

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0731**
Galektíny ako potencionálne modulátory mikroprostredia nádoru/rany

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Peter Gál, PhD.**
Príjemca **Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a.s.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a.s.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Univerzita Karlova, 1.lékařská fakulta, Anatomický ústav, Praha, Česká republika
2. Ústav molekulární genetiky, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika
3. Ludwig-Maximilians-Universität München, Ústav fyziologické chemie, Mníchov, Spolková republika Nemecko
4. Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovi, Klinika popáleninové medicíny, Praha, Česká republika

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

1. European Patent Application No. EP18209444: Strnad H., Kolář M., Smetana K., Jr., Dvořánková B., Szabo P., Lacina L., Novák Š., Gál P. Combination of Inhibitors, Pharmaceutical Preparation and Use Thereof.

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

MONOGRAFIA:

1. Robert Zajíček, Peter Gál a kol. Jizva nejen v popáleninové medicíne. Mladá Fronta, Praha, 199 s., 2018, ISBN 978-80-204-4721-0

PUBLIKÁCIE V CC ČASOPISOCH:

1. Smetana K Jr, Szabo P, Gal P, André S, Gabius HJ, Kodet O, Dvořánková B. Emerging role of tissue lectins as microenvironmental effectors in tumors and wounds. *Histol Histopathol.* 2015 Mar;30(3):293-309.
2. Varinska L, Gal P, Mojzisořva G, Mirossay L, Mojzis J. Soy and breast cancer: focus on angiogenesis. *Int J Mol Sci.* 2015 May 22;16(5):11728-49.
3. Mateu R, Živicová V, Krejčí ED, Grim M, Strnad H, Vlček Č, Kolář M, Lacina L, Gál P, Borský J, Smetana K Jr, Dvořánková B. Functional differences between neonatal and adult fibroblasts and keratinocytes: Donor age affects epithelial-mesenchymal crosstalk in vitro. *Int J Mol Med.* 2016 Oct;38(4):1063-74.
4. Perželová V, Sabol F, Vasilenko T, Novotný M, Kováč I, Slezák M, Ďurkáč J, Hollý M, Pilátová M, Szabo P, Varinská L, Čriepoková Z, Kučera T, Kaltner H, André S, Gabius HJ, Mučaji P, Smetana K Jr, Gál P. Pharmacological activation of estrogen receptors- α and - β differentially modulates keratinocyte differentiation with functional impact on wound healing.

Int J Mol Med. 2016 Jan;37(1):21-8.

5. Smetana K Jr, Lacina L, Szabo P, Dvořánková B, Brož P, Šedo A. Ageing as an Important Risk Factor for Cancer. *Anticancer Res.* 2016 Oct;36(10):5009-5017.

6. Gál P, Varinská L, Fáber L, Novák Š, Szabo P, Mitrengová P, Mirossay A, Mučaji P, Smetana K. How Signaling Molecules Regulate Tumor Microenvironment: Parallels to Wound Repair. *Molecules.* 2017 Oct 26;22(11). pii: E1818

7. Varinska L, Kubatka P, Mojzis J, Zulli A, Gazdikova K, Zubor P, Büsselberg D, Caprnda M, Opatrilova R, Gasparova I, Klabusay M, Pec M, Fibach E, Adamek M, Kruzliak P. Angiomodulators in cancer therapy: New perspectives. *Biomed Pharmacother.* 2017 May;89:578-590.

8. Zivicova V, Gal P, Mifkova A, Novak S, Kaltner H, Kolar M, Strnad H, Sachova J, Hradilova M, Chovanec M, Gabius HJ, Smetana K Jr, Fik Z. Detection of Distinct Changes in Gene-expression Profiles in Specimens of Tumors and Transition Zones of Tenascin-positive/-negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res.* 2018 Mar;38(3):1279-1290.

9. Lacina L, Čoma M, Dvořánková B, Kodet O, Melegová N, Gál P, Smetana K Jr. Evolution of Cancer Progression in the Context of Darwinism. *Anticancer Res.* 2019 Jan;39(1):1-16.

10. Michalová Z, Čoma M, Kičová M, Gabzdilová J, Dedinská K, Guman T, Hájiková M, Veselinyová D, Giertlova M, Gál P, Šarišský M. Overexpression of Galectin-3 in Chronic Lymphocytic Leukemia Is Associated With 17p Deletion: A Short Report. *Anticancer Res.* 2019 Jun;39(6):2805-2810.

POZVANÉ PREDNÁŠKY

1. Gal et al. Different promoting effect of galectin-1 and-3 on the healing of skin incision and excision: New perspective on wound-type specific therapy. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE* Volume: 38 Supplement: 1 Pages: S49-S49 Meeting Abstract: 278 Published: 2016.

2. Gal et al. TGF-beta 1 (in)dependent wound therapy: Should open excisions and sutured incisions be treated differently? *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE* Volume: 40 Supplement: 1 Pages: S55-S55 Published: 2017.

3. Gal et al. Tumors and wound microenvironments: Biological similarities and pharmacological modulation. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE.* Vol. 42 Suppl. 1: S38-S38, 2018.

Uplatnenie výsledkov projektu

Z pohľadu klinickej praxe je určite najzaujímavejší a najrýchlejšie najaplikovateľnejší poznatie o rozdielnej terapii incíznej sutúrovanej (tzv. chirurgickej rany) a otvorenej excíznej rany. Obecne môžeme konštatovať, že liečivo, ktoré zásadným spôsobom zvyšuje pevnosť rany nemusí mať pozitívny účinok na jej kontrakciu a naopak (v určitých prípadoch je dokonca možný až negatívny účinok neadekvátnej terapie).

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

Je zrejmé, že perzistujúca prítomnosť zle sa hojajúcich rán v klinickej praxi vyžaduje lepšie pochopenie základných biologických mechanizmov, ktoré sú základom regeneračno-reparačných procesov vyšších organizmov. Naše predchádzajúce experimentálne práce súvisiace s terapiou kožných rán (*Lasers Med Sci.* 2018;33(6):1351-1362; *Exp Dermatol.* 2011;20(9):703-8) ukázali, že rovnaký postup pri liečbe sutúrovaných a otvorených rán vykazoval rozdielnu efektivitu. Tieto výsledky môžu mať značný význam pre klinickú prax a tiež vysvetľujú, že prečo sme aj pri riešení tohto projektu vykonali komparatívnu analýzu terapie rán s galektínmi použitím dvoch základných modelov hojenia kože (incízny vs. excízny). V predchádzajúcich štúdiách sa zistilo, že expresia Gal-1 koreluje s prítomnosťou myofibroblastov v nádoroch (*Int J Cancer.* 2012;131(11):2499-508), zatiaľ čo expresia Gal-3 je často spojená s tkanivovou fibrózou (napr. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(13):5060-5). Cieľom nášho súčasného výskumu bolo preto vyhodnotiť modulujúce účinky týchto dvoch vybraných lektínov na hojenie rán. V našej in vivo štúdii sme ukázali, že Gal-1 indukuje diferenciáciu fibroblastov na myofibroblasty v ranách. Na rozdiel od toho Gal-3 zlepšuje organizáciu kolagénových vlákien, čo vedie k zvýšeniu pevnosti rán (nepublikované dáta). Na in vitro úrovni sme taktiež ukázali, že tento efekt je sprostredkovaný cez cukor rozpoznávajúcu doménu daného galektínu (nepublikované dáta). Tieto výsledky majú

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

Na druhej strane nedávny pokrok v oblasti výskumu rakoviny poukázal na enormný význam extracelulárnej matrice (ECM) ako podstatnej časti mikroprostredia nádoru/rany.

Najdôležitejší typ bunky, ktorý produkuje ECM je fibroblast. V našich onkologických štúdiách sme zistili, že pacienti, ktorí exprimovali Gal-1 v karcinómoch hlavy a krky by mohli mať horšiu prognózu (Anticancer Res. 2018;38(3):1279-1290). Taktiež sme na in vitro úrovni ukázali, že ECM produkovaný fibroblastami po stimulácii s Gal-1 vykazuje značnú biologickú aktivitu voči epitelovým bunkám. Z tohto pohľadu môžeme Gal-1 považovať za jeden zo znakov, ktorý poukazuje na paralelu medzi hojením rán a rastom nádorov.

Pri väčšine experimentov sme používali primárne kultúry buniek izolované z rôznych pacientov. Z pohľadu hojenia sme pozorovali veľmi zaujímavý efekt, že dermálne fibroblasty a keratinocyty izolované z novorodencov do 5 dňa od narodenia majú viac znakov málo diferencovaných a aktivovaných buniek (napr. nestín a hladko-svalový aktín u fibroblastov ako aj keratín-8, -14 a -19 u keratinocytov) v porovnaní s bunkami izolovanými zo starších a dospelých jedincov (Int J Mol Med. 2016;38(4):1063-74). Z toto poznanie jednoznačne poukazuje na fakt, že chirurgické výkony u novorodencov (napr. rekonštrukcia rozštetu pery) by sa mali kvôli minimalizácii jazvy realizovať do 5 dňa od narodenia (Int J Mol Med. 2017;40(5):1323-1334). Avšak ani proteínové a ani celogenómové analýzy nenašli rozdiely v expresii Gal-1 až -15 ani v prípade fibroblastov a ani v prípade keratinocytov.

Na záver môžeme konštatovať, že sa nám podarilo naplniť vedecké ciele projektu.

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

The presence of poor wound healing in clinical practice requires better understanding of the basic biological mechanisms underlying the regenerative-reparative processes of higher organisms. Our previous experimental studies related to skin wound therapy (Lasers Med Sci. 2018;33 (6):1351-1362; Exp Dermatol. 2011;20 (9):703-8) revealed that identical approach to the treatment of open and sutured wounds resulted in differences in the efficiency. Therefore, these results may be of a great significance for clinical practice and may also explain why we performed a comparative analysis of galectin wound therapy using two basic models of skin healing (incision vs. excision). Previous studies have found that Gal-1 expression correlates with the presence of myofibroblasts in tumors (Int J Cancer. 2012; 131(11):2499-508), while Gal-3 expression is frequently associated with tissue fibrosis (e.g. Proc. Natl Acad Sci US A. 2006; 103(13):5060-5). The aim of our current research was therefore to evaluate the modulating effects of these two lectins on wound healing. In our in vivo study, we have shown that Gal-1 induces fibroblast to myofibroblasts differentiation. In contrast, Gal-3 improves the organization of collagen fibers, leading to increased wound tensile strength (unpublished data). At the in vitro level, we have also shown that this effect is mediated through the carbohydrate recognizing domain of the galectin (unpublished data). These results are of considerable clinical significance since they clearly indicate that a specific galectin should be used for open and sutured wound therapy.

On the other hand, recent advances in cancer research have shown enormous importance of extracellular matrix (ECM) as a substantial part of the tumor/wound microenvironment. The most important type of cells that produces ECM is fibroblast. In our cancer studies, we found that patients who expressed Gal-1 in carcinomas of the head and neck may have worse prognosis (Anticancer Res. 2018; 38(3):1279-1290). We have also shown in vitro that ECM produced by fibroblasts after stimulation with Gal-1 exhibits significant biological activity against epithelial cells. From this point of view, Gal-1 can be considered as one of the traits that points to a parallel between wound healing and tumor growth.

In the majority of our experiments, we have used primary cell cultures isolated from different patients. From the healing point of view, we observed a very interesting effect that dermal fibroblasts and keratinocytes isolated from neonates within the first 5 days after birth do express markers of poorly differentiated and activated cells (e.g. nestin and smooth-muscle actin in fibroblasts as well as keratin-8, -14 and -19 in keratinocytes) as compared to cells isolated from older and adult individuals (Int J Mol Med. 2016;38 (4):1063-74). From this knowledge, it clearly points out that surgical procedures in neonates (e.g. reconstruction of cleft lip) should be performed within the first 5 days after birth to minimize scarring (Int J Mol Med. 2017;40(5):1323-1334). However, neither protein nor whole genome assays revealed

differences in the expression of Gal-1 to -15 in either fibroblasts or keratinocytes.
In conclusion, we have been able to fulfill the scientific objectives of the project.