

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0372****Nové synergické protinádorové vlastnosti agonistov nukleárných retinoidných X receptorov (RXR) ako následok vzniku "conditional" RXR-RAR heterodiméru v ľudských nádorových bunkách prsníka**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Július Brtko, DrSc.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Ústav experimentálnej endokrinológie**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Ústav experimentálnej endokrinológie, Bratislava - zodpovedný riešiteľ

Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Ústav experimentálnej onkológie, Bratislava

Centrum biovied Slovenskej akadémie vied, Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Ústav analytickej chémie, AVČR, v.v.i., Brno, Česká republika - nezmluvná spolupráca

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

N/A

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

1. PUBLIKÁCIE IN EXTENSO V KARENTOVANÝCH A IMPAKTOVANÝCH ČASOPISOCH:

Macejova D., Toporova L., Brtko J.: Effects of natural ligands and synthetic triorganotin compounds of nuclear retinoid X receptors in human MCF-7 breast cancer cell line. *General Physiology and Biophysics*, 36: 481-484, 2017. (IF2016: 1,170)Flodrova D., Toporova L., Lastovickova M., Macejova D., Hunakova L., Brtko J., Bobalova J.: Consequences of the natural retinoid/retinoid X receptor ligands action in human breast cancer MDA-MB-231 cell line: Focus on functional proteomics. *Toxicology Letters*, 281: 26-34, 2017. (IF2016: 3,858)Hunakova L., Brtko J.: Sn- and Ge- triorganometallics exert different cytotoxicity and modulation of migration in triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-231. *Toxicology Letters*, 279: 16-21, 2017. (IF2016: 3,858)Novotný L., Sharaf L., Abdel-Hamid M.E., Brtko J.: Stability studies of endocrine disrupting tributyltin and trephenyltin compounds in an artificial sea water model. *Gen. Physiol. Biophys.*, 37: 93-99, 2018. (IF2017: 1,479)

Toporova L., Illes P., Dvorak Z., Bobal P., Otevrel J., Brtko J.: Effects of selected

triorganotin compounds on transcriptional activity of vitamin D3 receptor and peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Gen. Physiol. Biophys.*, 37: 589-596, 2018. (IF2017: 1,479)

Bohacova V., Seres M., Pavlikova L., Kontar S., Cagala M., Bobal P., Otevrel J., Brtko J., Sulova Z., Breier A.: Triorganotin derivatives induce cell death effects on L1210 leukemia cells at submicromolar concentrations independently of P-glycoprotein expression. *Molecules*, 23: 1053; doi:10.3390/molecules23051053, 2018. (IF2017: 3,098)

Líška J., Zamborský R., Maženský D., Ujházy E., Malovec P., Brtko J., Polák Š.: Comparison of clavicular joints in human and laboratory rat. *Biologia*, 73: 1247-1254, 2018. (IF2017 : 0,696)

Strouhalova D., Toporova L., Lastovickova M., Macejova D., Bobalova J., Brtko J.: Novel insights into combined effect of triorganotin compounds and all-trans retinoic acid on expression of selected proteins associated with tumor progression in breast cancer cell line MDA-MB-231: Proteomic approach. *Gen. Physiol. Biophys.*, 38: 135-144, 2019. (IF2018: 1,309)

Hunakova L., Horvathova E., Majerova K., Bobal P., Otevrel J., Brtko J.: Genotoxic effects of tributyltin and triphenyltin isothiocyanates, cognate RXR ligands: Comparison in human breast carcinoma MCF 7 and MDA-MB-231 cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 1198; doi:10.3390/ijms20051198, 2019. (IF2018: 4,183)

Hunakova L., Horvathova E., Gronosova P., Bobal P., Otevrel J., Brtko J.: Triorganotin isothiocyanates affect migration and immune check-point receptors in human triple-negative breast carcinoma MDA-MB-231 cells. *Anticancer Research*, 39: 4845-4851, 2019. (IF2018: 1,935)

Macejova D., Podoba J., Toporova L., Grigerova M., Kajo K., Machalekova K., Brtko J.: Causal associations of autoimmune thyroiditis and papillary thyroid carcinoma: mRNA expression of selected nuclear receptors and other molecular targets. *Oncology Letters*, 18: 4270-4277, 2019. (IF2018: 1,871)

Strouhalova D., Macejova D., Mosna B., Bobal P., Otevrel J., Lastovickova M., Brtko J., Bobalova J.: Down-regulation of vimentin by triorganotin isothiocyanates – nuclear retinoid X receptor agonists: Proteomic approach. *Toxicology Letters*, 318: 22-29, 2020. (IF2019: 3,569)

Brtko J., Dvorak Z.: Natural and synthetic retinoid X receptor ligands and their role in selected nuclear receptor action. *Biochimie*, 179: 157-168, 2020. (IF2019: 3,413)

Strouhalova D., Macejova D., Lastovickova M., Brtko J., Bobalova J.: CD44 and vimentin, markers involved with epithelial-mesenchymal transition: A proteomic analysis of sequential proteins extraction of triple-negative breast cancer cells after treatment with all-trans retinoic acid. *General Physiology and Biophysics*, 39: 399-405, 2020. (IF2019: 1,070)

2. VEDECKÉ PRÁCE V KARENTOVANÝCH A IMPAKTOVANÝCH ČASOPISOCH:
Toporova L., Flodrova D., Macejova D., Lastovickova M., Hunakova L., Bobalova J., Brtko J.: Effect of biologically active ligands of nuclear retinoid/retinoid X receptors in breast cancer cell line MDA-MB-231 at the protein level. *Toxicology Letters*, 280: Supplement 1, P-09-07-05, S300-S301, 2017. (IF2016: 3,858)

Brtko J., Toporova L., Flodrova D., Macejova D., Otevrel J., Bobal P., Bobalova J.: Analysis of proteomic changes in MDA-MB-231 cells induced by selected triorganotin compounds, biologically active ligands of nuclear retinoid X receptors. *Toxicology Letters*, 280: Supplement 1, P12-00-43, S321, 2017. (IF2016: 3,858)

Macejova D., Mosna B., Bobal P., Otevrel J., Brtko J., Triorganotin derivatives: Time dependent expression of vimentin, annexin A5 and selected nuclear receptors mRNA in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Toxicology Letters*, P05-011, S124-S125, 2019. (IF2018: 3,466)

3. PUBLIKÁCIE IN EXTENSO V NEKARENTOVANÝCH ČASOPISOCH:
Macejova D., Toporova L., Brtko J.: The role of retinoic acid receptors and their cognate ligands in reproduction in a context of triorganotin based endocrine disrupting chemicals. *Endocrine Regulations*, 50: 154–164, 2016.

4. OSTATNÉ VEDECKÉ PRÁCE V ZAHRANIČNÝCH ČASOPISOCH A ZBORNÍKOCH:
Toporová L., Macejová D., Brtko J.: Vázobné charakteristiky vybraných triorganocínových derivátov – agonistov jadrových retinoidných X receptorov. *Zborník abstraktov z XXV. Biochemického zjazdu, Praha, Česká republika, P144, 2016.*

Brtko J., Toporová L., Bialešová L., Hunaková L., Macejová D.: The role of nuclear retinoid

(RAR) and retinoid X (RXR) receptors in physiological processes and therapy of selected oncological diseases. Zborník abstraktov z 66. Česko-Slovenských farmakologických dňoch, Brno, Česká republika, 19-20, 2016.

Macejová D., Bialešová L., Toporová L., Brtko J.: Triorganotin compounds – retinoid X receptor ligands – Biological effects in breast cancer cell lines. Zborník abstraktov z 66. Česko-Slovenských farmakologických dňoch, Brno, Česká republika, 98, 2016.

Brtko J., Flodrova D., Benkovska D., Macejova D., Bialesova L., Hunakova L., Bobalova J.: Protein composition of MCF-7 human breast cancer cells induced by all-trans retinoic acid, 9-cis retinoic acid and their combination. Zborník abstraktov z XXV. Biochemického zjazdu, Praha, Česká republika, P018, 2016.

Macejova D. Toporova L., Brtko J.: Our approaches to study retinoid/retinoid-X receptors in physiological and pathophysiological processes. Abstracts from the International Alumni Symposium 2017 “Natural Compounds: From Molecular Mechanism to Applications“, Gohrisch, Germany, 25, 2017.

Hunakova L., Brtko J.: Differences in triorganometallics-induced cytotoxicity and modulation of migration in triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-231. Abstracts from the 3rd World Congress on Controversies in Breast Cancer, Tokyo, Japan, P60, 62, 2017.

Macejová D., Toporová L., Podoba J., Brtko J.: Expression of nuclear receptors RARgamma, TRalpha and TRbeta is diminished in thyroid tumour tissue of patients with autoimmune thyroiditis (AIT) when compared to thyroid tumour tissue of patients without AIT. Abstracts from the „40. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí“ Conference, Prague, Czech Republic, 36, 2017.

Brtko J., Bialesova L., Lenko V., Galbavy S., Podoba J., Macejova D.: Retinoid and retinoid X nuclear receptor subtypes in human thyroid papillary carcinoma, breast cancer and renal carcinomas: mRNA expression pattern. Abstracts from the NCRI Cancer Conference, Liverpool, United Kingdom, 1378, 2017.

Novotny L., Sharaf L., Abdel-Hamid M.E., Brtko J.: The risk of accumulation of organotins in sea water due to their significant stability: Stability studies of tributyltin and triphenyltin chlorides in sea water. Abstracts from the 17th International Nutrition and Diagnostics Conference, Prague, Czech Republic, L39, 55, 2017.

Hunakova L., Horvathova E., Bobal P., Otevrel J., Brtko J.: Cognate RXR ligands tributyltin and triphenyltin isothiocyanates induce DNA crosslinks - evoked apoptosis in human breast carcinoma MCF 7 and MDA-MB-231 cell lines. Abstracts from the EMBO Workshop: Nuclear Receptors and Biological Networks, Kolymbari, Crete, Greece, P54, 127-128, 2018.

Strouhalová D., Lastovičková M. Bobál P., Macejová D., Mosná B., Brtko J., Bobálová J.: A new evaluation of combined antitumor effects of natural and synthetic nuclear retinoid receptor ligands in human breast carcinoma cells. Proceedings from the 15th International Interdisciplinary Meeting on Bioanalysis, CECE 2018, Czech Republic, P50, 283-285, 2018.

Brtko J., Strouhalova D., Toporova L., Macejova D., Bobal P., Otevrel J., Bobalova J.: Proteomic profile in human breast carcinoma MDA-MB-231 cells induced by tributyltin isothiocyanate, the biologically active ligand of nuclear retinoid X receptors. Abstracts from the 54th International Conference on Medical Chemistry: Interfacing Chemical Biology and Drug Discovery, Strasbourg, France, P082, 131, 2018.

Brtko J., Strouhalova D., Toporova L., Lastovickova M., Macejova D., Bobalova J.: Proteomic analysis of the effect of triorganotin compounds (RXR ligands) alone or with all.trans retinoic acid (RAR ligand) in human breast cancer MDA-MB-231 cell line. Abstracts from the EMBO Workshop: Nuclear Receptors and Biological Networks, Kolymbari, Crete, Greece, P15, 101-102, 2018.

Macejova D., Podoba J., Toporova L., Kajo K., Brtko J.: mRNA expression status of nuclear retinoid/rexinoid receptors, thyroid hormone receptors, vitamin D receptor, progesterone receptor (PGR) and selected co-regulators in papillary thyroid carcinomas (PTCs) with or without autoimmune thyroiditis (AIT). Abstracts from the EMBO Workshop: Nuclear Receptors and Biological Networks, Kolymbari, Crete, Greece, P72, 140-141, 2018.

Brtko J., Strouhalova D., Toporova L., Macejova D., Bobal P., Otevrel J., Bobalova J.: Analysis of proteomic changes in human breast carcinoma MDA-MB-231 cells induced by tributyltin isothiocyanate, the biologically active ligand of nuclear retinoid X receptors. Abstracts from the NCRI Cancer Conference, Glasgow, United Kingdom, P11, 2018.

Brtko J., Strouhalova D., Toporova L., Lastovickova M., Macejova D., Bobalova J.: Combined effect of triorganotin compounds and all-trans retinoic acid on expression of

selected proteins associated with tumour progression in human breast cancer tripple negative MDA-MB-231 cells: Proteomic approach. Abstracts from the 55th International Conference on Medical Chemistry: Interfacing Chemical Biology and Drug Discovery, Nantes, France, P006, 59, 2019.

Hunakova L., Horvathova L., Gronesova P., Bobal P., Otevrel J., Brtko J.: Tributyltin and triphenyltin isothiocyanates down-regulate immune check-point receptors, but not HLA G in human tripple-negative breast carcinoma MDA-MB-231 cell line. Abstracts from the Joint Meeting of the Israeli Immunological Society (IIS) and the Israeli Society for Cancer Research (ISCR), Tel Aviv, Israel, 2, 41-42, 2019.

Brtko J., Toporová L., Podoba J., Hunáková L., Strouhalová D., Bobálová J., Macejová D.: The road to nuclear retinoid and rexinoid receptors and their cognate ligands. Insight into physiology and therapy of selected malignant diseases. Abstracts from the 95th Physiological Days, Praha, Czech Republic, 6, 2019.

Brtko J., Toporova L., Macejova D.: Nuclear retinoid X receptors – ligand inducible transcription factors and their role in physiological processes and therapy of selected oncological diseases. Abstracts from the HDBMB 2019 Congress: Crossroads in Life Sciences, Lovran, Croatia, SP7, 55, 2019.

5. OSTATNÉ VEDECKÉ PRÁCE V DOMÁCIH ČASOPISOCH A ZBORNÍKOV:
Brtko J., Toporová L., Macejová D., Hunáková L., Illés P., Dvořák Z.: Nuclear retinoid X receptors and their endogenous or triorganotin-based ligands in metabolism, differentiation and organism development. *Internal Medicine* 16: 329, 2016.

Brtko J., Toporová L., Bialešová L., Galbavý Š., Podoba J., Macejová L.: Nuclear retinoid (RAR) and retinoid X (RXR) receptors and their role in physiological processes and therapy of selected oncological diseases. *Zborník abstraktov z 93. Fyziologických dní, Košice*, 21, 2017.

Brtko J., Toporová L., Macejová D., Hunáková L., Novotný L., Bobálová J., Dvořák Z.: Nuclear retinoid X receptors and adverse role of their triorganotin-based agonists in organism. Abstracts from the Genetic Toxicology and Cancer Prevention Conference, Smolenice, L3, 9, 2017.

Brtko J., Toporová L., Macejová D., Hunáková L., Bobálová J.: Triorganotin compounds, cognate ligands of nuclear retinoid X receptors – Biological effects in human breast cancer cell lines. *Interdisciplinary Toxicology*, 10: Suppl.1,19, 2017.

Macejová D., Toporová L., Podoba J., Brtko J.: The significant decrease of the expression of RARgamma, TRalpha and TRbeta in thyroid tumour tissue in the group of patients with autoimmune thyroiditis. Abstracts from the Genetic Toxicology and Cancer Prevention Conference, Smolenice, P2, 58-59, 2017.

Macejova D., Podoba J., Toporova L., Kajo K., Machalekova K., Brtko J.: Possible associations of autoimmune thyroiditis and papillary thyroid carcinoma: mRNA expression of selected nuclear receptors (TRs, RARs, RXRs, VDR, PGR) and other molecular targets. *Internal Medicine*, 18: Supplement 6, 24, 2018.

Macejová D., Toporová L., Brtko J.: Vplyv prirodzených a syntetických triorganocínitých ligandov na nukleárne retinoidné X receptory v bunkovej línii ľudského karcinómu prsníka MCF-7. *Endocrine Regulations*, 53: Supplement 1, P-12, 37, 2019.

Mosná B., Macejová D., Brtko J.: Profil expresie mRNA vybraných génov po interakcii prirodzených ligandov s nukleárnymi retinoidnými X receptormi v ľudskej nádorovej línii karcinómu prsníka MDA-MB-231. *Endocrine Regulations*, 53: Supplement 1, P-13, 40, 2019.

Strouhalová D., Macejová D., Bobál P., Otevřel J., Laštovičková M., Brtko J., Bobálová J.: Srovnání vlivu přirozených a syntetických ligandů nukleárních retinoidních receptorů na expresi vimentinu v lidských buňkách rakoviny prsu. *Endocrine Regulations*, 53: Supplement 1, P-14, 52, 2019.

Brtko J., Toporová L., Mosná B., Hunáková L., Horváthová E., Majerová K., Strouhalová D., Bobálová J., Bobál P., Otevřel J., Macejová D.: Triorganocínitité zlúčeniny - väzobné ligandy nukleárných retinoidných X receptorov a ich pôsobenie na organizmus ako endokrinné disruptory. *Endocrine Regulations*, 53: Supplement 1, 21, 2019.

Horváthová E., Hunáková L., Majerová K., Bobál P., Otevřel J., Brtko J.: Genotoxické účinky triorganocínitých izotiokyanátov – ligandov nukleárných retinoidných X receptorov v ľudských nádorových bunkových líniiach prsníka MCF 7 a MDA-MB-231. *Endocrine Regulations*, 53: Supplement 1, P-11, 34, 2019.

Mosná B., Macejová D., Brtko J.: Vplyv syntetických ligandov retinoidných X receptorov na expresiu vybraných génov v ľudských nádorových bunkách karcinómu prsníka MDA-MB-231. Zborník abstraktov z XXX. Xenobiochemického sympózia, Pezinok, 20, 2019.

Brtko J., Toporová L., Mosná B., Hunáková L., Horváthová E., Strouhalová D., Bobáľová J., Bobáľ P., Otevřel J., Macejová D.: Nuclear retinoid and retinoid X receptors and their cognate ligands: Insight into toxicology. *Interdisciplinary Toxicology*, 12: Suppl. 1, L-15, 24-25, 2019.

Boháčová V., Šereš M., Pavlíková L., Kontár S., Cagala M., Otevřel J., Bobáľ P., Brtko J., Sulová Z., Breier A.: Triorganotin derivatives induce cell death effects on L1210 leukemia cells at submicromolar concentrations independently of P-glycoprotein expression. Zborník abstraktov z XXX. Xenobiochemického sympózia, Pezinok, 9, 2019.

Brtko J.: Charakter, funkcia a úloha nukleárných receptorov v molekulárnom mechanizme účinku hormónov štítnej žľazy. *Interná medicína*, 20: 442, 2020.

Uplatnenie výsledkov projektu

Poznanie úlohy, vlastností a miery expresie jednotlivých podtypov nukleárných retinoidných a retinoidných X receptorov umožňuje predikciu úspešnosti liečby onkologických pacientov preparátmi na báze retinových kyselín, ich štruktúrnymi analógmi ako aj perspektívne novými syntetickými látkami niektorých triorganocínických zlúčenín. Syntéza a následná analýza fyzikálno-chemických a biologických vlastností izotiokyanátov triorganocínických zlúčenín ukázala, že tieto zlúčeniny sa viažu na väzobnú doménu retinoidných receptorov s vysokou afinitou. Experimentálne prístupy s využitím ľudských nádorových línií prsníka a vybraných triorganocínických zlúčenín pri aplikácii separačnej procedúry a „bottom-up“ proteomickej analýzy jednoznačne ukázali na možnosti identifikácie proteínov – kľúčových biomarkerov nádorových ochorení prsníka ako aj priebežnú diagnostiku exprimovaných proteínov počas terapie nádorového ochorenia prsníka biologicky aktívnymi ligandami retinoidných X receptorov. Aplikáciou nami zavedenou rádioizotopovou metódou umožňujúcou analyzovať nové väzobné ligandy retinoidných X receptorov sa tak otvorila možnosť uskutočňovať predikciu úspešnosti liečby agonistami retinoidných X receptorov u pacientov s nádorovými ochoreniami prsníka ale aj štítnej žľazy.

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

Analýzy fyzikálno-chemických a biologických vlastností izotiokyanátov triorganocínických zlúčenín ukázali, že tieto zlúčeniny sa viažu na väzobnú doménu nukleárných retinoidných X receptorov s vysokou afinitou. Uskutočnila sa široká paleta analýz patriacich do vedných oblastí bunkovej biológie, molekulárnej endokrinológie a experimentálnej onkológie. Priniesli sa nové originálne výsledky o biologických vlastnostiach triorganocínických zlúčenín účinkujúcich prostredníctvom nukleárných retinoidných X receptorov na procesy proliferácie, apoptózy a migrácie nádorových buniek prsníka, ako aj nové zistenia, dokumentujúce vlastnosti triorganocínických zlúčenín modifikovať P-gp sprostredkovanú viacclievkovú rezistenciu leukemických buniek na úrovni ich transportnej aktivity a expresie. Uskutočnil sa výskum s cieľom zistiť úlohu špecifických ligandov (prírodného a syntetického charakteru) heterodiméru nukleárných retinoidných X a retinoidných receptorov (RXR/RAR) na expresiu vimentinu v ľudských „triple negative“ nádorových bunkách prsníka. Experimenty boli uskutočnené pri absencii alebo v prítomnosti ligandu pre RAR prírodného pôvodu, kyseliny all-trans retinovej (ATRA). Medzi významné výsledky riešenia projektu patria nové zistenia o vlastnostiach izotiokyanátov triorganocínických zlúčenín, ktoré významne redukovali expresiu vimentinu najmä v prítomnosti ATRA. Naše výsledky poukazujú tak na možnosť uskutočňovať predikciu úspešnosti liečby agonistami nukleárných retinoidných X receptorov (RXR) v kombinácii s prírodným ligandom nukleárných retinoidných receptorov (RAR) najmä u pacientiek s nádorovými ochoreniami prsníka.

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

Analyses of physical-chemical and biological properties of triorganotin isothiocyanates have shown that these compounds bind into a binding domain of nuclear retinoid X receptors with high affinity. A large number of analyses belonging to cell biology, molecular endocrinology

and experimental oncology fields has been performed. Novel and original data on triorganotin compounds, acting through nuclear retinoid X receptors on proliferation, apoptosis and breast cancer cells migration, have been achieved. Also, novel data on triorganotin compounds linked with the fact that triorganotin compounds are capable to modify P-gp mediated multidrug resistance in leukemic cells at the levels of its expression and transport activity, have been obtained. Investigation has been performed with the aim to find the role of specific ligands of natural or synthetic origin of nuclear retinoid X and retinoid receptors (RXR/RAR) heterodimer on vimentin expression in the triple negative human breast cancer cells. Experiments have been accomplished in the absence or presence of all-trans retinoic acid (ATRA) a natural RAR ligand. Among considerable results achieved during investigation period belong novel findings on triorganotin isothiocyanates properties to significantly reduce the expression of vimentin predominantly in the presence of ATRA. Our data thus point out the possibility to accomplish prediction of effective remedy of breast cancer patients by nuclear retinoid X receptors (RXR) agonists in combination with the natural ligand of nuclear retinoid receptors (RAR).