

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/112



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J1-4247	
Naslov projekta	Dvojna narava matičnih celic v raku in njihova uporaba v zdravljenju	
Vodja projekta	7802	Tamara Lah Turnšek
Tip projekta	J	Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7158	
Cenovni razred	D	
Trajanje projekta	07.2011 - 06.2014	
Nosilna raziskovalna organizacija	105	Nacionalni inštitut za biologijo
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	103	Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo
	106	Institut "Jožef Stefan"
	158	BIA podjetje za laboratorijsko in procesno opremo d.o.o. Ljubljana
	312	Univerzitetni klinični center Ljubljana
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1	NARAVOSLOVJE
	1.03	Biologija
Družbeno-ekonomski cilj	07.	Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	3	Medicinske vede
	3.01	Temeljna medicina

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

Novo teorije opisujejo razvoj glioblastoma multiforme (GBM) iz gliomske matične celice (GSC). Ciljno uničenje GSC z uporabo mezenhimskih matičnih celic (MSC) predstavlja učinkovitejši način zdravljenja GBM, razumevanje njihovega medsebojnega vpliva je osnova tega projekta s cilji:

A) Identificirati nove GSC označevalce

S selektivnejšimi označevalci GSC je možno terapevtsko ciljati le GSC. Z razkritjem proteoma organotipskih GBM/GSC sferoidov smo identificirali nov GSC označevalec tetraspanin CD9. *In vitro* ter *in vivo* (v podganah) poskusih smo prvi pokazali na možne vloge CD9 pri razvoju in rasti GBM. V *in silico* (Rembrandt-ova pb kliničnih vzorcev) smo prvi potrdili prognostični pomen CD9 za preživetje. Z razvojem in uporabo anti-GSC nano-protiteles ter proteomske analize smo pokazali na TRIM28 kot nov označevalec GSC v krvi. V drugi raziskavi smo s proteomsko analizo krvi, temelječ na konvencionalnih protitelesih, odkrili 11 novih označevalcev GBM, med drugim GNAO1, ki bi bil primeren za prepoznavanje in prognozo GBM. Napovedno vrednost GBM preživetja smo neodvisno dokazali tudi za plazemski parameter ESR in protein CRP.

B) Vpliv mikrookolja na GSC in GBM celice

Uspeli smo vzpostaviti banko NSC in organotipskih GBM/GSC ter in CD133+ GSC iz GBM biopsij.

-Dokazal smo, da je gojenje GSC učinkovitejše z dodatkom FGF in celo brez a EGF; - Prav tako, da se so GBM celice sposobne prilagoditi na hipoksijo, z vzbujanjem gibljivosti in povečanjem DKK inhibitorja Wnt signalne poti.

Z analizo degradoma-migratoma celic oz. tkiv GBM in normalnih astrocit oz. tkiva smo:

- prvi razkrili povišano izražanje neaktivne prekursorske oblike lizosomalne proteaze katepsina K v GBM in predvideli njegovo ne-proteolitizno vlogo v GBM.
- V klinični študiji GBM bolnikov smo z merjenjem inhibitorja katepsinov Stefin A prvi dokazali njegovo prognostično vrednost.
- V *in vitro* poskusih smo potrdili hipotezo o možnost utišanja katepsina L za povečanje citotoksičnega učinka arzenita (As_2O_3) in znižanje proliferacije tumorskih celic v sferoidih U87 in celicah transformiranega pilocitnega astrocytoma.

C) Ovrednotiti vpliv celičnih interakcij v mikrookolju GBM

V mikrookolje GBM migrirajo med drugimi tudi mezenhimske matične celice (MSC), ki vplivajo na GSC in rast GBM. Dokazali smo, da MSC parakrino znižajo proliferacijski in invazijski potencial GBM preko nekaterih citokinov, npr. MCP-1/CCL2 v posrednih kolkultrah. Direktni stik MSC in GBM inducira nastanek presledkovnih stikov in tvorbo strukturnega in funkcionalnega sincicija, ki spremeni njun fenotip. Posledica je bila pospešena gibljivost MSC in njihov parakrin učinek znižanje proliferacije, povečanje senescence GBM celic in znižanje njihovo invazivne sposobnosti. V neposrednem stiku se, nasprotno zdi, da je invazija GBM še pospešena. Potekajoče študije biokemijskih mehanizmov teh sprememb so osnovane na izvedenih transkriptomskih, miRNA in proteomskih analizah interaktivnih celic.

ANG

Novel concepts of tumour origin propose Glioblastoma multiformae (GBM) stem cells - GSC as origin of GBM development. Selective targeting of GSC with mesenchymal stem cells (MSC) emerged as a new approach in GBM treatment. The understanding of mutual interactions of these two cell types is the subject of his proposal and is depending on:

A) Identification of novel GSC markers

Using selective GSC markers would enable therapeutic GSCs targeting. Revealing the proteome of organotypic GBM spheroids, enriched in GSC, we identified tetraspanin CD9 as new GSC marker. We were first to confirm its possible role(s) in GBM development in the *in vitro* and *in vivo* (in rats) experiments. Using *in silico* (Rembrandt db in clinical samples) we also confirmed its prognostic value for GBM survival. Developing and applying anti-GSC nano-antibody technology and subsequent proteomic analysis of GBM

plasma, we pointed on TRIM28, identified as novel GSC biomarker. In another proteomic study of plasma using conventional antibodies, we identified 11 proteins as GBM markers, confirming prognostic value of GNAO1. In an independent study, we also revealed the prognostic value for plasma parameter ESR and protein CRP -

B) Microenvironment impact on GSC and GBM cells

We managed to establish the biobank of NSC, organotypic GBM and CD133+ GSC, used to prove that:

- GSC could be more efficiently cultured with the addition of FGF, and even without EGF supplement;
- GBM cells can adapt to hypoxia by migration induction *via* increased DKK1 inhibitor of the Wnt signaling pathway.

Using transcriptomic-migratome analysis of GBM cells and tissues vs. normal astrocytes and tissues, respectively, we were first to reveal increased expression of pro-Cathepsin K in GBM, where its non-proteolytic role was suggested.

- We were first to validate and confirm the prognostic value of cysteine cathepsins protease inhibitor Stefin A in GBM patients;
- In the *in vitro* experiments we confirmed the possibility that Cathepsin L silencing enhances arsenite (As_2O_3) cytotoxicity of tumor cells in U87 and transformed pilocytic astrocytoma spheroids.

C) Evaluation of cellular interactions in GBM microenvironment

Among other cells MSC migrate into GBM microenvironment and may have an impact on GSC and GBM growth. We proved that MSC paracrine interactions decreased proliferation and invasion of GBM upon indirect cell co-culturing, *via* certain cytokines e.g. MCP-1/CCL2. Direct MSC and GBM interaction induced the formation of structural and functional syncytium *via* increased gap junctions, changing their phenotypes. The consequence was increased MSC migration, while MSC paracrine effects lowered GBM proliferation, induced senescence and impaired GBM invasion. In contrast, direct interactions between MSC and GBM seem to increase GBM invasion. Current investigations on biochemical mechanisms underlying these changes are based on transcriptomic, miRNA and proteomic analyses of interacting cells and their media.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Neučinkovito zdravljenje glioblastoma multiforme (GBM), je med drugim tudi posledica slabih označevalcev t.i. glioma matičnih celic (GSC), ki so zaradi invazivnosti in odpornosti na terapijo GBM glavni krivec za ponovitev rakavega obolenja, Naša raziskava je bila razdeljena v tri tematske sklope:

- 1. Identifikacijo novih bolj zanesljivih bioloških označevalcev za določanje GSC**
- 2. Vpliv tumorskega mikrookolja na spremembo fenotipa GSC s kemično indukcijo**
- 3. Vpliv tumorskega mikrookolja na spremembo fenotipa GSC s celično indukcijo, s so-gojenjem z mezenhimskimi matičnimi celicami (MSC).**

Tekom projekta smo:

Ad1: Identificirali nove označevalce GSC (GBM) in funkcionalno ovrednotili membranski protein CD9

Preživetje pacientov z GBM je možno izboljšati z identifikacijo novih diagnostični, prognostičnih in napovednih (odgovor na terapijo) označevalcev. Primerjalno analizo znanih označevalcev GSC z drugimi vrstami raka smo objavili v preglednem članku: **Koren et al., 2013. Cellular Oncology 36(4):265-275 [COBISS.SI-ID 2869071]**. S proteomiko in tkivnimi mikromrežami smo identificirali CD9 označevalce GSC (v sodelovanju NorLux, Luxemburg). V celicah GSC (NCH421k in NCH644, NCH660h) smo z utišanjem CD9 (shRNA) potrdili znižanje proliferacije, preživetja in invazije GSC ter

izražanja CD133, Nestina in SOX2. Transplantacija CD9-utišanih GSC v podganah je potrdila podaljšanje preživetja podgan (v sodelovanju z Uni Bergen, Norveška). Analiza podatkov Rembrandtove baze za GBM je potrdila prognostično vrednost CD9, in sovpadanje njegovega dvakratnega povečanja izražanja s krajšim preživetjem bolnikov z GBM. Delo je bilo izvedeno v okviru MR: **Podergajs Neža - doktorska disertacija 2013** [COBISS.SI-ID [271609344](#)]. V pripravi je članek, rezultati so bili predstavljeni tudi na mednarodni konferenci: **Podergajs Neža, CD9 as glioma stem cell marker: 8th EORTC PathoBiology group annual meeting, Portorož 2013**. [COBISS.SI-ID [2801743](#)]. In vitro pa smo potrdili vpliv utišanja CD9 na povečanje rezistence GSC na temozolomid, ter nasprotno znižanje rezistence GSC na staurosporin: **Zottel Alja - diplomsko delo 2013** [COBISS.SI-ID [36910085](#)].

Z analizo vpliva GBM na sestavo plazme (topne proteine) pri bolnikih z GBM (17) v primerjavi z zdravimi prostovoljci (17) z proteinskimi mikromrežami (656 proteinov) smo identificirali 11 diferencialno izraženih proteinov v plazmi bolnikov z GBM, z vlogo v imunskem odzivu; v adheziji/migraciji celic; ter celičnem ciklu in apoptozi. Izražanje 16-ih plazemskih proteinov je sovpadalo s preživetjem bolnikov z GBM. Protein GNAO1 se je izkazal za hkraten diagnostični in prognostični označevalec za GBM: **Zupančič et al., 2014. Radiology and Oncology 48(3):257-266** [COBISS.SI-ID [31525081](#)]. Preverili smo vpliv stopnje sedimentacije eritrocitov (ESR) in C-reaktivnega proteina (CRP) na preživetje bolnikov z GBM z ovrednotenjem njune relacije z vnetnimi parametri in znanimi GBM označevalci. Analiza preživetja je bila opravljena za skupine bolnikov z gliomi nižje stopnje (LGG), gliomi višje stopnje (HGG) in glioblastomi (GBM). V retrospektivni študiji smo dokazali soodvisnost ESR in CRP z izražanjem CD68, katepsina B, Nestina. Merjenje ESR in CRP se je izkazalo uporabno za napoved preživetja bolnikov z gliomi: **Strojnik et al., 2014. Anticancer Research 34(1):339-347** [COBISS.SI-ID [4880703](#)]. V sklopu pregleda kliničnih študij je bila izvedena diplomatska naloga **More Mateja - diplomsko delo 2014** [COBISS.SI-ID [1536145091](#)].

In situ smo identificirali nove označevalce GSC tudi z metodo nano-proteiteles, ki omogočajo razvoj terapevtikov nove generacije. V solovanju s konzorcijem GLIOMA Interreg projekta je bila izvedena imunizacija alpak z GSC iz primarnih humanih GBM. S fagno knjižnico, selekcijo (ekstrakti 8 GBM, NCH421I, NCH644) in ELISO nam je uspelo identificirati nano-proteitelesa za proteina TRIM28 in beta-aktin, ki sta povišana v GSC: **Jovčevska et al., 2014. PloS One 9(11)** [COBISS.SI-ID [3251791](#)]. Ker ciljni razvoj proti GSC terapij zahteva dostop do stabilnih in homogenih populacij celic GSC, ki so odvisne od postopka izolacije iz primarnega tkiva smo analizo postopkov izolacije, bogatenja in validacije GSC objavili v: **Molina et al., 2014. Journal of Cancer Stem Cell Research 2:1-19** [COBISS.SI-ID [3275599](#)].

Ad2.: Ovrednotili smo vpliv dejavnikov mikrookolja (EGF in FGF), hipoksije, proteaznih inhibitorjev na rast celic GSC (GBM), njihovo rezistenco in klinično napoved preživetja bolnikov z GBM

Uspela nam je izolacija in gojenje: NSC sferoidov, GBM organotipskih sferoidov iz 31 primarnih vzorcev GBM, in 7 obogatenih CD133+ linij GSC iz primarnih vzorcev GBM, ki so bili potrjeni z analizo označevalcev matičnosti (Nestin Sox2, CD9). GSC iz tumorskih biopsij predstavljajo cenjen model za bazične raziskave. Vpliv medijev in bFGF, EGF dodatkov na gojenje GSC, pa ostaja nejasen. GSC imajo pomnožen gen za EGFR, ki ga lahko pod vplivom EGF izgubijo, zato se teži k izogibanju dodatka EGF. Žal ob izolaciji GSC genomski profil vzorca še ni znan. Zato smo želeli ugotoviti ali je medij brez EGF ustrezen tudi za gojenje GSC brez pomnoženih zaporedij EGFR (NCH421k, NCH6944). Potrdili smo, da v teh celicah dodatek bFGF poveča izražanje EGFR, nestina in CD133 v primerjavi z EGF, in pospeši rast celic, na kar EGF nima vpliva. Razkrili smo, da bFGF inducira proliferacijo celic NCH421k in zniža občutljivost na apoptozo celicam NCH644. GSC brez amplifikacije EGFR je možno gojiti le z bFGF: **Podergajs et al., 2013. Radiology and Oncology 47(4):330-337** [COBISS.SI-ID [30906329](#)]. Ovrednotili smo vpliv hipoksije na migracijo celic, ki jo uravnava Wnt signalna pot – oz. inhibitor Dickkopf1 (DKK1). S qPCR in ELISO smo dokazali, da celice GBM izražajo manj DKK1 kot

normalne MSC, vendar se jim izražanje v hipoksiji poveča. Z rekombinantnim DKK1 nam je uspelo inhibirati migracijo celic. Indukcija izražanja DKK1 s hipoksijo kaže na adaptacijo GBM tumorjev na spremembe v mikrookolju, objavili v **Guo et al, 2014. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 140(8):1261-1270 [COBISS.SI-ID 3125327]**.

Izvedli smo tudi primerjavo migratoma GSC, GBM in NSC. Delo je bilo opravljeno v sklopu MR Urške Verbovšek (v sodelovanju z AMC, Uni Amsterdam, NL). Z bioinformatično analizo transkriptomskih podatkov linij U87, U373, astrocit, ter GBM in normalnih tkivnih vzorcev smo identificirali 311 proteaznih genov diferencialno izraženih v tkivu in celicah GBM. Osredotočili smo se na 5 povišano izraženih genov: TFRC, GPR56, ERAP2, GFPT2 in CTSK (katepsin K), ter znižano izražen gen CPE, od 75 genov proteaznih inhibitorjev pa na CTSB, elafina, in CD74. Povišano izražanje katepsina K smo potrdili s qPCR, imunobarvanjem in Western odtisom v celicah in tkivu GBM. Ta je razkril, da se v GBM izraža le proteolitično neaktivna pro-oblika katepsina K, kar namiguje na še neznan vloga katepsina K v GBM. Delo je bilo objavljeno v **Verbovšek et al., 2014 – glej dosežke**. Ob tem smo izvedli tudi validacijo inhibitorjev cisteinskih proteaz kot je Stefin A (STA), za katerega smo uspeli prvi dokazati prognostično vrednost za preživetje pacientov z GBM, ki bi bilo potencialno uporabno v klinični praksi in to smo objavili: **Gole et al. 2012 – glej dosežke**. V preteklosti smo že potrdili, da citotoksičnost arzenita poveča inhibicija katepsina L – lizosomske proteaze v celicah GBM. Tukaj pa smo potrdili, da trajno utišanje catL (z lentivirusi) poveča toksičnost arzenita tudi v U87 mnogoceličnih sferoidih, kjer se poveča apoptoza preko indukcije p53, porušenega Bax/Bcl2 razmerja in povečane aktivnosti kaspaze 3/7 – vendar manj učinkovito kot v monosloju. V kliniki bi s stabilnim utišanjem catL lahko omogočili uporabo nižjih sistemskih doz arzenita za doseg istega citotoksičnega učinka pri zdravljenju GBM. Delo pa smo objavili v: **Primon et al., 2013. *Experimental Cell Research* 319(17):2637-2648 [COBISS.SI-ID 2870863]**. Utišanje katepsina L v celicah maligno transformiranega pilocitnega astrocitoma MPA58 pa je potrdilo njihovo večjo odpornost na arzenit v primerjavi z enosloji/sferoidi U87MG. Delo je bilo izvedeno v okviru MR iz gospodarstva (BIA doo): **Primon Monika - doktorska disertacija 2014 [COBISS.SI-ID 273302016]** in magistrske naloge: **Vidregar Romana - magistrsko delo 2014 [COBISS.SI-ID 3124559]**.

Ad3.: Dokazali smo, da parakrini dejavniki so-kultiviranja celic GBM s celicami MSC spremene fenotip celicam GBM

Ker poleg GSC, ki so ključne za razvoj in rast tumorja, tkivo tumorja vsebuje tudi MSC smo ovrednotili mehanizme delovanja MSC na rast GBM preko njihovih parakrinih in direktnih interakcij s celicami GBM (GSC). Ugotovili smo, da MSC zmanjšajo proliferacijski in invazijski potencial celic GBM v indirektni so-kulturi (Boydenove kamrice) ter inducirajo njihovo senescenco. Nasprotno se v sokulturi poveča proliferacijski in invazijski potencial celicam MSC. S transkriptomsko, citokinsko in funkcionalno analizo smo potrdili ključno vlogo citokina MCP-1/CCL2 (»Monocyte chemotactic protein«) v invaziji celic GBM in to objavili v **Motaln et al., 2012 – glej dosežke**. Z direktnim so-gojenjem celic GBM in MSC dokazali (v sodelovanju z LMU, Munich), da se pri direktnem stiku MSC in U87 poviša izražanje koneksina 43 (GJA/Cx43), ki omogoči povezavo MSC in GBM s presledkovnimi stiki in nastanek funkcionalnega (pretok citoplazme) in strukturnega sincicija, ki spremeni fenotip obeh tipov celic. To smo objavili v **Schichor et al., 2012. *Experimental Neurology* 234(1):208-219 [COBISS.SI-ID 2501199]**. Transkriptomске podatke senescentnih MSC smo analizirali z orodjem SEGMine (v sodelovanju z IJS, Slovenia) in razkrili nove modulatorne gene za senescenco (BRCA, SMARCB1/SMAD in LYS/BECN), ki kažejo da senescenca ščiti MSC pred maligno transformacijo, izogniti pa se ji je moč z aktivacijo procesa avtofagije, kar smo objavili: **Mozetič et al. 2012. *Bisociative knowledge discovery : an introduction to concept, algorithms, tools, and applications, Heidelberg [etc.]: Springer, cop: 379-389 [COBISS.SI-ID 25940775]***.

V sklopu regulatorne vloge mikrookolja na rast in invazijo GBM smo se osredotočili na molekularne mehanizme, ki jih pogojuje direktna interakcija celic s komponentami

izvenceličnega matriksa in s sosednjimi celicami. Analizirali smo pritrjanje celic GBM in MSC na različne proteine zunajceličnega matriksa: kolagen tipa I, fibronektin in želatino ter potrdili preferenčno pritrjanje slednjih na fibronektin in odvisnost pritrjanja na želatino in kolagen tipa I od FBS. Delo je izvedla diplomantka (FKKT): **Goričan Tjaša - diplomsko delo 2013 [COBISS.SI-ID 36910853]**. Analizirali smo tudi izražanje proteaz in njihovih produktov (signalizacijo des-bradikininina) v direktni so-kulturi celic GBM in MSC in potrdili povišano izražanje receptorja BDKRB1 v celicah GBM, kar najverjetneje vpliva na njihovo povišanje invazijskega potenciala. Delo je bilo opravljeno v sklopu magistrskega študija MPŠ: **Robič Mateja - magistrsko delo 2013 [COBISS.SI-ID 26692135]**. V okviru diplomske naloge je bil dokazan porast vsebnosti proteaz MMP2, MMP9, CAPN1 in CAPN2 v direktno sogojenih celicah: **Škrjanc Monika - diplomsko delo 2014 [COBISS.SI-ID 1536097219]**.

Izvedli smo analizo Biologovih fenotipskih mikromrež za testiranje metabolizma C7N substratov, hormonskih in ionskih potreb ter odpornosti na citostatike; in analize parakrine dejavnosti (miRNA) celic GBM, GSC in MSC v so-kulturi (delo MR M. Primon) - članek v pripravi. Analiza vpliva MSC na GSC je pokazala inhibicijo proliferacije celic GSC, preko regulacije celičnega cikla in ciklina D – članek v pripravi. Izolirali smo RNA iz so-kultur MSC, GBM in GSC, za izražanje miRNA z nCounterArray-i (VibNucleomics, Belgija). Validacija rezultatov in priprava članka je v teku.

Objavili smo pregledni članek: **Robič et al., 2013. Zdravniški vestnik 82(2):113-122 [COBISS.SI-ID 2802255]**, poglavje v monografiji **Verbovsek et al., 2013. Trends in stem cell proliferation and cancer research. Dordrecht: Springer, cop.: 391-433 [COBISS.SI-ID 2712911]**.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Specifični cilji tega projekta od 1-3 so realizirani v naslednji meri:
Časovnica po mejnikih:

M1.1 (1-18 mesec)

Tvorba tumorskih sferoidov in nevrosfer ter določitev membranskega fenotipa: DOSEŽEN
izolacija proteinske frakcije – opravljena
Analiza LCq-MS – opravljena

M1.3 (19-22 mesec)

Validacija novih bioloških označevalcev: DOSEŽEN
priprava TMA – opravljena
validacija s TMA – opravljena

M1.4 (20-36 mesec)

Določitev funkcije novih bioloških označevalcev v tarčnih celicah: DOSEŽEN
funkcijske analize GSC označevalcev in vitro – opravljeno
funkcijske analize GSC označevalcev in vivo – opravljeno

M2.1 (1-12 mesec)

Fenotipska karakterizacija EMP/MEP invazije pri GMC, NMC: DOSEŽEN
invazija, proliferacija GMC – opravljena
analiza razgrajevanja matriksa – opravljena
analiza migratoma – opravljena, se nadaljuje

M2.2 (13-22 mesec)

Analiza izražanja genov in vpliva okolja na EMP/MEP k. točke pri GMC in NMC: DOSEŽEN
serumska indukcija GMC (EGF, bFGF) - opravljena
indukcija GMC migracije s hipoksijo – opravljena

M2.3 (23-36 mesec)

Identifikacija regulacije migracijskih genov: DOSEŽEN
določanje stacionarnega podpisa celic GBM (U87, U373), ter GBM tkiva – opravljeno
določanje invazivnega podpisa celic in vitro – opravljeno

M3.1

Ovrednotenje fenotipa celic GBM, GSC, MSC: SKORAJ DOSEŽEN
fenotip GBM/MSC v ko-kulturi – opravljeno
vpliv kokultivacije MSC in GSC na proliferacijo – opravljeno
vpliv kokultivacije MSC in GSC na invazijo – se izvaja

M3.2 (19-24 mesec)

Parakrina komunikacija v ko-kulturah GMC/MSC: DOSEŽEN
parakrina komunikacija (citokini) med GBM/MSC – opravljena
parakrina komunikacija (citokini, miRNA) med GSC/MSC – opravljena

M3.3 (25-36 mesec)

Vpliv MSC na EMP/MEP celic GMC in vivo: DOSEŽEN
- vzpostavitev podganjega modela (sodelovanje z Bergnom) - opravljeno

M4.1 (1-12 mesec)

Analiza mikromrež za izražanje genov: DOSEŽEN
bioinfo. analiza migratoma-degradoma celic in vitro, določitev kandidatnih proteaz – opravljeno

M4.2 (13-18 mesec)

Proteomska analiza: DOSEŽEN
seznam novih (PM) proteinskih bio-označevalcev, specifičnih za GMC – opravljeno

M4.3 (19-24 mesec)

Analiza fenotipskih, citokinskih, miRNA mikromrež: DOSEŽEN
Fenotipske mikromreže na kokulturah celic GBM in MMC – opravljeno
Citokinsko profiliranje GBM, MSC, GSC – opravljeno
miRNA profiliranje ko-kultur GBM, GSC in MSC – opravljeno

M4.4 (25-36 mesec)

Korelacijska analiza novih označevalcev s kliničnimi podatki pacientov: DOSEŽEN
korelacijske analize za kandidatske označevalce – opravljeno
identifikacija selektivnih označevalcev, specifičnih za GSC in EMP/MEP – opravljeno
Uspešna objava 11-ih originalnih člankov, 2 preglednih člankov (v mednarodno priznanih revijah z IF), 2 strokovnih člankov, 2 poglavij v monografskih publikacijah. Na objavo 4 že poslanih člankov še čakamo.
Projekt je podpiral v letih 2011/2014 tudi Slo-Ita Interreg projekt GLIOMA.
V projekt je bilo delno vpetih 6 doktorskih študentov (Ana Torkar, Monika Primon, Neža Podergajs, Uška Verbovšek, Katja Kološa, Barbara Breznik), od tega je troje doktorskih del že zaključenih.

5.Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Med izvajanjem projekta ni prihajalo do bistvenih sprememb, smo pa nekatere dele projekta zaradi zanimivih novosti bolj izčrpno raziskali, kot je bilo predvideno (npr. identifikacija krvnih markerjev za GBM). Na slednje smo se osredotočili poleg njihove klinične uporabnosti predvsem zaradi načina manj invazivne detekcije (kot npr. v tkivu biopsij) ter dejstva, da ima nanje heterogena sestava tumorskega tkiva manjši vpliv. V projektu smo tudi pbolj izčrpno kot je bilo predvideno raziskali načine izolacije in vzdrževanja celic GSC v kulturi, saj smo slednje potrebovali za vzpostavitev celične biobanke.

Prav tako smo povsem nenačrtovano naleteli na novo, še neznano vlogo katepsina K v napredovanem GBM.

Malo manj kot je bilo načrtovano pa smo raziskali razmerja med hipoksijo in migracijo.

Prav tako nam do zaključka projekta še ni uspelo validirati vseh rezultatov t.i. miR-omike in metabolomike do katerih smo prišli z uporabo mikromrež in bioinformatično analizo podatkov še pred zaključkom projekta. Slednje nameravamo v prihodnje izvesti. Skupno gledano pa tekom projekta ni prihajalo do bistvenih sprememb v samem delu in sestavi projektne skupine.

Zaradi izjemno drage izvedbe poskusov z podganjimi modeli, smo slednje sicer izvedli v sodelovanju z Uni Bergen, Norveška. Kljub temu pa smo se tekom tega projekta že osredotočili tudi na razvoj novega *in vivo* modela rib cebric. S temi bo ravno tako možno ovrednotiti rast in invazijo samih GSC ali v mešanih skupkih z MSC *in vivo*.

V zvezi s finančnimi sredstvi so bili tudi poskusi določevanja in validacije novih biomarkerjev GBM matičnih celic (GSC) s tkivnimi mikromrežami zaradi finančne in časovne zahtevnosti deloma preneseni in izvedeni v sklopu mednarodnega GLIOMA Interreg projekta (koordinator T. Lah).

Med izvedbo projekta se je okrepilo sodelovanje z raziskovalci iz :

NorLux, Luxemburg – prof. S. Niclou
 Bergen University, Norveška – prof. R. Bjerkvig
 AMC Amsterdam, Nizozemska – prof. R. Van Noorden
 IJS, Slovenija – prof. N. Lavrač
 LMU, Nemčija – prof. C. Schichor
 University of Sao Paulo – prof. U. Henning
 University of Sao Paulo – prof. M. L. Oliva

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

		Znanstveni dosežek	
1.	COBISS ID	3237711	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Analiza izražanja proteaznih genov je razkrila povečano izražanje katepsina K v glioblastomu
		ANG	Expression analysis of all protease genes reveals cathepsin K to be overexpressed in glioblastoma
	Opis	SLO	Izvedli smo proteomsko analizo proteaznih genov ter njihovih endogenih inhibitorjev, ki se diferencialno izražajo v tkivu in celicah (U87 in U373) glioblastoma multiforme (GBM) v primerjavi z normalnim tkivom in astrociti. S pomočjo bioinformatičnih orodij smo odkrili vrsto dereguliranih genov proteaz in inhibitorjev. Izmed 311 proteaznih genov, ki smo jih določili kot povišano izražene v GBM tkivih in celicah, smo izbrali 5 najvišje izraženih genov, med katerimi je bil tudi gen za lizosomalno proteazo katepsin k (CTSK). CTSK izražanje smo preverili tudi z RT-qPCR metodo. Imunohistokemijsko barvanje in western blot analiza izražanja katepsina K je pokazala večinoma samo prisotnost neaktivne pro-oblike encima. Zaključimo lahko, da povečana prisotnost neaktivne oblike katepsina K tako v GBM tkivih, kot tudi v celicah nakazuje, da vloga katepsina K v tem tkivu najbrž ni proteolizno oz. kolagenolizno delovanje in da ima encim najbrž tudi drugo, še ne poznano vlogo v GBM.
		ANG	We performed transcriptome analysis of all known genes of peptidases also called proteases and their endogenous inhibitors in glioblastoma multiforme (GBM), which is one of the most aggressive and deadly types of brain cancers, where unbalanced proteolysis is associated with tumour progression. Publicly-available data sets and our own datasets were integrated and normalized using bioinformatics tools to reveal protease and protease inhibitor genes with deregulated expression in both malignant versus non-malignant tissues and cells. Of 311 protease genes identified to be differentially expressed in both GBM tissues and cells, 5 genes were highly overexpressed, among them was also lysosomal protease cathepsin

			K (CTSK). CTSK overexpression was validated using RT-qPCR in GBM tissues as well. Cathepsin K immunohistochemical staining and western blotting showed that only proteolytically inactive proforms of cathepsin k were overexpressed in GBM tissues and cells. In conclusion the presence of high levels of inactive pro-forms of cathepsin K in GBM tissues and cells indicate that in GBM the proteolytic/collagenolytic role is not its primary function but it plays rather a different yet unknown role.
	Objavljeno v		Public Library of Science; PloS one; 2014; Vol. 9, iss. 10; str. 1- 12; Impact Factor: 3.534;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.663; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Verbovšek Urška, Motaln Helena, Rotter Ana, Atai Nadia A., Gruden Kristina, Noorden Cornelis J. F. van, Lah Turnšek Tamara
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	2870863	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Utišanje katepsina L poveča citotoksičnost arzenovega trioksida in apoptozo v U87 GBM sferoidih
		ANG	Cathepsin L silencing enhances arsenic trioxide mediated in vitro cytotoxicity and apoptosis in glioblastoma U87MG spheroids
	Opis	SLO	Navkljub novim metodam zdravljenja, ostaja glioblastoma multiforme (GBM) najbolj agresivna oblika možganskega raka z najkrajšim preživetjem. Arzenti se že uporablja v zdravljenju akutne promielocitne levkemije (APL), njegov učinek na GBM pa še ni dobro poznan. S testi metabolne aktivnosti in preživetja smo dokazali, da dolgodobno utišanje katepsina L (CatL) znatno poveča citotoksičnost arzenita v sferoidih U87. Utišanje CatL zviša apoptozo in aktivnost kaspaz 3/7. Ti rezultati se lahko prenesejo na translacijsko raven, saj bi z utišanjem CatL lahko znatno zmanjšali odmerek strupenega arzenita za dosego istega citotoksičnega učinka na GBM in vivo.
		ANG	Despite improved treatment options, glioblastoma multiforme (GBM) remains the most aggressive brain tumour with the shortest survival. Arsenite is already being used in the treatment of acute promyelocytic leukaemia (APL), yet its effects on GBM have not been evaluated in detail. Using metabolic and cell viability assays, we demonstrated that long-term CatL silencing significantly increased arsenite cytotoxicity in U87 spheroids. Silenced CatL increased arsenite-mediated apoptosis in spheroids via elevated p53 expression, Bax/Bcl2 ratio and caspase 3/7 activity. The results have significant translational impact, since stable CatL silencing would enable the application of lower systemic doses of arsenite to achieve the desired cytotoxic effects on GBM in vivo.
	Objavljeno v		Academic Press.; Experimental cell research; 2013; Vol. 319, iss. 17; str. 2637-2648; Impact Factor: 3.372;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.412; WoS: DM, DR; Avtorji / Authors: Primon Monika, Huszthy Peter C., Motaln Helena, Talasila Krishna M., Torkar Ana, Bjerkvig Rolf, Lah Turnšek Tamara
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	2432079	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Humane mezenhimske matične celice izkoriščajo kemokinske posredovalce imunskega sistema za spreminjanje fenotipa glioblastoma
		ANG	Human mesenchymal stem cells exploit the immune response mediating chemokines to impact the phenotype of glioblastoma
			V študiji smo proučevali uporabnost človeških mezenhimskih matičnih celic (MSC) v zdravljenju glioblastoma (GBM) najbolj maligne oblike možganskega tumorja. Ovrednotili smo medsebojni odziv celic MSC in GBM

	Opis	SLO	v indirektnih kulturah in vitro na nivoju signalnih proteinov (citokinov) in izražanja genov. Identificirali smo citokine, ki povzročajo spremembo fenotipa celic in razkrili izrazito povišano izločanje citokina CCL2/MCP-1 iz MSC. Odkrite gene/proteine smo prvi opisali v komunikaciji med GBM in MSC. Rezultati so uporabni za prihodnje vrednotenje tarčnih genov celičnem zdravljenju raka.
		ANG	Here we have investigated the potential use of human mesenchymal stem cells (MSC) for anticancer therapy of GBM, the most malignant brain tumour. We studied the mutual response of MSC and GBM cells in the indirect cultures in vitro at protein (cytokines) and transcription levels. we identified cytokines responsible for changed cocultured cells' phenotype, and revealed upregulated secretion of CCL2/MCP-1 cytokine from MSC. Other genes/proteins were identified for the first time to take part in MSC/GBM crosstalk. These results are useful for future gene targeting in cell-based anticancer therapy.
	Objavljeno v		Pergamon; Cell transplantation; 2012; Vol. 21, no. 7; str. 1529-1545; Impact Factor: 4.422;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.59; A': 1; WoS: CT, QA, YP; Avtorji / Authors: Motaln Helena, Gruden Kristina, Hren Matjaž, Schichor Christian, Primon Monika, Rotter Ana, Lah Turnšek Tamara
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	2501199	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Mezenhimske matične celice tvorijo s celicami glioma tako strukturni kot funkcionalni sincicij
		ANG	Mesenchymal stem cells and glioma cells form a structural as well as a functional syncytium in vitro
	Opis	SLO	V tej študiji smo raziskali interakcije med človeškimi mezenhimijskimi matičnimi celicami (MSC) in tumorskimi celicami z vidika uporabe terapevtskih MSC nosilcev. Razkrili smo, da gliomi privlačijo MSC s pomočjo gradienta izločenih citokinov. Pokazali smo, da se takoglioma celicam kot MSC pri tem poveča izražanje koneksinov, preko katerih se celice direktno povezujejo s presledkovnimi stiki in tvorijo funkcijski in strukturni sincicij, zaradi česar se jim spremeni fenotip. Opisan fenomen omogoča nov vpogled v kompleksnost interakcij med tumorskimi celicami in celicami MSC pacienta.
		ANG	In this study we have investigated the interaction of human mesenchymal stem cells (MSC) and tumor cells, fundamental for MSC' cellular treatment vectors' design. We demonstrated that in gliomas, the recruitment of MSC is driven by glioma-secreted factors. We showed that glioma cells as well as MSC differentially express connexins, by which they interact via gap-junctional coupling to form functional and structural syncytium, which is responsible for cells' phenotype change. The described phenomena provides new insight into the complexity of interactions between tumour cells and host MSCs.
	Objavljeno v		Academic Press.; Experimental neurology; 2012; Vol. 234, issue 1; str. 208-219; Impact Factor: 4.645;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.574; A': 1; WoS: RU; Avtorji / Authors: Schichor Christian, Albrecht Valerie, Korte Benjamin, Buchner Alexander, Riesenberg Rainer, Mysliwietz Josef, Paron Igor, Motaln Helena, Lah Turnšek Tamara, Jürchott Kathrin, Selbig Joachim, Tonn Joerg-Christian
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	2542159	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Izražanje cisteinskih katepsinov in cistatinov v človeških gliomih
		ANG	

		The regulation of cysteine cathepsins and cystatins in human gliomas
Opis	SLO	Študija opisuje prvo potrditev napovedne vrednosti izražanja stefina A za preživetje pacientov z glioblastomo (GBM). Pri agresivni in visoko infiltrativni rasti humanih gliomov igra ključno vlogo skupina proteaz - cisteinski katepsini. Njihova aktivnost je dokazano povečana v invazivnih celicah GBM, najbrž tudi zaradi utišanja njihovih endogenih inhibitorjev cistatinov. Za potrditev te hipoteze in vivo smo izpeljali poskuse na U87 ksenograftnem modelu NOD/SCID-eGFP miši. In vivo smo tako prvi potrdili sovpadanje rasti tumorja s povečanjem aktivnosti katepsinov in znižanim izražanjem njihovih inhibitorjev stefinov. Z analizo primarnih humanih biopsij smo prvi razkrili povišan nivo izražanja stefina A na mRNA nivoju kot statistično značilen prognostični dejavnik za preživetje GBM pacientov.
	ANG	This study is first to prove the prognostic value of Stefin A expression for GBM patients survival. We have previously demonstrated that the activity of cysteine cathepsins is elevated in invasive glioblastoma (GBM) cells in vitro, in part due to attenuation of their endogenous inhibitors, the cystatins. To prove that, we performed the in vivo experiments utilizing U87 xenograft NOD/SCID-eGFP mouse model. We were the first to confirm that in vivo growth of the tumour correlates with the increased cathepsin activity and decreased expression of their steffin inhibitor. By analysing primary human tissue, we managed to confirm expression of steffin A on mRNA level to associate significantly with GBM patients' survival.
Objavljeno v		Wiley; International journal of cancer; 2012; Vol. 131, issue 8; str. 1779-1789; Impact Factor: 6.198; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 4.341; A': 1; WoS: DM; Avtorji / Authors: Gole Boris, Huszthy Peter C., Popović Mara, Jeruc Jera, Ardebili Seyed Yousef, Bjerkvig Rolf, Lah Turnšek Tamara
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	28223705 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO www.h (zakaj, kje, kdaj in kako ?)
		ANG www.h: why, where, when and how?
Opis	SLO	Producentka prof. Tamara Lah Turnšek s sodelavci smo izdali slovensko in angleško sinhronizirano verzijo igranega filma, ki na aktualen in originalen način prikazuje problem onesnaženja okolja in pomen ekologije kot znanstvene vede. Obravnava vrsto pogledov in delo raziskovalcev Nacionalnega inštituta za biologijo in je kot tak tudi enkraten dokument o našem delu v sedanjem času. Pripravljen in prvič prikazan je bil ob priliki praznovanja 50 letnice Nacionalnega inštituta za biologijo. Film je dobil prvo nagrado »Rajsko drevo« za najboljši naravoslovni dokumentarni film na Prvem mednarodnem festivalu naravoslovnega filma "GFest" (maj 2012) na Goričkem in 2) Prvo nagrado na BOFFmednarodnem "6th BOVEC OUTDOOR FILM FESTIVAL" (december 2012) ter 3) Pridobil za NIB priznanje Prometej znanosti za odličnost v komuniciranju ki ga podeljuje Slovenska znanstvena fundacija, kjer je bil ob podelitvi tudi prikazan na podelitvi nagrad na SAZU v decembru 2012.
		The Producer prof. Tamara Lah Turnšek and coworkers issued the Slovene and English synchronized version of the film, which shows in a very modern and original way the problem of the environmental pollution and points out on ecology as scientific discipline. It demonstrates many of the aspects and

		the research of National institute of Biology and is as such a unique document about our work at present. It was made and preformed for the first shown at the occasion of the celebration of the 50t anniversary of the National Institute of Biology. The film has gained the awards on the Festivals 1) the award, called »Rajsko drevo« for the best natural sciences documentary on the First International Film Festival on Natural Sciences "GFest" (May 2012) in Goričko and 2) First award on BOFFinternational "6th BOVEC OUTDOOR FILM FESTIVAL" (December 2012) and 3) Gained the Prometej of Excellence in Science Communication for NIB, awarded by the Slovene Science Foundation. The film has been presented at the ceremony at the Slovene Academy of Sciences (SAZU) in December 2012.	
Šifra	F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
Objavljeno v	Nacional institut of biology; 2011; 1 video DVD, (22 minut); Avtorji / Authors: Sedmak Bojan, Letnar Tomaž, Likon Rado, Hribernik Jasna, Lah Turnšek Tamara		
Tipologija	2.18 Raziskovalni ali dokumentarni film, zvočni ali video posnetek		
2.	COBISS ID	31501017	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Določanje novih bioloških označevalcev možganskih tumorjev gliomov za diagnozo in kot nove tarče zdravljenja	
	ANG	Determination of new biomarkers in brain tumours glioma for diagnosis and as new therapy targets	
Opis	SLO	Prof. Tamara Lah je koordinatorica projekta GLIOMA, to je 1.3 mio EUR vrednega tri leta trajajočega bilateralnega projekta v okviru Programa čezmejnega sodelovanja SlovenijaItalija 20072013. Pri projektu bodo še Medicinska fakulteta, UL, Klinični oddelek za nevrokirurgijo UKC Ljubljana ter Univerzitetna bolnišnica v Udinah, Sincrotrone iz Trsta in zdravstvena ustanova iz Chioggie na italijanski strani. Glavni cilj projekta je vzpostavitev sodelovanja odličnih institucij z obeh strani meje na področju raziskovanja možganskih tumorjev. Pomemben cilj je tudi postavite skupne tkivne in celične banke v tej regiji. Rezultati tega dela bodo prispevali k novim možnostim v diagnostiki in zdravljenju glioblastomov. Z povezovanjem novih strategij določevanja posebno matičnih celic in načinov zdravljenja, bo dosežen koncept personaliziranega zdravljenja v onkologiji.	
	ANG	Prof. Tamara Lah is the coordinator of the project GLIOMA, which is 1.3 Mio Euro three years project within European Program of crossborder cooperation Slovenia Italy 20072013. Besides NIB, collaborators are Medical Faculty, University of Ljubljana, University Medical Centre Ljubljana (Department of Neurosurgery). University Hospital in Udine, Sincrotrone Trieste and Health and Social company from Chioggia are project partners from Italy. The main goal of the project in research collaboration on the role of glioma stem cells and to . establish joined tissue and cell bank in the region. Results of these activities will contribute to new forms of important diagnostic and potential therapeutic tools. By integrating the newest strategies on planning a specific treatment for each patient we are approaching the desired concept of healthcare treatment in oncology.	
Šifra	D.01	Vodenje/koordiniranje (mednarodnih in domačih) projektov	
Objavljeno v	Università; 2014; 425 str.; Avtorji / Authors: Passamonti Sabina, Pišot Rado, Lah Turnšek Tamara, Peterlin Borut, Gustincich Stefano, Storici Paola		
Tipologija	2.30 Zbornik strokovnih ali nerecenziranih znanstvenih prispevkov na konferenci		
3.	COBISS ID	3047503	Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Izvor rakavih celic in ciklus predavanj – doktorski predmet z naslovom Izbrana poglavja s področja tumorske biologije . Predavanja na Univerzi Sao PauloUSP,Sao Paulo / Tamara Lah Turnšek (glej tudi COBISS:3046735)
	ANG	Origin of cancer cells and a Course at graduate level entitled. Lecturing at University of Sao PauloUSP, Sao Paulo / Tamara Lah Turnšek (see also COBISS:3046735).
Opis	SLO	Prof. Tamara Lah Turnšek je bila v letu 2012 imenovana s strani CNPQConselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Nacionalnega Sveta za znanstveni in tehnološki napredek, imenovana za gostujočo profesorico na Institutu za kemijo Univerze Sao Paolo (USP) z možnostjo vsakoletnega do 3mesečnega gostovanja. V tem okviru poteka tudi raziskovalno delo na skupnem projektu s prof. Henningom Ulrichom z naslovom Pomen Bradikininskega sistema in z njim povezanimi purinergičnimi signalnimi potmi v celicah GBM v sogojenju z človeškimi mezenhimskimi matičnimi celicami, ki še poteka. Prof. Tamara Lah je tudi somentorica dveh doktorandk (Mona Oliveira in Erika Molina), ki delata pod mentorstvom prof. Ulricha in bosta kot štipendistki CNPQ gostovali na NIBu v letu 20152016. V letu 2013 je prof. Lah Turnšek na USP je tudi predavala na doktorskem študiju predmet Izbrana poglavja s področja tumorske biologije.
	ANG	Prof. Tamara Lah Turnšek was nominated in 2012 as Visiting Professor by CNPQ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico The Brazilian National Council for Scientific and Technological Development at the institute of Chemistry of the University of Sao Paolo, which includes up to 3 months visits each year. Within this framework, the research project is carried out in collaboration with Prof. Henning Ulrich, entitled: The Relevance of Bradykinin system and Related Purinergic Signalling Pathways in GBM Cells upon Coculturing with Human Mesenchymal Stem Cells, which is ongoing. Prof. Tamara Lah is also a comentor of two PhD students at USP (Mona Oliveira and Erika Molina), guided by Prof. Ulrich, who are beneficiary of CNPQ fellowship and will be visiting NIB in 2015 and 2015. In the year 2013 Prof. Lah Turnšek also carried out the graduate course entitled Selected Chapters in Tumor Biology.
Šifra	B.05 Gostujoči profesor na inštitutu/univerzi	
Objavljeno v	2013; Avtorji / Authors: Lah Turnšek Tamara	
Tipologija	3.14 Predavanja na tuji univerzi	
4.	COBISS ID	266440192 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Knjiga povzetkov. 7 Konferenca o eksperimentalni in translacijski onkologiji , Portorož, Slovenija, April, 2024, 2013 ; [organizacija Društva za radiologijo in onkologijo , soorganizacija COST TD 1104 Action; [editors Gregor Serša ... et al.]
	ANG	Book of Book of abstracts / 7th Conference on Experimental and Translational Oncology, Portorož, Slovenia, April, 2024, 2013 ; [organized by Association of Radiology and Oncology], coorganized by COST TD 1104 Action ; [editors Gregor Serša ... et al.]Book of abstracts
Opis	SLO	Organizacija 7 zaporednih mednarodnih konferenc o eksperimentalni in translacijski onkologiji –CETO – v letih: 2000 2013 ter sourednica izdaje vseh relevantnih zbornika(ov) Konferenca CETO je bila leta 2013 organizirana že sedmič po vrsti s povečano mednarodno udeležbo z nad 150 znanstveniki iz EU in ZDA. Pomen teh konferenc je v tem, da združujejo temeljne raziskave z uporabnimi in s kliničnimi študijami. S tem pospešujejo povezavo med laboratorijskimi raziskavami s potrebami bolnika, v čemer je njihov uporabni vidik. Konference tudi prispevajo k mreženju in pospešujejo mobilnost med samimi slovenskimi in z mednarodnimi skupinami. Tokrat je bila združena z organizacijo redne letne

		<p>konference EORTC – European Organization of Research and Treatment of Cancer, sekcija za Patobiologijo. Letno sestanek te skupine, ki ima le vabljeni člani vsake od EU držav, je 2013 potekala v organizaciji Prod. Janka Kosa in Tamare Lah Turnšek, ki sta člana te skupine že od 1998. Prof. Lah Turnšek je imela poleg soorganizacije tudi predavanj z naslovom: Tumour stem cell markers as prognostic indicators in cancer : 8th EORTC PathoBiology group annual meeting, Portorož, April, 2013. Portorož, 2013. [COBISS.SI ID 2801487).</p>
	ANG	<p>Organisation of 7 consecutive international Conferences on Experimental and Translational Oncology – CETO – in years from 2000 – 2013 and coJavni editor of the respective Proceedings: Proceeding of the 7th Conference on Experimental and Translational Oncology, The CETO Conference was in 2013 organised already for the 7th time, with increased international participation of over 150 scientists from EU and USA. The important impact of these conferences is on the possible translation of basic research to applied clinical studies. By this it enhances the transition from laboratory research and the patients' needs, what reflects its applied aspect. The Conferences also contribute to the networking and increase the mobility among Slovenian groups as well as with the international research teams. This time the Conference was joined with the organization of regular annual Conference EORTC – European Organization of Research and Treatment of Cancer, section for Pathobiology. Annual meeting of this group, comprising invited members only, took place in 2013 in organization of Prod. Janko Kos and i Tamara Lah Turnšek, who are members since 1998. Prof. Lah Turnšek also had a lecture besides being an coorganizer entitled: Tumour stem cell markers as prognostic indicators in cancer : 8th EORTC PathoBiology group annual meeting, Portorož, April, 2013. Portorož, 2013. [COBISS.SI ID 2801487).</p>
	Šifra	C.01 Uredništvo tujega/mednarodnega zbornika/knjige
	Objavljeno v	Association of Radiology and Oncology; 2013; 216 str.; Avtorji / Authors: Serša Gregor, Kos Janko, Lah Turnšek Tamara, Čemažar Maja, Filipič Metka, Kranjc Simona, Markelc Boštjan
	Tipologija	2.25 Druge monografije in druga zaključna dela
5.	COBISS ID	2795599 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Uvod v ISS Piran 2013 Del A
		ANG Introduction to the ISS Piran 2013 Part A
	Opis	<p>SLO Mednarodna poletna šola na temo modernih pristopov v raziskavi in zdravljenju raka je bila že 6. po vrsti v sklopu mednarodnih šol - ISS Piran ("International Summer School"). Ta je potekala pod vodstvom Tamare Lah Turnšek in je bila organizirana na Morski biološki postaji (MBP) Nacionalnega Inštituta za biologijo v sodelovanju z Društvom za celično in tkivno inženirstvo Slovenije. Organizirana je bila kot podiplomski tečaj v sklopu doktorskih programov Biomedicina MF UL (5KT), namenjena tudi študentom bioznanosti in sorodnih naravoslovnih ved ter drugim željnih tovrstnega znanja in izkušenj. Teme so vključevale tumorsko biologijo, tumorske označevalce in tarče, matične celice in translacijske raziskave na področju raka, v dopoldanskem času kot predavanja, popoldan pa kot vaje, kjer so se slušatelji seznanili z metodami v eksperimentalni onkologiji. Zadnji dan so udeleženci opravljali pisni izpit in predstavili svoje projektne naloge. Iz povzetkov predavanj smo pripravili Zbornik, ki ga je izdal NIB.</p>
		<p>International Summer School (ISS) on the theme of modern approaches in research and treatment of cancer was the 6th in a row of international ISSPiran. This one was carried under the leadership of Tamara Lahr Turnšek at the Marine Biology Station of the National Institute of Biology in</p>

	ANG	collaboration with the Society for Tissue Engineering of Slovenia. It was organized as a postgraduate school for the students of Biomedicine at Medical Faculty of UL (5 ETC), but was also intended to attract students of biosciences and similar fields of natural sciences as well as for all others willing to gain the knowledge and experiences in oncology. The subjects included tumour biology, tumour biomarkers and targets, cancer and stem cells and translational research in the field of cancer in the mornings as lectures and as hands on practicals in the experimental oncology in the afternoon. On the last day the participants took written exams and presented their related projects. We prepared the book of abstracts from the abstracts that was printed and published by NIB.
Šifra	B.02	Predsedovanje programskemu odboru konference
Objavljeno v	National Institute of Biology (NIB) Slovenia; Modern approaches to research and treatment of cancer; 2013; Str. 12-13; Avtorji / Authors: Lah Turnšek Tamara	
Tipologija	1.10	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljen predavanje)

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

Relevanten projekt, ki je bistveno prispeval k temi tega projekta je bil tudi 3-letni Slo-Ita Interreg projekt GLIOMA: Določanje novih biomarkerjev možganskih tumorjev - gliomov za diagnozo in kot nove tarče zdravljenja, katerega koordinatorka je bila Tamara T. Lah. Projekt je potekal v okviru čezmejnega sodelovanja Slovenija-Italija (2011-2014). Celotna vrednost projekta je znašala 1.5 mio EUR.

Predhodno (2007-2012) je bila skupina aktivna in nosilka T.T. Lah vodja koordinacije za NIB, Virtualnega instituta - 5 letnega projekta INREMOS SysTher (ERA-NET projekt): systems Biology Tools Development for Cell Therapy and Drug Development - Razvoj orodij sistemske biologije za raziskave celičnih terapij in razvoj zdravil. Ta nemško-slovenski bilateralni projekt je bil zaključen v letu 2012 z mednarodnim simpozijem in javno predstavitvijo v Hotelu MONS.

Mentorstva vodje projekta so bistveno prispevala k njegovi izvedbi in omogočala boljše objave. Zaključena diplomska (6), magistrska (2) in doktorska dela (3) med leti 2011-2014 pričajo o uspešnem pedagoškem delu skupine: PODERGAJS Neža, PRIMON Monika, TORKAR Ana, ROBIČ Mateja, VIDERGAR Romana, MORE Mateja, MAJDIČ Timotej, VIVOD Janja, ŠKRJANC Monika, GORIČAN Tjaša, ZOTTEL Alja.

Nosilka T.T. Lah je bila vabljen gostujoča profesorica, ki je v letih 2012, 2013 in 2014 izvedla cikle predavanj v Braziliji na svetovno priznanih Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (Rio de Janeiro), ter na Universidade de São Paulo, Instituto de Química (Sao Paulo). Doktorskim študentom, zdravnikom ter drugi javnosti je predavala o matičnih celicah, biologiji raka te o vlogi proteoliznih sistemov in njihovi regulaciji. ([COBISS.SI-ID 3150671],[COBISS.SI-ID 3045199],[COBISS.SI-ID 3047247], [COBISS.SI-ID 3046735],[COBISS.SI-ID 3046991], [COBISS.SI-ID 3048015], [COBISS.SI-ID 3047503], [COBISS.SI-ID 3047759].

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Z različnimi pristopi je moč dobiti povsem nove še neodkrte specifične označevalce različnih tipov celic. Pomemben nov znanstveni pristop, ki smo ga mi ubrali v okviru tega projekta je povezovanje raziskav biologije tumorjev in matičnih celic s sistemske biologijo. Z analizo

izražanja genov, proteinov in regulatornih molekul ob različnih in vitro ustvarjenih pogojih, ki so podobni pogojem v samem tumorju in vivo, je namreč možno dobiti vpogled v biološke lastnosti glioblastomskih (GBM) celic v primerjavi z normalnimi nevrlnimi celicami. S povezavo laboratorijskih raziskav na kliničnem materialu in celičnih kulturah (podatki iz t.i. »mokrega« laboratorijskega dela) z bioinformatiko (»suhega« laboratorijskega dela), smo uspeli identificirati nove označevalce za GSC in GBM celice na nivojih proteomike, transkriptomike in citokinskega profiliranja. Odkrite označevalce CD9, TRIM 28, Stefin A in katepsin K smo tudi okarakterizirali, ter in vivo validirali na manjši skupini pacientov, čaka jih še potrditev na večji skupini GBM pacientov za uspešen prenos v kliniko. Uspeli smo dokazati, da je tudi v plazmi bolnika z GBM možna detekcija tako diagnostičnih kot prognostičnih označevalcev in kot takega identificirali GNAO1. Slednji tip diagnostiki ter sledenja razvoja bolezni izrednega pomena za bolnike z GBM, saj serumska diagnostika spada med relativno ne-invazivne metod v primerjavi z odvzemom tumorskih biopsij. Zgoraj navedeni novi identificirani označevalci GSC in GBM utegnejo vplivati na napoved preživetja bolnikov z GBM in njihovo občutljivosti na zdravljenje. Obenem pa predstavljajo tudi nove tarče za razvoj bolj učinkovitih terapij za preprečitev ponovnega razvoja tumorskega obolenja.

S sledenjem izražanju genov, proteinov, ter njihovih regulatornih molekul (citokinov, mikroRNA) in metabolnega stanja celic GBM in GSC v različnem okolju, (kot je npr. pomanjkanje kisika -hipoksija), je možno razviti kontrolo njihove invazivnosti, ki je ključna za širjenje GBM v normalno možganovino. Identifikacija genov in proteinov/proteaz, ki se pri reverzibilnem prehodu iz stacionarnega v migratorno stanje aktivirajo v GSC, je ključnega pomena za razumevanje in inhibicijo njihovih invazivnih lastnosti. Dokazali smo, da bi ciljno trajno znižanje aktivnosti CatL, zaradi sinergističnega delovanja znižanja CatL in določenih citotoksičnih učinkovin prišlo v poštev pri kombinirani terapiji možganskih tumorjev s kemoterapevtiki (v našem primeru arzenita). To nam je uspelo dokazati s povečano apoptozo celic GBM tako v 3D modelu U87 sferoida in vivo, kot v primeru organotipskih sferoidov pilocitnega astrocitoma, kjer pa učinek ni bil tako izrazit. V slednjih je namreč vpliv zaščite opazen s strani strome primarnega tumorja iz katerega ti sferoidi izvirajo. Zaradi tega učinka znižanja CatL na apoptozo povzročeno z arzenitom, smemo ambicionzno predvidevati, da bi se ciljno zniževanje catL v človeškem možganskem tumorju lahko izrazilo v večji selektivni dovzetnosti tumorskih celic na kemoterapijo. Slednje bi omogočilo znižanje uporabljene doze toksičnih kemoterapevtskih učinkovin, zmanjšalo pojav negativnih stranskih učinkov citotoksičnih učinkovin in povečalo kvaliteto življenja rakavih bolnikov.

Prav tako se je predpostavljalo, da lahko mezenhimske matične celice, po infiltraciji v GBM iz kostnega mozga, kjer postanejo del GBM mikrookolja (gbMMC) vplivajo na obnašanje celic GBM oz. GSC. S sistemskim pristopom smo sledili interakcijam GBM and GSC in MSC, v direktnih in indirektnih so-kulturah razkrili MCP1/CCL2, DKK1 in BDKRB1 molekularne mehanizme njihove interakcije, pomembna predvsem za uravnavanje invazije celic GBM s potencialom za uporabo v klinični onkologiji kot tarče za zdravljenje GBM.

ANG

This project had combined tumour biology and stem cell research with systems biology to approach the identification of novel cell specific biomarkers. Following changes of a great number of expressed genes, proteins and regulatory molecules at different in vitro conditions, which mimic those in the tumour in vivo, it is namely possible to get insight into the characteristics of glioblastoma (GBM) cells in comparison to normal neural cells. With the appropriate selection of methods and the linkage of experimental research on clinical samples and cell culture (providing the data for so called "wet laboratory research") with bioinformatics tools ("dry laboratory research") we managed to identify novel biomarkers of GSC and GBM cells at transcriptome, proteome and cytokine profiling level. The revealed biomarkers CD9, TRIM28, Steffin A and Cathepsin K were also characterized and in vivo validated in small patients' cohorts. Those are awaiting large cohort screening prior clinical translation. We also identified new biomarker GNAO1, for which we confirmed the diagnostic and prognostic value in the plasma of GBM patients. This type of diagnostic marker and its detection in the patient's blood are designated as less invasive methods compared to GBM biopsy retrieval. The above mentioned new biomarkers with the impact on prognosis may even predict the response to therapy and by the same token represent new targets for future anti GBM drug design. Following the proteins and their regulatory molecules (cytokines, microRNA), as well as metabolic state of GBM and GSC in various environmental conditions (for example hypoxia), it is possible to develop regulators to control their invasive properties are crucial for the GBM

spread. Identification of genes and proteins/proteases, activated at the reversible transition from stationary to migratory transition in GSC is important for understanding and inhibition of their invasion. We have presented a proof of principle that targeted lowering CatL activity could, because of their synergistic activity with known cytotoxic drugs i.e. Arsenite be a useful strategy when combined with the chemotherapy. As we succeeded in proving the enhanced apoptotic activity in the CatL silenced U87 and astrocytic pilocytoma spheroids cells arising from the arsenite treatment, we feel confident to ambitiously predict that targeting CatL expression in tumours during chemotherapy would indeed enhance the selectivity of tumour cells' response to therapy. This would allow for a decrease of the applicable therapeutic doses of toxic drugs, resulting in elimination of the toxic side effects and thereby in the increase of the quality of the GBM patient's life.

It was also suggested that mesenchymal stem cells (MSC) after GBM infiltration may become a part of the GBM microenvironment and effect behaviour of GBM (stem) cells. Using the same systems approach, as indicated above, we follow the GBM/GSC and MSC interactions in direct and in direct cocultures and revealed MCP1/CCL2 and BDKRB1 molecular mechanisms that mediate their cross-talk and invasion, which may serve in clinical oncology as targets for treating GBM

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Izveden projekt je vključeval v medicini tako imenovane translacijske raziskave, ki težijo k prehodu rezultatov iz laboratorija v klinično uporabo za diagnozo in prognozo oz. določanje odziva na zdravljenje in so pomembne predvsem za razvoj novih tarčnih zdravil za bolnike z GBM. Naši rezultati so torej uporabni s treh vidikov:

- za nadaljnji razvoj biomarkerjev matičnih celic GBM v onkologiji, ki ji lahko v prihodnosti sledi patentne uporabe t.i. diagnostičnih kitov odziva na terapijo. Zelo obetavna, čeprav nekoliko oddaljena klinična aplikacija teh raziskav je možnost zdravljenja GBM z normalnimi neuroepitelijskimi ali mezenhimijskimi matičnimi celicami (MSC). Obnašanje normalnih matičnih celic v tumorskem mikro-okolju so ovrednotile že mnoge študije in zanje je znano, da so same ali kot vektorji primerne za vnos zdravil v rakavo (GBM) tkivo. Število biobank, ki hranijo tkiva, obogatena z MSC za njihovo kasnejšo alogeno uporabo narašča in tako donorji kot tudi bolniki sami, pričakujejo in zahtevajo razvoj teh znanj, ki vzbujajo upanje za zdravljenje predvsem težko ali neozdravljivih, rakavih bolezni, kot je GBM.

- ker do novih aplikacij na področju matičnih celic prihaja predvsem v manjših biotehnoških podjetjih, ki razvijajo naprave, reagente in tehnologije, uporabne v raziskavah matičnih celic, je to še posebej dobro za Slovenijo. Predlagani rezultati projekta bodo prispevali k večji mednarodni poslovni prepoznavnosti našega inštituta (NIBa) ter posredno povečali možnosti za vključitev Slovenije v regionalni Evropski biotehnoški trg. Izvedene raziskave je podpiral tudi (na našo pobudo ustanovljen) Center za Matične Celice (glej <http://www.nib.si/>), ki bo tudi v prihodnje deloval kot prepoznavni posredovalec novih poslovnih zvez, vključno s partnerstvi vzpostavljenimi v okviru mednarodnega Interreg GLIOMA projekta (Center za genetsko inženirstvo in biotehnologije (ICGEB- Area di Recerca, v Padričah, Italija), Univerza v Vidmu in Univerzo v Trstu ter z Onkološkim centrom v Avianu).

- tretji vidik se nanaša na izboljšanje razumevanja normalnih matičnih celic kot terapevtskih orodij za "napredne celične terapije". Izraz je uveljavljen v Uredbi (EC) Št. 1394/2007 Evropskega parlamenta in Sveta o naprednih medicinskih pripomočkih, ki prav tako vključuje celične terapije in tkivno inženirstvo. Napredne celične terapije so nadaljevanje zdravljenja raka s presaditvijo kostnega mozga. Nov način tega pristopa je dovajanje MSC v tumor v kombinaciji z gensko terapijo (n.pr. genetsko spremenjene MSC). V večini razvitih držav so napredne celične terapije že del transplantacij, saj so tehnično in logistično dokaj nezahtevne. V Evropi so klinični poskusi celične terapije z MSC zaradi neustrezne kakovosti in stabilnosti terapevtskih matičnih celic še vedno v začetnih fazah (klinični poskusi I, II, III). V ZDA imajo celične terapije z matičnimi celicami nefarmakološki status in je proces odobritve s strani Administracije za hrano in zdravila (FDA) krajši kot za komercializacijo terapij s kemijskimi in biološkimi zdravili. Število in razpon kliničnih raziskav narašča po celem svetu, zato lahko pričakujemo, da bodo vsaj nekatere teh terapij raka v bližnji prihodnosti uspešne in bodo prišla na trg v naslednjih 5 letih tudi v Sloveniji, Tu pa moramo zaradi zahtevnih tehnologij uporabe pridobiti znanja.

Slednje dosegamo s predlaganimi mednarodno vpetimi raziskavami na tem področju, ki tako prispevajo k širši uporabi in biološki varnosti prihodnjih terapij, osnovanih na matičnih celicah.

ANG

The completed project involved the so called "bench to bed approach" of medical research, which focused on translating laboratory result into clinical application for diagnosis, prognosis and prediction of response to treatment, as well as towards the targeted drugs development for GBM patients. Our results are therefore relevant from three aspects:

- for the GBM stem cells biomarkers' use in clinical oncology as patented diagnostic kits which may even evolve into indicating therapy response kits. An attractive though distant clinical application of this research shows as possible use of normal neural and mesenchymal stem cells (MSC) for GBM therapy. The behaviour of normal stem cells in the tumour microenvironment has been investigated by many, confirming their suitability for drug delivery to cancer tissue. The number of biobanks, which store the tissue, enriched in MSC for their subsequent transplantation, is increasing as well as the number of donors and patients, who all expect and demand the development of this knowledge, as it raises the hope for treatment of hard to treat, incurable diseases, such as GBM.

- the new applications in the field of stem cells are most attractive for small biotech companies, developing equipment, tools, reagents and technologies, useful for stem cells research. This is a particular good model for Slovenia. The results of this project shall contribute to better international business recognition of our institute (NIB) and enhance the possibilities of Slovenia to take part in the regional European biotech market. The performed research was also supported by the Centre for Stem Cells (established by our initiative, see: <http://www.nib.si>), that shall also in future act as well recognised forum of opportunities for new business connection, as well as the partnering network of the international Interreg GLIOMA project (International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB – Area di Ricerca, Padriacano), University of Udine, University of Trieste and Oncology Centre in Aviano).

- the third aspect of this project addressed expansion of knowledge on normal stem cells as therapeutic tools for »advanced cell therapy«. The term was coined in the Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council on Advanced Medicinal Products and also includes cell therapy and tissue engineering. Advanced cell therapies are actually a continuation of treatment by bone marrow transplantation. An upgrade of such approach is the application of MSC derived from bone marrow /or other organs/ into tumour, combined with gene therapy approach (for example genetically modified MSC). In the majority of the developed countries, advanced cellular therapies became recently an integral part of transplantation services, due to their common technical and logistical demand. In Europe, clinical trials for stem cell therapies are still in early stages (clinical trials I, II, III) which is mostly due to the insufficient quality and stability of therapeutic stem cells available. In USA, the non-pharmacological status of stem cell therapies means that the Food and Drug Administration clearance process takes less time for commercialization than drug therapy. As the number and range of clinical studies is increasing worldwide, we can expect that at least a few cancer therapies will succeed in near future and will be marketed within the next 5-7 years also in Slovenia. Due to the demanding technology of above mentioned application, we therefore urgently need to develop the relevant knowledge, resulting from our internationally integrated investigation in this field that will contribute to application and biosafety of stem cell based therapy in future.

10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj	
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin
	Zastavljen cilj <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat <input type="text"/>
	Uporaba rezultatov <input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Spособnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

--

11.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

--	--

	Sofinancer			
1.	Naziv			
	Naslov			
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR	
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%	
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra		
		1.		
		2.		
		3.		
		4.		
		5.		
	Komentar			
	Ocena			

13. Izjemni dosežek v letu 2014¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

Dosežek: Prva analiza transkriptoma in mezenhimskih in glioblastomskih celic v posredni kulturi.

Objava:

MOTALN, Helena, GRUDEN, Kristina, HREN, Matjaž, SCHICHOR, Christian, PRIMON, Monika, ROTTER, Ana, LAH TURNŠEK, Tamara. Human mesenchymal stem cells exploit the immune response mediating chemokines to impact the phenotype of glioblastoma [COBISS.SI-ID 2432079].

V študiji smo proučevali uporabnost človeških mezenhimskih matičnih celic (MSC) v zdravljenju glioblastoma (GBM) najbolj maligne oblike možganskega tumorja. Ovrednotili smo medsebojni odziv celic MSC in GBM v indirektnih kulturah in vitro na nivoju signalnih proteinov (citokinov) in izražanja genov. Identificirali smo citokine, ki povzročajo spremembo fenotipa celic in razkrili izrazito povišano izločanje citokina CCL2/MCP-1 iz MSC. Odkrite gene/proteine smo prvi opisali v komunikaciji med GBM in MSC. Rezultati so uporabni za prihodnje vrednotenje tarčnih genov celičnem zdravljenju raka.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Pospeševanje internacionalizacije in mobilnosti:

Tamari Lah je brazilska agencija CNPQ podelila naziv »gostujoče profesorice« na U Sao Paulo v Braziliji, za izvedbo projekta "Pomen bradikininskega sistema in sorodnih purinergičnih signalnih poti v GBM celicah v so-gojenju z mezenhimskimi matičnimi celicami. V maju 2014 je gostovala na USP kot predavateljica in mentorica doktorskima študentkama, Moni Oliveira in Erika Molina. V tem času je imela več vabljenih predavanj, n.pr.:

- Dual role of stem cells in glioma na UFRJ v Rio de Janeiru, mednarodni Simpozij.
- Mesenchymal stem cell directly increase invasion of glioblastoma cells : XLIII Annual Meeting of SBBq, The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology, Foz do Iguacu, Paraná, Brazil, May 17th to 20th, 2014. [COBISS.SI-ID 3155535].
- Research perspectives at National Institute of Biology in Slovenia : Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Rio de Prof. Dr. Tamara Lah Turnšek.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Nacionalni inštitut za biologijo

Tamara Lah Turnšek

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana

16.3.2015

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/112

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Rubrike izpolnite / prepišite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.rrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2014 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2015 v1.00a

85-1E-CA-D1-FB-FE-51-BC-14-C2-0F-89-AD-C7-39-95-A6-77-0E-1C

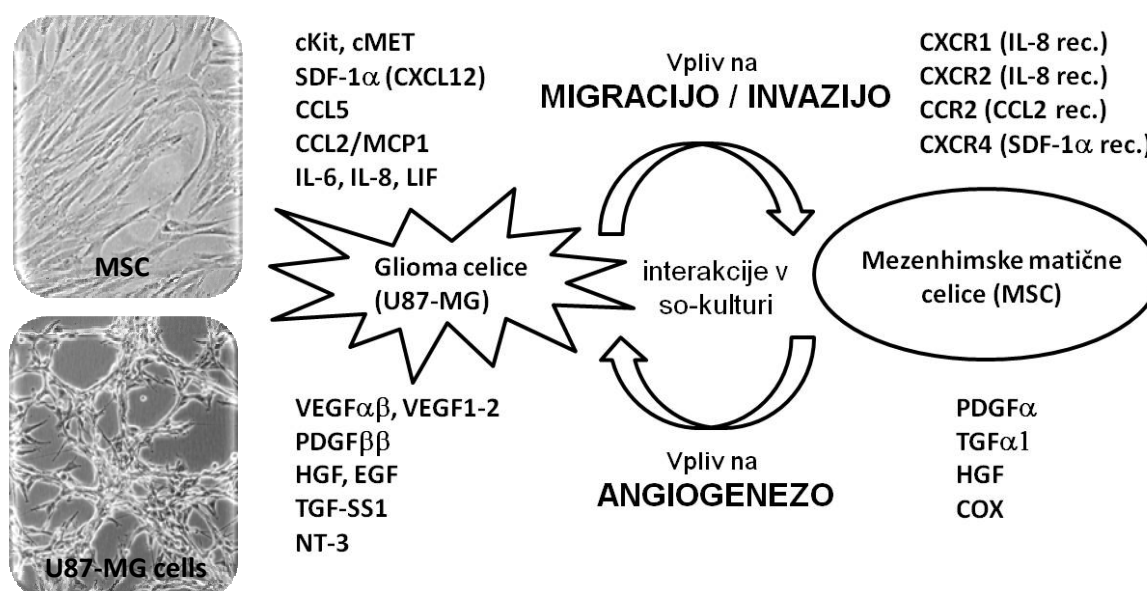
Priloga 1

1 NARAVOSLOVJE

Področje: 1.03 Biologija

Dosežek 1: Prva analiza transkriptoma mezenhimskih in glioblastomskih celic v posredni so-kulturi.

Vir: MOTALN Helena, GRUDEN Kristina, HREN Matjaž, SCHICHOR Christian, PRIMON Monika, ROTTER Ana, LAH TURNŠEK Tamara. Human mesenchymal stem cells exploit the immune response mediating chemokines to impact the phenotype of glioblastoma. *Cell transplantation*, 2012, 21(7):1529-1545. IF = 4,42



Poznavanje genoma in transkriptoma raka je ključno za razumevanje njegovega nastanka, rasti in razvoj terapij. V tej študiji smo proučevali uporabnost človeških mezenhimskih matičnih celic (MSC) za zdravljenje glioblastoma (GBM) najbolj maligne oblike možganskega tumorja.

Skupina T.T. Lah je z namenom razkritja interakcij med celicami GBM in MSC ovrednotila medsebojni odziv celic MSC in GBM v indirektnih so-kulturah in vitro na nivoju signalnih proteinov (citokinov) in izražanja genov. Identificirali smo citokine, ki povzročajo spremembo fenotipa celic in razkrili izrazito povišano izločanje citokina CCL2/MCP-1 iz MSC. Odkrite gene/proteine smo prvi opisali v komunikaciji med GBM in MSC. Rezultati so uporabni za prihodnje vrednotenje tarčnih genov celičnem zdravljenju raka.