

# Dlouhé nekódující RNA jako diagnostické biomarkery renálního karcinomu

Fedorko M.<sup>1</sup>, Kubíčková A<sup>2</sup>, Kováčová J<sup>2</sup>, Pacík D<sup>1</sup>, Slabý O.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Urologická klinika FN Brno a LF Masarykovy Univerzity Brno, Česká republika

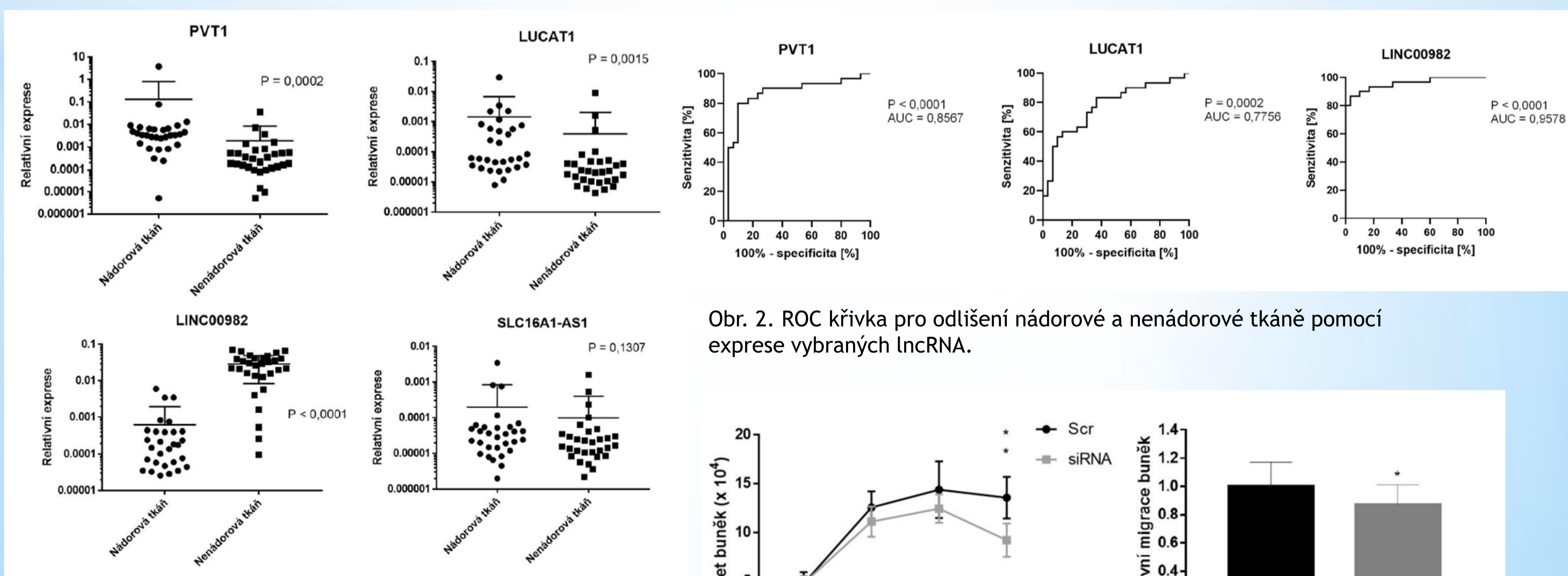
<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova Univerzita Brno, Česká republika

**Úvod:** Renální karcinom (RCC) je nejčastěji diagnostikován náhodně během vyšetření indikovaného z jiných příčin. V současnosti neexistuje dostatečně citlivý a spolehlivý biomarker schopný předpovědět rozvoj onemocnění a očekávatelnou léčebnou odpověď. Potenciální biomarkery představují dlouhé nekódující RNA (lncRNA), molekuly regulující genovou expresi na všech úrovních, jejichž deregulace byla popsána u různých nádorových onemocnění včetně RCC. Cílem této práce bylo analyzovat expresní profily lncRNA, porovnat je s klinicko-patologickými parametry a charakterizovat jejich funkčnost *in vitro*.

**Materiál a metody:** Pomocí masivního paralelního sekvencování na vzorcích zmražené tkáně 22 pacientů s RCC byla porovnána exprese lncRNAs v nádorové a nenádorové tkáni. Expres vybraných lncRNA (PVT1, LUCAT1, LINC00982 a SLC16A1-AS1) byla validována pomocí kvantitativní PCR na nezávislém souboru 30 pacientů pomocí kvantitativní PCR, data byla vyhodnocena Mann - Whitneyho testem, ROC analýzou a korelována se stádiem tumoru a mírou jeho diferenciaci. Expres PVT1 byla utlumena pomocí krátké interferující RNA na buněčných kulturách RCC (786-0) a funkční vlastnosti PVT1 byly zkoumány pomocí MTT testu, počítání buněk a scratch-wound testu.

**Výsledky:** Pomocí nástroje DESeq bylo identifikováno 1163 deregulovaných lncRNA u pacientů s RCC oproti nenádorovým kontrolám (538 se zvýšenými a 625 se sníženými expresními hladinami). PVT1 (AUC 0,8567, senzitivita 86,67 %, specifická 76,67 %) a LUCAT1 (AUC 0,7756, senzitivita a specifická 90 %) měly signifikantně zvýšené a LINC00982 (AUC 0,9578, senzitivita 76,67 %, specifická 66,67 %) snížené expresní hladiny ( $p < 0,001$ ) i ve validační fázi. Statisticky významný rozdíl mezi nádorovou a nenádorovou tkání nebyl pozorován u SLC16A1-AS1 (obr. 1,2). Nepodařilo se identifikovat význam exprese vybraných lncRNA při korelaci se stádiem a úrovní diferenciaci tumoru. Po transfekci krátkou interferující RNA byl na buněčných liniích pozorován částečný vliv utlumení exprese PVT1 na schopnost proliferace a migrace (obr. 3).

**Závěr:** PVT1, LUCAT1 a LINC00982 představují potenciální diagnostické biomarkery RCC. Jejich prognostický význam nebyl prokázán a byl naznačen potenciál PVT1 jako terapeutického cíle.



Obr. 1. Expresní hladiny vybraných lncRNA ve vzorcích RCC oproti nenádorové tkáni

Obr. 3. Průběh proliferace buněk po transfekci siRNA a kontrolním oligonukleotidem. Významné snížení proliferace bylo pozorováno 4. den po transfekci ( $p = 0,0022$ ). Snížení relativní migrace po 12 hod. ( $p = 0,0332$ )