

Abstrakt

Tématem této dizertační práce je výzkum molekulárních drah a mechanismů a jejich poruch v buňkách a tkáních trávicího traktu. Hlavní roli zde zaujímá signalizační dráha Wnt. Toto obdivuhodné víceúčelové „soustrojí“ je zodpovědné za obnovu epitelu z kmenových buněk v žaludku a střevu a za správnou zonaci a funkci jaterní tkáně. Signalizace Wnt řídí také embryonální vývoj a homeostázi mnoha tkání mimo trávicí soustavu, a to u všech metazoálních organismů, její bezchybné fungování je tudíž nezbytné v životě každého jedince od jeho vzniku až po zánik. Hlavní část práce popisuje kanonickou signalizaci Wnt v její fyziologické podobě a dále pak její patologická narušení. Toto téma je nahlíženo z mnoha hledisek, jak je možné vidět z uvedených publikací.

První publikace se zabývá hledáním nových účastníků signalizace Wnt a jejich funkce, a to prostřednictvím popisu unikátních markerů střevních kmenových buněk. *Troy*, člen velké skupiny tumor necrosis factor receptorů (TNFR), byl popsán pomocí dat získaných z čipových analýz a chromatinové imunoprecipitace jako nový marker střevních kmenových buněk. K uvedeným analýzám byly použity buňky kolorektálního karcinomu pěstované v buněčných kulturách. Zjistili jsme, že *Troy* je cílovým genem signalizace Wnt a sám tuto dráhu inhibuje. Ze zmíněných čipových analýz jsme též vybrali gen *naked cuticle homolog 1 (Nkd1)*. Tento gen byl již dříve popsán jako cílový gen a zároveň inhibitor signalizace Wnt, ale znalosti o jeho působení v homeostázi a nádorovém bujení střeva byly minimální. Data, která jsme zveřejnili v dalším článku, pak charakterizují expresi *Nkd1* ve střevních a jaterních buňkách. Dále jsme zjistili, že *Nkd1* je také vysoce exprimován v myších střevních nádorech. Ve vzorcích získaných od lidských pacientů jsme popsali NKD1 jako potenciální marker střevních a jaterních nádorů. Další publikace popisuje identifikaci jedinečného markeru kmenových buněk v těle žaludku, kterým je gen *muscle, intestine and stomach expression 1 (Mist1)*. Mist1 byl dříve znám jako marker krátce žijících progenitorů žaludečního epitelu. Naše studie popisuje expresi Mist1 ve zřídka se dělících kmenových buňkách v isthmální části žláz žaludečního těla. Poslední publikace z této skupiny článků je věnována genu *hypermethylated in cancer (Hic1)*, nádorovému supresoru inaktivovanému v mnoha typech nádorů. Pro určení genů, které jsou ztrátou transkripčního represoru Hic1 ovlivněny, jsme použili geneticky modifikovaný myší kmen umožňující inaktivaci tohoto genu. Z výsledných genů jsme určili jako nejvíce zajímavý *toll-like receptor 2 (Tlr2)*, který je regulován přímo proteinem Hic1. Zvýšená exprese Tlr2 v důsledku ztráty Hic1 vede k „zapnutí“ prozánětlivých signalizačních drah, např. dráhy nuclear

factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B), což následně může zvýšit riziko nádorového bujení.

Jiným přístupem pro výzkum molekulárních vztahů v trávicí soustavě je hledání látky, která působí na signalizaci Wnt s možným výsledkem potlačení nádorového bujení. V naší studii jsme objevili, že monensin, antibiotikum užívané v mlékárenském průmyslu, je schopno redukovat, a to snížením hladiny signalizace Wnt, velikost myších střevních nádorů. Podrobný mechanismus působení monensinu však nebyl doposud studován.

Poslední publikace zahrnuje data z expresních čipů získaná z bezmikrobních myší a jejich srovnáním s konvenčně chovanými myšmi a myšmi „osazenými“ jedním konkrétním bakteriálním kmenem. Výsledky potvrdily předchozí zjištění, že imunitní systém u bezmikrobních myší není plně vyvinut. Navíc jsme zjistili, že osazení střev jedním bakteriálním kmenem vývoj imunitního systému plnohodnotně nepodpoří. U bezmikrobních myší jsme také popsali rozdíl v expresi genů souvisejících se zánětem, vývojem střeva a rakovinou.