

**APVV-14-0731: Galektíny ako potencionálne modulatory mikroprostredia nádoru/rany (Galectins as potential modulators of tumor/wound microenvironment)**

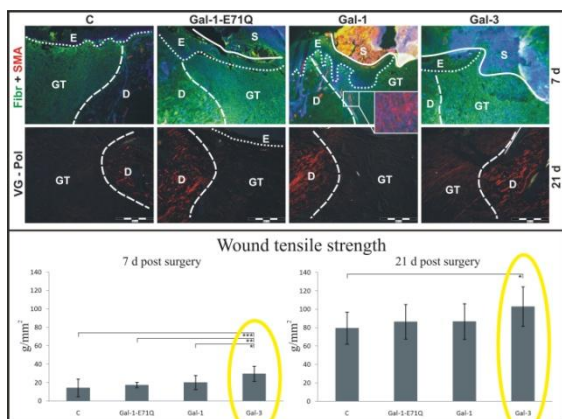
**a) Regulácia mikroprostredia rán - model excíznej a incíznej rany u potkana**

Zistili sme, že expresia Gal-1 koreluje s prítomnosťou myofibroblastov v nádoroch (Valach et al. Int J Cancer. 2012;131(11):2499-508). Expresia Gal-3 je často spojená s fibrózou (Henderson et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(13):5060-5). Cieľom nášho výskumu bolo preto vyhodnotiť modulujúce účinky týchto dvoch galektínov na hojenie excíznej a incíznej rany (Obr. 1).

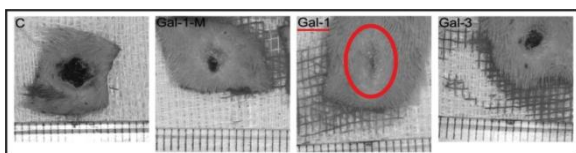


Obr. 1 Dva základné modely hojenia kožnej rany - excízia a sutúrovaná incízia.

Ukázali sme, že Gal-1 indukuje diferenciáciu fibroblastov na myofibroblasty (Obr. 2) čo vedie k lepšej kontrakcii rany (Obr. 3). Na rozdiel od toho Gal-3 zlepšuje organizáciu kolagénových vlákien (Obr. 2), čo vyústi k zvýšeniu pevnosti rán (Obr. 2).



Obr. 2 Výsledky animálneho experimentu liečby otvorených (histologické vyšetrenie otvorených rán, VG - Van Gieson, Fibr - fibronektin, SMA - hladkosvalový aktín) a sutúrovaných rán (štatistické porovnanie pevnosti rán - wound tensile strength) s Gal-1 a Gal-3.

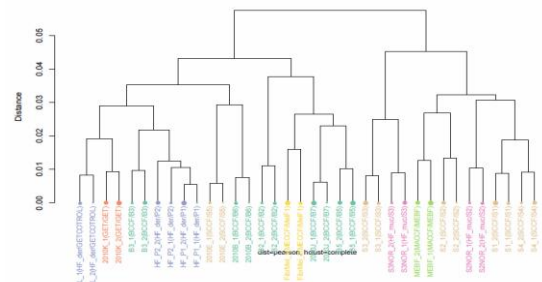


Obr. 3 Výsledky animálneho experimentu z liečby otvorených rán po 21 dňoch hojenia. Gal-1 najvýraznejšie zrýchľuje kontrakciu rany.

Tieto výsledky majú značný klinický význam, nakoľko jasne ukazujú, že na terapiu otvorenej a zašitej rany je potrebné použiť iný galektín.

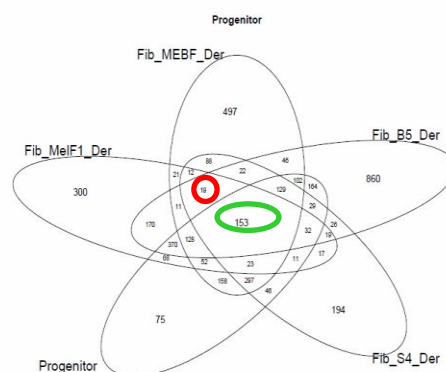
**b) Mikroprostredie nádorov - model dlaždicobunkového karcinómu hlavy a krku u ľudí**

Fibroblast je hlavný typ bunky, ktorý produkuje extracelulárnu maticu (ECM). Nakoľko sa predpokladá enormný význam fibroblastov a ECM pri vytváraní mikroprostredia nádorov a rán, analyzovali sme expresné profily (Obr. 4) nádorovo asociovaných fibroblastov izolovaných z malígneho melanómu (Fib\_Mel), bazocelulárneho karcinómu (Fib\_B5), spinocelulárneho karcinómu (Fib\_S4) a kožnej metastázy karcinómu prsníka (BCMF) v porovnaní so zdravými fibroblastmi z kožného resekátu po gigantomastii (HF/D). Výsledky preukázali klastrovanie na základe diferenciačnej expresie Fib\_Mel, Fib\_B5 a Fib\_S4 na jednej strane a relatívnej blízkosti BCMF a HF/D na druhej strane.



Obr. 4 Klastrovanie génov u študovaných fibroblastov z melanómu (Fib\_Mel), bazocelulárneho karcinómu (Fib\_B5), spinocelulárneho karcinómu (Fib\_S4), kožnej metastázy karcinómu prsníka (BCMF) a z kožného resekátu po gigantomastii (HF/D).

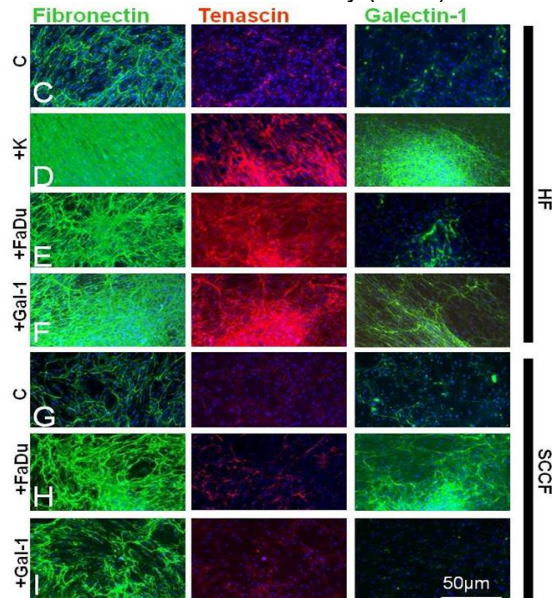
Všetky fibroblasty sa na základe analýzy zhodovali v expresii 153 génov. 19 génov bolo jedinečných a mohli by utvárať spoločný molekulárny podpis nádorovo asociovaných fibroblastov (Obr. 6).



Obr. 6 Vennov diagram prekrývajúcich sa génov medzi porovnávanými fibroblastmi.

V našich experimentoch sme porovnávali fibroblasty v inzertovom systéme (model nepriamej ko-kultivácie cez membránu) s

normálnymi alebo malígnymi (FaDu - karcinóm jazyka) keratinocytmi. V týchto fibroblastoch sme detegovali produkciu tenascínu, fibronektínu a galektínu-1 (**Obr. 7**). Ukázali sme, že s nádorom asociované fibroblasty (Fib\_S4, SCCF) produkujú menej ECM ako normálne dermálne fibroblasty (HF/D).



Obr. 7 Porovnanie produkcie ECM *in vitro*.

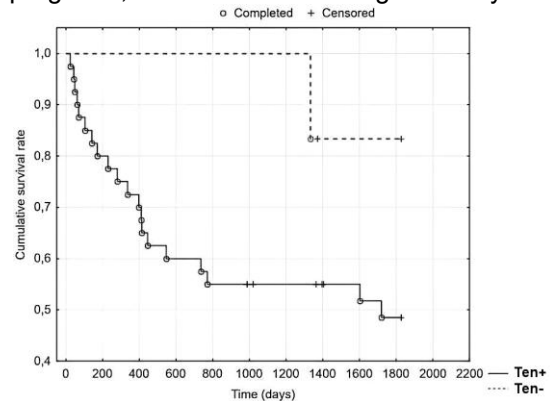
Práca nadväzuje na výskum nášho partnerského pracoviska (Zivicova et al. Anticancer Res. 2017 May;37(5):2275-2288). Podobne aj tu sme realizovali expresné profily spinocelulárnych karcinómov hlavy a krku (HNSCC) a tieto dáta sme porovnávali s okrajom chirurgického resektátu (MSR) a normálnou sliznicou (NM) lokalizovanou na kontralaterálnej strane toho istého pacienta. Pacientov sme rozdelili na základe expície tenascínu (Ten) do dvoch skupín. Histopatologické vyšetrenie preukázalo, že koexpresia Ten+Fn+Gal-1+ sa vyskytuje častejšie vo vzorkách HNSCC (55%) ako v NM (9%). Naopak, expresný profil Ten-Fn+Gal-1- (45%) a Ten-Fn-Gal-1- (39%) sa vyskytol s výrazne vyššou frekvenciou v NM. Na druhej strane v MSR boli tieto imunofenotypy rozdelené takmer rovnomerne (Ten+Fn+Gal-1+ = 24%, Ten-Fn+Gal-1 = 36%, Ten-Fn-Gal-1 = 33%). **Z toho vyplýva, že vzorky MSR a HNSCC sa výrazne líšia v expresii študovaných proteínov.**

*Prognostické korelácie:*

**Tenascín:** Nepozorovali sme lepšiu prognózu v 2- ani 5-ročnom sledovaní u pacientov s Ten+ nádormi. Avšak hodnoty 5-ročného prežívania boli výrazne vyššie u Ten+ pacientov v NM (**Obr. 8**).

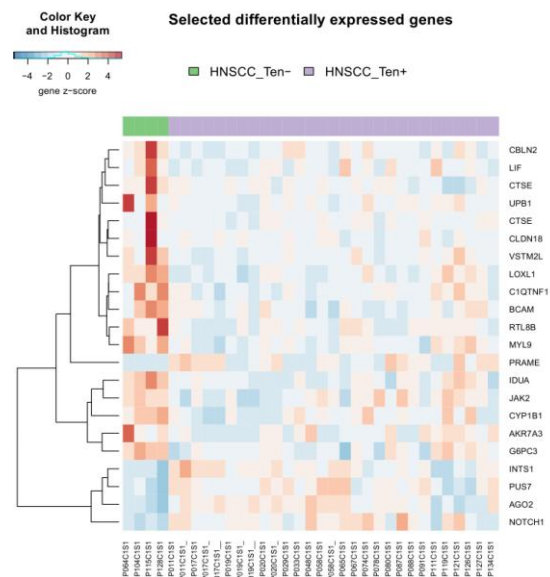
**Fibronektín:** Nepozorovali sme koreláciu medzi expresiou Fibr a prognózou pacientov.

**Galektín-1:** Hodnotenie 2-ročného prežívania naznačilo, že Gal-1+ nádory môžu mať horšiu prognózu, rozdiel však nebol signifikantný.



Obr. 8 Porovnanie prežívania pacientov rozdelených do dvoch skupín na základe expície tenascínu (Ten) v normálnom epiteli (NM).

Mikroarray analýza odhalila: i) expresiu génov súvisiacich s progresiou nádoru v Ten+ nádoroch a ii) silnú upreguláciu génov metabolizmu lipidov v MSR v Ten- nádoroch.



Obr. 9 Porovnanie expície vybraných génov u pacientov exprimujúcich (Ten+) / neexprimujúcich (Ten-) tenascín v nádoroch.

**Naše výsledky odhaľujú špecifické zmeny v nádoroch a okrajoch nádorov bez možnosti rozdeliť pacientov na základe prognózy.**

**c) Klinický význam: paralela medzi hojením a rastom nádorov z pohľadu glykobiológie**  
**Galektín-1 aktivuje myofibroblasty, a to ako v rane tak aj v nádore. Jeho dodanie do rany zrýchľuje hojenie a jeho blokácia v nádore by mohla zvýšiť efektivitu protinádorovej terapie. Galektín-3 pôsobí profibroticky a týmto mechanizmom zvyšuje pevnosť rán.**