

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko – technologická

Význam kyseliny hyaluronové a jejího metabolismu v průběhu poškození plicní
tkáně

Lenka Pekařová

Bakalářská práce

2019

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lenka Pekařová**
Osobní číslo: **C15255**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Význam kyseliny hyaluronové a jejího metabolismu
v průběhu poškození plicní tkáně**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte literární rešerši zabývající se vlastnostmi kyseliny hyaluronové a jejího metabolismu v organismu za fyziologických podmínek.
2. Zaměřte se na úlohu kyseliny hyaluronové v plicní tkáni.
3. Věnujte se výsledkům a kriticky zhodnoťte potenciál kyseliny hyaluronové při různých patologiích plicní tkáně.


Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Anna Lierová**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2018**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše. Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 4. 7. 2019

Lenka Pekařová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala Mgr. Anně Lierové, za vedení mé bakalářské práce, za její cenné rady a poskytnuté informace. Tato práce vznikla na Katedře radiobiologie, Fakulty vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany v Hradci Králové. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, která mě během studia plně podporovala.

ANOTACE

V této bakalářské práci se budu zabývat kyselinou hyaluronovou a její úlohou v plicích. V první a druhé kapitole budu popisovat tuto kyselinu, její zařazení, metabolismus a interakčních partnerů v organismu. Ve třetí kapitole vysvětlím fyziologickou roli kyseliny hyaluronové v plicní tkáni. Poslední kapitola bude věnována různým plicním patologiím a vztahu kyseliny hyaluronové k jednotlivým nemocem.

KLÍČOVÁ SLOVA

kyselina hyaluronová, hyaladheriny, plicní tkáň, plicní patologie

TITLE

The importance of hyaluronic acid and its metabolism during the lung tissue injuries

ANNOTATION

In this bachelor thesis is describing hyaluronic acid and its role in lungs. The first and second chapters are focus on hyaluronic acid, its classification, metabolism and description of interaction partners in the organism. In the third chapter physiological role of hyaluronic acid in lung tissue is explain. The last chapter devotes to various pulmonary pathologies and the relationship of hyaluronic acid to these diseases.

KEYWORDS

hyaluronic acid, hyaladherins, lung tissue, pulmonary pathology

OBSAH

Seznam zkratk	9
Seznam obrázků a tabulek	11
Úvod	12
Cíl práce	13
1 Glykosaminoglykany	14
2 Kyselina hyaluronová	16
2.1 Historie	16
2.2 Chemická struktura	17
2.3 Vlastnosti a funkce	18
2.4 Výskyt	19
2.5 Metabolismus HA	21
2.5.1 Syntéza	21
2.5.2 Odbourávání	22
2.6 HA-vazebné proteiny a receptory	24
2.6.1 CD44	26
2.6.2 RHAMM	26
2.6.3 LYVE-1	27
2.6.4 HARE	27
2.6.5 HABP2	27
2.6.6 Toll-like receptory	28
3 Kyselina hyaluronová v plicní tkáni	29
3.1 Metabolismus HA v plicní tkáni	31
3.2 HA-vazebné proteiny v plicní tkáni	31
3.2.1 CD44	32
3.2.2 TLR4 / TLR2	33
3.2.3 HABP2	33
3.2.4 RHAMM	33

4	Kyselina hyaluronová v plicní patobiologii.....	34
4.1	Rakovina plic.....	34
4.2	Astma.....	35
4.3	LPS – indukovaná plicní nemoc.....	35
4.4	Pneumonie.....	36
4.5	Idiopatická plicní fibróza.....	36
4.6	Chronická obstrukční plicní nemoc.....	37
4.7	Neinfekční poranění plic.....	38
4.8	Tuberkulóza.....	38
5	Závěr.....	40
	Použitá literatura.....	41

SEZNAM ZKRATEK

APC	Antigen prezentující buňka
BAL	Bronchoalveolární laváž
CD	Diferenční skupina (znak)
CS	Chondroitin sulfát
CSPG	Chondroitin sulfát proteoglykan
DS	Dermatan sulfát
ECM	Extracelulární matrix
EGF	Epidermální růstový faktor
GAGs	Glykosaminoglykany
HA	Kyselina hyaluronová, hyaluronan
HABPs	Hyaluronan vázající proteiny
HARE	Hyaluronový receptor pro endocytózu
HAS	Hyaluronan syntáza
HN	Hyaluronektin
HS	Heparan sulfát
HYAL	Hyaluronidáza
CHOPN	Chronická obstrukční plicní nemoc
IgE	Imunoglobulin E
IL	Interleukin
IPF	Idiopatická plicní fibróza
KS	Keratan sulfát
LPS	Lipopolysacharid
LYVE-1	Lymfatický endoteliální hyaluronanový receptor 1
<i>M.</i>	<i>Mycobacterium</i>
MyD88	Faktor myeloidní diferenciace 88
NMHA	Nízkomolekulární kyselina hyaluronová
NSCLC	Nemalobuněčný karcinom plic
PAMP	Molekulový vzor spojený s patogenem
PGs	Proteoglykany
RHAMM	Receptor pro hyaluronan zprostředkovanou motilitu
ROS	Reaktivní formy kyslíku
ST	Synoviální tekutina

<i>St.</i>	Streptococcus
TB	Tuberkulóza
TLR	Toll-like receptor
UDP	Uridindifosfát
UDP-GlcNAc	Uridindifosfát N-acetylglukosamin
UDP-GlcUA	Uridindifosfát glukuronová kyselina
VMHA	Vysokomolekulární kyselina hyaluronová

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek č. 1: Chemická struktura jednotlivých glykosaminoglykanů	14
Obrázek č. 2: Chemická struktura kyseliny hyaluronové.....	17
Obrázek č. 3: Struktura kyseliny glukuronové	17
Obrázek č. 4: Struktura N-acetylglukosaminu	18
Obrázek č. 5: Metabolizmus HA v organismu	21
Obrázek č. 6: Odbourávání HA volnými radikály	24
Obrázek č. 7: Vazba HA s versikanem za vzniku agregátů.....	25
Obrázek č. 8: Působení NMHA při poškození plic	30
Tabulka č. 1: Fyziologická koncentrace HA v různých orgánech lidského těla.....	20
Tabulka č. 2: HA-vazebné proteiny a jejich související plicní patologie	32

ÚVOD

Rakovina je závažné onemocnění, které se týká každého z nás. Je obecně známo, že rakovinou trpí každý třetí člověk na světě. Nádorové onemocnění je způsobeno nekontrolovatelným buněčným bujením, které může vzniknout v jakékoliv tkáni. Nejfatálnější je rakovina plic, co se výskytem i počtem úmrtí týče. To je ale jen jedno z možných onemocnění, které postihují plíce. Například chronická obstrukční plicní nemoc je též velmi závažné a aktuální onemocnění z hlediska výskytu. To se týká i infekčních zánětů dýchacích cest, astmatu a plicní fibrózy. To jsou patologie, u kterých je poškozený extracelulární matrix. Extracelulární matrix hraje důležitou funkci v morfogenezi, ve výměně látek a plní ochrannou funkci při udržení homeostázy. V procesu hojení ran může působit jako promotor zánětu a plní mnoho dalších funkcí při závažných zranění, chirurgických zákrocích nebo fibrotických onemocněních. Tyto děje jsou zajišťovány hlavně integriny, kolagenem, elastinem, fibronektinem, proteoglykany a glykosaminoglykany. Tyto molekuly jsou důležité pro udržení homeostazi v mezibuněčném prostoru, slouží jako vyplnění tohoto prostoru, umožňují vazbu signálních molekul, adhezi buněk a jejich migraci. Glykosaminoglykany jsou nedílnou součástí extracelulárního matrixu nebo se mohou přímo vyskytovat na membráně buňky.

Kyselina hyaluronová je nesulfatovaný lineární přírodní glykosaminoglykan. Přirozeně se vyskytuje ve všech živých organismech. Také má uplatnění v medicíně jako například léčivo v očním lékařství, onkologii, imunologii, ortopedii nebo jako součást zdravotnického materiálu. Další možnosti aplikace jsou v kosmetice nebo v estetické medicíně při vyhlazování vrásek. Objevují se důkazy o tom, že kyselina hyaluronová a její metabolismus, signální dráha a interakční partneři, hrají důležitou roli v plicní patologii.

Moje bakalářská práce bude rozdělená na dva velké okruhy. V první části se budu věnovat kyselině hyaluronové za fyziologických podmínek a ve druhé části se zaměřím na její terapeutický potenciál při poškození plicní tkáně.

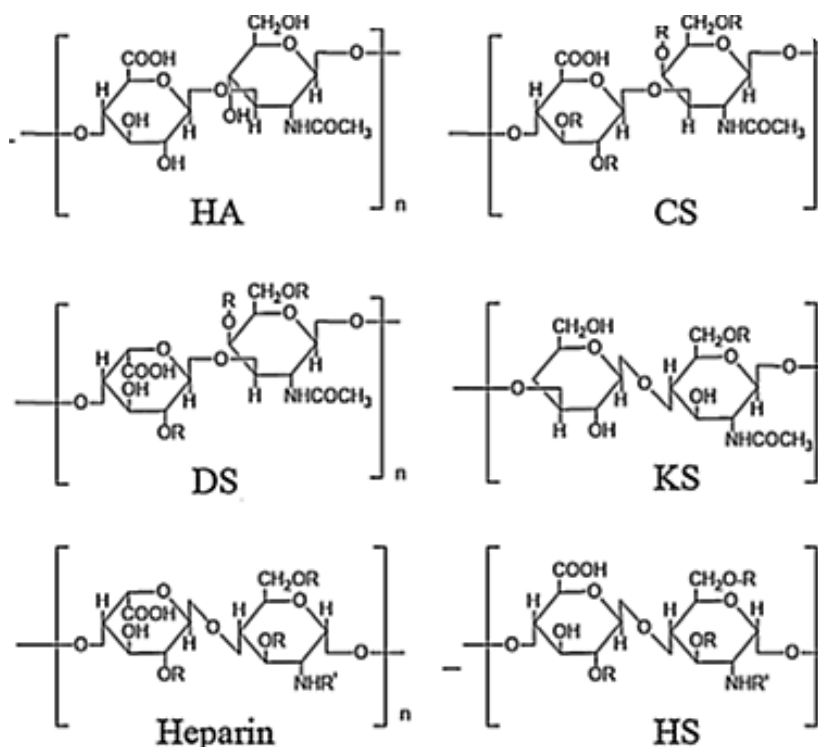
CÍL PRÁCE

Cílem této práce je shrnutí hlavních poznatků o kyselině hyaluronové a zhodnocení její funkce v plicní tkáni za fyziologických podmínek. Následně bych se chtěla zaměřit na úlohu kyseliny hyaluronové při různých patologiích plicní tkáně. Výsledkem této práce bude přehled aktuálních informací o této kyselině a jejímu působení na plicní tkáň.

1 GLYKOSAMINOGLYKANY

Glykosaminoglykany (GAGs) jsou heterogenní skupina záporně nabitých lineárních, nerozvětvených polysacharidů, složených z opakující se disacharidových jednotek, D – glukosaminu nebo D – galaktosaminu a kyseliny uronové [1, 2]. Chemická struktura jednotlivých polysacharidů je uvedena na obrázku č. 1. GAGs se vyskytují u všech zvířat od *Caenorhabditis elegans* až po člověka. V extracelulárním matrixu (ECM) jsou jednou z nejdůležitějších složek, které jsou zde přítomné jako řetězce s délkou v rozmezí od několika kDa až po MDa. GAGs se nacházejí také v bazálních membránách jako je strukturální skelet [3–5].

Glykosaminoglykany zastávají důležitou úlohu v buněčném růstu, diferenciaci, morfogenezi, buněčné migraci, imobilizaci cytokinů a chemokinů u bakteriálních nebo virových infekcích [6, 7]. Některé GAGs jsou kovalentně vázané s jadrovými proteiny a následně usazeny na buněčné membráně nebo uvnitř extracelulárního matrixu jako proteoglykany (PGs). Tyto proteoglykany pokrývají prakticky všechny živočišné buňky a působí jako „lepidlo“ držící ECM pohromadě [8]. ECM je tvořen vláknitými proteiny kolagenu, elastinu, fibronektinu, a jejich glykoproteiny. Tyto molekuly poté tvoří trojrozměrnou makromolekulární síť [9].



Obrázek č. 1: Chemická struktura jednotlivých glykosaminoglykanů [1]

Podle přítomnosti sulfátové skupiny se GAGs dělí na sulfatované a nesulfatované. Sulfatované zahrnují chondroitin sulfát (CS), dermatan sulfát (DS), keratan sulfát (KS), heparin a heparan sulfát (HS), jak je znázorněno na obrázku č. 1. Nesulfatované GAGs zahrnuje pouze kyselinu hyaluronovou [1].

Heparan sulfát je nejrozšířenější sulfatovaný GAG v plicním parenchymu. Podílí se na různých biologických procesech a interaguje s různými proteiny ECM, jako je fibronectin, laminin, trombospondin, kolagen typu I, II, IV, V, VI, XIII a XVIII a endostatin. Vazba je důležitá pro jeho antiangiogenní funkci. Vazba na kolagen V má vysokou afinitu a zprostředkovává buněčnou adhezi na substrát [10]. Heparin je vysoce sulfatovaný GAG, který je intracelulárně umístěn v granulích žírných buněk a bazofilů. Jeho hlavní biologickou funkcí je inhibice koagulační kaskády a udržení průtoku krve v cévách [11]. Chondroitin sulfát je rozšířený na buněčném povrchu ve formě proteoglykanu (CSPG). Jako proteoglykan se účastní fyziologických procesů, ale také i patologických dějů zahrnující kosterní poruchy, tvorbu gliálních jizev po poranění mozku a virové a bakteriální infekce [12]. Keratan sulfát se nachází volně v ECM nebo ve tkáních jako jsou chrupavky, kosti nebo i rohovka. V rohovce je KS důležitý ve spojení s PGs pro udržování vhodné hladiny hydratace. To je důležité pro udržení konstantní průhlednosti tkáně a umožnění průchodu paprsků světla za účelem vytvoření správného optického efektu [13]. Dermatan sulfát se váže na různé PGs a ovlivňuje funkci růstových faktorů, pozměňuje působení heparinových kofaktorů a ovlivňuje proliferaci buněk specifickým způsobem. Vyskytuje se také v krvi a váže se na několik proteinů, které jsou součástí koagulační kaskády. Vazba na aktivovaný C protein a heparinový kofaktor II zodpovídá za jeho antitrombotickou aktivitu [10].

Kyselina hyaluronová je nejhojněji zastoupený nesulfátový glykosaminoglykan v ECM. V následujících kapitolách se budu plně věnovat této kyselině, jejím funkcím, biologickým vlastnostem a jejímu působení v plicní tkáni.

2 KYSELINA HYALURONOVÁ

Kyselina hyaluronová (HA), která je známá také jako hyaluronan, je lineární přírodní polysacharid, který patří do skupiny glykosaminoglykanů. Nachází se primárně v extracelulární matici, ale později (1976) bylo dokázáno, že HA se také vyskytuje intracelulárně [14, 15]. Je důležitá pro udržování viskoelastivity kapalných pojivových tkání, pro kontrolu hydratace tkání, transport vody a shromažďování proteoglykanů v ECM. Taktéž má významnou roli v průběhu mitózy, migrace, vývoji nádoru a zánětu [16]. Kyselina hyaluronová je kvůli svým unikátním vlastnostem, jako biokompatibilita, neimunogenicita a biologická odbouratelnost, v současné době jednou z nejintenzivněji studovaných molekul nacházející široké uplatnění jako ideální biomateriál v kosmetice, ale především v medicíně a klinických aplikacích [17]. Významný pokrok v biomedicinském uplatnění byl dosažen, když se řetězec HA podařilo chemicky modifikovat do formy nanočástic, samoorganizovaných systémů nebo nanostrukturních hydrogelů [18]. Terapeutického potenciálu HA nebo jejich modifikovaných struktur se aktuálně využívá pro celou řadu nemocí, s cílem ochrany extracelulární matrice proti škodlivým účinkům zánětu. Jednou z častých využití je aplikace u několika onemocnění plic. To je z důvodu, že hyaluronan má množství funkcí při plicních patogenezi, jako i při normální plicní homeostáze. Daná problematika bude detailněji popsána v následující kapitole.

2.1 Historie

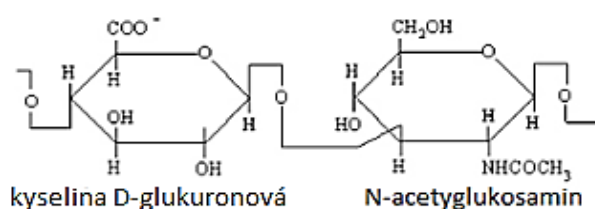
Už v roce 1894 byl izolován neznámý reziduální protein ze sklivce, který byl klasifikován jako kolagen, který se lišil složením od typického kolagenu, a to vyšším obsahem cukru a nižším množstvím dusíku [19].

Oficiálně HA byla objevena v roce 1934 Karl Meyerem a John Palmerem, když vyizolovali ze sklivce hovězího oka nový polysacharid s vysokou molekulovou hmotností. Název "kyselina hyaluronová" byl vytvořen jako konjugace dvou slov, hyaloidu (sklovitého) a kyseliny uronové. Po téměř 25 letech výzkumu určila také Meyerova skupina přesnou chemickou strukturu HA [20, 21].

Termín "hyaluronan" byl zaveden v roce 1986, aby byl v souladu s mezinárodní terminologií pro polysacharidy. Tento termín byl vytvořen tak, aby zahrnoval různé formy molekuly např. kyselou formu, kyselinu hyaluronovou a soli, jako je např. hyaluronát sodný, který se tvoří při fyziologickém pH [16].

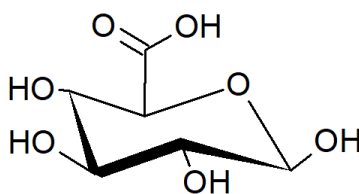
2.2 Chemická struktura

HA je disacharid, který je složen z kyseliny uronové a aminosacharidu, konkrétně z kyseliny D-glukuronové a N-acetylglukosaminu, které jsou spojeny prostřednictvím střídajících se β – 1,4 a β – 1,3 glykosidických vazeb (obrázek č. 2). Je to jediný glykosaminoglykan, který není kovalentně připojen k žádnému jádru proteinu. Chemická struktura HA je energeticky velmi stabilní z důvodu interakce mezi hydrofobními a intermolekulovými vodíkovými vazbami mezi acetamidovými a karboxylovými skupinami. Průměrná molekulová hmotnost hyaluronanu se pohybuje okolo 6 – 8 milionu Da [16, 22–24].



Obrázek č. 2: Chemická struktura kyseliny hyaluronové [14]

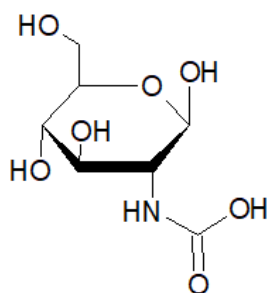
Kyselina glukuronová (obrázek č. 3) je derivát glukózy vznikající oxidací hydroxymethylenové skupiny na C-6 na karboxylovou skupinu [25, 26]. Ta je aktivovaná enzymem uridindifosfát (UDP) – glukuronosyltransferázou a účastní se glukuronidace, což je důležitý proces pro detoxikaci a vylučování exogenních chemikálií a pro biotransformaci endogenních metabolitů jako je bilirubin, oxidované mastné kyseliny a přebytek steroidních hormonů v těle [27]. Kyselina D-glukuronová je široce distribuována v rostlinách a zvířatech, kde se obvykle vyskytuje jako glukuronid [26].



Obrázek č. 3: Struktura kyseliny glukuronové [28]

N – acetylglukosamin (obrázek č. 4) je monosacharidový derivát glukózy, který je společnou strukturální jednotkou mnoha rostlinných, živočišných a bakteriálních glykoproteinů. Dále je složkou PGs, GAGs a dalších sloučenin. Často je terminálním cukrem oligosacharidové skupiny glykoproteinu, který je glykosidicky vázán na amidový dusík proteinového zbytku argi-

ninu. Acetylová skupina se zavádí v reakci mezi acetylkoenzymem A a glukosamin-6-fosfát. Tím se získá N-acetylglukosamin-6-fosfát, který podléhá reakci s mutázou za vzniku N-acetylglukosamin-1-fosfát, ze kterého UDP -N-acetylglukosamin (UDP-GlcNAc) vzniká [26]. Jako čistá sloučenina je vhodná pro vývoj léčiv [28].



Obrázek č. 4: Struktura N-acetylglukosaminu [30]

2.3 Vlastnosti a funkce

Hyaluronan je jedna z nejvíce hygroskopických molekul nacházející se v přírodě. Tento řetězec s vysokou molekulovou hmotností je hydroviskózní. HA může na sebe vázat až tisícinásobek své hmotnosti ve vodě, tudíž se vytvoří velmi objemná, náhodná spirálovitá struktura ve vodních fyziologických roztocích. Tato vlastnost způsobuje, že roztok hyaluronanu je vysoce osmotický, což je ještě potencováno v přítomnosti sérového albuminu. V roztoku se molekuly HA chovají jako hydratované náhodně lomené spirály, které se začnou zaplétat už při koncentraci menší než 1 mg/ml. Mimo jiné, když se řetězce do sebe zamotají, tak vznikne mechanicky pevná síť. Polysacharidová síť je velmi odolná vůči masivnímu toku rozpouštědla a tím zpomaluje difúzi jiných molekul. Může tedy působit jako difúzní bariéra a regulovat transport látek přes mezibuněčné prostory. Kvůli těmto vlastnostem je hyaluronan ideální regulátor vodní homeostázy v těle [29–33].

HA plní mnoho funkcí v těle podle typu orgánu, ve kterém je distribuován. Molekuly hyaluronanu jsou obecně vysokomolekulární (VMHA). Jejich velikost závisí na tkáni, ve které se nacházejí. Průměrná molekulová hmotnost je od 2000 kDa, obvykle v rozsahu 6000 – 8000 kDa. V organismu se za určitých fyziologických nebo patologických podmínek také vyskytují i menší fragmenty a oligosacharidy. Všechny funkce a biologické vlastnosti jsou závislé na molekulové hmotnosti hyaluronanu. VMHA plní funkci výplňovou, mazací, vychytávající volné radikály, regulující buněčnou aktivitu, je silně antiangiogenní a má funkci

v hojení ran. Vysokomolekulový hyaluronan se nachází v synoviální tekutině, která je důležitá pro pohyb kloubů. Zde má plnicí funkci a zároveň funkci mazací se schopností absorbovat otřesy. Hyaluronan omezuje vstup velkým plazmatickým proteinům a buňkám do tekutin. Je také imunosupresivní, protože může vytvořit obal kolem buňky, interagovat s prozánětlivými mediátory a vázat se na buněčné receptory, kde reguluje buněčnou proliferaci, migraci a genovou expresi [29, 32, 34, 35].

Nízkomolekulární hyaluronan (NMHA) vykazuje rozdílné biologické vlastnosti ve srovnání s VMHA. HA řetězce o velikosti 25–50 disacharidových jednotek jsou zánětlivé, imunitně stimulované a vysoce angiogenní. HA fragmenty této velikosti fungují jako endogenní nebezpečné signály, které nabourávají tkáň ve stresu. Fragmentovaná NMHA stimuluje expresi prozánětlivých cytokinů, chemokinů a růstových faktorů. Může také aktivovat intracelulární inflamazomy, spouštět sterilní zánět a podílet se na progresi rakoviny [29,33].

2.4 Výskyt

Hyaluronan je v přírodě velmi rozšířen. Je přítomen u lidí, zvířat jako jsou například králíci, skot, kohouti, měkkýši, ale také i u bakterií jako *Streptococcus (St.) equi*, *St. zooepidermicus*, *St. uberis*, *St. equisimilis*, *St. pyogenes*, *Pasteurella multocida*, u řas jako jsou zelené řasy *Chlorella sp.* infikované virem *Chlorovirus*, u kvasinek *Cryptococcus neoformans*. Primárně se HA vyskytuje v ECM, ale je možné ho lokalizovat také intracelulárně. Nejvyšší množství je v kůži, kde je lokalizováno 50 % celkové tělesné koncentrace HA. Dále se hojně nachází v synoviální tekutině, pupeční šňůře a ve sklivci oka. Také je přítomna ve všech tkáních a tekutinách v lidském těle, jako je kosterní tkáň, srdeční chlopně, plíce, aorta, prostata, *tunica albuginea*, *corpora cavernosa* a *corpus spongiosum* penisu (viz. Tabulka č. 1). Je primárně produkována mesenchymálními buňkami, ale i jinými, jako jsou fibroblasty, endotelové a dendritické buňky, ale i některé typy maligních buněk [37–40].

V organismu se HA vyskytuje v různých formách jako cirkulující, vázaná různými HA vázajícími proteiny, nazývané hyaladheriny, které jsou asociované do tkáně anebo do ECM, elektrostaticky nebo kovalentně vázané na jiné matricové molekuly. Kyselina hyaluronová se neváže přímo kovalentními vazbami na proteinové jádro, proto netvoří proteoglykany, ale je známo, že s PGs vyskytující se v ECM může tvořit agregáty. Vazba s proteoglykany bude vysvětlená v kapitole níže (obrázek č. 7) [42, 43].

V normální kůži se HA nalézá v mezibuněčných prostorech svrchní části kůže, kromě horní glandulární vrstvy a *stratum corneum*. Syntéza HA probíhá na plazmatické membráně a je ovlivněna různými faktory, jako jsou hormony a zánětlivé mediátory, kromě matrixu, ve kterém jsou buňky zakotveny. Bylo zjištěno, že HA má vzrůstající počet funkcí v kůži. Může imobilizovat vodu ve tkáni a tím měnit dermální objem a stlačitelnost. To může ovlivnit proliferaci, diferenciaci a opravu tkání. Změny v HA vyskytující se v průběhu stárnutí, hojení ran a v nemocech poukazují na její důležitost [44].

Synoviální tekutina (ST) normálně funguje jako biologický lubrikant i jako biochemická louže, kterou procházejí živiny a regulační cytokiny. ST snižuje tření a opotřebení kloubů, takže hraje zásadní roli v mazání a ochraně kloubní tkáně před poškozením během pohybu. Volné radikály odvozené od kyslíku jsou zapojeny do samoudržovacího procesu katabolismu HA uvnitř kloubu. Zrychlení degradace VMHA vyskytujícího se při zánětu anebo při oxidačním stresu, je doprovázeno zhoršením a ztrátou jeho viskoelastických vlastností.

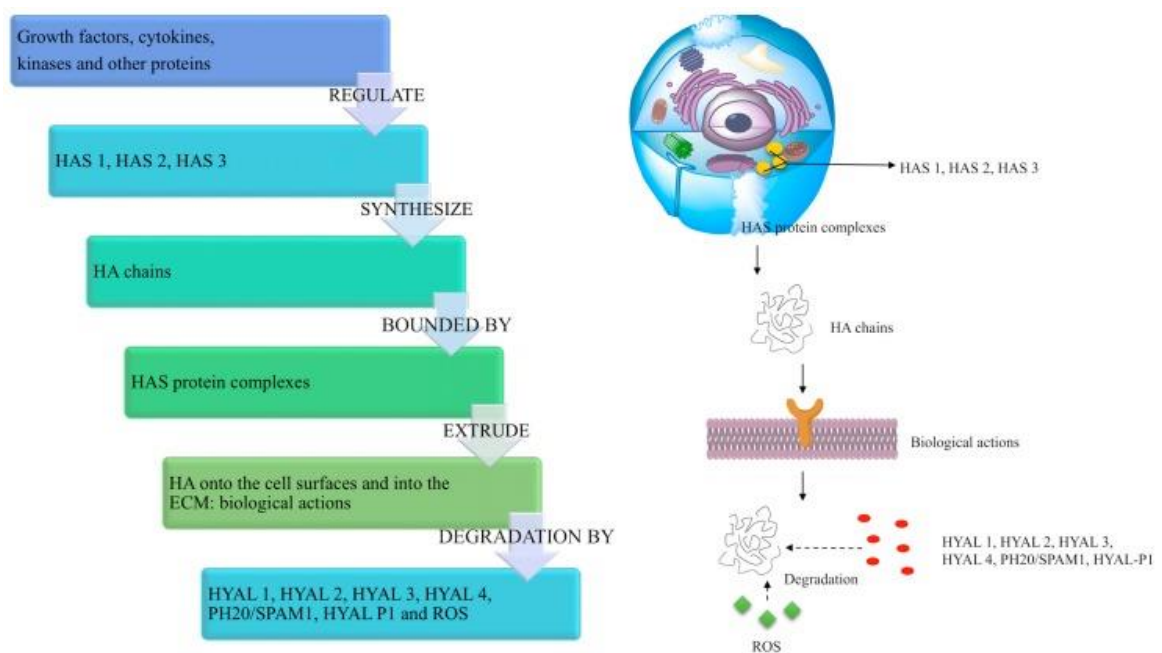
Tabulka č. 1: Fyziologická koncentrace HA v různých orgánech lidského těla [38]

Orgán / tekutina v lidském těle	Koncentrace HA [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]
Pupeční šňůra	4100
Synoviální tekutina	1400–3600
Pokožka	200
Sklivec	140–338
Mozek	35–115
Moč	0,1 – 0,3
Plazma (Sérum)	0,01– 0,1

Hyaluronan se v buňce také nachází v cytoplasmě nebo v jádře. Během mitózy jak HA, tak i HA vazebné proteiny (HABPs) naplňují cytoplazmu a obklopují chromozómy v průběhu uspořádání na metafázové desce a během separace chromozómů v anafázi. Také mohou ovlivňovat funkci jiných proteinů při udržování stability vřetenka. Ukázalo se, že v průběhu zánětu intracelulární HA přímo komunikuje s extracelulárním prostorem a umožňuje tak zánětlivým buňkám hromadit se v zánětlivém místě. Avšak v současné době existuje jen málo přímých dat o funkci HA a jejich interakčních partnerů při jejich intracelulární regulační úloze. Tato část biologických účinků HA stále není zcela objasněná, ale do budoucna může přinést zajímavé skutečnosti o této molekule [45, 46].

2.5 Metabolismus HA

Buněčná syntéza, jako i odbourávání HA, je jedinečný a vysoce kontrolovaný proces v organismu. Celkový průběh je znázorněn na obrázku č. 5. HA je jedinečně syntetizovaná na vnitřní straně plazmatické membrány pomocí enzymů nazývané glykosyltransferázy. Syntéza je obvykle vyvážena katabolismem. Tím se udržuje konstantní koncentrace HA ve tkáni. Odbourávání může být také enzymatické prostřednictvím enzymů hyaluronidáz nebo nespecifické, působením volných radikálů [16, 37]. Jednotlivé kroky metabolismu budou detailněji popsány v následujících podkapitolách.



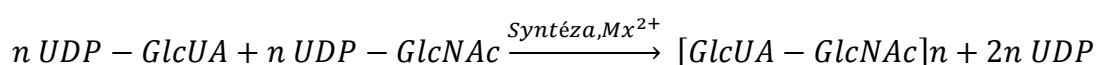
Obrázek č. 5: Metabolismus HA v organismu [34]

2.5.1 Syntéza

V lidském těle je HA syntetizována jako volný lineární polymer pomocí třech transmembránových izoenzymů nazývaných glykosyltransferázy, které jsou pojmenované jako syntázy hyaluronanu (HAS). Jsou jedinečně syntetizované na plazmatické membráně než v Golgiho aparátu. Tyto enzymy se taky nacházejí u obratlovců a u některých bakterií a virů. V lidském organismu jsou přítomny tři typy HAS, konkrétně HAS 1, HAS 2 a HAS 3. Exprese a aktivita jednotlivých izoforem HAS jsou řízeny růstovými faktory, cytokiny a jinými proteiny například kinázy, specifické pro buňky a tkáně. Tři geny HAS tedy mohou reagovat odlišně na různé transkripční signály, například transformující růstový faktor β zvyšuje expresi HAS1,

ale snižuje expresi HAS3. Jejich katalytická místa jsou umístěna na vnitřní straně cytoplazmatické membrány. HAS byli klasifikováni na základě primární struktury, molekulové hmotnosti, předpokládané membránové topologie a enzymatických charakteristik. Třída I. zahrnuje streptokoky, obratlovce a virové enzymy a třída II. zahrnuje pouze *Pasteurella multocida* [47, 48].

Prekurzory UDP-cukru, UDP- α -N-acetyl-D-glukosamin a UDP- α -D-glukuronové (UDP-GlcUA) jsou využívány HA syntázami v přítomnosti dvojmocné vazby (Mn^{2+} nebo Mg^{2+}) při neutrálním pH. Biosyntéza HA probíhá dle rovnice:



Každý HAS enzym je schopen nově syntetizovat HA řetězce přidáním aktivované formy substrátů UDP-GlcUA nebo UDP-GlcNAc do rostoucího řetězce. Produkty mají identické struktury, ale každý enzym má odlišné vlastnosti. Enzym HAS1 je schopen syntetizovat HA a různé aminokyselinové zbytky na cytoplazmatické centrální smyčkové doméně a podílí se na přenosu zbytků N-acetyl-D-glukosaminu a D-glukuronové kyseliny. HAS3 syntetizuje HA s menší molekulovou hmotností, než je HA syntetizovaná pomocí HAS1 a HAS2. HAS mají rozdílné biochemické vlastnosti z hlediska velikosti syntetizovaného hyaluronanu a katalytické účinnosti. Velikost řetězce hyaluronanu je rozhodující v mnoha patofyziologických podmínkách. V důsledku působení hyaluronidáz, degradačních enzymů nebo působení kyslíkových radikálů, může být hyaluronan fragmentován do krátkých oligosacharidů, které mohou vyvolat zánět nebo aktivaci metaloproteinázy [16, 37, 49]. Výsledné molekuly prochází přes plazmatickou membránu a prostřednictvím proteinových komplexů HAS jsou nakonec vylučovány do extracelulárního prostoru. Mezenchymální buňky jsou nejdůležitější buňky zodpovídající za syntézu a vylučování HA do krevního oběhu [50–52].

2.5.2 Odbourávání

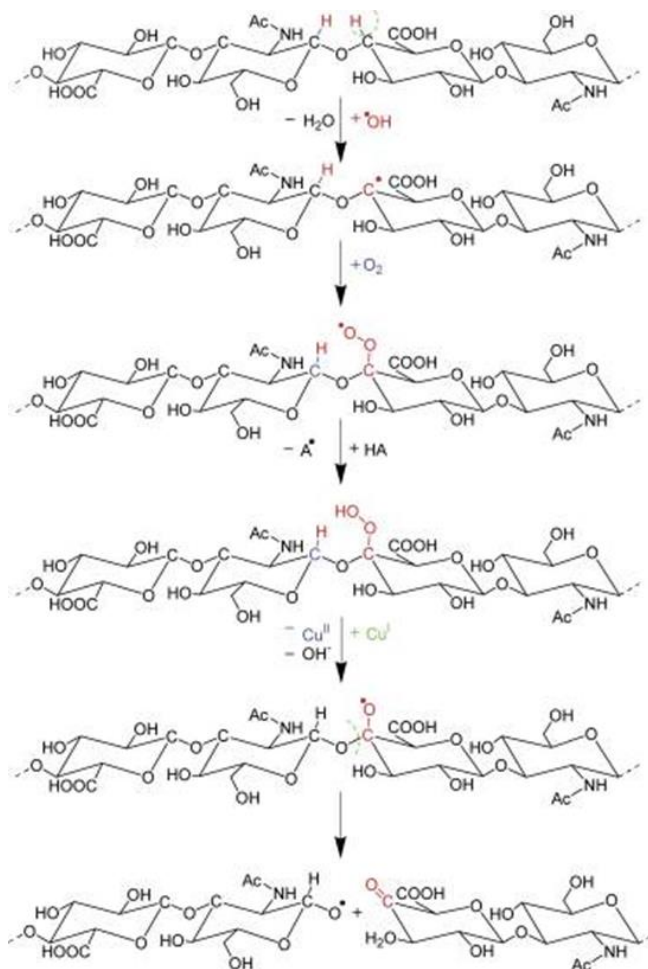
Degradace HA v organismu probíhá dvěma různými mechanismy. První je specifický, prostřednictvím enzymů. Druhý, nespecifický, je určený oxidačním poškozením způsobený reaktivními formami kyslíku (ROS). Enzymatické odbourávání HA vyplývá z působení tří typů enzymů: hyaluronidázy (HYALs), β -D-glukuronidáza a β -D-acetyl-hexosaminidáza. Tyto

enzymy se nacházejí v těle v různých formách – intracelulárně a v séru. HYALs štěpí VMHA na menší oligosacharidy a β -D-glukuronidáza a β -D-acetyl-hexosaminidáza dále odbourává oligosacharidové fragmenty odstraněním neredukujících terminálních cukrů. Játra patří k nejdůležitějším orgánům podílejících se na odbourávání HA. Sinusové endoteliální buňky jsou hlavní třídou buněk, které se účastní metabolických reakcí v játrech a přispívají k rychlé eliminaci HA z krevního oběhu. Další orgány, ve kterých dochází k eliminaci HA, jsou ledviny a slezina [16, 37, 51].

U lidí bylo dosud identifikováno šest HYALs: HYAL 1–4, PH-20 a pseudogen HYALP1. HYAL 1 odbourává HA intracelulárně v lysozomech. Je aktivní při kyselém pH ale zároveň je hlavní hyaluronidázou v plazmě. HYAL 2 hydrolyzuje pouze VMHA při pH nižším než 4, čímž se získají středně velké fragmenty HA o velikosti 20 kDa, které se dále hydrolyzují na malé oligosacharidy pomocí PH-20. HYAL 3 vykazuje nejsilnější expresi ve varlatech a v kostní dřeni a relativně slabou expresi v jiných orgánech, ale jeho úloha v odbourávání HA není jasná [50].

Výsledné oligosacharidy se stávají substráty terminální reakce dvou lysosomálních β -exoglykosidáz. Pro D-glukuronidázu, která hydrolyzuje koncovou neredukující kyselinu glukuronovou a p-N-acetyl-D-hexosaminidázu, která hydrolyzuje neredukující UDP-GlcNAc [53].

Přirozené odbourávání HA může být v organismu i pomocí ROS, včetně superoxidu, peroxidu vodíku, oxidu dusnatého, peroxinitritu a hypohalogenových kyselin, které jsou masivně produkovány během zánětlivých odpovědí, během poškození tkáně a při vzniku nádoru. Mechanismy depolymerizace HA jsou závislé na druhu ROS, ale vždy zahrnují štěpení glykosidických vazeb [37]. Fragmentační mechanismus HA při radikálovém stresu je uveden na obrázku č. 6. V iniciační fázi hyaluronová makromolekula vstupuje do reakce s hydroxylovým radikálem HO^\bullet . Propagační fáze po zachycení molekuly O_2 zahrnuje tvorbu peroxy-typu C-makroradikálu hyaluronanu v procesu okysličování. Následuje tvorba hydroperoxidu odvozeného od hyaluronanu reakcí s jinou makromolekulou hyaluronanu. Poté tvorba vysoce nestabilního alkoholového typu C-makroradikálu hyaluronanu na základě redoxní reakce s iontem přechodného kovu v redukovaném stavu. Fáze ukončení zahrnuje rychlou tvorbu C-fragmentů alkoxy-typu a fragmentů s terminální skupinou $\text{C} = \text{O}$ v důsledku štěpení hyaluronanu glykosidovou vazbou. Fragmenty alkoxykupiny typu C mohou pokračovat ve fázi šíření radikálově degradační reakce hyaluronanu. Oba vzniklé fragmenty jsou reprezentovány sníženými molárními hmotnostmi [32].

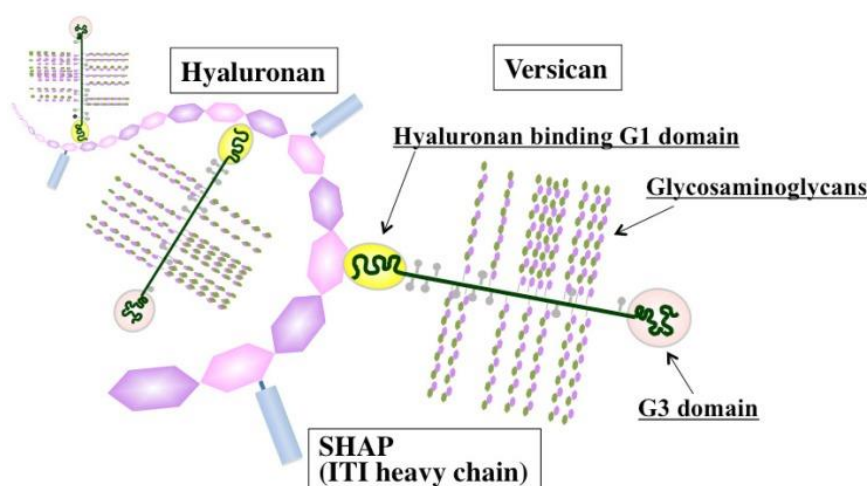


Obrázek č. 6: Odbourávání HA volnými radikály [32]

2.6 HA-vazebné proteiny a receptory

Většina extracelulárních HA interakčních partnerů, které se nazývají hyaladheriny, jsou proteoglykany, které jsou především ze skupiny lektikanů. Ty zahrnují agregan, versikan a blízce příbuzný protein hyaluronektin a gliální hyaluronan vázající protein. Žádný z těchto proteinů neobsahuje transmembránovou doménu, ale jejich nepřímé spojení s buněčným povrchem bylo prokázáno pro hyaluronektin a pro proteoglykany, který souvisí s agreganem. Interakce s HA probíhá prostřednictvím proteinové domény, nazývané Link modul, o sekvenci přibližně 100 aminokyselin, které se u těchto molekul nachází v doménách G1. Kromě lektikanů je Link modul přítomný i u HYALs jako jsou CD44, tumor nekrotizující faktor stimuluující gen 6, HA receptor pro endocytózu (HARE) / Stabilin-2, hyaluronový receptor 1 endotelu lymfatických cest (LYVE1). Druhý zjištěný interakční motiv s vysokou afinitou a specificitou bylo 9 aminokyselinových bazických B(X7)B. Tento krátký motiv se nachází u RHAMM, proteinu cyklu buněčného dělení CDC37 nebo inter- α -inhibitor [54].

Agregan je hlavní proteoglykan, který se nachází v kloubní chrupavce. Je zodpovědný za schopnost tkáně odolávat tlakovým zátěžím. Tato schopnost je úzce spojena s jeho strukturou, zejména s jeho vysokým stupněm substituce se sulfátovaným GAGs řetězcem a jeho schopností vytvářet agregáty s HA. Versikan je proteoglykan, který se nachází v ECM buněk a v intersticiálním prostoru mezi buňkami v mnoha tkáních. Jeho vazba na hyaluronan je znázorněna v obrázku č.7. Vazba s řetězcem HA je zprostředkována G1 doménou (obsahuje sekvenci Link modulu), kterým je následně vlákno HA spojeno s jiným GAGs. Jednotlivé GAGs mají na svém konci ještě C- lektinové domény (G3), se kterými se připojují přímo ke svým jádrovým proteinům za vzniku PGs. To vede ke vzniku agregátů v ECM. V normálních tkáních jsou hladiny versikanu nízké, ale u nemocných se versikan dramaticky zvyšuje jako například u aterosklerózy. Navíc se versikan hromadí v několika typech rakovin a dalších onemocněních. Versikan je negativně nabitý vzhledem ke svým řetězcům GAGs a přitahuje vodu, což přispívá k viskoelasticitě pericelulárního mikroprostředí. Versikan může také působit jako rezervoár cytokinů a růstových faktorů, které mají být uvolňovány v různých časech. Tím je zajištěna dobrá kontrola nad buněčnou aktivitou a chováním. Hyaluronektin (HN) je glykoprotein, který byl izolován z dospělého lidského mozku, přičemž se ukázalo, že se specificky váže na HA. HN je proteinový antigen, jehož antigenicita je zničena proteolytickými enzymy jako je trypsin a pronáza. To je proteolytický enzym z aktinomycet rodu *Streptomyces*, ale hyaluronidázou a chondroitinázou je nezměněna. Jeho střední molekulová hmotnost je okolo 45–110 kDa. [55–58].



Obrázek č. 7: Vazba HA s versikanem za vzniku agregátů [94]

Schopnost hyaluronanu interagovat s buněčnými receptory spouští několik buněčných odpovědí. Tyto odpovědi jsou specifické pro různé typy buněk. To dokazuje, že tento polymer má silnou schopnost modulovat chování buněk účastnících se různých buněčných aktivit včetně proliferace a migrace v průběhu zánětu, v normálních tkáních a v orgánové patologii. Interakce s HA receptory na buněčném povrchu zprostředkovávají tři biologické procesy: transdukce signálu, tvorba pericelulárních vrstev a receptorem zprostředkovaná internalizace. Hyaladheriny zahrnují CD44, LYVE1, HARE, HABP2 a mnoho dalších proteinů. Vybrané receptory uvedu v následujících podkapitolách [37, 50, 59].

2.6.1 CD44

CD44 je hlavní polymorfní transmembránový glykoprotein, jehož exprese může být indukována na většině typů buněk. Podílí se na mnoha buněčných procesech, včetně regulace buněčného dělení, přežití nebo migrace. Rodina CD44 se skládá ze standardní formy CD44s a variabilních izoform CD44v. HA je hlavní vazebný ligand. Interakce HA s CD44 hraje důležitou roli ve vývoji, zánětu, náboru a aktivaci T-buněk, v růstu nádoru a metastáz. Vazba HA/CD44 reguluje jak lymfoidní, tak myeloidní buňky. Každopádně, abnormální aktivace signálních kaskád HA/CD44, stejně jako nadměrná exprese a zvýšená regulace CD44, mohou vést k rozvoji patologických lézí a k maligní transformaci. CD44 je nadměrně exprimován v mnoha nádorech jako je karcinom pankreatu, prsu a plic. Exprese CD44v5 a CD44v6 pozitivně koreluje s hladinami imunoglobulinu E (IgE) u astmatických pacientů [37, 50, 60].

2.6.2 RHAMM

Receptor pro hyaluronan zprostředkovanou motilitu (RHAMM) je také známý jako CD168. RHAMM je přítomen jako plazmatický membránový HA receptor. Je to funkční receptor v mnoha typech buněk, včetně buněk endotelových. Existuje v několika izoformách, které mohou být přítomny nejen na buněčné membráně, ale i v cytoplazmě a v jádře. Extracelulární RHAMM zprostředkovává a podporuje buněčnou migraci, zatímco intracelulární RHAMM moduluje buněčný cyklus, tvorbu a integritu mitotického vřeténka. Interakce HA s RHAMM hrají důležitou roli při zánětu a opravě tkání tím, že spouští různé signální dráhy, a tedy i aktivaci buněk jako jsou makrofágy a fibroblasty. Bylo ukázáno, že RHAMM přispívá k „rakovinné“ mikroprostředí prostřednictvím jeho funkcí [37, 50, 59–61].

2.6.3 LYVE-1

Hyaluronový receptor 1 endotelu lymfatických cest (LYVE-1) je plazmatický membránový glykoprotein typu I. Je také nazýván jako CRSBP-1. LYVE-1 je exprimován ve tkáňových makrofázích. Dále se podílí na přenosu buněk v lymfatických cévách a uzlinách, ale také byl detekován v sinusových endotelových buňkách v játrech a v retikulárních buňkách lymfatických uzlin. Slouží jako specifický marker pro detekci lymfatických buněk, ale je také důležitý pro prognostické hodnocení dlaždico – buněčného karcinomu v oblasti krku a hlavy. LYVE-1 působí tak, že transportuje HA z tkáně do lymfy, čímž reguluje hydrataci tkáně a její biomechanické vlastnosti [50, 59, 60].

2.6.4 HARE

Hyaluronový receptor pro endocytózu (HARE) byl identifikován ze sinusových endoteliálních buněk jater, lymfatické uzliny a sleziny. Postupně byl nalezen také v endotelových buňkách oka, mozku, ledvin a srdce. Tento receptor je lokalizován na buněčné membráně. HARE je schopen vázat nejen HA, ale také další GAGs s výjimkou KS, HS a HP. Také se podílí na odstraňování GAGs z oběhu. Funkce HARE souvisí s endocytózou hyaluronanu, ale během endocytózy není HARE zapojen do odbourávání HA v průběhu jeho cesty do lysozomům [37, 50, 59].

2.6.5 HABP2

Hyaluronan vazebný protein 2 (HABP2) je také znám jako aktivační proteáza faktoru VII. Tento protein je HA vazebná serinová proteáza, která se účastní vnější cesty krevního srážení, pomocí aktivace faktoru VII. Také se účastní fibrinolýzy pomocí aktivace pro-urokinázy typu plazminogenového aktivátoru. Je exprimován jako proenzym jednoho aminokyselinového řetězce, který podléhá autokatalytickému štěpení po navázání ligandu. HABP2 byl původně izolovaný na základě své afinity k HA. Je schopen být aktivován různými polyanionty, včetně heparinu a nukleových kyselin. Různé testy a studie ukazují na to, že NMHA zvyšuje aktivitu (obdobně jako LPS) a VMHA inhibuje aktivitu proteázy HABP2 [61, 62].

2.6.6 Toll-like receptory

Toll-like receptory (TLRs) jsou jednou z nejdůležitějších skupin rozpoznávající molekulární struktury typické pro patogenní mikroorganismy (PAMP). TLRs jsou exprimovány na plazmatické membráně nebo v endosomu. Jejich hlavní úloha je aktivování buněk prezentujících antigen (APC). Aktivace TLRs je velmi rychlý proces, i když bez specifity adaptivní odpovědi. TLR4 a TLR2 jsou hlavními receptory složek bakteriální buněčné stěny. TLR4 je transmembránový receptor, který je schopen rozpoznat molekuly lipopolysacharidu (LPS), zatímco TLR2 je schopen rozpoznat mykobakterie a grampozitivní bakterie. Po interakci s oligosacharidy hyaluronanu jsou makrofágy schopny exprimovat chemokinové geny. Tento efekt je silně závislý na přítomnosti faktoru myeloidní diference 88 (MyD88). HA slouží jako endogenní ligand pro TLR, který je klíčový pro aktivaci vrozených imunitních buněk. TLRs s hyaluronanem hrají významnou roli nejen v přirozené imunitní reakci, ale i v metabolismu tkání. Zde mají klíčovou roli pro tkáňovou homeostázu, která spouští syntézu proteinů nazývané defesiny. Ty mají nejen antibakteriální vlastnosti, ale také vykazují silné regenerační podněty pro různé buňky [59, 64, 65].

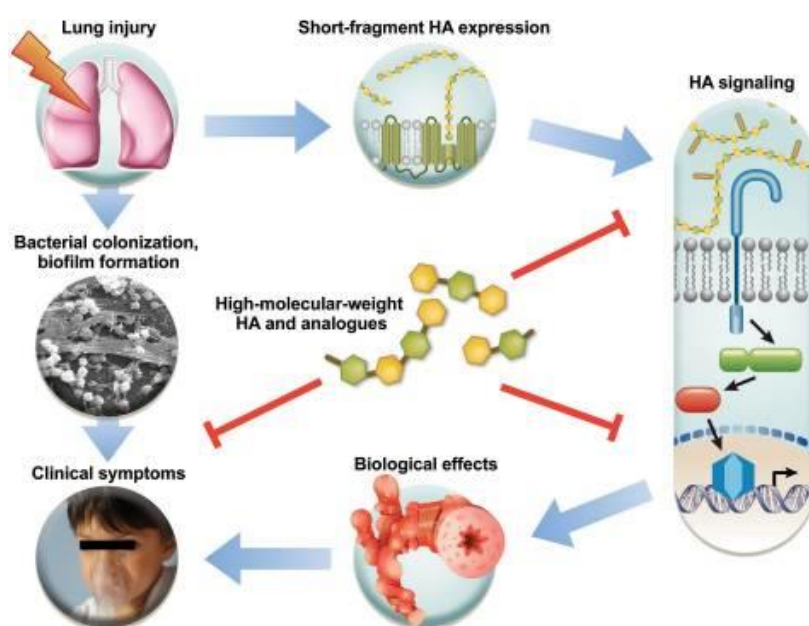
3 KYSELINA HYALURONOVÁ V PLICNÍ TKÁNI

Plíce patří mezi nejsložitější orgán v lidském těle. Jejich primární funkce je poskytování kyslíku do tkání. Tato funkce je pro tělo nezbytná pro výrobu energie. Tento neustálý proces výměny plynů (kyslík a oxid uhličitý) udržuje acidobazickou rovnováhu, která je zásadní pro metabolické reakce v celém těle. Plíce jsou párový orgán, který je situovaný v hrudní dutině. Pravá plíce je větší a obvykle má tři laloky. Zatímco levá plíce má laloky dva. Plíce jsou složeny z více jak 40 různých typů buněk, jako jsou alveolární epiteliální buňky (neboli pneumocyty), endotelové buňky, fibroblasty, alveolární makrofágy a další. Pneumocyty jsou zodpovědné za výměnu kyslíku a oxidu uhličitého mezi alveolárním prostorem a bazálními kapilárami. Dále zabezpečují transport proteinů, produkují plicní surfaktant a imunomodulační molekuly, které udržují plicní homeostázu. Další buňky, které se nejhojněji nacházejí v alveolárním intersticiu, jsou rezidentní fibroblasty. Tyto buňky jsou vysoce adaptabilní. Průběžně vytvářejí podporu, kterou poskytují k růstu, opravám poranění nebo regeneraci a jsou schopny produkce různých cytokinů [66–68].

HA je hlavním nesulfátovaným glykosaminoglykanem v plicích. Na základě její molekulové hmotnosti a dostupnosti různých hyaladherinů, může různě podporovat nebo inhibovat patologii plic. VMHA o velikosti > 1 milion Da se vyskytuje v plicích fyziologicky, zatímco NMHA o velikosti 150 – 350 kDa vzniká při zánětu. VMHA má protizánětlivé a proangiogenní vlastnosti a podporuje migraci buněk. HA oligosacharidy (produkty štěpení prostřednictvím HYAL) o velikosti 3 – 7 kDa mají smíšené účinky. V některých situacích zánět podporují a v jiných mají zase ochranný účinek. NMHA byla objevena u řady plicních onemocnění, a to jak v dýchacích cestách, tak v parenchymu. Působení NMHA vzniknutého v důsledku poškození plic je vyobrazen v obrázku č. 8 [69, 70].

Ve fyziologické tkáni jsou matrice HA primárně umístěny v submukóze dýchacích cest, stěnách plicních cév a v menší míře v alveolách. Během plicního poškození a jeho následné reparace, dochází v těchto oblastech ke zvýšené exprese HAS a produkci HA. Avšak jako každé poškození, dochází v tomto místě ke kolokalizaci se zánětlivými buňkami a ovlivnění jejich aktivace. HA, která se hromadí v těchto oblastech významně podporuje adhezi leukocytů v důsledku interakce s inter- α -inhibitorem. Všeobecně, zvýšené hladiny HA v bronchoalveolární laváži (BAL) odpovídají rozsahu poškození plic, zatímco sérové hladiny HA nekorelují vždy s poškozením plic [71].

VMHA má potencionální úlohu v léčbě onemocnění dýchacích cest, včetně zlepšení zá-
 nětlivé hyperaktivity, snížení exprese protizánětlivých cytokinů a ochrana proti akutním zá-
 nětlivým reakcím vyvolaných akutním plicním poraněním. Jeden z mechanismů je, že VMHA
 podporuje reaktivitu T-buněk a potlačuje adaptivní imunitu. Dále má stabilizační účinky na
 monocyty dýchacích cest a zabraňuje repolarizaci a kontrakci zprostředkované průtokem váp-
 níku. Exogenně aplikovaná VMHA do dýchacích cest interaguje s epitelem dýchacích cest a
 tím chránit plíce (obrázek č. 8). Plicní epitel také může, být indukovaný k expresi HA, co
 podporuje integritu epitelu a jeho případnou remodelaci v modelu poranění plic. [62, 70].



Obrázek č. 8: Působení NMHA při poškození plic [63]

NMHA působí v plicích především v unikátním receptorovém komplexu CD44 a TLR4. Tento komplex indukuje uvolňování cytokinů a chemokinů u makrofágů a hyperreaktivitu dýchacích cest. Nicméně, u modelu akutního plicního poškození indukovaného bleomycinem, NMHA vyžadoval TLR2 i TLR4 společně s MyD88 ke stimulaci exprese chemokinů, která byla nezávislá na CD44. Krátké HA fragmenty přenášejí různé "nebezpečné signály" prostřednictvím TLR. Přerušení zápalové signalizace vyvolané krátkým fragmentem HA může být modulované až utlumené HA s vysokou molekulovou hmotností. Akumulace HA se také podílí na patogenezi akutního a chronického odmítnutí dýchacích cest po transplantaci. Krátký fragment HA aktivuje vrozenou a adaptivní imunitu, naproti tomu HA s vysokou molekulovou hmotností zmírnila zánět bazálního štetu [48, 70].

3.1 Metabolismus HA v plicní tkáni

HA je syntetizována třemi membránově vázanými HAS. Expres HAS jsou variabilní v závislosti na typu plicních buněk a konkrétním patologickém stavu. Indukce syntézy HA v plicní tkáni po akutním poranění může být relativně rychlá, vyskytující se během prvních 24 hodin. I když je syntéza HA a celková koncentrace HA důležitá při regulaci plicních funkcí, musíme také vzít v úvahu skutečnost, že degradace HYAL enzymy a reaktivními formami kyslíku (ROS), může měnit signální dráhy, které přímo ovlivňují funkci plic. Degradace HA za účasti HYAL enzymů vznikají fragmenty NMHA, které se podílejí na progresi řady plicních onemocnění. HYAL-1 je zvýšen v buňkách primárního hladkého svalstva dýchacích cest u astmatických pacientů a pacientů s chronickou obstrukční plicní nemocí (CHOPN). Bylo zjištěno, že tyto buňky degradují VMHA na fragmenty o velikosti 250 kDa. Expres HYAL-2 je také zvýšena v plicích u pacientů s CHOPN, zatímco HAS2 je snížena. Naopak HYAL-1 je snížena v plicích pacientů s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí.

Degradace HA v plicích může být také zprostředkována dalšími faktory jako jsou ROS. Ty odpovídají za přítomnost a potenciální regulační aktivitu NMHA. Přebytek ROS může pocházet například ze znečištěného ovzduší, cigaretového kouře, aktivace fagocytů nebo stimulačně indukované oxidázy NADPH a dalších. Depozice a metabolismus HA jsou tak hlavní složkou zánětlivého vývoje, progresu a rozlišení plic [62, 69, 70].

3.2 HA-vazebné proteiny v plicní tkáni

HA a její produkty odbourávání se vážou na různé HA-vazebné proteiny, které se vyskytují v různých místech včetně krve, ECM, cytoplazmatické membrány, cytosolu a jádra. Rozdílné aktivity HA jsou regulovány v plicích, částečně přes interakce s HA vazebnými proteiny, včetně CD44, TLR4/TLR2, HABP2 a RHAMM. Hyaladheriny jsou také produkovány v reakci na zánět a jejich interakce s HA mohou ovlivňovat fyzikální vlastnosti plicní tkáně a zvyšovat interakce imunitních buněk. Po opravě poškození akutního poškození dochází k návratu hladiny HA na výchozí hodnotu, protože zánět je vyřešen. V situacích chronického onemocnění je přetrvávání HA spojeno se zvýšenými zánětlivými a fibrotickými reakcemi. V tabulce č. 2 jsou uvedeny jednotlivé proteiny a plicní onemocnění, u kterých bylo prokázáno, že HA metabolismus hraje určitou roli.

Tabulka č. 2: HA-vazebné proteiny a jejich související plicní patologie [62, 69, 90]

HA-vazebný protein	Plicní patologie
CD44	LPS-indukované poškození plic, astma, pneumonie, tuberkulóza, neinfekční poranění plic, zápal plic, plicní vaskulární netěsnost, hyperoxie, rakovina plic
HABP2	Poškození plic vyvolané ventilátorem, syndrom akutní dechové tísně, plicní vaskulární netěsnost, rakovina plic
TLR4 / TLR2	LPS-indukované poranění plic, neinfekční poranění plic, poškození plic vyvolané ventilátorem, hyperoxie, poškození plic způsobené ozónem, rakovina plic
RHAMM	Neinfekční poranění plic, rakovina plic

3.2.1 CD44

CD44 je v plicích je exprimován na různých typech buněk, včetně plicních epiteliálních, fibroblastových, endotelových buňkách a také na buňkách hematopoetického systému. Expresí CD44 může být regulována v reakci na zánětlivé podněty jako je LPS a cytokiny, včetně interleukinu (IL) 1 β , faktoru nádorové nekrózy α a různých růstových faktorů. Extracelulární doména CD44 obsahuje Link modul, vazebný spojovací modul společný pro HA-vazebné proteiny. Cytoplazmatická doména CD44 slouží k posílení regulačních proteinů buněčné membrány a iniciuje intracelulární signalizaci zprostředkovanou HA. Tento povrchový protein je taktéž důležitý v průběhu morfogeneze plic. Plicní makrofágy exprimují vysoké hladiny CD44, které jsou zodpovědné za snižování hladin HA *in vivo* hned po narození [62, 72]. CD44 hraje roli ve více plicních onemocnění, o kterých se rozepíšu v jiné kapitole.

3.2.2 TLR4 / TLR2

Strukturálně TLR obsahuje extracelulární opakující se doménu, která je bohatá na leucin a na cytosolovou doménu Toll/IL-1 receptor. TLRs jsou široce exprimovány jak na rezidentních plicních buňkách, tak na infiltrujících buňkách myeloidního a lymfoidního původu. TLR 4 je hlavním receptorem pro LPS a může také vázat HA protein B1 s vysokou pohyblivostí, oxidované lipoproteiny a oxidované fosfolipidy, protože tyto molekuly obsahují znaky PAMP. TLR2 zprostředkovává buněčnou odpověď na lipoproteiny a kyselinu lipoteichovou z gram pozitivních bakterií a mykobakterií. Uvádí se, že TLR mají úlohu při regulaci neinfekčního poškození plic [62, 73].

3.2.3 HABP2

HABP2, je extracelulární serinová proteáza, která se podílí na několika chorobných procesech včetně aterosklerózy a hluboké žilní trombózy. HABP2 je zvýšeně regulován na plicních endotelových buňkách v průběhu akutního poranění plic a podporuje narušení cévní integrity. Tím pádem může přispívat k extravaskulárnímu ukládání fibrinu a zánětlivým procesům v poraněných plicích. Existují studie, které poukazují na úlohu tohoto proteinu při nádoru plic [63, 74].

3.2.4 RHAMM

RHAMM a HA jsou nadměrně exprimovány v makrofázích, fibroblastech, epiteliálních buňkách a buňkách hladkého svalstva reagujících na poranění. Nachází se na různých buněčných místech, včetně buněčného povrchu, cytosolu, mitochondrií a jádra. RHAMM aktivuje extracelulární signálně regulační kinázu 1 a 2 a reguluje integritu mitotického vřetena. Také je alternativně spojován s CD44 a tyto dva HA vazebné proteiny jsou často spolu vyjadřovány v plicních buňkách. RHAMM je kritickou složkou náboru makrofágů a následné fibrózy po akutním poranění plic. V některých případech může RHAMM kompenzovat funkci CD44. [62, 69, 75].

4 KYSELINA HYALURONOVÁ V PLICNÍ PATOBIOLOGII

HA hraje v plicní patologii důležitou roli, zejména produkty její degradace. HA fragmenty se podílejí na progresi plicních onemocnění. Akumulace HA v místech plicního poškození poskytuje základní mikroprostředí, které řídí zánětlivé události a fibrózu. Při akutním i chronickém plicním poranění dochází ke dvěma modifikacím HA, které regulují jeho patobiologii; kovalentní vazbě na těžké řetězce inter- α -inhibitoru a degradace na fragmenty. Interakce s inter- α -inhibitorem se vyskytuje během patologických a vývojových procesů a byla nalezena v zánětlivých a remodelačních dějích v plicích. Produkty štěpení základního řetězce HA se vážou na různé HABPs, které se vyskytují v různých místech v organismu. Úloha jednotlivých proteinů bude vysvětlená u vybraných plicních onemocněních níže v podkapitolách [62, 70, 76].

4.1 Rakovina plic

Rakovina je komplexní systémové onemocnění v důsledku abnormální proliferace maligních buněk. Nádorové bujení může vzniknout z jakékoli buňky. Počáteční expanze rakovinných buněk generuje signál k vytvoření nádorového mikroprostředí, které výrazně ovlivňuje funkci normálních, zdravých buněk. Není však jasné, který typ normální buňky reaguje nejprve na počáteční růst nádoru. Karcinom plic je nádor s nejvyšší mortalitou ve světě. Je to onemocnění s omezenými možnostmi léčby. Více než 85 % karcinomů plic je v současné době klasifikováno jako nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC) s předpokládanou mírou přežití 5 let len u necelých 16% [77].

Několik studií ukazuje, že TLR signalizace přispívá k růstu nádorů v mnoha orgánech. Vývoj rakoviny je spojen s mikrobiální infekcí, poraněním, zánětem anebo opravou tkání. Aktivace TLR v rakovinných buňkách a následná kaskáda s produkcí cytokinů nebo chemokinů, mohou podporovat přežití rakovinných buněk, chemorezistenci, a tudíž i progresi nádoru. NSCLC buňky exprimují jak CD44, tak i RHAMM. CD44 má potenciální terapeutický cíl pro NSCLC, a ten se skrývá v inhibici exprese CD44. To může potlačit proliferaci a růst buněk karcinomu plic. Taktéž byl nedávno prokázán možný přímý účinek HABP2 na progresi rakoviny plic. Tento protein je u pacientu s NSCLC signifikantně zvýšený u jednotlivých stádií nádoru a je intenzivně studován jako možný diagnostický marker [78–80].

4.2 Astma

Astma je chronické zánětlivé onemocnění charakterizované zesílením bronchiální stěny bazální membrány, hypertrofií hladkého svalstva dýchacích cest a sliznic žláz, vaskulární dilatací a poškozením epitelu dýchacích cest. Je to heterogenní onemocnění, které může být také vyvoláno reverzibilní obstrukcí v proudění vzduchu nebo zvýšenou citlivostí plic na různé druhy specifických antigenů (alergenů) a nespecifických spouštěčů (např. studený vzduch, cigaretový kouř) silně spojených s atopií (produkce IgE) v současné době je astma závažný globální zdravotní problém, který postihuje všechny věkové kategorie [81, 82].

Bronchiální epitel astmatických pacientů produkuje významně vyšší koncentrace kratšího fragmentu HA než u zdravých jedinců. Studie dokázaly příznivý, ochranný účinek exogenní HA před léčbou astmatu. Stále ale záleží na velikosti. U astmatických pacientů byla před zátěžovým testem aplikována HA. U skupiny, které byla podaná HA inhalačně s průměrnou molekulovou hmotností (150 kDa) nedošlo k ochraně proti bronchokonstrikci, zatímco u skupiny s HA aplikovanou v aerosolu s molekulovou hmotností 400 kDa – 4 MDa se významně snížila bronchiální hyperaktivita. Taktéž u této skupiny byla zaznamenána ochrana vůči zátěži vyvolané námahou ve srovnání s fyziologickým roztokem. Diferenční znak CD44 u potkanů s experimentálním astmatem je nadměrně exprimován v plicích. Blokováním protilátek CD44 se snížila adheze žírných buněk k buňkám lidského bronchiálního hladkého svalstva, což je proces spojený s hyperaktivitou dýchacích cest a remodelací [62, 70].

4.3 LPS – indukovaná plicní nemoc

Lipopolysacharid (LPS) je endotoxin, který je přítomen na povrchu gramnegativních bakterií a reprezentuje jeden z mikrobiálních molekulárních signálů zodpovídající za aktivaci vrozeného imunitního systému. Disociovaný LPS je rozeznáván vrozenou imunitou pomocí rozpoznávacího receptoru TLR4, který je přítomen na mnoha typech buněk, včetně makrofágů a dendritických buněk [83].

LPS při intratracheálním podání vyvolává zánětlivou reakci charakterizovanou narušením epiteliálních nebo endotelových bariér a únikem tekutin, proteinů a imunitních buněk do plicních vzduchových prostorů. CD44, při intratracheálním podáváním LPS, působí jako negativní regulátor, omezuje LPS vyvolané reakce a způsobuje prevenci vůči nadměrnému po-

škození tkáně. Také inhibice TLR4 ve zvířecích modelech chrání před LPS – indukovanému poškození plic. TLR4 knockoutovaná zvířata vykazují sníženou infiltraci neutrofilů a mají snížené hladiny prozánětlivých cytokinů. VMHA v aerosolu chrání před poškozením plic způsobené endotoxinem. Zajímavé je, že účinek tohoto HA po léčbě endotoxinu ve skutečnosti zvýšil zánět plic, což naznačuje, že načasování a cesta podání jsou důležitými determinanty účinnosti VMHA [62].

4.4 Pneumonie

Pneumonie je akutní zánětlivé onemocnění plic, konkrétně plicního intersticia, respiračních bronchiolů a plicních alveolů. Z klinického hlediska je zápal plic charakterizován zastíněním na skiagramu hrudníku typem akutního infiltrátu spolu s typickými příznaky infekce dolních cest dýchacích. Patří sem kašel, zvýšená tělesná teplota nebo horečka, dušnost, tachypnoe a bolesti hrudníku [84].

Na zvířecích modelech pneumonie, s použitím živých *Escherichia coli* a *St. pneumoniae*, vykazovaly myši s deficitem CD44 zvýšenou expresi cytokinů, zvýšenou migraci neutrofilů a tvorbu edému pouze v modelu pneumonie *E. coli*. Byly uvedeny zvýšené hladiny HA a rozpustného CD44 a výšší počet eozinofilů exprimujících CD44 v BAL u pacientů s eozinofilní pneumonií. Zvýšení CD44 je způsobeno lokálním zvýšením produkce IL-5 v plicích [62].

4.5 Idiopatická plicní fibróza

Idiopatická plicní fibróza (IPF) je progresivní onemocnění charakterizované chronickou a progresivní dyspnoe, která má špatnou prognózu. Histopatologicky představuje IPF obvyklý vzor intersticiální pneumonie s ukládáním kolagenu, proteoglykanů a dalších proteinů ECM v plicní tkáni. IPF je způsobena progresí rozsáhlé fibrotické přestavby plicního parenchymu. Řadí se mezi méně běžná plicní onemocnění a její etiologie není přesně známa. Opakované alveolární epiteliální poškození a abnormální proliferace fibroblastů s tvorbou extracelulárního matrixu je základní etiopatogenetický mechanismus IPF [85–87].

HA hraje důležitou roli při fibróze plic. Její hladiny v BAL v populaci testovaných pacientů byla pětkrát vyšší než u jejich zdravých protějšků. Zvýšené množství HA u pacientů

významně korelovalo s pozorovaným zvýšením počtů lymfocytů a neutrofilů v BAL stejně jako závažnost onemocnění. Akumulace HA a fibronektinu však předcházela v rozvoji plicní fibrózy. Je známo, že HA váže a nabírá imunitní buňky a její akumulace před fibrózou naznačuje zvýšený nábor imunitních buněk. Imunitní buňky zase uvolňují řadu zánětlivých mediátorů a růstových faktorů, u nichž je známo, že aktivují fibroblasty vedoucí k fibrolýze [88].

4.6 Chronická obstrukční plicní nemoc

Chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) je závažné chronické onemocnění dolních cest dýchacích. Hlavním rysem tohoto onemocnění je bronchiální obstrukce (omezený průtok vzduchu v průduškách), která vzniká na základě zánětlivé reakce na škodlivé látky a plyny ve vdechovaném vzduchu a je pouze omezeně reverzibilní. V důsledku zánětu a dalších patofyziologických změn jsou u některých skupin pacientů v různé míře přítomny i plicní emfyzém nebo obtížná expektorace hlenu, případně oba tyto faktory zároveň. Emfyzém je způsoben zánikem přepážek mezi plicními sklípky, čímž vznikají pro dýchání nefunkční prostory. CHOPN je nejčastěji důsledkem kouření tabáku, včetně pasivního kouření. Mezi rizikové faktory dále patří prostředí znečištěné zplodinami, chemikáliemi nebo kouřem. Roli v rozvoji CHOPN hrají i genetické predispozice, věk nad 40 let a respirační infekce. Rozvoj a průběh nemoci provází typické hlavní příznaky, jako dušnost, kašel a únava. Mezi komplikace pacienta s CHOPN jsou zahrnovány také mimoplicní systémové komorbidity kardiovaskulárního, metabolického nebo i jiného charakteru, které zvyšují riziko mortality. Patří mezi ně například arteriální hypertenze, zvýšené riziko infarktu myokardu, anginy pectoris, arytmie, anémie z chronických chorob, osteoporózy, fraktur, diabetu II. typu, metabolického syndromu, glaukomu, depresí a úzkostných stavů, poruch spánku a bronchogenního karcinomu. Těžší formy CHOPN mohou být při déletrvajícím onemocnění spojeny se vznikem plicní hypertenze a následně přetížením pravého srdce [89].

V myším modelu kouřem indukovaného plicního emfyzému vedla léčba aerosolizovaným HA ke snížení stupně alveolárního poškození a emfyzému, což je účinek, který přetrvával i v případě, že zahájení léčby bylo zpožděno do 1 měsíce od expozice cigaretovému kouři. Poškození elastických vláken, marker ztráty alveolů, bylo také zmírněno ve skupině HA. Terapeutická možnost inhalace HA jako léčby u chronické CHOPN je v současné době testována v rámci klinických studií [70].

4.7 Neinfekční poranění plic

Neinfekční onemocnění zánětlivého vzdušného prostoru primárně ovlivňují struktury vzdálené od dýchacích průdušek, což vede ke změnám, které mohou být akutní (nejčastěji reverzibilní) nebo chronické (často nevratné). Současné postižení intersticia je běžné. Typy neinfekčního zánětlivého plicního onemocnění převládajícího ve vzdušném prostoru jsou buď idiopatické nebo sekundární vzhledem k onemocněním kolagenních cév. Hypersenzitivní pneumonitida neboli neinfekční zánět, je dobře známým onemocněním, které je primárně způsobeno organickou nebo anorganickou expozicí prachu [90].

Převažujícím zvířecím modelem pro neinfekční poranění plic je intratracheální podávání bleomycinu, které způsobuje akutní poškození plicních epiteliálních buněk a zánětlivou odpověď, která později ustupuje a vyvíjí se do plicní fibrózy. Expres plicního CD44 je zvýšena v počáteční zánětlivé odpovědi spolu s přechodným zvýšením koncentrace HA v plicním intersticiu. Léčba intratracheálním bleomycinem u dvojité TLR2 / TLR4 knockoutové myši způsobuje zvýšenou apoptózu plicních epiteliálních buněk, přehnané poškození plic a zhoršenou migraci zánětlivých buněk. Kromě toho je u tohoto modelu exprese zánětlivých cytokinů v myších peritoneálních makrofágích HA fragmentem zcela blokována a redukována v TLR4 knockout myším modelu. Expres RHAMM je zvýšena u plicních makrofágů při aplikaci bleomycinem. Intraperitoneální injekce anti-RHAMM protilátky zmírňuje bleomycinem indukovaný nábor makrofágů a redukcí zesílení alveolární překážky a časných indikací plicní fibrózy. U lidí je CD44 zvýšen v plicích pacientů s akutním poraněním plic. U plicních mezenchymálních buněk vyizolovaných z těchto pacientů po aplikaci anti-CD44 protilátkou došlo k zmírnění migrace a invaze do fibrinové matrice. [62, 91].

Použitím modelu plicního zánětu indukovaného podáváním NMHA přímo do trachey, bylo zjištěno, že TLR4 působí jako negativní regulátor. Dále bylo zjištěno, že u TLR4 knockoutovaných zvířat je zvýšená infiltrace neutrofilů a červených krvinek v BAL tekutině. Absence TLR4 v podstatě zvyšuje poškození plic způsobené NMHA v důsledku nerovnováhy poměru pro a protizánětlivých mediátorů v plicích [62].

4.8 Tuberkulóza

Tuberkulóza (TB) je léčitelné onemocnění vyvolané bakterií *Mycobacteriu (M.)*, konkrétně *M. tuberculosis* nebo jinou bakterií z komplexu *M. tuberculosis*, například *M. bovis*

nebo *M. africanum*. To se šíří jednou osobou, která vdechuje bakterie v kapičkách vykašlaných někým s infekční tuberkulózou. Ne všechny formy tuberkulózy jsou infekční. Ti, kteří mají TB v jiných orgánech než plicích, nejsou infekční vůči ostatním, ani lidé s latentní tuberkulózou. Obzvláště infekční jsou pacienti u kterých, když lze pozorovat bakterie při jednoduchém mikroskopickém vyšetření sputa, které jsou označovány jako "pozitivní nátěr". Riziko je největší u pacientů s dlouhodobým a blízkým vystavením se osobě s infekční tuberkulózou. Kvůli infekční povaze, komplexní imunologické odpovědi, chronické progresi a potřebě dlouhodobé léčby byla TB vždy významnou zdravotní zátěží. V posledních letech se objevily formy rezistence vůči různým lékům. Současná epidemie TB-HIV, spojená s jejími závažnými sociálními důsledky, léčbou a prevencí TB, představují stálou výzvu v průběhu lidské historie.[92, 93]

CD44 knockout myši byly použity ve dvou podobných studiích infekce TB. Obě studie uvádějí zvýšenou infiltraci neutrofilů a zvýšenou zátěž plicních lézí, protože infekce postupovala rychleji u této skupiny ve srovnání s kontrolou. Jedna studie uvádí pokles infiltrace makrofágů do plic v časných stádiích infekce a zvýšení bakteriální zátěže v plicích a játrech. Také pozorovali zvýšenou mortalitu u myši s knockoutem CD44. Zdá se, že CD44 je nezbytný pro úspěšnou kontrolu infekce TB při nízkých a vysokých dávkách. Uvádí se, že TB bakterie mohou používat HA jako zdroj uhlíku a že mykobakterie mají hyaluronidázovou aktivitu. Dále se zjistilo, že růst mykobakterií může být snížen použitím inhibitoru hyaluronidázy. Lze také spekulovat, že působení mykobakteriální hyaluronidázy může také vést ke zvýšení fragmentů NMHA v plicích infikovaných pacientů, což vede ke změně signalizace HA a patogenезi [62].

5 ZÁVĚR

Kyselina hyaluronová je lineární polysacharid patřící do skupiny glykosaminoglykanů, který byl objeven v roce 1934 Karl Meyerem a John Palmerem. Je to látka, která se fyziologicky vyskytuje všude v lidském těle, hlavně extracelulárně, ale i intracelulárně. Kyselina hyaluronová je pro její fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti jako biokompatibilita, biologická rozložitelnost a neimunogennost jednou z hlavně zkoumaných molekul této doby.

Hyaluronan je nedílnou součástí extracelulárního matrixu, kde se hromadí při poranění tkáně nebo při zánětu. Avšak jeho potenciál účinku je závislý na interakcích s vazebnými proteiny a buňkami. Hyaluronan se váže na řadu proteinů a receptorů, aby si získal své biologické role, které jsou specifické pro různé typy buněk. Tím pádem je schopný modulovat chování buněk, které se účastní různých buněčných aktivit.

Tato kyselina má velký potenciál a širokou rozmanitost v různých oborech. Nejširší uplatnění má v současnosti v kosmetice. V medicíně je vyzdvihována díky jejím fyziologickým funkcím a vlastnostem. Její funkce, mezi které patří funkce mazací, vychytávající volné radikály, regulující buněčnou aktivitu, funkce ochranná a udržování homeostázy a vlastnosti, jako viskozita, hygroskopie a molekulová hmotnost, jsou klíčové v léčbě různých poraněních i onemocněních nejen v plicní tkáni. Cílem mé práce bylo prozkoumat úlohu HA a jejích produktů v plicích.

Podle získaných informací, je možné tvrdit, že kyseliny hyaluronové a její metabolity jsou kritické složky pro rozvoj zánětlivých a fibrotických procesů, které jsou výsledkem akutního poranění plic. Zapojení HA do plicní patologie je poměrně komplexní systém. Avšak na základě shrnutých výsledků studií, ve kterých byla kyselina hyaluronová testovaná jako terapeutická látka, si dovoluji tvrdit, že tyto molekuly představují taktéž nové možnosti pro omezení nepříznivých důsledků poškození plic u lidí.

Cesta k úspěchu spočívá v pochopení úlohy hyaluronanu a jeho vazebných proteinů, které by usnadnila vývoj nových strategií a léčiv u různých onemocnění. Má bakalářská práce shrnuje poznatky o úloze kyseliny hyaluronové v plicích. Bylo zjištěno, že tato molekula a její metabolismus sehrává velmi důležitou roli v různých plicních patologiích, či už v nádorovém, chronickém nebo akutním poškození. Stanovené cíle byly úspěšně splněny. Stále však probíhá mnoho studií, které se zabývají touto kyselinou, kde se objevují její nové vlastnosti, funkce, interakce a způsoby využití. Do budoucna pochopení komplexnosti HA při plicních onemocněních jednoznačně umožní velký terapeutický pokrok.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] LI, Lian, Yan LI, Muhammad IJAZ, Muhammad SHAHBAZ, Qianqian LIAN a Fengshan WANG. Review on complement analysis method and the roles of glycosaminoglycans in the complement system. *Carbohydrate Polymers*. 2015, **134**, 590–597. ISSN 0144-8617.
- [2] GANDHI, Neha S. a Ricardo L. MANCERA. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chemical Biology & Drug Design*. 2008, **72**(6), 455–482. ISSN 1747-0285.
- [3] ZHANG, Fuming, Zhenqing ZHANG a Robert J. LINHARDT. Chapter 3 - Glycosaminoglycans. In: Richard D. CUMMINGS a J. Michael PIERCE, ed. *Handbook of Glycomics*. San Diego: Academic Press, 2010, s. 59–80. ISBN 978-0-12-373600-0.
- [4] KUBASKI, Francyne, Harumi OSAGO, Robert W. MASON, Seiji YAMAGUCHI, Hironori KOBAYASHI, Mikako TSUCHIYA, Tadao ORII a Shunji TOMATSU. Glycosaminoglycans detection methods: Applications of mass spectrometry. *Molecular genetics and metabolism*. 2017, **120**(1–2), 67–77. ISSN 1096-7192.
- [5] POMIN, Vitor H. a Barbara MULLOY. Glycosaminoglycans and Proteoglycans. *Pharmaceuticals*. 2018, **11**(1). ISSN 1424-8247.
- [6] YAMADA, Shuhei, Kazuyuki SUGAHARA a Suat ÖZBEK. Evolution of glycosaminoglycans. *Communicative & Integrative Biology*. 2011, **4**(2), 150–158. ISSN 1942-0889.
- [7] MERIDA-DE-BARROS, Débora Almeida, Suzana Passos CHAVES, Celso Luis Ribeiro BELMIRO a João Luiz Mendes WANDERLEY. Leishmaniasis and glycosaminoglycans: a future therapeutic strategy? *Parasites & Vectors*. 2018, **11**. ISSN 1756-3305.
- [8] LINHARDT, Robert J. a Toshihiko TOIDA. Role of Glycosaminoglycans in Cellular Communication. *Accounts of Chemical Research*. 2004, **37**(7), 431–438. ISSN 0001-4842.
- [9] THEOCHARIS, Achilleas D., Spyros S. SKANDALIS, Chrysostomi GIALELI a Nikos K. KARAMANOS. Extracellular matrix structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016, **97**, 4–27. ISSN 1872-8294.
- [10] PAPAKONSTANTINOOU, Eleni a George KARAKIULAKIS. The ‘sweet’ and ‘bitter’ involvement of glycosaminoglycans in lung diseases: pharmacotherapeutic relevance. *British Journal of Pharmacology*. 2009, **157**(7), 1111–1127. ISSN 0007-1188.
- [11] BOLTEN, Svenja Nicolin, Ursula RINAS a Thomas SCHEPER. Heparin: role in protein purification and substitution with animal-component free material. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018, **102**(20), 8647–8660. ISSN 0175-7598.
- [12] MIKAMI, Tadahisa a Hiroshi KITAGAWA. Biosynthesis and function of chondroitin sulfate. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2013, **1830**(10), 4719–4733. ISSN 0304-4165.

- [13] POMIN, Vitor H. Keratan sulfate: An up-to-date review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015, **72**, 282–289. ISSN 0141-8130.
- [14] NEUMAN, Manuela G., Radu M. NANAU, Loida ORUÑA-SANCHEZ a Gabriel COTO. Hyaluronic Acid and Wound Healing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2015, **18**(1), 53–60. ISSN 1482-1826.
- [15] STEIN, G. S., R. M. ROBERTS, J. L. DAVIS, W. J. HEAD, J. L. STEIN, C. L. THRALL, J. Van VEEN a D. W. WELCH. Are glycoproteins and glycosaminoglycans components of the eukaryotic genome? *Nature*. 1975, **258**(5536), 639. ISSN 1476-4687.
- [16] NECAS, Jiri, L BARTOSIKOVA, P BRAUNER a Jozef KOLÁŘ. Hyaluronic acid (Hyaluronan): A review. *Veterinarni Medicina*. 2008, **53**.
- [17] LÓPEZ-RUIZ, E., G. JIMÉNEZ, L. ÁLVAREZ DE CIENFUEGOS, C. ANTIC, R. SABATA, J. A. MARCHAL a P. GÁLVEZ-MARTÍN. Advances of hyaluronic acid in stem cell therapy and tissue engineering, including current clinical trials. *European Cells & Materials*. 2019, **37**, 186–213. ISSN 1473-2262.
- [18] TIWARI, Sanjay a Pratap BAHADUR. Modified hyaluronic acid based materials for biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019, **121**, 556–571. ISSN 0141-8130.
- [19] MCEWEN, W. K. a Anita A. SURAN. Further Studies on Vitreous Residual Protein. *American Journal of Ophthalmology*. 1960, **50**(2), 228–231. ISSN 0002-9394.
- [20] SIMONI, Robert D., Robert L. HILL, Martha VAUGHAN a Vincent HASCALL. The Discovery of Hyaluronan by Karl Meyer. *Journal of Biological Chemistry*. 2002, **277**(39), e27–e27. ISSN 0021-9258.
- [21] CHOI, Ki Young, Gurusamy SARAVANAKUMAR, Jae Hyung PARK a Kinam PARK. Hyaluronic Acid-Based Nanocarriers for Intracellular Targeting: Interfacial Interactions with Proteins in Cancer. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*. 2012, **99**, 82–94. ISSN 0927-7765.
- [22] COWMAN, Mary K. Hyaluronan and Hyaluronan Fragments. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. 2017, **74**, 1–59. ISSN 2162-5530.
- [23] COWMAN, Mary K., Tannin A. SCHMIDT, Preeti RAGHAVAN a Antonio STECCO. Viscoelastic Properties of Hyaluronan in Physiological Conditions. *F1000Research*. 2015, **4**, 622. ISSN 2046-1402.
- [24] LIAO, Yong-Hong, Stuart A. JONES, Ben FORBES, Gary P. MARTIN a Marc B. BROWN. Hyaluronan: Pharmaceutical Characterization and Drug Delivery. *Drug Delivery*. 2005, **12**(6), 327–342. ISSN 1071-7544.
- [25] DAINTITH, John. *A Dictionary of Chemistry*. B.m.: OUP Oxford, 2008. ISBN 978-0-19-104492-2.
- [26] *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology* [online]. B.m.: Oxford University Press, 2006. ISBN 978-0-19-852917-0.

- [27] VĪNA, Ilmāra, Pāvels SEMJONOVŠ, Raimonds LINDE a Artūrs PATETKO. Glucuronic acid containing fermented functional beverages produced by natural yeasts and bacteria associations. *IJRRAS*, 2013, **14** (1), 17- 25.
- [28] CHEN, Jeen-Kuan, Chia-Rui SHEN a Chao-Lin LIU. N-Acetylglucosamine: Production and Applications. *Marine Drugs*. 2010, **8**(9), 2493–2516. ISSN 1660-3397.
- [29] CHEN, W. Y. a G. ABATANGELO. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 1999, **7**(2), 79–89. ISSN 1067-1927.
- [30] DICKER, Kevin T., Lisa A. GURSKI, Swati PRADHAN-BHATT, Robert L. WITT, Mary C. FARACH-CARSON a Xinqiao JIA. Hyaluronan: A simple polysaccharide with diverse biological functions. *Acta Biomaterialia*. 2014, **10**(4), Biological Materials, 1558–1570. ISSN 1742-7061.
- [31] GARANTZIOTIS, Stavros a Rashmin C. SAVANI. Hyaluronan biology: A complex balancing act of structure, function, location and context. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology*. 2019. ISSN 1569-1802.
- [32] TAMER, Tamer Mahmoud. Hyaluronan and synovial joint: function, distribution and healing. *Interdisciplinary Toxicology*. 2013, **6**(3), 111–125. ISSN 1337-6853.
- [33] TAMMI, Markku I., Anthony J. DAY a Eva A. TURLEY. Hyaluronan and homeostasis: a balancing act. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002, **277**(7), 4581–4584. ISSN 0021-9258.
- [34] VOLPI, Nicola, Juergen SCHILLER, Robert STERN a Ladislav SOLTÉS. Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. *Current Medicinal Chemistry*. 2009, **16**(14), 1718–1745. ISSN 0929-8673.
- [35] JOHN, Hannah E a Richard D PRICE. Perspectives in the selection of hyaluronic acid fillers for facial wrinkles and aging skin. *Patient preference and adherence*. 2009, **3**, 225–230. ISSN 1177-889X.
- [36] SOKOLOWSKA, Milena, Li-Yuan CHEN, Michael EBERLEIN, Asuncion MARTINEZ-ANTON, Yueqin LIU, Sara ALSAATY, Hai-Yan QI, Carolea LOGUN, Maureen HORTON a James H. SHELHAMER. Low Molecular Weight Hyaluronan Activates Cytosolic Phospholipase A2 α and Eicosanoid Production in Monocytes and Macrophages. *The Journal of Biological Chemistry*. 2014, **289**(7), 4470–4488. ISSN 0021-9258.
- [37] FALLACARA, Arianna, Erika BALDINI, Stefano MANFREDINI a Silvia VERTUANI. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers*. 2018, **10**(7), 701.
- [38] PAPAKONSTANTINOY, Eleni, Michael ROTH a George KARAKIULAKIS. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermato-endocrinology*. 2012, **4**(3), 253–258. ISSN 1938-1972.
- [39] KOGAN, Grigorij, Ladislav SOLTÉS, Robert STERN a Peter GEMEINER. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology Letters*. 2007, **29**(1), 17–25. ISSN 1573-6776.

- [40] BOLLYKY, Paul L., Stephen P. EVANKO, Rebecca P. WU, Susan POTTER-PERIGO, S. Alice LONG, Brian KINSELLA, Helena REIJONEN, Kelly GUEBTNER, Brandon TENG, Christina K. CHAN, Kathy R. BRAUN, John A. GEBE, Gerald T. NEPOM a Thomas N. WIGHT. Th1 cytokines promote T-cell binding to antigen-presenting cells via enhanced hyaluronan production and accumulation at the immune synapse. *Cellular & Molecular Immunology*. 2010, **7**(3), 211–220. ISSN 2042-0226.
- [41] GEORGE, Joseph a Robert STERN. Serum hyaluronan and hyaluronidase: very early markers of toxic liver injury. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 2004, **348**(1–2), 189–197. ISSN 0009-8981.
- [42] TOOLE, B. P. Hyaluronan and its binding proteins, the hyaladherins. *Current Opinion in Cell Biology*. 1990, **2**(5), 839–844. ISSN 0955-0674.
- [43] HASCALL, Vincent C. a Dick HEINEGÅRD. Aggregation of Cartilage Proteoglycans I. The role of hyaluronic acid. *Journal of Biological Chemistry*. 1974, **249**(13), 4232–4241. ISSN 0021-9258.
- [44] JUHLIN, L. Hyaluronan in skin. *Journal of Internal Medicine*. 1997, **242**(1), 61–66. ISSN 0954-6820.
- [45] EVANKO, S. P. a T. N. WIGHT. Intracellular localization of hyaluronan in proliferating cells. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*. 1999, **47**(10), 1331–1342. ISSN 0022-1554.
- [46] HASCALL, Vincent C., Alana K. MAJORS, Carol A. DE LA MOTTE, Stephen P. EVANKO, Aimin WANG, Judith A. DRAZBA, Scott A. STRONG a Thomas N. WIGHT. Intracellular hyaluronan: a new frontier for inflammation? *Biochimica Et Biophysica Acta*. 2004, **1673**(1–2), 3–12. ISSN 0006-3002.
- [47] BODEVIN-AUTHELET, Sabrina, Marion KUSCHE-GULLBERG, Philip E. PUMMILL, Paul L. DEANGELIS a Ulf LINDAHL. Biosynthesis of Hyaluronan DIRECTION OF CHAIN ELONGATION. *Journal of Biological Chemistry*. 2005, **280**(10), 8813–8818. ISSN 0021-9258.
- [48] CYPHERT, Jaime M., Carol S. TREMPUS a Stavros GARANTZIOTIS. Size Matters: Molecular Weight Specificity of Hyaluronan Effects in Cell Biology. *International Journal of Cell Biology*. 2015, **2015**, 563818. ISSN 1687-8876.
- [49] SIISKONEN, Hanna, Sanna OIKARI, Sanna PASONEN-SEPPÄNEN a Kirsi RILLA. Hyaluronan Synthase 1: A Mysterious Enzyme with Unexpected Functions. *Frontiers in Immunology*. 2015, **6**. ISSN 1664-3224.
- [50] JIANG, Dianhua, Jiurong LIANG a Paul W. NOBLE. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiological Reviews*. 2011, **91**(1), 221–264. ISSN 1522-1210.
- [51] ROSTAMI, Sahar a Hadi PARSIAN. Hyaluronic Acid: From Biochemical Characteristics to its Clinical Translation in Assessment of Liver Fibrosis. *Hepatitis Monthly*. 2013, **13**(12). ISSN 1735-143X.

- [52] DEANGELIS, Paul L. Hyaluronan synthases: mechanistic studies and biotechnological applications. In: *Hyaluronan*. B.m.: Woodhead Publishing, 2002, s. 227–236. ISBN 978-1-85573-570-5.
- [53] STERN, Robert. Devising a pathway for hyaluronan catabolism: are we there yet? *Glycobiology*. 2003, **13**(12), 105R-115R. ISSN 0959-6658.
- [54] YANG, B, B L YANG, R C SAVANI a E A TURLEY. Identification of a common hyaluronan binding motif in the hyaluronan binding proteins RHAMM, CD44 and link protein. *The EMBO Journal*. 1994, **13**(2), 286–296. ISSN 0261-4189.
- [55] TURLEY, Eva A. Hyaluronan-binding proteins and receptors. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1991, **7**(2), Hyaluronic Acid in Controlled Drug Delivery, 257–264. ISSN 0169-409X.
- [56] MORT, John S., Yeqing GENG, William D. FISHER a Peter J. ROUGHLEY. Aggrecan heterogeneity in articular cartilage from patients with osteoarthritis. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2016, **17**. ISSN 1471-2474.
- [57] WIGHT, Thomas N., Michael G. KINSELLA, Stephen P. EVANKO, Susan POTTER-PERIGO a Mervyn J. MERRILEES. Versican and the Regulation of Cell Phenotype in Disease. *Biochimica et biophysica acta*. 2014, **1840**(8), 2441–2451. ISSN 0006-3002.
- [58] DELPECH, Annie a Bertrand DELPECH. Expression of hyaluronic acid-binding glycoprotein, hyaluronectin, in the developing rat embryo. *Developmental*. 1984, **101**(2), 391–400. ISSN 0012-1606.
- [59] VIGETTI, Davide, Eugenia KAROUSOU, Manuela VIOLA, Sara DELEONIBUS, Giancarlo DE LUCA a Alberto PASSI. Hyaluronan: Biosynthesis and signaling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2014, **1840**, 2452–2459. ISSN 0304-4165
- [60] GHOSH, Sumit, Scott A. HOSELTON, Glenn P. DORSAM a Jane M. SCHUH. Hyaluronan fragments as mediators of inflammation in allergic pulmonary disease. *Immunobiology*. 2015, **220**(5), 575–588. ISSN 0171-2985.
- [61] NIKITOVIC, Dragana, Maria TZARDI, Aikaterini BERDIAKI, Aristidis TSATSAKIS a George N. TZANAKAKIS. Cancer Microenvironment and Inflammation: Role of Hyaluronan. *Frontiers in Immunology*. 2015, **6**. ISSN 1664-3224.
- [62] LENNON, Frances E. a Patrick A. SINGLETON. Role of hyaluronan and hyaluronan-binding proteins in lung pathobiology. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2011, **301**(2), L137-147. ISSN 1522-1504.
- [63] MAMBETSARIEV, Nurbek, Tamara MIRZAPOIAZOVA, Bolot MAMBETSARIEV, Saad SAMMANI, Frances E. LENNON, Joe G. N. GARCIA a Patrick A. SINGLETON. Hyaluronic Acid binding protein 2 is a novel regulator of vascular integrity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2010, **30**(3), 483–490. ISSN 1524-4636.
- [64] GAO, Dong a Wang LI. Structures and recognition modes of toll-like receptors. *Proteins*. 2017, **85**(1), 3–9. ISSN 1097-0134.

- [65] KAISHO, Tsuneyasu a Shizuo AKIRA. 16 - Principles of innate immunity. ed. *Rheumatology (Sixth Edition)*. 201, s. 127–133. ISBN 978-0-323-09138-1.
- [66] MCKLEROY, William a Kenneth LYN-KEW. 500 Million Alveoli from 30,000 Feet: A Brief Primer on Lung Anatomy. *Lung Innate Immunity and Inflammation: Methods and Protocols*. 2018, Methods in Molecular Biology, s. 3–15. ISBN 978-1-4939-8570-8.
- [67] KRADIN, Richard L. Chapter 2 - Anatomy of the Lung. In: Richard L. KRADIN, ed. *Understanding Pulmonary Pathology*. Boston: Academic Press, 2017, s. 5–19. ISBN 978-0-12-801304-5.
- [68] LIEROVA, Anna, Marcela JELICOVA, Marketa NEMCOVA, Magdalena PROKSOVA, Jaroslav PEJCHAL, Lenka ZARYBNICKA a Zuzana SINKOROVA. Cytokines and radiation-induced pulmonary injuries. *Journal of Radiation Research*. 2018, **59**(6), 709–753. ISSN 0449-3060.
- [69] SINGLETON, Patrick A. a Frances E. LENNON. Acute Lung Injury Regulation by Hyaluronan. *Journal of allergy & therapy*. 2011, **Suppl 4**. ISSN 2155-6121.
- [70] GARANTZIOTIS, Stavros, Martin BREZINA, Paolo CASTELNUOVO a Lorenzo DRAGO. The role of hyaluronan in the pathobiology and treatment of respiratory disease. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2016, **310**(9), L785–L795. ISSN 1040-0605.
- [71] LAUER, Mark E., Raed A. DWEIK, Stavros GARANTZIOTIS, Mark A. ARONICA., The Rise and Fall of Hyaluronan in Respiratory Diseases, The Rise and Fall of Hyaluronan in Respiratory Diseases. *International Journal of Cell Biology, International Journal of Cell Biology*. 2015, e712507. ISSN 1687-8876.
- [72] JOHNSON, Pauline, Arif A. ARIF, Sally S. M. LEE-SAYER a Yifei DONG. Hyaluronan and Its Interactions With Immune Cells in the Healthy and Inflamed Lung. *Frontiers in Immunology*. 2018, **9**, 2787. ISSN 1664-3224.
- [73] LAFFERTY, Erin I, Salman T QURESHI a Markus SCHNARE. The role of toll-like receptors in acute and chronic lung inflammation. *Journal of Inflammation (London, England)*. 2010, **7**, 57. ISSN 1476-9255.
- [74] MIRZAPOIAZOVA, Tamara, Nurbek MAMBETSARIEV, Frances E. LENNON, Bolot MAMBETSARIEV, Joshua E. BERLIND, Ravi SALGIA a Patrick A. SINGLETON. HABP2 is a Novel Regulator of Hyaluronan-Mediated Human Lung Cancer Progression. *Frontiers in Oncology*. 2015, **5**. ISSN 2234-943X.
- [75] CUI, Zheng, Jie LIAO, Naeun CHEONG, Christopher LONGORIA, Gaoyuan CAO, Horace M. DELISSER a Rashmin C. SAVANI. The Receptor for Hyaluronan-Mediated Motility (CD168) promotes inflammation and fibrosis after acute lung injury. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology*. 2019, **78–79**, 255–271. ISSN 1569-1802.
- [76] CANTOR, Jerome O. Potential therapeutic applications of hyaluronan in the lung. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. 2007, **2**(3), 283–288. ISSN 1176-9106.

- [77] BRICHKINA, Anna, Thomas BERTERO, Hui Mun LOH, Nguyet Thi Minh NGUYEN, Alexander EMELYANOV, Sidwell RIGADE, Marius ILIE, Paul HOFMAN, Cedric GAGGIOLI a Dmitry V. BULAVIN. p38MAPK builds a hyaluronan cancer niche to drive lung tumorigenesis. *Genes & Development*. 2016, **30**(23), 2623–2636. ISSN 0890-9369.
- [78] IOANNOU, Savvas a Michael VOULGARELIS. Toll-Like Receptors, Tissue Injury, and Tumorigenesis. *Mediators of Inflammation* [online]. 2010 [vid. 2019-06-27]. Dostupné z: doi:10.1155/2010/581837
- [79] OHASHI, Rina, Fumiyuki TAKAHASHI, Ri CUI, Masakata YOSHIOKA, Tao GU, Shinichi SASAKI, Shigeru TOMINAGA, Kazuto NISHIO, Kenneth K. TANABE a Kazuhisa TAKAHASHI. Interaction between CD44 and hyaluronate induces chemoresistance in non-small cell lung cancer cell. *Cancer Letters*. 2007, **252**(2), 225–234. ISSN 0304-3835.
- [80] WANG, Kan-kan, Ni LIU, Nikolina RADULOVICH, Dennis A. WIGLE, Michael R. JOHNSTON, Frances A. SHEPHERD, Mark D. MINDEN a Ming-Sound TSAO. Novel candidate tumor marker genes for lung adenocarcinoma. *Oncogene* [online]. 2002, **21**(49), 7598. ISSN 1476-5594. Dostupné z: doi:10.1038/sj.onc.1205953
- [81] REDDEL, Helen K., Eric D. BATEMAN, Allan BECKER, Louis-Philippe BOULET, Alvaro A. CRUZ, Jeffrey M. DRAZEN, Tari HAAHTELA, Suzanne S. HURD, Hiro-masa INOUE, Johan C. DE JONGSTE, Robert F. LEMANSKE, Mark L. LEVY, Paul M. O'BYRNE, Pierluigi PAGGIARO, Soren E. PEDERSEN, Emilio PIZZICHINI, Manuel SOTO-QUIROZ, Stanley J. SZEFLER, Gary W.K. WONG a J. Mark FITZGERALD. A summary of the new GINA strategy: a roadmap to asthma control. *The European Respiratory Journal*. 2015, **46**(3), 622–639. ISSN 0903-1936.
- [82] ROTHENBERG, Marc E. CD44 — a sticky target for asthma. *Journal of Clinical Investigation*. 2003, **111**(10), 1460–1462. ISSN 0021-9738.
- [83] TRENT, M. Stephen, Christopher M. STEAD, An X. TRAN a Jessica V. HANKINS. Diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. *Journal of Endotoxin Research*. 2006, **12**(4), 205–223. ISSN 0968-0519.
- [84] FIBIGR, Ondřej a Norbert PAUK. Pneumonie v praxi všeobecného lékaře a její léčba. *Medicína pro praxi*. 2017, **14**(3), 123–126. ISSN 12148687.
- [85] INOKOSHI, Yayoi, Yoshinori TANINO, Xintao WANG, Suguru SATO, Naoko FUKUHARA, Takefumi NIKAIDO, Atsuro FUKUHARA, Junpei SAITO, Charles W. FREVERT a Mitsuru MUNAKATA. Clinical significance of serum hyaluronan in chronic fibrotic interstitial pneumonia. *Respirology (Carlton, Vic.)*. 2013, **18**(8), 1236–1243. ISSN 1440-1843.
- [86] DOUBKOVÁ, Martina. Idiopatická plicní fibróza – časná diagnostika má stále význam. *Interní medicína pro praxi*. 2017, **19**(2), 45–48. ISSN 12127299.
- [87] DOUBKOVÁ, Martina. Idiopatická plicní fibróza - aneb co nového v idiopatických intersticiálních pneumoniích. *Interní medicína pro praxi*. 2016, **18**(2), 61–65. ISSN 12127299.

- [88] ALBEIROTI, Sami, Artin SOROOSH a Carol A. DE LA MOTTE. Hyaluronan's Role in Fibrosis: A Pathogenic Factor or a Passive Player? *BioMed Research International*. 2015.
- [89] KOTOLOVÁ, Hana a Tomáš HAMMER. Chronická obstrukční plicní nemoc. *Praktické lékařství*. 2018, **14**(4), 156–160. ISSN 18012434.
- [90] NEMEC, Stefan Franz, Ronald L. EISENBERG a Alexander A. BANKIER. Noninfectious Inflammatory Lung Disease: Imaging Considerations and Clues to Differential Diagnosis. *American Journal of Roentgenology*. 2013, **201**(2), 278–294. ISSN 0361-803X.
- [91] JIANG, Dianhua, Jiurong LIANG, Juan FAN, Shuang YU, Suping CHEN, Yi LUO, Glenn D. PRESTWICH, Marcella M. MASCARENHAS, Hari G. GARG, Deborah A. QUINN, Robert J. HOMER, Daniel R. GOLDSTEIN, Richard BUCALA, Patty J. LEE, Ruslan MEDZHITOV a Paul W. NOBLE. Regulation of lung injury and repair by Toll-like receptors and hyaluronan. *Nature Medicine* [online]. 2005, **11**(11), 1173–1179. ISSN 1078-8956. Dostupné z: doi:10.1038/nm1315
- [92] TEAM (UK), Internal Clinical Guidelines. *Diagnosis*. B.m.: National Institute for Health and Care Excellence (UK), 2016.
- [93] BARBERIS, I., N.L. BRAGAZZI, L. GALLUZZO a M. MARTINI. The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2017, **58**(1), E9–E12. ISSN 1121-2233.
- [94] IJIMA, Junko, Kenjiro KONNO a Naoki ITANO. Inflammatory alterations of the extracellular matrix in the tumor microenvironment. *Cancers* [online]. 2011, **3**(3), 3189–3205. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers3033189