

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2011-1/72

## ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

|                                                |                                                                                                            |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Šifra projekta</b>                          | J3-0161                                                                                                    |
| <b>Naslov projekta</b>                         | VPLIV METABOLITOV ARZENOVEGA TRIOKSIDA NA ZDRAVLJENJE AKUTNE PROMIELOCITNE LEVKEMIJE IN MULTIPLEGA MIELOMA |
| <b>Vodja projekta</b>                          | 1411 Zdenka Šlejkovec                                                                                      |
| <b>Tip projekta</b>                            | J Temeljni projekt                                                                                         |
| <b>Obseg raziskovalnih ur</b>                  | 2.085                                                                                                      |
| <b>Cenovni razred</b>                          | D                                                                                                          |
| <b>Trajanje projekta</b>                       | 02.2008 - 01.2011                                                                                          |
| <b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>       | 106 Institut "Jožef Stefan"                                                                                |
| <b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b> | 105 Nacionalni inštitut za biologijo<br>312 Univerzitetni klinični center Ljubljana<br>1452                |
| <b>Družbeno-ekonomski cilj</b>                 | 13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF)  |

##### 1.1. Družbeno-ekonomski cilj<sup>1</sup>

|              |                                                              |
|--------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>Šifra</b> | 13.03                                                        |
| <b>Naziv</b> | Medicinske vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF) |

#### 2. Sofinancerji<sup>2</sup>

|    |        |  |
|----|--------|--|
| 1. | Naziv  |  |
|    | Naslov |  |
| 2. | Naziv  |  |
|    | Naslov |  |
| 3. | Naziv  |  |
|    | Naslov |  |

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### 3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta<sup>3</sup>

#### 1. Arzenov trioksid v povezavi s citogenetskimi spremembami in apoptozo pri bolnikih z diseminiranim plazmocitomom (DP):

Že v prvem letu izvajanja projekta smo začeli uvajati preiskave za pojasnitev morebitne povezave med izhodiščnimi citogenetskimi spremembami pri bolnikih z diseminiranim plazmocitomom in odzivom njihovih plazmocitomskih celic na arzenov trioksid. Odločili smo se za nabor preiskovanih preureditev, ki jih pri slovenskih bolnikih s plazmocitomom nismo preverjali rutinsko, novejša študija pa so poudarjale njihov napovedni pomen pri tej bolezni. Mednje uvrščamo spremembe kromosomov 1, 6 in 15. Poleg znanih kromosomskih sprememb, ki smo jih predhodno že rutinsko določali, so se v literaturi pojavili podatki o napovednem pomenu delecije 1p, amplifikacije 1q, delecije 6q in amplifikacije 15q. Zanimala nas je njihova pojavnost pri slovenskih bolnikih z DP. Zanimalo nas je tudi, kakšna je so pojavnost novih in predhodno določenih kromosomskih sprememb. Izbrane kromosomske spremembe smo določali s komercialno dostopnimi DNA-sondami s fluorescentno in situ hibridizacijo (FISH). Poleg tega smo pri številnih bolnikih opravili tudi standardno citogenetsko analizo, da ne bi prezrli morebitnih aneuploidij. Pri bolnikih z DP namreč najdemo tako številčne kot strukturne kromosomske spremembe. Analize smo opravili pri 68 slovenskih bolnikih z novoodkritim plazmocitomom. Novo določane kromosomske spremembe smo našli pri 69% bolnikov, od tega delecijo 1p pri 10% bolnikov, amplifikacijo 1q pri 40% bolnikov, delecijo 6q pri 10% bolnikov in amplifikacijo 15q pri 47% bolnikov. Ugotovili smo so pojavnost amplifikacije 1q z nekaterimi kromosomskimi spremembami, ki jih že dlje časa določamo rutinsko. Dokazali smo korelacijo med amplifikacijo 1q in del(13)(q14.3), t(4;14)(p16.3;q32) ter del(17)(p13.1). Poleg tega smo dokazali, da obstaja povezava med amplifikacijo 15q in del(17)(p13.1) ter med amplifikacijo 15q in delecijo 6q. Napovedni pomen nekaterih novejših kromosomskih sprememb pri DP je v literaturi potrjen. V naši raziskavi smo ugotovili, da so pri slovenskih bolnikih tudi pogoste. Prav na podlagi ugotovitev, do katerih smo prišli v okviru te raziskave, smo uvedli nov, razširjeni nabor DNA-sond pri DP.

Poskuse o učinkovitosti ATO pri sprožitvi apoptoze pri plazmocitomskih celicah kostnega mozga smo testirali nekatere tržno dostopne teste. Ker so vsi testi namenjeni za študij apoptoze pri celičnih linijah, smo opravili izčrpne eksperimente, da smo izločili vse moteče vplive celičnih interferenc ter morebitnih sprožilcev apoptoze.

Apoptozo, sproženo z  $As_2O_3$ , smo določali na kratkotrajno gojenih celicah kostnega mozga bolnikov z diseminiranim plazmocitomom (DP). Kot pozitivno kontrolo za sprožitev apoptoze smo uporabljali kamptotecin. Kot negativno kontrolo pa smo gojili celice brez dodatkov v gojišče. Apoptozo smo sprva določali s tremi komercialno dostopnimi kompleti za določanje apoptoze na pretočnem citometru, in sicer komplet z aneksinom V, komplet s fluorescenčnim inhibitorjem kaspaze 3 in 7 ter komplet z YO-PRO1. Izkazalo se je, da je komplet z aneksinom V najbolj primeren za določanje apoptoze pri naših vzorcih. Zadnji postopek smo poskusili še na astrocitomski celični liniji (U87).

Ker so kompleti za določanje apoptoze namenjeni za delo s celičnimi kulturami, naš biološki vzorec pa so kratkotrajno gojene celice kostnega mozga bolnikov z diseminiranim plazmocitomom, je bil problem v zamejitvi ustrezne populacije celic (plazmocitomskih), na kateri smo določali obseg apoptoze. Protokoli za določanje apoptoze namreč nimajo vključenega koraka za odstranitev eritrocitov v vzorcu, ki motijo postopek določitve apoptoze. Analizo pa intenzivno moti tudi celični debris. Obenem imamo opraviti s kompleksnim sistemom različnih celic kostnega mozga.

Preizkusili smo več metod, ki bi bile ustrezne pri zamejitvi specifične populacije celic. Sprva smo poskusili z elektronskim svinčnikom glede na velikost in granuliranost celic

zamejiti populacijo plazmocitomskih celic. Poleg tega smo populacijo plazmocitomskih celic poskusili zamejiti tako, da smo jih označili s protitelesom CD138, ki naj bi bilo specifično protitelo za plazmatke. Eritrocitom smo se poskusili izogniti tako, da smo jih lizirali v hipotonični raztopini, z VersaLyse raztopino in z raztopino amonijevega klorida. Eritrocitom smo se poskusili izogniti tudi z ločbo preko fikola. Nato smo poskusili še s kombinacijo uporabe raztopine amonijevega klorida in protiteles, ki so usmerjena proti CD38 in CD138. Ta način se je izkazal kot najprimernejši za določitev apoptoze na naših vzorcih.

Končno smo prilagodili metodo tako, da smo s kombinacijo specifičnega označevanja in zamejevanja plazmatk s protitelesoma CD38 in CD138 in nadaljnega izključevanja celičnega debrisa selektivno določali apoptozo zgolj na plazmocitomskih celicah v vzorcu kostnega mozga. Najprej smo naredili test časovne odvisnosti apoptoze pri dveh različnih koncentracijah ATO v gojišču (2 in 5 mikromolarna). Apoptozo smo določali po 1-, 3-, 20-, 24- in 48-urni izpostavitvi induktoru apoptoze. Delež apoptotičnih celic je dosegel plato po 18h urah gojenja celic. Glede na to in zaradi izvedljivosti postopka, smo za nadaljnje testiranje metode izbrali čas gojenja 24 h. Razvito metodo smo preizkusili na vzorcih 19-ih bolnikov z DP. Izkazalo se je, da je obseg apoptoze značilno zvečan pri plazmocitomskih celicah vseh bolnikov v paralelki s 5 mikromolarnim ATO in pri pozitivni kontroli. Metoda se je izkazala kot učinkovita in zanesljiva tudi pri vzorcih z relativno majhno infiltracijo s plazmocitomskimi celicami. Kot mejo za večjo zanesljivost podatkov pa smo določili 4% infiltracijo s plazmocitomskimi celicami. Treba pa je poudariti, da med našimi bolniki nismo našli nobenega, katerega celice se in vitro ne bi odzivale na dodatek ATO z zvečanim obsegom apoptoze.

Pri bolniku z rezistentno obliko bolezni, ki so ga po izčrpanju vseh predhodnih oblik zdravljenja zdravili tudi z arzenovim trioksidom, smo opravili poskuse z odzivom plazmocitomskih celic na arzenov trioksid »in vitro«. Po predlaganem načrtu smo zbirali urin in vzorce krvi, kjer smo celice ločevali od seruma.

## **2. Arzenov trioksid in rezistenca:**

Možno rezistenco smo proučevali z vidika (i) vezave arzena na bazalen ali induciran metaloprotein, metalotionein (MT), (ii) konverzije arzena III v V in (iii) izločanja arzena skupaj s selenom.

Na glioblastomski celični liniji (GM-U87) smo proučevali potencialno rezistenco na arzenov trioksid preko z ugotavljanje bazalno ekspresijo in indukcijo različnih izoform metalotioneinov. Uvedli smo metodologijo za določanje genske ekspresije 6 subizoform metalotioneinov (MT1A, MT2A, MT3, MT1F, MT1X, MT1E) v glioblastomski celični liniji U87 in testno tudi v zdravih - to je NHA celicah. Z optimizirano metodo smo proučevali interakcije arzenovega trioksida ( $As_2O_3$ ) z metalotioneini (MT), njihovo gensko izražanje v humani celični liniji astrocitomov (U87) hkrati s spremljanjem (bio)transformacijo  $As_2O_3$  v celicah in rastnih medijih. Celice smo tretirali z 0.6, 2 in 6  $\mu M$  As ( $As_2O_3$ ) ter testno z 1  $\mu M$  Cd ( $CdCl_2$ ) v različnih časih (0 do 72 h). Z real-time q-PCR metodo smo spremljali izražanje genov za MT1A, MT2A, MT3, MT1E, MT1X; kot referenčne gene smo uporabili GAPDH, TfR in Beta-aktin. Pri danih pogojih smo opazili povečano gensko izražanje, predvsem pri izoformah MT2A in MT1X, v primerih izpostavljenosti višjim koncentracijam (2 in 6  $\mu M$  As) in znake supresije pri izostavljenosti nižjim koncentracijam.

Transformacijo As(III) v As(V) smo opazili v samih rastnih medijih brez celic (do 25 %) in v mediju s celicami (do 10 %). Transformacijo je povečal dodatek vitamina C (do 90%), povečan procent transformacije pa zmanjšal privzem arzena v celice. Ker lahko prihaja do podobnih učinkov tudi in vivo, je terapevtsko dodajanje vitamina C sporno, ker zmanjšuje učinkovitost arzenovega trioksida pri delovanju preko selenolnih in tiolnih skupin ključnih encimov.

Podatki dobljeni na glioblastomskih celicah bodo v prihodnje preverjeni tudi pri izoliranih (gojenih) celicah kostnega mozga in v krvi bolnikov z DP.

Pri pacientih s PD smo spremljali vpliv terapije z  $\text{As}_2\text{O}_3$  na vsebnost selena v serumu in urinu. Že sicer nizke vsebnosti selena, esencialnega elementa, ki je nujno potreben za normalno delovanje organizma, so se pri teh bolnikih še znižale med samim potekom terapije, kar lahko vodi v povečano tveganje za stranske učinke same terapije (periferna nevropatija, kardiološki problemi) in v zmanjšano imunskopetenco (herpes zooster). Selen smo spremljali v obliki celokupnih koncentracij v serumu in urinu ter v obliki serumskega selenoproteina P, ki je odgovoren za transport selena v ostala tkiva. Vsi trije 'indikatorji' so kazali na zmanjšanje selena. Dodajanje selena je lahko smiselno, vendar samo v zmernih količinah, ker v presežku poveča izločanje arzena in s tem oslabi njegovo delovanje.

### 3. Arzenov trioksid - analitika, aplikacija, artefakti:

Z analitiko arzena smo bili vključeni v spremljanje arzena in njegovih metabolitov

- v krvi, serumu in urinu bolnikov,
- pri eksperimentih na celicah bolnikov (apoptoza)
- v celičnih rastnih medijih s proučevanje interkonverzije  $\text{AsIII}/\text{AsV}$  v samem mediju
- v celični glioblastomski liniji U87 pri študiju interakcij arzena s cisteinskimi katapsini lizosomov pri celični smrti, ter interakcij arzena z metalotioneini (subizoforme).

Analitska metoda, ki jo uporabljamo za določitev arzenovih spojin (speciacijo arzena), vključuje tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti, hidridno tvorbo in atomsko fluorescenčno spektrometrijo (HPLC-HG-AFS). V prvem letu študije smo izključili možnost pretvorb arzenovih spojin med shranjevanja vzorcev tako da smo vzorce urina pacientov z multilim mielomom (MM), ki so bili zdravljeni z arzenitom, hranili v tekočem dušiku in jih analizirali v nekaj dneh. Ugotovili smo, da tako shranjeni vzorci ne vsebujejo trivalentnih metiliranih arzenovih spojin, ki so "vroča tema" na področju speciacije arzena in katerih obstoj v visokih koncentracijah je glede na literaturne podatke vprašljiv. Rezultati analiz arzenita, arzenata, metil in dimetil arzenove kisline v urinu MM pacientov iz dveh neodvisnih laboratorijev so pokazali, da je metoda, ki jo uporabljamo za analize urina, ustrezna in natančna. Ista metoda, uporabljena za analize arzena v krvi in celicah, kjer je prisotna velika količina peptidov in proteinov, ne daje zadovoljivih rezultatov. V povprečju je namreč vsota arzenovih spojin v krvni plazmi ali serumu pacientov akutne promielocitne levkemije (APL) in multipleg mieloma (MM), ki so bili zdravljeni z arzenom, cca. 20% nižja od celokupne koncentracije arzena v istih vzorcih. V primeru krvnih celic je ta procent še veliko višji, kar kaže na veliko količino »nevidnega« arzena v telesu pacientov, ki ga lahko določimo samo z agresivnimi metodami, ki vključujejo razkroj vzorcev. Pri tem gre za arzen, ki je očitno vezan na ostale komponente vzorca, po vsej verjetnosti proteine in peptide. Pri delu s krvjo smo tudi naleteli na problem "izginjanja" arzenita na anionsko izmenjalni koloni. Ugotovili smo, da nekatere spojine, npr. reducirani glutation, cistein, metalotioneini in feritin, vežejo nase arzenit in se obenem ireverzibilno vežejo na kromatografsko kolono. V omenjenih vzorcih so te spojine prisotne v visokih koncentracijah. Pri speciaciji arzena v krvi se srečujemo tudi s problemom redoks konverzije arzenita in arzenata. Do 25% standardne raztopine arzenita se lahko oksidira med pripravo in analizo vzorca, raztopina arzenata pa ostane nespremenjena. Kadar na enak način pripravimo vzorec krvne plazme, se mnogo večji delež arzenita oksidira v arzenat. Kvantifikacija efekta je zelo težka, saj pri dodatku arzenita v čist vzorec krvi pride do številnih procesov, ki imajo za rezultat tako delno vezavo arzenita na neekstraktibilne komponente krvi, kot tudi redoks konverzijo arzenita v arzenat.

### 4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>4</sup>

- Pri primernih pacientih z DP in APL smo spremljali hematološke remisije, skupaj s citogenetsko remisijo (kompletno ali delno) in molekularno remisijo po zaključku zdravljenja.
- V odvzetih cerlicah za diagnosticiranje in citogenetske preiskave smo določali citogenetske spremembe - pojavnost pri slovenskih bolnikih.
- Na prisotnost arzenovih spojin in selen (selenoprotein P) smo analizirali odvzete vzorce krvi in urina kar se da hitro po odvzemu.
- Analizirali smo celične kulture tako s citogenetskega vidika kot tudi glede celokupnega arzena in njegove speciacije in izolacija metalotioneinov ter določili obsega apoptoze pri gojenju plazmocitomskih celic z  $As_2O_3$ .
- Študirali smo konverzijo arzena III/V v sevih zdravih in malignih glia celic (U87); metilacija ni bila opažena v obsegu, ki bi dopuščal natančnejše preiskave. Opažen je bil pomemben vpliv vitamina C na konverzijo.
- Spremljanje nihanja koncentracij aktivne oblike arzena s sledenjem korelacije med dozo arzena, vitaminom C in koncentracijo As(III) v krvnem serumu in urinu med postopkom zdravljenja ni bilo možno zaradi opustitve dodajanja vitamina C glede na rezultate celičnih eksperimentov na celičnih kulturah.
- Študirali smo ekspresije subizoform metalotioneinov v malignih glia celicah (U87; qPCR metoda) in z optimizirano metodo opazili indukcijo ali supresijo odvisno od pogojev izpostavitve arzenu.
- Optimizirali smo analize metod za določanje arzenovih metabolitov v krvnih vzorcih. Pridobili smo podatke o prisotnih metabolitih, ki vsebujejo arzen (anorganski As(III) in As(V), MA(III), DMA(III), MA(V), DMA(V)) v urinu in serumu pacientov z DP.
- Proučevali smo interakcije med arzenitom in proteini/peptidi (GSH, feritin, katalaza, aprotinin, MT ...

Iz rezultatov dela na projektu smo v celoti objavili tri prispevke, četrti pa je poslan v objavo v revijo *Biometals*. Poleg tega je bilo delo predstavljeno tudi na več slovenskih in mednarodnih znanstvenih srečanjih (München, Kranjska gora, Piran, Benetke, Kyoto, Belo Horizonte) in je objavljeno v obliki povzetkov.

## 5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>5</sup>

Programa nismo bistveno spreminjali.

## 6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

| Znanstveni rezultat |        |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------|--------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.                  | Naslov | SLO | Analitski problemi pri speciaciji arzena v kliničnih vzorcih                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|                     |        | ANG | Analytical artefacts in the speciation of arsenic in clinical samples                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|                     | Opis   | SLO | V prvem delu študije smo izključili možnost neustreznega shranjevanja vzorcev tako da smo vzorce urina pacientov z multilim mielomom, ki so bili zdravljeni z arzenitom, hranili v tekočem dušiku in jih analizirali v nekaj dneh. Ugotovili smo, da tako shranjeni vzorci ne vsebujejo trivalentnih metiliranih arzenovih spojin. Ugotovili smo tudi, da nekatere spojine (npr. reducirani glutation, cistein, metalotioneini in feritin) v vzorcih krvi in plazme vežejo nase arzenit in se obenem ireverzibilno vežejo na kromatografsko kolono. |
|                     |        | ANG | In a first part of our study we analysed urine samples (stored in liquid nitrogen) of multiple myeloma patients, treated with arsenic, in a very short time. Samples stored in such a way do not contain (almost) any trivalent arsenic methabolites. We also found out that some compounds (eg. reduced glutathion, cysteine, metallothioneine and ferritine) in blood samples can simultaneously bind arsenite and irreversibly attach to a chromatographical                                                                                     |

|    |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |              | column.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|    | Objavljeno v | ŠLEJKOVEC, Zdenka, FALNOGA, Ingrid, GOESSLER, Walter, ELTEREN, Johannes Teun van, RAML, Reingard, PODGORNIK, Helena, ČERNELČ, Peter. Analytical artefacts in the speciation of arsenic in clinical samples. Anal. chim. acta. [Print ed.], 2008, vol. 607, no. 1, str. 83-91.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|    | Tipologija   | 1.01 Izvirni znanstveni članek                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | COBISS.SI-ID | 21294375                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 2. | Naslov       | SLO Diferencialna vloga katepsinov B in L v avtofagno-odvisni celični smrti U87 humanih glioblastomskih celic povzročeni z arzenovim trioksidom                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|    |              | ANG Differential role of cathepsins B and L in autophagy-associated cell death induced by arsenic trioxide in U87 human glioblastoma cells                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|    | Opis         | SLO Arzenit sproži avtofagijo pri rakavih celicah in v končni stopnji proces vključuje eksekutivne kaspaze, kar kaže na povezavo med avtofagijo in apoptozo. Ocenili smo prispevek katepsinov (Cat) L in B, ki so vpleteni tako v apoptozo kot v avtofagijo pri glioblastomih preko povečane ekspresije. Pri človeških glioblastomskih celicah sta CatB in CatL inhibirana z arzenitom. To kaže na sinergijo, ki se lahko uporabi pri kliničnem protokolu tako, da se zmanjša terapevtska doza in s tem tudi potencialni stranski učinki.                                                                                                      |
|    |              | ANG Arsenite toxicity triggers autophagy in cancer cells, and final stages of the process involve executive caspases, suggesting an interplay between autophagic and apoptotic pathways. We evaluated the contribution of cathepsins (Cat) L and B, that are involved both in autophagy and apoptosis and are upregulated in glioblastomas. In human glioblastoma cells arsenite toxicity is associated with inhibition of CatB and CatL. The latter points on a synergy that could be used in clinical treatment to lower the therapeutic dose, thus avoiding toxic side effects of arsenite in glioblastoma management.                      |
|    | Objavljeno v | PUCER, Anja, CASTINO, Roberta, MIRKOVIĆ, Bojana, FALNOGA, Ingrid, ŠLEJKOVEC, Zdenka, ISIDORO, Ciro, LAH TURNŠEK, Tamara. Differential role of cathepsins B and L in autophagy-associated cell death induced by arsenic trioxide in U87 human glioblastoma cells. Biol Chem, 2010, vol. 391, no. 5, str. 519-531. <a href="http://www.reference-global.com/doi/abs/10.1515/BC.2010.050">http://www.reference-global.com/doi/abs/10.1515/BC.2010.050</a> , doi: 10.1515/BC.2010.050                                                                                                                                                              |
|    | Tipologija   | 1.01 Izvirni znanstveni članek                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | COBISS.SI-ID | 2213967                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 3. | Naslov       | SLO Znižanje koncentracij selena v serumu rakavih pacientov tretiranih z arzenovim trioksidom                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|    |              | ANG Serum selenium decrease in arsenic trioxide treated cancer patients                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|    | Opis         | SLO Ker so terapevtske doze ATO relativno visoke, interakcije arzena s selenom pa dobro znane, smo predvidevali, da arzen vpliva na metabolizem selena v smislu interferenc z antioksidativnim sistemom. Spremljali smo celokupne koncentracije Se in As v plazmi, njihovo vezavo na selenoprotein P (Sel-P) in celokupni Se in As v urinu pacientov z APL in diseminiranim plazmacitomom med terapijo z As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> therapy (iv infuzija, 0.15 mg/kg telesne teže na dan (APL) ali 0.25 mg/kg telesne teže dvakrat tedensko). Relevanten padec serumske in urinske koncentracije Se in SelP smo opazili v večini primerov. |
|    |              | ANG As the ATO therapeutic doses are rather high, and As-Se interactions well-known, we supposed that As interferences with Se metabolism - compromised antioxidative system? - are unavoidable during such treatment. In this study we followed total plasma concentrations of Se and As, their binding to selenoprotein P (Sel-P) and total urine Se and As concentrations in APL and multiple myeloma patients during As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> therapy (iv infusion, 0.15 mg/kg body weight per day or 0.25 mg/kg body weight twice per week ). Relevant fall in serum (together with SelP) and urine Se was observed in most cases.  |
|    | Objavljeno v | FALNOGA, Ingrid, ŠLEJKOVEC, Zdenka, STIBILJ, Vekoslava, MAZEJ, Darja, PODGORNIK, Helena, ČERNELČ, Peter. Serum selenium decrease in arsenic trioxide treated cancer patients. V: 9th International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Selenium 2010, May 31.-June 4. 2010, Kyoto. Selenium 2010. Kyoto, 2010, 2010, 4 str.                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|    |              | 1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

|    |              |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|----|--------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
|    |              |     | Tipologija                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |          |
|    |              |     | COBISS.SI-ID                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 23810599 |
| 4. | Naslov       | SLO | Pogostost in sopojavljanje ponavljajočih se kromosomskih sprememb pri bolnikih s plazmocitomom.                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|    |              | ANG | Frequency and coexistence of recurrent chromosomal aberrations in multiple myeloma patients                                                                                                                                                                                                                                          |          |
|    | Opis         | SLO | V objavi so povzete glavne ugotovitve o pojavnosti posameznih tarčnih citogenetskih sprememb pri slovenskih bolnikih s plazmocitomom. Ugotavljali smo tudi zakonitosti njihovega sopojavljanja. V članku smo tudi utemeljili smiselnost njihovega rutinskega preverjanja ob redni diagnostični obravnavi bolnika z DP.               |          |
|    |              | ANG | This work summarises main findings on appearance of chromosomal aberrations at Slovene multiple myeloma patients. Their coappearance was studied as well. Article also gives the importance of their routine examination at regular diagnostic meetings with DP patients.                                                            |          |
|    | Objavljeno v |     | REBERŠEK, Katarina, ČERNELČ, Peter, PODGORNIK, Helena. Pogostost in sopojavljanje ponavljajočih se kromosomskih sprememb pri bolnikih s plazmocitomom = Frequency and coexistence of recurrent chromosomal aberrations in multiple myeloma patients. Zdrav Vestn (Tisk. izd.). [Tiskana izd.], 2010, letn. 79, št. 11, str. 764-768. |          |
|    | Tipologija   |     | 1.01 Izvirni znanstveni članek                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |          |
|    | COBISS.SI-ID |     | 27571417                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |          |
| 5. | Naslov       | SLO |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|    |              | ANG |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|    | Opis         | SLO |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|    |              | ANG |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|    | Objavljeno v |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|    | Tipologija   |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |
|    | COBISS.SI-ID |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |          |

## 7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

|                                        |        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat |        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 1.                                     | Naslov | SLO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Speciacija arzena v vzorcih krvi in rakavih celic s poudarkom na analitskih problemih                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                        |        | ANG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Speciation of arsenic in blood samples and cancerous cell structures with emphasis on analytical artefacts                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|                                        | Opis   | SLO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | V povprečju je vsota arzenovih spojin v krvni plazmi ali serumu pacientov akutne promielocitne levkemije in multiplega mieloma, ki so bili zdravljeni z arzenom, cca. 20% nižja od celokupne koncentracije arzena v istih vzorcih. V primeru krvnih celic je ta procent še veliko višji, kar kaže na veliko količino »nevidnega« arzena v telesu pacientov, ki ga lahko določimo samo z agresivnimi metodami, ki vključujejo razkroj vzorcev. |
|                                        |        | ANG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | On average the sum of arsenic species in blood plasma/serum of acute promyelocyte leukaemia and multiple myeloma patients treated with arsenic is roughly 20% lower from total arsenic concentration in the same samples. In a case of blood cells the difference is even bigger indicating a large pool of "invisible" arsenic in patient's body, which can only be seen with invasive methods including total digestion of samples.         |
|                                        | Šifra  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Objavljeno v                           |        | ŠLEJKOVEC, Zdenka, FALNOGA, Ingrid, GOESSLER, Walter, ELTEREN, Johannes Teun van, RAML, Reingard, PODGORNIK, Helena, ČERNELČ, Peter. Speciation of arsenic in blood samples and cancerous cell structures with emphasis on analytical artefacts. V: 4th International Conference on Trace Element Speciation in Biomedical, Nutritional and Environmental Sciences, May 25th - 29th 2008, München. Programme and abstracts. München: HelmholtzZentrum München, 2008, 2008, str. 76. |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |



|    |              |            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----|--------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |              |            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|    | Tipologija   | 1.12       | Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|    | COBISS.SI-ID | 21761831   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 2. | Naslov       | <i>SLO</i> | Interakcije metalotioneinov s kovinami v humanih astrocitomih                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|    |              | <i>ANG</i> | Interactions of metallothioneins with metals in human astrocytoma cells                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|    | Opis         | <i>SLO</i> | Metalotioneini (MT) predstavljajo zaščitne beljakovine, ki so v rakastih celicah del procesa znanega kot multipla rezistenca na kemoterapevtike. Arzenov trioksid predstavlja potencialni kemoterapevtik za glioblastome. V glioblastomski celični liniji smo proučevali njegove interakcije z MT, esencialnimi elementi - baker, cink - in biotransformacijo samega arzena. Rezultati so pokazali indukcijo metalotioneinov z majhno vezavo arzena in povečano vezavo bakra.                                                                                                                                                                        |
|    |              | <i>ANG</i> | MTs are stress proteins involved in multiple resistance mechanisms of cancer cells. Their presence, inducibility and metal interactions were followed in glioblastoma cell line (U87) after exposure to arsenic trioxide. The results showed clear MT increase, Cu increase and low levels of arsenic imobilisation by MT.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | Šifra        | D.09       | Mentorstvo doktorandom                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|    | Objavljeno v |            | TUŠEK-ŽNIDARIČ, Magda. Interakcije metalotioneinov s kovinami v humanih astrocitomih : doktorska disertacija = Interactions of metallothioneins with metal ions in human astrocytomas : doctoral dissertation. Ljubljana: [M. Tušek Žnidarič], 2008. XI f., 71 str., [104] str. pril., ilustr., tabele.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|    | Tipologija   | 2.08       | Doktorska disertacija                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|    | COBISS.SI-ID | 240184320  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 3. | Naslov       | <i>SLO</i> | Citogenetske spremembe pri 40 Slovenskih pacientih z multiplim mielomom                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|    |              | <i>ANG</i> | Cytogenetic abnormalities in 40 Slovenian multiple myeloma patients                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|    | Opis         | <i>SLO</i> | V prispevku smo predstavili rezultate preiskav pojavnosti novjših citogenetskih preureditev pri slovenskih bolnikih s plazmocitomom. Objava je temeljila na manjšem vzorcu bolnikov (40), pri katerem še nismo našli nekaterih od redkejših preureditev. Smo pa že opazili sopojavljanje pri drugih. Raziskava je služila kot izhodišče za izbiro bolnikov za nadaljnje preiskave na temelju predhodno opravljenih preiskav.                                                                                                                                                                                                                         |
|    |              | <i>ANG</i> | In this work we presented results on new genetic rearrangements at 40 Slovene multiple myeloma patients. Since we only studied a small number of patients some rare rearrangements were not found yet but we noticed coexistence of other rearrangements. The research was ment as starting point for selection of patients for further tests based on preliminary research.                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|    | Šifra        | B.03       | Referat na mednarodni znanstveni konferenci                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|    | Objavljeno v |            | TRDINA, Katarina, PODGORNIK, Helena, ČERNEČ, Peter. Cytogenetic abnormalities in 40 Slovenian multiple myeloma patients[!]. Haematologica (Roma), 2009, vol. 94, suppl. 2, str. 613. [] 2009, str. 205.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|    | Tipologija   | 1.12       | Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|    | COBISS.SI-ID | 26053849   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 4. | Naslov       | <i>SLO</i> | Merjenje izražanja genov za metalotioneine v humanih celičnih linijah glije                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|    |              | <i>ANG</i> | Determination of gene expression in human glia cell lines                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|    | Opis         | <i>SLO</i> | V delu smo proučevali interakcije Cd z metalotioneini s spremljanjem njegove vezave na protein in s spremljanjem genskega izražanja metalotioninskih izoform v humani celični linji astrocitomov (U87). Celice smo tretirali z 1µM Cd (CdCl <sub>2</sub> ) v različnih časih (0 do 72 h). Z real-time q-PCR metodo smo proučevali izražanje genov za različne izoforme MT (MT1A, MT2A, MT3, MT1E, MT1X), kot referenčne gene smo uporabili GAPDH, Tfr in Beta-aktin. Naloga je prestavljala kontrolni poskus za (bio)transformacijo As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> v celicah in njegov pliv na indukcijo sinteze izbranih metalotioneinskih izoform. |
|    |              |            | Interactions of Cd with metallothioneins and its binding to protein was studied by monitoring of gene expression of metallothionein isoforms in human astrocytoma cell line (U87). Cells were treated with 1µM Cd (CdCl <sub>2</sub> ) for different lenght of time (0 to 72 h). A real-time q-PCR was used to study                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |



|    |              |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----|--------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |              | ANG | gene expression for different MT isoforms ( MT1A, MT2A, MT3, MT1E, MT1X). GAPDH, Tfr and Beta-aktin were used as reference gens. The work served as a control for As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (bio)transformation in cells and its influence on induction of synthesis of selected MT isoforms.                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | Šifra        |     | D.10 Pedagoško delo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|    | Objavljeno v |     | KROŠEL, Maja. Merjenje izražanja genov za metalotioneine v humanih celičnih linijah glije = Measurement of metallothionein gene expression in human glia cell lines : diplomska naloga, (Diplomske naloge). Ljubljana: [M. Krošel], 2009. VII, 60 f., ilustr.                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|    | Tipologija   |     | 2.11 Diplomsko delo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|    | COBISS.SI-ID |     | 2598257                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 5. | Naslov       | SLO | Transformacija As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> v študijah s celičnimi kulturami                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|    |              | ANG | Transformation of As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in cell culture studies                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | Opis         | SLO | Študijo smo izvajali na liniji človeških astrocitomskih celic (glioblastoma) U87 MG, ki smo jih izpostavili 0.6, 2 in 6 µM As za 12, 24 ali 48 h. Gensko ekspresijo za različne MT izoforme (MT2A; MT1A, MT1F, MT1X, MT1E) smo proučevali z meritvijo nivoja mRNA z real time qPCR in SYBR Green I Master (Roche) kot detekcijo. GAPDH, Beta Aktin in 18S rRNA smo uporabili kot referenčne gene. Pri različnih pogojih smo opazili porast ali upad ekspresije genov, še posebno pri izoformah MT1X, MT1F, MT2A in MT3.            |
|    |              | ANG | The study was performed on human astrocytoma (glioblastoma) cell line U87 MG treated with 0.6, 2 and 6 microM arsenic for 12, 24 or 48 h. The gene expression for different MT isoforms (MT2A; MT1A, MT1F, MT1X, MT1E) was examined by measuring the mRNA levels with real time qPCR using SYBR Green I Master (Roche) for detection. GAPDH, Beta Actin and 18S rRNA were used as reference genes. At different conditions we noticed the increase or decrease of gene expression, above all in isoforms MT1X, MT1F, MT2A and MT3. |
|    | Šifra        |     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|    | Objavljeno v |     | ZELENIK, Andreja, ŠLEJKOVEC, Zdenka, FALNOGA, Ingrid, TUŠEK-ŽNIDARIČ, Magda, ZAJC, Irena. Transformation of As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in cell culture studies. V: 17th Young Investigators' Seminar on Analytical Chemistry, Venice, June 29th - July 1st, 2010. Book of abstracts : YISAC 2010. [S. l.: s. n.], 2010, str. 51.                                                                                                                                                                                               |
|    | Tipologija   |     | 1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | COBISS.SI-ID |     | 23775783                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

## 8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>8</sup>

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. PODGORNIK, Helena, ČERNELČ, Peter. Algorithms for FISH analysis in haematological malignancies. V: GOLIČNIK, Marko (ur.), BAVEC, Aljoša (ur.). Joint Congress of the Slovenian Biochemical Society and the Genetic Society of Slovenia with International Participation, Otočec, September 20-23, 2009. Book of abstracts. Ljubljana: Slovenian Biochemical Society: Genetic Society of Slovenia, 2009, str. 117. [COBISS.SI-ID 26029785]              |
| 2. TRDINA, Katarina, PODGORNIK, Helena, ČERNELČ, Peter. Cytogenetic abnormalities in multiple myeloma patients. V: GOLIČNIK, Marko (ur.), BAVEC, Aljoša (ur.). Joint Congress of the Slovenian Biochemical Society and the Genetic Society of Slovenia with International Participation, Otočec, September 20-23, 2009. Book of abstracts. Ljubljana: Slovenian Biochemical Society: Genetic Society of Slovenia, 2009, str. 205. [COBISS.SI-ID 26045913] |

## 9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>9</sup>

### 9.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>10</sup>

SLO

Mehanizmi delovanja As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> proti rakavim celicam so zelo slabo raziskani in z izjemo akutne promielocitne levkemije je v znanstveni literaturi le malo podatkov o prisotnosti in vrsti

arzenovih spojin v organizmu ter v izločkih med zdravljenjem z As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Tudi na področju arzenove speciacije so še številne neznanke, med katerimi je trenutno najbolj aktualno vprašanje prisotnosti/odsotnosti trivalentnih metiliranih arzenovih spojin kot intermediatov v metabolizmu arzena in prisotnost As<sup>III</sup>/As<sup>V</sup> konverzije v patoloških stanjih. V prvem delu naše študije smo na vzorcih, shranjenih zelo kratek čas v tekočem dušiku, dokazali skoraj popolno odsotnost trivalentne metilarzenove in dimetilarzenove kisline in se tako postavili na stran tistih, ki skušajo dokazati, da so trivalentni arzenovi metaboliti artefakt neustreznih analiznih metod. Z eksperimenti na celičnih linijah smo postavili dvom v terapevtsko uporabnost vitamina C skupaj z arzenom zaradi povečane As<sup>III</sup>/As<sup>V</sup> konverzije (prooksidativen učinek vitamina C). Opažena supresija zaščitnih metalotioneinov pri izpostavljenosti nizkim koncentracijam arzena pa predstavlja nov izziv proučevanju dinamike metalotioneinov. Tudi vpliv različnih genetskih in kromosomskih sprememb v malignem klonu na biotransformacijo arzena je še skoraj povsem neznano področje. Z vidika vključevanja v mednarodno delitev dela pa spada neformalna izmenjava znanj z Karl-Franzens Univerzo v Gradcu (Avstrija), s katero že desetletje sodelujemo pri identifikaciji metabolitov arzena. Pri tem projektu so njihovi eksperti vključeni kot referenčni laboratorij.

Vpliv različnih genetskih in kromosomskih sprememb v malignem klonu na biotransformacijo arzena je še skoraj povsem neznano področje. Poskusi na celičnih kulturah - tako s kemijskega vidika (biotransformacija arzena) kot z vidika odziva organizma (kinetika biotransformacije, apoptoza, indukcija metalotioneinov in/ali selenoprotein P) in z vidika vpliva kromosomskih sprememb na ta odziv, omogočajo vpogled v izjemno kompleksno področje, ki še ni raziskano.

ANG

Mechanisms of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> action against malignant cells are with the exception of acute promyelocyte leukaemia still little known. Very few data exist in scientific literature on arsenic speciation in organism and in urine of patients treated with As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. The arsenic speciation itself is currently meeting several problems, among them presence/absence of trivalent arsenic metabolites and conversion of As<sup>III</sup>/V in pathologic conditions. In the first year of our study we analysed urine samples of patients, treated with arsenic, which were kept in liquid nitrogen till analysis. Trivalent arsenic metabolites (MA<sup>III</sup> and DMA<sup>III</sup>) were (almost) completely absent so we can be placed on a side of groups, who think that high concentrations of trivalent arsenic metabolites are artefact of unsuitable storage conditions and/or unsuitable analytical protocol. With cell experiments we questioned the therapeutic use of vitamin C together with arsenic due to high conversion of As<sup>III</sup>/V (prooxidative effect of vitamin C). Noticed suppression of MTs during exposure to low conc. of As points to importance of study MTs dynamics. The influence of genetic and chromosomal rearrangement of malignant clone on arsenic biotransformation is also relatively uncovered research field. In the project the experts from Karl-Franzens University in Graz (Austria) were included as a reference laboratory.

The influence of genetic and chromosomal anomalies in malignant clone to arsenic biotransformation is still largely unknown. Experiments on cell cultures from chemical point of view (arsenic biotransformation) and from the view of response of the organism (kinetics of biotransformation, apoptosis, metalothionein induction, selenoprotein P) in the connection with chromosomal abnormalities offer an insight into that still unknown field of research.

## 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>11</sup>

SLO

Naša raziskava je medsebojni projekt Kliničnega centra in Instituta Jožef Stefan, ki povezuje medicinsko obravnavo pacientov, biokemične raziskave na celicah (komercialne celične linije, kostne celice pacientov) ter ekstenzivno študijo na področju analize kemije. Upamo, da se bo arzen s pomočjo ustreznega doziranja, ki ga intenzivno proučujemo preko izločanja arzenovih metabolitov, pokazal kot učinkovito zdravilo tudi za zdravljenje nekaterih drugih oblik raka. Prav tako upamo, da bodo pridobljeni rezultati oziroma zaključki kot so

- (i) vprašljivost iv dodajanja vitamina C in
- (ii) nevarnost izgubljanja selena pri arzenski terapiji

upoštevani pri določitvi ustreznih protokolov zdravljenja za kritične paciente. Ker gre za zdravilo, ki ga lahko poceni in enostavno pripravi Lekarna Kliničnega centra v Ljubljani sama, je v primerjavi z izredno dragimi ostalimi citostatiki, projekt pomemben tudi z ekonomskega vidika našega zdravstvenega sistema.

Napovedni pomen nekaterih novejših kromosomskih sprememb pri diseminiranem plazmocitomu je v literaturi potrjen. V naši raziskavi smo ugotovili, da so te spremembe pogoste tudi pri slovenskih bolnikih. Analize kromosomskih sprememb smo opravili pri večini (> 50%) slovenskih bolnikov z novoodkritim plazmocitomom. Novo določane kromosomske

spremembe smo našli pri 69% bolnikov, od tega delecijo 1p pri 10% bolnikov, amplifikacijo 1q pri 40% bolnikov, delecijo 6q pri 10% bolnikov in amplifikacijo 15q pri 47% bolnikov. Ugotovili smo tudi soopojavnost amplifikacije 1q z nekaterimi kromosomskimi spremembami, ki jih že dlje časa določamo rutinsko. Na osnovi dosedanjih rezultatov je hematološki konzilij že potrdil njihovo rutinsko določanje z naborom DNA-sond s katerimi opravljamo izhodiščno citogenetsko diagnostiko pri bolnikih s plazmocitomom in jo uvajamo v redno delo.

Razvili in prilagodili smo metodo za določitev obsega apoptoze plazmocitomskih celic, ki nam bo omogočila integrirano obdelavo podatkov o citogenetskih spremembah ter obsegu apoptoze, sprožene z ATO. Ker gre za tehnično zelo zahtevne postopke, kjer je pogosto količina vzorca omejitveni dejavnik, bomo začeli analizirati celokupne podatke šele po zaključku projekta.

Na projektu delata dve mladi raziskovalki, tako da poleg raziskovalnega dela tudi izobraževalni vidik igra pomembno vlogo. Ker je projektna skupina sestavljena iz raziskovalcev z različnih področij (medicina, farmacija, analitična kemija) in je torej izrazito interdisciplinarna, prihaja tudi do prenosa znanj med področji.

ANG

Proposed research is a mutual project of University Medical Centre Ljubljana and Jožef Stefan Institute, which is connecting biochemical research on cells obtained from cancer patients with extensive study of analytical chemistry. We hope that arsenic with appropriate application, intensively studied via arsenic methabolite excretion, will become an efficient drug also for other malignancies. We also hope that important results gained in the duration of a project like

- (i) questionable addition of C vitamins and
- (ii) danger of selenium loss during arsenic treatment

will be taken into account at modification of treatment protocols. Since arsenic trioxide is a simple drug, which can be easily prepared in University Clinical Centre pharmacy in Ljubljana, is cheap comparing to cytostatics, project can also have some economic importance.

Prognostic significance of some newer chromosomal aberrations at multiple myeloma (MM) is confirmed in a literature. Our study found these aberrations at Slovene patients as well. More than 50% of Slovene MM patients were examined on their presence. New chromosomal aberrations were found at 69% of patients examined, of which 1p deletion at 10% of patients, 1q amplification at 40% of patients, 6q deletion at 10% of patients and 15q amplification at 47% of patients. Coappearance of 1q amplification with some routinely determined changes was noticed as well. On the base of results obtained up to now haematological consilium recommended routine determination of all these aberrations with a series of DNA-kits as a starting diagnostics at MM patients.

A method for estimation of apoptosis of multiple myeloma cells was adapted/developed allowing integrated data manipulation on cytogenetic aberrations and apoptosis extent estimation caused by ATO. Since these are technically very demanding procedures, where the amount of sample available is often a limiting factor, the data analysis will only start after the end of the project.

Two PhD students work on a project, so that next to research work educational aspect is important. Due to interdisciplinary composition of the project team (medicine, pharmacy, chemistry) there is also a transfer of knowledge between different research fields.

#### 10. Samo za aplikativne projekte!

**Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

|             |                                                                |                                                   |
|-------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Cilj        |                                                                |                                                   |
| <b>F.01</b> | <b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b> |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                       | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                             | <input type="text"/>                              |
| <b>F.02</b> | <b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>                   |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                       | <input type="text"/>                              |

|             |                                                                     |                                                   |
|-------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|             |                                                                     | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.03</b> | <b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>          |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.04</b> | <b>Dvig tehnološke ravni</b>                                        |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.05</b> | <b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>            |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.06</b> | <b>Razvoj novega izdelka</b>                                        |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.07</b> | <b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>                              |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.08</b> | <b>Razvoj in izdelava prototipa</b>                                 |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.09</b> | <b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>           |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.10</b> | <b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b> |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |
| <b>F.11</b> | <b>Razvoj nove storitve</b>                                         |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                     | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                            | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                  | <input type="text"/>                              |

|             |                                                                                          |                                                   |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>F.12</b> | <b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>                                                    |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.13</b> | <b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>           |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.14</b> | <b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b> |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.15</b> | <b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>                             |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.16</b> | <b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>                   |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.17</b> | <b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>                  |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.18</b> | <b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>  |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.19</b> | <b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>                        |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.20</b> | <b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>                                          |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                          | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                 | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                       | <input type="text"/>                              |
| <b>F.21</b> | <b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>                           |                                                   |
|             |                                                                                          |                                                   |

|             |                                                                                            |                                                   |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.22</b> | <b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>                   |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.23</b> | <b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>           |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.24</b> | <b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b> |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.25</b> | <b>Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>                               |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.26</b> | <b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>                     |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.27</b> | <b>Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine</b>                      |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.28</b> | <b>Priprava/organizacija razstave</b>                                                      |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.29</b> | <b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>                                  |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov                                                                         | <input type="text"/>                              |
| <b>F.30</b> | <b>Strokovna ocena stanja</b>                                                              |                                                   |
|             | Zastavljen cilj                                                                            | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                                                                                   | <input type="text"/>                              |

|             |                             |                                                   |
|-------------|-----------------------------|---------------------------------------------------|
|             | Uporaba rezultatov          | <input type="text"/>                              |
| <b>F.31</b> | <b>Razvoj standardov</b>    |                                                   |
|             | Zastavljen cilj             | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                    | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov          | <input type="text"/>                              |
| <b>F.32</b> | <b>Mednarodni patent</b>    |                                                   |
|             | Zastavljen cilj             | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                    | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov          | <input type="text"/>                              |
| <b>F.33</b> | <b>Patent v Sloveniji</b>   |                                                   |
|             | Zastavljen cilj             | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                    | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov          | <input type="text"/>                              |
| <b>F.34</b> | <b>Svetovalna dejavnost</b> |                                                   |
|             | Zastavljen cilj             | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                    | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov          | <input type="text"/>                              |
| <b>F.35</b> | <b>Drugo</b>                |                                                   |
|             | Zastavljen cilj             | <input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE |
|             | Rezultat                    | <input type="text"/>                              |
|             | Uporaba rezultatov          | <input type="text"/>                              |

**Komentar**

|  |
|--|
|  |
|--|

**11. Samo za aplikativne projekte!**

Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

|             | Vpliv                                              | Ni vpliva             | Majhen vpliv          | Srednji vpliv         | Velik vpliv           |  |
|-------------|----------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--|
| <b>G.01</b> | <b>Razvoj visoko-šolskega izobraževanja</b>        |                       |                       |                       |                       |  |
| G.01.01.    | Razvoj dodiplomskega izobraževanja                 | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.01.02.    | Razvoj podiplomskega izobraževanja                 | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.01.03.    | Drugo: <input type="text"/>                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.02</b> | <b>Gospodarski razvoj</b>                          |                       |                       |                       |                       |  |
| G.02.01     | Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.02.    | Širitev obstoječih trgov                           | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.03.    | Znižanje stroškov proizvodnje                      | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.04.    | Zmanjšanje porabe materialov in energije           | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.05.    | Razširitev področja dejavnosti                     | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |



|              |                                                                                    |                       |                       |                       |                       |  |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--|
| G.02.06.     | Večja konkurenčna sposobnost                                                       | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.07.     | Večji delež izvoza                                                                 | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.08.     | Povečanje dobička                                                                  | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.09.     | Nova delovna mesta                                                                 | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.10.     | Dvig izobrazbene strukture zaposlenih                                              | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.11.     | Nov investicijski zagon                                                            | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.02.12.     | Drugo: <input type="text"/>                                                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.03</b>  | <b>Tehnološki razvoj</b>                                                           |                       |                       |                       |                       |  |
| G.03.01.     | Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti                                       | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.03.02.     | Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti                                            | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.03.03.     | Uvajanje novih tehnologij                                                          | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.03.04.     | Drugo: <input type="text"/>                                                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.04</b>  | <b>Družbeni razvoj</b>                                                             |                       |                       |                       |                       |  |
| G.04.01      | Dvig kvalitete življenja                                                           | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.04.02.     | Izboljšanje vodenja in upravljanja                                                 | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.04.03.     | Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave                               | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.04.04.     | Razvoj socialnih dejavnosti                                                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.04.05.     | Razvoj civilne družbe                                                              | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.04.06.     | Drugo: <input type="text"/>                                                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.05.</b> | <b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.06.</b> | <b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>                                       | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.07</b>  | <b>Razvoj družbene infrastrukture</b>                                              |                       |                       |                       |                       |  |
| G.07.01.     | Informacijsko-komunikacijska infrastruktura                                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.07.02.     | Prometna infrastruktura                                                            | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.07.03.     | Energetska infrastruktura                                                          | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| G.07.04.     | Drugo: <input type="text"/>                                                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.08.</b> | <b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>                           | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |
| <b>G.09.</b> | <b>Drugo: <input type="text"/></b>                                                 | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |  |

**Komentar**

**12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki [12](#)**

|    |                                                   |                      |
|----|---------------------------------------------------|----------------------|
| 1. | <b>Sofinancer</b>                                 | <input type="text"/> |
|    | <b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje</b> | <b>EUR</b>           |

|                                                              |                   |                                                                                 |              |
|--------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------|--------------|
|                                                              |                   | <b>trajanja projekta je znašala:</b>                                            |              |
|                                                              |                   | <b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>                               | <b>%</b>     |
| <b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b> |                   |                                                                                 | <b>Šifra</b> |
|                                                              | 1.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 2.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 3.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 4.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 5.                |                                                                                 |              |
| <b>Komentar</b>                                              |                   |                                                                                 |              |
| <b>Ocena</b>                                                 |                   |                                                                                 |              |
| 2.                                                           | <b>Sofinancer</b> |                                                                                 |              |
|                                                              |                   | <b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:</b> | <b>EUR</b>   |
|                                                              |                   | <b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>                               | <b>%</b>     |
| <b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b> |                   |                                                                                 | <b>Šifra</b> |
|                                                              | 1.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 2.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 3.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 4.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 5.                |                                                                                 |              |
| <b>Komentar</b>                                              |                   |                                                                                 |              |
| <b>Ocena</b>                                                 |                   |                                                                                 |              |
| 3.                                                           | <b>Sofinancer</b> |                                                                                 |              |
|                                                              |                   | <b>Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:</b> | <b>EUR</b>   |
|                                                              |                   | <b>Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:</b>                               | <b>%</b>     |
| <b>Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja</b> |                   |                                                                                 | <b>Šifra</b> |
|                                                              | 1.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 2.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 3.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 4.                |                                                                                 |              |
|                                                              | 5.                |                                                                                 |              |

|  |                 |  |  |
|--|-----------------|--|--|
|  |                 |  |  |
|  | <b>Komentar</b> |  |  |
|  | <b>Ocena</b>    |  |  |

## C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

### Podpisi:

|                                      |    |                                   |
|--------------------------------------|----|-----------------------------------|
| Zdenka Šlejkovec                     | in |                                   |
| podpis vodje raziskovalnega projekta |    | zastopnik oz. pooblaščen oseba RO |

Kraj in datum:

Ljubljana

12.4.2011

### Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2011-1/72

<sup>1</sup> Zaradi spremembe klasifikacije družbeno ekonomskih ciljev je potrebno v poročilu opredeliti družbeno ekonomski cilj po novi klasifikaciji. [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>4</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta (obrazložitev). V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>6</sup> Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

**PRIMER** (v slovenskem jeziku):

**Naslov:** Regulacija delovanja beta-2 integrinskih receptorjev s katepsinom X;

**Opis:** Cisteinske proteaze imajo pomembno vlogo pri nastanku in napredovanju raka. Zadnje študije kažejo njihovo povezanost s procesi celičnega signaliziranja in imunskega odziva. V tem znanstvenem članku smo prvi dokazali... (največ 600 znakov vključno s presledki)

**Objavljeno v:** OBERMAJER, N., PREMŽL, A., ZAVAŠNIK-BERGANT, T., TURK, B., KOS, J.. Carboxypeptidase cathepsin X mediates  $\beta 2$  - integrin dependent adhesion of differentiated U-937 cells. Exp. Cell Res., 2006, 312, 2515-2527, JCR IF (2005): 4.148

**Tipologija:** 1.01 - Izvirni znanstveni članek

**COBISS.SI-ID:** 1920113 [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen

rezultat, ki je v Šifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>. [Nazaj](#)

<sup>8</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja. [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>12</sup> Rubrike izpolnite/prepišite skladno z obrazcem "Izjava sofinancerja" (<http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>), ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2011-1 v1.01

D1-AC-1F-0D-36-45-E9-41-6A-97-B1-F2-B6-60-A0-66-E7-D4-7A-A8