

Buněčná a molekulární fyziologie lipidů

LIPIDY A JEJICH INTERAKCE V MECHANISMECH ROZVOJE NÁDORŮ

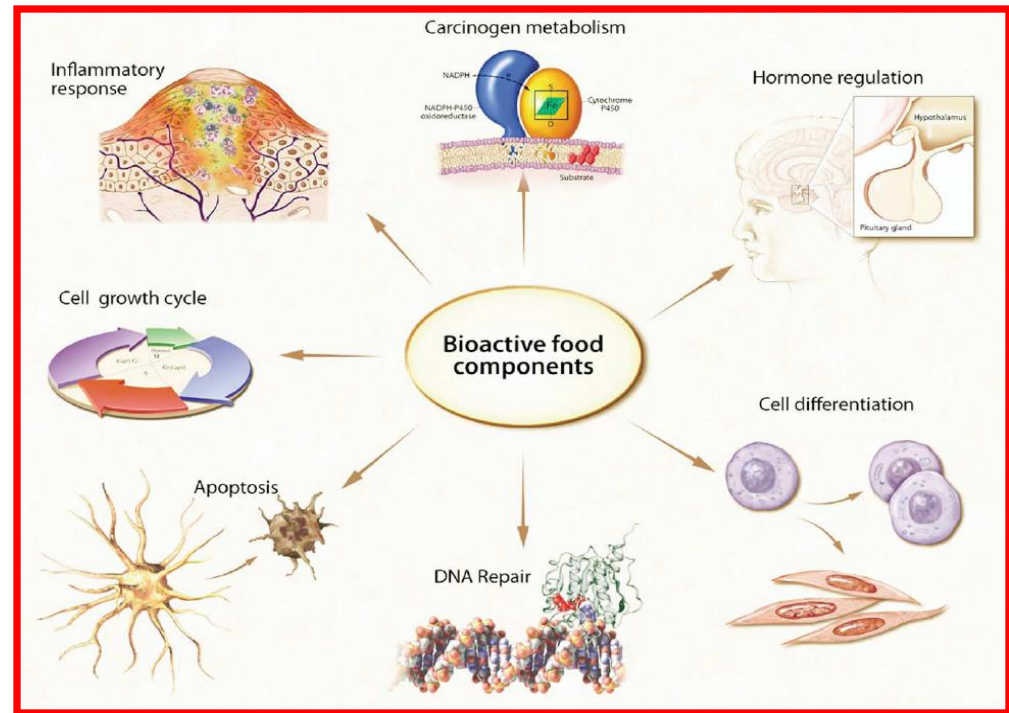
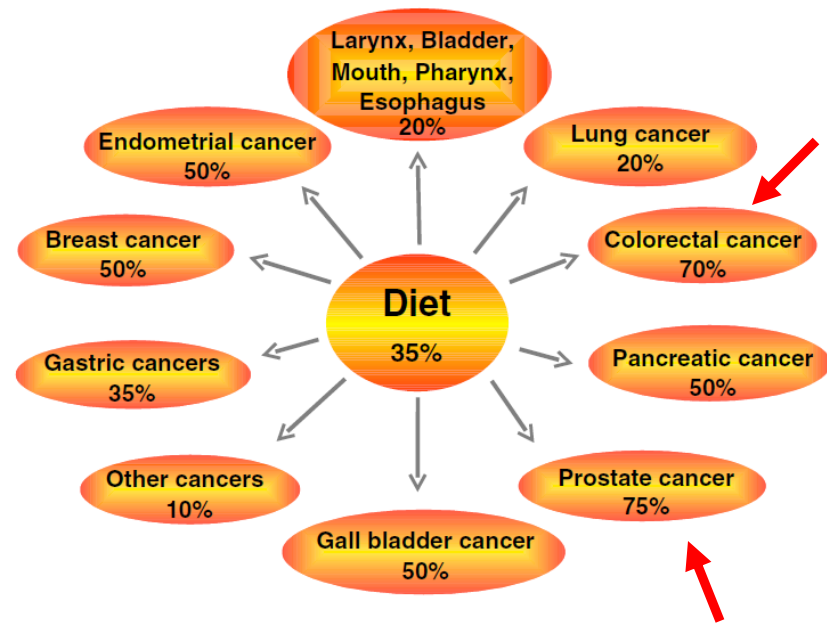
Doc. RNDr. Jiřina Hofmanová CSc.
Oddělení cytokinetiky BFÚ AV ČR, v.v.i, Brno

Oddělení fyziologie a imunologie živočichů
ÚEB, Přírodovědecká fakulta MU Brno

Vznik a rozvoj nádorů genetické faktory + faktory vnějšího prostředí

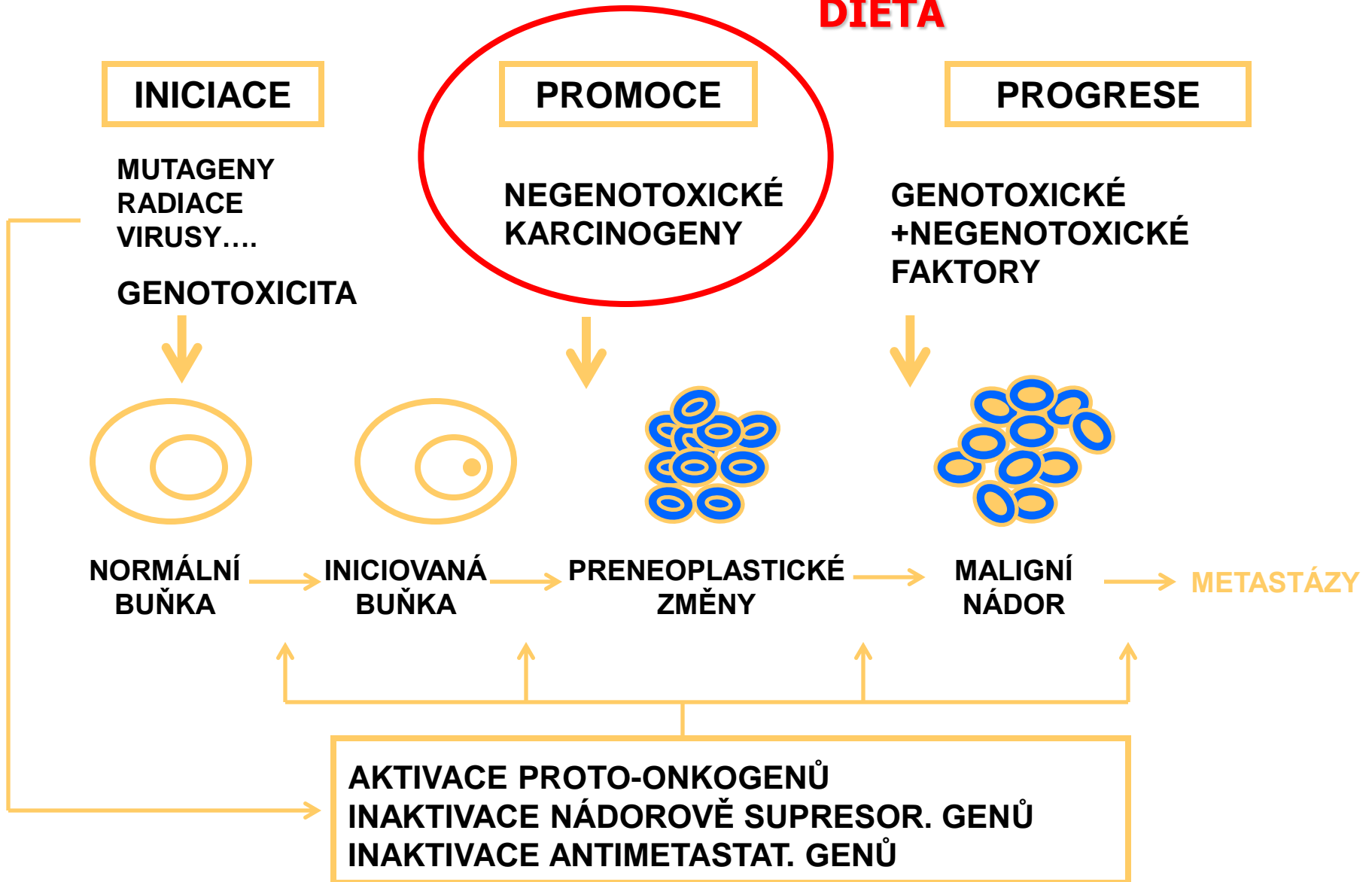
??Podíl výživy stále diskutován???

Bioaktivní složky potravy



**ovlivňují genetické a epigenetické děje
spojené se vznikem různých patologických procesů**

DIETA



Mnohostupňový proces karcinogeneze

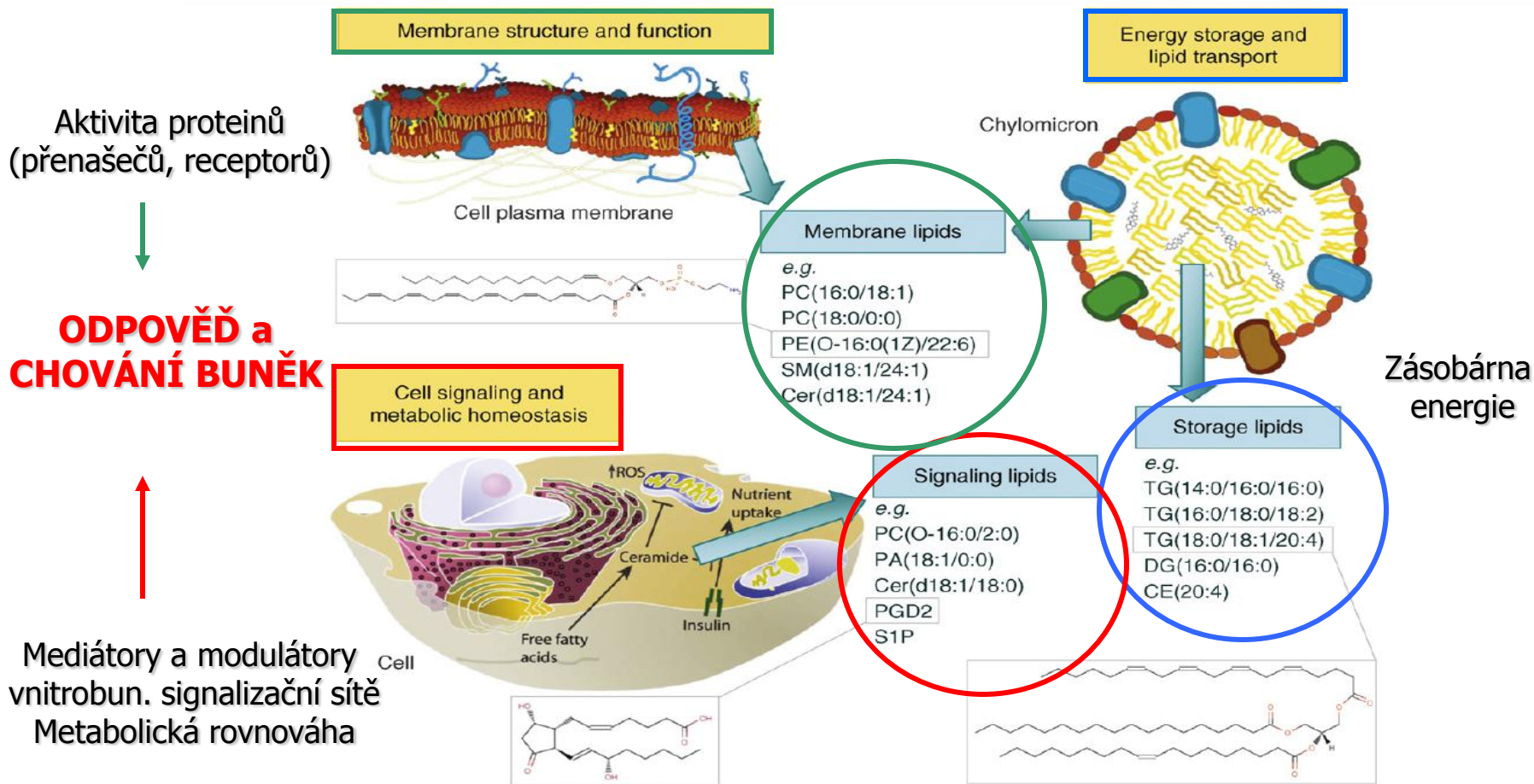
Lipidové složky výživy



Různá biologická úloha lipidů

TUKY (lipidy) NEJSOU POUZE ZDROJ ENERGIE !!!

Strukturální a regulační úloha s významným dopadem na fyziologické funkce organismu
Úloha v patofyziologii - nádory



TRENDS in Biotechnology

ESENCIÁLNÍ VYSOCE NENASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY (VNMK)

dlouhé C řetězce a 2 i více dvojných vazeb

Řada n-6 a n-3

v záp dietě
až 20:1
(1:1)



rostl.oleje

18:2n-6

Linoleic acid

18:3n-3

α -linolenic acid



$\Delta 6$ desaturase

18:3n-6

Elongase

18:4n-3



Dihomo- γ -linolenic acid (DGLA)

20:3n-6

$\Delta 5$ desaturase

20:4n-3



20:4n-6

Arachidonic acid (AA)

20:5n-3

Eicosapentaenoic acid (EPA)

Elongase

22:4n-6

Elongase,
 $\Delta 6$ desaturase and
peroxisomal β -oxidation

22:5n-3

rybí oleje
plankton, řasy



22:5n-6

Docosapentaenoic acid (DPA)

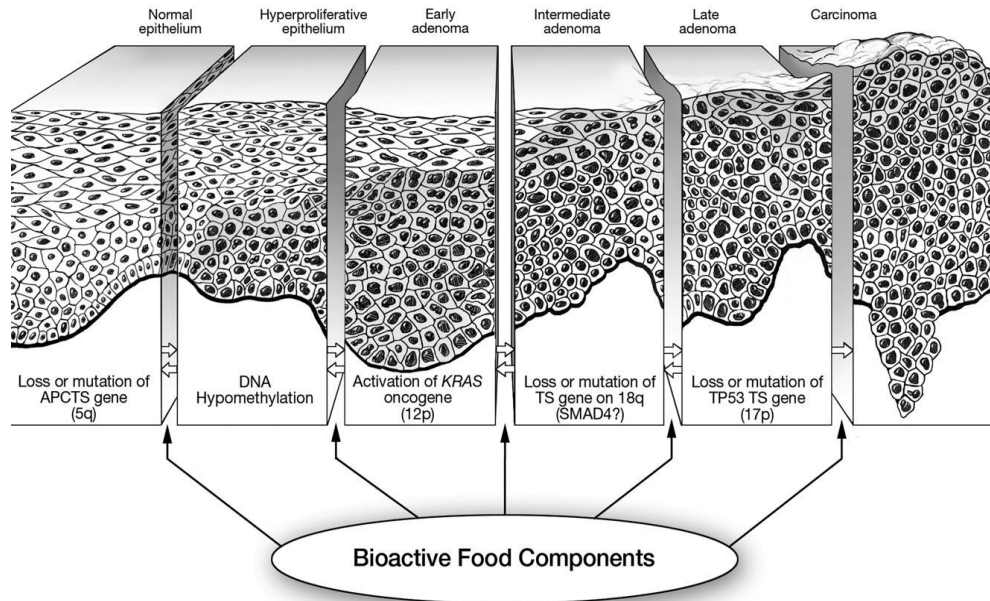
22:6n-3

Docosahexaenoic acid (DHA)



Rozvoj nádorů kolonu

Multifaktoriální a komplexní etiologie
Genetické i epigenetické změny, životní styl, výživa



Ve všech stádiích rozvoje
uplatnění

bioaktivních složek výživy
stimulace či zástava progresu



Epidemiologické, experimentální a dnes již i klinické studie prokazují **protektivní úlohu n-3 VNMK** (plankton, rybí olej) a mastné kyseliny s krátkým řetězcem

BUTYRÁTU z vlákniny
V ZÁNĚTU I KARCINOGENEZI KOLONU



Psyllium

Přechod adenom x karcinom

Buněčné linie

normální epitel
NCM460

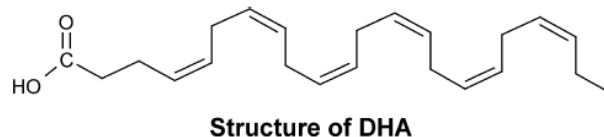
fetální colon
FHC

adenom
AA/C1
RG/C2

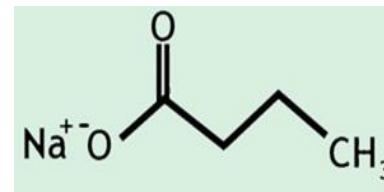
adenocarcinom
HT-29
HCT-116
SW480

lymf.
metastáza
SW-620

**Karcinogenní
potenciál**



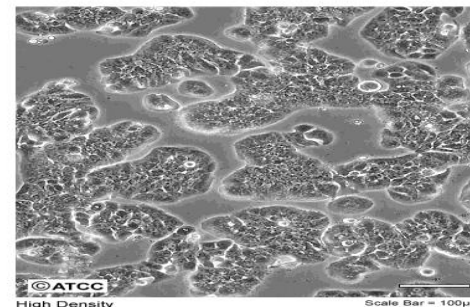
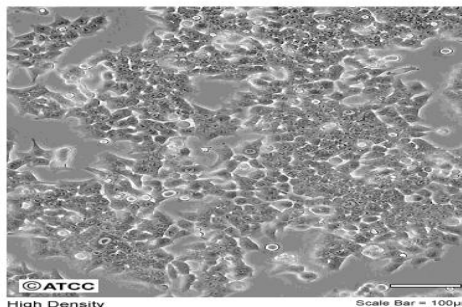
Mikrobiální fermentace
vlákniny ve střevě



Účinky VNMK a butyrátu

NEDOSTATEČNĚ JSOU STÁLE OBJASNĚNY

- ▶ MECHANISMY ÚČINKŮ SAMOTNÝCH MK
- ▶ JEJICH VZÁJEMNÁ SOUČINNOST
- ▶ INTERAKCE S ENDOGENNÍMI REGULÁTORY BUNĚČNÉHO RŮSTU, DIFERENCIACE A SMRTI



AA (50µM)
Rostl. oleje

DHA
Rybí oleje

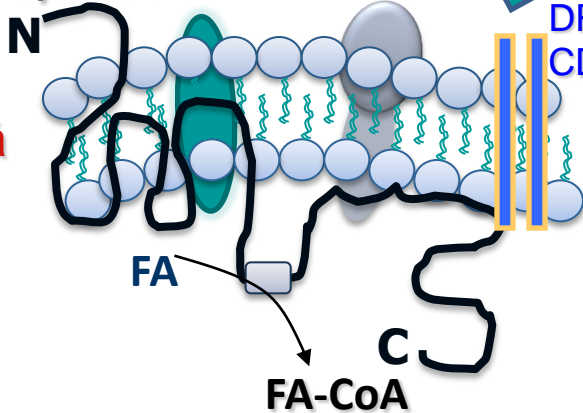
NaBt (3mM)
vláknina

Endogenní regulátory
TRAIL, TNFα,
anti-Fas

DETEKOVANÉ PARAMETRY
(různý stupeň bun. organizace)

Plasmatická
membrána

FAT/CD36

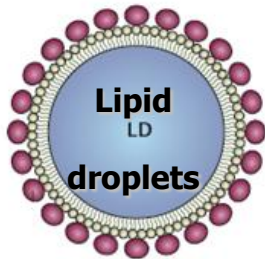


Receptory smrti
DR4, DR5
CD95

PLASMATICKÁ MEMBRÁNA
Struktura lipidů (lipid packing)

Transportní proteiny
průtoková cytometrie - FCM

Analýzy buněčných lipidů
Fosfolipidy, neutrální lipidy (LC-MS-MS)
Složení MK (GC-MS)

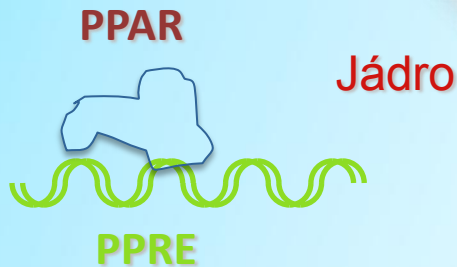


Cytoplasma

CYTOPLASMA
Akumulace lipidů (lipid droplets, FCM)
Produkce ROS – FCM



MITOCHONDRIE
Mit. membránový potenciál – FCM
Expres apoptických proteinů (Western blot,



JÁDRO
Transkripční faktory, genová exprese (PCR)

Proliferace **Diferenciace** **Apoptóza**

Na modelech buněk kolonu jsme prokázali

- ▶ **příznivé účinky kombinace VNMK a butyrátu** u modelových buněk nádorů kolonu (antiproliferační a apoptické působení, vč. některých mechanismů)

Hofmanová J. et al, Eur J Nutr 2005

Hofmanová J. et al. Mol Nutr Food Res 2009

- ▶ **posílení účinků endogenních regulátorů apoptózy** (cytokinů z rodiny TNF indukujících apoptózu) a **překonání rezistence působením mastných kyselin (VNMK i butyrát)**

Kovaříková M. et al. Eur J Cancer 2000

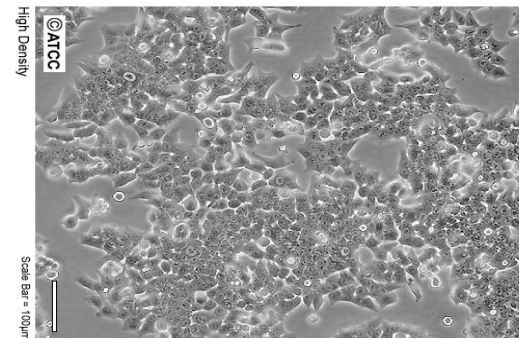
Kovaříková M. et al., Differentiation 2004

Hofmanová J. et al., Cancer Letters 2005

Vaculová A. et al, Cancer Letters 2005

Hofmanová J. et al. Oncology Reports 2008

Hýžd'álová M. et al. Cytokine 2008



- ▶ **významnou úlohu buněčných lipidů** v těchto účincích

Hofmanová J. et al. J Nutr Biochem 2011

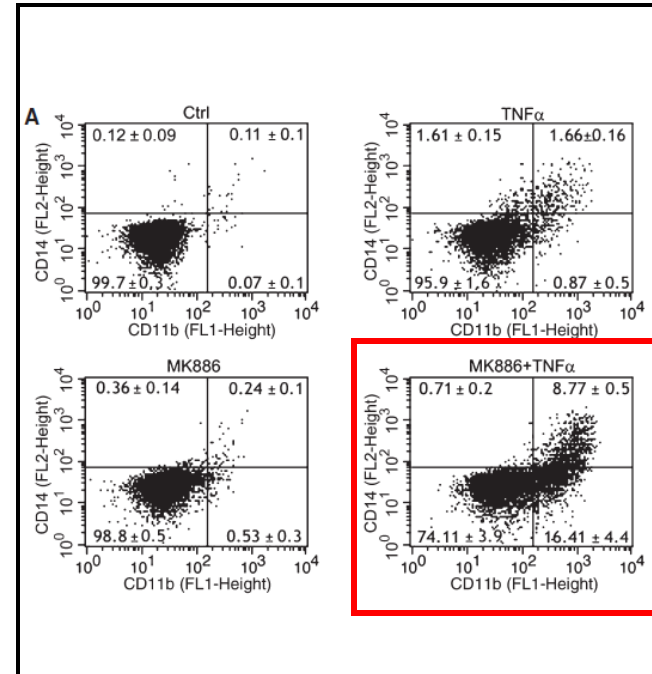
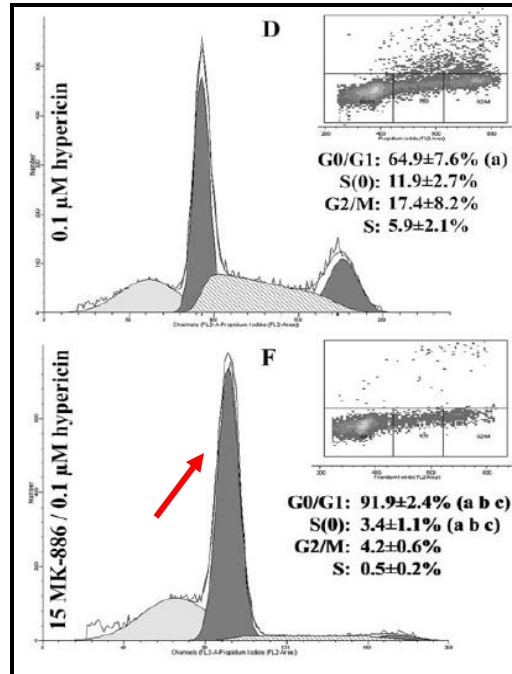
Metoda průtokové cytometrie

Specifická barviva - intenzita fluorescence

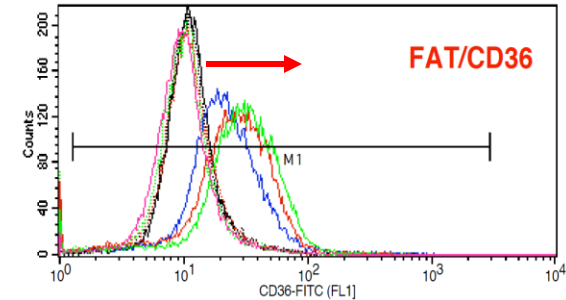
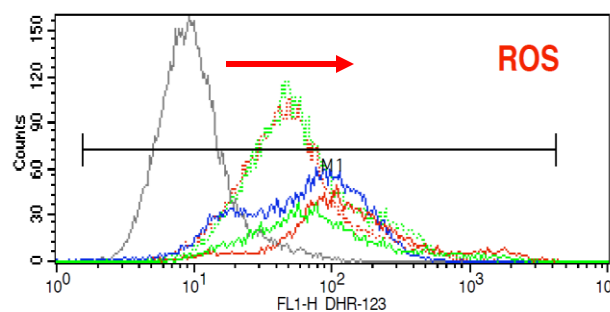
Parametry odrážející chování buněčných populací

Fáze buněčného cyklu

Expresí CD povrchových antigenů



Expresí a produkce vnitrobun. molekul

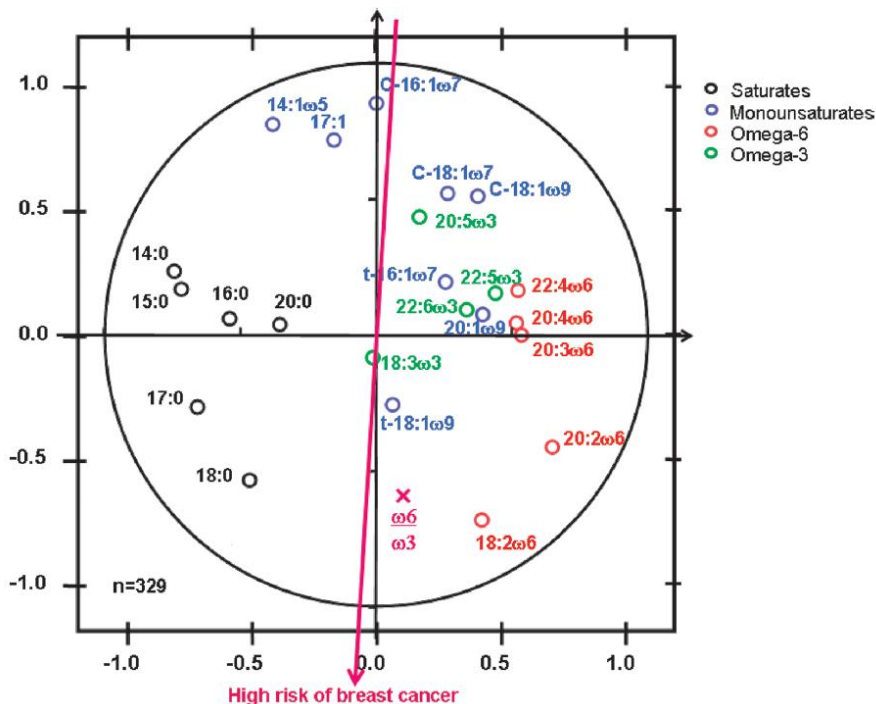


Laboratory
of
cytokinetics
Institute of Biophysics, Brno
Academy of Sciences
Czech Republic

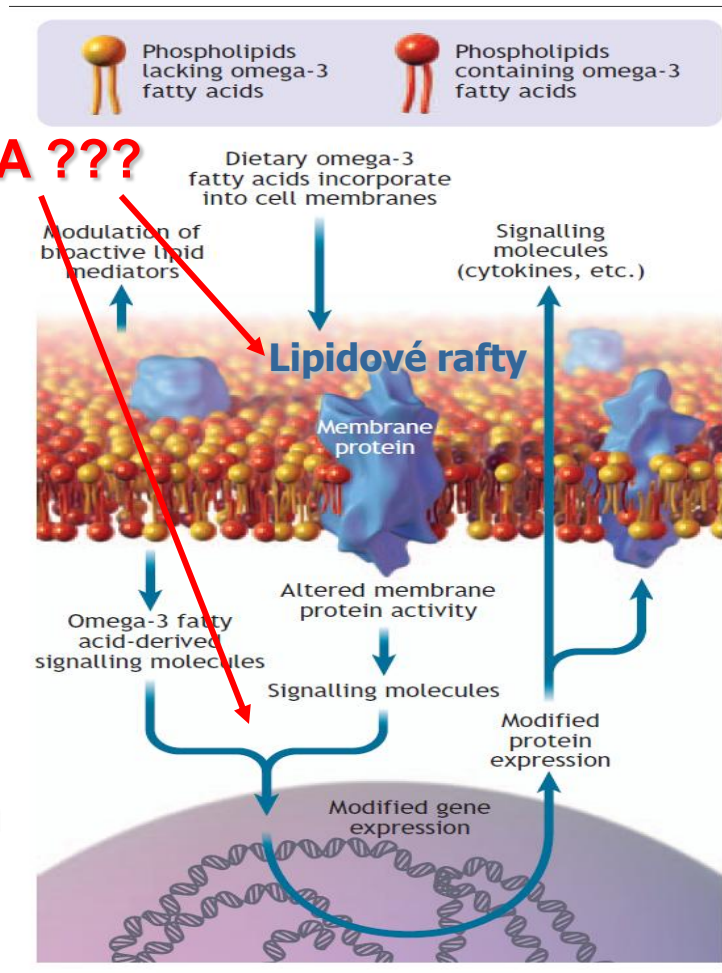
r. 1997

LIPIDOMIKA

- Rozdíly ve složení a metabolismu lipidů během vývoje nádoru (indikátor rizika)
- Odlišné změny lipidů po působení mastných kyselin

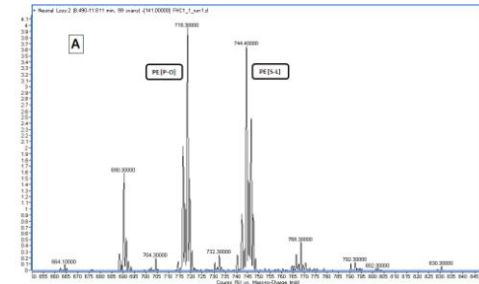


DHA ???



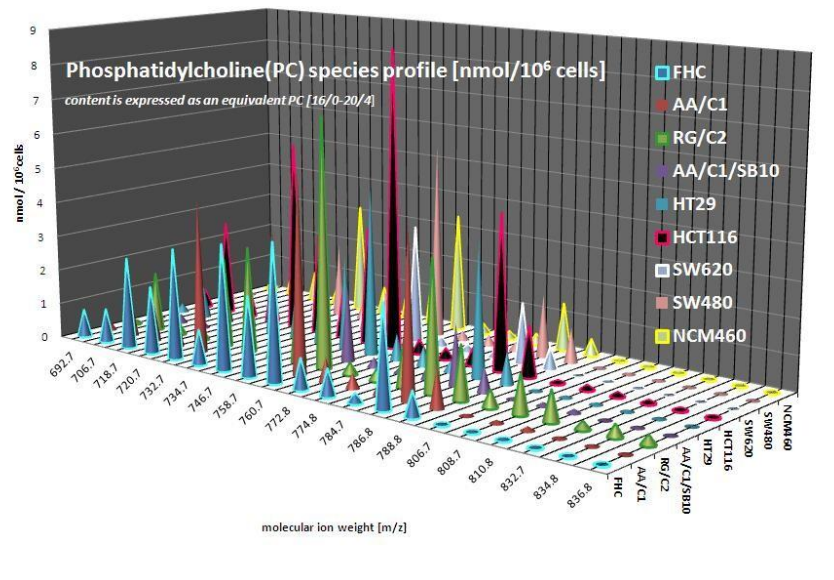
- Rozdíly v citlivosti k fyziologickým regulátorům
- Rozdíly v odpovědi na terapii

ROZVOJ LIPIDOMIKY



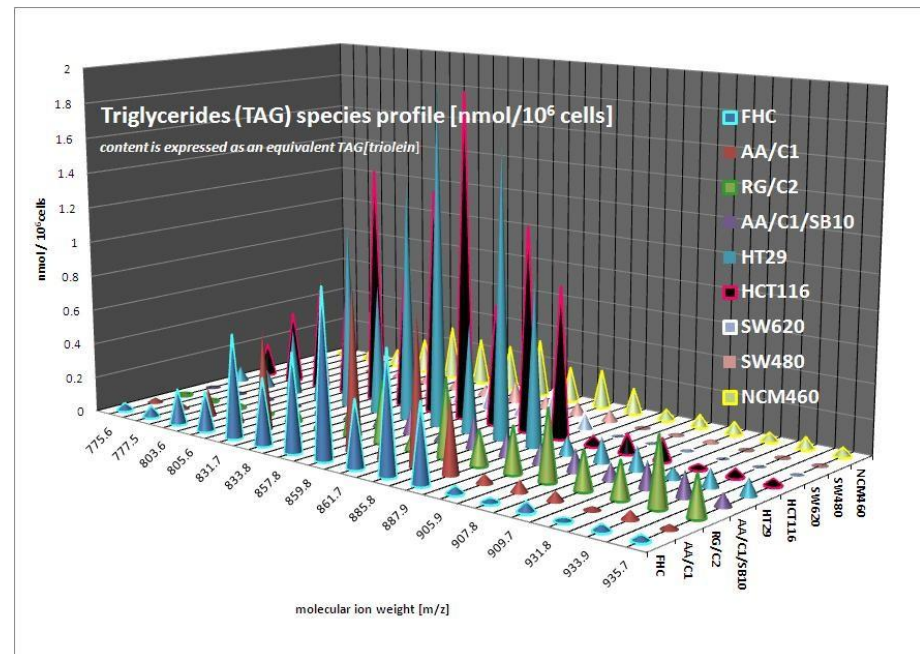
Analytické metody
LC-MS-MS
GC-MS

Srovnání lipidových profilů
linií z lidského kolonu
různého stupně nádorové
transformace
(„lipid fingerprint“)



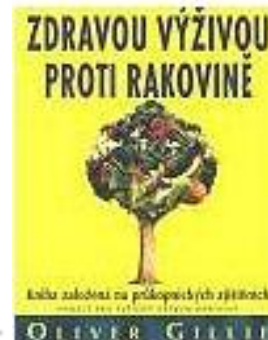
KLINICKÉ VZORKY

Analýza epiteliálních buněk
izolovaných z nádoru a normální
tkáně kolonu u pacientů
(chirurgie FN Bohunice)





Praktické aspekty poznatků o působení mastných kyselin



Nejedná se o farmaka, součást stravy, poměrně vysoké dávky (0,5-2g,

VYUŽITÍ :

DIETETICKÁ DOPORUČENÍ

Zdraví a prevence chorob

Středomořská dieta

Funkční potraviny

Potraviny pro zvláštní lékařské účely



TERAPEUTICKÉ VYUŽITÍ – nutriční farmakologie

Imunomodulace, antikachektické účinky, kombinovaná terapie, adjuvantní terapie, „disease specific nutrition“, nosiče léků



Physiol. Res. 54: 409-418, 2005

The Effects of Parenteral Lipid Emulsions on Cancer and Normal Human Colon Epithelial Cells *in vitro*

J. HOFMANOVÁ¹, Z. ZADÁK², R. HYŠPLER², J. MIKESKA³, P. ŽĎÁNSKÝ²,
A. VACULOVÁ¹, J. NETÍKOVÁ¹, A. KOZUBÍK¹

PARENTERÁLNÍ A ENTERÁLNÍ VÝŽIVA

optimalizace složení
lipidových emulzí



VÝUKA

PŘEDNÁŠKY a CVIČENÍ:

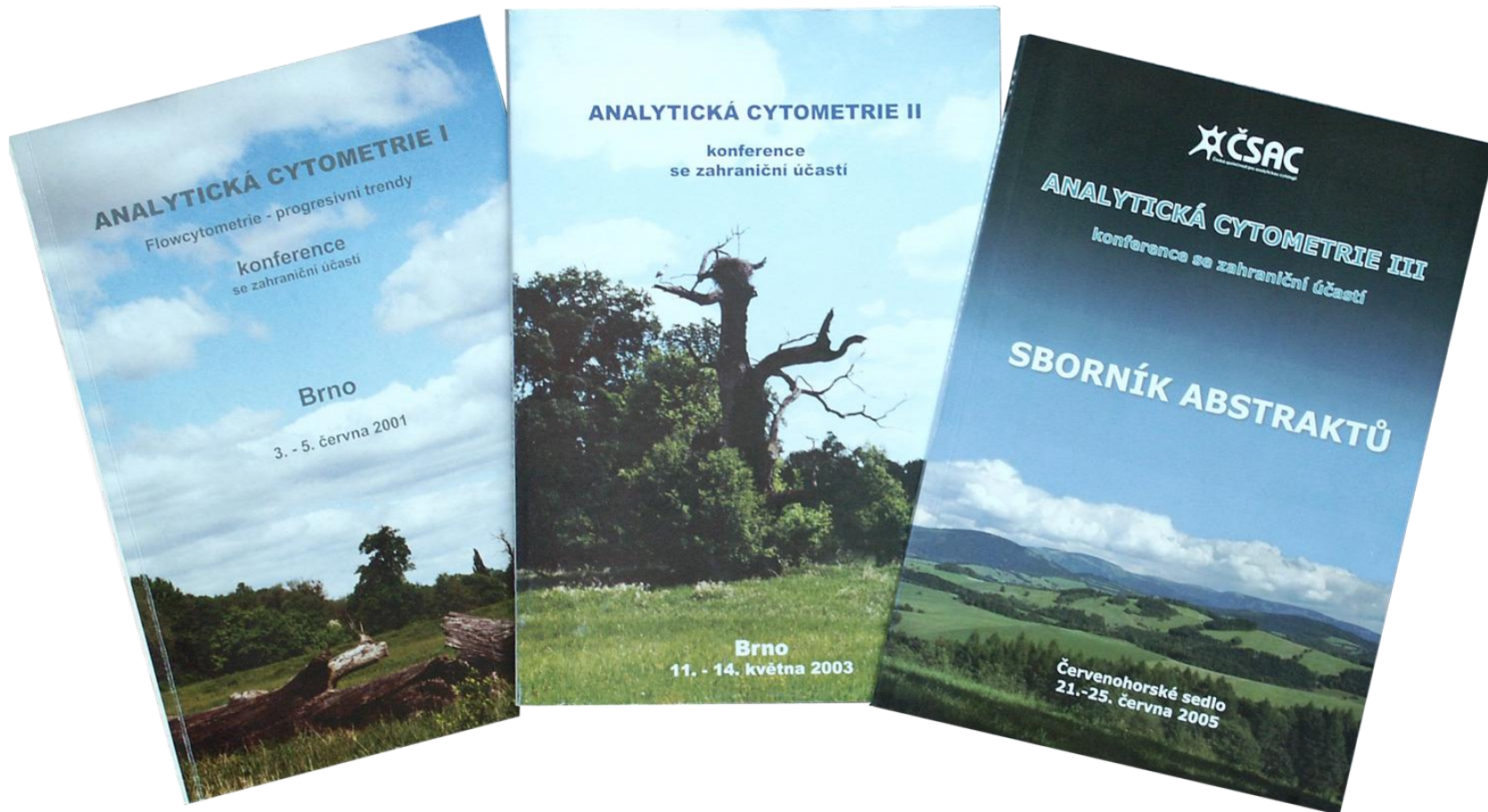
- Speciální metody fyziologie živočichů Bi5611c (2.r.)
- Moderní metody buněčné biologie Bi6725 (3.r.)

4.r.

- Genotoxicita a karcinogeneze Bi8110
- Fyziologie buněčných systémů Bi7070
- Zdravotní rizika Bi6871
- Molekulární fyziologie živočichů Bi6051
- Mechanismy buněčné smrti Bi8870
- Analytická cytometrie Bi9393
- Fyziologie působení farmak a toxických látek

TÉMATA BAKALÁŘSKÝCH, DIPLOMOVÝCH a DISERTAČNÍCH PRACÍ

Založení **České společnosti pro analytickou cytometrii (ČSAC)** v r. 2000
CÍL: propojení výzkumu, kliniky a praxe a napojení na **mezinárodní aktivity**
(Int. Soc. Analytical Cytometry, European Cytometry Network)



Konference s mezinárodní účastí: 2001, 2003, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013