

Zmeny sialyzácie proteínov v karcinóme prostaty (výsledky pilotnej štúdie)

Daniela Kelleyová¹, Andrea Janegová^{1,2*}

¹Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

²Patologickoanatomické oddelenie, Fakultná nemocnica, Trnava

Úvod: Karcinóm prostaty je jedna z najčastejších foriem rakoviny u mužov s neustále stúpajúcou incidenciou aj v dobre rozvinutých krajinách. Napriek dostupnej diagnostike a liečbe predstavuje u mužov tretiu najčastejšiu príčinu úmrtia na nádorovú chorobu. V diagnostike zohráva kľúčovú úlohu hodnotenie sérovej hladiny prostatického špecifického antigénu, vyšetrenie má však nízku senzitivitu a špecificitu. V súčasnosti neexistuje spoľahlivá neinvazívna metóda a diagnózu karcinómu prostaty treba potvrdiť biopsky. Abnormálna glykozylácia bunkových štruktúr je dôležitou súčasťou nádorovej transformácie. Cieľom prezentovanej štúdie bolo posúdiť zmeny glykozylácie pri nádorovej transformácii v tkanive prostaty.

Metodika: Analyzovali sme 24 prípadov chorobných zmien prostaty, zahrňujúcich prípady benígnej hyperplázie prostaty aj adenokarcinómu prostaty s rôznym Gleasonovým skóre; 3 + 4, 4 + 4 a 4 + 5. Na hodnotenie zmien glykozylácie bola využitá lektínová histochemia využívajúca lektíny špecifické pre kyselinu sialovú, a to *Maackia amurensis* leukoagglutínin (MAL), pre jej α -2,3 väzbu a *Sambucus nigra* leukoagglutínin (SNA) pre α -2,6 väzbu. Zmeny boli hodnotené semikvantitatívne a následne pomocou morfometrickej analýzy.

Výsledky: Nádorová transformácia v tkanive prostaty sa spája so zmenami glykozylácie bunkových štruktúr. V súvislosti s nádorovou transformáciou v prostate sme pozorovali výrazný pokles sialyzácie bunkových glykokonjugátov, a to tak v α -2,6, ako aj α -2,3 väzbe. Tento pokles bol výraznejší v prípadoch adenokarcinómov s vyšším Gleasonovým skóre.

Záver: Zmeny glykozylácie môžu ovplyvniť funkčné vlastnosti nádorových buniek vrátane prežívania, invazivity a metastatického potenciálu. Hodnotenie expresie kyseliny sialovej v tkanive prostaty môže mať význam v diagnostike nádorov prostaty aj pre lepšie pochopenie ich malígneho potenciálu.

Kľúčové slová: adenokarcinóm prostaty, kyselina sialová, glykokonjugáty, lektíny, neuraminidázy, sialyltransferázy, prognostické markery

Changes in sialylation of proteins in prostatic carcinoma (results of the pilot study)

Introduction: Prostatic carcinoma is one of the most common forms of malignancy in men with an increasing incidence even in well-developed countries. Despite available diagnostic and treatment methods, it is the third leading cause of cancer death in males. Prostatic specific antigen levels in serum play a key role in diagnosis, but the examination has low both sensitivity and specificity. There are currently no reliable non-invasive diagnostic methods, and the diagnosis of prostate cancer needs to be confirmed by biopsy. Abnormal glycosylation of cell structures is important part of the neoplastic transformation process. The presented study aims to evaluate the changes of glycosylation pattern in neoplastic transformation of prostatic tissue.

Methods: 24 cases of prostate tissue were analyzed, including cases of benign prostatic hyperplasia as well as prostatic adenocarcinoma with varying Gleason score; 3 + 4, 4 + 4 and 4 + 5. Lectin histochemistry using sialic acid-specific lectins specific for α -2,3 linkage (*Maackia amurensis* leukoagglutinin - MAL) and α -2,6 linkage (*Sambucus nigra* leukoagglutinin - SNA) was used. Changes were evaluated semi-quantitatively and subsequently by morphometric analysis.

Results: Changes of tissue glycosylation pattern accompany neoplastic transformation in prostatic tissue. In connection with tumour transformation in the prostate, we observed a significant decrease in sialylation of cellular glycoconjugates in both α -2,6 and α -2,3 linkage. This decrease was more pronounced in cases of adenocarcinomas with a higher Gleason score.

Conclusion: The changes of glycosylation pattern may affect the functional properties of neoplastic cells, including the survival, invasiveness and metastatic potential of cells. Evaluation of sialic acid expression in prostatic tissue may be of importance in the diagnosis of prostate tumours as well as in improving the comprehension of their malignant potential.

Keywords: prostatic adenocarcinoma, sialic acid, glycoconjugates, lectins, neuraminidase, sialyltransferase, prognostic markers

NewsLab, 2019; roč. 10 (2): 80 – 84

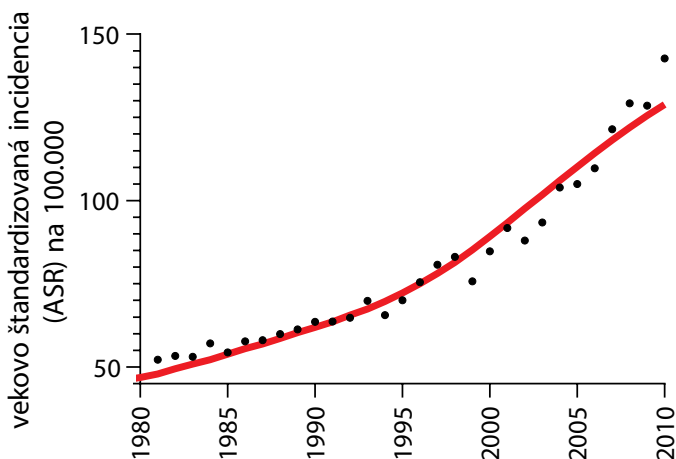
Úvod

Karcinóm prostaty je jedna z najčastejších foriem rakoviny u mužov. Štatistiky uvádzajú celosvetovo viac ako jeden milión nových prípadov ročne. Na Slovensku je incidencia karcinómu prostaty u mužov na druhom mieste po karcinóme hrubého čreva a má stúpajúci trend. V období rokov 2000 – 2010 sa jeho incidencia takmer zdvojnásobila (**obrázok 1**). Napriek dostupnej diagnostike a liečbe predstavuje u mužov tretiu najčastejšiu príčinu úmrtia na nádorovú chorobu⁽¹⁾.

Hlavnými rizikovými faktormi karcinómu sú vek, rodinná anamnéza a rasa. V skorých štádiách sú pacienti často asymptomatickí alebo majú len nešpecifické príznaky súvisiace s problémami s močením. Medzi príznaky pokročilej choroby patrí napríklad bolesť a patologické zlomeniny kostí v súvislosti so vznikom metastáz, fyzické vyčerpanie a strata hmotnosti. V súčasnosti je snaha o včasnú diagnostiku karcinómu prostaty prostredníctvom preventívnych vyšetrení. V diagnostike sa primárne využíva najmä laboratórne hodnotenie sérovej hladiny prostatického špecifického antigénu (PSA). Viaceré štúdie sledujúce účinok skriningových vyšetrení na prognózu pacientov (napr. PLCO) však nepreukázali jednoznačný benefit vyšetrenia PSA. Štúdie poukazujú na výrazne nízku senzitivitu a/alebo špecificitu vyšetrenia hladiny PSA pre stanovenie diagnózy nádorov prostaty v závislosti od stanovenej cut-off hodnoty (1,1 ng/ml PSA zodpovedá senzitivite 83,4 % a špecificite 38,9 %, hodnota 4,1 ng/ml senzitivite 20,5 % a špecificite 93,8 %)⁽²⁾. Možné sú falošne pozitívne a falošne negatívne výsledky. Aj u mužov s nízkou hladinou celkového PSA sa môže vyskytnúť rakovina vysokého stupňa. Momentálne neexistuje fixná a spoľahlivá hraničná hodnota hladiny PSA v sére, ktorá by odlíšila neagresívny karcinóm od agresívneho⁽³⁾.

Slabá prediktívna hodnota vyšetrenia PSA viedla k nadmernej diagnostike chorobných zmien prostaty⁽⁴⁾. Na základe prebehnutých štúdií vrátane ERSPC (European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer) konštatovala pôvodne Európska urologická spoločnosť (European Association of Urology), že nie sú jednoznačne splnené predpoklady na široký skrining nádorov prostaty v celej populácii

Obrázok 1. Incidencia karcinómu prostaty na Slovensku. Na Slovensku pozorujeme neustále stúpajúcu incidenciu karcinómu prostaty u mužov. Za posledných 30 rokov sa jeho incidencia strojnásobila. Zdroj ECIS⁽¹⁾



a odporúčala realizovať/ponúknuť vyšetrenie len pacientov po predchádzajúcom adekvátnom poučení s ohľadom na riziko^(5,6). Vzhľadom na rast incidencie choroby v súčasnosti prebiehajú rozsiahle diskusie o potrebe celopopulačného skriningu karcinómu prostaty. Aj z toho dôvodu má význam hľadanie nových diagnostických postupov a markerov využiteľných v diagnostike. Európska urologická spoločnosť vyzvala Európsku komisiu na intenzívnejšiu podporu a financovanie tohto výskumu.

Nový marker v diagnostike by mohla predstavovať kyselina sialová. Kyselina sialová je monosacharid, ktorý je procesom sialyzácie exprimovaný na terminálnych častiach glykoproteínov na povrchu buniek. Sialové kyseliny sa nachádzajú na N- aj O-viazaných glykánoch, často pripojených k základnému galaktózovému zvyšku, najčastejšie prostredníctvom α -2,6 alebo α -2,3 glykozidovej väzby⁽⁷⁾. Tento monosacharid je dôležitý v interakciách medzi bunkami navzájom aj medzi bunkami a okolitým mikroprostredím. Hrá zásadnú úlohu v stabilizácii glykoproteínovej štruktúry a pri určovaní povrchových charakteristík buniek^(8,9).

Zmenená sialyzácia často sprevádza malígnu transformáciu, podieľa sa na zvýšenej agresivite a raste nádorov. Nádorové bunky získavajú nové vlastnosti, ktoré im umožňujú uniknúť imunitnému systému organizmu, ovplyvňujú schopnosť invázie do okolitého tkaniva a metastázovania. V mnohých nádoroch bola preukázaná zmena sialyzácie proteínov v súvislosti s biologickým správaním nádoru a prognózou pacienta. Sialyzácia ovplyvňuje apoptózu⁽¹⁰⁾, neovaskularizáciu⁽¹¹⁾ v nádore, má vplyv na rezistenciu proti chemoterapii a rádioterapii^(12,13). Zmenu hladín kyseliny sialovej možno dokázať aj v sére pacientov. Bol zistený rozdiel v sérových hladinách kyseliny sialovej u pacientov s benignými léziami a malígnymi nádormi⁽⁹⁾.

Hodnotenie sialylácie by preto mohlo predstavovať zaujímavý prognostický, prípadne diagnostický marker s ohľadom na možné využitie aj v tekutej biopsii. Cieľom predloženej štúdie bolo preto posúdiť zmeny sialylácie glykokonjugátov vo vzťahu k nádorovej transformácii v tkanive prostaty.

Metodika

Základom štúdie sa stali archívne mikroskopické preparáty tkaniva prostaty fixované formalínom a zaliate v parafíne zo zdrojov Ústavu patologickej anatomie Lekárskej fakulty UK. Podľa stanovených patologických diagnóz sme vybrali celkovo 24 vzoriek. Sústredili sme sa na prípady nenádorových zmien prostaty (6 pacientov), adenokarcinómu prostaty s rôznym Gleasonovým skóre; 3 + 4 (6 pacientov), 4 + 4 (6 pacientov) a 4 + 5 (6 pacientov).

Tie sme opakovane histopatologicky zhodnotili podľa publikovaných WHO kritérií. Z vybraných preparátov sme zhotovili po dva paralelné rezy a histochemicky sme ich farbili pomocou dvoch typov lektínov. Použili sme aglutinín *Sambucus nigra* (SNA) špecifický pre α -2,6 väzbu a leukoaglutinín *Maackia amurensis* (MAL) špecifický pre α -2,3 väzbu sialovej kyseliny. Odparafínované preparáty boli preplachované 5 minút v PBS (vo fyziologickom soľnom roztoku pufrovanom fosfátmi s 0,5 % BSA, 0,05 % NaN_3 , 0,005 % Tween, pH 7,2). Preparáty sme inkubovali 90 minút v roztoku /ml biotinylovaného SNA a MAL (Vector, Carpinteria, CA) pri izbovej teplote. Po trojnásobnom prepláchnutí v PBS sme preparáty inkubovali

30 minút s komplexom streptavidinperoxidáza a po opakovanom prepláchnutí minútu farbili roztokom diaminobenzidínu. Preparáty boli následne dofarbené hematoxylnom.

Preparáty sme hodnotili vo svetelnom mikroskope, sústredili sme sa na posúdenie cytoplazmovej a luminálnej membránovej pozitivity hodnoteného markera. Hodnotená bola celá plocha preparátu, pre každé hodnotené pole bolo stanovené Gleasonovo skóre a každé pole bolo následne hodnotené samostatne. Nálezy sme vyjadrili semikvantitatívne s využitím semikvantitatívneho skóre nasledovne:

- 0 negatívita
- 0,5 slabá, resp. nepravidelná pozitivita
- 1 dobre hodnotiteľná pravidelná pozitivita
- 2 silná pravidelná pozitivita
- 3 veľmi silná pravidelná pozitivita

V ďalšom kroku sme intenzitu pozitivy kvantifikovali s použitím histomorfometrického softvéru ImageJ, v. 1.52p^(14,15) a vyjadrili ako skóre DAB intenzity (SDI), kde 0 je minimálna teoretická intenzita, 1 maximálna teoretická intenzita. Semikvantitatívne skóre DAB pozitivy (SDP) je vyjadrené ako priemer jednotlivých hodnotení \pm SEM. Výsledky boli vyhodnotené štatisticky použitím štatistického softvéru Graph Pad Prism s použitím Kruskalovho-Wallisovho neparametrického testu, hodnoty $p < 0,05$ boli považované za významné.

Výsledky

V tkanive prostaty sme pozorovali prítomnosť glykokonjugátov tak s α -2,3, ako aj s α -2,6 väzbou kyseliny sialovej, pričom dominovala najmä jej α -2,6 väzba. Pozorovali sme rozdiely pozitivy glykokonjugátov v súvislosti s nádorovou transformáciou v tkanive a v závislosti od gradingu nádoru.

V tkanive normálnej prostaty dominovala najmä veľmi silná cytoplazmová (SDP $2,83 \pm 0,08$) a luminálna membránová (SDP $2,62 \pm 0,11$) pozitivita α -2,6 väzanej sialovej kyseliny

(**obrázok 2**) a prevažne pravidelná luminálna (SDP $1,92 \pm 0,19$) pozitivita α -2,3 väzanej sialovej kyseliny (**obrázok 3**). Cytoplazmová pozitivita α -2,3 sialyzovaných glykokonjugátov bola slabá. Ložiská s prostatickou intraepitelovou neopláziou vykazovali mierny pokles pozitivy sialyzovaných glykokonjugátov, ktorý však nebol významne odlišný v porovnaní s tkanivom normálnej prostaty.

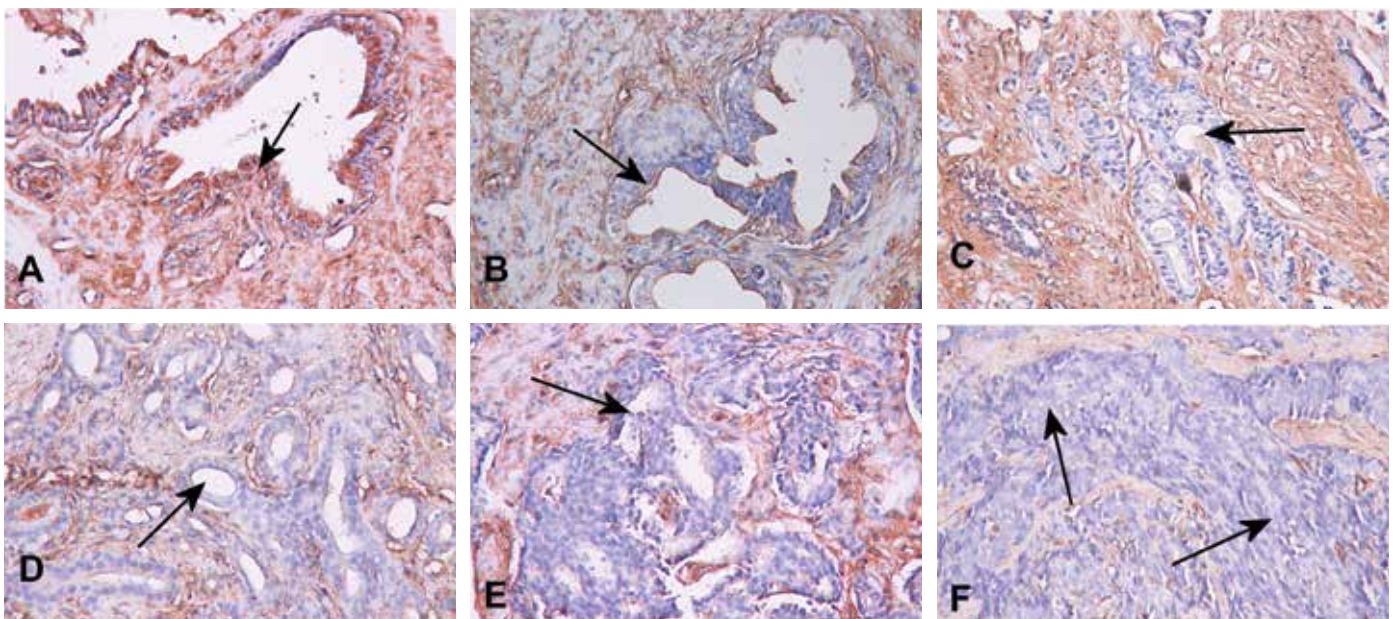
V súvislosti s nádorovou transformáciou dochádza k významnému poklesu cytoplazmovej (SDP $1,81 \pm 0,07$ v prípade Gleasonovho skóre 3, $1,07 \pm 0,10$ v prípade Gleasonovho skóre 4 a $0,9 \pm 0,10$ v prípade Gleasonovho skóre 5) a luminálnej membránovej (SDP $1,33 \pm 0,06$ v prípade Gleasonovho skóre 3, $1,04 \pm 0,04$ v prípade Gleasonovho skóre 4) pozitivy α -2,6 sialyzovaných glykokonjugátov. Pokles bol výraznejší v prípade nádorov s vyšším Gleasonovým skóre a bol potvrdený aj morfológickou kvantifikáciou (**obrázok 4**).

Pozorovali sme taktiež pokles cytoplazmovej pozitivy α -2,3 väzanej sialovej kyseliny, ktorý bol významnejší iba v prípadoch nádorov s vyšším Gleasonovým skóre. V prípade cytoplazmovej pozitivy sme zistili významný rozdiel pri nádoroch s Gleasonovým skóre 4 a 5 (SDP $0,44 \pm 0,06$ a $0,32 \pm 0,06$) v porovnaní s normálnym tkanivom prostaty (SDP $0,75 \pm 0,15$). Rozdiel sa ukázal výraznejší pri morfológickom hodnotení, kde významný pokles α -2,3 väzanej sialovej kyseliny bol pozorovaný v prípadoch karcinómov prostaty s rôznym Gleasonovým skóre, rovnako aj v prípadoch prostatickej intraepitelovej neoplázie (**obrázok 5**). Nádorová transformácia sa nespájala so významnými zmenami luminálnej membránovej pozitivy α -2,3 sialyzovaných glykokonjugátov.

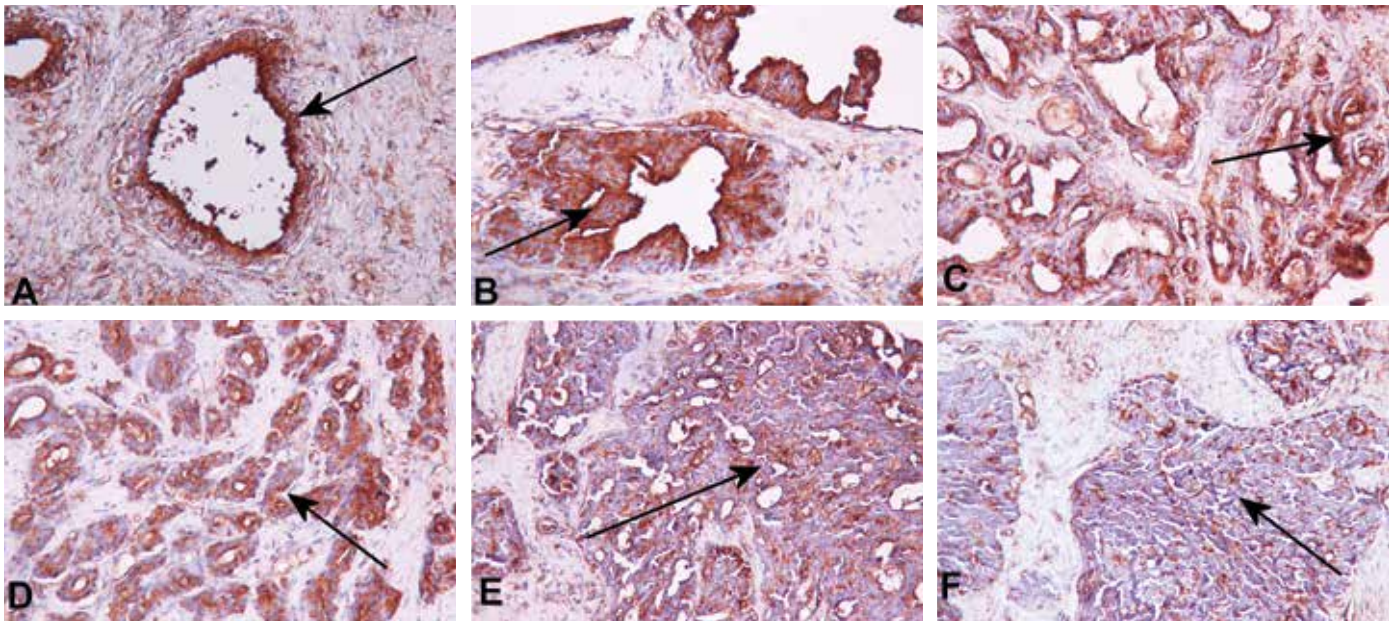
Diskusia

Preukázali sme zmeny sialyzácie glykokonjugátov v súvislosti s nádorovou transformáciou v prostate. Zmeny jej koncentrácie boli hodnotené vo vzorkách z biopsie s využitím dvoch typov lektínov. Lektín Sambucus nigra (SNA), izolovaný

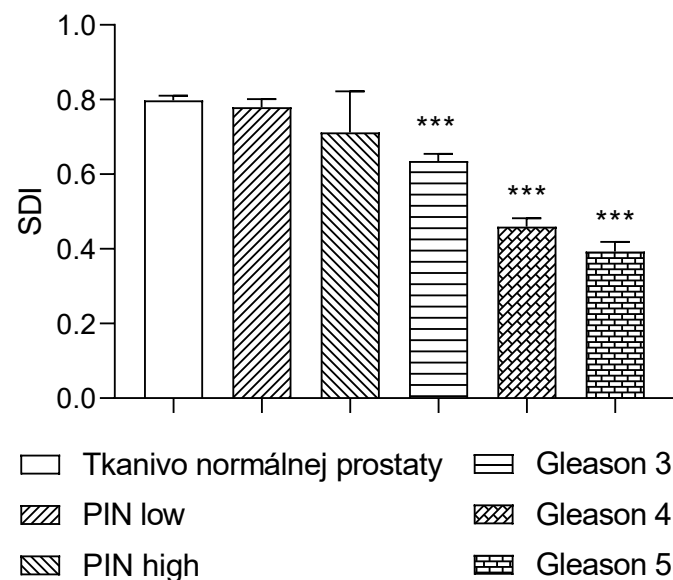
Obrázok 2. Expresia sialyzovaných glykokonjugátov v α -2,3 väzbe. V tkanive prostaty pozorujeme len slabú expresiu α -2,3 väzanej kyseliny sialovej. V súvislosti s jej nádorovou transformáciou dochádza k jej poklesu, ktorý je najvýraznejšie viditeľný v nádorových ložiskách s vyšším Gleasonovým skóre. A normálne tkanivo prostaty, B prostatická intraepitelová neoplázia, C a D adenokarcinóm prostaty Gleason 3, E adenokarcinóm prostaty Gleason 4, F adenokarcinóm prostaty Gleason 5. Lektínová histochemia, MAL, Streptavidín-Px, DAB, 200x



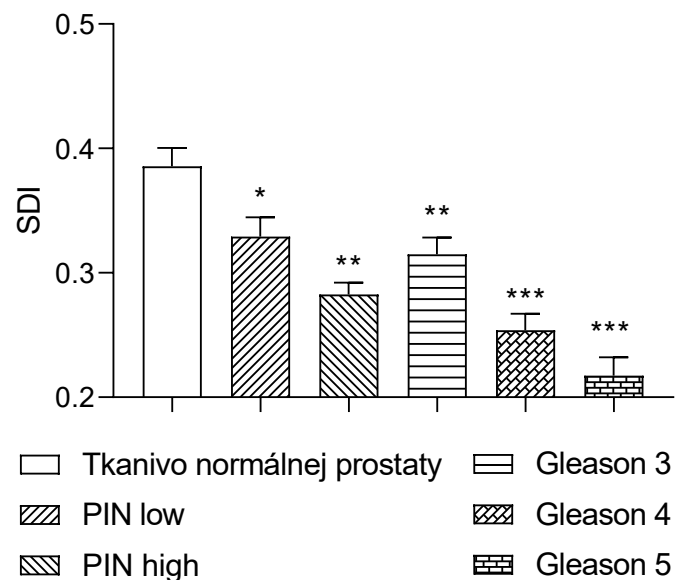
Obrázok 3. Expresia sialyzovaných glykokonjugátov v α -2,6 väzbe. V tkanive prostaty pozorujeme silnú a pravidelnú cytoplazmovú a luminálnu membránovú expresiu α -2,6 viazanej kyseliny sialovej. Počas nádorovej transformácie dochádza k jej poklesu, ktorý je signifikantnejší v nádorových ložiskách s vyšším Gleasonovým skóre. A normálne tkanivo prostaty, B prostatická intraepitelová neoplázia, C a D adenokarcinóm prostaty Gleason 3, E adenokarcinóm prostaty Gleason 4, F adenokarcinóm prostaty Gleason 5. Lektínová histochemia, SNA, Streptavidín-Px, DAB, 200x



Obrázok 4. Morfometrická analýza intenzity expresie glykokonjugátov v α -2,6 väzbe. Pokles expresie sialyzovaných glykokonjugátov v α -2,6 väzbe v prípade malígnych nádorov prostaty bol preukázaný aj morfometricky. SDI, skóre DAB intenzity



Obrázok 5. Morfometrická analýza intenzity expresie glykokonjugátov v α -2,3 väzbe. Pokles expresie sialyzovaných glykokonjugátov v α -2,3 väzbe v prípade malígnych nádorov a v ložiskách dysplastických zmien v tkanive prostaty bol výraznejšie hodnotiteľný pomocou morfometrickej analýzy obrazu. SDI, skóre DAB intenzity



z kôry bazy, sa prednostne viaže na kyselinu sialovú pripojenú ku koncovej galaktóze na väzbu α -2,6 a lektín Maackia amurensis (MAL) sa viaže na kyselinu sialovú viazanú α -2,3 väzbou. Takéto hodnotenie s diferencovaním typu jej terminálnej väzby doposiaľ nebolo v dostupnej literatúre dokumentované. Pri hodnotení boli pozorované rozdiely medzi benignými procesmi a malígnymi karcinómami.

V tkanive prostaty sme preukázali prítomnosť α -2,3 aj α -2,6 sialyzovaných glykokonjugátov s dominanciou α -2,6 väzby. Pozorovali sme výrazný pokles sialyzácie najmä v α -2,6 väzbe v súvislosti s nádorovou transformáciou v prostate, a to cytoplazmovej aj luminálnej membránovej pozitívnosti. Sialyzácia v α -2,6 väzbe sa nemení pri dysplastických zmenách v prostatickej intraepitelovej neoplázii. Tento nález bol

potvrdený aj morfometricky. Sialyzácia v α -2,3 väzbe je v tkanive prostaty menej výrazná, pokles v súvislosti s dysplastickými zmenami a nádorovou transformáciou je preto ťažšie pozorovateľný a hodnotiteľný a bol preukázaný najmä pomocou morfometrickej analýzy obrazu.

V tejto súvislosti sú zaujímavé nálezy Meany et al.⁽¹⁶⁾, ktorí pozorovali zvýšenú sialyzáciu PSA v sére u pacientov s karcinómom prostaty. Zvýšená hladina kyseliny sialovej v sére môže byť zaujímavý pomocný marker v prípade, ak nie je PSA dostatočne výpovedné⁽¹⁷⁾ a je nezávislým prognostickým faktorom karcinómu prostaty vrátane vzniku vzdialených metastáz⁽¹⁸⁾ a agresivity nádoru⁽¹⁹⁾. Predpokladáme preto, že nami pozorovaný pokles sialyzácie proteínov v tkanive prostaty súvisí s jej zvýšeným uvoľňovaním do séra.

Sialylácia glykokonjugátov je výsledkom rovnováhy medzi enzýmami viažucimi kyselinu sialovú na glykokonjugáty a enzýmami, ktoré ju uvoľňujú z jej väzby. Je preto možné, že zmeny akumulujúce sa v bunkách počas nádorovej transformácie môžu viesť k zmenám rovnováhy medzi sialyltransferázami a neuraminidázami v tkanive. Za fyziologických okolností je v tkanive prostaty exprimovaná najmä lyzozomálna sialidáza NEU1⁽²⁰⁾. Cytozolická sialidáza NEU2 a membránovo viazaná NEU3 nie sú v tkanive prostaty opisované v detegovateľnom

množstve⁽²⁰⁾. Bolo však dokázané značné zvýšenie expresie neuraminidázy NEU3 v prostatickom karcinóme, ktoré viedlo k zrýchleniu progresie nádoru, prevažne pre narušenú bunkovú signalizáciu na bunkovom povrchu⁽²¹⁾. Experimentálna inhibícia neuraminidáz prostredníctvom siRNA sa dáva do súvisu s poklesom prežívania nádorových buniek prostaty a so znížením ich metastatického potenciálu⁽²²⁾.

Hodnotenie expresie kyseliny sialovej priamo v tkanive prostaty tak môže mať hodnotný prínos v diagnostike malígnych nádorov v prostate. Môže mať význam pre lepšie pochopenie ich malígneho potenciálu. Očakávame, že práve komplexný pohľad na expresiu sialyzovaných proteínov, sialyltransferáz a neuraminidáz v nádore prostaty môže odkryť nové zaujímavé potenciálne terapeutické ciele v prostate.

Podakovanie: Štúdia bola realizovaná s podporou projektu VEGA 1/0191/17 „Diagnostický a prediktívny význam zmien zloženia glykokonjugátov asociovaných s nádorovou transformáciou prostaty“. Štúdia bola parciálne realizovaná ako súčasť práce výskumného centra vybudovaného vďaka podpore v rámci OP Výskuma vývoj pre projekt: „Centrum výskumu závažných ochorení a ich komplikácií“, ITMS 26240120038, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja

LITERATÚRA

1. ECIS. European Cancer Information System. Estimates of cancer incidence and mortality in 2018, for all countries. 2016 1. 9. 2019]; <https://ecis.jrc.ec.europa.eu>.
2. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL, 3rd, et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med* 2009; 360(13): 1310-9.
3. Llop E, Ferrer-Batalle M, Barrabes S, et al. Improvement of Prostate Cancer Diagnosis by Detecting PSA Glycosylation-Specific Changes. *Theranostics* 2016; 6(8): 1190-204.
4. Ferrer-Batalle M, Llop E, Ramirez M, et al. Comparative Study of Blood-Based Biomarkers, alpha2,3-Sialic Acid PSA and PHI, for High-Risk Prostate Cancer Detection. *Int J Mol Sci* 2017; 18(4).
5. Kilpelainen TP, Tammela TL, Malila N, et al. The Finnish prostate cancer screening trial: analyses on the screening failures. *Int J Cancer* 2015; 136(10): 2437-43.
6. Roobol MJ, Kerkhof M, Schroder FH, et al. Prostate cancer mortality reduction by prostate-specific antigen-based screening adjusted for nonattendance and contamination in the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Eur Urol* 2009; 56(4): 584-591.
7. Pihikova D, Pakanova Z, Nemcovic M, et al. Sweet characterisation of prostate specific antigen using electrochemical lectin-based immunosensor assay and MALDI TOF/TOF analysis: Focus on sialic acid. *Proteomics* 2016; 16(24): 3085-3095.
8. Samraj AN, Laubli H, Varki N, et al. Involvement of a non-human sialic Acid in human cancer. *Front Oncol* 2014; 4: 33.
9. Goswami K, Nandeeshha H, Koner BC, et al. A comparative study of serum protein-bound sialic acid in benign and malignant prostatic growth: possible role of oxidative stress in sialic acid homeostasis. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2007; 10(4): 356-9.
10. Huang S, Day TW, Choi MR, et al. Human beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase (ST3Gal III) attenuated Taxol-induced apoptosis in ovarian cancer cells by downregulating caspase-8 activity. *Mol Cell Biochem* 2009; 331(1-2): 81-8.

11. Chen JY, Tang YA, Huang SM, et al. A novel sialyltransferase inhibitor suppresses FAK/paxillin signaling and cancer angiogenesis and metastasis pathways. *Cancer Res* 2011; 71(2): 473-83.
12. Dawson G, Moskal JR, Dawson SA. Transfection of 2,6 and 2,3-sialyltransferase genes and GlcNAc-transferase genes into human glioma cell line U-373 MG affects glycoconjugate expression and enhances cell death. *J Neurochem*. 2004; 89(6): 1436-1444.
13. Schultz MJ, Swindall AF, Wright JW, et al. ST6Gal-I sialyltransferase confers cisplatin resistance in ovarian tumor cells. *J Ovarian Res* 2013; 6(1): 25.
14. Abramoff MD, Magelhaes PJ, Ram SJ. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 2004; 11(7): 36-42.
15. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* 2012; 9(7): 676-82.
16. Meany DL, Zhang Z, Sokoll LJ, et al. Glycoproteomics for prostate cancer detection: changes in serum PSA glycosylation patterns. *J Proteome Res* 2009; 8(2): 613-9.
17. Michalakis K, Ilias I, Triantafyllou A, et al. Detection of prostate cancer by sialic acid level in patients with non-diagnostic levels of prostate-specific antigen. *Maturitas* 2012; 73(4): 325-30.
18. Zhang C, Yan L, Song H, et al. Elevated Serum Sialic Acid Levels Predict Prostate Cancer As Well As Bone Metastases. *J Cancer* 2019; 10(2): 449-457.
19. Tkac J, Gajdosova V, Hroncekova S, et al. Prostate-specific antigen glycoproteomics as diagnostic and prognostic biomarker of prostate cancer. *Interface Focus* 2019; 9(2): 20180077.
20. Uhlen M, Fagerberg L, Hallstrom BM, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science* 2015; 347(6220): 1260419.
21. Hata K, Tochigi T, Sato I, et al. Increased sialidase activity in serum of cancer patients: Identification of sialidase and inhibitor activities in human serum. *Cancer Sci* 2015; 106(4): 383-9.
22. Li X, Zhang L, Shao Y, et al. Effects of a human plasma membrane-associated sialidase siRNA on prostate cancer invasion. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 416(3-4): 270-6.

MUDr. Andrea Janegová, PhD.

Ústav patologickej anatómie
Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave
Špitálska 24, 813 72 Bratislava
e-mail: andi.janegova@gmail.com