

**Univerzita Karlova v Praze**  
**1. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



Hojící se rána jako model pro studium buněčných interakcí

Peter Gál

2015

**Doktorské studijní programy v biomedicině**  
*Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky*

Obor: Biologie a patologie buňky

Předseda oborové rady: prof. RNDr. Ivan Raška DrSc.

Školící pracoviště: Anatomický ústav 1 LF UK

Školitel: prof. MUDr. Karel Smetana ml., DrSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

## Obsah

1. Úvod.....	6
2. Hypotézy a cíle práce .....	8
3. Materiál a metodika a výsledky .....	9
4.1 Open Wound Healing In Vivo: Monitoring Binding and Presence of Adhesion/Growth-Regulatory Galectins in Rat Skin during the Course of Complete Re-Epithelialization .....	9
4.2 Early stages of trachea healing process: (immuno/lectin) histochemical monitoring of selected markers and adhesion/growth-regulatory endogenous lectins .....	9
4.3 Human galectins induce conversion of dermal fibroblasts into myofibroblasts and production of extracellular matrix: potential application in tissue engineering and wound repair .....	10
4.4 Extracellular matrix of galectin-1-exposed dermal and tumor-associated fibroblasts favors growth of human umbilical vein endothelial cells in vitro: a short report .....	10
4.5 Smooth muscle actin-expressing stromal fibroblasts in head and neck squamous cell carcinoma: increased expression of galectin-1 and induction of poor prognosis factors.....	11
5. Diskuse .....	12
6. Závěry.....	14
7. Použitá literatura .....	15

## ***Abstrakt***

Galektiny hrají důležitou roli v procesech buněčné proliferace, diferenciace, migrace a tvorby mezibuněčné hmoty. Jsou navíc schopny přenášet buněčné signály a účastnit se mezibuněčné interakce. Bylo prokázáno, že se galektiny významně účastní při tvorbě mikroprostředí nádoru a/nebo hojící se rány. V této práci byla prokázána významná role galektinů, zejména galectinu-1, při hojení ran a interakcích buněčných populací (endotelové buňky, fibroblasty a keratinocyty) tvořící součást granulační tkáně případně nádorového stromatu. Zjistili jsme, že extracelulární matrix bohatá na galektin-1 vytváří vhodné prostředí pro kultivaci keratinocytů. Galektin-1 rovněž indukuje diferenciaci fibroblastů na myofibroblasty. Poznání daných procesů přispěje k porozumění komplexnímu charakteru biologie nádoru a s jeho paralelou - hojící se ránou.

**Klíčová slova:** tkáňová reparaace, regenerace, galektin, nádor

## ***Abstract***

Galectins play an important role in the processes of cell proliferation, differentiation, migration and extracellular matrix formation. Furthermore, galectins are able to transfer cellular signals and to participate in cell interaction. It has been proven that galectins play an important role in the microenvironment formation of a tumor and/or healing wound. This study demonstrated significant role of galectins, in particular Galectin-1, in wound healing and cell interactions (endothelial cells, fibroblasts and keratinocytes) forming a part of the granulation tissue and tumor stroma. We have demonstrated that the extracellular matrix rich on Galectin-1 creates a suitable environment for the cultivation of keratinocytes. Galectin-1 also induces differentiation of fibroblasts into myofibroblasts. The knowledge of above mentioned processes is important to better understand the complexity of cancer biology and its parallel to wound healing.

**Key words:** tissue repair, regeneration, galectin, tumor

## 1. Úvod

Z důvodu stále stoupajícího výskytu metabolických, kardiovaskulárních a onkologických onemocnění vzrůstá pravděpodobnost výskytu špatně se hojících ran. Už v roce 2003 se pouze ve Spojených státech amerických utratilo přes 9 miliard dolarů na léčbu komplikací spojených se špatným hojením (Ashcroft et al., 2003). Mezi nejzávažnější komplikace hojení ran patří stagnace tvorby granulační tkáně, zpomalená epitelizace, dehiscence a infekce rány, jakož i tvorba hypotrofických, hypertrofických a keloidních jizev. Za tyto problémy je často odpovědná dysfunkce kmenových buněk a tkáňového mikroprostředí. Tyto biologické děje vedou k relativně pomalému průběhu hojení a k rozsáhlé tvorbě jizev. Stimulace hojení ran je založena buď na protizánětlivém efektu, zvýšení proliferace buněk, stimulaci tvorby extracelulární matrix nebo na indukci kontrakce rány.

Na druhé straně hlavní důvod limitované úspěšnosti konzervativní léčby pokročilých nádorových onemocnění je dán skutečností, že klasická onkologická terapie cytostatiky nebo ionizujícím zářením je zaměřena především na eliminaci rychle se dělících buněk nádorového parenchymu (Korkaya et al., 2011; Scatena et al., 2011). Touto cestou ale nejsme schopni zásadním způsobem narušit nádorové mikroprostředí a funkci nádorové kmenové buňky, která je odpovědná za důležité komplikace protinádorové terapie jako je minimální reziduální nemoc a multi-léková rezistence (Motlik et al., 2007). Určitou možností by byla terapeutická manipulace nádorového mikroprostředí (především stromatu), na němž jsou závislé kmenové buňky. Klíčovou úlohu při vytváření nádorového stromatu a granulační tkáně hrají fibroblasty (Plzak et al., 2010; Strnad et al., 2010). Fibroblasty jsou potentním zdrojem vybraných růstových faktorů (např. IGF-2 (inzulinu podobný růstový faktor-2), BMP-4 (kostní morfogenetický protein-4)), cytokinů (např. IL-6 (interleukin-6)) a chemokinů (např. CXCL-1, IL-8). Podobně nezastupitelný je jejich význam při produkci strukturních makromolekul (kolagen, fibronectin, tenascin), které tvoří extracelulární matrix. Pro kontrakci rány je zásadní jejich schopnost diferenciaci na myofibroblasty, ty jsou navíc schopny ovlivnit biologické vlastnosti nádorů (Desmouliere et al., 1993). Mimo zmíněných regulačních molekul existuje i skupina glykoproteinů schopných zásadním způsobem ovlivnit biologické děje zapojené do hojení ran a/nebo tvorby, růstu a metastazování nádorů. Těmito molekulami jsou endogenní lektiny s komplexním účinkem, schopné specificky rozpoznávat a vázat sacharidové struktury a přenášet různé signály (Gendronneau et al., 2008). Mezi endogenní lektiny patří i galektiny.

Galektiny jsou endogenní lektiny s komplexním účinkem. Jejich počet je odhadován minimálně na 15. Galektin-1 je ve zvýšeném množství přítomen v buňkách a mezibuněčné hmotě stromatu různých lidských nádorů a v hojící se ráně (Klima et al., 2009; Thijssen et al., 2010; Thijssen et al., 2007). Tento galektin hraje důležitou roli v nádorové angiogenezi i v samotném růstu a metastazování nádorů (Saussez et al., 2009; Saussez et al., 2008). Přesná biologická funkce galektinu-1 při tvorbě nádorového mikroprostředí a hojení ran ale zůstává stále předmětem dalšího výzkumu. Dále je známo, že galektin-3 je významným induktorem tkáňové fibrózy (de Boer et al., 2009; Henderson et al., 2008; Henderson et al., 2006). Přes tyto dílčí informace podrobná data o účinku ostatních galektinů při tvorbě nádorového stromatu a granulační tkáně/jizvy nejsou známa. Předložený projekt je zaměřen na studium role vybraných galektinů (zejména galektin-1, a -3) v biologii endotelových buněk, fibroblastů a keratinocytů, při jejich vzájemné interakci a produkci mezibuněčné hmoty.

Již dlouhou dobu se zdá, že existuje určitá paralela mezi hojením rány a růstem nádoru (Dvorak, 1986; Kolar et al., 2012). Terapeutické řešení obou patologických stavů vyvolává potřebu komplexního přístupu, v němž nelze opomenout vazivovou komponentu vytvářející vhodné mikroprostředí.

## **2. Hypotézy a cíle práce**

Ve své práci jsem se zaměřil na oblast glykobiologie hojení ran se zřetelem na možné ovlivnění tohoto procesu galektinem-1 a interakcí normálních a maligních buněk s ECM. Sledovány byly zejména:

1. Exprese a reaktivita vybraných galektinů v hojící se ráně.
2. Vliv vybraných galektinů na produkci extracelulární matrix fibroblasty.
3. Interakce extracelulární matrix s keratinocyty a endotelovými buňkami.
4. Paralela mezi hojením ran a růstem a prognózou nádoru z pohledu glykobiologie.



### 3. Materiál a metodika a výsledky

Tato část je shrnuta do kapitol podle publikací, které jsou obsahem disertační práce.

#### 4.1 Open Wound Healing In Vivo: Monitoring Binding and Presence of Adhesion/Growth-Regulatory Galectins in Rat Skin during the Course of Complete Re-Epithelialization

Cílem studie bylo sledovat expresi a reaktivitu vybraných galektinů v průběhu základních fází hojení ran. V této studii byly použity protilátky proti keratinům-10 a -14, širokospektrálnímu cytokeratinu, vimentinu a fibronektinu, galektinům-1, -2, a -3, které byly aplikovány na zmrazené vzorky kožních ran, odebíraných dva (zánětlivá fáze), sedm (proliferací fáze), a jedenadvacet (maturační fáze) dní po poranění. Přítomnost vazebných míst pro Gal-1, -2, -3, -7 byla stanovena za použití značených sond. Naše studie zjistila řadu změn v parametrech galektinů během různých fází hojení ran. Přítomnost Gal-1 je zvýšená v ranné fázi hojení. Naproti tomu Gal-3 byl přítomen až v nově vytvořené granulační tkáni. Mimo to, nukleární reaktivita epidermálních buněk pro Gal-2 byla pozorována sedm dní po traumatu. V této práci jsme ukázali dynamickou regulaci galektinů během re-epitelizace rány. Takové změny mohou poukazovat na potenciální cíle pro vývoj nových léků ke stimulaci hojení rány a následně i léčbě pacientů.

#### 4.2 Early stages of trachea healing process: (immuno/lectin) histochemical monitoring of selected markers and adhesion/growth-regulatory endogenous lectins

Tracheotomie může být spojena s řadou akutních a chronických komplikací včetně rozsáhlé tvorby granulační tkáně. Při použití protilátek a značených tkáňových lektinů (Gal-1, -2 a -3) jsme sledovali přítomnost a regulaci reaktivity galektinů během hojení ran průdušnice. Navíc jsme použili protilátky proti vysoko-molekulárním keratinům, širokospektrálním cytokeratinům, keratinu-10 a -14,  $\alpha$ -hladko-svalového aktinu, vimentinu, fibronektinu a Sox-2, s pomocí kterých byly srovnávány zmrazené řezy z poraněných (7, 14, a 28 dní po traumatu) a intaktních průdušnic. Jasný trend jsme pozorovali u Gal-1, přičemž jeho exprese s dobou hojení klesala a reaktivita se zvyšovala. Sox-2-pozitivní buňky byly přítomny po sedmi dnech v lůžku rány. Z tohoto pohledu je zajímavé, že ve srovnání s hojením kůže byla pozorována podobnost zejména při regulaci Gal-1.

#### 4.3 Human galectins induce conversion of dermal fibroblasts into myofibroblasts and production of extracellular matrix: potential application in tissue engineering and wound repair

V této části naší práce jsme studovali, zda jsou lidské galektiny schopny stimulovat přeměnu lidských dermálních fibroblastů na myofibroblasty a produkci bioaktivní extracelulární matrix vhodné pro pěstování buněčné kultury. Testovali jsme panel galektinů všech tří podskupin, včetně přírodních a umělých variant (proto-typ galektin-1 a galektin-7, chiméra typ galektin-3 a-tandemově opakovací typ galektin-4). Aktivita galektinu-1 si vyžaduje integritu domény rozpoznávající uhlohydráty a byla nezávislá na přítomnosti TGF- $\beta$ 1, ale vykazovala aditivní účinek. Myofibroblasty jsou relevantní například pro progresi nádoru a jimi generovaná ECM bohatá na fibronectin a Gal-1 podporovala růst kultury keratinocytů bez aplikace podpůrných buněk. Za zmínku stojí informace, že keratinocyty kultivované na tomto podloží měly fenotyp podobný buňkám kmenovým (malé rozměry a exprese keratinu-19). V *in vivo* experimentu jsme ukázali, že stimulace hojení s Gal-1 měla pozitivní vliv na kontrakci ran. V této práci navíc popisujeme diferenciální potenciál vybraných lidských galektinů (1, 3, 4 a 7) k vyvolání konverze dermálních fibroblastů myofibroblasty a jejich schopnost produkovat bioaktivní ECM.

#### 4.4 Extracellular matrix of galectin-1-exposed dermal and tumor-associated fibroblasts favors growth of human umbilical vein endothelial cells in vitro: a short report

Cílem této části naší práce bylo stanovit účinek bioaktivní ECM produkované normálními dermálními nebo nádorovými fibroblasty vystavenými působení Gal-1 na lidské pupečnickové endotelové buňky (human umbilical vein endothelial cells - HUVEC). Fibroblasty byly kultivovány 10 dní s lektinem, následně byla kultura zbavena buněčných složek osmotickým šokem. Čerstvě izolované HUVEC byly nasazeny na takto vytvořenou ECM. Souběžně byly HUVEC naočkovány na čisté a želatinou potažené povrchy. Pozitivní kontrolou růstu buněk bylo použití média doplněného o vaskulární endoteliální růstový faktor. Buňky jsme následně kultivovali po dobu dvou dnů a pak podrobili imunocytochemickému šetření. Endotelové buňky pěstované na ECM generované fibroblasty vykazovaly poměrně vysoký stupeň proliferace. Kromě toho vedl kontakt HUVEC se substrátem produkovaným nádorově-asociovanými fibroblasty ke tvorbě sítě obzvláště bohaté na fibronectin. Naše práce ukazuje, že Gal-1 je schopen vyvolat produkci ECM stimulující růst endotelových buněk. Avšak v budoucnu bude potřeba realizovat další práci na charakterizaci strukturálních rysů ECM a *in situ* korelaci přítomnosti lektinu v ECM a angiogenezi.

#### 4.5 Smooth muscle actin-expressing stromal fibroblasts in head and neck squamous cell carcinoma: increased expression of galectin-1 and induction of poor prognosis factors

Adhezi a růst regulující lektin Gal-1 je efektor pro generování myofibroblastů. V naší studii jsme srovnávali přítomnost SMA-pozitivních nádorově asociovaných fibroblastů s endogenním lektinem Gal-1 a jeho *in vivo* konkurentem Gal-3. Ukázalo se, že ve spinocelulárních karcinomech hlavy a krku je up-regulace Gal-1 velmi významně korelována s přítomností SMA-pozitivních nádorových fibroblastů. Pro určení dalších korelací na molekulární úrovni jsme použili microarray analýzu odpovídajících nádorů. V nádorově asociovaných fibroblastech jsme našli významnou korelaci mezi několika transkripty a Gal-1. Tyto aktivované geny (MAP3K2, TRIM23, PTPLAD1, FUSIP1, SLC25A40 a SPIN1) jsou spojeny se známými faktory spojenými se špatnou prognózou u dlaždicových karcinomů, upregulací NF- $\kappa$ B a downregulací splicingu. Tyto výsledky poskytují nový pohled na význam přítomnosti myofibroblastů v karcinomech dlaždicových epitelů.

## 5. Diskuse

Ukázali jsme, že exprese jednotlivých galektinů je často odlišná. Přestože galektiny mají zjevnou sekvenční homologii, každý protein následuje svůj charakteristický vzor exprese a biologické úlohy v průběhu hojení. Zdá se, že existuje určitá paralela mezi hojením ran a růstem nádorů (Dvorak, 1986; Kolar et al., 2012). Terapeutické řešení obou patologických stavů vyvolává potřebu komplexního přístupu, z něhož není možné vyjmout vazivovou složku vytvářející vhodné mikroprostředí.

Zdá se, že na modulaci mikroprostředí se výraznou mírou podílí Gal-1, který je upregulován v rané fázi hojení (Gal et al., 2011; Klima et al., 2009) jakožto i v karcinomech hlavy a krku s horší prognózou (Valach et al., 2012), kde zásadním způsobem ovlivňuje zánět a diferenciaci buněk. Podobně tomu je i v některých jiných nádorech. Naproti tomu výskyt Gal-3 je stimulován v maturační fázi hojení a pravděpodobně sehrává významnou úlohu v procesu vyžrávání granulační tkáně a následné tvorbě jizvy. Tento lektin je v dnešní době považován za znak fibrózy (Henderson et al., 2006) a srdečního selhání (Luecke et al., 2010). Z publikovaných prací vyplývá, že v hojení ran může mít určitý modulační efekt ještě galektin 2, 4 a 7. Zásadní úloha ostatních galektinů v samotném hojení tkání zůstává zatím nejasná.

Při detailnějším studiu Gal-1 v nádorovém stromatu a granulační tkáni jsme zjistili, že obě tkáně jsou za určitých okolností často bohaté na tento lektin. V obou případech se zdá, že se tento galektin podílí na vzniku myofibroblastů. Zejména se ukázalo, že exprese Gal-1 v nádorovém stromatu v dlaždicových karcinomech hlavy a krku má vztah k přítomnosti myofibroblastů a pozitivně koreluje s expresí genů spojených se špatnou prognózou pacienta (Valach et al., 2012). Gal-1 indukuje diferenciaci fibroblastů na myofibroblasty s aditivním účinkem ke TGF- $\beta$ 1/3 (Dvorankova et al., 2011). Z uvedených výsledků můžeme předpokládat, že by se Gal-1 mohl uplatnit jako (i) prognostický faktor, (ii) stimulant hojení ran a (iii) v léčbě Gal-1 pozitivních nádorů by jeho blokace mohla přispět k zefektivnění současné terapie. Z toho pohledu by právě glykobiologické aspekty interakce nádorové buňky se stromatem mohly představovat nadějný cíl nové generace protinádorové terapie (Smetana et al., 2013).

Můžeme usuzovat, že maligní tumory jsou komplexními systémy (Egeblad et al., 2010), které mohou stejně jako normální tkáň obsahovat určitou zásobu kmenových buněk (Sell, 2010). Tento fakt je nezbytné brát na zřetel při vývoji nových terapeutických přístupů v léčbě zhoubných nádorových onemocnění a terapii hojení ran. Na druhé straně je potřeba uvést, že většina práce byla realizována na buněčných kulturách a hlodavcích. Korelace těchto

studií k člověku by byla možná, pokud by neexistovala žádná mezidruhová variabilita anebo pokud by in vitro experimenty odrážely komplexnost organismu. Nicméně díky dostupnosti lidských rekombinantních tkáňových lektinů může být jejich úloha v procesu hojení ran a růstu nádorů i nadále studována v dalších experimentálních i humánních klinických výzkumech.

## 6. Závěry

V disertační práci jsme prokázali, že:

1. Exprese a reaktivita vybraných galektinů (-1, -2 a -3) v průběhu hojení kůže (Gal et al., 2011) a trachey (Grendel et al., 2012) je značně podobná. Dokázali jsme, že galektin-1 je stimulován v ranných fázích hojení a galektin-3 spíše později po dobu zrání granulační tkáně a tvorby jizev. Zajímavé bylo pozorování, že v hojící se ráně dochází ke tvorbě vazebných míst pro galektin-2 v jádře keratinocytů během proliferační fáze hojení (Gal et al., 2011).
2. Galektin-1 ve srovnání s ostatními testovanými galektiny (-3, -4 a -7) nejlépe stimuluje produkci extracelulární matrix u fibroblastů. Tato matrix je bohatá na fibronectin a galektin-1 (Dvorankova et al., 2011).
3. Extracelulární matrix bohatá na galektin-1 vytváří vhodné mikroprostředí pro výskyt a přežívání málo diferencovaných keratinocytů (Dvorankova et al., 2011) a podporuje zejména růst endotelových buněk částečně jejich produkci ECM (Perzelova et al., 2014).
4. Existuje určitá paralela mezi hojením ran a růstem a nádoru. Zvýšená exprese galektinu-1 koreluje s výskytem myofibroblastů v karcinomech hlavy a krku a může být považována za znak maligní progresse (Valach et al., 2012). Podobně je exogenně přidaný galektin-1 schopen indukovat diferenciaci fibroblastů na myofibroblasty, což vede k lepší kontrakci rány u potkanů (Dvorankova et al., 2011).

## 7. Použitá literatura

- ASHCROFT, G.S., MILLS, S.J., LEI, K., GIBBONS, L., JEONG, M.J., TANIGUCHI, M., BUROW, M., HORAN, M.A., WAHL, S.M., NAKAYAMA, T., Estrogen modulates cutaneous wound healing by downregulating macrophage migration inhibitory factor. *J Clin Invest*, 2003, 111(9), 1309-1318.
- DE BOER, R.A., VOORS, A.A., MUNTENDAM, P., VAN GILST, W.H., VAN VELDHUISEN, D.J., Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *Eur J Heart Fail*, 2009, 11(9), 811-817.
- DESMOULIERE, A., GEINOZ, A., GABBIANI, F., GABBIANI, G., Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol*, 1993, 122(1), 103-111.
- DVORAK, H.F., Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med*, 1986, 315(26), 1650-1659.
- DVORANKOVA, B., SZABO, P., LACINA, L., GAL, P., UHROVA, J., ZIMA, T., KALTNER, H., ANDRE, S., GABIUS, H.J., SYKOVA, E., SMETANA, K., JR., Human galectins induce conversion of dermal fibroblasts into myofibroblasts and production of extracellular matrix: potential application in tissue engineering and wound repair. *Cells Tissues Organs*, 2011, 194(6), 469-480.
- EGEBLAD, M., RASCH, M.G., WEAVER, V.M., Dynamic interplay between the collagen scaffold and tumor evolution. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(5), 697-706.
- GAL, P., VASILENKO, T., KOSTELNIKOVA, M., JAKUBCO, J., KOVAC, I., SABOL, F., ANDRE, S., KALTNER, H., GABIUS, H.J., SMETANA, K., JR., Open Wound Healing In Vivo: Monitoring Binding and Presence of Adhesion/Growth-Regulatory Galectins in Rat Skin during the Course of Complete Re-Epithelialization. *Acta Histochem Cytochem*, 2011, 44(5), 191-199.
- GENDRONNEAU, G., SIDHU, S.S., DELACOUR, D., DANG, T., CALONNE, C., HOUZELSTEIN, D., MAGNALDO, T., POIRIER, F., Galectin-7 in the control of epidermal homeostasis after injury. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(12), 5541-5549.
- GREDEL, T., SOKOLSKY, J., VASCAKOVA, A., HUDAK, V., CHOVANEC, M., SABOL, F., ANDRE, S., KALTNER, H., GABIUS, H.J., FRANKOVICOVA, M., LENCES, P., BETKA, J., SMETANA, K., JR., GAL, P., Early stages of trachea healing process: (immuno/lectin) histochemical monitoring of selected markers and adhesion/growth-regulatory endogenous lectins. *Folia Biol (Praha)*, 2012, 58(4), 135-143.
- HENDERSON, N.C., MACKINNON, A.C., FARNWORTH, S.L., KIPARI, T., HASLETT, C., IREDALE, J.P., LIU, F.T., HUGHES, J., SETHI, T., Galectin-3 expression and secretion links macrophages to the promotion of renal fibrosis. *Am J Pathol*, 2008, 172(2), 288-298.
- HENDERSON, N.C., MACKINNON, A.C., FARNWORTH, S.L., POIRIER, F., RUSSO, F.P., IREDALE, J.P., HASLETT, C., SIMPSON, K.J., SETHI, T., Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(13), 5060-5065.
- KLIMA, J., LACINA, L., DVORANKOVA, B., HERRMANN, D., CARNWATH, J.W., NIEMANN, H., KALTNER, H., ANDRE, S., MOTLIK, J., GABIUS, H.J., SMETANA, K., JR., Differential regulation of galectin expression/reactivity during wound healing in porcine skin and in cultures of epidermal cells with functional impact on migration. *Physiol Res*, 2009, 58(6), 873-884.

- KOLAR, M., SZABO, P., DVORANKOVA, B., LACINA, L., GABIUS, H.J., STRNAD, H., SACHOVA, J., VLCEK, C., PLZAK, J., CHOVANEC, M., CADA, Z., BETKA, J., FIK, Z., PACES, J., KOVAROVA, H., MOTLIK, J., JARKOVSKA, K., SMETANA, K., JR., Upregulation of IL-6, IL-8 and CXCL-1 production in dermal fibroblasts by normal/malignant epithelial cells in vitro: Immunohistochemical and transcriptomic analyses. *Biol Cell*, 2012, 104(12), 738-751.
- KORKAYA, H., LIU, S., WICHA, M.S., Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *J Clin Invest*, 2011, 121(10), 3804-3809.
- LUECKE, N., TEMPLIN, C., MUETZELBURG, M.V., NEUMANN, D., JUST, I., PICH, A., Secreted proteome of the murine multipotent hematopoietic progenitor cell line DKmix. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2010, 24(5), 561-570.
- MOTLIK, J., KLIMA, J., DVORANKOVA, B., SMETANA, K., JR., Porcine epidermal stem cells as a biomedical model for wound healing and normal/malignant epithelial cell propagation. *Theriogenology*, 2007, 67(1), 105-111.
- PERZELOVA, V., VARINSKA, L., DVORANKOVA, B., SZABO, P., SPURNY, P., VALACH, J., MOJZIS, J., ANDRE, S., GABIUS, H.J., SMETANA, K., JR., GAL, P., Extracellular matrix of galectin-1-exposed dermal and tumor-associated fibroblasts favors growth of human umbilical vein endothelial cells in vitro: a short report. *Anticancer Res*, 2014, 34(8), 3991-3996.
- PLZAK, J., LACINA, L., CHOVANEC, M., DVORANKOVA, B., SZABO, P., CADA, Z., SMETANA, K., JR., Epithelial-stromal interaction in squamous cell epithelium-derived tumors: an important new player in the control of tumor biological properties. *Anticancer Res*, 2010, 30(2), 455-462.
- SAUSSEZ, S., DECAESTECKER, C., CLUDTS, S., ERNOUX, P., CHEVALIER, D., SMETANA, K., JR., ANDRE, S., LEROY, X., GABIUS, H.J., Adhesion/growth-regulatory tissue lectin galectin-1 in relation to angiogenesis/lymphocyte infiltration and prognostic relevance of stromal up-regulation in laryngeal carcinomas. *Anticancer Res*, 2009, 29(1), 59-65.
- SAUSSEZ, S., DECAESTECKER, C., LORFEVRE, F., CHEVALIER, D., MORTUAIRE, G., KALTNER, H., ANDRE, S., TOUBEAU, G., GABIUS, H.J., LEROY, X., Increased expression and altered intracellular distribution of adhesion/growth-regulatory lectins galectins-1 and -7 during tumour progression in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. *Histopathology*, 2008, 52(4), 483-493.
- SCATENA, R., BOTTONI, P., PONTOGLIO, A., GIARDINA, B., Cancer stem cells: the development of new cancer therapeutics. *Expert Opin Biol Ther*, 2011, 11(7), 875-892.
- SELL, S., On the stem cell origin of cancer. *Am J Pathol*, 2010, 176(6), 2584-2494.
- SMETANA, K., JR., ANDRE, S., KALTNER, H., KOPITZ, J., GABIUS, H.J., Context-dependent multifunctionality of galectin-1: a challenge for defining the lectin as therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17(4), 379-392.
- STRNAD, H., LACINA, L., KOLAR, M., CADA, Z., VLCEK, C., DVORANKOVA, B., BETKA, J., PLZAK, J., CHOVANEC, M., SACHOVA, J., VALACH, J., URBANOVA, M., SMETANA, K., JR., Head and neck squamous cancer stromal fibroblasts produce growth factors influencing phenotype of normal human keratinocytes. *Histochem Cell Biol*, 2010, 133(2), 201-211.
- THIJSEN, V.L., BARKAN, B., SHOJI, H., ARIES, I.M., MATHIEU, V., DELTOUR, L., HACKENG, T.M., KISS, R., KLOOG, Y., POIRIER, F., GRIFFIOEN, A.W., Tumor cells secrete galectin-1 to enhance endothelial cell activity. *Cancer Res*, 2010, 70(15), 6216-6224.



- THIJSSSEN, V.L., POIRIER, F., BAUM, L.G., GRIFFIOEN, A.W., Galectins in the tumor endothelium: opportunities for combined cancer therapy. *Blood*, 2007, 110(8), 2819-2827.
- VALACH, J., FIK, Z., STRNAD, H., CHOVANEC, M., PLZAK, J., CADA, Z., SZABO, P., SACHOVA, J., HROUDOVA, M., URBANOVA, M., STEFFL, M., PACES, J., MAZANEK, J., VLCEK, C., BETKA, J., KALTNER, H., ANDRE, S., GABIUS, H.J., KODET, R., SMETANA, K., JR., GAL, P., KOLAR, M., Smooth muscle actin-expressing stromal fibroblasts in head and neck squamous cell carcinoma: increased expression of galectin-1 and induction of poor prognosis factors. *Int J Cancer*, 2012, 131(11), 2499-2508.

*Seznam publikací doktoranda v tomto uspořádání:*

1. publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace

a) s impact factorem (uvést hodnotu IF)

Smetana, Karel, Jr.; Szabo, Pavol; Gal, Peter; et al. Emerging role of tissue lectins as microenvironmental effectors in tumors and wounds. *HISTOLOGY AND HISTOPATHOLOGY* Volume: 30 Issue: 3 Pages: 293-309 Published: MAR 2015 [**IF 2013 = 2,236**]

Perzel'ova, Vlasta; Varinska, Lenka; Dvorankova, Barbora; et al. Extracellular Matrix of Galectin-1-exposed Dermal and Tumor-associated Fibroblasts Favors Growth of Human Umbilical Vein Endothelial Cells In Vitro: A Short Report. *ANTICANCER RESEARCH* Volume: 34 Issue: 8 Pages: 3991-3996 Published: AUG 2014 [**IF 2013 = 1,872**]

Valach, Jaroslav; Fik, Zdenek; Strnad, Hynek; et al. Smooth muscle actin-expressing stromal fibroblasts in head and neck squamous cell carcinoma: Increased expression of galectin-1 and induction of poor prognosis factors. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER* Volume: 131 Issue: 11 Pages: 2499-2508 Published: DEC 1 2012 [**IF 2011 = 5,444**]

Grendel, T.; Sokolsky, J.; Vascakova, A.; et al. Early Stages of Trachea Healing Process: (Immuno/Lectin) Histochemical Monitoring of Selected Markers and Adhesion/Growth-Regulatory Endogenous Lectins. *FOLIA BIOLOGICA* Volume: 58 Issue: 4 Pages: 135-143 Published: 2012 [**IF 2011 = 1,151**]

Gal, Peter; Vasilenko, Tomas; Kostelnikova, Martina; et al. Open Wound Healing In Vivo: Monitoring Binding and Presence of Adhesion/Growth-Regulatory Galectins in Rat Skin during the Course of Complete Re-Epithelialization. *ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA* Volume: 44 Issue: 5 Pages: 191-199 Published: 2011 [**IF 2010 = 1,000**]

Dvorankova, Barbora; Szabo, Pavol; Lacina, Lukas; et al. Human Galectins Induce Conversion of Dermal Fibroblasts into Myofibroblasts and Production of Extracellular Matrix: Potential Application in Tissue Engineering and Wound Repair. *CELLS TISSUES ORGANS* Volume: 194 Issue: 6 Pages: 469-480 Published: 2011 [**IF 2010 = 2,302**]

b) bez IF

Gal, Peter; Varinska L, Perzelova V, Jakubčo J, Kostelníková M, Kováč I, Spurný P, Smetana K. Základné biologické úlohy galektínov v reparácii tkanív a raste nádorov. *Cas Lek Cesk.* 2014;153(5):231-7.

2. publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

a) s IF (uvést hodnotu IF)

Kovac, Ivan; Durkac, Jan; Holly, Martin; et al. *Plantago lanceolata* L. water extract induces transition of fibroblasts into myofibroblasts and increases tensile strength of healing skin

wounds. JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACOLOGY Volume: 67 Issue: 1  
Pages: 117-125 Published: JAN 2015 [IF 2013 = 2,161]

Dancakova, Ludmila; Vasilenko, Tomas; Kovac, Ivan; et al. Low-Level Laser Therapy with 810 nm Wavelength Improves Skin Wound Healing in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. PHOTOMEDICINE AND LASER SURGERY Volume: 32 Issue: 4 Pages: 198-204 Published: APR 1 2014 [IF 2013 = 1,580]

Sabol, F.; Bobrov, N.; Novotny, M.; et al. Skin Wound Healing in Obese and Lean Male Adolescent Rats Submitted to Pre-Weaning Litter Size Manipulation. FOLIA BIOLOGICA Volume: 60 Issue: 1 Pages: 21-27 Published: 2014 [IF 2013 = 1,167]

Vasilenko, Tomas; Slezak, Martin; Novotny, Martin; et al. Pre- and/or Postsurgical Administration of Estradiol Benzoate Increases Skin Flap Viability in Female Rats. AESTHETIC PLASTIC SURGERY Volume: 37 Issue: 5 Pages: 1003-1009 Published: OCT 2013 [IF 2012 = 1,264]

Ivanova, Lenka; Varinska, Lenka; Pilatova, Martina; et al. Cyclic chalcone analogue KRP6 as a potent modulator of cell proliferation: an in vitro study in HUVECs. MOLECULAR BIOLOGY REPORTS Volume: 40 Issue: 7 Pages: 4571-4580 Published: JUL 2013 [IF 2012 = 2,506]

Toth, Stefan, Jr.; Pekarova, Timea; Varga, Jan; et al. Intravenous Administration of Tetramethylpyrazine Reduces Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. AMERICAN JOURNAL OF CHINESE MEDICINE Volume: 41 Issue: 4 Pages: 817-829 Published: 2013 [IF 2012 = 2,281]

Gal, P.; Vasilenko, T.; Kovac, I.; et al. Atropa Belladonna L. Water Extract: Modulator of Extracellular Matrix Formation in Vitro and in Vivo. PHYSIOLOGICAL RESEARCH Volume: 61 Issue: 3 Pages: 241-250 Published: 2012 [IF 2011 = 1,555]

Vidinsky, B.; Gal, P.; Pilatova, M.; et al. Anti-proliferative and Anti-angiogenic Effects of CB2R Agonist (JWH-133) in Non-small Lung Cancer Cells (A549) and Human Umbilical Vein Endothelial Cells: an in Vitro Investigation. FOLIA BIOLOGICA Volume: 58 Issue: 2 Pages: 75-80 Published: 2012 [IF 2011 = 1,151]

Sabol, F.; Dancakova, L.; Gal, P.; et al. Immunohistological changes in skin wounds during the early periods of healing in a rat model. VETERINARNI MEDICINA Volume: 57 Issue: 2 Pages: 77-82 Published: 2012 [IF 2011 = 0,748]

Novotny, Martin; Vasilenko, Tomas; Varinska, Lenka; et al. ER-alpha agonist induces conversion of fibroblasts into myofibroblasts, while ER-beta agonist increases ECM production and wound tensile strength of healing skin wounds in ovariectomised rats EXPERIMENTAL DERMATOLOGY Volume: 20 Issue: 9 Pages: 703-708 Published: SEP 2011 [IF 2010 = 4,159]

Grendel, Tomas; Sokolsky, Jan; Vascakova, Andrea; et al. Low-Level Laser Therapy (LLLT) at 830nm Positively Modulates Healing of Tracheal Incisions in Rats: A Preliminary Histological Investigation. PHOTOMEDICINE AND LASER SURGERY Volume: 29 Issue: 9 Pages: 613-618 Published: SEP 2011 [IF 2010 = 1,633]

Lacjakova, Kamila; Bobrov, Nikita; Polakova, Martina; et al. Effects of equal daily doses delivered by different power densities of low-level laser therapy at 670 nm on open skin wound healing in normal and corticosteroid-treated rats: a brief report. *LASERS IN MEDICAL SCIENCE* Volume: 25 Issue: 5 Pages: 761-766 Published: SEP 2010 [**IF 2009 = 2,574**]

Pilatova, Martina; Stupakova, Viktoria; Varinska, Lenka; et al. Effect of selected flavones on cancer and endothelial cells. *GENERAL PHYSIOLOGY AND BIOPHYSICS* Volume: 29 Issue: 2 Pages: 134-143 Published: JUN 2010 [**IF 2009 = 0,741**]

Vasilenko, Tomas; Slezak, Martin; Kovac, Ivan; et al. The Effect of Equal Daily Dose Achieved by Different Power Densities of Low-Level Laser Therapy at 635 and 670 nm on Wound Tensile Strength in Rats: A Short Report. *PHOTOMEDICINE AND LASER SURGERY* Volume: 28 Issue: 2 Pages: 281-283 Published: APR 2010 [**IF 2009 = 1,756**]

Gal, Peter; Novotny, Martin; Vasilenko, Tomas; et al. Decrease in Wound Tensile Strength Following Post-Surgical Estrogen Replacement Therapy in Ovariectomized Rats During the Early Phase of Healing is Mediated Via ER-alpha Rather than ER-beta: A Preliminary Report. *JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH* Volume: 159 Issue: 1 Pages: E25-E28 Published: MAR 2010 [**IF 2009 = 2,176**]

Sabol, F.; Vasilenko, T.; Novotny, M.; et al. Intradermal Running Suture versus 3M (TM) Vetbond (TM) Tissue Adhesive for Wound Closure in Rodents: A Biomechanical and Histological Study. *EUROPEAN SURGICAL RESEARCH* Volume: 45 Issue: 3-4 Pages: 321-326 Published: 2010 [**IF 2009 = 1,500**]

Gal, Peter; Kravcukova, Petra; Mokry, Michal; et al. Chemokines as Possible Targets in Modulation of the Secondary Damage After Acute Spinal Cord Injury: A Review *CELLULAR AND MOLECULAR NEUROBIOLOGY* Volume: 29 Issue: 6-7 Pages: 1025-1035 Published: SEP 2009 [**IF 2008 = 2,550**]

Gal, Peter; Mokry, Michal; Vidinsky, Boris; et al. Effect of equal daily doses achieved by different power densities of low-level laser therapy at 635 nm on open skin wound healing in normal and corticosteroid-treated rats. *LASERS IN MEDICAL SCIENCE* Volume: 24 Issue: 4 Pages: 539-547 Published: JUL 2009 [**IF 2008 = 1,675**]

Gal, Peter; Toporcer, Tomas; Grendel, Tomas; et al. Effect of *Atropa belladonna* L. on skin wound healing: Biomechanical and histological study in rats and in vitro study in keratinocytes, 3T3 fibroblasts, and human umbilical vein endothelial cells. *WOUND REPAIR AND REGENERATION* Volume: 17 Issue: 3 Pages: 378-386 Published: MAY-JUN 2009 [**IF 2008 = 2,152**]

Gal, P.; Toporcer, T.; Vidinsky, B.; et al. Simple Interrupted Percutaneous Suture versus Intradermal Running Suture for Wound Tensile Strength Measurement in Rats: A Technical Note. *EUROPEAN SURGICAL RESEARCH* Volume: 43 Issue: 1 Pages: 61-65 Published: 2009 [**IF 2008 = 1,327**]

Gal, P.; Kilik, R.; Mokry, M.; et al. Simple method of open skin wound healing model in corticosteroid-treated and diabetic rats: standardization of semi-quantitative and quantitative histological assessments. *VETERINARNI MEDICINA* Volume: 53 Issue: 12 Pages: 652-659 Published: DEC 2008 [IF 2007 = 0,645]

Gal, Peter; Toporcer, Tomas; Vidinsky, Boris; et al. Postsurgical administration of estradiol benzoate decreases tensile strength of healing skin wounds in ovariectomized rats. *JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH* Volume: 147 Issue: 1 Pages: 117-122 Published: JUN 1 2008 [IF 2007 = 1,836]

Mokry, Michal; Gal, Peter; Haraklova, Magdalena; et al. Experimental study on predicting skin flap necrosis by fluorescence in the FAD and NADH bands during surgery. *PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY* Volume: 83 Issue: 5 Pages: 1193-1196 Published: SEP-OCT 2007 [IF 2006 = 2,061]

Gal, Peter; Vidinsky, Boris; Toporcer, Tomas; et al. Histological assessment of the effect of laser irradiation on skin wound healing in rats. *PHOTOMEDICINE AND LASER SURGERY* Volume: 24 Issue: 4 Pages: 480-488 Published: AUG 2006 [IF 2005 = 0,784]

Vidinsky, B.; Gal, P.; Toporcer, T.; et al. Histological study of the first seven days of skin wound healing in rats. *ACTA VETERINARIA BRNO* Volume: 75 Issue: 2 Pages: 197-+ Published: JUN 2006 [IF 2005 = 0,353]

Mokry, M; Gal, P; Vidinsky, B; et al. In vivo monitoring the changes of interstitial pH and FAD/NADH ratio by fluorescence spectroscopy in healing skin wounds. *PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY* Volume: 82 Issue: 3 Pages: 793-797 Published: MAY-JUN 2006 [IF 2005 = 2,147]

Gal, P.; Toporcer, T.; Vidinsky, B.; et al. Early changes in the tensile strength and morphology of primary sutured skin wounds in rats. *FOLIA BIOLOGICA* Volume: 52 Issue: 4 Pages: 109-115 Published: 2006 [IF 2005 = 0,719]

Gal, P; Kilik, R; Spakova, T; et al. He-Ne laser irradiation accelerates inflammatory phase and epithelization of skin wound healing in rats. *BIOLOGIA* Volume: 60 Issue: 6 Pages: 691-696 Published: NOV 2005 [IF 2004 = 0,207]

Mokry, M; Kusnir, J; Gal, P; et al. Modification of the optical probe of the Perkin-Elmer LS 55 luminiscent spectrometer for measurement of fluorescence spectra of skin surface. *CHEMICKE LISTY* Volume: 99 Issue: 9 Pages: 653-656 Published: 2005 [IF 2004 = 0,348]