

ABSTRAKT

Cíl: Lektiny hrají důležitou roli v mnoha biologických procesech. Cílem této práce bylo analyzovat expresi endogenních lektinů a jejich glykoligandů v slzách a také v epitelu lidské rohovky, případně spojivky, a to jak u fyziologických, tak i u patologických stavů. Dále jsme se zabývali lidskou protilátkou Gal α 1,3Gal-R, která je zodpovědná zejména za hyperakutní rejekci xenotransplantátu. Snažili jsme se prozkoumat její lokalizaci v epitelu lidské rohovky, slzné žláze a slzném filmu.

Materiál a metodika: Zkoumali jsme lidské tkáně (slzné žlázy, slznou tekutinu, spojivku, rohovku, epidermis, keratinocyty a kultivovaný epitel rohovky), i prasečí tkáně (rohovka, játra a epidermis). Endogenní galektiny (galektin-1, -3 a -7) byly detekovány pomocí imunohistochemických metod. Vazebná místa pro galektiny, stejně jako vazebná místa pro rostlinný lektin aglutinin extrahovaný z rostliny *Dolichos biflorus*, byla lokalizována lektinovou histochemií. Reverzní lektinová histochemie byla použita při studiu vazebné reaktivity endogenních lektinů označené pomocí (neo)glykoligandů. Pomocí přírodních lidských biotinylovaných IgG anti α -galaktosidů a β -galaktosidů jsme zjistili reaktivní epitopy v lidské rohovce, slzných žlázách, slzné tekutině, kůži, svalových kapilárách a v prasečí rohovce, kůži a játrech. Expres galektinu-1 a -3, laktoferinu a α , β galaktosidů v slzách byla potvrzena pomocí western blot analýzy.

Výsledky: Galektin-1 byl přítomen v slzném filmu, rohovce a v limbálním epitelu, ale nevyskytoval se v konjunktiválním epitelu. Galektin-3 byl nalezen v slzách pacientů s poruchami povrchu oka, v normálním spojivkovém a rohovkovém epitelu, ale nebyl přítomen v slzné žláze. Zánětlivé leukocyty a pohárkové buňky nacházející se v slzách obsahujících galektin-3 také exprimovaly galektin-3. Vazebná místa pro galektin-3 byla detekována na povrchu spojivkového a rohovkového epitelu, spolu s desmogleinem. Všechny buněčné vrstvy epitelu rohovky vykazovaly přítomnost galektinu-7. Vazba aglutininu z rostliny *Dolichos biflorus* byla typická pro postmitotické časně diferencované buňky epitelu. Pokud jde o buněčnou reaktivitu, epitel prasečí rohovky nevykazoval přítomnost Gal α 1,3Gal struktur, o kterých víme, že jsou hojně exprimovány v buňkách štěpů u savců s výjimkou primátů a v důsledku toho způsobuje imunologickou bariéru mezi člověkem či jinými primáty Starého světa a ostatními savci, nepatřícími mezi primáty.

Závěry: Sledování přítomnosti galektinu-3 a jeho vazebných míst pomocí imunohistochemie může přispět k objasnění funkčních rolí galektinu v oku za normálních a patologických podmínek. Tyto výsledky ukazují na možnou účast galektinu-3 při zprostředkování mezibuněčných kontaktů epitelu rohovky, a to v suprabazálních vrstvách. Specifická vazba *Dolichos biflorus* aglutininu na postmitotické časně diferencované buňky epitelu ukazuje význam využití glykohistochemických metod při studiu diferenciace buněk dlaždicového epitelu. Nepřítomnost Gal α 1,3Gal struktur v epitelu prasečí rohovky nám pokládá otázku, zda by bylo možné použít prasečí rohovku a vrstvu epiteliálních buněk v klinické medicíně z pohledu α -Gal.