

# Úloha epigenetickej regulácie v procese epiteliálno-mezenchýmového prechodu

Mgr. Lucia Svoreňová<sup>1</sup>, Mgr. Božena Smolková, PhD.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra antropológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského Bratislava

<sup>2</sup>Oddelenie genetiky, Ústav experimentálnej onkológie BMC SAV, Bratislava

Metastatický rozsev je primárna príčina morbidity a mortality pri onkologických ochoreniach. Prítomnosť cirkulujúcich nádorových buniek v krvnom obehu koreluje s prognózou a je využívaná na monitorovanie odpovede na liečbu pri karcinómoch prsníka, prostaty a kolorekta. Epiteliálno-mezenchýmový prechod (EMT) je proces, počas ktorého epiteliálne bunky primárneho nádoru strácajú medzibunkové kontakty a bunkovú polaritu, menia štruktúru cytoskeletu a nadobúdajú prechodný mezenchýmový fenotyp so zvýšenou pohyblivosťou. Po intravazácii môžu získať vlastnosti nádorových kmeňových buniek s typickými vlastnosťami, ako je schopnosť sebaobnovy, rediferenciácie, dormancie, účinnej opravy DNA a rezistencie na liečbu. Z molekulárneho hľadiska je EMT sprevádzaná „prepnutím“ z expresie epiteliálnych na mezenchýmové proteíny. Aby boli takto zmenené bunky schopné osídliť vzdialené cieľové tkanivo, udržať a rozmnožovať sa v ňom je potrebné, aby v nich prebehol recipročný, mezenchýmovo-epiteliálny prechod. Dynamická regulácia aktivity génov prostredníctvom komplexných interakcií rôznych epigenetických mechanizmov môže teda zohrávať v reverzibilnom procese EMT významnú úlohu.

**Kľúčové slová:** cirkulujúce nádorové bunky, epigenetika, epiteliálno-mezenchýmový prechod, metylácia DNA, modifikácie histónov

## The role of epigenetic regulation in epithelial-to-mesenchymal transition

Metastatic spread of cancer is among the most leading causes of cancer-associated morbidity and mortality. Presence of circulating tumour cells in peripheral blood of patients correlate with prognosis and are being used to monitor the response to treatment in breast, prostate and colorectal cancer. Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) is considered to be an event associated with metastasis and adoption of a stem cell phenotype by tumour cells. Cells undergoing EMT can acquire the capacity for self-renewal, re-differentiation, dormancy, active DNA repair, and drug resistance. From the molecular point of view, EMT is accompanied by the “switch” in gene expression of epithelial to mesenchymal proteins. To be able to extravasate and colonize at a secondary site and form micrometastases, disseminated tumour cells have to undergo reciprocal mesenchymal-to-epithelial transition. Dynamic regulation of gene activities by complex interaction of various epigenetic mechanisms can therefore play key role in plasticity of EMT.

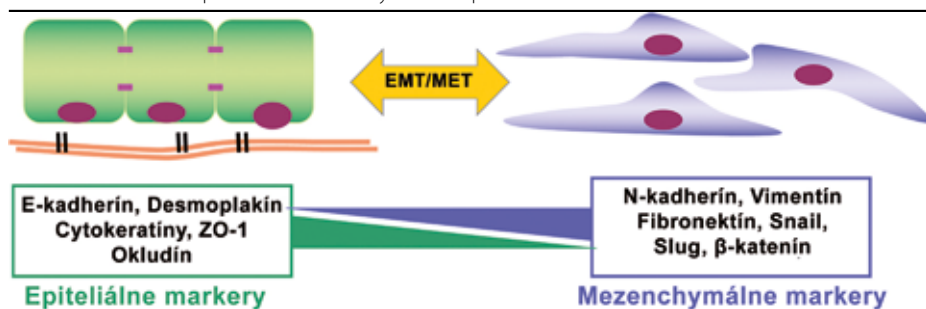
**Key words:** circulating tumour cells, epigenetics, epithelial-to-mesenchymal transition, DNA methylation, histone modifications

Onkológia (Bratisl.), 2017; roč. 12(6): 410–413

## Epiteliálno-mezenchýmový prechod

Charakteristickým znakom malígnych ochorení je ich invazívnosť, ktorá je hlavnou príčinou morbidity a mortality u onkologických pacientov. Metastatická choroba spočíva v migrácii nádorových buniek z primárneho nádoru do vzdialeného tkaniva po ich prieniku do lymfatických uzlín alebo cez endotel ciev do krvného obehu. Epiteliálno-mezenchýmový prechod (EMT) je komplexný proces, ktorý nádorovým bunkám umožňuje uskutočniť jednotlivé kroky metastatickej kaskády. EMT-podmiernená zmena epiteliálneho na mezenchýmový fenotyp má významnú úlohu počas embryogenézy, gastrulácie a organogenézy a významne zvyšuje úroveň motility a invazivity pri nádorových bunkách (1). Aktivácia EMT závisí od kooperácie rôznych extracelulárnych signálov, ktoré bunka prijíma od okolitého mikroprostredia. Premena tak podlieha molekulovému

**Obrázok 1.** Proces epiteliálno-mezenchýmového prechodu



signálnemu systému, v ktorom sa uplatňuje spolupráca rady rastových faktorov, enzýmov a cytokínov s niekoľkými signálnymi dráhami, napríklad Notch alebo Wnt (2). Medzi vlastnosti epiteliálnych buniek patria adhézia a súdržnosť, ktoré sa zakladajú na prítomnosti tesných laterálnych medzibunkových spojov a na existencii apikálnej a bazocelulárnej polarity. V procese EMT dochádza k reorganizácii cytoskeletu, mezenchýmové bunky sú predĺženého tvaru, pola-

rita medzi nimi nie je zachovaná, čo im umožňuje voľne migrovať (3). Zmeny na molekulovej úrovni bunky (obrázok 1) súvisia so znížením expresie epiteliálnych génov (E-kadherín, cytokeratín) a so zvýšením expresie mezenchýmových génov (N-kadherín, vimentín). Po prieniku do cirkulácie sa bunky primárneho nádoru stávajú cirkulujúcimi nádorovými bunkami (CTC). Časť z nich môže v procese EMT získať vlastnosti nádorových kmeňových buniek (CSC). Aby boli

takto zmenené bunky schopné osídliť vzdialené cieľové tkanivo a založiť metastázu, je potrebné, aby v nich prebehol recipročný mezenchýmovo-epiteliálny prechod (MET) (4). Plasticita týchto reverzibilných procesov je zabezpečená prostredníctvom epigenetickej regulácie expisie génov.

### Epigenetické mechanizmy regulácie expisie génov

Termín epigenetika zahŕňa dedičné zmeny v expresii génov a v štruktúre chromatinu, ktoré nesúvisia so zmenou primárnej genetickej informácie, teda zmeny nekódované v sekvencii báz v reťazci DNA. Podľa Vyskota (5) vzťah medzi genetikou a epigenetikou je možné vyjadriť prirovnaním ku knihe, ktorá obsahuje text alebo genetickú informáciu, a jej výkladom, ktorý je možné interpretovať individuálne. V priebehu vývinu mnohobunkového organizmu dochádza k diferenciacii rozmanitých fenotypov buniek. Aj keď väčšina z nich disponuje rovnakou primárnou genetickou informáciou, charakter bunky definujú proteíny, ktoré vznikli ako výsledok špecifického profilu génovej expisie. V širšom slova zmysle tak epigenetiku môžeme chápať ako premostenie medzi genotypom a fenotypom bunky (6).

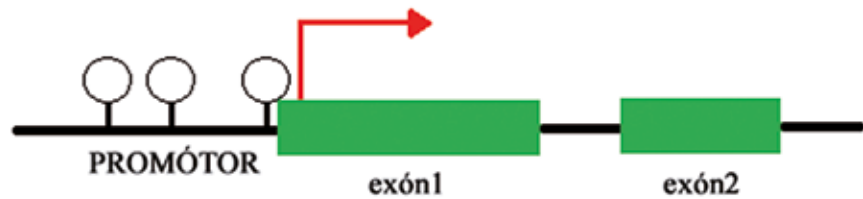
Medzi základné epigenetické mechanizmy regulácie expisie génov patria metylácia DNA, modifikácia histónov a následná remodelácia chromatinu, nekódujúce RNA a ich vzájomné interakcie (7). Tieto okrem plnenia svojej individuálnej úlohy vzájomne na seba pôsobia na niekoľkých úrovniach. Rakovinový epigenóm je charakterizovaný globálnymi zmenami v metylácii DNA a modifikáciách histónov, ako aj zmenami v profiloch expisie chromatin-modifikujúcich enzýmov a miRNA. Epigenetické modulácie majú za následok celkovú dysreguláciu génovej expisie, ktorá vedie k rozvoju a progresii ochorenia (8).

### Metylácia DNA

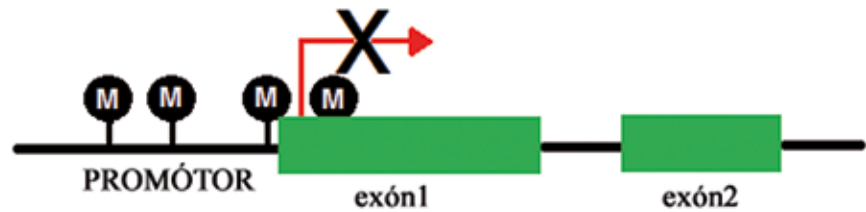
Kovalentné naviazanie metylovej (-CH<sub>3</sub>) skupiny na piaty uhlík cytozínu známe ako metylácia DNA patrí k najlepšie preštudovaným epigenetickým mechanizmom. V somatických bunkách cicavcov sa metylácia DNA vyskytuje takmer výlučne na CpG dinukleotidoch, teda na cytozín susediacom s guanínom. Metylované sekvencie DNA lokalizované v promótoroch génov v zhlukoch známych ako CpG ostrovčeky sú považované za transkripčne neaktívne, čo sa významne uplatňuje pri regulácii génovej expisie (obrázok 2). Miesto a stupeň metylácie DNA v danej oblasti génu závisí najmä od metylácie v rodičovských bunkách, teda je prenášaná dedične (9).

**Obrázok 2.** Inaktivácia expisie génu metyláciou DNA (upravené podľa: <http://www.epibeat.com/what-is-epigenetics/>)

### Gény sa exprimujú



### Gény inaktivované DNA metyláciou



- Metylovaný CpG dinukleotid
- Nemetylovaný CpG dinukleotid

Proces metylácie je riadený enzýmami DNA metyltransferázami (DNMT), ktoré sú zodpovedné za vytvorenie a udržanie metylačného vzoru DNA. U cicavcov ich reprezentujú DNMT1, DNMT2, DNMT3a, DNMT3b a DNMT3L, ale iba tri z nich, DNMT1, DNMT3a a DNMT3b, charakterizuje metyltransferázová aktivita. DNMT1 počas replikácie metyluje novovzniknuté vlákno DNA podľa vzoru pôvodného vlákna a udržuje tak epigenetickú informáciu. DNMT3a a DNMT3b sú klasifikované ako *de novo* metyltransferázy, pretože sú zodpovedné za vytvorenie metylačného vzoru kmeňových buniek, primárne metyláciou CpG dinukleotidov. Metylačne označenú DNA potom rozpoznávajú proteíny, ktoré inhibujú génovú expresiu (6).

Hypermetylácia promótorov nádorových supresorových génov ako aj globálna hypometylácia DNA, ktorá okrem genómovej instability môže viesť k aktivácii expisie onkogénov, zohrávajú v tumorigenéze rovnako významnú úlohu ako mutácie.

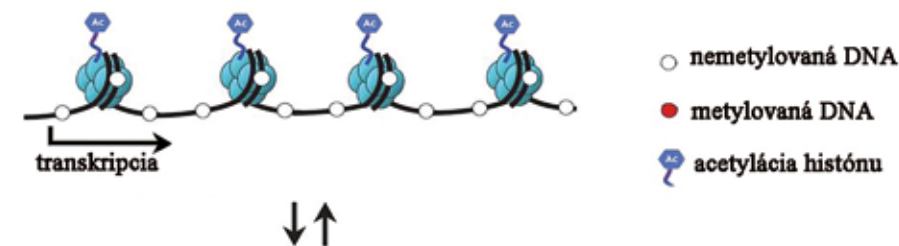
### Modifikácie histónov

Histónové proteíny spolu s tesne ovinutým vláknom DNA vytvárajú DNA-bielkovinový komplex nazývaný nukleozóm, základnú jednotku chromatinu. Každý nukleozóm je oktamér zložený z dvoch kópií štyroch hlavných histónov: H2A, H2B, H3 a H4. V cicavčích bunkách dochádza

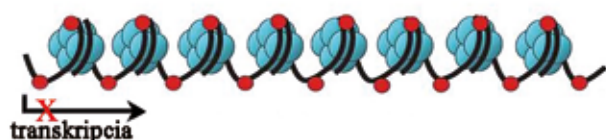
na N-terminálnych koncoch histónov k rôznym enzymatickým modifikáciám. Súbor konkrétnych modifikácií určitých aminokyselín v určitých histónoch sa označuje ako histónový kód. Medzi najlepšie opísané modifikácie histónových proteínov patria acetylácia, metylácia, ubikvitinácia a fosforylácia. Kombinácia týchto kovalentných modifikácií histónov má za následok dynamické zmeny v stave chromatinu, tzv. chromatinovú remodeláciu a následnú epigenetickú kontrolu expisie génov (obrázok 3). Dešpiralizovaný, transkripčne aktívny euchromatín sa môže prostredníctvom rôznych regulačných mechanizmov kondenzovať do štruktúry heterochromatinu so silne skrútenými vláknami. Takýto typ je transkripčne neaktívny, jeho konfigurácia už nedovoľuje nasadnúť transkripčným faktorom a RNA polymerázam, čím sa zabezpečí stabilizácia chromozómov a zabráni sa prepisu špecifických génov, tzv. „silencing“ génov (10). Acetylácia histónov vedie k dekonenzácii štruktúry chromatinu, ktorá umožňuje aktívnu transkripciu DNA. Naopak, deacetylácia a metylácia histónov, vedú ku kondenzácii chromatinu a represii transkripcie. Inhibítory históndeacetyláz (HDAC) umožňujú reexpresiu epigeneticky inaktivovaných génov. Mnohé sú testované v klinických štúdiách na epigenetickú terapiu hematologických malignít a perspektívne aj solidných nádorov (11).

**Obrázok 3.** Regulácia expície génu interakciou viacerých epigenetických mechanizmov (upravené podľa: <http://cnx.org/content/m26565/latest/graphics35.jpg>)

### AKTÍVNY CHROMATÍN



### INAKTÍVNY CHROMATÍN



### Nekódujúce RNA

Analýza nekódujúcich RNA je relatívne nová oblasť epigenetického výskumu zameraná najmä na malé, zvyčajne 19 až 25 nukleotidové, nekódujúce molekuly RNA, tzv. mikroRNA (miRNA), ktoré majú rozhodujúcu úlohu v regulácii celého radu biologických procesov. Primárnym posttranskripčným mechanizmom regulácie expície je naviazanie miRNA na komplementárnu mRNA, pričom je inhibovaná translácia mRNA na proteín alebo je mRNA degradovaná (12). Niektoré miRNA sú súčasťou intrónov génov kódujúcich proteíny a sú prepisované spolu s primárnym transkriptom, zatiaľ čo iné môžu byť prepisované z vlastnej gébovej sekvencie. Jedna miRNA môže byť komplementárna k viacerým cieľovým mRNA, rovnako každá mRNA môže byť regulovaná niekoľkými miRNA (13).

Na podobných princípoch regulácie gébovej transkripcie fungujú aj dlhé nekódujúce RNA (lncRNA), ktoré sú definované ako transkript RNA s dĺžkou väčšou ako 200 nukleotidov, bez schopnosti kódovať proteíny. Široké spektrum funkcií lncRNA je opísané najmä pri ich interakciách s mRNA, miRNA, resp. proteínmi (14).

Nekódujúce RNA zaznamenávajú v súčasnom vedeckom výskume rastúcu popularitu najmä vďaka veľkému potenciálu zasahovať do tumorigenézy nádorov a podieľať sa na procesoch angiogenézy, bunkovej proliferácie, migrácie a apoptózy (14).

### Úloha epigenetických mechanizmov v EMT

Plasticita a reverzibilita EMT naznačujú, že epigenetická regulácia hrá v tomto procese významnú úlohu (15). Zmeny v metylácii DNA, remodelácia chromatinu podmienená modifikáciami

histónov a aberantná expícia nekódujúcich RNA sú zodpovedné za represiu epiteliálnych markerov a premenu epiteliálnych buniek na agresívne, invazívne nádorové bunky mezenchýmovej morfológie. Pri karcinóme prsníka bolo dokázané, že expícia typicky mezenchýmových génov je častejšia pri basal-like a triple-negatívnych nádoroch, charakteristických zlou prognózou ochorenia (16). Bunky izolované z týchto nádorov vykazujú mnohé vlastnosti CSC.

Expícia E-cadherínu kódovaného génom *CDH1* je kľúčový faktor na udržanie epiteliálneho fenotypu buniek. Početné štúdie dokázali kumuláciu EMT-asociovaných transkripčných faktorov do promótoru *CDH1* génu po aktivácii EMT programu, ale presný mechanizmus epigenetickej inaktívácie v dôsledku EMT nie je známy. Pri karcinóme prsníka bola opísaná inaktívacia expície E-cadherínu v dôsledku hypermetylácie DNA (17). Ide však o komplexný viacstupňový proces regulovaný aj rôznymi histón-modifikujúcimi enzýmami. Patria k nim proteíny tzv. „polycomb“ komplexu (PcG), ktoré majú významnú úlohu v regulácii expície génov v embryogenéze, multimerické komplexy tvorené histón acetyltransferázami a histón deacetylázami ako aj lýzín-špecifická demetyláza LSD1. Bolo dokázané, že práve táto je vysokoexpresovaná v estrogén receptor-negatívnych (ER-) nádoroch prsníka, ktoré vykazujú mezenchýmové expresné profily génov (18). Zdá sa, že regulácia prostredníctvom modifikácie histónov zodpovedá za dynamiku EMT programu. Predchádza samotnú metyláciu DNA, ktorá je markerom pretrvávajúceho pôsobenia potentných EMT-indukujúcich signálov (19).

Synergické pôsobenie jednotlivých epigenetických mechanizmov, konsolidované vyššou

hierarchiou usporiadania chromatinu je nevyhnutné na dynamické a reverzibilné zmeny expície génov, charakteristické pre proces EMT. Koexistencia bivalentných histónových značiek v promótoroch niektorých EMT-asociovaných génov, podobne ako je to pri embryonálnych kmeňových bunkách, naznačuje, že tieto gény odpovedajú zmenami expície na signály z mikroprostredia. V populácii CSC obohatených CD44+ buniek primárných epiteliálnych prsných tkanív nesie takéto bivalentné označenie vo svojom promótoru napríklad gén *CDH1*, zatiaľ čo viac diferencované CD24+ bunky toto bivalentné značenie nemajú.

Je otázne, nakoľko sa v kontexte regulácie EMT uplatňujú veľké genomické epigenetické rekonfigurácie známe z iných aspektov tumorigenézy. Hoci sa nám zdá nemožné, aby sa zmeny expície týkali celej škály a nielen malého spektra proteínov, nedávne štúdie ukázali, že epigenetické remodelovanie celých oblastí genómu môže byť hlavnou hybnou silou v tumorigenéze. Takéto deregulované oblasti by mohli obsahovať onkogény, tumorsupresory, gény pre EMT-asociované transkripčné faktory a miRNA (20, 21).

Identifikácia epigeneticky regulovaných génov, podieľajúcich sa na procese EMT by mohla predstavovať ľahko dostupný biomarker na hematogénne šírenie metastáz. Značná pozornosť bola venovaná analýze voľnej DNA z krvnej plazmy a identifikácii nádorovo-špecifických zmien v CTC z periférnej krvi. Ich skorá detekcia a odhalenie nádorovo-špecifickej metylácie by poskytli ďalšie poznatky, potrebné na štúdium metastatického procesu a vytvorili by nové možnosti včasnej detekcie a diagnostiky ochorenia. Metylácia génov vyžaduje vysokú tkanivovú špecifitu pre určité typy malignít. Napríklad v kolorektálnych nádoroch a karcinóme žalúdka je často hypermetylovaný *MLH1* gén, v karcinómoch prsníka a ovárií predovšetkým *BRC1* gén. Hoci využitie metylačných profilov génov v úlohe nádorových biomarkerov v periférnej krvi má značný prognostický potenciál, zavedeniu takéhoto typu analýz do klinickej praxe bránia mnohé metodologické prekážky. Pri voľnej DNA z plazmy sú to predovšetkým rozporuplné výsledky publikovaných štúdií spôsobené pravdepodobne nejednotnosťou postupov pri odbere, spracovaní materiálu a vyhodnocovaní výsledkov. Pri CTC bráni ich klinickému využitiu ich relatívna zriedkavosť v analyzovanom objeme krvi (1). Intenzívny výskum zameraný na vývoj metodík, ktoré umožnia ich izoláciu a priamu molekulárnu charakterizáciu, môže prispieť k lepšiemu pochopeniu metastatického procesu.

## Epigenetické terapie zacielené na EMT

Počas tumorigenézy sú relatívne malé populácie nádorových buniek s charakteristikou CTC hlavnou príčinou metastázovania a rekurencie (22). Dôkaz epigenetickej regulácie epiteliálno-mezenchýmovej plasticity vo vzťahu k CTC odhalil nové ciele pre terapeutické intervencie. Obnovenie expresie niektorých epiteliálnych regulátorov vrátane niektorých miRNA by umožnilo diferenciáciu CSC na menej agresívne, epiteliálne bunkové typy. Monoterapie alebo kombinované epigenetické terapie, ktoré boli úspešne použité v liečbe myelodysplastického syndrómu a leukémie, by mohli umožniť senzibilizáciu CSC proti tradičným terapeutickým postupom. Nešpecifickosť týchto prístupov však stále bráni v ich použití na liečbu solídnych nádorov a prináša rad negatívnych vedľajších účinkov. Bolo napríklad dokázané, že hypometylácia DNA v dôsledku použitia inhibítora DNMT1 u myši viedla k chromozómovej instabilite a zvýšenej incidencii nádorov (23). Účinok týchto epigenetických modulátorov môže mať rôzny vplyv v závislosti od patofyziologických podmienok a času aplikácie. Kým v skorých štádiách tumorigenézy môžu zabrániť diseminácii nádorových buniek, v neskorých fázach ochorenia môžu podporiť metastatickú kolonizáciu už diseminovaných CTC. Bolo dokonca dokázané, že inhibítory HDAC môžu indukovať EMT pri karcinóme prostaty a nosohltana (24, 25). Vzhľadom na široké spektrum cieľových génov a naše limitované poznatky o vplyve ich komplexnej deregulácie je potrebné pristupovať k epigenetickej terapii s opatrnosťou, po zvážení možných plusov a mínusov.

## Záver

Odpoveď na jednu z najzaujímavejších otázok súčasného epigenetického výskumu, akým spôsobom rôzne epigenetické mechanizmy vzájomne interagujú a aký mechanizmus je zodpovedný za špecifické súvislosti medzi nimi, ostáva stále nezodpovedaná. Ďalší výskum zameraný na jej zodpovedanie, by mohol zohrať kľúčovú úlohu v pokrokoch patofyziológie nádorových ochorení a poskytnúť nové diagnostické a terapeutické modality pre ich liečbu.

## Literatúra

- Mego M. Cirkulujúce a diseminované nádorové bunky. *Onkológia (Bratisl.)*. 2010;5(6):356–359.
- Mego M, et al. Expression of epithelial-mesenchymal transition-inducing transcription factors in primary breast cancer: The effect of neoadjuvant therapy. *Int J Cancer*. 2012;130(4):808–816.
- Cervantes-Arias A, Pang LY, Argyle DJ. Epithelial-mesenchymal transition as a fundamental mechanism underlying the cancer phenotype. *Vet Comp Oncol*. 2012;11(3):169–184.
- Tsai JH, Yang Y. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. *Genes Dev*. 2013;27:2192–2206.
- Vyskot B. *EpiGenetika*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 2010. 152 s. ISBN 978-80-244-2534-4.
- Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes dev*. 2002;16:6–21.
- Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol*. 2010;28(10):1057–1068.
- Kanwal R, Gupta S. Epigenetic modifications in cancer. *Clin Genet*. 2012;81(4):303–311.
- Fukushige S, Horii A. DNA methylation in cancer: a gene silencing mechanism and the clinical potential of its biomarkers. *Tohoku J Exp Med*. 2013;229(3):173–185.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis*. 2010;31(1):27–36.
- Herceg Z, Hainaut P. Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis. *Mol oncol*. 2007;1(1):26–41.
- Piva R, Spandidos DA, Gambari R. From microRNA functions to microRNA therapeutics: novel targets and novel drugs in breast cancer research and treatment (Review). *Int J Oncol*. 2013;43(4):985–994.

- Tammen SA, Friso S, Choi SW. Epigenetics: the link between nature and nurture. *Mol Aspects Med*. 2013;34(4):753–64.
- Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer*. 2011;10:38–55.
- Nickel A, Stadler SC. Role of epigenetic mechanisms in epithelial-to-mesenchymal transition of breast cancer cells. *Transl Res*. 2015;165(1):126–142.
- Carey L et al. Triple-negative breast cancer: disease entity or title of convenience? *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7:683–692.
- Kiesslich T, Pichler M, Neureiter D. Epigenetic control of epithelial-mesenchymal-transition in human cancer. *Mol Clin Oncol*. 2013;1(1):3–11.
- Lim S et al. Lysine-specific demethylase 1 (LSD1) is highly expressed in ER-negative breast cancers and a biomarker predicting aggressive biology. *Carcinogenesis*. 2010;31:512–520.
- Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1438–1449.
- Bert SA et al. Regional activation of the cancer genome by long-range epigenetic remodeling. *Cancer Cell*. 2013;23:9–22.
- Easwaran H, Baylin SB. Epigenetic abnormalities in cancer find a „home on the range“. *Cancer Cell*. 2013;23:1–3.
- Altaner C, Altanerová V. Úloha kmeňových buniek pri vzniku nádoru, tvorbe metastáz a ich využitie v nádorovej terapii. *Onkológia (Bratisl.)*. 2010;5(1):26–30.
- Yang AS et al. Comment on „Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation“ and „Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation“. *Science*. 2003;302:1153.
- Kong D et al. Histone deacetylase inhibitors induce epithelial-to-mesenchymal transition in prostate cancer cells. *PLoS ONE*. 2012;7:e45045.
- Jiang GM, et al. Histone deacetylase inhibitor induction of epithelial-mesenchymal transitions via up-regulation of Snail facilitates cancer progression. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833:663–671.

### Mgr. Lucia Svoreňová

Katedra antropológie,  
Prírodovedecká fakulta,  
Univerzita Komenského  
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava  
l.svorenova@orangemail.sk

