

SOUHRN

Fibroblasty jsou stromální buňky, které jsou rozšířené v celém lidském těle. Často se vyskytují v neaktivním stavu a k jejich aktivaci dochází až při remodelaci tkáně. Aktivované fibroblasty produkují extracelulární matrix, mají prozánětlivé a kontraktilní vlastnosti, což jsou klíčové momenty v hojení tkání. Na druhou stranu je přítomnost aktivovaných fibroblastů jedním z typických znaků nádorového bujení. Cílem této práce je porovnání rozdílů mezi novorozeneckými a dospělými fibroblasty a keratinocyty ve vztahu k „bezjizevnatému“ hojení, k původu nádorově asociovaných fibroblastů a vlivu fibroblastů na invazivitu melanomu.

Klinické zkušenosti ukazují, že se u novorozenců hojí rány téměř bez jizvení. Abychom lépe porozuměli mechanismům, které k tomuto hojení přispívají, zaměřili jsme se na rozdíly mezi novorozeneckými a dospělými fibroblasty a keratinocyty, kožními buňkami, které jsou zásadní pro hojivý proces. Srovnání expresního profilu novorozeneckých a dospělých fibroblastů ukázalo, že jsou rozdílně regulovány geny, které se vztahují k akutní fázi zánětlivé odpovědi a organizaci extracelulární matrix, což úzce souvisí s procesem hojení. Také jsme zjistili, že novorozenecké fibroblasty vykazují vyšší diferenciační potenciál, exprimují znaky nízké diferenciacce a pluripotence a také častěji produkují hladký svalový aktin (α -SMA).

Fibroblasty, které produkují α -SMA, jsou nazývány myofibroblasty a jsou hlavními producenty extracelulární matrix a klíčovými hráči v hojení ran. Signalizační dráha transformujícího růstového faktoru beta (TGF- β) spouští expresi α -SMA ve fibroblastech. Zjistili jsme, že novorozenecké fibroblasty vykazují ve srovnání s dospělými zvýšenou expresi transkriptu TGF- β 2 a TGF- β 3 a naopak sníženou expresi receptoru II transformujícího růstového faktoru (TGF-R2).

Navíc může být exprese α -SMA zvýšena jak u dospělých, tak i novorozeneckých fibroblastů jejich kokultivací s novorozeneckými keratinocyty. To ukazuje na (nebo podtrhuje) význam vzájemné komunikace mezi fibroblasty a epitelovými buňkami. Novorozenecké keratinocyty exprimují (produkují) keratin-8, -14 a -19, které jsou charakteristické pro níže diferencované buňky. Tento expresní profil keratinů připomíná profil nádorových epitelových buněk.

Ve druhé části této práce jsme zkoumali roli fibroblastů v invazivitě melanomů. Sledovali jsme, jak kondicionovaná média z lidských fibroblastů a nádorově-asociovaných fibroblastů (CAFs) ovlivňují in vitro

invazivitu buněk lidské melanomové linie. Melanomové buňky vykazovaly vyšší invazivitu, jestliže byly kultivovány v médiu kondicioném nádorově asociovanými fibroblasty. Kokultivace nádorově asociovaných fibroblastů s melanomovými buňkami vyvolávala zvýšenou sekreci IL-6 u fibroblastů a IL-8 u melanomových buněk, avšak současná blokáda IL-6 a IL-8 dokázala zvrátit zvýšenou invazivitu melanocytů, vyvolanou přítomností fibroblastů. Vysoké hladiny IL-6 a IL-8 byly také stanoveny v sérech pacientů s melanomem.

Vzhledem k tomu, že původ nádorově asociovaných fibroblastů je nejasný, soustředili jsme se na možnost, že mohou vznikat z buněk karcinomu epitel-mezenchymální tranzicí. Jestliže byly lidské karcinomové buňky inokulovány do nu/nu myší, vytvořily nádory, které obsahovaly dobře strukturované stroma s nádorově asociovanými fibroblasty produkujícími hladký svalový aktin. Zjistili jsme, že tyto buňky nepocházely z xenotransplantátu, ale že byly myšího, tedy hostitelského původu.

Získané výsledky uvedené v této dizertační práci potvrzují, že fibroblasty jsou dynamickou, heterogenní buněčnou populací, která hraje klíčovou roli jak v hojení ran, tak i při tvorbě nádoru.