



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0093

Názov projektu **Viacieková rezistencia u leukemických buniek - fenotyp spôsobený interferenciou viacerých molekulárných príčin.**

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Zdena Sulová, DrSc.**

Príjemca **Centrum biovied SAV, v. v. i. - Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied v.v.i. Slovenská akadémia vied

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Na projekte nespupracovalo zahraničné pracovisko

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

nie sú

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

1. JANOTKA, Ľuboš - MESSINGEROVÁ, Lucia** - ŠIMONIČOVÁ, Kristína - KAVCOVÁ, Helena - ELEFANTOVÁ, Katarína - SULOVA, Zdena** - BREIER, Albert**. Changes in Apoptotic Pathways in MOLM-13 Cell Lines after Induction of Resistance to Hypomethylating Agents. In International Journal of Molecular Sciences, 2021, vol. 22, no. 4, art. no. 2076. (2020: 5.923 - IF, Q1 - JCR, 1.455 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms22042076> cit. 2
2. KYCA, Tomáš - PAVLÍKOVÁ, Lucia - BOHÁČOVÁ, Viera - MIŠÁK, Anton - POTURNAYOVÁ, Alexandra - BREIER, Albert** - SULOVA, Zdena** - ŠEREŠ, Mário**. Insight into Bortezomib Focusing on Its Efficacy against P-gp-Positive MDR Leukemia Cells. In International Journal of Molecular Sciences, 2021, vol. 22, no. 11, art. no. 5504. (2020: 5.923 - IF, Q1 - JCR, 1.455 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2021 - Current Contents). Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms22115504>
3. KOČIBÁLOVÁ, Zuzana - GUZYOVÁ, Martina - BOROVSÁ, Ivana - MESSINGEROVÁ, Lucia - COPÁKOVÁ, Lucia - SULOVA, Zdena** - BREIER, Albert**. Development of Multidrug Resistance in Acute Myeloid Leukemia Is Associated with Alterations of the LPHN1/GAL-9/TIM-3 Signaling Pathway. In Cancers, 2021, vol. 13, no. 14, art. no. 3629. (2020: 6.639 - IF, Q1 - JCR, 1.818 - SJR, Q1 - SJR). Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/cancers13143629> cit. 10
4. BRTKO, Július**. Thyroid hormone and thyroid hormone nuclear receptors: History and present state of art. In Endocrine Regulations, 2021, vol. 55, no. 2, p. 103-119. (2020: 0.456

- SJR, Q3 - SJR). Dostupné na: <https://doi.org/10.2478/enr-2021-0012>
5. BERTO VÁ, Anna - KONTÁR, Szilvia - POLOZSANYI, Zoltán - ŠIMKOVIČ, Martin - ROSENBERGEROVÁ, Zuzana - REBROŠ, Martin - SULOVÁ, Zdena - BREIER, Albert** - IMRICHOVÁ, Denisa**. Effects of Sulforaphane-Induced Cell Death upon Repeated Passage of Either P-Glycoprotein-Negative or P-Glycoprotein-Positive L1210 Cell Variants. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 18, art. no. 10818. (2021: 6.208 - IF, Q1 - JCR, 1.176 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2022 - Current Contents). ISSN 1422-0067. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms231810818> cit. 1
6. PAVLÍKOVÁ, Lucia - ŠEREŠ, Mário** - BREIER, Albert** - SULOVÁ, Zdena**. The Roles of microRNAs in Cancer Multidrug Resistance. In *Cancers*, 2022, vol. 14, no. 4, art. no. 1090. (2021: 6.575 - IF, Q1 - JCR, 1.349 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 2072-6694. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/cancers14041090> cit. 18
7. ŠIMONIČOVÁ, Kristína* - JANOTKA, Ľuboš* - KAVCOVÁ, Helena - SULOVÁ, Zdena - BREIER, Albert** - MESSINGEROVÁ, Lucia**. Different mechanisms of drug resistance to hypomethylating agents in the treatment of myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. In *Drug Resistance Updates*, 2022, vol. 61, art. no. 100805. (2021: 22.841 - IF, Q1 - JCR, 3.845 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 1368-7646. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.drug.2022.100805> cit. 18
8. BRTKO, Július**. Biological functions of kojic acid and its derivatives in medicine, cosmetics, and food industry: Insights into health aspects. In *Archiv de Pharmazie*, 2022, vol. 355, no. 10, art. no. 2200215. (2021: 4.613 - IF, Q2 - JCR, 0.536 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 0365-6233. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/ardp.202200215> cit. 13
9. KUREKOVÁ, Simona* - ŠEVČÍKOVÁ TOMÁŠKOVÁ, Zuzana* - ANDELOVÁ, Natália - MACEJOVÁ, Dana - ČERVINKOVÁ, Michaela - BRTKO, Július - FERKO, Miroslav - GRMAN, Marián - MACKOVÁ, Katarína**. The effect of all-trans retinoic acid on the mitochondrial function and survival of cardiomyoblasts exposed to local photodamage. In *Cell Biology International*, 2022, vol. 46, no. 6, p. 947-964. (2021: 4.473 - IF, Q3 - JCR, 0.762 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 1065-6995. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/cbin.11784>
10. ROBAJAC, Dragana - KRIŽÁKOVÁ, Martina, Zámorová - ŠUNDERIČ, Miloš - MILJUŠ, Goran - GEMEINER, Peter - NEDIČ, Olgica - KATRLÍK, Jaroslav**. Lectin-based protein microarray for the glycan analysis of colorectal cancer biomarkers: the insulin-like growth factor system. In *Methods in Molecular Biology : Glycan Microarrays. Methods and Protocols*. - Hertfordshire : Humana Press, 2022, 2022, vol. 2460, p. 207-222. Dostupné na https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2148-6_13 cit. 1
11. ŠIMONIČOVÁ, Kristína - JANOTKA, Ľuboš - KAVCOVÁ, Helena - SULOVÁ, Zdena - MESSINGEROVÁ, Lucia** - BREIER, Albert**. Resistance of Leukemia Cells to 5-Azacytidine: Different Responses to the Same Induction Protocol. In *Cancers*, 2023, vol. 15, no. 11, art. no. 3063. (2022: 5.2 - IF, Q2 - JCR, 1.312 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 2072-6694. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/cancers15113063> cit. 2
12. Livia Pelegrinova, Lucia Sofrankova, Jana Spaldova ,Pavol Stefik, Zdena Sulova, Albert Breier Katarina Elefantova. Zosuquidar: An Effective Molecule for Intracellular Ca2+ Measurement in P-gp Positive Cells *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 3107. <https://doi.org/10.3390/ijms25063107>
13. Michaela Domsicova, Jana Korcekova, Alexandra Poturnayova, Albert Breier. New Insights into Aptamers: An Alternative to Antibodies in the Detection of Molecular Biomarkers <https://doi.org/10.3390/ijms25136833>
14. ŠIMONIČOVÁ, Kristína - JANOTKA, Ľuboš - KAVCOVÁ, Helena - MESSINGEROVÁ, Lucia - SULOVÁ, Zdena - BREIER, Albert. Development of Secondary Resistance to Hypomethylating Agents. In *Leukemia Research*, 2021, vol. 108, suppl. 1, p. S45. (2020: 3.156 - IF, Q3 - JCR, 0.853 - SJR, Q2 - SJR, karentované - CCC). (2021 - Current Contents). ISSN 0145-2126. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2021.106681.48>. Príspevok z konferencie uverejnený v CC.

Uplatnenie výsledkov projektu

Viacieková rezistencia („multidrug resistance“, MDR) predstavuje závažný klinický problém pri liečení infekčných chorôb a predstavuje aj významnú prekážku efektívnej chemoterapie nádorových ochorení. Nádorové bunky môžu byť na liečbu rezistentné od začiatku, častejšie však dochádza k situácii, keď pacienti spočiatku reagujú na cytostatickú liečbu remisiou, ale opakované podávanie cytostatika sa postupne stáva neúčinné. Napriek tomu, že viacieková

rezistencia sa veľmi intenzívne študuje, mnohé aspekty rozvoja MDR zatiaľ nie sú úplne objasnené, nakoľko sa jedná o širokú škálu procesov, ktoré vo vzájomnej interferencii dokážu obmedziť citlivosť neoplastických buniek na liečivá s rozličnou chemickou štruktúrou a mechanizmom účinku.

V rámci riešenia projektu sme sa zamerali na štúdium mechanizmu rozvoja rezistencie nádorových buniek a prepojenie jednotlivých bunkových procesov, ktoré sa podieľajú na vzniku MDR. Rezistentné sublinie buniek sme pripravili v našom laboratóriu dlhodobou adaptáciou myších a ľudských leukemických buniek v prítomnosti stúpajúcej koncentrácie látok, aby sme sa čo najviac priblížili procesu, ktorý v nádorových bunkách prebieha pri dlhodobej liečbe chemoterapeutikami. Získané výsledky môžu poskytnúť východiskové informácie pre chemoterapiu pacientov, najmä pre kombinovanú terapiu, ktorá sa v posledných rokoch začína čoraz častejšie uplatňovať.

V rámci riešenia projektu sme pripravili sublinie ľudských leukemických buniek SKM-1 a MOLM-13 rezistentné na demetylačné látky azacytidín (AZA) a deoxiazacytidín (DAC). Obidve tieto liečivá sa používajú na liečbu pacientov, ktorí nie sú už vhodní na iný typ liečby. O licencovanie bunkových línií MOLM-13 rezistentných na AZA a DAC prejavila záujem kanadská spoločnosť Applied Biological Materials Inc.

Autorský kolektív riešiteľov projektu získal v r. 2023 ocenenie SAV v kategórii Špičkové časopisecké publikácie za prácu ŠIMONIČOVÁ, Kristína* - JANOTKA, Ľuboš* - KAVCOVÁ, Helena - SULOVÁ, Zdena - BREIER, Albert** - MESSINGEROVÁ, Lucia**. Different mechanisms of drug resistance to hypomethylating agents in the treatment of myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. In Drug Resistance Updates, 2022, vol. 61, art. no. 100805, ktorá je výstupom tohto projektu.

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

Cieľ A: Naša analýza účinkov bortezomibu (inhibitor proteazómu, schválený na liečbu hemato-onkologických malignancií) na P-gp pozitívne aj negatívne leukemické bunky preukázali jeho potenciál prekonať liekovú rezistenciu pri liečbe leukémie. Vyvinuli sme metódu na monitorovanie intracelulárnych iónov vápnika pomocou Fluo-3/AM, ktorý je substrátom P-gp, čo komplikuje jeho použitie v P-gp pozitívnych bunkách. Naša metóda je založená na špecifickej blokáde P-gp. V prehľade sme opísali úlohu rôznych mikroRNA vo vývoji rezistencie voči viacerým liečivám.

Cieľ B: Poukázali sme na rozdielne odpovede AML leukemických buniek na liečbu 5-azacytidínom napriek použitiu rovnakého indukčného protokolu. To podčiarkuje heterogenitu mechanizmov rezistencie na lieky medzi populáciami leukemických buniek. Okrem toho sme charakterizovali rôzne mechanizmy, ktorými vzniká rezistencia na hypometylačné látky pri myelodysplastickom syndróme a AML. Opísali sme zmeny v apoptotických dráhach v bunkových líniách MOLM-13 a SKM1, u ktorých sa vyvinula rezistencia na hypometylačné látky.

Cieľ C: Preukázali sme zapojenie dráhy LPHN1/GAL-9/TIM-3 do rozvoja rezistencie na liečivá pri AML. Ako prví sme detegovali všetkých osem predpokladaných variantov alternatívneho zostrihu galektínu 9 na úrovni mRNA aj proteínu. Sledovali sme efekt sulforafanu (látka s preventívnym protinádorovým efektom) na mechanizmy bunkovej smrti v P-gp-negatívnych a P-gp-pozitívnych variantoch buniek L1210, naše výsledky naznačujú, že sulforafan je sľubným adjuvans pri chemoterapii leukémie. Pokračovali sme vo vývoji techniky proteínových mikročipov na báze lektínov na analýzu glykánov. Táto metóda umožňuje nahliadnuť do glykozylačných vzorcov spojených s progresiou rakoviny.

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

Aim A: Our analysis of the effects of bortezomib (a proteasome inhibitor, a drug approved for the treatment of multiple myeloma) on both P-gp positive and negative leukemia cells demonstrated its potential to overcome drug resistance in the treatment of leukemia. We have developed a method to monitor intracellular calcium ions using Fluo-3/AM, a P-gp substrate, which complicates its use in P-gp positive cells. Our method is based on the specific blockade of P-gp. In a review, we described the role of different microRNAs in the development of multidrug resistance.

Aim B: We have highlighted the different responses of AML leukemia cells to 5-azacytidine

treatment despite the use of the same induction protocol. This underscores the heterogeneity of drug resistance mechanisms among leukemic cell populations. In addition, we characterized the different mechanisms by which resistance to hypomethylating agents develops in myelodysplastic syndrome and AML. We have described alterations in apoptotic pathways in the MOLM-13 and SKM1 cell lines that developed resistance to hypomethylating agents.

Aim C: We demonstrated the involvement of the LPHN1/GAL-9/TIM-3 pathway in the development of drug resistance in AML. Remarkably, we are the first to capture all eight previously predicted galectin 9 alternative splicing variants at the mRNA and protein levels. We monitored the effect of sulforaphane (substance with preventive antitumor effect) on the mechanisms of cell death in P-gp-negative and P-gp-positive variants of L1210 cells during repeated passages. Our results suggest that sulforaphane is a promising adjuvant in leukemia chemotherapy. We continued to develop a lectin-based protein microarray technique for the analysis of glycans. This method provides insight into glycosylation patterns associated with cancer progression.