

# Galektini kao biljezi karcinogeneze i ciljevi onkološke terapije

---

Škamo, Izabela

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:193:464137>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-24**

Repository / Repozitorij:

**BI**  **tech**

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU  
Preddiplomski sveučilišni studij  
"Biotehnologija i istraživanje lijekova"

Izabela Škamo

Galektini kao biljezi karcinogeneze i ciljevi onkološke terapije

Završni rad

Rijeka, 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI  
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU  
Preddiplomski sveučilišni studij  
"Biotehnologija i istraživanje lijekova"

Izabela Škamo

Galektini kao biljezi karcinogeneze i ciljevi onkološke terapije

Završni rad

Rijeka, 2022.

UNIVERSITY OF RIJEKA  
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY  
Undergraduate university study  
"Biotechnology and drug research"

Izabela Škamo

Galectins as markers of carcinogenesis and goals of oncology therapy

Final work

Rijeka, 2022.

Mentor rada: prof. dr. sc. Jasminka Giacometti

Završni rad obranjen je dana \_\_\_\_\_19.9.2022.\_\_\_\_\_

pred povjerenstvom:

1. Doc.dr.sc. Željka Minić, predsjednik povjerenstva
2. Doc.dr.sc. Željka Maglica, član
3. prof.dr.sc. Jasminka Giacometti, mentor

Rad ima 64 stranice, 11 slika, 2 tablice, i 194 literaturna navoda.

## SAŽETAK

Galektini (Gal) su proteini koji se neenzimskim načinom vežu na ugljikohidrate, pokazujući visoku specifičnost za njihove šećerne skupine, točnije  $\beta$ -galaktozide. Ova obitelj proteina broji 15 članova (galektini 1-15), od kojih je utvrđeno 12 postojećih gena u ljudi. Na staničnoj razini, uloga i važnost Gal se temelji na posredovanju adhezije i vezanja molekula na ciljne stanice te uključenost u signalne puteve u stanici te modulacije funkcija i uloge unutar organizma.

Brojnim znanstvenim istraživanjima je dokazano da su Gal najviše izraženi u stanicama imunološkog sustava gdje imaju važnu ulogu u nastanku i razvoju zaraznih, a posebice nezaraznih bolesti, posebice onkoloških bolesti. Do sada je uspješno utvrđena korelacija ekspresije Gal-1, Gal-2, Gal-3, Gal-4, Gal-7 i Gal-8 s razvojem određenih tipova raka u kojima je zabilježena povišena ekspresija pa se ovi proteini mogu smatrati specifičnim pokazateljima pojedinih tipova i podtipova raka. Nadalje, istraživanja u kojima je utvrđena ekspresija ili supresija pojedinog Gal tijekom njegovog napredovanja pokazala su karakteristiku invazivnosti i daljnjeg rasta.

Stoga se smatra da će se nastale promijene u ekspresiji Gal omogućiti novi pristup terapiji određenim tipova i podtipova raka, odnosno, omogućiti će nove terapije veće djelotvornosti od postojećih. Obzirom na ulogu Gal u imunološkom odgovoru, novi pristup terapiji će biti moguć i u ostalih nezaraznih bolesti.

**Ključne riječi:** galektini, imunološki sustav, ekspresija, biomarkeri, dijagnostika, liječenje, onkološke bolesti

## SUMMARY

Galectins (Gal) are proteins that bind to carbohydrates in a non-enzymatic manner and have high specificity for their sugar groups, especially  $\beta$ -galactosides. This protein family includes 15 members (galectins 1-15), of which 12 genes have been identified in humans. At the cellular level, the role and importance of Gal is based on mediating adhesion and binding of molecules to target cells and participation in signaling pathways within the cell, as well as modulation of functions and tasks within the organism.

Numerous scientific studies have shown that Gal is mainly expressed in the cells of the immune system, where it plays an important role in the development and progression of infectious and especially non-infectious diseases, particularly oncological diseases. To date, a correlation has been demonstrated between the expression of Gal-1, Gal-2, Gal-3, Gal-4, Gal-7, and Gal-8 and the development of certain cancers, where increased expression has been detected, and thus these proteins can be considered as specific indicators of certain cancers and subtypes. In addition, studies demonstrating expression or suppression of a specific Gal during progression have shown the property of invasiveness and further growth.

Therefore, the resulting changes in Gal expression are expected to provide a new approach to the therapy of certain cancers and subtypes, i.e., they will enable new therapies with greater efficacy than those currently available. Given the role of Gal in the immune response, a new therapeutic approach will also be possible for other non-infectious diseases.

**Keywords:** galectins, immune system, expression, biomarkers, diagnostics, therapies, oncological diseases

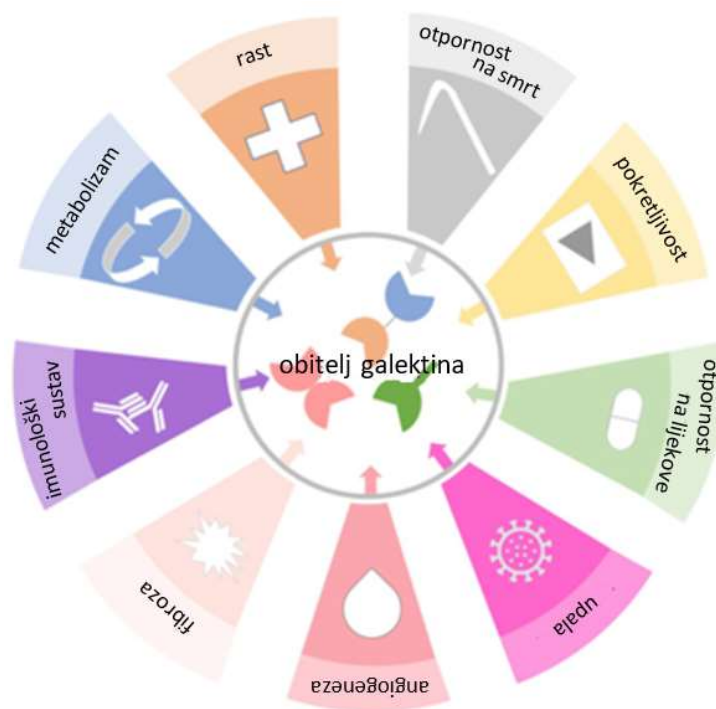
# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. DEFINICIJE I KARAKTERISTIKE GALEKTINA</b> .....	7
2.1. Molekulska građa i tipizacija galektina .....	7
2.2. Afiniteti galektina za ligande i interakcije s ligandima.....	8
2.3. Biokemijska aktivnost galektina .....	10
<b>2.4. Unutarstanične funkcije i biokemijske uloge galektina</b> .....	11
<b>3. GALEKTINI I BOLESTI</b> .....	15
<b>3.1. Uloga galektina u imunološkom sustavu</b> .....	15
3.1.1. Povezanost ekspresije galektina i funkcija stanica imunološkog sustava .....	15
<b>3.2. Funkcije galektina u imunološkom odgovoru urođene imunosti</b> .....	17
3.2.1. Funkcije Gal-1, Gal-3, Gal-4 i Gal-9 u neutrofilima.....	17
3.2.2. Funkcije Gal-1, Gal-3, Gal-8 i Gal-9 u monocita / makrofaga.....	19
3.2.3. Funkcije Gal-1, Gal-3 i Gal-9 u dendritičkim stanicama.....	21
3.2.4. Funkcije Gal-1 i Gal-3 u mastocitima .....	22
3.2.5. Funkcije Gal-3 i Gal-9 u eozinofilima.....	23
3.2.6. Funkcije Gal-1 i Gal-3 u efektorskim i regulatornim T-stanicama i B-stanicama .....	23
<b>3.3. Galektini i nezarazne bolesti</b> .....	27
3.3.1. Uloga i povezanost Gal-1 s razvojem pojedinih oblika raka.....	29
3.3.2. Uloga i povezanost Gal-3 s razvojem pojedinih oblika raka.....	33
3.3.3. Uloga i povezanost Gal-4, 7 i 9 s razvojem pojedinih oblika raka.....	38
3.3.4. Uloga i povezanost Gal-2 i Gal-8 s razvojem raka debelog crijeva.....	40
<b>3.4. Utjecaj biokemijske aktivnosti galektina na efikasnost kemoterapija i radioterapija</b> .....	41
<b>4. METODE DETEKCIJE GALEKTINA</b> .....	44
<b>5. ZAKLJUČAK</b> .....	47
<b>6. KRATICE</b> .....	48
<b>7. LITERATURA</b> .....	50
<b>Životopis</b> .....	65



## 1. UVOD

*Galektini (Gal)* su evolucijski pleotropni proteini s različitim funkcijama. Oni reguliraju različite stanične funkcije, uključujući interakciju galaktozidnih liganada s različitim proteinima u embrionalnom razvoju, upalama, imunološkom odgovoru, metaboličkim bolestima, spajanju premRNA, staničnom ciklusu, pokretljivosti, preživljavanju, fibrozi organa i razvoju raka (slika 1) (1).

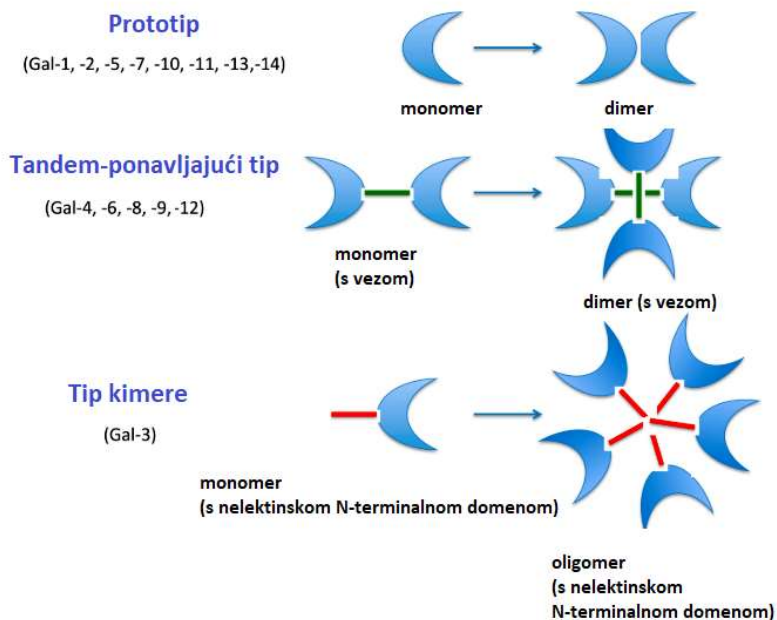


**Slika 1.** Pluripotencija obitelji galektina u obilježjima stanične biologije. Shematski dijagram prikazuje funkcije galektina: uključeni su u staničnu proliferaciju, migraciju, anti-apoptozu, metabolizam lipida ili sintezu nukleinskih kiselina, otpornost na liječenje lijekovima, imunološki sustav ili odgovor upale, stvaranje krvnih žila, fibrogenezu organa i otpornost na smrt. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (1)

Galektini pripadaju *S*-podskupini lektina, koji u prisutnosti kalcija ostvaruju stabilne veze s ciljanim ugljikohidratima te imaju širok raspon funkcija kao što je regulacija imunološkog odgovora i apoptoza. *S* druge strane, *ne-S* lektini ne

trebaju kalcij za stvaranje veze s ugljikohidratima te imaju ograničene uloge u stanicama urođene imunosti; NK i T stanicama (2). Osim toga, Gal se ponašaju kao receptori u prepoznavanju zajedničkih molekularnih obrazaca mikroorganizama (*engl.* pathogen-associated molecular patterns, PAMP) koji aktiviraju urođeni imunološki odgovor.

Ovi glikoproteini imaju izraženi afinitet za šećer galaktozu i pokazuju različite afinitete za određene glikane (3). Stvaranje *N-/O*-glikozidnih veza s galaktozom omogućuje prisutnost *ugljikohidrat vezujuće domene* (*engl.*CRD) u njihovoj strukturalnoj građi. Do danas je u tkivima sisavaca (unutarstanično i izvanstanično) ukupno pronađeno 15 Gal obzirom na broj prisutnih CRD: galektin-1 (Gal-1), galektin-2 (Gal-2), galektin-3 (Gal-3), galektin-4 (Gal-4), galektin-5 (Gal-5), galektin-6 (Gal-6), galektin-7 (Gal-7), galektin-8 (Gal-8), galektin-9 (Gal-9), galektin-10 (Gal-10), galektin-11 (Gal-11), galektin-12 (Gal-12), galektin-13 (Gal-13), galektin-14 (Gal-14) i galektin-15 (Gal-15). Oni su podijeljeni u 3 skupine: *prototip* ili *dimerni tip galektina* (sadrži samo jednu CRD - Gal-1, Gal-2, Gal-5, Gal-7, Gal-10, Gal-11, Gal-13, Gal -14 i Gal-15), *tandem ponavaljući tip* (sadrži dvije kovalentno vezane CRD - Gal-4, Gal-6, Gal-8, Gal-9 i Gal-12) i *galektin himernog tipa* (*N*-terminalna regija povezana s CRD koja im omogućuje oligomerizaciju) (4) (slika 2). Neki Gal se mogu sami povezivati u dimere ili oligomere. Konformacijske promjene u podjedinicama mogu utjecati na interakcije Gal različitim molekulama kroz vezanje ovisno o ugljikohidratima ili vezanje neovisno o ugljikohidratima za obavljanje različitih funkcija.



**Slika 2.** Struktura obitelji galektina. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (5)

Svaki od navedenih tipova Gal pokazuje svojstvo sklonosti homodimerizaciji i oligomerizaciji koje im omogućuju povezivanje i mogućnost interakcije s višestrukim glikokonjugatima (6,7).

Općenito, Gal su neglikolizirani topljivi proteini citosola, smješteni unutar stanice, uz samu staničnu membranu, jezgri, citosolu i mitohondrijima, ali ih također nalazimo i u izvanstaničnom prostoru u koji mogu biti izlučeni (sekretolitički proteini). Posttranskripcijske i posttranslacijske modifikacije utječu na višestruke izoforme Gal koje mogu odlučiti o substaničnoj raspodjeli i stabilnosti proteina. Svih 15 proteina nalazimo u svim živućim organizmima, od kojih svega njih tri nije prisutno u ljudskom tijelu (tablica 1). Trenutno je određeno 11 Gal (gen LGALS) u ljudskom tijelu čija je substanična lokacija i ekspresija karakterizirana (tablica 1).

**Tablica 1.** Galektini u organima i tkivima. (1)

Organ	Ekspresija										
	Gal-1	Gal-2	Gal-3	Gal-4	Gal-7	Gal-8	Gal-9	Gal-10	Gal-12	Gal-13	Gal-14
Mozak	•		•			•	•		•	•	
Oči	•		•			•	•				
Endokrina tkiva	•		•	•		•	•	•			•
Pluća	•		•	•		•	•	•			•
Proksimalni probavni trakt	•		•	•	•	•	•	•			•
Gastro-intestinalni trakt	•	•	•	•		•	•	•			•
Jetra i žučni mjehur	•	•	•	•		•	•	•		•	
Gušterača	•	•	•	•		•	•	•			•
Bubrezi i mokraćni mjehur	•	•	•	•	•	•	•	•			
Mišićno tkivo	•	•	•	•	•	•	•	•		•	•
Adipozno i meko tkivo	•	•	•	•		•	•	•			
Koža	•	•	•	•	•	•	•	•			•
Koštana srž i limfoidno tkivo	•	•	•	•	•	•	•	•			•
Krv	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

Gal-5 i 6 su pronađeni u glodavaca te Gal-11 i -15 u ovaca i koza (8).

Općenito, iako su Gal široko izraženi te se nalaze u gotovo svim stanicama, od kojih najviše u stanicama *makrofaga* imunološkog sustava (9), određene vrste Gal imaju ograničenu lokalizaciju tkivu: Gal-2 nalazimo u probavnom epitelu, Gal-7 u slojevitom epitelu (10) dok se Gal-3 nalazi u stanicama imunološkog sustava – *fibroblastima, makrofagima, eozinofilima te aktiviranim T-stanicama* (11).

Povećane razine određenih pripadnika ove obitelji proteina povezuje se s nizom tipova bolesti raka kao što su rak cerviksa, pluća, prostate, mjehura i sl. Eksperimentalna i klinička istraživanja upućuju na povezanost povećane ekspresije Gal i neoplastične progresije u bolestima različitih vrsta raka (4). Stoga se određeni Gal mogu smatrati pouzdanim tumorskim biljezima te predstavljati potencijalne pokazatelje u identifikaciji određenih bolesti (4).

Od 15 identificiranih vrsta Gal, ekspresija Gal-1, -2, -3, -7, -9 usko se povezuje sa određenim tipovima raka dok se Gal-6 zbog svojevrstnih biokemijskih puteva aktivnosti smatra potencijalnim rješenjem za sprečavanje karcinogeneze raka dojke (12), a Gal-1 korisnim u kemoterapiji raka pluća koja se temelji na cis platini. Kliničkim istraživanjima dokazana je visoka izvan- i unutarstanična ekspresija Gal-1 u oboljelih od raka vrata maternice (cerviksa) kao i u stromi raka u stanicama fibroblasta i fibrocista. Također, daljnjim imunohistološkim istraživanjima utvrđena je povezanost Gal-1 s metastazama u limfnim čvorovima te pojačana invazivnost ovog tipa raka (9). Povećana ekspresija Gal-1 korelira također i s rakom jajnika gdje je istraživanjima dokazano da uzrokuje povećanu proliferaciju stanica rakate izbjegavanje apoptoze (13). Osim s rakom cerviksa, povećana ekspresija Gal-1, uz onu Gal-3, povezuje se i s rakom mokraćnog mjehura(4). Povećana ekspresija Gal-2 dokazana je kod svih prethodno navedenih tipova raka, a ona Gal-3 je specifična za kolorektalni i rak želuca te za karcinome dojke i jajnika (14). Naime, imunohistološkim ispitivanjima dokazano je antiapoptotično djelovanje Gal-3 na navedene stanice raka i apoptotično na T-stanice imunološkog sustava. Također je dokazan i pozitivan utjecaj Gal-3 na poticanje neoangiogeneze u raka (15). Zbog križanja biokemijskih puteva sa p53 i NF- $\kappa$ B, eksprimirani Gal-7 se smatra odgovornim za sprečavanje apoptoze stanica raka dojke (16, 17), dok se Gal-9 povezuje s istom vrstom raka na temelju istraživanja kojima je dokazan pozitivan utjecaj ovih proteina na proliferaciju, migraciju, imunost te sam mikrookoliš ove vrste raka (4).

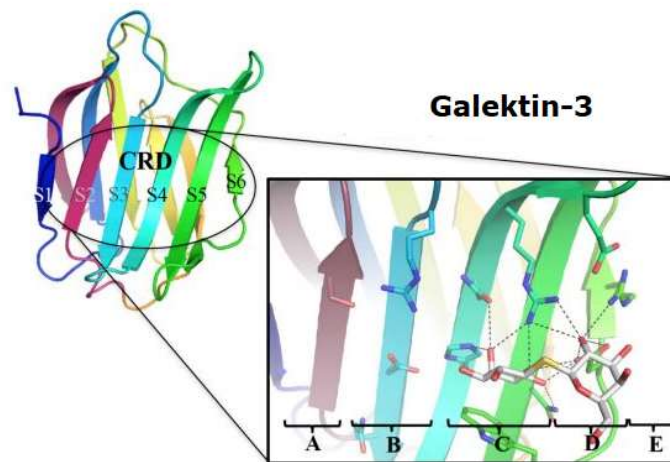
Zbog mnogih istraživanja specifično provedenih s ciljem utvrđivanja uloge i interakcije ove obitelji proteina sa svojim mikrokookolišem te mogućnosti utjecaja (pozitivnog i negativnog) na okolne stanice, biokemijska aktivnost Gal se smatra „dvosjeklim mačem“. Ona je dokazana primjenom Gal kao onkoloških pokazatelja, ali ujedno kao ciljna meta u pojedinim terapijama raka.

U ovom radu će biti obuhvaćena molekulska građa i ukupna tipizacija Gal te na temelju koje će zatim biti objašnjene njihove interakcije na biokemijskoj razini te sama povezanost pojedinih tipova galektina sa određenim bolestima. U radu će biti prikazana i njihova primjena kao pokazatelja karcinogeneze i moguća ciljna meta u terapiji raka, a navesti će se i metode koje se koriste u svrhu njihove identifikacije.

## 2.DEFINICIJE I KARAKTERISTIKE GALEKTINA

### 2.1. Molekulska građa i tipizacija galektina

Galektini su proteini s visokim afinitetom za vezanje  $\beta$ -galaktozidnih šećera pomoću *N*-/*O*-glikozidnih veza. Utvrđeno je da gotovo svi galektini osim Gal-3 sadrži CRD visokog afiniteta za vezanje  $\beta$ -galaktozidnih šećera te mogućnost homodimerizacije i oligomerizacije, ovisno tipu Gal (18). CRD se sastoji od 130 ostataka aminokiselina koji se savijaju u 2 antiparalelna  $\beta$ -lista sa šest (S1-S6) do pet (F1-F5) niti, zajedno tvoreći „sandwich“ strukturu od 4 lista (S- i F-listovi). S1-S6  $\beta$ -lanci čine konkavnu površinu na kojoj su vezani specifični glikani (do duljine tetrasaharida) (slika 3).



**Slika 3.** Prikaz 5 podmjesta (A-E) prisutnih u strukturi CRD galektina na primjeru Gal-3 gdje se vežu tiodigalaktozidi i mjesta interakcije C i D (kao laktoza ili N-acetilaktozamin).

Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (18)

Vezni žlijeb je podijeljen na podmjesta A-E, s glavnim podmjestom C koje je najočuvanije među svim članovima galektina te sadrži  $\beta$ -galaktozu kada vezan za određeni  $\beta$ -galaktozid. Primjer manje očuvanog mjesta jest podmjesto D koje obično sadrži ostatke šećera, a nalazi se pored mjesta vezanja  $\beta$ -

galaktoze. Ostala podmjesta; A, B i E, su varijabilnija te stoga više specifična za pojedinačne Gal, zauzeta funkcionalnim skupinama ili šećerima koji se nalaze u građi glikana uz  $\beta$ -galaktozu (18).

Dva Gal se ne uklapanju u osnovnu tipizaciju: Gal-3 i Gal-7. Gal-3 oligomerizira u pentamer ili druge oblike u svrhu stvaranja adhezivne mreže na površni stanice multivalentnim interakcijama (19). Gal-7 u svojoj strukturi sadrži jedino motiv sličan jezgrinom izlaznom signalu (NES) i jezgrinom lokalizacijskom signalu (NLS) za p53 i c-Myc. Također, važno je i spomenuti da se u strukturi Gal nalaze i slobodni reducirani ostaci cisteina kao posljedica njihove sinteze u citoplazmi i stvaranju disulfidnih mostova među CRD, a koji mogu uzrokovati njihovu nefunkcionalnost (20).

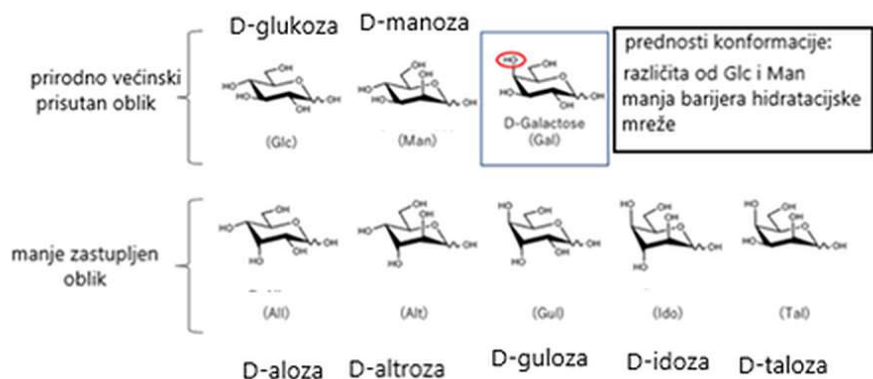
## 2.2. Afiniteti galektina za ligande i interakcije s ligandima

Ugljikohidrat-vezno mjesto Gal sadrži ostatke aminokiselina unutar utora koji sadrži S-list. Općenito, ugljikohidrate vežu najmanje dvije glavne interakcije: *hidrofilna*, kroz opsežnu komplementarnu mrežu vodikovih veza, i *hidrofobna*, kroz CH- $\pi$  interakcije između bočnih lanaca šećera i aromatskih aminokiselina u CRD-u.

Zahvaljujući svojoj strukturnoj građi, prisustvu CRD i njima sličnih motiva te „sandwich“ strukture  $\beta$ -listova, Gal imaju niz veznih mjesta (označeni od A do F) za ugljikohidrate što im omogućuje vezanje galaktoze višestruko konjugiranim glikanima (primjerice poli-N-acetilaktozamin). Vezna mjesta su prepoznata zahvaljujući uvidu u njihovu kristalnu strukturu i trodimenzionalnu molekulska građu (slika 3). Afiniteti za vezanje ugljikohidrata određenih veznih podmjesta Gal smatraju se specifičnim za pojedini tip glikana ( $\beta$ -galaktozida) (21). Uz već spomenute glavne, interakcije galektina sa ugljikohidratima događaju se na razini elektrostatskih interakcija, hidrofobnih



i Van der Waalsovih privlačnih sila, koje dolaze do izražaja tijekom samog slaganja aromatskih prstena galaktoze i visoko konzerviranih ostataka hidrofobnih aminokiseline triptofana, tirozina i fenilalanina. Osim hidrofobnih i Van der Waalsovih sila, između galektina i  $\beta$ -galaktozida ostvaruje se *vodikova veza* koja se zbog svoje jačine i stabilnosti ujedno smatra i najvažnijom vezom za vezanje galaktoze. Naime, upravo ona definira *duljinu* i *kut veze* sa ugljikohidratima čime se ostvaruje visoka selektivnost galektina za  $\beta$ -galaktozide (22). U usporedbi s kovalentnom i koordinativnom energijom veze, energija vodikove veze nije pretjerano veća (10-40 kJ/mol), no značajna je jer stvaranje već i jedne vodikove veze povećava afinitet vezanja ciljanog liganda za gotovo cijeli jedan red veličine (22). Vodikova veza između galektina i  $\beta$ -galaktozida ostvaruje se na C4-OH i C6-OH skupine galaktoze (22). Afinitet Gal za navedene skupine galaktoze nije nasumičan već je evolucijski stvoren, posebno za C4-OH. C4-OH skupina galaktoze u njenom aksijalnom položaju nalazi se u njezinoj najstabilnijoj konformaciji "stolice" (22) (slika 4). Na temelju navedenih svojstava i preduvjeta za uspostavu vodikove veze galektina i  $\beta$ -galaktozida, objašnjava se specifični afinitet galektina za galaktozu. Općenito, afinitet vezanja galektina za ligand specifičan je za svaki glikan te tako primjerice Gal-1 pokazuje visok afinitet za složeni tip *N*-glikana ( $K_d < 8 \mu\text{M}$ ), a koji se povećava s porastom broja granjanja *N*-glikana dok je primjerice za Gal-3 utvrđena sklonost za saharide krvnih grupa A ( $K_d \sim 3,8 \mu\text{M}$ ) i B ( $K_d \sim 1,6 \mu\text{M}$ ). Osim navedenog, afinitet Gal-3, Gal-8 i Gal-9 je dokazan prema ponavljanjima LacNAc ( $K_d < 2 \mu\text{M}$ ). Novija istraživanja Gal-8 pokazala su da afinitet *N*- i *C*-terminalnih domena mogu varirati čak za isti ligand te da kovalentno vezanje sijalinske kiseline na terminalni kraj glikoproteina, posebice galaktoze, ima inhibitorni učinak na njihovu interakciju sa galektinima te tako utječe negativno na afinitet njihovog vezanja (23).

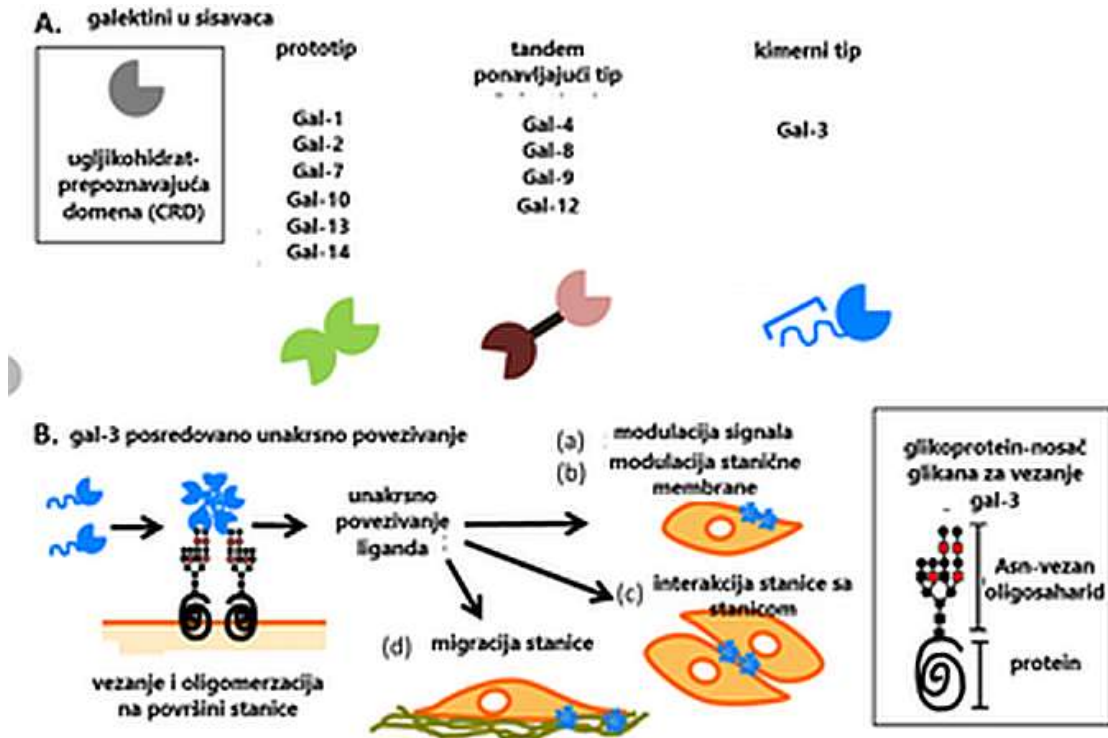


**Slika 4.** Prikaz prednosti konformacije D-galaktoze nad ostalim konformacijama šećera te značaja položaja njene OH-skupine na četvrtom C-atomu. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (22)

### 2.3. Biokemijska aktivnost galektina

Galektini su proteini iz citosola gdje su sintetizirani na slobodnim polisomima -ribosomima vezanim za mRNK, a čija je svrha sinteza proteina namijenjenih zadržavanju u citoplazmi ili jezgri stanice. Jedina su iznimka upravo Gal koji za razliku od ostalih proteina sintetizirani ovim biokemijskom putem, mogu biti izlučeni i na površinu stanice. Kao posljedica sinteze u citosolu, u strukturi Gal se nalaze ostaci aminokiseline cistein. Kako se u bočnom lancu cisteina nalazi atom sumpora, galektini pokazuju sklonost unakrsnom umrežavanju te samoj oksidaciji ostataka aminokiselina (ne samo cisteina već i triptofana prisutnog u CRD) kada se ne nalaze u reducirajućoj okolini. Ovakve interakcije među galektinima, uvjetovane svojstvima sredine u kojoj se nalaze, uzrokuju brzi gubitak njihove aktivnosti, prvenstveno kao posljedica nastajanja intermolekularnih disulfidnih mostova između Gal (24). Labilnost galektina određuje se upravo na temelju ovisnosti njihove aktivnosti o okolini u kojoj se nalaze, a najlabilnijim se smatra Gal-1 u kralježnjaka čija se aktivnost gubi već unutar jednog dana ako se ne nalazi u reducirajućoj sredini. Povratak

aktivnosti, odnosno, stabilizacija ovog Gal ostvaruje se stvaranjem veze već i sa slabim ligandom poput laktoze. Gal-3 i -4, s druge strane, primjer su proteina čija stabilnost ne ovisi ni o reducirajućem potencijalu sredine u kojoj se nalaze kao ni o vezanju liganda (slika 5) (24).



**Slika 5.** Prikaz uspostave veze između galektina i liganda te mogućih ishoda ove interakcije. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (25)

## 2.4. Unutarstanične funkcije i biokemijske uloge galektina

Kako se sinteza Gal zbiva unutar stanice, u citosolu na polisomima, galektini se primarno klasificiraju kao unutarstanični proteini no mogu biti izlučeni i na površinu stanice pa stoga imaju širok raspon funkcija i uloga. Nizom istraživanja utvrđeno je da imaju vodeću ulogu u posredovanju staničnih signala te tako omogućuju međusobne interakcije stanice, stanice i matriksa

te komunikaciju s unutarstaničnim ligandima (8). Sve navedene razine komunikacije u kojima sudjeluju Gal omogućuju im njihove preostale, no nimalo sporedne funkcije a to su mogućnosti modulacije stanične funkcije i aktivnosti, sudjelovanje u RNK prekrajanju, endocitnom prometu molekula te staničnoj apoptozi i angiogenezi (26). Galektini se nalaze u svim stanicama ljudskog tijela, s najvećom izraženosti u onim imunološkog sustava, no njihove pojedine vrste imaju ograničenu lokalizaciju pa tako galektin-2 nalazimo samo u probavnom epitelu, galektin-7 u slojevitom, a galektin-3 upravo u stanicama imunološkog sustava; fibroblastima, eozinofilima, makrofagima itd. (9). Kliničkim te imunohistološkim istraživanjima utvrđeno je da su povišene ekspresije određenih tipova galektina prisutne kod određenih poremećaja imunološkog sustava, zaraznih i nezaraznih bolesti i oblika karcinoma te tako usko koreliraju s uspostavom njihove dijagnoze (9). Kako i u ostalim stanicama, Gal su prisutni i u stanicama imunološkog sustava čija ekspresija znatno može utjecati na ukupni imunološki odgovor. Aktivnost Gal-1 dokazana je kao dodatni stimulans odgovora imunološkog sustava na upalu dok je ona Gal-3 suprotna. Nadalje, spomenuti Gal, uz one Gal-2,-7 i -9 povezuju se i s određenim oblicima raka zbog zabilježene povišene ekspresije te općenito prisutnosti u stanicama raka. Prethodno navedeni su samo neki od primjera kako se ekspresija Gal povezuju sa imunološkim stanjem pojedinca te može služiti kao indikator određene bolesti. Zbog tih razloga, prisutnost te povišena ekspresija određenih tipova Gal koristi se kao pokazatelj određenih tipova raka. Međutim, osim funkcije Gal kao pokazatelja karcinogeneze, određeni tipovi ovih proteina pokazuju i iskoristivost u svrhu jačanja imunološkog odgovora pa se tako njihova funkcija produbljuje i na onu kao dodatnih stimulansa imunološkog odgovora oboljelih na kemoterapiju za svojevrzne tipove raka (27).

**Tablica2.** Funkcije gena LGALS u bolestima raka. (1)

<b>Vrsta raka</b>	<b>Ekspresija LGALS</b>	<b>Biološki značaj</b>	<b>Izvor</b>
Mokraćni mjehur	Gal-1	Regulacija proliferacije i invazije	28
	Gal-3	Rast tumora	29
	Gal-9	Doprinos invazivnosti tumora i imunološkom nadzoru	30
Krv	Gal-12	Regulacija formiranja lipidnih splavi	31
Koštana srž	Gal-1	Regulacija aktivacije M2 makrofaga	32
	Gal-1	Neophodan za razvoj tumora	33
Dojka	Gal-1	Doprinosi progresiji tumora i otpornosti na djelotvornost lijekova	34
	Gal-1	Metastaziranje tumora i imunoevazija	35
	Gal-1	Asociran s kemorezistencijom	36
	Gal-3	Asociran s metastazama	37
	Gal-3	Uključen u osteoklastogenezu	38
	Gal-3	Regulira rast i metastaziranje tumora	39
Vrat maternice	Gal-1	Potiče invazivnost	40
	Gal-7	Negativna regulacija progresije tumora	41
Debelo crijevo	Gal-1	Potiče invazivnost	42
	Gal-3	Potiče metastaziranje tumora	43
	Gal-12	Inhibira unos glutamina	44
Kolorektalno	Gal-1	Asociran s imunosupresivnošću	45
	Gal-1	Asociran s progresijom tumora	46
	Gal-3	Potiče metastaziranje	47
	Gal-4	Uzrokuje apoptozu	48
	Gal-4	Inhibira rast tumora	49
	Gal-9	Povećava imunološki nadzor	50
Ezofagijalno	Gal-9	Inducira apoptozu	51
Želudac	Gal-1	Uključen u metastaziranje	52
Glava i vrat	Gal-1	Uključen normalizaciju krvnih žila	53

Jetra	Gal-3	Regulira proliferaciju stanica	54	
	Gal-9	Potiče apoptozu tumorskih stanica	55	
Pluća	Gal-1	Korelira s metabolizmom i lošom prognozom	56	
	Gal-1	Imunosupresija	57	
	Gal-3	Asociran s otpornošću na lijekove	58	
	Gal-3	Izbjegavanje imunološkog nadzora	59	
	Gal-9	Asociran s kemorezistencijom	60	
Jajnici	Gal-3	Osjetljivost na kemoterapiju	61	
	Gal-3	Apoptoza tumorskih stanica	62	
	Gal-3	Mobilnost stanica i sposobnost formiranja sfera	63	
Gušterača	Gal-1	Potiče progresiju raka	64	
	Gal-1	Komunikacija sa stromalnim stanicama	65	
Prostata	Gal-1	Asociran s sposobnošću invazivnosti	66	
	Gal-1	Regulira proliferaciju i apoptozu stanica	67	
	Gal-3	Potiče progresiju tumora	68	
	(u citoplazmi)	Gal-3	Inhibira progresiju tumora	68
	(u jezgri)	Gal-3	Imunosupresija i metastaziranje	69
	Gal-3	Regulira osteoklastogenezu	70	
	Gal-3	Regulira osteoklastogenezu	70	
Koža	Gal-1	Uključen u izbjegavanje imunološkog nadzora te uzrokuje otpornost na djelotvornost lijekova	71	
	Gal-3	Metastaze u plućima	72	

---

## 3. GALEKTINI I BOLESTI

### 3.1. Uloga galektina u imunološkom sustavu

Kako su galektini prisutni u gotovo svim stanicama ljudskog organizma, a poglavito u stanicama imunološkog sustava, s povećanom ekspresijom u onim mijeloidnim, njihova funkcija proširuje se i na onu obrane domaćina od patogenih infekcija te stimulaciju imunološkog sustava tijekom procesa upale, neovisno izazvane zaraznom ili nezaraznom bolesti. Općenito, ekspresija galektina povećava se tijekom neupalnih i upalnih bolesti poput *astme, dijabetesa, fibroze, karcinoma*. Općenito, mijeloidnim stanicama pripadaju *monociti, granulociti, makrofagi i dendritičke stanice*, a kako se prisutnost Gal najvećim dijelom nalazi upravo u njima, upućuje da je imunološki odgovor posredovan i reguliran upravo Gal. Funkcije i uloge pojedinih vrsta Gal poput Gal-1, Gal-3, Gal-4, Gal-8 i Gal-9 novijim istraživanjima pokazale su se ključnim tijekom nastupa imunološkog odgovora na infekcije, stanja upale, zaraznih, i nezaraznih bolesti te će njihove uloge, kao i važnost ekspresije, biti detaljnije opisani.

#### 3.1.1. Povezanost ekspresije galektina i funkcija stanica imunološkog sustava

Obzirom na lokalizaciju Gal unutar i izvan same stanice, ligande Gal čine endogeni površinski stanični glikani. Upravo ovo svojstvo mogućnosti vezanja glikana prisutnih unutar i van stanice čini ekspresiju Gal i njihove uloge u biokemijskim putevima veoma važnim za imunološki odgovor u nizu staničnih procesa kao što su *apoptoza, stanična adhezija, proizvodnja citokina, kemoatrakcija, diferencijacija stanica, modulacija funkcije receptora* te sudjelovanje u unutar i izvanstaničnim signalnim putovima i prometu. Zbog

velikog opsega navedenih funkcija Gal, njihova važnost, osim u imunološkom odgovoru, proširuje se na onu u razvoju akutne i kronične upale, regulacije homeostaze te regulacije izražaja funkcija stanica imunološkog sustava: makrofaga, neutrofila, eozinofila, mastocita, dendritičkih stanica te regulatornih i efektorskih T-stanica (73). Navedene funkcije Gal u različitim imunološkim stanicama dokazane su *in vitro* istraživanjima u kojima korištene metode mjerenja odgovora imunoloških stanica nakon ekspresije rekombinantnih proteina određenih Gal te metoda upotrebe transficiranih stanica s kodirajućom DNK za određeni Gal ili pak tretiranih s malom intereferirajućom RNA (siRNA) ili onom *antisense* specifičnom za Gal. Primjenom navedenih metoda u eksperimentalnim istraživanjima na miševima, dokazano je da prekomjerna ili potisnuta ekspresija određenih Gal utječe na razne biokemijske procese urođene imunosti (adhezija, transmigracija kroz površinu endotelnih stanica, sposobnost fagocitoze, ubijanja zaraženih, oštećenih i patogenih stanica, lučenja pro- i protupalnih citokina, kemotaksija) (73). Općenito, funkcija Gal u pojedinim vrstama stanica urođene imunosti ovisi o razini njihove ekspimiranosti, a zbog navedenih funkcija, rekombinantni proteini Gal ili njihovi specifični inhibitori predstavljaju i potencijalna terapijska sredstva za određene upalne bolesti poput ateroskleroze i atopičnog dermatitisa (74), ali i one onkološke, primjerice raka jajnika i dojke (9).



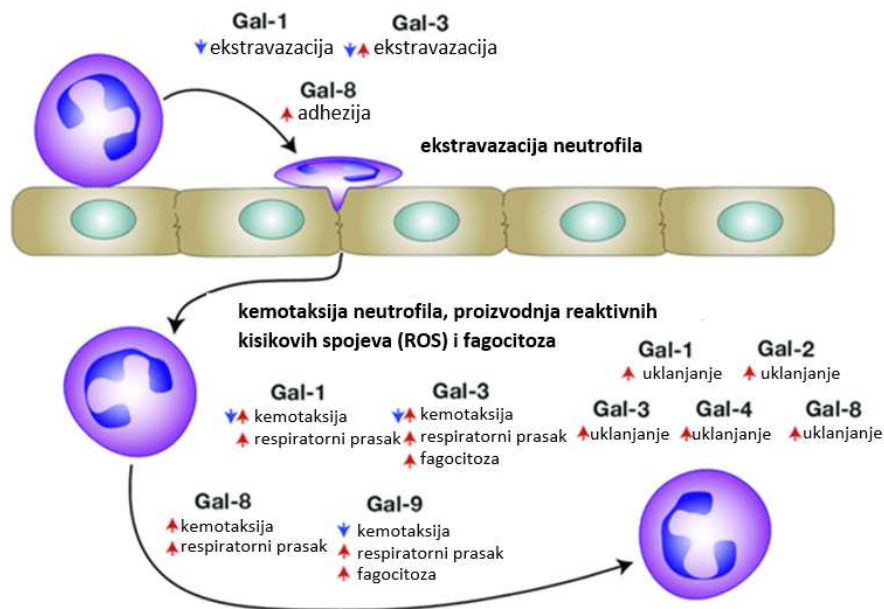
## 3.2. Funkcije galektina u imunološkom odgovoru urođene imunosti

### 3.2.1. Funkcije Gal-1, Gal-3, Gal-4 i Gal-9 u neutrofilima

Uz makrofage, mastocite, bazofile, eozinofile te NK stanice, *neutrofili* sačinjavaju stanice prirođene imunosti koja predstavlja prvu liniju obrane organizma od infekcija i generalno mikroorganizama.

Između navedenog, u sastavu neutrofila pronađeni su i Gal-1 i 3 čija ekspresija uvelike definira njihove funkcije pa time i sam imunološki odgovor urođene imunosti. Novija eksperimentalna *in vitro* istraživanja utjecaja povišene ekspresije rekombinantnog Gal-1 u neutrofilima pokazala su negativnu korelaciju s njihovim funkcijama kemotaksije, adhezije i kotrljanja (slika 6) (75-78). Naime, istraživanja su pokazala da neutrofili s povišenom ekspresijom Gal-1 gube sposobnost kemotaksije, adhezije te kotrljanja po aktiviranim stanicama pojedinih slojeva epitela što je jedan od ključnih koraka u procesu poticanja odgovora urođene imunosti (79). Sukladno tome, *in vitro* istraživanja kod kojih se koristila siRNA koja je ometala sintezu Gal-1 u neutrofilima pokazala su da neutrofili bez aktivnosti navedenog Gal imaju povećanu aktivnost izlivanja u stanicama epitela kao i sposobnost adhezije te kemotaksije (76). Navedena istraživanja upućuju na bitnu ulogu Gal-1 u kontroli adhezije, kemotaksije te kotrljanja neutrofila te time u samom odgovoru urođene imunosti. Međutim, osim navedenog protuupalnog učinka Gal-1, druga istraživanja pokazala su značaj interakcije Gal i neutrofila. Naime, tijekom interakcije, dolazi do izlaganja stanične površine neutrofila ostatcima fosfatidilserina (PS), koji sačinjavaju ligand za fagocitne stanice poput makrofaga. Time neutrofili postaju njihove ciljane stanice te je potaknuto njihovo uklanjanje sa samog mjesta infekcije što upućuje na odvijanje protuupalnog procesa neovisnog o apoptozi (77). Daljnja istraživanja ovog fenomena pokazala su reverzibilnost, uvjetovan potrebnom mobilizacijom

kalcijevog iona te interakcije površine stanice s kompleksnim *N*-tipom glikana za povratak u prvotno stanje (78, 80). Osim navedenih protuupalnih učinaka Gal-1 na neutrofile, otkriven je i onaj proupalan; dokazano je da Gal-1 može aktivirati nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidazu čime se pospješuje oslobađanje superoksidnih spojeva iz neutrofila i time inducira njihovo proupalno djelovanje (81). Nadalje, u stanicama neutrofila, uz Gal-1, proupalna svojstva ima i Gal-3 (82). Istraživanjima je dokazano da ekspresija Gal-3 u naivnih neutrofila inducira lučenje L-selektina i potiče njihovu adheziju na izvanstanični protein laminin te, općenito, utječe na prianjanje na endotelne stanice (83). Osim navedenog, istraživanja su pokazala da Gal-3 u naivnih neutrofila potiče lučenje interleukina 8 (IL-8), glikoproteina odgovornog za stimulaciju proliferacije aktiviranih B- i T-stanica te diferenciju B-stanica u plazma stanice (79, 82). Zbog povezanosti s lučenjem IL-8, a koji je ključan za formaciju potpunog i uspješnog odgovora stečene imunosti, ekspresija Gal-3 u neutrofilima izravno je povezana sa odgovorom urođene imunosti već i onog stečene imunosti. Daljnjim istraživanjima *in vitro* pronađeno je da se Gal-3 u neutrofilima, nakon stimulacije njihove aktivacije, razgrađuje i inaktivira elastazom. Elastaza je odgovorna za razgradnju malih hidrofobnih aminokiselina poput glicina, alanina i valina, a koje nalazimo većinom u strukturi Gal i elastina (79, 82). Funkcije Gal-8 u neutrofilima su slične onima Gal-3 u adheziji neutrofila; Gal-8 veže se za M-integrin na neutrofile čime doprinosi jačanje sposobnosti njihove adhezije i sinteze superoksida pa se time potiče proupalno stanje u organizmu. Navedena funkcija Gal-8 u neutrofilima utvrđena je istraživanjem *in vitro* primjenom rekombinantnog Gal-8 proteina na stanicama miševa (84). Od preostalih galektina čija ekspresija korelira sa funkcijama neutrofila, važno je spomenuti i Gal-4 čija aktivnost uzrokuje interakciju neutrofila sa PS, a koji je ligand za fagocitne stanice. Zbog toga su neutrofili mete fagocita te se Gal-4 povezuje s protuupalnim djelovanjem te doprinosi uklanjanju neutrofila neovisno o apoptozi (77).



**Slika 6.** Galektini reguliraju širok raspon imunološke aktivnosti neutrofila. Različiti članovi obitelji galektina utječu na različite faze biologije neutrofila, u rasponu od ekstravazacije, aktivacije i kemotaksije do njihovog konačnog prometa. Zabilježeno je da neki galektini imaju suprotne učinke na aktivnost neutrofila što se odražava na razvoj različitih vrste upala. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (85)

### 3.2.2. Funkcije Gal-1, Gal-3, Gal-8 i Gal-9 u monocita / makrofaga

Makrofagi odnosno aktivirani monociti svrstavaju se u fagocitne stanice čija je primarna funkcija fagocitoza/ingestija mikroorganizama. Osim makrofaga, od stanica imunološkog sustava fagocitima se pribrajaju i neutrofili, eozinofili i dendritičke stanice, međutim, one nemaju primarnu funkciju kao makrofagi. Uloga makrofaga u odgovoru urođene i stečene imunosti je popraćena lučenjem mnogih citokina i kemokina koji uzrokuju daljnju aktivaciju ostalih stanica imunološkog sustava te ostvarivanje cjelovitog imunološkog odgovora (79). Aktivirani makrofagi, podrijetlom od aktiviranih monocita ili pak prekursora koji su u embrionalno doba naselili tkiva, luče IL-1 $\beta$  i IL-6 (odgovorne za aktivaciju limfocita), IL-12 (odgovornog za aktivaciju NK

stanica i diferencijaciju CD4 T-stanica u Th1 staničnu liniju), TNF- $\alpha$  (potiče aktivaciju endotela, povećava permeabilnost te olakšava njegov pristup komplementu, protutijelima i stanicama urođene imunosti) te CXCL8 (kemokin odgovoran za regrutaciju bazofila, neutrofila i T-stanica na mjesto infekcije) (79). Zbog navedenih važnih funkcija makrofaga, pravilno funkcioniranje ovih stanica izuzetno je važno za postizanje potpunog imunološkog odgovora kako sačinjavaju sam početak kaskade njegovog signalnog puta.

U sastavu makrofaga pronađeni su *Gal-1*, *Gal-3* i *Gal-9*, utvrđenih pro- i protuupalna svojstva, ovisno o tome pospješuju li ili pak inhibiraju funkcije makrofaga. Istraživanjima ekspresije *Gal-1* u makrofaga *in vitro* dokazan je protuupalni učinak. *Gal-1* inhibira otpuštanje arahidonske kiseline, blokira sintezu dušikovog oksida te povećava aktivnost enzima arginaze čime se postiže aktivacija makrofaga alternativnim putem. Zbog promjene puta aktivacije dolazi i do promjena u lučenja citokina (86, 87). Naime, IL-13 zaslužan je za aktivaciju i regrutaciju eozinofila, lučenje mukoze i hipersenzibilnosti dišnih puteva, dok funkcijama IL-4 pripada i ona stimulacije sinteze IgE, čija sekrecija utječe na alergijske reakciju (79). Na temelju otkrivenih mogućnosti modifikacije puta aktivacije makrofaga *Gal-3*, uočeno je daje aktivnost *Gal-3* pretežito protuupalna te se povezuje jedino s imunološkim odgovorom na alergene zbog pospješivanja M2 tipa aktivacije makrofaga (88). Osim toga, istraživanja *in vitro* *Gal-1* u makrofaga pokazala su da uzrokuje i inhibiciju IFN- $\gamma$  induciranim FC- $\gamma$ RI tipa fagocitoze i lučenja IL-12 od strane makrofaga, kao i smanjenu aktivnost ukupnog MHC-II kompleksa čime upućuje na protuupalno djelovanje (89, 90). Funkcije *Gal-3* u makrofaga upućuju na posredovanje signalnog puta alternativnim načina aktivacije makrofaga te sintezu kemokina (91, 92). Ekspresija izvanstaničnog *Gal-3* u makrofaga potvrđuje indukciju sinteze superoksidnog aniona u monocita prisutnih u perifernoj krvi, a koja uzrokuje njihovu kemotaksiju i time dodatnu regrutaciju čime se pospješuje sam imunološki odgovor. Nadalje, *Gal-3* doprinosi klirensu makrofaga od apoptotskih neutrofila (93-95).

Istraživanjem imunološkog odgovora induciranim lipopolisaharidima utvrđeno je da dolazi do povećane proizvodnje upalnih citokina IL-6, IL-12 te TNF- $\alpha$ , a čija je lučenje smanjeno kod eksprimiranog Gal-3 u makrofaga zbog usmjeravanja puta aktivacije onom alternativnom (73). Istraživanja *in vitro* utjecaja Gal-9 na stanične funkcije makrofaga utvrđeno je njegova sposobnost aktivacije transkripcije IL-6 te aktivacijskog proteina 1 koji su zadužni za indukciju transkripcije IL-1 i IFN-1. Na temelju endogene aktivnosti Gal-9, navedeno je zaključeno da dolazi do križanja signalnih puteva Gal-9 sa IL-1 i IFN-1 čime se ostvaruje transaktivacija gena za upalne citokine u monocitima (96). Ovo je ujedno prvi dokazan primjer endogene funkcije Gal-9 u imunološkom odgovoru organizma (96).

### **3.2.3. Funkcije Gal-1, Gal-3 i Gal-9 u dendritičkim stanicama**

Dendritičke stanice imunološke su stanice čija je glavna funkcija prezentiranje antigena, prisutnih unutar organizma, T-limfocitima u obliku MHC I ili MHC II kompleksa čime dolazi do prepoznavanja stranih ili vlastitih antigena i potencijalnog poticanja imunološkog odgovora stečene imunosti. Zbog svoje funkcije nazivaju se imunopredočnim stanicama, a razlikujemo 2 vrste dendritičkih stanica; mijeloidne i plazmatoidne. Mijeloidna vrsta ovih stanica usko se povezuje s aktivacijom T-stanica kako je karakterizira lučenje IL-12 i ekspresija TLR-2 i TLR-4 receptora koji omogućuju uspješno prepoznavanje patogenih mikroorganizama, njihovo predočavanje stanicama stečene imunosti, kao i njihovu aktivaciju (79). Nadalje, plazmatoidna vrsta dendritičkih stanica se pak usko povezuje s aktivacijom staničnog odgovora na virusne infekcije zbog velike količine lučenja IFN- $\alpha$  te ekspresije TLR-7 i TLR-9, receptora specifičnih za jednolančanu RNK te DNK koje nalazimo poglavito u sastavu virusa, ali i ponekih bakterija (97).

Utjecaj ekspresije Gal-1, -3 i -9 na funkcije dendritičkih stanica veoma varira, od njihovog pojačanja do inhibitornog učinka. Istraživanjem funkcije Gal-1 *in*

*vivo* u dendritičkim stanicama, dokazana je pozitivna korelacija njegove ekspresije s pojačanom sposobnosti migracije stanice. S druge strane, u dendritičkim stanicama je utvrđen inhibicijski učinak Gal-3, specifično na lučenje IL-12 (98). Osim navedenog, otkriven je i utjecaj Gal-3 na migraciju dendritičkih stanica. Spomenuta istraživanja provedena su na stanicama slezene miševa na kojima je ekspresija Gal-3 inducirana rekombinantnim proteinom, dok ista nije bila ostvarena kod divljeg tipa stanica (99). Istraživanjem dendritičkih stanica sazrelih stimulacijom Gal-9 utvrđeno je normalno izlučivanje IL-12 i selektivno IL-10 u još neutvrđenim uvjetima uspješnosti. Osim navedenog, utvrđeno je da laktoza ima blagi inhibicijski učinak na ekspresiju spomenutog Gal-9 u dendritičkim stanicama (100).

#### **3.2.4. Funkcije Gal-1 i Gal-3 u mastocitima**

Mastociti pripadaju stanicama prirođene imunosti čije se funkcije iskazuju u prvoj liniji obrane organizma od patogena i alergijskim reakcijama uzrokovanih alergenima, a ostvaruju degranulacijom granula ispunjenih histaminom te lipidnim medijatorima prostaglandinom i leukotrienom. Osim navedenih tvari, mastociti luče i proupalne citokine IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 te TNF- $\alpha$ . U stanju upale izazvane fosfolipazom A2, Gal-1 inhibicijski utječe na funkcije mastocita (86). Suprotno tome, Gal-3 potiče oslobađanje medijatora iz mastocita i povećava proliferaciju IgE senzibiliziranih mastocita (88, 101). Utvrđena je, također, sposobnost vezanja protutijela Gal-3 na IgE čime se objašnjava korelacija njegove ekspresije sa funkcijama mastocita, ali i sposobnost mastocita da vežu IgE. Pretpostavlja se da Gal-3 stimulira aktivnost mastocita interakcijom sa superoksid dismutazom (SOD) čime se izaziva oslobađanje superoksid aniona ( $O_2^-$ ) (102).

### 3.2.5. Funkcije Gal-3 i Gal-9 u eozinofilima

Eozinofili (kao i mastociti) pripadaju stanicama urođene imunosti te sudjeluju u alergijskim i upalnim procesima uzrokovanih parazitima i bakterijama. Funkcije eozinofila se uglavnom svode na lučenje citokina IL-3, IL-5 GM-CSF, kemokina CCL-3 i CCL-5 te enzima histaminaze i fosfolipaza B i D. Oni zajednički omogućuju migraciju ostalih imunoloških stanica na mjesto upale i alergijske reakcije. Gal-3 i 9 su pronađeni u izvan- i unutarstaničnom prostoru ovih stanica čija ekspresija pozitivno korelira sa aktivnosti njihovih imunoloških funkcija (103-105). Naime, dokazano je da izvanstanični Gal-3 posreduje aktivaciji IgE eozinofila poticanjem njihovog kotrljanja i čvrste adhezije te da inhibira sintezu IL-5 odgovornog za njihovu kemotaksiju (106). U osoba s izraženim alergijskim reakcijama, pronađena je povišena ekspresija Gal-3, dok prisutnost Gal-9 djeluje kao snažan kemoatraktant, u zdravih ispitanika potiče apoptozu (107).

### 3.2.6. Funkcije Gal-1 i Gal-3 u efektorskim i regulatornim T-stanicama i B-stanicama

Efektorske i regulatorne *T-stanice* svrstavaju se u stanice *stečene imunosti*, a pripadaju CD4 staničnoj liniji. Uz njih, stečenu imunost sačinjavaju i citotoksične *T-stanice* CD8 stanične linije te *B-stanice* (plazma, memorijske, naivne i aktivirane B-stanice). Općenito, odgovor stečene imunosti postiže se interakcijom stanica prirodene i stečene imunosti. Funkcije makrofaga i dendritičkih stanica su ključne za aktivaciju B i T-stanica. Efektorskim T-stanicama pripadaju Th1, Th2, Th17 te pomoćne Thf stanice, od kojih je svaka nositeljica određene funkcije u imunološkom odgovoru organizma. Th1 stanice su značajne za M1 aktivaciju makrofaga klasičnim putem, dok Th2 stanice aktiviraju mastocite i eozinofile te makrofage alternativnim M2 putem. Zbog očigledne povezanosti *urođene i stečene imunosti*, u posljednje se vrijeme

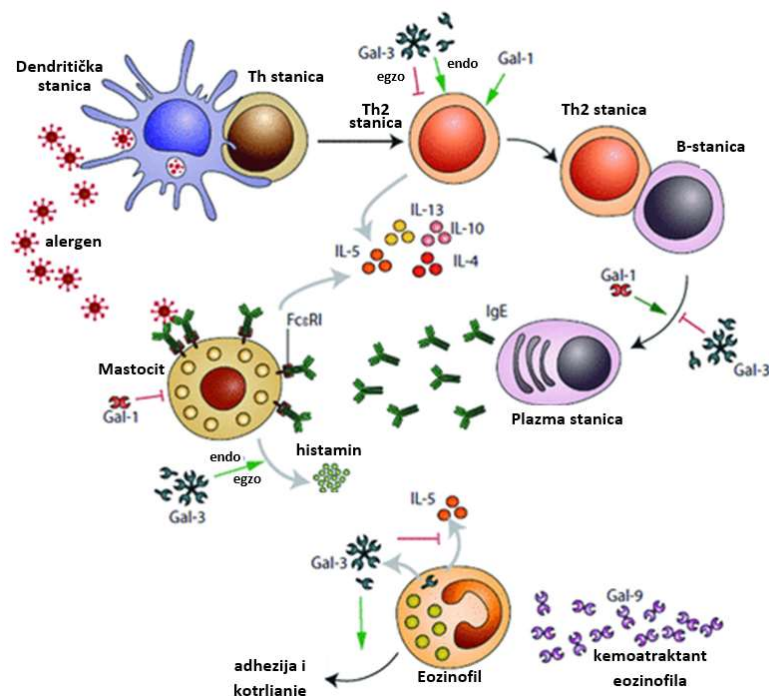
velika pozornost pridaje Gal u postizanju imunološkog odgovora. Znanstvenim istraživanjima utvrđena je prisutnost Gal-1 i 3 u efektorskim i regulatornim T stanicama te njihov utjecaj na njihove stanične funkcije. Pronađena je šira funkcionalnost Gal-1 u stanica *stečene imunosti* od one u stanica urođene imunosti. Eksprimirani Gal-1 negativno utječe na ranu signalizaciju T-stanica, modulira raspon T-stanica i njihovu pozitivnu ili negativnu selekciju izazivajući brze i prolazne aktivacije kinaza reguliranih izvanstaničnim signalom te izaziva slabljenje Th1 i Th17 posredovanog imunološkog odgovora (zbog pomaka ravnoteže prema polariziranom citokinu koga luče Th2 stanice). Nadalje, istraživanja provedena *in vitro* su pokazala da Gal-1 uzrokuje smanjeno lučenje citokina IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  i IL-2, pojačano IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13 te općenito ometa promet T-stanica blokirajući adheziju T-stanica na izvanstanični matriks i njihovu transendotelnu migraciju (108-113). Također, posreduje u umrežavanju specifičnih glikokonjugata te stvaranju mreže polisaharida na površini T-stanica te tako regulira njihovu održivost (110, 113-116). Stoga, stanična smrt T-stanica može nastupiti kao posljedica aktivnosti eksprimiranog Gal-1 na njezinoj površini zbog aktivnosti glikoziltransferaza koje stvaraju ili maskiraju specifične glikane na površini i moguće posredne aktivacije pojedinih unutarstaničnih puteva (BCL-2, AP-1, transkripcijskih faktora..) uključenih u apoptozu (42, 86, 116-121). Daljnjim istraživanjem utjecaja aktivnosti pojedinih nuklearnih enzima Gal-1 u T-stanicama, otkriveno je da povećana aktivnost  $\alpha$ 2,6-sijalil transferaze u Th2 stanica te općenito, naivnih T-stanica, može omogućiti stanici otpornost na interferencije Gal-1 sa njenim staničnim funkcijama (117). Sukladno tomu, uočena je otpornost Th2 stanica na apoptotično djelovanje Gal-1 (108). Gal-3 se pokazao efikasnijim u poticanju apoptoze T-stanica (122, 123). To se može objasniti razlikama u strukturi Gal-1 i Gal-3 (Gal-1 je dimer, a Gal-3 pentamer). Gal-3 je u nekim T-staničnim linijama, poput MOLT-4 stanica, pokrenuo izlaganje fosfatidilserinu (PS), bitnim događajem za proces apoptoze (108). Gal-3 je selektivno potaknuo apoptozu u mišjih timocita s većom smrtnošću CD4<sup>-</sup> i CD8<sup>-</sup> timocita,



a manju u CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup>, dok je u slučaju Gal-1, smrtnost bila jednaka za oba tipa T-stanica (122). Iz toga slijedi da Gal-3 izaziva apoptozu Th1 i Th2 stanica dok Gal-1 djeluje selektivno na Th1 stanice (117). Ekspimirani Gal-4 u T-stanicama CD4<sup>+</sup> potiče proizvodnju IL-6 te doprinosi razvoju upalnih bolesti crijeva zbog indukcije apoptoze mukoznih T-stanica koje su većinski smještene upravo u području gastro-intestinalnog sustava (124, 125). Gal-8 u T-stanicama pokazuje sličan učinak na apoptozu kao Gal-3 i Gal-1. Gal-8 to postiže aktivacijom signalnog puta fosfolipaze-D/fosfatidne kiseline koji potom aktivira ERK1/2 i tipa 4 fosfodiesteraze, odnosno, putem Fas liganda (126, 127). Isto djelovanje Gal-8 i Gal-9 je uočeno je na timocitima drugim biokemijskim putem - aktivacijom niza kaspaza (128). Gal-9 to postiže aktivacijom kaspaze-1 te interakcijom s molekulama specifičnim za površinu Th1 stanica koje sadrže domenu imunoglobulina i mucina zbog čega uzrokuje specifičnu apoptozu Th1 stanica, a ne i onu Th2 (129). Utjecaj ekspresije Gal-1, 3 i 9 uočen je i u T-regulatornim stanicama. Istraživanjem *in vitro* uočeno je drastično povećanje populacije CD4<sup>+</sup>CD25 Treg stanica s visokom ekspresijom gena FOXP3 te povećanu ekspresiju gena *Lgals1*, koji kodira za Gal-1, u svim Treg stanicama (130, 131). Osim navedenog, otkriveno je i da je gangliozid GM1 primarna meta ekspimiranog Gal-1 u Treg stanica zbog koje je prigušena autoimuna upala pa se ovdje nalazi mogućnost terapiju autoimunih bolesti poput artritisa (132, 133). Proteomičkom analizom je utvrđeno da, uz Gal-1, ljudske CD25<sup>hi</sup> Treg stanice sadrže i unutarstanični Gal-10 koji je neophodan za supresivnu funkciju Treg stanica (134).

Osim toga, pronađena je prisutnost Gal-1 u B stanica, odgovornih za proces razvoja, diferencijacije i opstanka B-stanica (90, 135-139). Naime, Gal-1 u B-stanicama koštane srži doprinosi razvoju imunološke sinapse između preB-stanica i stromalnih stanica vezanjem integrina  $\alpha_4\beta_1$ ,  $\alpha_5\beta_1$  i  $\alpha_4\beta_7$  koji su ključni za adheziju B-stanica i ciljane stanice (135, 136). Nedavna istraživanja pokazala su također kako ekspresija Gal-1 u B-stanica olakšava apoptozu memorijskih B-stanica čime pogoduje nastanku plazma B-stanica. Važno je

spomenuti da eksprimirani Gal-3 usmjerava diferencijaciju B- stanica u memorijske stanice zbog doprinosa smanjenju regulacije transkripcijskog faktora Blimp-1 putem IL-4 (koji usmjerava diferencijaciju B-stanica u one memorijske) (138, 139, 140) (slika 7).



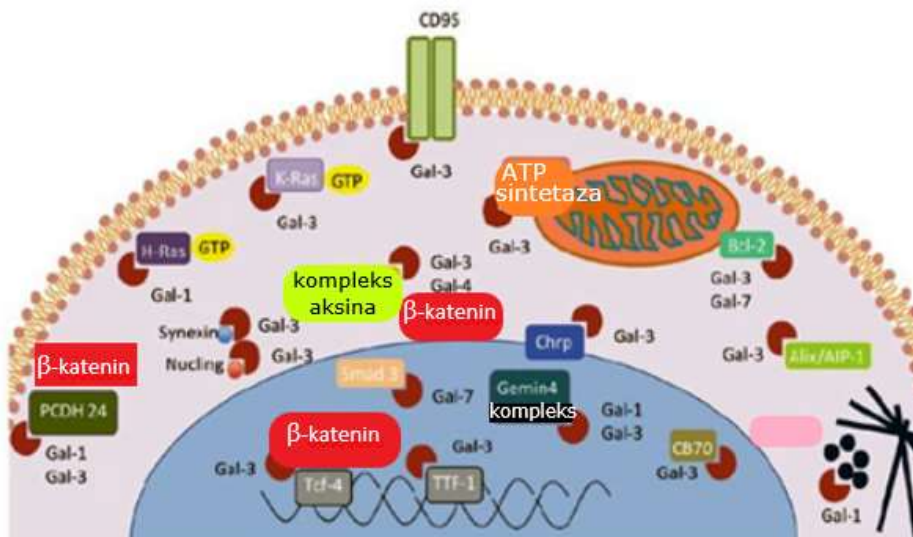
**Slika 7.** Prikaz signalizacije imunoloških stanica posredovane galektinima. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (73)

### 3.3. Galektini i nezarazne bolesti

Od samog otkrića Gal kao zasebne obitelji proteina s izraženim afinitetom vezanja  $\beta$ -galaktozida, osim utvrđene njihove funkcije i povezanosti s razvojem infekcija te zaraznim bolestima, primijećena je njihova funkcija u razvoju nezaraznih multifaktorskih bolesti kao što su *ateroskleroza, astma, razni tipovi karcinoma i mnoge druge autoimune bolesti*.

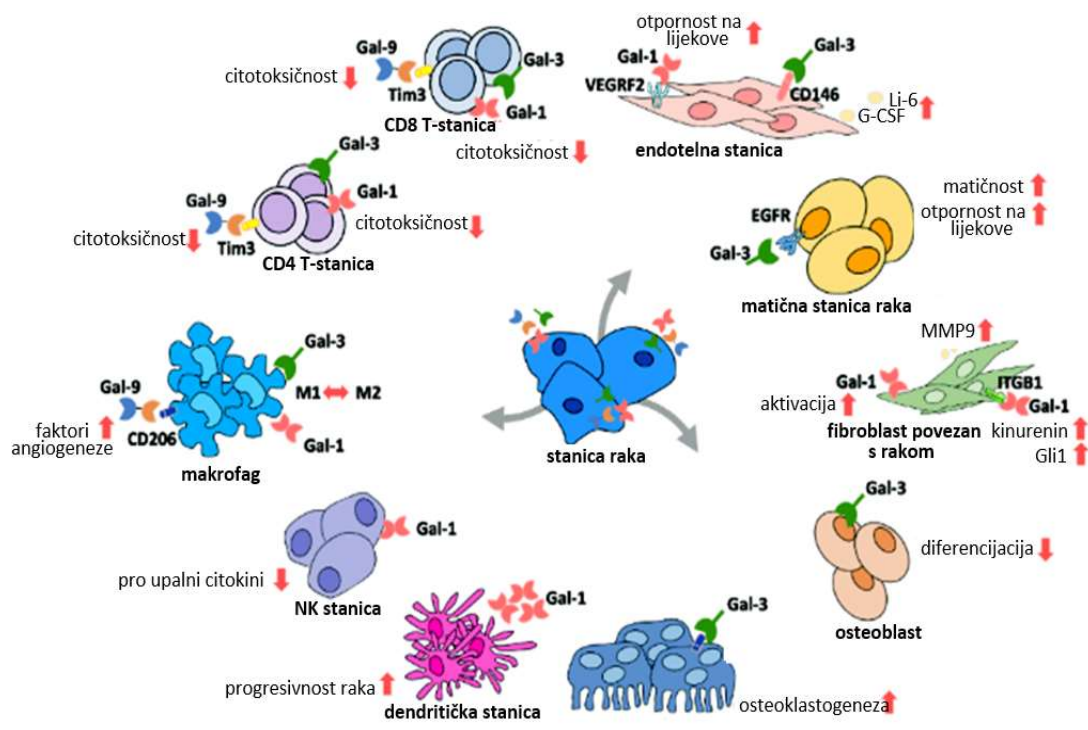
Karcinogeneza, te općenito, razvoj bilo koje autoimune bolesti veoma je složen proces koji ovisi o nizu čimbenika; *aktivnosti određenih gena, vanjskim i unutarnjim uvjetima stanice, tkivnom mikrokolišu, funkcionalnosti i ispravnosti staničnih mehanizama popravka i imunološkom sustavu organizma*. (slika 8)

Kako Gal nalazimo u gotovo svim stanicama organizma, pored njihove uloge u imunološkom odgovoru, posebna pozornost znanstvenih istraživanja je usmjerena proučavanju njihove specifične uloge *u razvoju bolesti raka*. U istraživanju funkcije Gal u onkološkim bolestima, svoju su ulogu dokazali Gal-1, 3, 4, 7, i 9, od kojih su najčešće istraživani Gal-1 i Gal-3 (27).



**Slika 8.** Intracelularni partneri kod vezanja različitih galektina. Galektini imaju brojne partnere za vezivanje s obzirom na njihovu unutarnju kompartmentalizaciju. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (141)

Spomenutim istraživanjima različitih Gal utvrđene su njihove uloge u specifičnim neoplazmama tumora (tablica 2) (27), a koje nastaju prekomjernim nekontroliranim dijeljenjem stanica, karakterističnim za određeni tip raka. Naime, treba odrediti specifičnu ekspresiju/supresiju određenog Gal u tumorskom tkivu, povezati s tipom raka, invazivnost te u Gal pronaći dijagnostičke pokazatelje razvoja i napretka bolesti te moguće terapijske mete.

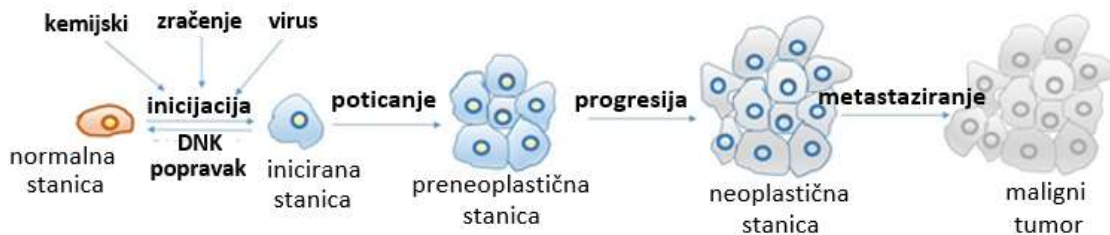


**Slika 9.** Obitelj galektina pridonosi reprogramiranju mikrookruženja tumora. Gal mogu djelovati kao glasnik za reprogramiranje povezivanja tumorskih stanica i drugih stanica u mikrookruženju. ↑, ↓ znači povećanje ili smanjenje. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik.

(1)

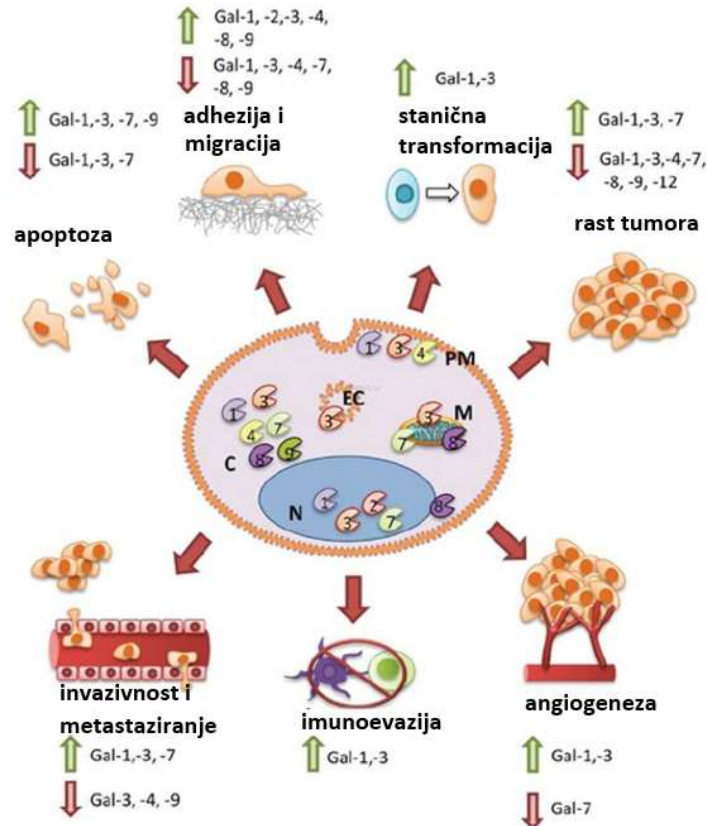
### 3.3.1. Uloga i povezanost Gal-1 s razvojem pojedinih oblika raka

Iz navedenih opisa funkcija i utjecaja prisutnosti Gal-1 na stanice imunološkog sustava jasno je kako ovaj Gal itekako ima značajnu ulogu u nastajanju infekcije, upali te razvoju bolesti (zarazne ili nezarazne), a posebice tijekom nastajanje tumora (raka) preobrazbom normalne tjelesne stanice u zloćudnu (karcinogeneze) (slika 9-11).



**Slika 10.** Višestupanjski proces uključen u karcinogenezu koji transformira normalnu stanicu u maligni tumor. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik. (142)

Zahvaljujući mnogobrojnim ispitivanjima pacijenata te istraživanjima *in vitro* stanica raka, do sada utvrđeno da se povećana ekspresija i aktivnost Gal-1 veoma usko povezuje sa sljedećim vrstama raka: *rak dojke, prostate, pluća, cerviksa, renalnih stanica i rakom bubrega, raznim oblicima raka mozga i gastro-intestinalnog raka*. Također je dokazano i razina ovog Gal omogućuje nastajanje odgovarajućeg mikrokoliša za razvoj karcinoma. Gal-1 se povezuje s ranim stupnjem melanoma i Kaposijevog sarkoma gdje je utvrđeno da potiče angiogenezu tumora te pruža sposobnost izbjegavanja citotoksičnog djelovanja efektorskih T-stanica prilikom odgovora imunološkog sustava na samu novonastalu neoplazmu. Naime, kako prethodno i opisano, Gal-1 svojim signalnim putevima ometa promet T-stanica, blokira njihovu adheziju na izvanstanične matrikse i njihovu transendotelnu migraciju (109, 143).



**Slika 11.** Pro- i anti-tumorske funkcije galektina u raku. Galektini se nalaze u citoplazmi (C), mitohondrijima (M), jezgri (N), endosomskim odjeljcima (EC) i unutarnjoj plazma membrani (PM). Oni su sposobni modulirati mnoge aspekte napredovanja tumora kao što su stanična adhezija i migracija, imunološki bijeg, stanična transformacija, apoptoza, angiogeneza, rast tumora, invazija i metastaze. Adaptirano s engleskog na hrvatski jezik.

(141)

Kako se može uočiti iz tablice 1 i 2, ekspresija gena LGALS1 (Gal-1) je pronađena u mnogim organima i tkivima i utječe na nastajanje i razvoj raka u spolnih, dišnih, probavnih i mokraćnih organa.

Istraživanje Gal-1 u raku dojke provedeno je na zdravim ispitanicama te pacijenticama u različitim fazama progresije tumora. Utvrđena je pozitivna korelacija Gal-1 u svim stanicama malignog tumora dojke (neovisno o progresiji) (144). U istraživanje *in vivo* na životinjskom modelu raka dojke (miševima), kojima je smanjena razina Gal-1 ili je potpuno uklonjen, utvrđeno je da smanjenjem ekspresije Gal-1 u tumoru dojke 4T miša rezultira značajnim

smanjenje rasta tumora i broja plućnih metastaza. Također, prigušenje ekspresije Gal-1 u 4T 1 stanicama smanjila je brojnost CD4+, CD25+, Foxp3+ T-stanica unutar limfnih čvorova tumora, slezene i metastaza na plućima (144).

U istraživanju Gal-1 u žena oboljelih od raka cerviksa, odnosno raka vrata maternice, utvrđena je pozitivna korelacija razine ekspresije Gal-1 s dubinom invazije tumora i opsegom metastaza u limfnim čvorovima sa napredovanjem raka. U istraživanjima *in vivo* na mišjem modelu raka vrata maternice provedena je inhibicija ekspresije njegovih gena u odsutnosti Gal-1 te je praćen daljnji razvoj raka. Otkriveno je da se u takvom tkivnom mikrookolišu stanice raka vrata maternice sporije dijele, proliferiraju te da opada invazivnost raka (145). Osim spomenutog, istražen je utjecaj kemoterapije radioaktivnim izotopima na Gal-1 (146, 147) te je utvrđeno da je Gal-1 odgovoran za radiorezistenciju u staničnim linijama raka, putem ovisnim o H-Ras proteinu odgovornim za regulaciju stanične diobe te je među ostalim tako uključen i u mehanizme popravka DNK. Autori zaključuju da je Gal-1 neovisni prognostički čimbenik u pacijenata s rakom vrata maternice I-II stadija koje su podvrgnute kemoterapiji zračenjem (148).

Osim u onkološkim bolestima ženskog reproduktivnog sustava, Gal-1 se se pokazao kao najviše ekspresirani Gal u tkivu raka prostate te se stoga povezuje i sa onkološkim bolestima muškog spolnog sustava. Istraživanjima *in vitro* na stanicama karcinoma prostate zabilježen je velik porast njegove ekspresije u skladu s napredovanjem raka te izravna korelacija ekspresije Gal-1 s angiogenezom raka. Smatra se da Gal-1 pospješuje angiogenezu, dok njegova odsutnost Gal-1 utječe na smanjenu vaskularizaciju i angiogenezu tumora te utječe na razvoj raka prostate (149). Prisutnost i povećana ekspresija Gal-1 povezuje se sa rakom. Mnoga istraživanja su provedena s ciljem otkrivanja uloge Gal-1 na njegovu patogenezu, agresivnost i liječenje. Kuo i sur. (148) su tako 2014. otkrili da je Gal-1 jedan od važnih čimbenika mikrookoliša ove vrste tumora. Stanice tumora luče Gal-1 koji je povezan s

dendritičkim stanicama koje se povezuju s tumorom (TADC) i proizvodnjom EGF-a (epidermalni faktor rasta), a što posljedično rezultira progresijom tumora (150). Nadalje, otkriveno je da interakcija Gal-1 sa integrinima  $\alpha\beta4$  i Notch1/Jagged2 ima važnu ulogu jer ovo vezanje proteina rezultira pojačanom invazijom i migracijom stanica raka pluća kao i rezistencijom na kemoterapiju (57). Isti su zabilježeni u mnogo manjim razinama u uvjetima kada je Gal-1 inhibiran (57). Carlini i sur. 2014. godine (151) su proveli istraživanje na stanicama raka 103 pacijenta oboljelih od raka pluća I-III stadija te su otkrili da je viša razina ekspresije Gal-1 direktno korelirala s lošijom prognozom pacijenata.

Ekspresija izvan- i unutarstaničnog Gal-1 utjecala je na razvoj raka debelog crijeva. Ona je ukazala na njegovu ulogu u pružanju otpornosti stanicama raka na radio- i kemoterapiju na način da omogućuje njihovu neometanu angiogenezu kao i na otpornost izbjegavanja imunološkog odgovora organizma supresijom funkcije imunoloških stanica (152).

Gotovo ista uloga Gal-1 utvrđena je i u stanicama tumora mozga i općenito živčanog sustava. Uočena je smanjena infiltracija mijeloidnih supresorskih stanica te smanjena proliferacija. Zaključak je da osobe koje boluju od raka mozga ostvaruju bolju prognozu i veće šanse za preživljavanje ukoliko se postigne stišavanje gena odgovornog za sintezu Gal-1 (153, 154).

Aktivnost Gal-1 otkrivena je i u stanicama tumora bubrega gdje je pronađeno da Gal-1 signalnim putem NF- $\kappa$ B regulira sintezu kemokinskog receptora CXCR4, čije tako izazvano odsustvo uzrokuje smanjen imunološki odgovor organizma na tumor (155). Daljnjim istraživanjem otkriveno je da Gal-1 omogućuje neometanu karcinogenezu tumora bubrega te da je njegov prekomjerni izražaj usko povezan sa ovom vrstom raka i brojem metastaza, odnosno, stadijem napredovanja. Suzbijanje njegove ekspresije u pacijenata rezultiralo je smanjenom klonogenom sposobnosti stanica raka, njegovog rasta i općenito aktivnosti stanica raka koje izazivaju angiogenezu. Aktivnost



Gal-1 u praćenju progresije i razvoja raka utvrđena je još i u slučajevima glioma i melanoma (156).

### **3.3.2. Uloga i povezanost Gal-3 s razvojem pojedinih oblika raka**

Kao i u ostalih Gal, već spomenuta uloga Gal-3 najviše dolazi do izražaja u stanicama imunološkog sustava gdje utječe na funkcionalnost neutrofila, mastocita, eozionofila te dendritičkih stanica i T-stanica stečene imunosti. Zbog prethodno opisanih mnogih razina interakcije Gal-3 sa stanicama imunološkog sustava te utjecaja njegove ekspresije na njihove funkcije, provedeno je niz znanstvenih istraživanja s ciljem otkrivanja moguće povezanosti razine njegove ekspresije s postojećim patološkim stanjima organizma. Tako je utvrđeno da se povećana ekspresija Gal-3 pojavljuje u pacijenata oboljelih od raka dojke, prostate, bubrega, gušterače, mozga i živčanog sustava te općenito, u onih oboljelih od raznih vrsta raka gastrointestinalnog trakta (tablica 2). U svakom od navedenih, Gal-3 utječe na mikrookoliš i na stanice raka (1). Od prethodno spomenute lokalizacije, najviše je eksprimiran u raka dojke, bubrega i renalnih stanica te onima živčanog sustava i tiroidnih i paratiroidnih žlijezda.

S obzirom na sve veći broj istraživanja koja dokumentiraju povećanu ekspresiju Gal-3 u onkoloških bolestima, raste broj istraživanja *in vitro* koja će objasniti njegovu funkciju u progresiji tumora i mogućnost inhibicije njegove sinteze. Istraživanjima je potvrđeno da je Gal-3 pokazatelj progresije tumora, ovisan je o tipu raka i meta onkoloških terapija. Stišavanjem gena odgovornih za sintezu Gal-3 smatra potencijalnim rješenjem kako utjecati na agresivnost raka. Simone i sur. (157) su istraživali Gal-3 u cilju tumačenja i dokazivanja uspješnosti u proces metastaziranja raka, prepoznavanja odgovarajućeg endotela za njegov razvoj u njegovom izbjegavanju imunološkog odgovora organizma citotoksičnim djelovanjem na CD8<sup>+</sup> stanica. S ciljem potpunog definiranja Gal-3 kao pokazatelja (biomarkera) za rak dojke, u istom

istraživanju obavljani su i testovi mikrofluidnosti i citofluorimetrički testovi stanica raka tijekom kojih se utvrđivala važnost prisutnosti Gal-3 u identifikaciji stanica raka dojke. Rezultati istraživanja su pokazali da su pronađene stanice raka dojke i u odsutnosti Gal-3 u njihovoj strukturi te da njihova prisutnost nije povezana s uspostavom dijagnoze ovom analitičkom metodom. S druge strane, testom mikrofluidnosti se povećava specifičnost ispitivanja. Nadalje, dokazano je da i zdrave stanice dojke luče Gal-3, ali da takav, u slobodnom obliku, nije u korelaciji s rakom dojke iako posreduje staničnim putovima okolnih stanica (157). Kod razvoja karcinoma dojke, zabilježeno je da dolazi do redukcije Gal-3 u slobodnom obliku i povećanja oblika vezanog na membranu stanica raka, a koji se smatra odgovornim za napredak bolesti. Prema tome, utvrđena je pozitivna korelacija između napredovanja stadija raka dojke (I-III) i ekspresije Gal vezanih na membranu stanica raka. S tim da se ekspresija Gal-3 povećala tijekom progresije raka. Ovim istraživanjem je utvrđeno da slobodni Gal-3 nije biomarker za stanice raka dojke, već onaj u vezanom obliku za membrane stanica raka dojke. Također je predložena mikrofluidna metoda kao najprikladnija metoda detekcije jer ona pokazuje visoku specifičnost za stanice raka dojke na čijoj membrani je vezani Gal-3 (157). Stoga se ova metoda predlaže određivanje kliničko-patoloških značajki ekspresije Gal-3 u oboljelih od raka dojke. Imunohistokemijski pregled stanica raka dojke pokazuje da je Gal-3 sastavni dio citoplazme i membrane te da je u stanicama raka dojke, općenito višestruko jače izražen u usporedbi s onima parakanceroznog tkiva (158). Nadalje, slično istraživanje provedeno je i od strane znanstvenika Zhang H., Lang X., Duan C., Liu C. i Zhao Z. 2014 godine (158). Od 1187 slučajeva raka dojke ispitivanih u ovom istraživanju, pokazalo se da njih 388 (32,7%) bilježi povišenu ekspresiju Gal-3, a koja varira ovisno o dobi pacijentica, veličini i stadiju raka, njegovim metastazama u limfnim čvorovima te histološkoj građi u pojedinaca (158). Osim spomenutog, ista skupina znanstvenika željela je utvrditi ima li ekspresija Gal-3, u ovom obliku raka, utjecaj na njegovo

liječenje kemoterapijom te općenito na njegovu kemosenzitivnost. U ovu svrhu, praćena je osjetljivost 135 slučajeva raka dojke, u kojih je utvrđena povećana ekspresija Gal-3, na neoadjuvant kemoterapije (158). Otkriveno je da su molekularna građa i ekspresija Gal-3 usko povezani s kemosenzitivnosti u pacijenata na terapiji (ovisno o ispitivanoj skupini,  $p=0,007$ ;  $p=0,012$  i  $p=0,031$ ) te da upravo razina ekspresije Gal-3 uvjetuje njenu uspješnost. Vrijednosti ekspresije Gal-3 su bile veće u tumora dojke (za 20%, 21,7%, 43,8% i 46,4%) što je rezultirao potpunim i djelomičnim odgovorom na kemoterapiju, stabilnim stanjem bolesti, odnosno, progresijom bolesti. Kako bi se pronašao efektivniji način lijećenja ove onkološke bolesti, ispitan je odgovor stanica raka na statinsku terapiju atorvastatinom (ATO) kada Gal-3 nije prisutan u njihovoj strukturi (159-161). Takve stanice raka dojke pokazale su drastično veću apoptozu, čak 20 puta više izraženiju nego u kontrolnoj skupini, a 2 puta veću u odnosu na stanice raka koje sadrže Gal-3 u svojim membranama. Ovo otkriće stoga sugerira da inhibicija Gal-3 u stanicama karcinoma dojke uzrokuje njihovu senzibilizaciju na atorvastatin čime se postiže apoptoza te se takva terapija za ovaj tip karcinoma čini veoma uspješnom. Ona se osim toga, u kliničkim ispitivanjima pokazala gotovo uvijek uspješnom (158, 162).

Osim u raku dojke, povišena ekspresija Gal-3 kao i utjecaj na progresiju raka zabilježen je u raku prostate, bubrega i renalnih stanica, stanicama debelog crijeva te u raznim oblicima koji zahvaćaju živčani sustav i kožu. U spomenutim vrstama raka, *Gal-3 smatra se biomarkerom onih u dojke, debelog crijeva i bubrega te općenito onih na području živčanog sustava i žlijezda s endokrinim izlučivanjem*. Zanimljivo je da se ekspresija Gal-3 u raku prostate, u odnosu na ostale vrste karcinoma, povezuje s njim tek pri njegovom povratku nakon kratkotrajnog izljećenja (68). Nadalje, za razliku od drugih vrsta raka, pronađena je supresija Gal-3 u raku prostate. Povećanje Gal-3 nastaje uslijed molekularnog cijepanja Gal-3 do kojeg dolazi s napretkom bolesti (163). Zbog ovakvog neobičnog otkrića, provedeno je

istraživanje o utjecaju Gal-3 na razvoj raka prostate, obzirom da nije utvrđen u stanicama raka prostate. Istraživanje inhibicije sinteze Gal-3 pomoću malih interferirajućih RNK (siRNK) u miševa pokazalo je smanjenje migracije i proliferacije stanica raka te njihove invazivnosti i sposobnosti stvaranja kolonija neovisnih o sidrenju (redukcijom rasta stanica raka prostate). Isto istraživanje, provedeno *in vitro* na ljudskim stanicama raka prostate pokazalo je da inhibicija Gal-3 dovodi do zaustavljanja staničnog ciklusa u G1 fazi, pojačane regulacije jezgre p21 i hipofosforilacije proteina tumor supresora retinoblastoma (pRb). Pritom, nije utvrđen učinak na cikline D1 i E, kinaze ovisne o ciklinu (CDK2 i CDK4) i na razine ekspresije proteina p27 (27), dok je uspješnost i povezanost biokemijske reakcije cijepanja Gal-3 dokazana između metaloproteinaza (MMP)-2/-9 i angiogeneze, rasta i otpornosti na apoptozu u mišjim modelima raka dojke i prostate čime je moguće tumačenje funkcije Gal-3 utjecaj na razvoj raka (49, 168).

U stanicama raka želuca, aktivnosti Gal-3 se pokazala presudnom za njegov razvoj jer Gal-3 utječe na njihovu pokretljivost. Smatra se da se povećana pokretljivost postiže, najvjerojatnije, putem pojačane regulacije fascina-1, proteina odgovornog za vezanje aktina i time pokreće metastaziranje (164).

Kada riječ o onkološkim bolestima probavnog sustava, povećana ekspresija Gal-3 u raku debelog crijeva promiče migracije stanica i metastaza putem aktivacije određenih putova kinaza poput onog K-Ras-Raf-Erk1/2 (47). Isti biokemijski put interakcije Gal-3 sa stanicama raka želuca odnosi se i na one gušterače (Ras, ERK, AKT i Rel A putevi aktivacije kinaza), a koji rezultiraju također povećanjem migracije stanica raka (165).

Gal-3 je obilno izražen i u malignim gliomima, a mnoga istraživanja sugeriraju da se nalazi upravo i u ranim preneoplastičnim lezijama. Njegova ekspresija dokazana je u neoplastičnih astrocita i u mikroglijji malignog glioma. To navodi na činjenicu da dolazi do aktivacije Gal-3 u mikroglijama i makrofagima paralelno s progresijom bolesti (166). Ova aktivacija Gal-3 u navedenih stanica

objašnjava se neometanim razvojem tumora, s obzirom da Gal-3, općenito potiskuje upalno djelovanje ovih stanica.

Slična uloga Gal-3 u rastu i napredovanju tumora otkrivena je i u melanomu gdje se smatra da modulira ekspresiju jezgrinog čimbenika aktiviranih T stanica (*engl.* nuclear factor of activated T-cells, NFAT1) i ekspresiju autotaksina na transkripcijskoj razini čime potiče njihovu sintezu te utječe na stimuliranje angiogeneze te rast i metastaziranje tumora (167).

Prekomjeran izražaj Gal-3 zabilježen je u raka bubrežnih stanica gdje je pronađeno da ima zaštitnu ulogu stanica od apoptoze te pruža pojačanje ekspresije Bcl-2 i stabilizaciju mitohondrija u tretmanu ATO-om, koji se često koristi u kemoterapiji (168). Rezultat ovog istraživanja pokazuje da Gal-3 uzrokuje otpornost stanica raka bubrega na citotoksično liječenje ATO-om (168).

Valja napomenuti ulogu Gal-3 u raku endokrinog sustava. U tumorima hipofize specifično je izražen u laktotrofnim i kortikotrofnim stanicama gdje pospješuje proliferaciju stanica raka, dok je u tumorima štitnjače i paratireoidnih žlijezda eksprimiran samo u njihovim malignim stanicama (169, 170). Pronađeno je da su povišene razine Gal-3 i tireoidne peroksidaze specifično izražene u papilarnom raku štitnjače što omogućuje njihovo korištenje kao biomarkera te prognostičkih pokazatelja u pacijenata oboljelih od ovog tipa tumora. Funkcija Gal-3 u raku štitnjače jest poništavanje aktivnosti tumor supresorskog proteina kaveolina-1 (Cav-1). Zajedničkim djelovanjem Gal-3 i kaveolina-1 pospješuje se adhezija, migracija i progresija raka (171). Ekspresija Gal-3 u stanicama tumora nadbubrežne žlijezde nešto je drugačija nego u onima tumora štitnjače: biomarker je raka nadbubrežne žlijezde i ovisi o prisutnosti COX-2 ili nm23 (supresor metastaza). Naime, kada eksprimiran u kombinaciji s COX-2, Gal-3 se povezuje s malignim lezijama, dok njihova odsutnost, a prisutnost ekspresije jedino nm23, ukazuje na benigne tumorske lezije (172). Iz svega navedenog, jasno je da Gal-3 utječe na razvoj raznih oblika karcinoma. U gotovo svim navedenim tumorima, Gal-3 ima istu funkciju:

*pospješuje proliferaciju i migraciju stanica, omogućuje izbjegavanje apoptoze stanica tumora i utječe na imunološki odgovor.* Također, veoma su važna znanstvena istraživanja koja ukazuju na povezanost ekspresije Gal-3 u stanicama karcinoma na njihovu kemosenzitivnost kojom se može pratiti djelotvornost kemoterapije (kroz stišavanje ekspresije Gal-3 u stanicama karcinoma).

### **3.3.3. Uloga i povezanost Gal-4, 7 i 9 s razvojem pojedinih oblika raka**

Specifična ekspresija Gal-4, -7 i -9, za razliku od Gal-1 i -3, zasada još nije u potpunosti istražena u određenim vrstama raka. Poput ostalih pripadnika svoje obitelji, i Gal-4, -7 i -9 također svoju funkcionalnost najviše očituju ekspresijom u stanicama imunološkog sustava (u neutrofila, makrofaga, dendritičkih i T-stanica). Važnost ekspresije spomenutih Gal u određenim stanicama imunološkog sustava varira te se tako ona Gal-4 izdvaja većom ekspresijom od Gal-7 i -9 u neutrofila i T-stanica, dok ona Gal-9 dolazi do izražaja u stanicama makrofaga, monocita i dendritičkih stanica, a Gal-7 u održavanju homeostaze epitelnih stanica (73).

Spomenute biokemijske aktivnosti Gal-4, -7 i -9 na mnogim staničnim razinama smatraju se razlogom istraživanja u stanicama pojedinih vrsta raka. Gal-4, -7 i -9 povezuju se s rakom dojke, vrata maternice, pluća i probavnog trakta: rak debelog crijeva, gušterače i ezofagijalnog sfinktera (27). Uloga pojedinog Gal u svakom od njih je drugačija. Neki od njih potiču razvoj tumora dok drugi imaju supresivnu ulogu te čak uzrokuju smanjenje agresivnosti i invazivnosti raka. Gal-7 usko se povezuje s rakom dojke te se uz Gal-3, smatraju pokazateljima za uspostavu dijagnoze (173, 174). U istraživanjima na stanicama raka dojke *in vitro* je pronađena povećana ekspresija Gal-7 u agresivnim molekularnim podvrstama raka, posebice u onima s negativnim estrogenskim receptorima te staničnim linijama s bazalnim fenotipom (173).

Daljnja istraživanja dokazala su kako ekspresija Gal-7 uzrokuje povećanje metastatskog potencijala stanica raka dojke putem aktivnosti NF- $\kappa$ B, p53 signalnog puta (veže endogeni promotor za Gal-7 i potiče napredovanja raka) (173). Valja naglasiti da prekomjerna ekspresija Gal-7 potiče nastajanje metastaza, osobito onih u raka dojke visokog stupnja.

Za razliku od Gal-7, čija se prisutnost povezuje s *lošom prognozom* oboljelih od raka dojke, u 2005. godini objavljeno je da je Gal-9 *dobar prognostički pokazatelj* kako je otkriveno da ima antimetastatsko djelovanje na stanice raka te tako reducira njegovu invazivnost (175). Naime, iste godine provedeno je znanstveno istraživanje na miševima *in vivo* čiji je cilj bio ispitati ulogu ekspresije Gal-9 u stanicama raka dojke. Ekspresija Gal-9 je određena u tumorskom tkivu 84 pacijentica oboljelih od raka dojke. U 50% ispitanica pronađen Gal-9 u citoplazmi stanica zahvaćenih rakom, dok nije bio prisutan u ostalih 50% kao ni u 19 od 21 oboljelih s prisutnim udaljenim metastazama. Ovi rezultati prisutnosti ekspresije Gal-9 u oboljelih od raka dojke upućuju na činjenicu da je obrnuto povezan sa udaljenim metastazama raka dojke te da korelira s histopatološkim stupnjem raka, ali ne i sa kliničkim stadijem raka. Također, utvrđeno je i da se *Gal-9 može direktno povezati s dobrom prognozom za oboljele od raka dojke*. Kako je istraživanje pokazalo, pacijenti pozitivni na Gal-9 imaju 95% šanse za preživljavanje, dok su one negativne na Gal-9 iznosile tek 44% (175).

Iako se Gal-9 pokazao dobrim prognostičkim pokazateljem u raka dojke, dobar pokazatelj kod ovog oblika karcinoma, u raku vrata maternice se povezuje s lošom prognozom zbog veoma snažne indukcije diferencijacije stanica raka kao i onih s malignim potencijalom (138).

Osim toga, zbog izrazito jake ekspresije u raku skvamoznih stanica jednjaka Gal-7 određeno je kao biomarker ove vrste karcinoma. Nadalje, zanimljivo je da je u oboljelih od raka želuca, u stanicama zahvaćenim rakom, zabilježena značajno niska razina Gal-7 u usporedbi s onom u drugim oblicima raka, što upućuje na njegovu potencijalnu supresivnu ulogu u ovakvim neoplazmama,

a koju je potrebno još bolje proučiti (176-178). Od supresivnih uloga u razvoju raka, osim Gal-7 i Gal-9 treba istaknuti i onu Gal-4 u raku gušterače gdje većom ekspresijom na površini stanica zahvaćenih rakom djeluje kao adhezijska molekula i time sprječava njihovu migraciju na daljnja mjesta, odnosno metastaziranje raka (179).

### **3.3.4. Uloga i povezanost Gal-2 i Gal-8 s razvojem raka debelog crijeva**

Aktivnost Gal-2 i -8 najviše se odražava na stanicama makrofaga, monocita i T-stanica stečene imunosti i mogu modulirati njihove funkcije. Usko se povezuju s razvojem raka debelog crijeva, za koji je Gal-2 određen kao specifični biomarker. Znanstvenim istraživanjem utvrđena je slična funkcionalnost Gal-8 kao ona u Gal-3 i Gal-1.

Utjecaj ekspresije je najviše uočen u Gal-8 na T-staničnim linijama, dok je u Gal-2 najviše izražen u makrofagima (ili monocitima).

Istraživanja in vivo mišjem modelu prisutnosti/odsutnosti Gal-2 pokazala su da monociti stimulirani ljudskim Gal-2 imaju manju ekspresiju gena MMP-2 i -9, TGF- $\beta$ 1, VEGFA, PDGF-B i HGF, dok je u makrofaga zabilježena inhibicija pokretljivosti i pojačana ekspresija M1 proupalnih površinskih proteina i citokina (180). Zbog navedenih otkrića, danas je u potpunosti utvrđeno da ekspresija Gal-2 u makrofaga uzrokuje povećanje brojnosti M1 tipa i smanjenje M2 tipa u području kolateralnih arterija. Upravo ovaj utjecaj Gal-2 na aktivacijske puteve makrofaga, pruža novi potencijalni prilaz za poticanje rasta kolateralnih arterija u pacijenata koji su zbog genetskih predispozicija kardiovaskularno komprimirani (180). Smatra se kako su navedene uloge i interferencije Gal-2 i -8 sa staničnim putevima stanica u kojih dolazi do njihove ekspresije ujedno i razlozi zašto uz Gal-3 imaju specifične uloge u razvoju raka debelog crijeva. Dokazano je kako Gal-2 i -8 u kombinaciji s aktivnošću Gal-4



uzrokuju pojačanje metastaziranja stanica raka debelog crijeva. Zbog uplitanja biokemijskih puteva aktivnosti Gal-2 i -8 u stanične signale T-stanica i onih makrofaga, efektivnost ovih stanica drastično se smanjuje prilikom imunološkog odgovora na stanice raka te on postaje neefektivan. Gal-8 uzrokuje odvijanje apoptoze T-stanične linije, a Gal-2 izaziva aktivaciju M1 makrofaga sa smanjenim lučenjem proupalnih i povećanim lučenjem protuupalnih citokina. Ako se pritom još uzme u obzir i aktivnost Gal-4 u stanicama raka debelog crijeva, koja se odražava na stanicama neutrofila izloženih apoptozom, zbog miješanja Gal-4 u signalne putove stanice, a zahvaljujući ukupnom djelovanju, šanse za razvoj i metastaziranje raka u okolne stanice i tkiva bit će veće (181).

### **3.4. Utjecaj biokemijske aktivnosti galektina na efikasnost kemoterapija i radioterapija**

Istraživanje utjecaja kemoterapije i radioterapije na razinu pojedinačnih Gal ima veliki značaj zbog prognoze razvoja i izlječenja raka. Osim toga, njima se može pratiti djelotvornost terapije pacijenata.

Već je spomenut značaj Gal-3 u stanicama *raka mokraćnog, spolnog i endokrinog sustava* tijekom *tretmana sa ATO-om* kao i odgovarajućom kemoterapijom (27, 158).

Nadalje, otkriveno je i da prekomjerna ekspresija Gal-3 u ljudskim stanicama *raka prostate* inhibira apoptozu induciranu *cisplatinom ili etopozidim* koji se također često primjenjuju kao lijekovi u kemoterapiji (182). Osim spomenutog, utvrđena je i otpornost stanica leukemije na lijek *vinokristin* koja je uzrokovana povećanom ekspresijom Gal-3 u stanicama raka (183). Ustanovljeno je da biokemijski mehanizam kojim Gal-3 postiže ovu funkciju u spomenutim stanicama raka proizlazi iz njegove lokalizacije u stanici

(citoplazma). Naime, za stanice *raka dojke i prostate* utvrđeno je da Gal-3 iz citoplazme štiti membranu mitohondrija od kemijski izazvanog oštećenja, sprječava oslobađanje citokroma c i inhibira aktivaciju kaspaze 3 i apoptoze. Ovi događaji su cilj tretiranja stanica raka *cisplatinom* (183). Zanimljivo je, da je Gal-3 jedini galektin koji sadrži NWGR motiv, a koji pripada obitelji gena Bcl-2 te je zaslužan za izbjegavanje staničnog procesa apoptoze. Naime, Gal-3 ima jedinstveni aspartat-triptofan-glicin-arginin (NWGR) motiv pogodan za otpornost na apoptozu, značajan za Bcl-2/Bax heterodimerizaciju i sprječava Bax oligomerizaciju (184, 185).

Nadalje, terapijski potencijal Gal-3 ustanovljen je i pri liječenju raka jajnika. Naime, Cai i sur., (186) su prilikom istraživanja djelotvornosti liječenja raka jajnika *paklitakselom* uočili značajnu korelaciju između razina Gal-3 u serumu oboljelih, sa rezistencijom na *paklitaksel* koja se zna pojaviti. Utvrđeno je da upravo egzogeni Gal-3 u stanica raka jajnika sudjeluje u signalizaciji TLR-4 receptora, a koja u kombinaciji s Calv-1 rezultira inhibicijom čime se u konačnici postiže rezistencija na *paklitaksel* (186). U skladu s time, u stanicama raka jajnika u kojih je pomoću siRNK Gal-3 bila izazvana inhibicija sinteze Gal-3 zabilježena je veća stopa apoptoze izazvane *paklitakselom* (187). Slično istraživanje proveli su i Lu i sur. 2016. godine (188), ali s ciljem utvrđivanja djelotvornosti *karboplatine* ovisno o Gal-3, eksprimiranim u stanicama raka jajnika. Zanimljivo je da je otkriveno kako inhibicija i ovog tipa Gal povećava osjetljivost stanica raka jajnika na *karboplatinu* čime je ustanovljena djelotvornost kemoterapije raka jajnika (188). Osim Gal-3, promjena ekspresije je utvrđena i kod Gal-1 u liječenju raka jajnika.

Zhang i suradnici (158) svojim su istraživanjem dokazali značajan utjecaj biokemijske aktivnosti Gal-1 na rezistenciju stanica A2780/CP EOC kod tretiranja *cisplatinom*. Otkriveno je da inhibicija ekspresije Gal-1 pomoću siRNA povećava osjetljivost stanica na *cisplatinu* te je u takvim stanicama zabilježena znatno uspješnija inhibicija njihovog rasta i inducirane apoptoze, u usporedbi s kontrolnom skupinom. Nadalje, Western Blot analizom stanica

transficiranih sa siRNK Gal-1, uočena je smanjena ekspresija H-Ras, p-Raf-1, p-ERK, p21 i Bcl-2 u stanicama raka u kojima je Gal-1 bio prekomjerno eksprimiran (146). Zbog ovog razloga se smatra kako praćenje inhibicije ekspresije Gal-1 u stanicama raka jajnika predstavlja veliki potencijal za povećanje efikasnosti terapije raka jajnika *cisplatinom*. Spoj koji se u istraživanju raka jajnika koristio za inhibiciju Gal-1 bio je *OTC008* (spoj kaliksarena), koji ujedno ima i antineoplastično djelovanje temeljeno na supresiji invazivnosti, angiogeneze i proliferaciji stanica raka jajnika (189). Utvrđeno je da *OTC008* ovakve funkcije postiže poticanjem aktivnosti inhibitora tirozin kinaze pomoću lijeka *sunitiniba* u stanicama raka jajnika (189). Inhibicija Gal-7 se pokazala korisnom u terapiji i liječenju raka vrata maternice. Paklitaksel je utjecao na smanjenje ekspresije Gal-7 (Zhu i sur., 20013). Ustanovljeno je da je Gal-7 utjecao na apoptozu zbog stimulacije signalnog puta kojim se ostvaruje povećana ekspresija MMP-9 i aktivacija PI3K. Osim ovoga, od velikog značaja bilo je i otkriće utjecaja ekspresije Gal-7 na osjetljivost kemoradioterapije primjenjivane za isti tip raka. Proteomskom i Western Blot analizom te pomoću tkivnih mikronizova s imunohistokemijskim bojanjem utvrđeno je da su pacijenti s povećanom ekspresijom Gal-7 osjetljiviji na spomenutu kemoradioterapiju (190). Stoga se Gal-7 može primijeniti za predviđanje efikasnosti kemoradioterapije.

## 4. METODE DETEKCIJE GALEKTINA

Zahvaljujući općenitom poznavanju prirode lektina te pravilnostima njihove specifičnosti za jednostavne šećere, i generalno biomolekule koje sadrže složene ugljikohidrate, otkrivene su i ustanovljene razne analitičke metode namijenjene ne samo njihovoj, već i detekciji galektina.

Od analitičkih metoda određivanja lektina/galektina, one s najširoom primjenom jesu *afinitetna kromatografija*, imunobloting (Western Blot), histokemijske i citokemijske metode određivanja, ELISA, analiza pomoću mikropolja i tehnologije biosenzora te analize pomoću mikroploča.

Osim spomenutih metoda za detekciju lektina/galektina, sami lektini se ujedno koriste i za detekciju stanica, mikroorganizama te izučavanje glikolizacije proteina i glikana općenito, kako su pojedini karakteristično prisutni u određenim staničnim dijelovima.

Metode odijeljivanja i analize se mogu razlikovati ovisno o uzorkovanju i uzorku za analizu, a koji najčešće može biti *biološka tekućina, izlučevina, stanice ili tkiva*. Osim toga, treba razlikovati uzorkovanje za *in vivo* i *in vitro* analizu. Kod analize Gal u ljudi, pogotovo u velikim studijama, poželjno je uzorkovanje neinvazivnim metodama (urin, serum) (191). Osim toga, u biološkim tekućinama (primjerice, u serumu) je najjednostavnije i najbrže je kvalitativno i kvantitativno određivanje Gal.

Ovisno o masi tkiva za analizu, tkiva se mogu pripremiti različitim metodama koje imaju za cilj liziranje stanice i ekstrakciju proteina. To se može učiniti mehanički, enzimski, zamrzavanjem u tekućem N<sub>2</sub>, pomoću detergenata u puferskim otopinama, ultrazvukom, itd. Homogenat tkiva, koji sadrži topljive proteine direktno je spreman za analizu Gal, najčešće elektroforetskim metodama (imunoblot), ELISA i specifični enzimski testovi. Ovisno o interesu, ponekad se provodi frakcionacija i pročišćavanje brojnim kromatografskim metodama.

Tkivni rezovi se mogu izdvojiti iz zamrznutog tkiva (192) i parafinski uklopljenih tkiva i analizirati histokemijskim metodama.

U većini do sada objavljenih eksperimentalnih istraživanja funkcija i detekcije Gal u stanicama karcinoma, ELISA, Western Blot, imunokemijska i imunofluorescentna mikroskopija su najčešće primjenjivane metode. U nastavku ću navesti neke od brojnih publiciranih metoda određivanja Gal. Primjerice, Western Blot analizom uspješno je obavljeno niz studija kojima je utvrđeno antiapoptotsko djelovanje Gal-3 u stanicama zahvaćenim limfoblastičnom leukemijom i rakom gušterače (193), dok je prekomjerna ekspresija Gal-3 (kvalitativno i kvantitativno) u lizatu *E. Coli* dokazana primjenom biotinizirane poliakrilamidne sonde koja sadrži LacNAc te je potom primjenjen RT-PCR-a. Nadalje, zahvaljujući ELISA analizi otkrivena je korelacija između razine Gal-3 i određenih vrsta karcinoma te se primjena ove metode analiziranja razine Gal pokazala općenito vrlo pouzdanom zbog svoje primjenjivosti i pri veoma niskim koncentracijama ciljanog analita (193). Međutim, unatoč uspješnosti analitičkih metoda ELISA i Western Blot, identifikacija i otkrivanje galektina u različitim tkivima i dalje je izazov zbog njihovog mogućeg smještaja ne samo izvan već i unutar stanice ili pak njene jezgre. Iz tog razloga, ali i onog financijskog, kako su ELISA i Western Blot poprilično skupe metode analize, svakodnevno se radi na usavršavanju novih primjenjivih metoda za identifikaciju i kvantifikaciju galektina u različitim tkivima.

Od metoda koje se razvijaju, trenutno najveći potencijal za alternativu ELISA i Western blot analizi imaju kemijske i fotosonde povezane s proteomikom, poput prethodno spomenute biotinizirane poliakrilamidne sonde koja sadrži LacNAc, te molekularni imaging (MI), a koje su još u procesu usavršavanja s ciljem postizanja što veće primjenjivosti upravo za analizu Gal. Od spomenutih metoda, najviše potencijala zapravo predstavlja molekularni imaging (MI) kako je riječ o neinvazivnoj metodi koja se općenito na široko primjenjuje za proučavanje staničnih i molekularnih procesa u osnovnim kliničkim

istraživanjima te medicini (194). Naime, u ovoj metodi pomoću luminiscentnih proteina i radionuklida ciljano se inducira njihovo vezanje za željenu molekulu, a koja interakcija potom omogućuje dobivanje njihove slike visoke rezolucije u stvarnom vremenu već u nekoliko minuta ili sati. Zbog samog mehanizma ove analitičke metode, jasno je kako je u potpunosti funkcionalna i za neinvazivno proučavanje galektina u stanici, s obzirom da su oni prije svega proteini s izraženim afinitetom za  $\beta$ -galaktozide, a koji se pritom mogu označiti s prethodno navedenim luminiscentnim proteinima i radionuklidima te tim načinom zatim i vizualizirati. Općenito, istraživanja temeljena na MI analitičkoj metodi do sada su omogućila već niz vizualizacija staničnih procesa i molekula kao i interakcija liganda sa ciljanom molekulom, unutar i izvan raznih tipova stanica. Osim toga, ciljano molekularno oslikavanje omogućuje neinvazivno i kvantitativno otkrivanje dinamičkih promjena u razinama galektina-1 *in vivo* u stvarnom vremenu; to uvodi mogućnost ranog otkrivanja rezistencije tumora na terapije (28).

Protutijela, lektini, mikrobni adhezini, virusni aglutinini i drugi proteini s modulima za vezanje ugljikohidrata, zajednički nazvani glikan-prepoznajućim probama (GPP), na široko se koriste u analizi glikana jer im njihove specifičnosti omogućuju razlikovanje različitih glikanskih struktura. Prirodna multivalentnost mnogih od ovih molekula potiče visoko afinitetno avidno vezanje na glikane i stanične površine koje sadrže te glikane. Ove GPP su novi alati kojima se mogu analizirati Gal (8).

Proteomička analiza primjenom masene spektrometrije omogućava pronalaženje istovremeno velikog broja proteina u uzorku. Primjenom proteomskog pristupa, Li i sur. (28) su pokazali mogućnost identifikacije dereguliranih proteina, funkcionalno povezanih s Gal-1, korištenjem *in vitro* modela raka mokraćnog mjehura.

## 5. ZAKLJUČAK

Otkrivanje i identifikacija tipova galektina kao zasebne obitelji proteina s izraženim afinitetom vezanja  $\beta$ -galaktozida započeta je još davne 1976. godine, a njihovo detaljno proučavanje funkcija i uloga u stanicama, posebice onih karcinoma, traje još dan danas. Zahvaljujući razvoju analitičkih metoda ELISA i Western Blot, ali i onih alternativnih poput MI, smještaj i funkcije gotovo svih 13 galektina, koliko ih ova obitelj proteina broji, uspješno su utvrđene u stanicama imunološkog sustava te omogućavaju novi pristup liječenju raznih bolesti, posebice onkoloških, u kojih je dokazana korelacija njihove progresije s ekspresijom određenih tipova galektina. Osim navedenog, utvrđeno je i da su pojedini tipovi galektina biomarkeri određenih oblika raka što je od velikog značaja za medicinu jer znatno olakšava uspostavu dijagnoze pacijenta ali i njegovu terapiju kako je otkriveno da utišavanje ekspresije određenih galektina u pojedinim tipova karcinoma smanjuje njegovu invazivnost i rast općenito. Glede prethodno spomenute korelacije ekspresije galektina sa razvojem nekih od vrsta karcinoma, od najvećeg značaja je ona otkrivena za gal-3 sa rakom dojke, bubrega i tumora živčanog i endokrinog sustava, gal-1 također s rakom dojke ali u većoj mjeri sa karcinomima prostate, vrata maternice i pluća te gal-2 i gal-8 sa onim debelog crijeva. Ovo znanstveno saznanje ne samo da je omogućilo lakšu uspostavu dijagnoza mnogim pacijentima, već i, zahvaljujući dodatnom istraživanju interakcije galektina sa staničnim signalnim putevima te ujedno i sa aktivnim tvarima mnogih kemoterapija onkoloških bolesti, bolji uvid u pristup liječenju kako je otkriveno da inhibicija istih može pospješiti efektivnost same terapije.

Na temelju trenutnih pretkliničkih modela vjerujemo da će upotreba inhibitora/modulatora galektina imati značajnu ulogu u liječenju raka u budućnosti. U tijeku su rane kliničke studije za procjenu korisnosti ovih obećavajućih sredstava kod pacijenata oboljelih od raka.

## 6. KRATICE

ATO	atorvastatin
CAV-1	kaveolin-1
CD-MPR	kationski ovisan manoza 6-fosfatni receptor
CI-MPR	kationski neovisan manoza 6-fosfatni receptor
CLEC5A	slezena tirozin kinaza (Syk)-spregnuti C-tip lektina
CRD	ugljikohidrat vezujuća domena
DC-SIGN i DC-SIGNR	C-tip lektin, pokazuju visok afinitet za ugljikohidrate s visokim udjelom manoze
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
EGF	epidermalni faktor rasta
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ERGIC-53	membranski lektin specifičan za manoza koji djeluje kao teretni receptor za transport glikoproteina iz endoplazmatskog retikuluma (ER) u ERGIC.
GAL	galektin
G-CSF	factor stimulacije kolonije granulocita
Gli-1	onkogen koji se povezuje s gliomom
HGF	hepatocitni factor rasta
IFN	interferon
IgE	imunoglobulin E
IL	interleukin
MBL	manoza-vezujući lektin
MMP-2	matrična metaloproteinaza 2
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid-fosfat
NES	jezgrin izlazni signal
NFAT-1	nuklearni faktor aktiviranih T-stanica



NF- $\kappa$ B	nuklearni faktor kappa B
NK	"natural killer" / prirodno ubilačke stanice
NLS	jezgrin lokalizacijski signal
NWGR	aspartat-triptofan-glicin-arginin motiv
PAMP	molekularni obrasci koji se povezuju s patogenima
PDGF-B	B podjedinica faktora rasta izdvojena iz stanica trombocita
PS	fosfatidilserin
RNK	ribonukleinska kiselina
RT-PCR	polimerazna lančana reakcija u stvarnom vremenu
siRNK	mala interferirajuća ribonukleinska kiselina
SP-A	surfaktant protein A
SP-D	surfaktant protein D
TADC	dendritička stanice povezane s tumorom
TGF	transformirajući factor rasta
TLR	Toll Like Receptor
VEGF-A	vaskularni endotelna factor rasta A

## 7. LITERATURA

- 1 Li C.-H. i sur. (2021), 'Galectins in Cancer and the Microenvironment: Functional Roles, Therapeutic Developments, and Perspectives', *Biomedicines*, 2021; 9(9):1159, DOI: [10.3390/biomedicines9091159](https://doi.org/10.3390/biomedicines9091159)
- 2 Drickamer K. (1998), 'Two distinct classes of carbohydrate-recognition domains in animal lectins', *J. BiolChem.* 1988 Jul 15;263(20):9557-60, DOI:[10.1016/S0021-9258\(19\)81549-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)81549-1)
- 3 Advedissian, T., Deshayes, F., & Viguier, M. (2017), 'Galectin-7 in epithelial homeostasis and carcinomas', 2017, *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), DOI: [10.3390/ijms18122760](https://doi.org/10.3390/ijms18122760)
- 4 Balan V., Nangia-Makker, P., Raz, A. (2010) 'Galectins as cancer biomarkers', *Cancers*, 2(2), pp. 592–610, DOI:[10.3390/cancers2020592](https://doi.org/10.3390/cancers2020592)
- 5 Schiacchitano, S. i sur. (2018), ' Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z', 2018, *International Journal of Molecular Sciences* 2018 Jan; 19(2):379, DOI: [10.3390/jims19020379](https://doi.org/10.3390/jims19020379)
- 6 Ideo H., Seko A., Yamashita K., (2007), 'Recognition mechanism of galectin-4 for cholesterol 3-sulfate', *The Journal of biological chemistry.* 2007; 282: 21081-9, DOI:[10.1074/jbc.M703770200](https://doi.org/10.1074/jbc.M703770200)
- 7 Ahmad N. i sur. (2004), ' Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes. *The Journal of biological chemistry*', 2004; 279: 10841-7, DOI: [10.1074/jbc.M312834200](https://doi.org/10.1074/jbc.M312834200)
- 8 Cummings R.D. i sur. (2022a), 'Galectins: An Ancient Family of Carbonhydrate Binding Proteins with Modern Functions', 2022, Part of the *Methods in Molecular Biology* bookseries, MIMB, volume 2442, DOI: [10.1007/978-1-0716-2055-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2055-7_1)
- 9 Chetry, M. i sur. (2018), 'The role of galectins in tumor progression, treatment and prognosis of gynecological cancers', *Journal of Cancer*, 9(24), pp. 4742–4755, DOI:[10.7150/jca.23628](https://doi.org/10.7150/jca.23628)
- 10 Magnaldo, T., Fowles, D., Darmon, M., (1998), 'Galectin-7, a marker of all types of stratified epithelia', *Differ. Res.Biol. Divers.* 1998, 63, 159–168, DOI: [10.1046/j.1432-0436.1998.6330159.x](https://doi.org/10.1046/j.1432-0436.1998.6330159.x).
- 11 Rabinovich G.A. i sur. (2002), 'Galectins and their ligands: amplifiers, silencers or tuners of the inflammatory response?', *Trends in immunology.* 2002; 23: 313-20, DOI: [10.1016/s1471-4906\(02\)02232-9](https://doi.org/10.1016/s1471-4906(02)02232-9).
- 12 Yasinska I. M. i sur. (2019), 'The Tim-3-Galectin-9 Pathway and Its Regulatory Mechanisms in Human Breast Cancer', 2019, *Frontiers in Immunology*, 2019;10(July):1-13, DOI: [10.3389/fimmu.2019.0159](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.0159)
- 13 Shimada C. i sur. (2020), 'Galectins and ovarian cancer', 2020, *Cancers (Basel)*, 2020;12(6):1-28, DOI:[10.3390/cancers12061421](https://doi.org/10.3390/cancers12061421)

- 14 Lotan, R. i sur. (1994), 'Expression of a 31-kDa lactoside-binding lectin in normal human gastric mucosa and in primary and metastatic gastric carcinomas', *Int. J. Cancer*, 1994, 56, 474–480, DOI: [10.1002/ijc.2910560404](https://doi.org/10.1002/ijc.2910560404)
- 15 Ahmed, H., & Alsadek, D. M. M. (2015), 'Galectin-3 as a potential target to prevent cancer metastasis', 2015, *Clinical Medicine Insights: Oncology*, 9, 113–121, DOI: [10.4137/CMO.S29462](https://doi.org/10.4137/CMO.S29462)
- 16 Biron-Pain, K. i sur. (2013), 'Expression and functions of galectin-7 in human and murine melanomas', *PLoS ONE* 2013, 8, e63307, DOI: [10.1371/journal.pone.0063307](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063307)
- 17 Grosset, A.-A. i sur. (2014), 'Cytosolic galectin-7 impairs p53 functions and induces chemoresistance in breast cancer cells', *BMC Cancer* 2014,14, 801, DOI: [10.1186/1471-2407-14-801](https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-801)
- 18 Chan Y.C. i sur. (2018), 'Dissecting the Structure-Activity Relationship of Galectin-Ligand Interactions', 2018, *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19(2), 392; DOI: [10.3390/ijms19020392](https://doi.org/10.3390/ijms19020392)
- 19 Lepur A. i sur. (2012), 'Ligand Induced Galectin-3 Protein Self-association', *J Biol Chem*, 2012 Jun 22;287(26): 21751-21756, DOI: [10.1074/jbc.C112.358002](https://doi.org/10.1074/jbc.C112.358002)
- 20 Rabinovich, G. A. i sur. (2007), 'An emerging role for galectins in tuning the immune response: lessons from experimental models of inflammatory disease, autoimmunity and cancer', *Scand. J. Immunol.* 2007, 66, 143–158, DOI: [10.1111/j.1365-3083.2007.01986.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2007.01986.x)
- 21 Barondes, S.H. i sur. (1994), 'Galectins: Structure and function of a large family of animal lectins', *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 20807–20810, DOI: [10.1016/S0021-9258\(17\)31891-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)31891-4)
- 22 Hirabayashi J. i Suzuki R. (2022), 'On the origin of galectin and galactose -Part 1-', Jun 01 2022, *Glycoforum* 2022 Vol.25 (3), A6, DOI: <https://doi.org/10.32285/glycoforum.25A6>
- 23 Ayona D. i sur. (2020), 'Utilization of Galectins by Pathogens for Infection', 2020, *Front. Immunol.*, 19 August 2020, Sec. Microbial Immunology, DOI: [10.3389./fimmu.2020.01877](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01877)
- 24 Cummings R. D. i sur. (2022b), 'Essentials of Glycobiology 4th Edition' ; Chapter 36, 2022, Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2022, ISBN-13: 978-1-621824-21-3, ISBN-10: 978-1-621824-22-0, DOI: [10.1101/9781621824213](https://doi.org/10.1101/9781621824213)
- 25 Sato S. i sur. (2009), 'Galectins in innate immunity: dual functions of host soluble beta-galactoside-binding lectins as damage-associated molecular pattern (DAMPs) and as receptors for pathogen-associated molecular patterns (PAMPS)', *Immunol Rev* 2009 Jul;230(1):172-87, DOI: [10.1111/j.1600-065X.2009.00790.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2009.00790.x).
- 26 Di Lella S. i sur. (2011), 'When galectins recognize glycans: from biochemistry to physiology and back again', *Biochemistry.* 2011; 50: 7842-57, DOI: [10.1021/bi201121m](https://doi.org/10.1021/bi201121m)
- 27 Ebrahim A. i sur. (2014), 'Galectins in cancer: carcinogenesis, diagnosis and therapy', 2014, *Ann Transl Med* 2014;2(9):88, DOI: [10.3978/j.issn.2305-5839.2014.09.12](https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2014.09.12)
- 28 Li, C.-F. i sur. (2018), 'Proteomic identification of the galectin-1-involved molecular pathways in urinary bladder urothelial carcinoma', *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1242., DOI: [10.3390/ijms19041242](https://doi.org/10.3390/ijms19041242)

- 29 Fang T. i sur. (2018), 'Modified citrus pectin inhibited bladder tumor growth through down regulation of galectin-3', *Acta Pharmacol. Sin.* 2018;39:1885–1893, DOI: 10.1038/s41401-018-0004-z
- 30 Qi Y. i sur. (2019), 'Tumor-associated macrophages expressing galectin-9 identify immune evasive subtype muscle-invasive bladder cancer with poor prognosis but favorable adjuvant chemotherapeutic response', *Cancer Immunol. Immunother.* 2019;68:2067–2080, DOI: 10.1007/s00262-019-02429-2
- 31 Xue H. i sur. (2016), 'Galectin-12 inhibits granulocytic differentiation of human NB4 promyelocytic leukemia cells while promoting lipogenesis', *J. Leukoc. Biol.* 2016;100:657–664, DOI: 10.1189/jlb.1HI0316-134R
- 32 Andersen M.N. i sur. (2017), 'Serum galectin-1 in patients with multiple myeloma: Associations with survival, angiogenesis, and biomarkers of macrophage activation', *OncoTargetsTher.* 2017;10:1977–1982, DOI: 10.2147/OTT.S124321
- 33 Muller J. i sur. (2019), 'Loss of Stromal Galectin-1 Enhances Multiple Myeloma Development: Emphasis on a Role inOsteoclasts', *Cancers.* 2019;11, DOI: 10.3390/cancers11020261
- 34 Nam K. i sur. (2017), 'Binding of galectin-1 to integrin beta1 potentiates drug resistance by promoting surviving expression in breast cancer cells', *Oncotarget.* 2017;8:35804–35823, DOI: 10.18632/oncotarget.16208
- 35 Patrick M.E. i Eglund K.A. (2019), 'SUSD2 Proteolytic Cleavage Requires the GDPH Sequence and Inter-Fragment DisulfideBonds for Surface Presentation of Galectin-1 on Breast CancerCells', *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20, DOI: 10.3390/ijms20153814
- 36 Upreti M. i sur. (2016), 'Radiation-enhanced therapeutic targeting of galectin-1 enriched malignant stromain triple negative breast cancer', *Oncotarget.* 2016;7:41559–41574, DOI: 10.18632/oncotarget.9490
- 37 Pereira J. X. i sur. (2019), 'Galectin-3 Regulates the Expression of Tumor Glycosaminoglycans and Increases the Metastatic Potential of BreastCancer', *J. Oncol.* 2019;2019:9827147, DOI: 10.1155/2019/9827147
- 38 Nakajima K. i sur. (2016), 'Galectin-3 Cleavage Alters Bone Remodeling: Different Outcomes in Breast and Prostate Cancer Skeletal Metastasis', *CancerRes.* 2016;76:1391–1402, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1793.
- 39 John C. M. i sur. (2003), 'Truncated galectin-3 inhibits tumor growth and metastasis in orthotopic nude mouse model of human breast cancer', *Clin. CancerRes.* 2003;9:2374–2383, PMID: 12796408
- 40 Wu H. i sur. (2019), 'RACK1 promotes the invasive activities and lymph node metastasis of cervical cancer via galectin-1', *CancerLett.* 2020;469:287–300, DOI: 10.1016/j.canlet.2019.11.002.
- 41 Higareda-Almaraz J. C. i sur. (2016), 'Systems-level effects of ectopic galectin-7 reconstitution in cervical cancer and its microenvironment', *BMC Cancer.* 2016;16:680, DOI: 10.1186/s12885-016-2700-8.

- 42 Nguyen, J.T. i sur. (2001), 'CD45 modulates galectin-1-induced T cell death: regulation by expression of core 2O-glycans', 2001, *J. Immunol.* 167: 5697–5707, DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.10.5697>
- 43 Dovizio M. i sur. (2013), 'Pharmacological inhibition of platelet-tumor cellcross-talk prevents platelet-induced overexpression of cyclooxygenase-2 in HT29 human colon carcinoma cells', *Mol. Pharmacol.* 2013;84:25–40, DOI: 10.1124/mol.113.084988.
- 44 Katzenmaier E. M. i sur. (2019), 'Deciphering the galectin-12 protein interactome reveals a major impact of galectin-12 on glutamine anaplerosis in colon cancer cells', *Exp. CellRes.* 2019;379:129–139, DOI: 10.1016/j.yexcr.2019.03.032
- 45 Cagnoni A. J. i sur. (2021), 'Galectin-1 fosters an immunosuppressive microenvironment in colorectal cancer by reprogramming CD8(+) regulatory T cells', *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2021;118, DOI: 10.1073/pnas.2102950118.
- 46 Sandberg T. P. i sur. (2019), 'Molecular profiling of colorectal tumors stratified by the histological tumor-stromaratio—Increased expression of galectin-1 in tumors with high stromal content', *Oncotarget.* 2019;10:2416, DOI: 10.18632/oncotarget.26820.
- 47 Wu K. L. i sur. (2013), 'Over expression of galectin-3 enhances migration of colon cancer cells related to activation of the K-Ras-Raf-Erk1/2 pathway', 2013, *J Gastroenterol* 2013;48:350-9, DOI: [10.1007/s00535-012-0663-3](https://doi.org/10.1007/s00535-012-0663-3)
- 48 Rao U. S. i Rao P. S. (2017), 'Surface-bound galectin-4 regulates gene transcription and secretion of chemokines in human colorectal cancer cell lines', *Tumour Biol.* 2017;39:1010428317691687, DOI: 10.1177/1010428317691687.
- 49 Michalak M. i sur. (2019), 'Detection of malignancy-associated phosphoproteome changes in human colorectal cancer induced by cell surface binding of growth-inhibitory galectin-4', *IUBMB Life.* 2019;71:364–375, DOI: 10.1002/iub.1987
- 50 Sakhnevych S. S. i sur. (2019), 'Mitochondrial Defunctionalization Supresses Tim-3-Galectin-9 Secretory Pathway in Human Colorectal Cancer Cells and Thus Can Possibly Affect Tumor Immune Escape', *Front. Pharmacol.* 2019;10:342, DOI: 10.3389/fphar.2019.00342
- 51 Chiyo T. i sur. (2019), 'Galectin-9 Induces Mitochondria-Mediated Apoptosis of Esophageal Cancer In Vitroand In Vivo in a Xenograft Mouse Model', *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20, DOI: 10.3390/ijms20112634
- 52 Chong Y. i sur. (2016), 'Galectin-1 from cancer-associated fibroblasts induces epithelial-mesenchymal transition through beta 1 integrin-mediated up regulationof Gli 1 in gastric cancer', *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2016;35:175, DOI: 10.1186/s13046-016-0449-1
- 53 Koonce N. A., Griffin R. J., Dings R. P. M. (2017), 'Galectin-1 Inhibitor OTX008 Induces Tumor Vessel Normalization and Tumor Growth Inhibition in Human Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Models', *Int. J. Mol.Sci.* 2017;18, DOI: 10.3390/ijms18122671
- 54 Liang Z. i sur. (2021), 'The binding of LDN193189 to CD133 C-terminus suppresses the tumorigenesis and immune escape of liver tumor-initiating cells', *Cancer Lett.* 2021;513:90–100, DOI: 10.1016/j.canlet.2021.05.003.

- 55 Tadokoro T. i sur. (2017), 'Induction of apoptosis by Galectin-9 in liver metastatic cancer cells: In vitro study.', *Int. J. Oncol.* 2017;51:607–614, DOI: 10.3892/ijo.2017.4053.
- 56 Zheng H. i sur. (2019), 'Prognostic Significance of (18)F-FDG PET/CT Metabolic Parameters and Tumor Galectin-1 21 Expression in Patients With Surgically Resected Lung Adeno carcinoma', *Clin. Lung Cancer.* 2019;20:420–428, DOI: 10.1016/j.clcc.2019.04.002.
- 57 Hsu YL. i sur. (2013), 'Galectin-1 promotes lung cancer tumor metastasis by potentiating integrin  $\alpha\beta4$  and Notch1/Jagged2 signaling pathway', *Carcinogenesis.* 2013 Jun;34(6):1370-81, Epub 2013 Feb 6, DOI: [10.1093/carcin/bgt040](https://doi.org/10.1093/carcin/bgt040)
- 58 He F. i sur. (2019), 'Reversal of EGFR inhibitors' resistance by co-delivering EGFR and integrin alpha beta 3 inhibitors with nanoparticles in non-small cell lung cancer', *Biosci. Rep.* 2019;39, DOI: 10.1042/BSR20181259.
- 59 Vuong L. i sur. (2019), 'An Orally Active Galectin-3 Antagonist Inhibits Lung Adenocarcinoma Growth and Augments Response to PD-L1 Blockade', *Cancer Res.* 2019;79:1480–1492, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2244.
- 60 Limagne E. i sur. (2019), 'Tim-3/galectin-9 pathway and mMDSC control primary and secondary resistances to PD-1 blockade in lung cancer patients', *Oncoimmunology.* 2019;8:e1564505, DOI: 10.1080/2162402X.2018.1564505
- 61 Wang D., You D. i Li L. (2019), 'Galectin-3 regulates chemotherapy sensitivity in epithelial ovarian carcinoma via regulating mitochondrial function', *J. Toxicol. Sci.* 2019;44:47–56, DOI: 10.2131/jts.44.47.
- 62 El-Kott A. F. i sur. (2019), 'The apoptotic effect of resveratrol in ovarian cancer cells is associated with downregulation of galectin-3 and stimulating miR-424-3p transcription', *J. Food Biochem.* 2019;43:e13072, DOI: 10.1111/jfbc.13072.
- 63 Hossein G. i sur. (2019), 'Modified Citrus Pectin targets Galectin-3-induced STAT3 activation and synergize paclitaxel to toxic effect on ovarian cancer spheroids', *Cancer Med.* 2019;8:4315–4329, DOI: 10.1002/cam4.2334.
- 64 Tang D. i sur. (2018), 'Galectin-1 expression in activated pancreatic satellite cells promotes fibrosis in chronic pancreatitis/pancreatic cancer via the TGF-beta1/Smad pathway', *Oncol. Rep.* 2018;39:1347–1355, DOI: 10.3892/or.2018.6202.
- 65 Orozco C. A. i sur. (2018), 'Targeting galectin-1 inhibits pancreatic cancer progression by modulating tumor-stroma crosstalk', *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115:E3769–E3778, DOI: 10.1073/pnas.1722434115.
- 66 Shih T. C. i sur. (2018), 'Targeting Galectin-1 Impairs Castration-Resistant Prostate Cancer Progression and Invasion', *Clin. Cancer Res.* 2018;24:4319–4331, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0157.
- 67 Corapi E. i sur. (2018), 'Endogenous Galectin-1 in T Lymphocytes Regulates Anti-prostate Cancer Immunity', *Front. Immunol.* 2018;9:2190, DOI: 10.3389/fimmu.2018.02190
- 68 Knapp J. S. i sur. (2013), 'Galectin-3 expression in prostate cancer and benign prostate tissues: correlation with biochemical recurrence', *World J Urol* 2013;31:351-8, DOI:[10.1007/s00345-012-0925-y](https://doi.org/10.1007/s00345-012-0925-y)

- 69 Caputo S. i sur. (2020), 'Galectin-3 in Prostate Cancer Stem-Like Cells Is Immunosuppressive and Drives Early Metastasis', *Front. Immunol.* 2020;11:1820, DOI: 10.3389/fimmu.2020.01820
- 70 Nakajima K. i sur. (2016), 'Galectin-3 Cleavage Alters Bone Remodeling: Different Outcomes in Breast and Prostate Cancer Skeletal Metastasis', *Cancer Res.* 2016;76:1391–1402, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1793.
- 71 Gorniak P. i sur. (2020), 'BRAF inhibition curtails IFN-gamma-inducible PD-L1 expression and upregulates the immune regulatory protein galectin-1 in melanoma cells', *Mol. Oncol.* 2020, DOI: 10.1002/1878-0261.12695.
- 72 Krishnan V. i sur. (2005), 'Altered melanoma cell surface glycosylation mediates organ specific adhesion and metastasis via lectin receptors on the lung vascular endothelium', *Clin. Exp. Metastasis.* 2005;22:11–24, DOI: 10.1007/s10585-005-2036-2
- 73 Liu F.-T. i Rabinovich A. G. (2010), 'Galectins: regulators of acute and chronic inflammation', 2010, *Ann N Y AcadSci*, Jan 2010; 1183:158-82, DOI:10.1111/j.1749-6632.2009.05131.x
- 74 Schiacchitano, S. i sur. (2018), ' Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z', 2018, *International Journal of Molecular Sciences* 2018 Jan; 19(2):379, DOI: 10.3390/jims19020379
- 75 La, M. i sur. (2003), 'A novel biological activity for galectin-1: inhibition of leukocyte-endothelial cell interactions in experimental inflammation', 2003, *Am. J. Pathol.* 163: 1505–1515, DOI: [10.1016/s0002-9440\(10\)63507-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63507-9)
- 76 Cooper, D., Norling L.V. i Perretti M. (2008), 'Novel insights into the inhibitory effects of Galectin-1 on neutrophil recruitment under flow', 2008, *J. Leukoc. Biol.* 83:1459–1466., DOI: 10.1189/jlb.1207831.
- 77 Stowell, S.R. i sur. (2007), 'Human galectin-1, -2, and-4 induce surface exposure of phosphatidylserine inactivated human neutrophils but not in activated T cells', 2007, *Blood* 109: 219–227, DOI: [10.1182/blood-2006-03-007153](https://doi.org/10.1182/blood-2006-03-007153)
- 78 Stowell, S.R. i sur. (2009), 'Galectin-1 induces reversible phosphatidylserine exposure at the plasma membrane', 2009, *Mol. Biol. Cell.* 20: 1408–1418, DOI: [10.1091/mbc.E08-07-0786](https://doi.org/10.1091/mbc.E08-07-0786)
- 79 Abbas A. K., Lichtman A. H. i Pillai S. (2021), 'Cellular and Molecular Immunology, 10. izdanje, poglavlja 1-13, objavljeno 07/2021, tisak: Elsevier, ISBN: 9780323757485
- 80 Karmakar, S. i sur. (2008), 'Galectin-1 signaling in leukocytes requires expression of complex-type N-glycans', 2008, *Glycobiology* 18: 770–778, DOI: [10.1093/glycob/cwn066](https://doi.org/10.1093/glycob/cwn066)
- 81 Almkvist, J. i sur. (2002), 'Activation of the neutrophil nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase by galectin-1.', 2002, *J. Immunol.* 168: 4034–4041, DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.8.4034>

- 82 Farnworth, S.L. i sur. (2008), 'Galectin-3 reduces the severity of pneumococcal pneumonia by augmenting neutrophil function', 2008, *Am. J. Pathol.* 172: 395–405, DOI: [10.2353/ajpath.2008.070870](https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070870)
- 83 Kuwabara, I. i Liu F.T. (1996), 'Galectin-3 promotes adhesion of human neutrophils to laminin', 1996, *J. Immunol.* 156: 3939–3944, PMID: 8621934
- 84 Nishi, N. i sur. (2003), 'Galectin-8 modulates neutrophil function via interaction with integrin alpha M', 2003, *Glycobiology*13: 755–763, DOI:[10.1093/glycob/cwg102](https://doi.org/10.1093/glycob/cwg102)
- 85 Ronbinson B. S. i sur. (2019), 'The Sweet-Side of Leukocytes: Galectins as Master Regulators of Neutrophil Function', 2019, *Frontiers in Immunology*, DOI: [10.3389/fimmu.2019.01762](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01762)
- 86 Rabinovich, G.A. i sur. (2000), 'Evidence of a role for galectin-1 in acute inflammation', 2000, *Eur J. Immunol.* 30:1331–1339, DOI:[10.1002/\(SICI\)1521-4141\(200005\)30:5<1331::AID-IMMU1331>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(200005)30:5<1331::AID-IMMU1331>3.0.CO;2-H)
- 87 Correa, S.G. i sur. (2003), 'Opposite effects of galectin-1 on alternative metabolic pathways of L-arginine in resident, inflammatory, and activated macrophages', 2003, *Glycobiology* 13: 119–128, DOI: [10.1093/glycob/cwg010](https://doi.org/10.1093/glycob/cwg010)
- 88 Frigeri, L.G., Zuberi, R.I. i Liu, F.T. (1993), 'eBP, a  $\beta$ -galactoside-binding animal lectin, recognizes IgE receptor (FceRI) and activates mast cells', 1993, *Biochemistry* 32: 7644–7649, DOI: <https://doi.org/10.1021/bi00081a007>
- 89 Barrionuevo, P. i sur. (2007), 'A novel function for galectin-1 at the crossroad of innate and adaptive immunity: galectin-1 regulates monocyte/macrophage physiology through a nonapoptotic ERK-dependent pathway', 2007, *J. Immunol.* 178: 436–445, DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.1.436>
- 90 Zuniga, E. i sur. (2001), 'Regulated expression and effect of galectin-1 on Trypanosoma cruzi-infected macrophages: modulation of microbicidal activity and survival', 2001, *Infect. Immun.* 69: 6804–6812, DOI: [10.1128/IAI.69.11.6804-6812.2001](https://doi.org/10.1128/IAI.69.11.6804-6812.2001)
- 91 MacKinnon, A.C. i sur. (2008), 'Regulation of alternative macrophage activation by galectin-3', 2008, *J. Immunol.* 180:2650–2658., DOI: [10.4049/jimmunol.180.4.2650](https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.4.2650)
- 92 Li, Y. i sur. (2008), 'Galectin-3 is a negative regulator of lipopolysaccharide-mediated inflammation', 2008, *J. Immunol.*181: 2781–2789., DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.4.2781>
- 93 Liu, F.T. i sur. (1995), 'Expression and function of galectin-3, a  $\beta$ -galactoside-binding lectin, in human monocytes and macrophages', 1995, *Am. J. Pathol.* 147: 1016–1029., PMID: [7573347](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7573347/)
- 94 Sano, H. i sur. (2000), 'Human galectin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages', 2000, *J. Immunol.* 165: 2156–2164, DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.4.2156>



- 95 Karlsson, A. i sur. (2009), 'Galectin-3 functions as an opsonin and enhances the macrophage clearance of apoptotic neutrophils', 2009, *Glycobiology* 19: 16–20, DOI: [10.1093/glycob/cwn104](https://doi.org/10.1093/glycob/cwn104).
- 96 Matsuura, A. i sur. (2009), 'Intracellular galectin-9 activates inflammatory cytokines in monocytes', 2009, *Genes Cells* 14: 511–521, DOI: [10.1111/j.1365-2443.2009.01287.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2009.01287.x)
- 97 Mandal A., 'Types of Dendritic Cells', 2019, News Medical Life Sciences, preuzeto s: <https://www.news-medical.net/health/Types-of-Dendritic-Cells.aspx>
- 98 Fulcher, J. i sur. (2006), 'Galectin-1-matured human monocyte-derived dendritic cells have enhanced migration through extracellular matrix', 2006, *J. Immunol.* 177:216–226, DOI: [10.4049/jimmunol.177.1.216](https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.1.216)
- 99 Hsu, D. K. i sur. (2009), 'Endogenous Galectin-3 is localized in membrane lipid rafts and regulates migration of dendritic cells', 2009, *J. Invest. Dermatol.* 129: 573–583, DOI: [10.1038/jid.2008.276](https://doi.org/10.1038/jid.2008.276)
- 100 Dai, S.Y. i sur. (2005), 'Galectin-9 induces maturation of human monocyte-derived dendritic cells', 2005, *J. Immunol.* 175:2974–2981, DOI: [10.4049/jimmunol.175.5.2974](https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.5.2974)
- 101 Zuberi, R.I. i sur. (2004), 'Critical role for galectin-3 in airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness in a murine model of asthma.', *Am. J. Pathol.* 165:2045–2053, DOI: [10.1016/S0002-9440\(10\)63255-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63255-5)
- 102 Suzuki, Y. i sur. (2008), 'Galectin-3 but not galectin-1 induces mast cell death by oxidative stress and mitochondrial permeability transition', 2008, *Biochim. Biophys. Acta* 1783: 924–934, DOI: [10.1016/j.bbamcr.2008.01.025](https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.01.025)
- 103 Truong, M.J. i sur. (1993), 'IgE-binding molecules (Mac-2/eBP) expressed by human eosinophils Implication in IgE-dependent eosinophil cytotoxicity', 1993, *Eur J. Immunol.* 23: 3230–3235, DOI: [10.1002/eji.1830231228](https://doi.org/10.1002/eji.1830231228)
- 104 Matsumoto, R. i sur. (1998), 'Human ecalectin, a variant of human galectin-9, is a novel eosinophil chemoattractant produced by T lymphocytes', 1998, *J. Biol. Chem.* 273:16976–16984, DOI: [10.1074/jbc.273.27.16976](https://doi.org/10.1074/jbc.273.27.16976)
- 105 Matsumoto, R. i sur. (2002), 'Biological activities of ecalectin: a novel eosinophil-activating factor', 2002, *J. Immunol.* 168: 1961–1967, DOI: [10.4049/jimmunol.168.4.1961](https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.4.1961)
- 106 Rao, S.P. i sur. (2007), 'Galectin-3 functions as an adhesion molecule to support eosinophil rolling and adhesion under conditions of flow', 2007, *J. Immunol.* 179: 7800–7807, DOI: [10.1093/glycob/cwn104](https://doi.org/10.1093/glycob/cwn104)
- 107 Saita, N. i sur. (2002), 'Association of galectin-9 with eosinophil apoptosis', 2002, *Int. Arch. Allergy Immunol.* 128:42–50, DOI: [10.1159/000058002](https://doi.org/10.1159/000058002)
- 108 Stowell, S.R. i sur. (2008), 'Differential roles of galectin-1 and galectin-3 in regulating leukocyte viability and cytokine secretion', 2008, *J. Immunol.* 180: 3091–3102, DOI: [10.4049/jimmunol.180.5.3091](https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.5.3091)

- 109 Rabinovich, G.A. i sur. (1999), 'Specific inhibition of T-cell adhesion to extracellular matrix and proinflammatory cytokine secretion by human recombinant galectin-1', 1999, *Immunology* 97: 100–106, DOI: [10.1046/j.1365-2567.1999.00746.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.1999.00746.x)
- 110 Rabinovich, G.A. i sur. (2002.), 'Induction of allogenic T cell hyporesponsiveness by galectin-1-mediated apoptotic and non-apoptotic mechanisms', 2002, *CellDeathDiffer.*9: 661–670, DOI: <https://doi.org/10.1159/000058002>
- 111 Van Der Leij, J. i sur. (2007), 'Strongly enhanced IL-10 production using stable galectin-1 homodimers', 2007, *Mol.Immunol.* 44: 506–513, DOI: [10.1016/j.molimm.2006.02.011](https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.02.011)
- 112 Motran, C.C. i sur. (2008), 'Galectin-1 functions as a Th2 cytokine that selectively induces Th1 apoptosis and promotes Th2 function', 2008, *Eur J. Immunol.* 38: 3015–3027, DOI: [10.1002/eji.200838295](https://doi.org/10.1002/eji.200838295)
- 113 Juszczynski, P. i sur. (2007), 'The AP1-dependent secretion of galectin-1 by Reed Sternberg cells fosters immune privilege in classical Hodgkin lymphoma', 2007, *Proc. Natl.Acad. Sci. USA* 104: 13134–13139, DOI: [10.1073/pnas.0706017104](https://doi.org/10.1073/pnas.0706017104)
- 114 Perone, M.J. i sur. (2009), 'Suppression of autoimmune diabetes by soluble galectin-1', 2009, *J. Immunol.* 182: 2641–2653, DOI: [10.4049/jimmunol.0800839](https://doi.org/10.4049/jimmunol.0800839)
- 115 Perillo, N.L. i sur. (1995), 'Apoptosis of T cells mediated by galectin-1', 1995, *Nature* 378: 736–739, DOI: [10.1038/378736a0](https://doi.org/10.1038/378736a0)
- 116 Brandt, B. i sur. (2008), 'Galectin-1 induced activation of the apoptotic death-receptor pathway in human Jurkat T lymphocytes', 2008, *Histochem. Cell Biol.* 129: 599–609, DOI: [10.1007/s00418-008-0395-x](https://doi.org/10.1007/s00418-008-0395-x)
- 117 Toscano, M.A. i sur. (2007), 'Differential glycosylation of T(H)1, T(H)2 and T(H)-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death', 2007, *Nat. Immunol.* 8:825–834, DOI: [10.1038/ni1482](https://doi.org/10.1038/ni1482)
- 118 Amano, M. i sur. (2003), 'The ST6 Gal I sialyl transferase selectively modifies N-glycans on CD45 to negatively regulate galectin-1-induced CD45 clustering, phosphatase modulation, and T cell death', 2003, *J. Biol. Chem.* 278: 7469–7475, DOI: [10.1074/jbc.M209595200](https://doi.org/10.1074/jbc.M209595200)
- 119 Hernandez, J.D. i sur. (2006), 'Galectin-1 binds different CD43 glycoforms to cluster CD43 and regulate T cell death', 2006, *J. Immunol.* 177: 5328–5336, DOI: [10.4049/jimmunol.177.8.5328](https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.8.5328)
- 120 Hahn, H.P. i sur. (2004), 'Galectin-1 induces nuclear translocation of endonuclease G in caspase- and cytochrome c-independent T cell death', 2004, *Cell Death Differ.*11: 1277–1286, DOI: [10.4049/jimmunol.177.8.5328](https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.8.5328)
- 121 Matarrese, P. i sur. (2005), 'Galectin-1 sensitizes resting human T lymphocytes to Fas (CD95)-mediated cell death via mitochondrial hyperpolarization, budding, and fission', 2005, *J. Biol. Chem.* 280: 6969–6985, DOI: [10.1074/jbc.M409752200](https://doi.org/10.1074/jbc.M409752200)

- 122 Stillman, B.N. i sur. (2006), 'Galectin-3 and galectin-1 bind distinct cell surface glycoprotein receptors to induce T cell death. J. Immunol. 176: 778-789, DOI: [10.4049/jimmunol.176.2.778](https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.2.778)
- 123 Fukumori, T. i sur. (2003), 'CD29 and CD7 mediate galectin-3-induced type II T-cell apoptosis', 2003, Cancer Res.63: 8302-8311, PMID: 14678989
- 124 Hokama, A. i sur. (2004), 'Induced reactivity of intestinal CD4+ T cells with an epithelial cell lectin, galectin-4, contributes to exacerbation of intestinal inflammation', 2004, Immunity 20: 681-693, DOI: [10.1016/j.immuni.2004.05.009](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.05.009)
- 125 Paclik, D. i sur. (2008), 'Galectin-4 controls intestinal inflammation by selective regulation of peripheral and mucosal T cell apoptosis and cell cycle', 2008, PLoS ONE 3: e2629, DOI: [10.1371/journal.pone.0002629](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002629)
- 126 Norambuena, A. i sur. (2009), 'Galectin-8 induces apoptosis in Jurkat T cells by phosphatidic acid-mediated ERK1/2 activation supported by PKA down regulation', 2009, J. Biol. Chem. 284: 12670-12679, DOI: [10.1074/jbc.M808949200](https://doi.org/10.1074/jbc.M808949200)
- 127 Tribulatti, M.V. i sur. (2007), 'Galectin-8 induces apoptosis in the CD4 (high) CD8 (high) thymocyte subpopulation', 2007, Glycobiology 17: 1404-1412, DOI: [10.1093/glycob/cwm104](https://doi.org/10.1093/glycob/cwm104)
- 128 Zhu, C. i sur. (2005), 'The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity', 2005, Nat. Immunol. 6: 1245-1252, DOI: [10.1038/ni1271](https://doi.org/10.1038/ni1271)
- 129 Kashio, Y. i sur. (2003), 'Galectin-9 induces apoptosis through the calcium-calpain-caspase-1 pathway', J. Immunol. 170: 3631-3636, DOI: [10.4049/jimmunol.175.5.2974](https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.5.2974)
- 130 Sugimoto, N. i sur. (2006), 'Foxp3-dependent and -independent molecules specific for CD25+CD4+ natural regulatory T cells revealed by DNA microarray analysis', 2006, Int. Immunol. 18: 1197-1209, DOI: [10.1093/intimm/dxl060](https://doi.org/10.1093/intimm/dxl060)
- 131 Garin, M.I. i sur. (2007), 'Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells', 2007, Blood 109:2058-2065, DOI: [10.1182/blood-2006-04-016451](https://doi.org/10.1182/blood-2006-04-016451)
- 132 Jiang, H.R. i sur. (2009), 'Galectin-3 deficiency reduces the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis', 2009, J. Immunol. 182: 1167-1173, DOI: [10.4049/jimmunol.182.2.1167](https://doi.org/10.4049/jimmunol.182.2.1167)
- 133 Wang, J. i sur. (2009), 'Cross-linking of GM1 ganglioside by galectin-1 mediates regulatory T cell activity involving TRPC5 channel activation: possible role in suppressing experimental autoimmune encephalomyelitis', 2009, J. Immunol. 182: 4036-4045, DOI: [10.4049/jimmunol.0802981](https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802981)
- 134 Kubach, J. i sur. (2007), 'Human CD4+CD25+ regulatory T cells: proteome analysis identifies galectin-10 as a novel marker essential for their anergy and suppressive function', 2007, Blood 110: 1550-1558, DOI: [10.1182/blood-2007-01-069229](https://doi.org/10.1182/blood-2007-01-069229)
- 135 Gauthier, L. i sur. (2002), 'Galectin-1 is a stromal cell ligand of the pre-B cell receptor (BCR) implicated in synapse formation between pre-B and stromal cells and in pre-BCR

triggering', 2002, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:13014–13019,  
DOI: [10.1073/pnas.202323999](https://doi.org/10.1073/pnas.202323999)

136 Rossi, B. i sur. (2006), 'Clustering of pre-B cell integrins induces galectin-1-dependent pre-B cell receptor relocalization and activation', 2006, J. Immunol. 177: 796–803,  
DOI: [10.4049/jimmunol.177.2.796](https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.2.796)

137 Espeli, M. i sur. (2009), 'Impaired B cell development at the pre-BII cell stage in galectin-1 deficient mice due to inefficient pre-BII-stromal cell interactions', 2009, Blood. 113: 5878–5886, DOI: [10.1182/blood-2009-01-198465](https://doi.org/10.1182/blood-2009-01-198465)

138 Tsai, C.M. i sur. (2008), 'Galectin-1 promotes immunoglobulin production during plasma cell differentiation', 2008, J. Immunol. 181: 4570–4579, DOI: [10.4049/jimmunol.181.7.4570](https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.7.4570)

139 Tabrizi, S.J. i sur. (2009), 'T cell leukemia/lymphoma 1 and galectin-1 regulate survival/cell death pathways in human naive and IgM+ memory B cells through altering balances in Bcl-2 family proteins', 2009, J. Immunol. 182:1490–1499,  
DOI: [10.4049/jimmunol.182.3.1490](https://doi.org/10.4049/jimmunol.182.3.1490)

140 Acosta-Rodriguez, E.V. i sur. (2004), 'Galectin-3 mediates IL-4-induced survival and differentiation of B cells: functional cross-talk and implications during Trypanosoma cruzi infection', 2004, J. Immunol. 172: 493–502, DOI: [10.4049/jimmunol.172.1.493](https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.1.493)

141 Vladoiu i sur. (2014), 'Intracellular galectins in cancer cells: Potential new targets for therapy (Review)', International journal of oncology. 44. [10.3892/ijo.2014.2267](https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2267),  
DOI: [10.3892/ijo.2014.2267](https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2267)

142

([https://med.libretexts.org/Courses/American Public University/APUS%3A An Introduction to Nutrition %28Byerley%29/APUS%3A An Introduction to Nutrition 1st Edition/07%3A A Nutrition and Cancer/7.02%3A Carcinogenesis](https://med.libretexts.org/Courses/American_Public_University/APUS%3A_An_Introduction_to_Nutrition_%28Byerley%29/APUS%3A_An_Introduction_to_Nutrition_1st_Edition/07%3A_A_Nutrition_and_Cancer/7.02%3A_Carcinogenesis))

143 He, J. i Baum L.G. (2006), 'Endothelial cell expression of galectin-1 induced by prostate cancer cells inhibits T-cell transendothelial migration', 2006, Lab. Invest. 86: 578–590,  
DOI: [10.1038/labinvest.3700420](https://doi.org/10.1038/labinvest.3700420)

144 Dalotto-Moreno T. i sur. (2013), 'Targeting galectin-1 over comes breast cancer-associated immunosuppression and prevents metastatic disease', 2013, Cancer Res 2013;73:1107-17, DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-12-2418](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2418)

145 Kim H. J. i sur. (2014), 'Galectin 1 expression is associated with tumor invasion and metastasis in stage IB to IIA cervical cancer', 2014, Hum Pathol 2013;44:62-8,  
DOI: [10.1016/j.humpath.2012.04.010](https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.04.010)

146 Huang E. Y. i sur. (2012), 'A novel radioresistant mechanism of galectin-1 mediated by H-Ras-dependent pathways in cervical cancer cells', 2012, Cell Death Dis 2012;3:e251,  
DOI: [10.1038/cddis.2011.120](https://doi.org/10.1038/cddis.2011.120)

147 Huang E. Y. i sur. (2013), 'Galectin-1 is an independent prognostic factor for local recurrence and survival after definitive radiation therapy for patients with squamous cell

carcinoma of the uterine cervix', 2013, *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013;87:975-82, DOI: [10.1038/cddis.2011.120](https://doi.org/10.1038/cddis.2011.120)

148 Kuo P. i sur. (2014), 'Galectin-1 mediates radiation-related lymphopenia and attenuates NSCLC radiation response', *Clin Cancer Res* 2014, DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-14-1138](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1138)

149 Compagno D. i sur. (2014), 'Glycans and galectins in prostate cancer biology, angiogenesis and metastasis', 2014, *Glycobiology* 2014;24:899-906, DOI: <https://doi.org/10.1093/glycob/cwu055>

150 Kuo P. L. i sur. (2012), 'Lung cancer-derived galectin-1 enhances tumorigenic potentiation of tumor-associated dendritic cells by expressing heparin-binding EGF-like growth factor', 2012, *J Biol Chem* 2012;287:9753-64, DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-14-1138](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1138)

151 Carlini, M. J. i sur. (2014), 'Clinical relevance of galectin-1 expression in non-small lung cancer patients', 2014, *Annals of Translational Medicine*, Vol 2, *Lung Cancer* 2014;84:73-8, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2014.01.016>

152 Nagy, N. i sur. (2003), 'Refined prognostic evaluation in colon carcinoma using immunohistochemical galectin fingerprinting', 2003, *Cancer*, 97, 1849–1858, DOI: [10.1002/cncr.11268](https://doi.org/10.1002/cncr.11268)

153 Verschuere, T. i sur. (2014), 'Glioma-derived galectin-1 regulates innate and adaptive antitumor immunity', 2014, *Int J Cancer* 2014;134:873-84, DOI: [10.1002/ijc.28426](https://doi.org/10.1002/ijc.28426)

154 Le Mercier, M. i sur. (2008), 'Evidence of galectin-1 involvement in glioma chemoresistance', 2008, *Toxicol Appl Pharmacol* 2008;229:172-83, DOI: [10.1016/j.taap.2008.01.009](https://doi.org/10.1016/j.taap.2008.01.009)

155 Huang, C. S. i sur. (2014), 'Galectin-1 upregulates CXCR4 to promote tumor progression and poor outcome in kidney cancer', 2014, *J Am Soc Nephrol* 2014;25:1486-95, DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2013070773>

156 Lefranc, F., Mathieu, V., Kiss, R. (2011), 'Galectin-1-mediated biochemical controls of melanoma and glioma aggressive behavior', 2011, *World J Biol Chem* 2011;2:193-201, DOI: [10.4331/wjbc.v2.i9.193](https://doi.org/10.4331/wjbc.v2.i9.193)

157 Simone G. i sur. (2014), 'Galectin-3 coats the membrane of breast cells and makes a signature for tumours', 2014, *Mol. Biosyst.*, 2014, 10, 258, DOI: [10.1039/c3mb70359b](https://doi.org/10.1039/c3mb70359b)

158 Zhang H. i sur. (2014), 'Galectin-3 as a Marker and Potential Therapeutic Target in Breast Cancer', 2014, *PLoS ONE* 9(9): e103482, DOI: [10.1371/journal.pone.0103482](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103482)

159 Murgo, A. J. (2001), 'Clinical trials of arsenic trioxide in hematologic and solid tumors: overview of the National Cancer Institute Cooperative Research and Development Studies', 2001, *Oncologist* 6 Suppl 2: 22–8, DOI: [10.1634/theoncologist.6-suppl\\_2-22](https://doi.org/10.1634/theoncologist.6-suppl_2-22)

160 Tallman, M. S. (2008), 'What is the role of arsenic in newly diagnosed APL?', 2008, *Best Pract Res Clin Haematol* 21: 659–66,

161 Berenson, J. R., Yeh H. S. (2006), 'Arsenic compounds in the treatment of multiple

- myeloma: a new role for a historical remedy', 2006, *Clin Lymphoma Myeloma* 7: 192–8, DOI: [10.3816/CLM.2006.n.058](https://doi.org/10.3816/CLM.2006.n.058)
- 162 Baj G. i sur. (2002), 'Arsenic trioxide and breast cancer: Analysis of the apoptotic, differentiative and immunomodulatory effects', 2002, *Breast Cancer Res. Treat* 73, 61–73, DOI: [10.1023/a:1015272401822](https://doi.org/10.1023/a:1015272401822)
- 163 Wang Y. i sur. (2009), 'Regulation of prostate cancer progression by galectin-3', 2009, *Am J Pathol* 2009;174:1515-23, DOI: [10.1016/j.stemcr.2016.04.007](https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.04.007)
- 164 Kim S. J. i sur. (2010), 'Galectin-3 increases gastric cancer cell motility by up-regulating fascin-1 expression', 2010, *Gastroenterology* 2010;138:1035-45.e1-2, DOI: [10.1053/j.gastro.2009.09.061](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.061)
- 165 Song Y. i sur. (2010), 'The bisecting GlcNAc on N-glycans inhibits growth factor signaling and retards mammary tumor progression', *Cancer Res.* 2010;70:3361–3371, DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-09-2719](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2719)
- 166 Binh N. H. i sur. (2013), 'Galectin-3 in preneoplastic lesions of glioma', 2013, *J Neuro oncol*;111:123-32, DOI: [10.1007/s11060-012-1005-2](https://doi.org/10.1007/s11060-012-1005-2)
- 167 Braeuer R. R. i sur. (2012), 'Galectin-3 contributes to melanoma growth and metastasis via regulation of NFAT1 and autotaxin', 2012, *CancerRes* 2012;72:5757-66, DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-12-2424](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2424)
- 168 Xu Y. i sur. (2013), 'Galectin-3 inhibition sensitizes human renal cell carcinoma cells to arsenic trioxide treatment', *Cancer Biol Ther*2013;14:897–906, DOI: [10.4161/cbt.25937](https://doi.org/10.4161/cbt.25937)
- 169 Riss D. i sur. (2003), 'Differential expression of galectin-3 in pituitary tumors', 2003, *Cancer Res* 2003;63:2251-5, PMID: 12727847
- 170 Chiu C. G. i sur. (2010), 'Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer', 2010, *Am J Pathol* 2010;176:2067-81, DOI: [10.2353/ajpath.2010.090353](https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090353)
- 171 Shankar J. i sur. (2012), 'Coordinated expression of galectin-3 and caveolin-1 in thyroid cancer', 2010, *J Pathol* 2012;228:56-66, DOI: [10.1002/path.4041](https://doi.org/10.1002/path.4041)
- 172 Saffar H. i sur. (2011), 'Expression of galectin-3, nm-23, and cyclooxygenase-2 could potentially discriminate between benign and malignant pheochromocytoma', 2011, *Am J ClinPathol* 2011;135:454-60, DOI: [10.1309/AJCPI8AJLUZ3CZLN](https://doi.org/10.1309/AJCPI8AJLUZ3CZLN)
- 173 Campion C.G. i sur. (2013), 'Expression of galectin-7 is induced in breast cancer cells by mutant p53', 2013, *PLoS One* 2013;8:e72468, DOI: [10.1371/journal.pone.0072468](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072468)
- 174 Labrie M. i sur. (2017), 'Tissue and plasma levels of galectins in patients with high grade serious ovarian carcinoma as new predictive biomarkers', *Sci. Rep.* 2017;7:13244. DOI: [10.1038/s41598-017-13802-5](https://doi.org/10.1038/s41598-017-13802-5), DOI: [10.1038/s41598-017-13802-5](https://doi.org/10.1038/s41598-017-13802-5)
- 175 Irie A. i sur. (2005), 'Galectin-9 as Prognostic Factor with Antimetastatic Potential in Breast Cancer', 2005, *Clin Cancer Res* 2005;11(8) April 15, 2005;11:2962-2968, DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-04-0861](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0861)

- 176 Liang M. i sur. (2008), 'Galectin-9 expression links to malignant potential of cervical squamous cell carcinoma', 2008, *J Cancer Res Clin Oncol* 2008;134:899-907, DOI: [10.1007/s00432-008-0352-z](https://doi.org/10.1007/s00432-008-0352-z)
- 177 Zhu X. i sur. (2010), 'Identification of galectin-7 as a potential biomarker for esophageal squamous cell carcinoma by proteomic analysis', 2010, *BMC Cancer* 2010;10:290, DOI: [10.1186/1471-2407-10-290](https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-290)
- 178 Kim S. J. i sur. (2013), 'Galectin-7 is epigenetically-regulated tumor suppressor in gastric cancer', 2013, *Oncotarget* 2013;4:1461-71, DOI: [10.18632/oncotarget.1219](https://doi.org/10.18632/oncotarget.1219)
- 179 Belo A. I. i sur. (2013), 'Galectin-4 Reduces Migration and Metastasis Formation of Pancreatic Cancer Cells', 2013, *PLoS One* 2013;8:e65957, DOI: [10.1371/journal.pone.0065957](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065957)
- 180 Yildirim, E., Chiu, J.C., Edery, I. (2015), 'Identification of Light-Sensitive Phosphorylation Sites on PERIOD That Regulate the Pace of Circadian Rhythms in *Drosophila*', 2015, *Mol. Cell. Biol.* 36(6): 855–870, DOI: [10.1128/MCB.00682-15](https://doi.org/10.1128/MCB.00682-15)
- 181 Barrow H. i sur. (2011), 'Serum galectin-2, -4, and -8 are greatly increased in colon and breast cancer patients and promote cancer cell adhesion to blood vascular endothelium', 2011, *Clin Cancer Res* 2011;17:7035-46, DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-11-1462](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1462)
- 182 Fukumori T. i sur. (2006), 'Galectin-3 regulates mitochondrial stability and antiapoptotic function in response to anticancer drug in prostate cancer', 2006, *Cancer Res* 2006;66:3114–9, DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-05-3750](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3750)
- 183 Navarro P. i sur. (2020), 'Impact of Galectins in Resistance to Anticancer Therapies, 2020, *Clin Cancer Res*, 2020, DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-18-3870](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3870)
- 184 Harazono i sur., (2014), 'Galectin-3 leads to attenuation of apoptosis through Bax heterodimerization in human thyroid carcinoma cells', 2014, *Oncotarget*. 5. 9992-10001, DOI: [10.18632/oncotarget.2486](https://doi.org/10.18632/oncotarget.2486)
- 185 Akahani S. i sur. (1997), 'Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family', 1997, *Cancer Res* 1997;57:5272–6, PMID: 9393748
- 186 Cai G. i sur. (2016), 'Gal-3 induces ovarian cancer cell survival and chemoresistance via TLR4 signaling activation', 2016, *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2016; 37: 11883-91, DOI: <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5038-6>
- 187 Kim M. K. i sur. (2011), 'Overexpression of Galectin-3 and its clinical significance in ovarian carcinoma', 2011, *International journal of clinical oncology*. 2011; 16: 352-8, DOI: [10.1007/s10147-011-0190-x](https://doi.org/10.1007/s10147-011-0190-x)
- 188 Lu H. i sur. (2016), 'Galectin-3 regulates metastatic capabilities and chemotherapy sensitivity in epithelial ovarian carcinoma via NF-kappaB pathway', 2016, *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2016; 37:11469-77, DOI: [10.1007/s13277-016-5004-3](https://doi.org/10.1007/s13277-016-5004-3)

- 189 Zucchetti M. i sur. (2013), 'Pharmacokinetics and antineoplastic activity of galectin-1-targeting OTX008 in combination with sunitinib', 2013, Cancer chemotherapy and pharmacology. 2013;72: 879-87, DOI :[10.1007/s00280-013-2270-2](https://doi.org/10.1007/s00280-013-2270-2)
- 190 Zhu H. i sur. (2013), 'Roles of galectin-7 and S100A9 in cervical squamous carcinoma: Clinicopathological and in vitro evidence', Int J Cancer 2013;132:1051-9, DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.27764>
- 191 Mehta P., Singh P. i Aggarwal A. (2022), 'Serum and urinary galectin-9 and C-X-C motif chemokine ligand 10. Lupus', 2022 Apr;31(4):482-487, Epub 2022 Mar 4, DOI: 10.1177/09612033221082907.
- 192 Cerri D. G. i sur. (2022), 'Investigation of Galectins in Frozen Tissue and Mammalian Cell Culture Using Confocal Microscopy', Methods Mol Biol. 2022;2442:289-306, DOI: 10.1007/978-1-0716-2055-7\_16.
- 193 Pieters J. R., (2006), 'Inhibition and Detection of Galectins', 2006, Chemistry Europe; 26 April 2006, DOI: <https://doi.org/10.1002/cbic.200600011>
- 194 De Leo T. C. i sur. (2022), 'Molecular Imaging for In Vivo Tracking and Detection of Galectin Binding Partners', Methods Mol Biol. 2022;2442:339-352, DOI: 10.1007/978-1-0716-2055-7\_18.



## Izabela Škamo

Datum rođenja: 29/12/2000 | Državljanstvo: hrvatsko | Spol: Žensko | (+385) 0998175265 |  
iskamo01@gmail.com | Bratstva i jedinstva, Savska Ves 35, 40000, Čakovec, Hrvatska

### ● RADNO ISKUSTVO

04/07/2022 – 15/07/2022 – Zagreb, Hrvatska

**STRUČNA PRAKSA – HALMED – AGENCIJA ZA LIJEKOVE I MEDICINSKE PROIZVODE**

Sudjelovanje u postupcima analize lijekova, edukacija o sigurnosti prilikom laboratorijskog rada i pravilnom korištenju laboratorijskih instrumenata namijenjenih analizi lijekova i mikrobioloških uzoraka, rad u mikrobiološkom i sterilnom laboratoriju te u laboratorijima za provedbu analitičkih metoda za ispitivanje lijekova, edukacija o hrvatskoj i europskoj farmakopeji i načinu poslovanja Agencije

2017 – Čakovec, Hrvatska

**STRUČNA SURADNICA – EKOHERBA**

Nadzor i rukovanje sirovinama za proizvodnju ljekovitih biljnih pripravaka, sudjelovanje u procesu proizvodnje biljnih tinktura, krema i čajeva

### ● OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

2007 – 2015 – Čakovec, Hrvatska

**OSNOVNOŠKOLSKO OBRAZOVANJE – III. Osnovna škola Čakovec**

Adresa Ulica Ivana pl. Zajca 24, Čakovec, Hrvatska | Internetske stranice <http://os-treca-ck.skole.hr/>

2015 – 2019 – Čakovec, Hrvatska

**SREDNJOŠKOLSKO OBRAZOVANJE – Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec**

Adresa Ul. Vladimira Nazora 34, Čakovec, Hrvatska |

Internetske stranice <https://gimnazija-cakovec.hr/>

2019 – TRENUTAČNO – Rijeka, Hrvatska

**STUDENT – Odjel za Biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci**

Adresa Ul. Radmile Matejčić 2, Rijeka, Hrvatska

## ● JEZIČNE VJEŠTINE

---

Materinski jezik/jezici: **HRVATSKI**

Drugi jezici:

	RAZUMIJEVANJE		GOVOR		PISANJE
	Slušanje	Čitanje	Govorna produkcija	Govorna interakcija	
<b>NJEMAČKI</b>	C1	C1	C1	C1	C1
<b>ENGLESKI</b>	C1	B2	C1	C1	C1

*Razine: A1 / A2: temeljni korisnik; B1 / B2: samostalni korisnik; C1 / C2: iskusni korisnik*

## ● DIGITALNE VJEŠTINE

---

### **Moje digitalne vještine**

Internet | Rad na računalu | Word | MS Office (Word Excel PowerPoint) | Microsoft PowerPoint |  
Prilagodljivost | Komunikativna | Dobro organizirana