

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0737-12**

Biologický význam a farmakologické vlastnosti bioaktívnych proteínov v slinách kliešťov

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Iveta Štibrániová, PhD.**

Príjemca **Biomedicínske centrum, Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Biomedicínske centrum, Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava
2. Ústav zoológie, SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. Antiplatelet-derived growth factor (PDGF) activity in the saliva of ixodid ticks is linked with their long mouthparts; PARASITE IMMUNOLOGY Volume: 36 Issue: 1; 2014; Slovak, M., Štibrániová, I., Hajnicka, V. et al., p. 32-42
2. An insight into the sialome of Hyalomma excavatum; Ticks and Tick-borne Diseases 8 (2017); José M.C. Ribeiro, Mirko Slovák, Ivo M.B. Francischetti, 201–207,
3. Viera Holíková, Pavlína Bartíková, Mária Kazimírová, Iveta Štibrániová: Effect of bioactive molecules in tick saliva on selected TGF-β1 coordinated processes in cervical carcinoma cells, One Health, 9th Tick and Tick-borne Pathogen Conference & 1st Asia Pacific Rickettsia

Conference Cairns, Queensland, Australia, 27 August - 1 September 2017, p. 142

4. Long mouthparts ticks versus short mouthparts ticks in anti-growth factors activities

Stibraniova I., Bartikova P., Slovak M., Holikova V., Kazimirova M., Hajnicka V., 8th International TTP & 12th Biennial STVM Conference 2014, 24-29 August 2014, Cape Town, South Africa

5. Effect of tick salivary gland extract on TGF- β 1 signal pathway, Bartikova P., Holikova V., Stibraniova I.; Keystone Symposia Conference, TGF- β in Immunity, Inflammation and Cancer, Sagebrush Inn & Suites 2017, Taos, New Mexico, January 9 - January 13,

Uplatnenie výsledkov projektu

Rastové faktory patria medzi najdôležitejšie regulátory mnohých fyziologických procesov ako je hojenie rany, embryogenéza, vnútorná homeostáza, významne regulujú funkcie imunitného systému, angiogenézu, hematopoézu. Narušenie ich signálnych dráh, zvýšená expresia a narušenie ich rovnovážneho stavu vedie k rôznym vážnym, často ťažko alebo až neliečiteľným ochoreniam ľudí, ako sú cievne ochorenia, fibrózy, imunologické ochorenia, rakovina a podobne. Inhibítory rastových faktorov zo slín kliešťov by mohli byť významnými farmakologickými inhibítormi signálnych dráh rastových faktorov. Tým by mohli modulovať mnohé procesy, napr. bunková motilita, angiogenéza, zapojené v imunologických poruchách, či zasahovať do regulovania zmien bunkového cytoskeletu, bunkovej proliferácie či apoptózy. Naše výsledky potvrdili silný inhibičný potenciál látok obsiahnutých v slinách kliešťov v prípade vnútrobunkového signalingu indukovaného TGF- β 1 v nádorových bunkách, významnú inhibíciu migrácie týchto buniek, a to nielen aktivovanú rastovým faktorom. Zároveň nami testované extrakty slinných žliaz kliešťov výrazne potláčali proliferáciu rakovinových buniek, aktivovali významne ich bunkovú smrť, pričom významne ovplyvnili ich vnútornú cytoskeletovú štruktúru. Potvrdili sme ich potenciál blokovat' tvorbu žíl a potláčať expresiu niektorých génov zapojených v angiogenéze ale aj v tvorbe extracelulárnej matrix a adhezívnych molekúl. Uvedené vlastnosti látok v slinách kliešťovz nich robia zaujímavé ciele pre vývoj nových liečebných stratégií na liečbu vážnych, ťažko liečiteľných chorôb, vyžadujúcich neutralizáciu rastových faktorov a nimi indukovaných biologických procesov.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

V súlade s plánmi projektu sme testovali vplyv látok v extraktach slinných žliaz (SGE) rôznych druhov kliešťov na biologické procesy v ľudských bunkách, fyziologické či patologické, indukované rastovými faktormi. V rakovinových bunkách izolovaných z krčka maternice (SiHa, HeLa) sme po aplikácii SGE detegovali významnú inhibíciu oboch signálnych dráh - 60-90% (hlavne SMAD závislej, aj alternatívnej, závislej od MAPK-ináz), aktivovaných transformačným rastovým faktorom beta 1 (TGF- β 1). Zistili sme efekt samotných SGE na aktivitu kináz zapojených v signálnych dráhach, t.j. aj bez prítomnosti TGF- β 1. Dokázali sme významné potláčanie migrácie cervikálnych nádorových buniek (CaSki). Efekty SGE boli závislé od druhu kliešťa, doby cicania a koncentrácie SGE, nie však od ich spôsobu blokovania účinku TGF- β 1. Testovali sme aj vplyv SGE na proliferáciu buniek, ich morfológiu a schopnosť SGE navodiť ich apoptózu/nekrózu, pričom sme pozorovali významný antiproliferačný (takmer 80%) a apoptotický (cca 30-60%) efekt SGE, závislý od druhu kliešťa, koncentrácie a doby pôsobenia, ale aj od druhu nádoru, z ktorého bunky pochádzali. V experimentoch sledujúcich vplyv SGE na angiogenézu sme detegovali potláčanie expresie vybraných génov (ADAMTS1, EDIL3, ENPP2, TEK a CXCL12), závislú od druhu kliešťa, dĺžky cicania a doby pôsobenia na cievne bunky. SGE všetkých druhov kliešťov výrazne potláčali tvorbu žilových tubulov. Pri sledovaní vplyvu SGE na extracelulárnu matrix a adhezívne molekuly sme zistili výraznejší efekt na primárne kožné bunky (inhibícia Col6A1 a Col4A2, MMP11, ITGA7, PPIA a LAMA) v porovnaní s pľúcnymi nádorovými bunkami (inhibícia ITGA7 a LAMA). Identifikovali sme výrazný poškodzujúci efekt SGE na aktínový

cytoskelet buniek izolovaných z rôznych typov nádorov krčka maternice. Všetky naše experimenty potvrdili silný protirakovinový potenciál SGE. Metódou pull down izolujeme z SGE molekulu viažucu TGF-b1.

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

According to the project goals we tested effects of salivary gland extract (SGE) substances from different tick species on biological processes in human cells, physiological or pathophysiological, induced by growth factors. In cancer cells isolated from cervical carcinoma (SiHa and HeLa), we detected significant inhibition (60-90%) of both signal pathways induced by TGF-b1 (canonical SMAD4 dependent and alternative, MAPK-inases dependent) after SGE treatment, yet SGEs themselves without TGF-b1 presence affected kinases involved in signal pathways. We demonstrated significant inhibition of cervical carcinoma cell (CaSki) migration by SGE that depended on the tick species, time of tick feeding and SGE concentration, but not on the manner of TGF-b1 activity blocking by SGE. We investigated effects of SGE on cell proliferation and morphology, and the ability of SGE to induce cell apoptosis/necrosis. We demonstrated significant anti-proliferative (almost 80%) and apoptotic (30-60%) effects of SGE, depending on tick species, SGE concentration and time of treatment. The observed effects depended also on the cancer cells origin. In experiments focused on monitoring of SGE effects on angiogenesis we detected inhibition of expression of selected genes (ADAMTS1, EDIL3, ENPP2, TEK a CXCL12), depending on tick species, SGE concentration and time of endothelial cells treatment. We registered inhibition of vein tubule formation by SGEs of all tick species. During investigation of SGE effects on extracellular matrix and adhesion molecules we found stronger inhibitory effect on primary skin cells (inhibition of Col6A1, Col4A2, MMP11, ITGA7, PPIA and LAMA gene expression) compared with lung cancer cell line (inhibition of ITGA7 a LAMA genes). We detected harmful effect of SGE on actin cytoskeleton of different cervical carcinoma cell lines. We have confirmed strong anticancer potential of SGE in all of experiments. Using pull down method we have purified TGF-b1 binding molecule from SGE.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Štatutárny zástupca príjemcu

V dd. mm. rrrr

V dd. mm. rrrr

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu