2.475 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2021 - Current Contents). ISSN 0020-7136. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/ijc.33188>

3. HORVÁTHOVÁ KAJABOVÁ, Viera - ŠOLTÝSOVÁ, Andrea - DEMKOVÁ, Lucia - PLESNÍKOVÁ, Paulína - LYSKOVÁ, Darina - FURDOVÁ, Alena - BABÁL, Pavel - SMOLKOVÁ, Božena. KIT Expression Is Regulated by DNA Methylation in Uveal Melanoma Tumors. In International Journal of Molecular Sciences, 2021, vol. 22, oct.-1, art. No. 10748. (2020: 5.924 - IF, Q1 - JCR, 1.455 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2021 - Current

- Contents). ISSN 1422-0067. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms221910748>
4. CHOKHACHI BARADARAN, Pooneh - KOZOVSKÁ, Zuzana - FURDOVÁ, Alena - SMOLKOVÁ, Božena. Targeting epigenetic modifications in uveal melanoma. In International Journal of Molecular Sciences, 2020, vol. 21, art. no. 5314. (2019: 4.556 - IF, Q1 - JCR, 1.317 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2020 - Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 1422-0067. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms21155314>
5. ŠOLTÝSOVÁ, Andrea - SEDLÁČKOVÁ, Tatiana - DVORSKÁ, D. - JASEK, Karin - CHOKHACHI BARADARAN, Pooneh - HORVÁTHOVÁ KAJABOVÁ, Viera - DEMKOVÁ, Lucia - BUOCIKOVÁ, Verona - KURUCOVÁ, Terezia - LYSKOVÁ, Darina - FURDOVÁ, Alena - BABÁL, Pavel - DANKOVÁ, Zuzana - SMOLKOVÁ, Božena. Monosomy 3 influences epithelial-mesenchymal transition gene expression in uveal melanoma patients; consequences for liquid biopsy. In International Journal of Molecular Sciences, 2020, vol. 21, no. 24, art. no. 9651. (2019: 4.556 - IF, Q1 - JCR, 1.317 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2020 - Current Contents, WOS, SCOPUS). ISSN 1422-0067. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms21249651>
6. SMOLKOVÁ, Božena - HORVÁTHOVÁ KAJABOVÁ, Viera - ZMETÁKOVÁ, Iveta - KALINKOVÁ, Lenka - CZANNER, G. - MARKOVÁ, A. - FURDOVÁ, A. Role of epigenetic deregulation in hematogenous dissemination of malignant uveal melanoma. In Neoplasma, 2018, vol. 65, no. 6, p. 840-854. (2017: 1.696 - IF, Q4 - JCR, 0.639 - SJR, Q3 - SJR, karentované - CCC). (2018 - Current Contents). ISSN 0028-2685. Dostupné na: [https://doi.org/10.4149/neo\\_2018\\_180420N261](https://doi.org/10.4149/neo_2018_180420N261)
7. FURDOVÁ, Alena - BABÁL, Pavel - KOBZOVÁ, Daniela - ZAHORJANOVÁ, Pavlína - KAPITÁNOVÁ Karolína - ŠRAMKA, Miron - KRÁLIK, Gabriel - FURDA, Robert - KRÁSNÍK, Vladimír. Uveal melanoma survival rates after single dose stereotactic radiosurgery. Neoplasma, 2018, vol. 65, no. 6, p. 840-854. (2017: 1.696 - IF, Q4 - JCR, 0.639 - SJR, Q3 - SJR, karentované - CCC). (2018 - Current Contents). Dostupné na: [https://doi.org/10.4149/neo\\_2018\\_171209N808](https://doi.org/10.4149/neo_2018_171209N808).
- Knížná monografia:  
FURDOVÁ, Alena a kol. Melanómy oka a očných adnexov. 1. vyd. - Bratislava : VEDA vydavateľstvo SAV, 2020, s. 169-182. ISBN 978-80-224-1833-1.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Jednalo sa o projekt základného výskumu, pri ktorom sa neočakávalo priame uplatnenie v priemyselnej alebo spoločenskej praxi. Získané výsledky z oblasti deregulácie metylómu v nádoroch majú významný potenciál pre uplatnenie v klinickej praxi ako spoľahlivé prognostické markery.

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

Uveálny melanóm (UM) je zriedkavý karcinóm oka metastázujúci u 50 % pacientov, pre ktorých neexistuje účinná terapia. Pochopenie metastatického procesu a mechanizmov, ktoré vedú k progresii, je preto nanajvyš dôležité pre zlepšenie prežívania vysoko-rizikových pacientov. Použitím integrovanej analýzy sme dokázali rozsiahlu dereguláciu epigenómu v nádoroch so zlou prognózou, ktorá zásadnou mierou ovplyvňuje expresiu mnohých kľúčových génov a signálnych dráh podieľajúcich sa na progresii ochorenia. Keďže mechanizmom metastatického rozsevu u melanómu uvey je výhradne hematogénna diseminácia, zamerali sme sa na identifikáciu deregulácie génov asociovaných s hematogénnym metastázovaním. Vysoko senzitívnu metódou digitálnej dropletovej PCR sme analyzovali prítomnosť hotspot mutácií v cirkulujúcej nádorovej DNA izolovanej z plazmy pacientov a dokázali sme vhodnosť tejto metódy na monitorovanie progresie ochorenia. Podarilo sa nám kultivovať nádorové bunky z tkanív pacientov in vitro v 2D a 3D podmienkach a úspešne ich transdukovať terapeutickým génom, ktorý umožňuje lokálne konvertovať netoxické predliečivo 5-fluorocytosín na jeho toxický metabolit 5-fluorouracil. Dokázali sme, že po pridaní predliečiva, extrabunkové vezikuly vylučované z transdukovaných buniek inhibujú rast nádorových buniek. Za mimoriadny úspech považujeme vývoj PDX modelov a ich molekulárnu charakterizáciu na úrovni transkriptómu a metylómu. V rámci súťaže vyhlásenej firmou 10x Genomics sa nám podarilo získať čip ATAC-Seq, vďaka ktorému sme sa mohli zamerať na výskum úlohy prestavby chromatinu v procese progresie ochorenia na úrovni jednotlivých bunkových populácií, významných

predovšetkým z hľadiska imunitného dohľadu.

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

Uveal melanoma (UM) is rare ocular cancer metastasizing in 50% of cases with no curative treatment for advanced disease. Consequently, despite the clinical availability of reliable prognostic tools, the outcome for high-risk patients remains dismal. Therefore, understanding the metastatic process and its drivers is of utmost importance. Using an integrative analysis, we demonstrated extensive deregulation of the epigenome in high-risk tumors, significantly affecting the expression of numerous genes and signaling pathways involved in disease progression. Since the mechanism of metastatic spread in uveal melanoma is exclusively hematogenous dissemination, we focused on identifying the deregulation of genes associated with hematogenous metastasis. Using a highly sensitive digital droplet PCR method, we analyzed the presence of hotspot mutations in circulating tumor DNA isolated from patients' plasma and proved the suitability of this method for monitoring disease progression. We successfully cultivated cells derived from patient tissues in vitro in 2D and 3D conditions and transduced them with a therapeutic gene that enables intracellular conversion of the non-toxic prodrug 5-fluorocytosine into its toxic metabolite 5-fluorouracil. We demonstrated that upon the addition of the prodrug, extracellular vesicles secreted from transduced cells inhibit tumor growth in a dose-dependent manner. Particularly important is the successful development of PDX models and their molecular characterization at the transcriptome and methylome levels. As part of the competition announced by the 10x Genomics company, we managed to obtain an ATAC-Seq chip, thanks to which we could focus on research deciphering the role of chromatin remodeling in the process of disease progression at the level of individual cell populations, which are particularly important from the immune surveillance point of view.