

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Barbora Skokanová

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Regenerace tkáně gastrointestinálního traktu  
BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Barbora Skokanová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Barbora Skokanová**  
Osobní číslo: **C19292**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Regenerace tkáně gastrointestinálního traktu**  
Téma práce anglicky: **Regeneration of Gastrointestinal Tissues**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na popis regenerace buněk v gastrointestinálním traktu. V rámci zadaného tématu se nejprve zaměřte na popis GIT, jeho částí a buněk vystylajících dané orgány. Následně se zaměřte na detailní popis principů fyziologické regenerace epitelu či žláz a roli kmenových buněk ve fyziologické regeneraci či reparaci poškozené tkáně. Studovanou problematiku případně diskutujte v kontextu vzniku papilomů, adenomů či karcinomů v daných částech GIT.
2. Ke zpracování kompilace využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *Science Direct*, *High Wire*, *NCBI Pubmed*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.**  
děkan

L.S.

**doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Regenerace tkáně gastrointestinálního traktu jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 14. 4. 2024

Barbora Skokanová v.r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat doc. RNDr. Tomáši Roušarovi, Ph.D. za odborné vedení, poskytnutí věcných připomínek a za ochotu, vstřícnost a trpělivost při vypracování bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině za velkou podporu při studiu.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce je zaměřena na proces regenerace epitelu gastrointestinálního traktu. V práci je popsána anatomická a buněčná stavba gastrointestinálního traktu, podrobněji se pak práce zabývá popisem procesu regenerace epitelů pomocí kmenových buněk, signalizace Notch a Wnt a transkripčních faktorů, které je ovlivňují, a to především TCF4. Dále jsou zmíněny i dysregulace regeneračních procesů vedoucí k patologickým stavům, včetně karcinomů. V závěru práce jsou popsány způsoby podpoření střevní regenerace.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Gastrointestinální trakt, kmenové buňky, regenerace, Wnt signální dráha, Notch signalizace, transkripční faktor TCF4, kolorektální karcinom

## **TITLE**

Regeneration of the gastrointestinal tissue

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis focuses on the process of epithelial regeneration in the gastrointestinal tract. The thesis describes the anatomical and cellular organization of the gastrointestinal tract, and then delves into the description of the regeneration process of epithelia using stem cells, Notch and Wnt signaling, and transcription factors, incl. TCF4. Furthermore, it mentions dysregulations of regenerative processes leading to pathological conditions, including carcinomas. Finally, the thesis describes methods to support intestinal regeneration.

## **KEYWORDS**

gastrointestinal tract, stem cells, regeneration, Wnt signaling pathway, Notch signaling pathway, transcription factor TCF4, colorectal cancer

# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ .....	9
SEZNAM ZKRATEK .....	10
ÚVOD.....	11
1. ANATOMIE A HISTOLOGIE GIT.....	12
1.1 ANATOMIE GIT .....	12
1.2 VÝVOJ GIT .....	13
1.3 HISTOLOGIE GIT.....	14
1.3.1 Buňky žaludeční sliznice.....	14
1.3.2 Buňky střevní sliznice .....	16
2. FUNKCE GIT .....	21
2.1 ABSORPCE ŽIVIN.....	21
2.2 IMUNITNÍ ROLE GIT.....	23
2.3 VLIV GIT NA MENTÁLNÍ ZDRAVÍ .....	25
3. PRINCIPY REGENERACE EPITELU V GIT .....	26
3.1 REGENERACE ŽALUDEČNÍHO EPITELU .....	26
3.1.1 Regenerace epitelu migrací buněk.....	26
3.1.2 Regenerace epitelu diferenciací buněk .....	27
3.1.3 Dysregulace obnovy žaludečního epitelu.....	29
3.2 REGENERACE STŘEVNÍHO EPITELU .....	31
3.2.1 Regenerativní odpověď kmenových epiteliálních buněk.....	32
3.2.2 Notchsignalizační dráha .....	36
3.2.3 Wntsignální dráha .....	38
3.2.4 Transkripční faktor TCF4.....	41
3.2.5 Patologická epiteliální regenerace .....	41
3.2.6 Stimulace regenerace buněk .....	44
ZÁVĚR.....	46
SEZNAM LITERATURY .....	47



## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Buněčné složení žaludečních žláz podle lokalizace v žaludku.....	16
Obrázek 2: Stavba trávicí trubice.....	17
Obrázek 3: Rozdíl v uspořádání vnitřní vrstvy tenkého a tlustého střeva.....	21
Obrázek 4: Metabolismus glukózy a aminokyselin ve střevním klku .....	24
Obrázek 5: Schéma funkce MUC17 a MUC2 .....	26
Obrázek 6: Zóny žaludku a lokalizace typů buněk .....	28
Obrázek 7: Proces ablace, dediferenciace a doplnění v Lieberkühnovy krypty.....	34
Obrázek 8: Distribuce Panethových a Lgr5+ kmenových buněk .....	36
Obrázek 9: Porovnání kanonické a nekanonické Notch signální dráhy .....	39
Obrázek 10: Kanonická signalizace Wnt/ $\beta$ -kateninu .....	41
Obrázek 11: Epiteliální a mesenchymální transformace u kolorektálního karcinomu ....	43

## SEZNAM ZKRATEK

AhR	arylhydrokarbonový receptor ( <i>aryl hydrocarbon receptor</i> )
APC	protein <i>adenomatous polyposis coli</i>
ApoA4	apolipoprotein A4
BMP	kostní morfogenní protein ( <i>bone morphogenetic protein</i> )
CD24 <sup>+</sup> /34 <sup>+</sup> /44 <sup>+</sup>	diferenciační skupiny ( <i>cluster of differentiation 24<sup>+</sup>/34<sup>+</sup>/44<sup>+</sup></i> )
CSL	transkripční faktor ( <i>CBF1, Hairless supressor, Lag-1</i> )
EGF	epidermální růstový faktor ( <i>epidermal growth factor</i> )
EGFR	receptor pro epidermální růstový faktor ( <i>epidermal growth factor receptor</i> )
FCGBP	gen pro syntézu Fc gamma-vázacího proteinu
GIT	gastrointestinální trakt
GLUT2/5/7	glukózové transportéry 2/5/7
GSK3 $\beta$	kináza ( <i>glycogen synthase kinase-3 beta</i> )
HOX geny	homeotické geny ( <i>homeobox gene</i> )
LGR5 <sup>+</sup>	receptor 5 spřažený s G-proteinem bohatý na leucin ( <i>leucine-rich repeat-containing G-protein coupledwith receptor 5</i> )
LRP	lipoproteinový receptor ( <i>low-density lipoprotein receptor-related protein</i> )
MAML	protein <i>Mastermind-like</i>
MET	receptor hepatocytárního růstového faktoru
mTOR	savčí TOR ( <i>mammalian target of rapamycin</i> )
MUC2/17	gen pro syntézu mucinu 2/17
NICD	Notch intracelulární doména
PCP	planární polarita buněk
Rab21	protein příbuzný rodině Ras
SHH	gen kódující <i>Sonic Hedgehog</i> protein
SKIP	protein <i>Ski interacting</i>
TFF	trifoláty = trefoil peptidy ( <i>trefoil factor family</i> )
TGF- $\beta$	transformující růstový faktor $\beta$ ( <i>transforming growth factor beta</i> )
Wnt	protein <i>Wingless/integrated</i>
Wnt2b	protein kódovaný genem WNT2B

## ÚVOD

Lidský gastrointestinální trakt (dále jako GIT) je komplexní dynamická struktura plnící mnoho důležitých funkcí od absorpce živin až po ochranu organismu před patogenní mikroflórou. Sliznice GIT je nejrychleji se obnovující tkáň v lidském těle, průměrný životní cyklus enterocytu trvá kolem čtyř dní. Klíčovou roli v epiteliální obnově hrají kmenové buňky nacházející se na dnech žaludečních a střevních krypt. Regenerace je založena na interakcích právě kmenových buněk s jejich okolím, a to především pomocí signálních drah Wnt a Notch a s nimi souvisejících transkripčních faktorů. Proces regenerace této sliznice je již delší dobu předmětem zkoumání, a to jak z důvodu samotného porozumění jeho průběhu, tak z důvodu příslibu jeho přínosu v léčbě gastrointestinálních onemocnění.

# 1. ANATOMIE A HISTOLOGIE GIT

## 1.1 ANATOMIE GIT

Gastrointestinální trakt (GIT) je rozdělen do několika zřetelných pododdílů s morfologickými a funkčními rozdíly: ústa včetně zubů, hltan, jícen, žaludek, slinivka a žlučovod, játra, dvanáctník, lačník, kyčelník, tračník a konečník.

*Cavitas oris*, dutina ústní, začíná jako *rima oris*, štěrbina ústní, a sahá až k zúžení na přechodu do hltanu, které se nazývá *istmus faucium*, úžina hltanová. Ohraničení dutiny ústní vpředu a zevně vytvářejí rty a tváře, patro tvoří její strop. Uprostřed spodiny úst je jazyk, na který přechází sliznice spodiny úst.

*Pharynx*, hltan, je trubice, kraniálně slepě zakončená klenbou, *fornix pharyngis*, a jejím prostřednictvím přirostlá k okostici lebeční báze. Kaudálně se hltan mírně zužuje a sahá do výše obratle C6. Zpředu se do hltanu postupně shora dolů otvírají tři další prostory, podle kterých se hltan dělí ve tři části (etáže): *nasopharynx*, *oropharynx* a *laryngopharynx*.

*Oesophagus*, jícen, je trubice dlouhá asi 25 cm, která navazuje na hltan ve výši obratle C6 a dolního okraje hrtanu (prstencové chrupavky), sestupující před páteří hrudníkem. Jícen v klidu má průměr kolem 1,5 cm, je předozadně zploštělý, nad bránicí mírně větvenovitě rozšířený. Podle svého průběhu má tři části: kraniální část, hrudní část a nejkratší břišní část, a tři až čtyři přirozená zúžení.

*Gaster*, žaludek, navazuje na jícen jako nápadně rozšířený úsek trávicí trubice. Je uložen v dutině břišní pod levou brániční klenbou a má tvar zahnutého vaku, s levým konvexním okrajem, *curvatura major*, a pravým konkávním okrajem, *curvatura minor*. *Cardia*, česlo, je vústění jícnu shora do žaludku při malé křivatuře, *pylorus*, vrátník, je zúžené místo, kde uzavíratelným průchodem navazuje na žaludek první část tenkého střeva – dvanáctník. Nejširším úsekem žaludku je *fundus gastricus* obsahující vzduchovou bublinu z potravy a jeho největší částí je tělo žaludku, tzv. *corpus*. S okolím břišní dutiny je spojen pomocí závěsů žaludku. Jedná se o dvojlisty pobřišnice, které pokračují ze serózního povlaku žaludku od obou zakřivení jako součásti původního předního a zadního mesogastria.

*Intestinum tenue*, tenké střevo, navazuje na žaludek jako trubice průměru kolem 3-4 cm, dlouhá zhruba 3-5 m. Má tři úseky. *Duodenum*, dvanáctník, je první a nejkratší úsek, dlouhý 20-28 cm a přirostlý k zadní stěně břišní, končící ve *flexura*

*duodenojejunalis*. *Jejunum*, lačník, a *ileum*, kyčelník, jsou druhý a třetí úsek tenkého střeva. Jsou volně pohyblivé a složeny v četné kličky, které vyplňují většinu prostoru břicha. *Jejunum* a *ileum* jsou připojeny *mesenteriem*, peritoneální duplikaturou, k zadní stěně břišní. *Ostium ileale* je místo vústění posledního úseku tenkého střeva do začátku tlustého střeva v pravé jámě kyčelní.

*Intestinum crassum*, tlusté střevo, je poslední část trávicí trubice dlouhá 1,3-1,7 m široká od 7,5 cm asi do 4 cm. První část tlustého střeva *caecum*, slepé střevo, je uložena v pravé jámě kyčelní s ileocaekálním vústěním na levém boku slepého střeva a slepě zakončeným výběžkem nazývaným *appendix vermiformis*, červovitý výběžek. Hlavní částí tlustého střeva je *colon*, tračník, který je dále rozdělen podle svého průběhu na *colon ascendens*, vzestupný tračník, *colon transversum*, příčný tračník a *colon descendens*, sestupný tračník. Napojuje se na *colon sigmoideum*, esovitou kličku, a míří do středu malé pánve. Posledním úsekem střeva v malé pánvi je *rectum*, konečník, který vyúsťuje navenek otvorem zvaným *anus*, řiť (Čihák, 2013).

## 1.2 VÝVOJ GIT

Vývoj gastrointestinálního traktu člověka začíná zhruba od poloviny čtvrtého týdne těhotenství. Základ primitivní střevní trubice je zpočátku široce spojen se žlutkovým váčkem, s vývojem pupečníku se však postupně zužuje a prodlužuje v *ductus omphaloentericus*. Výsledkem interakce mezi vystýlajícím entodermem a splachnickým mesenchymem střevní stěny je diferenciací v jednotlivé budoucí části trávicí trubice. Entodermové buňky produkují morfogenetický faktor Sonic Hedgehog (SHH) (Zheng, 2019), který postupně a podle určité hierarchie stimuluje expresi HOX genů (homeotické geny) (Steens, 2022) v mesenchymové stěně trubice. Stimulace těchto genů navozuje expresi řady dalších genů odpovídajících za diferenciaci jednotlivých oddílů GIT. V pozdějších měsících těhotenství roste trávicí trubice do délky rychleji, nežli tělo zárodku a v některých úsecích se skládá v kličky. Primitivní střevo se dále dělí ve tři oddíly: přední střevo, střední střevo a zadní střevo. Z předního střeva se derivuje primitivní hltan, laryngotracheální výchlupka, jícen, žaludek, játra, žlučové cesty, slinivka a horní část duodena.

Základ žaludku je od třetího týdne patrný jako vřetenovité rozšíření předního střeva, hned za základem hltanu. Velká a malá křivatura vznikají díky nestejnomyšernému růstu žaludku do délky a šířky, jenž je zodpovědný i za následnou

rotaci. Epitelová výstelka a její žlázy, *glandulae gastricae*, se diferencují z entodermu. Ve druhé polovině těhotenství roste žaludek značně do délky a po narození a rozepnutí plic zaujímá svou definitivní polohu.

Dvanáctník se vyvíjí z kaudální a kraniální části předního střeva, které se spojují pod *papilla Vateri*. Postupným růstem do délky a společnou rotací se žaludkemse vytváří pět duodenálních částí – *pars superior*, *descendens*, *horizontalis*, *inferior* a *ascendens*, *flexura duodenojejunalis* se zároveň dostává do své definitivní polohy. Ve dvanáctém až třináctém týdnu nitroděložního vývoje začíná diferenciaci střevního lumen ve střevní klky pokryté enterocyty a pohárkovými buňkami. V sedmnáctém týdnu se vyvíjí Lieberkühnovykypty a postupně i Panethovy buňky. Deriváty středního střeva jsou spodní část duodena, *jejunum*, *ileum*, *caecum*, *appendix*, *colonascendens* a dvě třetiny *colon transversum*. Ze zadního střeva vzniká levá třetina *colon transversum*, *colon descendens*, *colon sigmoideum* a *rectum* (Vacek, 2006).

## 1.3 HISTOLOGIE GIT

### 1.3.1 Buňky žaludeční sliznice

Stěny žaludku mají stavbu ve čtyřech vrstvách, typických obecně pro trávicí trubici. Skládají se ze sliznice s velkým množstvím žlázek, z podslizničního vaziva, svalové vrstvy a ze serózního povlaku. Sliznice žaludku, *tunica mucosa*, je oranžově červená a na jejím povrchu je ochranný hlen. Povrch sliznice je členitý, nacházejí se zde podélné a síťovité slizniční řasy, *plicae gastricae*, a žaludeční jamky, *foveolae gastricae*, do jejichž dna ústí tubulózní žaludeční žlázy, *glandulae gastricae*. Tyto žlázy se v utváření a funkcích podle jejich lokace v žaludku – žlázy při kardií, žlázy fundu a těla a žlázy pyloru. Ve žlázách fundu a těla se rozlišuje šest druhů buněk: mukózní buňky istmu, povrchové mukózní buňky jamek, nediferencované kmenové buňky pro oba typy mukózních buněk, hlavní buňky, krycí buňky a endokrinní buňky. Žlázy pyloru se zdají být svým složením jednodušší, obsahují povrchové mukózní buňky, antrální buňky žláz a endokrinní buňky (obr. 1) (Hoffmann, 2013). Podslizniční vazivo, *tunica submucosa*, je v žaludku řídké a obsahuje síť krevních a mízních cév a nervové pleteně. Svalovina žaludku, *tunica muscularis*, probíhá ve třech vrstvách, nejvnitřnější tvoří šikmé snopce, *fibrae obliquae*, prostřední vrstva je cirkulární a vnější vrstva je podélná. Serózní povlak žaludku, *tunica serosa*, tvoří hladká a lesklá pobřišnice, přecházející z kurvatur ve dvojlist malé a velké předstěry.

Jak již bylo zmíněno, povrch žaludeční sliznice je členitý díky četným žaludečním řasám a jamkám. Žlázy ústící do jamek obsahují velké množství různých typů buněk, které se dělí podle své specifické funkce.

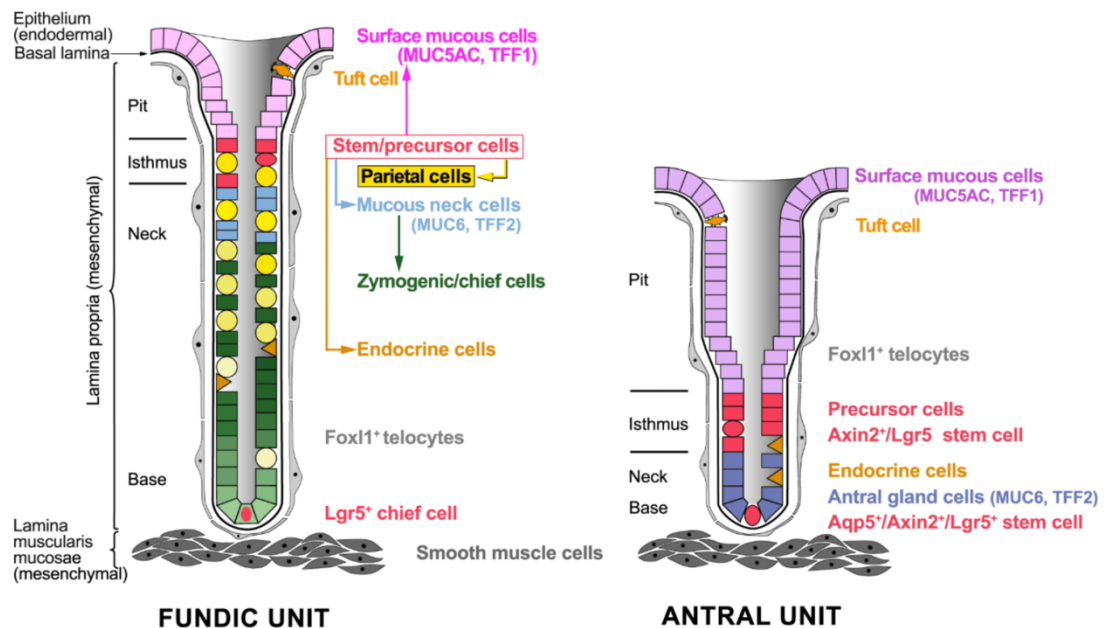
Hlavní buňky, označované také jako pepsinogenní nebo zymogenní, jsou kubické a cylindrické a vylučují trávicí enzymy, převážně pepsinogen a tuky štěpící lipázy, uložené v intracelulárních granulích.

Krycí neboli parietální buňky díky svému umístění ve žláze kryjí zvenčí jiné buňky a produkují kyselinu chlorovodíkovou a vnitřní faktor, jehož hlavní funkcí je vytváření komplexu s vitamínem B a jeho následné vstřebání v ileu.

Mucinózní buňky krčků i mukózní buňky jamek obsahují muciny uložené v granulích, jež se vylučují v podobě neutrálního nebo kyselého hlenu za vzniku silné bariéry pro ochranu epitelu před toxickými sloučeninami a mikroby.

Dalším typem jsou málo diferencované progenitorové buňky, pocházející z kmenových buněk, jež dávají vznik všem typům žaludečních buněk. Jedná se o dozrávající buněčné prekurzory mající nejen schopnost proliferace a diferenciaci, ale také schopnost migrace, v tomto případě směrem od báze jamky k jejímu povrchu.

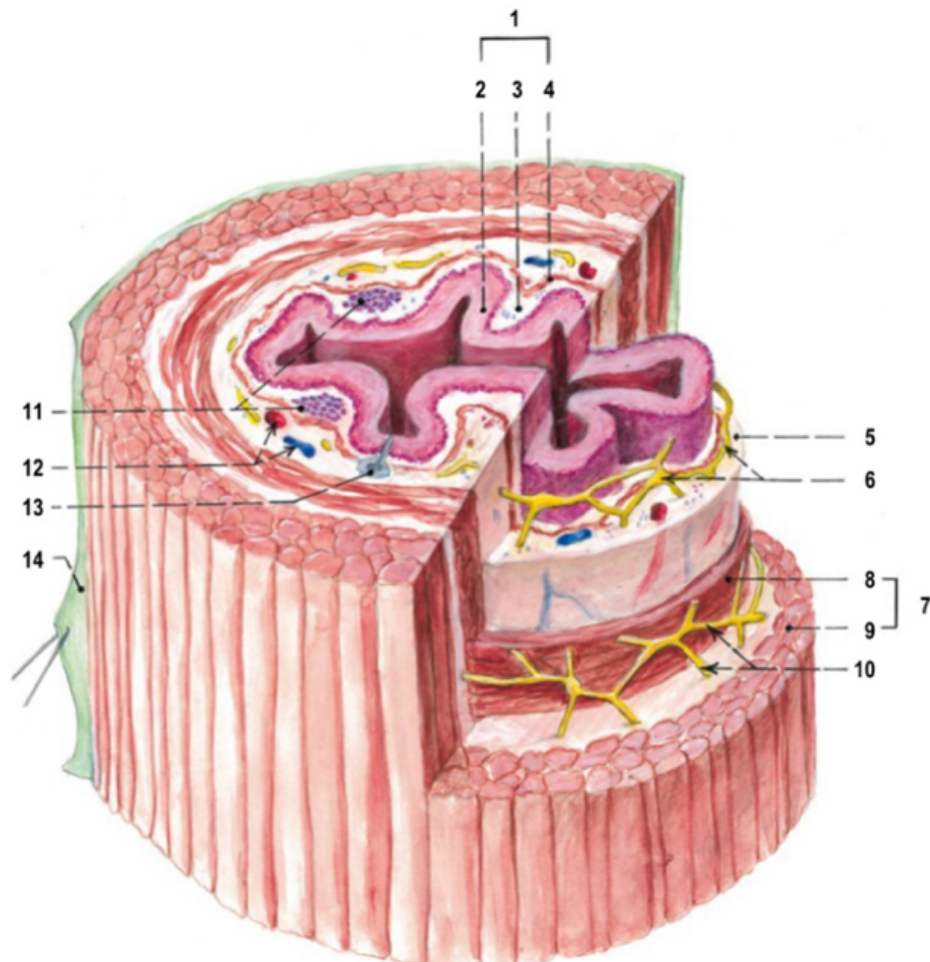
Neuroendokrinní buňky vylučují hormon ghrelin (jinak znám jako „hormon hladu“) a řadí se k nim G-buňky produkující gastrin, D-buňky produkující somatostatin a enterochromafinní buňky produkující histamin (Mendeová, 2023).



Obrázek 1: Buněčné složení žaludečních žláz podle lokalizace v žaludku (oblast fundu vs. oblast pyloru) (Hoffmann, 2013).

### 1.3.2 Buňky střevní sliznice

Tenké a tlusté střevo jsou hlavními místy trávení a vstřebávání živin z potravy, v jejich sliznici se tak nachází různé typy buněk, které plní specifické funkce. Stěna trávicí trubice má čtyři vrstvy charakteristické stavby (obr. 2).



Obrázek 2: Stavba trávicí trubice – 1. *tunica mucosa*, 2. *epithel*, 3. *lamina propria mucosae* (slizniční vazivo), 4. *lamina muscularis mucosae*, 5. *Tela submucosa* (podslizniční vazivo), 6. nervová pleteň v podslizničním vazivu – *plexus submucosus Meissneri*, 7. *tunica muscularis*, 8. vnitřní *stratum circulare*, 9. zevní *stratum longitudinale*, 10. nervová pleteň ve svalovině – *plexus myentericus Auerbachi*, 11. *noduli lymphatici* ve slizničním vazivu, 12. cévy v podslizničním vazivu, 13. žláza pronikající do submukózy, 14. vazivová adventicie (Čihák, 2013).

Nejvnitřnější vrstva tenkého střeva je měkká, růžová až červená sliznice, jež může vytvářet řasy, menší papily, v tenkém střevě potom klky. Na povrchu sliznice je epitel, v tenkém a tlustém střevě epitel jednovrstevný cylindrický, který obvykle pokrývá hlen. Pod epitelem je řídké slizniční vazivo s krevními a lymfatickými cévami,



s lymfocyty a s buňkami hladkého svalstva. Na rozhraní slizničního a podslizničního vaziva je v některých úsecích vytvořena vrstvička hladké svaloviny, která se podílí na posunlivosti sliznice vůči dalším vrstvám. Druhou vrstvou je již zmiňované podslizniční vazivo, řidší vrstva kolagenního vaziva s bohatými sítěmi krevních i mízních cév, které odtud pronikají do jemnějších sítí slizničního vaziva. Třetí vrstva je svalová, na začátku trávicí trubice (dutina ústní, hltan a část jícnu) ze svaloviny příčně pruhované, dále pak ze svaloviny hladké a na konci trávicí trubice opět ze svaloviny příčně pruhované. Svalovina je většinou rozdělena na dvě až tři vrstvy, vnitřní cirkulární a vnější podélnou. Čtvrtá povrchová vnější vrstva je v oddílech, které se nachází v pobřišnicové dutině, tvořena plochým jednovrstevným epitelem. Tlusté střevo se od tenkého liší v několika směrech (obr. 3). Sliznice tlustého střeva nese klky, ale je kryta jednovrstevným cylindrickým epitelem, ve kterém se vyskytuje více druhů buněk, s výjimkou těch Panethových. Slizniční vazivo obsahuje typické lymfatické uzlíky, *noduli folliculi lymphatici solitarii*, nejvíce ve slepém střevu a červovitém výběžku. Podslizniční vazivo a svalovina tlustého střeva splňuje obecnou stavbu, jen v *taeniaecoli*, což jsou tři bělavé podélné pruhy na povrchu tlustého střeva, je podélná svalovina zhuštěná a mohutnější. Seróza tlustého střeva je stejná jako na tenkém střevě, ale navíc ještě vytváří povrchové výběžky, *appendices epiploicae* (Čihák, 2013).

Sliznice tenkého střeva zvětšuje svůj resorpční povrch pomocí několika struktur: Kerckringových řas, střevních klků a mikrokلكů. Kerckringovy řasy, *plicae semicirculares Kerckringi*, jsou makroskopické útvary, tvořené všemi třemi vrstvami *tunica mucosa* a *tunica submucosa*, nejtypičtější v jejunu, jehož plochu zhruba třikrát zvětšují. Nejcharakterističtější strukturou tenkého střeva jsou střevní klky, *villi intestinales*, což jsou mikroskopické výběžky sliznice, tvořené již zmíněným jednovrstevným cylindrickým epitelem a řídkým kolagenním vazivem. Jejich tvar i počet závisí na lokalizaci (nejpočetnější jsou ve dvanáctníku) i věku a zdravotním stavu jedince. Resorpční plochu střeva zvětšují zhruba desetkrát. Mezi jednotlivými bázemi klků začínají Lieberkühnovy krypty, které zasahují až k *tunica muscularis* trávicí trubice. Jsou opět vystlány jednovrstevným cylindrickým epitelem, který obsahuje enterocyty, pohárkové buňky a enteroendokrinní buňky, stejně jako povrch samotných klků. Na rozdíl od nich jsou však v kryptách i nediferencované kmenové buňky a Panethovy buňky. Největšího zvětšení (asi dvacetinásobného) dosahuje střevo díky mikrokلكům, *microvilli*, submikroskopickým výběžkům cytoplazmy na apikálním

povrchu enterocytů. Každý enterocyt vybíhá do dvou až tří tisíců mikrokloků, které tvoří žíhaný, někdy též kartáčový, lem nezbytný pro trávení a transport živin.

Enterocyty jsou hlavním a nejpočetnějším typem buněk střevní sliznice, tvoří zhruba 80 % epitelu. Jedná se o cylindrické resorpční buňky, které vstřebávají cukry, aminokyseliny, mastné kyseliny, monoglyceridy, elektrolyty, vodu atd. Podílejí se také na imunitní ochraně produkcí sekrečního proteinu, který váže a tím chrání tzv. sekreční IgA (třída slizničních protilátek), jež se díky transportu přes epitelovou buňku dostává na lumenální povrch enterocytů, kde chrání organismus před infekcí (*Pelaseyed, 2014*). Enterocyty se také významně podílejí na udržování fyziologické tkáňové rovnováhy ve střevě pomocí specifické funkce proteinu Rab21 (protein příbuzný rodině Ras). V případě enterocytů totiž Rab21 reguluje receptory epidermálního růstového faktoru (EGFR) a také autofagii, a to i nezávisle na sobě (*Nassari, 2022*).

Pohárkové buňky jsou žlázné, jednovrstvé cylindrické buňky, jejichž hlavní funkcí je vylučování hlenu, gelu složeného z vody, iontů a proteinů, a to především glykoproteinu mucinu. Pohárkové buňky dále také syntetizují sekundární mucinové glykoproteiny (MUC2) a bioaktivní molekuly jako membránově vázané muciny (MUC1, MUC3, MUC17), třefoil peptidové faktory (TFF), molekulu beta podobnou resistinu (REL $\mu$ ) a Fc- $\gamma$  vázající protein (Fcgbp) (*Kim, 2010*).

Enteroendokrinní buňky jsou specializované sekreční buňky, zprostředkovávající sekreci hormonů a peptidů jako odpověď na obsah střevního lumen. Tyto látky poté mohou ovlivňovat sousedící buňky prostřednictvím endokrinního, imunitního nebo nervového systému. Lokálně hrají enteroendokrinní buňky významnou roli v gastrointestinální motilitě, v rozpoznání a následné reakci na živiny a metabolismu glukózy (*Atanga, 2023*).

Panethovy buňky se na rozdíl od předešlých tří typů buněk nachází na dně Lieberkühnových krypt spolu s nediferencovanými kmenovými buňkami. Mají pyramidový tvar a ve své cytoplazmě obsahují mnoho granul složených z antimikrobiálních peptidů, jako jsou defenzivy a lysozomy, a růstových faktorů, jako je již zmíněný epidermální růstový faktor, transformující růstový faktor alfa (TGF- $\alpha$ ), a Wnt (*Wingless/integrated*) ligand. Tyto molekuly spolu interagují a podílí se na obraně proti mikroorganismům, regulaci střevní mikrobioty a udržení identity kmenových buněk (*Barreto E Barreto, 2022*). Panethovy buňky jsou, stejně jako ostatní epiteliální buněčné linie, terminálně diferencovány z Lgr5<sup>+</sup> kmenových buněk. Na rozdíl od ostatních však Panethovy buňky zůstávají i po diferenciaci v bezprostřední

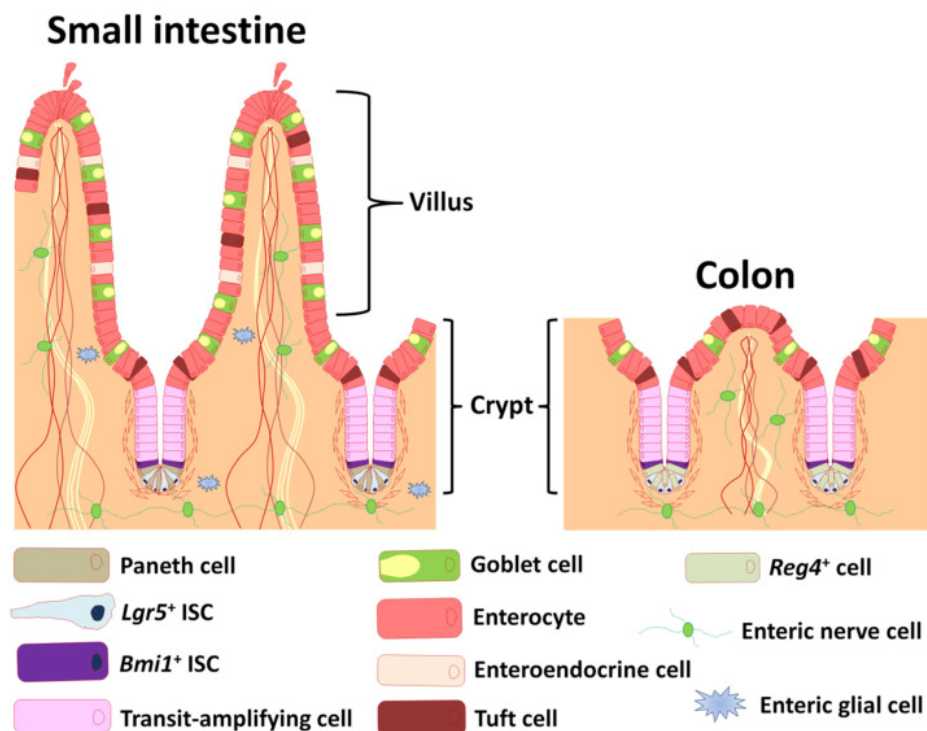
blízkosti kmenových buněk, což mezi nimi naznačuje určitou formu funkční interakce. Jejich již zmíněná exprese růstových faktorů se totiž podílí na tvorbě optimálního prostředí, jinak označovaného jako *niché*, kmenových buněk a *in vitro* jsou tyto dublety až desetkrát efektivnější v sebeobnově epiteliálních organoidů než samotné kmenové buňky (*van Es, 2014*).

Kmenové buňky se vyskytují spolu s Panethovými buňkami na dně Lieberkühnových krypt. Na rozdíl od všech ostatních typů buněk, mají časově neomezenou schopnost sebeobnovy, jejich mitotickým dělením tedy vzniká jedna buňka identická s mateřskou kmenovou a druhá buňka, která se může dále diferencovat do buněk různých linií. Kmenové buňky nacházející se v gastrointestinálním traktu jsou takzvané kmenové buňky dospělých tkání (ATSC, *adult tissue stem cells*). Základem hierarchicky uspořádaného systému ATSC a progenitorových buněk jsou totipotentní epiblastické buňky, které jsou schopné diferencovat se do buněk všech základních linií, tedy ektodermu, mezodermu i entodermu (*Mandys, 2007*). Na dalších úrovních stojí pluripotentní buňky s lineálním zaměřením schopné diferenciací do všech buněčných typů specifického embryonálního listu. Dále jsou zde specifické progenitorové buňky, mající možnost diferenciací do jednoho nebo několika různých buněčných typů tvořících danou tkáň, a přechodné dělicí buňky vykazující vysokou proliferační aktivitu a později přecházející do terminálně diferencovaných buněk. Tkáňově specifické progenitorové buňky, jež zabezpečují fyziologickou regeneraci sliznice GIT, se v různých částech sliznice nacházejí výhradně v určitých lokalitách. V jícnu jsou umístěny v interpapilární oblasti bazální vrstvy dlaždicového epitelu a vývodů acinózních ezofageálních žlázek, v žaludeční sliznici v oblasti krčků žlázek a v tenkém střevě v bazální části krypt (*Mandys, 2007*). Mohou být identifikovány díky expresi unikátního genového markeru *Lgr5* (*Hageman, 2020*).

Tuft buňky, také známy jako kartáčové buňky neboli Bertovy buňky, jsou vzácnějším druhem epiteliálních buněk, které jsou specifické svou morfologií. Jejich bazální část nasedá na bazální lamínu epitelu, zatímco apikální membrána se prodlužuje v charakteristický trs dlouhých a silných mikrovláček vyčnívajících do lumen střeva. Průměrná tuft buňka má dobu života 1-2 týdny, ale jejich malá subpopulace u myši (méně než 5 %) produkuje marker tuft buněk DCLK1 (*double cortin-like kinase 1*) této skupině zajišťuje přežití až 18 měsíců. Tyto dlouhověké buňky jsou zkoumány pro jejich schopnost epiteliální regenerace po poškození, neboť si zachovávají potenciál kmenových buněk (*Hendel, 2022*). Mají také chemosenzorické vlastnosti, podobně jako

chuťové buňky, a podílejí se na iniciaci Th2 imunitní odpovědi, jež se uplatňuje především v reakci na parazity (Nevo, 2019).

Sliznice střeva je díky svým funkcím osídlena velkým množstvím bakterií tvořících střevní mikroflóru, zároveň je však vystavena patogenním mikroorganismům, které člověk přijímá spolu s potravou a tekutinami. V lidském organismu se proto vyvinul speciální imunitní systém – GALT (*gut-associated lymphoid tissue*), tedy střevní lymfoidní tkáň, který se snaží tyto cizí organismy registrovat a případně odstranit. M-buňky (membránové epitelové buňky), jež se vyskytují především v distální části tenkého střeva, jsou unikátní intestinální epiteliální buňky zodpovědné především za imunitní vnímání lumenálních bakterií. Na rozdíl od sousedících enterocytů postrádají M-buňky na své apikální plazmatické membráně mikroklky a namísto nich mají krátké struktury tvaru záhybu, tzv. mikrozáhyby. Navíc je jejich bazální plazmatická membrána vyhloubena do velké válcovité struktury, známé jako „kapsa M-buněk“, kam mohou migrovat a pak se i usadit dendritické buňky a lymfocyty, čímž tvoří velmi tenkou „membranózní“ cytoplazmu M-buněk. Tento typ buněk je také velmi aktivní ve fagocytóze a transcytóze, díky čemuž lumenální bakterie a antigeny pohltní a přenesou dendritickým buňkám v kapse, kde dochází k iniciaci imunitní odpovědi (Ohno, 2016).



Obrázek 3: Rozdíl v uspořádání vnitřní vrstvy tenkého a tlustého střeva (Takahashi, 2021).

## 2. FUNKCE GIT

Gastrointestinální trakt hraje zásadní roli v lidském těle. Je zodpovědný za trávení potravy, vstřebávání živin a vody a eliminaci odpadních látek. Také má podíl na ochraně organismu prostřednictvím imunitního systému, celkovém zdravotním stavu a dle studií posledních let i celkovém psychickém stavu člověka (*Madhogaria, 2022; Mayer, 2022; Chang, 2022*).

### 2.1 ABSORPCE ŽIVIN

Primární funkcí gastrointestinálního traktu je trávení živin z potravy trávicími enzymy a následné vstřebávání vzniklých sloučenin, iontů a vody. Obsah střevního lumen se trávicí trubici posouvá pomocí peristaltických pohybů hladkých svalů ve stěně střeva. Segmentace těchto svalů zároveň zajišťuje dostatečný čas vystavení natrávené potravy absorpčnímu epitelu. Střevo je schopno manipulovat se zhruba 9 litry vody denně, většina z toho je vstřebána v tenkém střevě. Toho je docíleno jedním ze dvou způsobů: paracelulární nebo transcelulární cestou. Paracelulární cesta zahrnuje absorpci molekul vody spolu s živinami skrze alterace v expresi těsných buněčných spojení (*tight junctions*). Transcelulární cesta je pohyb molekul vody přes apikální a bazolaterální membrány epitelových buněk pasivní difuzí spolu s ionty a živinami nebo přes *aquaporiny* (*Greenwood-Van Meerveld, 2017*).

Příjem živin zajišťují transportní proteiny na apikální straně střevních klků, kde se nachází enterocyty (obr. 3). Polysacharidy přijaté potravou jsou nejdříve rozštěpeny na monosacharidy a disacharidy. Prvotní štěpení zajišťuje amyláza produkovaná slinnými žlázami, další štěpení mají na starost příslušné enzymy přítomné v trávicí trubici (*Kiela, 2016*). Finální produkt, glukóza, je přenesen dovnitř enterocytu pomocí transportního sodíkovo-glukózový kotransportéru SGLT1. Tento protein je přítomen pouze v enterocytech, minimálně poté v buňkách Lieberkühnových krypt, což z něj ve střevě dělá jediný kotransportér glukózy na bázi sodíku, který pracuje proti koncentračnímu gradientu. Dalšími transportéry podílejícími se na metabolismu jednoduchých cukrů jsou např. GLUT2 (glukózový transportér 2), GLUT5 (glukózový transportér 5), GLUT7 (glukózový transportér 7) nebo membránové transportéry SLC1A (*Chen, 2018*).

Peptidové vazby v bílkovinách jsou nejprve rozrušeny pepsinem v žaludku, takto zpracované bílkoviny jsou poté dopraveny do duodena, kde jsou rozkládány na menší

molekuly, tedy tripeptidy, dipeptidy a jednotlivé aminokyseliny. Takto malé molekuly už jsou schopny vstoupit do enterocytů, kde mohou být hydrolyzovány cytoplazmatickými peptidázami a poté přepraveny dál do těla. Tuto přepravu zajišťuje šest transportních systémů (tab. 1).

Tabulka 1: Transportní systémy bílkovin v enterocytech.

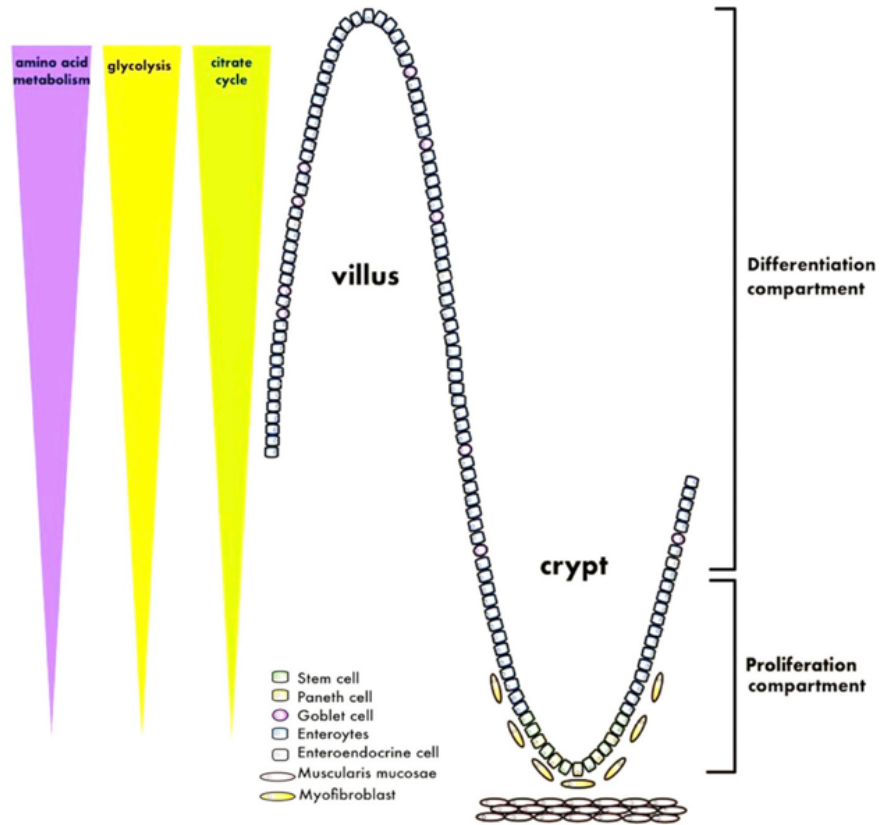
system závislý na interakci A-Na <sup>+</sup>	pro všechny neutrální amino a imino kyseliny
GLYT1	glycinový transportér 1
y <sup>+</sup> - Na <sup>+</sup> systém	závislý na sodných iontech, přenášející bazické aminokyseliny
system L	hlavní, sodíkově závislý transport neutrálních aminokyselin
system y <sup>+</sup> L	funguje na základě výměny buněčných bazických aminokyselin za neutrální aminokyseliny z krve
system Asc	system závislý na sodných iontech, přenášející aminokyseliny s krátkým řetězcem

Proces transportu tripeptidů, dipeptidů a jednotlivých aminokyselin dál do těla opět závisí na enzymech, nejdůležitějším je peptidový transportér 1 (PEPT1), a iontech, hlavně na koncentraci Na<sup>+</sup> a H<sup>+</sup> (Kiel, 2016).

Proces trávení lipidů začíná v ústech jazykovými lipázami, pokračuje žaludečními lipázami, ovšem valná většina štěpení lipidů je v duodenu pomocí pankreatických lipáz a žlučových kyselin. V lumen střeva jsou lipidy rozštěpeny na volné mastné kyseliny, volný cholesterol a monoglyceridy. Takto zpracované lipidy jsou absorbovány enterocyty a přesunuty k jejich endoplazmatickému retikulu, kde spolu s bílkoviny vytvoří lipoproteinové struktury bohaté na triglyceridy, nazývané chylomikrony. Ty se poté dostávají exkrecí do lymfy a následně do krve, kde dochází k jejich dalšímu štěpení lipázami a tím k uvolnění volných mastných kyselin do dalších tkání. Zbytky z chylomikronových struktur jsou dále zpracovány v játrech. Proces přeměny lipidů v chylomikrony zprostředkovává ApoA4 (apolipoprotein A4), protein

produkovaný enterocyty, který je hlavním regulátorem *postprandiální* lipidové odpovědi, tedy lipidové odpovědi následující po jídle (Kozan, 2023).

#### Glucose and amino acid in enterocyte



Obrázek 4: Metabolismus glukózy a aminokyselin ve střevním klku (Chen, 2018).

## 2.2 IMUNITNÍ ROLE GIT

Střevní epitel má kromě trávicí funkce také funkci ochrannou. Během procesu trávení je vystaven velkému množství různých antigenů, nacházejících se v potravě, bakteriím a invazivním mikroorganismům. Tento epitel tedy musí být permeabilní pro živiny a důležité makromolekuly (např. EGF neboli epidermální růstový faktor), ale zároveň musí fungovat jako efektivní bariéra vůči potenciálním škodlivým makromolekulám a mikroorganismům (Snoeck, 2005).

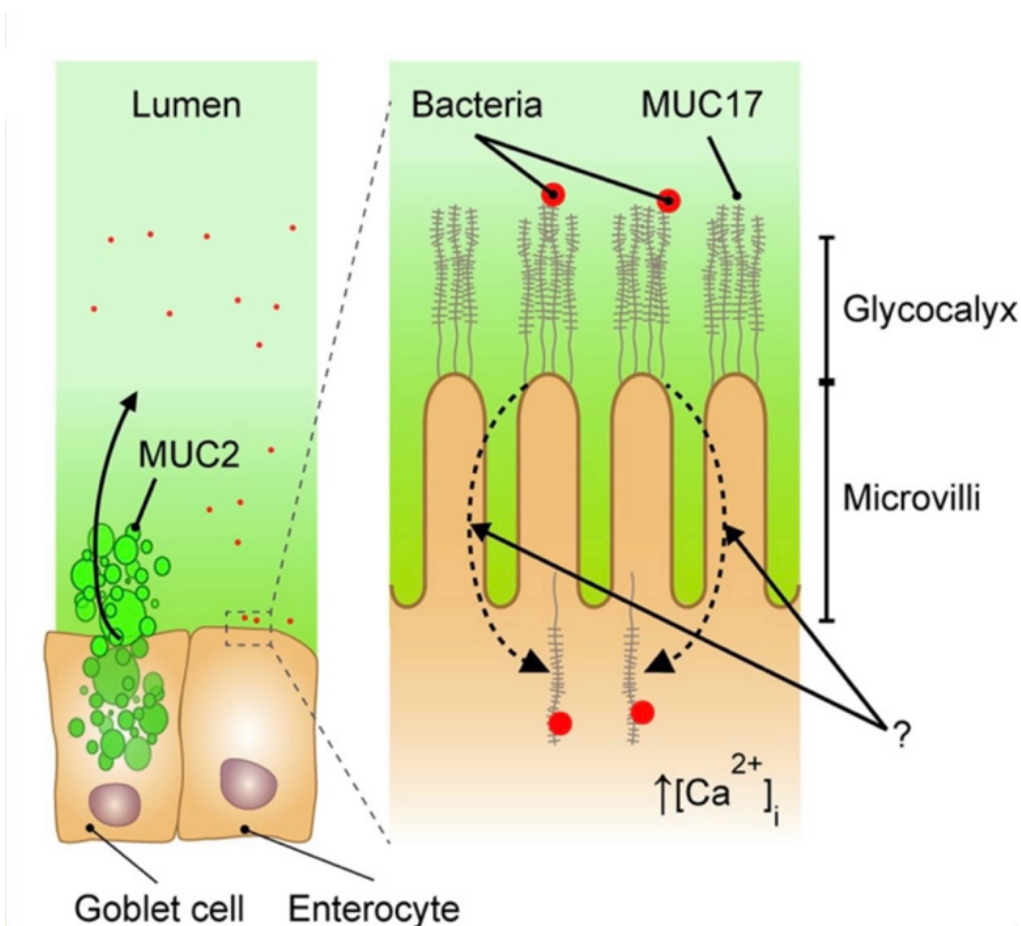
Jedním z prvních ochranných prostředků je prostředí gastrointestinálního traktu. Koncentrace kyseliny chlorovodíkové, nacházející se v žaludku, je natolik vysoká, že dokáže hydrolyzovat chemické vazby, trávicí enzymy jsou schopny rozdělit peptidovou vazbu a žlučové soli mohou rozpustit buněčné membrány. Tato, už tak komplexní

ochrana organismu, je však pouze minoritní součástí imunitního systému. Jeho většina je lokalizována přímo ve stěnách střeva (*Pelaseyed, 2014*). Za imunitní odpověď tam zodpovídají specializované epitelové dendritické buňky, M-buňky, zmiňované v předchozí 1.3.2 kapitole. Dendritické buňky jsou kontinuálně dopravovány do mukózního imunitního systému ve stěně střeva a zajišťují tak neustálou imunokontrolu. Samotné enterocyty však hrají důležitější roli než jen pasivní bariéru, často se imunitní odpovědi organismu přímo účastní. Apikální povrch enterocytů je hustě pokryt mikrokly, jejichž vrcholky obsahují velké, negativně nabitě glykoproteiny podobné mucinu, které tvoří ochranný plášť, glykokalyx. Tento plášť tloušťky 400-500 nm obsahuje pankreatické enzymy a membránové glykoproteinové enzymy odpovídající za terminální trávení (*Snoeck, 2005*). Enterocyty obsahují gen pro syntézu mucinu 17 MUC17, jenž je schopen relokalizovat se z apikální membrány dovnitř buňky do vezikul (obr. 4). Ze studií tohoto jevu vyplývá, že celé bakterie a bakteriální adheziny mohou být transportovány dovnitř enterocytů, které přímo komunikují s imunitním systémem a slouží jako senzory (*Pelaseyed, 2014*).

Mucus tenkého střeva vyplňuje prostor mezi jednotlivými kly a většinou překrývá i jejich vrcholky, není však k epitelu připevněn a pohybuje se spolu s peristaltikou. Jeho hladinu neustálou sekrecí doplňují pohárkové buňky z Lieberkühnových krypt, kde se mucin míchá se sekrety z Panethových buněk, které obsahují antibakteriální peptidy, lysozomy a MUC2-kódovaný mucin. Produkty Panethových buněk, společně s antibakteriálními proteiny typu RegIII $\gamma$  (*regenerating islet-derived protein gama*) vytváří v mukóze antibakteriální gradient, který nedovolí bakteriím přiblížit se k povrchu epitelových buněk (*Pelaseyed, 2014*).

Tlusté střevo má jinou organizaci mukusu než tenké střevo díky dvouvrstvému systému. Vnitřní vrstva je kontinuálně tvořena sekrecí z povrchových pohárkových buněk. Na to reaguje MUC2 svým uvolněním a formováním síťovitých struktur, které interagují s již sekretovanou vnitřní vrstvou mukusu (*Pelaseyed, 2014*).





Obrázek 5: Schéma funkce MUC17 a MUC2, tedy genů pro syntézu mucinu 17 a 2 (Pelaseyed, 2014).

## 2.3 VLIV GIT NA MENTÁLNÍ ZDRAVÍ

Mikrobiom lidského střeva je hlavním zdrojem symbiotických bakterií, které mají pozitivní vliv na celkové zdraví člověka. Množství a druhová specificita bakterií je dána fyziologickými faktory jako jsou pohyby střev, pH, příjem živin, přítomnost žaludečních a žlučových šťáv, mukusu a trávicích enzymů a neporušenost střevní stěny. Kromě těchto interních faktorů hrají roli i externí faktory jako onemocnění, stres, stáří, nezdravá strava nebo užívání antibiotik (Madhogaria, 2022).

Mnoho studií dokazuje oboustrannou komunikaci mezi mozkem, GIT a střevním mikrobiomem, takzvaný "brain-gut axis". Komunikace v tomto systému není lineární, obsahuje několik zpětných vazeb a interakce mezi různými kanály. Alterace v "brain-gut-microbiome", systému byly nalezeny na modelech potkanů s několika různými trávicími, psychickými a neurologickými poruchami (Mayer, 2022). V posledních letech stále více studií (Madhogaria, 2022; Mayer, 2022; Chang, 2022) dokazuje, že střevní mikrobiota a hostitel mají symbiotický vztah už od nejzazších stádií embryonálního vývoje, a to díky spojení dítěte a matky, což ovlivňuje vývoj mozku a psychického zdraví dítěte. Specifická střevní mikrobiota produkuje chemické signály, jež mají

specifické role v různých biologických procesech souvisejících se zdravotním stavem organismu. Kromě chemických signálů sena “*brain-gut axis*”, podílí i síť nervových signálů a síť imunologických signálů. Všechny tyto sítě hrají roli v patologickém rozvoji deprese. Pochopení mechanismů tohoto systému se považuje za jednu z budoucích cest léčby deprese (Chang, 2022).

### **3. PRINCIPY REGENERACE EPITELU V GIT**

#### **3.1 REGENERACE ŽALUDEČNÍHO EPITELU**

Regenerace žaludečního epitelu je klíčový proces, jenž umožňuje tělu udržovat integritu a funkčnost žaludku. Jedná se o komplexní dynamický proces, který je neustále aktivní v důsledku běžného opotřebení buněk vlivem trávení a ochrany před poškozením.

Jsou známy dva hlavní mechanismy regenerace a opravy mukózního epitelu žaludku, které se liší dobou trvání. Prvním mechanismem je rychlá oprava povrchových lézí pomocí buněčné migrace, tedy proces zvaný restituce. Tento proces začíná během několika minut. Druhým mechanismem je kontinuální regenerace prostřednictvím diferenciací a proliferací kmenových a progenitorových buněk, ta ovšem trvá v řádu dní až měsíců (Hoffmann, 2008).

##### **3.1.1 Regenerace epitelu migrací buněk**

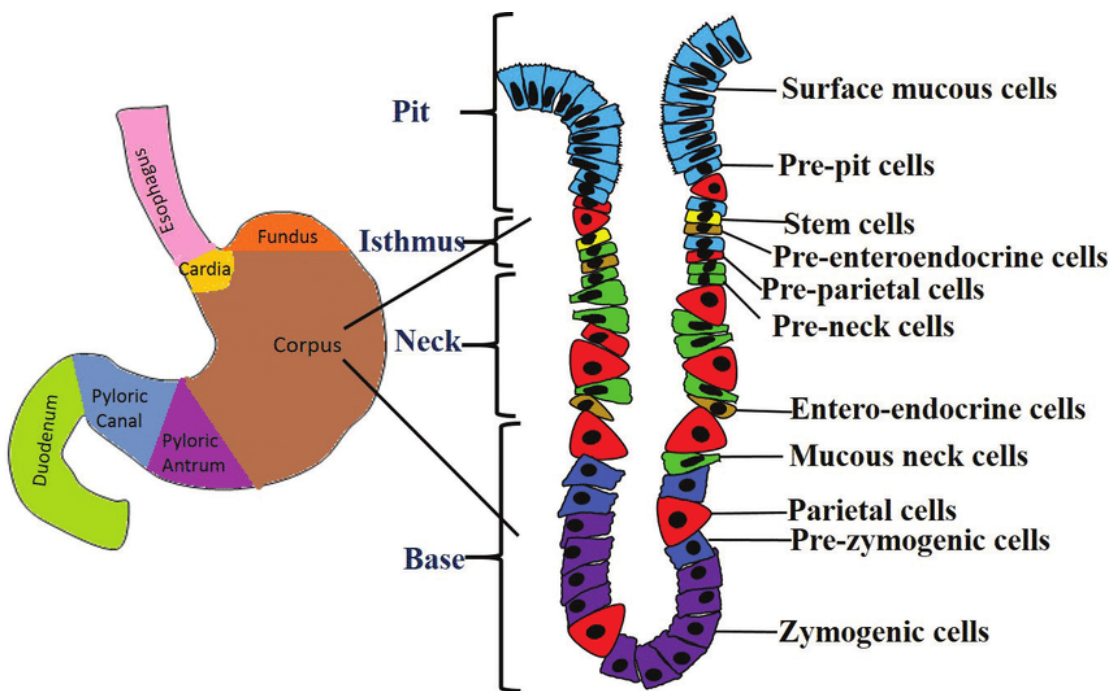
Migrace buněk žaludečního epitelu probíhá v několika fázích, zahrnujících interakce mezi buňkami a extracelulární matrix. Začíná odloučením buněk od sousedních buněk v epitelu, což je vyvoláno různými faktory, například signální molekulou E-kadherin, která je klíčová pro udržování mezibuněčných spojení v epitelu (Petrova, 2016). Jakmile jsou buňky odloučeny od okolí, dochází k polarizaci, kdy se buňka začne orientovat směrem k migračnímu cíli. V této fázi se vyvíjejí protruze, takzvaná filopodia, obsahující svazky lineárního F-aktinu, jež pomáhají buňce v pohybu (SenGupta, 2021). Po vytvoření protruzí, se buňka připojí k extracelulární matrix prostřednictvím adhezních molekul, jako jsou integriny. Tento krok umožňuje buňce získat oporu a pohybovat se směrem k cíli migrace (Hood, 2002). Pohyb buněk během migrace je často podporován postupnými kontrakcemi aktinového cytoskeletu (Seetharaman, 2020). Během migrace mohou buňky žaludečního epitelu sekretovat různé faktory, jako jsou proteiny nebo enzymy, jež pomáhají při remodelaci

extracelulární matrix a vytváření prostředí podporujícího migraci (*SenGupta, 2021*). Když buňka dosáhne svého cíle, integruje se do žaludeční stěny a diferencuje se do specializovaného typu buňky žaludečního epitelu, poté začíná plnit svou specifickou funkci v trávení a ochraně.

Hlavní roli v procesu restituce hrají takzvané povrchové mukózní buňky (SMC, *surface mucous cells*), jež vznikají z progenitorových buněk istmu, odkud migrují na povrch sliznice včetně povrchu jamek. Typicky odpovídají na infekce způsobené *Helicobacter pylori* a také slouží jako dominantní hostitel komplexní žaludeční mikrobioty. Lidské SMC pyloru a fundu se liší v expresi alespoň čtyř sekrečních genů, žaludeční lipázy, TFF3 (gen pro syntézu proteinu *trefoil factor 3*), FCGBP (gen pro syntézu *Fc gamma binding* proteinu) a lysozomů (*Hoffmann, 2013*).

### 3.1.2 Regenerace epitelu diferenciací buněk

Ve sliznici žaludku jsou hojně zastoupeny dva typy žaludečních žláz, žlázy fundu a těla a žlázy pyloru. Vzhledem k jejich histologické odlišnosti je rozdíl i v jejich vlastním procesu sebeobnovy, kdy k největší proliferační aktivitě dochází v istmu žaludeční jamky. V něm se taky nachází nezralé prekurzory pro povrchové mukózní buňky, mukózní buňky istmu a krycí buňky (obr. 5).



Obrázek 5: Zóny žaludku a lokalizace typů buněk (Greish, 2017).

V pylorických žlázách byly identifikovány dodatečné buněčné populace s charakteristickými vlastnostmi kmenových buněk (např. přítomnost Lgr5+). Tyto buňky byly identifikovány také ve žlázách fundu, ale pouze v neonatálním žaludku. V pylorických žlázách byla navíc objevena ještě třetí populace s vícerodovými buňkami. Tato populace je označena vilinovým promotorem a k jejímu dělení dochází po styku s interferonem- $\gamma$ . Za normálních podmínek však nepřispívají k regeneraci, je možné, že slouží jako zásobárna spících buněk, jež je aktivována při odpovědi na zánět. Existence několika populací kmenových buněk v těchto žlázách může souviset i s faktem, že povrchové mukózní buňky pyloru mají rychlejší obrat než povrchové mukózní buňky fundu (Hoffmann, 2013).

Povrchové mukózní buňky se expandující především díky transformujícímu růstovému faktoru alfa (TGF- $\alpha$ ) a jejich diferenciaci je kontrolována TFF peptidy (peptidy z rodiny *trefoil factor*). Řádná diferenciaci SMC také závisí na expresi proteázy furinu, která se podílí na proteolytickém zrání proteinů z rodiny transformujícího růstového faktoru beta (TGF- $\beta$ ) (Kayo, 1997).

Krycí buňky díky schopnosti produkce kyseliny chlorovodíkové fungují jako primární organizační centra žaludečních žláz. Jejich ztráta znamená pro žlázu nerovnoměrnou obnovu, tedy spotřebovávání hlavních buněk a zvýšenou tvorbu SMC. Buněčná linie krycích buněk je jediná, která dokončuje svou terminální diferenciaci uvnitř istmu a poté postupně odumírá během migrace směrem dolů k bázi. Kritickými faktory tohoto procesu jsou transkripční faktor GATA-4a protein Hip1r (*Huntingtin-interacting protein 1-related*) (Keeley, 2010). Hlavním stimulem krycích buněk je gastrin, a to hlavně nepřímo přes uvolnění histaminu z endokrinních buněk (Dimoline, 2007). Gastrin také stimuluje expresi SHH, který hraje klíčovou roli v diferenciaci a proliferaci buňky a zároveň stimuluje procesy související se sekrecí kyseliny chlorovodíkové pomocí pepsinogenu A na apikální straně buňky (Zavros, 2007).

Mukózní buňky istmu slouží kromě jiného i jako prekurzory transdiferenciaci hlavních buněk. Tento proces je spjat s dramatickou změnou sekrečních vezikul a zvýšenou expresí proteinu moesinu, který se nachází na apikální membráně hlavních buněk. Tato zvýšená exprese moesinu doprovází diferenciaci a vývoj od mukózních buněk istmu až po hlavní buňky a jeho apikální lokace naznačuje jeho roli ve funkcích hlavních buněk (Zhu, 2007). Správné zrání této buněčné linie striktně závisí na

funkčnosti krycích buněk, konkrétně na sekreci SHH, amfíregulinu a histaminu uvolněného z endokrinních buněk (Hoffmann, 2013).

Žaludeční endokrinní buňky jsou endodermálního původu, stejně jako všechny ostatní žaludeční epiteliální buňky, tudíž se vyvíjejí ze stejných kmenových buněk. Jeden z hlavních regulátorů diferenciace žaludečních endokrinních buněk je transkripční faktor *hairy and enhancer of split-1* (HES-1), jenž reprezentuje endokrinní diferenciaci skrze Notch signální cestu (Jensen, 2000). V pyloru se diferencují G- a D- buňky ze stejného prekursoru přes expresi transkripčního faktoru *Islet-1* (ISL-1), jenž je typický pro diferencované D buňky (Larsson, 1995).

Subepiteliální mesenchymální buňky, jež jsou mesodermálního původu, obklopují žaludeční výstelku. Jsou derivovány z kostní dřeně nebo z lokálně aktivovaných fibroblastů jako odpověď na přítomnost TGF- $\beta$ . Během embryonálního, fetálního i dospělého života spolu endoderm a mesoderm intenzivně obousměrně komunikují. Mesoderm také obsahuje esenciální lokalizační informace pro správnou diferenciaci epitelu (Zorn, 2009). Typickými morfogeny účastnicími se tohoto procesu jsou členové rodiny TGF- $\beta$  a SHH. Obecně poskytují subepiteliální mesenchymální buňky ideální mikroprostředí epiteliálním buňkám a jsou tak kritické pro udržení buněčné homeostázy. Jsou také zodpovědné za vytváření specifického prostředí pro somatické kmenové buňky, takzvaného *niché* somatických kmenových buněk, a regulaci metastáz (Hoffmann, 2013).

### 3.1.3 Dysregulace obnovy žaludečního epitelu

Dysregulace regeneračního procesu žaludečního epitelu je typická pro specifické patologické stavy, záleží však, o jakou dysregulaci se jedná.

Expanze buněčné linie povrchových mukózních buněk (tzv. foveolární hyperplázie) byla pozorována u Ménétrierovy choroby. Tato expanze, která je charakterizována obrovskými žaludečními řasami vzniklými ztluštěním sliznice v těle žaludku, je způsobena přebytečnou expresí TGF- $\alpha$  a je velmi často doprovázena ektopickou expresí transkripčního faktoru *pancreatic and duodenal homeobox 1* (PDX1) v celém žaludečním fundu (Hoffmann, 2013).

Dysregulace sebeobnovy žaludečního epitelu může také vést k abnormální diferenciaci, u které jsou epiteliální buňky žaludku nahrazeny epiteliálními buňkami jiného typu. To je typicky pozorováno jako prekancerózní stavy zejména

u „intestinálního typu“ žaludečního karcinomu. Tento typ karcinomu je charakterizován hierarchií dobře definovatelných lézí v tomto pořadí: chronická gastritida, žaludeční atrofie, metaplázie a dysplázie (Hoffmann, 2013). Chronická gastritida je definována jako přítomnost chronických zánětlivých změn sliznice a lze ji dělit na povrchovou nebo hlubokou. Z etiologického hlediska je možno rozlišit typ autoimunitní, který postihuje tělo žaludku, a typ bakteriální, který je způsoben enzymy bakterie *Helicobacter pylori* a postihuje antrum. Oba tyto typy se mohou vyvinout v žaludeční atrofii s hypoaciditou až anaciditou. Žaludeční intestinální metaplázií se rozumí náhrada epitelu žaludeční sliznice epitelem intestinálního typu a lze ji chápat jako projev odchýlné regenerace. V dnešní době jsou zavedeny dvě metaplazické prekancerózní linie – intestinální metaplázie a pseudopylorická neboli mukózní metaplázie (Gutiérrez-González, 2008). Pseudopylorická metaplázie se vyvíjí jak z transdiferenciace zralých hlavních buněk, tak z mukózních buněk krčku během jejich vlastní trans-diferenciace v hlavní buňky (Nam, 2009). Druhá z možností byla pozorována v několika prostředích po ztrátě krycích buněk, u myši s nedostatkem histaminu a u myši s nedostatkem amfiregulinu. Z tohoto faktu vyplývá, že defekt ve funkčnosti krycích buněk je schopen vyvolat začátek pseudopylorické metaplázie. U testovaných myši s nedostatkem amfiregulinu byla také pozorována progresse pseudopylorické metaplázie v intestinální metaplázii (Nam, 2009). Intestinální metaplázie aberantně exprimuje specifický transkripční faktor *caudal-type homeobox 2* (CDX2), u něž byla prokázána vlastnost potlačení exprese SHH. Pseudopylorická metaplázie je tedy výsledkem dysregulované sebeobnovy zymogenních buněk, která je schopna se rozvinout do intestinální metaplázie, jež úplně utlumí proces diferenciaci v žaludečním fundu (Hoffmann, 2013). Dysplázie žaludeční sliznice jsou morfologické změny buněk a jejich uspořádání ve tkáni a je všeobecně uznávaným prekurzorem adenokarcinomu žaludku (Sung, 2016).

Dysregulovaná sebeobnova se objevuje i jako odpověď na zánětlivé stavy, např. prozánětlivý cytokin interferon  $\gamma$  indukuje hypertrofii mukózních buněk krčků a pseudopyloricko umetaplázii. V tomto případě je dysregulace způsobena narušenou organizační funkcí krycích buněk, neboť zánětlivé stavy inhibují expresi SHH a sekreci žaludečních kyselin (Waghray, 2010). Dysregulovaná sebeobnova žaludečního epitelu v rámci chronických zánětů slouží jako základ pro vývoj neoplázie, tedy novotvorby tkáně, která se morfologicky liší od tkáně původní. To může hrát rozhodující roli nejen v narušení organizační funkce krycích buněk, ale také v procesu začlenění buněk

pocházejících z kostní dřeně do žaludeční sliznice, kde mohou přecházet v karcinom (Hoffmann, 2013).

### 3.2 REGENERACE STŘEVNÍHO EPITELU

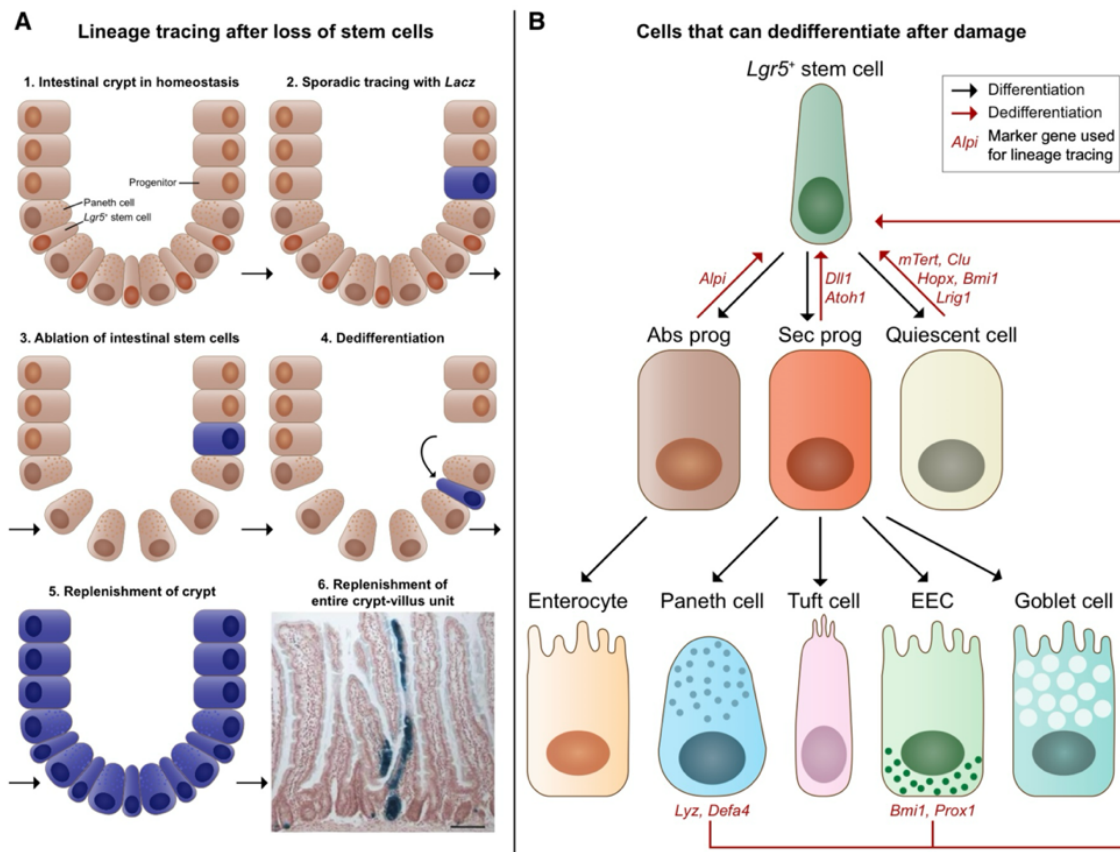
Buňky jednovrstevného střevního epitelu mají životnost kolem čtyř dní, jejich neustálá obnova je tedy velmi důležitým procesem pro efektivní vstřebávání živin, vody a minerálních látek i pro plnění ochranné funkce. K poškození střevního epitelu může dojít mnoha způsoby, a to mechanickým stresem, infekcí, chronickými zánětlivými onemocněními, radioterapií, užíváním antibiotik, nebo cytotoxickými terapeutiky. Střevní epitel reaguje na různé typy poškození různými způsoby. Nejfatálnější pro lidský organismus je poškození kmenových a progenitorových buněk. Bylo dokázáno, že akutní zánětlivá onemocnění jsou zodpovědná za ablaci Lgr5<sup>+</sup> kmenových buněk jak v tenkém (Schmitt, 2018), tak v tlustém střevě (Davidson, 2012). Bakteriální, virové nebo parazitární infekce mohou postihnout velké plochy střevního epitelu (Andersson-Rolf, 2017). Tento typ poškození může indukovat vznik takzvaných „wound-associated“ epitelových buněk (WAE), které rychle překryjí ránu (Miyoshi, 2012). Daný proces funguje jako prozatímní řešení, neboť WAE buňky nemají všechny funkce potřebné pro fyziologické pochody střevního epitelu. Zhruba po týdnu jsou tedy WAE buňky nahrazeny *de novo* formací funkčních krypt. Regenerace ztracených krypt může probíhat štěpením nově formovaných krypt, jehož opakem je i možná fúze existujících krypt (Dekaney, 2009). Tyto patologie bývají častým příznakem většího střevního poškození, především idiopatických střevních zánětů, jako jsou Crohnova choroba a ulcerativní kolitida (Hageman, 2020). Dalším příkladem nemoci, u které se vyskytuje velké poškození střevního epitelu, je cystická fibróza. Tato nemoc je charakteristická zmenšenou sekreční funkcí epiteliálních buněk (De Lisle, 2013), pacienti mají méně pohyblivou mukózní vrstvu, která navíc není dostatečně účinná v ochraně organismu proti bakteriálním infekcím (Smyth, 2000). Osud kmenových buněk je z velké části závislý na aktivitě signálních drah, mikroprostředí, ve kterém se nachází, a tedy hraje podstatnou roli v modulaci plasticity a funkčnosti kmenových buněk během epiteliální sebeobnovy (Hageman, 2020).

### 3.2.1 Regenerativní odpověď kmenových epitelálních buněk

Naprosto esenciální složkou epitelální regenerace jsou střevní kmenové buňky, jež se kontinuálně dělí na dnu Lieberkühnových krypt (obr. 6). Poté dávají vzniknout progenitorovým buňkám, jež se diferencují do několika typů buněk přítomných v epitelu, a to jak *in vivo*, tak *in vitro* (Sato, 2009). Střevní kmenové buňky jsou na dnech krypt promíchány s post-mitotickými Panethovými buňkami. Podle několika studií (Potten and Loeffler, 1990; Sangiorgi and Capecchi, 2008; Takeda et al., 2011) je nad Panethovými buňkami, v takzvané pozici +4, přítomna alternativní skupina kmenových buněk, jejíž funkce a osud během homeostázy a odpovědi na zranění je však pořád tématem debaty (Barker, 2014). Těmto buňkám se říká spící a jsou značeny pomocí markerů Bmi1, mTert, Hopx nebo Lrig1. Tyto buňky jsou schopny exprese chaperonu URI (*unconventional prefoldin RPB5 interactor*), který inhibuje Wnt signalizaci, usnadňuje nízkou proliferaci a tím umožňuje buňkám rezistenci vůči radiaci (Chaves-Pérez, 2019). Nedávno byla identifikována nová populace „obnovujících se“ kmenových buněk, které jsou vzácnými buňkami s možností exprese proteinu Clu, pozorovaná ve střevním epitelu ozářených myší. Po ozáření nebo vyčerpání kmenových buněk se tyto buňky množí a mohou obnovit intestinální epitel. Tento fenomén je však pořád předmětem studií (Hageman, 2020).

*Niché* střevních kmenových buněk je zajištěno těsným fyzickým kontaktem se sousedícími buňkami jak epitelálního, tak mesenchymálního původu. Proliferativní vlastnosti kmenových buněk jsou udržovány signálními faktory z okolních buněk, jako jsou Wnt ligandy, EGF, Notch ligandy a inhibitory kostního morfogenetického proteinu (BMP) (Gerhart, 2019). Kmenové buňky se majoritně dělí symetricky a projevují neutrální soupeření o limitovaná místa ve svém *niché*. Výsledkem tohoto soupeření je vytlačení kmenových buněk na okraji za hranice *niché*. Tím jsou buňky vystaveny faktorům, jež spouští buněčnou diferenciaci v progenitorové buňky a zároveň jsou natlačeny do tzv. „trans-amplifikační zóny“ po stranách Lieberkühnovy krypty. V této zóně dochází k diferenciačnímu procesu, při kterém se buňky několikrát dělí, během něhož migrují z krypty směrem ke střevním klkům. Kmenová buňka se může diferencovat v buňku sekreční linie na enteroendokrinní, Panethovy či pohárkové buňky, nebo v buňku absorpční linie na enterocyty či M-buňky. Hlavním faktorem, který rozhoduje o tom, o jakou diferenciaci půjde, je Notch signál (Koch, 2013).

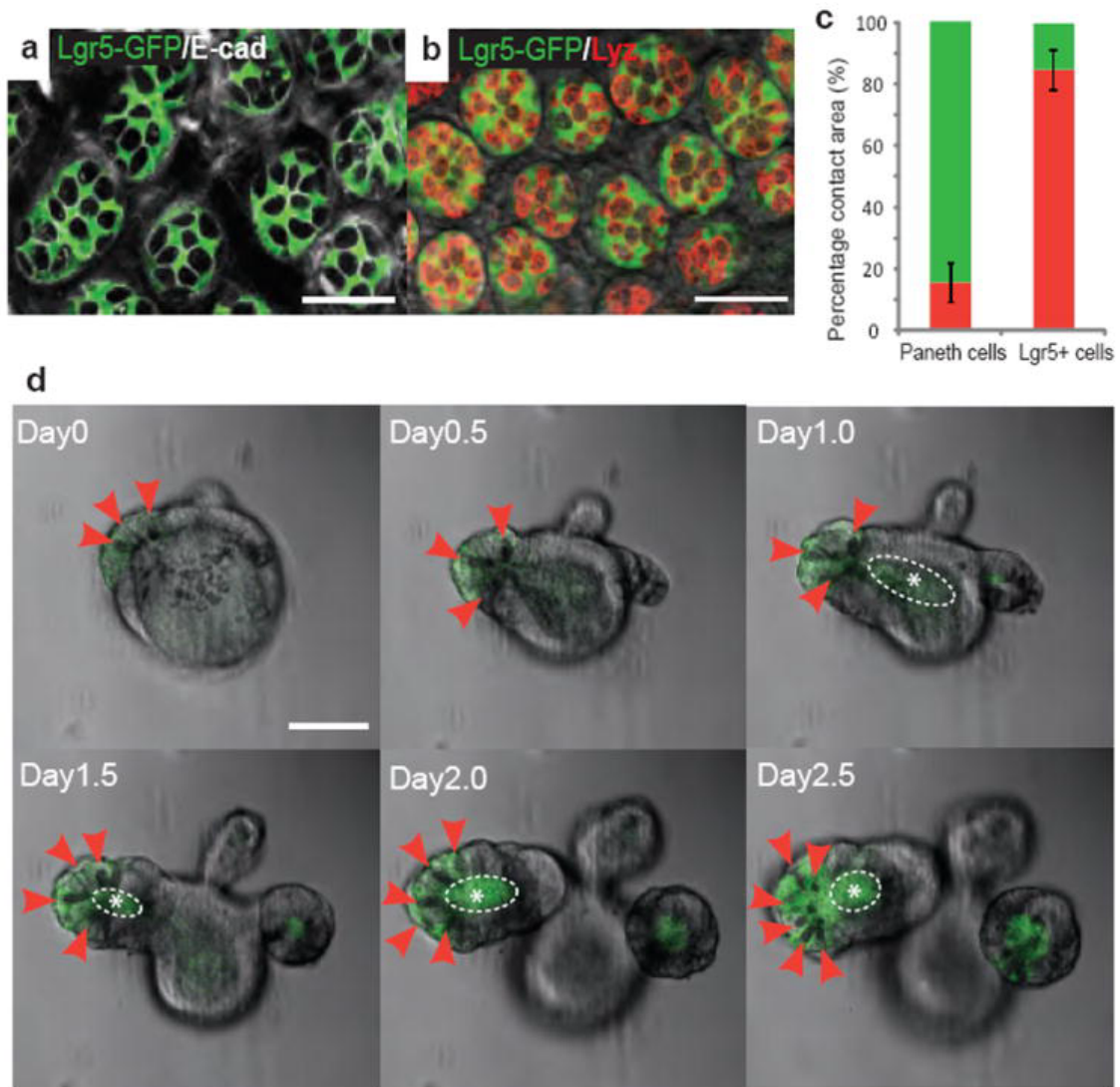




Obrázek 6: A – Proces ablace, dediferenciace a následného doplnění Lieberkühnovy krypty po ztrátě kmenových buněk, B – Diferenciace  $Lgr5^+$  kmenové buňky (červeně = geny aktivující dané procesy) (Hageman, 2020).

Jak již bylo zmíněno, Panethovy buňky se výrazně podílejí na regulaci kmenových buněk, a to jak *in vitro*, tak *in vivo* (viz obr. 7). Genetické odstranění Panethových buněk *in vitro* vede k současné ztrátě  $Lgr5^+$  kmenových buněk. Lidský organismus si s tímto problémem však zřejmě umí poradit, chybějící Panethovy buňky mohou být nahrazeny enteroendokrinními nebo tuft buňkami, jež pak slouží jako alternativní zdroje Notch signálů (van Es, 2019). I samotné Panethovy buňky jsou ovšem zřejmě schopné nahradit  $Lgr5^+$  kmenové buňky (Jahdav, 2017). Po akutním zánětu tenkého střeva myši dochází k výrazné ztrátě jejich  $Lgr5^+$  kmenových buněk. Panethovy buňky mohou opět vstoupit do buněčného cyklu, ztratit své typické sekreční vlastnosti, a naopak získat vlastnosti podobné těm, které mají kmenové buňky, čímž přispívají k regeneraci epitelu. Uplatněným mechanismem je tu sekrece faktoru kmenových buněk, jež při zánětu spouští signalizaci skrz c-Kit receptor. Poté dochází až k inhibici enzymu GSK3 $\beta$  (*glycogen synthase kinase-3 beta*) a aktivaci Wnt dráhy v buňkách (Schmitt, 2018).

Mesenchymální buňky okolí zase sekretují dostatečné množství Wnt ligandů na udržení homeostázy (*Kabiri, 2014*). Konkrétní subpopulace mesenchymálních buněk s touto funkcí jsou Gli1<sup>+</sup> buňky schopné exprese proteinu kódovaného genem WNT2B (Wnt2b), CD34<sup>+</sup> buňky schopné exprese Rspo1 (též R-spondin-1, protein kódován genem RSPO1) a Wnt2b, Foxl1<sup>+</sup> buňky schopné exprese Wnt2b a Rspo3 (též R-spondin-3, protein kódován genem RSPO3) a Pdgfra<sup>+</sup> myofibroblasty (*Hageman, 2020*). Dodatečnou funkcí mesenchymálních buněk je tvorba signálního gradientu kostního morfologického faktoru, čímž opět podporují správnou funkci kmenových buněk (*Kosinski, 2007*). Na bázi krypt jsou specifické mesenchymální buňky Pdgfra1<sup>low</sup>, známy též pod názvem trofocyty, sekretující BMP-inhibitor gremlin 1, zatímco mesenchymální buňky Pdgfra1<sup>high</sup>, telocyty, aktivující BMP signalizaci, jsou lokalizovány především na klku (*McCarthy, 2020*). V kryptách tlustého střeva leží mezi Lgr5<sup>+</sup> kmenovými buňkami CD24<sup>+</sup> buňky, které by mohly sloužit jako ekvivalent Panethových buněk (*Sato, 2011*). Epiteliální Panethovy buňky produkují WNT3 (gen kódující proto-onkogenový protein Wnt3), EGF a gen kódující protein podobný deltě 4 (*DLL4, delta-like 4 protein*). Také podporují metabolismus kmenových buněk tím, že jim poskytují laktát, který potom buňky využívají jako substrát pro oxidativní fosforylaci (*Rodríguez-Colman, 2017*).



Obrázek 7: Distribuce Panethových a  $Lgr5^+$  kmenových buněk – a, b:  $Lgr5^+$  kmenové buňky – zelené a Panethovy buňky – černé, lysozomy – červené, c: červené a zelené sloupce značí kontaktní plochu Panethových a kmenových buněk, d: časový záznam organoidového růstu, červenými šipkami označené Panethovy buňky obsahující granula jsou v místě nové kryty, kde expandují i  $Lgr5^+$  kmenové buňky (Sato, 2010).

Poškození střevního epitelu je často doprovázeno infekcí či zánětem, což aktivuje imunitní systém. Imunitní buňky, například M2 makrofágy, mohou modelovat regenerativní odpověď, a to tak, že aktivují expresi Wnt ligandů, což zvedne hladinu genu pro expresi Wnt a  $\beta$ -kateninu. Tento proces se projeví zvýšením počtu  $Lgr5^+$  kmenových buněk (Hageman, 2020). Makrofágy také sekretují interleukin-6, který stimuluje Notch signalizaci skrze receptor GP130 (Taniguchi, 2015), a účastní se vzniku WAE vrstvy epitelálních buněk (Seno, 2009). Druhým příkladem imunitní buňky, která podporuje intestinální regeneraci je přirozená lymfoidní buňka.

Podskupina těchto buněk je schopna exprese interleukinu-22, který aktivuje STAT3 signalizaci, díky níž dojde k nárůstu počtu Lgr5<sup>+</sup> kmenových buněk, a tím i ke zvýšené reparaci (Hageman, 2020).

Svou roli v reparaci střevního epitelu hrají také buňky enterického nervového systému. Tento systém se skládá z neurálních a gliových buněk, jež se účastní regulace intestinálních funkcí, jako je oběh krve, peristaltika a interakce mezi střevním epitelem a buňkami imunitního systému (Schneider, 2019). Podskupina neurálních buněk enterického nervového systému má schopnost exprese hepatocytárního růstového faktoru (HGF) a jeho receptoru MET (Avetisyan, 2015). K potvrzení této teorie byly použity myši s nefunkčním genem pro MET. Při podání dextranu síranu sodného bylo pozorováno zvýšené poškození tračníku a snížená epiteliální proliferace, potvrzující podíl HGF/MET signalizace na intestinální regeneraci (Hageman, 2020).

Poranění epitelu často souvisí se zánětlivou odpovědí a imunitními buňkami, které jsou během zánětu rekrutovány a mohou regulovat opravu. Zánět často zahrnuje produkci tumor necrosis faktoru (TNF) makrofágy. TNF aktivuje signální dráhu Wnt jak v intestinálních organoidech, tak ve střevech pokusných myši, což naznačuje podporu regenerace (Hageman, 2020).

### 3.2.2 Notch signalizační dráha

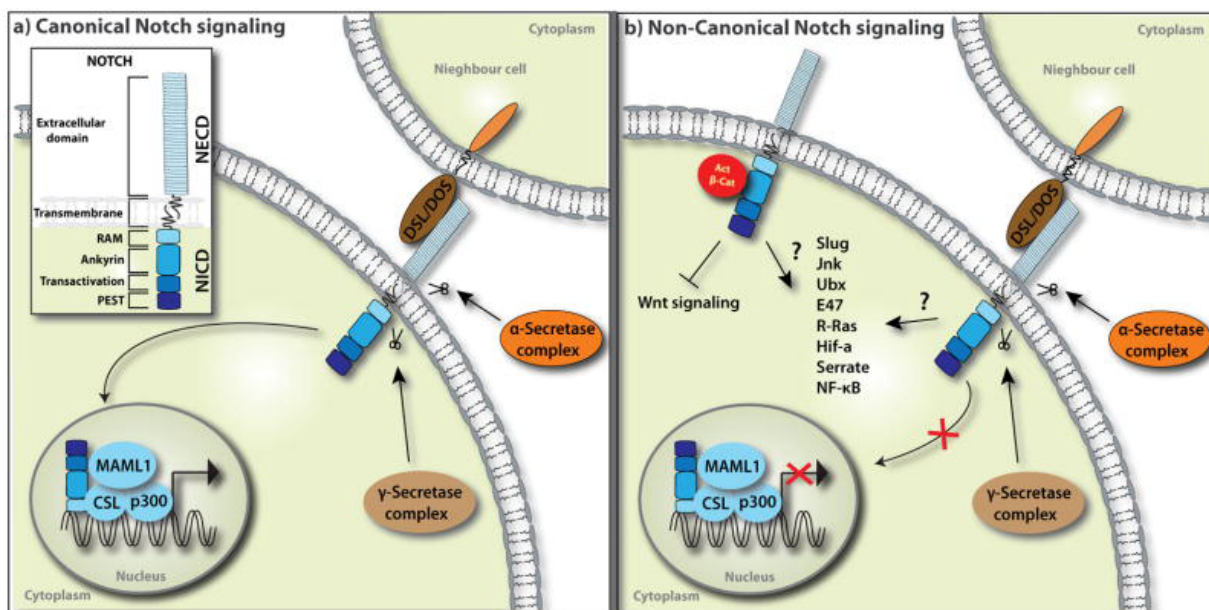
Signalizace Notch je vysoce evolučně konzervovaná signalizační dráha, jež reguluje aspekty buněčné diferenciaci u mnohobuněčných organismů (Cejudo-Martin, 2005). Dráha Notch byla poprvé objevena u *Drosophila melanogaster* a představuje jeden z hlavních signálních mechanismů umožňující interakce mezi sousedícími buňkami (Artavanis-Tsakonas, 1999). Může být rozdělena na dva typy – kanonickou kaskádu a nekanonickou kaskádu (obr. 8).

Receptory Notch jsou transmembránové proteiny typu I, jež v extracelulárních doménách obsahují repetice podobné EGF, díky kterým se na ně mohou vázat Notch ligandy. Tyto ligandy jsou exprimovány sousedními buňkami a jsou všeobecně známé jako DSL – *Delta*, *Serrate* a *Lag2* (Cai, 2011). EGF repetice totiž váží ionty vápníku, jež hrají podstatnou roli v předurčení struktury a afinity receptoru Notch při vazbě s ligandem, a tím zvyšují účinnost signalizace. Extracelulární doména dále obsahuje Notch/Lin-12 repetice a cytoplazmatické RAM23 domény, naopak intracelulární doména obsahuje Ankyrinové repetice a motivy potřebné pro přenos signálu

(Kempová, 2012). U savců jsou přítomny čtyři homologní receptory – Notch1, Notch2, Notch3 a Notch4, a jejich primární produkt je syntetizován v endoplazmatickém retikulu, odkud je přes sekreční dráhy transportován do Golgiho aparátu. Po štěpení v místě S1 konvertázou podobnou furinu vzniká heterodimerický receptor, jenž je nakonec umístěn v membráně (Kempová, 2012). Po navázání ligandu je Notch receptor štěpen metaloproteázou, TGF- $\alpha$  konvertázou a komplexem sekretázy v místě S2 či S3. Tímto krokem dojde k uvolnění intracelulární domény (Kato, 2007). Kromě čtyř typických receptorů se u savců vyskytují také dva charakteristické typy ligandů, konkrétně ligandy DLL – *delta-like1*, *delta-like3* a již zmíněný *delta-like4*, a ligandy JAG – *jagged1* a *jagged2*. Opět se jedná o transmembránové proteiny typu I s extracelulární DSL doménou a repeticemi podobnými EGF (Kempová, 2012).

Kanonická signální dráha Notch je charakteristická svou kaskádou NICD-CSL-MAML. NICD (Notch intracelulární doména) je nejprve přenesena dovnitř jádra, kde se naváže na *CBF1*, *Hairless superior*, *Lag-1* (CSL) navázaný na specifickou sekvenci DNA (CGTGGGAAA). CSL poté uvolní korepresorový komplex a přijme koaktivací komplex. Dále naváže SKIP (*Ski interacting protein*), MAML (*Mastermind-like protein*) a koaktivátor p300 (Kempová, 2012). SKIP a MAML jsou proteiny mající hlavní funkci stabilizace interakce NICD a CSL, koaktivátor p300 dekondukuje chromatin a iniciuje transkripci (Oswald, 2001). V případě, že chybí NICD, může CSL fungovat jako transkripční represor a inhibuje transkripci cílových genů (Miele, 2006). U kanonické dráhy byly identifikovány dva transkripční faktory - Hes (*hairy/enhancer of split*), který zastavuje expresi cílových genů, a HERP (*Hes-related repressor protein*), který řídí tvorbu heterodimerů s Hes a potlačuje transkripci (Kempová, 2012).

Nekanonická signální dráha Notch zatím není tolik objasněna, jako ta kanonická, neboť její molekulární podstata ještě nebyla přesně definována. Dělí se na CSL-dependentní a CSL-independentní (Cai, 2011). Notch může nekanonicky vynaložit své biologické funkce tím, že posttranslačně cílí na signální dráhu Wnt/ $\beta$ -katenin, což je důležitý regulátor buněčných a vývojových procesů. Tento komplexní vztah hraje významnou roli během proliferace, diferenciaci a tumorigeneze. V této signální dráze také nedochází ke štěpení Notch receptoru komplexem sekretázy v místě S2 nebo S3 (Andersen, 2012).



Obrázek 8: Kanonické a nekanonické Notch signální dráhy – uvnitř jádra patrný protein MAML, koaktivátor p300 a transkripční faktor CSL (Andersen, 2012).

### 3.2.3 Wnt signální dráha

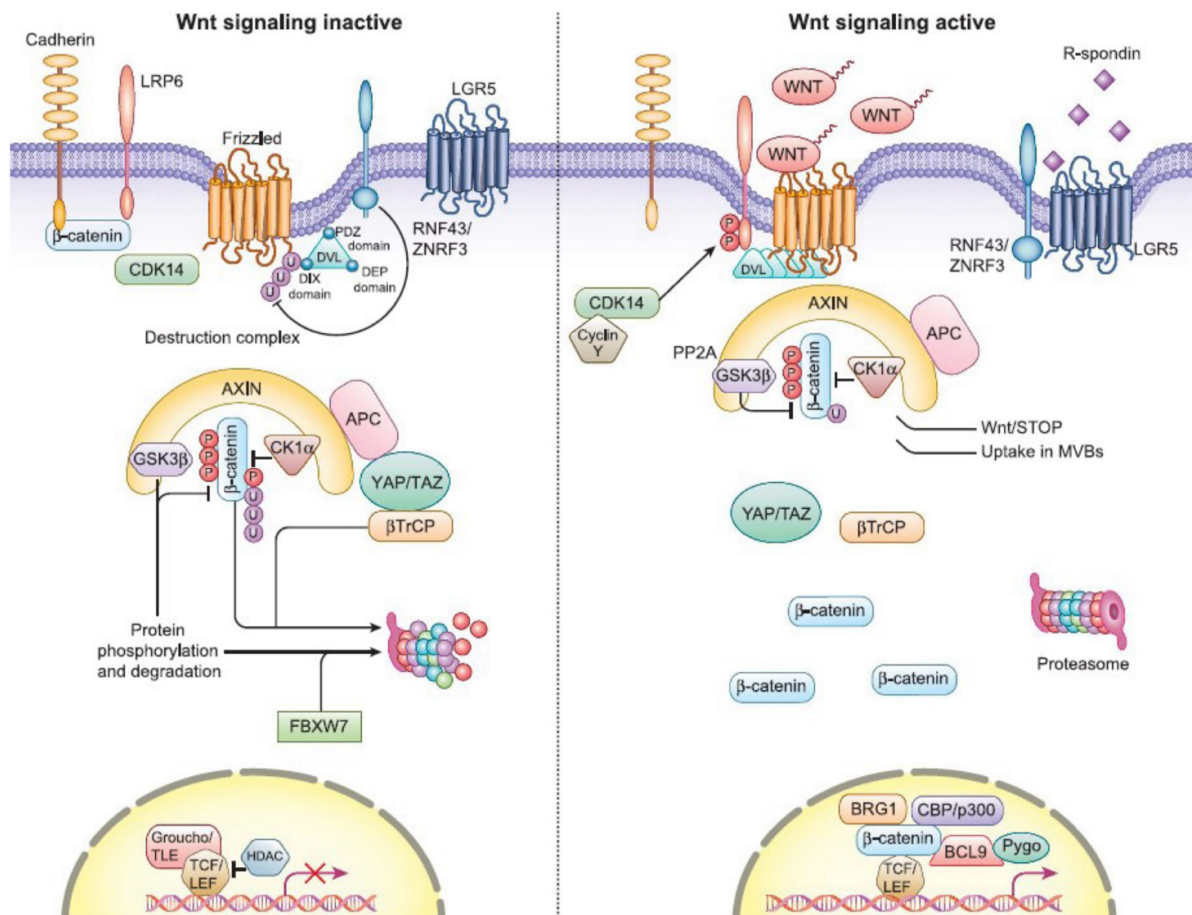
Signální dráha Wnt je velmi důležitá pro embryonální vývoj, regulaci buněčného růstu, diferenciaci a regeneraci tkání. První gen byl izolován z nádorů mléčné žlázy myši (*Müllerová, 2023*). Geny, jež jsou aktivovány touto signalizací, kódují malé sekretované proteiny, které lze najít ve všech živočišných genomech. Lidský genom má těchto genů 19 a lze je rozdělit do 12 podrodin (*Nusse, 2017*). V dnešní době jsou popsány tři základní signální dráhy, jež jsou spouštěny aktivací Wnt receptoru. Jedná se o kanonickou dráhu Wnt vázanou na  $\beta$ -katenin (obr.9) a nekanonické dráhy Wnt/PCP a Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$ . Jak planární polarita buněk (PCP), tak na  $\text{Ca}^{2+}$ -vázaná dráha jsou nezávislé na  $\beta$ -kateninu. Všechny tři dráhy fungují současně a jejich efekty se vzájemně vyvažují a případně i inhibují, dle konkrétní signalizace (*Müllerová, 2023*). Dráha Wnt/PCP ovládá pohyb buněk skrze aktivaci kaskád c-Jun N-terminální kinázy, transformujícího proteinu RH0A (*Ras homolog family member A*) a dalších (*Katoh, 2005*). Dráha Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  stimuluje aktivitu fosfolipázy C a hraje roli v embryogenezi, diferenciaci některých buněčných typů a mezibuněčné komunikaci. V regeneraci střevního epitelu však hraje nejdůležitější roli kanonická,  $\beta$ -katenin-dependentní dráha Wnt (*Müllerová, 2023*). Tato signální dráha je totiž při procesu sebeobnovy posílena

molekulárními moduly, jež regulují přenos signálů. Takovým pozitivním regulátorem je i molekula CD44, která zvyšuje přenos signálu Wnt, a tím pozitivně ovlivňuje regeneraci epitelu. Chybějící CD44 u myši snížila expresi cílových genů WNT ve střevních kryptách a ovlivnila funkčnost kmenových buněk v organoidech. Přestože byla u myši zachována integrita epitelu, byly hypersenzitivní na dextran síranu sodného, projevovaly se u nich závažnější záněty a měly opožděnou regeneraci (Walter, 2022).

Wnt proteiny jsou typické svou nízkou sekrecí a nízkou rozpustností, danými palmitoylací na konzervovaném cysteinu přítomném ve všech Wnt proteinech (Willert, 2003). Klíčová modifikace této molekuly je pak její lipidická adice, jež jí napomáhá zprostředkovat další signalizaci pomocí receptoru *Frizzled* (Fz) (Doubravská, 2011). Další důležitou modifikací Wnt proteinů je jejich glykosylace, jež má vliv na jejich sekreční funkci a strukturální integritu (Yamamoto, 2013). Po prodělaných modifikacích jsou proteiny předány z enzymu porkupin na receptor *Wntless*, což je protein několikrát procházející membránou, jenž přijímá pouze palmitoylem označené Wnt proteiny (Müllerová, 2023). Receptor *Wntless* vytvoří komplex s proteinem SEC12, který poté aktivuje protein SAR1. Aktivovaný protein SAR1 je klíčovým aktivátorem proteinového komplexu COPII (*coat protein II*), zodpovědného za vznik váčků v endoplazmatickém retikulu a jejich následný přesun do Golgiho aparátu (Sun, 2017). Protein je v Golgiho aparátu uvolněn a samotný receptor *Wntless* je poté retrográdním transportem přesunut zpátky do endoplazmatického retikula a celý cyklus začíná znovu (Müllerová, 2023).

Signální kaskáda je zprostředkována skrze receptor *Frizzled*. Při tvorbě komplexů z ligandů Wnt a receptorů *Frizzled* se uplatňují koreceptory LRP (*low-density lipoprotein receptor-related protein*), transmembránový receptor ROR2 (*tyrosine kinase like orphan receptor 2*) a receptor RYK (*receptor-like tyrosine kinase*) (Lu, 2004). Kombinatorní interakce všech vazebných partnerů nakonec vedou k aktivaci jedné ze tří signálních drah: kanonické Wnt/ $\beta$ -katenin-dependentní dráhy, nekanonické Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  dráhy nebo nekanonické Wnt/PCP dráhy (Müllerová, 2023). Jakmile se ligandy naváží na komplex Fz/LRP, což je nejčastější spolupráce receptoru s koreceptorem, koreceptory aktivují kanonickou signální dráhu. Fz receptor poté interaguje s proteinem Dsh a umožňuje tak další interakci, konkrétně mezifosforylovanou formou LRP5/6 a Axinem, což je protein se zásadní funkcí v  $\beta$ -katenin destrukčním komplexu (Müllerová, 2023). Proteiny Axin a Dsh, jež jsou momentálně vázané na membránové receptory, mohou vytvořit heterodimer, který zprostředkovává všechny děje směrem do

buňky (Mao, 2001). Volný  $\beta$ -katenin funguje v aktivním stavu jako klíčový signální faktor, v nepřítomnosti aktivní signalizace je však degradován, neboť nerovnováha mezi aktivním a neaktivním stavem vede často k patologickým stavům. K degradaci ho označí  $\beta$ -katenin destruktční komplex a poté dojde k jeho samotnému rozkladu v proteozomu. Cytoplazmatický destruktční komplex tvoří centrum dráhy Wnt a jeho součástí jsou nádorové supresory Axin a protein *adenomatous polyposis coli* (APC) a sériové, popřípadě threoninové kinázy, jež pomáhají s degradací (Müllerová, 2023). Některé z komponent Wnt dráhy, včetně  $\beta$ -kateninu, jsou důležitou součástí centrozomů nebo kinetochorů, mají tedy význam při regulaci aparátu dělicího vřeténka. Narušení některé z těchto komponent je častým znakem rakovinných buněk (Davidson, 2010)



Obrázek 9: Kanonická signalizace Wnt/ $\beta$ -kateninu. V nepřítomnosti WNT ligandu je  $\beta$ -katenin vázán proteiny destruktčního komplexu a po fosforylaci následně degradován v proteozomu. Po navázání WNT na Fz receptor dochází k uvolnění  $\beta$ -kateninu a jeho translokaci do jádra, kde následně spouští transkripci cílových dějů. Transmembránové struktury – kadherin, LRP6, *Frizzled*, LGR5, kinázy – CK1 $\alpha$ , GSK3 $\beta$ , scaffold proteiny – Axin, APC, transkripční regulátory – TLE, TCF/LEF, HDAC, YAP/TAZ, inaktivace destruktčního komplexu – Dvl polymer, tvorba proteozomu – gen FBXW7 (Zhan, 2017).



### 3.2.4 Transkripční faktor TCF4

Transkripční faktor TCF4, někdy známý pod názvem TCF7L2, je klíčovým faktorem, který udržuje homeostázu a regeneruje střevní epitel. Míra jeho exprese se v různých částech střeva liší, v tenkém střevě ho lze najít rovnoměrně po celém epitelu, v tlustém střevě je však jeho exprese na dně krypty nízká (*van Es, 2012*). Nejvíce je tento faktor přítomen v Panethových buňkách.

Konkrétní mechanismy funkce TCF4 ve střevě a při jeho obnově jsou dodnes předmětem zkoumání. Podle jedné studie (*Korinek, 1998*) bylo dokázáno, že epitel tenkého střeva v dospělosti vyžaduje transkripční faktor TCF4 k udržení proliferujících Lgr5<sup>+</sup> kmenových buněk. Ve sliznici tenkého střeva s vyřazeným TCF4 chyběly klky a počet epiteliálních buněk byl výrazně snížený. Dle novější studie (*van Es, 2012*) dopadá delece tohoto transkripčního faktoru i na tlusté střevo a dochází zde ke ztrátě dělicích se buněk krypty. Mezi další efekty patří ztráta exprese receptorů EphB2 a EphB3, jež umožňují migraci Panethových buněk směrem do krypty (*Müllerová, 2023*). Panethovy buňky, jak již bylo řečeno, jsou důležité pro udržování *niché* kmenových buněk, neboť jsou producenti signalizace Wnt, Notch i EGF. Signalizace Wnt je zároveň nezbytná pro jejich maturaci. V případě vyřazení funkce transkripčního faktoru TCF4 se Panethovy buňky aberantně rozšíří po klcích epitelu, až nakonec kolem sedmého dne odvyřazení genu zmizí (*van Es, 2012*). Přítomnost TCF4 je tedy nutná ke správné regulaci funkce signální dráhy Wnt (*Müllerová, 2023*).

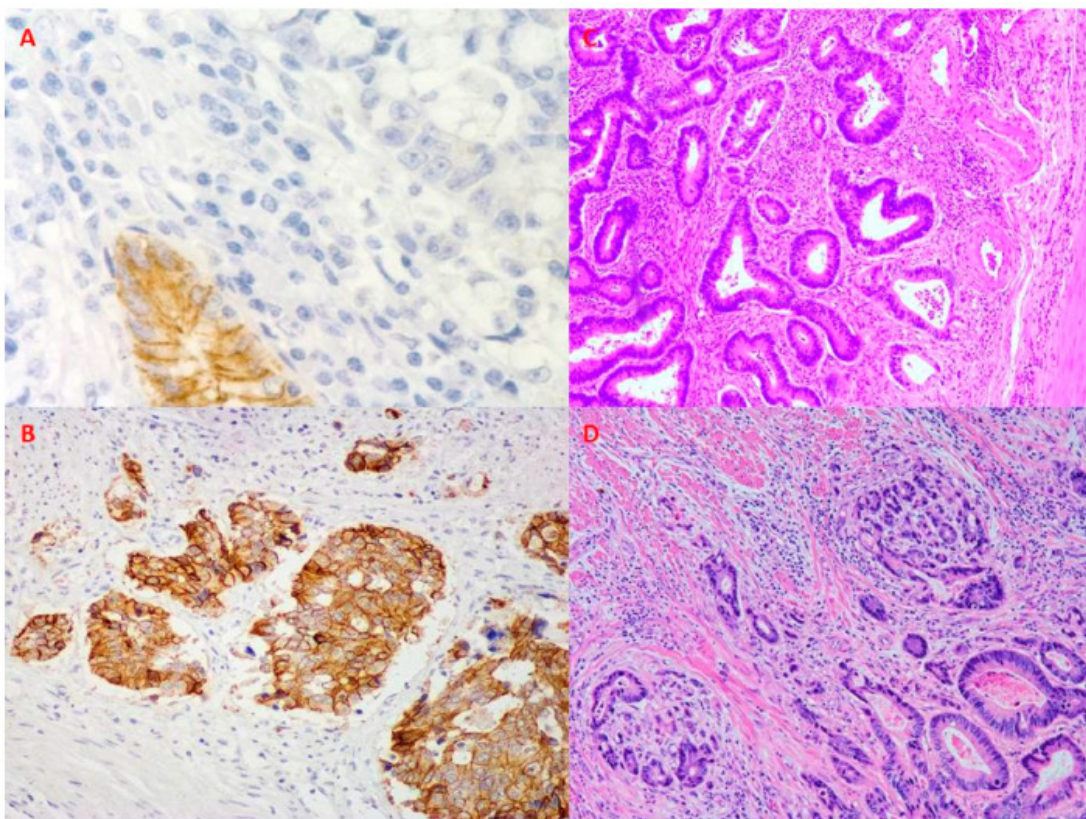
### 3.2.5 Patologická epiteliální regenerace

Intestinální trakt je náchylný k různým onemocněním, která mohou zahrnovat zánětlivá onemocnění, infekce, nádory a další patologické stavy. Jedním z klíčových aspektů léčby těchto onemocnění je schopnost intestinálního traktu regenerovat se po poškození. Různá onemocnění intestinálního traktu, včetně Crohnovy nemoci, ulcerózní kolitidy, infekčních enteritid a střevních nádorů, mohou významně ovlivnit procesy regenerace v intestinálním epitelu.

Fyziologicky se může jednat o regeneraci způsobenou aktivními kmenovými buňkami nebo méně aktivními rezervními Hopx<sup>+</sup> buňkami. Tyto rezervní buňky byly předmětem studie (*Stewart, 2021*), ve které se prokázala jejich role na buněčnou proliferaci během obnovy epitelu po střevní ischemii. Střevní ischemie je život ohrožující stav s úmrtností 50-80 %, kvůli úhynu epitelových buněk a následné ztrátě

střevní bariéry. Tato ztráta nastává při onemocněních, jako je střevní volvulus nebo neonatální nekrotizující enterokolitida. Hopx<sup>+</sup> buňky mohou mít funkční roli v kontrole proliferace intestinálních kmenových buněk (Stewart, 2021).

Kolorektální karcinom je zhoubné nádorové onemocnění vycházející ze sliznice tlustého střeva a konečníku. U mužů v České republice představuje nádor tlustého střeva třetí nejčastější rakovinné onemocnění, u žen zaujímá dokonce druhou příčku. Zpočátku se tvoří nezhoubné střevní polypy, časem jsou však předstupněm asi 90 % případů kolorektálního karcinomu. Nejčastější prekancerózní léze kolorektálního karcinomu představují sporadické adenomy. Tubulární a tubulovilózní adenomy s mírnou dysplázií jsou považovány za benigní léze, adenomy vilózní představují již nádory s nejistým biologickým chováním. Prekancerózní léze představují ohraničená ložiska tkáňových změn, jejichž základem jsou známky nádorové transformace buněk, jež je možné mikroskopicky zachytit jako cytologické a strukturální nepravidelnosti (obr. 11). Sporadické adenomy jsou stopkaté, přisedlé léze manifestující se jako různě rozsáhlé slizniční nerovnosti, jejichž buňky vždy vykazují obraz dysplázie (Šachlová, 2013).



Obrázek 11: Eriteliální a mesenchymální transformace u kolorektálního karcinomu. A – ztráta exprese E-kadherinu, B – zvýšená exprese E-kadherinu, C – karcinom bez invazivních rakovinných buněk, D – karcinom s invazivními rakovinnými buňkami (Briede, 2021).

Již zmíněný transkripční faktor TCF4 může působit jako onkogen, jehož deregulace imituje buněčnou proliferaci. Zároveň však může působit jako tumorový supresor. Jeho role v rozvoji kolorektálního karcinomu je komplexní a dodnes ne zcela objasněna (Müllerová, 2023). Dle studie (Weise, 2010) jsou tyto opačné efekty způsobeny přítomností různých izoform genů TCF4, konkrétně přítomností jeho C-terminálního segmentu, jenž ovlivňuje míru aktivace cílových genů. Další studie (Tang, 2008) ukázala funkci TCF4 jako negativního regulátoru signální dráhy Wnt, konkrétně dvou genů – již zmíněného *HFG* a *HECA*. Tyto geny podporují proliferaci buněk, jejich mutace tak vede k velkému nárůstu v buněčném dělení rakovinných buněk. Jako zdroj supresivní funkce TCF4 byla identifikována právě C-terminální doména (Tang, 2008). Onkogenní funkce TCF4 je dokazována jeho účastí při udržování normální proliferující funkce v rakovinných buňkách. Jeho aktivita způsobuje přechod těchto buněk z fenotypu diferencovaného křovitého epitelu na fenotyp podobný kryptě. Cílový gen pro TCF4 je *c-MYC*, který je významný protoonkogen a jeho exprese bývá vysoká jak v brzkých, tak v pozdních stádiích rakoviny tlustého střeva. TCF4 tedy na kolorektální karcinom působí jak supresivně, tak onkogeneticky (Müllerová, 2023). Mimo střevo jsou některé alely TCF4 předmětem studií zabývajících se rozvojem rakoviny žaludku (Torres, 2016).

Jedním z méně častých onemocnění GIT je anální intraepiteliální neoplázie. Jedná se o lézi způsobenou dysplastickým růstem plochého epitelu v přechodné zóně análního kanálu. Tyto léze jsou prekancerózní a mohou přejít až k análnímu karcinomu. Jsou diagnostikovány u rizikových pacientů a jejich vývoj je řízen infekcí HPV (*human papilloma virus*) (Hoedema, 2018).

Crohnova choroba je chronické zánětlivé střevní onemocnění, nejčastěji se vyskytující v ileu. Ke vzniku může docházet z komplexní interakce mezi genetickými predispozicemi, vlivy okolního prostředí a pozměněnou střevní mikrobiotou, což vede k deregulaci imunitní odpovědi (Torres, 2017). Ulcerativní kolitida, známá i pod názvem idiopatická proktokolitida, je chronické zánětlivé onemocnění tlustého střeva. Etiologie ulcerativní kolitidy je neznámá, mezi nejpravděpodobnější teorie patří dysregulace imunitní odpovědi na běžné bakteriální antigeny (Adams, 2013). Při léčbě patologických stavů GIT jako jsou Crohnova choroba, ulcerózní kolitida nebo rakovinné stavy, dochází k velkému poškození bariéry střevního epitelu vlivem cytokinů. Dle výsledků posledních studií by řešením tohoto problému mohl být

Tofacitinib, což je inhibitor Janusových kináz. Tofacitinib podporuje udržení správné funkce těsných spojů a permeability buněk (Spalinger, 2021).

### 3.2.6 Stimulace regenerace buněk

Bakterie vlumen střevamohou regulovat epiteliální sebeobnovu například skrze rozpoznání komenzálních bakterií pomocí *Toll-like* receptorů přítomných na epiteliálních i imunitních buňkách. Rakoff-Nahoum *et al.* ve své studii z roku 2004 pozorovali vliv dextransu síranu sodného na myši bez komenzálních střevních bakterií, což se projevilo úbytkem váhy a krvácením z tračníku. Tento pokus naznačuje esenciální roli rozpoznávání střevních bakterií pomocí TLR4 (*Toll-like receptor 4*) uvolňovaného z kmenových buněk v procesu epiteliální regenerace (Neal, 2012). Dodatečně mohou střevní kmenové buňky rozpoznávat bakterie pomocí NOD2 receptoru (*nucleotide-binding oligomerization domain 2*). Příkladem je bakteriální produkt muramyl dipeptid (MDP), jenž indukuje snížení hodnot reaktivního kyslíku v kmenových buňkách (Levy, 2020).

Na regeneračních procesech střevního epitelu se podílejí také imunitní buňky sekretující interleukin-22. Některé probiotické kmeny, například *Lactobacillus sp.*, dokáží stimulovat přirozené lymfoidní buňky typu 3, jež poté produkují interleukin 22 prostřednictvím arylhydrokarbonového receptoru (AhR) a metabolitů tryptofanu. To má za následek kolonizační rezistenci proti patogenům a zároveň dochází k urychlení procesu regenerace střevního epitelu a reparace DNA (Věcek, 2021).

Chování střevních kmenových buněk je z velké části ovlivněno výživou. Klíčovým faktorem v rozpoznání výživové hodnoty je dráha mTOR (*mammalian target of rapamycin*), jež je zároveň zapojena do mechanismu proliferace (Sarbasov, 2005). Myši na kaloricky omezené dietě vykazují zvýšení počtu jak Lgr5<sup>+</sup> kmenových buněk, tak Panethových buněk, ve srovnání s myši na kontrolní dietě (Yilmaz, 2012). Kontrolní dieta snižuje aktivitu mTOR dráhy v Panethových buňkách, jež následně podporují kmenové buňky prostřednictvím sekrece cyklické adenosindifosfátové ribózy. Testy tvorby kolonií potvrdily roli Panethových buněk v reakci na kaloricky omezenou dietu, protože Panethovy buňky, pocházející z myši stravovaných touto dietou, zvyšují schopnost tvorby organoidů kmenových buněk ve srovnání s Panethovými buňkami, pocházejícími z myši na standardní dietě (Yilmaz, 2012). Kaloricky omezená dieta navíc zřetelně chrání buňky před poškozením způsobeným ozářením. Snižuje totiž aktivitu

mTOR v klidových Hopx<sup>+</sup> střevních buňkách, čímž je činí odolnější vůči ozáření a tím pravděpodobně přispívají k opravě střevní sliznice (Yousefi, 2018). Zvýšení počtu kmenových buněk a zlepšení schopnosti tvorby organoidů kmenovými buňkami byla pozorována také u myší na dietě s vysokým obsahem tuku (Beyaz, 2016). Tato dieta nezpůsobuje zvýšení počtu Panethových buněk, ale působí přímo na Lgr5<sup>+</sup> kmenové buňky, ve kterých vyvolává zvýšenou expresi genů cílících na  $\beta$ -katenin. Tento fakt spojuje dietu s vysokým obsahem tuku s regenerací střevního epitelu prostřednictvím Wnt signální dráhy (Hageman, 2020). Ketogenní dieta podobně podporuje funkci a opravu střevních kmenových buněk, pravděpodobně skrze aktivaci signální dráhy Notch (Cheng, 2019).

Podle nedávné studie u novorozených jehňat byl také prokázán vliv kravského nebo ovčího kolostra na urychlení procesu obnovy střevního epitelu. Vyšší antioxidační aktivita byla zjištěna u kolostra *primipar* Holštýnského skotu, než u *multipar* (Moretti, 2020).

## ZÁVĚR

Cílem této práce bylo popsat regeneraci gastrointestinálního epitelu. Gastrointestinální trakt je anatomicky rozdělen do několika pododdílů s morfologickými a funkčními rozdíly. Vývoj GIT lidského embrya začíná kolem poloviny čtvrtého týdne těhotenství vznikem primitivní střevní trubice, jež se postupně diferencuje na jednotlivé části jako je hltan, jícn, žaludek, játra, slinivka břišní a střevo pod vlivem interakce entodermu a splanchnického mesenchymu. Žaludek a střevo, tedy struktury, na které se zaměřuje tato práce, se liší i svým buněčným složením epitelu. Regenerace žaludečního epitelu probíhá pomocí dvou hlavních mechanismů. Prvním mechanismem je rychlá oprava povrchových lézí pomocí buněčné migrace, nazývaná restituce, začínající během několika minut. Druhým mechanismem je kontinuální regenerace prostřednictvím diferenciací a proliferace kmenových a progenitorových buněk, trvající v řádu dní až měsíců. Dysregulace těchto mechanismů může vést k rozvoji patologických stavů jako je Ménétrierova choroba, prekancerózní stavy nebo zánětlivé reakce. Nejdůležitější roli v regeneraci střevního epitelu mají kmenové buňky se schopností diferenciací v ostatní typy buněk. Regenerace je podporována také Panethovými buňkami, mesenchymálními buňkami, imunitním systémem a enterickým nervovým systémem a jejich specifickými faktory. Pro regulaci buněčné diferenciací je důležitá signální dráha Notch. Kanonická dráha je charakterizována kaskádou NICD-CSL-MAML a je důležitá pro regulaci buněčného osudu. Studie nekanonické dráhy naznačují, že může ovlivňovat signalizaci Wnt/ $\beta$ -katenin a hrát roli v procesech jako je proliferace, diferenciací a tumorigeneze. Právě Wnt signalizace je důležitá pro regeneraci tkání. Podílejí se na ní specifické Wnt proteiny, receptor *Frizzled* a klíčovou roli hraje  $\beta$ -katenin. Důležitým regulátorem signalizace Wnt je transkripční faktor TCF4. Tento faktor má však i podstatnou funkci při rozvoji kolorektálního karcinomu, o jeho přesné roli se ale stále debatuje. Dalšími patologickými stavy souvisejícími s nefyziologickou regenerací epitelu jsou Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, sporadické adenomy nebo anální intraepiteliální neoplázie.

## SEZNAM LITERATURY

1. Adams SM, Bornemann PH. Ulcerative colitis. *Am Fam Physician*. 2013 May 15;87(10):699-705. PMID: 23939448.
2. Andersen P, Uosaki H, Shenje LT, Kwon C. Non-canonical Notch signaling: emerging role and mechanism. *Trends Cell Biol*. 2012 May;22(5):257-65. Epub 2012 Mar 5. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2012.02.003>.
3. Andersson-Rolf A, Zilbauer M, Koo BK, Clevers H. Stem Cells in Repair of Gastrointestinal Epithelia. *Physiology (Bethesda)*. 2017 Jul;32(4):278-289. <http://doi.org/10.1152/physiol.00005.2017>.
4. Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science*. 1999 Apr 30;284(5415):770-6. <https://doi.org/10.1126/science.284.5415.770>.
5. Atanga R, Singh V, In JG. Intestinal Enteroendocrine Cells: Present and Future Druggable Targets. *Int J Mol Sci*. 2023 May 16;24(10):8836. <http://doi.org/10.3390/ijms24108836>.
6. Avetisyan M, Wang H, Schill EM et al. Hepatocyte Growth Factor and MET Support Mouse Enteric Nervous System Development, the Peristaltic Response, and Intestinal Epithelial Proliferation in Response to Injury. *J Neurosci*. 2015 Aug 19;35(33):11543-58. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5267-14.2015>.
7. Barker, N. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15, 19–33 (2014). <https://doi.org/10.1038/nrm3721>.
8. Barreto E Barreto L, Rattes IC, da Costa AV, Gama P. Paneth cells and their multiple functions. *Cell Biol Int*. 2022 May;46(5):701-710. Epub 2022 Jan 23. <http://doi.org/10.1002/cbin.11764>.
9. Beyaz S, Mana MD, Roper J et al. High-fat diet enhances stemness and tumorigenicity of intestinal progenitors. *Nature*. 2016 Mar 3;531(7592):53-8. Erratum in: *Nature*. 2018 Aug;560(7717):E26. <http://doi.org/10.1038/nature17173>.
10. Briede I, Balodis D, Gardovskis J, Strumfa I. Stemness, Inflammation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Colorectal Carcinoma: The Intricate Network. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 29;22(23):12891. <http://doi.org/10.3390/ijms222312891>.
11. Cai X, Gong P, Huang Y, Lin Y. Notch signaling pathway in tooth development and adult dental cells. *Cell Prolif*. 2011 Dec;44(6):495-507. Epub 2011 Oct 4. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2011.00780.x>.
12. Cejudo-Martin P, Johnson RS. A new notch in the HIF belt: how hypoxia impacts differentiation. *Dev Cell*. 2005 Nov;9(5):575-6. <http://doi.org/10.1016/j.devcel.2005.10.001>.
13. Čihák, Radomír, *Anatomie 2 / Radomír Čihák: upravili a doplnili Radomír Čihák, Miloš Grim. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: GRADA Publishing, 2013. Anatomický ústav 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN:978-80-247-4788-0.*
14. Davidson G, Niehrs C. Emerging links between CDK cell cycle regulators and Wnt signaling. *Trends Cell Biol*. 2010 Aug;20(8):453-60. Epub 2010 Jun 4. <http://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.05.002>.

15. Davidson LA, Goldsby JS, Callaway ES et al. Alteration of colonic stem cell gene signatures during the regenerative response to injury. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Oct;1822(10):1600-7. Epub 2012 Jun 30. <http://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.06.011>.
16. De Lisle RC, Borowitz D. The cystic fibrosis intestine. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 Sep 1;3(9):a009753. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009753>.
17. Dekaney CM, Gulati AS, Garrison AP et al. Regeneration of intestinal stem/progenitor cells following doxorubicin treatment of mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009 Sep;297(3):G461-70. Epub 2009 Jul 9. <http://doi.org/10.1152/ajpgi.90446.2008>.
18. Dimaline R, Varro A. Attack and defence in the gastric epithelium - a delicate balance. *Exp Physiol*. 2007 Jul;92(4):591-601. Epub 2007 Apr 5. <http://doi.org/10.1113/expphysiol.2006.036483>.
19. Doubravska L, Krausova M, Gradl D et al. Fatty acid modification of Wnt1 and Wnt3a at serine is prerequisite for lipidation at cysteine and is essential for Wnt signalling. *Cell Signal*. 2011 May;23(5):837-48. Epub 2011 Jan 16. <http://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.01.007>.
20. Gehart, H., Clevers, H. Tales from the crypt: new insights into intestinal stem cells. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 16, 19–34 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0081-y>.
21. Greenwood-Van Meerveld B, Johnson AC, Grundy D. *Gastrointestinal Physiology and Function*. *Handb Exp Pharmacol*. 2017;239:1-16. [https://doi.org/10.1007/164\\_2016\\_118](https://doi.org/10.1007/164_2016_118).
22. Greish, Yaser & Pulikkot, Sunitha & Mourad, Abdel-Hamid & Karam, Sherif. (2017). *Biodegradable Scaffolds for Gastric Tissue Regeneration*. 10.5772/intechopen.70525. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Diagrams-depicting-the-structure-of-the-stomach-and-gastric-epithelial-unit-including-the\\_fig1\\_321782455](https://www.researchgate.net/figure/Diagrams-depicting-the-structure-of-the-stomach-and-gastric-epithelial-unit-including-the_fig1_321782455).
23. Gutiérrez-González L, Wright NA. Biology of intestinal metaplasia in 2008: more than a simple phenotypic alteration. *Dig Liver Dis*. 2008 Jul;40(7):510-22. Epub 2008 Apr 9. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2008.02.029>.
24. Hageman JH, Heinz MC, Kretzschmar K et al. Intestinal Regeneration: Regulation by the Microenvironment. *Dev Cell*. 2020 Aug 24;54(4):435-446. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.07.009>.
25. Hendel SK, Kellermann L, Hausmann A et al. Tuft Cells and Their Role in Intestinal Diseases. *Front Immunol*. 2022 Feb 14;13:822867. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.822867>.
26. Hoedema RE. Anal Intraepithelial Neoplasia and Squamous Cell Cancer of the Anus. *Clin Colon Rectal Surg*. 2018 Nov;31(6):347-352. Epub 2018 Nov 2. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1668104>.
27. Hoffmann W. Regeneration of the gastric mucosa and its glands from stem cells. *Curr Med Chem*. 2008;15(29):3133-44. <https://doi.org/10.2174/092986708786848587>.
28. Hoffmann W. Self-renewal of the gastric epithelium from stem and progenitor cells. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2013 Jan 1;5(2):720-31. <https://doi.org/10.2741/s402>.
29. Hood, J., Cheresch, D. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat Rev Cancer* 2, 91–100 (2002). <https://doi.org/10.1038/nrc727>.
30. Chang L, Wei Y, Hashimoto K. Brain-gut-microbiota axis in depression: A historical overview and future directions. *Brain Res Bull*. 2022 May;182:44-56. Epub 2022 Feb 11. <http://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.004>.



31. Chaves-Pérez Almudena et al., URI is required to maintain intestinal architecture during ionizing radiation. *Science* 364, eaaq1165 (2019). <https://doi.org/10.1126/science.aaq1165>.
32. Chen C, Yin Y, Tu Q, Yang H. Glucose and amino acid in enterocyte: absorption, metabolism and maturation. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2018 Mar 1;23(9):1721-1739. <http://doi.org/10.2741/4669>.
33. Cheng CW, Biton M, Haber AL et al. Ketone Body Signaling Mediates Intestinal Stem Cell Homeostasis and Adaptation to Diet. *Cell*. 2019 Aug 22;178(5):1115-1131.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.07.048>.
34. Jadhav U, Saxena M, O'Neill NK et al. Dynamic Reorganization of Chromatin Accessibility Signatures during Dedifferentiation of Secretory Precursors into Lgr5+ Intestinal Stem Cells. *Cell Stem Cell*. 2017 Jul 6;21(1):65-77.e5. Epub 2017 Jun 22. <http://doi.org/10.1016/j.stem.2017.05.001>.
35. Jensen J, Pedersen EE, Galante P et al. Control of endodermal endocrine development by Hes-1. *Nat Genet*. 2000 Jan;24(1):36-44. <https://doi.org/10.1038/71657>.
36. Kabiri Z, Greicius G, Madan B et al. Stroma provides an intestinal stem cell niche in the absence of epithelial Wnts. *Development*. 2014 Jun;141(11):2206-15. <http://doi.org/10.1242/dev.104976>.
37. Katoh M, Katoh M. Notch signaling in gastrointestinal tract (review). *Int J Oncol*. 2007 Jan;30(1):247-51. <https://doi.org/10.3892/ijo.30.1.247>.
38. Katoh M. WNT/PCP signaling pathway and human cancer (review). *Oncol Rep*. 2005 Dec;14(6):1583-8. <https://doi.org/10.3892/or.14.6.1583>.
39. Kayo T, Sawada Y, Suda M et al. Proprotein-processing endoprotease furin controls growth of pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 1997 Aug;46(8):1296-304. <https://doi.org/10.2337/diab.46.8.1296>.
40. Keeley TM, Samuelson LC. Cytodifferentiation of the postnatal mouse stomach in normal and Huntingtin-interacting protein 1-related-deficient mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010 Dec;299(6):G1241-51. Epub 2010 Sep 2. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00239.2010>.
41. Kempová, Monika. Interakce dráhy Notch a hypoxie u kmenových buněk. Brno, 2012. Bakalářská. Masarykova univerzita. Dostupné z: [https://is.muni.cz/th/sccah/BP\\_Kempova.pdf](https://is.muni.cz/th/sccah/BP_Kempova.pdf).
42. Kiela PR, Ghishan FK. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016 Apr;30(2):145-59. Epub 2016 Feb 10. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.007>.
43. Kim YS, Ho SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep*. 2010 Oct;12(5):319-30. <https://doi.org/10.1007/s11894-010-0131-2>.
44. Koch U, Lehal R, Radtke F. Stem cells living with a Notch. *Development*. 2013 Feb;140(4):689-704. <https://doi.org/10.1242/dev.080614>.
45. Korinek V, Barker N, Moerer P, van Donselaar E, Huls G, Peters PJ, Clevers H. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nat Genet*. 1998 Aug;19(4):379-83. <https://doi.org/10.1038/1270>.
46. Kosinski C, Li VS, Chan AS et al. Gene expression patterns of human colonic crypts and basal crypts and BMP antagonists as intestinal stem cell niche factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Sep 25;104(39):15418-23. Epub 2007 Sep 19. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707210104>.

47. Kozan DW, Derrick JT, Ludinhton WB, Farber SA: From worms to humans: Understanding intestinal lipid metabolism via model organisms. *Biochem Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2023 Apr;1868(4) ePub 2023 Feb 3. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2023.159290>.
48. Larsson LI, Tingstedt JE, Madsen OD et al. The LIM-homeodomain protein Isl-1 segregates with somatostatin but not with gastrin expression during differentiation of somatostatin/gastrin precursor cells. *Endocrine*. 1995 Jul;3(7):519-24. <https://doi.org/10.1007/BF02738827>.
49. Levy A, Stedman A, Deutsch E et al. Innate immune receptor NOD2 mediates LGR<sup>5+</sup> intestinal stem cell protection against ROS cytotoxicity via mitophagy stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Jan 28;117(4):1994-2003. Epub 2020 Jan 9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902788117>.
50. Lu D, Zhao Y, Tawatao R et al. Activation of the Wnt signaling pathway in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Mar 2;101(9):3118-23. Epub 2004 Feb 18. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308648100>.
51. Madhogaria B, Bhowmik P, Kundu A. Correlation between human gut microbiome and diseases. *Infect Med (Beijing)*. 2022 Aug 24;1(3):180-191. <https://doi.org/10.1016/j.imj.2022.08.004>.
52. Mandys, Václav. Kmenové buňky gastrointestinálního traktu. CSGH. Dostupné z: <https://www.csgh.info/cs/clanek/kmenove-bunky-gastrointestinalniho-traktu-266>.
53. Mao B, Wu W, Li Y et al. LDL-receptor-related protein 6 is a receptor for Dickkopf proteins. *Nature*. 2001 May 17;411(6835):321-5. <https://doi.org/10.1038/35077108>.
54. Mayer EA, Nance K, Chen S. The Gut-Brain Axis. *Annu Rev Med*. 2022 Jan 27;73:439-453. Epub 2021 Oct 20. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042320-014032>.
55. McCarthy N, Manieri E, Storm EE et al. Distinct Mesenchymal Cell Populations Generate the Essential Intestinal BMP Signaling Gradient. *Cell Stem Cell*. 2020 Mar 5;26(3):391-402.e5. Epub 2020 Feb 20. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.01.008>.
56. Mendeová, Linda. Kultivace lidských žaludečních buněk. Pardubice, 2023. Bakalářská. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Mgr. Lenka Šmíd, Ph.D. Dostupné z: [https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/82269/MendeovaL\\_Kultivace\\_bunek\\_LS\\_2023.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/82269/MendeovaL_Kultivace_bunek_LS_2023.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
57. Miele L. Notch signaling. *Clin Cancer Res*. 2006 Feb 15;12(4):1074-9. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-2570>.
58. Miyoshi H, Ajima R, Luo CT et al. Wnt5a potentiates TGF- $\beta$  signaling to promote colonic crypt regeneration after tissue injury. *Science*. 2012 Oct 5;338(6103):108-13. Epub 2012 Sep 6. <https://doi.org/10.1126/science.1223821>.
59. Moretti DB, Santos CB, Alencar SM, Machado-Neto R. Colostrum from primiparous Holstein cows shows higher antioxidant activity than colostrum of multiparous ones. *J Dairy Res*. 2020 Aug;87(3):356-359. Epub 2020 Sep 7. <https://doi.org/10.1017/S0022029920000813>.
60. Müllerová, Tereza. Transkripční faktor Tcf4 v obnově střevního epitelu a patologii. 2023. Bakalářská. Univerzita Karlova. Vedoucí práce Mgr. Lucie Janečková, Ph.D. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/181269/130357139.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

61. Nam KT, Lee HJ, Mok H et al. Amphiregulin-deficient mice develop spasmodic polypeptide expressing metaplasia and intestinal metaplasia. *Gastroenterology*. 2009 Apr;136(4):1288-96. Epub 2008 Dec 13. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.12.037>.
62. Nassari S, Lacarrière-Keïta C, Lévesque D et al. Rab21 in enterocytes participates in intestinal epithelium maintenance. *Mol Biol Cell*. 2022 Apr 1;33(4):ar32. Epub 2022 Feb 16. <http://doi.org/10.1091/mbc.E21-03-0139>.
63. Neal MD, Sodhi CP, Jia H et al. Toll-like receptor 4 is expressed on intestinal stem cells and regulates their proliferation and apoptosis via the p53 up-regulated modulator of apoptosis. *J Biol Chem*. 2012 Oct 26;287(44):37296-308. Epub 2012 Sep 6. <http://doi.org/10.1074/jbc.M112.375881>.
64. Nevo S, Kadouri N, Abramson J. Tuft cells: From the mucosa to the thymus. *Immuno Lett*. 2019 Jun;210:1-9. Epub 2019 Mar 21. <http://doi.org/10.1016/j.imlet.2019.02.003>.
65. Nusse R, Clevers H. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell*. 2017 Jun 1;169(6):985-999. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.016>.
66. Ohno H. Intestinal M cells. *J Biochem*. 2016 Feb;159(2):151-60. Epub 2015 Dec 3. <http://doi.org/10.1093/jb/mvv121>.
67. Oswald F, Täuber B, Dobner T et al. p300 acts as a transcriptional coactivator for mammalian Notch-1. *Mol Cell Biol*. 2001 Nov;21(22):7761-74. <http://doi.org/10.1128/MCB.21.22.7761-7774.2001>.
68. Pelaseyed T, Bergström JH, Gustafsson JK et al. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunol Rev*. 2014 Jul;260(1):8-20. <http://doi.org/10.1111/immr.12182>.
69. Petrova YI, Schecterson L, Gumbiner BM. Roles for E-cadherin cell surface regulation in cancer. *Mol Biol Cell*. 2016 Nov 1;27(21):3233-3244. Epub 2016 Aug 31. <http://doi.org/10.1091/mbc.E16-01-0058>.
70. Potten CS, Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*. 1990 Dec;110(4):1001-20. <http://doi.org/10.1242/dev.110.4.1001>.
71. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004 Jul 23;118(2):229-41. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.002>.
72. Rodríguez-Colman M, Schewe M, Meerlo M et al. Interplay between metabolic identities in the intestinal crypt supports stem cell function. *Nature* 543, 424–427 (2017). <https://doi.org/10.1038/nature21673>.
73. Sangiorgi E, Capecchi MR. Bmi1 is expressed in vivo in intestinal stem cells. *Nat Genet*. 2008 Jul;40(7):915-20. Epub 2008 Jun 8. <http://doi.org/10.1038/ng.165>.
74. Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol*. 2005 Dec;17(6):596-603. Epub 2005 Oct 13. <http://doi.org/10.1016/j.ceb.2005.09.009>.
75. Sato T, van Es JH, Snippert HJ et al. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. *Nature*. 2011 Jan 20;469(7330):415-8. Epub 2010 Nov 28. <https://doi.org/10.1038/nature09637>.

76. Sato, T., Vries, R., Snippert, H. et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 459, 262–265 (2009). <https://doi.org/10.1038/nature07935>.
77. Seetharaman S, Etienne-Manneville S. Cytoskeletal Crosstalk in Cell Migration. *Trends Cell Biol.* 2020 Sep;30(9):720-735. Epub 2020 Jul 13. <http://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.06.004>.
78. SenGupta S, Parent CA, Bear JE. The principles of directed cell migration. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021 Aug;22(8):529-547. Epub 2021 May 14. <http://doi.org/10.1038/s41580-021-00366-6>.
79. Seno H, Miyoshi H, Brown SL et al. Efficient colonic mucosal wound repair requires Trem2 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jan 6;106(1):256-61. Epub 2008 Dec 24. <http://doi.org/10.1073/pnas.0803343106>.
80. Schmitt M, Schewe M, Sacchetti A et al. Paneth Cells Respond to Inflammation and Contribute to Tissue Regeneration by Acquiring Stem-like Features through SCF/c-Kit Signaling. *Cell Rep.* 2018 Aug 28;24(9):2312-2328.e7. <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.085>.
81. Schneider S, Wright CM, Heuckeroth RO. Unexpected Roles for the Second Brain: Enteric Nervous System as Master Regulator of Bowel Function. *Annu Rev Physiol.* 2019 Feb 10;81:235-259. Epub 2018 Oct 31. <http://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021317-121515>.
82. Smyth RL, Croft NM, O'Hea U et al. Intestinal inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child.* 2000 May;82(5):394-9. <http://doi.org/10.1136/adc.82.5.394>.
83. Snoeck V, Goddeeris B, Cox E. The role of enterocytes in the intestinal barrier function and antigen uptake. *Microbes Infect.* 2005 Jun;7(7-8):997-1004. <http://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.04.003>.
84. Spalinger MR, Sayoc-Becerra A, Ordookhanian C et al. The JAK Inhibitor Tofacitinib Rescues Intestinal Barrier Defects Caused by Disrupted Epithelial-macrophage Interactions. *J Crohns Colitis.* 2021 Mar 5;15(3):471-484. <http://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjaa182>.
85. Steens J, Klein D. HOX genes in stem cells: Maintaining cellular identity and regulation of differentiation. *Front Cell Dev Biol.* 2022 Sep 13;10:1002909. <http://doi.org/10.3389/fcell.2022.1002909>.
86. Stewart AS, Schaaf CR, Luff JA et al. HOPX<sup>+</sup> injury-resistant intestinal stem cells drive epithelial recovery after severe intestinal ischemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2021 Nov 1;321(5):G588-G602. Epub 2021 Sep 22. <http://doi.org/10.1152/ajpgi.00165.2021>.
87. Sun J, Yu S, Zhang X et al. A Wntless-SEC12 complex on the ER membrane regulates early Wnt secretory vesicle assembly and mature ligand export. *J Cell Sci.* 2017 Jul 1;130(13):2159-2171. Epub 2017 May 17. <http://doi.org/10.1242/jcs.200634>.
88. Sung JK. Diagnosis and management of gastric dysplasia. *Korean J Intern Med.* 2016 Mar;31(2):201-9. Epub 2016 Feb 26. <http://doi.org/10.3904/kjim.2016.021>.
89. Šachlová, M., 2013. Prekancerózy tlustého střeva. *Klinická onkologie*, p.38. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/files/klinicka-onkologie/391/4366.pdf>.
90. Takahashi T, Fujishima K, Kengaku M. Modeling Intestinal Stem Cell Function with Organoids. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 9;22(20):10912. <https://doi.org/10.3390/ijms222010912>.

91. Takeda N, Jain R, LeBoeuf MR et al. Interconversion between intestinal stem cell populations in distinct niches. *Science*. 2011 Dec 9;334(6061):1420-4. Epub 2011 Nov 10. <http://doi.org/10.1126/science.1213214>.
92. Tang W, Dodge M, Gundapaneni D et al. A genome-wide RNAi screen for Wnt/beta-catenin pathway components identifies unexpected roles for TCF transcription factors in cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Jul 15;105(28):9697-702. Epub 2008 Jul 10. <http://doi.org/10.1073/pnas.0804709105>.
93. Taniguchi K, Wu LW, Grivnenkov SI et al. A gp130-Src-YAP module links inflammation to epithelial regeneration. *Nature*. 2015 Mar 5;519(7541):57-62. Epub 2015 Feb 25. <http://doi.org/10.1038/nature14228>.
94. Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *Lancet*. 2017 Apr 29;389(10080):1741-1755. Epub 2016 Dec 1. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31711-1](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31711-1).
95. Torres K, Labrador L, Valderrama E, Chiurillo MA. TCF7L2 rs7903146 polymorphism is associated with gastric cancer: A case-control study in the Venezuelan population. *World J Gastroenterol*. 2016 Jul 28;22(28):6520-6. <http://doi.org/10.3748/wjg.v22.i28.6520>.
96. Vacek, Zdeněk. Embryologie: učebnice pro studenty lékařství a oborů všeobecná sestra a porodní asistentka. Praha: Grada, 2006. ISBN 978-80-247-6999-8.
97. van Es JH, Clevers H. Paneth cells. *Curr Biol*. 2014 Jun 16;24(12):R547-R548. <http://doi.org/10.1016/j.cub.2014.04.049>.
98. van Es JH, Haegerbarth A, Kujala P et al. A critical role for the Wnt effector Tcf4 in adult intestinal homeostatic self-renewal. *Mol Cell Biol*. 2012 May;32(10):1918-27. Epub 2012 Mar 5. <http://doi.org/10.1128/MCB.06288-11>.
99. van Es JH, Wiebrands K, López-Iglesias C et al. Enteroendocrine and tuft cells support Lgr5 stem cells on Paneth cell depletion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Dec 26;116(52):26599-26605. Epub 2019 Dec 16. <http://doi.org/10.1073/pnas.1801888117>.
100. Věcek, Jan. Schopnost probiotik ovlivnit přirozené lymfoidní buňky typu 3. Praha, 2021. Bakalářská. Univerzita Karlova. Vedoucí práce Doc. RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/126360/130304850.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
101. Waghray M, Zavros Y, Saqui-Salces M et al. Interleukin-1 beta promotes gastric atrophy through suppression of Sonic Hedgehog. *Gastroenterology*. 2010 Feb;138(2):562-72, 572.e1-2. Epub 2009 Oct 31. <http://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.10.043>.
102. Walter, R.J., Sonnentag, S.J., Munoz-Sagredo, L. et al. Wnt signaling is boosted during intestinal regeneration by a CD44-positive feedback loop. *Cell Death Dis* 13, 168 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04607-0>
103. Weise A, Bruser K, Elfert S et al. Alternative splicing of Tcf7l2 transcripts generates protein variants with differential promoter-binding and transcriptional activation properties at Wnt/beta-catenin targets. *Nucleic Acids Res*. 2010 Apr;38(6):1964-81. Epub 2009 Dec 30. <http://doi.org/10.1093/nar/gkp1197>.

104. Willert K, Brown JD, Danenberg E et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature*. 2003 May 22;423(6938):448-52. Epub 2003 Apr 27. <http://doi.org/10.1038/nature01611>.
105. Yamamoto H, Awada C, Hanaki H et al. The apical and basolateral secretion of Wnt11 and Wnt3a in polarized epithelial cells is regulated by different mechanisms. *J Cell Sci*. 2013 Jul 1;126(Pt 13):2931-43. Epub 2013 Apr 23. <http://doi.org/10.1242/jcs.126052>.
106. Yilmaz ÖH, Katajisto P, Lamming DW et al. mTORC1 in the Paneth cell niche couples intestinal stem-cell function to calorie intake. *Nature*. 2012 Jun 28;486(7404):490-5. <http://doi.org/10.1038/nature11163>.
107. Yousefi M, Nakauka-Ddamba A, Berry CT et al. Calorie Restriction Governs Intestinal Epithelial Regeneration through Cell-Autonomous Regulation of mTORC1 in Reserve Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2018 Mar 13;10(3):703-711. Epub 2018 Mar 1. <http://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.01.026>.
108. Zavros Y, Waghray M, Tessier A et al. Reduced pepsin A processing of sonic hedgehog in parietal cells precedes gastric atrophy and transformation. *J Biol Chem*. 2007 Nov 16;282(46):33265-33274. Epub 2007 Sep 14. <http://doi.org/10.1074/jbc.M707090200>.
109. Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*. 2017 Mar;36(11):1461-1473. Epub 2016 Sep 12. <http://doi.org/10.1038/onc.2016.304>.
110. Zheng L, Rui C, Zhang H et al. Sonic hedgehog signaling in epithelial tissue development. *Regen Med Res*. 2019;7:3. Epub 2019 Dec 31. <http://doi.org/10.1051/rmr/190004>.
111. Zhu L, Hatakeyama J, Zhang B et al. Novel insights of the gastric gland organization revealed by chief cell specific expression of moesin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009 Feb;296(2):G185-95. Epub 2008 Dec 12. <http://doi.org/10.1152/ajpgi.90597.2008>.
112. Zorn AM, Wells JM. Vertebrate endoderm development and organ formation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2009;25:221-51. <http://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.042308.113344>.