

---

## PŘÍČINY ÚMRTÍ V USA, 1997\*

---

	Muži x 10 <sup>3</sup>	Ženy x 10 <sup>3</sup>
Všechny příčiny	1154	1160
Srdeční choroby	357	370
Rakovina	281	258
Cerebrovaskulární ch.	62.6	97.2

---

\* (Greenlee, 2000)

---

## **PŘÍČINY CHRONICKÝCH ONEMOCNĚNÍ**

---

Životní styl jednotlivce je spojen s rizikem vzniku koronárních srdečních chorob, mrtvice, rakoviny nebo diabetes typu II

---

---

## HLAVNÍ PŘÍČINY ÚMRTÍ NA NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ V USA, 1999

---

Životní styl	% z celk. počtu
Dieta s vysokým obsahem tuků a smažených jídel a s nízkým obsahem nestravitelné vlákniny, zeleniny a čaje může vést ke vzniku nádorů kolorekta, prsu, slinivky břišní, prostaty, vaječnicků a dělohy.	35
Dieta s vysokým obsahem soli a konzervovaných jídel a s nízkým obsahem zeleniny a čaje může vést ke vzniku nádoru žaludku.	2-3
Užívání tabáku může vést ke vzniku nádorů plic, hrtanu, ústní dutiny, močového měchýře, ledvin, slinivky břišní nebo žaludku.	36
Tabák a alkohol mohou způsobit vznik nádorů úst, jícnu nebo slinivky břišní.	6
Užívání alkoholu může vést ke vzniku nádorů jater nebo jícnu.	3
Sluneční záření a genetické faktory mohou způsobit vznik melanomů.	2
Nedostatek pohybu, sedavé zaměstnání a obezita mohou přispívat k výskytu nádorových onemocnění.	
Podobné faktory životního stylu mohou vést i ke vzniku kardiovaskulárních chorob.	

---

## ÚMRTÍ NA NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ V SOUVISLOSTI S VÝŽIVOU, 1997\*

	USA		Ostatní	
	Muži x 10 <sup>2</sup>	Ženy x 10 <sup>2</sup>	Muži x 10 <sup>2</sup>	Ženy x 10 <sup>2</sup>
Žaludek (sůl) #	7.6	5.4	3970	2300
Kolon (smažená jídla, tuky)	23.1	24.6	2220	2150
Rektum (smaž. jídla, tuky, alkohol)	4.7	3.9	2220	2150
Slinivka bř. (smaž. jídla, tuky) §	13.7	14.5	900	780
Prs (smaž. jídla, tuky) §	0.4	40.8	-	3140
Děloha (obezita, tuky)	-	6.5	-	420
Vaječníky (tuky)	-	14	-	1010
Prostata (smaž. jídla, tuky)	31.9	-	1650	-
Játra (mykotoxiny)	10	5.3	3060	1210

\* Spočítáno a adaptováno podle Greenleeho, 2000 a Parkina et al., 1999.

# Také bakterie *Helicobacter pylori*.

\$ Také kouření.

§ V USA především po menopauze.

|| Také nadměrný příjem etanolu a antigeny hepatitidy.



**Zvýšený přísun kalorií (snížený výdej)  
Vysoký obsah tuků  
Nerovnováha v lipidovém metabolismu**

**Negenetické příčiny vzniku  
kardiovaskulárních a  
nádorových onemocnění**

**Strategie minimalizace rizika  
vzniku onemocnění**

**Fyzická aktivita,  
relaxace, „mír na duši“,  
snížení stresu,  
žádné kouření, správná výživa**



# VÝŽIVA

hraje roli v karcinogenezi řadou různých mechanismů.

Je prokázáno, že vysoký příjem kalorií a tvorba tukových zásob je rizikovým faktorem.

Příjem, absorpce a metabolismus velkého množství potravy vyžaduje oxidativní metabolismus a produkuje více reaktivních kyslíkových radikálů, které poškozují DNA.

Ukázalo se, že příjem tuků, zejména živočišných zvyšuje riziko nádorů.

Epidemiol. studie předpokládají pozitivní korelaci mezi příjmem tuků a nádory prsu, kolonu a prostaty.

Navzdory dlouhé historie studií tuků a nádorů, zůstává řada protikladů. Ukazuje se, že nejen kvantita, ale i kvalita hraje důležitou roli a že se zde uplatňují i tuky rostlinné, zejména vysoce nenasycené mastné kyseliny (PUFAs) - n-3, n-6, olivový olej atd.

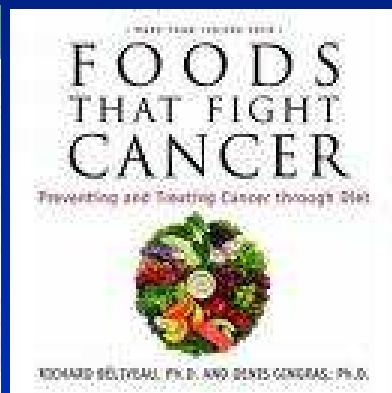
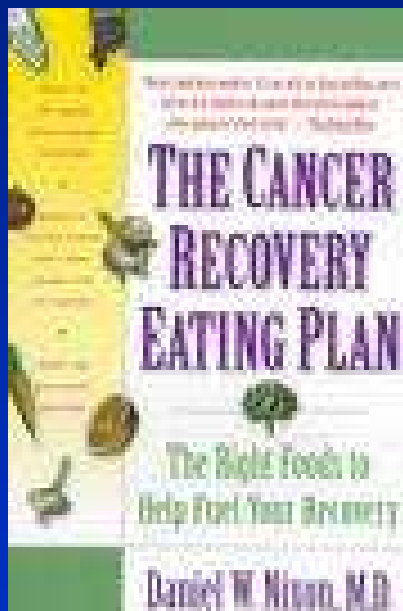
Kyselina arachidonová (20:4, n-6) je zdrojem eikosanoidů (prostaglandiny, leukotrieny) uplatňujících se u různých nádorů.

EPA a DHA (n-3) z rybích olejů inhibují AA metabolismus a mohou potlačovat karcinogenezi u exp. zvířat.

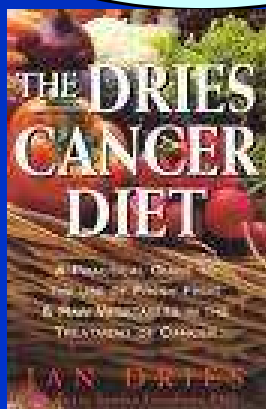
# Výživa – prevence rakoviny

<http://bestsyndication.com/MAINpages/special-features/health/cancer.htm>

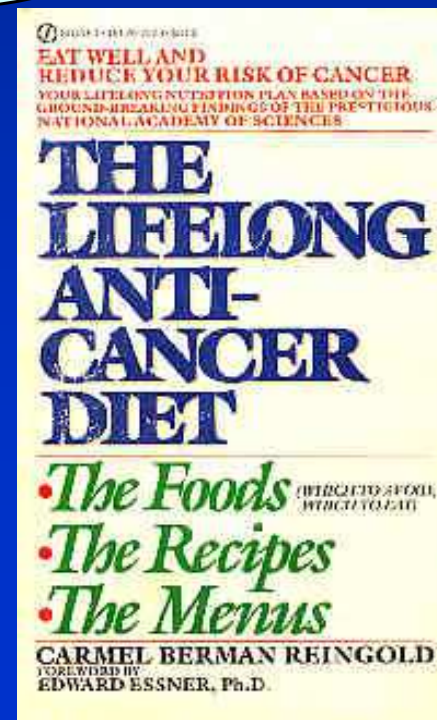
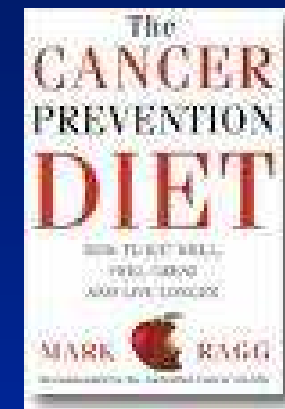
internet



osvěta



publikace



## Rizikové faktory výživy pro hlavní typy nádorů

Typ nádoru	Pravděpodobně		Možná	
	Zvyšuje riziko	Snižuje riziko	Zvyšuje riziko	Snižuje riziko
Tlustého střeva	Červené maso Zpracované maso	Zelenina Vláknina	Alkohol Tuk	Folát
Prsu	Alkohol Červené maso Opečené maso	Zelenina		Ovoce Fyto-estrogeny
Plic			Alkohol Maso	Ovoce a zelenina
Žaludku	Sůl Nakládané a konzervované jídlo	Ovoce a zelenina Vitamín C		Karotenoidy
Prostaty		Vitamín E	(Červené) maso Tuk	Zelenina
Děložního čípku		Ovoce a zelenina Vitamín C		Folát Vitamín A
Jícen	Alkohol	Ovoce a zelenina		
Slinivka břišní			Červené maso	Ovoce a zelenina Vitamín C Vláknina
Krve		Ovoce a zelenina		
Jater	Alkohol			



## Životní styl a další faktory ovlivňující riziko vzniku nádorů

Typ nádoru	Zvýšení rizika	Snížení rizika
Tlustého střeva a rektu	Adenomatózní polypy, zánět střeva, obezita (muži)	Fyzická aktivita
Prsu	Brzká první menstruace, pozdní menopauza, první těhotenství v pozdním věku, vysoký vzrůst, obezita (po menopauze)	Fyzická aktivita
Plic	Kouření, profesní zátěž	Fyzická aktivita
Žaludku	Infekce <i>Helicobacterem pylori</i>	
Děložního čípku	Lidský papillomavirus, kouření	
Dělohy	Expozice estrogenu, obezita	
Jícnu	Kouření, gastro-esophagální reflux (Barrettův jícen)	
Slinivky břišní	Kouření	
Krve	Kouření, profesní zátěž, schistosomální infekce	
Vaječníků		Dlouhodobé užívání orální hormonální antikoncepce

# Rady pro snížení rizika vzniku nádorů

---

## Rady pro snížení rizika vzniku nádorů:

---

Nekuřte

Pravidelně cvičte

Nebuďte sexuálně promiskuitní

Vyvarujte se dlouhému pobytu na přímém slunci

Vyvarujte se rizika hepatitidy B a C

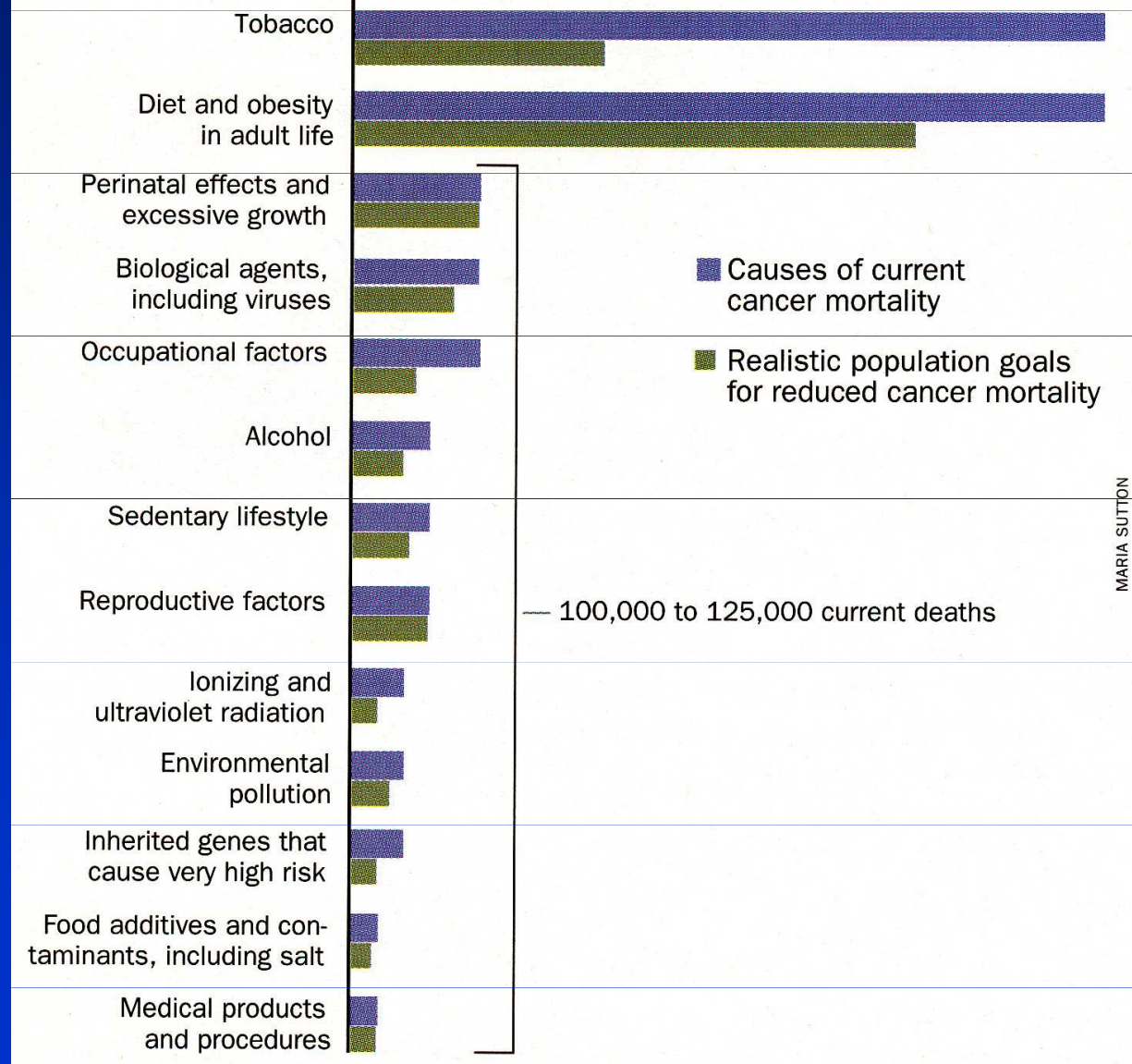
---

# Realistic Goals for Reducing Cancer Mortality

ESTIMATED NUMBER OF DEATHS IN THE U.S. (THOUSANDS PER YEAR)

0 50 100 150

**FACTOR**



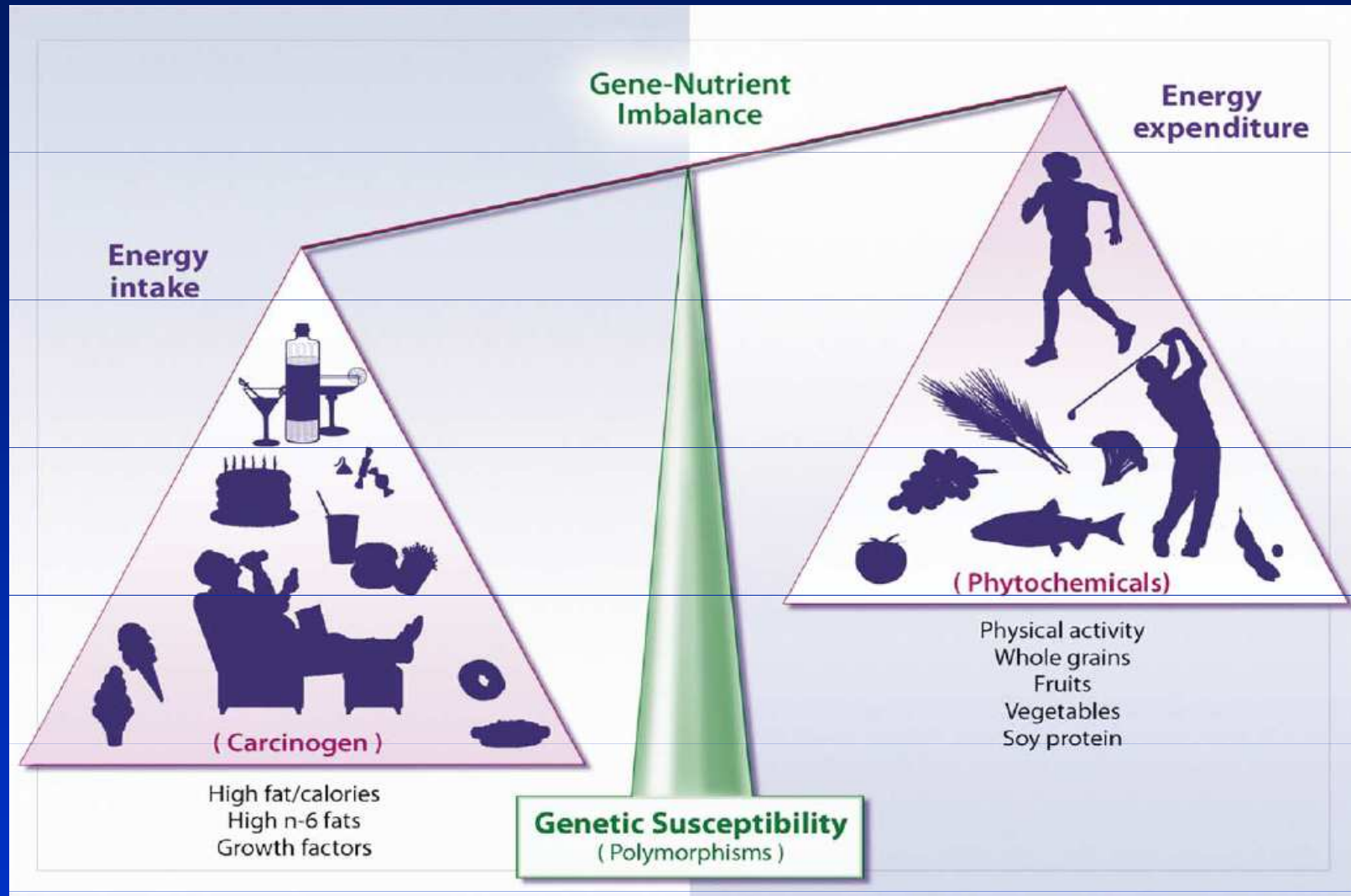
MARIA SUTTON

— 100,000 to 125,000 current deaths

## Složky potravy ovlivňující genetické a epigenetické děje v organismu

Nutrient group	Example
Phytochemicals	Carotenoids, flavonoids, indoles, isothiocyanates, allyl sulfur
Zoochemicals	Conjugated linoleic acid, n-3 fatty acids
Fungochemicals	$\beta$ -glucans, lentinan, schizophyllan, and other compounds in mushrooms
Bacteriochemicals	Equol, butyrate, and other compounds formed from gastrointestinal flora fermentation

# Nerovnováha mezi příjmem a výdejem energie ve vztahu k obezitě a chronickým onemocněním



Genetické polymorfismy posouvají rovnováhu mezi příjmem a výdejem energie. Vyšší příjem energie, nízký poměr nenasycené/nasycené tuky, inzulinová resistence, a sedavý životní styl jsou rizikovými faktory vedoucími k obezitě a chronickým onemocněním (srdeční choroby, diabetes a nádory). To je vyvažováno fyz. aktivitou a dietou bohatou na celá zrna, ovoce, zeleninu, soju atd., která snižuje riziko těchto chorob. (Trujillo E., J Amer Diet Assoc., 106, 2006)

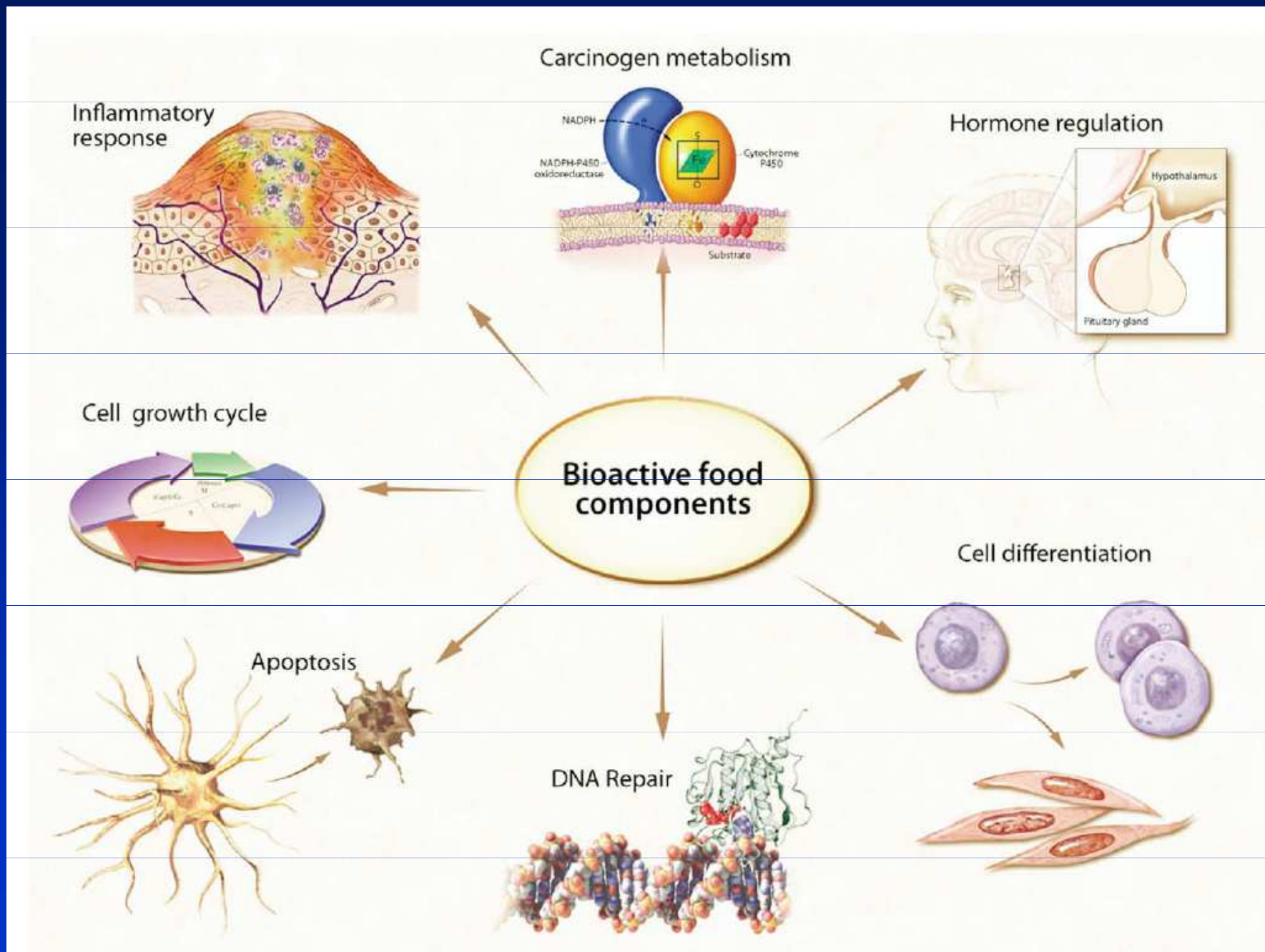


Figure 3. Bioactive food components can influence genetic and epigenetic events associated with a host of disease processes.

**Table I.** Dietary agents shown to induce apoptosis of cancer cells *in vitro* or during chemopreventive intervention

Dietary agent	Major dietary source	Target/mechanism	References
EGCG	Green tea	Activation of Fas	(16)
		Enhancement of TRAIL-induced apoptosis	(20)
		Activation of caspases	(34)
		Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria, inhibition of Bcl-2	(34, 35, 38)
		Reduction in tumor growth and increase in apoptotic markers in mice	(34)
Curcumin	Turmeric	TRAIL-induced apoptosis, activation of caspases	(18)
		Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria	(36)
		Increase in the number of apoptotic tumor cells in mice	(61)
Genistein	Soybean	Degradation of <i>c</i> -FLIP	(24)
		Induced MMP change, caspase-3 activation and PARP cleavage	(29)
		Downregulation of Bcl-2 and Bcl-XL expression, activation of caspase-3	(40)
Indole-3-carbinol	Cruciferous vegetables	Downregulation of Bcl-2, Bcl-xL, IAP, X chromosome-linked IAP and FLIP	(23, 25)
		Downregulation of survivin, IAP1, IAP2, X chromosome-linked IAP, Bcl-2, TNF receptor-associated factor 1 and <i>c</i> -FLIP	(55)
Resveratrol	Grape, red wine	Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria, activation of caspases, induction of p53-dependent transcriptional activation	(15)
		Sensitizes TRAIL-induced apoptosis	(19)
		Decrease in survivin, increase in Smac/DIABLO	(63)
Isothiocyanates	Cruciferous vegetables	Activation of caspases	(39)
		Activation of p53 activity, induction of apoptosis in lung tissues, effect on AP-1 and p53	(52)
Luteolin	Celery, green pepper and peppermint	Sensitizes TRAIL-induced apoptosis	(21)
		Induction of TRAIL, along with Bid cleavage and the activation of caspases	(22)
Lycopene	Tomato	Decrease in the expression of surviving	(56)
		Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria	(33)
Anthocyanins	Pomegranate	Effect on p53, activation of caspases, decrease in PCNA, increase in Bax	(54)
		Bcl-XL downregulation, mitochondrial release of cytochrome <i>c</i> , activation of caspases	(37)
Delphinidin	Pigmented fruits and vegetables such as strawberry and pomegranate	Shift in the ratio of Bax to Bcl-2	(43)
		PARP cleavage, nuclear condensation and fragmentation, induced MMP change	(31)
Lupeol	Mango, olive and grape	Activation of caspases, increase in Bax, decrease in Bcl-2, upregulation of Bid, Bak, downregulation of Bcl-xL, inhibition of UVB-mediated apoptosis in mice	(48)
		Increase in the expression of Fas receptor and FADD, activation of caspases	(14)
Caffeic acid phenethyl ester	Honey	Fas activation, induction of p53, Bax and activation of caspases	(17, 68)
Apigenin	Parsley, celery and lettuce	Activation of caspases and PKCdelta	(41, 64)
Silymarin	Milk thistle	Activation of caspases and PARP cleavage	(42)
Gingerol	Ginger	Decrease in the apoptotic sunburn cells, increase in p53, p21	(67)
		Induced MMP change, release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria, downregulation of Bcl-2 and enhancement of Bax	(47)
Capsaicin	Red pepper	Dissipation of the mitochondrial inner transmembrane potential, activation of caspase-3, induced apoptosis of prostate tumor cells in nude mice	(30)
		Increase in protein expression of p53, p21 and Bax	(46)
Organosulfur compounds	Garlic and onion	Induction of p53, Bax and downregulation of Bcl-2, cytochrome <i>c</i> release, activation of caspases	(49)

This list provides selected examples.

**GENOMICS + PROTEOMICS = CYTOMICS**

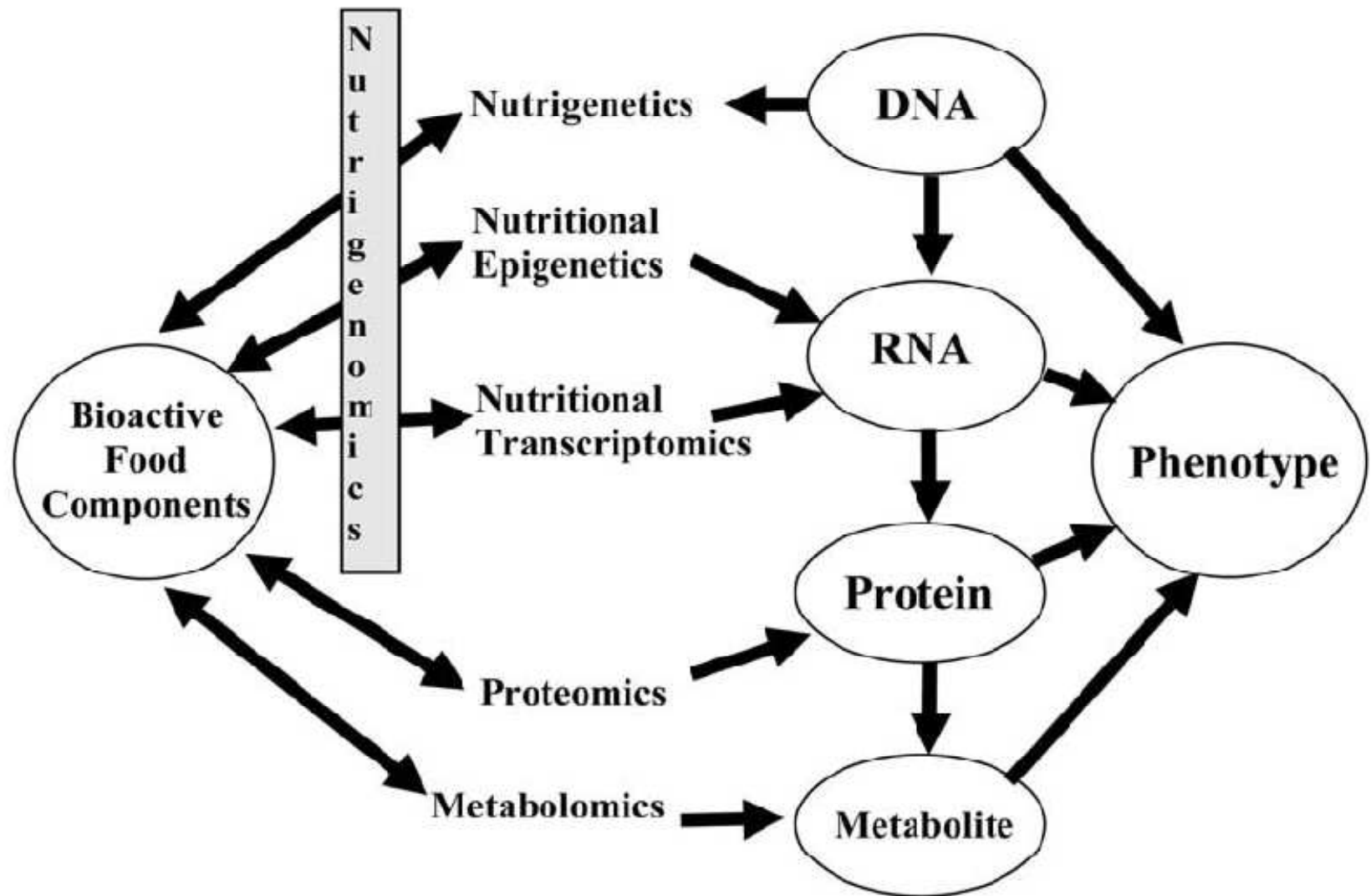
**METABOLOMICS**

**LIPIDOMICS**

vědecké směry od mapování vnitřního spektra lipidů v biologických systémech k popisu funkce a metabolismu jednotlivých lipidů.

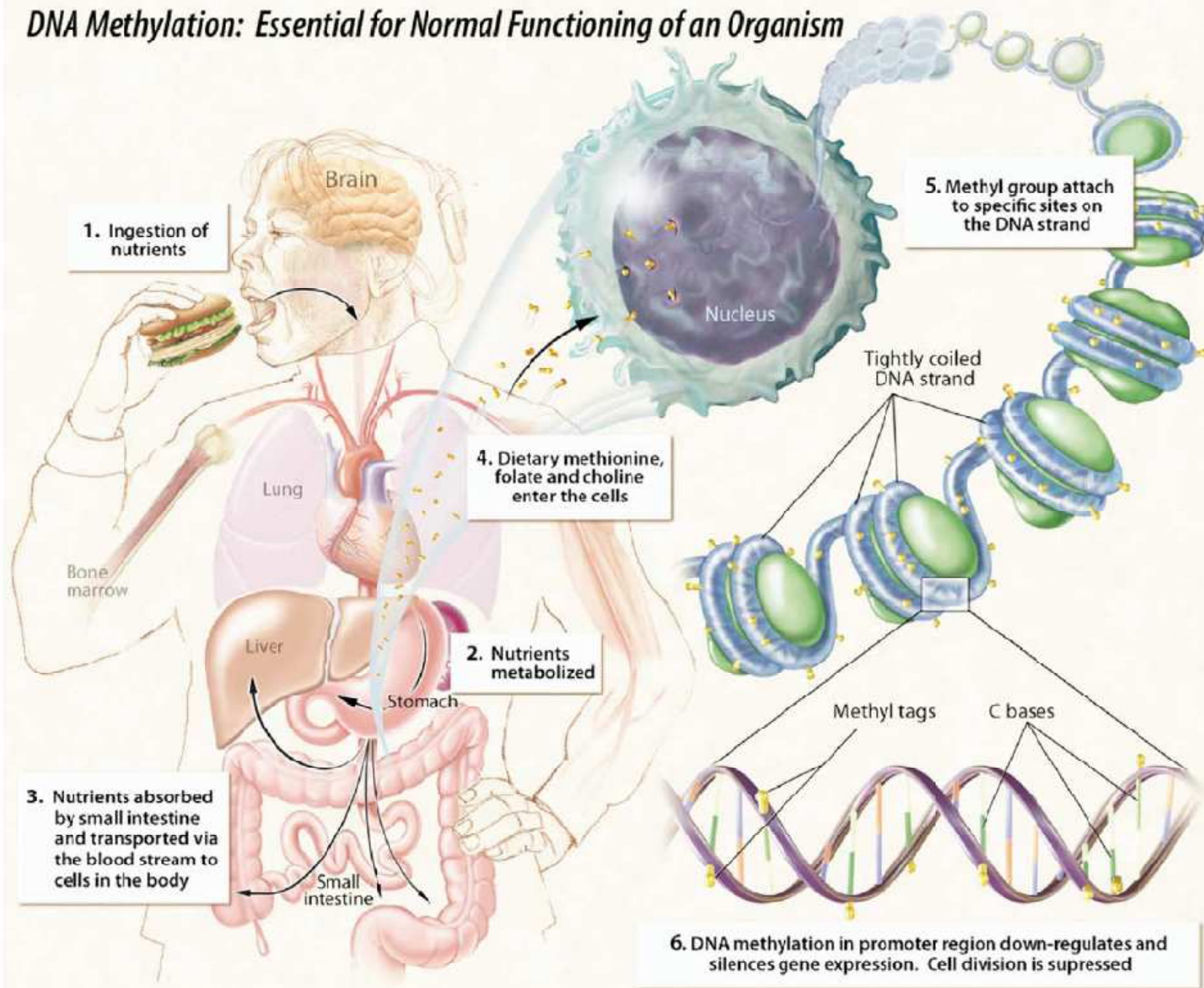


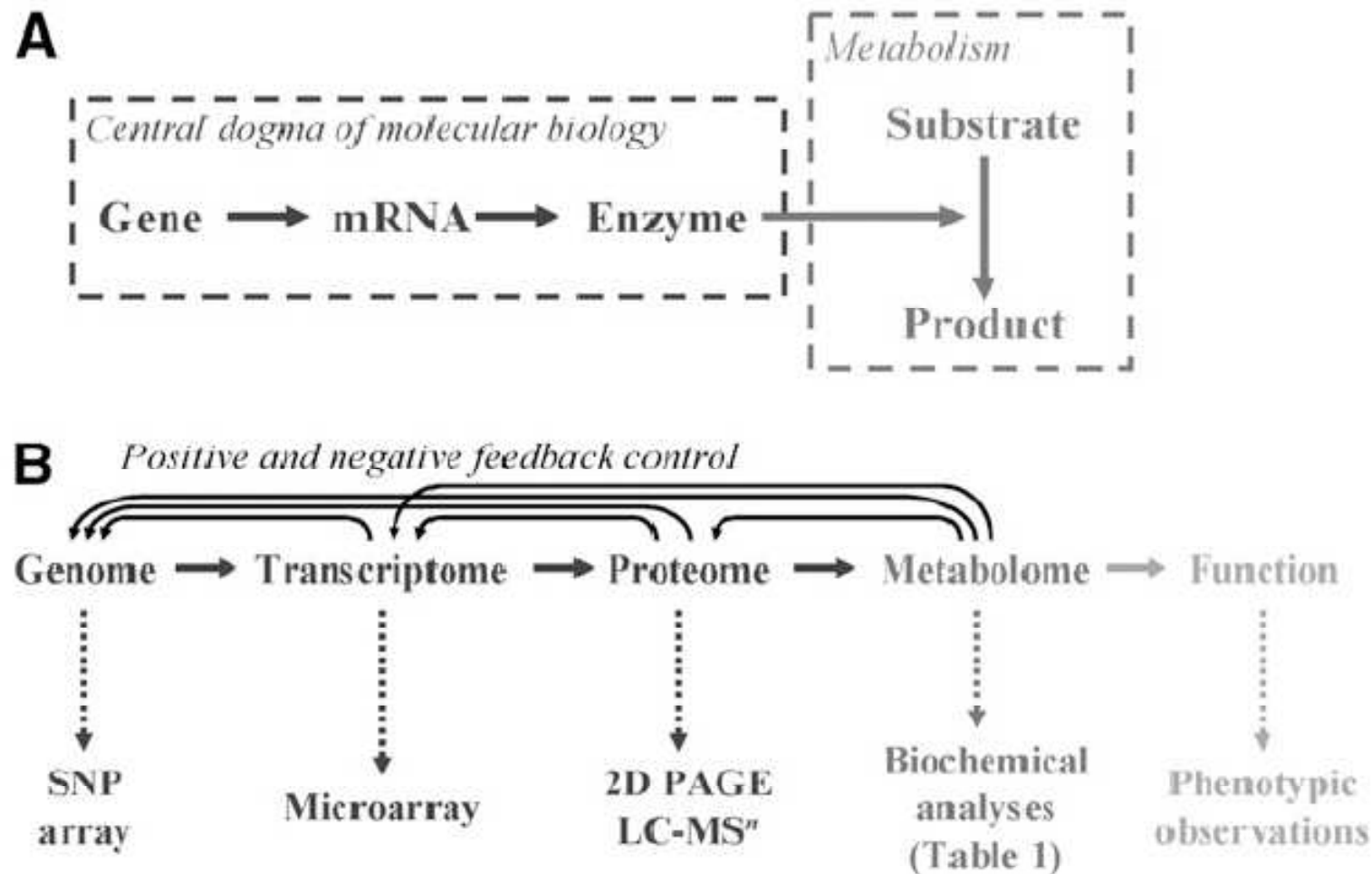
# OMICS, farmakogenomika, nutrigenomika



Using the “omics” of nutrition to identify how dietary factors contribute to establishing a phenotype.

## DNA Methylation: Essential for Normal Functioning of an Organism





**Figure 1** (A) Traditional central dogma of molecular biology where the flow of information goes from gene to transcript to protein; also shown are sites where enzymes act on metabolism. (B) General schematic of the 'omic organization where the flow of information is from genes to transcripts to proteins to metabolites to function (or phenotype).

# TYPY STUDIÍ ÚLOHY RŮZNÝCH FAKTORŮ V ETIOLOGII ONEMOCNĚNÍ

## *ETIOLOGIE – studium původu a příčin nemoci*

- ▶ **experimentální studie *in vitro*** – cílené studie na úrovni buněčné a molekulární (buněčné kultury, moderní metody molekulární biologie)
- ▶ **experimentální studie *in vivo*** – cílené studie na laboratorních zvířatech
- ▶ **klinické studie** – cílené studie na pacientech i na zdravých jedincích, retrospektivní studie
- ▶ **epidemiologické studie** – údaje z vybraných populací, vztahy mezi životním stylem a výskytem onemocnění
- ▶ **migrační studie** - důležité pro výzkum podílu dědičných faktorů a faktorů prostředí

## LIPIDY (*lipos*, tuk)

Látky biologického původu rozpustné v org. rozpouštědlech, částečně rozpustné nebo nerozpustné ve vodě.

Tuky, oleje, některé vitamíny, hormony a nebílkovinné složky membrán.

Zatímco proteiny jsou geneticky determinovány, složení lipidů v organismu je ovlivňováno příjmem z potravy

Mastné kyseliny – karboxylové kyseliny s dlouhými uhlovodíkovými řetězci.

V přírodě většinou v esterifikované formě.

Ve vyšších rostlinách a živočiších převládají MK s 16 a 18 C (palmitová, olejová, linolová, stearová)

Více než polovina rostlinných a živočišných MK jsou nenasycené

# Zdroje tuků

živočišné a rostlinné

## Mastné kyseliny

▶ s krátkým řetězcem – 6-12 C (SCFA)

kys. máselná, propionová

▶ nasycené – 12 a více C

kys. palmitová, stearová

▶ mononenasycené – 16 a 18 C, 1 dvojná vazba

kys. palmitoolejová, olejová

▶ polynenasycené (PUFA) – 18 a více C, 2 a více dvojných vazeb

kys linoleová, alfa-linolenová – esenciální MK

# LIPIDOVÉ SLOŽKY VÝŽIVY

## VÍCE, NEŽLI JEN ZDROJ ENERGIE!!!!

- ◆ **strukturální a regulační úloha**
- ◆ **dopad na fyziologické funkce organismu**
  - ▶ **účinky na imunitní systém**
  - ▶ **regulace proliferace, diferenciaci a apoptózy**
  
  - ▶ **úloha v karcinogenezi**

(etiologie nádorů tlustého střeva, prostaty, prsu)

**Kromě nutričního účinku hrají lipidy strukturální a regulační úlohu s významným dopadem na fyziologické funkce organismu a představují tedy mnohem více, nežli jenom zdroj energie.**

**Spolu s cytokiny a hormony fungují jako intra- i intercelulární mediátory a modulátory buněčné signalizační sítě**

**Poměr obsahu  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3 esenciálních vysoce nenasycených mastných kyselin (VNMK) ovlivňuje**

**vlastnosti membrán, zejména jejich fluiditu a produkci látek vznikajících hydrolýzou membránových fosfolipidů.**

**Tyto změny pak ovlivňují vazbu cytokinů, aktivitu receptorů i funkci na membránu vázaných signálních molekul (G proteinů, fosfolipáz atd.).**



# Imbalance v lipidovém metabolismu hraje roli u mnoha závažných onemocnění

Vysoká hladina cholesterolu je spojena s kardiovaskulárními chorobami, které jsou nejčastější příčinou úmrtí v populaci.

Lipidy produkované buňkami imunitního systému jsou zahrnuty v zánětlivých onemocněních jako je revmatoidní artritida, sepse, astma, zánětlivé onemocnění střeva.

Lipidy hrají úlohu také v Alzheimerově nemoci a nádorových onemocněních.

**ZDRAVÍ - VÝŽIVA – LIPIDY**

# Relativní procento různých mastných kyselin v potravě a změny způsobené průmyslovým zpracováním potravin

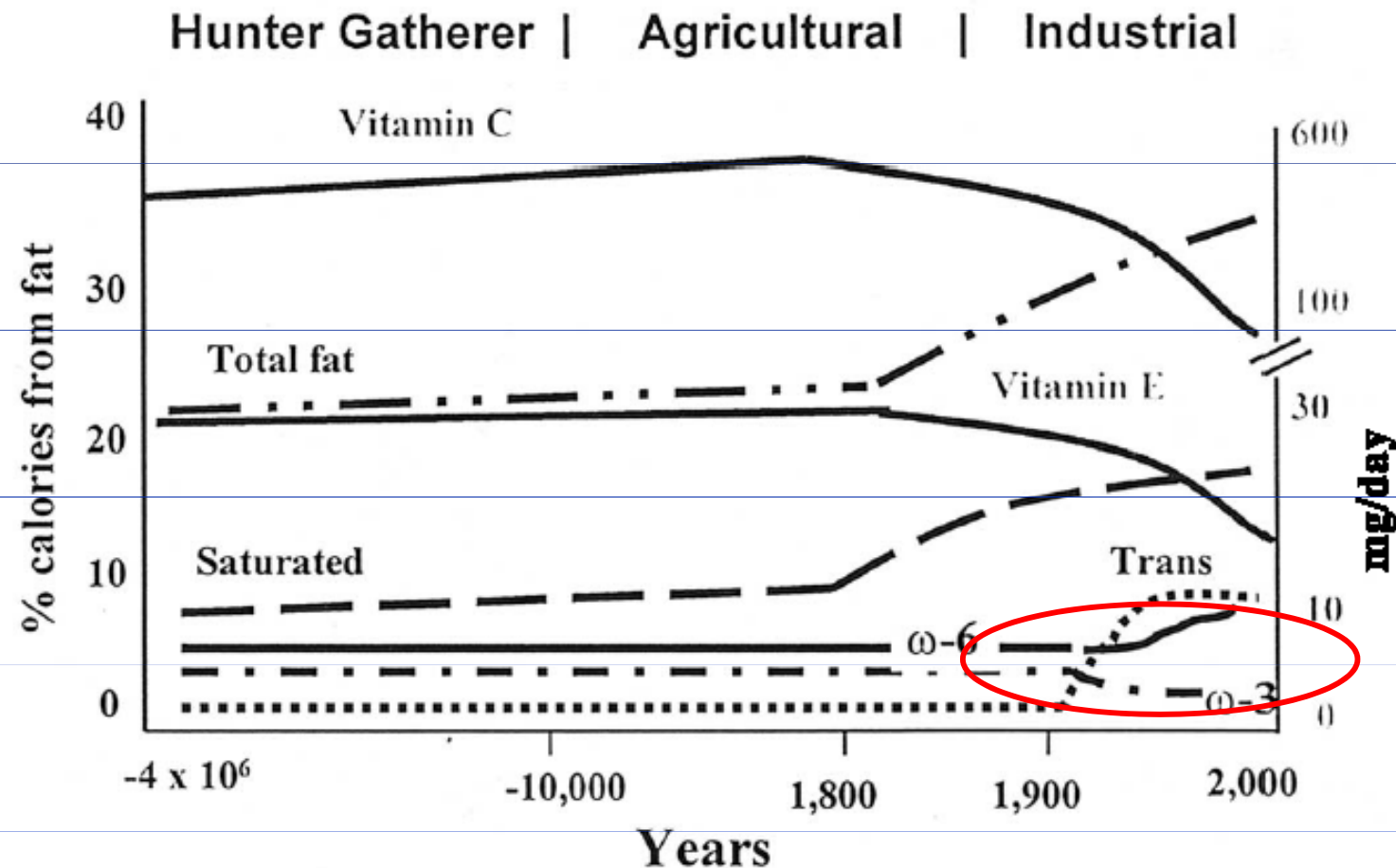


Fig. 1. Hypothetical scheme of fat, fatty acid ( $\omega 6$ ,  $\omega 3$ , *trans* and total) intake (as percentage of calories from fat) and intake of vitamins E and C (mg/d). Data were extrapolated from cross-sectional analyses of contemporary hunter-gatherer populations and from longitudinal observations and their putative changes during the preceding 100 years [75].

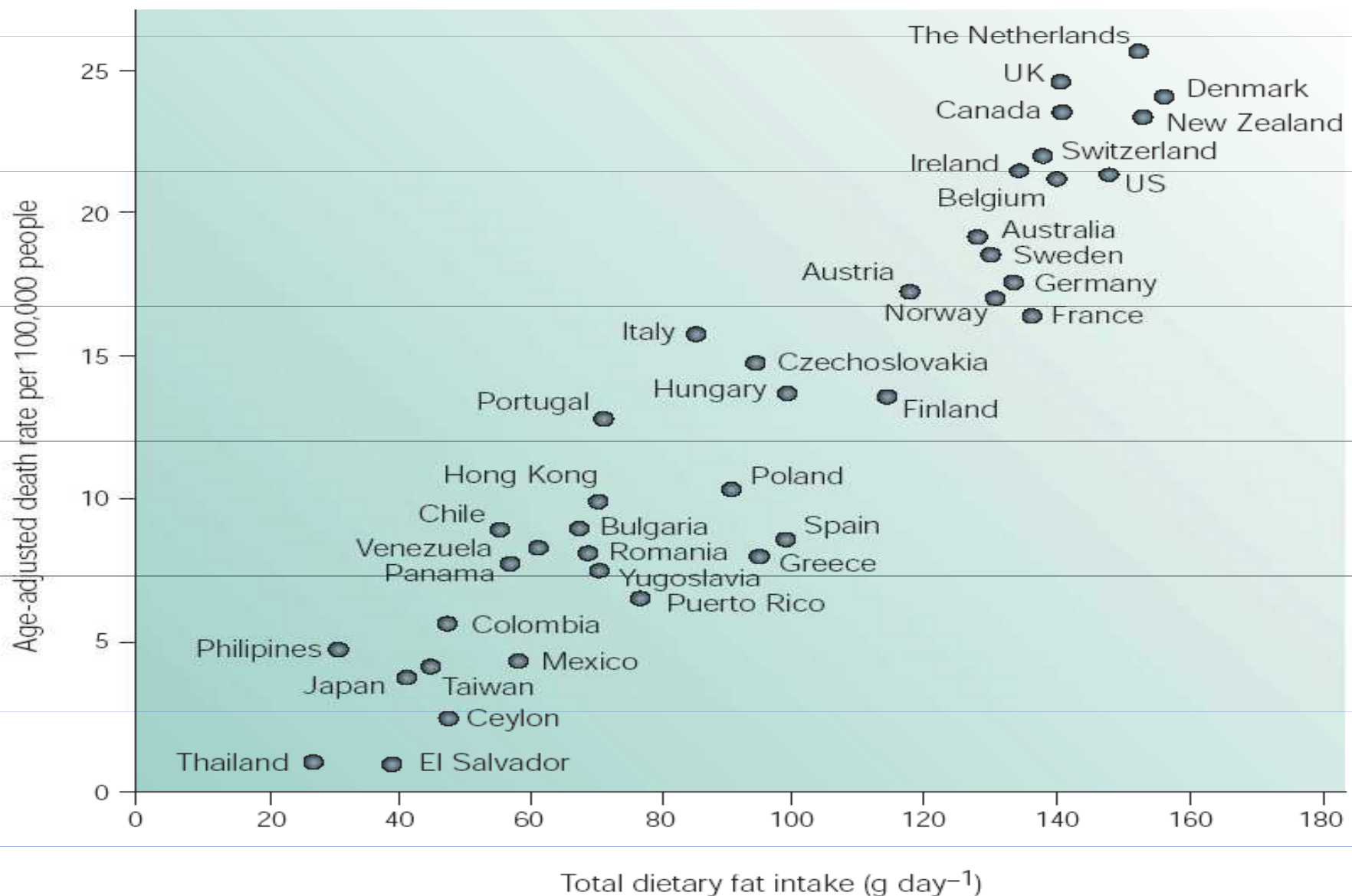


Figure 3 | **Association between fat intake and breast cancer.** Comparison of age-standardized death rates of breast cancer with fat intake, from national food-consumption data for various countries. The x axis indicates the total dietary fat intake (g/day), and the y axis indicates the age-adjusted death rate, per 100,000 people. Breast cancer incidence was strongly correlated with average dietary fat intake. Data from Ref. 6.

# Mastná kyselina

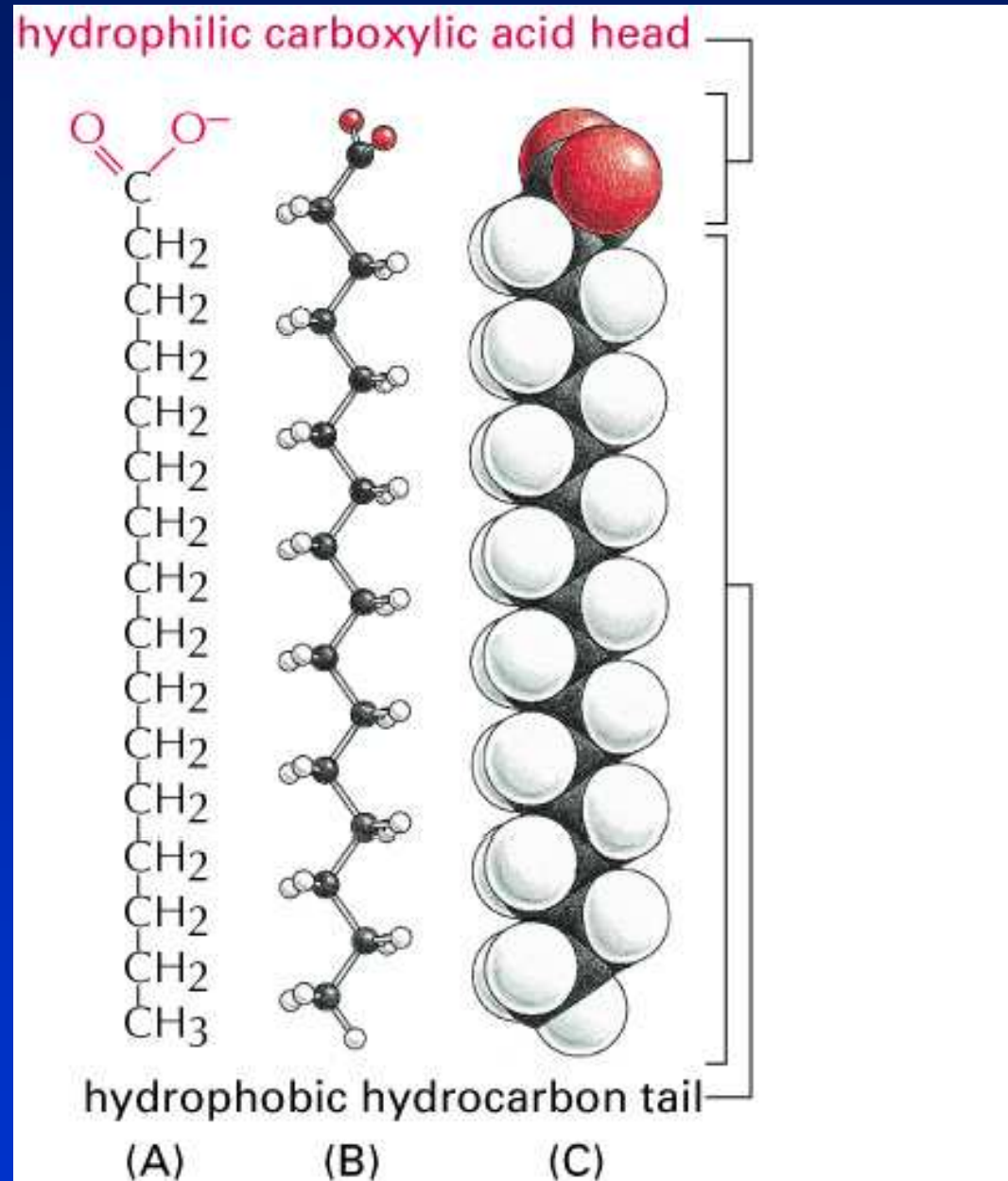


Figure 2-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

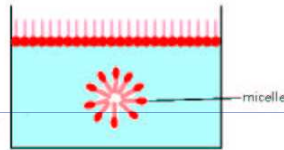


### LIPID AGGREGATES

Fatty acids have a hydrophilic head and a hydrophobic tail.



In water they can form a surface film or form small micelles.



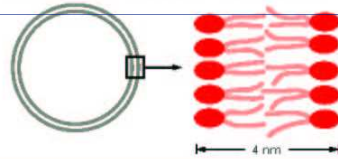
Their derivatives can form larger aggregates held together by hydrophobic forces:

**Triglycerides** can form large spherical fat droplets in the cell cytoplasm.



200 nm or more

**Phospholipids** and **glycolipids** form self-sealing lipid bilayers that are the basis for all cell membranes.



### POLYISOPRENOIDS

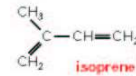
long-chain polymers of isoprene



**dolichol phosphate**—used to carry activated sugars in the membrane-associated synthesis of glycoproteins and some polysaccharides

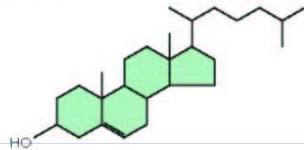
### OTHER LIPIDS

Lipids are defined as the water-insoluble molecules in cells that are soluble in organic solvents. Two other common types of lipids are steroids and polyisoprenoids. Both are made from isoprene units.

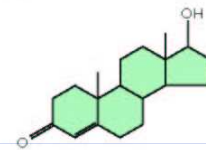


### STERIODS

Steroids have a common multiple-ring structure.



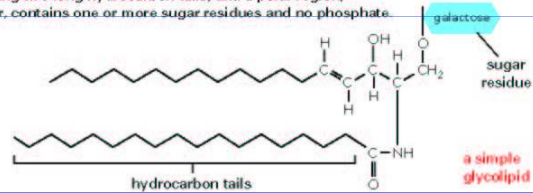
**cholesterol**—found in many membranes



**testosterone**—male steroid hormone

### GLYCOLIPIDS

Like phospholipids, these compounds are composed of a hydrophobic region, containing two long hydrocarbon tails, and a polar region, which, however, contains one or more sugar residues and no phosphate.



a simple glycolipid

## Phospholipid structure and the orientation of phospholipids in membrane

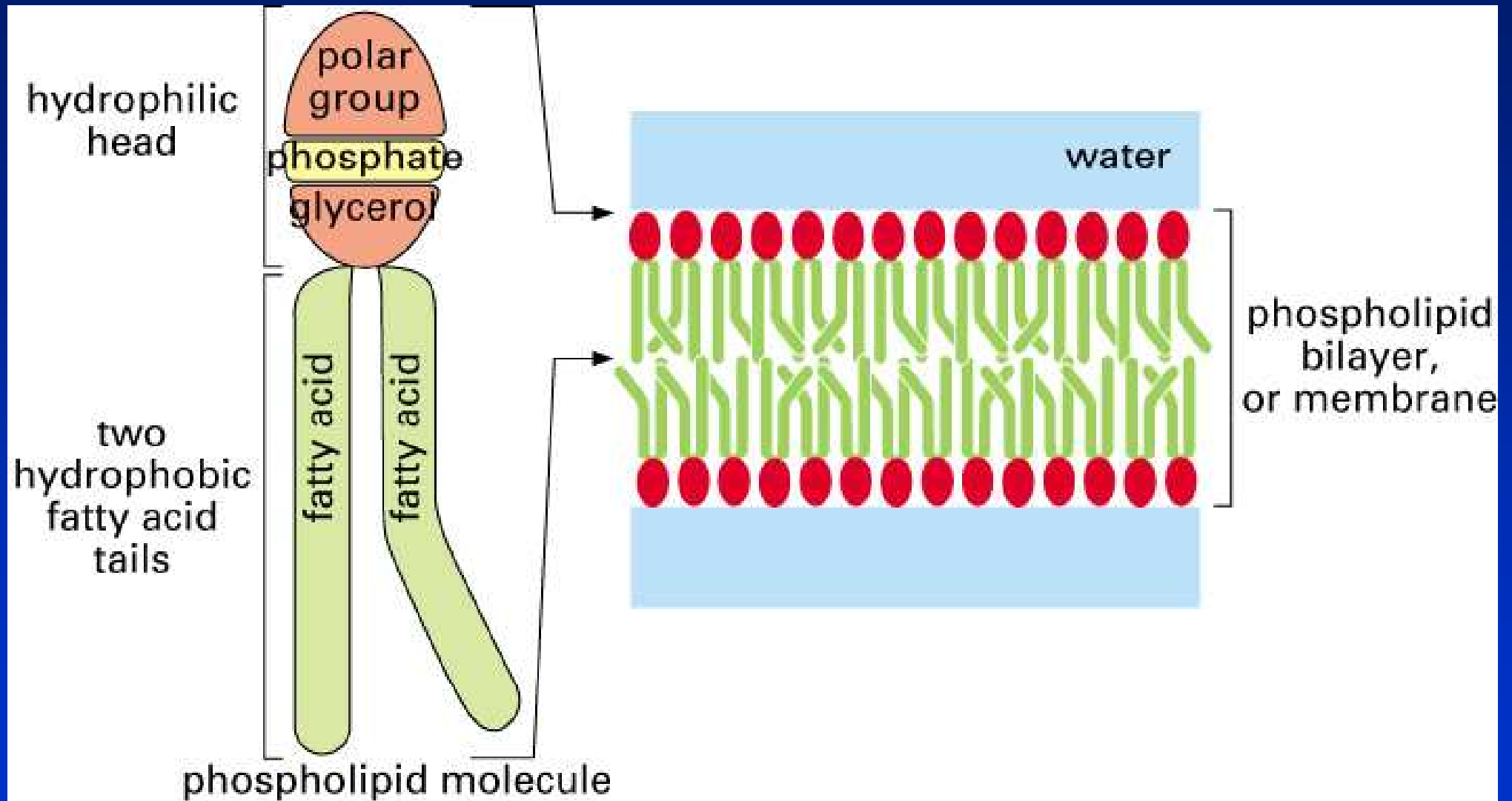


Figure 2-22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

## VYSOCE NENASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY

(Polyunsaturated fatty acids - PUFAs) - mastné kyseliny s 2 i více dvojnými vazbami. Jsou tři hlavní skupiny PUFAs: n-3 (omega-3), n-6 a n-9, podle polohy dvojných vazeb nejbližší ke koncovému metylovanému uhlíku. Tyto jsou metabolizovány stejným způsobem alternativními desaturačními a elongačními enzymy.

### NOMENKLATURA:

Např. kyselina arachidonová, 20:4, n-6

20 - počet uhlíků

4 - počet konjugovaných dvojných vazeb

n-6 - poloha první dvojných vazeb od metylovaného konce molekuly

Téměř všechny dvojných vazeb jsou ve víceméně stabilní cis - konfiguraci.

Živočiškové nedovedou syntetizovat n-3 a n-6 PUFAs de novo ani nedovedou přeměnit jednu sérii v druhou. Tyto PUFAs jsou životně důležité jako složka všech membrán a permeabilní bariéry pokožky a jako prekursory eikosanoidů a s nimi souvisejících látek, které hrají důležitou regulační úlohu ve tkáních.

Protože nemohou být de novo syntetizovány a jsou tak důležité jsou nazývány

ESENCIÁLNÍ MASTNÉ KYSELINY a musí být obsaženy v potravě podobně jako vitamíny.

Zdrojem jsou rostlinné tuky (n-6 PUFA) a rybí tuk (n-3 PUFA)



# Důležitý je poměr n-3: n-6 VNMK!!!

## Kys. linolová (18:2, $\omega$ -6)

kyselina arachidonová (AA, 20:4), rostlinné oleje  
zdroj eikosanoidů (prostaglandiny, leukotrieny) význam u  
různých nádorů.

V experimentálních systémech často podpůrný účinek pro  
vznik a rozvoj nádorů

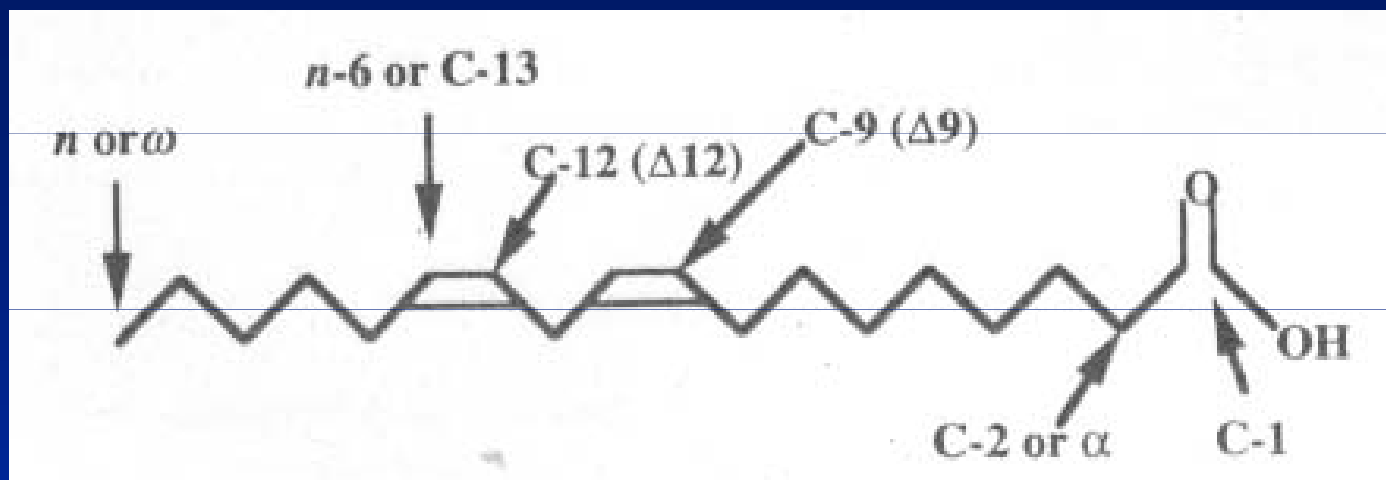
## Kys. alfa-linolenová (18:3, $\omega$ -3)

kys. eikosapentaenová (20:5) a dokosahexaenová (22:6)  
z rybích a některých rostl. olejů (pupalka, len, rakytník)

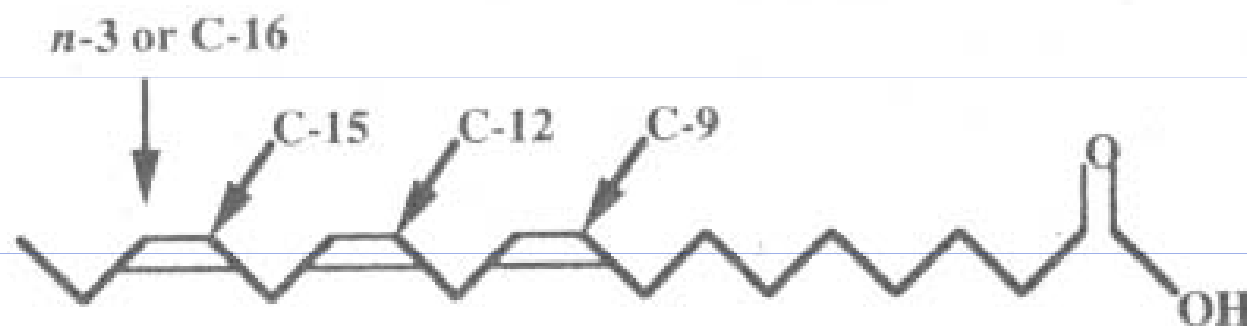
V experimentálních systémech často inhibiční účinek pro  
vznik a rozvoj nádorů



## Struktura výchozích esenciálních mastných kyselin linoleové a $\alpha$ -linolenové



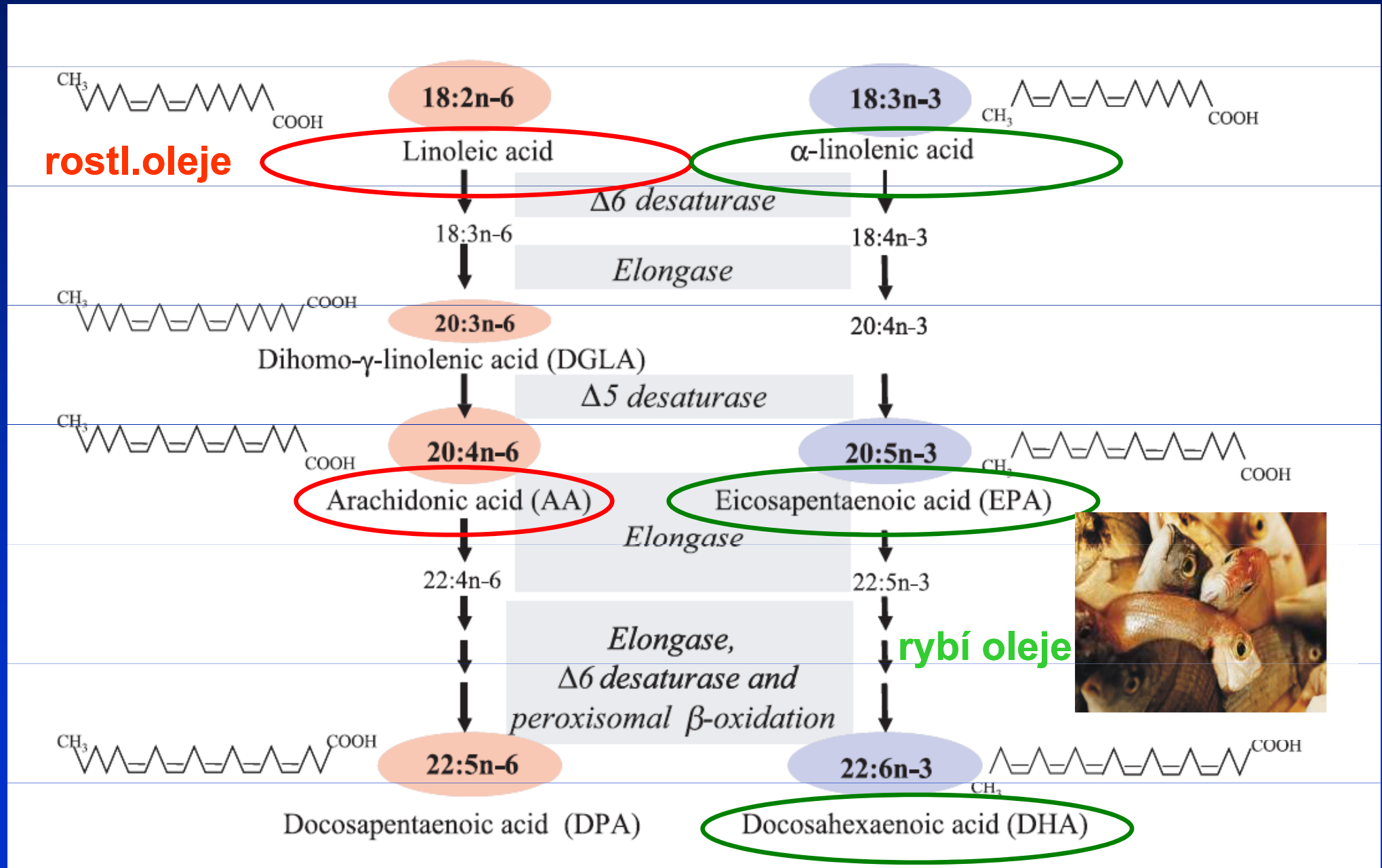
Linoleic Acid (18 carbons : 2 double bonds,  $n-6$ )



$\alpha$ -Linolenic Acid (18:3,  $n-3$ )

# VYSOCE NENASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY (VNMK)

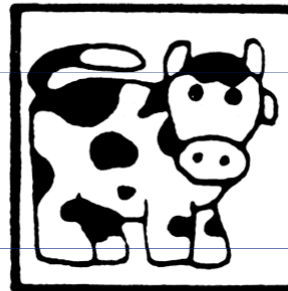
(Polyunsaturated fatty acids - PUFAs) - mastné kyseliny s 2 i více dvojnými vazbami. Esenciální prekurzorové kyseliny řady  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3



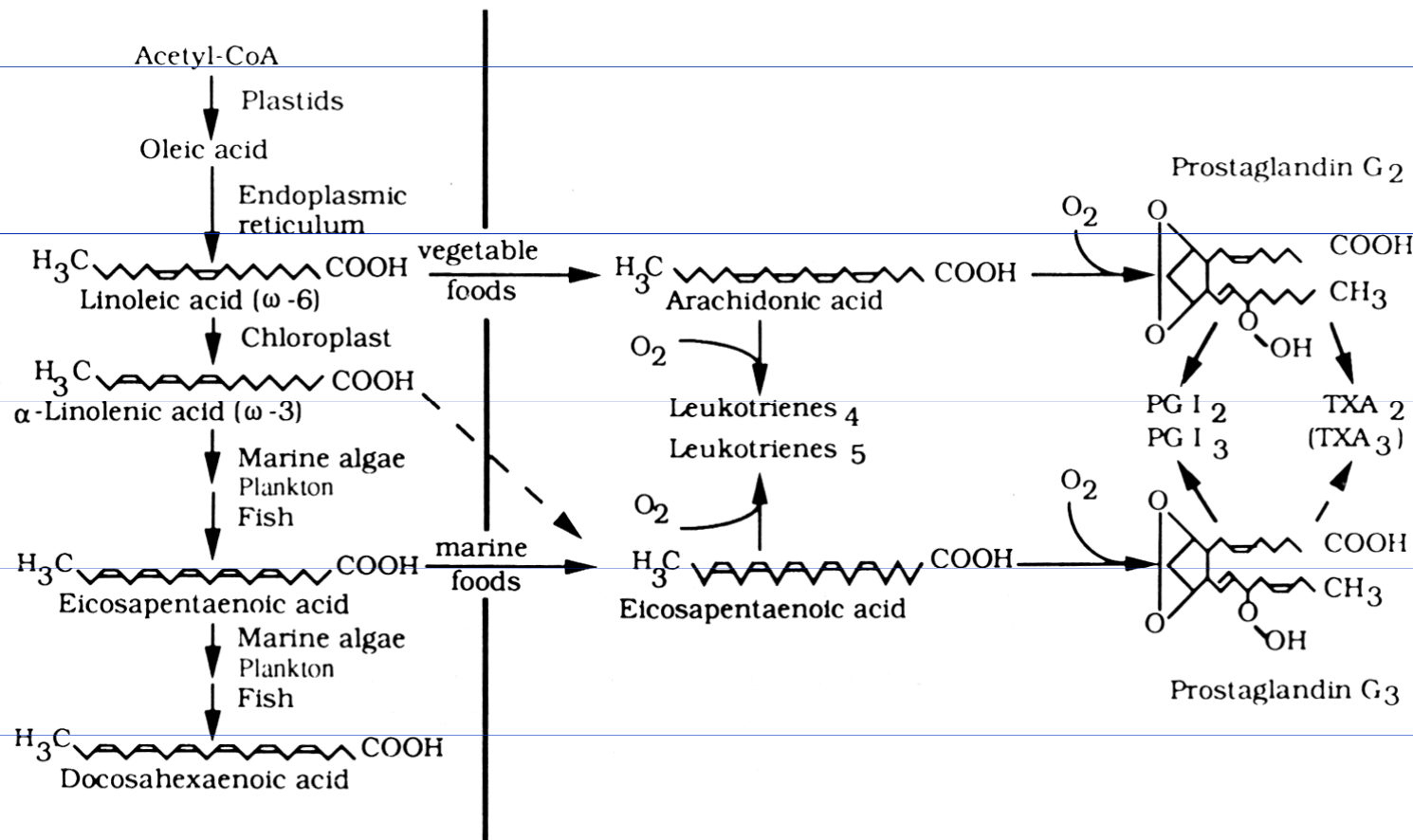
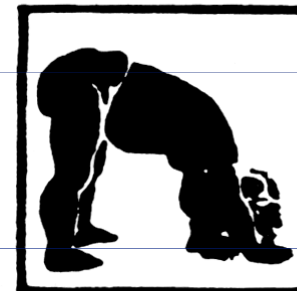
# Původ n-3 and n-6 nenasycených mastných kyselin, biosyntéza eikosanoidů z kys. arachidonové a eikosapentaenové



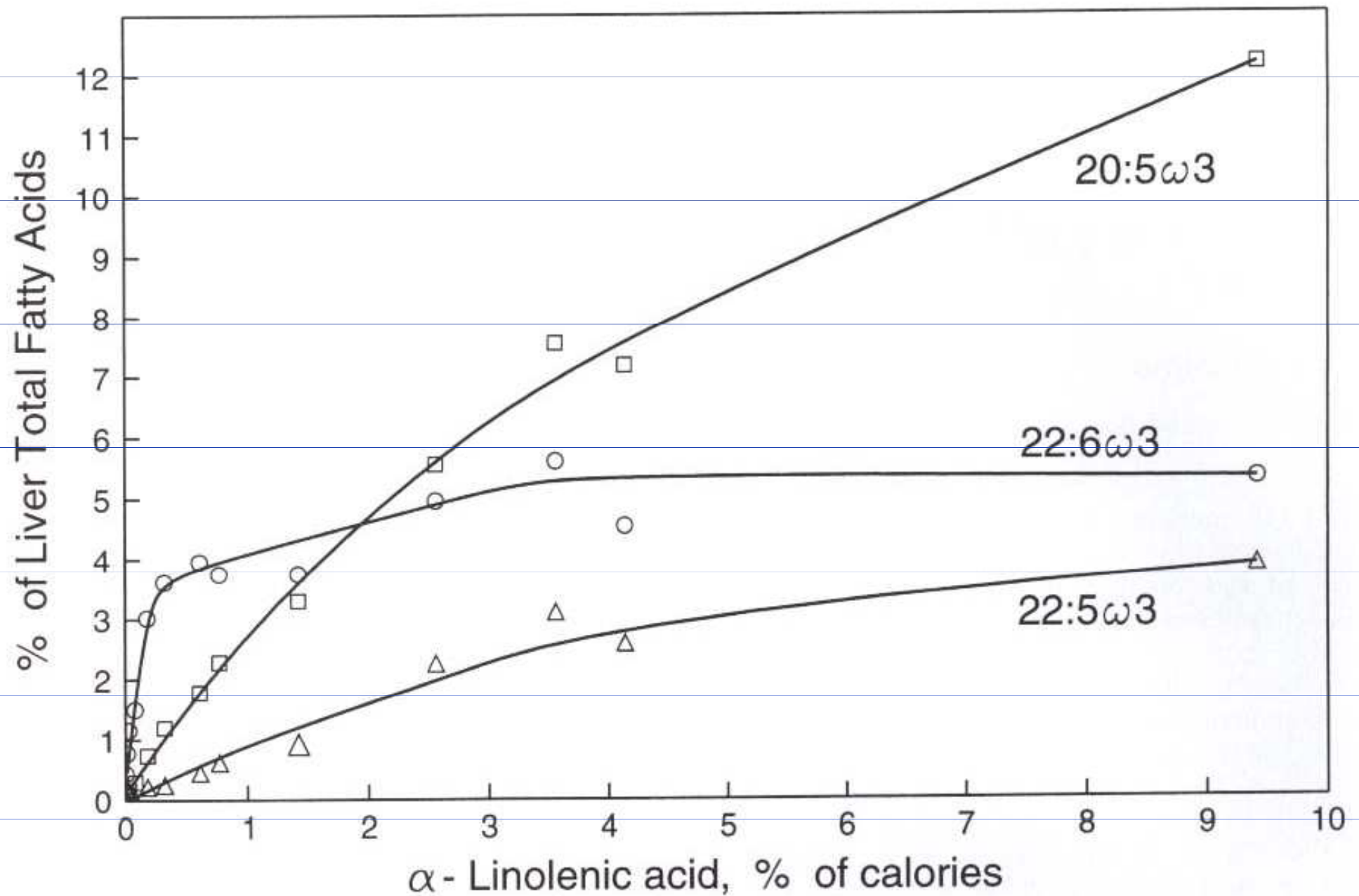
PLANT METABOLISM



MAMMALIAN METABOLISM



# Účinky dietetické hladiny alfa-linolenové kyseliny na obsah jejích metabolitů v jaterních lipidech



## PREVENCE

**Epidemiologické studie** – snížená incidence nádorů (kolonu) v populacích konzumujících velké množství  $\omega$ -3 VNMK z mořské stravy

### **Experimentální studie**

- $\omega$ -3 VNMK inhibují karcinogeny-indukovanou karcinogenezi
- redukují růst transplantovaných nádorů u laboratorních zvířat
- snižují proliferaci a indukují apoptózu u nádorových buněk kolonu *in vitro*.

**Klinické studie** – EPA a DHA inhibují proliferaci epiteliálních buněk kolonu u pacientů s adenomy a vysokým rizikem nádorového onemocnění

## TERAPIE

Při **chirurgických zákrocích** předoperační perorální nebo pooperační enterální či parenterální dieta s  $\omega$ -3 VNMK zlepšuje postoperační zánětlivou a imunitní odpověď a snižuje infekci.

Dieta s  $\omega$ -3 VNMK zlepšuje **nádorovou kachexii a kvalitu života**

**Kombinace se standartní terapií** (chemoterapie, záření)

- dieta s  $\omega$ -3 VNMK netoxický způsob zvýšení účinků terapie
- samotné použití  $\omega$ -3 VNMK užitečný přístup, jestliže je vyloučena toxická standartní terapie.

# Prokázány změny ve složení a metabolismu lipidů!!!!

- ▶ v plazmě nádorových pacientů
- ▶ v nádorové tkáni a buňkách ve srovnání s nenádorovými

Zejména snížení obsahu  $\omega$ -3 VNMK (DHA) ve srovnání s  $\omega$ -6 (kys. linolová a arachidonová)

Integrovaný pohled na komplexní lipidové interakce, které určují výsledný tzv. LIPIDOM – lipidový profil jednotlivce.

S protekcí určitých typů nádorů (např. prsu) spojen složený indikátor kombinující zvýšené mononenasyčené MK a nízký poměr omega6/omega 3. Tento lipidom by se mohl stát templátem pro detekci rizika nádorů prsu ve vztahu k dietě.

(Bougnoux P. et al, Diet, Cancer and Lipidome  
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15, 2006)

Patologické změny v produkci a funkci cytokinů a eikosanoidů přispívají k rozvoji nádorových onemocnění zejména ovlivněním imunitního systému a buněčné kinetiky

Metabolismus a obrat fosfolipidů v membránách i oxidativní metabolismus nádorových buněk se zásadně liší od buněk nenádorových.

Nádorové buňky kolonu vykazují:

- ◆ změny ve spektru a koncentraci VNMK ve srovnání s normální tkání
- ◆ zvýšenou periferní utilizaci VNMK z potravy
- ◆ změny v oxidativním metabolismu a antioxidační ochraně
- ◆ zvýšenou aktivitu enzymů metabolismu kys. arachidonové (COX2, 12-LPO...) a produkci eikosanoidů
- ◆ sníženou citlivost k endogenním inhibitorům růstu (TGF- $\beta$ 1), induktorům apoptózy (TNF $\alpha$ , FasL, TRAIL) a diferenciaci (butyrát)



# MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY působení $\omega$ -3 VNMK

- ▶ změny vlastností buněčných membrán (fluidita, lipidové rafty)
- ▶ suprese biosyntézy eikosanoidů odvozených od AA – změna imunitní odpovědi a modulace zánětu, proliferace, apoptózy, tvorby metastáz a angiogeneze
- ▶ ovlivnění signálové transdukce, aktivity transkripčních faktorů (NF $\kappa$ B, PPAR $\gamma$ ) a genové exprese – změny metabolismu, buněčného růstu a diferenciaci
- ▶ změny metabolismu estrogenů – redukce estrogeny stimulovaného růstu
- ▶ zvýšená nebo snížená produkce volných radikálů (kyslíku, dusíku)
- ▶ mechanismy zahrnující citlivost k insulinu

# Složky lipidového metabolismu v buněčných signalizacích

## Mediátory a modulátory

Biofyzikální vlastnosti membrán

Lipidový metabolismus

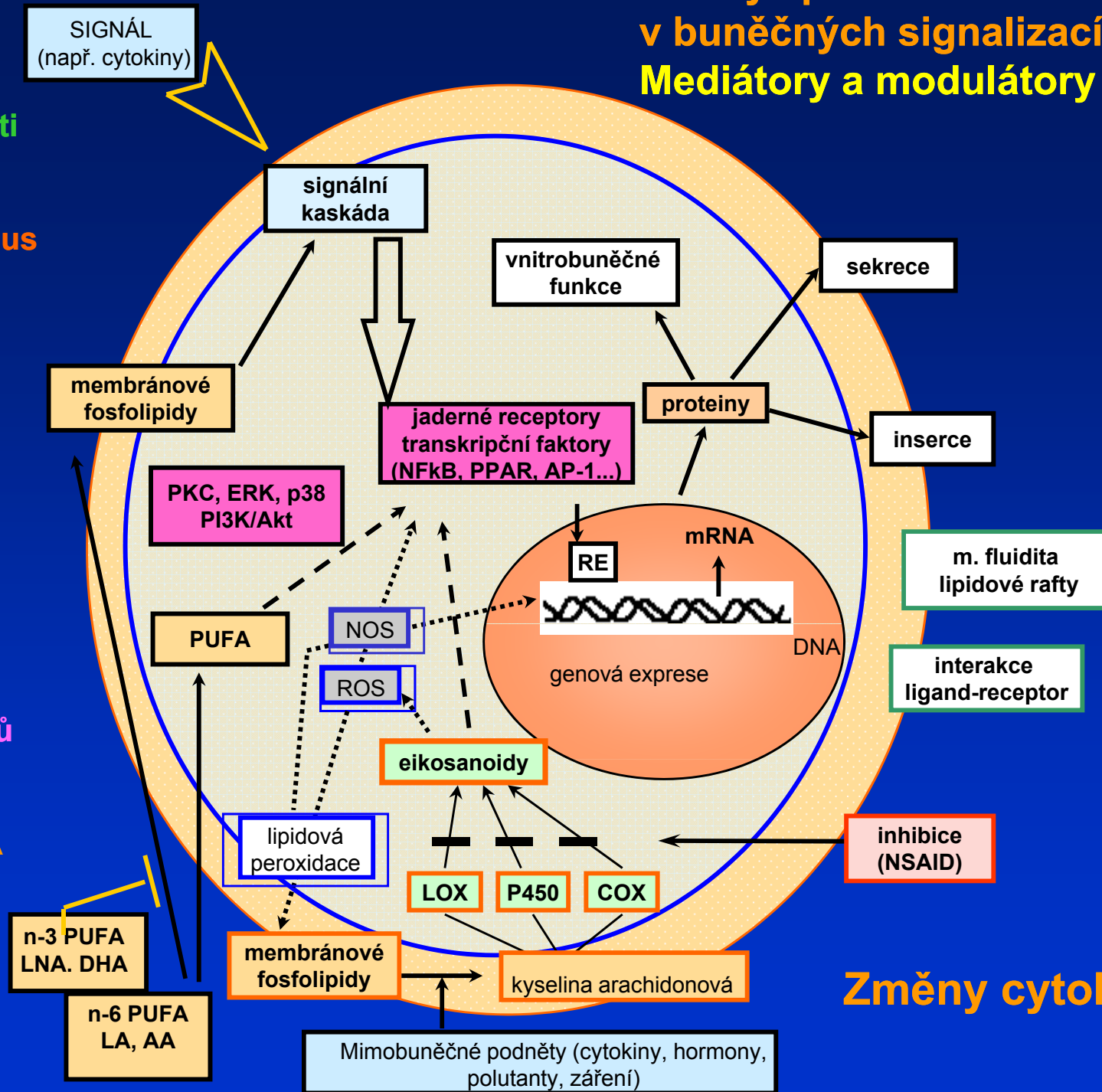
Aktivace fosfolipáz  
Uvolňování a metabolizace AA  
eikosanoidy

Oxidativní metabolismus

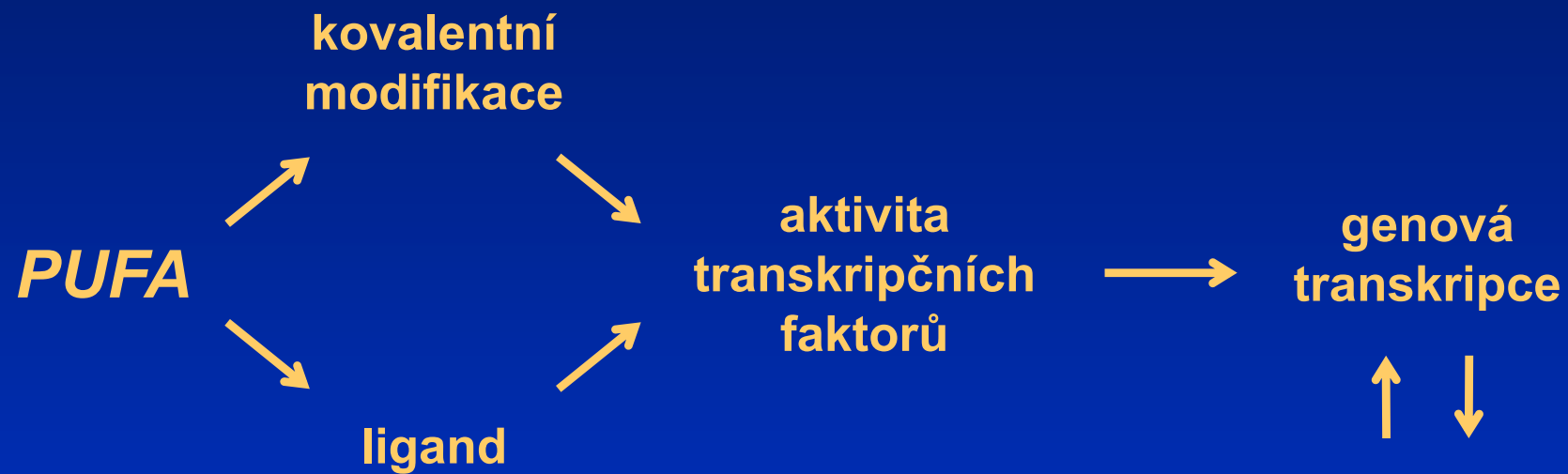
Transdukce signálů

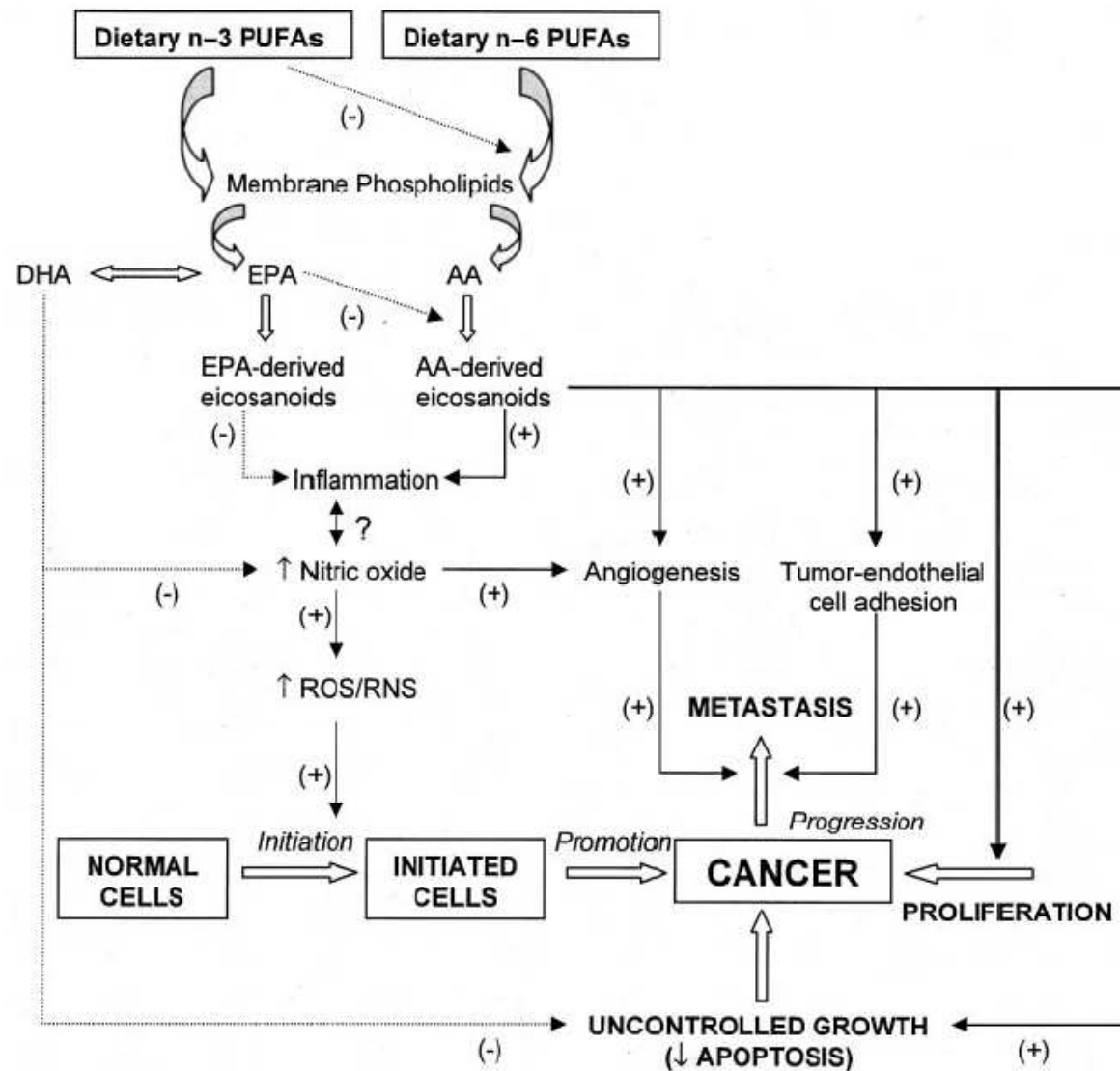
(kinázy, fosfatázy)  
Aktivace membrán. i vnitrobun.  
receptorů – tr. faktorů

Expese proteinů  
Expese genů - mRNA



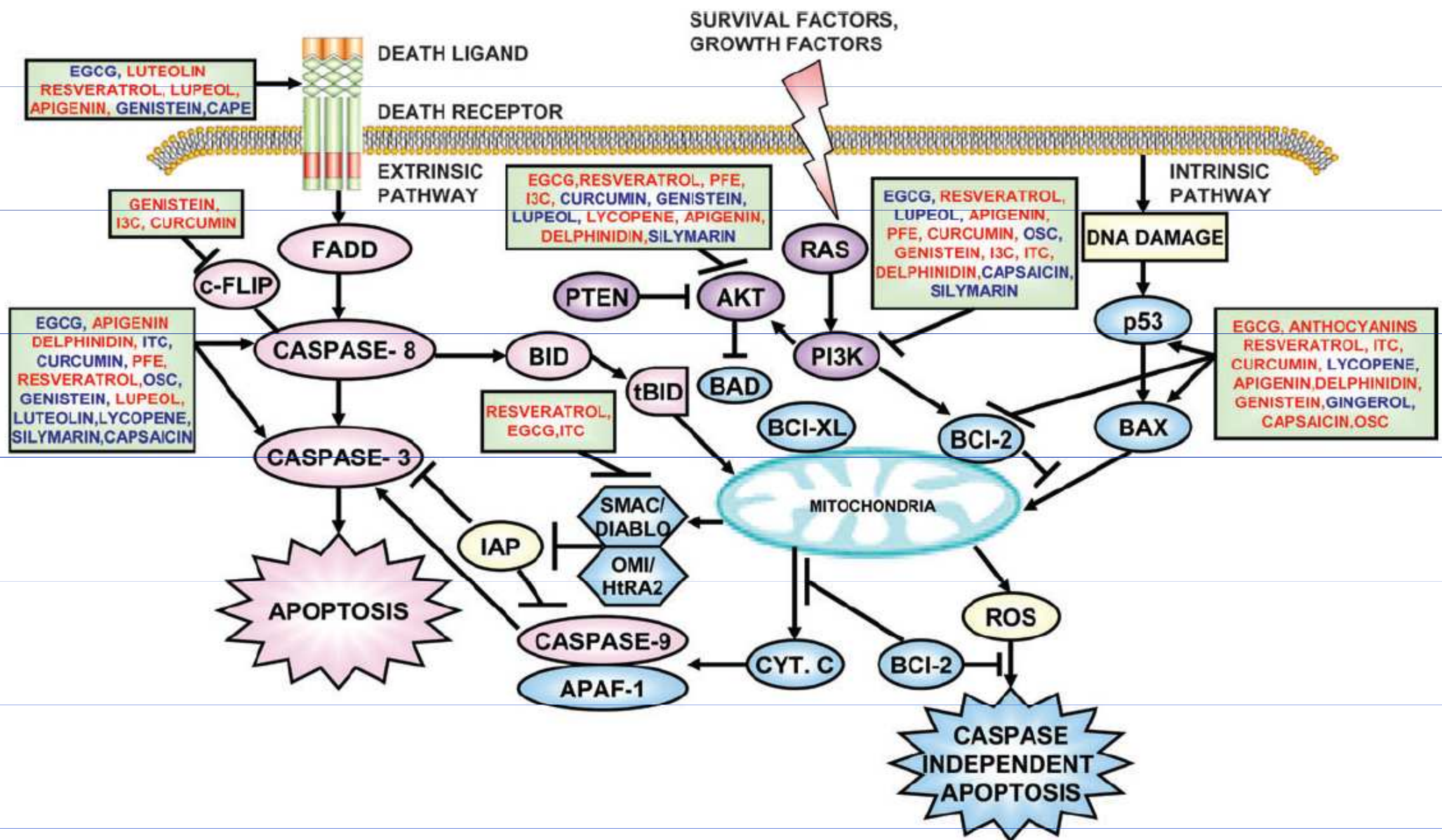
Změny cytokinetiky





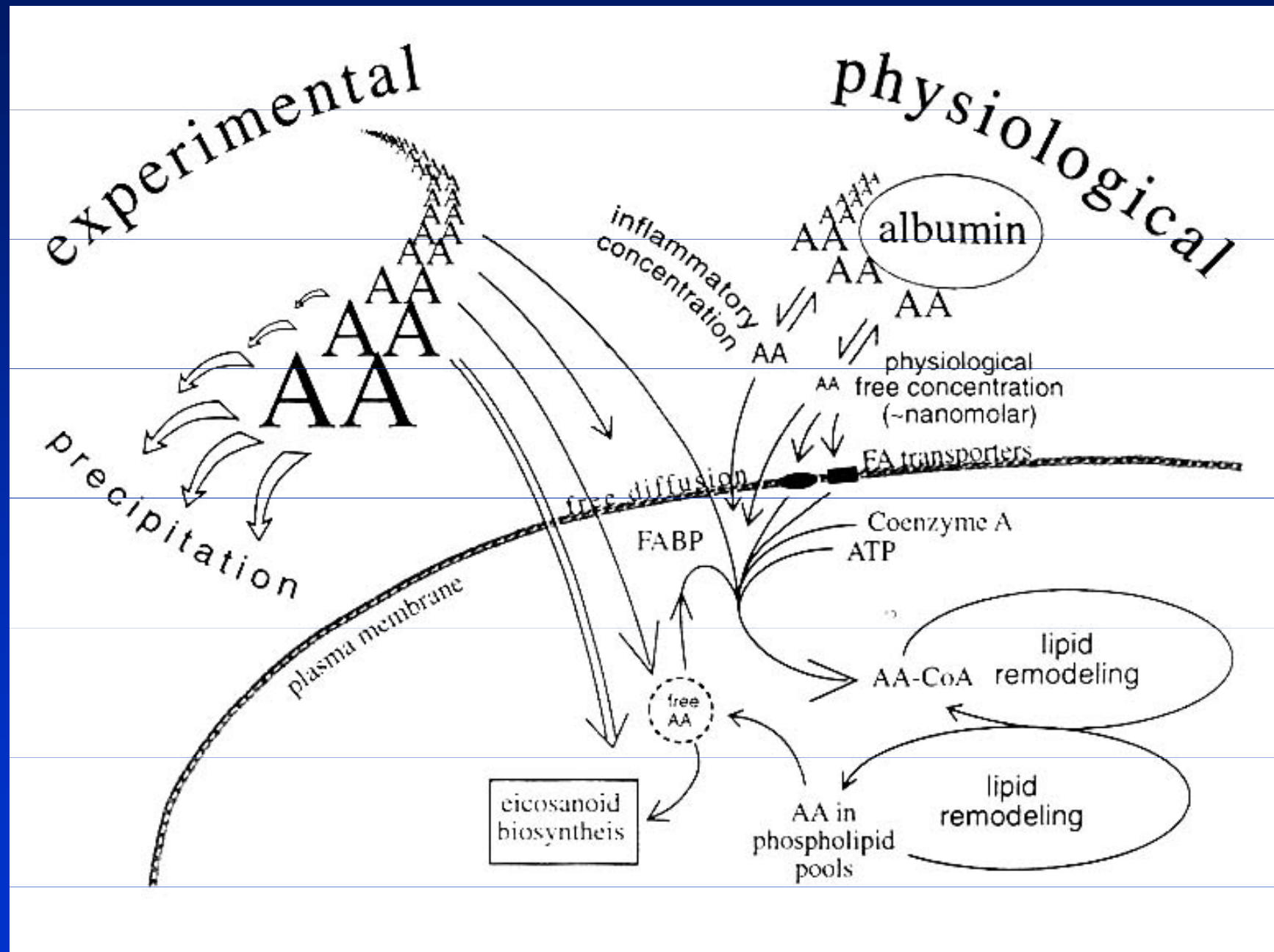
**FIGURE 2.** Hypothetical scheme showing potential mechanisms whereby n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and n-3 PUFAs may promote and suppress carcinogenesis, respectively. In initiated tumor cells, phospholipase A<sub>2</sub>, cyclooxygenase 2, and lipoxygenases are often overexpressed, which leads to overproduction of arachidonic acid (AA, 20:4n-6)-derived eicosanoids that augment inflammation. Nitric oxide, which is elevated in inflammation, is implicated in both the initiation and the progression stages of carcinogenesis. Nitric oxide may stimulate tumor growth and metastasis by enhancing the angiogenic and migratory abilities of tumor cells. Dietary n-3 PUFAs reduce the desaturation and elongation of linoleic acid (18:2n-6) to AA, the incorporation of AA into membranes, and the biosynthesis of AA-derived eicosanoids; suppress inflammation; stimulate apoptosis; up-regulate the expression of genes coding for antioxidant enzymes; and thus inhibit tumor growth and metastasis. + and solid arrows, stimulation; - and dashed arrows, suppression; ↑, increase. EPA, eicosapentaenoic acid (20:5n-3); DHA, docosahexaenoic acid (22:6n-3); ROS, reactive oxygen species; RNS, reactive nitrogen species.

# Apoptóza indukovaná dietetickými faktory




**Fig. 1.** Induction of apoptosis by dietary chemopreventive agents. The extrinsic pathway is initiated by ligation of transmembrane death receptors (CD95, TNF receptor and TRAIL receptor) to activate membrane-proximal (activator) caspase-8 via the adaptor molecule FADD. This in turn cleaves and activates effector caspase-3. Dietary agents block the death receptor and also target the caspases blocking the caspase cascade. This pathway can be regulated by c-FLIP, which inhibits upstream activator caspases and IAPs, that affects both activator and effector caspases. The intrinsic pathway requires disruption of the mitochondrial membrane and the release of mitochondrial proteins into the cytoplasm. Stress signals elicited by the dietary chemopreventive compounds regulate the proapoptotic proteins and antiapoptotic proteins, leading to the release of cytochrome *c* from the mitochondrial inner membrane. Cytochrome *c* forms an apoptosome with Apaf-1 and caspase-9, thereby initiating the apoptotic caspase cascade, whereas Smac/DIABLO and high-temperature requirement protein-A2 bind to and antagonize IAPs. The activated caspases catalyze the dissolution of intracellular structure that leads to apoptotic cell death. The Bcl-2 family proteins regulate apoptosis as they form complexes that enter the mitochondrial membrane, regulating the release of cytochrome *c* and other proteins. The activation of the caspase cascade occurs by the TNF family receptor and it also causes activation of Bid that activates mitochondria-mediated apoptosis. Bax is activated and releases cytochrome *c* and other mitochondrial proteins. Dietary agents can also block growth factor-mediated antiapoptotic signals through the direct inhibition of the binding of growth factors to the receptor or inhibition of the downstream phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt pathway. Blue color of dietary chemopreventive agents denotes that both the *in vivo* and *in vitro* effects have been demonstrated and red color denotes that only *in vitro* effects have been

# Koncentrace kyseliny arachidonové pokusné a fyziologické podmínky



# ZMĚNY BIOFYZIKÁLNÍCH VLASTNOSTÍ BUNĚČNÝCH MEMBRÁN

- ▶ provázejí procesy diferenciaci a apoptózy savčích buněk
  - ▶ souvisejí do značné míry s modulacemi ve složení, struktuře, symetrii a metabolismu buněčných lipidů.
- 
- ▶ pozorovány rozdíly u
    - nádorových a normálních buněk
    - nádorových buněk senzitivních a rezistentních k cytostatikám



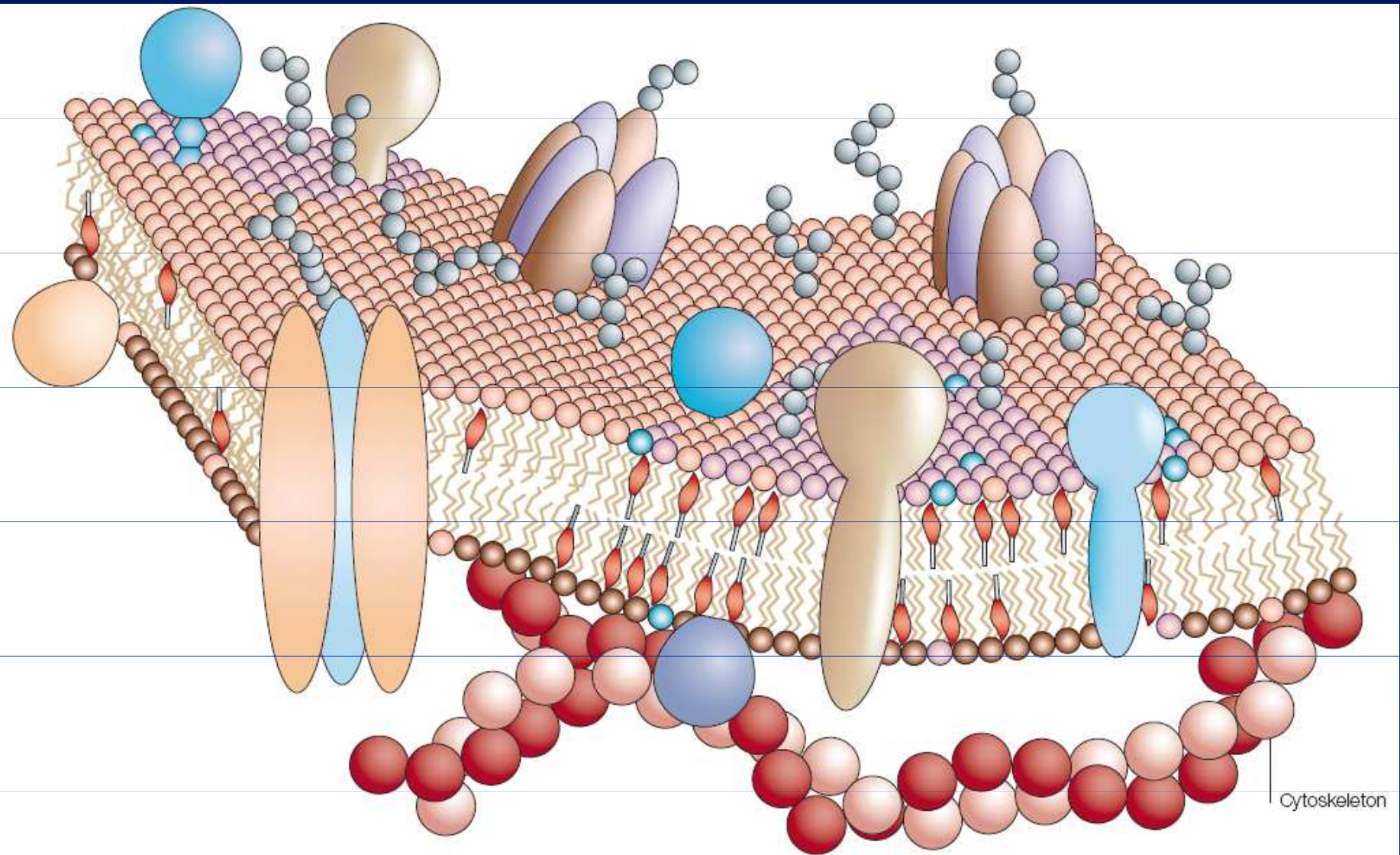
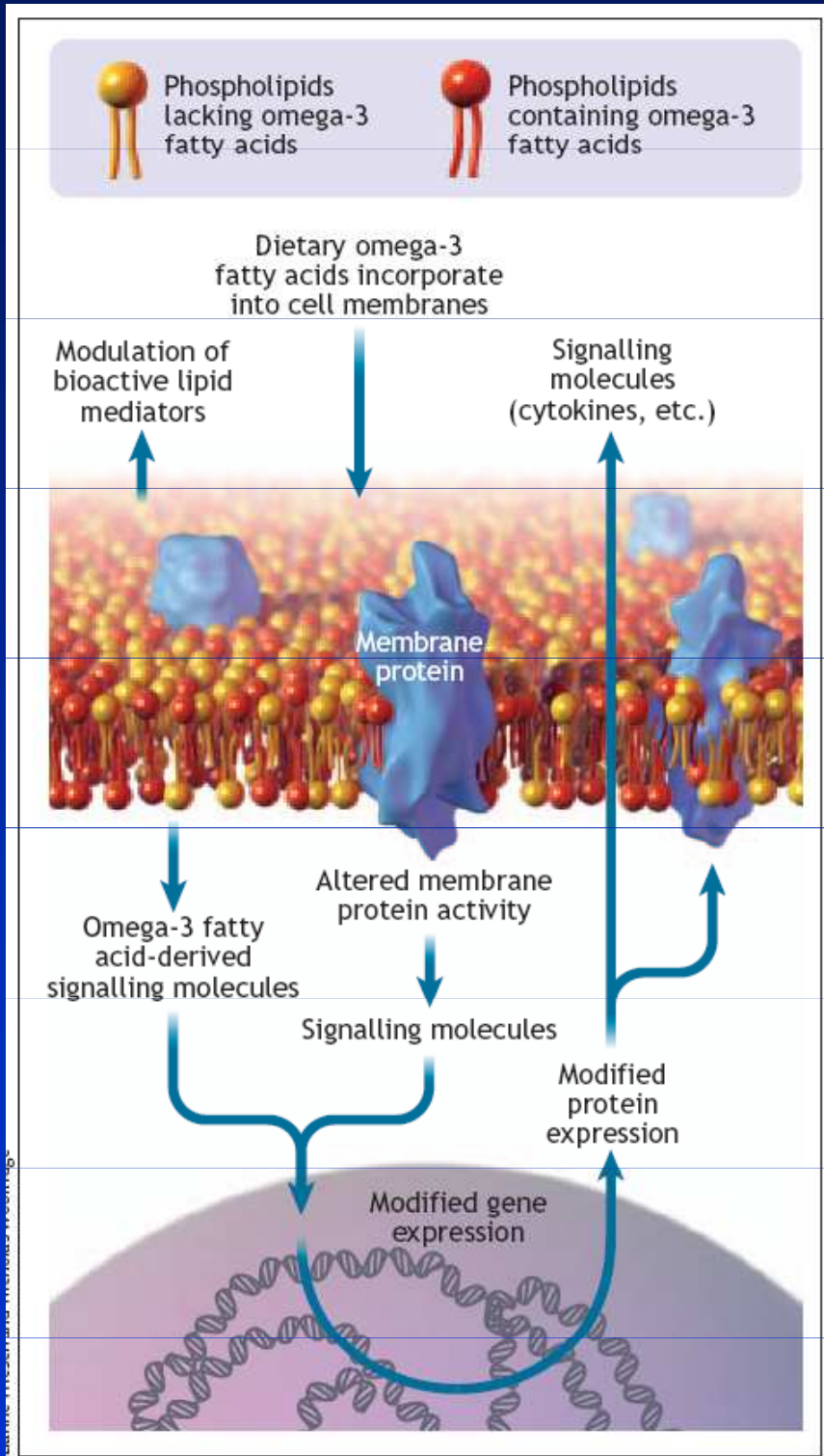
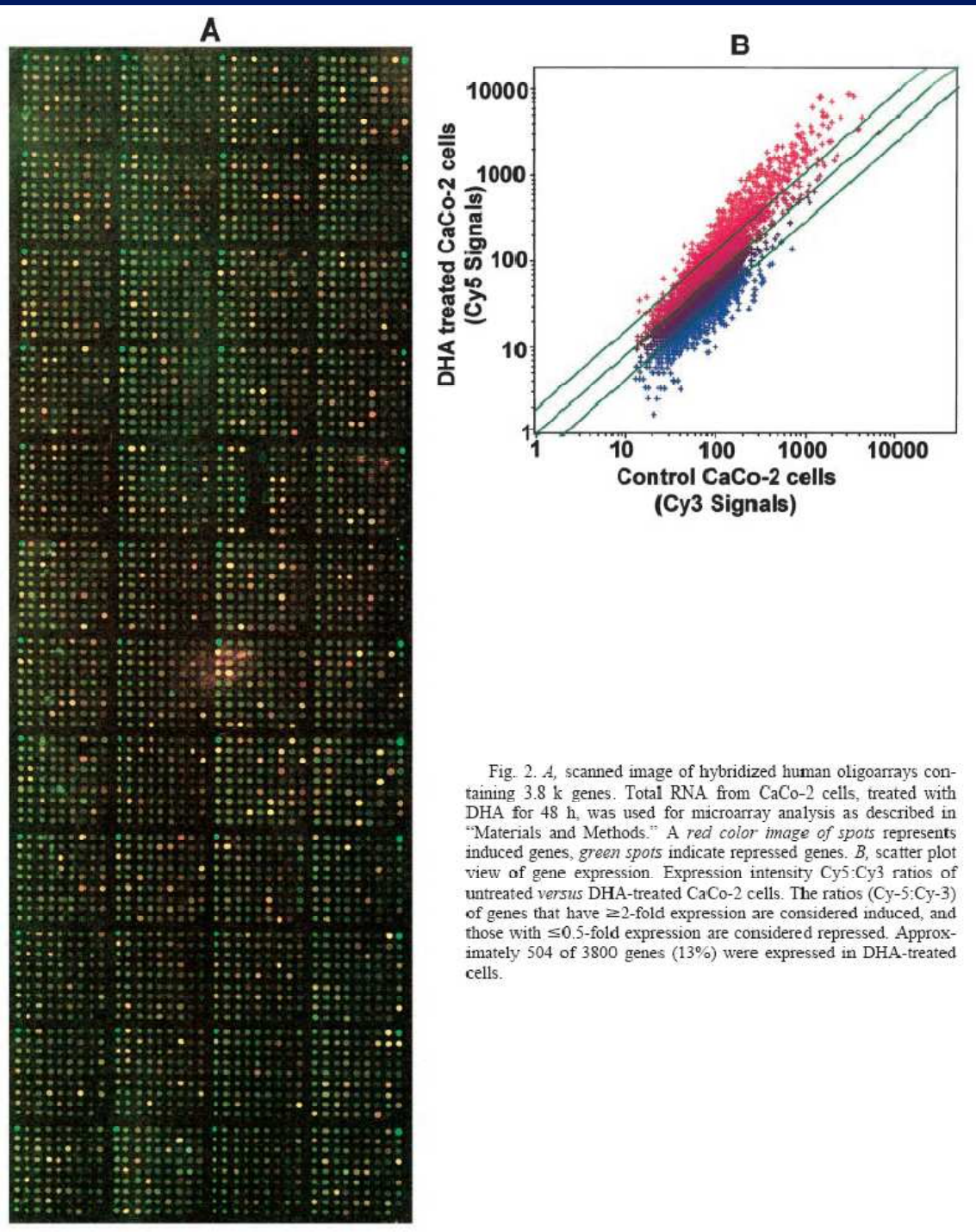


Figure 2 | **The Fluid-Mosaic-Model of the cell membrane.** Like a mosaic, the cell membrane is a complex structure made up of many different parts, such as proteins, phospholipids and cholesterol. The relative amounts of these components vary from membrane to membrane, and the types of lipids in membranes can also vary.



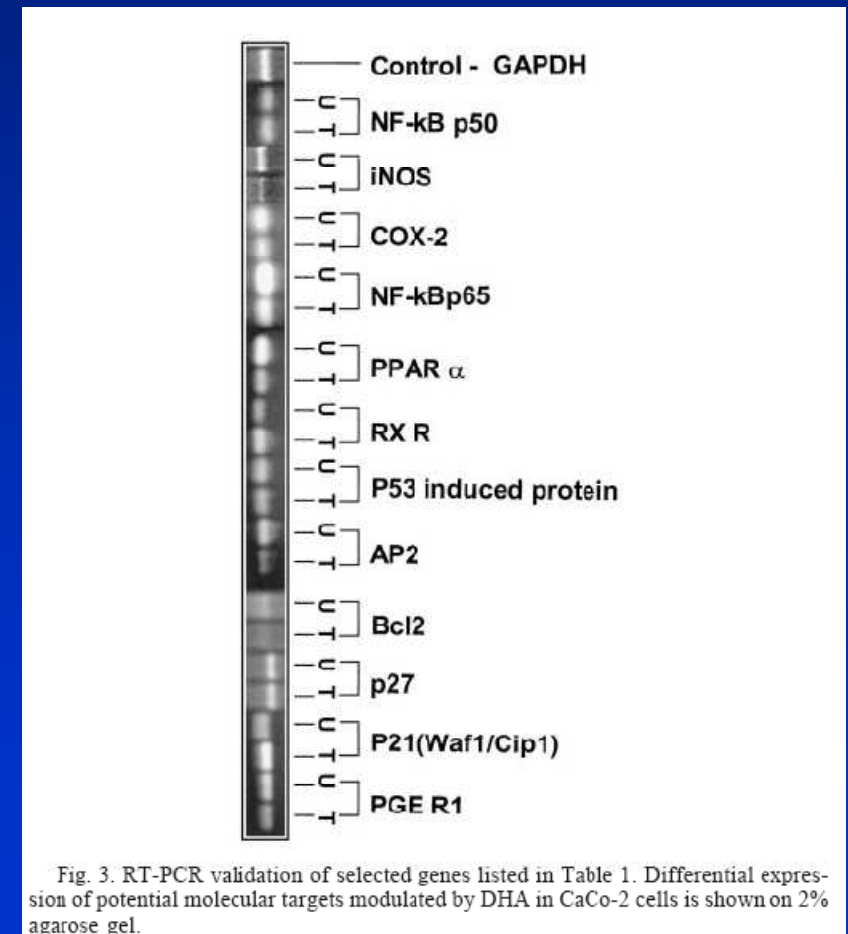
Omega-3 VNMK jsou inkorporovány do fosfolipidové dvojvrstvy buněčných membrán. Mohou modulovat aktivitu membránových proteinů, expresi genů a proteinů a fungují jako zásobárna bioaktivních lipidových mediátorů.

Surette ME, CMAJ 2008



## Microarray analýza CaCo-2 buněk po působení DHA (48h)

Indukované geny  
Reprimované geny



# LIPIDOVÉ RAFTY

malé oblasti proteinů a lipidů v membráně s unikátním složením lipidů – bohaté na cholesterol.

Tyto struktury jsou funkčně zahrnuty v kompartmentalizaci, modulaci a integraci buněčných signálů a tak modulují důležité procesy jako buněčný růst, přežití a adhezi.

VNMK jsou základní složkou lipidových raftů a předpokládá se, že např. DHA může částečně působit zvýšením fázové separace lipidů v membráně.

Strukturální integrita LR a caveolae jsou základní pro příjem VNMK. Caveolin-1 a FAT/CD36 jsou vázány v LR

# LIPIDOVÉ RAFTY A CAVEOLAE V PLAZMATICKÉ MEMBRÁNĚ modifikují aktivaci membránových receptorů a signálních proteinů

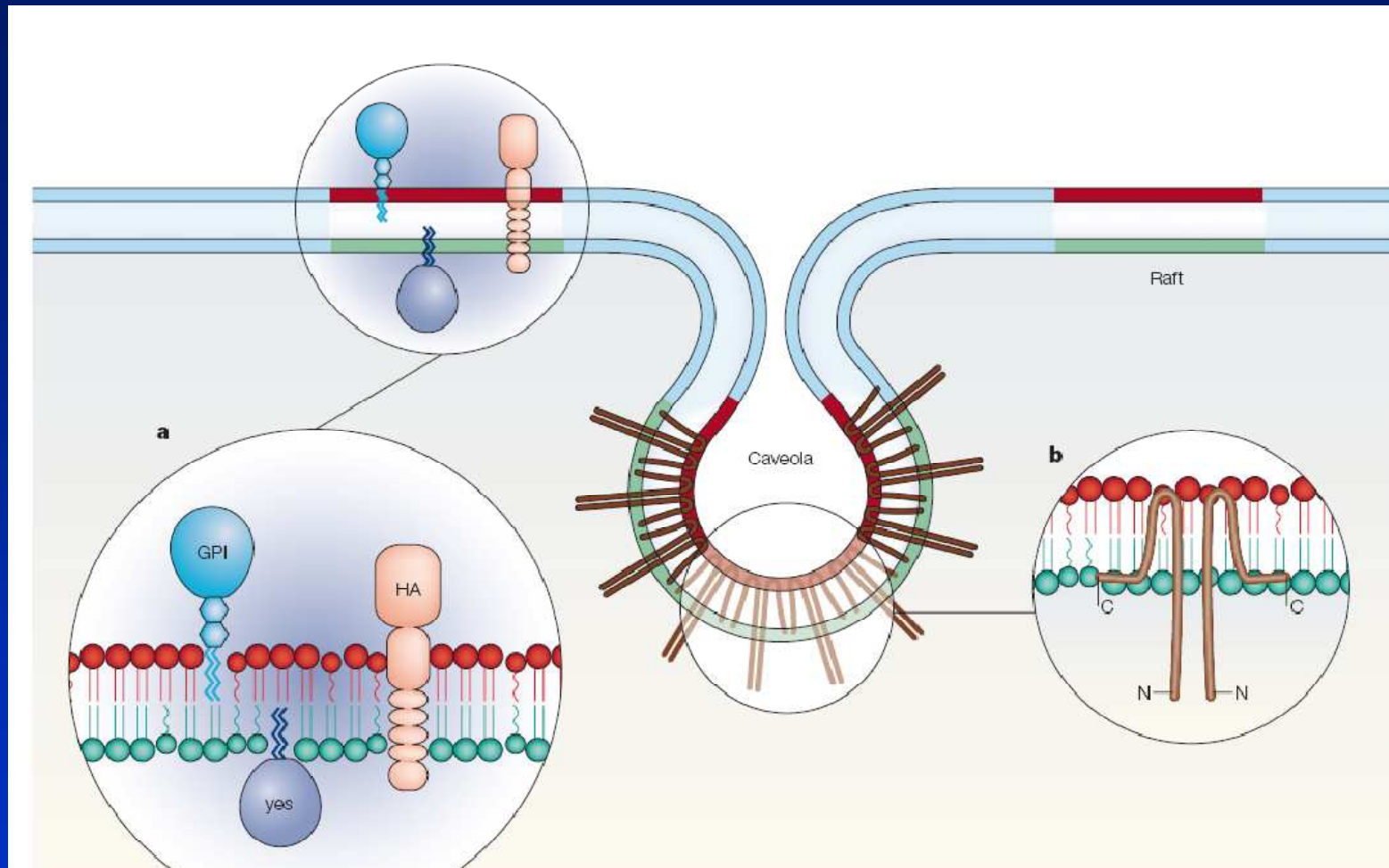
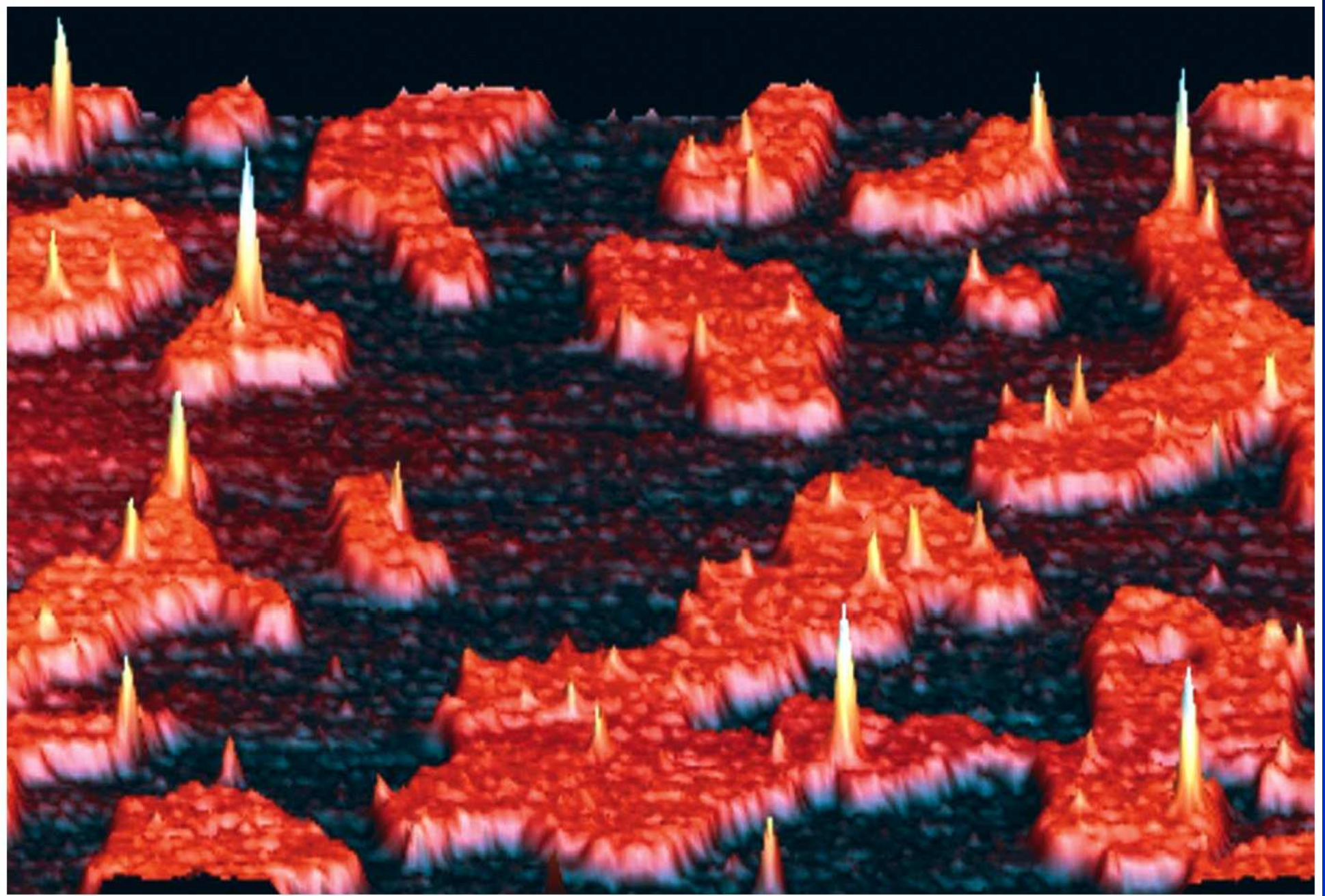


Figure 4 | **Model for the organization of rafts and caveolae in the plasma membrane.** Lipid rafts (red/green) segregate from the other regions (blue) of the bilayer, which have a different lipid composition. The lipid bilayer in rafts is asymmetric, with sphingomyelin and glycosphingolipids (both red) enriched in the 'outer' layer known as the exoplasmic leaflet, and glycerolipids (green) in the 'inner' layer known as the cytoplasmic leaflet. **a** | Rafts contain proteins attached to the bilayer by their GPI anchors, by acyl tails (for example, the Src-family kinase Yes), or through their transmembrane domains, like the influenza virus proteins neuraminidase and haemagglutinin (HA). **b** | Caveolae are formed by self-associating caveolin molecules making a hairpin loop in the membrane. Interactions with raft lipids may be mediated by binding to cholesterol (brown) and by acylation of carboxy-terminal cysteines (not shown). Figure modified from Simons, K. & Ikonen, E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* **387**, 569–572 (1997) © Macmillan Publishers Ltd.

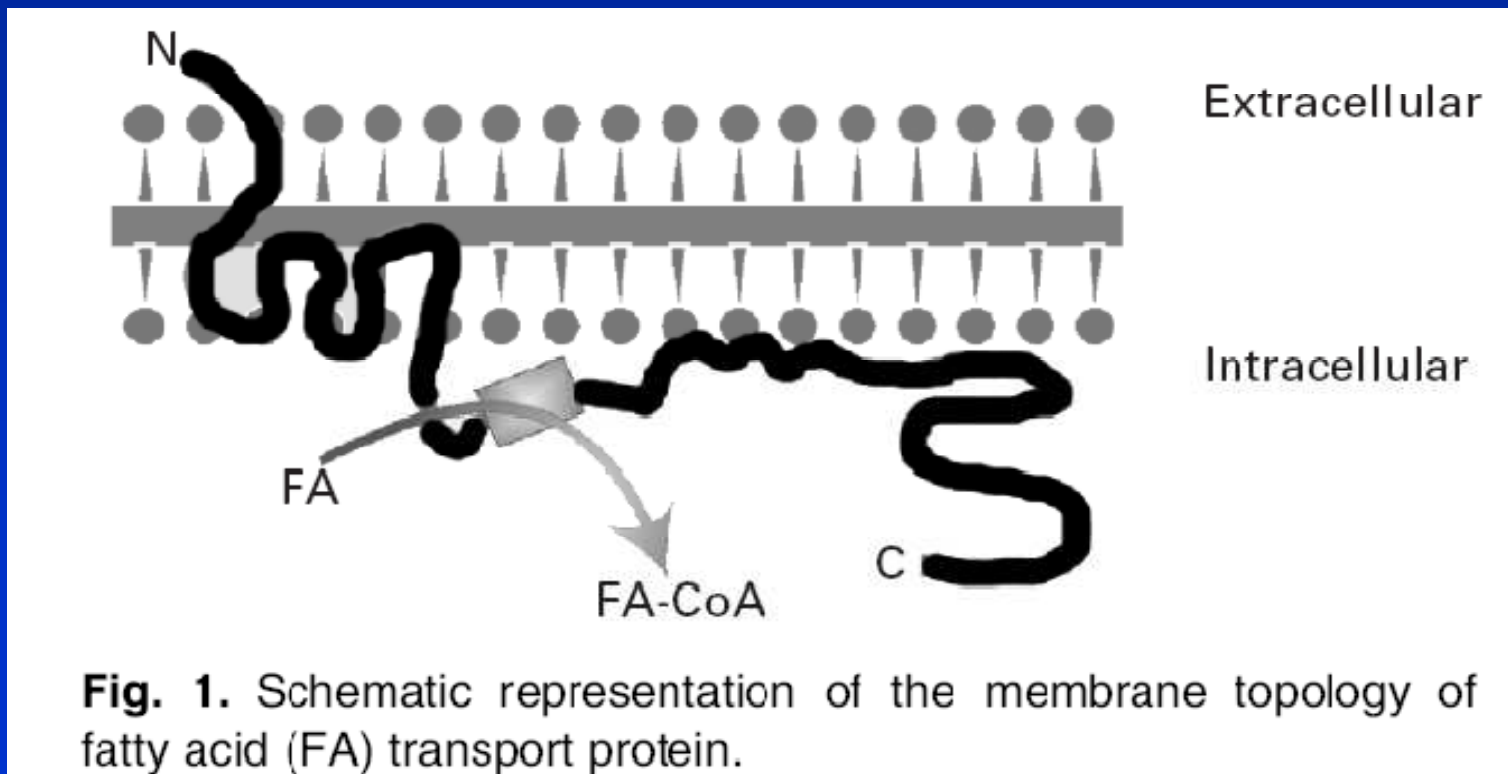
# Atomic force microscopy

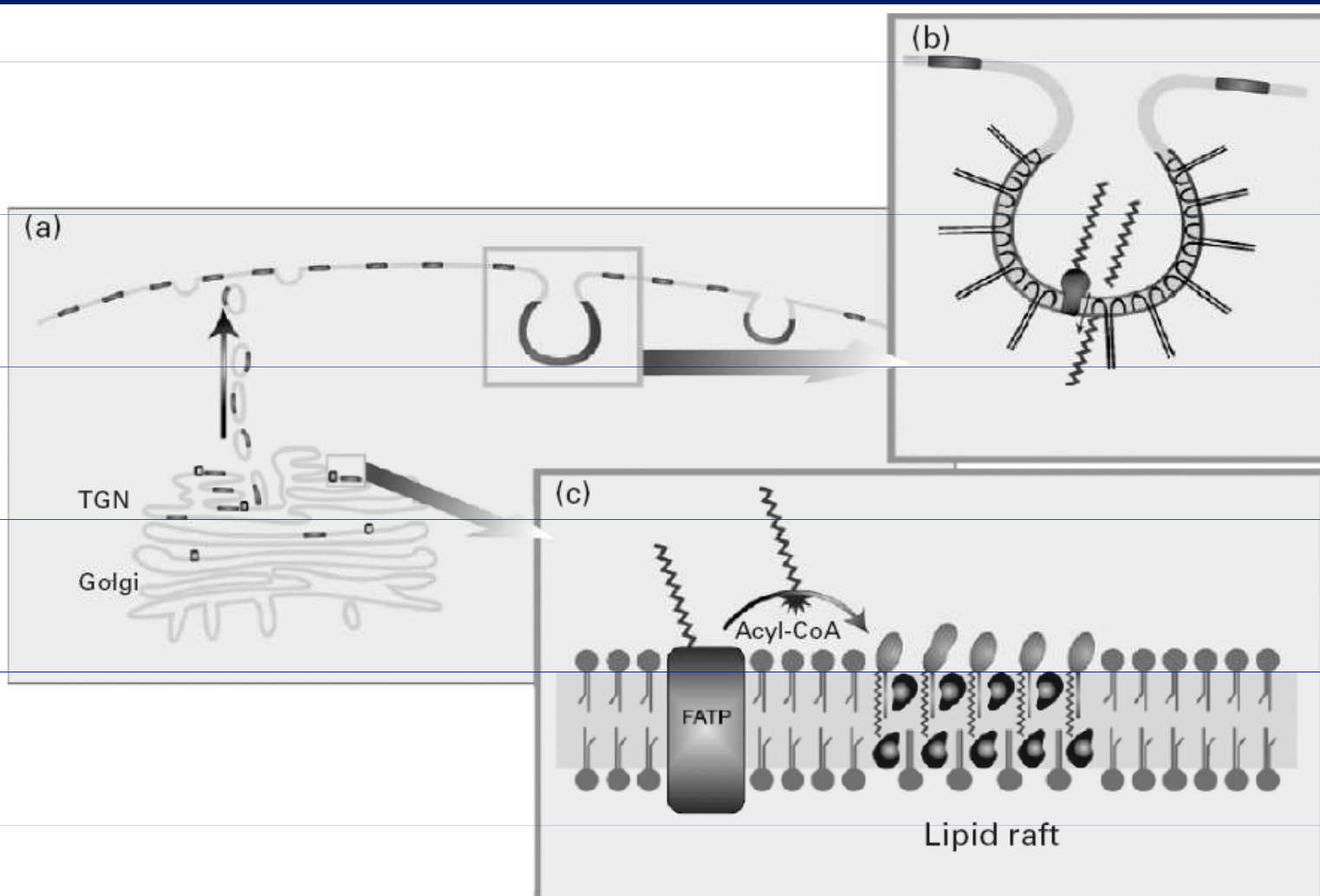


# FATTY ACID TRANSLOCASE (FAT/CD36)

Protein v plasmatické (mitochondriální?) membráně  
CD36 – multifunkční adhezní receptor pro trombospodin a collagen a scavenger receptor pro LDL exprimovaný na plateletech, monocytech ale i jiných typech buněk.

Nově prokázána funkce při transportu VNMK i jeho přítomnost v buňkách gastrointestinálního traktu (Lobo MVT et al., J Histochem Cytochem 2001, Campbell SE et al, J Biol Chem 2004, Drover VA, J Clin Invest 2005)



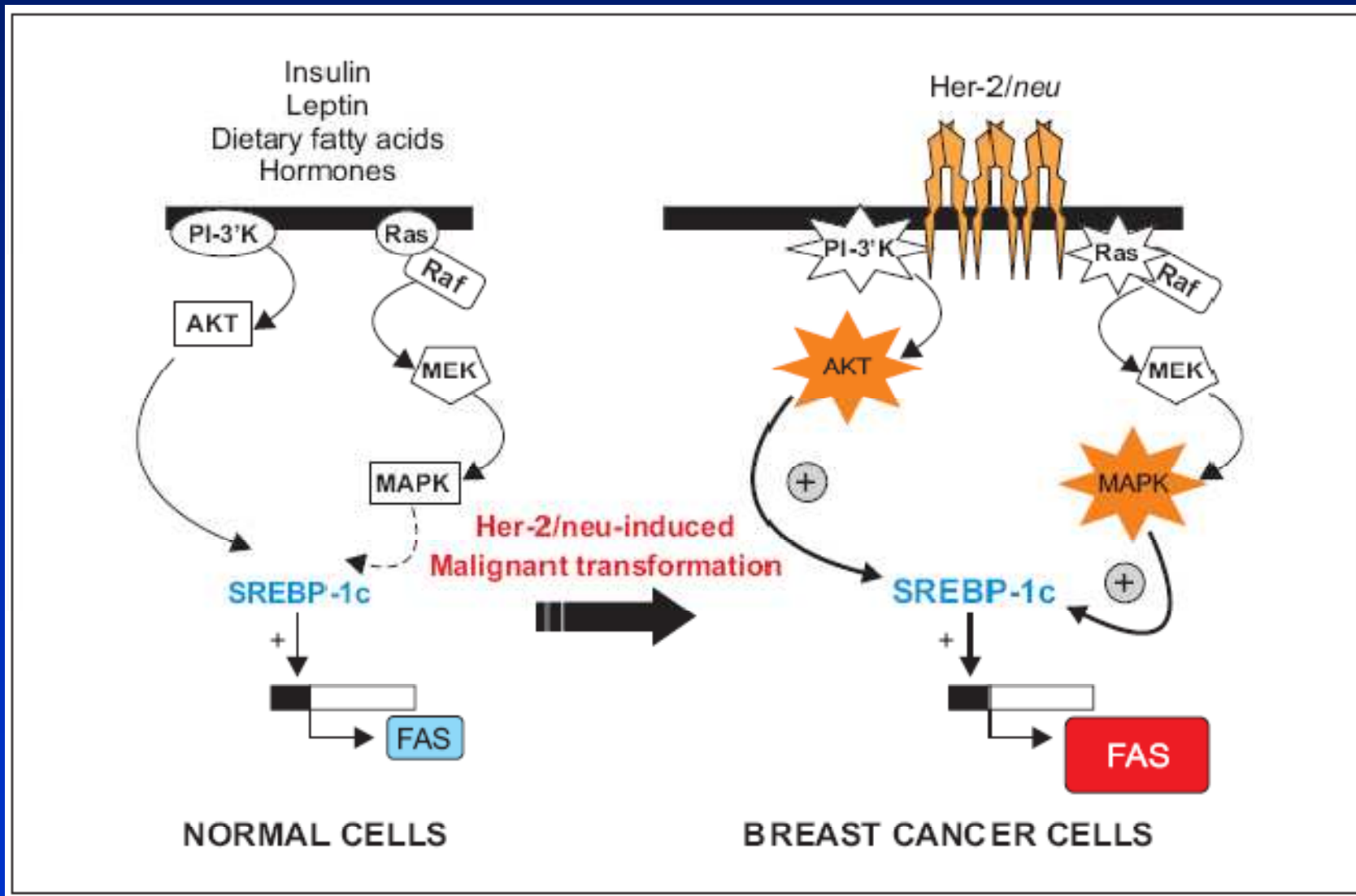


**Fig. 3.** Proposed model for cellular fatty acid uptake. Fatty acid transport protein (FATP, □), stabilization of lipid rafts (—) by acylated very-long-chain fatty acids (VLCFA) and fatty acid translocase (FAT)/CD36 incorporation into lipid rafts could cooperate to facilitate efficient long-chain fatty acid (LCFA) uptake. Intracellular VLCFA are esterified to their acyl-CoA and thereafter bound to sphingolipids in the outer leaflet of the biomembrane of lipid rafts. This process might indirectly facilitate ‘on-demand’ recruitment of FAT/CD36 from an intracellular compartment to lipid rafts located on the plasma membrane and result in augmented uptake of LCFA. TGN, trans-Golgi network; (⌋), caveolins; (●), fat; (~~~~~), fatty acid; (⌋), phospholipid; (●), cholesterol; (⌋), sphingolipid.



# Ovlivnění exprese a aktivity enzymu fatty acid synthase (FAS)

FAS upregulace během buněčné transformace, spojitost s působením a signálními drahami EGF

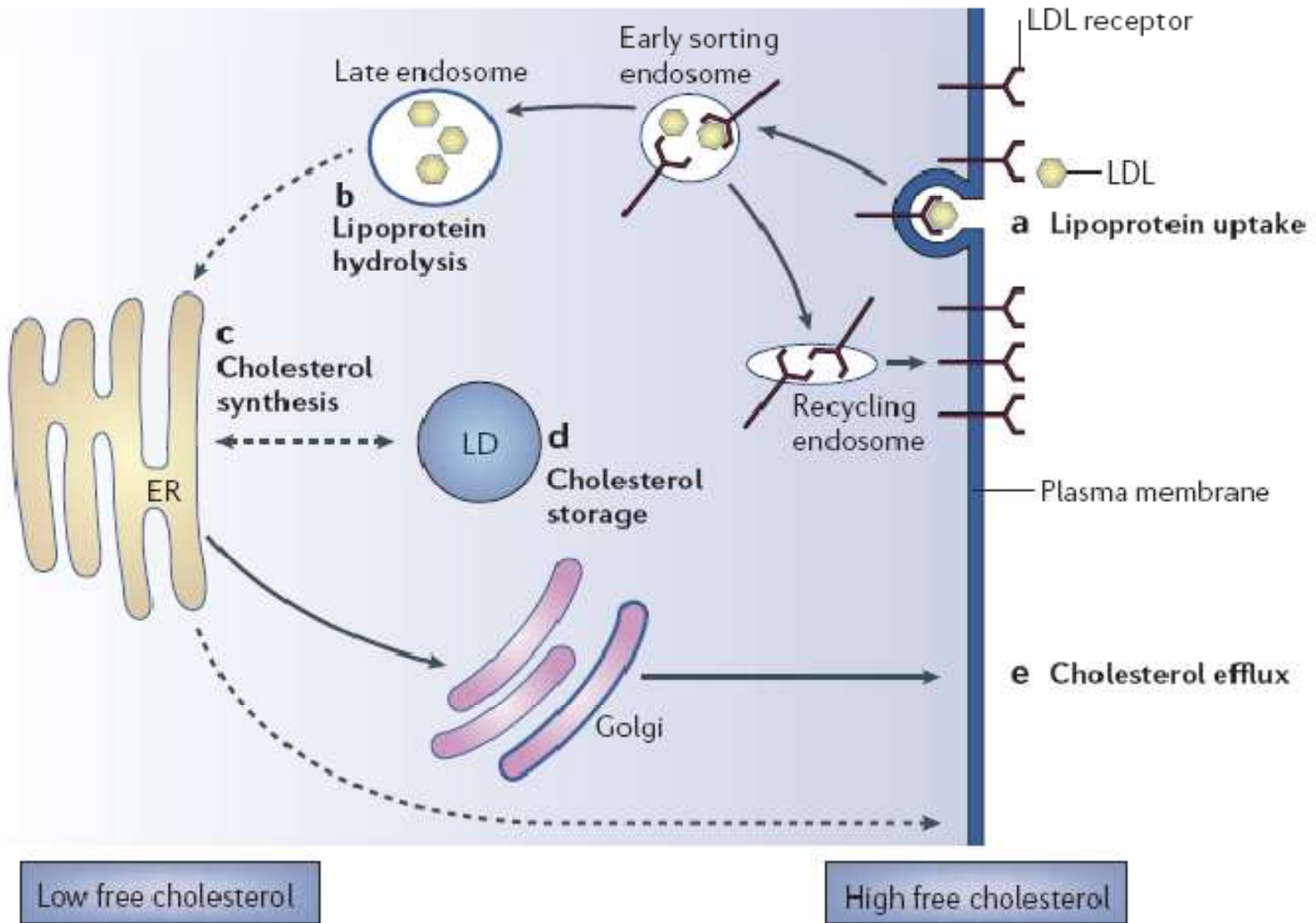


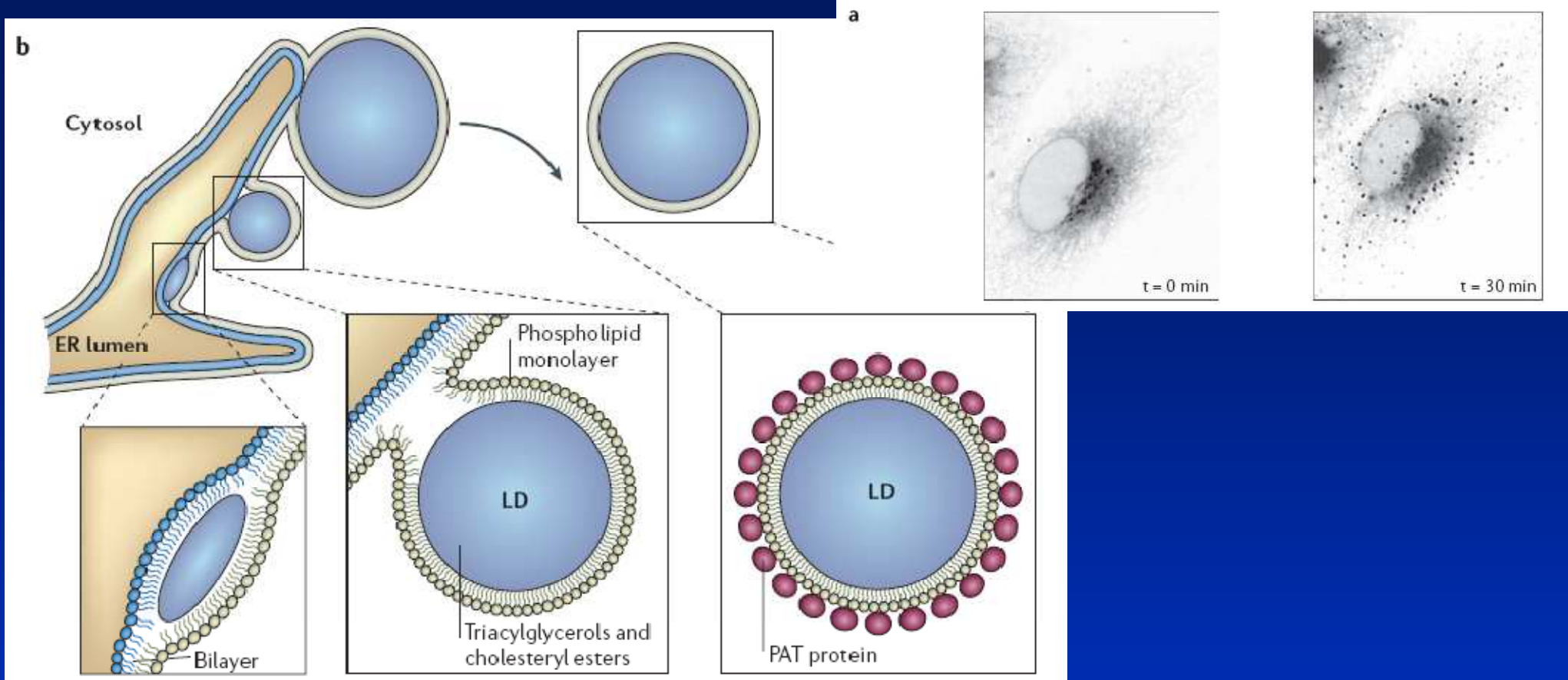
# AKUMULACE LIPIDŮ V CYTOPLAZMĚ

## Nile Red

- ▶ akumulace lipidových kapének (lipid droplets) v cytoplazmě buněk (působení lipidových látek, indukce diferenciací a apoptózy )
- ▶ obsahují neutrální lipidy (obvykle triacylglyceroly nebo estery cholesterolu)  
za normálních podmínek - zásobárna energie a cholesterolu
- ▶ souvislost s regulací procesů diferenciací a apoptózy není zcela objasněna
- ▶ fluorescenční barvivo Nile Red (FL-1 a FL-3)  
citlivé vitální barvení lipidových kapének

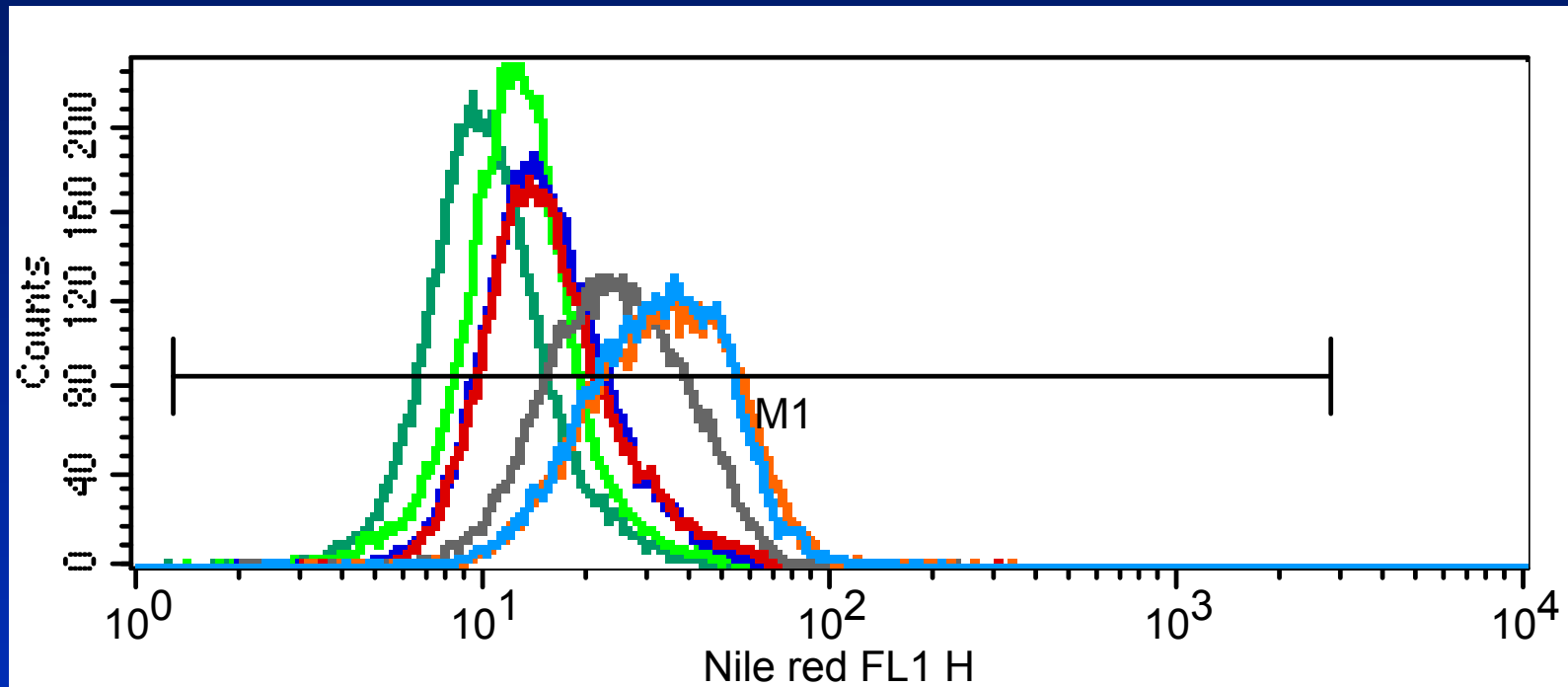
Box 2 | Intracellular cholesterol regulation





**Figure 1 | The formation of lipid droplets.** **a** | The formation of lipid droplets (LDs) as monitored by the use of a caveolin-truncation-mutant-green-fluorescent-protein fusion protein ( $\text{Cav3}^{\text{DGV}}\text{-GFP}$ ). Before fatty acid addition ( $t = 0$  min),  $\text{Cav3}^{\text{DGV}}\text{-GFP}$  localizes to the endoplasmic reticulum (ER) and Golgi region (the image has been inverted to show dark staining for GFP). After fatty acid addition, LDs appear throughout the cell within minutes (the  $t = 30$  min image is shown here). For a movie of this process, see the Further information. **b** | In the current model of LD formation, neutral lipids are synthesized between the leaflets of the ER membrane. The mature LD is then thought to bud from the ER membrane to form an independent organelle that is bounded by a limiting monolayer of phospholipids and LD-associated proteins. Some of the best understood LD-associated proteins are members of the PAT (perilipin, ADRP and TIP47-related protein)-domain family of proteins. Part a modified with permission from REF. 8 © (2004) The American Society for Cell Biology.

# Accumulation of lipid droplets in HCT116 cells after treatment with AA, DHA, NaBt or their combinations



Key	Name	Parame
	control	FL1-H
	control et	FL1-H
	DHA50	FL1-H
	AA50	FL1-H
	NaBt3	FL1-H
	AA50+NaBt3	FL1-H
	DHA50+NaBt3	FL1-H

## DĚJE NA MITOCHONDRIÍCH A OXIDATIVNÍ METABOLISMUS

**VNMK fyzicky interagují s mitochondriální membránou**, mění její permeabilitu otevíráním MTP (membrane permeability pores) a snižují tak membránový potenciál.

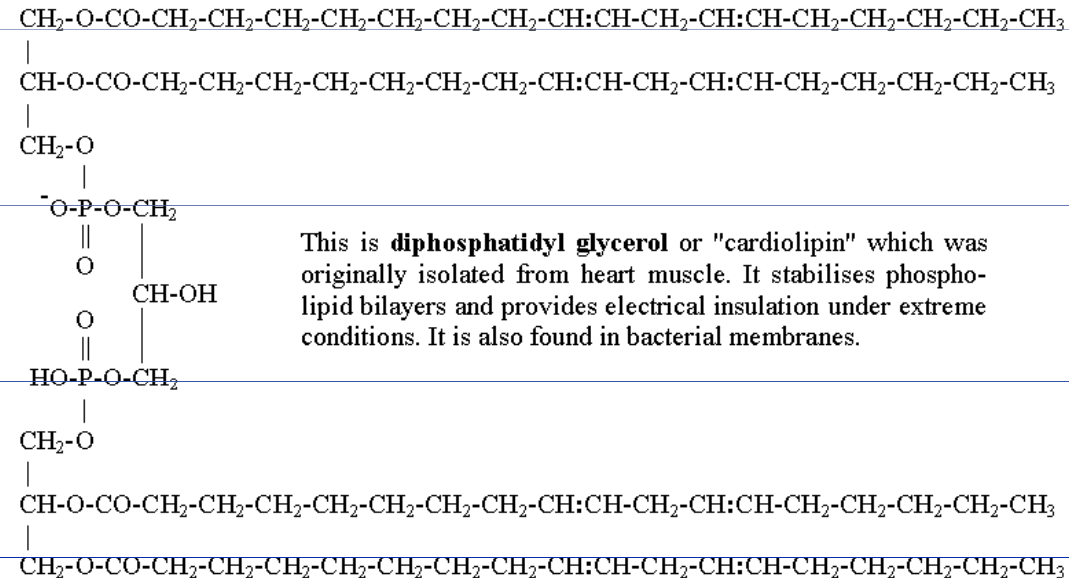
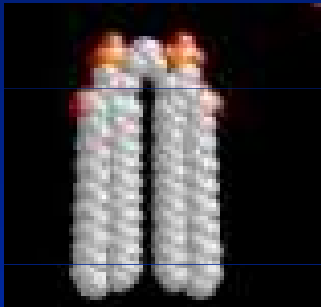
**DHA je přednostně inkorporována do kardiolipinu**, fosfolipidu vnitřní mitoch. membrány. To souvisí se stupněm nenasycenosti, indukci oxidativního stresu, uvolněním cytochromu c a apoptózou.

**VNMK modulují hladinu proteinů rodiny Bcl-2** (Bid, Bcl-2), které interagují s lipidy mit. membrány.

**Zvýšené množství VNMK vyvolává oxidativní stres** (produkce ROS, NOS a lipidová peroxidace)

# Kardiolipin Difosfatidyl glycerol, glycerolfosfolipid

Hlavní součást membrán mitochondrií



This is **diphosphatidyl glycerol** or "cardiolipin" which was originally isolated from heart muscle. It stabilises phospholipid bilayers and provides electrical insulation under extreme conditions. It is also found in bacterial membranes.

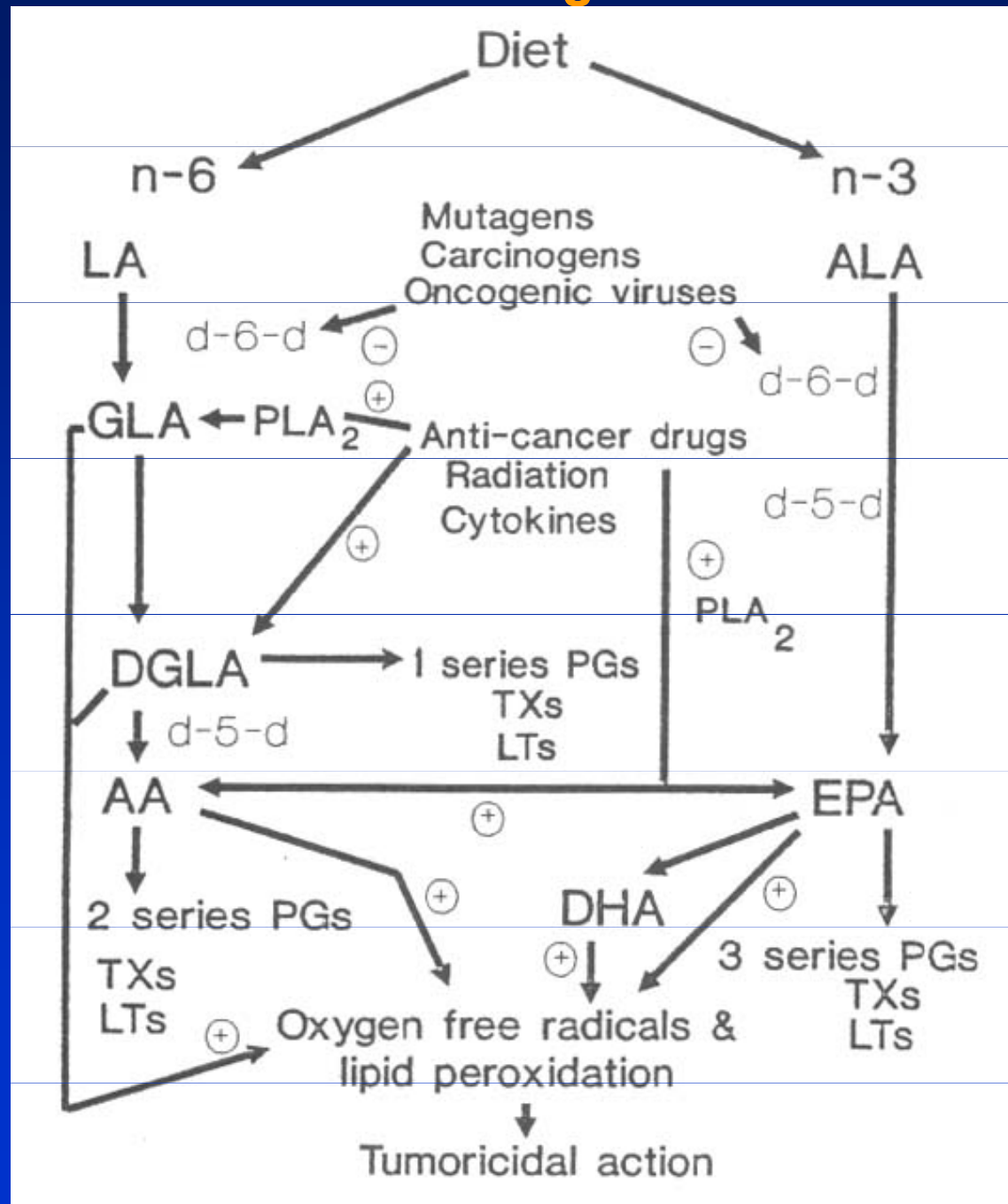
sn-1 – SFAs – LA, OA

sn-2 – PUFAs – DHA – přednostně se vestavuje do kardiolipinu – mění nenasycenost mit. membrány a oxidativní metabolismus.

Souvislost s aktivitou cytochrom c oxidázy a uvolňováním cytochromu c

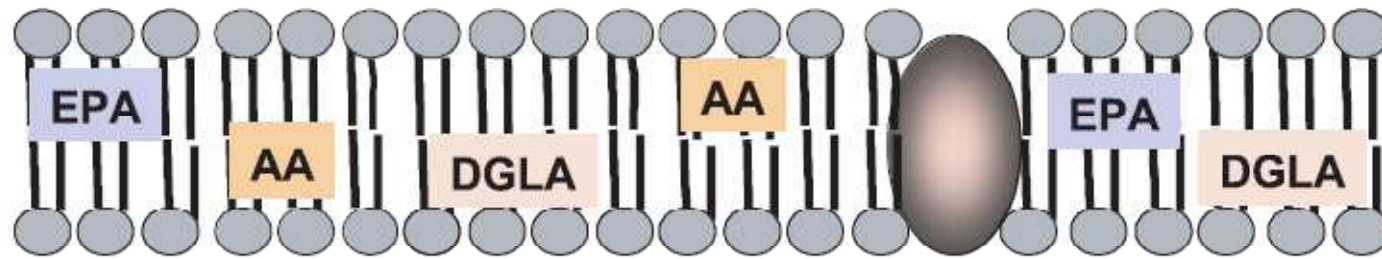
Význam pro apoptózu

# Souvislost metabolismu esenciálních mastných kyselin s karcinogenezí





membrane bilayer



Phospholipase A2



Cyclooxygenase (COX)

5 and 15 Lipoxygenases

Cyclooxygenase

Cyclooxygenase

5 and 15 lipoxygenases

Prostaglandins series 1

Leukotrienes and Lipoxins series 4

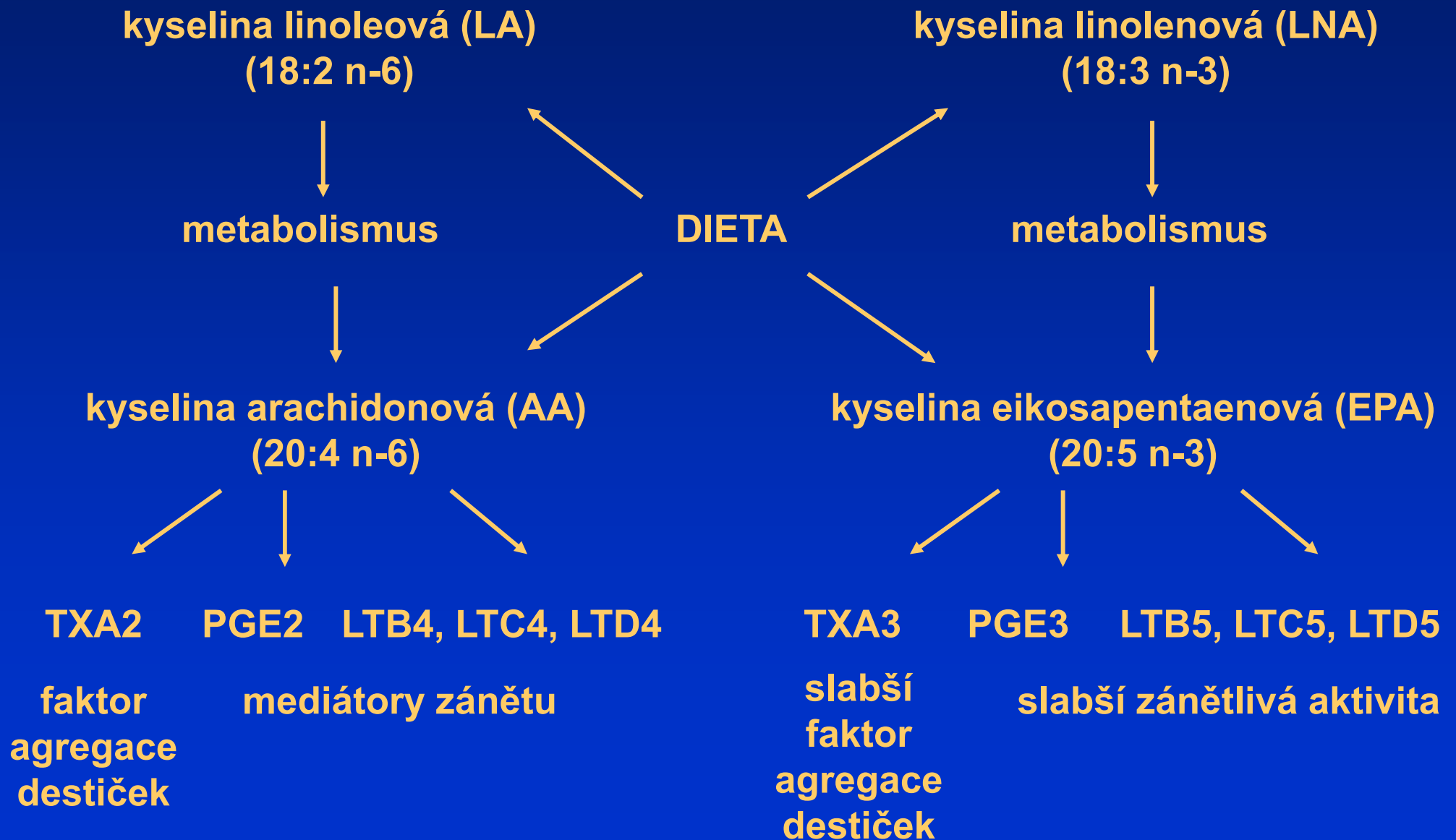
Eicosanoids series 2

Eicosanoids series 3

Leukotrienes and Lipoxins series 5

# Interakce n-3 PUFA s AA při syntéze eikosanoidů s prozánětlivou aktivitou

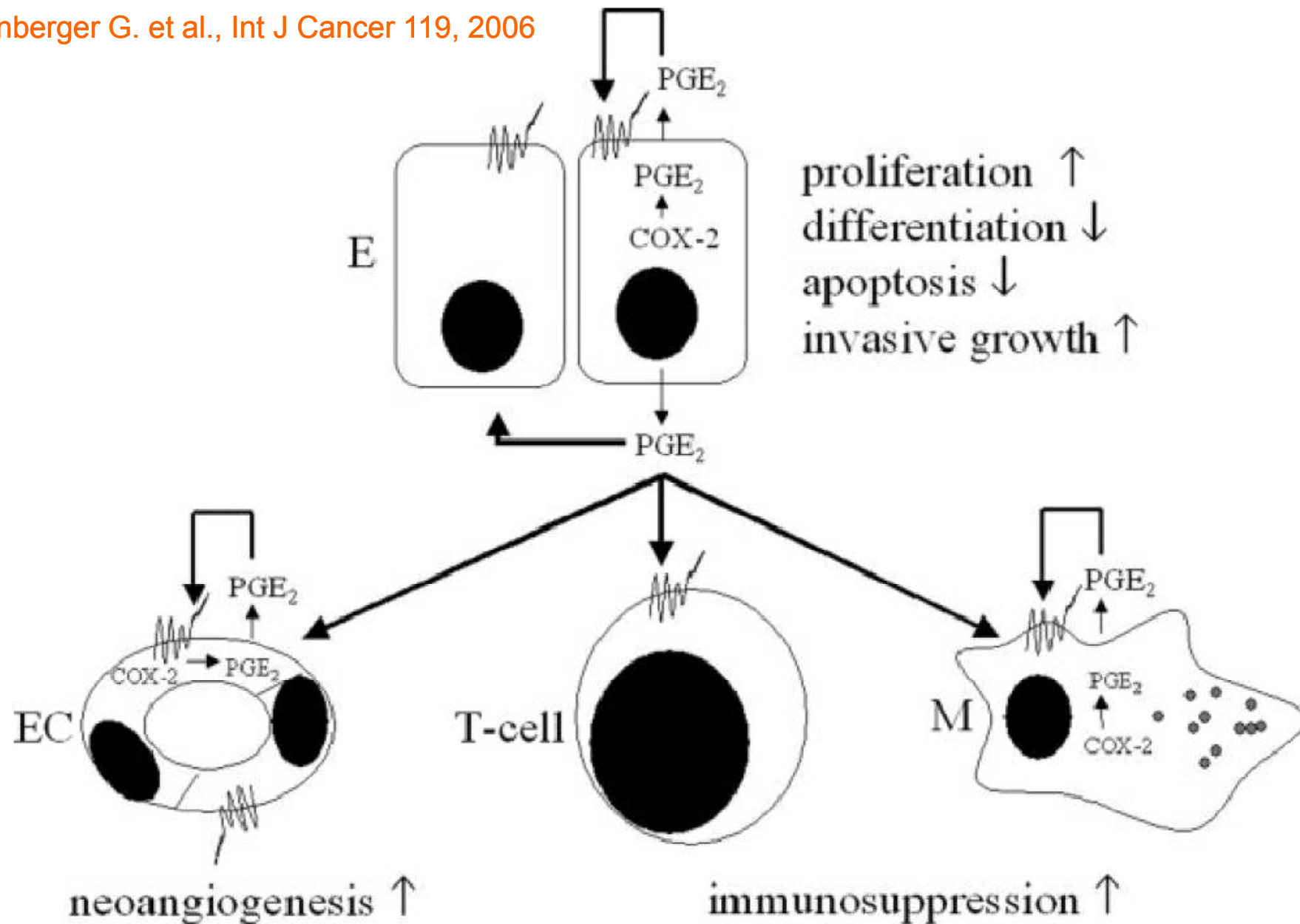
při



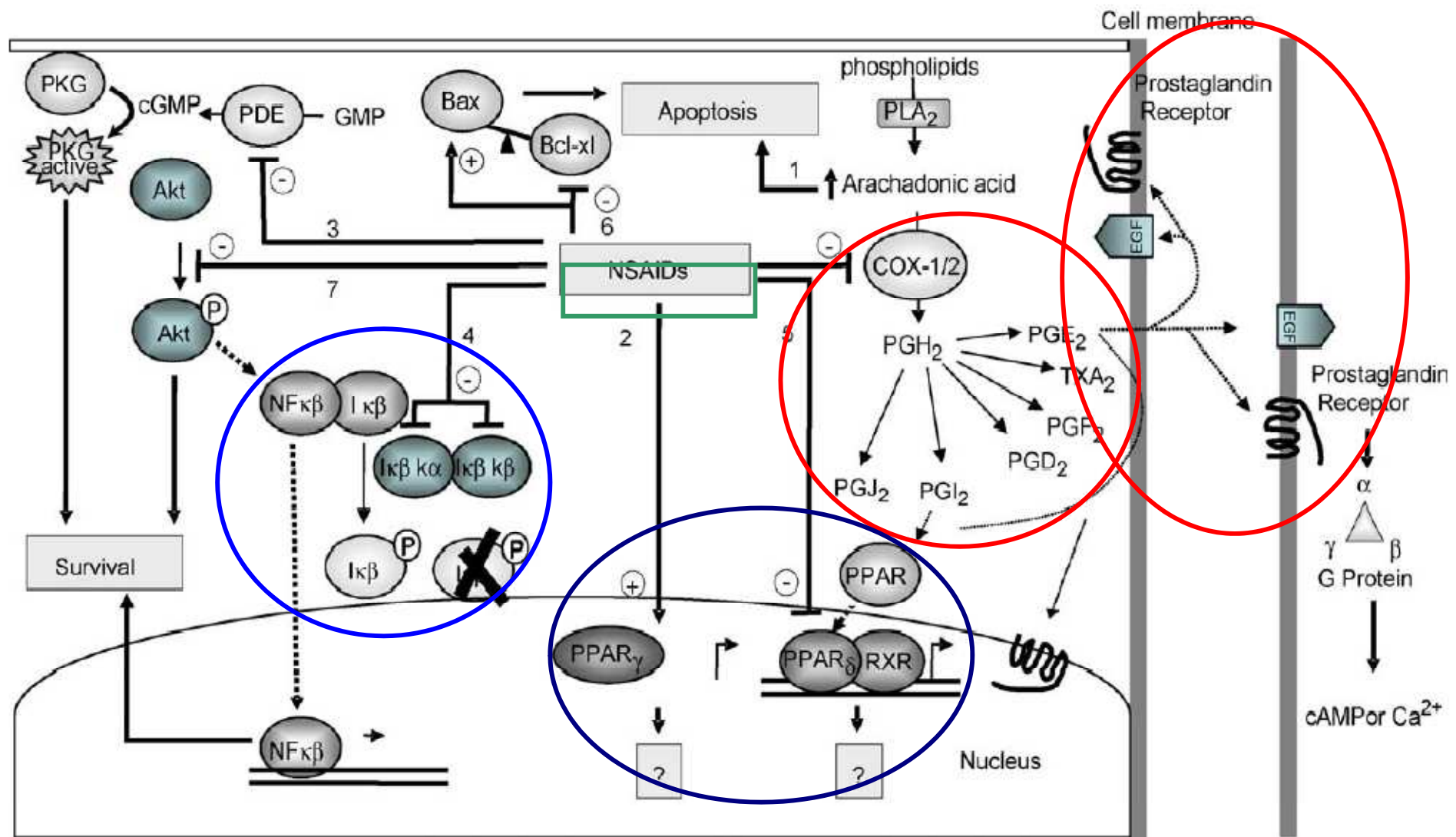
# Účinky NSAIDs

Závislé i nezávislé na inhibici metabolismu AA

Furstenberger G. et al., Int J Cancer 119, 2006



# Molekulární mechanismy COX-2 a NSAIDs



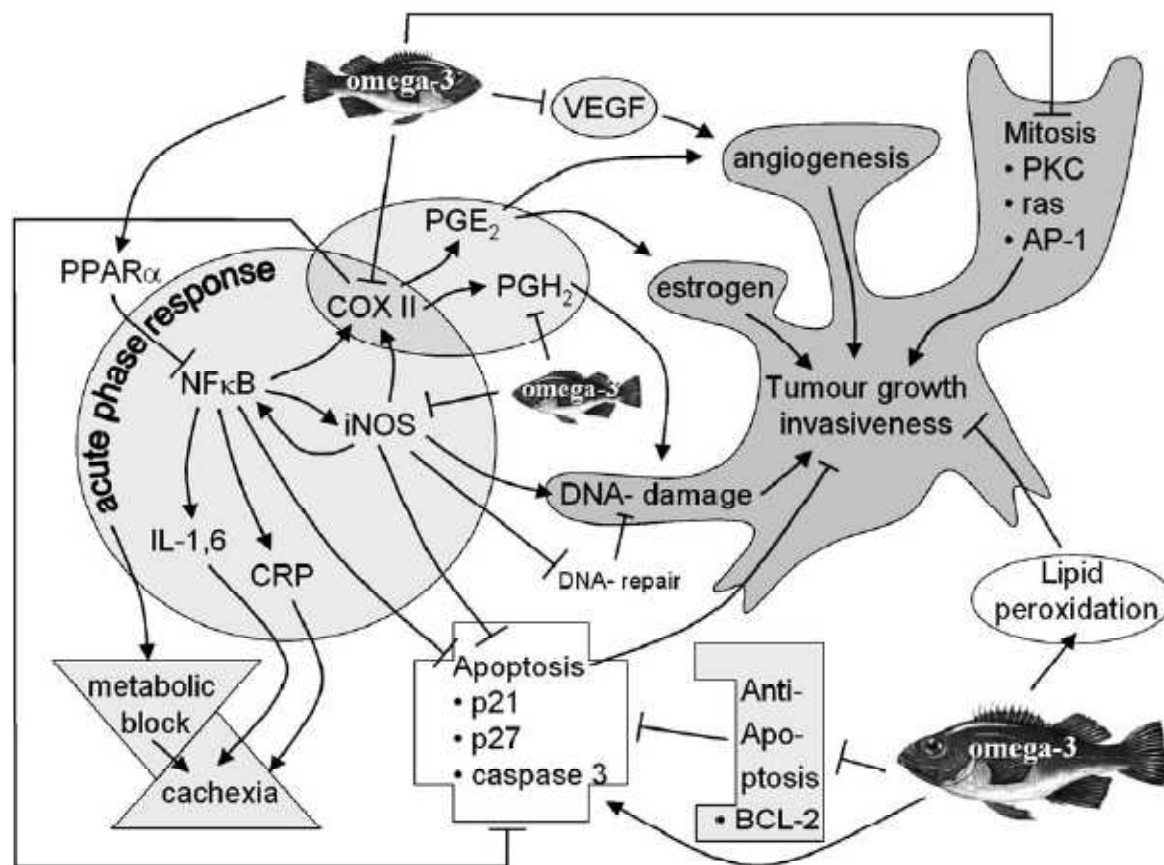


Fig. 1. Mechanisms of omega-3 FA action in tumor growth. Cyclooxygenase (COX) II and inducible NO synthase (iNOS) are key propagators of tumor development and inhibitors of tumoricidal activity. → favors activity; ⊥ blocks activity [1].

# Fosfolipáza A2

Enzym účastnící se lipidového metabolismu, důležitý pro řadu buněčných procesů.

Tři skupiny:

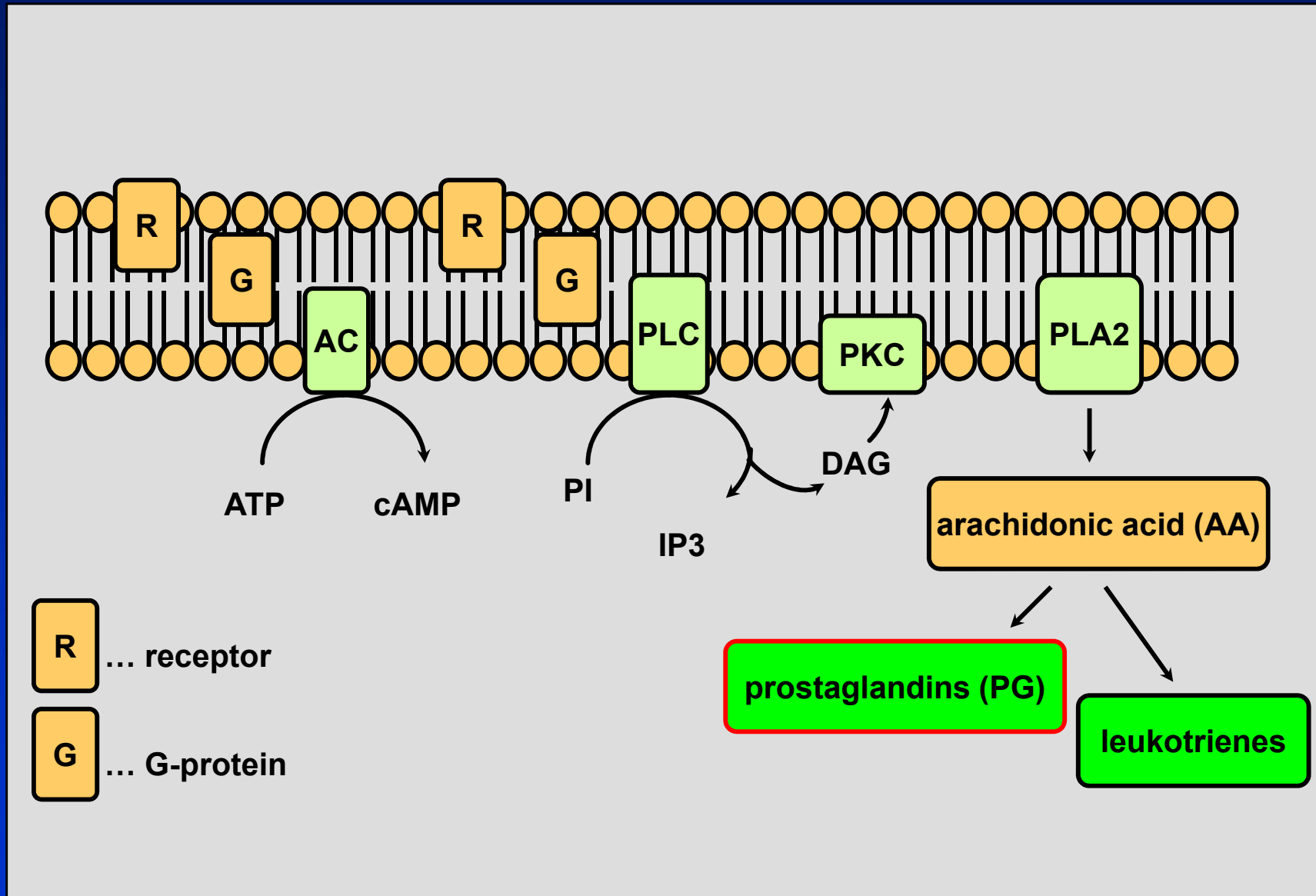
- ▶ sekretovaná PLA2 (sPLA2),
- ▶ na vápníku nezávislá PLA2 (iPLA2),
- ▶ na vápníku závislá cytosolová PLA2 (cPLA2).

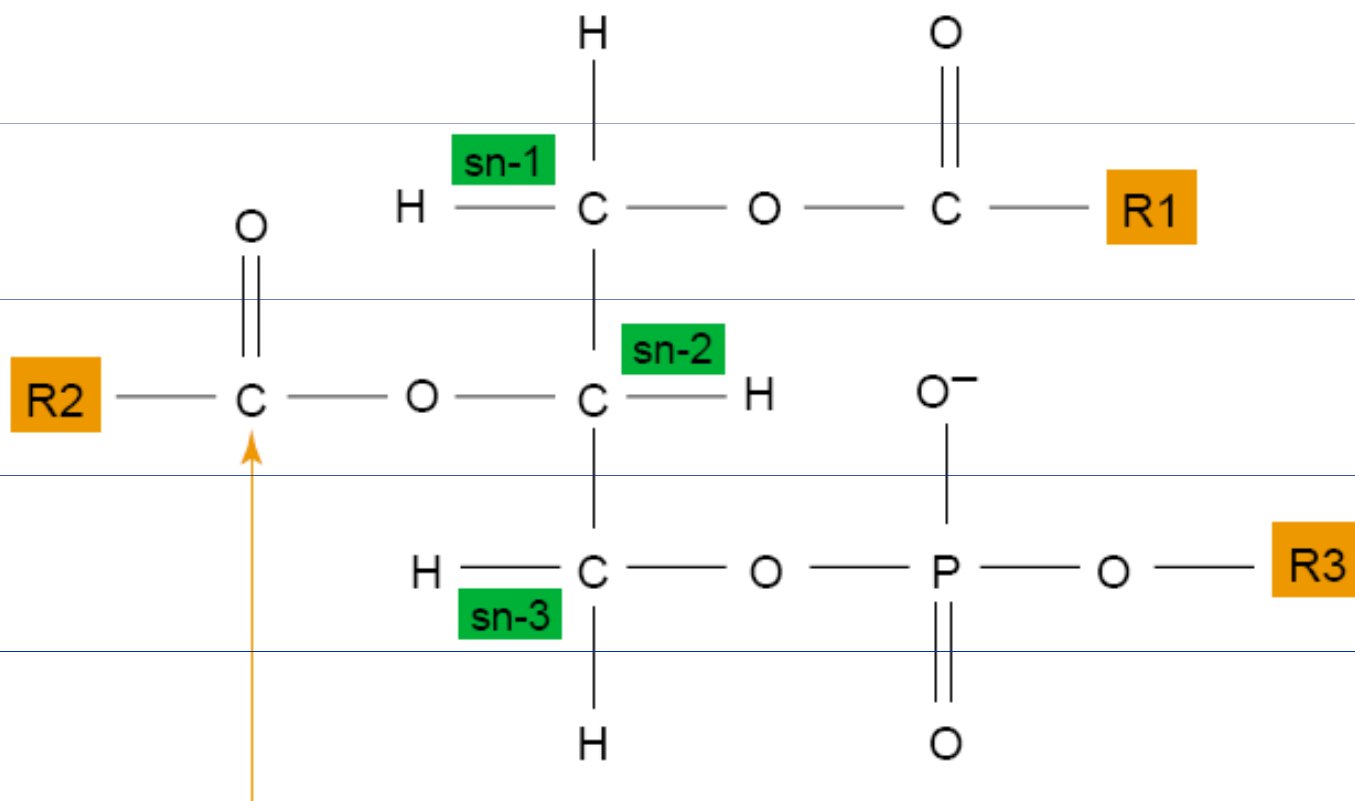
Kromě úlohy v buněčném signálování souvisejí PLA2 s různými patologickými stavy, včetně zánětu, tkáňové reparační a nádorů.

U řady nádorů jsou hladiny sPLA2 a cPLA2 zvýšeny.

PLA2 jsou také cílem protinádorové terapie

# Přenos signálu



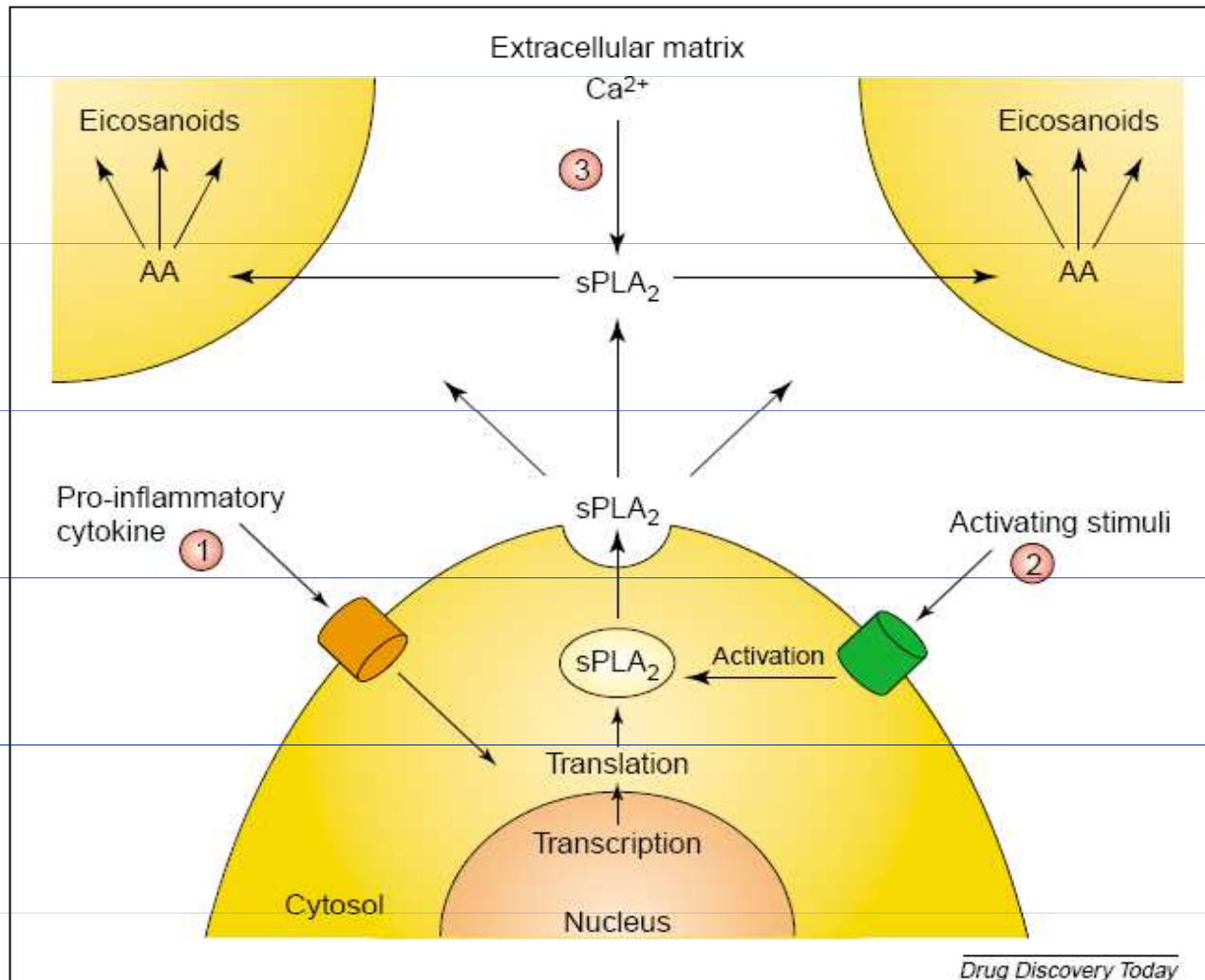


Phospholipase A<sub>2</sub>

*Drug Discovery Today*

**Figure 1.** Phospholipid structure with phospholipase A<sub>2</sub> cleavage site.

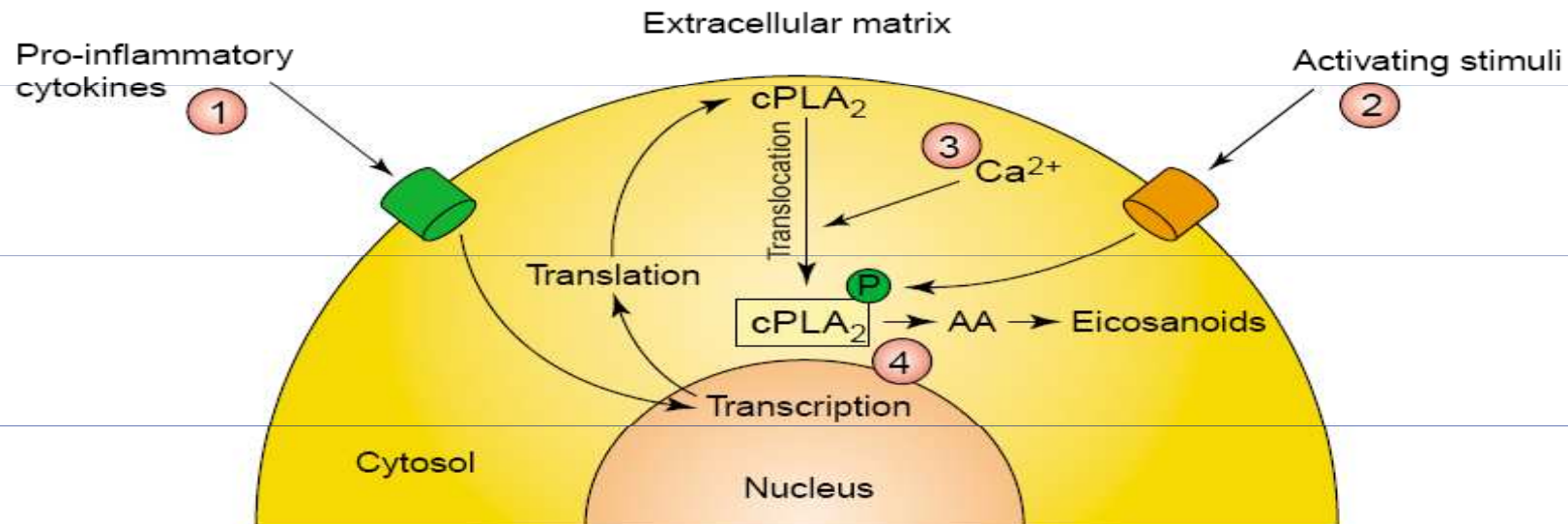




**Figure 2.** sPLA<sub>2</sub> participating in an inflammatory response. (1) Pro-inflammatory cytokines such as tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) or interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) induce cellular expression of sPLA<sub>2</sub>. (2) Activating factors cause release of sPLA<sub>2</sub> from secretory granules into the extracellular matrix. (3) In the presence of millimolar concentrations of Ca<sup>2+</sup>, sPLA<sub>2</sub> hydrolyzes membrane-bound phospholipids of neighbouring cells. Released fatty acids, such as arachidonic acid, are further metabolized into eicosanoids, generating an inflammatory response in neighbouring cells.

## sPLA<sub>2</sub> v zánětlivé odpovědi

Prozánětlivé cytokiny indukují expresi sPLA<sub>2</sub>. Aktivační faktory uvolňují sPLA<sub>2</sub> ze sekrečních granul do ECM. Za přítomnosti Ca<sup>2+</sup> sPLA<sub>2</sub> hydrolyzuje membránové fosfolipidy sousedních buněk. Uvolnění AA a následná tvorba eikosanoidů indukuje zánět.



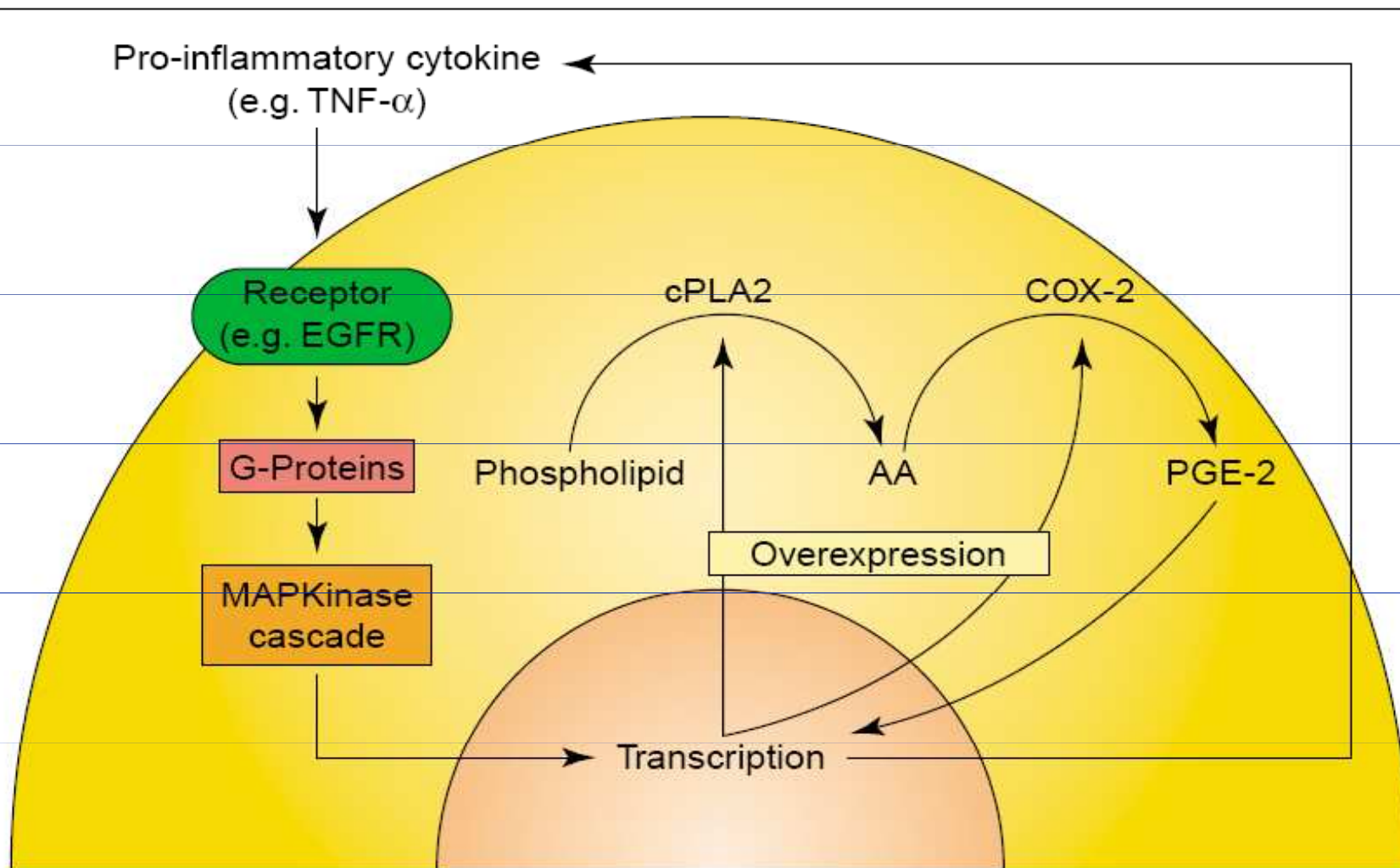
*Drug Discovery Today*

**Figure 3.** Activation of cPLA<sub>2</sub>-α. (1) Pro-inflammatory cytokines including tumour necrosis factor α induce expression of cPLA<sub>2</sub>-α. (2) Activation leads to mitogen-activated protein kinase-pathway-directed phosphorylation of cPLA<sub>2</sub>-α. (3) Extracellular influx or mobilization of intracellular stores of Ca<sup>2+</sup> bring about cPLA<sub>2</sub>-α translocation from the cytosol to perinuclear membranes. This brings cPLA<sub>2</sub>-α in close proximity to both its substrate and enzymes involved with eicosanoid synthesis. (4) Activated cPLA<sub>2</sub>-α lyses membrane phospholipids providing arachidonic acid (AA) to a range of enzymes involved with eicosanoid synthesis, specifically COX and LOX.

### Aktivace cPLA2

Prozánětlivé cytokiny indukují expresi cPLA2. Následuje fosforylace zprostředkovaná MAP kinázami. Ca<sup>2+</sup> způsobuje translokaci cPLA2 z cytosolu do perinukleární membrány, kde je také její substrát a enzymy nutné k tvorbě eikosanoidů. Aktivovaná cPLA2 lyzuje membránové fosfolipidy a uvolňuje AA, která je metabolizovaná COX a LOX.

# Model konstitutivní overexprese cPLA<sub>2</sub> a COX-2 u nádorových buněk



*Drug Discovery Today*

**Figure 4.** Model of constitutive overexpression of cPLA<sub>2</sub> and COX-2 in tumour cells (reviewed in [4]).

# Metabolismus kyseliny arachidonové

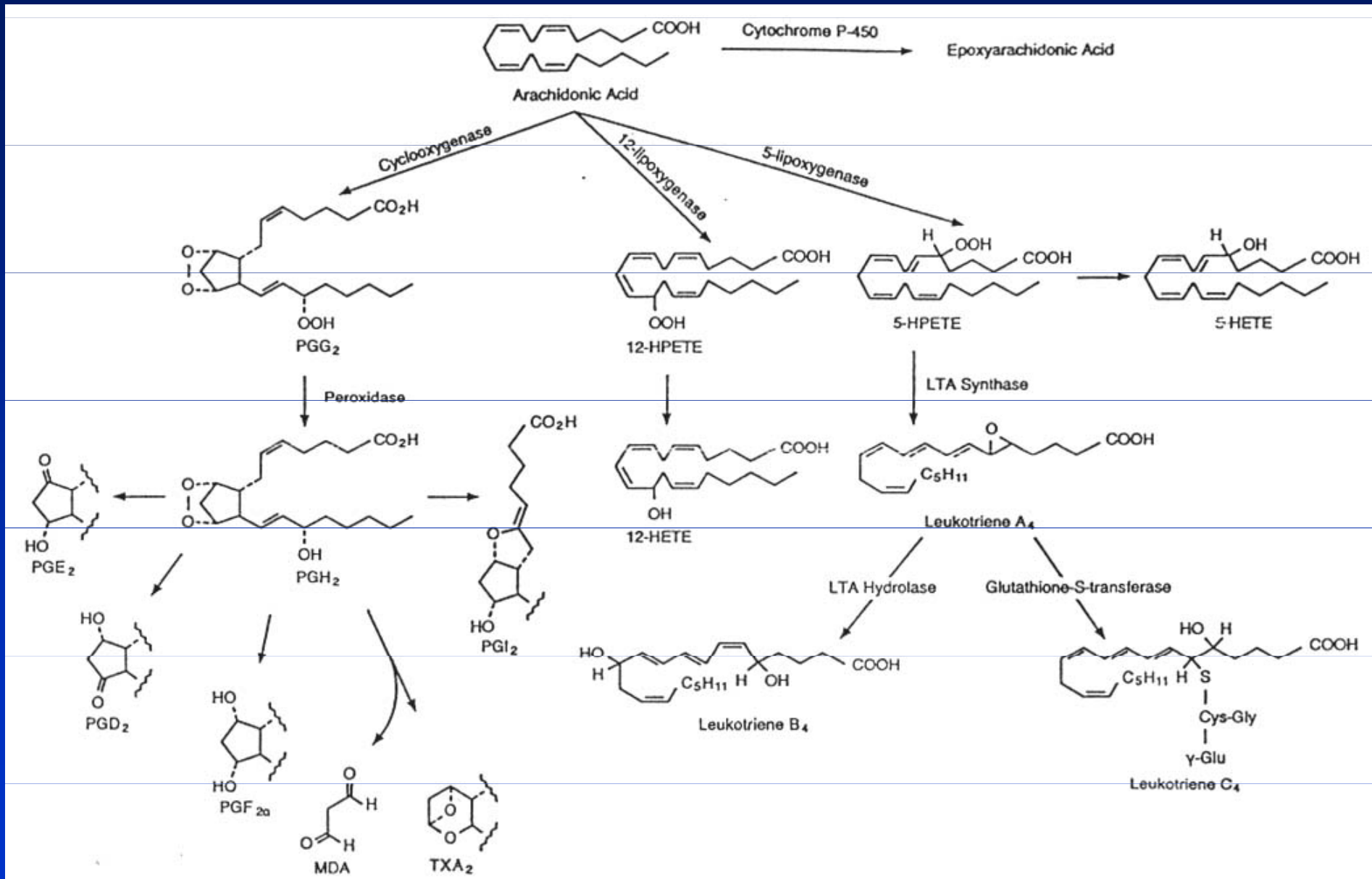
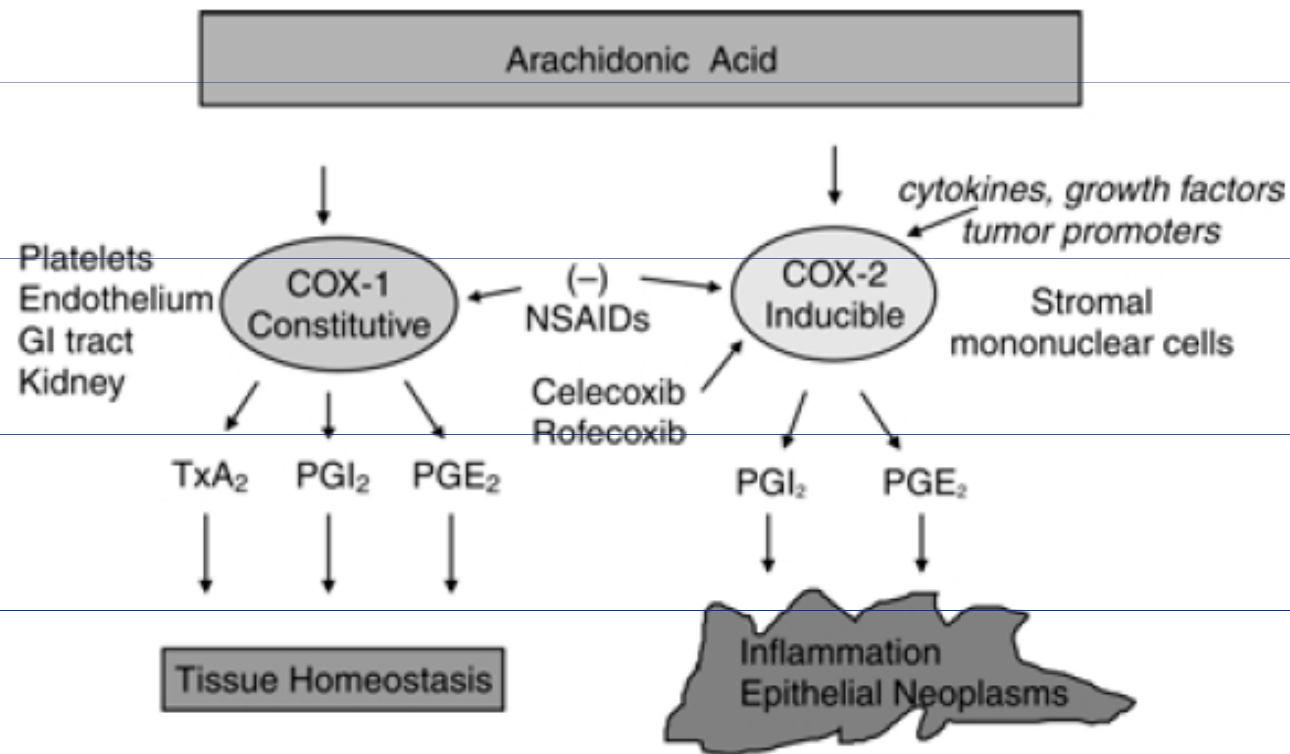


Fig. 1 Cyclooxygenase and lipoxygenase pathways of AA metabolism. Metabolites of cyclooxygenase pathway are called prostaglandins G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>), E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), malondialdehyde (MDA), and prostacyclin (PGI<sub>2</sub>). Metabolites of the lipoxygenase pathway are called 12- and 5-hydroperoxyeicosatetraenoic acids (HPETEs), and their corresponding fatty acids (HETEs). Leukotriene A synthase (LTA synthase) generates the leukotrienes.

# Cyklooxygenázové dráhy





*Figure 1.* COX isoforms include constitutive COX-1 which is involved in normal tissue homeostasis and inducible COX-2 which is upregulated at sites of inflammation and in colorectal neoplasms. NSAID inhibit both COX isoforms, whereas COX-2 inhibitors are selective for the COX-2 enzyme. TxA<sub>2</sub> = - thromboxane.

*Table 1. Mediators of Oxidative Stress*

**Reactive Oxygen Species**

**Free radicals**

**Hydroxyl radical (HO·)**

**Superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)**

**Nonradicals**

**Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

**Singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)**

**Lipid Peroxidation Products**

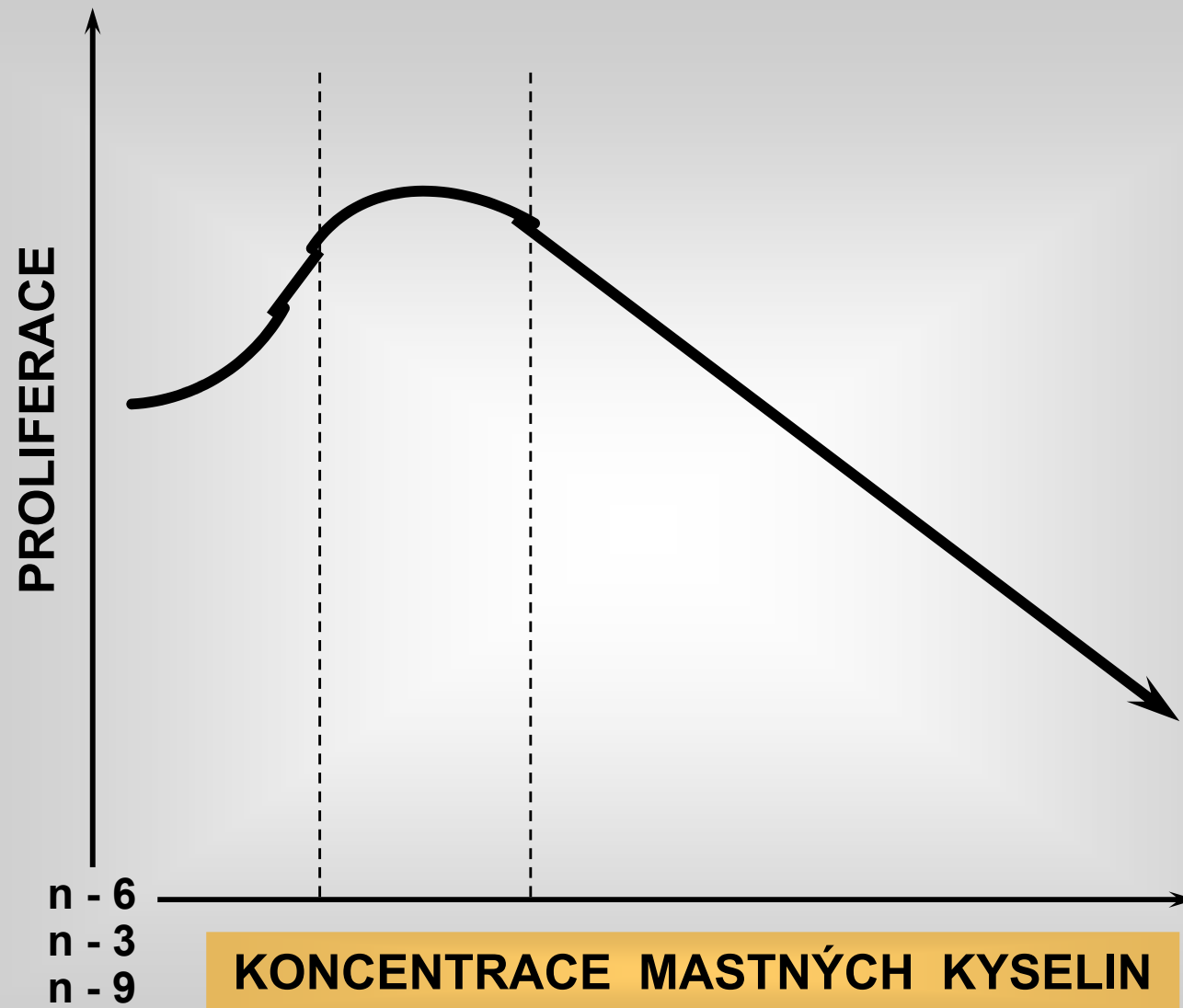
**Peroxyl radical (ROO·)**

**Alkoxy radical (RO·)**

**Secondary Products**

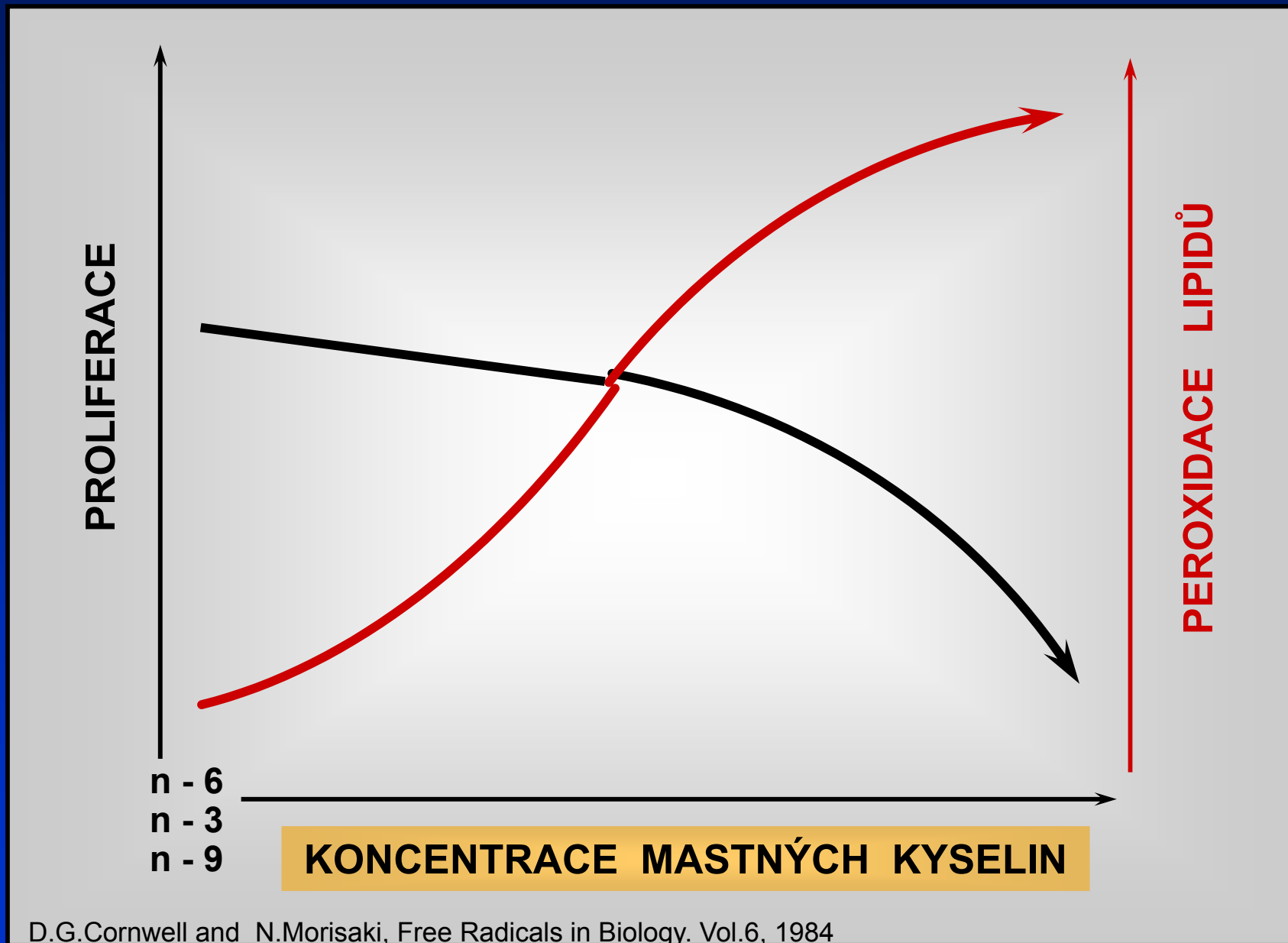
**Malondialdehyde**

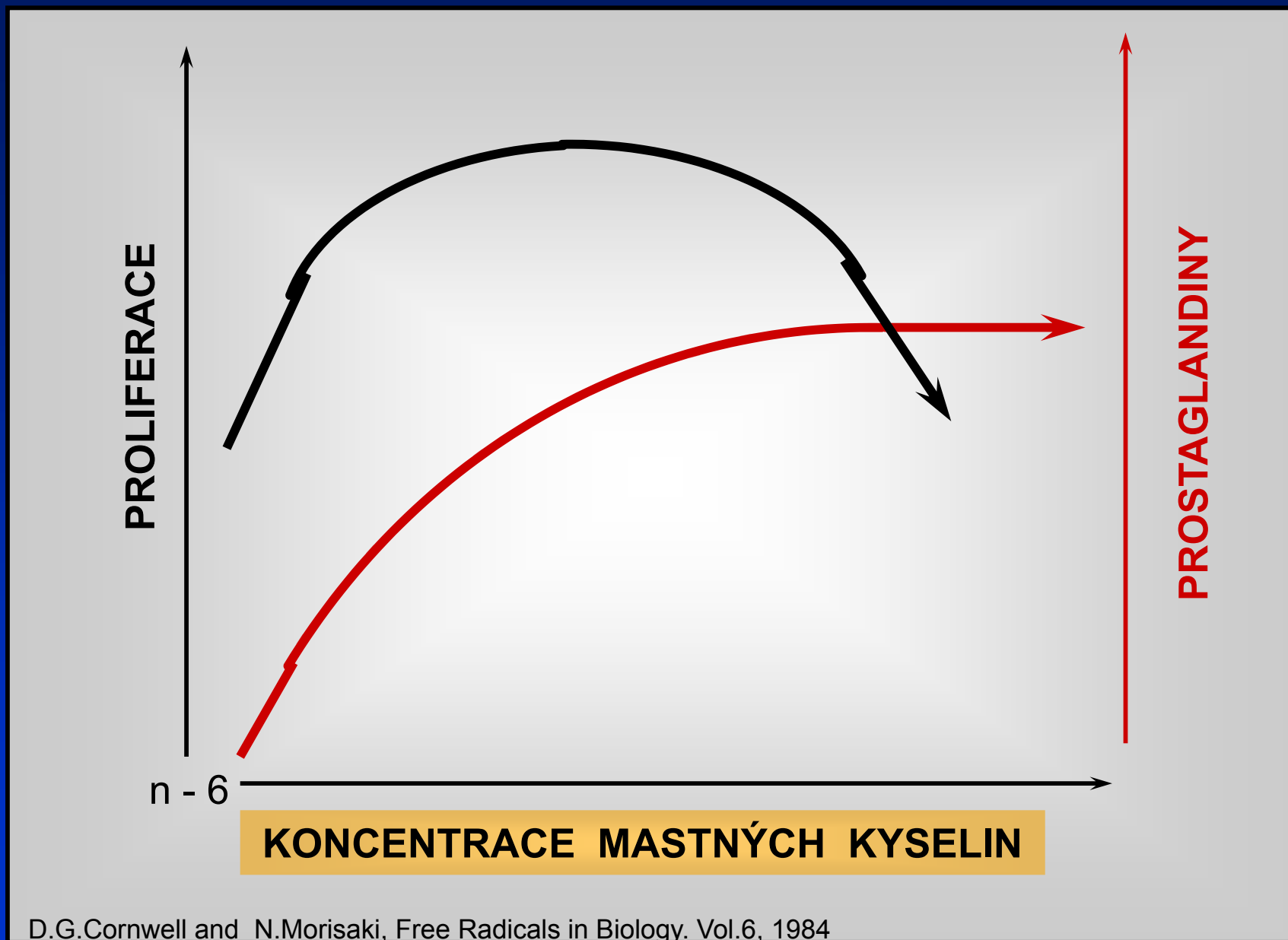
**4-Hydroxyalkenals**



D.G.Cornwell and N.Morisaki, Free Radicals in Biology, Vol.6, 1984







# Cytotoxicita indukovaná EFA a její vztah k superoxidovým radikálům a produktům degradace hydroperoxidu

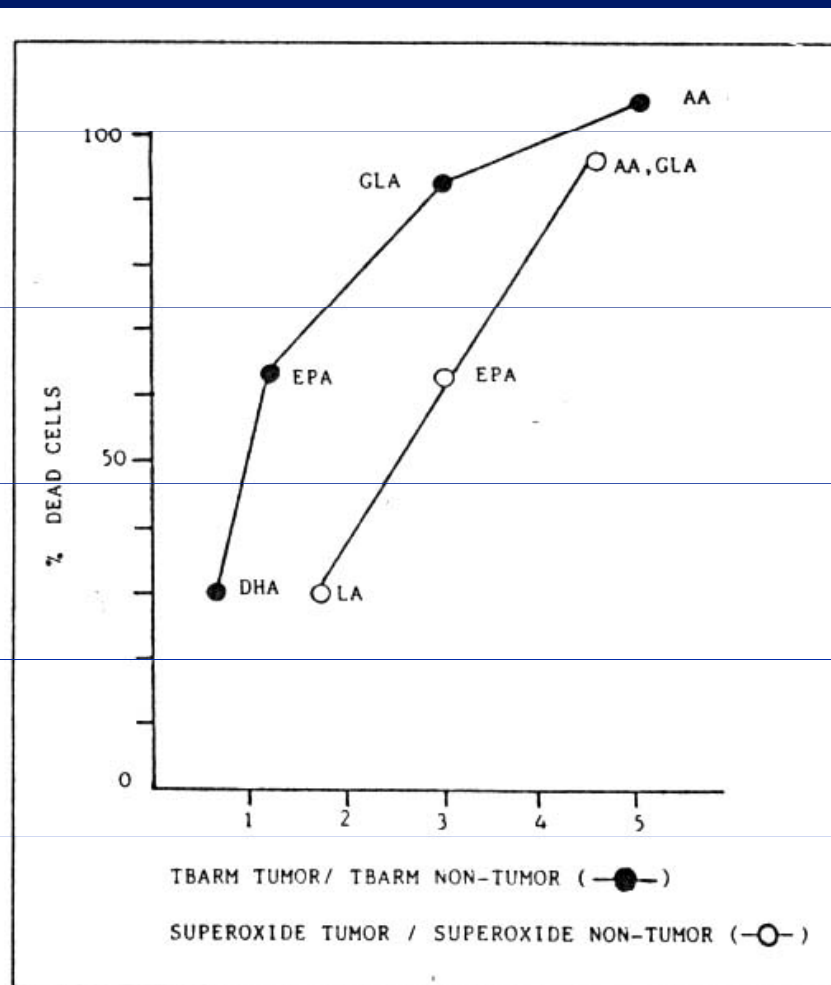


Fig. 2. EFA-induced cytotoxicity and its relationship to superoxide radicals and hydroperoxide degradation products. Human breast tumor (ZR-75-1) cells and non-tumorigenic human skin fibroblasts (CCD-41SK) were exposed to EFAs as described in Table I. Cell viability and hydroperoxide degradation products were determined 6 days after supplementation. Superoxide radicals were determined by nitroblue tetrazolium reduction 3 days after supplementation. Hydroperoxide degradation products were estimated by the amounts of thiobarbituric acid reactive material expressed as malonaldehyde-equivalent (fmole/cell).

# Chronická zánětlivá onemocnění spojená s malignitou

Nádor	Zánětlivé onemocnění
Lymfomy	HIV, Epstein-Barr and Herpes 8 virus, host vs. graft disease
Kolon	Ulcerativní kolitida
Plíce	Astma, chronická bronchitida
Ovaria	zánět ovariálního epitelu
Moč. měchýř	Eosinofilní cystitida, schistosomiasis
Slinivka	Pancreatitis
Spojení jícnu a žaludku	Barretův jícen
Žaludek	infekce <i>Helicobacter pylori</i>
Játra	Sarcoidosis, hepatitis B virus
Děložní čípek	Lidský papilloma virus
Mesotheliom	Expozice azbestovým vláknům



**Mechanismus imunomodulačních a protizánětlivých účinků  
 $\omega$ -3 mastných kyselin**

n-3 PUFA

složení mastných kyselin v membránových fosfolipidech  
molekuly membránových fosfolipidů  
třídy membránových fosfolipidů

fluidita membrán

interakce ligand - receptor

funkce G-proteinu

funkce fosfolipáz A2, C, D

funkce tyrosin kináz, fosfatáz

IP<sub>3</sub>

PUFA

molekuly DAG

molekuly fosfatidové kyseliny

hladiny intracelulárního Ca

funkce protein kináz např. PKC

funkce proteinových fosfatáz

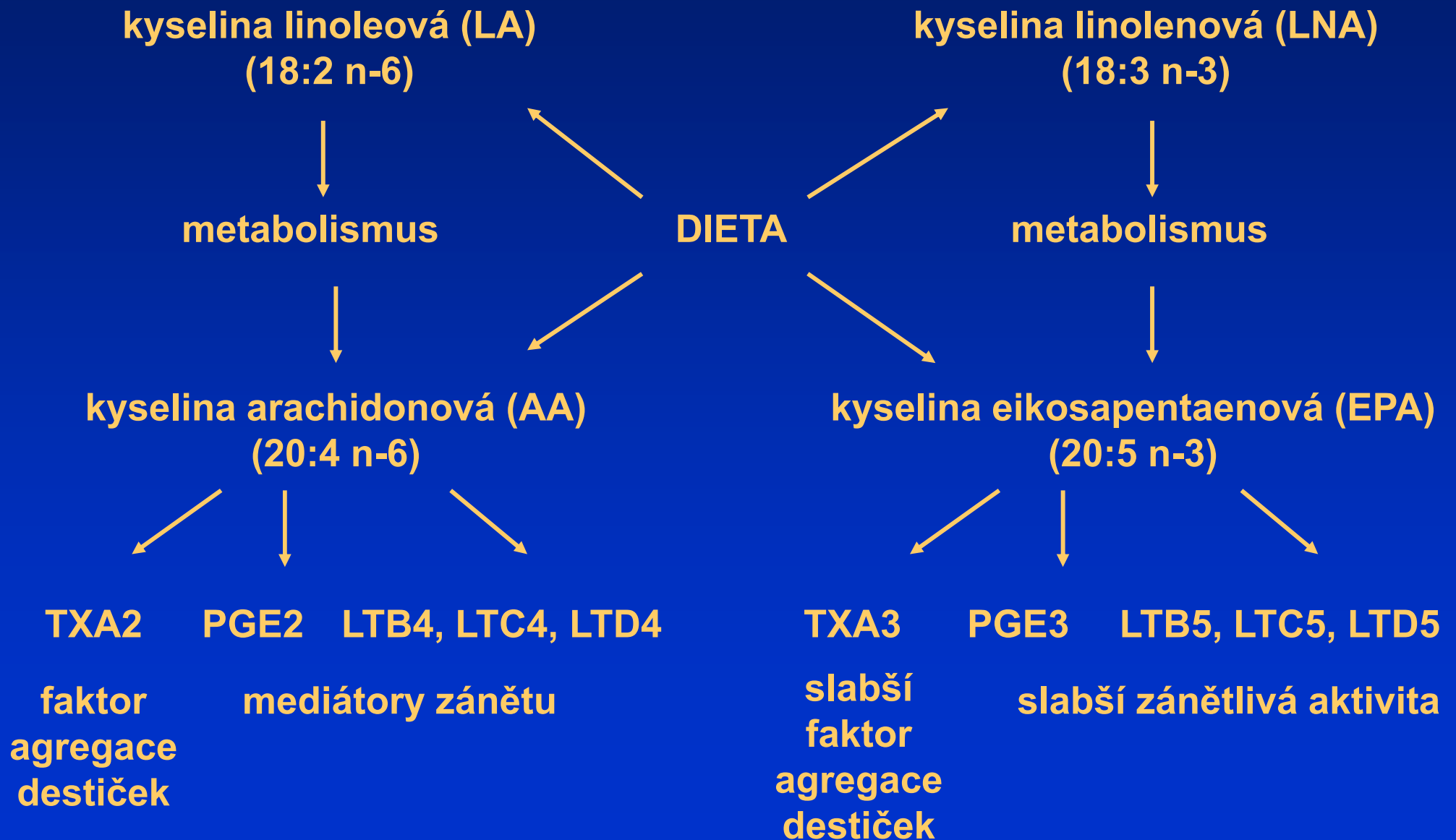
další signální systémy např. přes cAMP, cGMP

funkce transkripčních faktorů

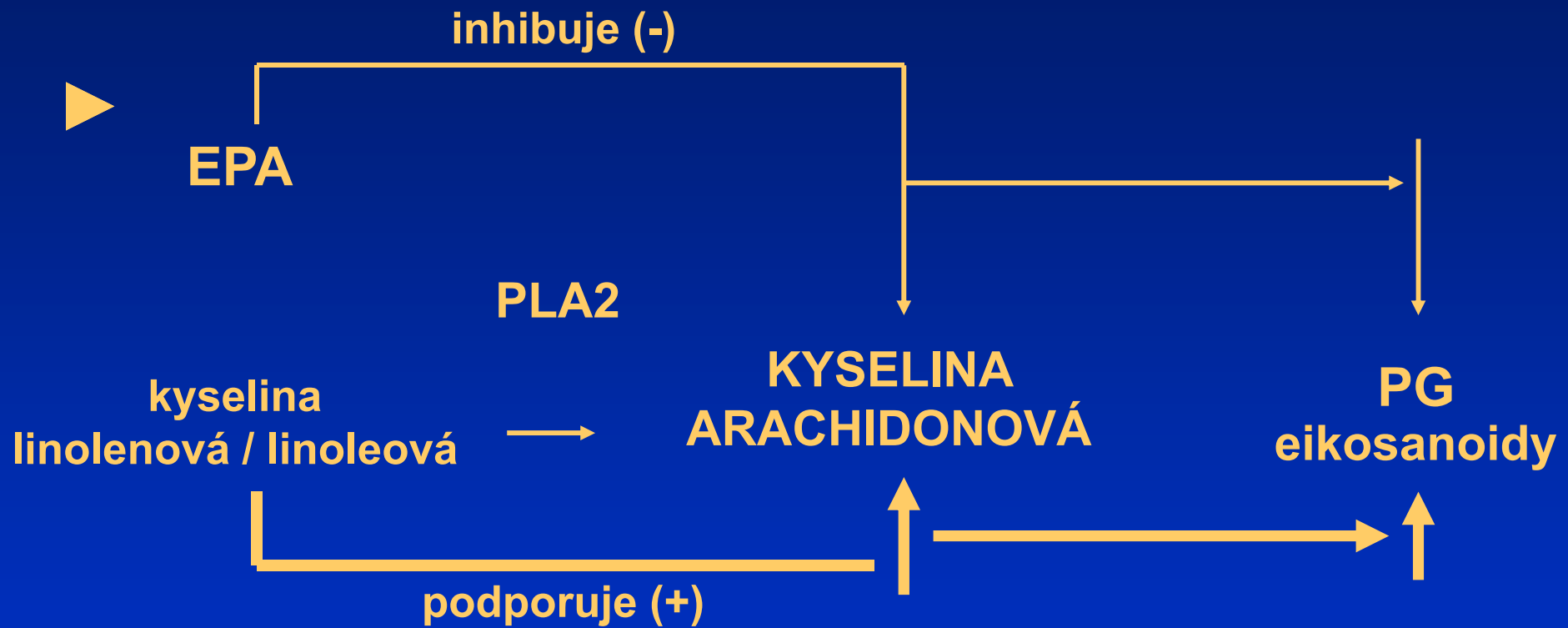
steroidní hormony



# Interakce n-3 PUFA s AA při syntéze eikosanidů s prozánětlivou aktivitou

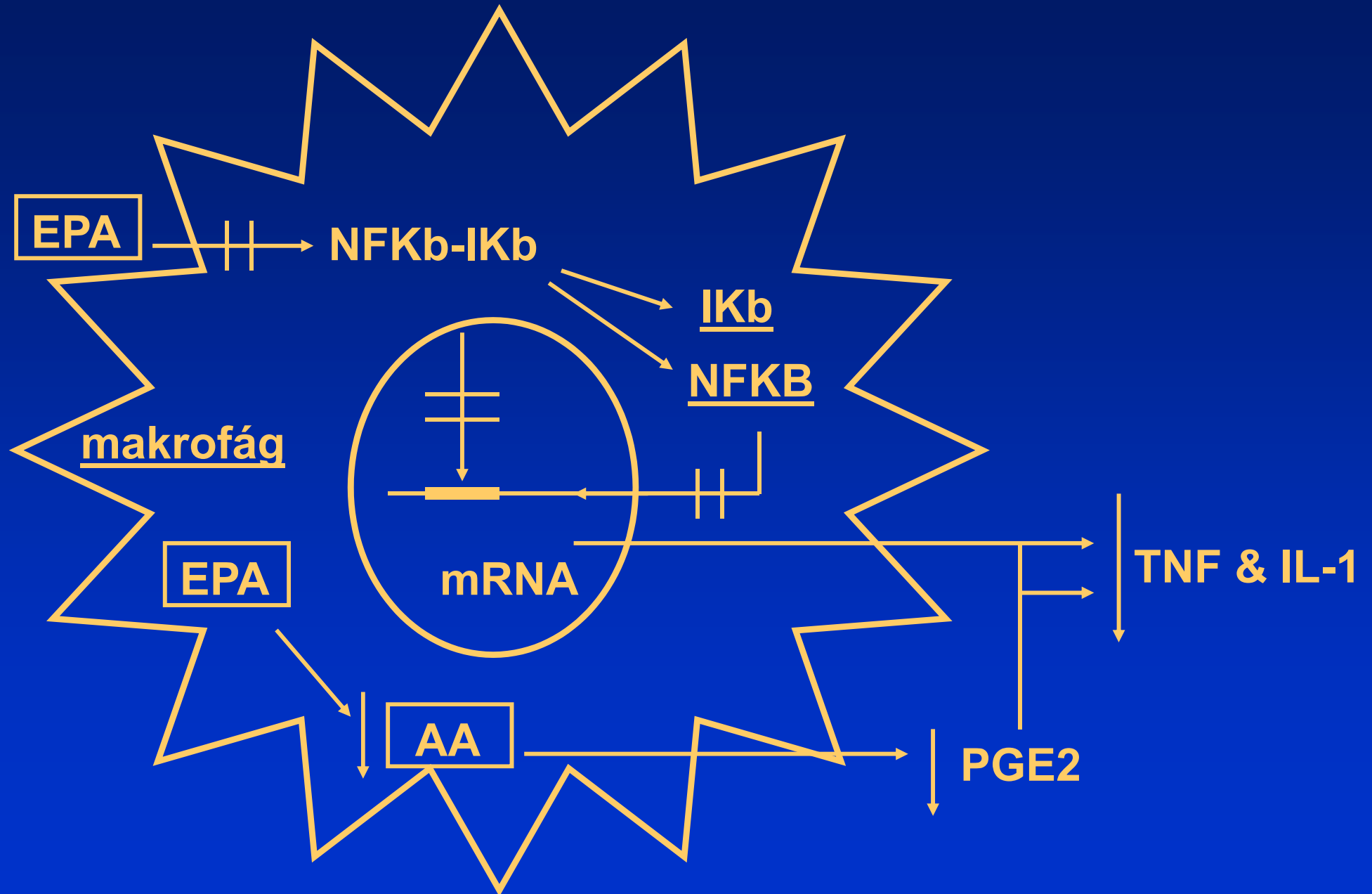


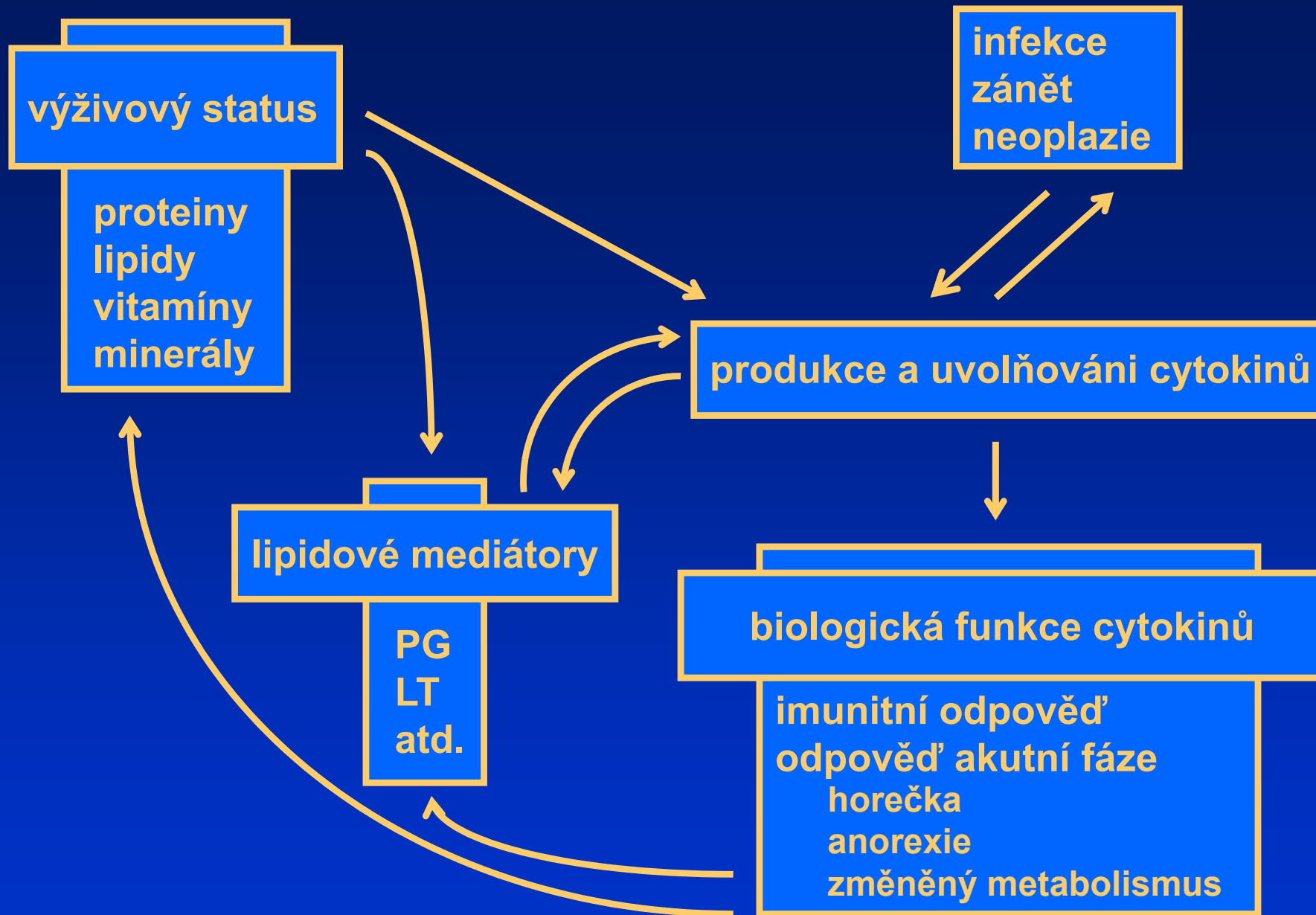
# Protizánětlivé působení n-3 PUFAs





# Makrofág





**Vzájemné vztahy mezi výživou a infekčními a zánětlivými chorobami zprostředkovanými cytokiny**

# DIETETICKÁ DOPORUČENÍ

Zdraví a prevence chorob  
(nedostatek a nadbytek potravy, správná výživa)

Terapeutické využití – nutriční farmakologie  
(adjuvantní terapie, „disease specific nutrition“, nosiče léků)

Parenterální a enterální výživa

## Složení a využití lipidových emulzí

Směsi přírodních olejů (sojový –LCT, kokosový – MCT), emulgované fosfolipidy (vaječný lecitin, sojové fosfolipidy), izotonizační přísada (glycerol)

Tukové částice podobné chilomikronům

**Parenterální výživa** – emulze součást tzv. „all-in-one“ vaků

**Funkce** - zdroj energie a esenciálních MK

Na základě nových poznatků o regulační úloze lipidů využití jako farmaka

**Enterální a orální výživa**

**Nutrition pharmacology**

**Disease-specific nutrition**

## Obsah mastných kyselin v tucích obilovin a luštěnin

Tab. 24. Obsah mastných kyselin v tucích obilovin a luštěnin (Davídek a kol., 1983)

Mastná kyselina	Počet C : dvoj. vazbám	Obsah % z veškerých mastných kyselin				
		Pšenice	Žito	Oves	Rýže	Sója
Palmitová	16:0	14 - 17	2 - 6	10	13 - 16	7 - 10
Stearová	18:0	1 - 3	3 - 8	2	1 - 2	2 - 5
Olejová	18:1	20 - 45	18 - 35	59	42 - 52	22 - 30
Linolová E	18:2	40 - 50	48 - 61	31	29 - 40	50 - 60
Linolenová E	18:3	2 - 3	1 - 2	0	stopy	5 - 9

E = esenciální (nezbytné)

## Obsah mastných kyselin v rostlinných olejích

Tab. 23. Obsah mastných kyselin v důležitých rostlinných olejích (Davídek a kol., 1983)

Mastná kyselina	Počet C : dvojj. vazbám	Obsah % z veškerých mastných kyselin					
		Sójový olej	Slunečnicový	Olivový	Podzemnicový	Řepkový	Ř. bezeruk.
Myristová	14:2	0 - 0,2	0,1 - 0,3	0 - 0,2	0,3 - 0,5	0,1 - 0,3	0 - 2
Palmitová	16:0	7 - 10	3,5 - 7,5	11 - 14	6 - 12	2,5 - 4,2	4,0 - 5,2
Stearová	18:0	2 - 5	2,4 - 3,0	2 - 3	2,8 - 6,3	0,2 - 1,0	0,9 - 1,8
Arachová	20:0	0,2 - 1,0	0,5 - 0,7	0,1 - 0,4	1,6 - 2,8	0,2 - 0,5	0,9 - 1,2
Palmitoolej.	16:1	0,0 - 0,5	0,2 - 1,0	0,2 - 0,6	0,9 - 2,4	0,1 - 1,3	0,2 - 0,4
Olejová	18:1	22 - 30	30 - 39	70 - 78	42 - 72	9,1 - 12,5	54 - 60
Ikosenová	20:1	0	0	0,1 - 0,4	0	6,1 - 9,5	0,3 - 3,8
Eruková	22:1(13)	0	0	0	0	45 - 64	0,3 - 0,6 <sup>+</sup>
Linolová E	18:2	50 - 60	46 - 65	5 - 12	13 - 33	8,2 - 15,9	19 - 25
Linolenová E	18:3	5 - 9	0 - 0,8	0,2 - 0,8	0,5 - 5,0	5,1 - 11,6	8 - 11

E = esenciální (nezbytné)

<sup>+</sup> v našich podmínkách do 5 %

# Příklady a mechanismy působení vysoce nenasycených mastných kyselin třídy n-6 a n-3

Působení n-3 vs. n-6 MK

Působení na proliferaci a smrt normálních a nádorových buněk

Interakce s růstovými faktory

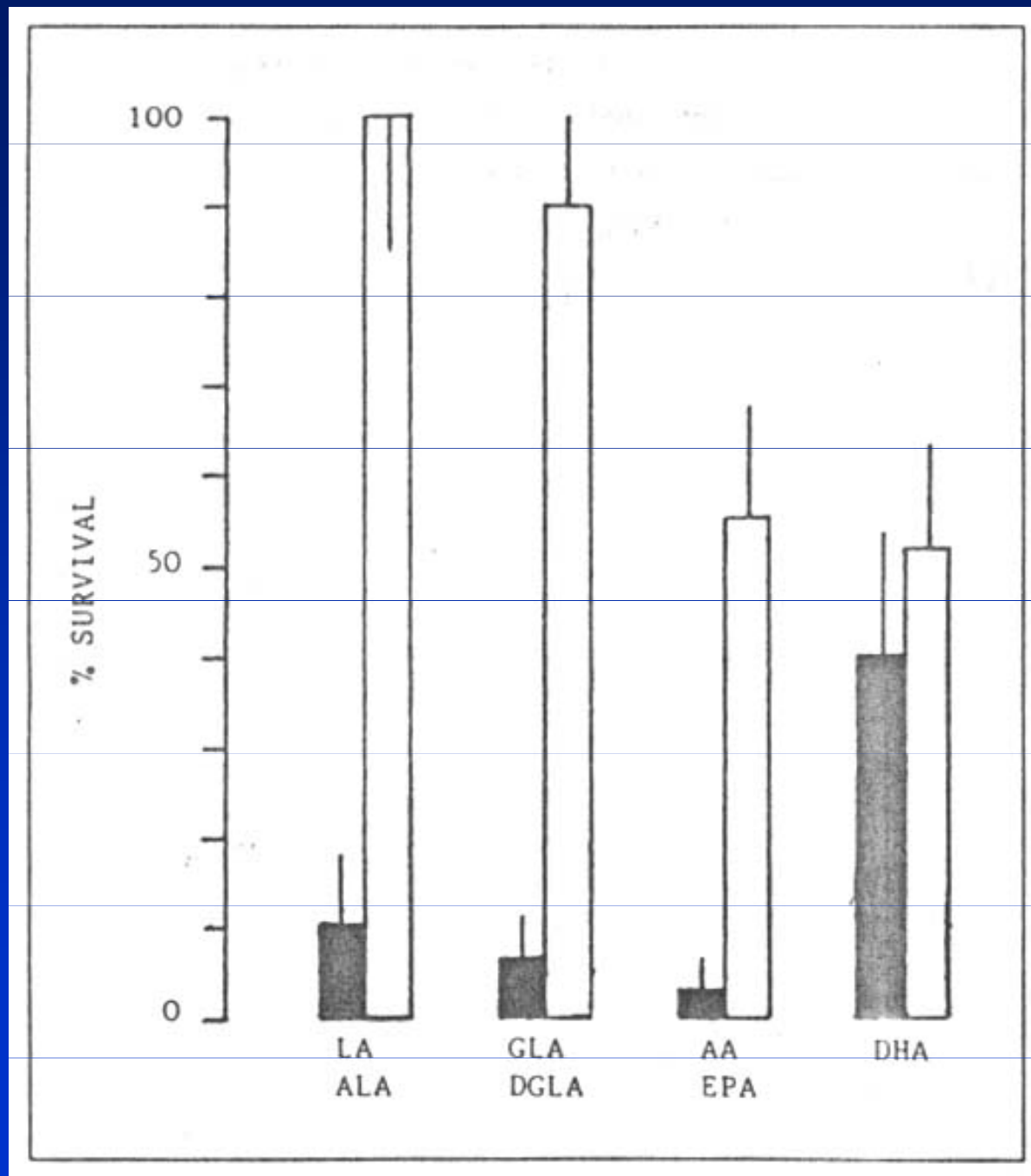
Spolupůsobení s jinými agens

Metabolismus kyseliny arachidonové

Úloha cyklooxygenázy 2

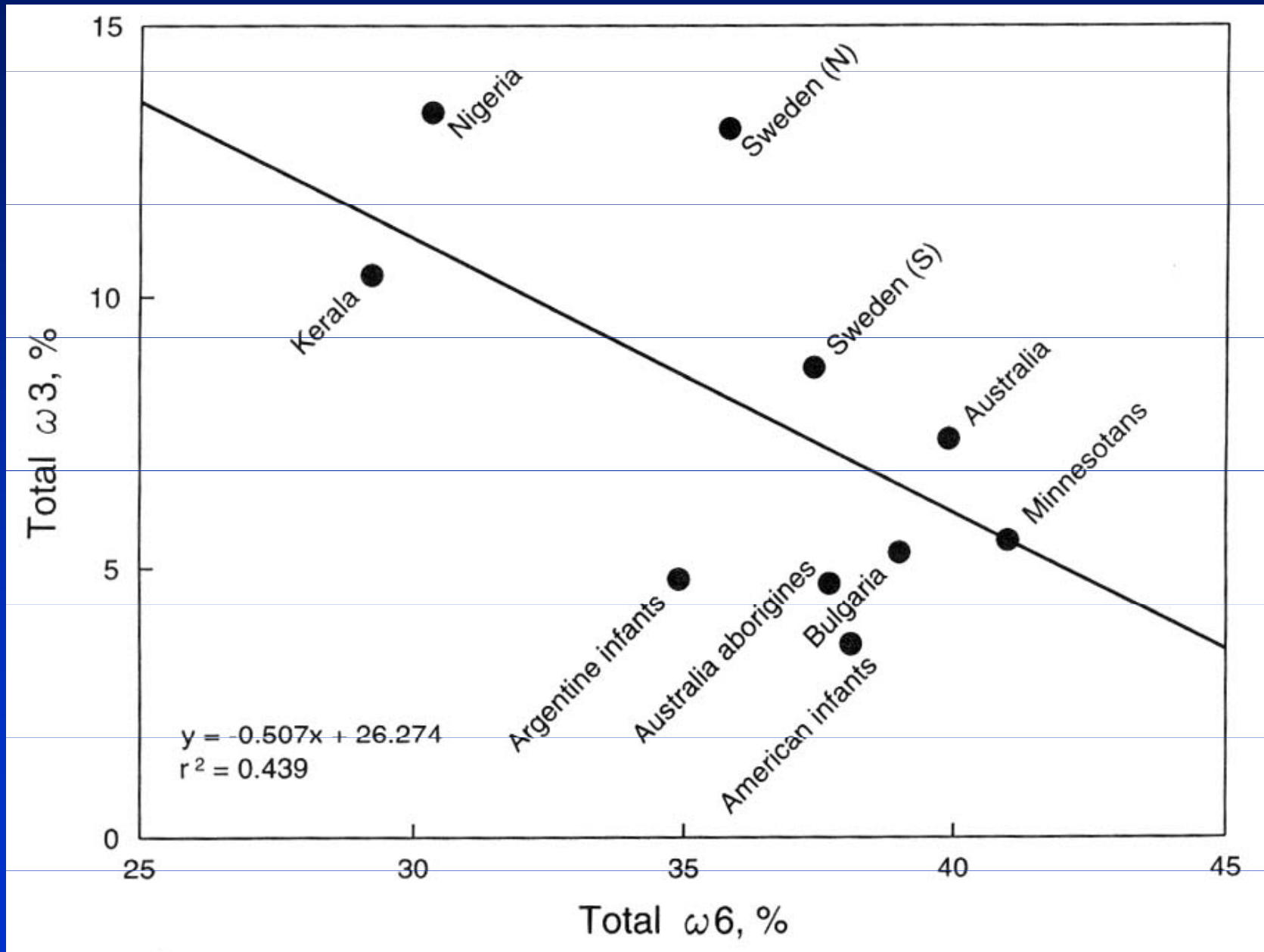
Inhibitory metabolismu AA v terapii

## Cytotoxické účinky n-3 and n-6 EFA na nádorové a nenádorové buňky



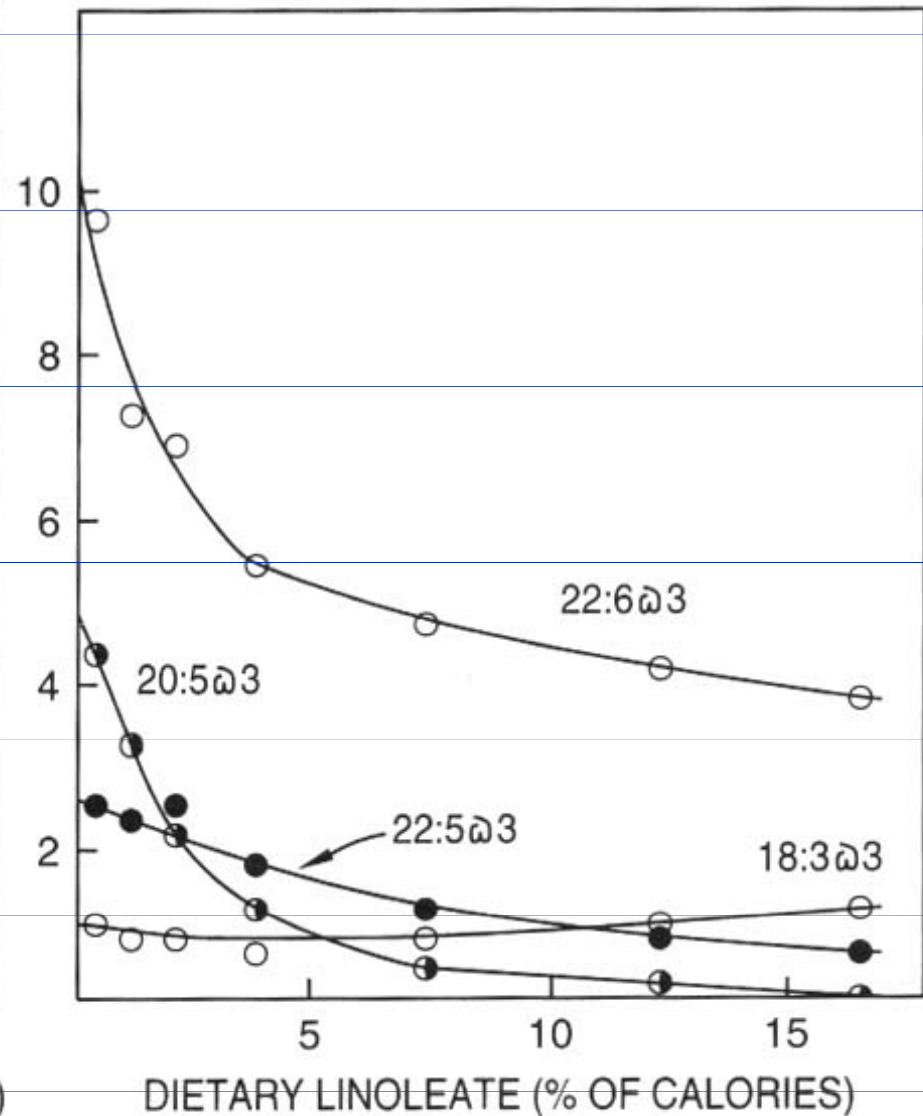
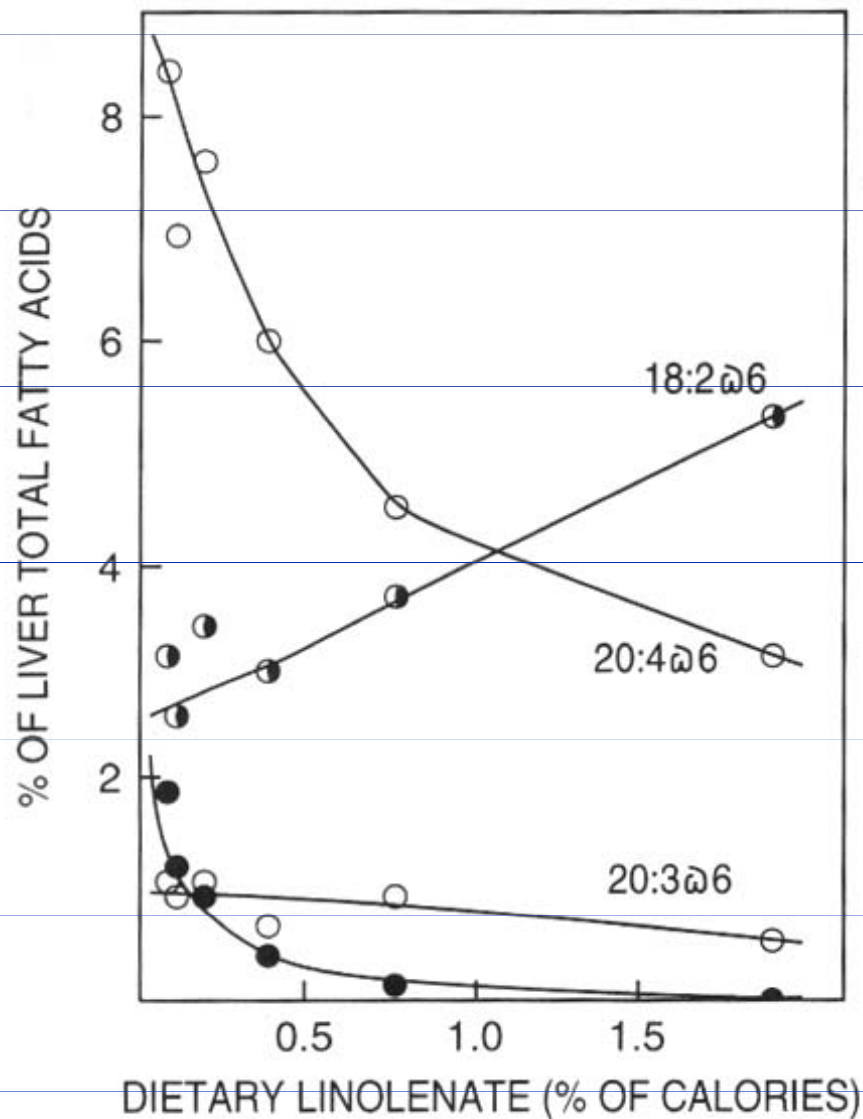


# Celkové n-3 kyseliny vs. celkové n-6 kyseliny ve fosfolipidech v plasmě u 10 populací

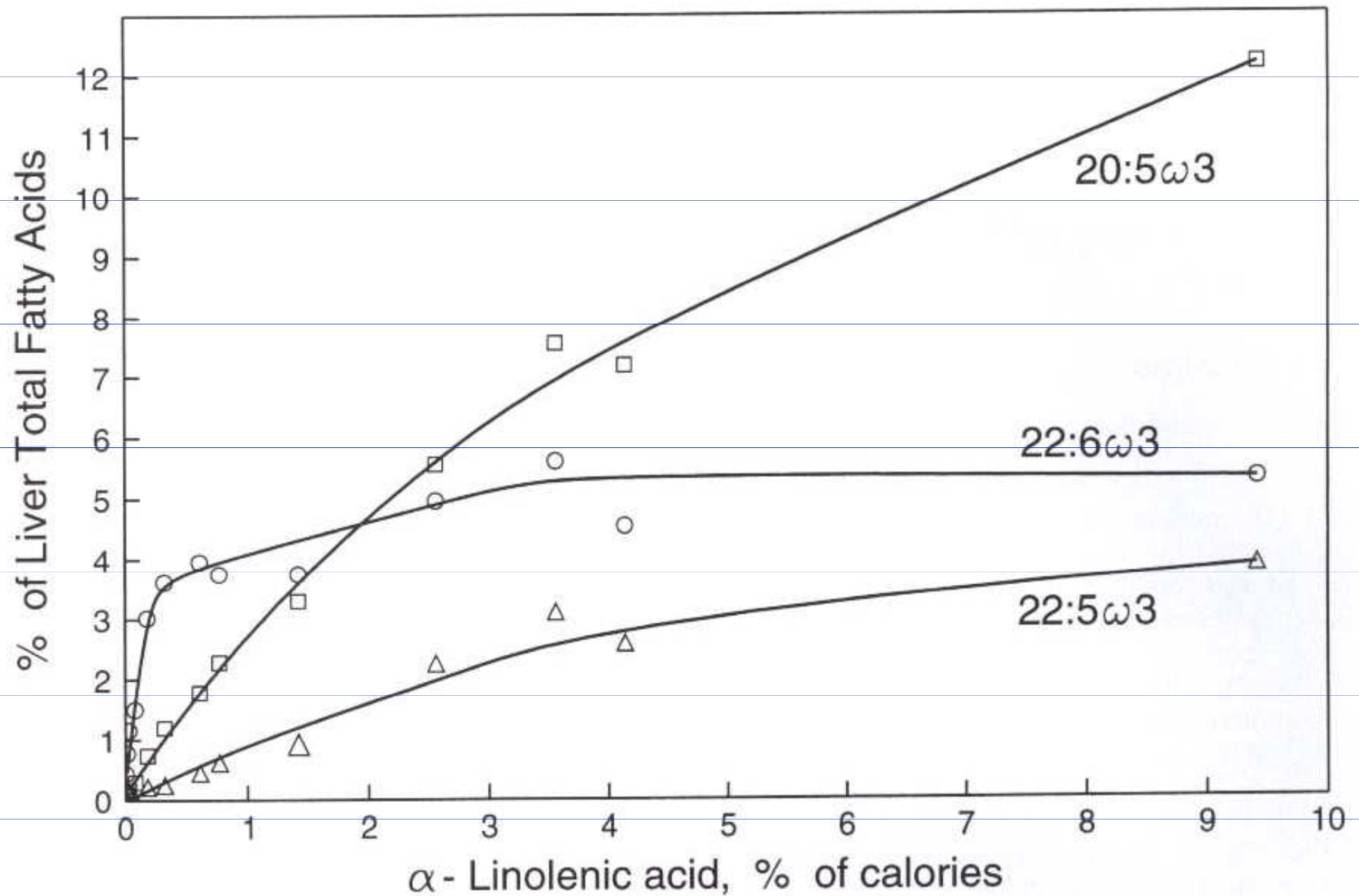


# Účinky kys. linolenové a linoleové z potravy

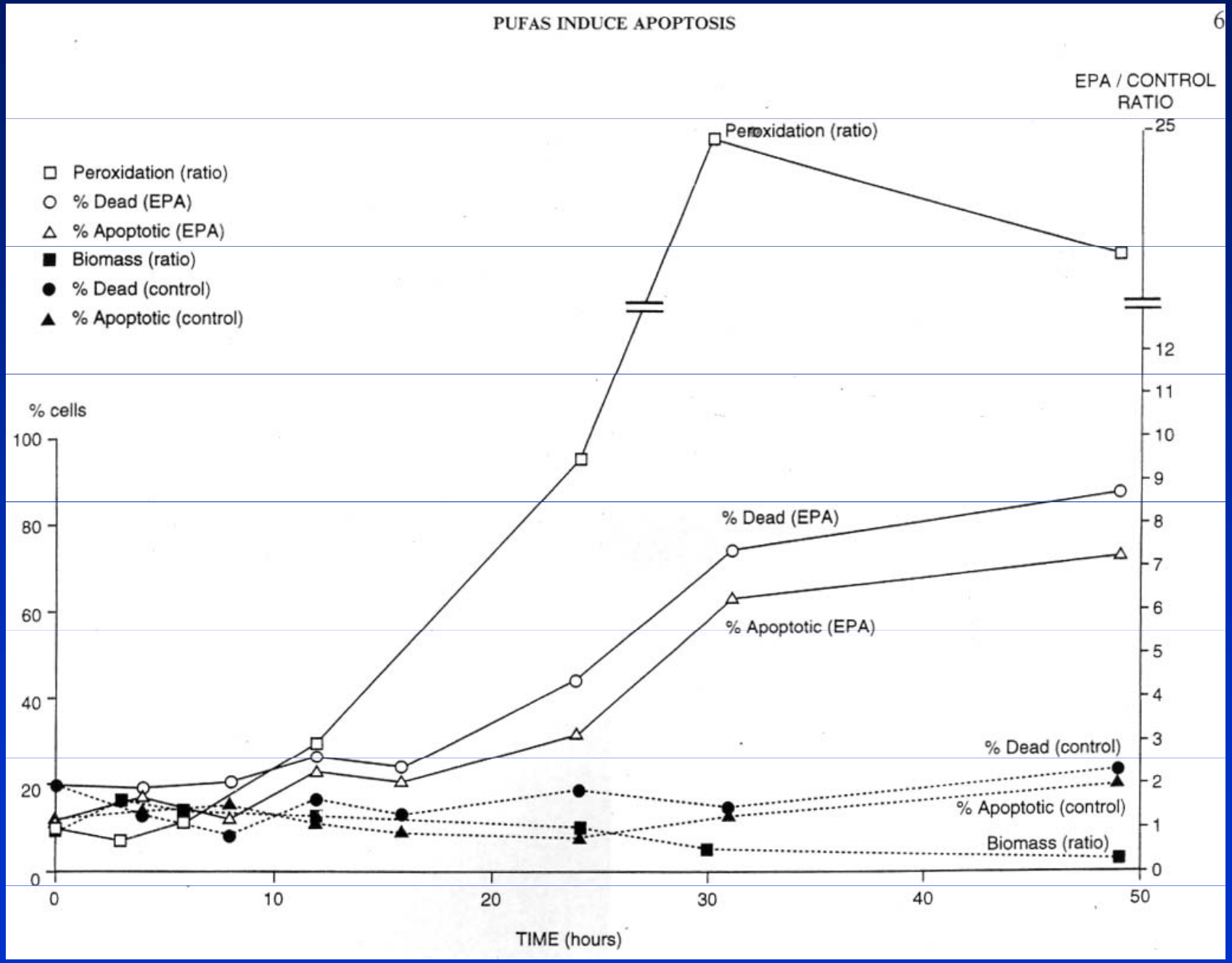
## Změny mastných kyselin v játrech



# Účinky dietetické hladiny alfa-linolenové kyseliny na obsah jejích metabolitů v jaterních lipidech



# Časový průběh účinků kyseliny eikosapentaenové (n-3) na buňky



## Suprese růstu buněk nádoru prsu EPA a DHA

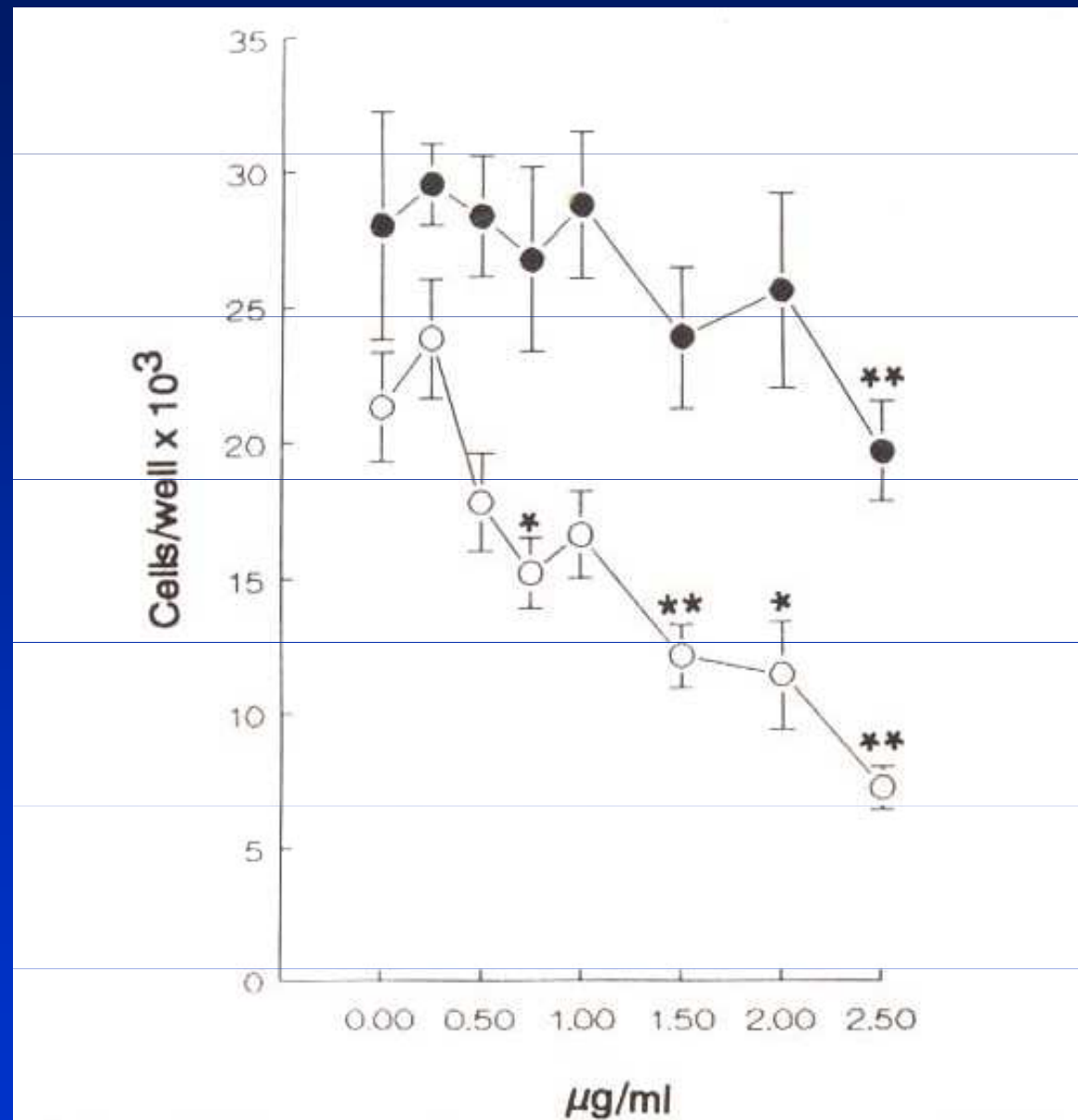


Fig. 2. Suppression of growth of the MDA-MB-231 breast cancer cell line by EPA (●) and DHA (○). Points, mean values for triplicate wells; bars, SE. Cell number reduced significantly compared with control: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

## Účinky LA a OA na růst buněk nádoru prsu

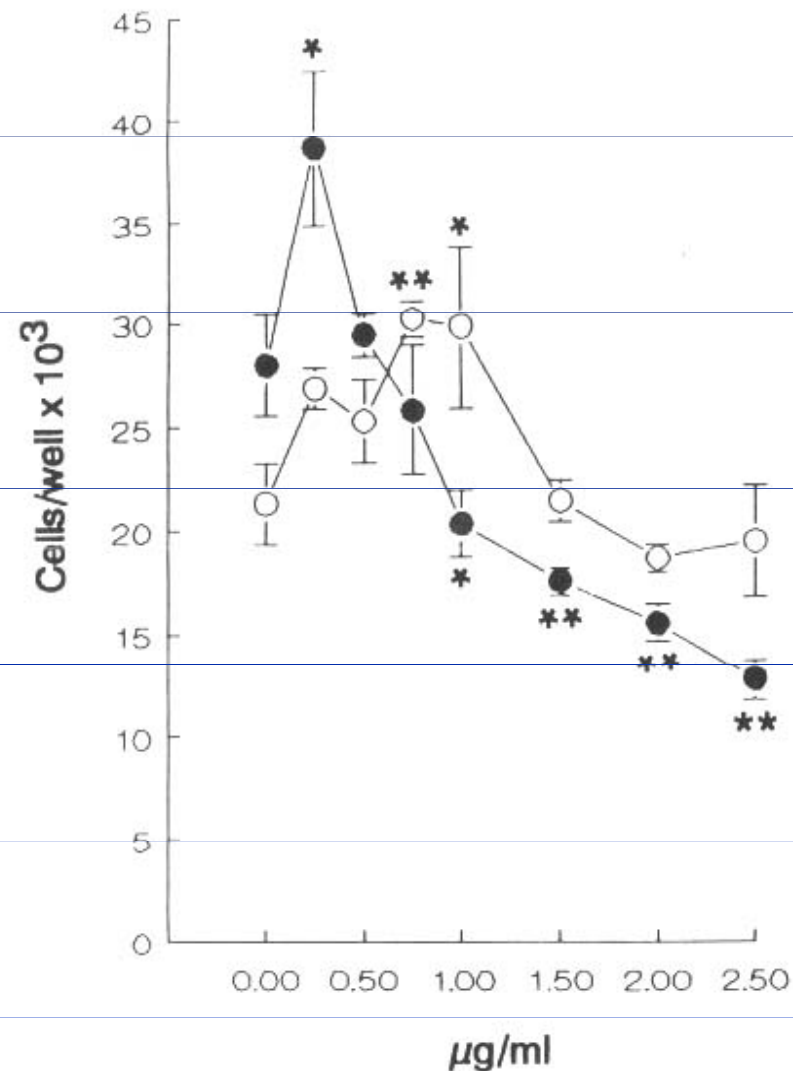
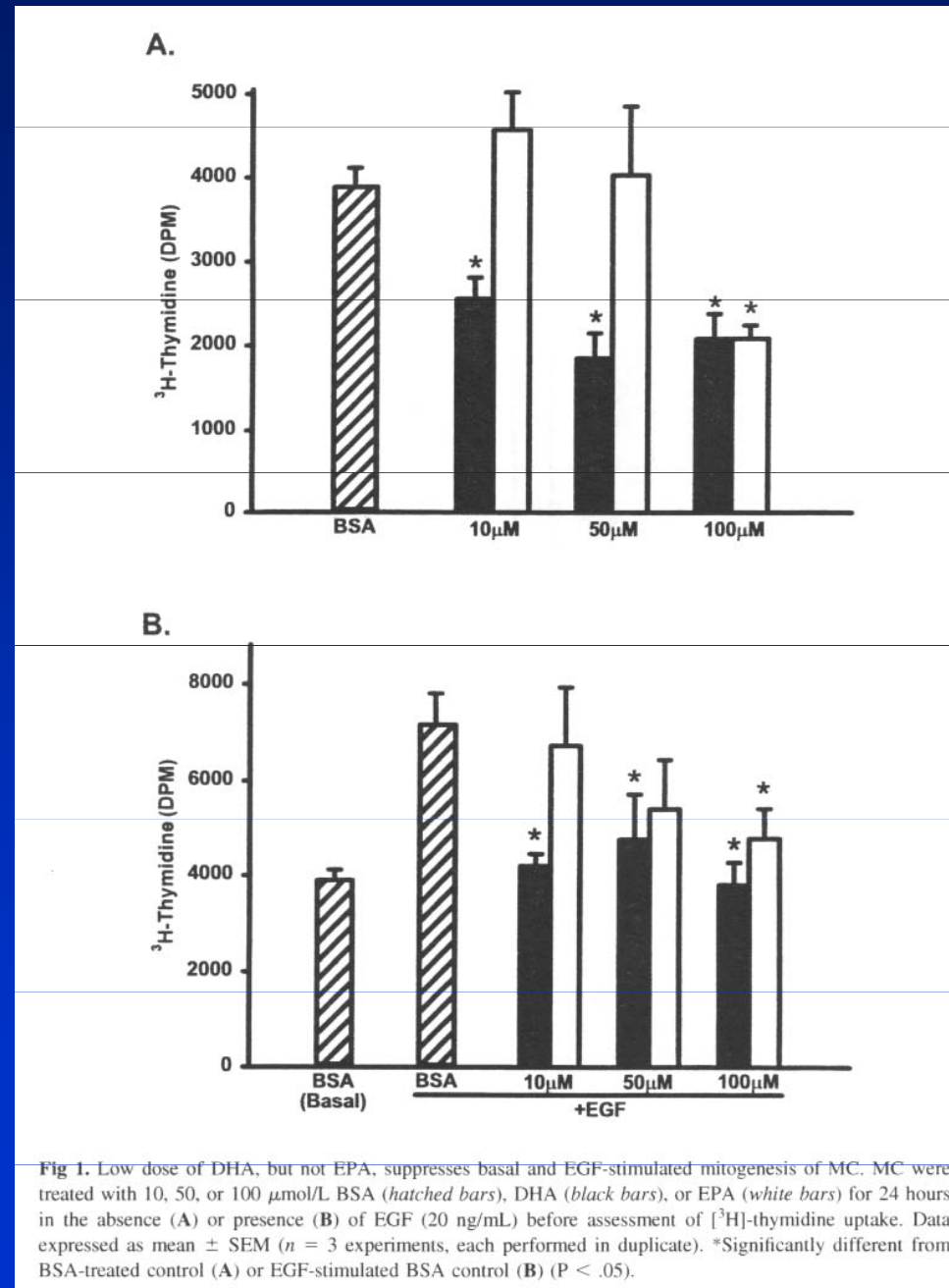
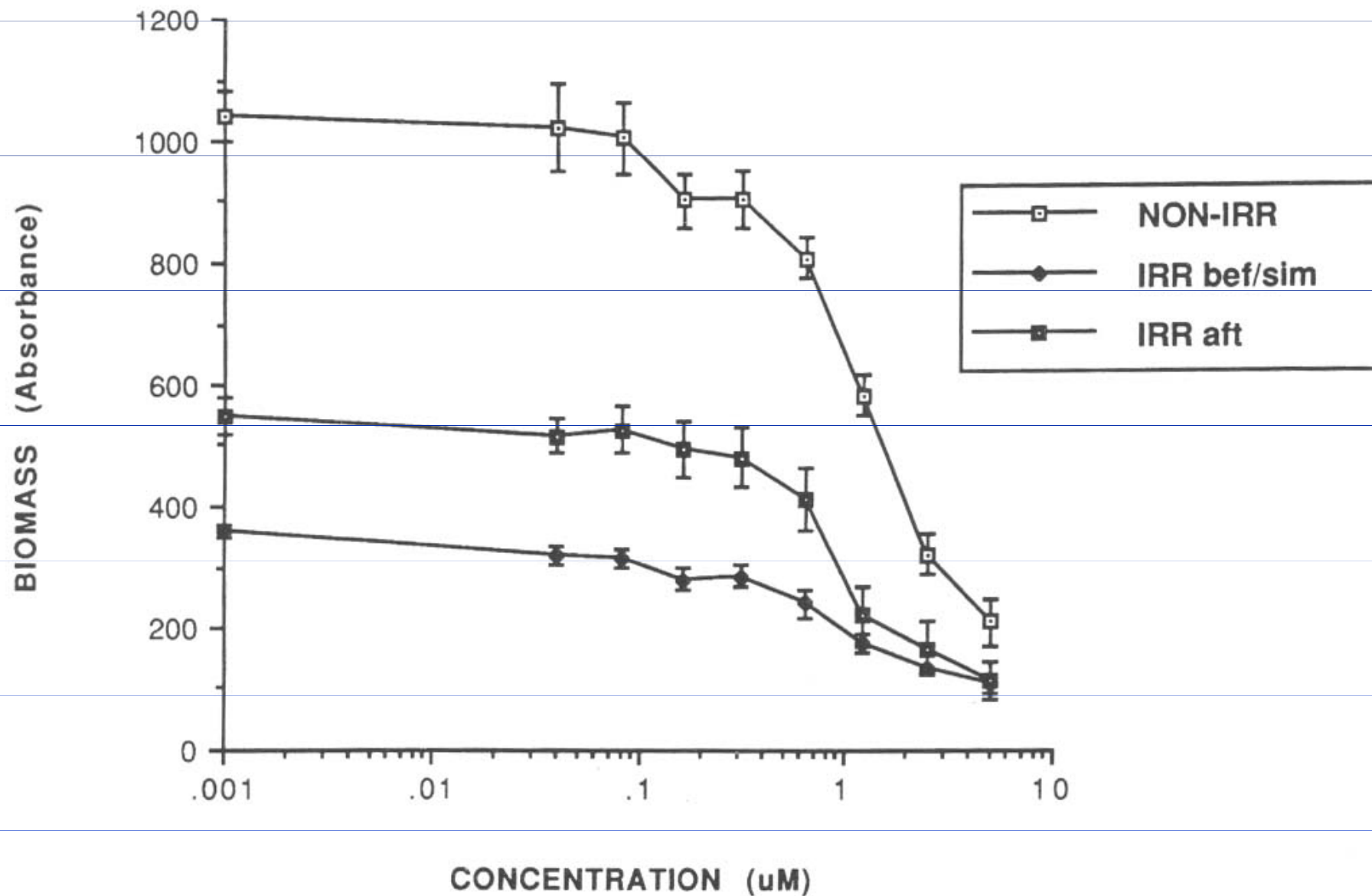


Fig. 1. The effects of LA (○) and OA (●) on growth of the MDA-MB-231 breast cancer cell line. The cells were counted after 6 days. Culture was in serum-free medium containing 1.25 mg/ml of delipidized BSA, and the FAs were added dissolved in ethanol. An equal volume of ethanol was added to the control wells. Points, mean values for triplicate wells; bars, SE. Statistically significant differences in cell numbers compared with those in the absence of FA addition are: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

# Nízké dávky DHA, ale ne EPA, suprimují bazální a EGF-stimulovanou mitogenezi mesangiálních buněk

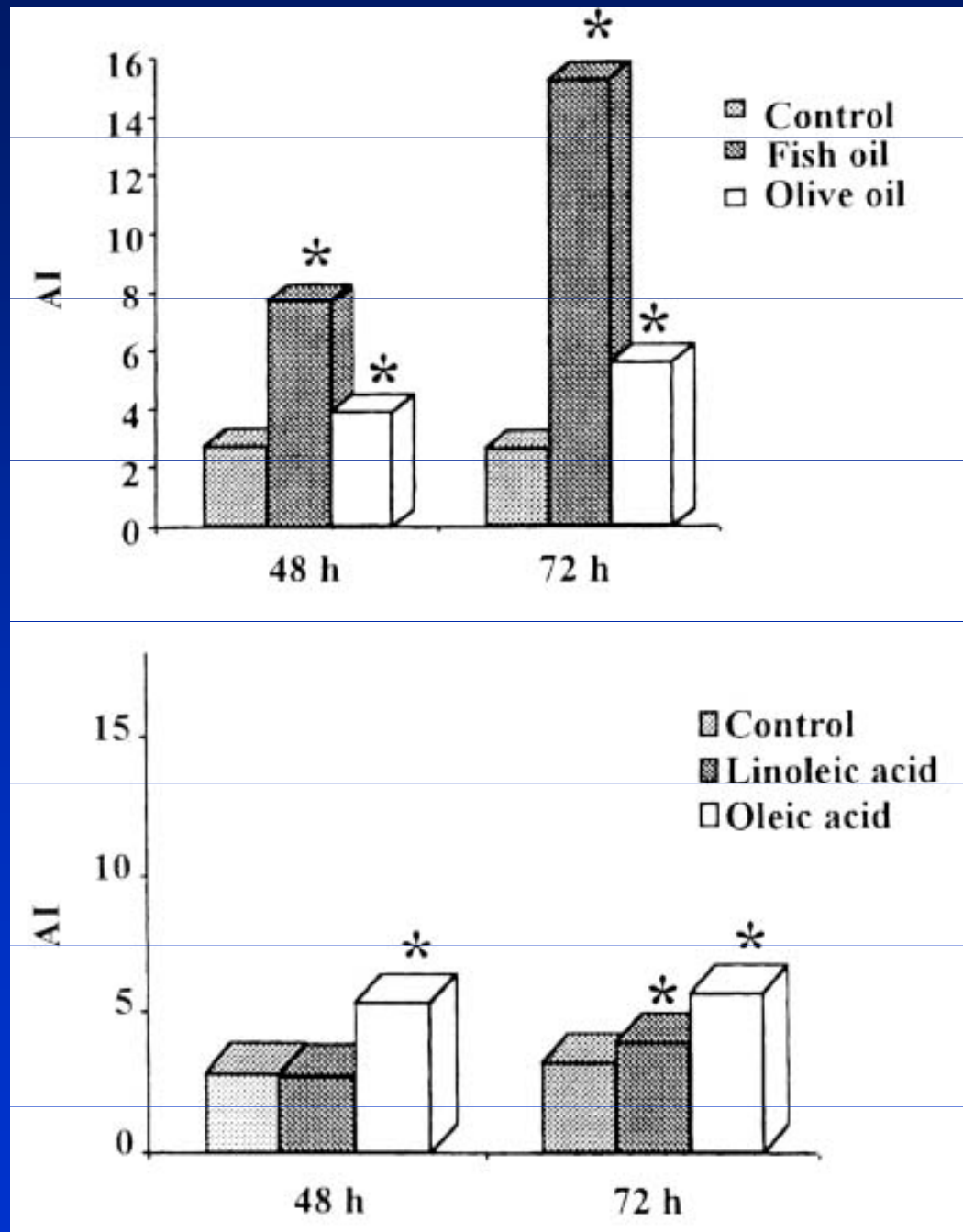


EFFECT OF DOCOSAHEXAENOIC ACID ALONE, OR  
IN COMBINATION WITH IRRADIATION, ON THE  
GROWTH OF Mia Pa Ca-2 CELLS

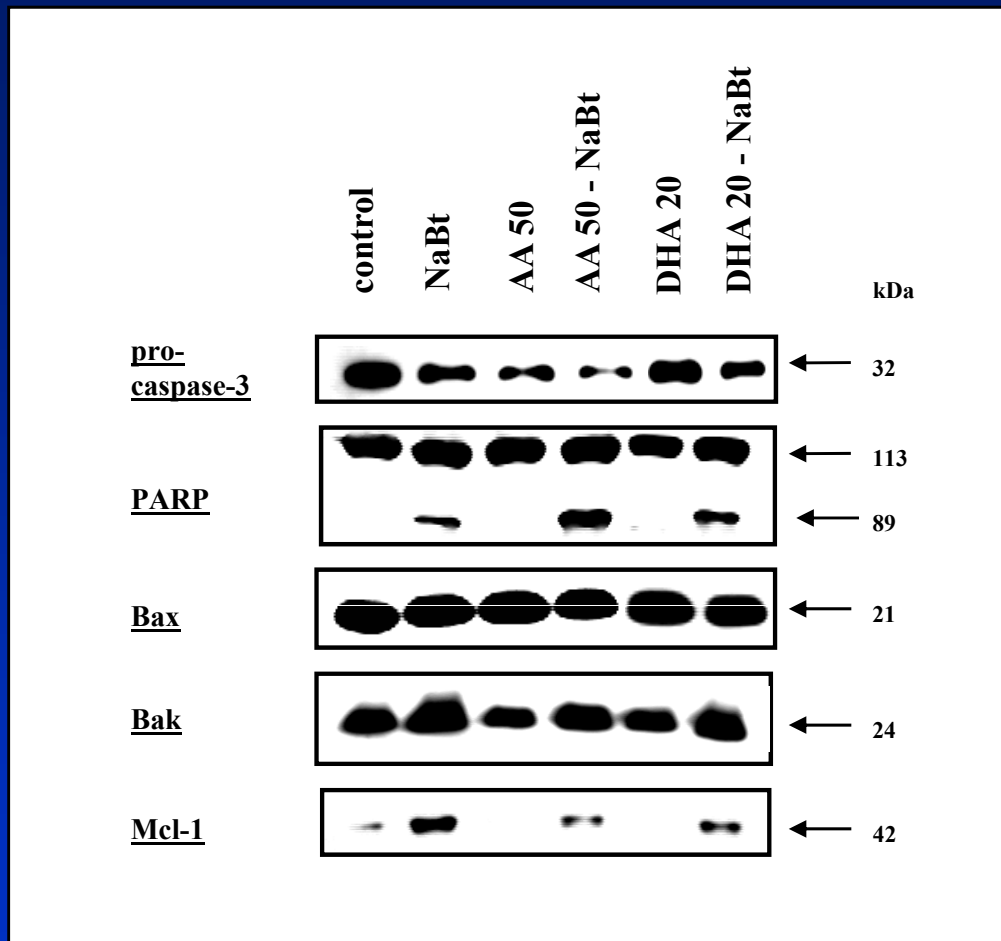


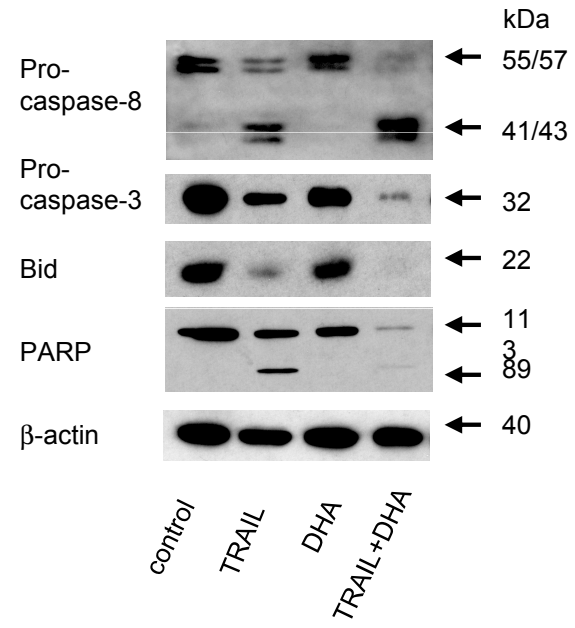


# Apoptóza buněk tlustého střeva HT-29 ovlivněných rybím olejem, olivovým olejem, linoleovou a olejovou kyselinou



# Interakce kys. arachidonové (AA) a dokosahexaenové (DHA) s butyrátem





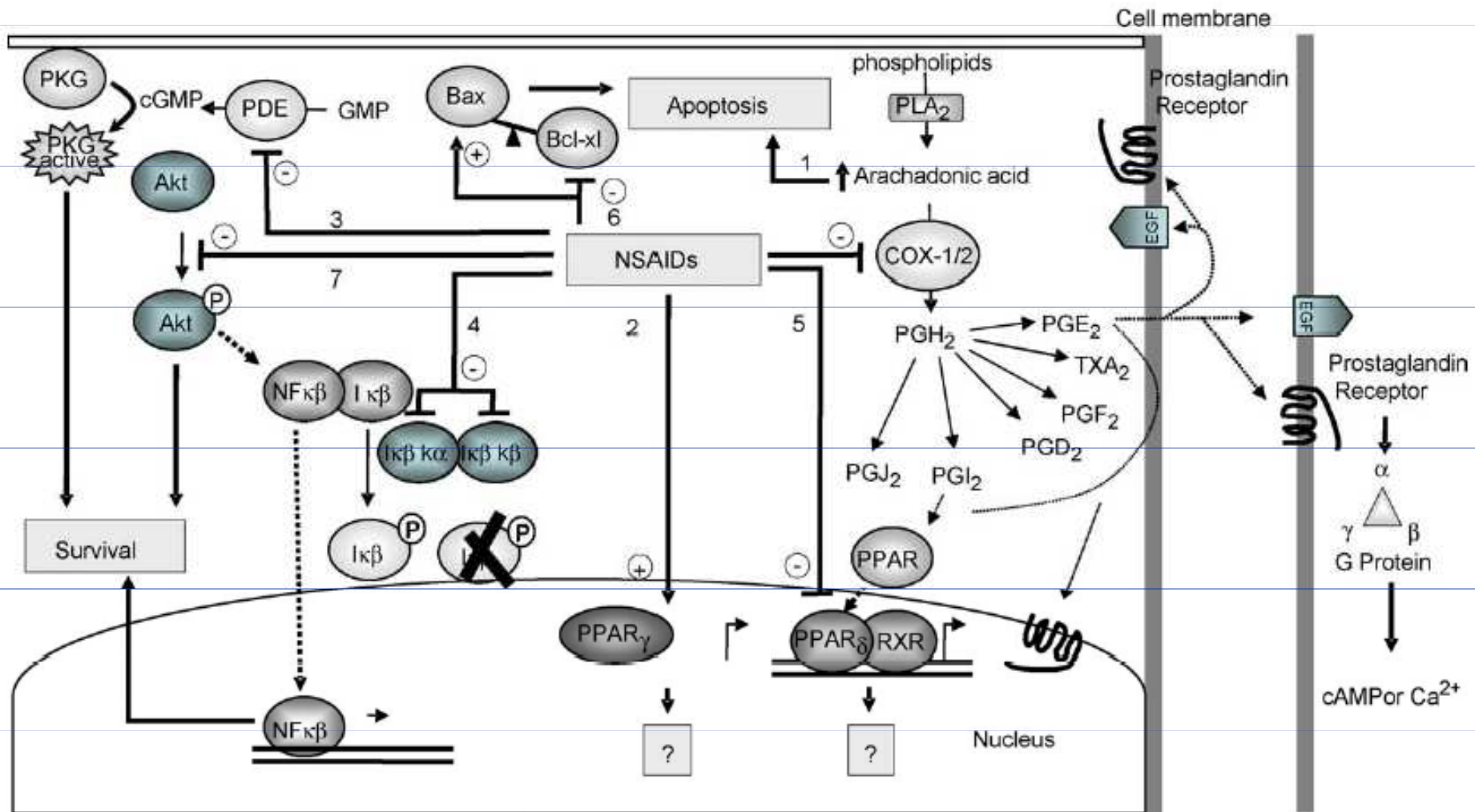
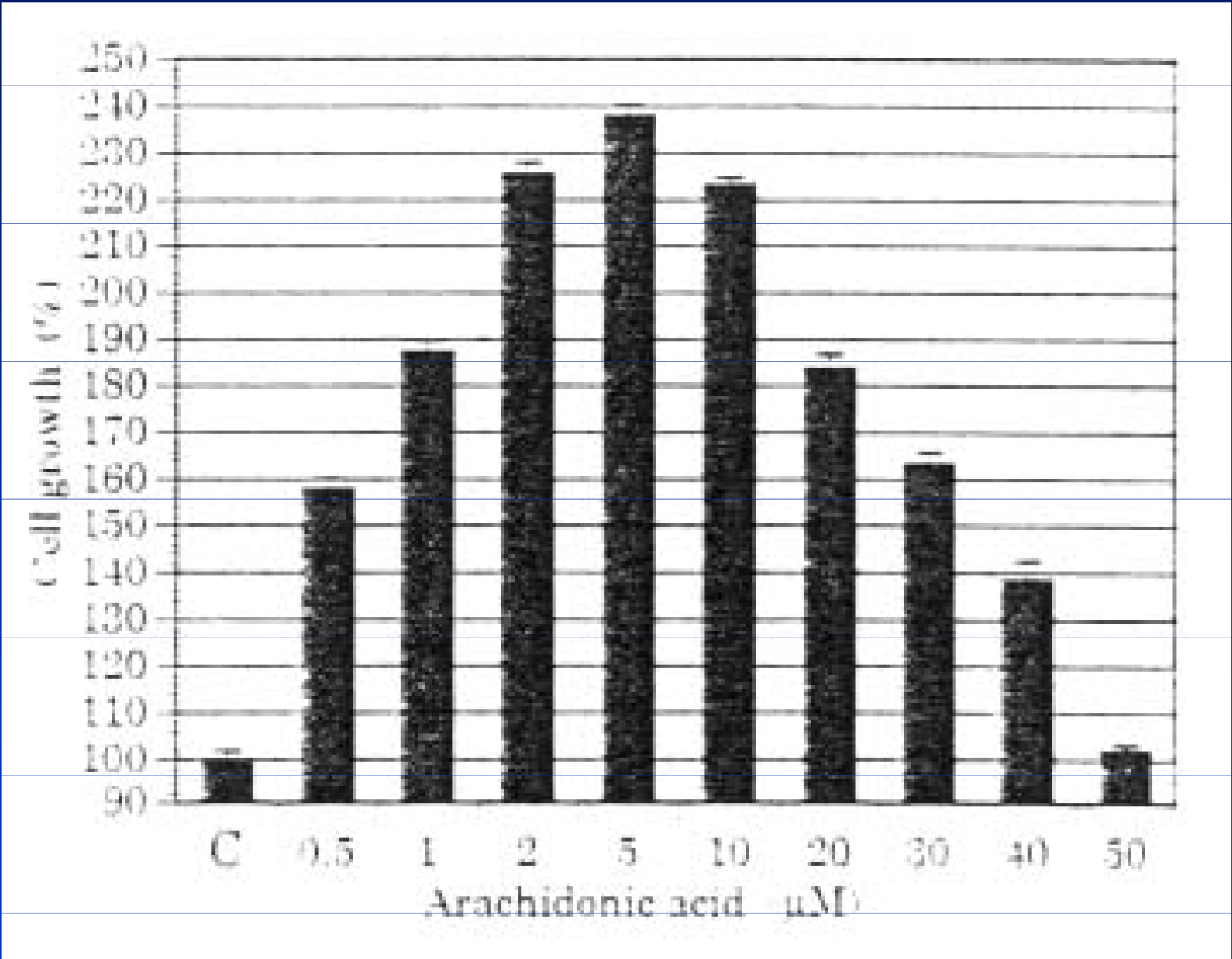


Fig. 4. Molecular mechanisms for COX-2 and NSAIDs. The right part of the model illustrates the prostaglandin synthesis pathway as well as the subsequent receptor signaling—the specific prostaglandin receptors as well as the non-canonical EGF receptor pathway. As the result of inhibiting COX enzymes, accumulation of arachadonic acid would directly promote apoptosis and attenuation of positive feedback to proliferation and survival through receptors. The rest of the figure demonstrates several COX-2 independent mechanisms proposed for NSAIDs. Since, not all NSAIDs are able to act through these mechanisms in every cell type, a brief table is attached to summarize the particular NSAIDs used in each experiment as well as the cell lines involved.

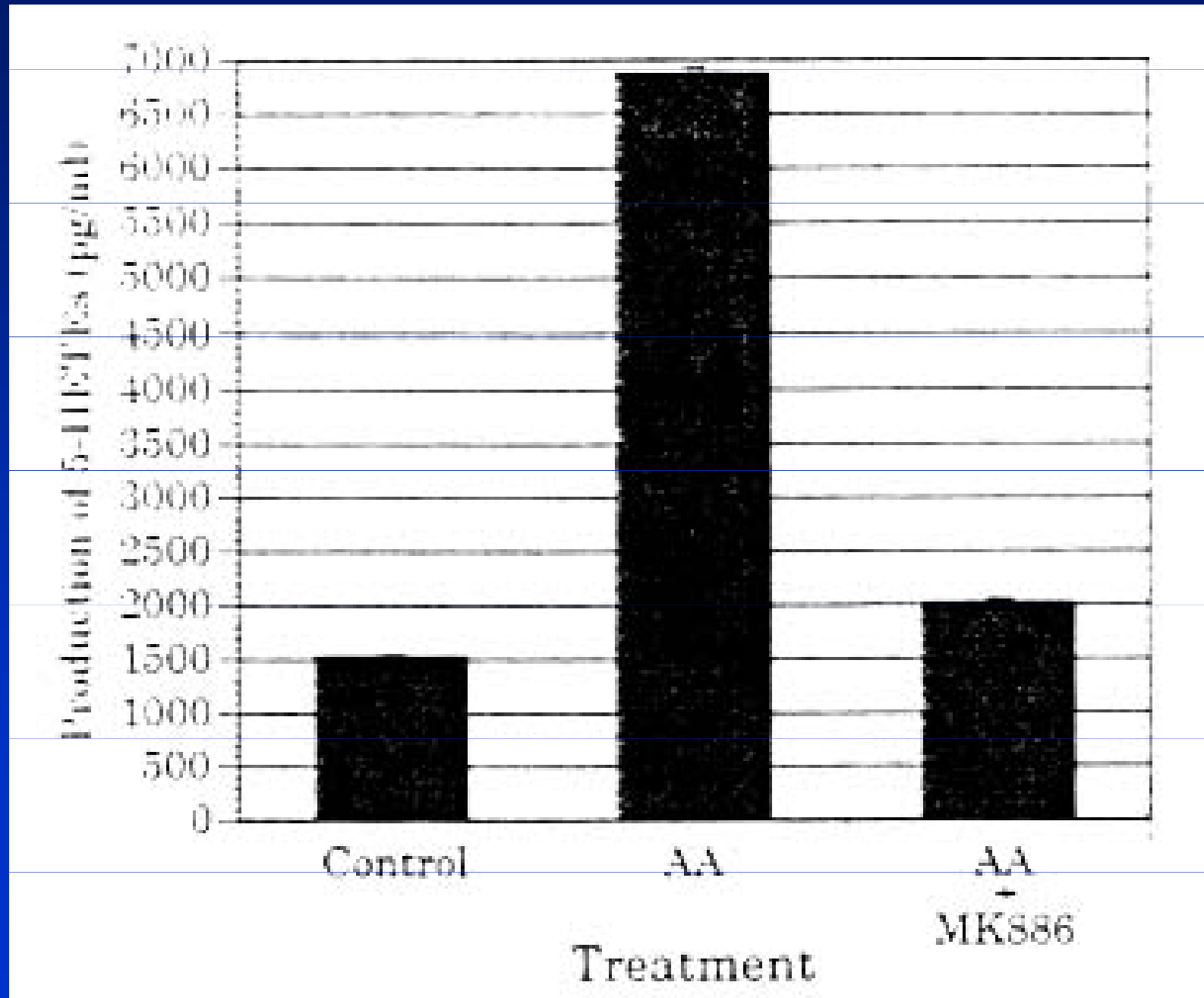
# Modulation of prostate cancer cell growth by arachidonic acid



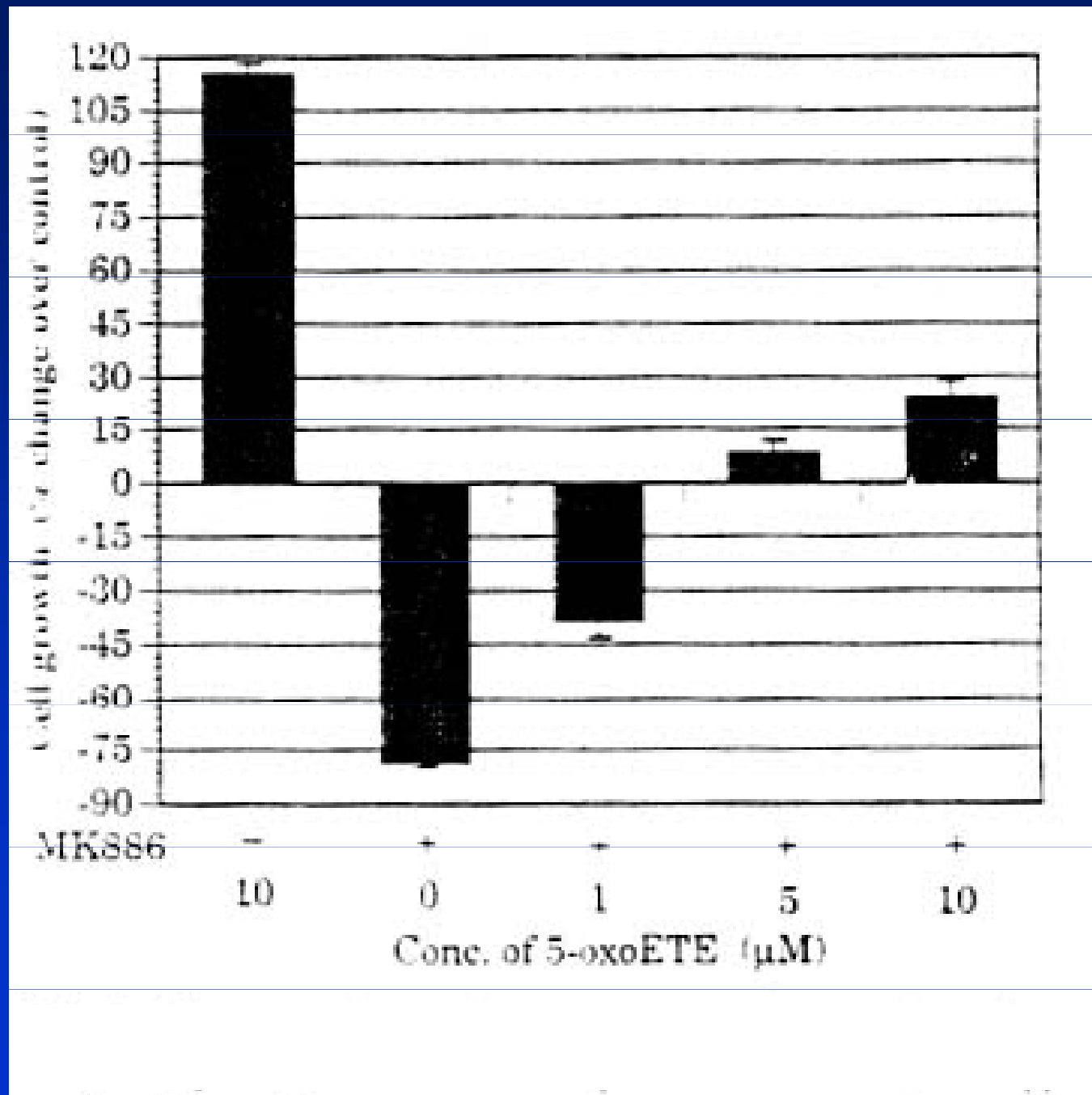
# ÚČINKY INHIBICE CYKLOOXYGENÁZ A LIPOXYGENÁZ NA NÁDOROVÉ BUN. POPULACE

- Řada nádorů má změněný metabolismus nenasycených MK a produkuje zvýšené množství metabolitů AA, které indukují růst a invazivitu (epiteliální nádory - prsu, kolonu, plic, prostaty)
- Frekvence exprese jednotlivých typů enzymů (COX1, COX2, 5-, 12- 15- LOX, FLAP, P450) se liší podle typu a histologického stupně nádoru
- Mitogenní a viabilitní faktory (EGF, HGF atd.) a prozánětlivé cytokiny (TNF- $\alpha$ , IL-1) indukují uvolňování AA a tvorbu eikosanoidů, které slouží jako přenašeče nebo modulátory signálů regulujících proliferaci a apoptózu
- Nesteroidní antiflogistika (NSAID - aspirin, sulindac, indometacin, ibuprofen , piroxicam) inhibují aktivitu COX a mají preventivní a terapeutické účinky na rozvoj nádorů, zejména kolonu - využití inhibitorů COX2 (inducibilní)
- NSAID - snižují proliferaci a indukují apoptózu mechanismy závislémi i nezávislémi na aktivitě COX
- Účinky mohou být přímé nebo nepřímé - zprostředkované např. změnami aktivity imunitního systému
- Inhibitory LOX (NDGA, esculetin, MK-886) inhibují proliferaci a indukují apoptózu řady nádorových linií
- Produkty 5-LOX fungují jako „second messengers“ řady růstových a viabilitních faktorů
- Produkty 12-LOX se uplatňují v procesu invaze a tvorby metastáz - ovlivnění exprese proteáz, adhezivních molekul - využití inhibitorů

**Stimulace produkce 5-HETE působením AA  
(účinek inhibice 5-LOX aktivujícího proteinu (FLAP) pomocí MK-886**

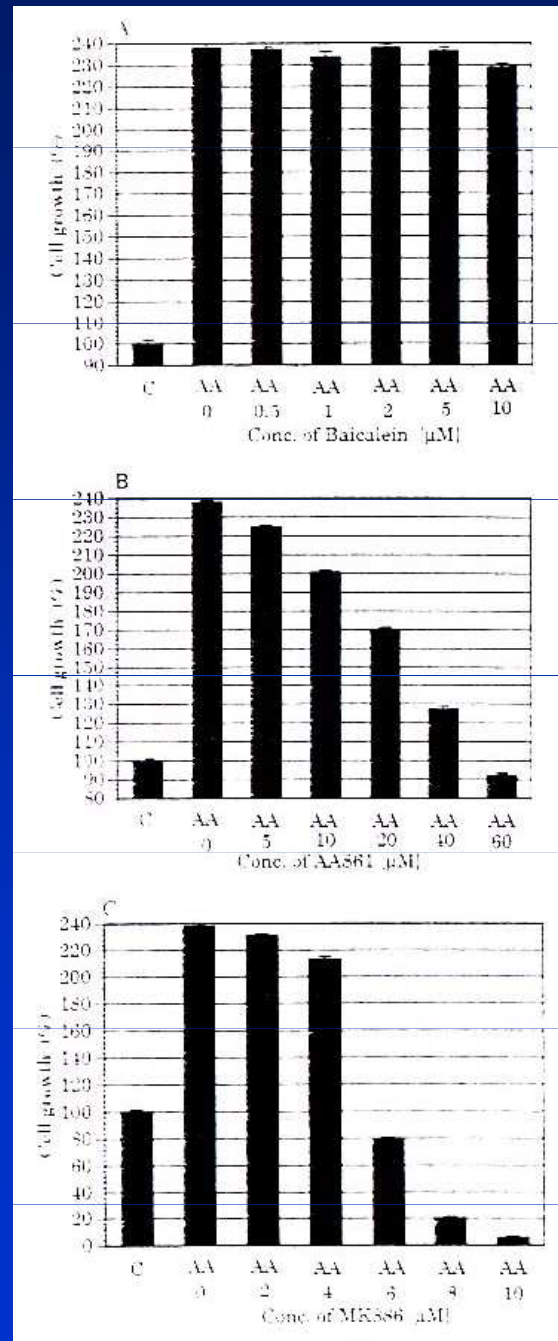


## Reverze účinků inhibice 5-lipoxygenázy 5-oxoETE

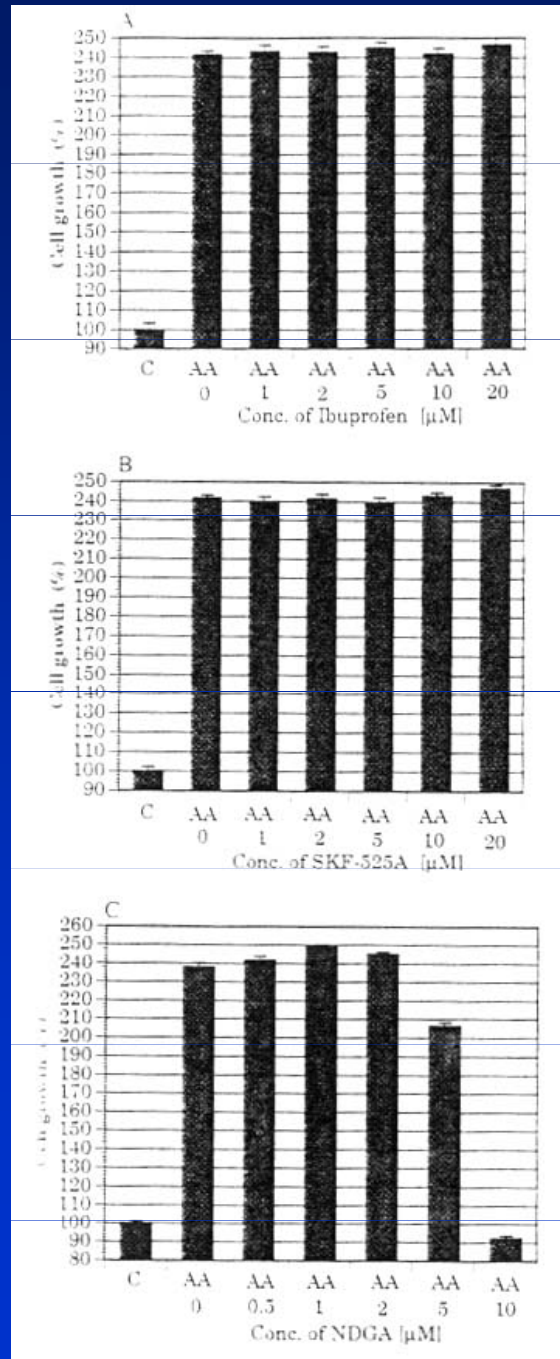




# Inhibitory 5-lipoxygenázy, ale ne 12-lipoxygenázy blokují růst stimulovaný kys. arachidonovou u nádorových buněk prostaty



# Účinky různých metabolických inhibitorů na růstově stimulační účinky kys. arachidonové



## Účinky inhibitorů syntézy eikosanoidů na růst buněk nádoru prsu v přítomnosti kys. linoleové

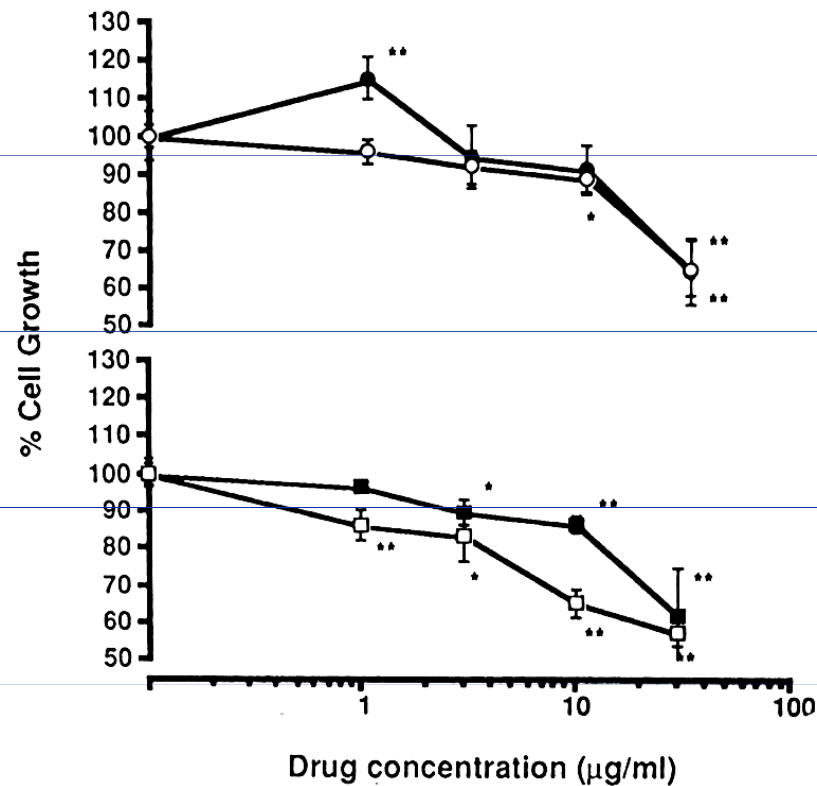


Fig. 2. The effects of eicosanoid synthesis inhibitors in the presence of linoleic acid on cell growth. ●: indomethacin; ○: piroxicam; ■: esculetin; □: nordihydroguaiaretic acid; \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ .

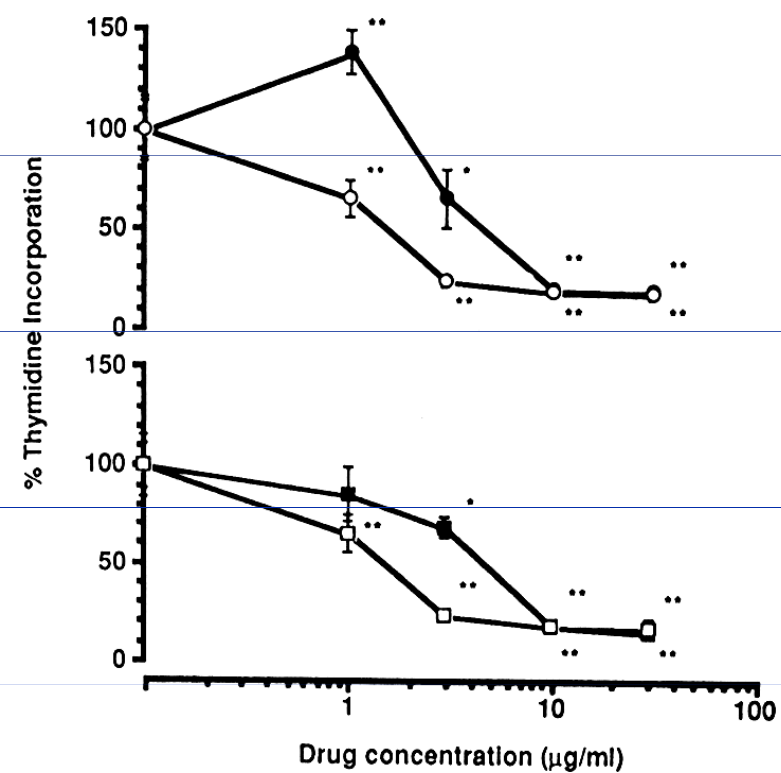


Fig. 3. The effects of eicosanoid synthesis inhibitors in the presence of linoleic acid on  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation. ●: indomethacin; ○: piroxicam; ■: esculetin; □: nordihydroguaiaretic acid; \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ .

## Srovnání inhibičních účinků indometacinu, NDGA a esculetinu na buňky nádoru prsu

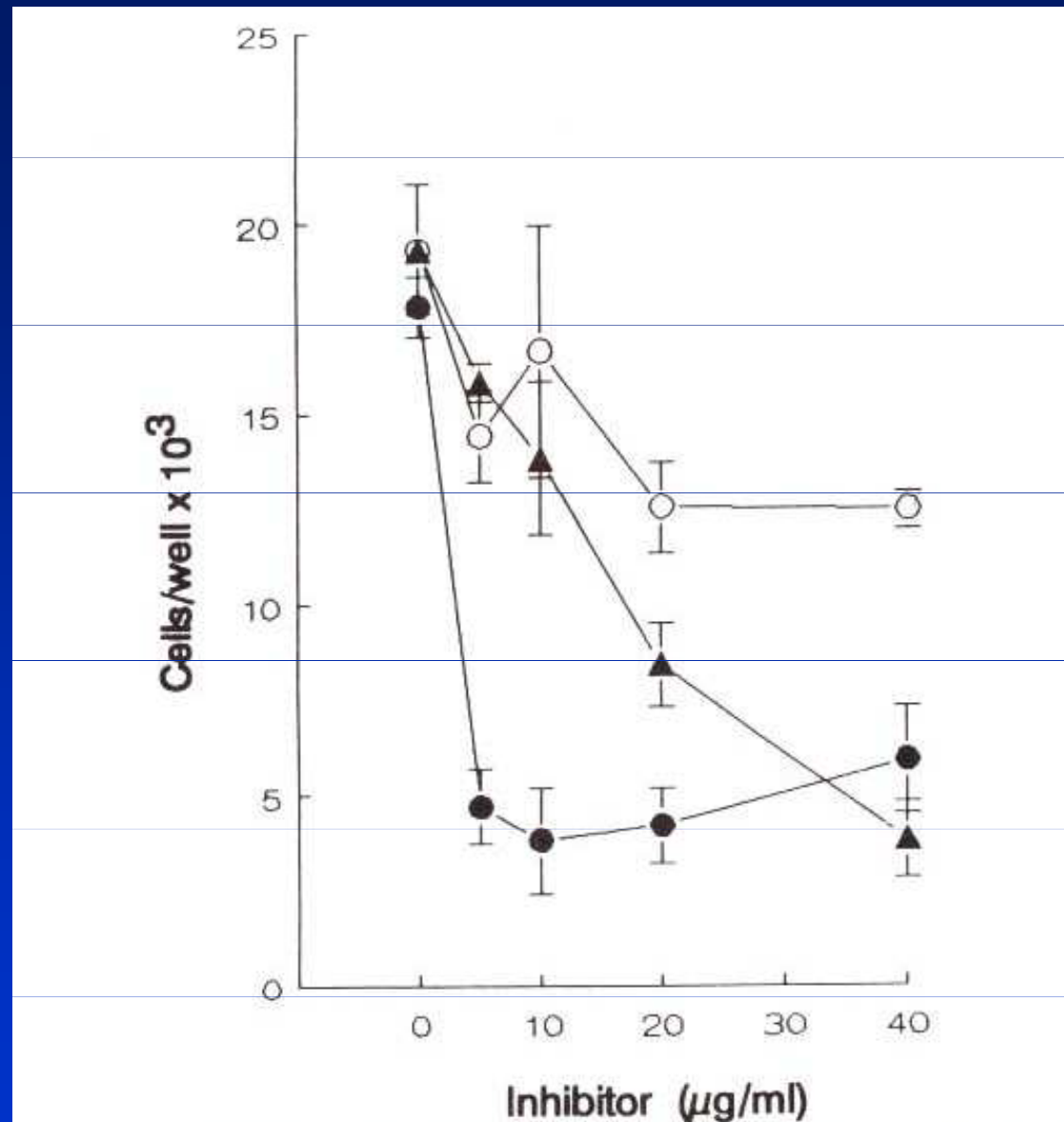


Fig. 5. Comparison of the inhibitory effects of indomethacin (○), NDGA (●), and esculetin (▲) on MDA-MB-231 cell growth. The cells were counted after 6 days of growth in serum-free medium containing 625 ng/ml of LA. Points, mean values for triplicate wells; bars, SE.

# Účinky indometacinu nebo piroxicamu na růst buněk nádoru prsu

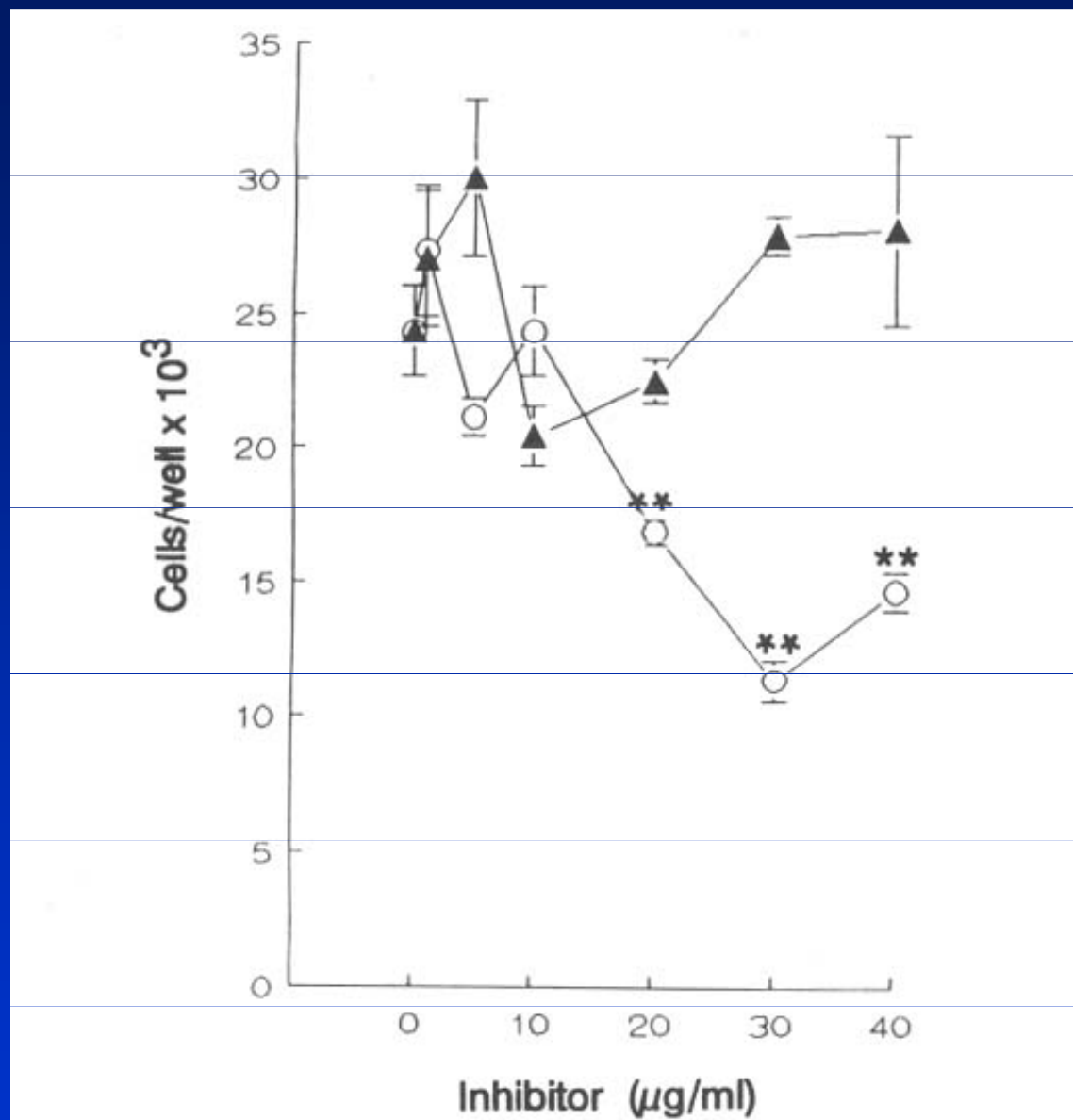
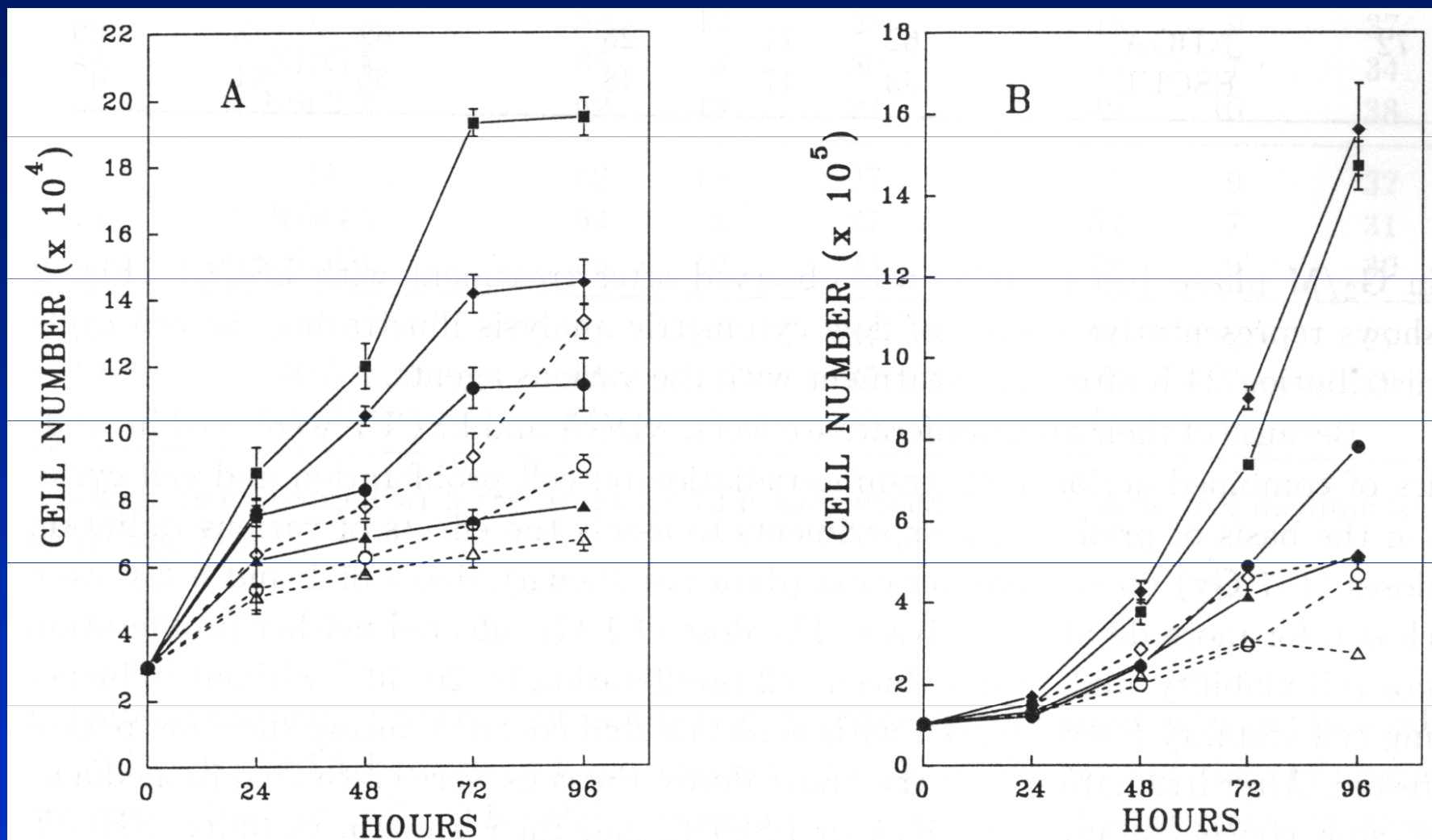


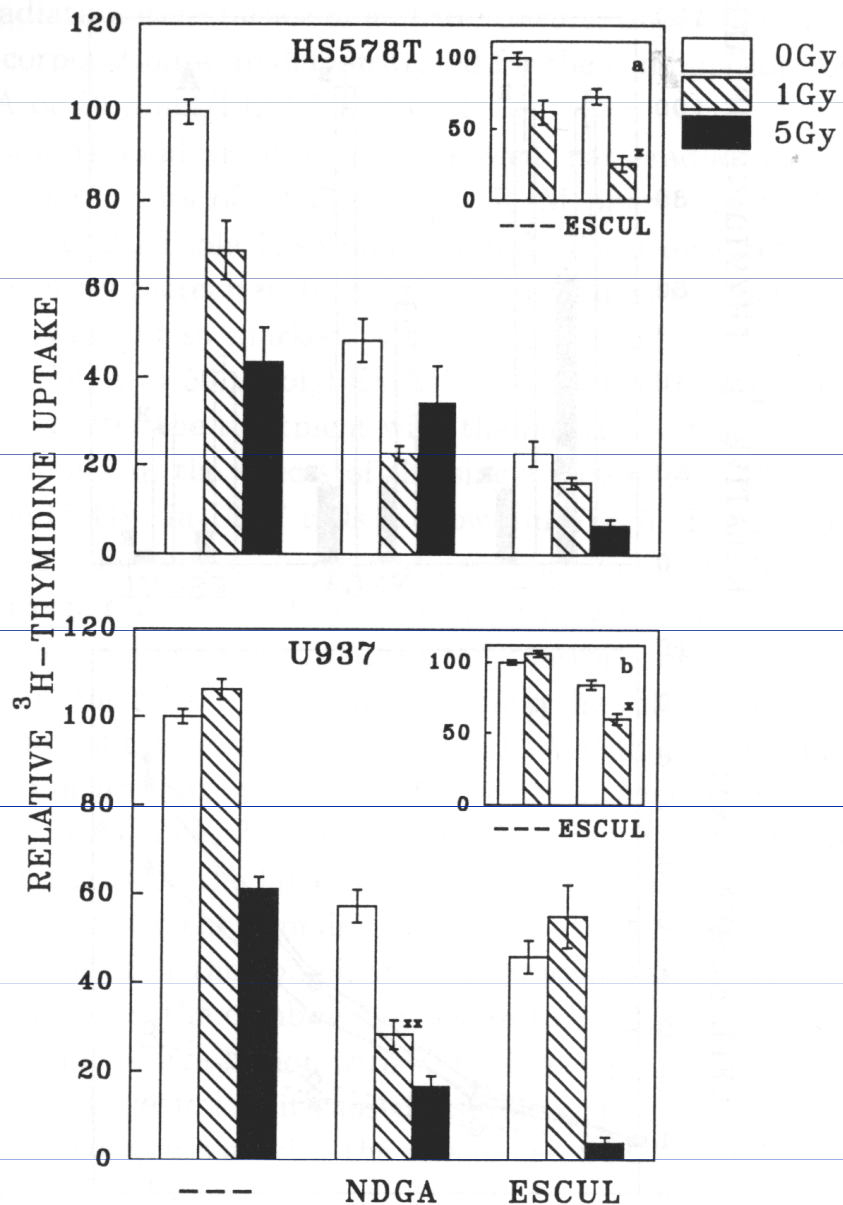
Fig. 4. The effects of indomethacin (○) or piroxicam (▲) on MDA-MB-231 breast cancer cell growth. The cells were cultured for 6 days in serum-free medium containing 625 ng/ml of LA. Points, mean values for triplicate wells; bars, SE. Cell number significantly less than control value: \*\* $P < 0.01$ .

# Účinky piroxicamu, NDGA a esculetinu na růst neozářených nebo ozářených buněk nádoru prsu (A) a leukemie (B)



**Figure 3.** Growth of HS578T (A) and U937 (B) cells cultivated in the absence (diamonds) or in the presence of 50  $\mu\text{mol/l}$  PIROX (squares), 25  $\mu\text{mol/l}$  NDGA (circles) or 50  $\mu\text{mol/l}$  ESCUL (triangles). The solid lines and solid symbols represent nonirradiated cells. The dashed lines and open symbols represent cells irradiated with 5 Gy. The data are means  $\pm$  S.E.M. for three independent experiments performed in triplicates.

## Syntéza DNA měřená inkorporací <sup>3</sup>H-tymidinu



**Figure 4.** <sup>3</sup>H-thymidine incorporation (% of nontreated control) in HS578T and U937 cells subjected to different treatment. The nonirradiated cells or cells irradiated with 1 or 5 Gy were cultivated in the presence of 25 μmol/l NDGA, 25 μmol/l ESCUL (inserts a, b) or 50 μmol/l ESCUL or without the agents (---) for 72 h. Data are means ± S.E.M. for three independent experiments performed in six parallels. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  significance of the interactive component

# Účinky esculetinu na kumulativní výskyt prsních nádorů u krys krmených nízko- a vysokotukovou dietou

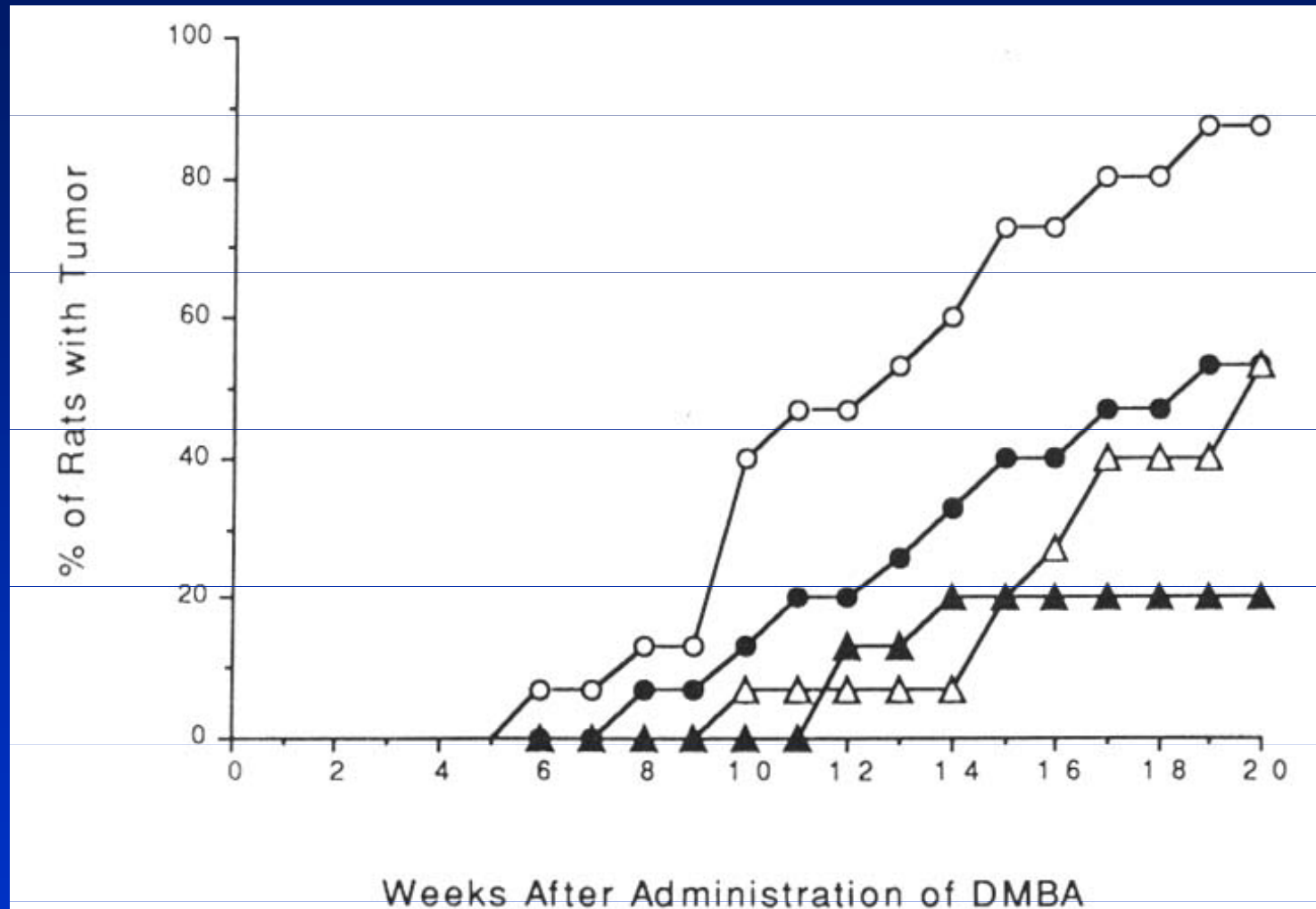


Fig. 1. Effects of esculetin on the cumulative incidence of palpable mammary tumors in rats fed high- or low-fat diet. ○, high-fat; △, high-fat plus esculetin; ●, low-fat; ▲, low-fat plus esculetin.



# Vhodnost volby modelu

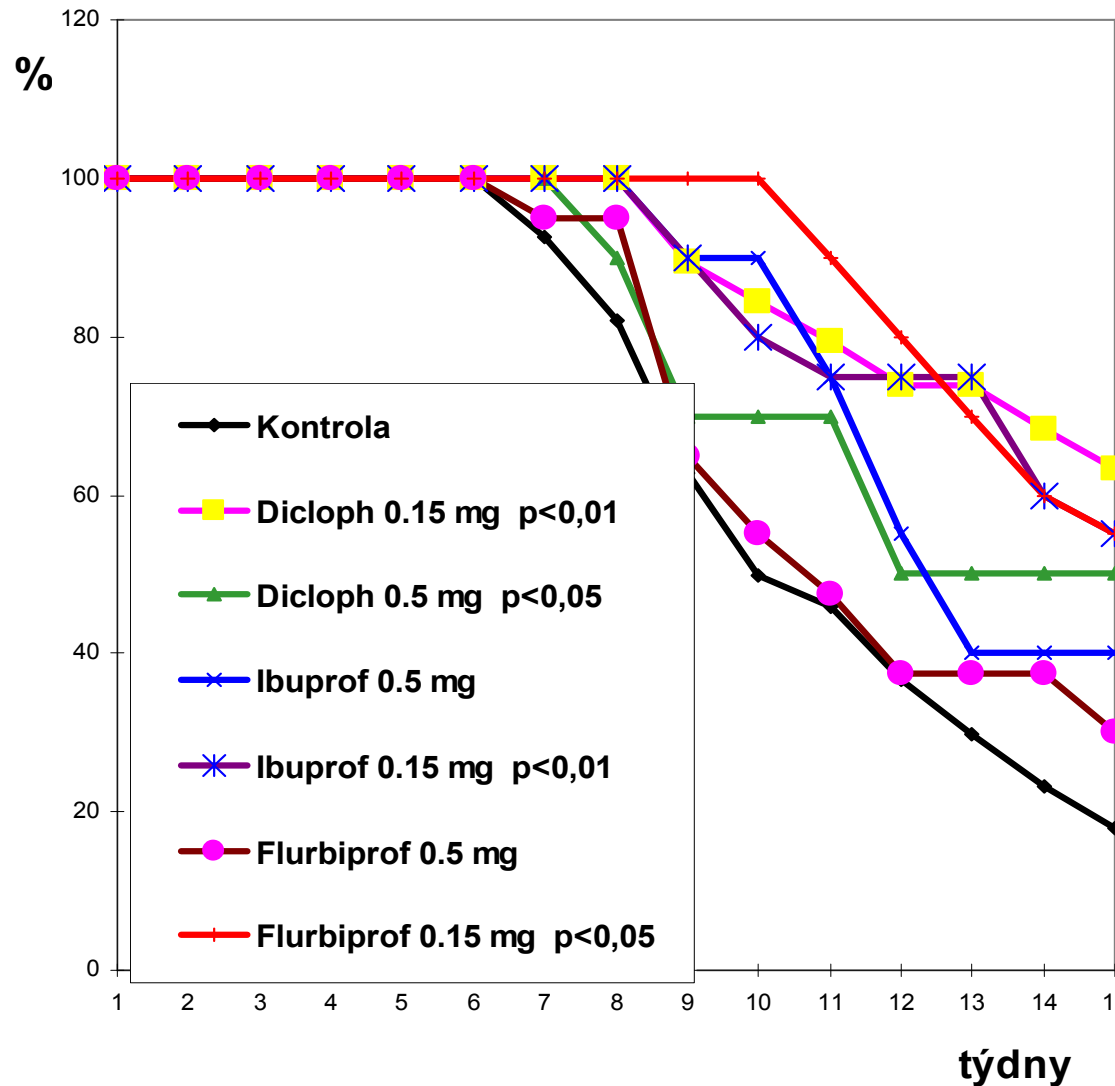
## **Studie *in vivo***

– poskytují informaci o celkové (systémové) odpovědi organismu, relativně méně vhodné ke studiu mechanismu účinků na subbuněčné úrovni

## **Studie *in vitro***

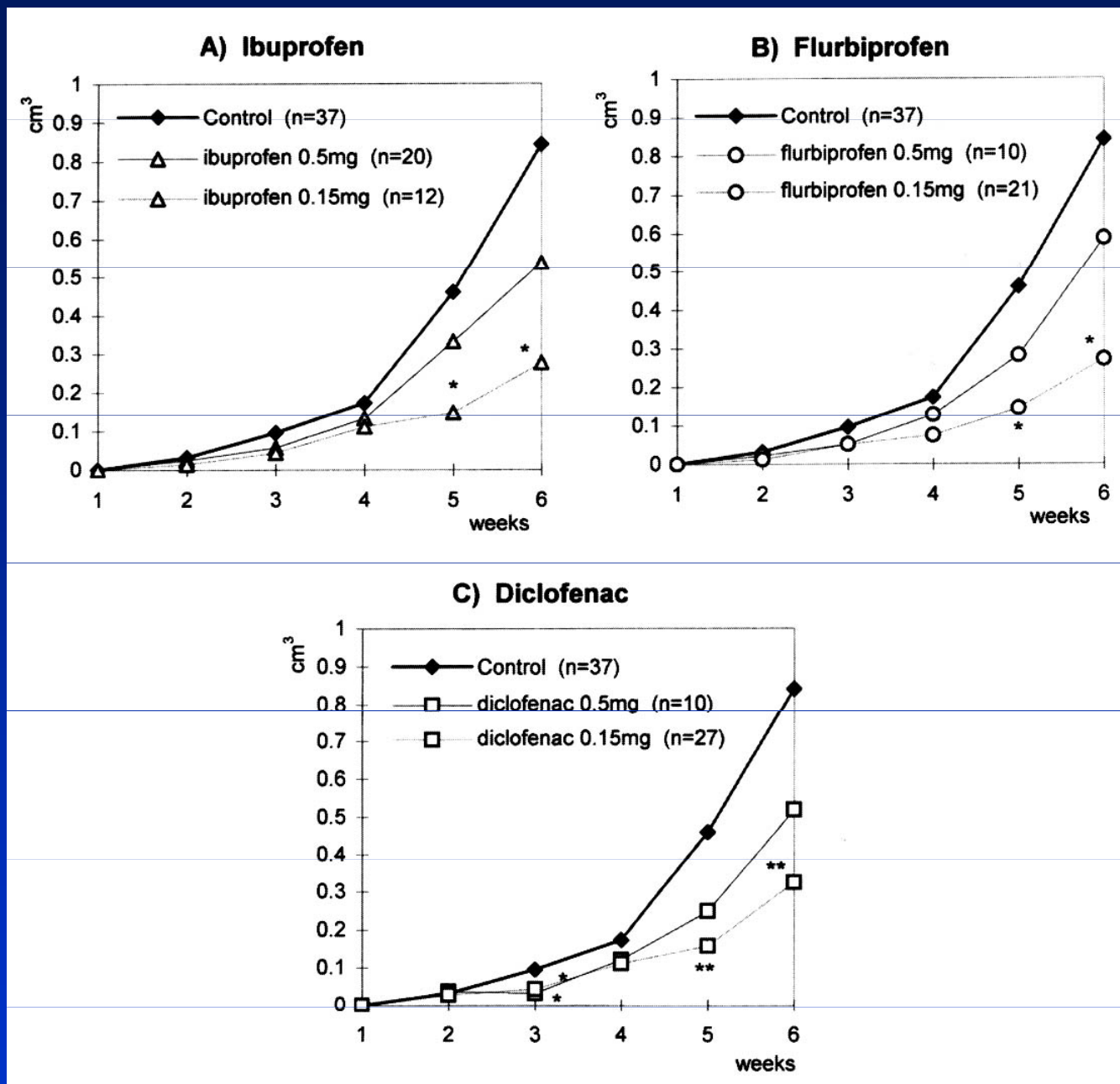
- nelze z nich mechanicky zobecňovat závěry pro systémy *in vivo* (chybí zapojení vyšších regulačních systémů), ideální pro studium mechanismů účinků na subbuněčné úrovni

# PŘEŽÍVÁNÍ ZVÍŘAT s nádorem (G:5:113) PO TERAPII S INHIBITORY CYKLOOXYGENÁZ

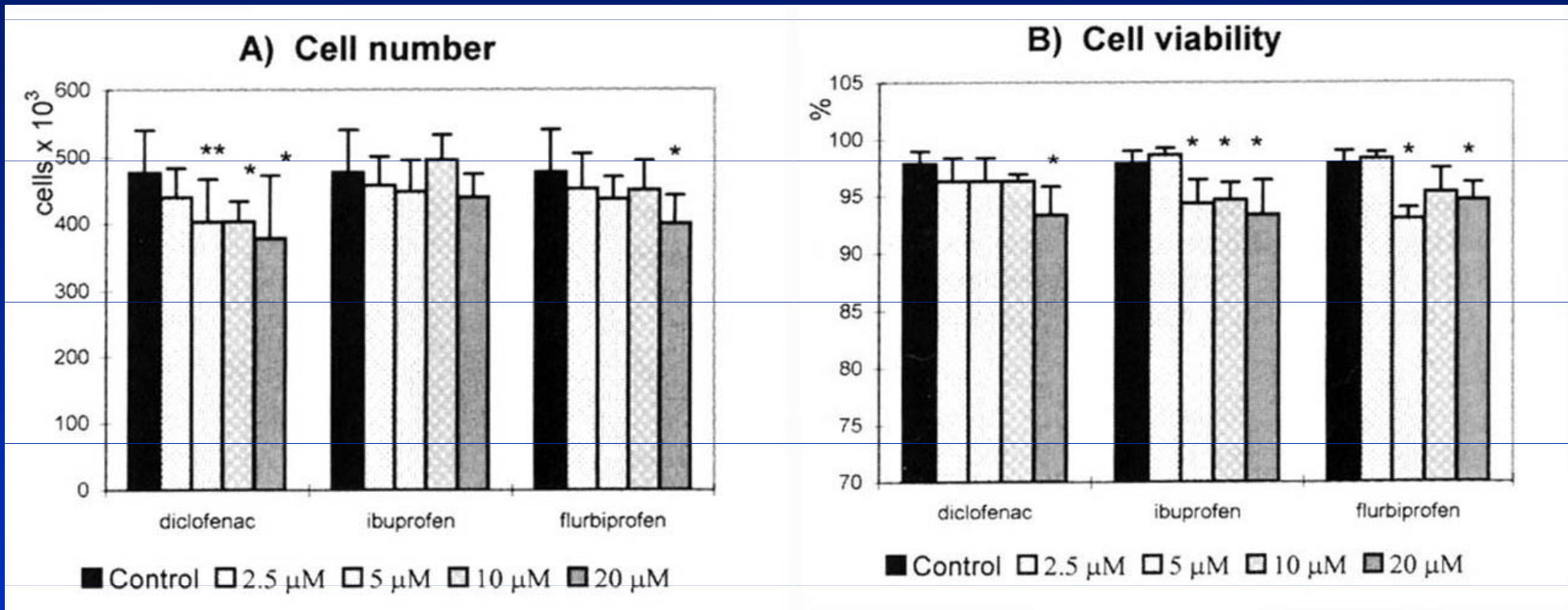


Laboratory  
of Cytokinetics

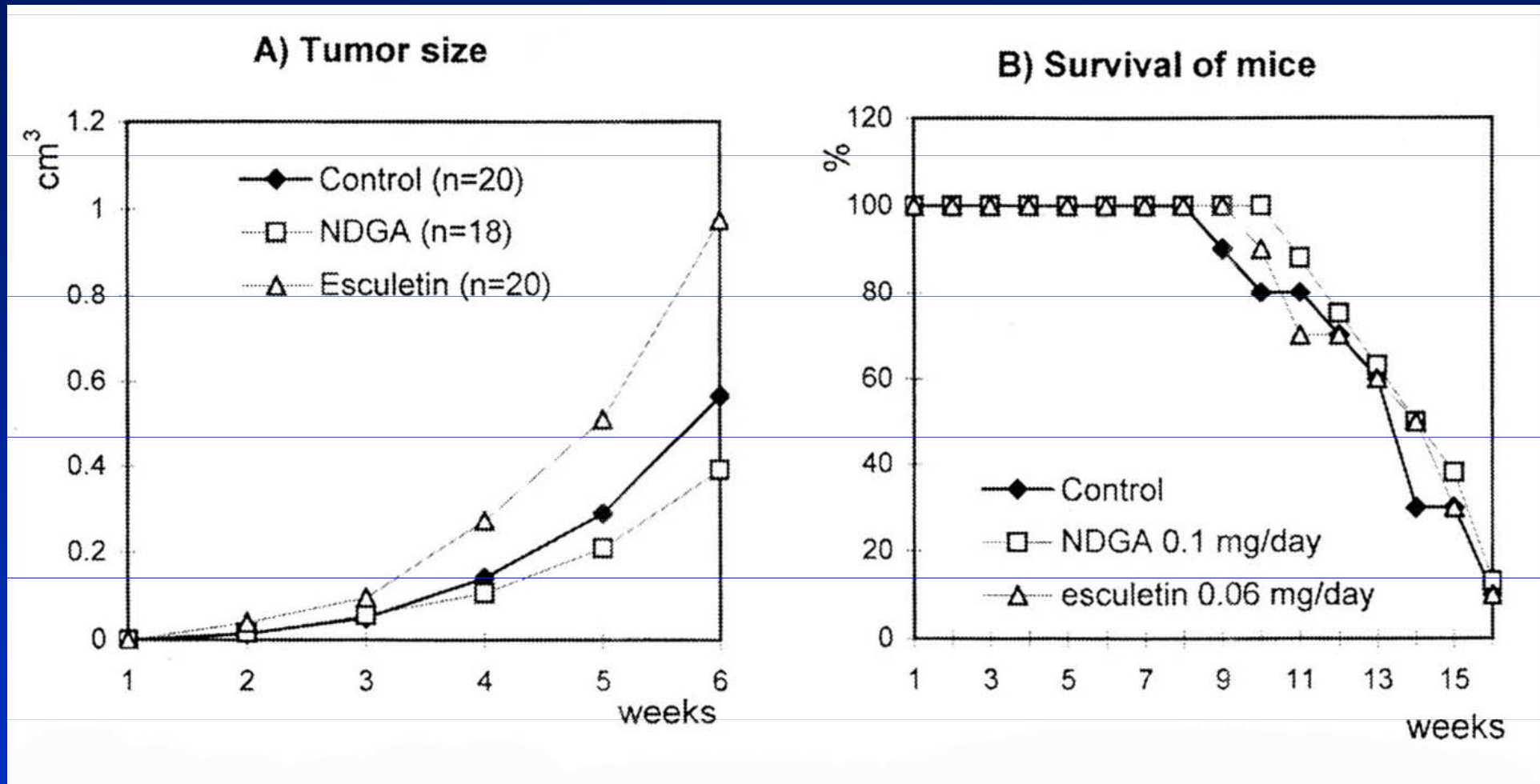
Institute of Biophysics, Brno  
Academy of Sciences  
Czech Republic



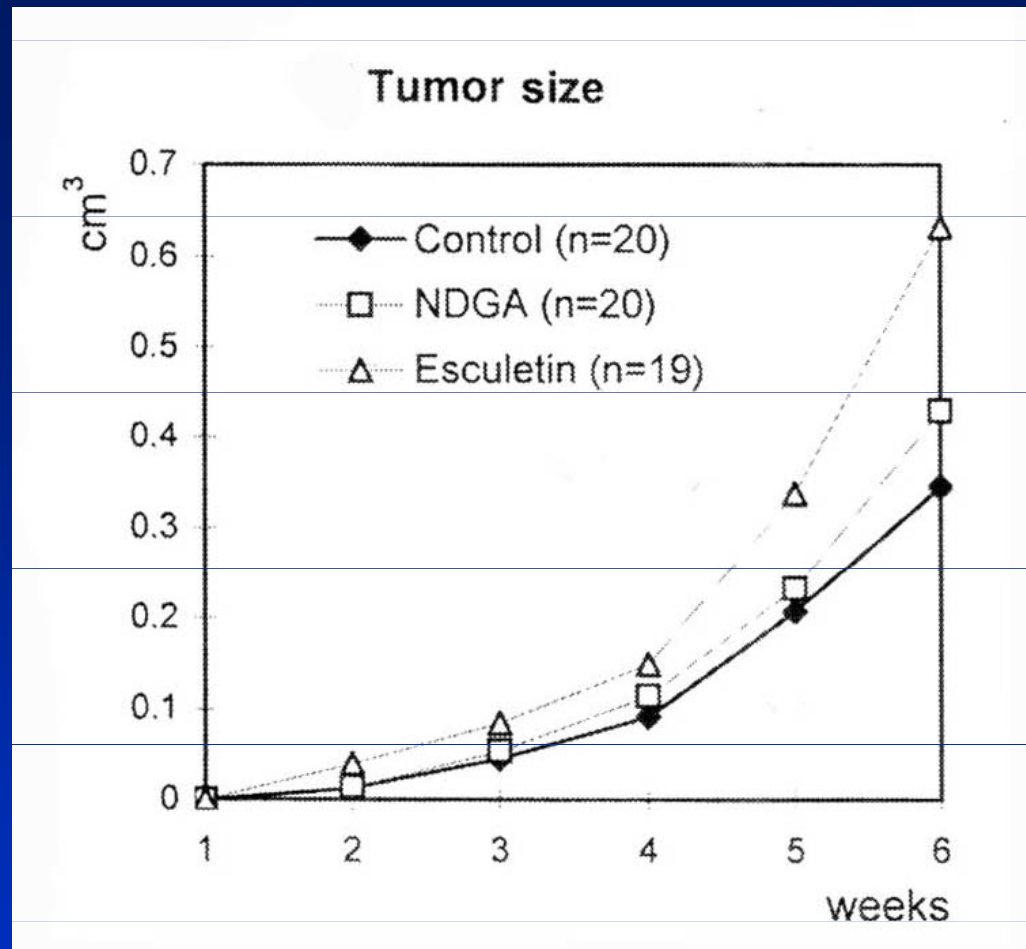
**Růst fibrosarkomových buněk G:5:113 *in vivo* v syngenních myších ovlivněných nesteroidními protizánětlivými látkami. Pět dní po injekci buněk G:5:113 byla zvířata ovlivněna COX inhibitory a každý týden byla stanovena velikost tumoru.**



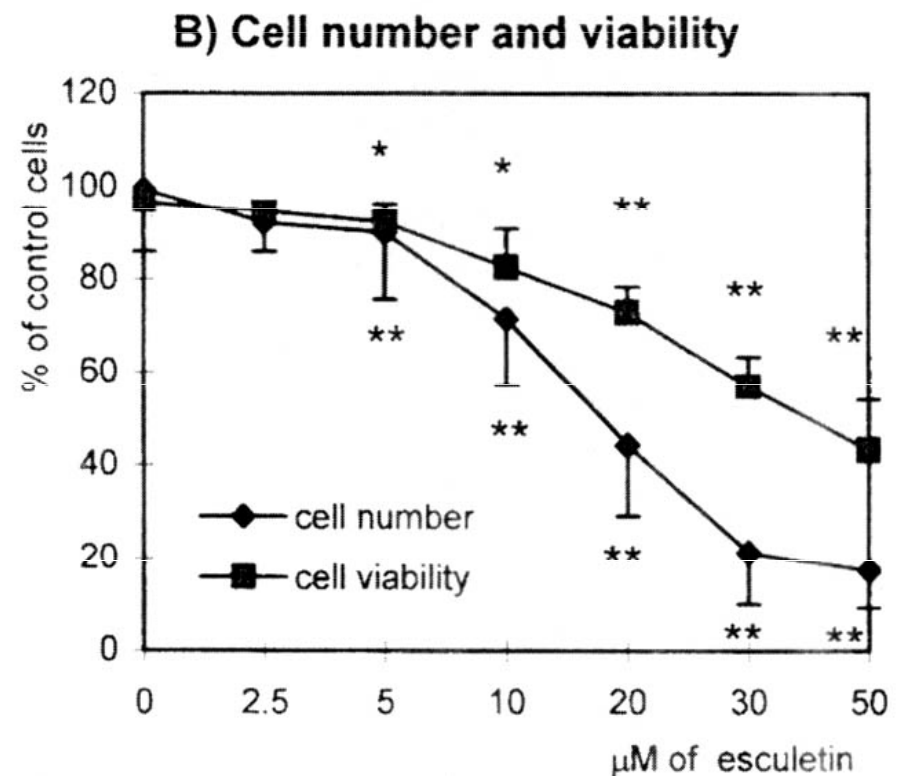
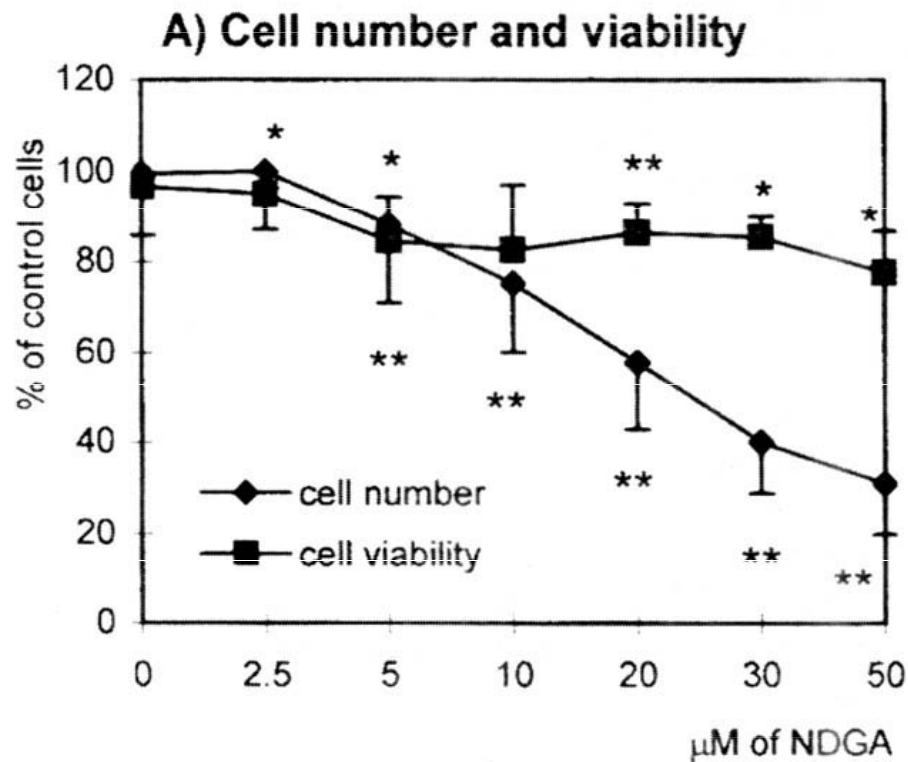
**Malé in vitro efekty nesteroidních protizánětlivých látek (inhibitorů COX) na proliferaci a viabilitu buněk G:5:113. Stanoveno po dvou dnech inkubace.**



**Růst buněk G:5:113 *in vivo* v syngenních myších a přežívání myši nesoucích nádor ovlivněných NDGA nebo esculetinem. Pět dní po injekci buněk G:5:113 byla zvířata ovlivněna LOX inhibitory a každý týden byla stanovena velikost tumoru, přežití zvířat bylo monitorováno každý den.**



**Studium tumorigenicity buněk G:5:113 in vitro ovlivněných NDGA a esculetinem. Buňky byly ovlivněny 48 h inhibitory LOX, poté byly přeneseny s.c. do syngenních myší a bez další terapie byly ponechány do konce experimentu. Velikost nádorů byla stanovována týdně.**



**Významný efekt (LOX inhibitoru) NDGA a esculetinu na *in vitro* proliferaci buněk G:5:113 po 48 hodinovém působení.**

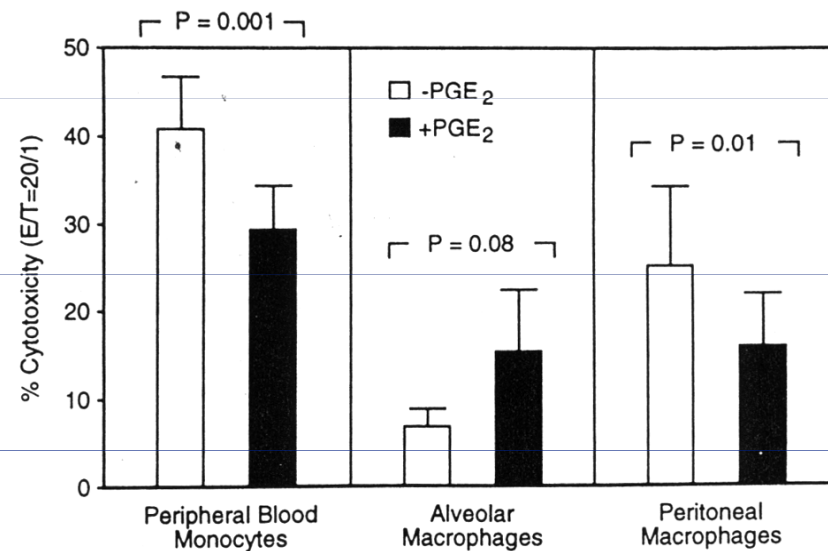


Fig. 4. Effect of the cyclooxygenase metabolite, PGE<sub>2</sub>, on the development of tumoricidal function in indomethacin-treated, AM, PM, and PBM from cancer patients. PGE<sub>2</sub> (10<sup>-8</sup> M) was added simultaneously with 100 units/ml IFN- $\gamma$  and 2  $\mu$ g/ml indomethacin to macrophage cultures. The effector:target ratio used was 20:1. The results presented are from variable numbers of donors (range, 6–10) for each type of macrophage. Bars, SD.

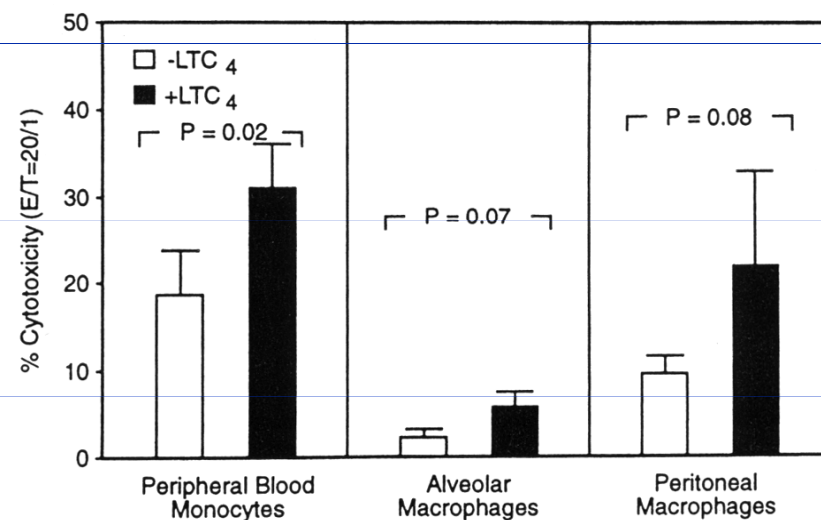
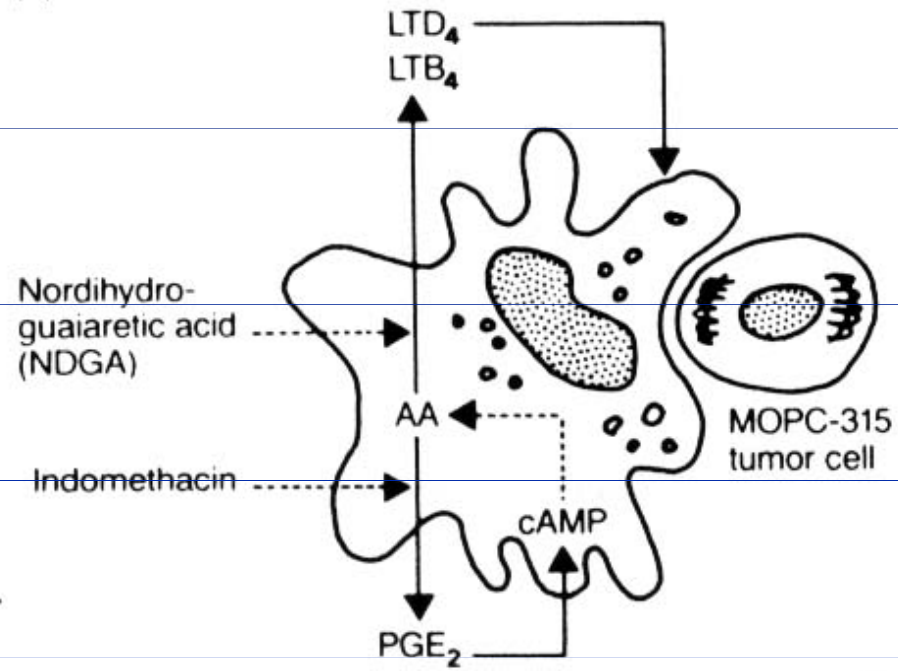


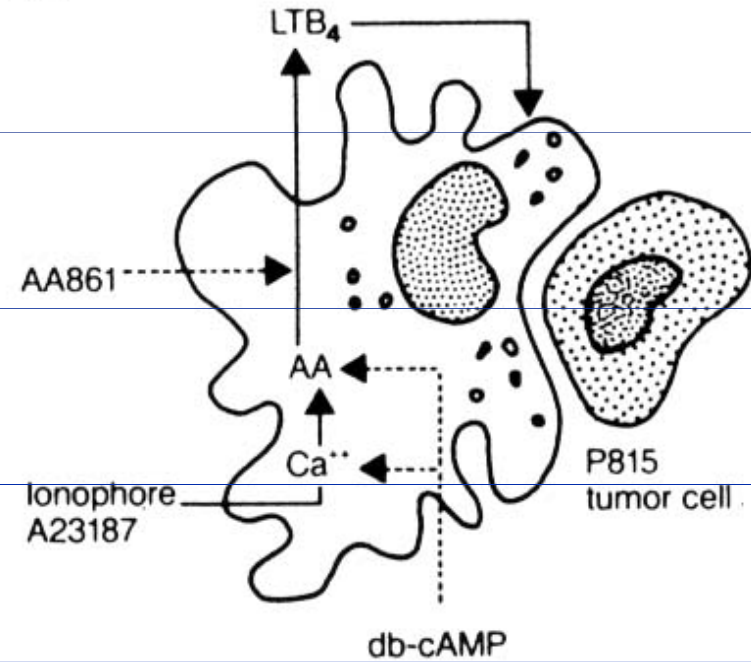
Fig. 5. Effect of the lipoxygenase metabolite, LTC<sub>4</sub>, on the development of tumoricidal function in NDGA-treated, AM, PM, and PBM from cancer patients. LTC<sub>4</sub> (10<sup>-10</sup> M) was added simultaneously with 100 units/ml IFN- $\gamma$  and 40  $\mu$ M NDGA to macrophage cultures. The effector:target ratio used was 20:1. The results presented are from variable numbers of donors (range, 4–8) for each type of macrophage. Bars, SD.



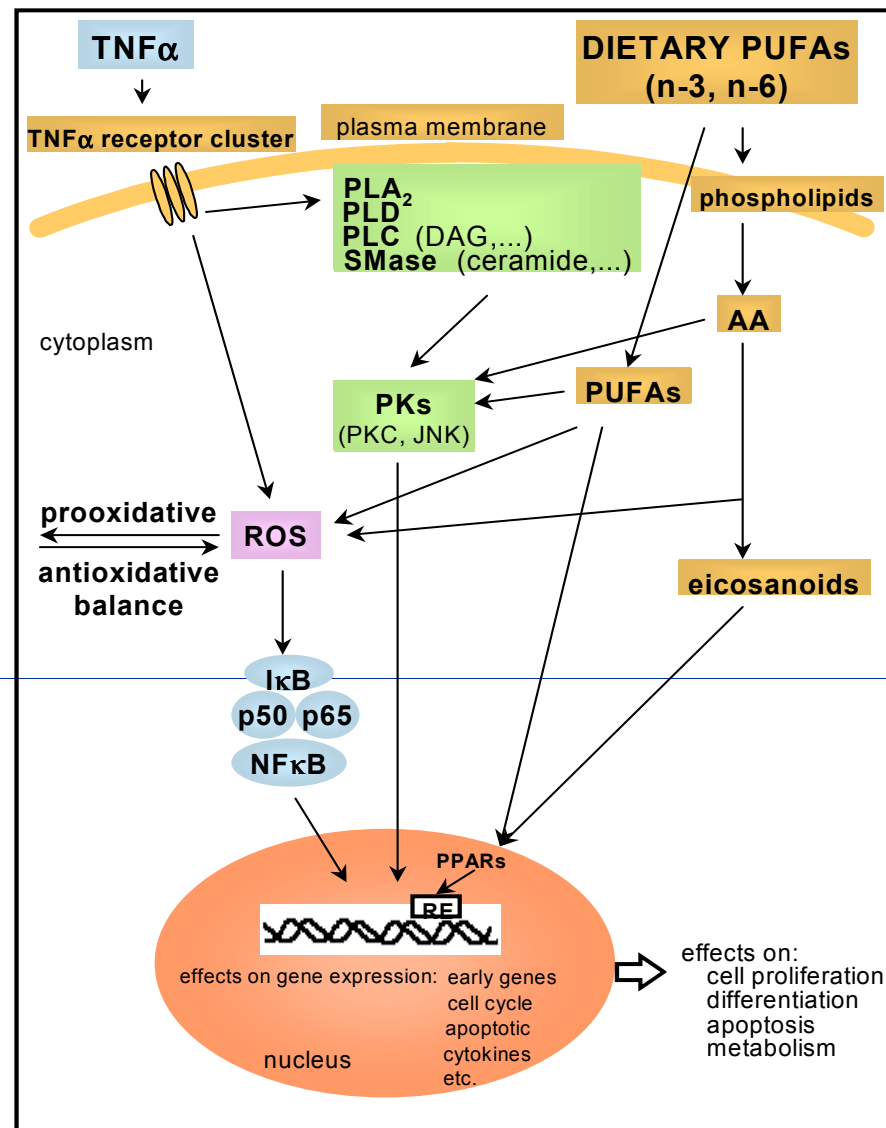
(a)



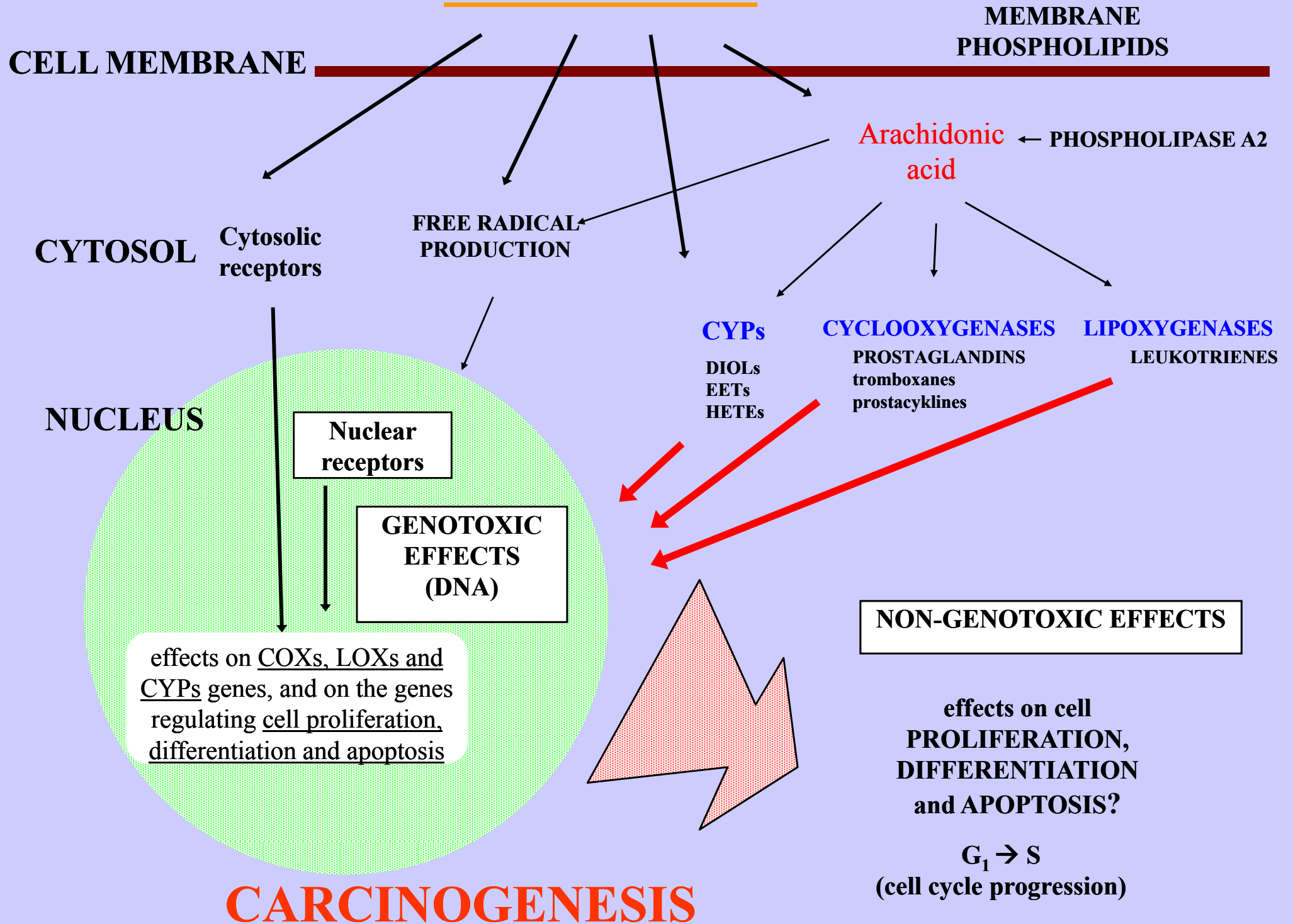
(b)



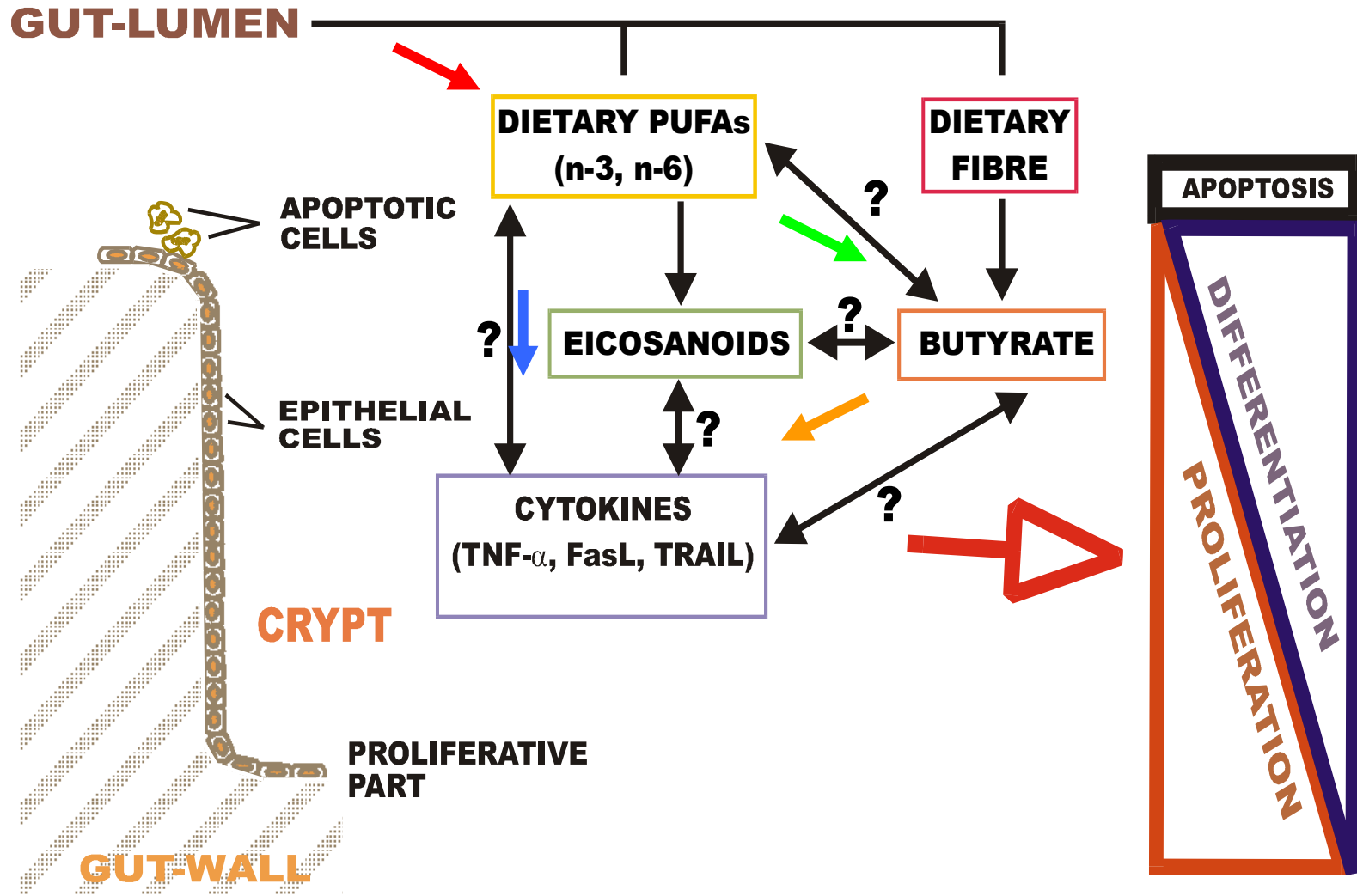
# Předpokládaná interakce TNF alfa s vysoce nenasycenými mastnými kyselinami



# XENOBIOTICS



# INTERACTIONS OF DIETARY FACTORS AND ENDOGENOUS REGULATORS SUPPOSED TO AFFECT CYTOKINETICS OF COLONIC EPITHELIAL CELLS



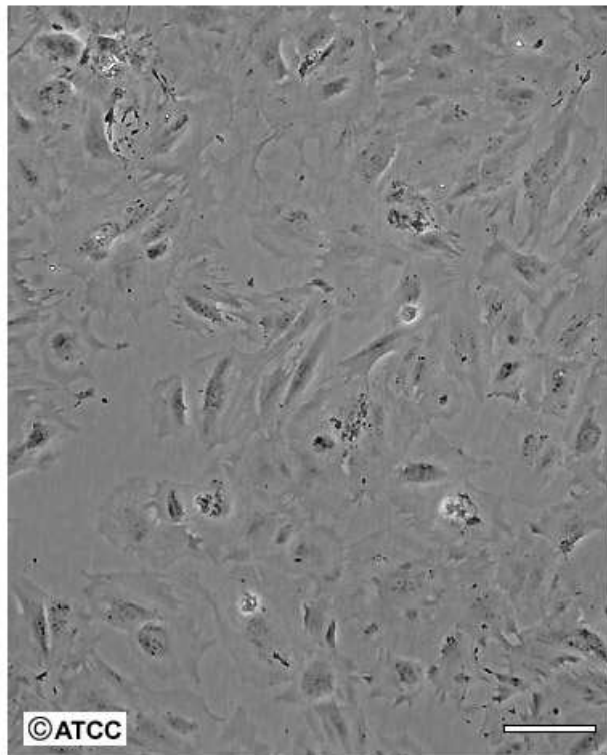
Kovaříková M. et al. Eur J Cancer 2000  
 Kovaříková M. et al. Differentiation 2004

Hofmanová J. et al. Eur J Nutr 2005  
 Hofmanová J. et al. Cancer Letters 2005  
 Vaculová et al. Cancer Letters 2005

# Linie lidských epiteliálních buněk kolonu

**FHC**

normální  
fetální střevo

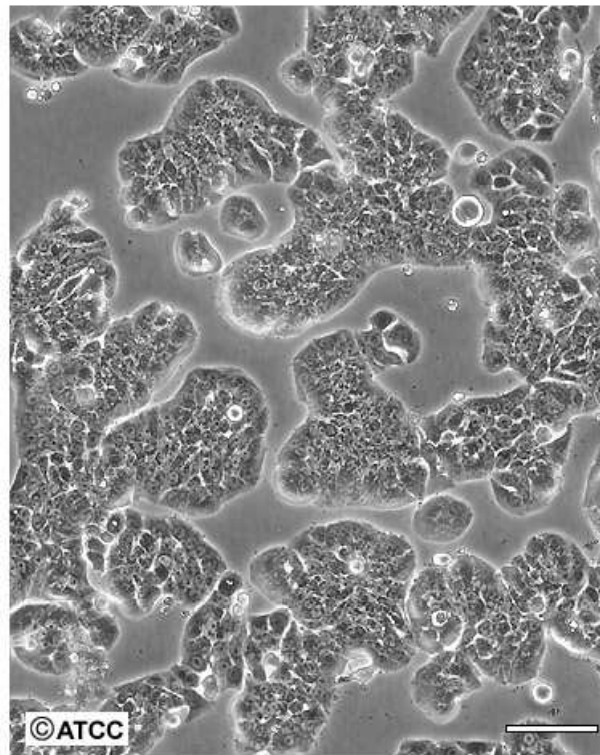


High Density

Scale Bar = 100µm

**HT-29**

diferencující  
neinvazivní

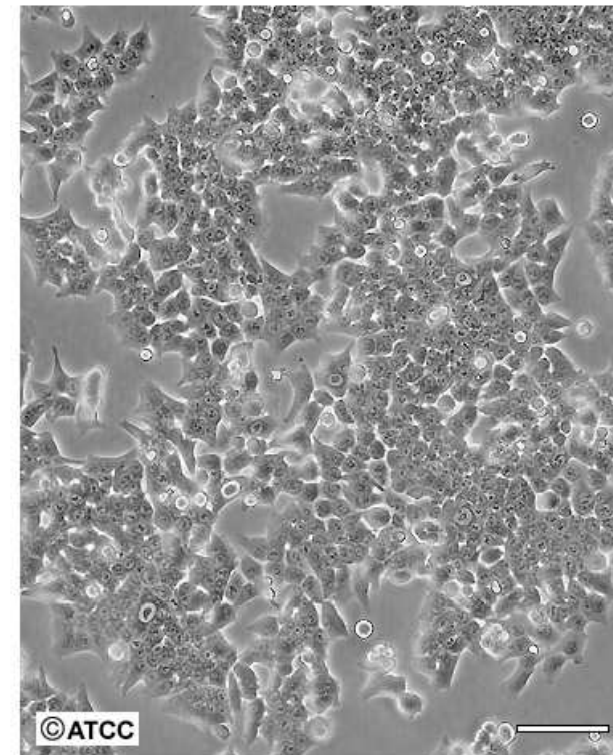


High Density

Scale Bar = 100µm

**HCT-116**

nediferencující  
invazivní



High Density

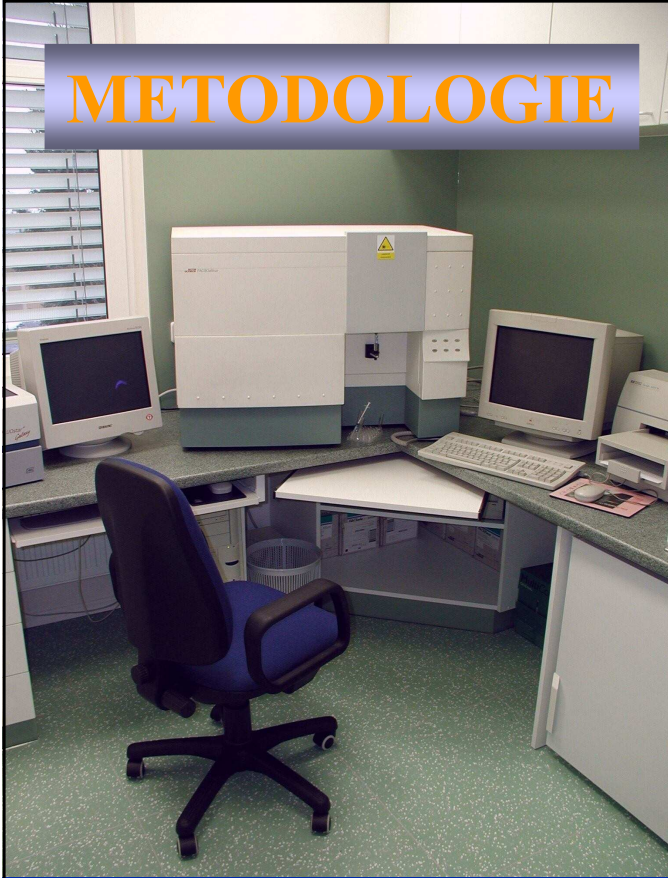
Scale Bar = 100µm

**Adenokarcinom kolonu**

**CaCo-2**

**SW 620 – lymf. uzlina**

# METODOLOGIE



## CYTOKINETIKA

**Detekce proliferace-** regulace buněčného cyklu a zapojených proteinů,

**diferenciace** -buněčná morfologie, aktivita specifických enzymů, exprese specifických proteinů

**apoptózy** -detekce charakteristických změn na úrovni jádra, mitochondrií, membrán, cytoskeletu, exprese regulačních proteinů, štěpení specifických enzymů a substrátů

## ZMĚNY LIPIDOVÉHO METABOLISMU A VLASTNOSTÍ BUNĚČNÝCH MEMBRÁN

-změny spektra MK v bun. lipidech, „lipid packing“ v membránách, akumulace triglyceridů, detekce kardiolipinu, membránový potenciál

## ZMĚNY OXIDATIVNÍHO METABOLISMU

- produkce reaktivních metabolitů kyslíku (ROS) a dusíku, lipidová peroxidace, účinky antioxidantů

Využití moderních metod průtokové cytometrie, fluorescenční mikroskopie, fluorimetrie, spektroskopie, metod molekulární biologie...

# VNMK (AA, DHA) zvýšily citlivost buněk HT-29 k apoptóze indukované NaBt či endogenními faktory z rodiny TNF

Eur J Nutr (2005) 44: 40–51  
DOI 10.1007/s00394-004-0490-2

ORIGINAL CONTRIBUTION

Jiřina Hofmanová  
Alena Vaculová  
Antonín Lojek  
Alois Kozubík

## Interaction of polyunsaturated fatty acids and sodium butyrate during apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cells



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Cancer Letters 218 (2005) 33–41

CANCER  
Letters

[www.elsevier.com/locate/canlet](http://www.elsevier.com/locate/canlet)

## Polyunsaturated fatty acids sensitize human colon adenocarcinoma HT-29 cells to death receptor-mediated apoptosis

Jiřina Hofmanová<sup>\*</sup>, Alena Vaculová, Alois Kozubík

*Laboratory of Cytokinetics, Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, CZ-612 65 Brno, Czech Republic*

Received 15 June 2004; received in revised form 26 July 2004; accepted 29 July 2004



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Cancer Letters 229 (2005) 43–48

CAN  
Le

[www.elsevier.com](http://www.elsevier.com)

## TRAIL and docosahexaenoic acid cooperate to induce HT-29 colon cancer cell death

Alena Vaculová<sup>a</sup>, Jiřina Hofmanová<sup>a</sup>, Ladislav Anděra<sup>b</sup>, Alois Kozubík<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>*Laboratory of Cytokinetics, Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, 612 65 Brno, Czech Republic*

<sup>b</sup>*Laboratory of Cell Signalling and Apoptosis, Institute of Molecular Genetics, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, Czech Republic*

Received 6 November 2004; received in revised form 10 December 2004; accepted 13 December 2004

# DIETETICKÁ DOPORUČENÍ

Zdraví a prevence chorob  
(nedostatek a nadbytek potravy, správná výživa)

Terapeutické využití –nutriční farmakologie  
(adjuvantní terapie, „disease specific nutrition“,  
nosiče léků)

Parenterální a enterální výživa



## VÝZNAM SLOŽENÍ TUKŮ V PARENTERÁLNÍ VÝŽIVĚ PACIENTŮ

**LCT - “long chain” triglyceridy** - z rostlinných olejů s vysokým obsahem PUFA (důležitý poměr n-3 : n-6) - regulační funkce, mohou zvyšovat nebo snižovat např. produkci TNF $\alpha$  (kachektin) - prozámětlivý cytokin spojený s kachexií

**MCT - “medium chain” triglyceridy** - nasycené MK (6-12 uhlíků) - zdroj energie, působí proti supresi imunitních a fagocytárních funkcí u silně stresovaných pacientů.

1) Složení lipidových výživ ovlivňuje spektrum lipidů v plasmě i v buněčných membránách, přičemž metabolismus a obrat fosfolipidů v membránách transformovaných-nádorových buněk se zásadně liší od buněk netransformovaných-nenádorových.

2) Změny ve složení fosfolipidů membrán mění její vlastnosti (fluiditu, produkci volných reaktivních radikálů a biologicky aktivních metabolitů - eikosanoidů), což se dále odráží ve schopnosti příjmu a přenosu signálů důležitých regulačních molekul s následnými účinky na důležité biologické procesy jako jsou buněčný růst, diferenciace a apoptóza a dále funkce buněk imunitního systému

3) PUFAs a jejich metabolity mohou být důležitými regulátory genové exprese. Předpokládá se, že tyto látky jsou schopny ovlivňovat aktivitu transkripčních faktorů, které se pak váží na klíčové elementy spojené se specifickými geny.

4) Změny membrán a růstových vlastností nádorových buněk po působení PUFA mohou modulovat jejich citlivost k různým terapeutickým zásahům.

5) Inhibitory metabolismu AA, tj. produkce eikosanoidů, k nimž patří i řada běžně v klinice využívaných NSAID, mohou významným způsobem modulovat zmíněné procesy.

## Složení a využití lipidových emulzí

Směsi přírodních olejů (sojový –LCT, kokosový – MCT), emulgované fosfolipidy (vaječný lecitin, sojové fosfolipidy), izotonizační přísada (glycerol)

Tukové částice podobné chilomikronům

Parenterální výživa – emulze součást tzv. „all-in-one“ vaků

Funkce - zdroj energie a esenciálních MK

Na základě nových poznatků o regulační úloze lipidů využití jako farmaka

## VÝZKUM V LABORATOŘI CYTOKINETIKY BFÚ AV ČR

**Výzkum je zaměřen** zejména na působení lipidových složek výživy a mechanismy působení látek lipidové povahy v kontextu jejich interakcí s fyziologickými regulátory růstu a environmentálními polutanty . Jsou studovány procesy vedoucí ke změnám regulace buněčné kinetiky a komunikace.

**Získané výsledky** mají význam jak pro obecné studium procesu karcinogeneze (negenotoxické mechanismy) tak pro oblast ekotoxikologie, nádorové prevence a hledání nových protinádorových terapeutických postupů.

Poznatky o úloze specifických lipidových složek výživy mohou být podkladem pro optimalizace parenterálních lipidových emulzí ve spolupráci s klinickými pracovišti a výrobní sférou.

**Cílem** je prohloubit poznání a nově definovat potenciální úlohu látek lipidové povahy zejména vysoce nenasycených mastných kyselin a jejich derivátů v mezi- a vnitrobuněčných komunikacích podílejících se na regulaci buněčného dělení, diferenciaci a apoptózy.

▶ **Výzkum interakce VNMK s endogenními regulátory růstu a apoptózy** (cytokiny, induktory apoptózy - zejména vliv na cytokinetiku, mechanismy) - terapeutické aplikace, lipidové výživy

▶ **Výzkum interakce VNMK s environmentálními polutanty** (rozpuštěnost v tucích, aktivace metabolismu lipidů a jejich úloha v působení polutantů - cytokinetika, transdukce signálů, mezibuněčná komunikace)

▶ **Výzkum interakce VNMK s vybranými farmaky** (mechanismy působení NSAID-nesteroidních antiflogistik, modulace účinků cytostatik - terapeutické aplikace)

Vše, co chcete vědět o lipidech

<http://www.cyberlipid.org/>

# The Traditional Healthy Asian Diet Pyramid



© 2000 Oldways Preservation & Exchange Trust