

# Buněčná a molekulární fyziologie lipidů

Doc. Jiřina Hofmanová

**Změny cytotkinetiky epiteliálních buněk kolonu  
indukované nutričními faktory *in vitro***

**Interakce endogenních regulátorů a  
lipidových složek výživy,  
molekulární mechanismy působení**

# LIPIDOVÉ SLOŽKY VÝŽIVY



## RIZIKOVÉ FAKTORY

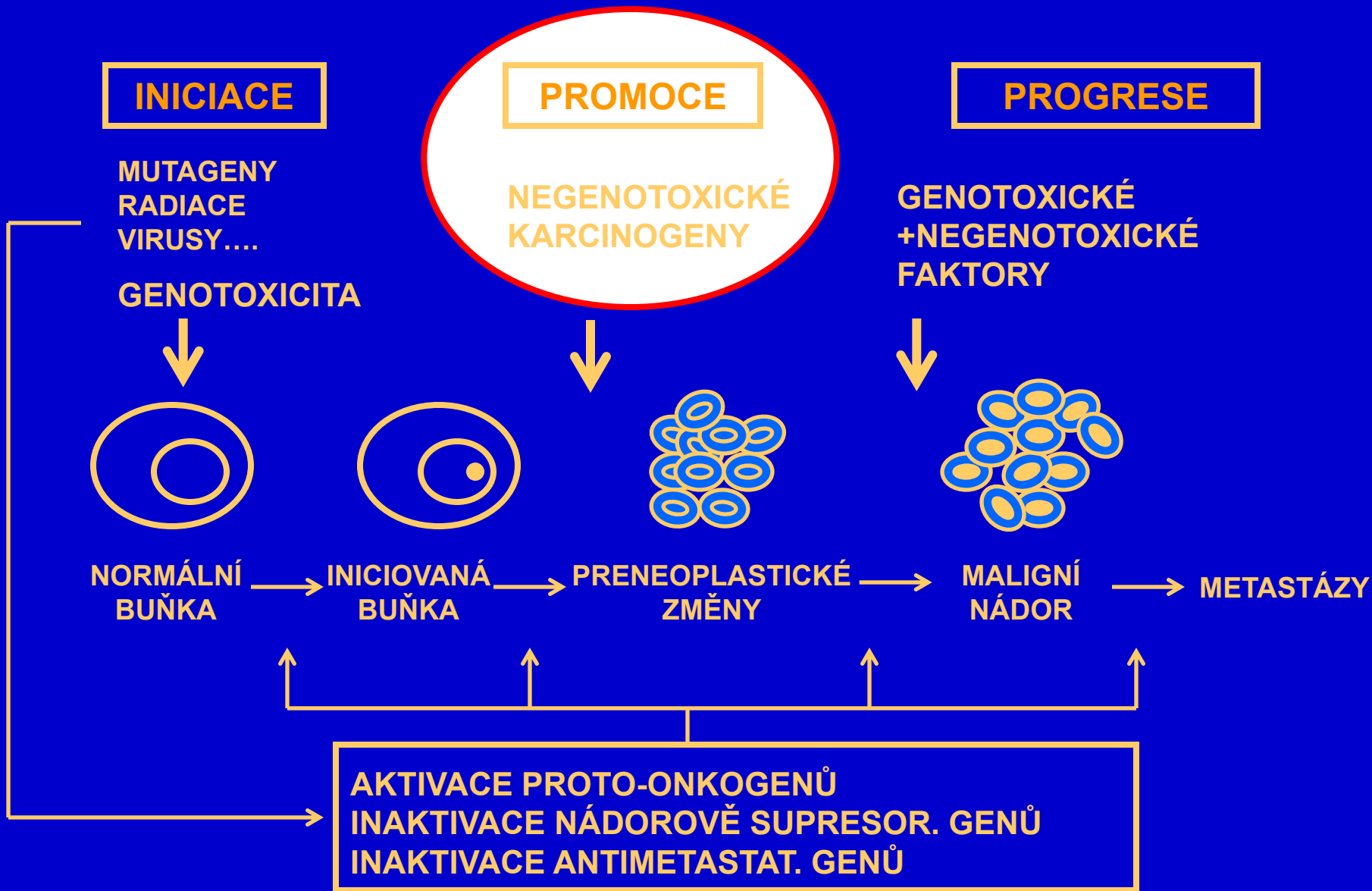
Zvýšený přísun kalorií (snížený výdej)

Vysoký obsah tuků

Nízký obsah vlákniny

Negenetické příčiny vzniku  
kardiovaskulárních a  
nádorových onemocnění





**Mnohostupňový proces karcinogeneze**

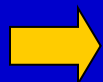


zvýšený příjem tuků = rizikový faktor pro karcinom kolonu, prostaty , prsu

**ALE**

důležité nejen množství, zejména složení tuků

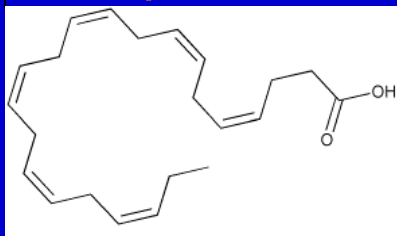
**TUKY NEJSOU POUZE ZDROJ ENERGIE !!!**



strukturální a regulační úloha s významným dopadem na  
fyziologické funkce organismu

## Esenciální vysoce nenasycené mastné kyseliny (VNMK)

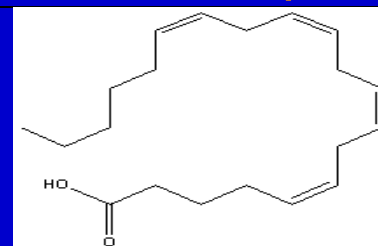
**n-3 ( $\alpha$ -linolenová k.)**



**DHA  
(22:6)**

ted' 1:14  
(1:4)

**n-6 (linoleová k.)**



**AA  
(20:4)**

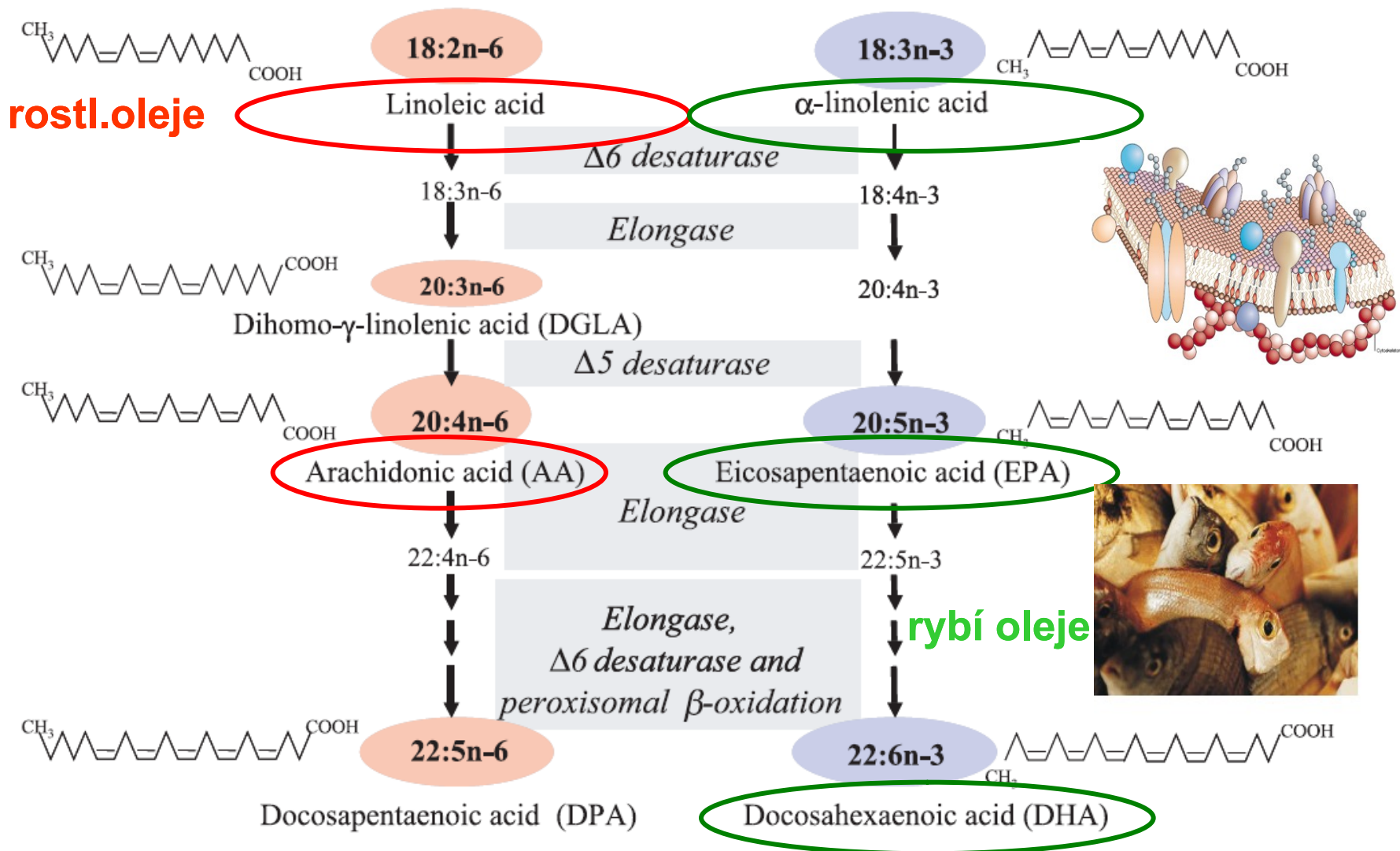
zdroj: rostlinné oleje  
(lněný, řepkový, sojový)  
rybí olej, fytoplankton

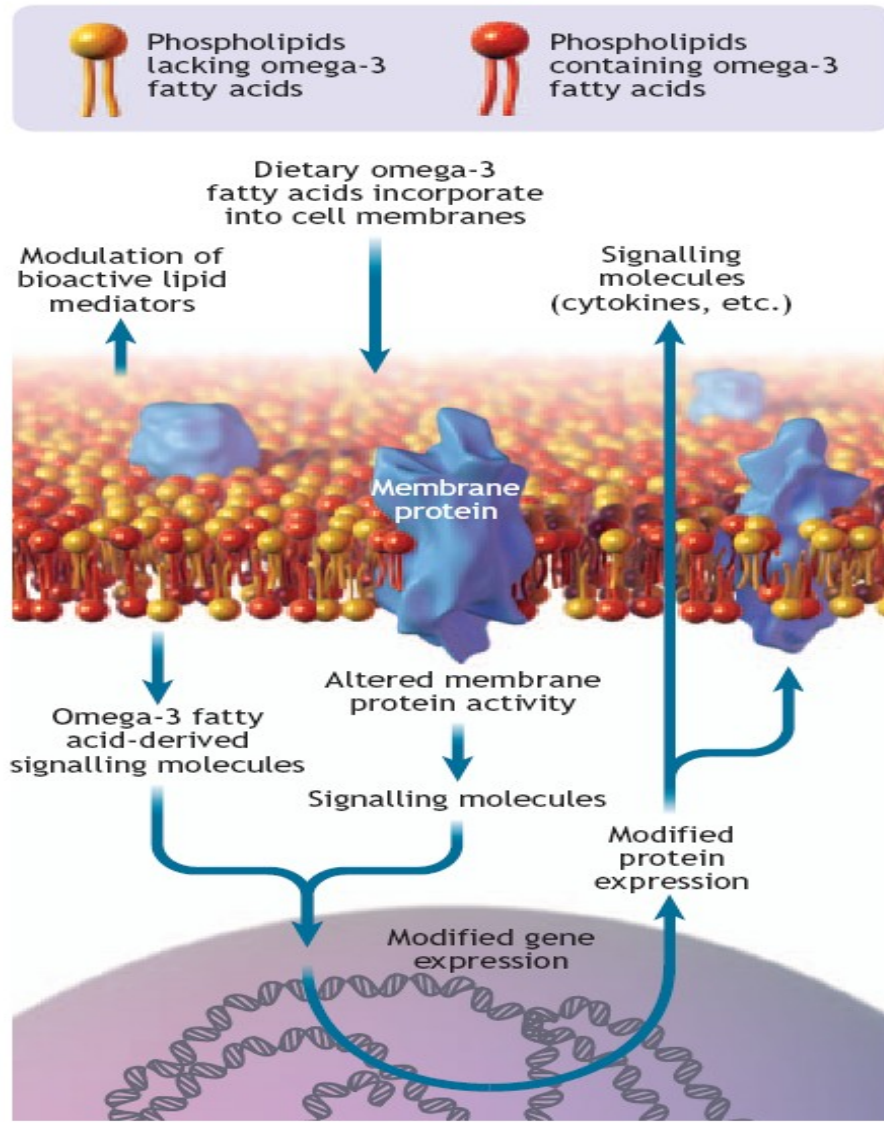
zdroj: rostlinné oleje  
(slunečnicový, pupalkový,  
kukuřičný) živočišné tuky



# 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





Lianne Friesen and Nicholas Woolridge

**Figure 2:** Cell membrane showing omega-3 fatty acids incorporated into the phospholipid bilayer. Omega-3 fatty acids can modify gene and protein expression, modulate membrane protein activity and act as a reservoir for bioactive molecules.

PUFA jsou inkorporovány do fosfolipidů buněčných membrán

a mohou zásadně ovlivňovat jejich vlastnosti

# Složky lipidového metabolismu v buněčných signalizacích

## Mediátory a modulátory

SIGNÁL  
(např. cytokiny)

Biofyzikální vlastnosti membrán

Lipidový metabolismus

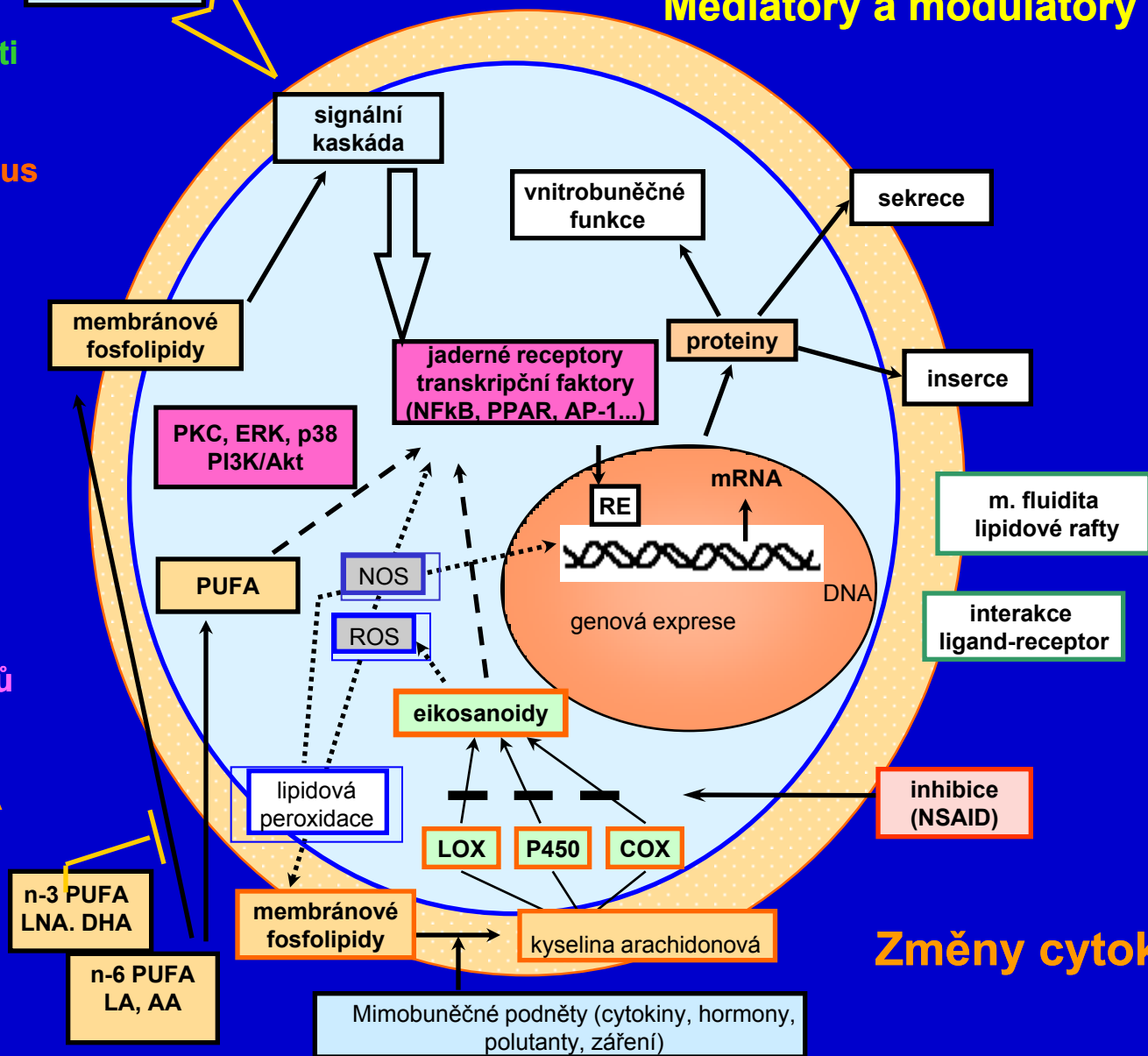
Aktivace fosfolipáz  
Uvolňování a metabolizace AA  
eikosanoidy

Oxidativní metabolismus

Transdukce signálů  
(kinázy, fosfatázy)

Aktivace membrán. i vnitrobun. receptorů – tr. faktorů

Expese proteinů  
Expese genů - mRNA

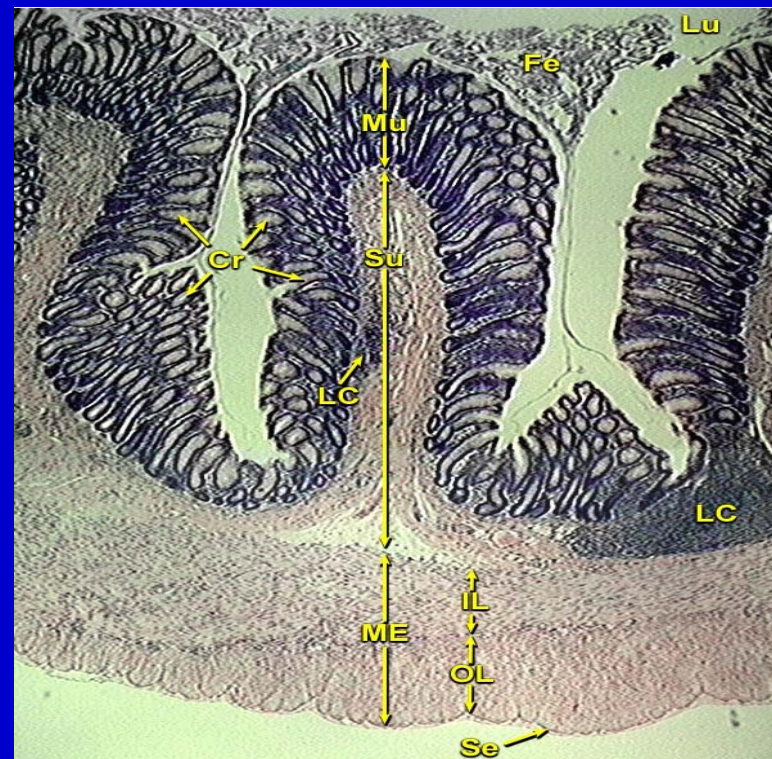
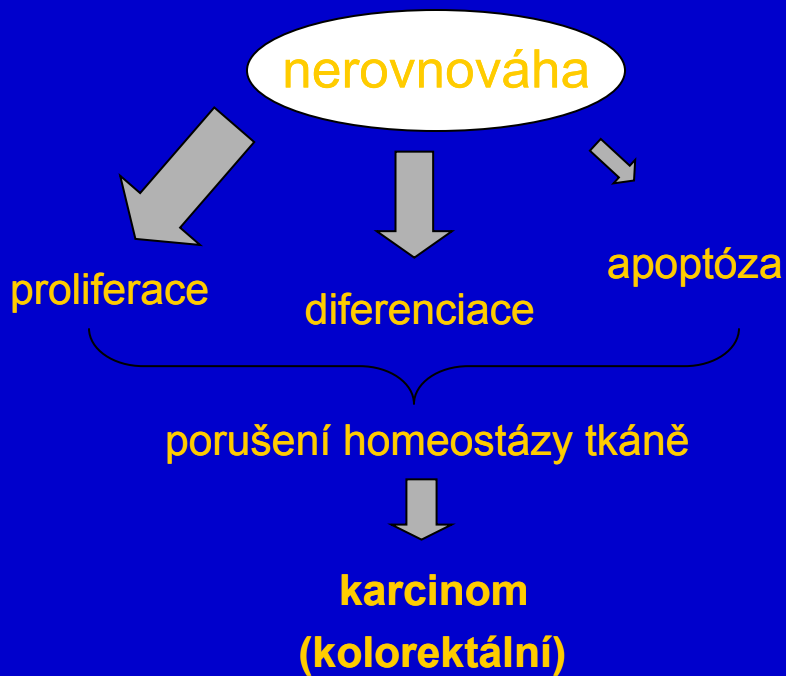


Změny cytokinetiky



# Rakovina tlustého střeva

- druhým nejčastějším nádorem u mužů hned po nádoru plic a u žen po nádoru prsu
- **ČR** – vysoká incidence, přední ve statistikách, alarmující růst



<http://cellbio.utmb.edu/microanatomy/digestive/Intestine.htm>

rozvoj nádorů kolonu - vlivy genetické

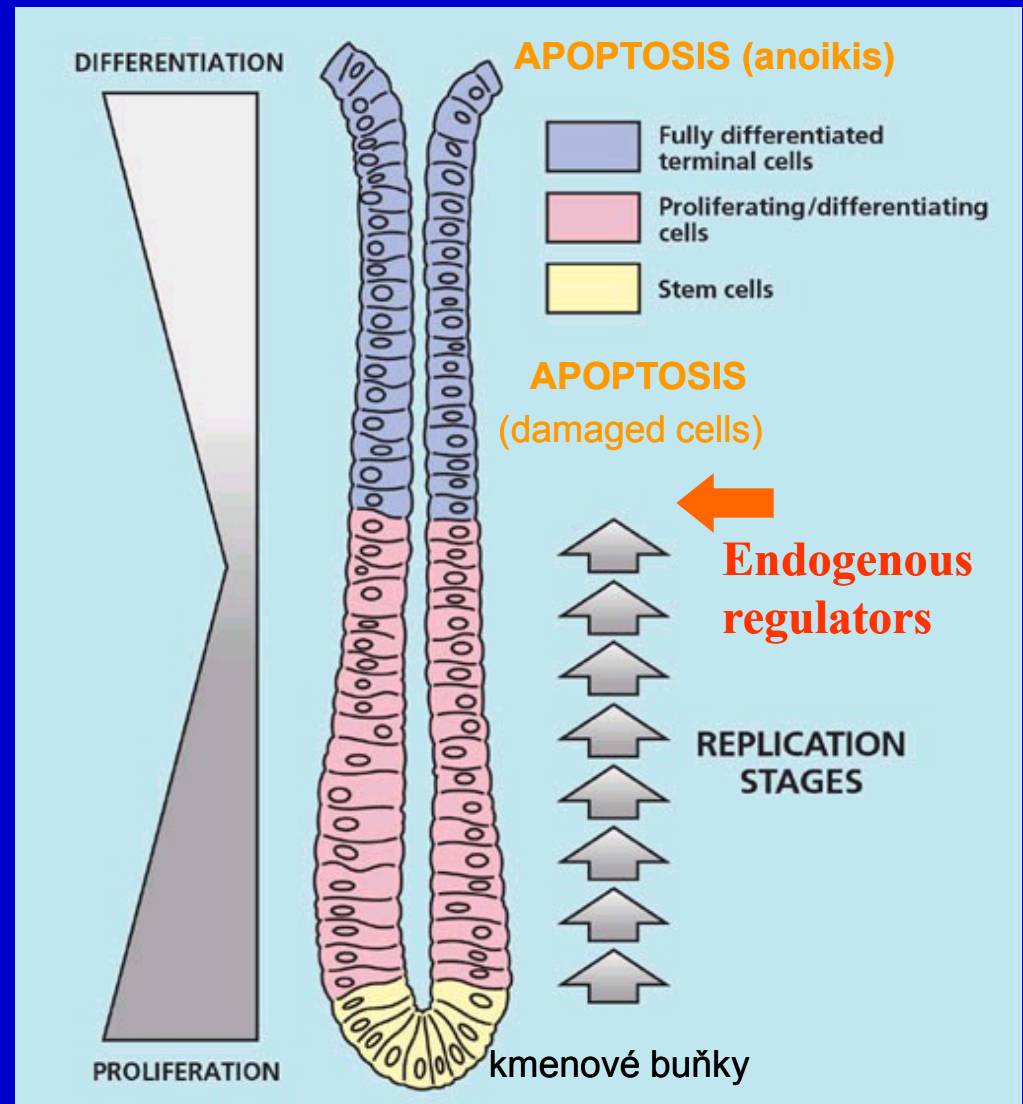
- vlivy zevního prostředí (genotoxická činidla

a negenotoxické promotory)



# EPITEL TLUSTÉHO STŘEVA (kolonu)

- ◆ kontinuálně se obnovující buněčné populace
- ◆ řada zásadních fyziologických funkcí
- ◆ dynamická rovnováha mezi přírůstkem buněk na bázi krypty (proliferace) a úbytkem (apoptóza-anoikis) na povrchu
- ◆ regulace endogenními faktory (hormones and cytokines), ale rovněž složkami diety přítomnými v lumen střeva



# Přechod adenom x karcinom

## Buněčné linie

fetální colon  
**FHC**

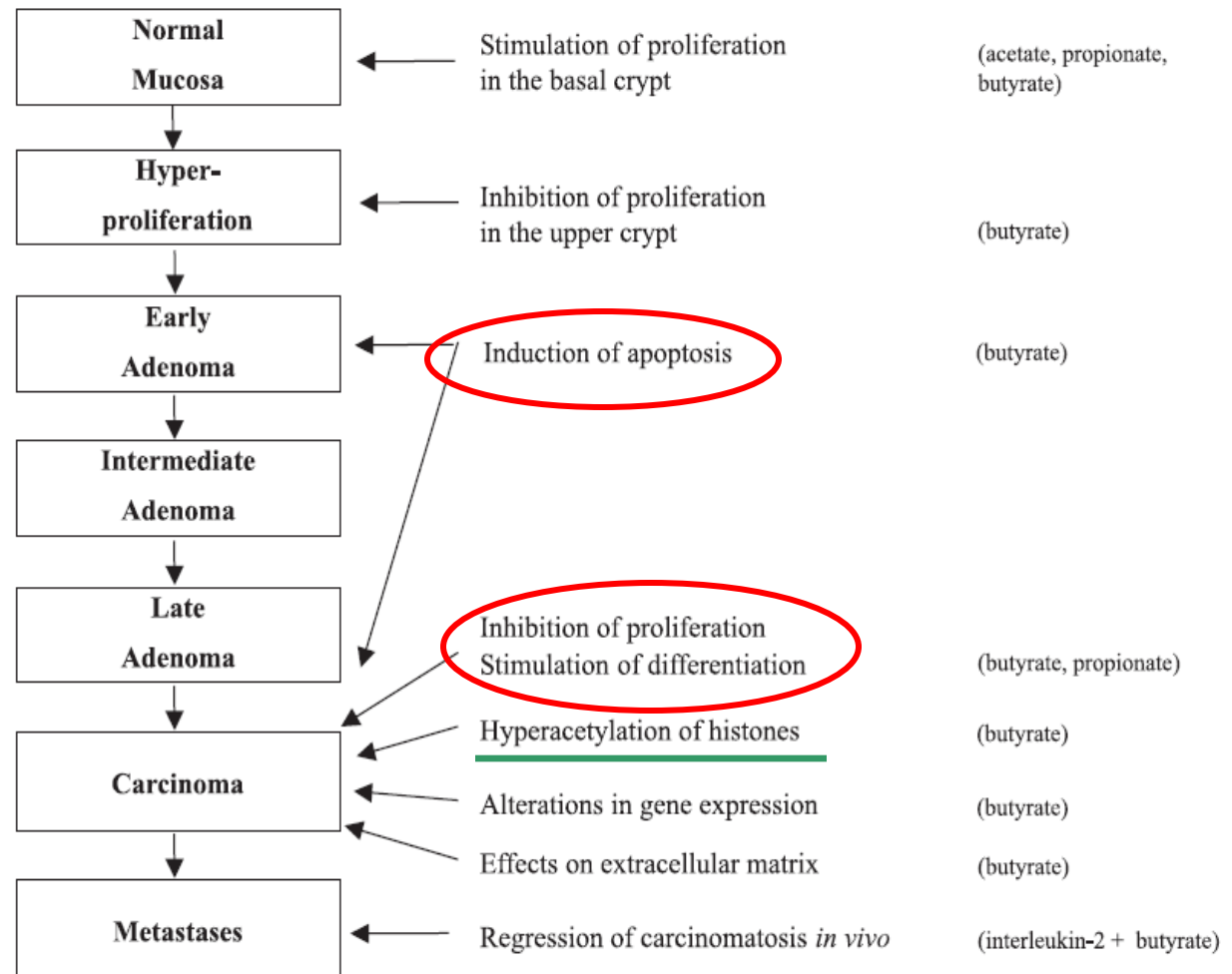
adenomy  
**AA/C1**  
**RG/C2**

adenocarcinomy  
**HT-29**  
**HCT116**

lymf.  
metastáza  
**SW-620**

**Carcinogenic  
potential**

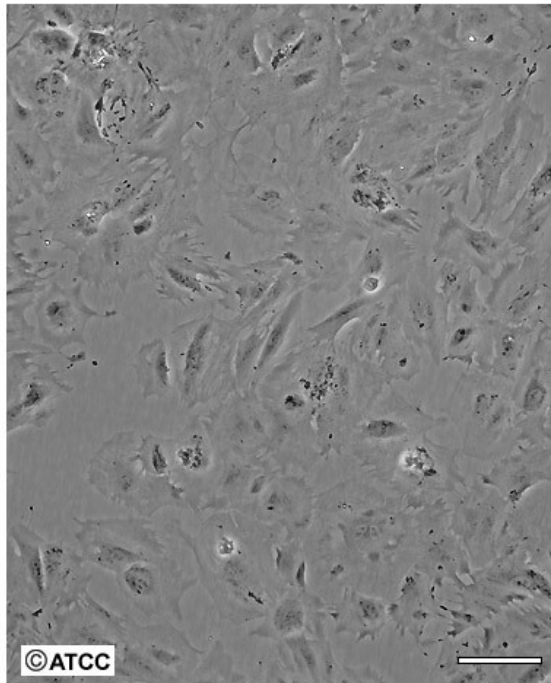
## Účinky butyrátu



# Linie lidských epiteliálních buněk kolonu

**FHC**

normální  
fetální střevo

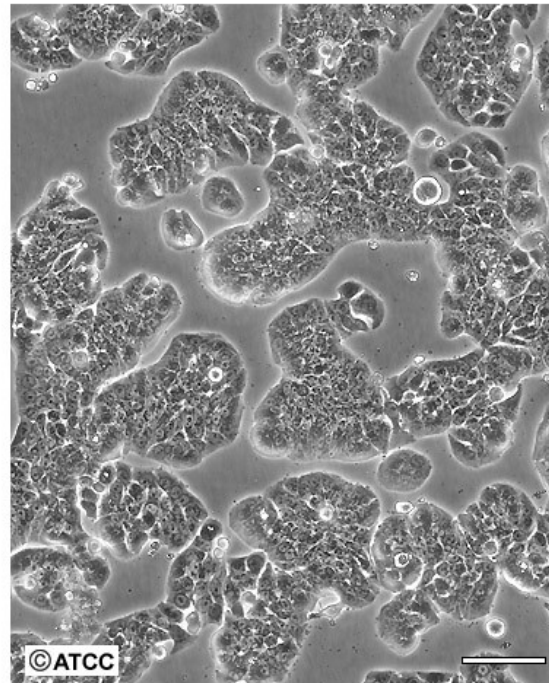


©ATCC

Scale Bar = 100µm

**HT-29**

diferencující  
neinvazivní



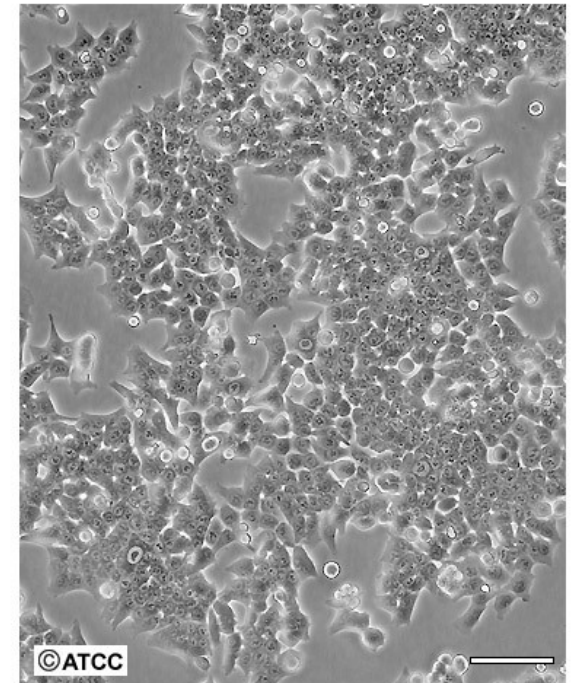
©ATCC

High Density

Scale Bar = 100µm

**HCT-116**

nediferencující  
invazivní



©ATCC

High Density

Scale Bar = 100µm

**Adenokarcinom kolonu**

**CaCo-2**

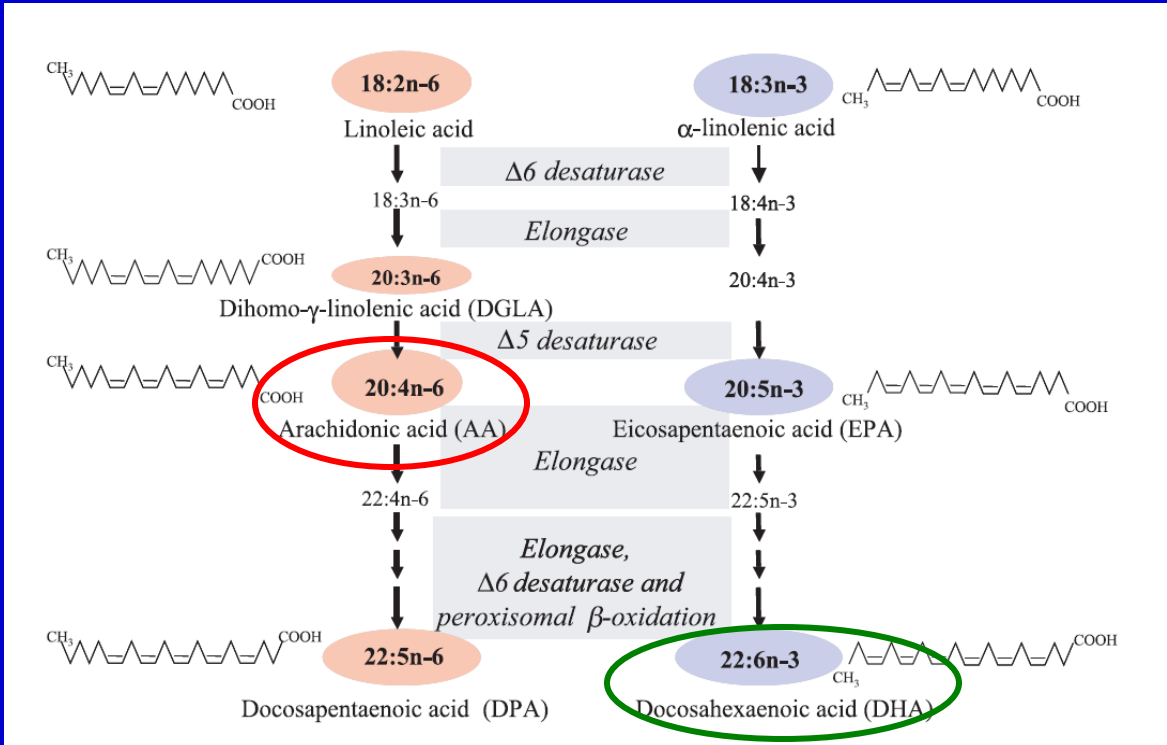
**SW 620 – lymf. uzlina**



# Interaction of PUFAs and butyrate

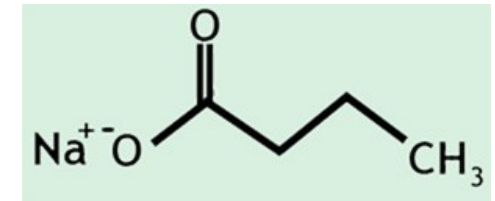
$\omega$ -6 arachidonic acid or  $\omega$ -3 docosahexaenoic acid

fiber



Short-chain fatty acids

**sodium butyrate**



colon carcinoma cells

- decreased proliferation
- induction of differentiation
- induction of apoptosis

**! Influence on colon carcinogenesis !**

**AA** (50µM)  
plant oil

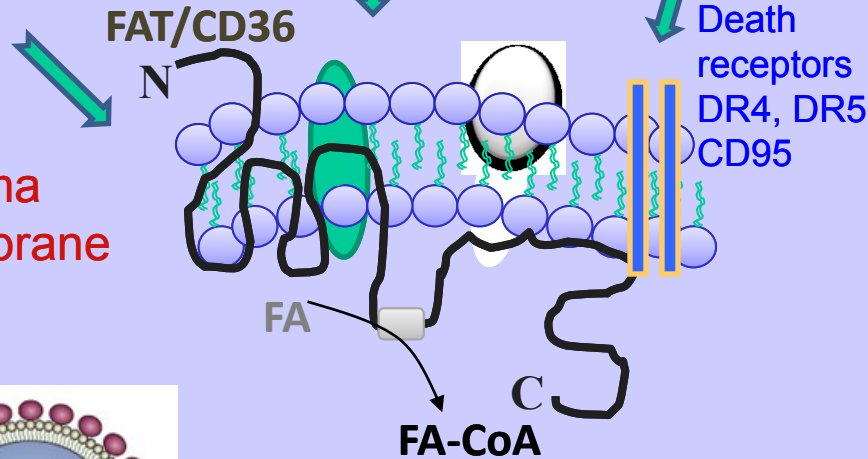
**DHA**  
fish oil

**NaBt** (3mM)  
fiber

**Endogenous regulators**  
**TRAIL, anti-Fas**

**Approaches**

various levels of cell organisation



## Cytoplasmic membrane

### Lipid packing

*flow cytometry (merocyanin 540)*

### Lipid analyses

Phospholipids (*LC-MS*)

FA composition (*GC-MS*)

## Lipid droplets in cytoplasm

*flow cytometry - Nile Red*

## Mitochondria

ROS – *flow cytometry (DHR-123)*

MMP – *flow cytometry (TMRE)*

Bcl-2 family (*Western blotting*)

## Nucleus

**PPAR**



**PPRE**

## Nucleus

Transcription factors, gene expression

**Proliferation**

**Differentiation**

**Apoptosis**



## CYTOKINETIKA

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

**diferenciace** -buněčná morfolgie, 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...



# The Traditional Healthy Asian Diet Pyramid

