

Abstrakt disertační práce:

Diabetes mellitus je chronické onemocnění charakterizované metabolickou poruchou při relativním nebo absolutním nedostatku inzulínu. Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je způsoben autoimunitní reakcí, která postupně vede k selektivní destrukci inzulín produkujících beta-buněk pankreatu. Důsledkem je minimální nebo zcela chybějící tvorba vlastního inzulínu, která vede k závislosti na podávání exogenního inzulínu. DM je také příčinou řady pozdních komplikací. Přestože dlouhodobé přiblížení fyziologické hladině glykémie s použitím intenzifikovaných inzulínových režimů může manifestaci diabetických komplikací oddálit, dosáhnout takovéto kompenzace se však daří jen asi u 5% pacientů. Z toho je patrné, že současné způsoby léčby nevedou ani k vyléčení diabetu, ale většinou ani k prevenci pozdních komplikací. Jedním z nejatraktivnějších léčebných přístupů je proto takový způsob léčby, který by nahradil chybějící inzulínovou sekreci. Takovou metodou je transplantace inzulín produkující tkáně. Nedostatečný počet dárců je ovšem hlavním limitujícím faktorem pro využití tohoto léčebného postupu v širším měřítku. Je tedy patrné, že pro získání dostatečného množství inzulín produkující tkáně musí být nalezeny alternativní zdroje. V současné době se jako nejnadějnější jeví využití kmenových buněk.

Pankreatické kmenové/progenitorové buňky (PSC) splňují požadavky na takovýto zdroj. I přes nezpochybnitelný průkaz existence PSC se doposud nepodařilo tyto buňky plně identifikovat. S cílem rozšířit paletu známých markerů PSC jsme se rozhodli charakterizovat populace pankreatických buněk exprimující markery kmenových buněk. V naší práci se nám podařilo identifikovat dva nové markery dospělých pankreatických kmenových/progenitorových buněk. Populace CXCR4 pozitivních pankreatických buněk exprimovala markery a transkripční faktory pluripotentních a dospělých kmenových buněk. CXCR4 pozitivní pankreatické buňky byly rovněž schopné *in vitro* diferenciaci na inzulín produkující beta buňky. Další identifikovaný PSC marker byl membránový glykoprotein CD133. CD133 pozitivní pankreatické buňky také exprimovaly transkripční faktory nezbytné pro zajištění pluripotence a rovněž byly schopné *in vitro* diferenciaci na inzulín produkující beta-buňky.

S cílem zvýšit míru diferenciaci pankreatických kmenových/progenitorových buněk jsme se zaměřili na úlohu fosfatidylinositol-3-kinázové signální dráhy (PI3K) v diferenciaci beta-buněk. Zjistili jsme že aktivace PI3K výrazně zvyšuje míru diferenciaci pankreatických progenitorů na beta-buňky.

Rovněž jsme testovali vliv epigenetických modifikací na průběh diferenciaci pankreatických progenitorů. Zjistili jsme, že inhibice metylace DNA a histonů také zvyšuje míru diferenciaci na pankreatické endokrinní buňky včetně beta-buněk.

Nakonec jsem ověřili schopnost diferenciaci buněk lidské pupečnickové krve (HUCB) na inzulín produkující beta-buňky. Zjistili jsme, že HUCB buňky jsou schopné *in vivo* diferenciaci na inzulín produkující beta-buňky, nicméně nezbytnou podmínkou pro úspěšnou diferenciaci je celotělové ozáření před podáním HUCB buněk. Rovněž počet diferencovaných HUCB buněk je relativně nízký.

Souhrnem lze říci, že naše výsledky přispěly k rozšíření znalostí o pankreatických kmenových/progenitorových buňkách, jejich diferenciaci na inzulín produkující beta-buňky a také o vhodnosti využití buněk pupečnickové krve pro léčbu diabetu.