

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-16-0343****Vplyv liečby komorbidít na tumorigenézu a úloha nádorového mikroprostredia v tomto procese**Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Monika Baráthová, PhD.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Virologický ústav**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum SAV, Bratislava  
Národný onkologický ústav v Bratislave

### 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

- Antal I, Koneracka M, Kubovcikova M, Zavisova V, Jurikova A, Khmara I, Omastova M, Micusik M, Barathova M, Jelenska L, Kajanova I, Zatovicova M, Pastorekova S. Targeting of carbonic anhydrase IX-positive cancer cells by glycine-coated superparamagnetic nanoparticles. Colloids Surf B Biointerfaces. 2021 Sep;205:111893. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.111893. Epub 2021 Jun 2. PMID: 34116397.
- Grossmannova, K.; Barathova, M.; Belvoncikova, P.; Lauko, V.; Csaderova, L.; Tomka, J.; Dulka, T.; Pastorek, J.; Madaric, J. Hypoxia Marker Carbonic Anhydrase IX Is Present in Abdominal Aortic Aneurysm Tissue and Plasma. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 879.
- Simko, V.; Belvoncikova, P.; Csaderova, L.; Labudova, M.; Grossmannova, K.; Zatovicova, M.; Kajanova, I.; Skultety, L.; Barathova, M.; Pastorek, J. PIMT Binding to C-Terminal Ala459 of CAIX Is Involved in Inside-Out Signaling Necessary for Its Catalytic Activity. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 8545.
- Barathova, M.; Grossmannova, K.; Belvoncikova, P.; Kubasova, V.; Simko, V.; Skubla, R.; Csaderova, L.; Pastorek, J. Impairment of Hypoxia-Induced CA IX by Beta-Blocker Propranolol—Impact on Progression and Metastatic Potential of Colorectal Cancer Cells. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 8760.
- GROSSMANNOVA, Katarina - BARATHOVA, Monika - BELVONCIKOVA, Petra - LAUKO, Viliam - TOMKA, Jan - DULKA, Tomas - PASTOREK, Jaromir – MADARIC, Juraj. Detekcia hypoxiou indukovanej karbonickej anhydrázy IX v aneurizmách abdominálnej aorty. In XXIX. Slovenský angiologický kongres : Odborný program a abstrakty. Tále, Nízke Tatry, 23. – 25. september – ISBN 978-80-973420-2-9.

- Baráthová Monika, Lucia Csáderová, Katarína Grossmannová, Jaromír Pastorek. Štúdium vplyvu liečby komorbidít na tumorigenézu kolorektálneho karcinómu. Bratislavské onkologické dni, LV.ročník, 27.-28.september 2018, Bratislava. Poster
- Csaderova L., Grossmannova K., Pastorek J., Barathova M. The impact of comorbidities treatment on tumorigenesis studied in 3D spheroid models. ISCaM2018 – 5th Annual meeting, October 17-20. 2018. Metabolic Adapation and targets in Cancer. Bratislava, Slovakia. Poster
- PUZDEROVÁ, Barbora; CSÁDEROVÁ, Lucia; BARÁTHOVÁ, Monika. 3D bunkové modely tvorené kolorektálnymi nádorovými bunkami ako nástroj na sledovanie účinnosti terapie. In PREVEDA : interaktívna konferencia mladých vedcov 2021. Book of abstracts. - Banská Bystrica : Občianske združenie Preveda, 2021, abstract no.2233. ISBN 978-80-972360-7-6.
- KUBASOVA, Veronika, CSÁDEROVÁ, Lucia; BARÁTHOVÁ, Monika Vplyv nádorového mikroprostredia na základné charakteristiky prsníkových nádorových buniek BT20. In PREVEDA: interaktívna konferencia mladých vedcov 2020. Book of abstracts. abstract no.1967. ISBN 978-80-972360-6-9.
- PUZDEROVÁ, Barbora; CSÁDEROVÁ, Lucia; Grossmannová Katarína; Pastorek Jaromír; BARÁTHOVÁ, Monika. Vplyv betablokátora propranololu a dipeptidu karnozínu na formovanie interaktómu CA IX v kolorektálnych nádorových bunkách. In PREVEDA : interaktívna konferencia mladých vedcov 2020. Book of abstracts 2020, abstract no.1983, ISBN 978-80-972360-6-9

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Výsledky získané počas riešenia projektu je možné uplatniť najmä v klinickej praxi. CA IX predstavuje v súčasnosti jeden z najlepších hypoxických markerov a svojou membránovou lokalizáciou v nádorových bunkách aj sľubný terč pre protinádorovú terapiu. Naše výsledky získané analýzou väzby, penetrácie a internalizácie špecifickej protilátky konjugovanej s funkcionalizovanými nanočasticami do vnútra CA IX-pozitívnych nádorových buniek predstavujú jeden z možných prístupov pre využitie takýchto častíc v cielenej termoterapii. Dôkaz hypoxie, prítomnosti a účasti CA IX v aneurizmách abdominálnej aorty ako aj prítomnosť solubilnej CA IX v plazme týchto pacientov otvára možnosti pre využitie CA IX nielen v onkológii ale aj v iných s hypoxiou/ischémiou asociovaných ochoreniach, kde by proteín CA IX predstavoval terč budúcich terapeutických intervencií. Získané výsledky a informácie o efektoch betablokátora propranololu na nádorové bunky exprimujúce beta adrenoreceptory a o vplyve propranololu na zníženie schopnosť adaptácie nádorových buniek na hypoxický stres a acidózu naznačujú ich možné využitie v protinádorovej terapii v kombinácii s chemoterapeutikami alebo inými terapeutickými prístupmi. Výsledky in vivo experimentov jasne ukázali inhibičný vplyv propranololu na rast xenograftov ako aj spomalenie rastu xenograftov z buniek rezistentných na 5-FU, čo poukazuje na možné uplatnenie výsledkov aj pri liečbe rezistentných nádorov. Zavedenie metodiky prípravy nádorových organoidov predstavuje perspektívny a využiteľný prístup nielen pre štúdium a testovanie nových potenciálnych terapeutických prístupov v liečbe rakoviny ale aj nástroj využiteľný v personalizovanej medicíne pre cieleňú namieru šitú terapiu.

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

Hlavným cieľom projektu bolo preskúmať vplyv liečby komorbidít na proces tumorigenézy a nádorové mikroprostredie. Kardiovaskulárne ochorenia sú často liečené betablokátormi, ktoré kompetujú o väzbu na  $\beta$  adrenoreceptory ( $\beta$ -AR) s katecholamínmi. Dokázali sme, že betablokátor propranolol (PROP) znižuje schopnosť nádorových buniek adaptovať sa na hypoxický stres a acidózu a aktivuje apoptózu. PROP znižuje migráciu nádorových buniek ako aj hladinu regulačnej  $\alpha$  podjednotky HIF1, ktorý reguluje expresiu CA IX. Inhibíciou PKA ovplyvňuje PROP aktivitu CA IX. Efekty PROP sme dokázali v 2D aj v 3D modeloch jednozložkových a dvojzložkových sféroidov. Dokázali sme zvýšenie hladiny CA IX v bunkách rezistentných na 5-FU, pokles CA IX a zníženie migračných schopností týchto buniek vplyvom PROP. In vivo sme dokázali spomalenie rastu xenograftov pri predliečení myší PROP ako aj pri podávaní PROP po objavení sa xenograftov a tiež spomalenie rastu xenograftov derivovaných z buniek rezistentných na 5-FU po podávaní PROP. Zistili sme špecifickú interakciu konjugátu protilátky proti CA IX a funkcionalizovaných nanočastíc na proteín CA IX v 3D modeli kolorektálnych nádorových buniek HT29 a ich penetráciu do

sféroidov. Dokázali sme prítomnosť hypoxie a CA IX v aneuryzmách abdominálnej aorty. Identifikovali sme PIMT - nového intracelulárneho interakčného partnera CA IX a potvrdili sme jeho prítomnosť v metabolóne tkanív CRC. Vo vzorkách CRC sme dokázali signifikantne vyššiu hladinu  $\beta$ 2-AR a tiež vysokú hladinu CA IX. V plazme pacientov stratifikovaných na základe užívania betablokátorov sme zistili signifikantne nižšiu hladinu solubilnej formy CA IX. Zaviedli sme metódu prípravy nádorových organoidov z tkanivových vzoriek, ktoré by mohli byť použité testovanie potenciálnych protinádorových liečiv ako aj na predikciu odpovede na terapiu. Stanovené ciele sme počas riešenia projektu naplnili.

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

The main goal of the project was to investigate the impact of comorbidities on the process of tumorigenesis and the tumor microenvironment. Cardiovascular diseases are often treated with beta-blockers that compete for  $\beta$ -adrenoceptor ( $\beta$ -AR) binding with catecholamines. We have shown that the beta-blocker propranolol (PROP) reduces the ability of tumor cells to adapt to hypoxic stress and acidosis and activates apoptosis. PROP reduces tumor cell migration as well as the level of the regulatory  $\alpha$  subunit of HIF1, which regulates CA IX expression. By inhibiting PKA, PROP affects CA IX activity. We have demonstrated the effects of PROP in 2D and 3D models of one-component and two-component spheroids. In 5-FU-resistant cells, we found increased level of CA IX, and we confirmed decrease of CA IX and a decreased migratory capacity of these cells when treated with PROP. In vivo, we showed growth retardation of xenografts in mice pretreated with PROP as well as growth retardation of xenografts in mice after PROP administration. We also observed a growth retardation of xenografts derived from 5-FU-resistant cells after PROP administration. We proved the specific interaction of the anti-CA IX antibody conjugated to functionalized nanoparticles on the CA IX protein in a 3D model of HT29 colorectal tumor cells and their penetration into spheroids. We revealed the presence of hypoxia and CA IX in abdominal aortic aneurysms. We identified PIMT - a new intracellular interaction partner CA IX and confirmed its presence in the transport metabolon in CRC tissues. In CRC samples we showed a significantly higher level of  $\beta$ 2-AR and also a high level of CA IX. We found significantly lower levels of soluble CA IX in the plasma of patients stratified by beta-blockers. We have introduced a method for preparing tumor organoids from tissue samples that could be used to test potential anticancer drugs as well as to predict response to therapy. The goals of the project were fulfilled.