

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0250**

Odpoveď na poškodenie DNA a preleukemické klony v hematopoetických kmeňových bunkách v diagnostike, v stanovení rizika a v liečbe detskej leukémie

Zodpovedný riešiteľ **doc. Ing. Igor Beliaev, DrSc.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Ústav experimentálnej onkológie**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum SAV – Ústav experimentálnej onkológie

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

-

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

-

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

[1] L. Makinistian, E. Markova, and I. Belyaev, "A high throughput screening system of coils for ELF magnetic fields experiments: proof of concept on the proliferation of cancer cell lines," BMC cancer, vol. 19, p. 188, Feb 28 2019.

[2] M. Durdík, P. Kosik, E. Markova, A. Somsedikova, B. Gajdosechova, E. Nikitina, E. Horvathova, K. Kozics, D. Davis, and I. Belyaev, "Microwaves from mobile phone induce reactive oxygen species but not DNA damage, preleukemic fusion genes and apoptosis in hematopoietic stem/progenitor cells," Scientific Reports, accepted for publication, 2019.

[3] I. Belyaev, "Health effects of chronic exposure to radiation from mobile communication," in Mobile Communications and Public Health, M. Markov, Ed., ed Boca Raton: CRC Press, 2019, pp. 65-99.

[4] M. Škorvaga, M. Durdík, P. Košík, E. Marková, M. Holop, M. Kubeš, J. Puškáčová, A. Kolenová, and I. Belyaev, "Backtracked analysis of preleukemic fusion genes and DNA repair foci in umbilical cord blood of children with acute leukemia," Oncotarget, vol. 9, pp. 19233-19244, 2018.

[5] J. Misek, J. Vojtek, M. Veternik, M. Kohan, V. Jakusova, G. Spanikova, I. Belyaev, and J. Jakus, "New Radiofrequency Exposure System with Real Telecommunication Signals," Advances in Electrical and Electronic Engineering, vol. 16, pp. 101-107, Mar 2018.

[6] L. Makinistian, D. J. Muehsam, F. Bersani, and I. Belyaev, "Some recommendations for experimental work in magnetobiology, revisited," Bioelectromagnetics, vol. 39, pp. 556-564, Oct 2018.

[7] L. Makinistian and I. Belyaev, "Magnetic field inhomogeneities due to CO2 incubator

shelves: a source of experimental confounding and variability?," Royal Society open science, vol. 5, p. 172095, Feb 2018.

[8] P. Kosik, M. Skorvaga, M. Durdik, L. Jakl, E. Nikitina, E. Markova, K. Kozics, E. Horvathova, and I. Belyaev, "Low numbers of pre-leukemic fusion genes are frequently present in umbilical cord blood without affecting DNA damage response," *Oncotarget*, vol. 8, pp. 35824-35834, May 30 2017.

[9] M. Durdik, P. Kosik, J. Kruzliakova, L. Jakl, E. Markova, and I. Belyaev, "Hematopoietic stem/progenitor cells are less prone to undergo apoptosis than lymphocytes despite similar DNA damage response," *Oncotarget*, vol. 8, pp. 48846-48853, Jul 25 2017.

[10] I. Belyaev, "Duration of Exposure and Dose in Assessing Nonthermal Biological Effects of Microwaves," in *Dosimetry in Bioelectromagnetics*, M. Markov, Ed., ed Boca Raton, London. New York: CRC Press, 2017, pp. 171-184.

[11] P. Kosik, M. Skorvaga, and I. Belyaev, "Incidence of preleukemic fusion genes in healthy subjects," *Neoplasma*, vol. 63, pp. 659-72, 2016.

[12] L. Jakl, P. Lobachevsky, L. Vokalova, M. Durdik, E. Markova, and I. Belyaev, "Validation of JCountPro software for efficient assessment of ionizing radiation-induced foci in human lymphocytes," *International Journal of Radiation Biology*, vol. 92, pp. 766-773, Dec 2016.

Uplatnenie výsledkov projektu

Prítomnosť génovej nestability zistenej u pacientov v dobe narodenia by mohla byť potenciálne využitá v klinike ako prognostický marker rizika vzniku leukémie. Preleukemické kmeňové/progenitorové bunky, ktoré boli identifikované v kostnej dreni pacientov po dosiahnutí remisie a ktoré prežijú chemoterapiu a predstavujú potenciál pre vznik relapsov, môžu byť základom pre cieleňú imunoterapiu, alebo sa dajú využívať pre klinické hodnotenie minimálnej reziduálnej choroby (MRD). Po hĺbkovej analýze by mohol byť expozičný systém vyvinutý v danom projekte aplikovaný na určenie efektívnych parametrov elektromagnetických polí (EMP) s extrémne nízkou frekvenciou (ENF), ktoré dokážu obmedziť rast leukemických buniek pri liečbe leukémie.

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

Výsledky projektu naznačujú, že rôzne subpopulácie progenitorových/kmeňových buniek (progenitory alebo HSC/MPP) môžu byť pôvodcom primárnej udalosti (preleukemický fúzny gén, PFG) v etiológii leukemogenézy a jednotlivé testy s triedením (sortovaním populácií), expanziou a následnou analýzou expandovaných buniek, by mohli slúžiť ako prognostický test na riziko neskoršieho vzniku leukémie. U pacientov s remisiou sme metódami RT-qPCR a FISH zistili genetické zmeny zväčša v subpopulácii progenitorových buniek, ale v niektorých prípadoch sme objavili genetické zmeny aj v populácii HSC/MPP. Tieto výsledky naznačujú, že aj po dosiahnutí remisie sa v kostnej dreni týchto pacientov nachádzajú preleukemické kmeňové/progenitorové bunky, ktoré prežijú chemoterapiu a môžu predstavovať potenciál pre vznik relapsov. Spätná analýza prítomnosti PFG v bunkách UCB od pacientov s ALL pomocou FISH potvrdila prítomnosť TEL/AML v progenitoroch a HSC/MPP. My sme ako prví dokázali identifikovať prítomnosť PFG v jednotlivých subpopuláciách hematopoetického systému, čo by mohlo viesť k následnému využitiu imunoterapie, ktorá by dokázala udržať stav remisie. Analýzou FISH sme zistili génovú nestabilitu v takmer všetkých subpopuláciách hematopoetického systému v podobe ziskov jednotlivých génov a ich prestavieb u pacientov s B-ALL už v dobe ich narodenia z ich UCB buniek, zatiaľ čo v UCB bunkách od zdravých darcov sme nestabilitu genómu nepozorovali. Prítomnosť génovej nestability u pacientov v dobe narodenia by mohla byť potenciálne použitá ako prognostický marker rizika vzniku leukémie. Naše údaje naznačujú relatívne vysoký podiel výskytu AML PFG v UCB bunkách novorodencov. V rámci projektu sme okrem toho vytvorili aj jedinečný expozičný systém pre validáciu efektívnych parametrov elektromagnetických polí (EMP) s extrémne nízkou frekvenciou (ENF), ktoré môžu obmedziť rast nádorových buniek.

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

The results of the project suggest that different subpopulations of progenitors or hematopoietic stem cells (HSC)/primitive multipotential progenitors (MPP) may be the cause

of the primary event (preleukemic fusion gene, PFG) in the etiology of leukemogenesis and individual tests with sorting these subpopulations, expansion and subsequent analysis of expanded cells serve as a prognostic test for the risk of later development of leukemia. In patients with remission, genetic changes were mostly found in the progenitor cell subpopulation by RT-qPCR and FISH, but in some cases we also found genetic changes in the HSC/MPP population. These results suggest that even after remission, the bone marrow of these patients still contains preleukemic stem/progenitor cells that will survive chemotherapy and present a potential for relapses. Backtracked analysis of PFG in umbilical cord blood (UCB) cells from ALL patients by FISH confirmed the presence of TEL/AML in progenitors and HSC/MPP. We were the first to identify the presence of PFG in individual subpopulations of the hematopoietic system, which could help to utilize immunotherapy for maintaining a state of remission. FISH analysis revealed genomic instability in almost all UCB cell subpopulations of the hematopoietic system in the form of individual gene gains and translocations in patients suffering from B-ALL at the time of their birth, whereas in UCB cells from healthy donors we did not observe such genomic instability. The presence of genomic instability in UCB cells of patients at birth could potentially be used as a prognostic marker of the risk of leukemia. Our data indicate a relatively high proportion of AML PFG in UCB cells of newborns. Besides that, we developed in the project a unique exposure system for the validation of extremely low frequency electromagnetic field (EMF) parameters (ENF) that can inhibit tumor cell growth.