

Slovenský LEKÁR

odborný recenzovaný časopis
ročník 24 (38), číslo 1 - 2, 2014

strana 1 - 36

cena: 1,80 EUR

SLOVENSKÝ LEKÁR

ISSN 1335-0234

OBSAH ČÍSLA

EDITORIAL

Liečba vysokého krvného tlaku podľa postupov založených na dôkazoch 1
Findo, P.

PÔVODNÉ PRÁCE

Imunohistochemická expresia antigénu CD10 v tkanive bazocelulárneho karcinómu kože 4
Bartoš, V., Kullová, M.
Peritonzilárny absces - mikrobiologický nález a liečba 10
Uhlíárová, B., Švec, M.

ZOBRAZOVACIE METÓDY

CT perfúzia pľúc 16
Daxner, M.

Remisia C3 glomerulopatie pri samostatnej imunosupresívnej liečbe rituximabom 9
Findo, P.

Randomizovaná dvojito maskovaná štúdia účinku pulznej liečby dexametazónom a metylprednizolónom na kontrolu vzplanutia reumatoidnej artritídy: predbežná štúdia 15
Findo, P.

LEGISLATÍVA V MEDICÍNE

Zásada anonymity darcu v reprodukčnej medicíne a sprístupňovanie údajov o darcoch 21
Zoláková, Z., Humeník, I.

RÔZNE

Analýza proteómu ľudských choriónových mezenchýmových kmeňových buniek 26
Chmelová, M., Géci, I., Talian, I., Bober, P., Kováčová, V., Urdzik, P., Rosocha, J., Sabo, J.
Jedinečná osobnosť slovenskej parazitológie 31
Pefko, B., Čatár, G., Dubinský, P.
Pokyny pre autorov 33
Redakcia Slovenského lekára

Nadmerná a nedostatočná liečba antikoagulanciami pri kardioverzii pre fibriláciu predsieni (RHYTM-AF Study) 32
Findo, P.

Gastrointestinálne príhody u pacientov na začiatku liečby reumatických chorôb nesteroidnými protizápalovými liekmi (NSAID): výsledky štúdie európskej praxe 36
Findo, P.



Analýza proteómu ľudských choriónových mezenchýmových kmeňových buniek

Chmelová, M.¹, Géczi, I.¹, Tallian, I.¹, Baber, P.¹, Kováčová, V.¹, Urdzik, P.¹, Rosocha, J.², Saba, J.³

¹ Ústav lekárskej a klinickej biofyziky Lekárskej fakulty Univerzity P. J. Šafárika v Košiciach, Slovensko

² Gynekologicko-pôrodná klinika Lekárskej fakulty Univerzity P. J. Šafárika a Univerzitnej nemocnice L. Pasteura v Košiciach, Slovensko

³ Zdravotná štantová banka Univerzity P. J. Šafárika a Univerzitnej nemocnice L. Pasteura v Košiciach, Slovensko

Súhrn

Úvod

Ľudská placenta má významnú úlohu vo vývoji a výžive plodu a zároveň je zaujímavá ako zdroj buniek pre regeneratívnu medicínu.

Cieľ

Cieľom tejto štúdie bolo získanie proteomickeho profilu mezenchýmových kmeňových buniek izolovaných z choriónového obalu (chMKB).

Materiál a metódy

Z troch darcovských plodových obalov sme získali kmeňové bunky, ktoré boli zdrojom skumaných proteínov. Proteíny sme separovali pomocou dvojdimenzionálnej vysokotlačnej kvapalinovej chromatografie (2D nanoHPLC) a následne sme ich analyzovali elektrosprejovým hmotnostným spektrometrom (ESI MS) technológiou ionovej pasce.

Výsledky

Výsledkom analýzy bolo identifikovanie 350 jedinečných proteínov ako súčasť proteomickeho profilu chMKB. Identifikovali sme 5 markerov MKB a množstvo proteínov, ktoré majú významnú úlohu v procesoch sebaobnovy a diferenciácie MKB.

Záver

V našej proteomickej štúdií sme sa zamerali na doposiaľ málo preskúmanú choriónovú membránu, ktorá je zdrojom mladých mezenchýmových kmeňových buniek. Poznanie proteómu chMKB prispieje k pochopeniu procesov proliferácie a diferenciácie a k rozvoju nových terapeutických metód.

Ľúčové slová: kmeňové bunky, placenta, choriónová membrána, proteóm, ionová pasca

Proteome analysis of human chorionic mesenchymal stem cells

Chmelová, M., Géczi, I., Tallian, I., Baber, P., Kováčová, V., Urdzik, P., Rosocha, J., Saba, J.

Summary

Background

The human placenta plays an important role in the development and nutrition of the fetus and draws attention as a source of cells for regenerative medicine.

Objective

The aim of this study was to obtain the proteomic profile of mesenchymal stem cells isolated from the chorionic membrane (chMSC).

Material and methods

Stem cells which were isolated from three donor fetal membranes were a source of studied proteins. The proteins were separated by the two dimensional high performance liquid chromatography (2D nanoHPLC) and subsequently analysed by the electrospray mass spectrometry (ESI MS) ion trap technology.

Results

The analysis resulted in the identification of 350 unique proteins as part of the chMSC proteomic profile. Five MSC markers and multiple proteins were identified to play an important role in the processes of self-renewal and MSC differentiation.

Conclusion

In our proteomic study, the focus was on the little-studied chorionic membrane which is a source of young mesenchymal stem cells. The knowledge of the chMSC proteome will contribute to the understanding of proliferation and differentiation processes and will help develop new therapeutic methods.

Key words: stem cells, placenta, chorionic membrane, proteome, ion trap

Úvod

Dospelé kmeňové bunky sa považujú za jedinečný zdroj na výskum, pretože sú dostupné a nie sú s nimi spojené etické problémy. Kmeňové bunky môžu byť izolované z rôznych zdrojov vrátane tukového tkaniva (1), kože (2), kostnej drene (3), pupočníka (4), amniotickej tekutiny (5) a ostatných častí placenty.

Mezenchýmové kmeňové bunky sú typom ľudských kmeňových buniek, ktoré boli začlenené do klinického výskumu vďaka ich ľahkej kultivácii *ex vivo* a diferenciácii na mnoho liníí za vhodných podmienok (6). Sú to fibroblastické, adherentné bunky exprimujúce charakteristickú sadu povrchových bunkových proteínov (7, 8).

Choriónová membrána spolu s amniónovou membránou sú zložkou extra-embryonálneho tkaniva ohraničujúceho plod a plodovú vodu. Choriónová membrána je prichytená k amniónu vrstvou kolagénových vlákien (9). Kmeňové bunky izolované z choriónovej membrány majú vlastnosti mezenchýmu (10) a profil ich povrchových markerov je podobný profilu mezenchýmových kmeňových buniek z kostnej drene. Zároveň sa vyznačujú dvomi základnými vlastnosťami kmeňových buniek - schopnosťou sebaobnovy a schopnosťou diferenciácie na rôzne bunkové línie.

Diferenciačný potenciál MKB z choriónovej membrány je pri porovnaní s MKB z iných zdrojov signifikantne vyšší. MKB z choriónu majú osteogénnu, chondrogénnu a adipogénnu schopnosť diferenciácie (11 - 14). Choriónové MKB majú neurogénnu diferenciáciu ako aj schopnosť diferencovať sa na endotelové a svalové bunky, hepatocyty a kardiomyocyty (15 - 17).

Za niekoľko posledných rokov sa pomocou genetických štúdií podarilo charakterizovať rôzne populácie ľudských MKB. Veľká časť štúdií sa zameriavala na diferenciáciu MKB *in vitro* (18) alebo na stanovenie expície celkovej mRNA v MKB (19). Bunky a ich vlastnosti sú výsledkom (a) transkripcie špecifickej sady génov, (b) regulačných procesov (vrátane alternatívneho zostrihu génov a mRNA), (c) translokácie proteínov a (d) posttranslačných modifikácií. Proteóm je kompletná sada proteínov v danom organizme alebo systéme v danom čase; sú to proteínové produkty génomu. Proteo-

mika sa vyznačuje systematickým skúmaním a využívaním širokého spektra štúdií zameraných na kvalitatívne a kvantitatívne mapovanie celého proteómu a je tiež užitočným doplnkom pri analýze génovej expície na úrovni RNA (20). Hmotnostná spektrometria je analytická technika, ktorá poskytuje kvalitatívne (zloženie) a kvantitatívne (koncentrácia) informácie o analyzovaných molekulách po ich premeňaní na ióny. Počas poslednej dekády sa elektrostatická ionizačná hmotnostná spektrometria (ESI-MS) ukázala ako dôležitá analytická metóda a stala sa citlivým, silným a dostupným nástrojom na štúdium femtomolových množstiev neprechavých a tepelne nestálych vzoriek, ktoré sa nedajú analyzovať inými bežne dostupnými technikami. V spojení s vysokouúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC), resp. s nanoHPLC, sa ESI-MS stala veľmi výkonnou technikou schopnou v súbore biologických vzoriek (21) analyzovať malé aj veľké molekuly s rôznou polaritou.

V tejto štúdií sme sa zamerali na charakteristiku mezenchýmových kmeňových buniek z choriónovej membrány na proteomickej úrovni. Choriónové MKB majú veľký terapeutický potenciál. Pre lepšie pochopenie vlastností týchto buniek je nevyhnutné uskutočniť ešte veľa genetických a proteomických štúdií, ktoré odhalia fungovanie základných bunkových mechanizmov. Hlavným cieľom tejto práce bolo identifikovať proteóm mezenchýmových kmeňových buniek izolovaných z choriónovej membrány pomocou elektrostatickej hmotnostnej spektrometrie technológiou iónovej pasce.

Materiál a metódy

Izolácia a kultivácia chMKB

Ľudské placenty (n = 3) sme získali z Gynékológicko-pôrodníckej kliniky UPJŠ a UNLP Košice od zdravých žien na konci gravidity (38. - 40. týždeň), ktoré podstúpili cisársky rez. Plodové obaly, amnión a chorión, boli oddelené manuálne a následne boli premývané v sterilnom fosfátovom pufrí (PBS, pH = 7.4). Choriónovú membránu sme nastreli na kúsky veľkosti 2 x 2 cm a inkubovali v dispáze a kolagenáze. Získané bunky sme prefiltrovali cez tkanivové sitko s otvormi veľkosti 100 µm a kultivovali v kultivačných fľašiach s plochou 75 cm². Bunky sme inkubovali pri 37 °C

v atmosfére 5 % CO₂. Kultivačné médium pozostávajúce z alfa MEM (Minimum Essential Medium Eagle, Alpha Modification), 10 % fetalného bovinného séra a jednocentrálneho roztoku penicilínu, streptomycínu a gentamicínu sa dvakrát týždenne menilo za čerstvé. Bunky sme kultivovali do štvrtej pasáže.

Izolácia proteínov

Po ukončení kultivácie sme bunky promyli v sterilnom PBS a pelet sme vysušili. K peletu buniek sme pridal 0,9 % roztok NaCl a za pomoci sonifikátora sme bunky rozduhali. Bunky sa počas celej doby izolácie proteínov uchovávali na ľade a suspenziu rozduhatých buniek sme centrifugovali pri 5 000 g, 4 °C po dobu 10 minút. Získaný supernatant obsahoval celú bunkovú lyzát proteínov. Koncentráciu proteínov v supernatante sme stanovili Bradfordovou metódou pri vlnovej dĺžke 595 nm. Proteíny sme precipitovali acetonom a pelet proteínov sme vysušili.

Digestia v roztoku

Vysušený pelet precipitovaných proteínov sme rozpustili v 8 M močovine. Ku vzorkam sa pridal 0,1 M DTT (ditiotretolil) a vzorky sme 30 minút inkubovali pri 37 °C. Po inkubácii sme ku vzorkam pridal 0,5 M IAA (jódacetamid) a nasledovala 30-minútová inkubácia v tme pri 37 °C. Po inkubácii sme ku vzorke proteínov pridal 5-násobné množstvo absolútneho acetonu a vzorku sme 1 hodinu inkubovali pri 30 °C. Na sledovahu 50-minútovo centrifugujeme vzorku pri 4 000 g. Získaný pelet sme rozpustili v 8 M močovine tak, aby sme dosiahli koncentráciu 1 mg/ml. Po zriedení 0,002 M CaCl₂ sme roztok 6 hodín inkubovali s trypsinom pri 37 °C. Po inkubácii sme ku vzorke pridal 20 % roztok TFA (kyselina trifluóroctová), a po následnom centrifugovaní pri 13 000 g počas 5 minút sme získali supernatant, ktorý sme zriedili 0,1 % kyselinou mravčou tak, aby sa dosiahla koncentrácia 100 ng/μl.

Separácia peptidov a hmotnostná spektrometria

Peptidy sme separovali pomocou 2D nanoHPLC (kolóna SCX a ionoménom v prvej dimenzii a kolóna U18 s reverznou fázou v druhej dimenzii). Kolóna SCX mala 300 μm x 10 cm, 10 μm, 500 = 10 000 Å, kolóna C18 bola 75 μm, 150 mm, kolóna nanotrap 75 μm, 20 mm. Separácia peptidov na reverznej fáze sa vykonala v 110 min gradiente zo 4 % A ku 55 % B (roztok A = 98 % voda, 2 % ACN (acetonitril), 0,1 % kyselina mravčia, roztok B = 95 % ACN, 5 % voda, 0,1 % kyselina mravčia) s prútokom 300 nl/min. Ionová pasca bola vyhosená online nami source captive sprincom. Data sme získali v móde AutoMS/MS s nastavením na 4 prekurzory MS/MS na 1 sken. Vyhľadávanie sa uskutočnilo v databáze SwissProt pomocou ProteinScape pre Homo

sapiens. Parametre pre Mascot 2.4 boli: tolerancia peaker zora 0,5 Da, jeden izotop 13C, tolerancia MS/MS 0,8 Da, oxidácia metionínu a karbamidometylácia cysteínu, nastavenie FDR (false discovery rate) bolo < 1.

Výsledky a diskusia

Cieľom tejto štúdie bolo analyzovať proteóm mezenchýmnych kmeňových buniek izolovaných z chorizmovej membrány pomocou techniky ESI-MS v spojení s nanoHPLC. Táto sa táto technika stala veľmi výhodnou s dôvodu extrémne nízkej spotreby vzorky a vysokej citlivosti.

Celobunkový extrakt proteínov získaný z chMKB bol pri digestii v roztoku rozduhatý trypsinom na jednotlivé peptidy, ktoré sme následne separovali na nanoHPLC a identifikovali na hmotnostnom spektrometri ESI.

Postarilo sa nám identifikovať 350 proteínov, medzi ktorými bolo aj 5 špecifických, označovaných tiež ako markery mezenchýmnych kmeňových buniek. Zoznam týchto proteínov je uvedený v Tabuľke 1. Molekuly CD sú membránové molekuly, spravidla integriny. Integriny sú heterodiméry tvorené podjednotkami alfa a beta. Sú to membránové receptory zapojené do bunkovej adhézie a rôznych procesov vrátane embryogenézy, hemostázy, imunitnej odpovede a reparácie tkanív.

Tabuľka 1

Zoznam identifikovaných markerov kmeňových buniek

Marker	Názov proteínu	pI	Mo (kDa)
CD29	Integrin beta 1	6,1	66,4
CD49a	Integrin alfa 1	6,9	130,8
CD63	Integrin alfa V	6,3	116,0
CD90	Thy 1 membránový glykoproteín	9,8	17,9
CD107a	Membránový glykoproteín asociovaný s cytolizomom	9,9	44,8

Viacerymi štúdiami sa potvrdilo, že CD29 (Integrin beta 1) a CD63 (Integrin alfa V) sú markery MKB izolovaných z ľudskej placenty (4, 22). Integrin alfa 1 (CD49a, VLA 1) je receptor pre laminin a kolagen a podieľa sa na negatívnej regulácii EGF (epidermálny rastový faktor), teda na súdržnosti rastu buniek (23).

Foster a kol. (24) vo svojej štúdiu zameranej na membránové proteíny a kvantitatívnu proteomiku ľudských MKB identifikovali 363 proteínov, z ktorých 66 % predstavovali integrinne membránové proteíny, ku ktorým boli zahrnuté aj všetky známe markery MKB. Konkrétne tam patria ALP (alkalická fosfatáza), CD73 (5'-nukleotidáza), CD90 (Thy-1 glykoproteín), CD10 (nepcdlyzin), CD13 (myeloidný glykoproteín plazmatickej membrány), CD29 (Integrin beta 1), CD44 (fagocytový glykoproteín I), CD105 (endoglin), CD166 (ak

tivovaná leukocytová molekula bunkovej adhézie), HOP26 (CD63), CD49d (integrín alfa 4), CD49e (integrín alfa 5), fibronektín, kolagén typu VI a EGF receptor (receptor epidermálneho rastového faktoru) (25). Ďalšími objavenými CD antigénmi boli CD47, CD51, CD59, CD71, CD 91, CD98, CD99, CD107a, CD107b a CD108. Podarilo sa im tiež detegovať niekoľko členov proteínovej rodiny integrínov: integrín alfa 11, integrín beta-5, integrín alfa-2 (CD49b), integrín alfa-6 (CD49f), integrín alfa-V (CD51) a integrín alfa-3 (CD49c). Membránové proteíny, predovšetkým tie z plazmalémy sú dôležité pri definovaní jedinečných vlastností kmeňových buniek (24).

V *Tabuľke 2* sú uvedené nami identifikované proteíny MKB, ktorých expresia je špecificky alebo vo vyššej miere viazaná na placentárne a fetálne tkanivá, vrátane choriónu, resp. tieto proteíny majú kľúčovú úlohu v procesoch proliferácie, diferenciácie a ostatných biologických procesoch.

Tabuľka 2

Zoznam proteínov identifikovaných v chMKB pomocou ESI-MS, dôležitých v bunkových procesoch ako proliferácia, diferenciácia a iné

Skratka	Názov proteínov v angličtine a v slovenčine	pI	Mw (kDa)
ANXA	Annexin family/Rodina annexinov		
CO6A1	Collagen alpha-1 (VI)/Kolagén alfa-1 (VI)	5,1	108,5
CO6A2	Collagen alpha-2 (VI)/Kolagén alfa-2 (VI)	5,8	108,5
CO6A3	Collagen alpha-3 (VI)/Kolagén alfa-3 (VI)	6,3	343,5
COCA1	Collagen alpha-1 (XII)/Kolagén alfa-1 (XII)	5,3	332,9
FINC	Fibronectin/Fibronektín	5,4	262,5
LEG1	Galectin-1/Galektín-1	5,2	14,7
LAMC1	Laminin subunit gamma-1 Podjednotka lamininu gama-1	4,9	177,5
LAMB1	Laminin subunit beta-1 Podjednotka lamininu beta-1	4,7	197,9
TIMP1	Metalloproteinase inhibitor 1 Inhibitor metaloproteinázy 1	9,8	23,2
NEST	Nestin/Nestín	4,2	177,3
GANAB	Neutral alpha glucosidase AB Neutrálna alfa glukozidáza AB	5,7	106,8
PRDX	Peroxiredoxin family Rodina peroxiredoxinov		
KPYM	Pyruvate kinase isozymes M1/M2 Izoenzým pyruvátkinázy M1/M2	9,0	57,9
TSP1	Thrombospondin-1 precursor Prekurzor trombospondínu-1	4,6	129,3
SPRC	SPARC/SPARC	4,6	34,6

LEG1 je dôležitá regulačná molekula kmeňových buniek. Hlavnou funkciou je regulácia proliferácie, diferenciácie

cie buniek hladkej svaloviny a regulácia apoptózy interakciou s extracelulárnym matrixom (26). Tiež zohráva kľúčovú úlohu vo feto-maternálnej tolerancii (27). V kultivovaných kmeňových bunkách z choriónej membrány má významné postavenie aj nami identifikovaný proteínový komplex – peroxiredoxín a tioredoxín, ktorý zohráva významnú úlohu v embryonálnom vývoji reguláciou bunkovej proliferácie, mitochondriálnych funkcií, signálnej transdukcie, ochrany pred apoptózou a v neposlednom rade aj voči antioxidantom (28, 29). LAMB1/C1 sú zapojené do širokého spektra biologických procesov ako bunková adhézia, diferenciácia, migrácia a signalizácia buniek. TIMP1 je regulátor rastu a apoptózy v rôznych bunkách. Egea a kol. (30) vo svojej štúdií potvrdili, že TIMP1 potláča proliferáciu, metabolickú aktivitu a schopnosť osteogénnej diferenciácie ľudských MKB. TSP sa podieľa na komunikácii buniek navzájom, ako aj komunikácii buniek s extracelulárnym matrixom. Tiež sa podieľa na sprostredkovaní bunkovej adhézie, proliferácie, migrácie, diferenciácie a apoptózy (31). Expresia KP YM je špecifická pre proliferujúce bunky, predovšetkým pre embryonálne kmeňové bunky. Ďalšími zaujímavými proteínmi uvedenými v *Tabuľke 2* sú GANAB a intracelulárne proteíny s extracelulárnou funkciou ako annexíny. Predpokladá sa, že annexíny majú vplyv na funkčnosť MKB (32). SPARC je zodpovedný za bunkové interakcie s extracelulárnym matrixom, inhibuje adhéziu buniek a proliferáciu a podieľa sa na regulácii rastových faktorov. Nestín sa využíva ako marker proliferujúcich a migrujúcich buniek, ale doposiaľ je pomerne málo poznatkov o jeho funkcii a regulácii.

Záver

Cieľom tejto štúdie bolo identifikovať proteíny choriónových mezenchýmových kmeňových buniek pomocou hmotnostnej spektrometrie ESI a charakterizovať jednotlivé proteíny z funkčného hľadiska. Mnohé doposiaľ publikované proteomické štúdie zaoberajúce sa mezenchýmovými kmeňovými bunkami z choriónej membrány sa zameriavajú na charakteristiku týchto buniek na molekulovej úrovni, nie na úrovni proteomiky. V našej štúdií sa nám podarilo s využitím ESI-MS identifikovať 350 proteínov. Na základe porovnania proteomického profilu kmeňových buniek izolovaných z amniónej membrány predpokladáme, že proteomický profil MKB z choriónej membrány nie je kompletný, a preto je nevyhnutné v tejto analýze pokračovať. Úplná charakterizácia kmeňových buniek prispieje k identifikácii a pochopeniu molekulových ciest a mechanizmov zapojených do procesov sebaobnovy, proliferácie a diferenciácie buniek.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla pri riešení projektu BioDiag: ITMS kód: 26220220143 (100 %).

Zoznam bibliografických odkazov

- ZUK, P. A. et al. Multipotency cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. In *Tissue Engineering* ISSN 1528-4502 2001, vol. 7, s. 311 - 320.
- DOMA, J. G. et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. In *Dev Cell Biol* ISSN 1097-4726 2001, vol. 4, s. 9, s. 775 - 784.
- CAPLAN, A. L. Mesenchymal stem cells. In *Journal of Orthopaedic Research* ISSN 1097-4726 2001, vol. 19, s. 5, s. 643 - 650.
- WANG, H. S. et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. In *Stem Cells* ISSN 1549-4714 2004, vol. 22, s. 7, s. 1330 - 1337.
- DE CROMPI, P. et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. In *Stem Cell Biotechnology* ISSN 1527-0156 2005, vol. 25, s. 1, s. 100 - 106.
- BARRY, F. P., MURPHY, J. M. Mesenchymal stem cells: Clinical applications and biological characterization. In *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* ISSN 1532-2156 2004, vol. 36, s. 1, s. 109 - 124.
- MARQUELLI, J. J., BRIDGES, A., CHÉRIET, P. Mesenchymal stem cells. In *Experimental Biology and Medicine* ISSN 1528-1576 2001, vol. 226, s. 6, s. 597 - 599.
- FORTE, A., FORTE, I. Mesenchymal stem cells: Use and perspective. In *Hematology Journal* ISSN 1528-0024 2003, vol. 4, s. 2, s. 82 - 86.
- BURR, B., PETER, K. *Pathology of the Human Placenta*. 4th ed. New York: Springer-Verlag, 2000.
- PASQUINELLI, G. et al. Ultrastructural characteristics of human mesenchymal stromal (stem) cells derived from bone marrow and term placenta. In *Ultrastructural Pathology* ISSN 1521-0758 2007, vol. 31, s. 3, s. 31 - 41.
- SONG, H. H. et al. Isolation and characterization of mesenchymal cells from human fetal membranes. In *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* ISSN 1522-1425 2007, vol. 1, s. 200 - 208.
- FRITZMAN, L. A. et al. Placental mesenchymal stem cells as potential autologous graft for perinatal neuroregeneration. In *Journal of Obstetrics and Gynecology* ISSN 0882-2630 2006, vol. 104, s. 664 - 674.
- STANKOVIC, P. S. et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. In *Stem Cells* ISSN 1549-4714 2004, vol. 22, s. 1, s. 35 - 44.
- ZHANG, X. et al. Mesenchymal progenitor cells derived from chorionic villi of human placenta for cartilage tissue engineering. In *Advanced and Biomaterial Research Communications* ISSN 1549-2018 2006, vol. 3, s. 344 - 352.
- ALYABDI, F. et al. Term Amniotic mesoderm is a high throughput source for multipotent Mesenchymal Stem Cells with the ability to differentiate into endothelial cells *in vitro*. In *BMC Developmental Biology* ISSN 1471-2108 2007, vol. 7.
- CHEN, C. C. et al. In vitro differentiation of human placenta derived multipotent cells into hepatocyte-like cells. In *Stem Cells* ISSN 1549-4714 2006, vol. 24, s. 1, s. 104 - 108.
- ZHANG, Y., WANG, H., MAZOUZ, F. Identification of stem cells from human umbilical cord blood with embryonic and hematopoietic characteristics. In *Experimental Cell Research* ISSN 0014-4827 2006, vol. 312, s. 2, s. 204 - 210.
- YAN, H. H. et al. Embryonic stem cell production. In *Expert Review of Proteomics* ISSN 1744-5019 2006, vol. 3, s. 127 - 137.
- WACHSBERG, W. et al. The heterogeneity of human mesenchymal stem cell preparations: Evidence from simultaneous analysis of proteomics and transcriptomics. In *Experimental Hematology* ISSN 0360-5725 2006, vol. 34, s. 5-6, s. 510 - 518.
- CHANG, H. H. et al. The potential for proteomic definition of stem cell populations. In *Experimental Hematology* ISSN 0360-5725 2005, vol. 33, s. 1, s. 147 - 159.
- HO, C. S. et al. Electrospray ionization Mass Spectrometry: Principles and Clinical Applications. In *Clinical Biochemical Science* ISSN 0309-0002 2004, vol. 34, s. 3, s. 17 - 27.
- FUKUSHI, Y. et al. Human Placenta-derived cells have mesenchymal stem properties. *Cell Proliferation* In *Stem Cells* ISSN 1549-4714 2004, vol. 22, s. 5, s. 640 - 650.
- MATTHEA, E. et al. Negative regulation of EGF signaling through integrin alpha 6beta 1 mediated activation of protein tyrosine phosphatase SH-PTP. In *Stem Cell Biology* ISSN 1527-0256 2006, vol. 7, s. 10, s. 85 - 95.
- FOSTER, L. J. et al. Differential expression profiling of membrane proteins by quantitative proteomics in a human mesenchymal stem cell line undergoing osteogenic differentiation. In *Stem Cells* ISSN 1549-4714 2006, vol. 24, s. 1, s. 61 - 1377.
- CHEN, Y. H. et al. Molecular and cellular characterization of highly purified neonatal stem cells derived from human bone marrow. In *Journal of Cell Science* ISSN 1471-0157 2003, vol. 116, s. 1, s. 247 - 1 259.
- CASE, D. et al. Mice deficient in galactin 1 exhibit altered physical responses to chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension. In *The American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* ISSN 1096-986X 2007, vol. 293, s. 154 - 164.
- BLISS, S. M. et al. A proteolysis core for galactin 1 in hemostatic tolerance. In *Neural Medicine* ISSN 1521-0280 2007, vol. 13, s. 1, s. 100 - 107.
- HAN, S. C. Phosphatase system in proteomics and cellular biology. In *Anticancer and Anti-Signaling* ISSN 1527-7710 2004, vol. 4, s. 77 - 104.
- KARIMOVIC, A. et al. Phosphatase 1 is essential for protection against apoptosis in human lung carcinoma cells. In *Experimental Cell Research* ISSN 0014-4827 2006, vol. 312, s. 2, s. 200 - 210.
- ETOE, V. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) regulates mesenchymal stem cells through mi-21 microRNA and Wnt/beta-catenin signaling. In *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* ISSN 1091-6460 2012, vol. 109, s. 5, s. 1048 - 1056.
- ALABIO, J. C., LAWLER, J. The fibronectin core. In *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* ISSN 1532-2156 2004, vol. 36, s. 6, s. 591 - 595.
- HOFMEIER, A. et al. Proteomic analysis of amniotic membranes prepared for human transplantation: characterization of proteins and clinical implications. In *Journal of proteome research* ISSN 1535-3891 2006, vol. 5, s. 2, s. 226 - 2 236.

Korespondenčná adresa

B800, Martina Čuchová
 Ústav lekárskeho a klinického lekárskeho LF UPJŠ v Bratislave
 Trieda SNP 1, 040 11, Košice
 e-mail: martina.cuchova@student.upjs.sk