

## MODULÁCIA KONCENTRÁCIE VEGF VPLYVOM HYPERBARICKEJ OXYGENOTERAPIE *MODULATION OF VEGF CONCENTRATION DUE TO THE HYPERBARIC OXYGENE THERAPY*

KRAJČOVIČOVÁ Zdenka, KUDLÁČKOVÁ Antónia, MELUŠ Vladimír, KAŠLÍKOVÁ Katarína

*Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín*

### ABSTRAKT

V súčasnej dobe sa pozornosť lekárov i vedcov zameriava na štúdium nových terapeutických možností, resp. aplikácii vo vzťahu k jednotlivým medicínskym odborom. Jednou z oblastí štúdiá je aj úloha laboratórneho parametra VEGF, pri rôznych typoch ochorení predovšetkým v kombinácii s perspektívnymi terapeutickými metódami, medzi ktoré bezpochybné patrí aj hyperbarická oxygenoterapia (HBOT). Na základe literárnych údajov možno konštatovať, že HBOT zvyšuje koncentráciu VEGF, vo väčšine z nich bol efekt pozitívny, čo svedčí o skutočnosti, že sa po inhalácii kyslíka sa za určitý čas zlepšila angiogenéza, regenerácia chronických rán ale aj poškodených tkanív po rádioterapii. VEGF faktor je perspektívny parameter a vo vzťahu k štúdiu mechanizmu účinku HBOT, avšak táto problematika si vyžaduje ďalší klinický a experimentálny výskum.

**Kľúčové slová:** VEGF. Hyperbarická oxygenoterapia. Modulácia koncentrácie

### ABSTRACT

At present, the attention of physicians and scientists is focused on studying new therapeutic options, application in relation to individual medical branches. One of the areas of study is the role of the VEGF laboratory parameter in various types of disease, especially in combination with prospective therapeutic methods, including undoubtedly hyperbaric oxygen therapy (HBOT). On the basis of the literature resources it can be concluded that HBOT may increase the concentration of VEGF, most of which has been observed positive effect, indicating that angiogenesis, regeneration of chronic wounds, and damaged tissue after radiotherapy have improved over time after inhalation of oxygen. VEGF factor is a prospective parameter and in relation to the study of the mechanism of HBOT action, but this problematic requires further clinical and experimental research.

**Key words:** VEGF. Hyperbaric oxygen therapy. Modulation of concentration

### ÚVOD

Dýchanie je základnou fyziologickou potrebou človeka. Pri nedostatočnom zásobení tela kyslíkom je človek ohrozený na živote a s tým spojené stavy mávajú spravidla veľmi dramatický priebeh. Hyperbarická oxygenoterapia (HBOT) je liečebná metóda, pri ktorej je podstatnou liečivou zložkou práve

kyslík. Samotná liečba sa uskutočňuje v hyperbarických komorách, ktorých existuje viacero typov a kyslík môže byť aplikovaný za zvýšeného tlaku buď priamo v uzatvorenom priestore alebo pomocou rôznych zdravotníckych pomôcok. HBOT je liečebná metóda založená na schopnosti krvi pri vyššom atmosférickom tlaku dopraviť ku tkanivám viac molekúl kyslíka. Sheffield a kol. [1] vo svojej štúdiu uviedol, že HBOT nie je schopné zvýšiť koncentráciu kyslíka viazaného na hemoglobín, ale môže zvýšiť množstvo rozpustného kyslíka v plazme. Pri normálnom tlaku v atmosfére nie je hemoglobín schopný naviazať viac kyslíka, nakoľko vzduch ho obsahuje približne 21 %, pri hyperbaroxii sa vdychovaná koncentrácia kyslíku blíži ku 100 % a je teda 5x vyšší ako vo vzduchu. Tým sa zlepši zásobenie tkanív kyslíkom, ktoré sú buď akútne alebo chronicky poškodené s prítomnou hypoxiou [2]. HBOT je veľmi perspektívna terapeutická metóda, nakoľko má viacero využití, a to napr. pri rôznych ochoreniach ako prvotná liečba alebo v doplnení komplexnej či chirurgickej liečby. HBOT slúži taktiež na výskumné činnosti hyperbarického prostredia na organizmus [3].

### VEGF

Vaskulárny endoteliálny rastový faktor (VEGF, z *angl.* Vascular Endothelial Growth Factor) [4]. V roku 1989 Ferrara so spoluautormi publikovali primárnu sekvenciu peptidu VEGF, ktorý bol neskôr premenovaný na VEGF-A. VEGF systém spolu s jeho receptormi je hlavný zdroj regulácie tvorby endoteliálnych buniek a ciev. Následné štúdie preukázali, že priaznivo pôsobí aj ako angiogenický stimulant [5]. Štruktúrou patrí do VEGF-PDGF (skupina glykoproteínov, tzv. doštičkových rastových faktorov), t.j. supergénovej rodiny, ktorá obsahuje proteíny: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D a PlGF ako rastový faktor placenty. Známa je ale aj skupina, ktorá sa tiež podobá štruktúrou proteínom (tzv. homológy), do ktorej patrí parapoxývirus Ofr, s označením VEGF-E (alebo aj rastový faktor)

alebo tiež VEGF-F, ktorý býva izolovaný z hadieho jedu. Proteíny sa tvoria pomocou buniek v klasických podmienkach alebo v podmienkach, kedy sú bunky ovplyvňované hypoxiou [6, 7].

Faktory VEGF sa podieľajú ako regulátory vaskulogenézy, angiogenézy, vaskulárnej permeability a prežívania endotelových buniek:

- VEGF-A: je v mnohých tkanivách spolu s VEGF-B – ich výskyt je v srdci, kostravom svalstve, pankrease a v prostate [8],
- VEGF-C: nachádza sa v placentе, srdcovom svalstve, vaječníkoch a v tenkom čreve [9],
- VEGF-E: pôsobí ako silný spúšťač expzie tkanivového faktora, proliferácie, migrácie a pučenia vaskulárnych endotelových buniek, angiogenézy v systéme *in vivo*, vyskytuje sa aj v podobe natívneho proteínu u *Escherichia coli* (E-coli) [10],
- VEGF-F: obsahuje všetky proteíny VEGF ktoré sa nachádzajú v hadom jede - sú nimi napr. VR-1 zo Zmije retiazkovej (*Daboia russelli russeli*), HF z Vretenice aspisy (*Vipera aspis aspis*) [6, 11].

Členovia skupiny VEGF sa navzájom viažu rozdielnymi, ale štruktúrou podobnými receptormi, ktoré obsahujú tyrozínkinázovú aktivitu a sú označované ako VEGFR. Receptory sa delia do troch hlavných skupín: VEGFR-1 (Fit-1), VEGFR-2 (Fit-1 alebo aj ľudský KDR), ktorý zohráva úlohu pri angiogenéze a aktivácii endotelialnych buniek, VEGFR-3, táto proteosyntéza sa spája aj s rozširovaním rakovinových buniek do lymfatických uzlín a uplatňuje sa vo vaskulogenéze [7].

VEGFR-1: súvisí s migráciou monocytov, prežitie krvotvorných kmeňových buniek a uvoľňuje rastový faktor z pečňových endotelialnych buniek. Prevažne sa nachádza na povrchu endotelových buniek a zároveň je exprimovaný trofoblastmi a renálnymi mezangiálnymi bunkami [12].

VEGFR-2: viaže VEGF-A s 10x menšou afinitou ako VEGFR-1, no napriek tomu patrí medzi dôležité regulátory angiogenézy, pretože má vysokú tyrozínkinázovú aktivitu. Vyskytuje sa na povrchu hematopoetických buniek, megakaryocytov a retinálnych progenitorových buniek. Jeho produkcia sa zvyšuje pri väčšom výskyte zhubných ochorení (napr. rakovina ženského pohlavného systému, prostaty, štítnej žľazy a pod.) [13].

VEGFR-3: jeho aktivácia závisí od VEGF-C a VEGF-D. Prispieva k budovaniu a udržiavaniu

lymfatického systému. Jeho zvýšená koncentrácia súvisí s prítomnými metastázami [14].

### **Vybrané vedecké štúdie pozorujúce vplyv hyperbarickej oxygenoterapie na faktor VEGF**

Ochorenia, ktoré sú sprevádzané hypoxiou, vedú k zníženej kvalite života pacientov. Cieľom prehľadovej štúdie bolo na základe dostupnej literatúry a vedeckých štúdií sumarizovať vplyv HBOT na koncentráciu VEGF faktora pri rôznych typoch ochorení, nakoľko aj vaskulárny endotelialny rastový faktor zohráva v tele človeka veľmi dôležitú úlohu, najmä z pohľadu vaskulogenézy a angiogenézy. Momentálne je vzťah medzi HBOT a VEGF faktorom zatiaľ málo prebádaný, preto je väčšina vedeckých štúdií na túto tému experimentálneho charakteru.

### **Chronická rana**

Chronická rana vrátane dekubitov je spravidla definovaná ako chronicky sa hojaca rana, ktorá vznikla zmenou tkaniva po predchádzajúcom poranení. Doba hojenia je výrazne predĺžená a samotný proces hojenia býva narušený [15, 16]. Chronickou ranou sa označuje aj komplikovane sa hojaca rana, hoci môže ísť o akútny stav. Hlavný rozdiel medzi akútnou a chronickou ranou spočíva v schopnosti fibroblastov, endotelu a keratinocytov dostatočne replikovať a produkovať medzibunkovú matrix. Príčina vzniku chronickej rany môže byť prechod rany akútnej do chronickej, a to spravidla v ktorejkoľvek fáze hojenia. Ďalšie príčiny môžu byť infekcia, vplyv pridružených ochorení (diabetes mellitus, cievne choroby a pod.), mikrotraumatizácia alebo nekróza kože na podklade základného ochorenia (napr. pri ateroskleróze dolných končatín [17]. Shan J.B. [18] opisuje zvýšenie hladiny kyslíka v hypoxickej rane veľmi prospešné až nevyhnutné, najmä ak ide o bunky ako sú neutrofilny, fibroblasty a makrofágy, ktoré sa podieľajú na procese reparácie tkaniva. Game F.L. so spol. [19] spolu s Stoenbrokom R.M. so spol. [20] opisujú túto súvislosť s poznatkom, ktorý dokazuje, že HBOT znižuje počet amputácií dolných končatín u diabetických pacientov.

V klinickej štúdii Sureda so spol. [21] analyzovali účinky HBOT v plazme na antioxidačnú odpoveď a hladiny endotelínu-1, interleukínu-6 (IL-6) a VEGF u pacientov s chronickými ranami (20,0±10,0 mesiacov bez zlepšenia zdravotného stavu). Štúdie sa dobrovoľne zúčastnilo celkovo

14 pacientov, 10 mužov a 4 ženy (vo veku  $65,8 \pm 5,8$  roka). Na začiatku štúdie bolo prijatých 18 pacientov, ale dvaja z nich štúdiu opustili kvôli klaustrofóbií a dvaja zo zdravotných dôvodov, pretože hlásili bolesti v uchu počas prvej expozície. Sedem jedincov trpelo diabetickou nohou, štyria mali osteomyelitídu, dvaja radiačnú enteritídu a jeden pacient osteoartritídou. Predchádzajúca liečba zahŕňala typické antibiotiká (v prípade osteomyelitídy pre jej infekčný proces boli podávané aj systémovo), typické obvazy a odstraňovanie nekrotického tkaniva. V štúdií sa však uvádza, že doterajšia liečba bola u týchto pacientov neúčinná. Všetci účastníci boli nefajčiari a mesiac pred začiatkom štúdie nebrali žiadny antioxidantný doplnok stravy. Pred začiatkom HBOT absolvovali štandardnú lekársku kontrolu a rany im boli ošetrené podľa predpisov. Postup štúdie pozostával z 20 expozícií HBOT počas jedného mesiaca (5 dní v týždni). Pacienti vdychovali 100% kyslík pri tlaku 2,2 ATA po dobu 60 minút. Vzorky krvi sa odoberali 2 hodiny pred a 2 hodiny po prvej, piatej a dvadsiatej (poslednej) expozícii HBOT. Okrem týchto vzoriek bola odobratá ešte jedna krvná vzorka mesiac po ukončení HBOT. Významné štatistické účinky neboli dokázané v žiadnom z výsledkov analyzovaných hematologických parametrov. Trvanie HBOT výrazne ovplyvnilo aktivitu CK s progresívnym poklesom počas sedení. Výsledky po piatej expozícii boli významne nižšie ako tie z prvého sedenia a výsledky z dvadsiateho sedenia boli tiež nižšie oproti prvému a piatemu sedeniu. Podobne aj plazmatická koncentrácia MDA aduktov bola významne ovplyvnená trvaním liečby. Hladina MDA bola významne znížená na poslednom sedení vzhľadom na prvé sedenie. Koncentrácia VEGF a IL-6 sa významne zvýšila po každom sedení HBOT oproti predchádzajúcim výsledkom. Progresívny pokles koncentrácie endotelínu-1 bol pozorovaný počas celej HBOT, ale štatistický rozdiel bol dokázaný iba na dvadsiatom sedení oproti prvému sedeniu.

Luo so spol. [22] uvádza, že výsledky HBOT v miernej produkcii reaktívnych foriem kyslíka môžu indikovať uvoľňovanie VEGF s následným podporením angiogenézy a zlepšenou regeneráciou rán. Lee so spol. [23] sa zamerali na endotelový bunkový model ľudskej pupočníkovej žily, v ktorej bola hlásená významná indukcia v expresii génu VEGF po HBOT. HBOT môže zlepšiť proces hoje-

nia pri chronických nehojivých ranách pochádzajúcich z patologických stavov ohrozujúcich dostupnosť kyslíka v tkanivách [21].

### **Poškodenie tkaniva spôsobeného rádioterapiou u pacientov s karcinómom prsníka**

Karcinóm prsníka je podľa GLOBOCAN série Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny jeden z najčastejšie diagnostikovaných druhov onkologického ochorenia na svete. Odhaduje sa, že je to približne 1,67 milióna pacientov ročne [24].

Teguh so spol. [25] v svojej štúdií uvádzajú, že pri samotnej rádioterapii prsníka sa čiastočne poškodzujú aj ostatné okolité zdravé tkanivá, ktoré sa postupne menia na hypocelulárne, hypovaskulárne a hypoxické, často označované aj ako „3H tkanivo“. Podľa Colletta a kol. [26] nepriama toxicita tkanív môže tiež spôsobiť rádiofibrózu, čo spôsobuje pacientovi ťažkosti s pohybom ramien a následne sa môže zvýšiť riziko lymfedému. U 25-33 % pacientov, ktorí musia podstupovať rádioterapiu a chemoterapiu sú prítomné ťažkosti ako bolesť, únava, sexuálne problémy, úzkosti a depresie zo samotného vzhľadu tela, zhoršenej telesnej funkcie a pod. [27-29]. Vilholm so spol. [29] pripisuje tieto ťažkosti aj predchádzajúcemu chirurgickému zákroku, umiestneniu nádoru, veku a disekcii axilárnych lymfatických uzlín.

Teas J. so spol. [30] uskutočnili štúdiu vplyvu HBOT u pacientiek s karcinómom prsníka za účelom terapie lymfedému ramena. Štúdie sa zúčastnilo desať zdravých postmenopauzálnych žien (vo veku  $58 \pm 5,7$  rokov) s perzistujúcim lymfedémom ( $9,4 \pm 9,1$  roka) po liečbe karcinómu prsníka a rádioterapii ( $n = 10$ ), plus chemoterapii ( $n = 7$ ), ktoré absolvovali 20 expozícií HBOT (90 min.; 2,0 ATA; päťkrát týždenne počas 4 týždňov). Po ukončení série expozícií HBO boli sledované nasledovné parametre: objem horných končatín, počet krvných doštičiek, plazmatické hladiny VEGF a VEGF-C spojeného s lymfatickým angiogénom. Objem lymfedému (LV) bol definovaný ako objem neovplyvneného ramena odobratého od objemu postihnutého ramena. Pri ukončení HBOT autori pozorovali 38 % priemerné zníženie počtu lymfedémov, ktoré bolo nezávislé o zmeny telesnej hmotnosti. Pre pacientky, u ktorých bola liečba HBOT účinná ( $n = 8$ ), bola redukcia pozorovaná aj v období v priemere 14,2 mesiacov od ukončenia HBOT. VEGF-C sa po terapii zvýšil oproti východiskovej hodnote pred liečbou 20-násobne ( $p=0,004$ ), čo naznačuje, že

HBOT začal stimulovať tento rastový faktor. Budúce štúdie by však mali preskúmať účinky väčšieho počtu liečby HBOT na lymfedém s väčším počtom pacientov.

Sheikh so spol. [31] preukázali hyperoxiu v experimentálnej štúdiu na myšiach C3H (vo veku 7 až 9 týždňov). Na základe výsledkov z imunohistochemickej analýzy, v ktorých sa zvýšil VEGF vplyvom HBOT, sa pozitívne prejavila angiogenéza a zlepšilo sa ukládanie kolagénových vlákien v okolí neovaskularizácie.

### **Účinky HBOT na opuch miechy po akútnom poškodení**

Poranenie miechy (SCI; z *angl.* Spinal Cord Injury) je poškodenie miechovej časti CNS úrazovým mechanizmom (napr. fraktúra, penetrujúce poranenia úločkami kostí, bodnými a strelnými poraneniami) samostatne alebo spolu s poranením chrbtice. Poranenie miechy môže byť primárne (mechanické poškodenie otrasom, natrhnutím, preseknutím, stlačením alebo nepriamo extradurálnymi procesmi – hematómom, nádorom, metastázou a i.) alebo sekundárne, ktoré vzniká následkom narušenia cievneho zásobenia poranením artérií, trombózou, alebo hypoperfúziou a hypoxiou pri šoku [32]. HBOT môže regulovať MMP-2, MMP-9 a VEGF, znížiť sekundárne komplikácie poškodenia miechy ako napr. opuch a zápal, podporuje angiogenézu a zlepšuje funkciu miechy u potkana. Autori v štúdiu uvádzajú, že ideálny čas na intervenciu s terapiou HBOT po poškodení miechy a mechanizmy, ktoré sú základom stabilizácie a regenerácie neurónov je potrebné ďalšie štúdium [33].

Angiogenéza hrá zásadnú úlohu pri ischemickom poranení mozgu alebo cerebrovaskulárnych poruchách, ako sú mozgové arteriovenózne malformácie. VEGF a matrixové metaloproteinázy (MMP) sú kľúčovými faktormi pri aktivácii angiogenézy u dospelých. VEGF sa zvyšuje pri mozgových ochoreniach ako je napr. cievna mozgová príhoda alebo Alzheimerova choroba. MMP sú zodpovedné za degradáciu zložky extracelulárnej matrix a sú potrebných počas angiogenézy v experimentoch v systémoch *in vivo* aj *in vitro*. MMP-9 je obzvlášť dôležitá, pretože zohráva ústrednú úlohu v angiogenéze, aktivita MMP-9 je zvýšená po VEGF stimulácii sprevádzané zvýšenou fokálnou angiogenézou. Inhibícia deplécie MMP-9 alebo neutrofilov môže znížiť odpoveď MMP na stimuláciu VEGF. Výsledky experimentálnej štúdie autorov

Hao so spol. [34] naznačujú, že zvýšenie hladiny IL-6, MMP-2, MMP-9 a VEGF po akútnom poškodení miechy. Zvýšená hladina MMP-2 a MMP-9 však aktivuje mnoho cytokínov vrátane TNF- $\alpha$ , čo zvyšuje transkripciu MMP a tým sa zhoršuje poškodenie miechy.

### **DISKUSIA**

VEGF faktor patrí medzi rastové faktory, zohráva o.i. dôležitú úlohu najmä z hľadiska angiogenézy a lymfagiogenézy. Akonáhle dôjde k aktivácii bunkových receptorov, v bunke sa spustí celý rad reakcií [35]. Proces angiogenézy je navyše zosilnený kyslými a zásaditými fibroblastovými rastovými faktormi (FGF1/2). Proces angiogenézy a stabilizácia ciev sa uskutočňuje vo chvíli, keď sa ukončí rast orgánu, nastáva optimálny počet pericytov a v novovaskularizovanej oblasti sa zvýši koncentrácia kyslíka, následkom čoho sa zníži hladina VEGF a cyklus sa uzavrie, avšak stále je i naďalej striktné regulovaný. Ako inhibítor slúži trombospodín 1. Súčasnú štúdiu uvádzajú, že bolo indentifikovaných približne 200 aktivátorov a inhibítorov angiogenézy [35, 36].

Cieľom prehľadovej štúdie bola sumarizácia vplyvu HBOT na parameter VEGF pri rôznych typoch ochorení. Na význam vplyvu HBOT v medicíne poukazujú mnohí lekári, zdravotnícki pracovníci a autori vo svojich vedeckých článkoch. HBOT sa ukázala ako účinná liečebná metóda napr. pri gangréne, otravách oxidom uhoľnatým a ďalších chorobných stavoch týkajúcich sa predovšetkým tkanivovavej a orgánovej hypoxie. VEGF parameter v súčasnosti podľa dostupných literárnych údajov nepatrí medzi štandardné laboratórno-diagnostické parametre. Využíva sa predovšetkým vo vedecko-výskumnej činnosti. V súčasnosti je dostupné iba obmedzené množstvo klinických štúdií zameraných na vplyv HBOT na koncentráciu VEGF faktora. Väčšina z nich je skôr na experimentálnej úrovni. Vybraným vedeckým štúdiám týkajúcich sa vplyvu HBOT na VEGF faktor sa venuje napr. Hou so spol. [37] ktorý sledoval účinky HBOT na expresiu proteínov MMP-2, MMP-9 a na opuch miechy po akútnom poškodení. Ďalej Carroll a kol. [38] spolu s Zimmetman a kol. [38] skúmali koncentráciu VEGF vplyvom HBOT na: 1. polarizáciu a adhéziu CD18 (Integrin beta-2), 2. adhéziu neutrofilov, 3. účinok plazmínu pri expresii VEGF v kostrovom svalstve po poranení. Surredda a kol. [21] ana-

lyzovali účinky HBO pri chronických ranách. Sheikh a kol. [31] spolu s ďalšími autormi obdobných štúdií [40-42] sledovali vplyv HBOT na poškodené tkanivo po rádioterapii u onkologických pacientov. Hao a kol. [34] uviedli vo svojej experimentálnej štúdií na potkanoch Sprague-Dawley výsledky, v ktorých naznačujú zvýšenie hladiny interleukin-6 (IL-6), matrix metalloproteinase (MMP-2), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) a VEGF po akútnom poškodení miechy. Dôvodom by mohol byť fakt, že VEGF indukuje angiogénu prostredníctvom regulácie expresie MMP-2 a MMP-9.

## ZÁVER

Vo všeobecnosti sa vo vedeckých štúdiách uvádza, že po každej expozícii HBOT sa v porovnaní s predchádzajúcimi výsledkami stanovenia koncentrácia VEGF zvýšila, čo sa pozitívne prejavilo na angiogéne ako aj na zlepšení ukladania kolagénových vlákien v okolí novovaskularizácie.

VEGF parameter však v súčasnosti podľa dostupných literárnych údajov nepatrí medzi štandardné laboratórno-diagnostické parametre, je to perspektívny parameter ktorého využitie si vyžaduje ešte ďalší klinický a experimentálny vývoj, preto je väčšina štúdií skôr na experimentálnej úrovni.

## Pod'akovanie

Tento príspevok vyšiel s podporou projektu „Dobudovanie technickej infraštruktúry pre rozvoj vedy a výskumu na Trenčianskej univerzite Alexandra Dubčeka prostredníctvom hyperbarickej oxygenoterapie“ ITMS kód 26210120019 Operačného programu Výskum a vývoj.

## ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] SHEFFIELD P.J. Measuring tissue oxygen tension: a review. *Undersea Hyperb Med.* 1998; 25 (3): 179-188.
- [2] KAPOUNOVÁ G. *Ošetrovatelství v intenzivní péči*. 1. vyd., Grada Publishing a.s., Praha, 2007, ISBN: 978-80-247-1830-9.
- [3] JAIN K.K. *Textbook of Hyperbaric Medicine*. Hografe and Hubert Publishers, Göttingen, 2009, 578 s., ISBN 978-0-88937-361-7.
- [4] ZIMA T. *Laboratorní diagnostika*. Galén, Praha, 2. vyd., 2007. ISBN: 978-80-7262-372-3.
- [5] SCHLUNEGGER M.P., GRÜTTER M.G. An unusual feature revealed by the crystal structure at 2.2. Å resolution of human transforming growth factor-beta2. *Nature.* 1992; 358: 430-434.
- [6] TOKUNAGA Y., YAMAZAKY Y., MORITA T. Specific distribution of VEGF-F in Viperinae snake venoms: Isolation and characterization of a VEGF-F from the venom of *Daboia russelli siamensis*. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2005; 439: 241-247.
- [7] STUTTFELD E., BALLMER-HOFER K. Structure and function of VEGF receptors. IUMB life, 2009 – Wiley Online Library. Online dostupné na: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/iub.234/full> [citované: 10. 11. 2017]
- [8] OLOFSSON B., PAJUSOLA K., KAIPAINEN A., et al. Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93: 2576-2581.
- [9] RAMANI P., NASH R., RADEVSKÝ L., et al. VEGF-C, VEGF-D and VEGFR-3 expression in peripheral neuroblastic tumors. *Histopathology.* 2012; 61: 1006-1016.
- [10] MEYER M., CLAUSS M., LEPPLE-WIENHUES A., et al. A novel vascular endothelial growth factor encoded by Orf virus, VEGF-E, mediates angiogenesis via signalling through VEGFR-2 (KDR) but not VEGFR-1 (Fit-1) receptor tyrosine kinases. *EMBO J.* 1999; 18 (2): 363-374.
- [11] FERRARA N. Vascular Endothelial Growth Factor. Basic Science and Clinical Progress. *Endocrine Reviews.* 1996; 25: 581-611.
- [12] MAHARAJ A.S., SAINT-GENIEZ M., MALDONADO A.E., et al. Vascular endothelial growth factor localization in the adult. *Am J. Pathol.* 2006; 168 (2): 639-648.
- [13] RODRIGUEZ-ANTONA C., PALLARES J., MONTERO-CONDE C., et al. Overexpression and activation of EGFR and VEGFR2 in medullary thyroid carcinomas is related to metastasis. *Cancer.* 2010; 17 (1): 7-16.
- [14] ACHEN M.G., MANN G.B., STACKER S.A. Targeting lymphangiogenesis to prevent tumour metastasis. *Br J Cancer.* 2006; 94 (10): 1355-1360.
- [15] POSPIŠILOVÁ A., FRANCŮ M. Akutní a chronické rány - etiologie, rozdíly v hojení a léčba. *Československá dermatologie.* 2008; 5: 232.
- [16] SMOLÍČKOVÁ L., MATIŠÁKOVÁ I. Dekubity ako ošetrovateľský problém v geriatrickej. *Zdravotnícké listy.* 2016; 3-4:72-76.

- [17] STRYJA J. *Repetitorium hojení ran*. Semily: Geum s.r.o., 1. vyd., 2008, 199 s. ISBN: 978-80-86256-60-3.
- [18] SHAN JB. Correction of Hypoxia, a Critical Element for Wound Bed Preparation Guidelines: TIME02 Principle of Wound Bed Preparation. *J Am Col Certif Wound Spec*. 2011; 3 (2): 26-32.
- [19] GAME F.L., HINCHLIFE R.J., APELQVIST J., et al. A systematic review of interventions to enhance the healing of chronic ulcers of the foot in diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012; 28 Suppl 1: 119-141.
- [20] STOEKENBROEK R.M., SANTEMA T.B., LEGEMATE D.A., et al. Hyperbaric oxygen for the treatment of diabetic foot ulcers: a systematic review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2014; 47 (6): 647-655.
- [21] SURREDA A., BATLE J.M., MARTORELL M., et al. Antioxidant Response of Chronic Wounds to Hyperbaric Oxygen Therapy. *Plos ONE*. 2016; 11 (9): e0163371.
- [22] LUO J.D., CHEN A.F. Nitric oxide: a newly discovered function on wound healing. *Acta Pharmacol*. 2005; 26: 259-264.
- [23] LEE C.C., CHEN S.C., TSAI S.C., et al. Hyperbaric oxygen induces VEGF expression through ERK, JNK and c-Jun/AP-1 activation in human umbilical vein endothelial cells. *J Biomed SCI*. 2006; 13 (1): 146-156.
- [24] FERLAY J., SOERJOMATARAM I., DIKSHIT R., et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015; 136 (5): E359-386.
- [25] TEGUH D.N., LEVENDAG P.C., NOEVER I., et al. Early hyperbaric oxygen therapy for reducing radiotherapy side effects: early results of a randomized trial in oropharyngeal and nasopharyngeal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2009; 75 (3): 711-716.
- [26] COLLETTE S., COLLETTE L., BUDIHARTO T., et al. Predictors of the risk of fibrosis at 10 years after breast conserving therapy for early breast cancer: a study based on the EORTC Trial 22881- 10882 'boost versus no boost'. *Eur J Canc*. 2008; 44 (17): 2587-2599.
- [27] GANZ P.A., GUADAGNOLI E., LANDURM M.B., et al. Breast cancer in older women: quality of life and psychosocial adjustment in the 15 months after diagnosis. *J Clin Oncol*. 2013; 21 (21): 4027-4033.
- [28] VAITTINEN P., HEMMINKI K. Risk factors and age – incidence relationships for contralateral breast cancer. *Int J Cancer*. 2000; 88 (6): 998-1002.
- [29] VILHOLM O.J., COLD S., RASMUSSEN L., SINDRUP S.H. The postmactectomy pain syndrome: an epidemiological study on the prevalence of chronic pain after surgery for breast cancer. *Br J Cancer*. 2008; 99 (4): 604-610.
- [30] TEAS J., CUNNINGHAM J.E., CONE L., et al. Can hyperbaric oxygen therapy reduce breast cancer treatment-related lymphedema? A pilot study. *J Womens Health (Larchmt)*. 2004; 13 (9): 1008-1018.
- [31] SHEIKH A.Y., GIBSON J.J., ROLLINS M.D., et al. Effect of hyperoxia on vascular endothelial growth factor levels in a wound model. *Arch Surg*. 2000; 135: 1293-1297.
- [32] DOBIÁŠ V. Poranenia chrbtice a miechy. *Via Practica*. 2008; 5 (12): 537-538.
- [33] KRUEGER M., HÄRTIG W., REICHENBACH A., et al. Blood-Brain Barrier Breakdown after Embolic Stroke in Rats Occurs without Ultrastructural Evidence for Disrupting Tight Junctions. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e56419.
- [34] HAO Q., LIU J., PAPPU R., et al. Contribution of bonemarrow- derived cells associated with brain angiogenesis is primarily through leukocytes and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28: 2151-2157.
- [35] MLADOŠIEVIČOVÁ B. a kol. *Molekulové mechanizmy patogenézy nádorov*. SAP, Bratislava 2011, 123 s., ISBN 978-80-8095-069-9.
- [36] DOBROTA D. a kol. *Lékařská biochemia*. Osveta s.r.o., Martin, 1.vyd., 2012, ISBN 978-80-8063-293-9.
- [37] HOU Y.N., DING W.Y., SHEN Y., et al. Effect of hyperbaric oxygen on MMP9/2 expression and motor function in rats with spinal cord injury. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8 (9): 14926-14934.
- [38] CARROLL W.R., ESCLAMADO R.M. Ischemia/reperfusion injury in microvascular surgery. *Head Neck*. 2000; 22: 700-713.
- [39] ZIMMETMAN B.J., GRANGER D.N. Mechanism of reperfusion injury. *Am J Med Sci*. 1994; 307: 284-292.
- [40] GANGULY B.J., TONOMURA N., BENSON R.M., et al. Hyperbaric oxygen enhances apoptosis in hematopoietic cells. *Apoptosis*. 2002; 7: 499-510.

- [41] ZHANG Q., CHANG Q., COX R.A., et al. Hyperbaric oxygen attenuates apoptosis and decreases inflammation in an ischemic wound model. *J Invest Dermatol.* 2008; 128: 2102-2112.
- [42] MATSUNAMI T., SATO Y., HASEGAWA Y., et al. Enhancement of reactive oxygen species and induction of apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure. *Int J Clin Exp Pathol.* 2011; 4: 255-266.