

# Uloga signalnog puta WNT u epitelno-mezenhimskoj tranziciji

---

**Batarilo, Vjekoslav**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:910422>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-03**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Vjekoslav Batarilo**

**Uloga signalnog puta WNT u  
epitelno-mezenhimskoj tranziciji**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2017**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Tamare Nikuševa Martić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2016./2017.

## **Popis i objašnjenje kratica**

**APC** – eng. adenomatous polyposis coli

**C2H2** – Cys-2-His-2

**CaMKII** – eng. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II

**CK1 $\alpha$**  – eng. casein kinase 1 alpha

**Dkk** – eng. Dickkopf

**Dsh** – eng. Dishevelled

**EGF** – eng. epidermal growth factor

**EMT** – epitelno-mezenhimska tranzicija

**FGF** – eng. fibroblast growth factor

**Fz** – eng. Frizzled

**GSK3 $\beta$**  - eng. glycogen synthase kinase 3 beta

**HDAC** – eng. histone deacetylase

**HGF** – eng. hepatocyte growth factor

**IGF** – eng. insulin-like growth factor

**Lef** – eng. lymphoid enhancer factor

**LRP 5/6** – eng. low-density lipoprotein receptor-related protein 5 and 6

**MET** – mezenhimsko-epitelna tranzicija

**MMP7** – eng. matrix metalloproteinase 7

**NLK** – eng. Nemo-like kinase

**NLS** – eng. nuclear localization sequence

**PCP** – eng. planar cell polarity

**PDGF** – eng. platelet-derived growth factor

**PI3K** – eng. phosphoinositide 3 kinase

**PKC** – eng. protein kinase C

**PP2A** – eng. protein phosphatase 2

**RNA** – eng. ribonucleic acid

**sFRP** – eng. secreted Frizzled-related protein

**TAK1** – eng. transforming growth factor beta-activated kinase 1

**Tcf** – eng. T-cell factor

**TF** – transkripcijski faktor

**TGF** – eng. transforming growth factor

**TNF $\alpha$**  - eng. tumor necrosis factor alpha

**VEGF** – eng. vascular endothelial growth factor

**WIF1** – eng. Wnt inhibitory factor 1

**ZO-1** – zonula occludens 1

**$\alpha$ -SMA** – eng. alpha smooth muscle Actin

**$\beta$ -TrCP** – eng. beta transducin repeats containing protein

# Sadržaj

1	Uvod .....	1
2	Epitelno-mezenhimska tranzicija .....	2
2.1	EMT u embriogenezi .....	4
2.2	EMT u reparaciji tkiva i fibrozi.....	5
2.3	EMT i tumorigeneza .....	7
3	Wnt signalni put .....	10
3.1	Nekanonski Wnt signalni putevi.....	11
3.1.1	Wnt/PCP signalni put .....	11
3.1.2	Wnt/Ca <sup>2+</sup> signalni put .....	12
3.2	Kanonski Wnt signalni put.....	13
3.2.1	Inhibitori Wnt signalnog puta.....	16
4	Zaključak.....	17
5	Zahvala .....	18
6	Literatura.....	19
7	Životopis .....	26

## Sažetak

### Uloga signalnog puta WNT u epitelno-mezenhimske tranziciji

Vjekoslav Batarilo

Epitelno-mezenhimska tranzicija je složeni molekularni proces u kojem dolazi do tranzicije epitelnih stanica u mezenhimske stanice. Stanične promjene koje se događaju tijekom EMT su brojne, a posljedica su prestanka ekspresije gena koji reguliraju epitelni fenotip te preuzimanja transkripcijskog obrasca ekspresije gena koji upravljaju mezenhimskim fenotipom. Neke od tih promjena su prestanak ekspresije E-kadherina, gubitak intercelularnih veza i apikalno-bazolateralne orijentacije stanice itd. Mezenhimske osobine koje stanice stječu su izgled nalik miofibroblastima, pokretljivost i invazivnost, stanice počinju secernirati molekule ekstracelularnog matriksa, manje su podložne aktivaciji apoptoze itd. EMT prisutna je i u fiziološkim i u patofiziološkim procesima. Fiziološki procesi koji su u najvećoj mjeri posljedica EMT su embriogeneza i reparacija tkiva, a patofiziološki procesi u kojima EMT sudjeluju su fibrogeneza i tumorigeneza. Jedan od glavnih puteva koji su zaslužni za aktivaciju ovog staničnog programa je Wnt signalni put. To je evolucijski drevni, konzervirani put. Kategorizirana su tri glavna Wnt puta: jedan kanonski i dva nekanonska. Kod ljudi postoji 19 različitih Wnt proteina, koji su kategorizirani zbog sličnost cisteinskih ostataka na N-terminalnom kraju, a ne prema funkcijama, koje su *nota bene*, vrlo različite. Wnt ligand veže se za Frizzled receptore te je središnja molekula  $\beta$ -katenin zaslužna za biološke učinke koji se pripisuju Wnt putu.  $\beta$ -katenin translocira se u jezgru gdje se veže za Tcf/Lef transkripcijski faktor i potiče ekspresiju ciljnih gena.

Ključne riječi: epitelno-mezenhimska tranzicija, Wnt signalni put, genska ekspresija

## Summary

### Role of WNT signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition

Vjekoslav Batarilo

Epithelial-mesenchymal transition is a complex molecular process in which epithelial cells transform to mesenchymal cells. Cell changes that occur during EMT are numerous due to loss of epithelial gene expression, and activation of mesenchymal gene expression. Some of those changes are downregulation of E-cadherin expression, loss of epithelial adherens junctions, loss of apical-basolateral polarity etc. Mesenchymal traits which these cells acquire are myofibroblast-like shape, motility and invasiveness, secretion of extracellular matrix, increased resistance to apoptosis etc. EMT occurs both during physiological and pathophysiological processes. Physiological processes, which are to the greatest extent consequence of EMT, are embryogenesis and tissue reparation, while pathophysiological processes in which EMT has role are fibrogenesis and tumorigenesis. One of the major signaling pathway that activates EMT is Wnt signaling pathway. It is evolutionarily ancient and conserved pathway. There are three main Wnt signaling pathway branches; a canonical Wnt pathway and two non-canonical Wnt pathways. There are nineteen distinctive Wnt proteins in humans, which are classified as Wnt based on similarity of their N-terminal cysteine residues, rather than their functions which are quite different. The Wnt ligands bind to Frizzled receptors, while the central molecule  $\beta$ -catenin is responsible for biological effects of Wnt pathway.  $\beta$ -catenin translocates to the nucleus where it binds to Tcf/Lef transcription factor and upregulates expression of target genes.

Key words: epithelial-mesenchymal transition, wnt signaling pathway, gene expression



## 1 Uvod

Normalni epitel građen je od epitelnih stanica koje su organizirane tako da se razlikuje apikalni i bazalni pol stanice. Epitelne stanice međusobno su povezane sa nekoliko tipova staničnih spojeva koji imaju važnu ulogu u uspostavljanju i održavanju adhezija među stanicama. Transmembranska molekula E-kadherin ima vrlo bitno ulogu u diferenciranju epitelnog od mezenhinskog fenotipa. Ekstracelularne domene E-kadherina susjednih stanica međusobno se povezuju te tako nastale veze tvore homodimerske mostove koji su iznimno važni u osiguravanju strukturnog integriteta epitela. Citoplazmatska domena E-kadherina povezana je sa aktinskim nitima citoskeleta putem, u najvećoj mjeri,  $\alpha$ - i  $\beta$ -katenina. Ovakvim povezivanjem aktinskih citoskeleta susjednih stanica, E-kadherin omogućava otpor epitela prema mehaničkim silama koje bi inače izazvale razdor u epitelu (Parisini et al. 2007).

## 2 Epitelno-mezenhimska tranzicija

Epitelno-mezenhimska tranzicija molekularni je proces tijekom kojeg stanice gube epitelne te stječu mezenhimalne osobine (Liu et al. 2015). Stanične promjene koje se događaju tijekom EMT su brojne. Stanice u tom procesu istovremeno gube i dobivaju određene osobine. Tijekom EMT u stanici gubi se ekspresija citokeratina koji je intermedijarni filament. Osim toga gube se i stanične veze između susjednih stanica čija je funkcija održavanje integriteta epitelnog tkiva. Nadalje, polaritet koji epitelne stanice izražavaju, tijekom procesa EMT postaje sve manje izražen te nije moguće razlučiti apikalni od bazalnog pola stanice. Osim gubitka osobina, stanice prolaskom kroz EMT stječu osobine. Stanice stječu oblik nalik fibroblastima, dolazi do ekspresije vimentina i PDGF receptora te stanice počinju secernirati fibronektin, proteaze te brojne druge intersticijske komponente. Epitelne stanice su nepokretne, no prolaskom kroz EMT stječu mogućnost kretanja i invazivnosti. Usto, stanice koje su prošle kroz EMT imaju povećanu otpornost prema aktivaciji apoptoze što je bitno u tumorskoj biologiji. EMT ovisi o promjenama ekspresije više stotina različitih gena (Thiery, 2002). Molekularne osobine koje stječu stanice koje prolaze kroz EMT su prestanak eksprimiranja epitelnih markera poput E-kadherina,  $\alpha$ -katenina,  $\gamma$ -katenina, citokeratina i *zonula occludens 1* (ZO-1) te eksprimiranje brojnih mezenhimalnih markera poput N-kadherina, vimentina,  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), fibronektina itd. (Liu et al., 2015). Fenotipske promjene stanica posljedica su prestanka genske ekspresije karakteristične za epitelne stanice i preuzimanje transkripcijskog obrasca karakterističnog za mezenhimalne stanice.

Mnogi molekularni procesi u stanici posljedica su djelovanja relativno malog broja pleiotropnih transkripcijskih faktora, pa tako i EMT. Opisano je nekoliko TF koji pokreću EMT te ektopično eksprimiran, svaki od njih može potaknuti EMT. Snail i Slug TF, produkti *SNAI1* i *SNAI2* gena, imaju važnu ulogu u regulaciji EMT. Snail i Slug sadrže strukturu poznatu kao cinkov prsten s aminokiselinskim slijedom poznatim kao C2H2. Ovi TF su transkripcijski represori (Wu et al., 2012). Proteini Snail i Slug vežu se za E2 regije koje se nalaze proksimalno od transkripcijskog početka *CDH1* gena, gen koji kodira protein E-kadherin, i inhibiraju njegovu transkripciju (Batlle et al., 2000). Povišenje koncentracije TF proteina u jezgri stanice ovisi o procesima indukcije transkripcije gena koji kodiraju pojedine TF, obradi nastale pre-mRNA te translaciji mRNA u proteine. Ovaj proces je relativno spor i putem njega regulirana je većina sinteze TF. Snail je TF koji se u normalnim uvjetima sintetizira u visokim koncentracijama, no nikada ne postiže vrijednosti koje bi imale utjecaj na ekspresiju gena koje inhibira budući da se vrlo brzo nakon sinteze Snail degradira. Vrijeme života Snail TF je oko 25 minuta. U odsustvu Wnt signala glikogen sintaza kinaza 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) fosforilira i Snail i Slug, čime ih označava za *beta transducin repeats containing protein 1* ( $\beta$ -TrCP1) ovisnu ubikvitinilaciju i posljedično proteosomalnu degradaciju. S druge strane, u prisutnosti liganda kanonskog Wnt puta, inhibirana je aktivnost GSK3 $\beta$  zbog čega ne dolazi do fosforilacije TF Snail i Slug što uzrokuje povišenje njihovih koncentracija te započinju EMT (Wu et al. 2012). Osim kanonskog Wnt puta, također, i aktivacija mitogenih signala putem Ras-PI3K-Akt signalnog puta rezultira inhibicijom djelovanja GSK3 $\beta$  i posljedično akumulacijom Snail i Slug TF (Volckaert et Langhe 2015).

## 2.1 EMT u embriogenezi

Tijekom embrionalnog razvoja dolazi do brojnih morfofenetskih promjena. Remodeliranje tkiva u ranom razvoju ovisi o različitim tipovima epitelnih stanica koje prolaze kroz EMT. Određene skupine epitelnih stanica, pod utjecajem različitih faktora, aktivno odbacuju veze sa susjednim stanicama te migriraju u nova mikro okruženja gdje se diferenciraju u specifične tipove stanica (P. Savagner 2001).

Faza ranog embrionalnog razvitka, poznatog kao gastrulacija, primjer je EMT u razvoju kralješnjaka. Tijekom EMT u gastrulaciji dolazi do tranzicije epiblasta u mezoderm, odnosno migracije stanica ektoderma prema središtu embrija gdje formiraju mezoderm koji je prekursor mezenhimalnog tkiva, uključujući fibroblaste i hematopoetske stanice. Nadalje, osim gastrulacije, primjeri EMT tijekom embrionalnog razvoja kralješnjaka su i somitogeneza, odnosno proces u kojem nastaju primitivni segmenti koji čine osnovu za daljnje diferenciranje u skeletne mišiće, dermis i kralješke, zatim formiranje nepca te formiranje neuralne cijevi iz neuralne ploče (P. Savagner 2001)

Osim navedenih primjera, transformacija staničnog fenotipa neuroepitelnih stanica, koje potječu od neuralnog grebena i migriraju u mezenhim tijekom ranog embrionalnog razvoja kralješnjaka najbolje se može opisati kao EMT. Subpopulacija stanica koje se nalaze u prednjoj regiji neuralne cijevi prolaze kroz EMT što im omogućava da se odvoje od susjednih stanica, steknu pokretljivost i invazivnost. Ova subpopulacija stanica, zbog mogućnosti pokretljivosti, raseli se širom embrija. U

novom okruženju ove stanice diferenciraju se u melanocite, formiraju veći dio perifernog živčanog sustava te veći dio skeleta lica (Cheung et al., 2005).

Kao što je već ranije navedeno, transkripcijski faktori važan su pokretač EMT pa su tako i u embriogenezi. U ranim embrijima kralješnjaka, Snail, Slug i Twist TF eksprimirani su u dijelu ektoderma čija je sudbina transformacija u mezoderm tijekom gastrulacije. Primitivni organizmi žarnjaci, koji nemaju bilateralnu simetriju niti 3 zametna listića poput kralješnjaka, eksprimiraju TF Snail na mjestu buduće embrionalne blastospore, što ilustrira evolucijski drevno porijeklo ovog TF-a (Martindale et al., 2004).

## 2.2 EMT u reparaciji tkiva i fibrozi

Epitelni sloj keratinocita nastaje diferencijacijom od progenitornih stanica koje naposljetku dožive staničnu smrt. Na ovaj način nastaje vanjski sloj epidermisa građen od mješavine citokeratinskog skeleta i lipida koji čini mehaničku barijeru kao zaštita za podležecu stromu (Barriere et al., 2015). Brojne studije identificirale su EMT kao komponentu cijeljena kožnih rana. U ovom slučaju inače stacionarni keratinociti migriraju preko rane kako bi obnovili epidermalnu barijeru. S jedne strane, EMT je bitna za fiziološki proces reepitelizacije i odlaganje ekstracelularnog matriksa tijekom cijeljenja, dok nekontrolirana kontinuirana EMT keratinocita u miofibroblaste može rezultirati sa svim od benignih hipertrofičnih ožiljaka pa sve do agresivne fibromatoze. Osim u zacjeljivanju kožnih rana, EMT ima važnu ulogu i u cijeljenju ekstrakutanih organa (Stone et al., 2016).

Brojne molekule sudjeluju u induciranju EMT tijekom cijeljenja rana. Glavni citokin koji inducira EMT tijekom cijeljenja je TGF- $\beta$  kojeg secerniraju inflamatorne stanice čija aktivacija je posljedica oštećenja tkiva. Osim TGF $\beta$ , različiti faktori rasta također potiču EMT tijekom reparacije tkiva, a neki od njih su HGF, EGF, IGF, TNF- $\alpha$ , FGF itd. (Barriere et al., 2015). Kao i u drugim slučajevima, i u ovome, jedan od ključnih signalnih puteva u EMT je i Wnt signalni put. Tijekom reparacije ozljeda kože postoji interakcija između TGF- $\beta$  i  $\beta$ -katenina. Ozljede privremeno induciraju TGF- $\beta$  signalni put te ova stimulacija posljedično povisuje razinu  $\beta$ -katenina u stanici (Zhang et al., 2009).

Postoje brojni dokazi da je EMT transkripcijski faktor Slug impliciran u procesu reepitelizacije tijekom cijeljenja rana. Slug TF potiče motilitet keratinocita tako što djeluje negativno na ekspresiju E-kadherina, koji služi za stvaranje čvrstih veza između stanica, te uzrokuje disrupciju intercelularnih dezmosoma (Stone et al., 2016). U istraživanju Savagner P. i suradnika, ekspresija Slug TF inducirana je prolazno u jednoslojnoj kulturi keratinocita na kojoj se napravi rana. Keratinociti koji se nalaze na rubovima rane ekspimirali su Slug TF zbog čega su bili u mogućnosti steći pokretljivost i odvojiti se od ostatka stanične kulture, kao individualne stanice, te doći na mjesto rane kako bi rekonstruirali novi sloj keratinocita. Nakon 96 sati većina ovih stanica koje su inicijalno prošle EMT pod utjecajem Slug TF, prestaju ekspimirati Slug TF i integriraju se u kontinuirani sloj stanične kulture. Implicirano je da su stanice koje su prošle kroz EMT pod utjecajem Slug TF, nakon pokrivanja mjesta rane, prolaze kroz MET kako bi vratile izvorni epitelni fenotip (Savagner et al., 2005).

Kao što je već spomenuto, epitelne stanice na rubovima ozljede prolaze kroz EMT i poprimaju značajke slične miofibroblastima. Kontraktilni miofibroblasti su stanični pokretači remodeliranja tkiva koji secerniraju ekstracelularni matriks te pomažu u mehaničkom zatvaranju rane. Tijekom fiziološkog procesa, sudbina miofibroblasta nije istoznačna. Neki miofibroblasti aktiviraju apoptozu, dok drugi prolaze kroz MET u izvorno epitelne stanice. Međutim, patološki produženo djelovanje miofibroblasta rezultira patološkom fibrogenozom. Iako miofibroblasti mogu potjecati iz više različitih izvora, veliki broj istraživanja ukazuje da veći dio miofibroblasta proizlazi iz EMT tijekom reparacije tkiva. TGF- $\beta$ 1, kao jedan od kritičnih regulatora fiziološke reparacije i EMT, glavni je pokretač fibroze dijelom i kroz ulogu produženog, patološkog održavanja miofibroblasta aktivnima. Mnoga istraživanja pokazuju da miofibroblasti nastali tijekom EMT pridonose razvoju fibroze srca, jetre, kože, bubrega i pluća (Stone et al., 2016).

### 2.3 EMT i tumorigeneza

Slični genetski i molekularni procesi, kao i kod fiziološke EMT, prisutni su i kod patološke EMT (Hugo et al., 2007). Kao što je ranije navedeno, važna molekula za održavanje epitelnog fenotipa je E-kadherin. Inhibicija transkripcije putem transkripcijskih faktora Snail i/ili Slug, metilacija promotorske regije *CDH1* gena ili *frame shift* mutacije u ovom genu, igraju ključnu ulogu u stjecanju malignog fenotipa. Osim formiranja intercelularnih veza, E-kadherin isto tako sekvstrira  $\beta$ -katenin (Thiery et Sleeman, 2006). Gubitkom E-kadherina na staničnoj membrani ne dolazi do

sekvestracije  $\beta$ -katenina. Stoga se  $\beta$ -katenin akumulira u jezgri i pod utjecajem Wnt signalnog puta migrira u jezgru gdje se povezuje sa Tcf/LEF-1 transkripcijskim faktorima čime omogućava indukciju ekspresije gena koji sudjeluju u EMT (Parisini et al., 2007). Analizama tumorskih tkiva, gubitak ekspresije ili ekspresija mutiranog oblika E-kadherina, potvrđene su u humanim karcinomima dojke, jednjaka, kože, bubrega, debelog crijeva, želuca, prostate, jetre, pluća te u leukemijama (Esteller, 2007).

Prolaskom kroz EMT, stanice sintetiziraju N-kadherin umjesto E-kadherina. N-kadherin, poput E-kadherina, sudjeluje u formiranju homodimerskih veza sa molekulama N-kadherina koje su eksprimirane na membranama stanica u blizini. Tumorske stanice koje su prošle EMT i zbog toga eksprimiraju N-kadherin, imaju povećan afinitet za vezanje sa stromalnim stanicama koje fiziološki eksprimiraju N-kadherin, posebice fibroblastima. Ovakvo povezivanje omogućuje tumorskim stanicama da se infiltriraju unutar populacije stromalnih stanica. Ovakav mehanizam predložen je kao objašnjenje kojim stanice melanoma invadiraju stromu. Normalni melanociti eksprimiraju E-kadherin zbog čega se vežu za keratinocite, dok stanice melanoma eksprimiraju N-kadherin što im olakšava invaziju u dermalnu stromu zbog većeg afiniteta za N-kadherin molekule na površinama fibroblasta i drugih stromalnih stanica. Međumolekulske veze nastale homodimerskim vezanje N-kadherin molekula puno su slabije od veza formiranih putem E-kadherina, čija je svrha imobilizacija unutar epitelnog sloja, što omogućava motilitet stanice i ne dolazi do stvaranja velikih nakupina stanica (Haass et Herlyn, 2005).

Sekrecijom brojnih molekula, tumorske stanice privlače u svoju neposrednu blizinu mezenhimalne stanice koje zatim čine tumorski mikro okoliš. Ove stanice molekularnim mehanizmima komuniciraju sa tumorskim stanicama što utječe na



preživljavanje, proliferaciju i naposljetku migraciju tumorskih stanica. Budući da EMT tijekom embrionalnog razvoja, osim temporalne, ovisi i o prostornoj lokalizaciji, također je i EMT tijekom tumorske progresije inducirana ekstracelularnim signalima koje primaju od tumorskog mikro okoliša (Aiello et al., 2016). Tumorske stanice koje se nalaze na rubovima tumora i u bliskom su kontaktu sa okolnom stromom aktiviraju EMT, dok stanice koje se nalaze u unutrašnjim područjima tumora, odnosno one stanice koje nisu u kontaktu sa stromom, ne pokazuju znakove aktivacije EMT. Uobičajene histopatološke tehnike nisu uspijevale prikazati tumorske stanice koje su prošle EMT na invazivnim rubovima primarnih karcinoma, jer tumorske stanice koje prođu EMT su, histopatološki, vrlo slične normalnim mezenhimalnim stanicama u okolnoj stromi (Brabletz et al., 2005). Zbog toga kako bi se prikazala EMT na invazivnim rubovima koriste se specifični stanični markeri koji se ne koriste rutinski. Primjer je dokazivanje intracelularne lokalizacije  $\beta$ -katenina. Wnt signalni put je jedan od fundamentalnih signalnih puteva zaslužnih za EMT (Eger et al., 2004). Na invazivnim rubovima kolorektalnog karcinoma,  $\beta$ -katenin se akumulira u jezgri gdje sudjeluje u regulaciji transkripcije, dok je u središnjim dijelovima tumora,  $\beta$ -katenin lokaliziran na membrani i citoplazmi polariziranih epitelnih stanica. Isto tako, E-kadherin se ne detektira na membranama stanica na invazivnom rubu, dok je njegova ekspresija u dijelu tumora koji nije u kontaktu sa stromom, očuvana (Brabletz et al., 2001).

### 3 Wnt signalni put

Wnt signalni put je evolucijski očuvani put čija je uloga regulacija ključnih procesa poput određivanja stanične sudbine, migracije stanica, polariteta stanica, tijekom embrionalnog razvoja sudjeluje u specifikaciji osi embrija, gastrulaciji te sudjeluje u organogenezi udova, srca i živčanog sustava. (Komiya et Habas, 2008; Croce et McClay, 2008). Predstavnici Wnt genske obitelji identificirani su neovisno u *Drosophila melanogaster* i u miša. Gen *wingless* identificiran je kao gen za polarizaciju segmenta *Drosophila melanogaster*, dok je kod miša identificiran gen *int-1* tijekom potrage za protoonkogenima 1982. godine. Naziv Wnt posljedica je kombinacije naziva ovih gena, *wingless* i *int-1*, nakon što se pokazalo da kodiraju homologne proteine. Wnt proteini definirani su homologijom sekvence. Wnt proteini slične su veličine i strukture. Sadrže 350-400 aminokiselina u nizu. Svi Wnt proteini sadrže N-terminalnu signalnu sekvencu nakon koje slijedi visoko konzervirani obrazac od 22-24 cisteinska ostatka koji su esencijalni za funkciju ovih proteina. Više od 100-tinjak Wnt gena opisano je do sada. Filogenetske analize organiziraju ove gene u 13 podobitelji, od Wnt-1 do Wnt-11, Wnt-16 i WntA (Croce et McClay, 2008). Wnt proteini su glikoproteini te čine veliku skupinu od 19 proteina kod ljudi. Wnt proteini svoju funkciju vrše vežući se za N-terminalnu cisteinom bogatu ekstracelularnu domenu Frizzled (Fz) receptora. Kod ljudi postoji deset različitih Fz receptora. Frizzled receptor je transmembranski protein koji sedam puta prolazi kroz membranu stanice (Komiya et Habas, 2008). Opisana su tri glavna Wnt signalna puta koja su aktivirana ligandima koji pripadaju istoj genetskoj obitelji, Wnt. Međutim, specifična funkcija svakog od ovih puteva determinirana je pomoću tri različite skupine ekstracelularnih, citoplazmatskih i nuklearnih komponenti koje

omogućuju njihovo razlikovanje (Croce et McClay 2008). Ta tri glavna puta podijeljena su na kanonski Wnt put ili  $\beta$ -katenin ovisni i dva ne-kanonska puta ili  $\beta$ -katenin neovisna. Ne-kanonski Wnt putevi se dalje dijele na Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  put i Wnt/*planar cell polarity* put (Wnt/PCP) (Habas et Dawid, 2005).

## 3.1 Nekanonski Wnt signalni putevi

### 3.1.1 Wnt/PCP signalni put

Wnt/PCP signalni put prvi put opisan je tijekom genetskih studija na *Drosophila melanogaster*, gdje ovaj put regulira orijentaciju različitih struktura u odnosu na osi tijela (Seifert et Mlodzik, 2007). Osim ubikvitarne apikalno-bazolateralne polarizacije epitelnih stanica, epitelne stanice polariziraju se, također, i uzduž ravnine epitelnog sloja od čega potječe i naziv ovog signalnog puta. Kod *D. melanogaster* ovaj put sudjeluje u organizaciji orijentacije struktura poput folikula dlake, senzornih dlačica te u heksagonalnom položaju omatidia u oku insekta (Mlodzik, 2002). Istraživanja na miševima, žabama i zebrastim ribicama, pokazala su da, osim u *Drosophila*, ovaj put postoji i kod kralješnjaka gdje sudjeluje u orijentaciji stereocilija u senzornom epitelu unutrašnjeg uha i organizaciji folikula dlaka (Wang et Nathans, 2007).

Wnt/PCP signalni put aktivan je i tijekom gastrulacije kralješnjaka. Tijekom gastrulacije mezodermalne i ektodermalne stanice prolaze kroz konvergencijsku ekstenziju. U ovom procesu, polarizirane stanice interkaliraju se uzduž mediolateralne osi što rezultira mediolateralnim suženjem ili konvergencijom, dok posljedično tome

dolazi do anteroposteriorne elongacije, tj. ekstenzije (Keller et al., 2003). Pokazalo se da Wnt/PCP signalni put regulira i polarizaciju stanica i motilitet stanica dorzalnog mezoderma tijekom konvergencijske ekstenzije i kasnije tijekom zatvaranja neuralne cijevi (Veeman et al., 2003).

### 3.1.2 Wnt/Ca<sup>2+</sup> signalni put

Druga grana ne-kanonskog signalnog Wnt puta je Wnt/Ca<sup>2+</sup> put koji ima sličnosti sa Wnt/PCP putem, ali razlikuje se dovoljno od njega da se opisuje zasebno (Komiya et Habas, 2008). Ovaj put opisan je kada je otkriveno da neki Wnt proteini i Fz receptori mogu uzrokovati porast intracelularnog Ca<sup>2+</sup> oslobađanjem iz endoplazmatskog retikuluma bez utjecaja na β-katenin stabilizaciju. Ovaj put ovisan je o G-proteinima (Kohn et Moon, 2005; Slusarski et Pelegri, 2007). Oslobađanje Ca<sup>2+</sup> i njegova intracelularna akumulacija aktiviraju nekoliko proteina koji su osjetljivi na Ca<sup>2+</sup>, poput protein kinaze C (PKC) i kalcij/kalmodulin-ovisna kinaza II (CamKII) (Sheldahl et al., 2003). Jedna od uloga CamKII je i aktivacija TGFβ aktivirane kinaze (TAK1) i Nemo-like kinaze (NLK) koje antagoniziraju β-katenin signalizaciju (Ishitani et al., 1999), dok PKC regulira tkivnu separaciju tijekom gastrulacije (Winklbauer et al., 2001). Zbog svega navedenoga, Wnt/Ca<sup>2+</sup> signalni put ima iznimno važnu ulogu u modulaciji i kanonskog i Wnt/PCP signalnog puta (Komiya et Habas, 2008).

## 3.2 Kanonski Wnt signalni put

Kanonski Wnt signalni put, kao što je ranije navedeno, opisan je u početku genetskim istraživanjima *Drosophila* te je daljnje istraživanje ovog signalnog puta na ribama, miševima, žabama, drugim životinjama i staničnim kulturama dovelo do identifikacije osnovnih molekularnih procesa koji sudjeluju u ovom signalnom putu. Glavno obilježje kanonskog Wnt puta je akumulacija  $\beta$ -katenina u citoplazmi te njegova translokacija u jezgru gdje sudjeluje u regulaciji transkripcije (Gordon et Nusse, 2006). Međutim, regulacija transkripcije nije jedina uloga  $\beta$ -katenina.  $\beta$ -katenin također djeluje i kao pomoćni protein u staničnoj adheziji tako što održava vezu između E-kadherina i aktinskog citoskeleta. Brojni su molekularni procesi kojima se mogu aktivirati transkripcijski faktori.  $\beta$ -katenin pripada skupini koja ovisi o receptorima na staničnoj površini i ligandima koji aktiviraju te receptore. Receptori zatim generiraju signale koji se kaskadno prenose na niže razine kako bi se u konačnici aktivirali latentni transkripcijski faktori u citoplazmi. Nakon aktivacije, transkripcijski faktor premješta se u jezgru. Citoplazmatska koncentracija  $\beta$ -katenina održava se na niskim razinama. Bez Wnt signala, citoplazmatski  $\beta$ -katenin se degradira pomoću  $\beta$ -katenin degradacijskog kompleksa kojeg čine proteini Axin, adenomatozna polipoza kolona (APC), protein fosfataza 2A (PP2A), GSK3 $\beta$  i kazein kinaza 1 $\alpha$  (CK1 $\alpha$ ). Dva proteina unutar ovo kompleksa, Axin i APC, vežu na sebe novosintetizirani  $\beta$ -katenin. Unutar ovog degradacijskog kompleksa, GSK3 $\beta$  i CK1 $\alpha$  fosforiliraju skup konzerviranih serinskih i treoninskih ostataka na N-terminalnom kraju  $\beta$ -kateninske molekule. Ovakav obrazac fosforilacije  $\beta$ -katenina prepoznaje F-box/ $\beta$ -Trcp/ubikvitin ligaza kompleks zbog čega

dolazi do ubikvitinilacije  $\beta$ -katenina i posljedično tome proteolitičke razgradnje u proteosomima.

Vežanjem Wnt proteina za receptorski kompleks, koji se sastoji od Fz receptora i koreceptora *low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6* (LRP5/6), dolazi do kaskadnog niza različitih molekularnih procesa koji dovode do promjena u  $\beta$ -katenin degradacijskom kompleksu. Vežanje Wnt proteina uzrokuje fosforilaciju citoplazmatske domene LRP 5/6 posredovanu kazein kinazom  $1\gamma$  (CK1 $\gamma$ ), koja je vezana za membranu, ili GSK3 $\beta$ . Fosforilirani dijelovi LRP 5/6 koreceptora osiguravaju mjesto na koje se veže protein Axin. Vežanje proteina Axina dovodi do hiperfosforilacije fosfoproteina Dishevelled (Dsh). Dsh se istovremeno veže i za Axin i za citoplazmatske dijelove Fz receptora. Još uvijek nije u potpunosti razjašnjeno na koji način se aktivira Dsh. Modulacijski protein Dsh sadrži tri različite domene, DIX, PDZ i DEP. Domene DIX i PDZ posreduju u provedbi Wnt signalnog puta. Protein Axin i Dsh vežu se pomoću DIX domene. Organiziranjem ovog multiproteinskog kompleksa koji je vezan za membranu, inhibira se aktivnost GSK3 $\beta$ . Inhibicija GSK3 $\beta$  rezultira smanjenom degradacijom  $\beta$ -katenina, te je dolazi do stabilizacije i akumulacije  $\beta$ -katenina u citoplazmi. Zatim, takav  $\beta$ -katenin se translocira u jezgru za sada nedovoljno jasnim mehanizmima. Sam  $\beta$ -katenin ne posjeduje *nuclear localization sequence* (NLS), odnosno slijed aminokiselina koji obilježava protein za unos u staničnu jezgru nuklearnim transportom, niti je potrebna aktivnost importinskih proteina. U jezgri,  $\beta$ -katenin, veže se za N-terminalni kraj DNA-vezanih proteina iz Tcf/Lef obitelji. Genom kralješnjaka kodira četiri vrlo slična Tcf/Lef proteina. Kada Wnt signalni put nije aktivan, Tcf/Lef proteini inhibiraju transkripciju ciljnih gena putem

direktnog vezanja sa korepresorima koji su proteini potrebni za inhibitornu aktivnost specifičnih transkripcijskih faktora, ali nema sposobnost samostalnog vezanja za DNA. Interakcijom  $\beta$ -katenina i Tcf/Lef kompleksa,  $\beta$ -katenin zamjenjuje korepresor koji se naziva Groucho, te prolazno mijenja inhibitorno djelovanje Tcf/Lef kompleksa u transkripcijskog aktivatora. Osim vezanja za Tcf/Lef kompleks,  $\beta$ -katenin zamjenjuje histonsku deacetilazu (HDAC), koja prevenira kromatinsku remodelaciju putem deacetilacije histona, sa p300 zbog čega dolazi do acetilacije histona što omogućava gensku ekspresiju. Kompleks Tcf/Lef/ $\beta$ -katenin potom se veže za promotore, čime se inicira transkripcija Wnt ciljnih gena (Reya et Clevers, 2005; Fagotto et al., 1998; Zeng et al., 2008; Yamamoto et al., 1998; He et al., 2004; Gordon et Nusse, 2006; Mao et al., 2001; Fisher et Caudy, 1998; Liu et al., 2015).

Analizirajući brojne *microarray* studije, neovisno o staničnom tipu ili organizmu te evaluacijom kopija gena, identificirano je 1886 gena koji su posljedica aktivnog Wnt signalnog puta. Daljnjom evaluacijom eksprimiranih gena pokazano je da je samo mali dio potencijalnih ciljnih gena direktno posljedica djelovanja Tcf/Lef transkripcijskog faktora i time Wnt signalnog puta. Ekspresija većine gena regulirana je pomoću ciljnih gena, koji se direktno transkribiraju pod utjecajem Wnt signalnog puta, ili pomoću signalnih puteva koje aktiviraju ciljni geni. U Wnt targetomu možemo razlikovati tri razine. Primarna razina obuhvaća Tcf/Lef koji direktno regulira ekspresiju ciljnih gena, poput proteolitičkog enzima matriks metaloproteinaza 7 (MMP-7), transkripcijskog regulatora c-Myc, regulatora signalnog puta kao što je *vascular endothelial growth factor* (VEGF) te gena koji sudjeluju u embriogenezi kao što su *Siamois* i *Twin*. Sekundarna razina obuhvaća indirektnu regulaciju gena čija je ekspresija regulirana transkripcijskim regulatorima, dok tercijarna razina označava regulaciju gena pomoću

izvršitelja Wnt ciljnih signalnih puteva. Genski produkti nastali kao posljedica aktivacije Wnt signalnog puta sudjeluju u brojnih različitih molekularnim funkcijama stanice, što odražava različite biološke učinke koji nastaju aktivacijom Wnt signalnog puta, kao što su regulacija embrionalnog razvoja, diferencijacija, rast i migracija stanica, progresija te proliferacija stanica i inhibicija apoptoze (Vlad et al., 2007).

### 3.2.1 Inhibitori Wnt signalnog puta

Različite ekstracelularne molekule mogu djelovati kao inhibitori Wnt signalnog puta. Dvije najzastupljenije molekule su *Wnt inhibitory factor 1* (WIF-1) i *secreted frizzled-related protein* (sFRP), koji se vežu za ekstracelularni Wnt protein i time onemogućuju njegovo vezanje za Fz receptor. S druge strane, molekule kao što su *Dickkopf* (Dkk) i sklerostin interferiraju sa aktivacijom koreceptora LRP 5/6 (Voronkov et Krauss, 2013).



## 4 Zaključak

Proučavajući literaturu za pisanje ovog rada, uvidio sam da je proces epitelno-mezenhimske tranzicije izuzetno kompleksan i vrlo je teško, sve što je do sada poznato, sažeti u nekoliko stranica teksta. Prilikom pisanja rada uočio sam da unatoč ekstenzivnom znanju o ovom procesu i aktivatorima istoga, postoji još mnogo nepoznanica. Kao što sam nekoliko puta navodio kroz tekst, epitelno-mezenhimska tranzicija proces je koji je aktivan kako u fiziološkim tako i u patofiziološkim pojavama. Epitelno-mezenhimska tranzicija sreće se već u najranijim danima embrionalnog razvoja životinja, gdje sudjeluje u gastrulaciji nakon koje slijedi organogeneza. Osim u razvoju, epitelno-mezenhimska tranzicija prisutan je proces i u adultnim organizmima tijekom reparacije tkiva. Epitelno-mezenhimska tranzicija ključan je mehanizam kojim dolazi do fibroze brojnih organa, ali isto tako i proces kojim tumorske stanice stječu sposobnost invazivnosti i migracije što za posljedicu ima metastatsku bolest.

Jedan od glavnih signalnih puteva koji aktivira epitelno-mezenhimsku tranziciju je signalni put Wnt. Ovaj signalni put evolucijski je izuzetno star i konzerviran što ga čini pogodnim za istraživanja na jednostavnijim organizmima. Poznato je da Wnt signalni put utječe na mnoge stanične funkcije i da potiče transkripciju mnogih gena i aktivaciju signalnih puteva čiji učinak rezultira biološkim odgovorima koje možemo sažeti pod jednim nazivom – epitelno-mezenhimska tranzicija.

## 5 Zahvala

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Tamari Nikuševa-Martić na pomoći pri odabiru teme, pruženim materijalima koji su mi bili nedostupni i savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

Posebna zahvala mojoj obitelji i prijateljima na razumijevanju i podršci tijekom studiranja.

## 6 Literatura

Aiello NM, Bajor DL, Norgard RJ, Sahmoud A, Bhagwat N, Pham MN et al. (2016) Metastatic progression is associated with dynamic changes in the local microenvironment. *Nature Communications*, September 15, 2016.

doi:10.1038/ncomms12819

Barriere G, Fici P, Gallerani G, Fabbri F, Rigaud M. (2015) Epithelial Mesenchymal Transition: a double-edged sword. *Clinical and Translational Medicine* (2015) 4:14 doi:10.1186/s40169-015-0055-4

Battle E, Sancho E, Franci C, Dominguez D, Monfar M, Baulida J et al. (2000). The transcription factor Snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Cell Biology*, Vol. 2, February 2000

Brabletz T, Jung A, Reu S, Porzner M, Hlubek F, Kunz-Schughart LA et al. (2001) Variable b-catenin expression in colorectal cancers indicates tumor progression driven by the tumor environment. 10356-10361, *PNAS*, August 28,2001, vol. 98, no. 18

Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. (2005) Migrating cancer stem cells – an integrated concept of malignant tumour progression. *Nature Reviews/Cancer*, September 2005, Volume 5

Cheung M, Chaboissier MC, Mynett A, Hirst E, Schedl A, Briscoe J. (2005) The Transcriptional Control of Trunk Neural Crest Induction, Survival, and Delamination. *Developmental Cell*, Vol. 8, 179-192, February, 2005, doi:10.1016/j.devcel.2004.12.010

Croce JC, McClay DR. (2008) Evolution of the Wnt Pathways. *Methods Mol Biol.* 2008; 469: 3-18. doi:10.1007/978-1-60327-469-2\_1.

Eger A, Stockinger A, Park J, Langkopf E, Mikula M, Gotzmann J et al. (2004).  $\beta$ -Catenin and TGF $\beta$  signalling cooperate to maintain a mesenchymal phenotype after FosER-induced epithelial to mesenchymal transition. *Oncogene* (2004) 23, 2672-2680

Esteller M. (2007). Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nature reviews/Genetics*. April 2007, Volume 8

Fagotto F, Gluck U, Gumbiner BM. (1998) Nuclear localization signal-independent and importin/karyopherin-independent nuclear import of  $\beta$ -catenin. *Current Biology* 1998, 8:181-190

Fisher A, Caudy M. (1998) Groucho proteins: transcriptional corepressors for specific subsets of DNA-binding transcription factors in vertebrates and invertebrates. *Genes & Development* 12:1931-1940. 1998.

Gordon MD, Nusse R. (2006) Wnt Signaling: Multiple Pathways, Multiple Receptors, and Multiple Transcription Factors. *Journal of Biological Chemistry*, August 2006, Volume 281, Number 32

Gregorieff A, Clevers H. (2005) Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer. *Genes & Development* 19:877-890

Haass NK, Herlyn M. (2005) Normal Human Melanocyte Homeostasis as a Paradigm for Understanding Melanoma. *J Investig Dermatol Symp Proc* 10:153-163, 2005

Habas R, Dawid IB. (2005). Dishevelled and Wnt signaling: is the nucleus the final frontier? *Journal of Biology* 2005, 4:2, doi:10.1016/j.bbrc.2008.11.011

He X, Semenov M, Tamai K, Zeng X. (2004) LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: Arrows point the way. *Development* 131, 1663-1677 (2004) doi:10.1242/dev.01117

Huber MA, Kraut N, Beug H. (2005) Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression. *Current Opinion in Cell Biology* 2005, 17:548-558

Hugo H, Ackland ML, Blick T, Lawrence MG, Clements JA, Williams ED et al. (2007) Epithelial-Mesenchymal and Mesenchymal-Epithelial Transition in Carcinoma Progression. *Journal of Cellular Physiology* 2007. doi:10.1002/jcp.21223

Ishitani T, Ninomiya-Tsuji J, Nagain S, Nishita M, Meneghini M, Barker N et al. (1999) The TAK1-NLK-MAPK-related pathway antagonizes signalling between  $\beta$ -catenin and transcription factor TCF. *Nature*, Vol. 399, 24 June 1999

Keller R, Davidson LA, Shook DR. (2003) How we are shaped: The biomechanics of gastrulation. *Differentiation* (2003) 71:171-205

Kohn AD, Moon RT. (2005) Wnt and calcium signaling:  $\beta$ -Catenin-independent pathways. *Cell Calcium* 38 (2005) 439-446, doi:10.1016/j.ceca.2005.06.022

Komiya Y, Habas R. (2008) Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis* 4:2, 68-75 April/May/June 2008

Liu X, Yun F, Shi L, Li ZH, Luo NR, Jia YF. (2015) Roles of Signaling Pathways in the Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 16, 2015

Mao J, Wang J, Liu B, Pan W, Farr GH, Flynn C et al. (2001) Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 5 Binds to Axin and Regulates the Canonical Wnt Signaling Pathway. *Molecular Cell*, Vol. 7, 801-809, April 2001

Martindale MQ, Pang K, Finnerty JR. (2004) Investigating the origins of triploblasty: 'mesodermal' gene expression in a diploblastic animal, the sea anemone *Nematostella vectensis* (phylum, Cnidaria; class, Anthozoa). *Development* 131, 2463-2474, 2004, doi:10.1242/dev.01119

Mlodzik M. (2002) Planar cell polarization: do the same mechanisms regulate *Drosophila* tissue polarity and vertebrate gastrulation? *TRENDS in Genetics* Vol. 18 No.11, November 2002

Nelson WJ, Nusse R. (2004) Convergence of Wnt, b-Catenin, and Cadherin Pathways. *Science*, 2004 March 5; 303(5663): 1483-1487. doi:10.1126/science.1094291

Parisini E, Higgins JMG, Liu J, Brenner MB, Wang. (2007) The crystal structure of human E-cadherin domains 1 and 2, and comparison with other cadherins in the context of adhesion mechanism. *J Mol Biol.* 2007 October 19;373(2): 401-411

Polakis P. (2000) Wnt signaling and cancer. *Genes & Development* 14:1837-1851, 2000

Reya T, Clevers H. (2005) Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature*, Volume 434, 14 April 2005

Savagner P, Kusewitt F, Carver EA, Magnino F, Choi C, Gridley T et al. (2005) Developmental Transcription Factor Slug Is Required for Effective Re-epithelialization by Adult Keratinocytes. *Journal of Cellular Physiology* 2005 March;202(3):858-866

Savagner P. (2001) Leaving the neighborhood: molecular mechanisms involved during epithelial-mesenchymal transition. *BioEssays* 23:912-923, 2001

Seigert JRK, Mlodzik M. (2007) Frizzled/PCP signalling: a conserved mechanism regulating cell polarity and directed motility. *Nature Reviews/Genetics*. February 2007, Volume 8

Sheldahl LC, Slusarski DC, Pandur P, Miller JR, Kuhl M, Moon RT. (2003) Dishevelled activates Ca<sup>2+</sup> flux, PKC, and CamKII in vertebrate embryos. *The Journal of Cell Biology*, Volume 161, Number 4, May, 2003, 769-777; doi:10.1083/jc.200211094

Slusarski DC, Pelegri F. (2007) Calcium signaling in vertebrate embryonic patterning and morphogenesis. *Dev Biol*. 2007 July 1; 307(1): 1-13. doi:10.1016/j.ydbio.2007.04.043

Stone RC, Pastar I, Ojeh N, Chen V, Liu S, Garzon KI et al. (2016) Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis. *Cell Tissue Res*, doi:10.1007/s00441-016-2464-0

Thiery JP, Sleeman JP. (2006) Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nature Reviews/Molecular cell Biology*, Volume 7, February 2006

Thiery JP. (2002) Epithelial-mesenchymal transition in tumour progression. *Nature Reviews/Cancer*. June 2002. Volume 2

Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT. (2003) A Second Canon: Functions and Mechanisms of b-Catenin-Independent Wnt Signaling. *Developmental Cell*, Vol 5, 367-377, September, 2003

Vlad A, Rohrs S, Klein-Hitpass L, Muller O. (2007) The first five years of the Wnt targetome. *Cellular Signalling* 20 (2008) 795-802

Volckaert T, De Langhe SP. (2015) Wnt and FGF mediated epithelial mesenchymal crosstalk during lung development. *Dev Dyn*. 2015 March; 244(3): 342-366. doi:10.1002/dvdy.24234

Voronkov A, Krauss S. (2013) Wnt/beta-Catenin Signaling and Small Molecule Inhibitors. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19, 634-664

Wang Y, Nathans J. (2007) Tissue/planar cell polarity in vertebrates: new insights and new questions. *Development* 134, 647-658 (2007) doi:10.1242/dev.02772

Weinberg RA. *The Biology of Cancer*, 2nd edition. Garland Science; 2013. str. 657-689.

Winklbauer R, Medina A, Swain RK, Steinbeisser H. (2001) Frizzled-7 signalling controls tissue separation during *Xenopus* gastrulation. *Nature*, Vol. 413, October 25, 2001



Wu ZQ, Li XY, Yuexian Hu C, Ford M, Kleer CG, Weiss SJ. (2012) Canonical Wnt signaling regulates Slug activity and links epithelial-mesenchymal transition with epigenetic Breast Cancer 1, Early Onset (BRCA1) repression. PNAS, October 9, 2012, vol. 102, no. 41, 16654-16659

Yamamoto H, Kishida S, Kishida M, Ikeda S, Takada S, Kikuchi A. (1999) Phosphorylation of Axin, a Wnt Signal Negative Regulator, by Glycogen Synthase Kinase-3 $\beta$  Regulates Its Stability. The Journal of Biological Chemistry. Vol. 274, No. 16, April 16, 1999

Yang J, Weinberg RA. (2008) Epithelial-Mesenchymal Transition: At the Crossroads of Development and Tumor Metastasis. Developmental Cell 14, June 2008, doi:10.1016/j.devcel.2008.05.009

Zeng X, Huang H, Tamai K, Zhang X, Harada Y, Yokota C et al. (2008) Initiation of Wnt signaling: control of Wnt coreceptor Lrp6 phosphorylation/activation via frizzled, dishevelled and axin functions. Development. 2008 January; 135(2): 367-375. doi:10.1242/dev.013540

Zhang DL, Gu LJ, Liu L, Wang CY, Sun BS, Li Z et al. (2009) Effect of Wnt signaling pathway on wound healing. Biochemical and Biophysical Research Communications 378 (2009) 149-151, doi: 10.1016/j.bbrc.2008.11.001

## 7 Životopis

Rođen sam 26.09.1992. u Splitu. Maturirao sam 2011. godine u I. gimnaziji u Zagrebu. Iste godine upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci. Na Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam se 2014. godine na 4. godinu studija. Od 10/2016 do 04/2017 radio sam kao Transplantacijski koordinator pri Ministarstvu zdravstva, a od 01/2017 radim u HALMED-u na Odjelu za farmakovigilanciju i racionalnu farmakoterapiju.