

## Projekts Nr. 5

### 5. Personalizēta vēža diagnostika un terapijas efektivitātes noteikšana

projekta vadītāja  
vārds, uzvārds,  
zinātniskais grāds  
institūcija  
ieņemamais amats  
kontakti

Jānis Gardovskis	
<i>Dr. med. habil.</i>	
Rīgas Stradiņa universitāte	
profesors	
<i>Tālrunis</i>	67069745
<i>E-pasts</i>	<i>Janis.Gardovskis@rsu.lv</i>

### 1. Projekta Nr. 5 mērķi:

*(Norāda projekta mērķi (saskaņā ar apstiprināto projekta pieteikumu un līgumu) un informāciju par mērķa sasniegšanu/izpildi)*

Jaunu agrīnas diagnostikas un terapijas efektivitātes noteikšanas metožu izstrāde dzīvildzes un dzīves kvalitātes uzlabošanai pacientiem ar krūts un metastātisku kolorektālu vēzi.

Pārskata periodā tika noteikts riska alēļu biežums *RECQL* un *PALB2* gēnos, ka arī četrpadsmit zemas penetrances gēniem, kas ļaus izstrādāt algoritmu paaugstināta krūts vēža riska grupas identifikācijai. Ir noteikta saistība starp noteiktām hromosomālām aberācijām un metastātisku kolorektāla vēža pacientu bezprogresijas dzīvildzi. Paredzams pētījuma grupā iekļaut arī pacientus ar zemākām stadijām un identificēt predikatīvus marķierus terapijas efektivitātes uzlabošanai. Turpinās pētījums par krūts vēža ģenētisko heterogenitāti un terapijas rezistentu vēža šūnu raksturošanu, kas ļaus labāk izvēlēties optimālo terapiju noteiktām pacientu grupām.

Izstrādāto algoritmu un identificēto marķieru izmantošana ļaus uzlabot Latvijas iedzīvotāju dzīves kvalitāti un dzīvildzi, kas arī izpildīs saskaņā ar Biomedicīnas programmas galveno mērķi.

Notiek sadarbība PSKUS Krūts slimību centru, Onkoloģijas klīniku, Ķirurģijas klīniku, SIA Pharmidea un SIA Nukleārās medicīnas centrs.

### 2. Projekta Nr. 5 uzdevumi:

*(Norāda projekta pārskata periodā plānotās darbības un galvenos rezultātus. Kopējais saturiskais izklāsts nepārsniedz divas A4 lapas)*

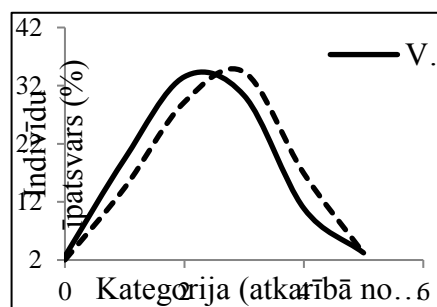
Darba uzdevumi	Galvenie rezultāti
1. Ar krūts vēža risku saistītu gēnu alēlisku variantu noteikšana krūts vēža slimnieču un kontroles grupā (E. Miklaševičs, A. Irmejs, M. Ustinova, L. Kalniņa)	Noteikti četrpadsmit alēliskie varianti 3500 krūts vēža pacientēm un 1000 kontroles grupas veselām sievietēm. Noteikts mutāciju biežums krūts vēža pacientēm un kontroles grupai <i>RECQL</i> un <i>PALB2</i> gēnos.
2. Plazmā cirkulējošu nukleīnskābju analīze metastātiska kolorektāla vēža pacientiem dažādos terapijas posmos (M. Nakazawa-Miklaševiča, Z. Daneberga, D. Kalniete, D. Bērziņa, L. Ozoliņa)	Noteikta hromosomālo aberāciju (hromotripsis) saistība ar metastātiska kolorektāla vēža pacientu dzīvildzi.

<p>3. Metastātiska kolorektāla vēža pacientu plazmas masspektrometriska analīze noteiktos terapijas posmos (G. Purkalne, Z. Daneberga M. Nakazawa-Miklaševiča, D. Kalniete, L. Ozoliņa)</p>	
<p>4. Audzēja primāro šūnu klonogēnā iegūšana un raksturošana (I. Čakstiņa, A. Irmejs, V. Pirsko, M. Priedīte, L. Kalniņa)</p>	<p>No pētījumā iesaistītajām pacientēm pavisam iegūtas 105 šūnu līnijas; no tām 52 ir saudzētas nepieciešamā daudzumā un kriokonservētas, bet 53 – vēl tiek kultivētas, lai iegūtu nepieciešamo šūnu daudzumu. Vienas pacientes 17 audzēja šūnu līnijām veikta gēnu ekspresijas analīze.</p>

### 3. Projekta Nr. 5 izvirzīto uzdevumu izpildes rezultāti

*(Novērtē, kādā mērā ir sasniegti plānotie mērķi un uzdevumi. Raksturo rezultātu zinātnisko un praktisko nozīmību, kā arī rezultātu praktisko lietojumu (lietišķiem pētījumiem). Raksturo problēmas, to iespējamus risinājumus, turpmākā darba virzienus. Kopējais saturiskais izklāsts nepārsniedz četras A4 lapas)*

Zemas penetrances alēliskie varianti ir aktuāls pētījumu objekts krūts vēža patoģenēzē. Statistiski ticamu asociāciju ar krūts vēža saslimšanu novēroja septiņiem no vienpadsmit analizētajiem variantiem. Pieci no tiem (rs9693444, rs1550623, rs13329835, rs3760982, rs7072776) uzrādīja krūts vēža saslimšanas risku palielinošu efektu, turpretī rs17356907 un rs1436904 - protektīvu efektu. Veica alēlisko variantu kombināciju analīzi, atlasot piecus variantus (rs7072776, rs3760982, rs13329835, rs1550623, rs9693444) ar statistiski ticamu, krūts vēža saslimšanas risku palielinošu efektu, ko pierādīja iepriekš veiktajā gadījuma-kontroles analīzē. Sievietes gan no pacienšu, gan kontroles grupas klasificēja sešās kategorijās, balstoties uz iepriekš atlasīto variantu statusu un skaitu.



1. attēls. Nesēju procentuālais daudzums kontroles un pacienšu grupās dažādās kategorijas atkarībā no riska alēļu skaita.

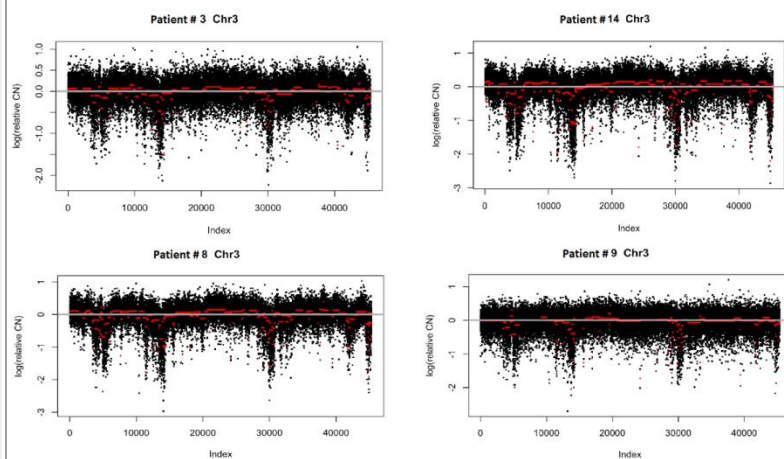
Novēroja, ka sievietēm, kas ir vismaz trīs alēlisko variantu nesējas, ir statistiski ticami lielāks krūts vēža saslimšanas risks nekā tām, kam riska alēļu skaits ir mazāks par trīs (OR = 1,49; CI = 1,17 – 1,91;  $p$ -vērtība = 0,001).

Hromotripsis ir masveida hromosomu fragmentācija, kuras rezultātā notiek šūnas onkotransformācija. Šī pētījuma mērķis bija novērtēt hromotripša (> 100 lūzumpunkti vienā hromosomā) saistību ar bezprogresijas perioda (PFS) ilgumu metastātiskiem kolorektāla vēža pacientiem (mKRV). Jāatzīmē, ka gandrīz identiski pārkārtojumi bija vērojami vairāku pacientu 1., 3. un 8. hromosomā (2 att.).

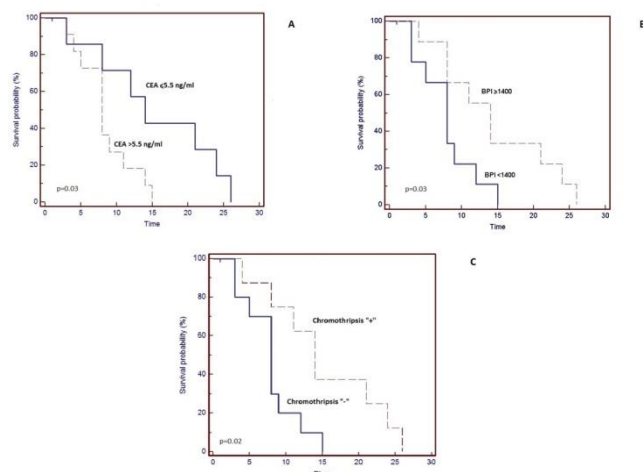
52,6% audzēja paraugos, tika noteikts hromotripsis. Visbiežāk tas skar 1., 2. un 6. hromosomu. Pozitīva korelācija tika atrasta starp hromotripsī un paaugstinātu PFS (3. att). Krūts audzējiem raksturīgi dažādu, nevienmabīgu šūnu tipu apkopojumi, tāpēc labākai audzēja šūnu heterogenitātes izpratnei, nepieciešami padziļināti šo šūnu patoģenēzes pētījumi. Pārskata periodā pētījumā iesaistītas četras pacientes pirms un pēc terapijas.

Mūsu pētījumā no krūts audzēja iegūtā materiāla kultivēšanai vidējā efektivitāte ir 65,6%. No pētījumā iesaistītajām pacientēm pavisam iegūtas 105 šūnu līnijas; no tām 52 ir saudzētas nepieciešamā daudzumā un kriokonservētas, bet 53 – vēl tiek kultivētas, lai iegūtu nepieciešamo šūnu daudzumu.

No katra punkcijas biopsijas parauga ar sekvenčiālas mehāniskas un enzimatiskas šķelšanas palīdzību izolētas 32 šūnu populācijas primāro šūnu kultūru uzsēšanai. Katras frakcijas šūnas tiek kultivētas četrās atšķirīgās barotnēs, lai pēc iespējas labāk saglabātu audzējā esošo šūnu populāciju daudzveidību. Darbā izmantotās barotnes attēlotas 2. tabulā.



Attēls 2. 3. hromosomas kopiju skaita izmaiņas četru pacientu (#3, #8, #9 un #14) vēža šūnās.



Attēls 3. PFS korelācija CEA līmeni (A), lūzumpunktu skaitu (B) un hromotripsī (C).

1.tabula. Pētījumā iesaistīto pacientu klīniskais un patohistoloģiskais raksturojums

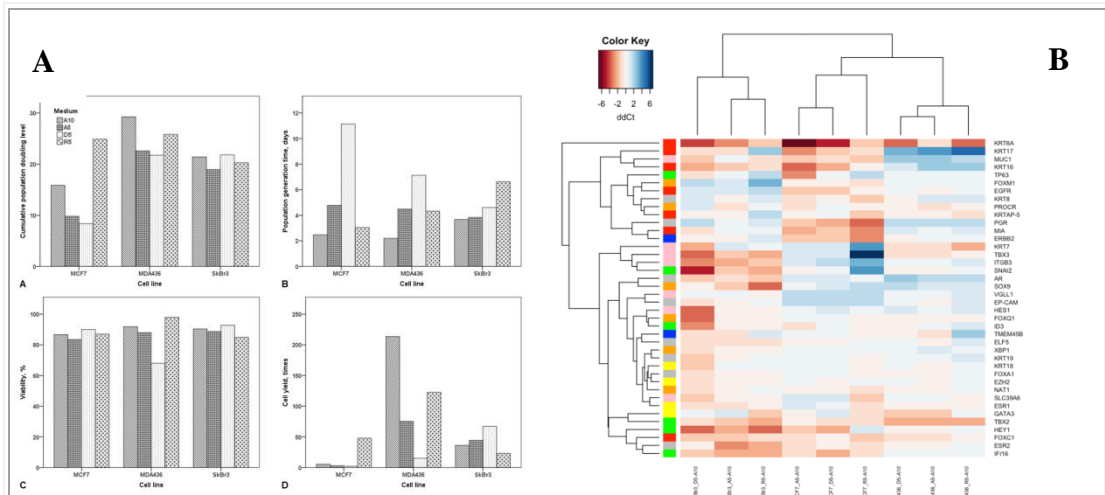
<i>Pacientes kods</i>	<i>Vecums</i>	<i>Stadija</i>	<i>Patoloģiskā diagnoze</i>	<i>ER</i>	<i>PR</i>	<i>HER2</i>
kv10	56	II A	pT2N0M0	100%	90%	<10%
kv11	61	II A	pT2N0M0	85%		++
kv12	56	II B	pT3N0M0	10%		++
ab01	39	II B	pT2N1Mx	>80%	>80%	<10%

2.tabula. Barotņu apzīmējumi un sastāvi

Barotne	Bāzes barotne	FBS (seruma) koncentrācija (%)	Piedevas*
A10	DMEM/F12 (1:1)	10	P/S
A5	DMEM/F12 (1:1)	5	P/S, I, HC, EGF, E2, HEPES, T, T3, Se, Ct
D5	DMEM/F12 (1:3)	5	P/S, I, HC, EGF, E2, HEPES, T, T3, Se, Ct
R5	RPMI1640	5	P/S, I, HC, EGF, E2, T, T3, Se, Ct

\* P/S – 1% Pen/Strep; I – insulīns; HC – hidrokortizons; EGF – epidermālais augšanas faktors; E2 – 17β-estradiols; HEPES - (4-(2-hidroksietil)-1-piperazīnētānsulfonskābe; T – transferīns; T3 – 3,3',5-trijod-L-tironīns; Se – nātrija selenīts; Ct – holeras toksīns.

Lai noskaidrotu barotņu ietekmi uz noteiktu šūnu tipu augšanu, tika veikts pētījums, izmantojot komerciāli pieejamas krūts vēža šūnu līnijas (MCF7, SkBr3 un MDA-MB-436). Pētījums risina vienu vēža pētniecībā identificētu nepilnību/trūkumu (Eccles *et al. Breast Cancer Res.* 2013;**15**, R92.), proti, vai krūts vēža šūnu fenotips paliks *in vitro* tāds pats kā *in vivo* un, savukārt, kā dati, kas iegūti no esošām krūts vēža šūnu līnijām varētu atbilst fizioloģiskiem procesiem (Lacroix & Leclercq *Breast Cancer Res Treat.* 2004, **83**,249.). Krūts vēža šūnu līnijas tika izvēlētas atkarībā no atbilstības molekulārās klasifikācijas tipam (Kao *et al.. PLoS One.* 2009;**4**,:e6146.), kur MCF7 pieder pie luminālā A tipa, SkBr3 – pie HER2 pārekspresijas tipa, bet MDA-MB-436 – bazālā, zemas klaidīna ekspresijas tipa. Visas šūnu līnijas tika kondicionētas attiecīgajās barotnēs četros pārsējumos. Dati par barotņu ietekmi uz šūnu augšanu attēlota 4A.attēlā.

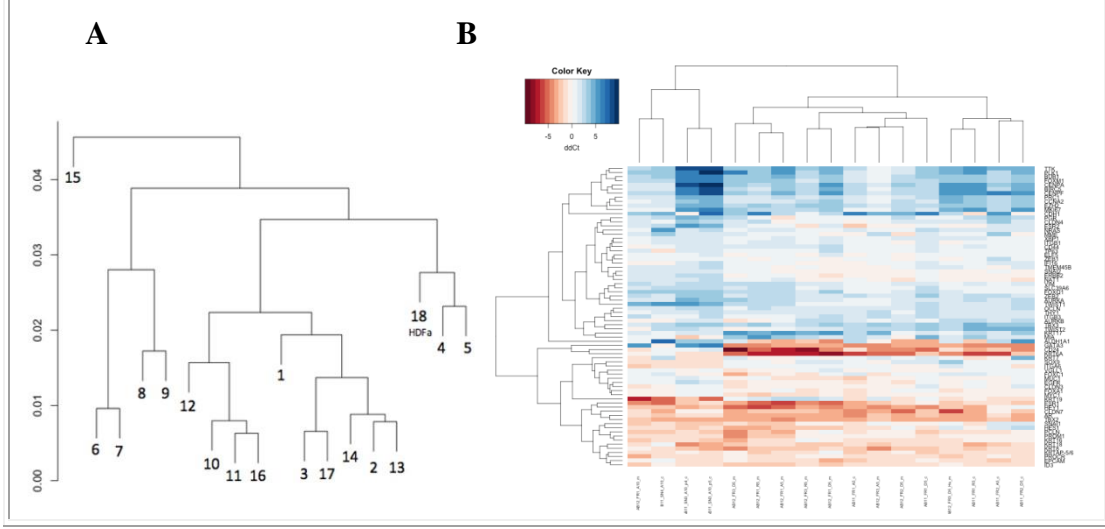


4.attēls. A.Krūts vēža šūnu līniju augšana un proliferācija A10, A5, D5 un R5 barotnēs. A – kumulatīvais populāciju dubultošanās līmenis attiecīgajā barotnē. B – šūnu populācijas ģenerācijas laiks, C – šūnu dzīvotspēja pēc subkultūru tripsinizēšanas, D – šūnu daudzums subkultūru beigās. B. MCF7, SkBr3 un MDA-MB-436 atsevišķo ekspresijas profilu klāsterēšanas rezultāti visās barotnēs. ddCT vērtības attēlotas salīdzinājumā pret pamata barotni A10.

Krūts vēža šūnu līnijas pēc kondicionēšanas attiecīgajās barotnēs tika raksturotas ar marķierģēnu ekspresiju (4B. att.)

Visizteiktākās morfoloģiskās un ģēnu ekspresijas izmaiņas bija luminālā A tipa audzēja šūnu līnijā MCF7, kur samazināta seruma daudzums, bet papildus pievienotas piedevas (1.tabula), veicināja šūnu diferenciāciju vairāk bazālā (mazāk diferencētā) virzienā. Kopumā, iegūtie rezultāti liecina, ka šūnu kultivēšanas barotņu sastāvs var ietekmēt krūts vēža šūnu līniju diferenciācijas statusu. Šīs izmaiņas ir atkarīgas no šūnu sākotnējās diferenciācijas pakāpes, proti, barotņu sastāva izmaiņu ietekme uz šūnām ar zemāku diferenciācijas pakāpi, ir ierobežotāka (mazāka).

Pacientei ab01 pirms neoadjuvantas terapijas no audzēja tika iegūtas 32 primārās šūnu kultūras. Ar reālā laika PĶR metodi visu izveidotā paneļa ģēnu ekspresija (79 ģēni) raksturota 17 šūnu līnijās, kas iegūtas no pacientes ab01 pirms terapijas. Tā kā bioloģiskajā materiālā bieži ir sastopami krūts stromas fibroblasti, kas spēj pāraugt citas šūnas vai nomākt to augšanu, atsaucēs šūnu līnija HDFa (*Human Dermal Fibroblasts*) tika izmantota kā iekšējā atsaucē. Visi analizē izmantotie paraugi tika salīdzināti pēc normalizētām delta Ct vērtībām (5A.att.).



5.attēls. A. Visu reālā laika PQR analizē iekļauto paraugu savstarpējās līdzības attēlojums dendrogrammā. Numuri no 1 – 17 apzīmē šūnu līnijas, iegūtas no pacientes ab01 pirms neoadjuvantas terapijas. 18 – fibroblastu atsauces šūnu līnija. B. Relatīvā gēnu ekspresija, salīdzinot ar fibroblastiem (ddCt).

Salīdzinot visu pētīto gēnu ekspresiju, kultūras 4. un 5. ir vislīdzīgākās fibroblastiem. Kultūras 6. un 7. ir vienas un tās pašas šūnu līnijas divi pārsējumi, un to tuvā līdzība liecina, ka divi secīgi pārsējumi analizēto gēnu ekspresiju (šūnu fenotipu) attiecīgajā šūnu līnijā ietekmē maz – šūnu identitāte, turpinot kultivēšanu, saglabājas. Zemāk attēlotajos grafikos iegūtās ddCt vērtības ir konkrētā gēna ekspresijas atšķirības, salīdzinot ar šī gēna ekspresiju (dCt) fibroblastos, tātad liecina par gēna relatīvo ekspresiju, salīdzinot ar tā ekspresiju fibroblastos.

Desmit šūnu līnijās imūncitofluoroķīmiski noteikta EPCAM, MUC1, VIM, ESR1, PGR, ERBB2 un KRT19 ekspresija. Šie marķieri ļauj spriest par saaudzēto šūnu kultūru identitāti – EPCAM, MUC1 un KRT19 ekspresijas pakāpe raksturo krūts epitēlija šūnu diferenciācijas pakāpi, ESR1, PGR un ERBB2 ekspresija ļauj spriest par šūnu atbilstību noteiktam krūts vēža molekulārajam tipam. Analizēto šūnu līniju dati apkopoti 4. tabulā.

Pētījuma turpinājumā tiks veiktas jau iegūto datu padziļinātākas, statistiskās analīzes, precīzāku secinājumu iegūšanai. Joprojām tiek kultivētas šūnas no pacienšu materiāla, kas iegūtas pēc neoadjuvantās terapijas. Šīs iegūtās šūnu līnijas tiks raksturotas gan pēc gēnu ekspresijas profila, gan pēc proteīnu ekspresijas, rezultātā salīdzinot šūnu profilus pirms un pēc neoadjuvantās terapijas un identificējot terapijas rezistentās šūnas.

Tika uzsākta starptautiska sadarbība ar diviem pētnieciskiem konsorcijiem un saņemts finansējums diviem grantiem:

- i) ERA-NET TRANSCAN2 “Mutated neo-antigens in hepatocellular carcinoma” (izpilde sāksies 2017.g.);
- ii) FLAG\_ERA JTC “Information Technology: The Future of Cancer Treatment” (izpilde sāksies 2017. g.).

4.tabula. Imūnfluoroķīmiski noteiktais biomarkieru statuss šūnu līnijās, kas izolētas no pacienšu biopsijas materiāla

Pac. kods	Kultūras kods	Biomarkieru krāsojuma intensitāte							Šūnu tips
		EPCAM	ESR1	PGR	ERBB2	MUC1	KRT19	VIM	
kv10	2C0005	0	1	0	0	1	0	2	Bas?
	2C0020	0	0	1	0	0	0	3	Str
	2C0021	2	2	1	0	2	2	2	Lum A
	2C0024	0	1	0	0	1	1	2	Bas?
	2C0048	3	3	2	0	2	3	0	Lum A
kv11	rsu0082	0	1	0	0	0	0	3	Str
kv12	2C0030	2	1	1	3	1	2	1	HER2
	2C0031	2	1	1	1	0	2	3	Bas
	2C0049	0	1	1	0	1	1	2	Str?
ab01	3A0110	0	0	0	0	2	1	3	Str

*Biomarķieri: EPCAM – epitēliālo šūnu adhēzijas molekula; ESRI – estrogēnreceptors alfa; PGR – progesterona receptors; ERBB2 – Erb-B2 receptora tirozīnkināze 2; MUC1 – ar šūnas virsmu saistītais mucīns 1; KRT19 – keratīns 19*

*Intensitātes apzīmējums: 0 – negatīvs; 1 – vājš; 2 – vidējs; 3 - stiprs*

*Šūnu tipi: Str – fibroblasti/stromas šūnas; Lum A – lūminālā A tipa šūnas, HER2 – HER2 pārekspresijas tipa šūnas, Bas – bazālā tipa šūnas.*

#### 4. Projekta Nr. 5 apgūtais finansējums (euro):

		Plānots 2014. – 2017.g.	3.posms (atbilstoši programmas aprakstam)	3.posms (atbilstoši līgumam par 3.posma īstenošanu)	Projekts Nr. 5	
					Plānots	Faktiski
1000– 9000*	IZDEVUMI – KOPĀ	<b>551 250</b>	<b>153 837</b>	<b>116 736</b>	<b>116 736</b>	<b>116 736</b>
<b>1000</b>	<b>Atlīdzība</b>	<b>271 033</b>	<b>75 637</b>	<b>73 692</b>	<b>73 692</b>	<b>73 501</b>
<b>2000</b>	<b>Preces un pakalpojumi (2100 + 2200)</b>	<b>280 217</b>	<b>78 200</b>	<b>43 044</b>	<b>43 044</b>	<b>43 235</b>
2100	Mācību, darba un dienesta komandējumi, dienesta, darba braucieni	13 000	5 000	3500	3500	1 095
2200	Pakalpojumi	73 126	21 884	11 673	11 673	11 720
2300	Krājumi, materiāli, energoresursi, preces, medicīniskās ierīces, medicīniskie instrumenti, laboratorijas dzīvnieki un to uzturēšana					27 824
2500	Budžeta iestāžu nodokļu maksājumi					1 387
<b>5000</b>	<b>Pamatkapitāla veidošana</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

\* Minētie skaitļi ir budžeta finansēšanas klasifikācijas kodi.

#### 5. Projekta Nr. 5 rezultatīvie rādītāji

*(Norāda pārskata periodā plānotos un sasniegtos rezultātīvos rādītājus. Informāciju atspoguļo tabulā un pielikumā)*

Rezultatīvais rādītājs	Plānots 2014 – 2017. g.	2016. g.		Piezīmes
		Plānots	Faktisks	
<b>Zinātniskie rezultatīvie rādītāji</b>				
1. Zinātnisko publikāciju skaits:				
oriģinālo zinātnisko rakstu (SCOPUS) (SNIP > 1) skaits	<b>1</b>			

Web of Science vai SCOPUS datubāzēs iekļautajos izdevumos publicēti oriģināli recenzēti raksti (SNIP≤1)				
Attiecīgās nozares ministrijas atzītās specializētajās datu bāzēs publicēti zinātniski raksti (PubMed, CAPLUS)	12	4	4	4 publicētas, 3 iesniegtas
Web of Science vai SCOPUS datubāzēs iekļautajos izdevumos publicētas konferenču tēzes	6	2		
oriģinālo zinātnisko rakstu ERIH (A un B) datubāzē iekļautajos žurnālos vai konferenču rakstu krājumos				
recenzētu zinātnisku monogrāfiju skaits				
2. Programmas ietvaros aizstāvēto darbu skaits:				
promocijas darbu skaits	2	1	1	J. Plonis, RSU , paredzēts 2017. g. janvārī
maģistra darbu skaits	2	1	1	M. Ustinova LU, 2016
<b>Programmas popularizēšanas rezultātīvie rādītāji</b>				
1. Programmas gaitas un rezultātu popularizēšanas interaktīvie pasākumi, kuru mērķu grupās iekļauti arī izglītojamie, skaits:				
konferences			1	
semināri				
rīkoti semināri	3	1	1	
populārzinātniskas publikācijas	4	1	5	
izstādes				
<b>Tautsaimnieciskie rezultātīvie rādītāji</b>				
1. Zinātniskajai institūcijai programmas ietvaros piesaistītā privātā finansējuma apjoms:				
1.1. privātā sektora līdzfinansējums programmā iekļauto projektu īstenošanai	20 000	10 000		
1.2. ieņēmumi no programmas ietvaros radītā intelektuālā īpašuma komercializēšanas (rūpnieciskā īpašuma tiesību atsavināšana, licencēšana, izņēmumu tiesību vai lietošanas tiesību piešķiršana par atlīdzību)				
1.3. ieņēmumi no līgumdarbiem, kas balstās uz programmas ietvaros radītajiem rezultātiem un zinātnības				
2. Programmas ietvaros pieteikto, reģistrēto un spēkā uzturēto patentu vai augu šķirņu skaits:				
Latvijas teritorijā	2	1		
ārpus Latvijas				
3. Programmas ietvaros izstrādāto jauno tehnoloģiju, metožu, prototipu vai pakalpojumu skaits, kas aprobētas uzņēmumos				
4. Ieviešanai nodoto jauno tehnoloģiju, metožu, prototipu, produktu vai pakalpojumu skaits (noslēgtie līgumi par intelektuālā īpašuma nodošanu)	4	2		



## Projekta Nr. 5 īstenošanas analīze

Stiprās puses	Vājās puses
Pieredzējusi multidisciplināra komanda, pieredze iepriekšējās VPP.	Neliela pieredze proteomikā. Liela personāla rotācija, īpaši saistībā ar pētījumiem proteomikā.
Iespējas	Draudi
Attīstīt proteomikas un šūnu kultūru metodes vēža pētniecībai.	Finansiālie – vēls finansējums, sarežģīta iepirkumu procedūra. Jauno zinātnieku migrācija uz citām Eiropas laboratorijām.

### 6. Projekta Nr. 5 identificētie riski un to samazināšanas vai novēršanas pasākumi

Darbu ļoti apgrūtina smagnējais un ļoti lēnais iepirkumu process, kā arī darbinieku zaudēšana nekonkurētspējīga atalgojuma dēļ. Tā piem. šogad īsu laiku (no pāris mēnešiem līdz pusgadam) nostrādāja divi mass-spektroskopijas speciālisti. Atrast jaunus ir praktiski neiespējami ierobežoto cilvēkresursu un neatbilstoša atalgojuma dēļ.

Projekta Nr.5 vadītājs: \_\_\_\_\_ Jānis Gardovskis \_\_\_\_\_  
(paraksts) (datums)

Zinātniskās institūcijas vadītājs: \_\_\_\_\_  
(paraksts) (datums)

## Rezultatīvie rādītāji

### Attiecīgās nozares ministrijas atzītās specializētajās datu bāzēs publicēti zinātniski raksti

1. Plonis *et al.*, Survival rates of familial and sporadic prostate cancer patients. *Exp. Oncol.*, 2015, **37**, 154 - 155.
2. Plonis *et al.* The *CHEK2* del15395 is a founder mutation with-out direct effects for cancer risk in the Latvian population. *BJMG*, 2015, **18**, 33-36.
3. Skuja *et al.* Chromo--thripsis and progression free survival in metasta-tic colorectal cancer. *Mol. and Clinical Oncology*, *In press*.
4. Pirsko *et al.* An effect of culture media on epithelial differentiation in breast cancer cell lines MCF7, MDA-MB-436, SkBr3. *Breast Cancer: Clinical and Basic Research*, *In press*.
5. Kalniete *et al.*. Differently Expressed Genes Between Triple Negative Hereditary and Sporadic Breast Cancer Tissues, *Mol. and Clinical Oncology* submitted.
6. Pätzold *et al.*. Detection of genetic variants of *POLE* and *POLD1* in colorectal cancer patients. *Exp. Oncol.*, submitted.
7. Bērziņa *et al.* Novel *APC* mutations. *Anticancer Res.*, submitted.

### Konferences

1. Ustinova *et al.* Impact of low penetrance variants on breast cancer morbidity and prognosis. European Society of Human Genetics Conference 2016, Barselona, Spānija, 2016 (stenda referāts).

### Populārzinātniskas publikācijas

1. E. Miklaševičs. LR1, Zināmais nezināmajā. 07.01.2016. plkst.10.07.
2. Z. Daneberga. LR1, Zināmais nezināmajā. 04.04.2016. plkst.10.15.
3. E. Miklaševičs. LR1, Zināmais nezināmajā. 23..08.2016. plkst.10.07.
4. E. Miklaševičs Vēzis – “loterija”, kuras melno lozi var izvilkt ikviens. *Apollo*, 06.06.2016.
5. E. Miklaševičs. Kā rodas vēzis? Pārmantots vēzis – mīts vai draudi? *Apollo*, 18.07.2016.