

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



MUDr. Lukáš Lacina

Glykobiologie epidermis
za fyziologických a patologických podmínek

Autoreferát dizertační práce

PRAHA

2008

Doktorské postgraduální studium v biomedicině

Studijní obor: Biologie a patologie buňky

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Milan Elleder, DrSc.

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia na

Anatomickém ústavu 1. LF UK a Dermatovenerologické klinice 1. LF UK

Uchazeč: MUDr. Lukáš Lacina

Hlavní školitel: Prof. MUDr. Karel Smetana, DrSc.

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Štork, CSc.

Oponenti:

Obhajoba disertační práce se koná dnev hodin

S obsahem disertační práce je možno se seznámit na děkanátu 1. LF UK,
Kateřinská 32, Praha 2.

OBSAH

1. Cíle práce.....	4
2. Publikované práce autora se vztahem k tématu dizertace.....	5
3. Glykobiologie a lektinomika.....	6
3.1 Lektiny.....	6
3.2 Galektiny	7
4. Bazocelulární karcinom	8
5. Nádorové stroma, organizace a funkce	10
6. Psoriasis.....	12
7. Kmenové buňky.....	12
8. Materiál a metody	13
9. Výsledky a diskuze	15
10. Souhrn	22
11. Summary	23
12. Literatura	24
13. Citační ohlas a ocenění	35

1. Cíle práce

Onemocnění kůže jsou etiologicky velmi heterogenní povahy a souhrnně patří mezi nejčastější lidská onemocnění vůbec. Toto spektrum zahrnuje choroby vrozené i získané. Biologická povaha těchto patologických stavů je různá, pohybuje se tedy od stavů zcela benigních až po vysoce maligní.

Mezi maligní nádorová onemocnění kůže patří například bazocelulární karcinom. Jedná se o vůbec nejčastější maligní nádor postihující evropskou populaci. Ve srovnání s jinými primárními nádory kůže, například s maligním melanomem, či karcinomem z Merkelových buněk, je bazocelulární karcinom relativně málo agresivní onemocnění. Jeho význam je ale zcela nezanedbatelný s ohledem na již zmíněnou vysokou incidenci a celkové náklady plynoucí z jeho léčby. Tyto důvody mne vedly k tomu, abych ve své práci zvolil právě bazocelulární karcinom jako jedno z modelových onemocnění. Některá onemocnění *per se* jsou naopak biologicky povahy zcela benigní, avšak jejich chronický průběh může být doprovázen rozvojem závažných sekundárních komplikací. Stejně tak psychosocioekonomický dopad i zcela benigního nenádorového onemocnění může být v konečném efektu pro pacienta devastující. Vhodným modelem pro takovéto onemocnění s vysokou incidencí, benigním průběhem ale závažným dopadem na život pacienta je psoriáza, lupénka. Proto jsem právě ji zvolil jako druhý modelový patologický stav.

Lze předpokládat, že detailní porozumění biologickým pochodům v kůži za fyziologických i za patologických podmínek může vést ke zlepšení stávajících diagnostických a terapeutických možností medicíny. Ve své práci jsem se zaměřil na sledování následujících okruhů otázek:

- Studium glykofenotypu lidské kůže pomocí exprese a vazby endogenních lektinů (jmenovitě galektin-1, galektin-2, galektin-3 a galektin-7) za fyziologických podmínek se zvláštním zřetelem na využití těchto markerů zejména ke studiu diferenciaci epidermis
- Srovnání výsledků zjištěných v normálních tkáních se zvolenými modelovými patologickými stavy (bazocelulární karcinom a psoriáza)
- Srovnání výsledků zjištěných v normálních i patologických tkáních a za standardních kultivačních podmínek *in vitro* s experimentálně simulovanými patologickými situacemi *in vitro*

2. Publikované práce autora se vztahem k tématu dizertace

Níže uvedené práce jsou řazeny chronologicky, v textu jsou označeny římskými číslicemi, v závorce je uvedena hodnota impakt faktoru, kopie článků jsou přiřazeny na konci této dizertace a tvoří její nedílnou součást.

- I. Dvořánková B, Smetana K Jr., Chovanec M, **Lacina L**, Štork J, Plzánková Z, Galovičová M, Gabius HJ: Transient expression of keratin K19 is induced in originally negative interfollicular epidermal cells by adhesion of suspended cells. *Int. Molec. Med.* 2005,16, p. 525-531. **(IF 2,090)**
- II. **Lacina L**, Smetana K Jr., Dvořánková B, Štork J, Plzánková Z, Gabius HJ: Immunocyto- and histochemical profiling of nucleostemin expression: Marker of epidermal stem cells? *J Dermatol Sci*, 2006, 44(2), p. 73-80. **(IF 2.636)**
- III. **Lacina L**, Plzánková Z, Smetana K Jr., Štork J, Kaltner H, André S: Glycophenotype of Psoriatic Skin. *Folia Biologica, (Praha)* 2006 ,52, p. 10-15. **(IF 0.387)**
- IV. **Lacina L**, Smetana K Jr, Dvořánková B, Pytlík R, Kideryová L, Kučerová L, Plzánková Z, Štork J, Gabius HJ, André S: Stromal fibroblasts from basal cell carcinoma affect phenotype of normal keratinocytes. *Brit J Dermatol* 2007, 156: p. 819-829. **(IF 3.503)**
- V. **Lacina L**, Dvořánková B, Smetana K Jr, Chovanec M, Plzák J, Tachezy R, Kideryová L, Kučerová L, Čada Z, Bouček J, Kodet R, André S, Gabius HJ: Marker profiling of normal keratinocytes identifies the stroma from squamous cell carcinoma of the oral cavity as a modulatory microenvironment in co-culture. *Int Radiation Biol*, 2007,83: p. 837-848, **(IF 1.468)**
- VI. Smetana K Jr, Dvořánková B, **Lacina L**, Čada Z, Vonka V. Human hair follicle and interfollicular keratinocyte reactivity to mouse HPV16-transformed cells: An in vitro study. *Oncol Rep*, 2008, 20(1), p.75-80. **(IF 1.597)**
- VII. Dvořánková B, **Lacina L**, Smetana K Jr, Lensch M, Manning JC, André S, Gabius HJ. Human galectin-2: nuclear presence in vitro and its modulation by quiescence/stress factors. *Histol Histopathol*, 2008, 23(2), p. 167-78. **(IF 2.007)**
- VIII. Čada Z, Chovanec M, Smetana K Jr., Betka J, **Lacina L**, Plzák J, Kodet R, Štork J, Lensch M, Kaltner H, André S, Gabius HJ. Galectin-7: Will the lectin's activity establish clinical correlations in head and neck squamous and basal cell carcinomas? *Histol Histopathol*, 2008.(in press). **(IF 2.007)**

3. Glykobiologie a lektinomika

Molekulární biologie byla dlouhá léta zaměřena na sledování základní linie uchování genetické informace mezi nukleovými kyselinami (replikace, transkripce a reverzní transkripce) a realizaci této informace při syntéze proteinů (translace). Stejně intenzivně byly posléze sledovány i zpětnovazebné regulační mechanismy. S rostoucí sumou poznatků se ukázalo, že důležitou podmínkou správného fungování některých proteinů není jen jejich struktura vyplývající z přesné translace, ale že svou roli sehrávají i další strukturální úpravy, které přímo nevyplývají ze sekvence genu pro daný protein.

Tyto takzvané posttranslační modifikace byly patrně nejnázorněji prostudovány na příkladu fosforylací a defosforylací, které významně regulují mnoho důležitých biologických pochodů. Adicí několika stejných či různých chemických skupin může být dále dosaženo jemnější regulace biologického děje.

Požadavky pro přenos informace v biologických systémech zahrnují především vysokou afinitu chemických vazeb při dekodování uložené informace, která eliminuje riziko neurčitých, či chybných interpretací. Další výhodou je vysoká denzita informačního kódu, která snižuje energetické nároky na uchování a přenos informace. Poslední podmínkou je i snadná dostupnost takovéto molekuly v buňce a možnost její jednoduché modifikovatelnosti.

Strukturální variabilita činí ze sacharidů ideální „hardware“ pro uchování biologické informace, i jemná změna struktury, či dokonce jen konformace téže molekuly může být nositelem signálu. Teoreticky převyšuje množství informace kódovatelné v „glykódu“ o několik řádů velikost informace kódované pomocí α -aminokyselin, či nukleotidů.

Do současné doby ale neexistuje přesný odhad množství informace, která je tímto způsobem kódována v reálných biologických systémech.

Podle některých genomických údajů až 1% veškerých ORF (*open reading frame*) obsažených v genomu patří enzymům, které jsou schopny katalyzovat tvorbu glykosidové vazby. Pokud dále uvážíme, že více než polovina veškerých proteinů ve své v primární struktuře obsahuje sekvenci Asn-X-Ser/Thr, která je považována za predilekční místo N-glykosylace, je její význam evidentní.

3.1 Lektiny

Lektiny představují specifickou skupinu proteinů schopných vázat molekuly sacharidů mechanismem, který je odlišný od reakce antigen-protilátka a nejedná se ani o enzymatickou vazbu. Lektiny jsou schopny vázat jednotlivé monosacharidy, ale přirozenými endogenními ligandy jsou sacharidové skupiny přítomné na molekulách nejrůznějších glykokonjugátů (např. glykoproteinů etc.).

Zájem o lektiny a jejich funkce se datuje již do 19. století. Nejprve byla prokázána schopnost některých rostlinných a živočišných extraktů způsobovat aglutinaci

červených krvinek různých živočišných druhů. Poměrně záhy bylo poukázáno na heterogenní charakter reakce téhož hemaglutininu použitého v reakci s erytrocyty různých živočišných druhů, či různých krevních skupin a podskupin téhož druhu. Velmi subtilní rozdíly detekovatelné pomocí těchto substancí vedly i ke vzniku termínu lektin, který je odvozen od latinského slovesa *legere*, vybírat. V padesátých letech 20. století bylo prokázáno, že lektinové hemaglutinační reakce mohou být účinně inhibovány přidáním vhodných sacharidových epitopů. Později bylo prokázáno, že lektiny jsou schopny rozdílně aglutinovat i normální a nádorové buňky a že jsou schopny ovlivňovat buněčný cyklus buněk a působit tak jako jako mitogeny. Stále větší pozornost byla věnována i hledání a studiu lektinů ve tkáních živočišného původu. V roce 1974 byl popsán poprvé u savců lektin izolovaný z králičích jater (*mammalian hepatic lectin*, asialoglykoproteinový receptor). V roce 1975 byl popsán první živočišný lektin vážící galaktosu a galaktosidy (elektrolektin). Tento typ lektinů označovaných jako „endogenní solubilní lektiny, galaptiny, nebo β -galaktosidy vážící lektiny“ se ukázal v příštích letech jako dominantní skupina, která je přítomna prakticky univerzálně v tkáních obratlovců. Přístup studující lektiny a jejich pomoci i glykokonjugátový repertoár buňky byl označen jako „*lektinomika*“. Lektiny tedy můžeme chápat jako překladatele „*glykokódu*“, informace v něm uložená může ovlivňovat nejrůznější biologické pochody. Lektinů lze relativně jednoduše využít při histochemických a cytochemických technikách a zdá se, že jejich význam v této oblasti vzrůstá. Nejdůležitějším úkolem ale zůstává porozumění funkcím endogenních lektinů přímo v savčích buňkách.

3.2 Galektiny

Termín „galektin“ se užívá pro proteiny vyznačující se afinitou ke galaktosidům a strukturní homologii své domény pro rozpoznávání sacharidů (CRD, *carbohydrate recognition domain* o délce cca. 135 aminokyselin). Proteiny vyznačující se strukturní homologii avšak bez schopnosti vázat galaktosid označujeme jako galektinům podobné proteiny (*galectin-like proteins*).

Klasicky se galektiny dělí podle uspořádání do tří podskupin a sice:

- I) „**prototype**“ – s jednou CRD doménou (gal-1,-2,-5,-7,-10,-13,-14)
- II) „**tandem repeat**“ - dvě různé CRD domény na témže polypeptidovém řetězci, kterou jsou vzájemně odlišné a jsou odlišné i od jiných galektinů (gal-4,-6,-8,-9,-12)
- III) „**chimera**“ kromě CRD ještě jinou doménu (gal-3)

Galektiny jsou evolučně velmi starou a značně konzervovanou rodinou proteinů. Nástrojem k posouzení jejich příbuznosti je porovnání sekvence sacharidy rozpoznávající domény CRD, míra shody mezi humánní a myší formou je u většiny přes 80%, což odpovídá přibližně evoluční konzervovanosti hemoglobinu.

Základní struktura galektinů obsahuje jednu, či dvě sacharidy rozpoznávající domény (CRD) a krátký, či dlouhý relativně flexibilní peptidový řetězec. Za biologickou aktivitu je zodpovědná právě CRD doména, která je tvořena 5 až 6 složenými peptidovými řetězci („sandwich“) s motivem β -skládaného listu. Tato doména je schopna rozpoznávat strukturu N-acetylglukosaminu, afinita této vazby je ale relativně nízká, afinita vazby na glykoproteiny s polyglukosaminovou sekvencí je ale mnohem vyšší. Galektiny se mohou vyskytovat jako mono- či oligomery, tyto stavy jsou závislé i na jejich koncentraci, či přítomnosti ligandu.

Přes tuto strukturní podobnost jsou funkce galektinů různorodé jak intracelulárně, tak (ačkoli postrádají signální sekvenci a jejich sekrece je tak nekanonická) i extracelulárně. Zájem o živočišné lektiny se odvíjel od jejich předpokládané role při vazbě buněk k jiným buňkám či komponentám extracelulární matrix. Galektiny jsou schopny vytvářet mezi glykokonjugáty příčné vazby („crosslinking“), tyto děje mohou například na membránách vést k mikrosegregaci receptorů do funkčních domén a tak účinně regulovat buněčné pochody závislé na transdukcii signálu. Galektiny ovlivňují kromě adheze buněk i signální transdukcii, regulaci apoptózy a buněčného cyklu. Galektiny se účastní kromě regulace pre- i postnatální homeostázy normálních tkání i v mnoha rolích procesů patologických, jako je třeba autoimunita a maligní bujení.

Ve vrstevnatých dlaždicových epitelech byly intenzivně studovány zejména galektin-1, galektin-3 a galektin-7. Při těchto studiích byl potvrzen předpoklad, že postupná diferenciacie epitelových buněk je doprovázena i změnou glykokonjugátových motivů. V normální epidermis bylo zjištěno, že galektin-1, stejně jako jeho reaktivní sacharidové epitopy jsou exprimovány v buňkách bazální a suprabazální vrstvy, obdobně jako galektin-7; galektin-3 a jeho reaktivní epitopy byly detekovány striktně suprabazálně. Diferenciální glykosylace detekovaná lektinovou histochemií galektinu-3 je senzitivním nástrojem ke studiu diferenciacie, což bylo potvrzeno i klinickou studií, ve které bylo sledováno přežívání pacientů v závislosti na glykobiologickém profilu nádoru. Detekce volných vazebných míst pro galektin-3 může sloužit jako prognostický ukazatel u spinocelulárních karcinomů hlavy a krku. Přítomnost galektinů v jádře byla studována nejvíce na příkladech galektinu-1 a galektinu-3. Předpokládá se, že hrají roli zejména při sestihu pre-mRNA.

4. Bazocelulární karcinom

Bazocelulární karcinom kůže (bazaliom) je nejčastějším humánním maligním tumorem vůbec. Histogeneze tohoto nádoru není dodnes zcela objasněna, někteří autoři kladou jeho vznik do interfolikulární epidermis, podle jiných názorů má blíže ke strukturám vlasového folikulu. Jeho incidence se v posledních desetiletích významně zvyšuje, i když rozptýl udávané incidence v jednotlivých studiích je relativně široký. Tato fakta jsou dávana do souvislosti se změnami

environmentálního i behaviorálního charakteru, ročně je zaznamenáno v USA podle American Cancer Society asi 1 milion případů nemelanomových nádorů kůže, bazaliomy tvoří asi 80% z nich. Odhaduje se, že meziroční nárůst incidence bazocelulárního karcinomu v některých geografických oblastech může dosahovat až 10%, kumulativní riziko rozvoje tohoto onemocnění je stanoveno až na 30%. Ačkoli je mortalita asociovaná s bazocelulárním karcinomem relativně nízká, představuje morbidita a náklady z ní plynoucí významnou zátěž pro zdravotnické systémy.

Rizikovým faktorem rozvoje nemelanomových nádorů kůže je především dlouhodobá expozice záření, významná je zejména ultrafialová (UV) složka světelného záření. Dalším významným faktorem rozvoje nemelanomových nádorů kůže představuje například dlouhodobá imunosuprese, či chronická expozice sloučeninám arzenu a jiným polutantům, uvažována je stále i role humánních papilomavirů. Jsou známy i genetické predispozice ke vzniku těchto nádorů (genodermatózy). Patrně nejznámější je syndrom névoidních bazaliomů (Gorlin-Goltz). Klinicky se jeho definice opírá zejména o přítomnost mnohočetných névoidních bazocelulárních karcinomů (jsou přítomny až u 50% pacientů, často u pacientů před 40. rokem života), dále je možno zastihnout v oblasti dlaní a plosek zřetelné doličkování (přítomno je až u 60% pacientů), epidermální cysty a milia a lokalizovanou hypertrichózu. Mimo kůže se charakteristicky u pacientů nalézají odontogenní keratocysty (u 65-70%), vrozené vývojové vady skeletu (70%) a kalcifikace v oblasti *falx cerebri* (70%). Genový lokus, jehož mutace je zodpovědná za vznik syndromu névoidních bazaliomů, je lokalizován v oblasti 9q22-q31. Bylo prokázáno, že v této pozici je se nalézá gen *PTCH*, což je humánní homolog pro gen *patched* popsáný u *Drosophilla melanogaster*. *PTCH* patří do signální dráhy *Sonic hedgehog (Shh)*, která se významně podílí na regulaci mnoha vývojových dějů v průběhu embryogeneze. *Ptch* představuje nejvýznamnější negativní regulátor celé kaskády *Sonic hedgehog (Shh)*. Je vázán na buněčných membránách efektorových buněk, kde funguje v nepřítomnosti *Shh* jako konstitutivní represor proteinu *Smo*. Transdukce signálu prostřednictvím *Smo* je realizována aktivací proteinů z rodiny *Gli*, které patří do skupiny transkripčních faktorů typu *zinc finger*. Výše zmíněná signalizační kaskáda a její alterace aktivující *Smo* jsou zodpovědné za vznik nejen odchylek tvořících spektrum Gorlinova syndromu ale i části sporadických bazaliomů. U sporadických bazaliomů byly dále zaznamenány i mutace *Shh*, *Gli* a dalších členů této kaskády.

U sporadických bazocelulárních karcinomů byly dále zaznamenány nejrůznější mutace *p53*, *bcl-2*, *erbB*, signální kaskády *Wnt*, vzácně ras proteinů – nejednotnost těchto výsledků poukazuje na heterogenní charakter sporadicky se vyskytujících bazaliomů. Se vznikem bazocelulárních karcinomů jsou spojovány i některé další genodermatózy.

Základem pro výběr správného postupu při léčbě pacienta stále zůstává histologicky správné a přesné zhodnocení. V současné době existuje několik klasifikačních schémat, za velmi vhodný lze označit protokol navržený *The Royal Colledge of Pathologists*, který je kompatibilní s klinickými doporučenými postupy (*clinical guidelines*) vydanými Britskou dermatologickou společností.

V rámci spektra histologických variant bazocelulárního karcinomu se jako prediktivní faktor jeví histoarchitektonické uspořádání nádoru. Tento pohled umožňuje vymezení indolentních variant s klinicky příznivým průběhem a variant s agresivním biologickým chováním.

5. Nádorové stroma, organizace a funkce

V nádoru je možno histologicky rozlišit dvě vzájemně závislé základní komponenty. Jedná se nejprve o vlastní maligně transformovanou buněčnou populaci – parenchym a pojivové tkáně mezenchymového či ektomezenchymového původu, označované souhrnně jako nádorové stroma.

V porovnání s maligně transformovaným nádorovým epitelem byla nádorovému stromatu dlouhodobě věnována menší pozornost, byly mu připisovány zejména role podpůrné. Na prvním místě byla zdůrazňována tvorba mechanické opory, která umožňuje v trojrozměrném prostoru malignímu epitelu proliferaci. Významná role v takovémto modelu byla připisována i nově vznikajícím cévám v této oporné kostře tumoru. Cévy zajišťují nejenom přísun živin a kyslíku a odvod metabolických zplodin, zároveň ale mohou touto cestou přicházet, či odcházet významné biologicky aktivní působky, jako například hormony a růstové, pro které může stroma fungovat i jako rezervoár. Cévy v oblasti nádoru rovněž představují zejména díky morfologickým odchýlkám ve své stavbě velmi významnou cestu, kterou dochází k prostupu nejen buněk imunitního systému hostitele, mohou jimi ale procházet i nádorové buňky v průběhu šíření nádoru a zakládání vzdálených ložisek, metastáz. Kromě cév se na tvorbě stromatu podílejí i fibroblasty, myofibroblasty, žírné buňky, endotelové buňky, adipocyty, makrofágy a lymfocyty. Buňky imunitního systému často tvořící nejen náhodně infiltrující populaci, ale mají i přímo charakter reaktivní zánětlivé populace. Kromě všech zmíněných buněčných populací má při formování a určování vlastností stromatu významné místo i mezibuněčná hmota, extracelulární matrix.

Správně fungující nádorové stroma zajišťuje neoangiogenezi pro nádorový parenchym adekvátní podmínky pro jeho rozvoj i za limitní velikost danou schopností maligního klonu proliferovat v avaskulárním stavu.

Určité nejasnosti panují kolem vzniku nádorového stromatu. Běžně bývá jeho původ spatřován v mezenchymových tkáních, které jsou v iniciálním stádiu v blízkosti proliferujícího maligního epitelového klonu. Způsob, jakým z lokálního

mezenchymu vzniká nádorové stroma, nebyl doposud plně objasněn. Fibroblasty izolované ze stromatu nádorů sdílejí některé charakteristiky s fibroblasty aktivovanými v procesech hojení. Způsob, kterým jsou ale „rekrutovány“ není dodnes objasněn, i když se zdá, že i zde může u mnoha nádorů sehrávat tuto úlohu *transforming growth factor-β* a jiné parakrinně nádorovými buňkami uvolňované růstové faktory. Značné nejasnosti stále panují ohledně otázky, zda mohou být takto *in vivo* přeměněny ve stromální buňky jakékoli fibroblasty, nebo zda je nutná i u fibroblastů nějaká míra predispozice pro tuto přeměnu.

Některé recentní práce poukazují na fakt, že genetické změny nevykazují pouze buňky nádorového parenchymu, což bylo doposud považováno za ústřední předmět zájmu onkogenetiky, ale že genetické změny vykazují i buňky stromatu. Některé práce udávají shodné mutace u nádorových buněk i u buněk stromatu. Takové genetické alterace, z nichž je podle některých studií alespoň určitá část sdílena s buňkami nádorového parenchymu, umožňují vysvětlit tento fakt na základě teorie unitárního vzniku nádoru. Nádorové stroma by v tomto modelu vznikalo mechanismem epitelově mezenchymového přechodu z původní maligně transformované buňky. Společná vývojová fáze by tudíž mohla vysvětlovat některé shodné mutační znaky sdílené oběma komponentami nádoru. Diverzita, která je běžně mezi těmito buněčnými populacemi zaznamenávána, je v dobrém souladu s představou o mnohastupňovém procesu vedoucím až k invazivnímu nádoru. Epitelo-mezenchymový přechod (transformace) je jedním z významných morfogenetických procesů, který se uplatňuje při delaminaci zárodečných listů u časných embryonálních vývojových stádií mnohobuněčných organismů. Při tomto procesu dochází ke ztrátě polaritě buňky epitelu, reorganizaci jejího cytoskeletu a redistribuci organel a zvýšení motility, včetně změn exprese tříd adhezivních molekul, hlavně cadherinů. Opačným pochodem může nabývat buňka opět epitelový charakter. Koncept epitelo-mezenchymového přechodu byl obecně přijímán v embryologii, ale jeho aplikace v postnatálním období byla považována do nedávné minulosti za poněkud kontroverzní. Mezi signální kaskády, které hrají roli v procesu epitelo-mezenchymové transformace, patří například Wnt/ β -catenin, Notch, Hedgehog, NF- κ B, některé z uvedených signálních kaskád směřuje k regulaci transkripčních faktorů ze skupiny Snail/Slug.

V posledních letech diskutována možnost, že k formování nádorového stromatu mohou přispívat i prekurzorové buňky vyplavované do periferní cirkulace z kostní dřevě, či že může docházet k fúzi nádorových epitelových buněk a fibroblastů v jejich okolí.

Jak bylo experimentálně ověřeno, biologická aktivita stromatu může analogicky v konečném důsledku jevit jako tumorsupresorová, nebo naopak tumorpromotorová.

Vliv na modulaci chování maligně transformovaných epitelíí nelze ale připisovat jen buněčným elementům stromatu, významnou funkci také mohou sehrávat složky extracelulární matrix jimi produkované.

V kontextu těchto poznatků se zdá být oprávněné při posuzování fenotypu nádorových buněk užívání termínu „stromální dominance“, i když genetické změny tvořící vlastní podklad nádorového onemocnění stroma přímo neovlivňuje, umožňují jejich konzervaci a eventuelně klonální rozšíření například omezením apoptózy.

Proto se jako velmi realistická jeví zejména představa, že výsledné znaky, kterými můžeme charakterizovat nádorovou buněčnou populaci, jsou jen výsledkem evoluce zahrnující v sobě prvky iniciální a navazující genetické alterace a následný mutačně-selekční tlak, stejně jako prvky epigenetické adaptace vyplývající z kontextu mikroprostředí .

6. Psoriasis

Psoriasis (psoriáza, lupénka) je benigní, primárně kožní zánětlivé onemocnění postihující asi 2% evropské populace bez ohledu na pohlaví, tyto pacienti představují zhruba desetinu všech dermatologických pacientů. Diagnóza onemocnění je dána zejména klinickým obrazem, histologické vyšetření může tuto klinickou diagnózu potvrdit. Psoriáza je označována za multifaktoriální onemocnění. U některých typů onemocnění jistě existuje určitá genetická vazba a je možno ji považovat za onemocnění polygenní, nezanedbatelný je i vliv zevního prostředí.

Žádný jednotlivý zvířecí model choroby ale není plně dostačující při experimentální m modelování tohoto onemocnění, což poukazuje na složitost vzniku psoriázy a nejspíše i na možnost, že pod jednou klinicko-morfologickou diagnózou paralelně existuje několik stavů vznikajících v důsledku různých patofyziologických vlivů. Významná role je stále častěji připisována buňkám imunitního systému, psoriáza je dnes často chápána jako autoimunitní onemocnění. Svou roli ale sehrávají i místní fibroblasty a endotelie a i samotné keratinocyty. Jsou popsány velmi komplexní sítě cytokinů, které regulují jednotlivé buněčné populace a za jejichž spoluúčasti dochází ke vzniku psoriatického ložiska, jsou již známy monoklonální blokující protilátky využitelné v současné době i v terapii.

7. Kmenové buňky

Kmenové buňky jsou tradičně definovány jako nízce diferencované buňky, které jsou jednak nadány schopností dlouhodobého udržení si tohoto stupně diferenciace v průběhu života organismu, dále jsou ale schopny mnoha opakovaných dělení, kterými vznikají dceřiné buňky schopné podstoupit terminální diferenciaci.

Nejstarší práce vedly k představě o lokalizaci kmenových buněk ve *stratum basale* humánní epidermis v interfolikulárních oblastech. Velká pozornost byla rovněž věnována studiu populací kmenových buněk v oblasti kožních adnex, zejména

v oblasti ztluštění (*bulge*) vlasového folikulu. Ve specifickém mikroprostředí (*niche*) zevní kořenové pochvy se nacházejí také i pluripotentní buňky, které tam vycestovaly za vývoje z neurální lišty.

Bohužel, do současnosti není možné stanovit jednoznačně fenotyp těchto kmenových buněk, kandidátní populaci je možno charakterizovat pouze souborem několika znaků. Mezi tyto znaky patří jejich malá velikost, schopnost dlouhodobě retinovat značku při autoradiografickém značení H3-thymidinem nebo Br-2-deoxyuridinem. Dalším znakem sloužícím k určení kmenové buňky v epidermis může být exprese specifických cytokeratinů, a adhezivních molekul některých lektinů, či vazebných míst pro ně. Výše uvedená fakta vytvářejí určitou rámcovou představu o funkci kmenových buněk při udržování homeostázy normálních tkání. Je ale nutné uvážit i jejich roli, kterou mohou sehrávat v patologických dějích, zejména u nádorových stavů. Pomalá buněčná kinetika kmenových buněk představuje důležitý prvek pro uchování neporušené genomové informace po celou dobu života nositele. Jak bylo ale již výše uvedeno, ani kmenové buňky nejsou zcela dormantní a v případě, že genetická odchylka nebude odstraněna standardními buněčnými mechanismy, je vysoce pravděpodobné, že bude tato kmenová buňka zdrojem dlouhodobě přítomného mutovaného klonu. V obou případech je ale (stejně jako u normálních kmenových) buněk známa provázanost s jejich okolním prostředím (*niche*), které je tvořeno jinými buněčnými populacemi a extracelulární matrix a ve kterém jsou přítomny nejrůznější regulační faktory.

Pouze v tomto kontextu jsou schopny patrně tyto buňky udržet některé ze základních vlastností, které jsou připisovány normálním kmenovým buňkám. Mezi tyto významné schopnosti patří zvýšená odolnost vůči působení exogenních vlivů, včetně toxických látek a radiace, odolnost vůči apoptóze, schopnost opravy DNA. Jestliže přijmeme tento model relevantní, pak je evidentní, že konvenční onkologické postupy, tedy chemoterapie a radioterapie, mohou podle klasické představy o svém účinku ovlivnit pouze nevelký zlomek těchto nádorových kmenových buněk. Několikanásobně častěji postihují tyto terapeutické modalitty přechodně se dělící dceřiné buňky, které jsou sice zodpovědné za tvorbu značné části objemu tumoru („*bulky disease*“), ale pro pacienta tato buněčná populace nepředstavuje s ohledem na riziko generalizace maligního onemocnění největší riziko.

8. Materiál a metody

V publikovaných studiích byly použity normální i patologické tkáně získané na spolupracujících pracovištích. Všechny vzorky byly odebrány s příslušným informovaným souhlasem a za striktního dodržení pravidel bioetiky (Helsinská deklarace) a za vědomí příslušné etické komise.

Dále byly v našich experimentech využívány standardní komerčně dostupné linie myších embryonálních fibroblastů 3T3, linie humánních embryonálních fibroblastů

LEP₁₉, linie nádorových epitelů FaDu původně izolovaných ze spinocelulárního karcinomu hltnu a linie TC-1 cíleně transformované epitelové myši linie C57BL/6 pomocí proonkogenů HPV 16 E6/E7 a aktivovaného H-ras. Jedná se epitelové myši buňky, které jsou onkogenní a mají vlastnosti fibroblastů.

Xenotransplantace buněk na zvířecím modelu byly prováděny na myši NOD/LtSz-Rag1null, respektive nu/nu CD-1 se souhlasem odborné komise.

Metodika kultivace keratinocytů vycházela z modifikované metody podle Rheinwalda a Greena na podpůrné fibroblastové linii 3T3. Vzorky normální kůže i vzorky z nádorů byly enzymaticky rozvolněny byly využity jako zdroj normálních i nádorových buněk, tedy dermálních fibroblastů, stromálních fibroblastů a folikulárních i interfolikulárních keratinocytů a buněk nádorového epitelu.

Komerčně dostupné linie i připravené primokultury byly kultivovány v běžně dostupných médiích s obsahem séra a kultivačních přísad při zvýšené tenzi oxidu uhličitého. Zástava proliferační aktivity byla prováděna aplikací roztoku Mitomycinu C.

Analogicky mohlo být použito i jiných fibroblastových populací, například dermálních fibroblastů, stromálních buněk z nádorů, linie LEP₁₉, TC-1. Kultivace ve dvojrozměrných kulturách a přímé kokultivace různých typů buněk byly prováděny nasazením buněk na sterilní standardní krycí skla. Kultivace v trojrozměrných podmínkách byly prováděny v Matrigelu - komerčně dostupném gelu s vysokým obsahem komponent extracelulární matrix.

Synchronní kultivace keratinocytů s různými fibroblasty byly prováděny v komerčně dostupných systémech transwell insert, které umožňují kultivaci dvou různých typů buněk a jejich vzájemné parakrinní ovlivňování rozpustnými faktory, které mohou volně difundovat přes mikroporózní membránu insertu (kolagen, polykarbonát, kolagenem potažený polytetrafluorethylen). Tato membrána o výrobcem definované porozitě zcela vylučuje migraci buněk přes ni a tak zamezí přímému kontaktu buněčných populací.

Kryoprezervace jednotlivých buněčných kultur byla prováděna v médiu s 10% dimethylsulfoxidu v postupně klesajícím teplotním gradientu, buňky byly dlouhodobě deponovány v parách tekutého dusíku.

Vzorky normálních i nádorových tkání pro histochemickou analýzu byly po odběru zmrazeny a bloček byl uchován při teplotě -80°C do definitivního zpracování. Zmražená tkáň byla následně nakrájena na kryostatu na řezy o síle 7 μm a tyto byly přeneseny na skla s povrchem modifikovaným poly-L-lysinem.

Získané tkáňové kultury rostoucí na krycích sklech byly po opakovaném opláchnutí v pufovaném fyziologickém roztoku (PBS) rychle usušeny v laminárně proudícím vzduchu a uchovávány do definitivního zpracování v mrazicím boxu při teplotě -20°C. Kultury v Matrigelu byly po odsátí kultivačního média bleskově zmrazeny

v tekutém dusíku a rovněž uchovávány do definitivního zpracování při teplotě -80°C, kdy byly nakrájeny na kryostatu. Před vlastním imunohisto- a cytochemickým zpracováním byly vzorky krátce fixovány v paraformaldehydu (2%w/v paraformaldehydu v PBS /pH 7.3/) a permeabilizovány za použití Triton X-100. Bylo použito metody vícenásobného značení na úrovni jedné buňky. Ředění protilátek použitých ve studiích respektovalo pokyny uvedené výrobcí jednotlivých protilátek. Nespecifická vazba protilátek druhého kroku byla blokována pomocí prasečího séra.. Specificita imunohistochemické reakce byla ověřena nahrazením protilátky prvního kroku jinou v dané tkáni irelevantní protilátkou. Hodnocení vzorků a měření bylo prováděno na fluorescenčním mikroskopu. Analýza obrazu a měření fluorescenčních profilů bylo prováděno pomocí softwarového systému Lucia 3.2 respektive 5.1. Výsledky byly hodnoceny Studentovým t- testem..

K detekci vazebných míst pro jednotlivé galektiny byly použity biotinylované galektiny, které připravil H.-J. Gabius a S. André, jako značení druhého kroku byl použit ExtrAvidin-TRITC (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika.) Jako test specifické reakce při lektinové histochemii byl buď vypuštěn z protokolu biotinylovaný galektin, popřípadě byla provedena inhibice laktózou.

Detailní popis použitých metod je v jednotlivých publikacích tvořících nedílnou součást této dizertační práce.

9. Výsledky a diskuze

Naše první práce potvrzuje známé morfologické vlastnosti kandidátní populace (tj. malý průměr kolem 10 µm) a expresi keratinu (K) -19 v lidské epidermis. 25% keratinocytů, které byly pozorovány v oblasti ztluštění zevní kořenové pochvy („*bulge*“) vlasových folikulů, vykazovalo pozitivitu tohoto znaku, zatímco keratinocyty interfolikulárních úseků epidermis byly prakticky zcela (99,8%) negativní. Průměr K19 pozitivních buněk ale byl bez ohledu na původ těchto keratinocytů prakticky identický.

K19 pozitivní buňky z oblasti „*bulge*“ zároveň exprimovaly vazebné epitopy pro galektin-1 v jádrech a byla pozorována jen nepatrná pozitivita signálu v cytoplasmě. Naproti tomu v interfolikulárních oblastech buňky uniformně vykazovaly vazebná místa pro galektin-1 v cytoplasmě a nebyla detekována jeho vazebná pozitivita v oblasti jádra.

V podmínkách *in vitro* byly porovnány tyto výsledky zjištěné *in situ* pro obě populace keratinocytů. Bylo zjištěno, že folikulární keratinocyty jsou ve velkém procentu pozitivní na K19 a že buňky K19 pozitivní i negativní exprimují jaderná vazebná místa pro galektin-1. Pozitivita K19 alespoň části těchto buněk byla zachována v průběhu celé kultivace (168 hodin maximálně) stejně jako u vazebných míst pro galektin-1. Překvapivě i buňky izolované z interfolikulární epidermis, kterou považujeme podle popsaného stavu *in situ* za K19 negativní, vykazovaly

v krátkém časovém intervalu vysokou pozitivitu K19, tato ale rychle společně s vazebnými místy pro galektin-1 v jádrech mizela. U buněk K19 pozitivních byly prokazovány určité morfoloické odlišnosti (buňky byly kulatější a jejich cytoplazma byla méně rozprostřená), jejich stanovený průměr byl vždy statisticky signifikantně menší než u K19 negativních buněk. Jejich průměr byl srovnatelný s průměrem buněk vysoce pozitivních na přítomnost β_1 integrinu, které se vyznačovaly vysokou odolností vůči anoikis a přeživaly dlouhodobě v neadhezivním prostředí (24 hodin při 37°C).

Cílem naší druhé studie bylo srovnat strukturu normální tkáně a tkáně z psoriatického ložiska a případné odchylky blíže popsat i za užití lektinové histochemie.

Nebyl nalezen rozdíl mezi distribucí keratinů K-10 a Kp37 v normální epidermis a ve vzorcích z psoriatických lézí. V obou typech vzorků byla také shodně zaznamenána v cytoplazmě pozitivita galektinu-7 s maximem v oblasti *stratum corneum*. Vazebná místa pro galektin-7 nebyla zastížena.

Galektin-1 nebyl prokázán ani v normální ani psoriatické epidermis, ale ve vzorcích z psoriatických ložisek byla zjištěna velmi výrazná pozitivita tohoto galektinu extracelulárně v dermis. Výrazný byl i rozdíl v expresi galektinu-3, v normální epidermis je exprimován suprabazálně, u psoriázy nebyl detekován vůbec.

Dále byly zkoumány i reaktivní epitopy pro endogenní lektiny. Vazebná místa pro galektin-1 byla pozorována v normální epidermis, v psoriatické epidermis zcela chyběla. Vazebná místa pro galektin-3 byla přítomna u obou typů vzorků, nejvíce jich bylo v hyperkeratózách překrývajících psoriatická ložiska. Mnoho vazebných míst pro galektin-3, stejně jako samotný tento galektin, rovněž exprimují endotelové buňky v dermis psoriatických ložisek, toto zjištění považujeme za důkaz aktivace endotelu v průběhu vzniku a rozvoje psoriatické diatézy. Proliferující keratinocyty byly v normální epidermis přítomny ve *stratum basale*, v psoriatické epidermis i suprabazálně. Tyto buňky však nebyly podle očekávání rozpoznávány galektinem-3, což je ve shodě se staršími pracemi.

Byly tedy prokázány významné rozdíly mezi expresí endogenních lektinů a jejich reaktivních glykoligandů v patologické tkáni psoriatického ložiska ve srovnání s normální epidermis. Tyto poznatky dále zpřesňují představu o strukturní podstatě patologických změn zejména s ohledem na aberantní glykosylaci u této běžné choroby a dále upozorňují na možnosti jejího sledování pomocí lektinové histochemie.

V soudobé literatuře byl diskutován význam nukleostemínu, proteinu vážícího se na GTP a interagujícího s p53 a jeho přesunu mezi jádrem a nukleoplazmou. Tento protein byl popsán u kmenových buněk kostní dřene a nervové tkáně a u některých nádor. Jeho exprese v epidermis a její vztah ke kmenové populaci byla doposud neznáma. V naší studii byla detekována přítomnost nukleostemínu nejen podle

předpokladů ve *stratum basale*, ale i v suprabazálních vrstvách, kde signál kolokalizoval i s expresí keratinu 10, markeru terminálně diferencovaných keratinocytů. Nukleostemin byl prokázán bez ohledu na proliferační stav buňky, což bylo hodnoceno koexpresí proliferačního znaku Ki-67.

In vitro jsme testovali přítomnost nukleosteminu ve folikulárních i interfolikulárních keratinocytech. V případě interfolikulárních keratinocytů byl nukleostemin zjištěn jen velmi málo či byl zcela negativní bez ohledu na to, zda tyto keratinocyty byly kultivovány samostatně, či spolu s buňkami podpůrnými (myší fibroblasty linie 3T3). U keratinocytů folikulárních byla dobře znázornitelná přítomnost nukleosteminu v nukleolech, tento stav byl ale závislý na přítomnosti podpůrných buněk. Bez nich nukleostemin exprimován nebyl. Ve všech případech bez ohledu na expresi nukleosteminu byly populace keratinocytů dobře vitální a docházelo k proliferaci, což bylo opět hodnoceno přítomností Ki-67. Dále byla hodnocena koexprese nukleosteminu s K19 kdy až 2/3 folikulárních keratinocytů vykazovaly fenotyp K19⁺/nukleostemin⁺, zatímco interfolikulární K19 pozitivní keratinocyty *in vitro* byly nukleostemin negativní. Rozdíly mezi oběma populacemi keratinocytů byly shledány i v expresi endogenních lektinů, u nukleostemin pozitivních folikulárních keratinocytů byl současně v jádře přítomen i galektin-1, zatímco u interfolikulárních nukleostemin pozitivních buněk nebyl tento galektin v jádře přítomen. Galektiny -3 a -9 nebyly v jádrech detekovány vůbec, oba byly ale přítomny v cytoplazmě, kde intenzita signálu pro galektin-9 byla silnější.

Dále jsme pozorovali nukleostemin i za vybraných patologických situací. Hojně byl přítomen v nádorových buňkách bazocelulárního karcinomu kdy byla intenzita signálu v porovnání s normální epidermis silnější. Dále jsme testovali přítomnost nukleosteminu u nádorové linie FaDu, kde byl nalezen v 93% společně s galektinem-1 v jádře. Postupem doby kultivace jaderná exprese galektinu-1 klesala, zatímco exprese nukleosteminu byla beze změny.

Lze tedy konstatovat, že nukleostemin nepředstavuje v epidermis *in situ* jednoznačný marker kmenovosti, protože je přítomen i v suprabazálních vrstvách v buňkách K10 pozitivních. Zdá se ale, že zejména *in vitro* je ale přítomnost nukleosteminu indikátorem určitého proliferačního/diferenciačního stavu. Jeho funkční význam musí být ještě specifikován.

Sledování závislosti fenotypu (a zejména znaků kmenovosti) v závislosti na měnících se zevních podmínkách a zároveň jejich přítomnost u buněk za určitých patologických situací nás v naší další práci přivedlo ke zkoumání vlivu nádorového stromatu jako potenciálního spolutvůrce mikroprostředí.

Iniciálně byly sledovány a porovnávány kokultury několika linií fibroblastů a normálních humánních keratinocytů. Kromě standardně používané podpůrné myší fibroblastové linie 3T3 byly jako podpůrné buňky použity i fibroblasty linie LEP₁₉, normální dermální fibroblasty a fibroblasty získané ze stromatu lidského

bazocelulárního s spinocelulárního karcinomu. Dále byly použity buňky TC-1 trasfekované HPV E6/E7 a h-ras. Tato buněčná linie totiž může věrně sloužit jako model buněk vzniklých epitel-mezenchymovým přechodem.

Již v průběhu kultivace byla patrna výrazně vyšší tvorba extracelulární matrix v případě, že byly jako podpůrné buňky použity posledně stromální fibroblasty. Imunohistochemicky byl v této mezibuněčné hmotě masivně prokázán galektin-1, což je v dobrém souladu s pozorováním na řezech zejména bazocelulárním karcinomem. V ostatních kokultúrách (LEP₁₉, 3T3, dermální fibroblasty) byla produkce extracelulární matrix bohaté na galektin-1 jen malá, či žádná.

Keratinocyty bez ohledu na typ podpůrných fibroblastů exprimovaly iniciálně (tedy krátce po adhezi, tj. do 48 hodin) uniformně jako marker *stratum basale* keratin K14 a dále keratin K19. Výrazné odlišnosti byly ale detekovatelné již po 5 dnech společné kultivace. Keratinocyty na standardních podpůrných buňkách 3T3 a stejně tak na LEP₁₉ a normálních lidských dermálních fibroblastech tvořily velké kompaktní kolonie, zatím co buňky kokultivované se stromálními fibroblasty tvořily jen kolonie atypického charakteru. Ve shodě s naší předchozí prací byla po 5 dnech od adheze populace keratinocytů negativní při barvení na keratin K19, pouze v kokultuře se stromálními fibroblasty z bazocelulárního karcinomu byla udržena pozitivita K19. Dále byl pouze v tomto typu kokultury v keratinocytech detekován výrazně nukleostemin a Ber-EP4 i jaderná vazebná místa pro galektin-1, což opět odpovídá situaci v čepích bazocelulárního karcinomu. Všechny keratinocyty rostoucí na stromálních buňkách vykazovaly i po 5 dnech pozitivitu K14, zatím co u jiných typů fibroblastů byla omezena jen na periferii kolonie, která simuluje situaci při dermoepidermální junkci *in situ*. Obdobné změny byly navozeny v kokultuře normálních interfolikulárních keratinocytů s (HPV negativními) fibroblasty ze stromatu spinocelulárního karcinomu. Zde byla dominantním znakem přítomnost keratinu K8 v normálních keratinocytech, tato intermediární filamenta se normálně vyskytují v epidermis pouze prenatalně a postnatalně jsou přítomná pouze v některých agresivních nádorech. Tyto poznatky byly v soulahu s fenotypem stanoveným *in situ* při histochemickém vyšetření resekovaného tumoru. K8 pozitivní keratinocyty obsahovaly rovněž velká nukleostemin pozitivní jádérka. Tento znak byl ale závislý na proliferčním stavu stromálních buněk. Pokud byly keratinocyty kultivovány společně s plně vitálními stromálními fibroblasty, pak v nich bylo možno detekovat pozitivitu nukleosteminu. V případě, že byly stromální buňky ošetřeny Mitomycinem C, tedy látkou, která zastaví jejich proliferaci, pak nebylo možno nukleostemin v nukleolech keratinocytů znázornit. Normální keratinocyty současně v tomto typu kokultury dlouhodobě exprimovaly i K19. Dále byl pozorován přesun β -cateninů z asociace s cytoplazmatickou membránou do cytoplazmy a do jádra.

Expresí keratinů byla v tomto typu kokultury současně znázorněna i v keratinocytech paralelně s expresí vimentinu. Tento poněkud kuriózní fenotyp považujeme za projev epitelu-mezenchymového přechodu *in vitro*. Dalším důkazem, který podporuje tuto hypotézu, je přítomnost transkripčního faktoru Snail v jádrech těchto buněk.

Vzhledem ke stále nejasnému původu stromálních buněk a námi *in vitro* sledovaného epitelu-mezenchymového přechodu jsme vystavili fibroblasty ze stromatu spinocelulárního karcinomu působení prodiferenčního činidla butyrátu sodného. Předpokládaná fenotypová změna směrem k výraznému zastoupení buněk s epitelovým fenotypem ale nebyla dosažena. Paralelně prováděný pokus s implantací etablované nádorové linie FaDu imunodeficientní myši rovněž neprokázal novotvorbu stromálních fibroblastů z transplantované čistě epitelové populace. Stroma vznikající v markantně rostoucích tumorech bylo u recipienta tvořeno jeho vlastními fibroblasty, což se podařilo prokázat specifickou monoklonální protilátkou proti vimentinu (Dako clone V9), která je schopna jasně diskriminovat lidský a myší antigen.

V dalším kroku jsme provedli kokultivaci normálních keratinocytů s buňkami TC-1, které slouží jako modelová populace vzniklá epitelu-mezenchymovým přechodem. Imunohistochemicky byly opět pozorovány zásadní rozdíly proti kontrolním kokulturám s 3T3 feederem. Keratinocyty kokultivované s TC-1 vykazovaly téměř uniformně mimořádně malý průměr a pozitivitu K8 a K19 ale navíc masivně, tj. ve více než 50% buněk, i koexpresi keratinu spolu s vimentinem. Nukleostemin byl detekován prakticky ve všech keratinocytech kokultivovaných s TC-1. Tento fenotyp byl ověřen i po ošetření TC-1 Mitomycinem C se stejnými výsledky. V malém procentu (tj. pod 5%) byly v kokulturách keratinocytů a TC-1 přítomny i obrovské buňky s monstrózními jádry rovněž koexprimující keratiny s vimentinem.

K určení, zda jsou kokultivací navozené odchylky od normálního fenotypu závislé na přímém kontaktu dvou buněčných populací, tedy na přímé epitelu-mezenchymové interakci, jsme provedli kultivace v systému, ve kterém jsou obě populace separovány mikroporózní membránou, která umožňuje výměnu biologicky aktivních molekul (např. růstových faktorů), neumožňuje průchod buněk. Touto synchronní kultivací bylo zjištěno, že získaný fenotyp je obdobný jako v přímých kokulturách. Dalším krokem bylo ověření výsledků kultivací keratinocytů ve filtrátu média, ve kterém nejdříve rostly buňky stromální. Touto metachronní kultivací ale nebylo dosaženo analogické změny fenotypu keratinocytů médiem obohaceným produkty stromatu bazocelulárního karcinomu, částečné změny bylo dosaženo při použití média kondicionovaného stromatem spinocelulárního karcinomu, či TC-1.

Zdá se, že podstatou zjištěných odchylek je rozdílná produkce solubilních biologicky aktivních látek o předpokládané nízké koncentraci. Na základě takového parakrinního působení stromálních buněk tedy bylo dosaženo změny fenotypu

normálních interfolikulárních keratinocytů, jejichž výsledný fenotyp připomínal v některých rysech epitelovou komponentu nádoru, ze kterého byly stromální buňky získány. V některých rysech připomínal i kmenové buňky epidermis. Výrazná produkce extracelulární matrix bohaté na galektin-1 a její funkční konsekvence nejsou přes svou zajímavost doposud objasněny. Je zjevné, že interakce mezi epitelem a mezenchymem sehrává důležitou roli v morfogenezi nejen za normálních stavů, ale i v patologických situacích jako jsou nádory. Lze konstatovat, že byl *in vitro* demonstrován nepochybný biologický účinek stromálních buněk. Lze tak již v tomto stádiu oprávněně uvažovat o významu těchto vztahů v průběhu vzniku a rozvoje maligních onemocnění *in vivo*. Předpokládáme, že lze uvažovat o stromálních fibroblastech jako o vysoce aktivním účastníkovi maligních nádorových procesů, který byl v současných terapeutických schématech značně opomíjen. Nezanedbatelný je zejména jejich příspěvek k tvorbě specifického mikroprostředí (niche), které může být rozhodujícím faktorem komplikujícím u pacientů eradikaci nádorové buněčné populace. Udržení některých charakteristik kmenových buněk, zejména určité schopnosti sebeobnovy, může být faktorem, který umožňuje nádorovým buňkám unikat konvenčním onkologickým terapeutickým postupům a přispívat tak k další progresi nádorového onemocnění.

Další aspekty interakce mezi epitelem a mezenchymem byly ozřejměny při studiu exprese galektinu-2. Galektin-2 z podskupiny „prototype“, který se vyznačuje tvorbou homodimerů a výraznou sekvenční příbuzností ke galektinu-1, byl dáván do souvislosti s celou řadou biologických dějů. Chyběly však přesnější poznatky o jeho distribuci v jednotlivých buněčných kompartmentech.

Vzhledem ke známé závislosti mezi zevními podmínkami a vymizením galektinu-3 v jádře byla testována obdobným způsobem i senzitivita galektinu-2 k zevním stimulům. Sérová deplece vedla ke kvalitativním i kvantitativním změnám, byla zjištěna přítomnost galektinu-2 i v jádrech fibroblastů LEP₁₉ a dermálních fibroblastů. Obdobných výsledků bylo dosaženo po ozáření UV paprsky, stejně jako po vystavení buněk účinkům Mitomycinu C. Interfolikulární keratinocyty nevykazovaly v jádrech přítomnost galektinu-2 ani před ani po vystavení těmto fyzikálním, či chemickým vlivům. Zajímavý byl ale jejich vliv na fibroblasty různých linií, které byly použity jako podpůrná populace (*feeder*) v kokultuře s keratinocyty. Pouhé zavedení této kokultury vedlo u linie LEP₁₉ k objevení galektinu-2 v jádře, zatímco u podpůrných buněk standardně ošetřených mitomycinem C byl v kokultuře zaznamenán pokles intenzity signálu pro galektin-2. Tento poznatek je dalším příkladem interakce mezi epitelem a mezenchymem v průběhu morfogenetických pochodů. Stromální buňky z časných pasáží byly vůči výše uvedeným možnostem stimulace rezistentní.

Na základě stanoveného profilu fluorescenčního signálu bylo prokázáno, že galektin-2 je lokalizován v interchromatinových prostorech, ukazovalo na možnost, že

galektin-2 bude přítomen v některém z typů jaderných tělísek. Kolokalizace s proteinem PML (*ProMyelocytic Leukemia*) připouští úvahu o jeho možné roli v tomto typu jaderného tělíška

PML tělíška jsou proteinové struktury uvnitř buněčného jádra, které dosahují velikosti v rozmezí 0,3 – 1,0 um. Přestože že biologický význam PML není plně objasněn, lze považovat za prokázané, že tyto dynamické struktury slouží jako kompartmenty, ve kterých dochází ke shromažďování a úpravě důležitých regulačních faktorů. Tyto faktory mohou ve vhodných situacích opouštět rezervoár (PML tělíška) při odpovědi na zevní stresové stimuly jako je UV záření, alkylační činidla, ionty těžkých kovů, virová infekce či jiné poškození. Námí dokumentovaný stav po ozáření UV paprsky, kdy byl v okolí PML tělíška detekován signál pro galektin-2 z něj vystupující, či do něj vstupující, je v dobrém souladu s tímto předpokladem.

Funkční diverzita jednotlivých členů rodiny galektinů a jejich účast v pro- či protinádorových procesech zakládá oprávněnou otázku, zda mohou být i další galektiny se svojí schopností odlišení aberantní glykosylace, která je velmi u nádorových stavů běžná, využity stejně jako galektin-3 v diagnostické patologii jako prediktivní znak.

Homodimerický prototype galektin-7 detekovaný polyklonální (zkráceně nereagující) protilátkou byl zastížen ve všech vrstvách normální lidské epidermis a sliznic dutiny ústní, hltanu i hrtnanu (celkem n=57). Galektin-7 byl zastížen jak v jádrech (nejvíce v nukleolech), tak i v cytoplasmě. Toto pozorování opět rozšířilo a potvrdilo poznatky o přítomnosti galektinů v jádrech.

Galektin-7 naopak nebyl detekován v čepích bazocelulárního karcinomu (n=10), což bylo v ostrém kontrastu s pozitivitou okolní epidermis.

Ve spinocelulárních karcinomech (ať již primárních n=47, či v metastázách n=25) nebyl výskyt galektinu-7 jednotný, bylo možno odlišit 4 různé vzorce exprese.

Oblasti s nejméně intenzivním signálem většinou byly zastíženy v centrálních partiích tumorů a často odpovídaly oblastem s tvorbou keratinových perel (korelace ke kartinizaci $P=0,0105$). Přítomnost galektinu-7 v jádrech byla potvrzena pouze u vzorků s intenzivní expresí bez ohledu na její subtyp. Intenzivní homogenní exprese galektinu-7 byla rovněž asociována s dobře formovanou bazální membránou (hodnoceno barvením na kolagen-IV). U ostatních typů exprese galektinu-7 byly zaznamenány různě významné defekty bazální membrány, či dokonce její absence u nádorů galektin-7 negativních. Intenzivní homogenní typ exprese galektinu-7 koreloval s histologickým *gradingem* ($P=0,0009$). Nebyla zastížena korelace přítomnosti galektinu-7 k proliferaci hodnocené pomocí Ki-67 ($P=0,1376$). Korelace také nebyla nalezena k věku, pohlaví, místu primárního nádoru, angio- a lymfangioinvasi a perineurálnímu a extrakapsulárnímu šíření, či výsledku léčby. Bohužel

nebyly zaznamenány ani statisticky významné rozdíly mezi expresí galektinu-7 a přežitím pacientů.

10. Souhrn

- Lidská epidermis exprimuje galektin-1, -3 a -7. Galektin-1 a jeho vazební partneři jsou exprimováni v jádrech buněk velmi blízkých či totožných s kmenovými buňkami epidermis. Expresí galektinu-3 je závislá na stupni diferenciací buněk jak *in situ* tak *in vitro*. Podobná závislost platí i pro vazebná místa pro tento galektin. Expresí galektinu-7 není podmíněna stupněm diferenciací keratinocytů. Výskyt vazebných míst pro tento galektin nebyl v lidské kůži pozorován. Galektin-2 je exprimován v jádrech fibroblastů zejména ve stresových podmínkách
- Expresí galektinů a jejich glykoligandů v bazaliomu a psoritickém ložisku odráží stupeň jejich diferenciací. Za důležitou považujeme absenci galektinu-7 a vazebných míst pro galektin-3 v epitelových buňkách bazaliomu. Vysoce typickým znakem je zmnožení galektinu-1 ve stromatu bazaliomu a v psoriatické dermis. Byl rovněž zjištěn vztah mezi stupněm diferenciací buněk spinaliomu a expresí galektinu-7. Tato závislost však nemá vztah k přežití pacientů.
- Prioritními nálezy je zjištění, že fibroblasty ze stromatu lidských bazalionů a spinaliomů jsou histologicky aktivní a jsou schopny významně ovlivnit fenotyp normálních keratinocytů směrem k buňkám nádorovým.

11. Summary

- Galectins-1,-3 and -7 are expressed in human epidermis. Galectin-1 and his binding sites are expressed there in the nuclei of cells which are closely related to or are identical with the stem cell population. Expression pattern of galectin-3 is differentiation-dependent in tissue as well as *in vitro*. Binding sites for this galectin are present in the similar manner. Expression of galectin-7 is not observed in differentiation-dependent manner. Binding sites for this member of galectins family were never observed in the epidermis. Galectin-2 is expressed in the nuclei of fibroblast under stress conditions.
- Expression of observed galectins and their binding sites in basal cell carcinoma and in psoriatic plaque refers to the differentiation level. We emphasize the lack of galectin-7 and binding sites for galectin-3 in basal cell carcinoma epithelium. Highly typical is abundant presence of galectin-1 in the stroma of basal cell carcinoma and in dermis of psoriatic plaque. We have also observed the dependence of galectin-7 expression on differentiation of squamous cell carcinoma. This relationship has no correlation to the survival of patients.
- The biological activity of stromal fibroblast toward to normal keratinocytes resulting in induction of „cancer-like“ phenotype is the highlight of this study.

12. Literatura

1. Ackerman AB, Mones JM. Solar (actinic) keratosis is squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2006;155(1), p. 9-22
2. Ailles LE, Weissman IL. Cancer stem cells in solid tumors. *Curr Opin Biotechnol.* 2007, 18(5), p. 460-6.
3. Albanesi C, De Pità O, Girolomoni G. Resident skin cells in psoriasis: a special look at the pathogenetic functions of keratinocytes. *Clin Dermatol.* 2007, 25(6), p.581-8.
4. Al-Barwari SE, Potten CS. Regeneration and dose-response characteristics of irradiated mouse dorsal epidermal cells. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1976, 30(3), p. 201-16.
5. Alessi E, Venegoni L, Fanoni D, Berti E. Cytokeratin profile in basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol.* 2008, 30(3), p. 249-55.
6. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003, 100(7), p.3983-8.
7. Anetor JI, Wanibuchi H, Fukushima S. Arsenic exposure and its health effects and risk of cancer in developing countries. p. micronutrients as host defence. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2007, 8(1), p. 13-23.
8. Athar M, Tang X, Lee JL, Kopelovich L, Kim AL. Correlations between the Sonic Hedgehog pathway and basal cell carcinoma. *Int J Dermatol.* 2007, 46(11), p. 1113-7
9. Aub JC, Tieslau C, Lankaster A. Reactions of normal and tumor cell surfaces to enzymes. I. Wheat germ lipase and associates mukopolysaccharides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1963, 50, p. 613-9.
10. Augustin M, Krüger K, Radtke MA, Schwippl I, Reich K. Disease severity, quality of life and health care in plaque-type psoriasis: a multicenter cross-sectional study in Germany. *Dermatology.* 2008, 216(4), p.366-72.
11. Ball NJ, Tanhuanco-Kho G. Merkel cell carcinoma frequently shows histologic features of basal cell carcinoma: a study of 30 cases. *J Cutan Pathol.* 2007, 34(8), p. 612-9.
12. Barcellos-Hoff MH, Ewan KB. Transforming growth factor-beta and breast cancer: Mammary gland development. *Breast Cancer Res.* 2000, 2(2), p. 92-9
13. Barondes SH, Cooper DN, Gitt MA, Leffler H. Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem.* 1994, 269(33), p. 20807-10.
14. Barrandon Y, Green H. Cell size as a determinant of the clone-forming ability of human keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985, 82(16), p. 5390-4.
15. Barrandon Y, Green H. Three clonal types of keratinocyte with different capacities for multiplication. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987, 84(8), p. 2302-6.
16. Bath-Hextall F, Leonardi-Bee J, Smith C, Meal A, Hubbard R. Trends in incidence of skin basal cell carcinoma. Additional evidence from a UK primary care data base study. *Int J Cancer.* 2007, 121(9), p. 2105-8.
17. Bigby SM, Charlton A, Miller MV, Zwi LJ, Oliver GF. Biphasic sarcomatoid basal cell carcinoma (carcinosarcoma): four cases with immunohistochemistry and review of the literature. *J Cutan Pathol.* 2005, 32(2), p. 141-7.
18. Boehncke WH, Schön MP. Animal models of psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007, 25(6), p.596-605.
19. Boisvert FM, Hendzel MJ, Bazett-Jones DP. Promyelocytic leukemia (PML) nuclear bodies are protein structures that do not accumulate RNA. *J Cell Biol.* 2000, 148(2), p. 283-92.

20. Bouwes Bavinck JN, Plasmeijer EI, Feltkamp MC. Beta-papillomavirus infection and skin cancer. *J Invest Dermatol.* 2008, 128(6), p. 1355-8.
21. Boyd WC, Shapleigh E. Separation of individuals of any blood group into secretors and non-secretors by use of a plant agglutinin (lectin). *Blood.* 1954, 9(12), p. 1194-8.
22. Boyman O, Conrad C, Tonel G, Gilliet M, Nestle FO. The pathogenic role of tissue-resident immune cells in psoriasis. *Trends Immunol.* 2007, 28(2), p.51-7.
23. Brewer CF. Binding and cross-linking properties of galectins. *Biochim Biophys Acta.* 2002, 1572(2-3), p. 255-62.
24. Buettner PG, Raasch BA. Incidence rates of skin cancer in Townsville, Australia. *Int J Cancer.* 1998, 78(5), p. 587-93.
25. Burgdorf WH. Cancer-associated genodermatoses: a personal history. *Exp Dermatol.* 2006, 15(9), p. 653-66.
26. Burger JA, Kipps TJ. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. *Blood.* 2006, 107(5), p. 1761-7.
27. Buzás EI, György B, Pásztói M, Jelinek I, Falus A, Gabius HJ. Carbohydrate recognition systems in autoimmunity. *Autoimmunity.* 2006, 39(8), p. 691-704. Review
28. Carlson JA, Combates NJ, Stenn KS, Prouty SM. Anaplastic neoplasms arising from basal cell carcinoma xenotransplants into SCID-beige mice. *J Cutan Pathol.* 2002, 29(5), p. 268-78
29. Clark RA, Kupper TS. Misbehaving macrophages in the pathogenesis of psoriasis. *J Clin Invest.* 2006, 116(8), p.2084-7.
30. Cooper DN. Galectinomics: finding themes in complexity. *Biochim Biophys Acta.* 2002, 1572(2-3), p. 209-31.
31. Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol.* 2006, 126(7), p. 1459-68.
32. Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol.* 2006, 19 Suppl 2, p. S127-47
33. Dabelsteen E, Broby-Johansen U, Jeppe-Jensen D, Mandel U. Cell surface glycosylation patterns in psoriasis. *APMIS.* 1990, 98(3), p. 221-8.
34. De Craene B, Gilbert B, Stove C, Bruyneel E, van Roy F, Berx G. The transcription factor snail induces tumor cell invasion through modulation of the epithelial cell differentiation program. *Cancer Res.* 2005, 65(14), p. 6237-44.
35. De Wever O, Mareel M. Role of tissue stroma in cancer cell invasion. *J Pathol.* 2003, 200(4), p. 429-47.
36. Delleire G, Bazett-Jones DP. PML nuclear bodies: dynamic sensors of DNA damage and cellular stress. *Bioessays.* 2004, 26(9), p. 963-77
37. Desmoulière A, Guyot C, Gabbiani G. The stroma reaction myofibroblast: a key player in the control of tumor cell behavior. *Int J Dev Biol.* 2004;48(5-6), p. 509-17.
38. Dong-Le Bourhis X, Berthois Y, Millot G, Degeorges A, Sylvi M, Martin PM, Calvo F. Effect of stromal and epithelial cells derived from normal and tumorous breast tissue on the proliferation of human breast cancer cell lines in co-culture. *Int J Cancer.* 1997, 71(1), p. 42-8
39. Duelli D, Lazebnik Y. Cell fusion: a hidden enemy? *Cancer Cell.* 2003, 3(5), p. 445-8.
40. Dunnwald M, Chinnathambi S, Alexandrunas D, Bickenbach JR. Mouse epidermal stem cells proceed through the cell cycle. *J Cell Physiol.* 2003, 195(2), p.194-201.
41. Dvorak HF. Rous-Whipple Award Lecture. How tumors make bad blood vessels and stroma. *Am J Pathol.* 2003, 162(6), p. 1747-57.
42. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med.* 1986, 315(26), p. 1650-9.

43. Dvoránková B, Motlík J, Holíková Z, Vacík J, Smetana K Jr. Dolichos biflorus agglutinin-binding site expression in basal keratinocytes is associated with cell differentiation. *Biol Cell*. 2002, 94(6), p. 365-7
44. Dvoránková B, Smetana K Jr, Vacík J, Jelínková M. Cultivation of keratinocytes on poly HEMA and their migration after inversion. *Folia Biol (Praha)*. 1996;42(3), p. 83-6.
45. Dworaczek H, Xiao W. Xeroderma pigmentosum: a glimpse into nucleotide excision repair, genetic instability, and cancer. *Crit Rev Oncog*. 2007, 13(2), p. 159-77.
46. El-Bahrawy M, El-Masry N, Alison M, Poulosom R, Fallowfield M. Expression of beta-catenin in basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2003, 148(5), p. 964-70
47. Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med* 2003; 348, p. 1681-1691
48. Fan YS, Carr RA, Sanders DS, Smith AP, Lazar AJ, Calonje E. Characteristic Ber-EP4 and EMA expression in sebaceoma is immunohistochemically distinct from basal cell carcinoma. *Histopathology*. 2007, 51(1), p. 80-6.
49. Fronková V, Holíková Z, Liu FT, Homolka J, Rijken DC, André S, Bovin NV, Smetana K Jr, Gabius HJ. Simultaneous detection of endogenous lectins and their binding capacity at the single-cell level--a technical note. *Folia Biol (Praha)*. 1999;45(4), p.157-62.
50. Fuchs E. Epidermal differentiation: the bare essentials. *J Cell Biol*. 1990, 111(6 Pt 2), p. 2807-14.
51. Fuchs E. Scratching the surface of skin development. *Nature*. 2007, 445(7130), p. 834-42.
52. Fukino K, Shen L, Patocs A, Mutter GL, Eng C. Genomic instability within tumor stroma and clinicopathological characteristics of sporadic primary invasive breast carcinoma. *JAMA*. 2007, 297(19), p. 2103-11
53. Gabius HJ, André S, Kaltner H, Siebert HC. The sugar code: functional lectinomics. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1572(2-3), p.165-77.
54. Gabius HJ, Siebert HC, André S, Jiménez-Barbero J, Rüdiger H. Chemical biology of the sugar code. *ChemBiochem*. 2004, 5(6), p. 740-64
55. Gambichler T, Hoffjan S, Altmeyer P, Bechara FG. A case of sporadic Bazex-Dupré-Christol syndrome presenting with scarring folliculitis of the scalp. *Br J Dermatol*. 2007, 156(1), p. 184-6.
56. Ganss R. Tumor stroma fosters neovascularization by recruitment of progenitor cells into the tumor bed. *J Cell Mol Med*. 2006, 10(4), p. 857-65.
57. Garcia SB, Park HS, Novelli M, Wright NA. Field cancerization, clonality, and epithelial stem cells: the spread of mutated clones in epithelial sheets. *J Pathol*. 1999, 187(1), p. 61-81.
58. Ghazizadeh S, Taichman LB. Organization of stem cells and their progeny in human epidermis. *J Invest Dermatol*. 2005, 124(2), p. 367-72.
59. Ghoreschi K, Weigert C, Röcken M. Immunopathogenesis and role of T cells in psoriasis. *Clin Dermatol*. 2007, 25(6), p.574-80.
60. Giardina E, Sinibaldi C, Novelli G. The psoriasis genetics as a model of complex disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2004, 3(2), p.129-36.
61. Gil J, Stembalska A, Pesz KA, Sasiadek MM. Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy. *J Appl Genet*. 2008;49(2), p. 193-9.
62. Goedkoop AY, Kraan MC, Picavet DI, de Rie MA, Teunissen MB, Bos JD, Tak PP. Deactivation of endothelium and reduction in angiogenesis in psoriatic skin and synovium by low dose infliximab therapy in combination with stable methotrexate therapy: a prospective single-centre study. *Arthritis Res Ther*. 2004, 6(4), p. R326-34.

63. Gorlin RJ, Goltz RW. Multiple nevoid basal-cell epithelioma, jaw cysts and bifid rib. A syndrome. *N Engl J Med.* 1960, 262, p. 908-12.
64. Grabe N, Neuber K. Simulating psoriasis by altering transit amplifying cells. *Bioinformatics.* 2007, 1;23(11), p. 1309-12.
65. Granot D, Addadi Y, Kalchenko V, Harmelin A, Kunz-Schughart LA, Neeman M. In vivo imaging of the systemic recruitment of fibroblasts to the angiogenic rim of ovarian carcinoma tumors. *Cancer Res.* 2007,67(19), p.9180-9.
66. Grjibovski AM, Olsen AO, Magnus P, Harris JR. Psoriasis in Norwegian twins: contribution of genetic and environmental effects. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007, 21(10), p.1337-43.
67. Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology. *Pathology.* 2007, 39(3), p. 305-18.
68. Gudjonsson T, Rønnov-Jessen L, Villadsen R, Bissell MJ, Petersen OW. To create the correct microenvironment: three-dimensional heterotypic collagen assays for human breast epithelial morphogenesis and neoplasia. *Methods.* 2003, 30(3), p. 247-55.
69. Hagios C, Lochter A, Bissell MJ. Tissue architecture: the ultimate regulator of epithelial function? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1998, 353(1370), p. 857-70.
70. Harrison FL. Soluble vertebrate lectins: ubiquitous but inscrutable proteins. *J Cell Sci.* 1991,100 (Pt 1), p. 9-14
71. Hart C, Drewel D, Mueller G, Grassinger J, Zaiss M, Kunz-Schughart LA, Andreesen R, Reichle A, Holler E, Hennemann B. Expression and function of homing-essential molecules and enhanced in vivo homing ability of human peripheral blood-derived hematopoietic progenitor cells after stimulation with stem cell factor. *Stem Cells.* 2004, 22(4), p. 580-9.
72. Hendrix MJ, Seftor EA, Seftor RE, Trevor KT. Experimental co-expression of vimentin and keratin intermediate filaments in human breast cancer cells results in phenotypic interconversion and increased invasive behavior. *Am J Pathol.* 1997, 150(2), p. 483-95.
73. Heyl J, Mehregan D. Immunolabeling pattern of cytokeratin 19 expression may distinguish sebaceous tumors from basal cell carcinomas. *J Cutan Pathol.* 2008, 35(1), p. 40-5.
74. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Galli A, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G. The myofibroblast, p. one function, multiple origins. *Am J Pathol.* 2007, 170(6), p. 1807-16.
75. Hirabayashi J, Hashidate T, Arata Y, Nishi N, Nakamura T, Hirashima M, Urashima T, Oka T, Futai M, Muller WE, Yagi F, Kasai K. Oligosaccharide specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography. *Biochim Biophys Acta.* 2002,1572(2-3), p. 232-54.
76. Hirabayashi J, Kasai K. The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. *Glycobiology.* 1993, 3(4), p. 297-304.
77. Holíková Z, Hrdlicková-Cela E, Plzák J, Smetana K Jr, Betka J, Dvoránková B, Esner M, Wasano K, André S, Kaltner H, Motlík J, Hercogová J, Kodet R, Gabius HJ. Defining the glycophenotype of squamous epithelia using plant and mammalian lectins. Differentiation-dependent expression of alpha2,6- and alpha2,3-linked N-acetylneuraminic acid in squamous epithelia and carcinomas, and its differential effect on binding of the endogenous lectins galectins-1 and -3. *APMIS.* 2002, 110(12), p. 845-56.

78. Houzelstein D, Gonçalves IR, Fadden AJ, Sidhu SS, Cooper DN, Drickamer K, Leffler H, Poirier F. Phylogenetic analysis of the vertebrate galectin family. *Mol Biol Evol.* 2004, 21(7), p. 1177-87.
79. Huber MA, Azoitei N, Baumann B, Grünert S, Sommer A, Pehamberger H, Kraut N, Beug H, Wirth T. NF-kappaB is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression. *J Clin Invest.* 2004, 114(4), p. 569-81
80. Huttunen M, Naukkarinen A, Horsmanheimo M, Harvima IT. Transient production of stem cell factor in dermal cells but increasing expression of Kit receptor in mast cells during normal wound healing. *Arch Dermatol Res.* 2002, 294(7), p.324-30. Epub 2002
81. Chamian F, Krueger JG. Psoriasis vulgaris: an interplay of T lymphocytes, dendritic cells, and inflammatory cytokines in pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol.* 2004, 16(4), p.331-7.
82. Ch'ng S, Wallis RA, Yuan L, Davis PF, Tan ST. Mast cells and cutaneous malignancies. *Mod Pathol.* 2006, 19(1), p. 149-59
83. Cho M, Cummings RD. Galectin-1, a beta-galactoside-binding lectin in Chinese hamster ovary cells. I. Physical and chemical characterization. *J Biol Chem.* 1995, 270(10), p. 5198-206.
84. Chovanec M, Smetana K Jr, Dvoránková B, Plzáková Z, André S, Gabius HJ. Decrease of nuclear reactivity to growth-regulatory galectin-1 in senescent human keratinocytes and detection of non-uniform staining profile alterations upon prolonged culture for galectin-1 and -3. *Anat Histol Embryol.* 2004, 33(6), p. 348-54.
85. Chrenek MA, Wong P, Weaver VM. Tumour-stromal interactions. Integrins and cell adhesions as modulators of mammary cell survival and transformation. *Breast Cancer Res.* 2001;3(4), p. 224-9
86. Christiansen JJ, Rajasekaran AK. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res.* 2006, 66(17), p. 8319-26
87. Jacobsen BM, Harrell JC, Jedlicka P, Borges VF, Varella-Garcia M, Horwitz KB. Spontaneous fusion with, and transformation of mouse stroma by, malignant human breast cancer epithelium. *Cancer Res.* 2006, 66(16), p. 8274-9
88. Jariwala SP. The role of dendritic cells in the immunopathogenesis of psoriasis. *Arch Dermatol Res.* 2007;299(8), p.359-66.
89. Jechlinger M, Grunert S, Tamir IH, Janda E, Lüdemann S, Waerner T, Seither P, Weith A, Beug H, Kraut N. Expression profiling of epithelial plasticity in tumor progression. *Oncogene.* 2003, 22(46), p. 7155-69
90. Jones PH, Watt FM. Separation of human epidermal stem cells from transit amplifying cells on the basis of differences in integrin function and expression. *Cell.* 1993, 73(4), p. 713-24.
91. Kamstrup MR, Gniadecki R, Skovgaard GL. Putative cancer stem cells in cutaneous malignancies. *Exp Dermatol.* 2007, 16(4), p.297-301.
92. Karagas MR, Greenberg ER, Spencer SK, Stukel TA, Mott LA. Increase in incidence rates of basal cell and squamous cell skin cancer in New Hampshire, USA. New Hampshire Skin Cancer Study Group. *Int J Cancer.* 1999, 81(4), p. 555-9.
93. Katalinic A, Kunze U, Schäfer T. Epidemiology of cutaneous melanoma and non-melanoma skin cancer in Schleswig-Holstein, Germany: incidence, clinical subtypes, tumour stages and localization (epidemiology of skin cancer). *Br J Dermatol.* 2003, 149(6), p. 1200-6.

94. Kaur P, Li A. Adhesive properties of human basal epidermal cells: an analysis of keratinocyte stem cells, transit amplifying cells, and postmitotic differentiating cells. *J Invest Dermatol.* 2000,114(3), p. 413-20
95. Kaur P, Mulvaney M, Carlson JA. Basal cell carcinoma progression correlates with host immune response and stromal alterations: a histologic analysis. *Am J Dermatopathol.* 2006, 28(4), p. 293-307
96. Keller M, Spanou Z, Schaerli P, Britschgi M, Yawalkar N, Seitz M, Villiger PM, Pichler WJ.T cell-regulated neutrophilic inflammation in autoinflammatory diseases. *J Immunol.* 2005, 175(11), p.7678-86.
97. Kilpatrick DC. Animal lectins: a historical introduction and overview. *Biochim Biophys Acta.* 2002, 1572(2-3), p. 187-97. Review
98. Kim YC, Vandersteen DP, Chung YJ, Myong NH. Signet ring cell basal cell carcinoma: a basal cell carcinoma with myoepithelial differentiation. *Am J Dermatopathol.* 2001, 23(6), p. 525-9.
99. Kitchin KT, Wallace K. The role of protein binding of trivalent arsenicals in arsenic carcinogenesis and toxicity. *J Inorg Biochem.* 2008, 102(3), p. 532-9.
100. Klima J, Motlik J, Gabius HJ, Smetana K Jr. Phenotypic characterization of porcine interfollicular keratinocytes separated by elutriation: a technical note. *Folia Biol (Praha).* 2007;53(1), p. 33-6.
101. Kolodka TM, Garlick JA, Taichman LB. Evidence for keratinocyte stem cells in vitro: long term engraftment and persistence of transgene expression from retrovirus-transduced keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998, 95(8), p. 4356-61.
102. Koster MI, Roop DR. p63 and epithelial appendage development. *Differentiation.* 2004, 72(8), p. 364-70.
103. Krahl D, Sellheyer K. Monoclonal antibody Ber-EP4 reliably discriminates between microcystic adnexal carcinoma and basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol.* 2007, 34(10), p. 782-7.
104. Kulbe H, Levinson NR, Balkwill F, Wilson JL. The chemokine network in cancer--much more than directing cell movement. *Int J Dev Biol.* 2004, 48(5-6), p. 489-96.
105. Kunz-Schughart LA, Wenninger S, Neumeier T, Seidl P, Knuechel R. Three-dimensional tissue structure affects sensitivity of fibroblasts to TGF-beta 1. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003, 284(1), p. 209-19.
106. Kurzen H, Esposito L, Langbein L, Hartschuh W. Cytokeratins as markers of follicular differentiation: an immunohistochemical study of trichoblastoma and basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol.* 2001, 23(6), p. 501-9.
107. Lahm H, André S, Hoeflich A, Kaltner H, Siebert HC, Sordat B, von der Lieth CW, Wolf E, Gabius HJ. Tumor galectinology: insights into the complex network of a family of endogenous lectins. *Glycoconj J.* 2004;20(4):227-38.
108. Laine RA. Glycoconjugates: overview and strategy. *Methods Enzymol.* 1990;193, p.539-53.
109. Lajtha LG. Stem cell concepts. *Differentiation.* 1979;14(1-2), p. 23-34
110. Landsteiner K, Raubitschek H, Beobachtungen über Hämolyse und Hämagglutination. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.,* 1907, 45, p. 600-607.
111. Lang PG, Maize JC. Histologic evolution of recurrent basal cell carcinoma and treatment implications. *J Am Acad Dermatol* 1986;14, p. 186-196.
112. Lavker RM, Sun TT. Epidermal stem cells. *J Invest Dermatol.* 1983 Jul;81(1 Suppl), p. 121s-7s
113. Lavker RM, Sun TT. Heterogeneity in epidermal basal keratinocytes: morphological and functional correlations. *Science.* 1982, 215(4537), p. 1239-41.
114. Lee TK, Poon RT, Yuen AP, Ling MT, Kwok WK, Wang XH, Wong YC, Guan XY, Man K, Chau KL, Fan ST. Twist overexpression correlates with hepatocellular

- carcinoma metastasis through induction of epithelial-mesenchymal transition. *Clin Cancer Res.* 2006, 12(18), p. 5369-76.
115. Leffler H, Carlsson S, Hedlund M, Qian Y, Poirier F. Introduction to galectins. *Glycoconj J.* 2004;19(7-9), p. 433-40.
 116. Li H, Fan X, Houghton J. Tumor microenvironment: the role of the tumor stroma in cancer. *J Cell Biochem.* 2007, 101(4), p. 805-15
 117. Ling G, Ahmadian A, Persson A, Uhdén AB, Afink G, Williams C, Uhlén M, Toftgård R, Lundeberg J, Pontén F. PATCHED and p53 gene alterations in sporadic and hereditary basal cell cancer. *Oncogene.* 2001, 20(53), p. 7770-8
 118. Lizzul PF, Aphale A, Malaviya R, Sun Y, Masud S, Dombrovskiy V, Gottlieb AB. Differential expression of phosphorylated NF-kappaB/RelA in normal and psoriatic epidermis and downregulation of NF-kappaB in response to treatment with etanercept. *J Invest Dermatol.* 2005, 124(6), p. 1275-83.
 119. Lupi O. Correlations between the Sonic Hedgehog pathway and basal cell carcinoma. *Int J Dermatol.* 2007, 46(11), p. 1113-7
 120. Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, Elder DE, Albelda S, Cotsarelis G. The C8/144B monoclonal antibody recognizes cytokeratin 15 and defines the location of human hair follicle stem cells. *J Cell Sci.* 1998, 111 (Pt 21), p. 3179-88.
 121. Ma DR, Yang EN, Lee ST. A review: the location, molecular characterisation and multipotency of hair follicle epidermal stem cells. *Ann Acad Med Singapore.* 2004, 33(6), p. 784-8.
 122. Mackenzie IC. Relationship between mitosis and the ordered structure of the stratum corneum in mouse epidermis. *Nature.* 1970, 226(5246), p. 653-5.
 123. Mackenzie IC. Retroviral transduction of murine epidermal stem cells demonstrates clonal units of epidermal structure. *J Invest Dermatol.* 1997, 109(3), p. 377-83.
 124. Maffini MV, Soto AM, Calabro JM, Ucci AA, Sonnenschein C. The stroma as a crucial target in rat mammary gland carcinogenesis. *J Cell Sci.* 2004 , 117(8), p. 1495-502.
 125. Mahmoodi M, Asad H, Salim S, Kantor G, Minimo C. Anti-cytokeratin 20 staining of Merkel cells helps differentiate basaloid proliferations overlying dermatofibromas from basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol.* 2005, 32(7), p. 491-5.
 126. Matoušková E, Veselý P, Königová R. Modified method of in vitro cultivation of human keratinocytes suitable for grafting. *Folia Biol (Praha).* 1989;35(4), p. 267-71.
 127. Medina D, Kittrell F. Stroma is not a major target in DMBA-mediated tumorigenesis of mouse mammary preneoplasia. *J Cell Sci.* 2005, 118(Pt 1), p. 123-7
 128. Michaëlsson G, Olsson E, Westermark P. The Rombo syndrome: a familial disorder with vermiculate atrophoderma, milia, hypotrichosis, trichoepitheliomas, basal cell carcinomas and peripheral vasodilation with cyanosis. *Acta Derm Venereol.* 1981;61(6), p. 497-503
 129. Mitropoulos P, Norman R. Occupational nonsolar risk factors of squamous cell carcinoma of the skin: a population-based case-controlled study. *Dermatol Online J.* 2005, 11(2), p. 5.
 130. Miura H, Sano S, Higashiyama M, Yoshikawa K, Itami S. Involvement of insulin-like growth factor-I in psoriasis as a paracrine growth factor: dermal fibroblasts play a regulatory role in developing psoriatic lesions. *Arch Dermatol Res.* 2000, 292(12), p. 590-7.
 131. Moinfar F, Man YG, Arnould L, Bratthauer GL, Ratschek M, Tavassoli FA. Concurrent and independent genetic alterations in the stromal and epithelial cells of mammary carcinoma: implications for tumorigenesis. *Cancer Res.* 2000, 60(9), p. 2562-6

132. Morgan WT, Watkins WM. The inhibition of the haemagglutinins in plant seeds by human blood group substances and simple sugars. *Br J Exp Pathol.* 1953, 34(1), p. 94-103
133. Morris R, Argyris TS. Epidermal cell cycle and transit times during hyperplastic growth induced by abrasion or treatment with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Res.* 1983,43(10), p. 4935-42
134. Morris RJ, Potten CS. Slowly cycling (label-retaining) epidermal cells behave like clonogenic stem cells in vitro. *Cell Prolif.* 1994, 27(5), p. 279-89.
135. Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M, Wang JL. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate-binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987, 84(18), p. 6452-6.
136. Mueller MM, Fusenig NE. Tumor-stroma interactions directing phenotype and progression of epithelial skin tumor cells. *Differentiation.* 2002,70(9-10), p. 486-97.
137. Nagase T, Nagase M, Machida M, Fujita T. Hedgehog signalling in vascular development. *Angiogenesis.* 2008;11(1), p.71-7
138. Nair RP, Stuart PE, Nistor I, Hiremagalore R, Chia NV, Jenisch S, Weichenthal M, Abecasis GR, Lim HW, Christophers E, Voorhees JJ, Elder JT. Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet.* 2006, 78(5), p.827-51
139. Nakahara S, Oka N, Raz A. On the role of galectin-3 in cancer apoptosis. *Apoptosis.* 2005, 10(2), p. 267-75.
140. Nickoloff BJ, Xin H, Nestle FO, Qin JZ. The cytokine and chemokine network in psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007, 25(6), p.568-73.
141. Nowell PC. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.* 1960, 20, p. 462-6.
142. Ogden GR. Field cancerisation in the head and neck. *Oral Dis.* 1998, 4(1), p. 1-3
143. Ochieng J, Furtak V, Lukyanov P. Extracellular functions of galectin-3. *Glycoconj J.* 2004;19(7-9), p.527-35.
144. Okuyama R, Tagami H, Aiba S. Notch signaling: its role in epidermal homeostasis and in the pathogenesis of skin diseases. *J Dermatol Sci.* 2008, 49(3), p. 187-94.
145. Opendakker G, Van Damme J. The countercurrent principle in invasion and metastasis of cancer cells. Recent insights on the roles of chemokines. *Int J Dev Biol.* 2004, 48(5-6), p. 519-27.
146. Oyama N, Iwatsuki K, Satoh M, Akiba H, Kaneko F. Dermal fibroblasts are one of the therapeutic targets for topical application of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃: the possible involvement of transforming growth factor- β induction. *Br J Dermatol.* 2000, 143(6), p.1140-8.
147. Paget S. The Distribution Of Secondary Growths In Cancer Of The Breast, *The Lancet*, 1889, Volume 133, Issue 3421, p. 571-573
148. Patocs A, Zhang L, Xu Y, Weber F, Caldes T, Mutter GL, Platzer P, Eng C. Breast-cancer stromal cells with TP53 mutations and nodal metastases. *N Engl J Med.* 2007, 357(25), p. 2543-51
149. Patterson RJ, Wang W, Wang JL. Understanding the biochemical activities of galectin-1 and galectin-3 in the nucleus. *Glycoconj J.* 2004;19(7-9), p. 499-506.
150. Petersen LJ, Hansen U, Kristensen JK, Nielsen H, Skov PS, Nielsen HJ. Studies on mast cells and histamine release in psoriasis: the effect of ranitidine. *Acta Derm Venereol.* 1998, 78(3), p.190-3
151. Petersen OW, Lind Nielsen H, Gudjonsson T, Villadsen R, Rønnov-Jessen L, Bissell MJ. The plasticity of human breast carcinoma cells is more than epithelial to mesenchymal conversion. *Breast Cancer Res.* 2001;3(4), p. 213-7.

152. Petersen OW, Nielsen HL, Gudjonsson T, Villadsen R, Rank F, Niebuhr E, Bissell MJ, Rønnov-Jessen L. Epithelial to mesenchymal transition in human breast cancer can provide a nonmalignant stroma. *Am J Pathol.* 2003, 162(2), p. 391-402.
153. Plzák J, Betka J, Smetana K Jr, Chovanec M, Kaltner H, André S, Kodet R, Gabius HJ. Galectin-3 - an emerging prognostic indicator in advanced head and neck carcinoma. *Eur J Cancer.* 2004, 40(15), p. 2324-30
154. Plzák J, Smetana K Jr, Betka J, Kodet R, Kaltner H, Gabius HJ. Endogenous lectins (galectins-1 and -3) as probes to detect differentiation-dependent alterations in human squamous cell carcinomas of the oropharynx and larynx. *Int J Mol Med.* 2000,5(4), p. 369-72.
155. Plzák J, Smetana K Jr, Hrdlicková E, Kodet R, Holíková Z, Liu FT, Dvoránková B, Kaltner H, Betka J, Gabius HJ. Expression of galectin-3-reactive ligands in squamous cancer and normal epithelial cells as a marker of differentiation. *Int J Oncol.* 2001, 19(1), p. 59-64.
156. Potten CS, Hendry JH. Letter: Clonogenic cells and stem cells in epidermis. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1973, 24(5), p. 537-40.
157. Potten CS. The epidermal proliferative unit: the possible role of the central basal cell. *Cell Tissue Kinet.* 1974, 7(1), p. 77-88.
158. Press SG. Odontogenic tumors of the maxillary sinus. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;16(1):47-54
159. Proia DA, Kuperwasser C. Stroma: tumor agonist or antagonist. *Cell Cycle.* 2005, 4(8), p. 1022-5.
160. Raasch BA, Buettner PG, Garbe C. Basal cell carcinoma: histological classification and body-site distribution. *Br J Dermatol.* 2006, 155(2), p. 401-7.
161. Radisky DC, Kenny PA, Bissell MJ. Fibrosis and cancer: do myofibroblasts come also from epithelial cells via EMT? *J Cell Biochem.* 2007,101(4), p. 830-9. Review.
162. Reischl J, Schwenke S, Stürzebecher S, Heubach JF. Increased expression of Wnt5a in psoriatic plaques. *J Invest Dermatol.* 2007, 127(1), p.163-9.
163. Requena L, Fariña MC, Robledo M, Sanguenza OP, Sanchez E, Villanueva A, Marquina A, Tamarit R. Multiple hereditary infundibulocystic basal cell carcinomas: a genodermatosis different from nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Arch Dermatol.* 1999, 135(10), p. 1227-35.
164. Rigel DS. Cutaneous ultraviolet exposure and its relationship to the development of skin cancer. *J Am Acad Dermatol.* 2008, 58(5 Suppl 2), p. S129-32
165. Rott S, Mrowietz U. Recent developments in the use of biologics in psoriasis and autoimmune disorders. The role of autoantibodies. *BMJ.* 2005, 26;330(7493), p. 716-20.
166. Rüdiger H, Gabius HJ. Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconj J.* 2001,(8):589-613.
167. Saldanha G, Fletcher A, Slater DN. Basal cell carcinoma: a dermatopathological and molecular biological update. *Br J Dermatol.* 2003, 148(2), p. 195-202
168. Saldanha G, Shaw JA, Fletcher A. Evidence that superficial basal cell carcinoma is monoclonal from analysis of the Ptc1 gene locus. *Br J Dermatol.* 2002, 147(5), p. 931-5.
169. Sexton M, Jones DB, Maloney ME. Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 1990;23, p. 1118-1126.
170. Shalom-Feuerstein R, Cooks T, Raz A, Kloog Y. Galectin-3 regulates a molecular switch from N-Ras to K-Ras usage in human breast carcinoma cells. *Cancer Res.* 2005 , 65(16), p.7292-300.
171. Sharon N, Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology.* 2004;14(11), p. 53-62.

172. Shekhar MP, Pauley R, Heppner G. Host microenvironment in breast cancer development: extracellular matrix-stromal cell contribution to neoplastic phenotype of epithelial cells in the breast. *Breast Cancer Res.* 2003;5(3), p. 130-5
173. Shekhar MP, Werdell J, Santner SJ, Pauley RJ, Tait L. Breast stroma plays a dominant regulatory role in breast epithelial growth and differentiation: implications for tumor development and progression. *Cancer Res.* 2001, 61(4), p. 1320-6
174. Shephard P, Martin G, Smola-Hess S, Brunner G, Krieg T, Smola H. Myofibroblast differentiation is induced in keratinocyte-fibroblast co-cultures and is antagonistically regulated by endogenous transforming growth factor-beta and interleukin-1. *Am J Pathol.* 2004, 164(6), p. 2055-66
175. Schedin P, Elias A. Multistep tumorigenesis and the microenvironment. *Breast Cancer Res.* 2004;6(2), p. 93-101.
176. Schön MP. Animal models of psoriasis: a critical appraisal. *Exp Dermatol.* 2008, 17(8),p.703-12.
177. Schramm RD, Paprocki AM. In vitro development and cell allocation following aggregation of split embryos with tetraploid or developmentally asynchronous blastomeres in rhesus monkeys. *Cloning Stem Cells.* 2004;6(3), p. 302-14
178. Sieber-Blum M, Grim M, Hu YF, Szeder V. Pluripotent neural crest stem cells in the adult hair follicle. *Dev Dyn.* 2004, 231(2), p. 258-69.
179. Silberstein GB. Tumour-stromal interactions. Role of the stroma in mammary development. *Breast Cancer Res.* 2001;3(4), p. 218-23.
180. Singer C, Rasmussen A, Smith HS, Lippman ME, Lynch HT, Cullen KJ. Malignant breast epithelium selects for insulin-like growth factor II expression in breast stroma: evidence for paracrine function. *Cancer Res.* 1995, 55(11), p. 2448-54
181. Slater DN, McKee PH. Minimum Dataset for the Histopathological Reporting of Common Skin Cancers. London: The Royal College of Pathologists, 2002, p. 1–23.
182. Smetana K Jr, André S. Mammalian lectin as tool in glycochemistry and histochemistry with relevance for diagnostic procedure. *Methods Mol Biol.* 2008;418, p.171-86.
183. Smetana K Jr, Plzák J, Dvoránková B, Holíková Z. Functional consequences of the glycophenotype of squamous epithelia--practical employment. *Folia Biol (Praha).* 2003;49(3), p. 118-27.
184. Staples MP, Elwood M, Giles GG. Non-melanoma skin cancer in Australia: the 2002 national survey and trends since 1985. *Med J Aust.* 2006, 184(1), p. 6-10
185. Sterry W. Skin diseases with high public health impact. Nonmelanoma skin cancer. *Eur J Dermatol.* 2007, 17(6), p. 562-3.
186. Stockert RJ, Morell AG, Scheinberg IH. Mammalian hepatic lectin. *Science.* 1974, 186(4161), p. 365-6.
187. Stratis A, Pasparakis M, Rupec RA, Markur D, Hartmann K, Scharffetter-Kochanek K, Peters T, van Rooijen N, Krieg T, Haase I. Pathogenic role for skin macrophages in a mouse model of keratinocyte-induced psoriasis-like skin inflammation. *J Clin Invest.* 2006, 116(8), p.2094-104.
188. Suárez B, López-Abente G, Martínez C, Navarro C, Tormo MJ, Rosso S, Schraub S, Gafá L, Sancho-Garnier H, Wechsler J, Zanetti R. Occupation and skin cancer: the results of the HELIOS-I multicenter case-control study. *BMC Public Health.* 2007, 7(147), p. 180.
189. Štork J.(ed.) *Dermatovenerologie.* Praha, 2008, Galén/Karolinum, 502 s.
190. Tarin D, Thompson EW, Newgreen DF. The fallacy of epithelial mesenchymal transition in neoplasia. *Cancer Res.* 2005, 65(14), p. 5996-6000.
191. Teichberg VI, Silman I. A beta-D-galactoside binding protein from electric organ tissue of *Electrophorus electricus*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975, 72(4), p. 1383-7.

192. Telfer NR, Colver GB, Morton CA; British Association of Dermatologists. Guidelines for the management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2008, 159(1), p. 35-48.
193. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol.* 2003, 15(6), p. 740-6
194. Tilli CM, Van Steensel MA, Krekels GA, Neumann HA, Ramaekers FC. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2005 Jun;152(6):1108-24.
195. Tlsty TD, Coussens LM. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol.* 2006;1, p. 119-50.
196. Tozawa T, Ackerman AB. Basal cell carcinoma with follicular differentiation. *Am J Dermatopathol.* 1987, 9(6), p. 474-82.
197. Tsai RY, McKay RD. A multistep, GTP-driven mechanism controlling the dynamic cycling of nucleostemin. *J Cell Biol.* 2005, 168(2), p. 179-84
198. Tsai RY, McKay RD. A nucleolar mechanism controlling cell proliferation in stem cells and cancer cells. *Genes Dev.* 2002, 16(23), p. 2991-3003.
199. Tse JC, Kalluri R. Mechanisms of metastasis: epithelial-to-mesenchymal transition and contribution of tumor microenvironment. *J Cell Biochem.* 2007, 101(4), p. 816-29.
200. Tschachler E. Psoriasis: the epidermal component. *Clin Dermatol.* 2007, 25(6), p. 589-95.
201. Ullmann U, In't Veld P, Gilles C, Sermon K, De Rycke M, Van de Velde H, Van Steirteghem A, Liebaers I. Epithelial-mesenchymal transition process in human embryonic stem cells cultured in feeder-free conditions. *Mol Hum Reprod.* 2007, 13(1), p. 21-32.
202. Vabres P, Lacombe D, Rabinowitz LG, Aubert G, Anderson CE, Taieb A, Bonafé JL, Hors-Cayla MC. The gene for Bazex-Dupré-Christol syndrome maps to chromosome Xq. *J Invest Dermatol.* 1995, 105(1), p. 87-91
203. Valdimarsson H. The genetic basis of psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007, 25(6), p. 563-7.
204. van Brabant AJ, Stan R, Ellis NA. DNA helicases, genomic instability, and human genetic disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2000;1, p. 409-59.
205. van Scott EJ, Reinertson RP. The modulating influence of stromal environment on epithelial cells studied in human autotransplants. *J Invest Dermatol.* 1961, 36, p. 109-31
206. Velasco P, Lange-Asschenfeldt B. Dermatological aspects of angiogenesis. *Br J Dermatol.* 2002 Nov;147(5):841-52.
207. Villalobo A, Gabius H. Signaling pathways for transduction of the initial message of the glycode into cellular responses. *Acta Anat (Basel).* 1998, 161(1-4), p. 110-29.
208. von der Lieth CW, Bohne-Lang A, Lohmann KK, Frank M. Bioinformatics for glycomics: status, methods, requirements and perspectives. *Brief Bioinform.* 2004, 5(2), p. 164-78
209. Wan H, Stone MG, Simpson C. Desmosomal proteins, including desmoglein 3, serve as novel negative markers for epidermal stem cell-containing population of keratinocytes. *J Cell Sci.* 2003, 116(Pt 20), p. 4239-48.
210. Wang JL, Gray RM, Haudek KC, Patterson RJ. Nucleocytoplasmic lectins. *Biochim Biophys Acta.* 2004, 1673(1-2), p. 75-93
211. Watt FM. Epidermal stem cells: markers, patterning and the control of stem cell fate. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1998, 353(1370), p. 831-7.
212. Weaver VM, Petersen OW, Wang F, Larabell CA, Bissell MJ. Reversion of the malignant phenotype of human breast cells in three-dimensional culture and in vivo by integrin blocking antibodies. *J Cell Biol.* 1997, 137(1), p. 231-45

213. Weinberg JM. An overview of infliximab, etanercept, efalizumab, and alefacept as biologic therapy for psoriasis. *Clin Ther.* 2003, 25(10), p. 2487-505.
214. Wicking C, Smyth I, Bale A. The hedgehog signalling pathway in tumorigenesis and development. *Oncogene.* 1999, 18(55), p. 7844-51.
215. Wilkinson D, Askew DA, Dixon A. Skin cancer clinics in Australia: workload profile and performance indicators from an analysis of billing data. *Med J Aust.* 2006, 184(4), p. 162-4.
216. Willhauck MJ, Mirancea N, Vosseler S, Pavesio A, Boukamp P, Mueller MM, Fusenig NE, Stark HJ. Reversion of tumor phenotype in surface transplants of skin SCC cells by scaffold-induced stroma modulation. *Carcinogenesis.* 2007, 28(3), p. 595-610.
217. Willipinski-Stapelfeldt B, Riethdorf S, Assmann V, Woelfle U, Rau T, Sauter G, Heukeshoven J, Pantel K. Changes in cytoskeletal protein composition indicative of an epithelial-mesenchymal transition in human micrometastatic and primary breast carcinoma cells *Clin Cancer Res.* 2005, 11(22), p. 8006-14.
218. Yokoyama K, Kamata N, Fujimoto R, Tsutsumi S, Tomonari M, Taki M, Hosokawa H, Nagayama M. Increased invasion and matrix metalloproteinase-2 expression by Snail-induced mesenchymal transition in squamous cell carcinomas. *Int J Oncol.* 2003, 22(4), p. 891-8.
219. Zeisberg M, Strutz F, Müller GA. Role of fibroblast activation in inducing interstitial fibrosis. *J Nephrol.* 2000, 13 Suppl 3, p. S111-20.
220. Zenz R, Wagner EF. Jun signalling in the epidermis: From developmental defects to psoriasis and skin tumors. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006, 38(7), p. 1043-9.
221. Zimmer A, Nguyen QD, Gespach C. Nuclear bodies and compartments: functional roles and cellular signalling in health and disease. *Cell Signal.* 2004, 16(10), p. 1085-104.

13. Citační ohlas a ocenění

Studie byly citovány podle Web of Science těmito autory (s vyloučením autocitací):

I.:

1. Klima, J. et al., *Folia Biol.* 53, 33-36, 2007
2. Motlik, J. et al., *Theriogenol.* 67, 105-111, 2007
3. Schlabe, J. et al., *Burns* 34, 376-384, 2008

II.:

1. Čada Z. et al.,: *Anticancer Res.* 27: 3279-3284, 2007
2. Klíma J. et al.,: *Folia Biol.* 53: 33-36, 2007

III.:

1. Čada Z et al.,: *Anticancer Res.* 27: 3279-3284, 2007
2. Klima J et al.,: *Folia Biol.* 53: 33-36, 2007
3. Jafarnejad SM et al.,: *Cell Prolif.* 41: 28-35, 2008
4. Siddiqui S et al.,: *Circulation Res* 103: 89-97, 2008
- * Studie byla oceněna Cenou profesora Šambergera

IV.:

1. Čada Z et al., *Anticancer Res.* 27: 3279-3284, 2007
2. Siddiqui S et al.,: *Circulation Res* 103: 89-97, 2008

* Studie byla oceněna 1. místem ve studentské vědecké konferenci 1. LF UK

V.

* Studie byla oceněna Cenou české histo- a cytochemické společnosti