

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Stela Dostalíková

Panethovy buňky v imunitní odpovědi tenkého střeva

Paneth cells in the small intestinal immune response

Bakalářská práce

Vedoucí práce:

Mgr. Monika Šťastná, Ph.D.

Praha, 2024

Poděkování

Tímto bych chtěla nesmírně poděkovat své báječné školitelce Monice Šťastné, Ph.D., která byla ochotná pomoci vždy, když jsem se dostala do úzkých. Během psaní své práce a stáže v laboratoři jsem se učila především díky jejím odborným pohledům a radám. Také bych ráda poděkovala jejímu malému synovi Kristiánkovi, který byl ochotný nechat maminku kontrolovat mé texty. Speciální dík patří Lucii Janečkové, Ph.D. za její věnovaný čas mé práci.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 25.4. 2024

Stela Dostáliková

Abstrakt:

Panethovy buňky patří mezi buněčné typy střevního epitelu, jež se účastní imunitních odpovědí a udržují homeostázu v lumen střeva. Díky produkci antimikrobiálních látek a signálních molekul byly Panethovy buňky zkoumány v rámci mnoha studií. Tato práce stručně shrnuje anatomii tenkého střeva a popisuje dosavadní znalosti o střevních buněčných typech souvisejících s imunitní odpovědí, s důrazem na buňky Panethovy. Práce dále uvádí vybrané myší modely, které se využívají pro studium střeva a Panethových buněk, popisuje možnosti studia střevního epitelu *in vitro* pomocí organoidových kultur a v neposlední řadě je zmíněn vztah mezi Panethovými buňkami a zánětlivými onemocněními střeva, jako jsou Crohnova choroba a ulcerózní kolitida, a diskutuje potenciální terapeutické strategie těchto patologií.

Klíčová slova: Panethovy buňky, tenké střevo, krypta, myší modely, zánětlivá onemocnění střeva

Abstract:

Paneth cells are one of the cell types of the intestinal epithelium that participate in immune responses and maintain homeostasis in the intestinal lumen. Due to their production of antimicrobial substances and signalling molecules, Paneth cells have been investigated in many studies. This thesis briefly summarizes the anatomy of the small intestine and describes the current knowledge of intestinal cell types related to immune responses, with a focus on Paneth cells. The thesis also introduces selected mouse models used to study the intestine and Paneth cells, describes the possibilities of studying the intestinal epithelium *in vitro* using organoid cultures, and finally discusses the relationship between Paneth cells and inflammatory bowel diseases such as Crohn's disease and ulcerative colitis, and discusses potential therapeutic strategies for these pathologies.

Key words: Paneth cells, small intestine, crypt, mouse models, inflammatory bowel disease

Seznam zkratek

AMPs	Antimicrobial peptides
APC	Adenomatous polyposis coli
Atg	Autophagy related protein
Atg16L1	Autophagy related 16 like 1 protein
Axin	Axis inhibition
BMP	Bone morphogenetic protein
CBC	Crypt base columnar
CK1 α	Casein kinase 1 α
CSL	CBF-1/RBPJ- κ (C-promoter binding factor-1/Recombination Signal Binding Protein For Immunoglobulin Kappa J Region), Suppressor of Hairless, Lag-1 (Longevity assurance gene 1)
DEFA5 (DEFA6)	Defensin alpha 5 (6)
Dll4	Delta like canonical Notch ligand 4
DSCs	Deep secretory cells
Dsh	Dishevelled
DSS	Dextran sodium sulfate
EGF	Epidermal growth factor
EphB	Erythropoietin-producing human hepatocellular carcinoma receptor B
ER	Endoplasmatic reticulum
ErbB3 (ErbB4)	Epidermal growth factor receptor 3 (4)
GSK3 β	Glycogen synthase kinase 3 β
HD-5 (HD-6)	Human defensin 5 (6)
Hes1	Hairy and enhancer of split 1
Hh	Hedgehog
IBD	Inflammatory bowel disease
iCre	Improved Cre
IL-17R	Interleukin-17 receptor
IRE1 (IRE1 β)	Inositol-requiring enzyme 1(β)
ISC	Intestinal stem cell
JNK	cJun N-terminal kinase
LC3	Mikrotubule-associated 1 light chain 3
LEF	Lymphoid enhancer factor
Lgr5	Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5
LPS	Lipopolysaccharide
LRP 5/6	Low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6

LTA	Lipoteichoic acid
M cells	Microfold cells
Math1	Mouse atonal homolog 1
NICB	Notch intracellular domain
Pparg	Proliferator-activated receptor gamma
PPs	Peyer's patches
RANK	Receptor activator of nuclear factor kappa beta
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa beta ligand
RegIIIa	Regenerating islet-derived protein IIIA
SAM	Senescence accelerated mouse
sPLA2-IIA	Secreted phospholipase A2 IIA
TA	Teichoic acid
TA	Transient amplifying
TCF	T-cell factor
TNF- α	Tumor necrosis factor α
UPR	Unfolded protein response
Wnt	Wingless-related integration site
Xbp1	X-box-binding protein 1

Obsah

1. Úvod	1
2. Anatomie tenkého střeva	2
2.1. Pohárkové buňky	4
2.2. M buňky	5
3. Panethovy buňky	5
3.1. Stres endoplazmatického retikula	7
3.2. Antimikrobiální peptidy	7
3.2.1. Defenziny	8
3.2.2. Lysozym	8
3.2.3. Fosfolipáza A2	9
3.2.4. RegIIIa	10
3.3. Signální dráhy aktivované Panethovými buňkami	10
3.3.1. Signální dráha Wnt	11
3.3.2. Signální dráha Notch	13
3.3.3. Signální dráha EGF	13
4. Myší modely	14
4.1. Organoidy	16
5. Zánětlivá onemocnění střeva	17
5.1. Crohnova choroba	18
5.2. Ulcerózní kolitida	19
6. Závěr	20
7. Přehled použité literatury	21

1. Úvod

Střevo je v dnešní době považováno za největší imunitní orgán našeho organismu. Nejen buňky střevního epitelu mají vliv na imunitu, samotné složení mikrobiomu může také značně ovlivňovat imunitní odpovědi. Vědci rovněž začínají objevovat zásadní spojení mezi mozkiem a střevem, a nacházejí tak přímé důkazy o tom, že složení mikroorganismů ve střevě a celkový stav střeva může mít dopad na funkci nervového systému, chování, náladu apod. Změny ve fungování epitelových buněk a změny složení mikrobiomu jsou spojeny s různými onemocněními jako jsou zánětlivá onemocnění střeva, metabolických drah, a dokonce i neurologická onemocnění včetně různých psychických poruch. Výzkumy spojené se střevem tak mohou významným způsobem přispět nejen k samotnému porozumění onemocnění střeva, ale také k porozumění jeho komplexního fungování v organismu a jeho vlivu na naše chování a myšlení.

Ve složité stavbě lidského tenkého střeva hraje klíčovou roli soubor buněk, které udržují vnitřní prostředí střeva a chrání ho před mikrobiální infekcí. Tyto buňky byly poprvé popsány v 19. stoletím Gustavem Schwalbem a později pojmenovány fyziologem Josephem Panethem. Panethovy buňky jsou specializované epitelové buňky produkující antimikrobiální látky, čímž přispívají k významným imunologickým odpovědím organismu. Jednotlivé kapitoly této práce zkoumají funkci Panethových buněk, jejich jedinečnou fyziologii, dynamickou interakci s okolním mikroprostředím a také dysfunkcemi, které mohou vést k rozvoji gastrointestinálních poruch.

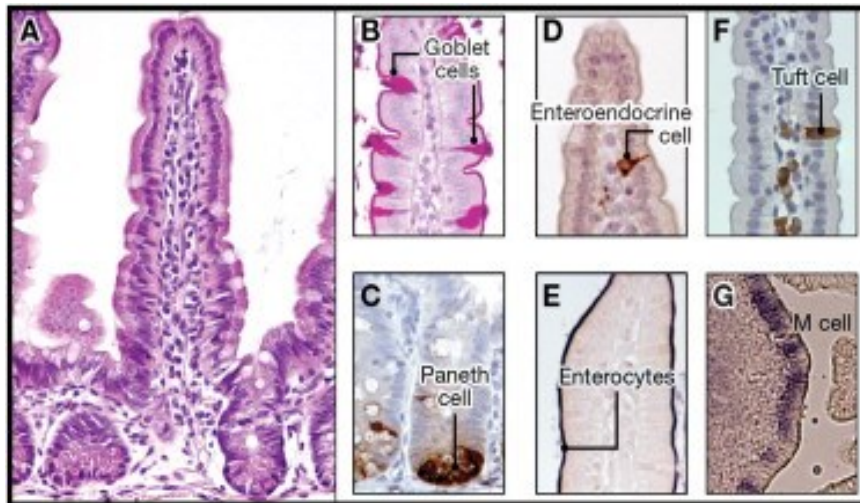
2. Anatomie tenkého střeva

Tenké střevo (*intestinum tenue*) je součástí trávicí soustavy, která zajišťuje důležité funkce jako enzymatické štěpení potravy či vstřebávání živin, a má také podíl na imunologických reakcích těla. Délku tenkého střeva nelze přesně určit, u různých lidí se tato hodnota velice liší, pohybuje se od 3 do 5 m a průměr trubice je kolem 3,5 cm. Ze statistik každopádně vyplývá, že průměrně je u mužů střevo delší než u žen. (Hounnou et al. 2002) Tenké střevo navazuje na distální část žaludku a dělí se na tři části v následujícím pořadí, jsou to dvanáctník (*duodenum*), lačník (*jejunum*) a kyčelník (*ileum*). Ileum dále přechází v tlusté střevo (*intestinum crassum*), ve kterém dochází k finální resorpci vody a iontů a vzniku stolice, jež je následně vyloučena ven z těla.

Jednovrstevný epitel tenkého střeva je nejrychleji se obnovující tkáň v lidském těle. Uvádí se, že buňky epitelu jsou nahrazovány každých 3–5 dní, v případě Panethových buněk je to 6–8 týdnů. (Ireland et al. 2005) Pod vrstvou epitelálních buněk se nachází vrstva inervovaného a prokrveného podslizničního vaziva a hladká svalovina, která zajišťuje peristaltiku střeva. Shrnuto v (Clevers and Bevins 2013) Střevní epitel vytváří jednotlivé výběžky, tzv. klky nebo též vily, na nichž se nacházejí plně diferencované buňky střevního epitelu. Mezi jednotlivými klky se nacházejí krypty, sloužící jako nika kmenových buněk. Poprvé je zaznamenal J. N. Lieberkühn v 18. století, podle nějž je dodnes pojmenováváme termínem Lieberkühnovy krypty. (Lieberkühn 1745)

Jak již bylo zmíněno, na dně krypt se nacházejí multipotentní kmenové buňky (CBC cell, crypt-base columnar cell; varianta názvu ISCs, intestinal stem cells). ISCs svým nesymetrickým dělením udržují vlastní populaci a zároveň dávají vznik TA buňkám (transient amplifying cells). TA buňky, nacházející se ve střední části krypty, se opakovaně a v krátkém časovém úseku dělí a diferencují ve střevní epitelové buňky. (Winton a Ponder 1997) Mezi tyto diferencované buňky patří dvě základní linie – absorpční buňky a buňky sekreční. K buňkám absorpčním, tedy vstřebávajícím živiny z lumen střeva, řadíme enterocyty (enterocytes), jenž jsou nejpočetnějšími buňkami střevního epitelu. K buňkám sekrečním, tedy vylučujícím látky do lumen střeva, pak řadíme buňky pohárkové (goblet cells), enteroendokrinní buňky (enteroendocrine cells) a Panethovy (Paneth cells). Dále se minoritně v epitelu střeva nacházejí chemoreceptorové Bertovy buňky (popř. kartáčové buňky, tuft cells) a antigen prezentující buňky, tzv. M buňky (microfold cells, M cells). (Obr. 1); Shrnuto v (Flier and Clevers 2009; Clevers 2013)

Diferencované buňky, kromě buněk Panethových, jsou každým dalším dělením ISCs posouvány směrem vzhůru na vrchol klku a postupně vytěšňovány z epitelu střeva. Dochází k apoptóze a rozvolnění těsných spojů, čímž se buňky uvolní do lumen střeva, odkud jsou následně spolu se stolicí vyloučeny z těla. Celý proces trvá několik dní. Jiným vývojem však procházejí Panethovy buňky. Ty na rozdíl od ostatních buněčných typů putují směrem na dno krypty, kde přetrvávají již zmíněných 6–8 týdnů. (Ireland et al. 2005)

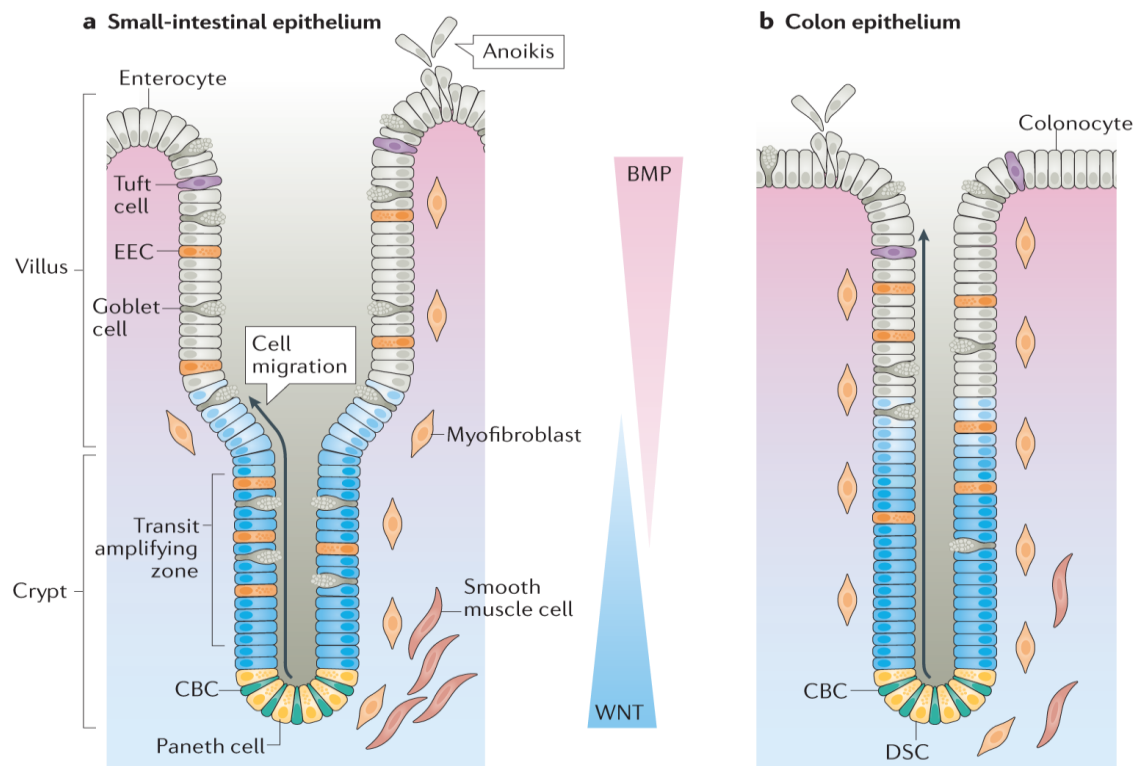


Obr. 1: Barvené histologické snímky buněčných typů tenkého střeva; A střevní epitel (krypty a klky), B pohárkové buňky, C Panethova buňka jako jediná z diferencovaných buněk na dně krypty, D enteroendokrinní buňka, E enterocyt, F Bertova (kartáčová) buňka, G M-buňka. Převzato z review (Hans Clevers 2013)

Komplexním fungováním každé z buněčných linií je udržována homeostáza ve střevě. Ne všechny buněčné typy jsou však významné pro imunitní reakce a boj s patogeny, které se v trávicím traktu mohou objevit. K protagonistům imunitních odpovědí náleží pohárkové buňky produkující mucin, M buňky komunikující s buňkami imunitního systému, a především buňky Panethovy, jejichž funkce bude popsána v následující kapitole. Bylo zjištěno, že i přes svou nízkou četnost Bertovy buňky rovněž přispívají k ochraně střeva, například při napadení helminty. Bertovy buňky vylučují látky, na které reagují buňky imunitního systému a specificky odpovídají na přítomného parazita. Shrnuto v (Hendel et al. 2022)

Tlusté střevo je charakteristické tím, že v něm nebyly nalezeny Panethovy buňky. Shrnuto v (Beumer a Clevers 2021) Jejich funkci do jisté míry přebírají jednak buňky nacházející se podobně jako Panethovy buňky mezi kmenovými buňkami na dně krypty (deep secretory cells, DSCs; nazývané také Paneth-like cells), a potom také buňky pohárkové produkující mucin. Mucin v této části trávicí soustavy hraje významnou roli, jelikož tvoří silnější vrstvu

než ve střevě tenkém, a tím ve větší míře přispívá k ochraně střeva před pronikáním patogenů do epitelu. (Ermund et al. 2013)



Obr. 2: Porovnání buněčných typů v tenkém a tlustém střevě; Tenké a tlusté střevo se, co se funkce a zastoupení buněčných typů týče, příliš neliší. Mechanismus, jakými buňky proliferují a diferencují je jednotný, stejně tak i produkce Wnt (Wingless-related integration site) signálu, která je vyšší směrem ke dnu krypty, a produkce BMP (bone morphogenetic protein) signálu zvyšující se směrem k vrcholu klku. Avšak velkým rozdílem je absence Panethových buněk v tlustém střevě, kde jsou nahrazeny hlubokými sekretorními buňkami (deep secretory cells, DSCs). DSCs zastávají podobnou funkci jako Panethovy buňky, tedy produkují signální molekuly růstových a proliferačních faktorů. Na rozdíl od Panethových buněk však neprodukují signál Wnt, ten je produkován buňkami pod epitelem krypty. Dále se místo enterocytů nacházejí v tlustém střevě homologní buňky tzv. colonocyty, jejichž hlavním údělem je absorpce vody z tráveniny. Převzato z review (Beumer a Clevers 2021), upraveno

2.1. Pohárkové buňky

Prvními významnými buňkami pro imunologii střeva jsou pohárkové buňky. Pohárkové buňky jsou pojmenovány podle svého tvaru připomínajícího pohár a patří mezi sekreční buňky střevního epitelu. Hrají zásadní roli v udržování homeostázy střeva díky syntéze mucinu. Muciny jsou glykoproteiny, které v prostředí střeva hydratují a vytváří ochranný film, tzv. mukózovou vrstvu, jež brání pronikání patogenů do střevního epitelu. Mukózová vrstva také společně s peristaltikou střeva napomáhá k hladkému procházení tráveniny trávicím traktem a jejímu vyloučení z těla. Shrnutí v (Kim a Ho 2010; Cortez a Schultz-Cherry 2021) Je důležité

poznámenat, že tato ochranná vrstva se nachází v celé délce trávicí soustavy, ale v části tenkého střeva má jiné specifické chemické složení v porovnání s ostatními částmi trávicího traktu. (Ermund et al. 2013) Nedávno bylo zjištěno, že pohárkové buňky čítají několik subpopulací, které se od sebe liší jednak umístěním v rámci klku i celé trávicí soustavy, a dále sekrecí látek, jež produkují. (Nyström et al. 2021)

2.2. M buňky

M buňky jsou dalšími pro imunitu důležitými buňkami, jež patří mezi antigen prezentující buňky střevního epitelu. M buňky leží nad střevní lymfatickou tkání nazývanou Peyerovy pláty (Peyer's patches, PPs) a slouží jako komunikátor s buňkami imunitního systému – dendritickými buňkami, makrofágy a lymfocyty. Dlouhou dobu nebylo jisté, zda M buňky vznikají z ISCs ze dna krypty nebo z PPs. Jedna ze studií potvrdila, že tyto buňky stejně jako ostatní buňky střevního epitelu opravdu vznikají v kryptách, (de Lau et al. 2012) nicméně pro jejich vznik je zásadní přítomnost ligandu RANKL (ligand receptoru aktivujícího jaderný faktor kappa-B), který je exprimován právě PPs. Každá z buněk střevního epitelu exprimuje receptor RANK (receptor aktivující jaderný faktor kappa-B), a pouze pokud se nacházejí v oblasti PPs, kde je exprimován ligand RANKL, dochází k diferenciaci epitelu v M buňky. (Knoop et al. 2009)

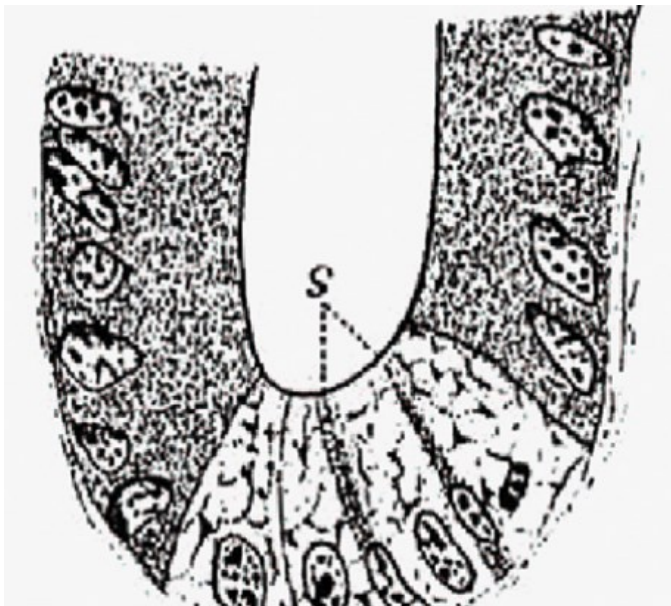
3. Panethovy buňky

Panethovy buňky byly poprvé zmíněny již v roce 1872 německým vědcem Gustavem Schwalbem. (Schwalbe 1872) Svůj název však dostaly až s výzkumem Josepha Panetha, který se zabýval Lieberkühnovými kryptami ve své práci *Über die secernirenden Zellen des Dünndarms-Epithels* (O sekretorních buňkách epitelu tenkého střeva). (Paneth 1887) Schwalbeho i Panetha zaujalo, že tyto buňky, nacházející se výhradně na dně krypty, obsahují granula a jsou díky tomu morfologicky odlišné od ostatních buněk střevního epitelu. Později byly tyto buňky nazvány Panethovy a prokázalo se, že granula, která Paneth již v 19. století pozoroval, obsahují kromě dalších antimikrobiálních peptidů také lysozym, který je důležitou součástí střevní bariéry. Od té doby vzniklo nespočet studií zabývajících se těmito významnými střevními buňkami a jejich chemickými produkty.

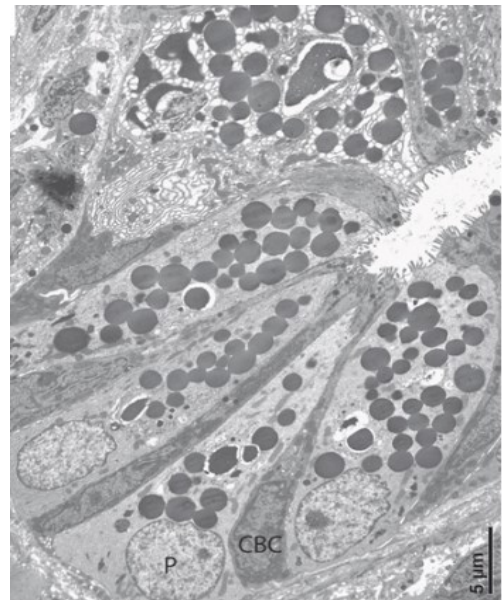
Počet Panethových buněk na dně krypty je přibližně stálý (10 Panethových buněk/kryptu). Shrnuto v (Clevers and Bevins 2013) Na rozdíl od ostatních diferencovaných buněk střevního epitelu se Panethovy buňky po svém vzniku přesouvají na dno krypty. Mezenchymální buňky pod epitelem krypty produkují velké množství Wnt (wingless-related integration site)

signálních molekul, které mají hlavní roli v udržování ISCů v nediferencovaném stavu. Panethovy buňky tento signál naopak využívají k vlastnímu dozrání, jenž souvisí s produkcí defenzinů specifických pouze pro Panethovy buňky. (van Es et al. 2005)

Hlavním úkolem Panethových buněk je tvořit vhodné prostředí pro ISCů (Sato et al. 2011), a to několika mechanismy, které spolu velmi úzce souvisí – sekrecí antimikrobiálních látek, autofagií (vnitřní rozklad buněčných struktur) a odpovědí na stres endoplazmatického retikula (ER stres; endoplasmic reticulum stress). Rozvoj některých nemocí tenkého střeva, o nichž tato práce také pojednává, bývá způsoben nefunkčností jednoho z těchto mechanismů. Dále Panethovy buňky udržují ISCů sekrecí signálních molekul, především ligandu Wnt3 aktivujícího kanonickou dráhu Wnt, Dll4 (delta like canonical Notch ligand 4) (Shimizu et al. 2014) a EGF (epidermal growth factor). (Sato et al. 2011)



Obr. 3: Ručně nakreslená Lieberkühnova krypta J. Panethem v roce 1887; Velké bílé buňky jsou buňky Panethovy. Převzato z review (Clevers 2013)



Obr. 4: Snímek Lieberkühnovy krypty pořízený elektronovým mikroskopem; Panethovy buňky (P) s viditelnými granuly sousedící s kmenovými buňkami (CBC, crypt base columnar). Převzato z review (Schuijers and Clevers 2012)

Zajímavostí zůstává, že ačkoli je funkce Panethových buněk ve střevě velice důležitá, při odstranění celé buněčné linie Panethových buněk v tenkém střevě myši pomocí diphtheria toxinu nebyly pozorovány změny ve fungování střeva. ISCů byly nadále schopny dělení a diferenciace v ostatní buněčné typy. Je však potřebné zmínit, že v takovém případě bylo střevo mnohem náchylnější k různým zánětlivým onemocněním. (Garabedian et al. 1997)

3.1. Stres endoplazmatického retikula

Endoplazmatické retikulum (ER) je velmi vytížený kompartment buňky, kde dochází k syntéze lipidů, úpravám nasyntetizovaných proteinů (například asistované sbalení proteinů do jejich 3D struktury) a funguje též jako zásobárna kationtů vápníku. Stres ER vzniká, pokud je kapacita ER narušena v důsledku nahromadění proteinů čekajících na úpravu a sbalení. Tento stav může nastat při nadměrné tvorbě velkých proteinů a proteinů, které potřebují složité modifikace. Aby k takovým situacím v buňce nedocházelo, existuje kontrolní signální dráha odpovídající na nesbalené proteiny (unfolded protein response, UPR). Pokud ER stres v buňce přetrvává, spouští UPR kaskádu, která vede k degradaci proteinů anebo apoptóze. Shrnutí v (Hetz et al. 2020)

Zásadní roli v jedné z větví UPR dráhy hraje protein IRE1 β (inositol-requiring enzyme 1 β), jehož delece vede ke zvýšení ER stresu. (Bertolotti et al. 2001) IRE1 β kontroluje expresi genu pro X-box vazebný protein 1 (XPB1, X-box-binding protein 1), jenž je transkripčním faktorem cílových genů UPR. (Calfon et al. 2002) XBP1 je zásadní pro vznik a udržování sekrečních buněk, jakými jsou v epitelu střeva buňky Panethovy a pohárkové. Jeden z výzkumných týmů v roce 2008 popsal, že delece genu *Xbp1* ve střevním epitelu myši vedla ke snížení počtu Panethových buněk i látek jimi produkovaných. U myši s touto delecí byly na dně krypty pozorovány Panethovy buňky v apoptotickém stavu. V případě, že byla *Xbp1*^{-/-} myš infikována gram pozitivní bakterií *Listeria monocytogenes*, populace této bakterie rostla a nedocházelo k produkci antibakteriálních látek. Ze studie vyplynulo, že pokud buňka (v tomto případě Panethova) není schopna odpovědět na ER stres, dochází k apoptóze a později ke snaze epitelu o regeneraci. Dále se ukázalo, že absence Panethových buněk úzce souvisí s rozvojem zánětlivých onemocnění střeva a s rozšířením patogenů v trávicí soustavě. (Kaser et al. 2008)

3.2. Antimikrobiální peptidy

V tenkém střevě jsou antimikrobiální peptidy (AMPs; antimicrobial peptides) produkovány a vylučovány Panethovými buňkami do lumen tenkého střeva, kde působí jako obranný mechanismus proti patogenům jako jsou bakterie, viry a plísňe. Mezi hlavní skupiny AMPs produkované v tenkém střevě patří defenziny a lysozym. Tyto a další AMPs, jako například fosfolipáza a RegIIIa (regenerating islet-derived protein IIIa), jsou klíčové pro udržení střevní homeostázy a ochranu střevní sliznice před infekcemi. Dysfunkce v produkci AMPs nebo jejich účinnosti může vést k narušení mikrobiomu a k poruchám střevní integrity a rozvoji zánětlivých onemocnění střev, jako je například Crohnova choroba nebo ulcerózní kolitida. Studium role

AMPs v tenkém střevě má význam pro výzkum následné léčby střevních onemocnění. Shrnuťo v (Clevers and Bevins 2013)

3.2.1. Defenziny

Jednou z širokospektrých antimikrobiálních látek, které Panethovy buňky exprimují, jsou peptidy α -defenziny. (Nakamura et al. 2020) Celá rodina těchto proteinů se označuje jako defenziny a vyskytují se ve třech formách, α -defenziny, β -defenziny a θ -defenziny. Lidské buňky exprimují pouze 6 různých α -defenzinů a 3 β -defenziny, zatímco θ -defenziny byly nalezeny pouze u primátů. Shrnuťo v (Ghosh et al. 2019; Xu a Lu 2020) Defenziny produkované Panethovými buňkami savců jsou označovány jako kryptidiny (spojení slov krypta a defenzin).

V tenkém střevě člověka se nachází dva kryptidiny, HD-5 a HD-6 (human defensin 5 a human defensin 6), které jsou kódovány geny *defensin alfa 5 (DEFA5)* a *defensin alfa 6 (DEFA6)*. Výskytem těchto dvou defenzinů výhradně v tenkém střevě bylo mimo jiné potvrzeno, že se Panethovy buňky neobjevují v žádné jiné části trávicí soustavy. (Mallow et al. 1996) Výzkum transgenních myší, do jejichž genomu byl vložen lidský gen *DEFA5*, ukázal, že na rozdíl od kontrolních myší s inaktivními defenziny bylo u myší s *DEFA5* objeveno jiné bakteriální složení v lumen střeva. Defenziny prokazatelně ovlivňují druhové složení bakterií střevního mikrobiomu, avšak ne jejich absolutní počet. (Salzman et al. 2010)

3.2.2. Lysozym

Výzkumné týmy v 60. a 70. letech minulého století ověřili, že granula nacházející se v Panethových buňkách obsahují (mimo jiné AMPs) také lysozym. (Deckx et al. 1967; Peeters and Vantrappen 1975) Lysozym je enzym účinně narušující buněčné stěny gram-pozitivních bakterií štěpením vazeb peptidoglykanů, které buněčná stěna obsahuje. Kromě této funkce bylo prokázáno i jeho fungicidní působení. (Woods et al. 2011) Vylučování lysozymu v dráze sekreční autofagie lze indukovat při reakci na bakteriální patogen, který v buňce způsobuje zvyšování stresu ER. (Bel et al. 2017)

Sekreční autofagie v Panethových buňkách je proces řízený proteinem Atg16L1 (autophagy related 16 like 1), jehož genová mutace vede k narušení vylučování lysozymu do lumen střeva a tím ke snížení obranyschopnosti střevního epitelu. (Bel et al. 2017) Jedním z dalších autofagozóm formujících Atg proteinů je protein LC3 (mikrotubule-associated 1 light chain 3). Ve studii LC3 proteinů vědci zjistili, že při infekci tenkého střeva myší se v cytoplazmě Panethových buněk objevila granula (autofagozomy) obsahující lysozym, ale žádné jiné mikrobiální látky. Výzkumníci tak naznačili, že střevní infekce může souviset s narušením balení a sekrece AMPs Panethových buněk a že vylučování lysozymu může být přesměrováno náhradní cestou zahrnující granula LC3, na rozdíl od fyziologické situace, kdy

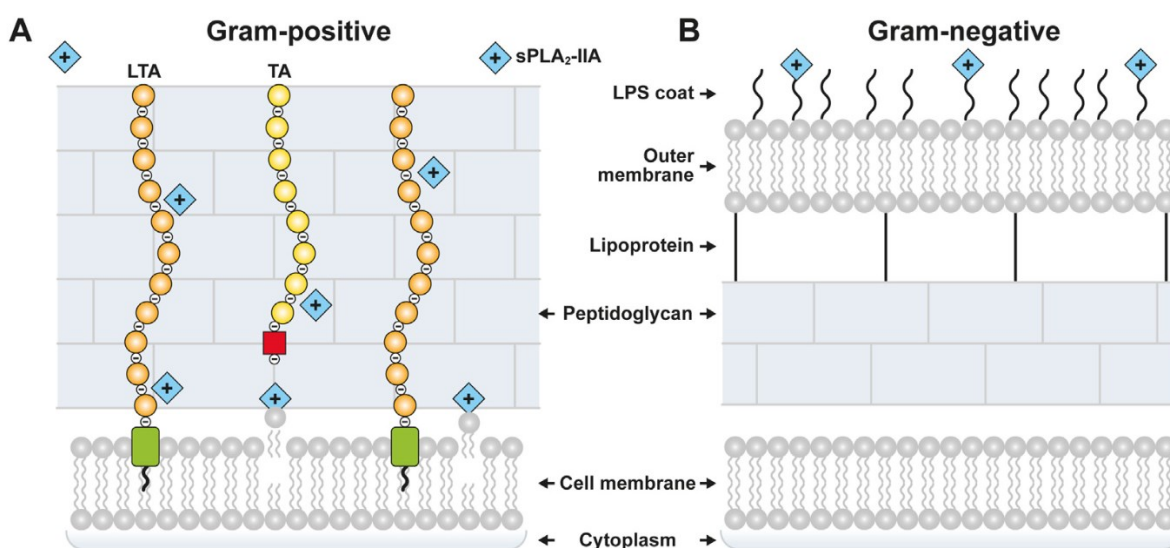
jsou proteiny baleny do granul tvořených jinými homologními Atg proteiny. Granula LC3 jsou pravděpodobně formována tehdy, pokud je buňka nadměrně zatížena například stresem ER. Shrnuto v (Mizushima et al. 2010; Bel et al. 2017)

3.2.3. Fosfolipáza A2

Fosfolipáza je enzym, který štěpí fosfolipidy na mastné kyseliny a lyzofosfolipidy. Uvolněné mastné kyseliny, jakou je například kyselina arachidonová, mohou následně sloužit jako prekurzory pro syntézu dalších látek. Konkrétně kyselina arachidonová je prekurzorem pro vznik prostaglandinů, které spouštějí zánět a další imunitní reakce v těle. Shrnuto v (Dore a Boilard 2019)

Existuje několik podtypů fosfolipáz, z nichž jedna je sekretovaná fosfolipáza A2 skupiny IIA (sPLA₂-IIA; secreted phospholipase A2 IIA). Tento konkrétní podtyp je vylučován mimo jiné i Panethovými buňkami na základě stimulů, jakými jsou interleukiny a TNF- α (tumor necrosis factor α). (Schewe et al. 2016; Dore a Boilard 2019)

Díky svému chemickému složení dokáží fosfolipázy jednoduše ničit gram-pozitivní bakterie. Naopak pro rozrušení buněčné stěny gram-negativních bakterií je zapotřebí jiných látek, například již zmíněného lysozymu. (Obr. 5)



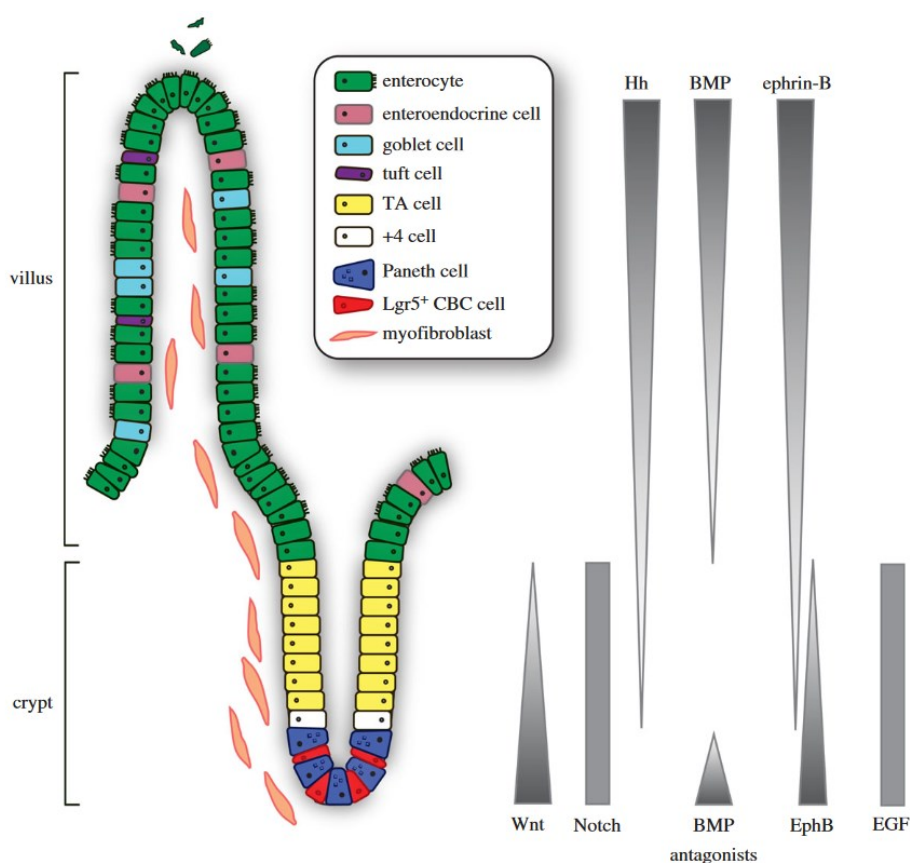
Obr. 5: Schopnost sPLA₂ skupiny IIA pronikat bakteriální buněčnou stěnou; A: Buněčná stěna grampozitivních bakterií je tvořena peptidoglykany, na které jsou ukotveny řetězce kyseliny teichoové (TA, ukotvení červený čtvereček). Stěnou dále procházejí řetězce kyseliny lipoteichoové (LTA), které jsou ukotvené v membráně (zelený obdélníček). Protože jsou obě kyseliny záporně nabitě, snadno se na ně naváže sPLA₂-IIA s pozitivním nábojem a proniká tak buněčnou stěnou až k cytoplazmatické membráně, kde narušuje vazby fosfolipidů. **B:** Buněčná stěna gramnegativních bakterií je také tvořena peptidoglykany. Na jejím povrchu se však navíc nachází vrstva vnější fosfolipidové membrány. Ta sama o sobě by podléhala štěpení sPLA₂-IIA, ale je chráněna lipopolysacharidovými řetězci (LPS coat), které membránu chrání proti degradaci. Převzato z review (Dore and Boilard 2019)

3.2.4. RegIIIA

Lidský protein RegIIIA (homologem u myši je RegIII γ) je členem rodiny proteinů zvaných regenerační proteiny patřící mezi lektiny C-typu. Lektiny všeobecně jsou velké proteiny, které se dokážou specificky vázat na cukry. RegIIIA má antimikrobiální vlastnosti díky této své schopnosti vázat se na lipopolysacharidy na povrchu bakteriálních buněk a narušovat tak jejich membrány. Jeho produkce Panethovými buňkami je indukována během zánětu a poškození epitelu tenkého střeva. To, jak přesně RegIIIA v procesu regenerace a signalizace působí, je stále otázkou dalších výzkumů. Ze studií vyplývá, že jeho role v obranyschopnosti nejen tenkého střeva je velmi významná. Shrnutí v (Shin and Seeley 2019)

3.3. Signální dráhy aktivované Panethovými buňkami

Panethovy buňky přispívají k udržení homeostázy v tenkém střevě syntézou signálních molekul několika drah. První z nich je Wnt signální dráha, která pomáhá při zachování kmenovosti ISCs. Další významnou dráhou nejen pro ISCs je Notch signalizace, jejíž aktivace určuje vznik absorpční linie buněk tenkého střeva. (Tian et al. 2015) Signální molekuly dráhy EGF, jež jsou produkovány Panethovými buňkami, umožňují proliferaci ISCs. (Basak et al. 2017) (Obr. 6) Rozdílné signální gradienty v rámci tenkého střeva rozhodují o osudu buněk a jejich dysfunkce může zásadním stylem ovlivnit vývoj epitelu.



Obr. 6: Gradienty signálních molekul v rámci epitelu tenkého střeva; Panethovy buňky nejsou jedinými producenty důležitých signálních molekul. Ostatní buňky střevního epitelu a buňky nacházející se pod epitelem, jako například myofibroblasty, také pomáhají v syntéze proteinů účastnících se signalizace. V kryptě jsou produkovány signální molekuly dráhy Wnt, Notch a EGF. Na dně krypty je také značně produkován receptor EphB (erythropoietin-producing human hepatocellular carcinoma receptor B) a naopak na vrcholu klku jeho ligand ephrin-B, jež svou signalizací určuje pozici buněk v rámci epitelu. Rovněž na vrcholu klku je ve velké míře produkován signál BMP, jež je zásadní pro diferenciaci buněk, a Hh (hedgehog), který hraje roli v proliferaci a přežívání diferencovaných buněk. Aby byla na dně krypty udržena kmenovost ISCs, jsou zde produkovány také molekuly zabraňující BMP jejich případné aktivitě (BMP antagonists). Převzato z review (Spit et al. 2018)

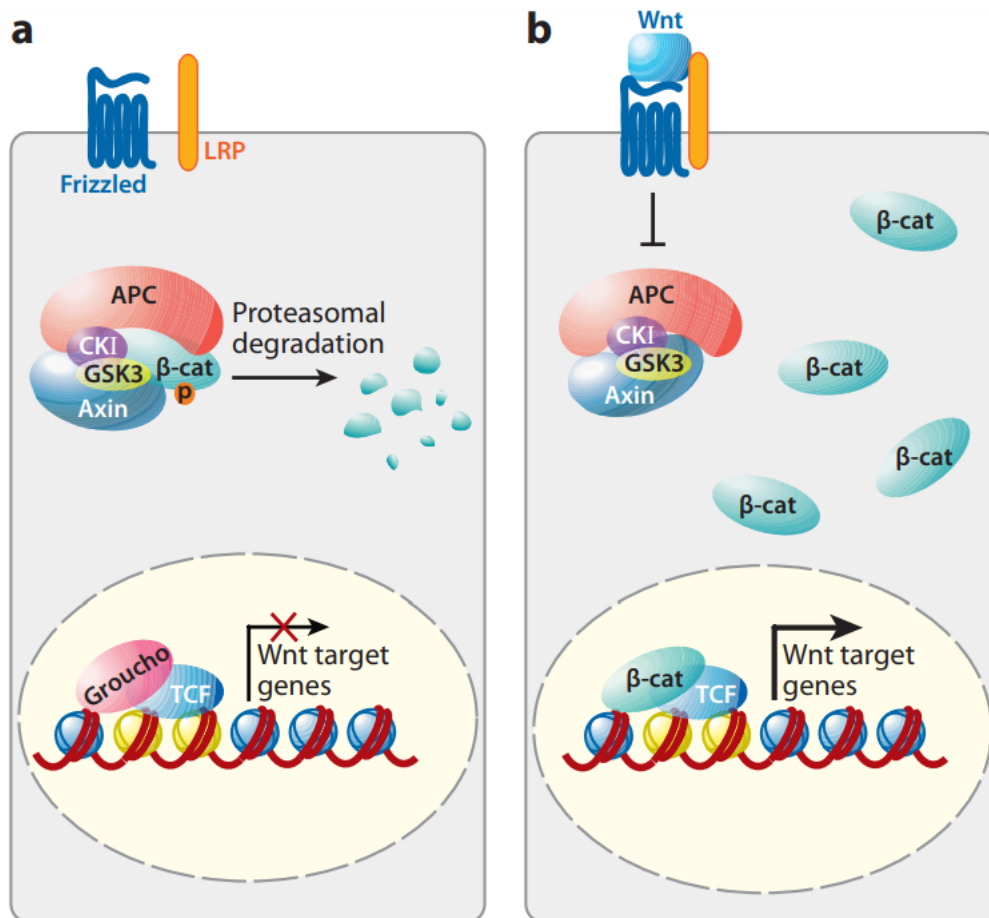
3.3.1. Signální dráha Wnt

Signální dráha Wnt je jedna z nejvíce prozkoumaných drah a evolučně velice konzervovaných procesů napříč živočišnou říší. Účastní se celé řady dějů v organismu včetně embryonálního vývoje, kde mají Wnt ligandy roli morfogenů určujících dorzo-ventrální osu těla. (Wilkinson et al. 1987; McMahon and Moon 1989; Lyuksyutova et al. 2003) Mezi další procesy, na nichž se Wnt signální dráha podílí, patří buněčné dělení, proliferace a diferenciaci buněk při obnově a růstu tkání. Panethovy buňky a mezenchymové buňky nacházející se pod kryptou tyto signální molekuly exprimují. Panethovy buňky konkrétně sekretují Wnt3 ligandy, a tím zásadně ovlivňují fungování buněk ve svém okolí. Signální dráha Wnt je zásadní pro udržování ISCs v nediferencovaném stavu a zároveň dozrávání buněk Panethových. Shrnutí v (Clevers and Nusse 2012; Krausova and Korinek 2014)

Wnt signální dráha obsahuje několik signálních drah (anglicky branches), které jsou aktivovány v cílové buňce prostřednictvím vázání signálního ligandu Wnt na jeho membránový receptor. Rozlišujeme kanonickou a dvě nekanonické dráhy podle toho, jaké typy ligandů a receptorů se jich účastní, a zda v nich má svou funkci transkripčního faktor β -katenin. Shrnutí v (Nusse 2012) Následující část práce se zaměří právě na popis kanonické Wnt signální dráhy, kde β -katenin figuruje.

Sekretované Wnt signální molekuly jsou glykoproteiny, které se vážou na transmembránový receptor Frizzled a jeho lipoproteinový koreceptor 5/6 (LRP5/6, lipoprotein receptor-related protein 5/6). (Vinson a Adler 1987; Bhanot et al. 1996; Wehrli et al. 2000) Pokud není tento signál na receptorech zachycen, dochází k fosforylaci β -kateninu casein kinázou 1 α (CK1 α) a kinázou glykogen syntázy 3 β (GSK3 β). CK1 α i GSK3 β jsou součástí tzv. destrukčního komplexu β -kateninu, jehož kostru tvoří proteiny APC (tumor-supresorový protein APC, adenomatous polyposis coli) a Axin (axis inhibition). Destrukční komplex je aktivní pouze při neaktivní Wnt signalizaci. Při aktivní signalizaci se Wnt molekuly navážou na již zmíněné receptory v cytoplazmatické membráně a rekrutují protein Dishevelled (Dsh,

popřípadě Dvl). Dsh interaguje s destrukčním komplexem β -kateninu, ten se částečně rozpadá a nedochází tak k fosforylaci β -kateninu a jeho následné ubikvitinaci a degradaci v proteazomu buňky. Shrnutí v (Nusse 2012; Krausova a Korinek 2014)



Obr. 7: Schéma kanonické Wnt signální dráhy; **a** Pokud buňka nezaznamená signál Wnt membránovými receptory Frizzled a jeho koreceptorem LRP, β -katenin se váže na destrukční komplex složený z proteinů APC, CK1, GSK3 a Axinu, kde je β -katenin označen fosforylací (P) pro degradaci v proteazomu buňky. Není tedy transportován do jádra, kde je tím pádem nadále pozastavena transkripce cílových genů vazbou represoru Groucho na transkripční faktor TCF. **b** Pokud dojde k vazbě Wnt signální molekuly na receptor, deaktivuje se destrukční komplex. β -katenin se stabilizuje v cytoplasmě, odkud je následně transportován do jádra, kde vytěsňuje protein Groucho a naváže se na transkripční faktor TCF. V tomto případě dochází k aktivní transkripci cílových genů. Převzato z review (Flier and Clevers 2009)

Po stabilizaci a nahromadění β -kateninu v buněčné cytoplasmě je pomocnými transportními proteiny dopraven do jádra, kde vytěsňuje protein Groucho. Groucho se váže na transkripční faktory z rodiny TCF/LEF (T cell factor/lymphoid enhancer factor) a působí tedy jako transkripční represor. Při aktivaci Wnt signální dráhy se β -katenin naváže na TCF, zprostředkuje vazbu dalších koaktivátorů a společně tak aktivují transkripci cílového genu. Shrnutí v (Huelsenken and Behrens 2002; H. Clevers and Nusse 2012; Stastna et al. 2019)

3.3.2. Signální dráha Notch

Signalizace Notch (česky vrub) byla pojmenována podle znaku vroubkovaných křídel mutantního jedince octomilky, který byl poprvé popsán v roce 1914 (Dexter 1914), a je zásadní dráhou určující osud buněk. Účastní se dějů, jakými jsou proliferace buněk, jejich diferenciaci a apoptóza. Tato signální dráha je specifická v tom, že působí na krátkou vzdálenost při kontaktu dvou buněk. Zatímco první buňka produkuje receptory, které zachycují signál Notch, vedlejší buňka na druhou stranu produkuje Notch signální molekuly a sama má Notch dráhu inaktivní. (Sprinzak et al. 2010); Shrnutí v (Spit et al. 2018)

Panethovy buňky díky své produkci signálních molekul Dll4 (delta like canonical Notch ligand 4), které jsou vystavovány na povrchu buňky, udržují zásadním způsobem niku ISCů na dně krypty. (VanDussen et al. 2012; Shimizu et al. 2014) ISCů naopak na svém povrchu vystavují receptory, které na tyto signály reagují. Pokud ISCů zaznamená molekuly Dll4, dojde k uvolnění intracelulární domény NICD (notch intracellular domain) rozštěpením jeho vazby na Notch receptor pomocí sekretázy γ . NICD je po svém uvolnění do cytoplazmy přesunut do jádra, kde se váže na transkripční faktor z rodiny CSL (název proteinu vznikl spojením názvů homologních proteinů u *H. sapiens*/*M. musculus*, *D. melanogaster* a *C. elegans*) a společně spouští transkripci cílových genů. Shrnutí v (Clevers 2013)

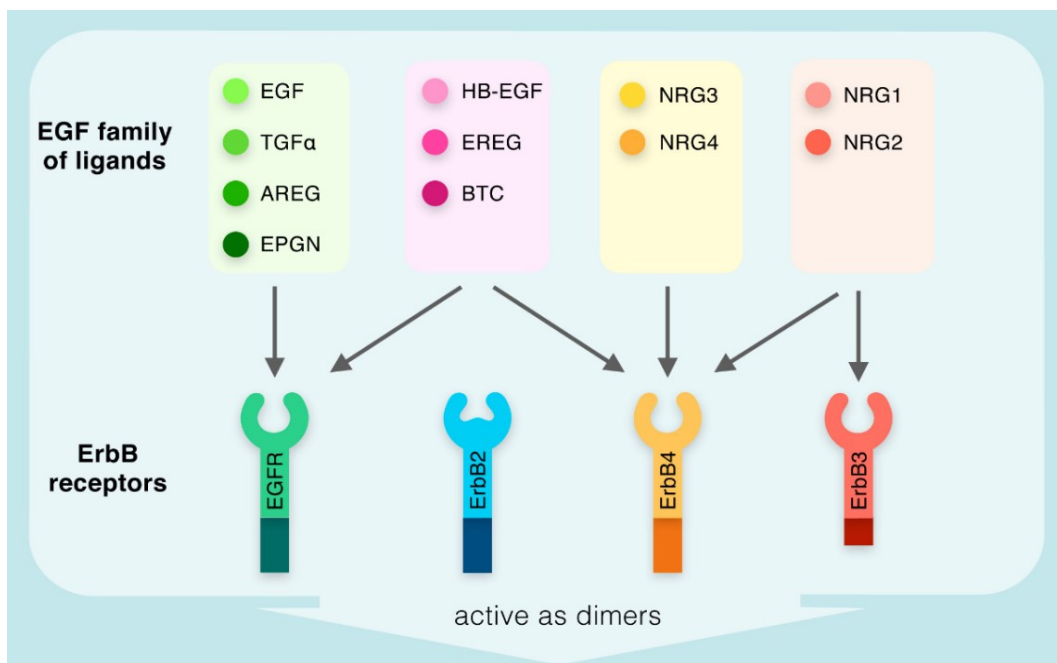
Jedním z cílových genů signalizace Notch je například gen pro protein Hes1 (hairly and enhancer of split 1). Hes1 je transkripčním represorem proteinu Math1 (mouse atonal homolog 1), jehož funkcí je spouštět transkripci genů určujících vznik linie sekrečních buněk ve střevě (tedy vznik buněk pohárkových, Panethových a enteroendokrinních). (van Es et al. 2010) Pokud buňka zaznamená signál Notch, dochází ke vzniku buněk absorpčních (enterocytů). Experimenty s radiací a indukci Notch signálu v Panethových buňkách dokonce vedly ke zjištění, že aktivní Notch signalizace v těchto buňkách souvisí se změnami osudu Panethových buněk a jejich možností dediferencovat na multipotentní buňky. (Yu et al. 2018)

3.3.3. Signální dráha EGF

Existují čtyři druhy receptorů reagujících na signální molekuly z rodiny EGF. (Obr. 8) Tyto receptorové jednotky fungují ve formě dimerů (homodimerů nebo heterodimerů), a při navázání patřičných ligandů dochází k jejich aktivaci. Shrnutí v (Abud et al. 2021) Jedním z EGF receptorů je receptor ErbB3 (epidermal growth factor receptor 3), jehož aktivace naopak negativně ovlivňuje diferenciaci Panethových buněk na dně krypty. Delece ErbB3 vedla u Panethových buněk k jejich rychlejšímu dozrávání a na rozdíl od ostatních sekrečních buněk vedla také ke zvýšené expresi genu pro Math1, jež dává vznik sekreční linii buněk střevního

epitelu. (Almohazey et al. 2017) ErbB4 receptor naproti tomu přispívá k udržení Panethových buněk a ligandy vázající se na tento receptor fungují v buňce protiapoptoticky. (McElroy et al. 2014)

Ligandy EGF produkované Panethovými buňkami působí na receptory ISCs na dně krypty, a jsou tak schopny stimulovat jejich proliferaci. Výzkum této signální dráhy na organoidech prokázal, že při absenci receptorů pro signál EGF zůstávají ISCs na rozhraní fází G0/G1 a nedochází tak k jejich dělení. Přitom si ale ISCs ponechaly svou kmenovost a při opětovné indukci EGF bez problémů zahájily přechod do proliferační fáze buněčného cyklu. (Basak et al. 2017)



Obr. 8: Schéma rodiny ligandů EGF a jejich receptorů ErbB; Jednotlivé receptory fungují jako dimery. Po navázání ligandu na každý z receptorů (tedy jedna molekula ligandu na jeden dimer), dochází k jejich aktivaci a spuštění signálních kaskád v buňce. Převzato z review (Abud et al. 2021), upraveno

4. Myší modely

Pro studium funkce Panethových buněk ve střevní tkáni se využívají především laboratorní myši (*Mus musculus*). Myší modely jsou klíčovým nástrojem výzkumu rakovinných onemocnění, zánětlivých onemocnění střeva (IBD, inflammatory bowel disease), jako je Crohnova choroba a ulcerózní kolitida, apod. Myši jsou využívány k pochopení funkce jednotlivých epitelových buněk, patofyziologie IBD, testování nových léčebných přístupů a zkoumání mechanismů, které vedou ke vzniku a postupu onemocnění. Ačkoli mají myší modely svá omezení a nelze na nich demonstrovat přesné fungování lidského organismu, poskytují cenné poznatky a přispívají k pokroku ve výzkumu.

Myší modely s IBD jsou obvykle vytvářeny buď genetickou manipulací myších kmenů nebo chemickými či imunologickými podněty. Genetické modely využívají myši s mutacemi v genech spojených se zánětem a imunitní odpovědí, což umožňuje studium specifických aspektů IBD. Na druhou stranu chemické a imunologické modely zahrnují aplikaci látek, které vyvolávají zánět střeva u zdravých myši nebo myších kmenů s predispozicí k IBD. Shrnutí (Wirtz a Neurath 2007) Bakalářská práce je zaměřena na modely související se změnami fungování Panethových buněk, které velmi často vedou k takovým onemocněním.

V předešlé kapitole o stresu endoplazmatického retikula byl zmíněn myší model *Xbp1*^{-/-}. Jedná se o myš, u které došlo k delecí genu *Xbp1* pro transkripční faktor Xbp1. Tento model vykazoval sníženou produkci AMPs a zvýšení ER stresu v Panethových buňkách, který v konečném důsledku způsobil jejich apoptózu. Epitel s touto delecí měl větší predispozici pro infekční onemocnění způsobené vystavením patogenu. (Kaser et al. 2008) IRE1, který za zvýšeného stavu ER stresu aktivuje transkripci proteinu Xbp1, dále aktivuje i signální dráhu zahrnující JNK (cJun N-terminální kináza). (Urano et al. 2000) V případě deletovaného genu *Xbp1* aktivuje IRE1 především transkripci JNK, která vede k následné buněčné apoptóze. (Q. Yang et al. 2006) Myší model *Xbp1*^{-/-} také posloužil pro studium souvislosti Xbp1 se vznikem Crohnovy choroby, a potvrdil tím významnou úlohu Panethových buněk v tomto onemocnění. (Adolph et al. 2013) Ve stejné studii byl vygenerován myší model *Defa6-iCre*, který se stal v dnešní době při výzkumu Panethových buněk velmi používaným. Kmen *Defa6-iCre* exprimuje rekombinázu iCre (upravená Cre) z promotoru *Defa6* Panethových buněk. iCre vyštěpuje sekvenci DNA, jež se nachází mezi dvěma loxP místy. V tomto případě se jednalo o vyštěpení prvního exonu genu *Xbp1*, čímž došlo k jeho odstranění. (Adolph et al. 2013)

Myši s delecí genu pro interleukin IL-17R jsou významnými modelovými organismy pro imunologické výzkumy. Interleukiny jsou signální molekuly ze skupiny cytokinů stimulující vylučování AMPs z Panethových buněk. Pokud je tento gen odstraněn, přichází epitel střeva o významnou antimikrobiální funkci. Výzkumníci otestovali na těchto myších modelech vznik IBD vyvolaný na základě chemické látky DSS (dextran sulfát sodný). U myši s delecí IL-17R byla po podání DSS vyšší pravděpodobnost vzniku zánětu, na rozdíl od kontrolních myši, a vykazovaly též změny ve složení mikrobiomu. (Brabec et al. 2023)

Jedním z vhodných myších modelů pro výzkum zánětlivých onemocnění střeva (IBD), který nepřímo souvisí s Panethovými buňkami, jsou myši rodu SAMP1/YitFc vytvořené z kmene SAM myši (senescence accelerated mouse, rychle stárnoucí myši). (Matsumoto et al. 1998) Výzkumníci díky tomuto modelu, jehož zánět se tvoří spontánně v průběhu života, objevili souvislost mezi výskytem IBD u SAMP1/YitFc myši a Crohnovou chorobou u lidí.

Epiteliální buňky se v kryptách ilea v obou případech vyznačovaly sníženou expresí genu *Pparg* (peroxisome proliferator-activated receptor gamma). (Sugawara et al. 2005) *Pparg* je gen kódující transkripční faktor podílející se na metabolismu cukrů a tuků a reguluje prozánětlivé odpovědi v kryptě střeva. Shrnutí v (Caioni et al. 2021) Následné studium protizánětlivých účinků genu *Pparg* by mohlo výrazně přispět k pochopení problematiky vzniku IBD.

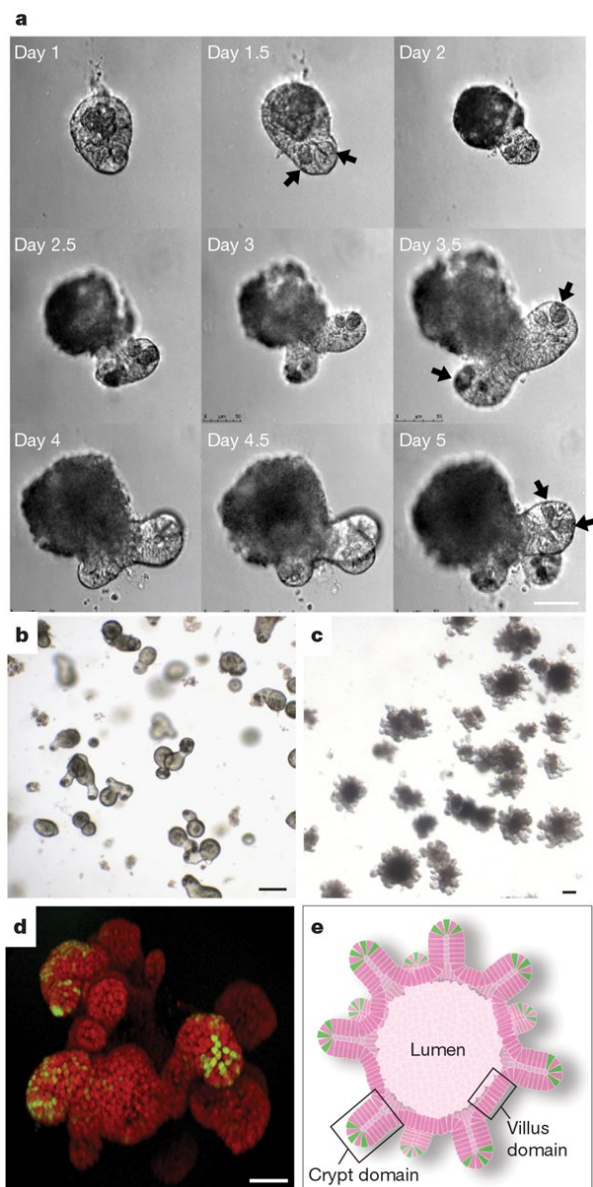
4.1. Organoidy

Je jisté, že žádný z modelových organismů nemůže zcela vysvětlit fungování lidského organismu. Ačkoli jsou rozdíly ve fungování trávicího traktu mezi savci malé, je důležité ověřovat fakta získaná při studiu myši zároveň u lidí. Za tímto účelem by mohla být použita relativně nová technologie tvorby modelových organoidů.

Organoidy jsou třídímenzionální kultury buněk vytvořené *in vitro*, které simulují strukturální a funkční vlastnosti skutečných orgánů nebo tkání živého organismu. (Sato et al. 2009) Organoidy jsou vytvářeny z ISCů a umožňují zkoumání biologických procesů a léčiv v prostředí, které je blízké fyziologickým podmínkám v reálných orgánech. Pro vznik střevního organoidu by měly být přítomny nejen ISCů ze dna krypt, ale i Panethovy buňky. Organoidy, které Panethovy buňky neobsahují, vznikají s menší četností. (Sato et al. 2011)

Při tvorbě organoidu jde především o vytvoření modelu epitelu střeva bez mezenchymálních a imunitních buněk, které se v živém systému nacházejí pod buňkami epitelu. (Sato et al. 2009) Jedna z výhod *in vitro* modelu je, že můžeme studovat specifickou funkci epiteliálních buněk. Naopak přicházíme o komplexní pohled na fungování střeva *in vivo*. I tento problém se dá do určité míry vyřešit kokultivací mezenchymálních buněk spolu s organoidy. (Berková et al. 2023)

Nejen, že lze využívat organoidy z vyizolovaných krypt myších modelů a zmenšit tak množství použitých pokusných zvířat, vědci v dnešní době vytvářejí také lidské organoidy. (Spence et al. 2011) Zajímavým přístupem je pěstování organoidů pacientům na míru umožňující individuálně definovat stav a léčbu konkrétního člověka. Shrnutí v (Angus et al. 2020) Tato technologie je ovšem ve svých začátcích, studium organoidů ale může do budoucna poskytnout přímé poznatky o komplexním fungování střevního epitelu a imunitního systému střeva, střevní mikrobiotě a patologických stavech jako jsou Crohnova choroba a ulcerózní kolitida. Tyto modely mohou být také využity k testování léčiv a potenciálních terapií pro onemocnění střevního traktu. Shrnutí v (Clevers and Bevins 2013)



Obr. 9: Tvorba modelu střeva (organoidu) *in vitro*;
a Mikroskopické snímky růstu jedné krypty v rámci dní. Šipky označují Panethovy buňky na dně krypty. Ze snímků je zřejmé, že se postupným vývojem krypty uvolňují starší buňky do dutiny nad kryptou. **b** Mikroskopický snímek organoidů 5. den po začátku kultivace. **c** Mikroskopický snímek organoidů 14. den po začátku kultivace. **d** 3D snímek z konfokálního mikroskopu zachycující organoid po 3 týdnech po začátku kultivace. Zelená barva označuje kmenové buňky ve výběžcích připomínající krypty. Červená barva je zde použita jako kontrastní a barví jádra buněk. **e** Model organoidu se znázorněnými kryptovými doménami (crypt domain) a oblastmi odpovídajícími klkům (villus domain). Uprostřed organoidu se nachází dutina modelující lumen střeva. Převzato z (Sato et al. 2009)

5. Zánětlivá onemocnění střeva

Zánětlivá onemocnění střeva jsou skupinou chronických onemocnění, jimiž podle statistik trpí více než 5,5 milionů lidí po celém světě. Shrnuje v (Ananthakrishnan et al. 2020) Mezi nejčastější typy tohoto onemocnění patří Crohnova choroba a ulcerózní kolitida, projevující se především zánětem sliznice střeva, průjmy, bolestmi břicha a dalšími příznaky, které často postihují i jiné orgánové soustavy. (Halling et al. 2017) V obou případech byla zjištěna porucha střevní bariéry a rozvolňování těsných spojů mezi jednotlivými buňkami střevního epitelu. Toto porušení jednovrstevného epitelu (často nazývané jako „leaky gut“ neboli propustné střevo) umožňuje patogenům prostoupit mezi buňkami epitelu a tím způsobovat záněty. (Heller et al. 2005; Zeissig et al. 2007) Diagnóza Crohnovy choroby i ulcerózní kolitidy zahrnuje endoskopické a radiologické vyšetření, histologické zkoumání a pozorování symptomů, které

s nemocemi souvisejí. Shrnuto v (Nikolaus a Schreiber 2007) Léčba těchto chorob v dnešní době vyžaduje úpravu jídelníčku, imunosupresivní látky a v poslední řadě také operativní zákroky při zhoršení stavu pacienta. Přestože faktory ovlivňující vývoj zánětu střeva mají komplexní charakter a nelze tak nalézt jeden specifický účinný lék, přicházejí výzkumníci s pokroky ve studiu těchto příčin a budoucích možností léčby.

5.1. Crohnova choroba

Crohnova choroba je chronické zánětlivé onemocnění, které může postihnout jakoukoliv část gastrointestinálního traktu. Nejčastěji zasahuje ileum a tlusté střevo. Crohnova choroba může mít značný dopad na kvalitu života pacientů, jelikož se pojí s příznaky jako jsou bolesti břicha, průjmy, únava, nevolnost, hubnutí a chronický nedostatek vitaminů a minerálů, které jsou za normálních okolností ze střeva vstřebávány. Shrnuto v (Torres et al. 2017) Přesná příčina Crohnovy choroby není zcela známá, ale zahrnuje kombinaci genetických, imunitních a environmentálních faktorů. Crohnova choroba je chronické a progresivní onemocnění. Vhodným řízením a léčbou lze dosáhnout potlačení nemoci a zlepšit kvalitu života pacientů. Shrnuto v (Torres et al. 2017; Yang and Shen 2021)

Některé poruchy funkce Panethových buněk a jejich produkce AMPs jsou spojeny právě s vývojem Crohnovy choroby. (Wehkamp 2007) Sekrece AMPs, jako jsou defenziny a lysozym, chrání střevní sliznici před infekcí a udržuje střevní mikrobiální rovnováhu. Dosavadní studie naznačují, že úplná ztráta exprese AMPs může vést k poruše střevní mikrobiální homeostázy a zvýšené náchylnosti k infekcím a zánětlivým reakcím ve střevě. Shrnuto v (Alula a Theiss 2023)

Mikroorganismy žijící v našem trávicím traktu mohou skrze své metabolity způsobovat nerovnováhu v lumen střeva a tím přispívat k rozvoji ER stresu v našich buňkách. (Ke et al. 2021) UPR je klíčovým mechanismem umožňující buňkám zvládat stresové podněty a nadměrnou expresi proteinů. Panethovy buňky jsou schopny tyto ochranné odpovědi aktivovat a udržovat svou funkci. Jedním z takových pomocných procesů může být autofagie. Autofagie je děj, během něhož jsou molekuly a buněčné části degradovány a recyklovány. Dysfunkce tohoto procesu může vést k rozvoji zánětlivých onemocnění. Shrnuto v (Alula a Theiss 2023) U pacientů s Crohnovou chorobou byla objevena mutace genu účastnicího se autofagie *Atg16L1*, která vede k poruše v balení a sekreci lysozymu. (Bel et al. 2017) V souvislosti se zvýšeným stresem ER u Panethových buněk a touto mutací dochází u pacientů s Crohnovou chorobou ke změnám složení mikrobiomu a narušení homeostázy. (Deuring et al. 2014) U nově rozpoznávaných pacientů ve věku 3 až 17 let bylo určeno několik druhů bakterií, které svou

přítomností přispívají ke vzniku zánětu. Ve střevě se namísto běžných anaerobních druhů začaly vyskytovat spíše druhy aerobní anebo fakultativně anaerobní. (Gevers et al. 2014)

Léčba Crohnovy choroby v dnešní době často zahrnuje léky, které mají značnou míru vedlejších účinků, proto by klinické výzkumy mikrobiomu a jeho změn u pacientů trpících Crohnovou chorobou mohly vést k zavedení šetrnější léčby, která by souvisela s nahrazením patogenních a nepříznivých druhů mikroorganismů za ty prospěšné, které přispívají k udržování zdravého střeva. Shrnutí v (De Conno et al. 2022)

5.2. Ulcerózní kolitida

Ulcerózní kolitida je chronické zánětlivé onemocnění tlustého střeva, nicméně u některých pacientů může být postiženo i tenké střevo, zejména v případech rozsáhlých a závažných forem onemocnění. (Hamilton et al. 2016)

Toto onemocnění obvykle začíná postupně s mírnými příznaky, jako jsou bolesti břicha, křeče, průjmy, horečka a únava. Postupem času se může zánět šířit a způsobit vznik vředů (ulcerací) na povrchu střevní sliznice. Mezi vážnější příznaky ulcerózní kolitidy patří hnisavý výtok nebo krvácení z konečníku, váhová ztráta a časté nutkání k vyprazdňování. Onemocnění je spojováno i s extraintestinálními projevy, například záněty kloubů, kožní projevy, oční problémy nebo zánět jater. Shrnutí v (Gizard et al. 2014; Halling et al. 2017)

Ačkoli se Panethovy buňky za normálního stavu v tlustém střevě neobjevují, při ulcerózní kolitidě je z histologických vyšetření patrné, že buňky typické pro epitel tlustého střeva jsou nahrazovány buňkami Panethovými, které zde vytvářejí tzv. metaplazie Panethových buněk. (Tanaka et al. 2001; Bedini et al. 2014) Spojení zánětlivých onemocnění s metaplaziemi Panethových buněk není v současné době dostatečně prozkoumáno a čeká na detailní vědeckou analýzu. Vědci momentálně diskutují o metaplaziích jako o reakci epitelu na patologické mikroorganismy ve střevě. Produkci AMPs Panethovými buňkami je tlusté střevo proti těmto patogenům lépe chráněno. Shrnutí v (Singh et al. 2020)

6. Závěr

Jednou z našich primárních biologických potřeb je potřeba konzumace potravy. Spolu s živinami, vitaminy a stavebním materiálem pro naše tělo do svého organismu vnášíme značné množství cizorodých látek a různých mikroorganismů. Naše trávicí soustava musí být připravena tyto látky zpracovávat a vstřebávat a zároveň tělo neustále chránit před škodlivinami z prostředí. Významnými ochránci našeho tenkého střeva jsou Panethovy buňky nacházející se na dně Lieberkühnových krypt. Z dosavadních výzkumů víme, že Panethovy buňky mají důležité funkce v několika dějích včetně imunitních odpovědí, tvoří niku pro kmenové buňky a mají vliv na složení mikrobiomu střeva. Narušení jedné či více jejich funkcí vede ke vzniku patologií jako například Crohnova choroba, která v konečném důsledku může způsobit rakovinu střeva.

Ačkoli studií zabývajících se Panethovými buňkami a jejich rolí v patologiích existuje mnoho, výzkum těchto zajímavých hráčů na poli imunity má do budoucna potenciál vést k novým objevům ve způsobech léčby zánětlivých onemocnění. Poslední dekádu se diskutuje možnost budoucího využívání organoidů jako transplantačního materiálu pro poškozený epitel, a především využití organoidů pro individuální zkoumání léčebných postupů pro konkrétního pacienta. Velká část informací, které byly objeveny a řečeny nejsou stále dopodrobna prozkoumány. Jedna z neověřených hypotéz se týká vzniku metaplázií Panethových buněk v tlustém střevě, která uvažuje tuto strukturu jako potenciální obranný mechanismus epitelu vystaveného patogenům.

Z mého pohledu je výzkum Panethových buněk pilířem pro porozumění komplexním dějům v tenkém střevu. Nejen to, význam našeho střeva pro fungování celého organismu je nepostradatelný. Funkce střeva jako imunitního orgánu a našeho druhého „mozku“ si zaslouží další studium. Postupem času se ukazuje, že patologie spojené se střevem souvisí s genovou predispozicí jen do jisté míry. Člověk může tyto predispozice velmi ovlivnit svým životním stylem. Měli bychom tedy dbát na správnou životosprávu – dostatek spánku a pohybu, vyhýbat se toxickým látkám, stresovým situacím a věnovat pozornost svému jídelníčku a vyvážené stravě. Ne nadarmo se říká – jsme to, co jíme.

7. Přehled použité literatury

- Abud, Helen E., Wing Hei Chan, a Thierry Jardé. 2021. „Source and Impact of the EGF Family of Ligands on Intestinal Stem Cells". *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9 (červenec): 685665. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.685665>.
- Adolph, Timon E., Michal F. Tomczak, Lukas Niederreiter, Hyun-Jeong Ko, Janne Böck, Eduardo Martinez-Naves, Jonathan N. Glickman, et al. 2013. „Paneth Cells as a Site of Origin for Intestinal Inflammation". *Nature* 503 (7475): 272–76. <https://doi.org/10.1038/nature12599>.
- Almohazey, Dana, Yuan-Hung Lo, Claire V. Vossler, Alan J. Simmons, Jonathan J. Hsieh, Edie B. Bucar, Michael A. Schumacher, et al. 2017. „The ErbB3 Receptor Tyrosine Kinase Negatively Regulates Paneth Cells by PI3K-Dependent Suppression of Atoh1". *Cell Death and Differentiation* 24 (5): 855–65. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.27>.
- Alula, Kibrom M., a Arianne L. Theiss. 2023. „Autophagy in Crohn's Disease: Converging on Dysfunctional Innate Immunity". *Cells* 12 (13): 1779. <https://doi.org/10.3390/cells12131779>.
- Ananthakrishnan, Ashwin N., Gilaad G. Kaplan, a Siew C. Ng. 2020. „Changing Global Epidemiology of Inflammatory Bowel Diseases: Sustaining Health Care Delivery Into the 21st Century". *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association* 18 (6): 1252–60. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.01.028>.
- Angus, Hamish C. K., A. Grant Butt, Michael Schultz, a Roslyn A. Kemp. 2020. „Intestinal Organoids as a Tool for Inflammatory Bowel Disease Research". *Frontiers in Medicine* 6 (leden). <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00334>.
- Basak, Onur, Joep Beumer, Kay Wiebrands, Hiroshi Seno, Alexander van Oudenaarden, a Hans Clevers. 2017. „Induced Quiescence of Lgr5+ Stem Cells in Intestinal Organoids Enables Differentiation of Hormone-Producing Enteroendocrine Cells". *Cell Stem Cell* 20 (2): 177-190.e4. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.11.001>.
- Bedini, Oscar Alfredo, Ariel Naves, Patricia San Miguel, Arturo Quispe, a Carolina Guida. 2014. „[Metaplastic Paneth cells in ulcerative colitis]". *Acta gastroenterologica Latinoamericana* 44 (4): 285–89.
- Bel, Shai, Mihir Pendse, Yuhao Wang, Yun Li, Kelly A. Ruhn, Brian Hassell, Tess Leal, Sebastian E. Winter, Ramnik J. Xavier, a Lora V. Hooper. 2017. „Paneth cells secrete lysozyme via secretory autophagy during bacterial infection of the intestine". *Science* 357 (6355): 1047–52. <https://doi.org/10.1126/science.aal4677>.
- Berková, Linda, Hassan Fazilaty, Qiutan Yang, Jan Kubovčiak, Monika Stastna, Dusan Hrckulak, Martina Vojtechova, et al. 2023. „Terminal differentiation of villus tip enterocytes is governed by distinct Tgfβ superfamily members". *EMBO reports* 24 (9): e56454. <https://doi.org/10.15252/embr.202256454>.
- Bertolotti, Anne, XiaoZhong Wang, Isabel Novoa, Rivka Jungreis, Karni Schlessinger, Judy H. Cho, A. Brian West, a David Ron. 2001. „Increased Sensitivity to Dextran Sodium Sulfate Colitis in IRE1β-Deficient Mice". *The Journal of Clinical Investigation* 107 (5): 585–93. <https://doi.org/10.1172/JCI11476>.
- Bhanot, Purnima, Marcel Brink, Cindy Harryman Samos, Jen-Chih Hsieh, Yanshu Wang, Jennifer P. Macke, Deborah Andrew, Jeremy Nathans, a Roel Nusse. 1996. „A New Member of the Frizzled Family from Drosophila Functions as a Wingless Receptor". *Nature* 382 (6588): 225–30. <https://doi.org/10.1038/382225a0>.
- Caioni, Giulia, Angelo Viscido, Michele d'Angelo, Gloria Panella, Vanessa Castelli, Carmine Merola, Giuseppe Frieri, Giovanni Latella, Annamaria Cimini, a Elisabetta Benedetti. 2021. „Inflammatory Bowel Disease: New Insights into the Interplay between Environmental Factors and PPARγ". *International Journal of Molecular Sciences* 22 (3): 985. <https://doi.org/10.3390/ijms22030985>.
- Calfon, Marcella, Huiqing Zeng, Fumihiko Urano, Jeffery H. Till, Stevan R. Hubbard, Heather P. Harding, Scott G. Clark, a David Ron. 2002. „IRE1 Couples Endoplasmic Reticulum Load to Secretory

- Capacity by Processing the XBP-1 mRNA". *Nature* 415 (6867): 92–96. <https://doi.org/10.1038/415092a>.
- Clevers, H., a R. Nusse. 2012. „Wnt/ β -Catenin Signaling and Disease". *Cell* 149 (6): 1192–1205. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.012>.
- Clevers, Hans. 2013. „The Intestinal Crypt, A Prototype Stem Cell Compartment". *Cell* 154 (2): 274–84. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.004>.
- Clevers, Hans C., a Charles L. Bevins. 2013. „Paneth Cells: Maestros of the Small Intestinal Crypts". *Annual Review of Physiology* 75 (1): 289–311. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183744>.
- Cortez, Valerie, a Stacey Schultz-Cherry. 2021. „The Role of Goblet Cells in Viral Pathogenesis". *The FEBS Journal* 288 (24): 7060–72. <https://doi.org/10.1111/febs.15731>.
- De Conno, Barbara, Marcella Pesce, Martina Chiurazzi, Marta Andreozzi, Sara Rurgo, Chiara Corpetti, Luisa Seguella, et al. 2022. „Nutraceuticals and Diet Supplements in Crohn’s Disease: A General Overview of the Most Promising Approaches in the Clinic". *Foods* 11 (7): 1044. <https://doi.org/10.3390/foods11071044>.
- Deckx, R. J., G. R. Vantrappen, a M. M. Parein. 1967. „Localization of Lysozyme Activity in a Paneth Cell Granule Fraction". *Biochimica Et Biophysica Acta* 139 (1): 204–7. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(67\)90136-2](https://doi.org/10.1016/0005-2744(67)90136-2).
- Deuring, J. Jasper, Gwenny M. Fuhler, Sergey R. Konstantinov, Maikel P. Peppelenbosch, Ernst J. Kuipers, Colin de Haar, a C. Janneke van der Woude. 2014. „Genomic ATG16L1 Risk Allele-Restricted Paneth Cell ER Stress in Quiescent Crohn’s Disease". *Gut* 63 (7): 1081–91. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303527>.
- Dexter, John S. 1914. „The Analysis of a Case of Continuous Variation in Drosophila by a Study of Its Linkage Relations". *The American Naturalist* 48 (576): 712–58. <https://doi.org/10.1086/279446>.
- Dore, Etienne, a Eric Boilard. 2019. „Roles of secreted phospholipase A2 group IIA in inflammation and host defense". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, Novel functions of phospholipase A2, 1864 (6): 789–802. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.017>.
- Ermund, Anna, André Schütte, Malin E. V. Johansson, Jenny K. Gustafsson, a Gunnar C. Hansson. 2013. „Studies of Mucus in Mouse Stomach, Small Intestine, and Colon. I. Gastrointestinal Mucus Layers Have Different Properties Depending on Location as Well as over the Peyer’s Patches". *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 305 (5): G341–47. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00046.2013>.
- Es, Johan H. van, Natalie de Geest, Maaïke van de Born, Hans Clevers, a Bassem A. Hassan. 2010. „Intestinal Stem Cells Lacking the Math1 Tumour Suppressor Are Refractory to Notch Inhibitors". *Nature Communications* 1 (1): 18. <https://doi.org/10.1038/ncomms1017>.
- Es, Johan H. van, Philippe Jay, Alex Gregorieff, Marielle E. van Gijn, Suzanne Jonkheer, Pantelis Hatzis, Andrea Thiele, et al. 2005. „Wnt Signalling Induces Maturation of Paneth Cells in Intestinal Crypts". *Nature Cell Biology* 7 (4): 381–86. <https://doi.org/10.1038/ncb1240>.
- Flier, Laurens G. van der, a Hans Clevers. 2009. „Stem Cells, Self-Renewal, and Differentiation in the Intestinal Epithelium". *Annual Review of Physiology* 71 (Volume 71, 2009): 241–60. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.010908.163145>.
- Ganz, Tomas, a Robert I Lehrer. 1998. „Antimicrobial peptides of vertebrates". *Current Opinion in Immunology* 10 (1): 41–44. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(98\)80029-0](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(98)80029-0).
- Garabedian, Emily M., Lisa J. J. Roberts, M. Shane McNevin, a Jeffrey I. Gordon. 1997. „Examining the Role of Paneth Cells in the Small Intestine by Lineage Ablation in Transgenic Mice *". *Journal of Biological Chemistry* 272 (38): 23729–40. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.38.23729>.
- Gevers, Dirk, Subra Kugathasan, Lee A. Denson, Yoshiki Vázquez-Baeza, Will Van Treuren, Boyu Ren, Emma Schwager, et al. 2014. „The Treatment-Naive Microbiome in New-Onset Crohn’s Disease". *Cell Host & Microbe* 15 (3): 382–92. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.02.005>.

- Ghosh, Santosh K., Thomas S. McCormick, a Aaron Weinberg. 2019. „Human Beta Defensins and Cancer: Contradictions and Common Ground". *Frontiers in Oncology* 9 (květen): 341. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00341>.
- Gizard, E., A.C. Ford, J.-P. Bronowicki, a L. Peyrin-Biroulet. 2014. „Systematic Review: The Epidemiology of the Hepatobiliary Manifestations in Patients with Inflammatory Bowel Disease". *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 40 (1): 3–15. <https://doi.org/10.1111/apt.12794>.
- Halling, M.L., J. Kjeldsen, T. Knudsen, J. Nielsen, a L.K. Hansen. 2017. „Patients with Inflammatory Bowel Disease Have Increased Risk of Autoimmune and Inflammatory Diseases". *World Journal of Gastroenterology* 23 (33): 6137–46. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i33.6137>.
- Hamilton, MJ, FM Makrauer, K Golden, H Wang, S Friedman, B Burakoff, JS Levine, P Joshi, PA Banks, a RD Odze. 2016. „Prospective Evaluation of Terminal Ileitis in a Surveillance Population of Ulcerative Colitis Patients". *Inflammatory bowel diseases* 22 (10): 2448–55. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000911>.
- Heller, Frank, Peter Florian, Christian Bojarski, Jan Richter, Melanie Christ, Bernd Hillenbrand, Joachim Mankertz, et al. 2005. „Interleukin-13 Is the Key Effector Th2 Cytokine in Ulcerative Colitis That Affects Epithelial Tight Junctions, Apoptosis, and Cell Restitution". *Gastroenterology* 129 (2): 550–64. <https://doi.org/10.1016/j.gastro.2005.05.002>.
- Hendel, Sebastian Kjærgaard, Lauge Kellermann, Annika Hausmann, Niels Bindsvlev, Kim Bak Jensen, a Ole Haagen Nielsen. 2022. „Tuft Cells and Their Role in Intestinal Diseases". *Frontiers in Immunology* 13 (únor). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.822867>.
- Hetz, Claudio, Kezhong Zhang, a Randal J. Kaufman. 2020. „Mechanisms, Regulation and Functions of the Unfolded Protein Response". *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 21 (8): 421–38. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0250-z>.
- Hounnou, G., C. Destrieux, J. Desmé, P. Bertrand, a S. Velut. 2002. „Anatomical Study of the Length of the Human Intestine". *Surgical and Radiologic Anatomy: SRA* 24 (5): 290–94. <https://doi.org/10.1007/s00276-002-0057-y>.
- Kaser, Arthur, Ann-Hwee Lee, Andre Franke, Jonathan N. Glickman, Sebastian Zeissig, Herbert Tilg, Edward E. S. Nieuwenhuis, et al. 2008. „XBP1 Links ER Stress to Intestinal Inflammation and Confers Genetic Risk for Human Inflammatory Bowel Disease". *Cell* 134 (5): 743–56. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.021>.
- Ke, Xiaobo, Kwontae You, Matthieu Pichaud, Henry J. Haiser, Daniel B. Graham, Hera Vlamakis, Jeffrey A. Porter, a Ramnik J. Xavier. 2021. „Gut bacterial metabolites modulate endoplasmic reticulum stress". *Genome Biology* 22 (říjen): 292. <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02496-8>.
- Kim, Young S., a Samuel B. Ho. 2010. „Intestinal Goblet Cells and Mucins in Health and Disease: Recent Insights and Progress". *Current Gastroenterology Reports* 12 (5): 319–30. <https://doi.org/10.1007/s11894-010-0131-2>.
- Krausova, Michaela, a Vladimir Korinek. 2014. „Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer". *Cellular Signalling* 26 (3): 570–79. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.11.032>.
- Lieberkühn, Johann Nathanael. 1745. *Dissertatio anatomico-physiologica de fabrica et actione villorum intestinorum tenuium hominis*. Wishof.
- Lyuksyutova, Anna I., Chin-Chun Lu, Nancy Milanesio, Leslie A. King, Nini Guo, Yanshu Wang, Jeremy Nathans, Marc Tessier-Lavigne, a Yimin Zou. 2003. „Anterior-Posterior Guidance of Commissural Axons by Wnt-Frizzled Signaling". *Science* 302 (5652): 1984–88. <https://doi.org/10.1126/science.1089610>.
- Mallow, Eric B., Ann Harris, Nita Salzman, John P. Russell, Ralph J. DeBerardinis, Eduardo Ruchelli, a Charles L. Bevins. 1996. „Human Enteric Defensins: GENE STRUCTURE AND DEVELOPMENTAL EXPRESSION (*)". *Journal of Biological Chemistry* 271 (8): 4038–45. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.8.4038>.
- McElroy, Steven J., Shannon L. Castle, Jessica K. Bernard, Dana Almohazey, Catherine J. Hunter, Brandon A. Bell, Denise Al Alam, Larry Wang, Henri R. Ford, a Mark R. Frey. 2014. „The ErbB4

- Ligand Neuregulin-4 Protects against Experimental Necrotizing Enterocolitis". *The American Journal of Pathology* 184 (10): 2768–78. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.06.015>.
- Mcmahon, Andrew P., a Randall T. Moon. 1989. „int-1 - a proto-oncogene involved in cell signalling". *Development* 107 (Supplement): 161–67. <https://doi.org/10.1242/dev.107.Supplement.161>.
- Mizushima, Noboru, Tamotsu Yoshimori, a Beth Levine. 2010. „Methods in Mammalian Autophagy Research". *Cell* 140 (3): 313–26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.028>.
- Nakamura, Kiminori, Yuki Yokoi, Rie Fukaya, Shuya Ohira, Ryuga Shinozaki, Takuto Nishida, Mani Kikuchi, a Tokiyoshi Ayabe. 2020. „Expression and Localization of Paneth Cells and Their α -Defensins in the Small Intestine of Adult Mouse". *Frontiers in Immunology* 11 (říjen). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.570296>.
- Nikolaus, Susanna, a Stefan Schreiber. 2007. „Diagnostics of Inflammatory Bowel Disease". *Gastroenterology* 133 (5): 1670–89. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.09.001>.
- Nusse, Roel. 2012. „Wnt Signaling". *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4 (5): a011163. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011163>.
- Nyström, Elisabeth E. L., Beatriz Martinez-Abad, Liisa Arike, George M. H. Birchenough, Eric B. Nonnecke, Patricia A. Castillo, Frida Svensson, Charles L. Bevins, Gunnar C. Hansson, a Malin E. V. Johansson. 2021. „An Intercrypt Subpopulation of Goblet Cells Is Essential for Colonic Mucus Barrier Function". *Science (New York, N.Y.)* 372 (6539): eabb1590. <https://doi.org/10.1126/science.abb1590>.
- Paneth, Josef. 1887. „Ueber die secernirenden Zellen des Dünndarm-Epithels". *Archiv für mikroskopische Anatomie* 31 (1): 113–91. <https://doi.org/10.1007/BF02955706>.
- Peeters, T., a G. Vantrappen. 1975. „The Paneth Cell: A Source of Intestinal Lysozyme." *Gut* 16 (7): 553–58. <https://doi.org/10.1136/gut.16.7.553>.
- Salzman, Nita H., Kuiechun Hung, Dipica Haribhai, Hiutung Chu, Jenny Karlsson-Sjöberg, Elad Amir, Paul Teggatz, et al. 2010. „Enteric Defensins Are Essential Regulators of Intestinal Microbial Ecology". *Nature Immunology* 11 (1): 76–83. <https://doi.org/10.1038/ni.1825>.
- Sato, Toshiro, Johan H. van Es, Hugo J. Snippert, Daniel E. Stange, Robert G. Vries, Maaïke van den Born, Nick Barker, Noah F. Shroyer, Marc van de Wetering, a Hans Clevers. 2011. „Paneth Cells Constitute the Niche for Lgr5 Stem Cells in Intestinal Crypts". *Nature* 469 (7330): 415–18. <https://doi.org/10.1038/nature09637>.
- Sato, Toshiro, Robert G. Vries, Hugo J. Snippert, Marc van de Wetering, Nick Barker, Daniel E. Stange, Johan H. van Es, et al. 2009. „Single Lgr5 Stem Cells Build Crypt-Villus Structures in Vitro without a Mesenchymal Niche". *Nature* 459 (7244): 262–65. <https://doi.org/10.1038/nature07935>.
- Shimizu, Hiromichi, Ryuichi Okamoto, Go Ito, Satoru Fujii, Toru Nakata, Kohei Suzuki, Tatsuro Murano, et al. 2014. „Distinct expression patterns of Notch ligands, Dll1 and Dll4, in normal and inflamed mice intestine". *PeerJ* 2 (květen): e370. <https://doi.org/10.7717/peerj.370>.
- Schewe, Matthias, Patrick F. Franken, Andrea Sacchetti, Mark Schmitt, Rosalie Joosten, René Böttcher, Martin E. van Royen, et al. 2016. „Secreted Phospholipases A2 Are Intestinal Stem Cell Niche Factors with Distinct Roles in Homeostasis, Inflammation, and Cancer". *Cell Stem Cell* 19 (1): 38–51. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.05.023>.
- Schwalbe, G. 1872. „Beiträge zur Kenntniss der Drüsen in den Darmwandungen, in's Besondere der Brunner'schen Drüsen". *Archiv für mikroskopische Anatomie* 8 (1): 92–140. <https://doi.org/10.1007/BF02955835>.
- Singh, Rajbir, Iyashwarya Balasubramanian, Lanjing Zhang, a Nan Gao. 2020. „Metaplastic Paneth Cells in Extra-Intestinal Mucosal Niche Indicate a Link to Microbiome and Inflammation". *Frontiers in Physiology* 11 (březen). <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00280>.
- Spence, Jason R., Christopher N. Mayhew, Scott A. Rankin, Matthew F. Kuhar, Jefferson E. Vallance, Kathryn Tolle, Elizabeth E. Hoskins, et al. 2011. „Directed Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Intestinal Tissue in Vitro". *Nature* 470 (7332): 105–9. <https://doi.org/10.1038/nature09691>.

- Spit, Maureen, Bon-Kyoung Koo, a Madelon M. Maurice. 2018. „Tales from the Crypt: Intestinal Niche Signals in Tissue Renewal, Plasticity and Cancer". *Open Biology* 8 (9): 180120. <https://doi.org/10.1098/rsob.180120>.
- Sprinzak, David, Amit Lakhanpal, Lauren LeBon, Leah A. Santat, Michelle E. Fontes, Graham A. Anderson, Jordi Garcia-Ojalvo, a Michael B. Elowitz. 2010. „Cis Interactions between Notch and Delta Generate Mutually Exclusive Signaling States". *Nature* 465 (7294): 86–90. <https://doi.org/10.1038/nature08959>.
- Stastna, Monika, Lucie Janeckova, Dusan Hrckulak, Vitezslav Kriz, a Vladimir Korinek. 2019. „Human Colorectal Cancer from the Perspective of Mouse Models". *Genes* 10 (10): 788. <https://doi.org/10.3390/genes10100788>.
- Tanaka, M., H. Saito, T. Kusumi, S. Fukuda, T. Shimoyama, Y. Sasaki, K. Suto, A. Munakata, a H. Kudo. 2001. „Spatial Distribution and Histogenesis of Colorectal Paneth Cell Metaplasia in Idiopathic Inflammatory Bowel Disease". *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 16 (12): 1353–59. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2001.02629.x>.
- Tian, Hua, Brian Biehs, Cecilia Chiu, Chris Siebel, Yan Wu, Mike Costa, Frederic J. de Sauvage, a Ophir D. Klein. 2015. „Opposing activities of Notch and Wnt signaling regulate intestinal stem cells and gut homeostasis". *Cell reports* 11 (1): 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.03.007>.
- Torres, Joana, Saurabh Mehandru, Jean-Frédéric Colombel, a Laurent Peyrin-Biroulet. 2017. „Crohn's Disease". *Lancet (London, England)* 389 (10080): 1741–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31711-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31711-1).
- Urano, Fumihiko, XiaoZhong Wang, Anne Bertolotti, Yuhong Zhang, Peter Chung, Heather P. Harding, a David Ron. 2000. „Coupling of Stress in the ER to Activation of JNK Protein Kinases by Transmembrane Protein Kinase IRE1". *Science* 287 (5453): 664–66. <https://doi.org/10.1126/science.287.5453.664>.
- VanDussen, Kelli L., Alexis J. Carulli, Theresa M. Keeley, Sanjeevkumar R. Patel, Brent J. Puthoff, Scott T. Magness, Ivy T. Tran, et al. 2012. „Notch Signaling Modulates Proliferation and Differentiation of Intestinal Crypt Base Columnar Stem Cells". *Development* 139 (3): 488–97. <https://doi.org/10.1242/dev.070763>.
- Vinson, Charles R., a Paul N. Adler. 1987. „Directional Non-Cell Autonomy and the Transmission of Polarity Information by the Frizzled Gene of Drosophila". *Nature* 329 (6139): 549–51. <https://doi.org/10.1038/329549a0>.
- Wehrli, Marcel, Scott T. Dougan, Kim Caldwell, Louise O'Keefe, Stephanie Schwartz, Dalit Vaizel-Ohayon, Eyal Schejter, Andrew Tomlinson, a Stephen DiNardo. 2000. „Arrow Encodes an LDL-Receptor-Related Protein Essential for Wingless Signalling". *Nature* 407 (6803): 527–30. <https://doi.org/10.1038/35035110>.
- Wilkinson, David G., Juliet A. Bailes, a Andrew P. McMahon. 1987. „Expression of the proto-oncogene *int-1* is restricted to specific neural cells in the developing mouse embryo". *Cell* 50 (1): 79–88. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90664-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90664-7).
- Winton, D. J., a Bruce Anthony John Ponder. 1997. „Stem-cell organization in mouse small intestine". *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 241 (1300): 13–18. <https://doi.org/10.1098/rspb.1990.0059>.
- Wirtz, Stefan, a Markus F. Neurath. 2007. „Mouse models of inflammatory bowel disease". *Advanced Drug Delivery Reviews, Prediction of Therapeutic and Drug Delivery Outcomes Using Animal Models*, 59 (11): 1073–83. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.07.003>.
- Woods, Charmaine M., David N. Hooper, Eng H. Ooi, Lor-Wai Tan, a A. Simon Carney. 2011. „Human Lysozyme Has Fungicidal Activity against Nasal Fungi". *American Journal of Rhinology & Allergy* 25 (4): 236–40. <https://doi.org/10.2500/ajra.2011.25.3631>.
- Xu, Dan, a Wuyuan Lu. 2020. „Defensins: A Double-Edged Sword in Host Immunity". *Frontiers in Immunology* 11 (květen): 764. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00764>.
- Yang, Erpeng, a Jun Shen. 2021. „The Roles and Functions of Paneth Cells in Crohn's Disease: A Critical Review". *Cell Proliferation* 54 (1): e12958. <https://doi.org/10.1111/cpr.12958>.

- Yang, Qingfeng, You-Sun Kim, Yong Lin, Joseph Lewis, Len Neckers, a Zheng-Gang Liu. 2006. „Tumour necrosis factor receptor 1 mediates endoplasmic reticulum stress-induced activation of the MAP kinase JNK". *EMBO reports* 7 (6): 622–27. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400687>.
- Yu, Shiyun, Kevin Tong, Yanlin Zhao, Iyshwarya Balasubramanian, George S. Yap, Ronaldo P. Ferraris, Edward M. Bonder, Michael P. Verzi, a Nan Gao. 2018. „Paneth Cell Multipotency Induced by Notch Activation following Injury". *Cell Stem Cell* 23 (1): 46-59.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.05.002>.
- Zeissig, S., N. Bürgel, D. Günzel, J. Richter, J. Mankertz, U. Wahnschaffe, A. J. Kroesen, M. Zeitz, M. Fromm, a J.-D. Schulzke. 2007. „Changes in Expression and Distribution of Claudin 2, 5 and 8 Lead to Discontinuous Tight Junctions and Barrier Dysfunction in Active Crohn's Disease". *Gut* 56 (1): 61–72. <https://doi.org/10.1136/gut.2006.094375>.