

FYZIOLOGIE BUNĚČNÝCH SYSTÉMŮ

Doc. RNDr. Kozubík Alois, CSc. - Doc. RNDr. Hofmanová Jiřina, CSc.

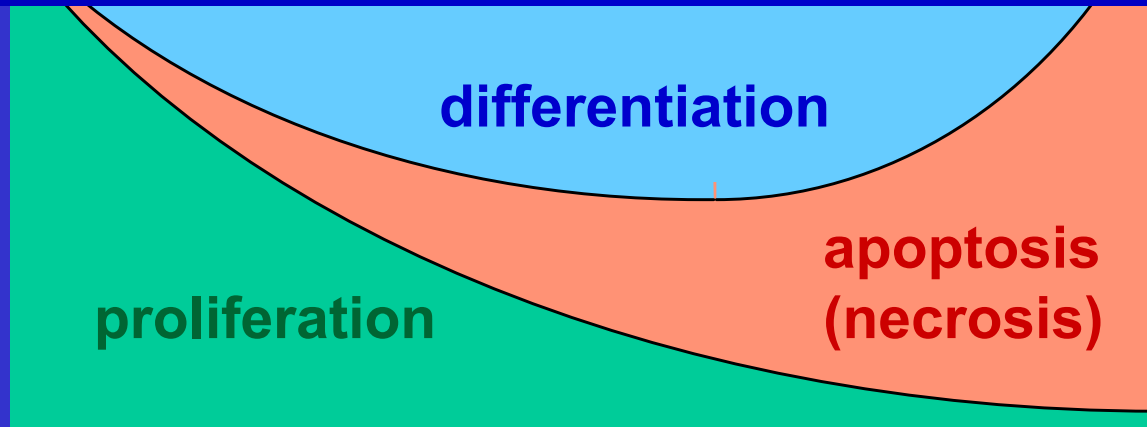
Laboratoř
cytokinety

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Diferenciace

+

-



differentiation

proliferation

apoptosis
(necrosis)

%

?

t_0

time (t)

t_x

Differences in mRNA expression patterns among different types of human cancer cells

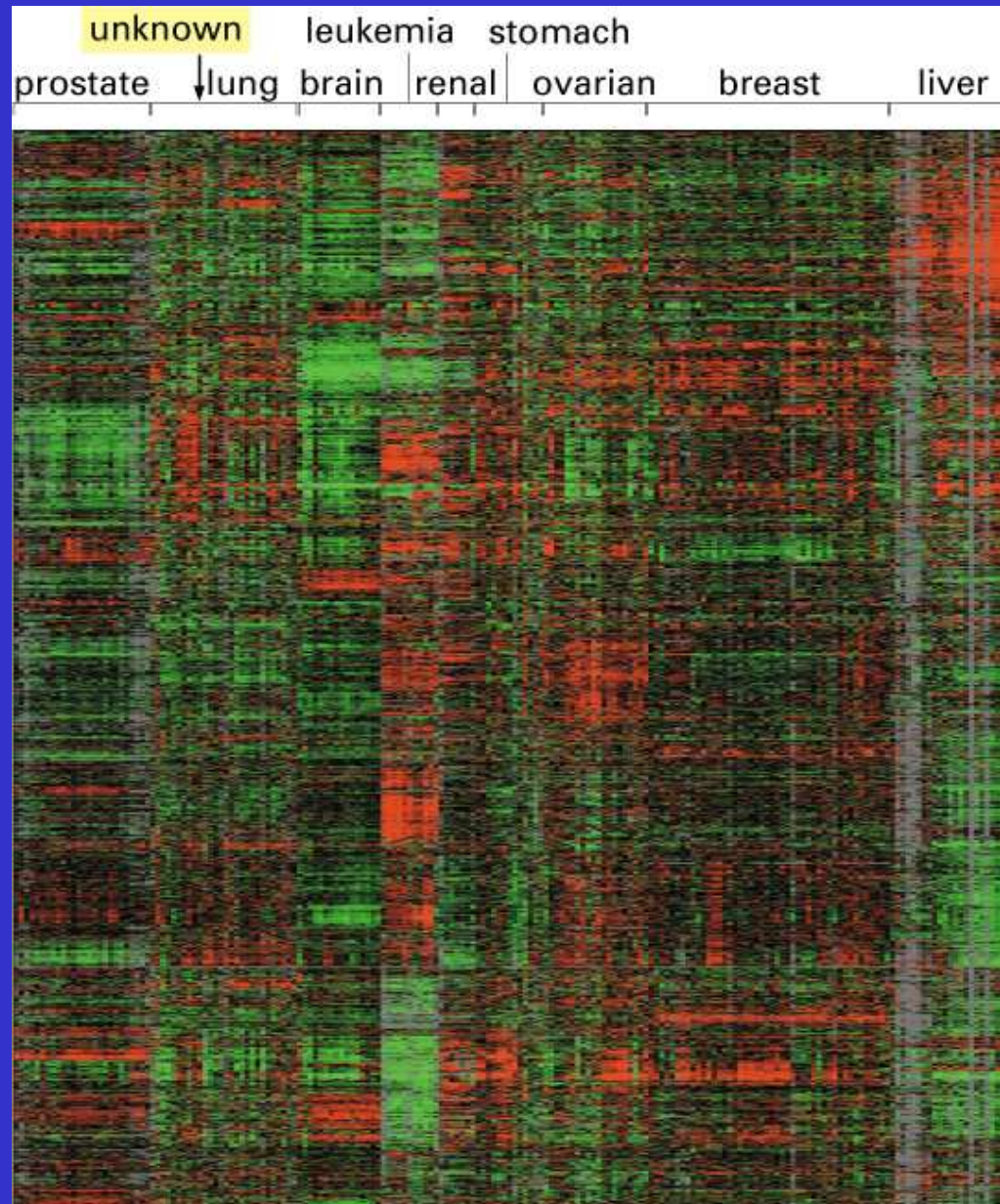


Figure 7-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Differences in the proteins expressed by two human tissues

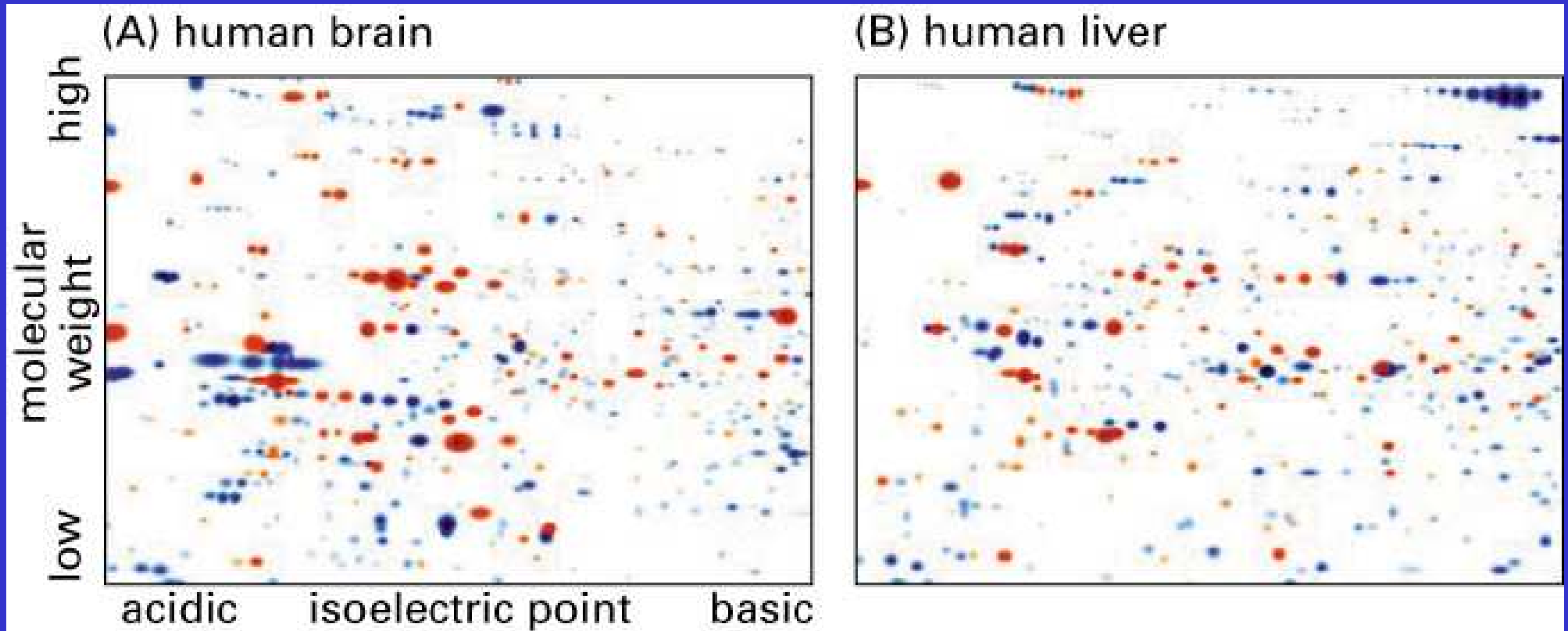


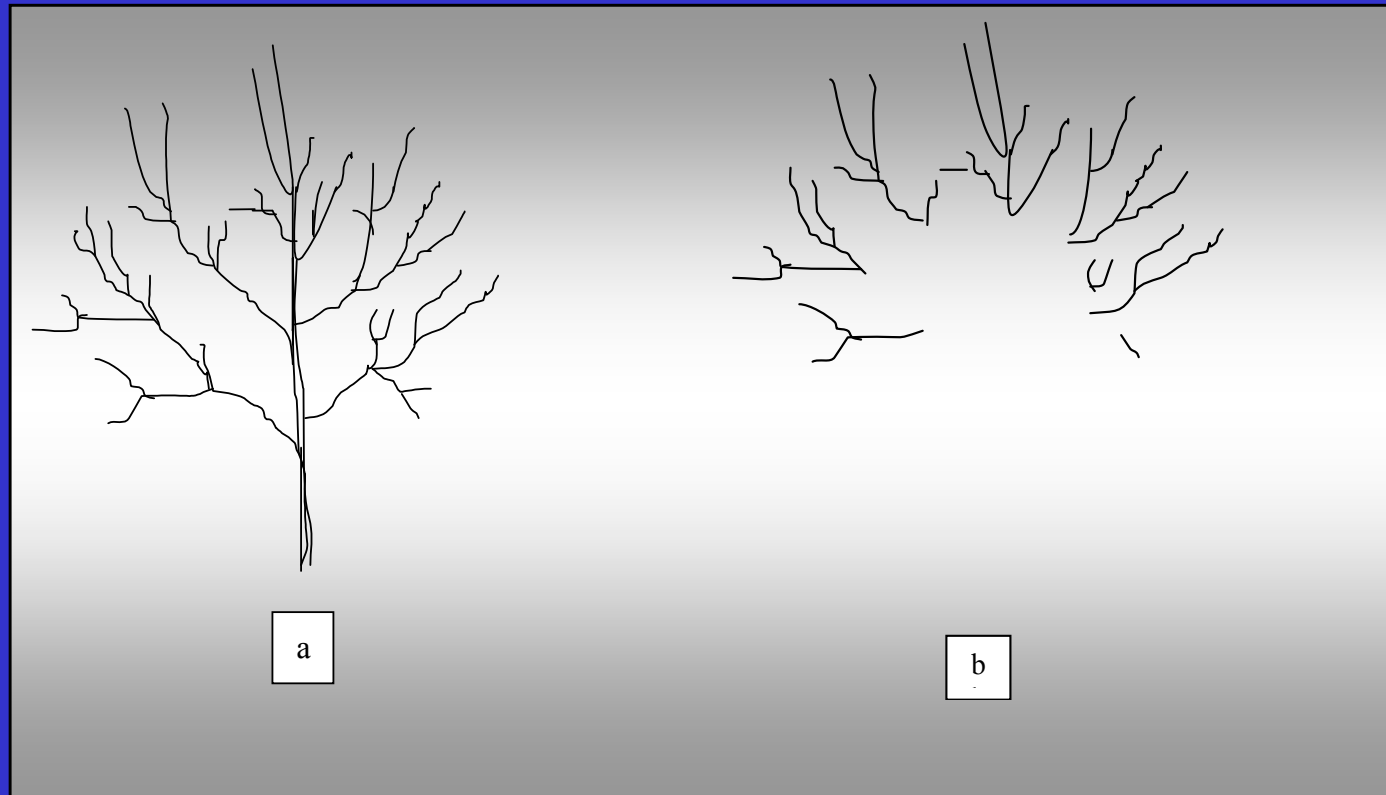
Figure 7-4. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition

Polyklonální charakter kostních buněk

Obr. 1. Přirovnání kmenové buňky ke stromu:

a – kmenová buňka v embryonální době

b – kmenová buňka v dospělosti



Hematopoetické buňky kostní dřene

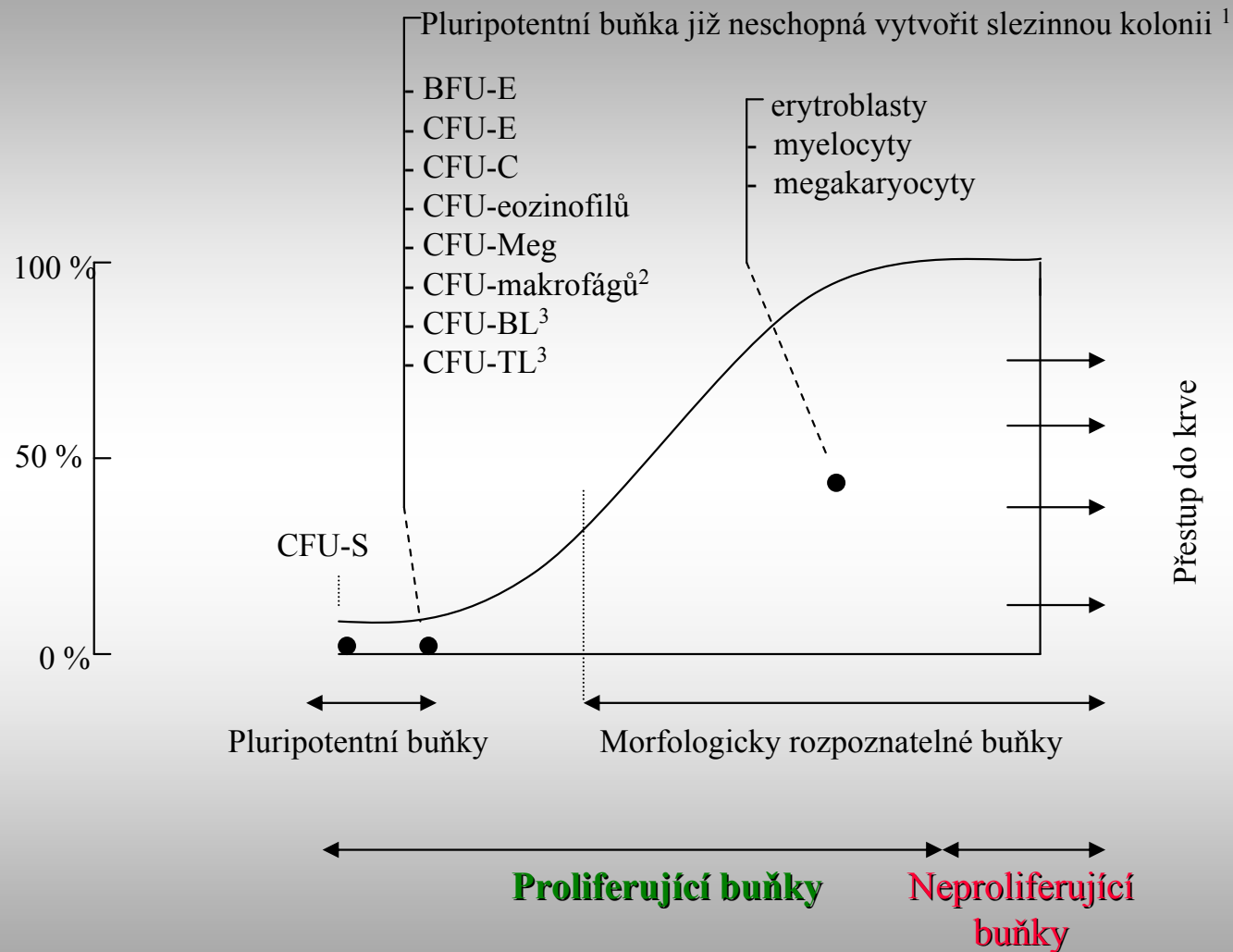
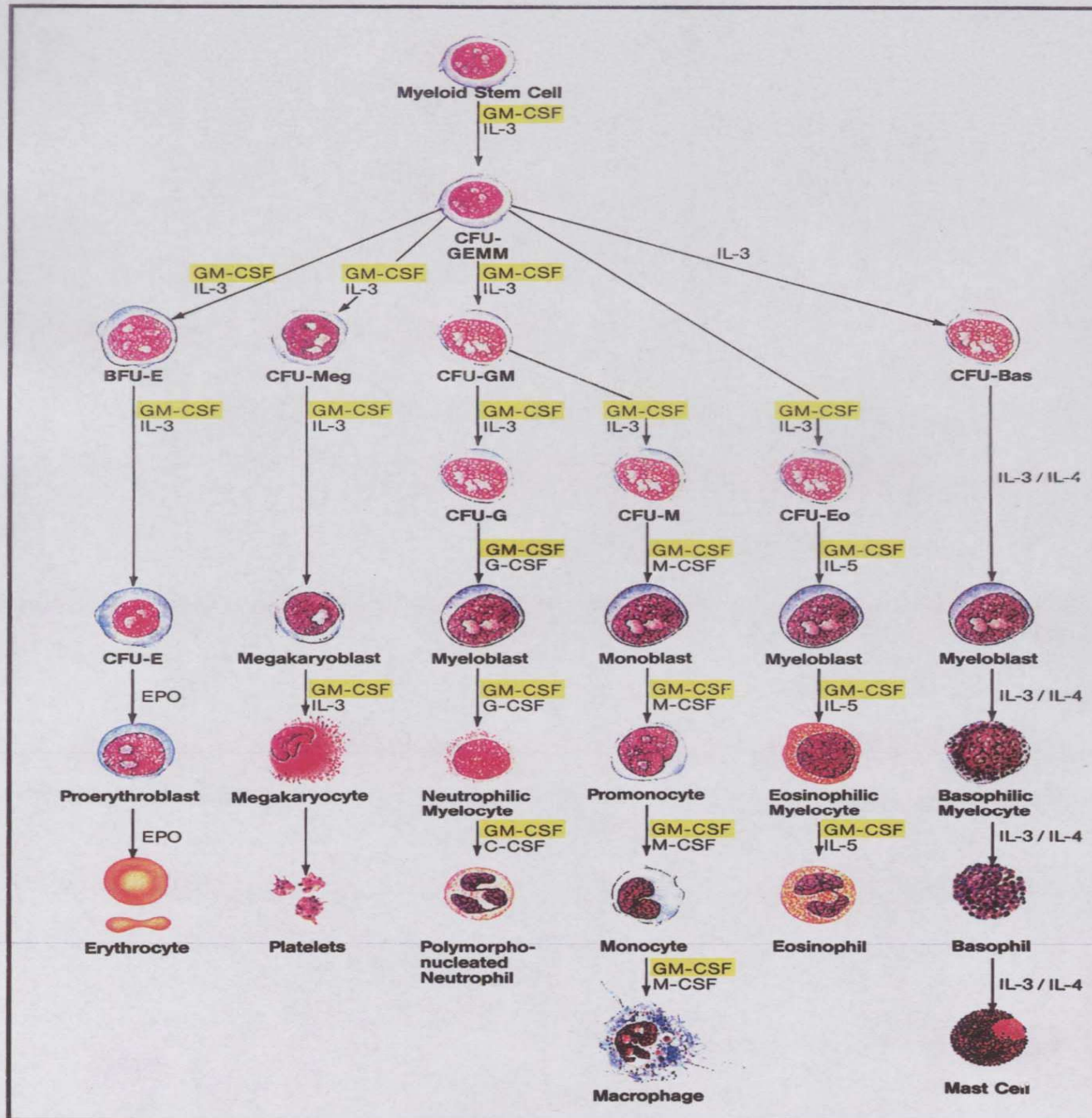


Schéma kvantitativního zastoupení různých prekurzorů krevních buněk v krevetvorné tkáni

¹Podle Gregorové a Henkelmana (1977); ²podle MacVittieho a Porvaznika (1978); ³nejsou odvozeny od CFU-S.

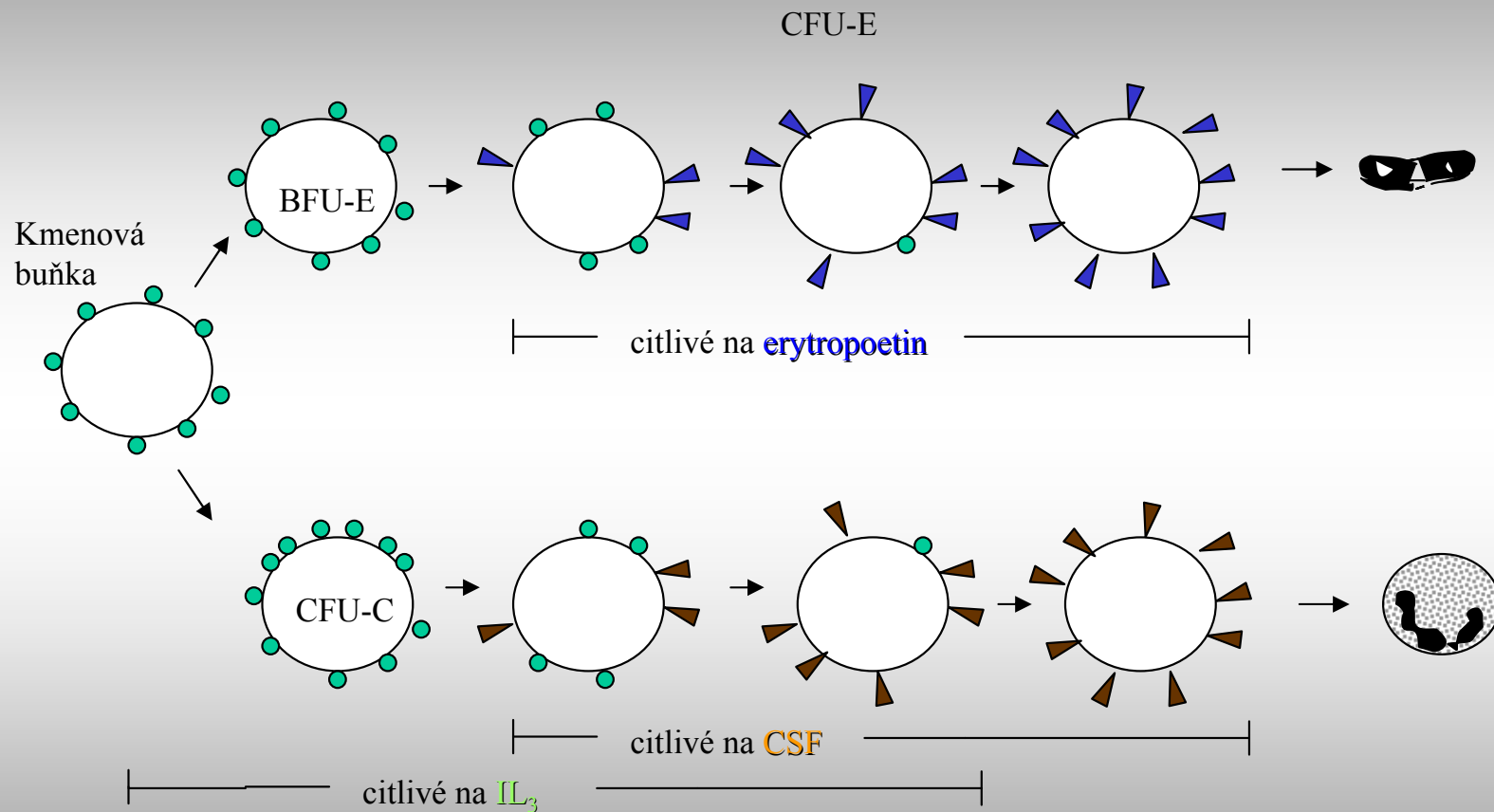
The early acting growth factor which maximises host defense



Buněčné komponenty hematopoetického mikroprostředí (H.I.M.) v kostní dřeni (K.D.)

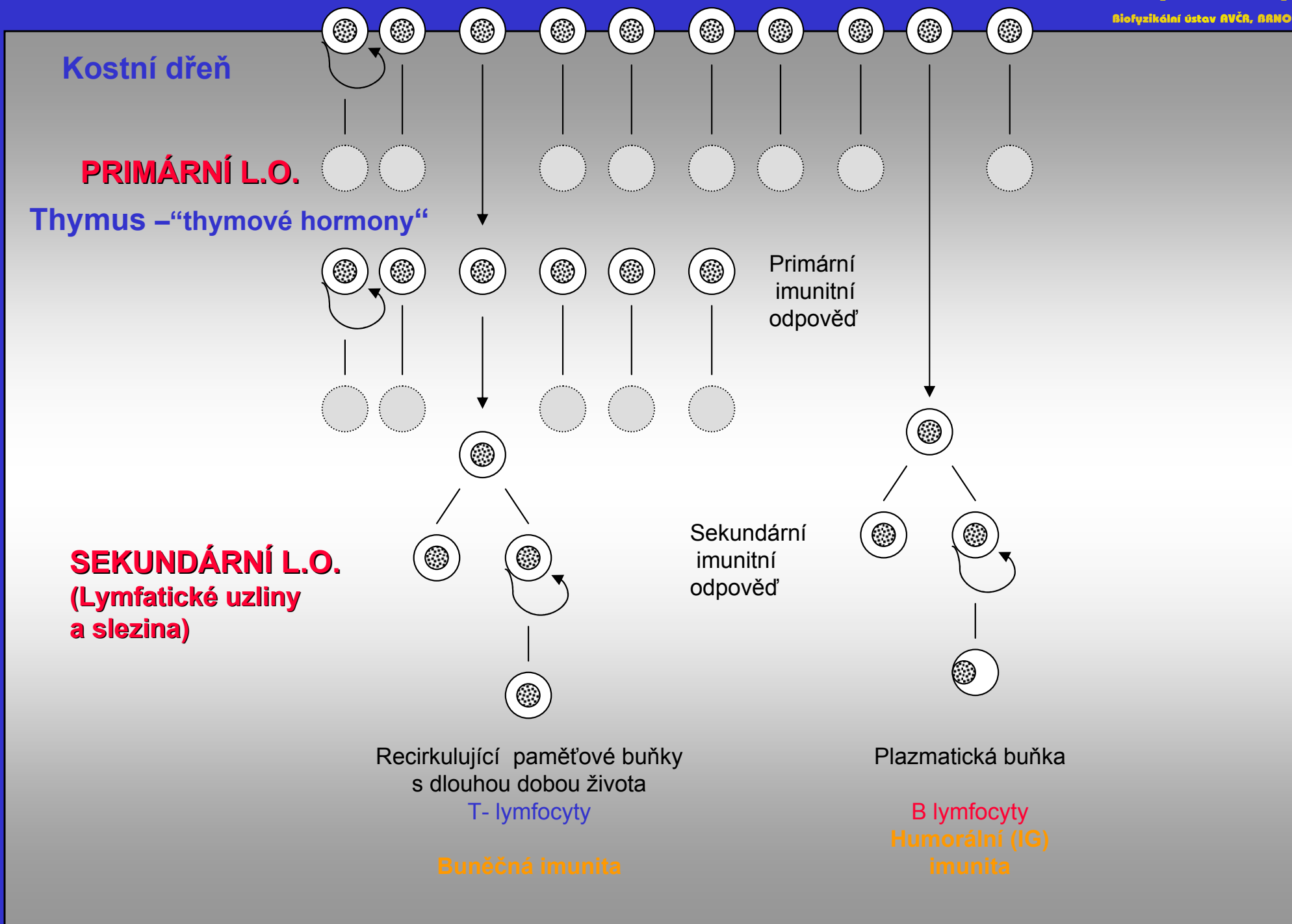
(podle Knospého 1978)

Buněčný typ	Předpokládaná funkce
Endotelie sinusoidů	zachycování kmenových buněk, výměna metabolitů, uvolňování zralých buněk do cirkulace, součást mikroprostředí umožňující buněčnou proliferaci
Fibroblasty	tvorba kolagenu, mukopolysacharidů, indukce diferenciací?
Tukové buňky	vyplnění prostoru po zaniklé kostní dřeni, proliferace pluripotentních kmenových buněk
Retikuloendotelové buňky, monocyty	fagocytóza, tvorba CSF a jiných hemokininů, indukce diferenciací?
Endostální buňky	tvorba CSF a jiných hemokininů, kmenové buňky stromatu?
Kost	mechanická ochrana, tvorba hemokininů?

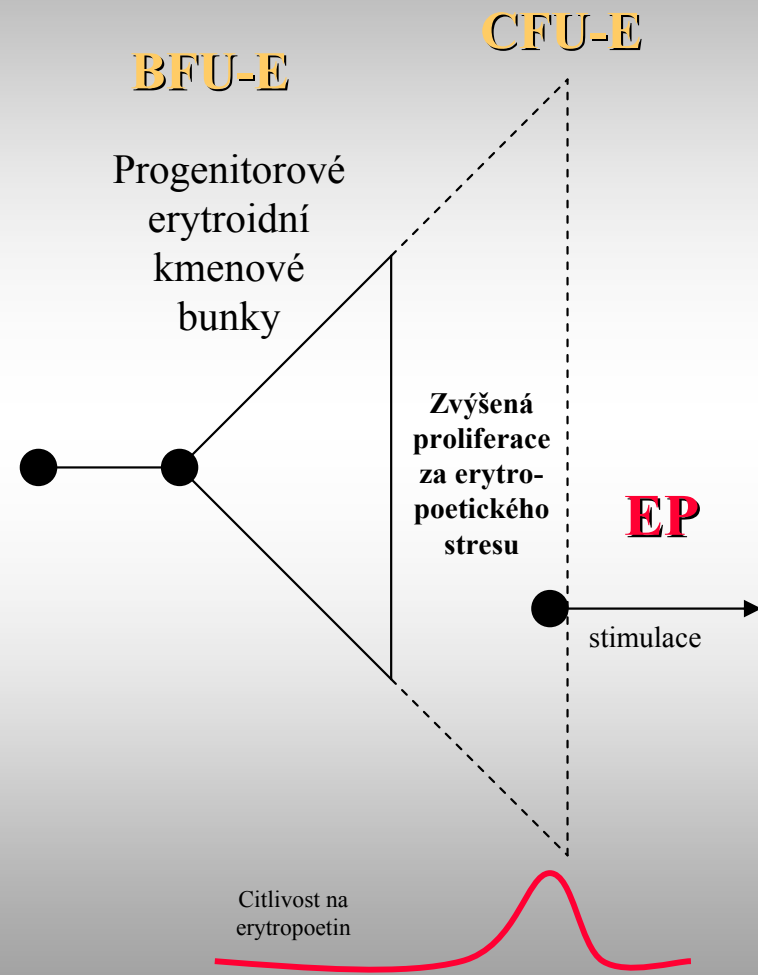


Obr.27. Model humorálního řízení hemopoézy. Nejnezralejší buňky obsahují receptory● k faktorům nezávislým na diferenciaci jednotlivých řad, jako je IL_3 . Při maturaci se postupně tyto receptory ztrácejí a objevují se specifické receptory pro humorální faktory jednotlivých řad [pro erythropoetin (▼) a pro CSF (▼)]. Podle Iscova (1978)

LYMFOPOÉZA

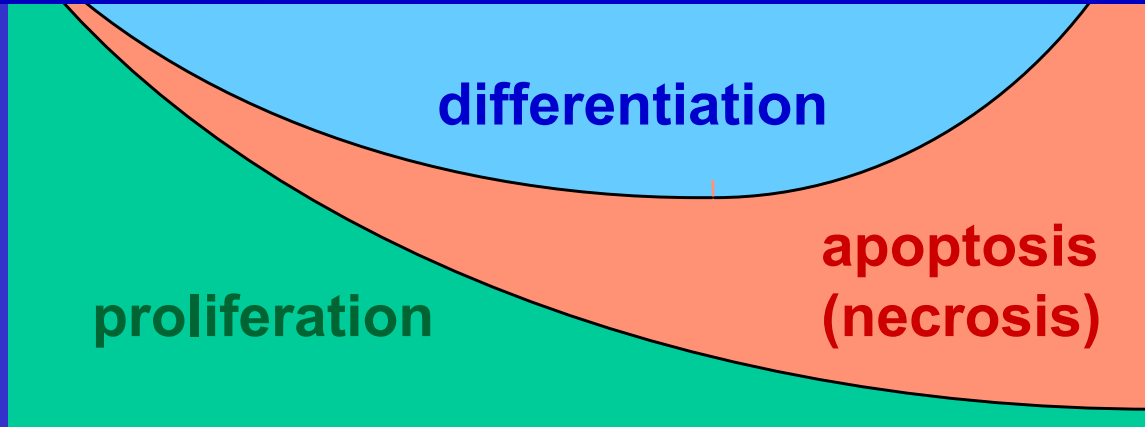


Obr. 23. Na obrázku je znázorněna zvýšená proliferace při erythropoetickém stresu, která může vést k značné expanzi kompartmentu progenitorových erytroidních kmenových buněk. **Citlivost k erythropoetinu (EP)** se objevuje až v pozdějších stádiích. Upraveno podle *Schofielda a Lajthy (1977)*.



+

-



t_0

time (t)

t_x

%

?

Six steps at which eucaryotic gene expression can be controlled

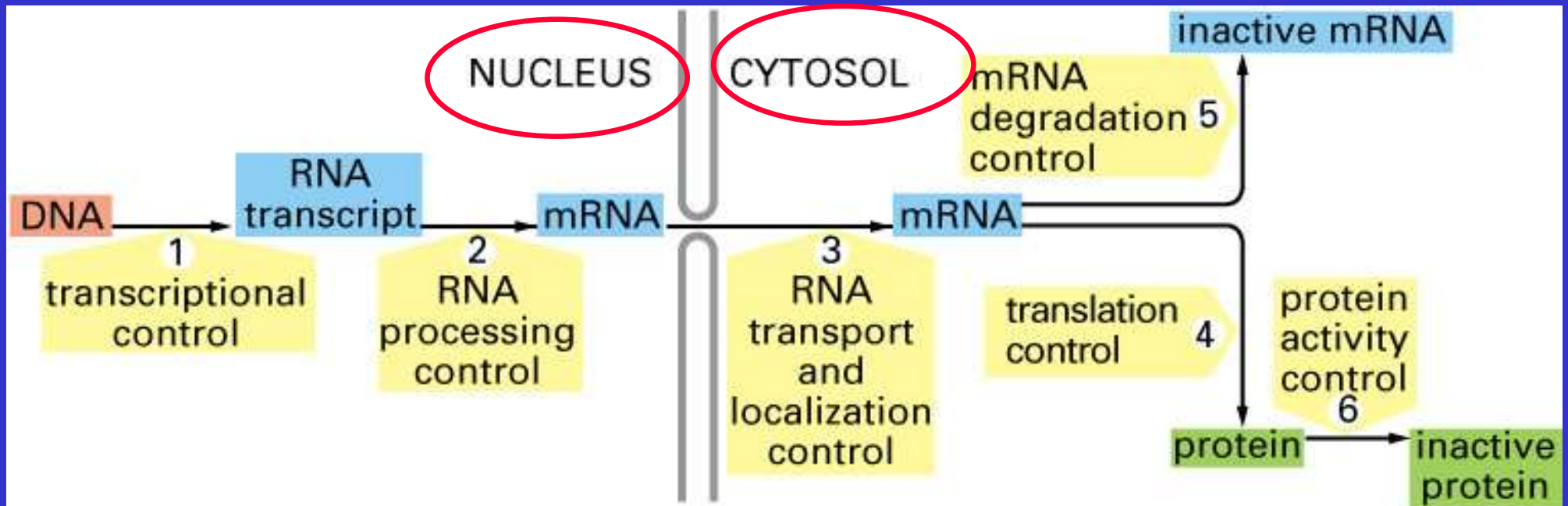
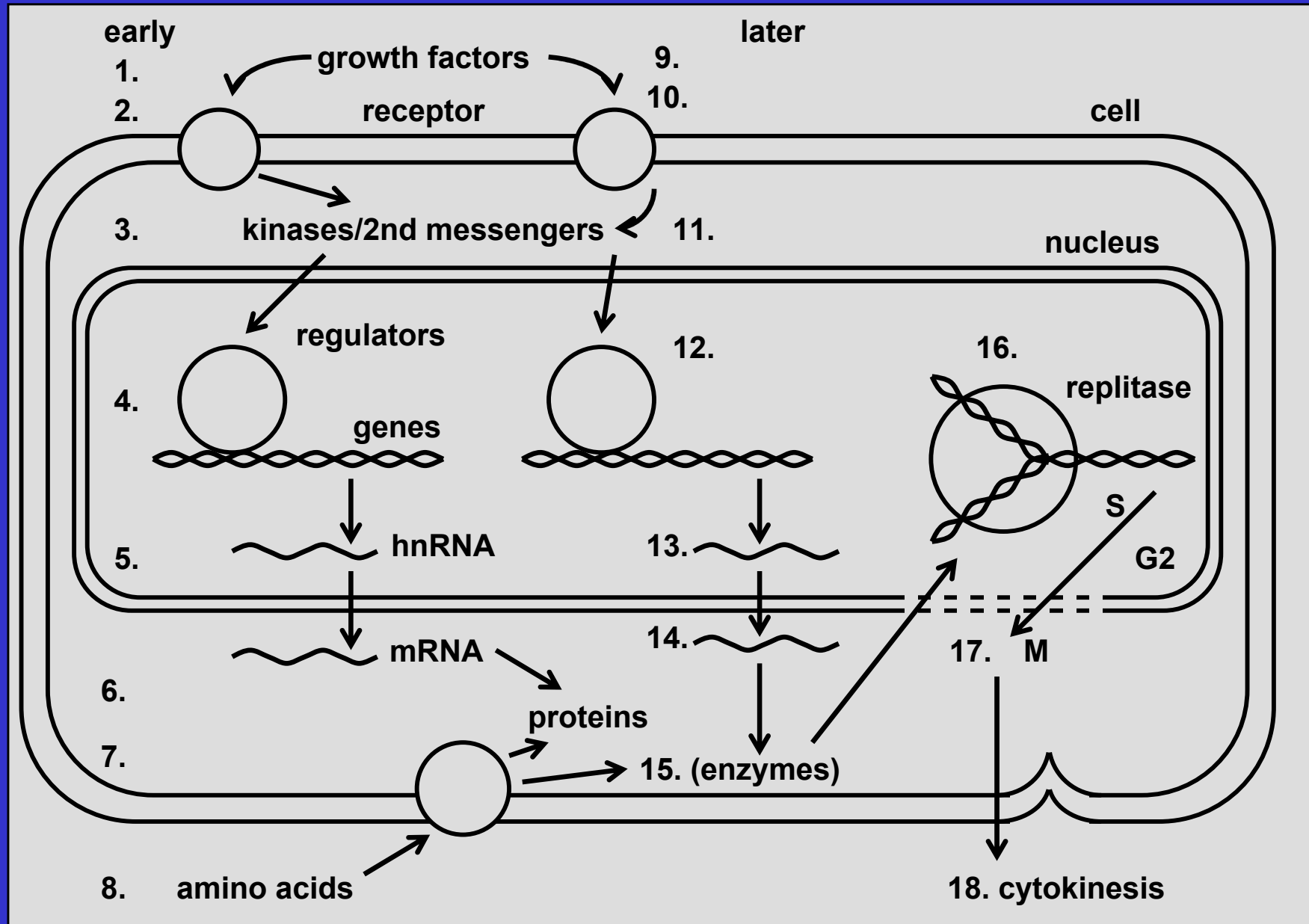


Figure 7-5. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Events in cell proliferation



Cytokiny

Některé příklady

PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH CYTOKINŮ - 2.

cytokin	zdroj	působení
IFN α 1	dvojitě negativní	zvýšuje rezistenci proti virům; inhibuje proliferaci normálních i nádorových buněk; indukuje syntézu MHC I, receptoru pro Ig; aktivuje NK-buňky
IFN α 2	lymfocyty, monocyty, makrofágy	stejně jako u IFN α
IFN β 1	fibroblasty, buňky epitelu	stejně jako u IFN α
IFN β 2	fibroblasty, monocyty	stejně jako u IFN α
IFN γ	T – buňky, NK-buňky	podobná jako u IFN α a β , navíc má větší schopnost aktivovat makrofágy, zvyšovat odolnost vůči parazitům; indukuje syntézu MHC I i MHC II; stimuluje syntézu IgG2 a inhibuje syntézu IgG2 a IgE B-buňkami
TNF α	makrofágy, T-buňky, thymocyty, B-buňky, NK-buňky	působí nekrózu různých typů buněk, převážně nádorových; pleiotropní účinky na široké spektrum buněk, např. reguluje proliferační a funkční odpověď B- a T-buněk; stimuluje diferenciaci prekurzorů myeloidní řady; stimuluje expresi cytokin, MHC a prostaglandinů
TNF β	T – buňky	má stejné účinky jako TNF α
G-CSF	monocyty, makrofágy, T-buňky, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje proliferaci kolonií granulocytů; aktivuje granulocyty
GM-CSF	T-buňky, monocyty, makrofágy, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje proliferaci prekurzorů granulocytů, makrofágů; aktivuje makrofágy, neutrofil, eozinofily
M-CSF	monocyty, makrofágy, fibroblasty	stimuluje růst kolonií monocytů a makrofágů; aktivuje monocyty
EPO	ledviny	stimuluje růst kolonií erytrocytů a megakaryocytů
TGF β	krevní destičky, kosti - matrix, placenta, ledviny, některé nádory	reguluje růst buněk (většinou inhibuje proliferaci vyvolanou působením hematopoietických cytokinů)

PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH CYTOKINŮ - 1.

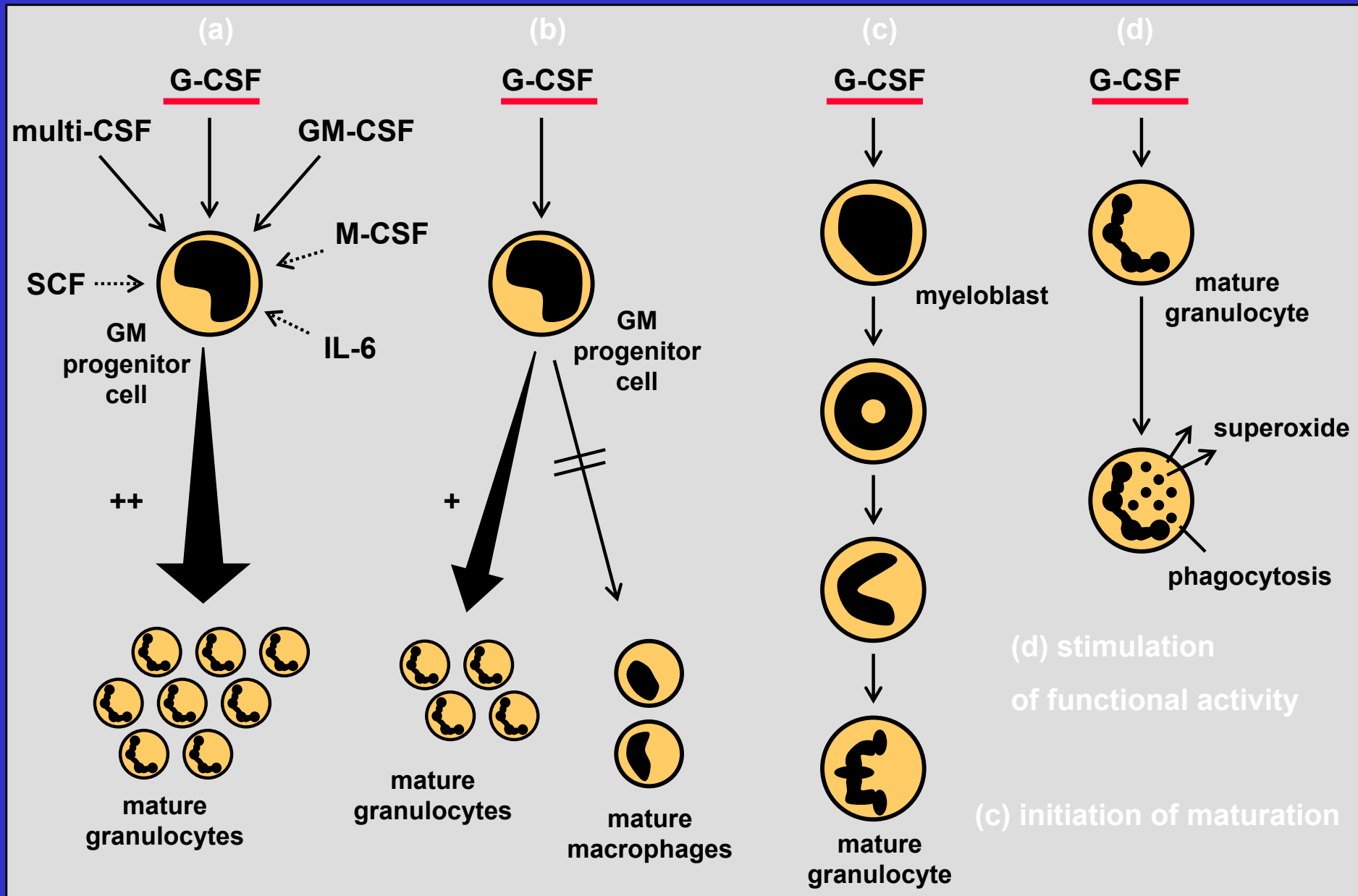
cytokin	zdroj	působení
IL - 1	monocyty (+ téměř všechny buňky s jádrem)	pyrogen, komitogenní faktor T-buněk; stimuluje uvolnění lymfokinů T-buňkami; aktivuje NK-buňky; stimuluje diferenciaci B-buněk
IL - 2	T – buňky	růstový faktor T-buněk a thymocytů, zvyšuje cytotoxicitu, aktivuje NK-buňky, stimuluje diferenciaci B-buněk
IL - 3	T-buňky (+ žírné buňky)	stimuluje proliferaci prekurzorů granulocytů, erytrocytů, megakaryocytů, makrofágů; aktivuje monocyty a makrofágy
IL - 4	T – buňky	stimuluje syntézu IgG1 a IgE B-buňkami, proliferaci makrofágů, NK-buněk, T-buněk
IL - 5	T – buňky	stimuluje diferenciaci a růst eozinofilů, proliferaci T- a B-buněk
IL - 6	T – buňky, makrofágy, monocyty, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje syntézu Ig B-buňkami; stimuluje proliferaci thymocytů, prekurzorů neutrofilů, makrofágů, megakaryocytů, myelomu, plazmacytomu, B-lymfomu
IL - 7	buňky kostní dřeně	stimuluje proliferaci prekurzorů B- a T-buněk a T-buněk
IL - 8	monocyty, makrofágy, lymfocyty, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje chemotaxi neutrofilů a dalších leukocytů
IL - 9	T-buňky	stimuluje proliferaci T-buněk bez přítomnosti antigenu a APC
IL - 10	T-buňky (+ žírné buňky)	Inhibuje syntézu některých cytokinů (IFN γ)
IL - 11	buňky kostní dřeně	stimuluje proliferaci multipotentních prekurzorů leukocytů (synergie s IFN γ) a prekurzorů megakaryocytů (synergie s IL – 3)
IL - 12	B-buňky	stimulace NK-buněk, cytolyticých T-buněk, T-buněk aktivovaných lymfokiny

SPOLEČNÉ CHARAKTERISTIKY CYTOKINŮ

Přestože cytokiny představují velmi heterogenní skupinu proteinů, lze uvést některé jejich společné charakteristiky:

- 1) Nízká MW (< 80 kDa), často bývají glykosylovány (glykoproteiny)
- 2) účastní se imunity a zánětu, kde regulují intenzitu a délku trvání odpovědi
- 3) jsou produkovány - lokálně, po přechodnou dobu
- 4) působí autokrinně a parakrinně
- 5) jsou vysoce účinné (pM)
- 6) interagují vysoce specificky s povrchovými receptory
- 7) po vazbě na receptory indukují syntézu mRNA a receptorových proteinů
- 8) působí v síti, kde
 - svoje efekty vzájemně ovlivňují (zejm. svoji produkci)
 - indukují transmodulaci povrchových receptorů
 - mohou působit na buněčné funkce aditivně, synergicky anebo antagonisticky

cytokiny jsou polyfunkční



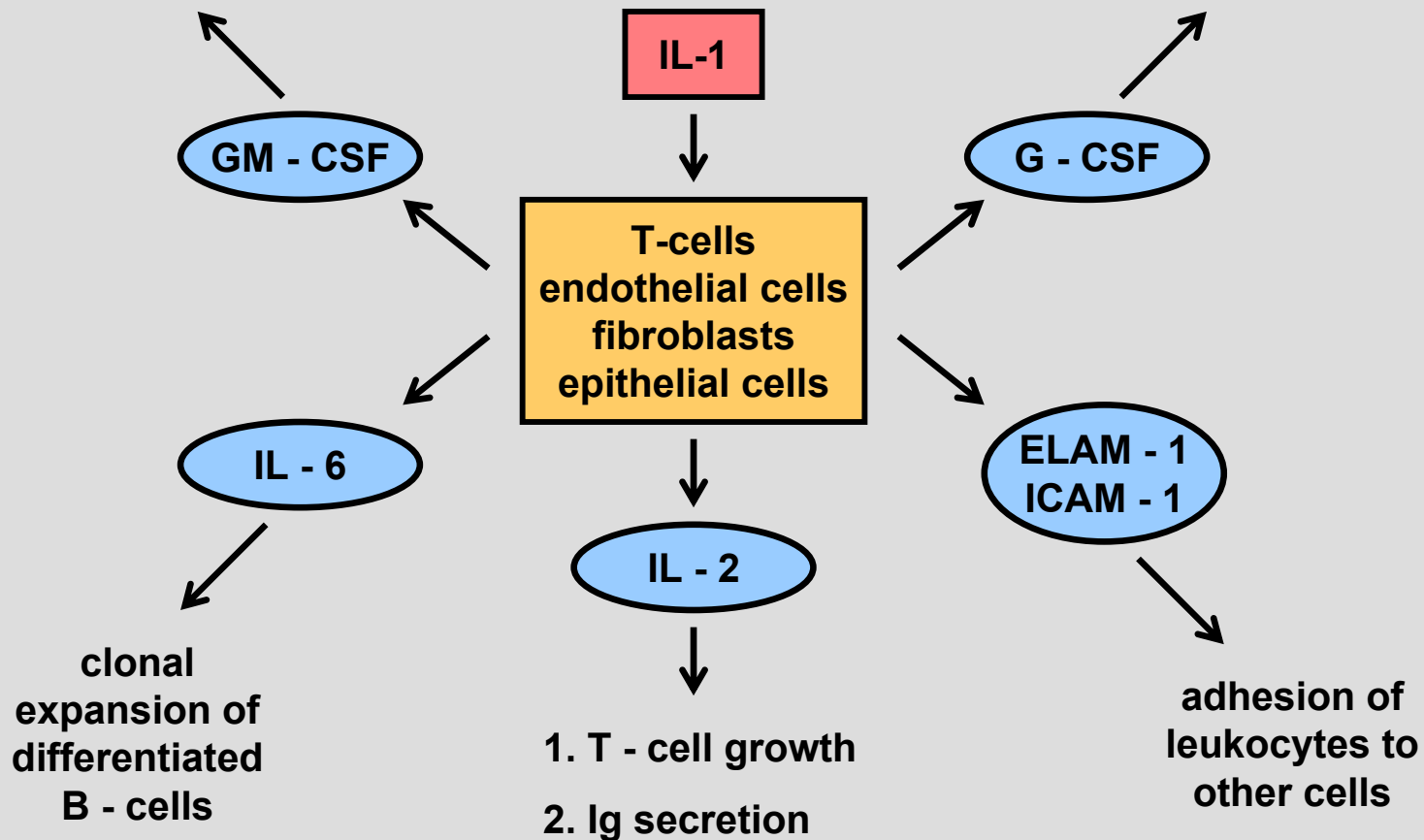
(a) cell production is dependent on regulator stimulation

(b) induction of commitment to form cells in a restricted lineage

The role of IL - 1 in hematopoiesis (jiný př.)

1. monocyte production and activation
2. proliferation of committed progenitor cells (BFU-E, CFU-GM)

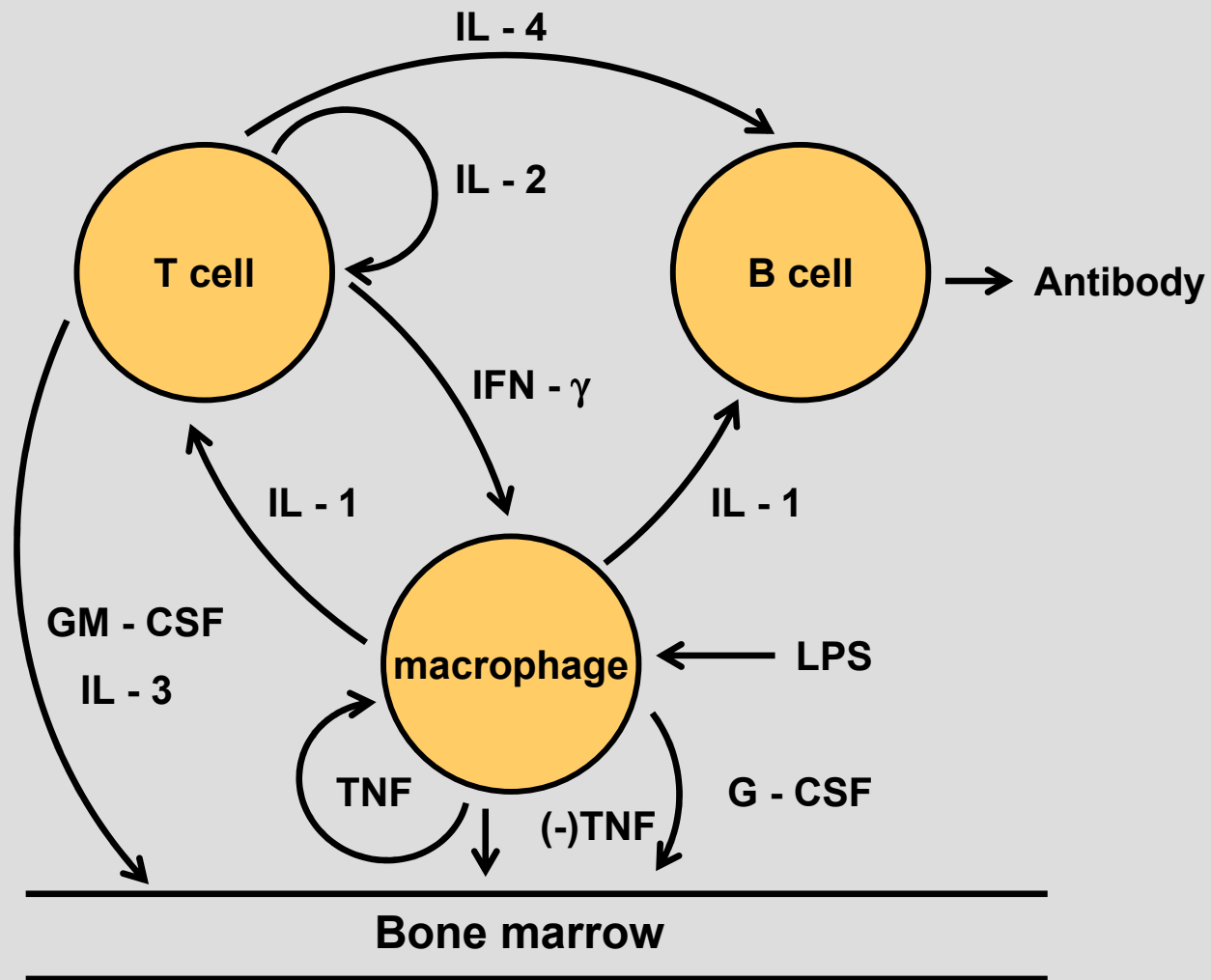
1. neutrophil activation
2. neutrophil production
3. stem cell activation



ELAM - endothelial leukocyte adhesive molecule

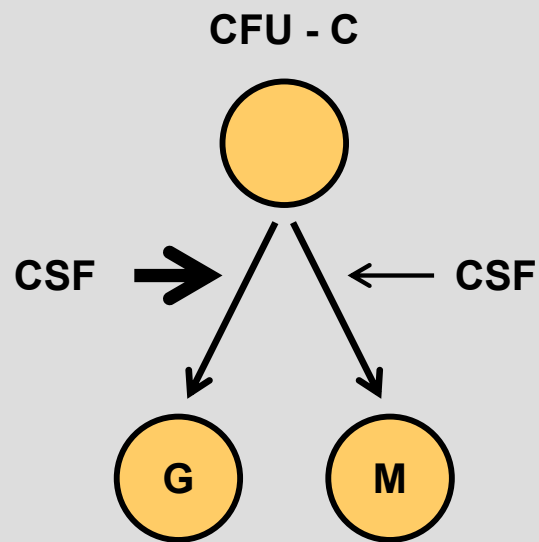
ICAM - intercellular adhesive molecule

Network of cytokine interaction



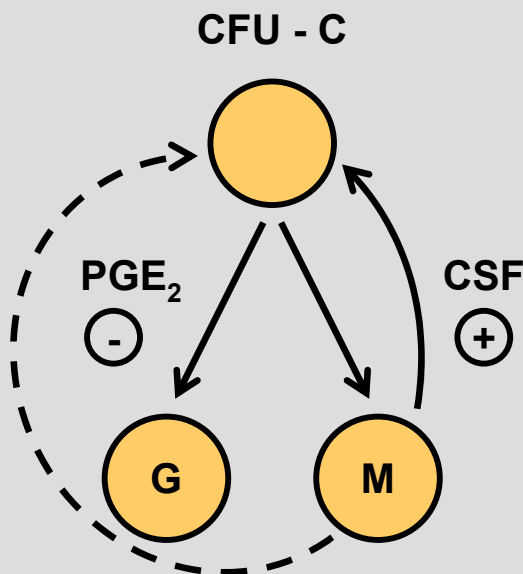
Autoregulace uvnitř systému granulocytů - makrofágů

CFU - C
(GM - CFC)



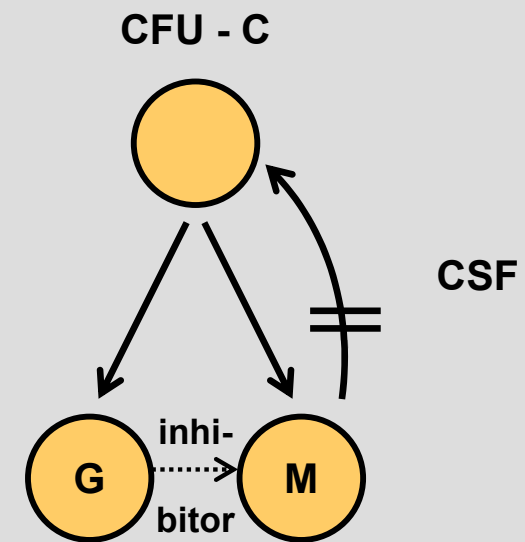
A

různé koncentrace CSF



B

zpětnovazebná stimulace →
a inhibice PGE - - →



C

produkce inhibitoru tvorby CSF

G - granulocyty M - makrofágy

Spolupůsobení
„regulátorů růstu“
rozdílné chemické povahy

The four important families of small organic molecules in cells

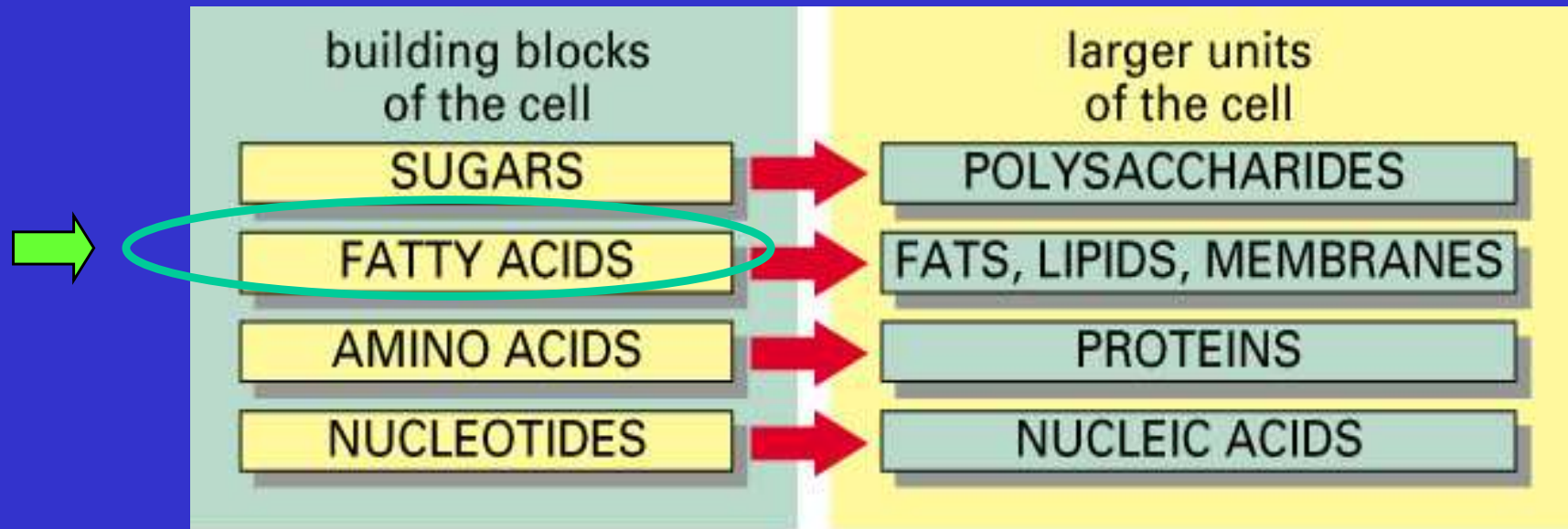
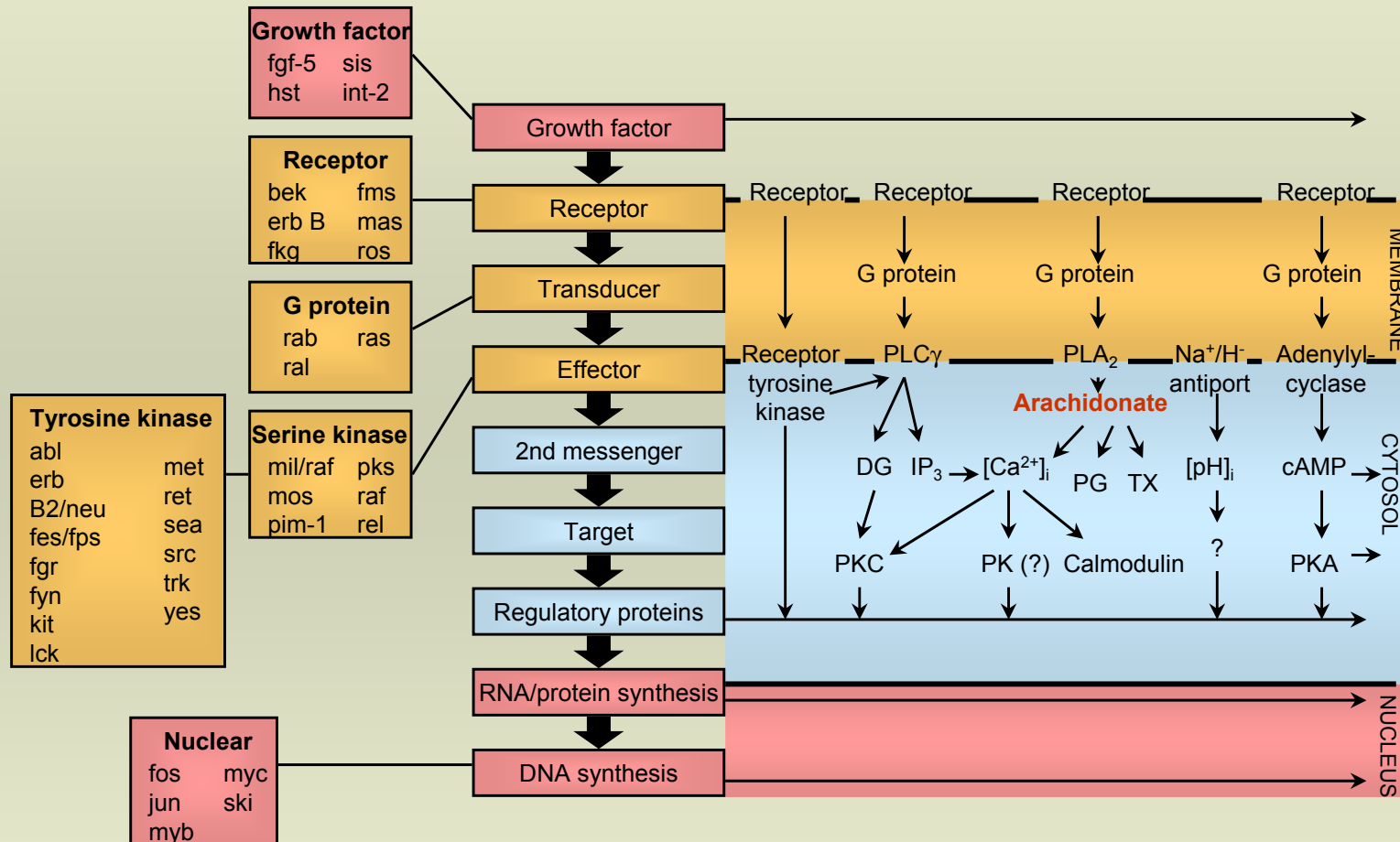


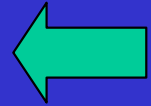
Figure 2-17. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Oncogenes



According to: G.Powis: TIPS; 12: 188 -194, 1991

STRUKTURNÍ ÚLOHA FOSFOLIPIDŮ V BUŇKÁCH



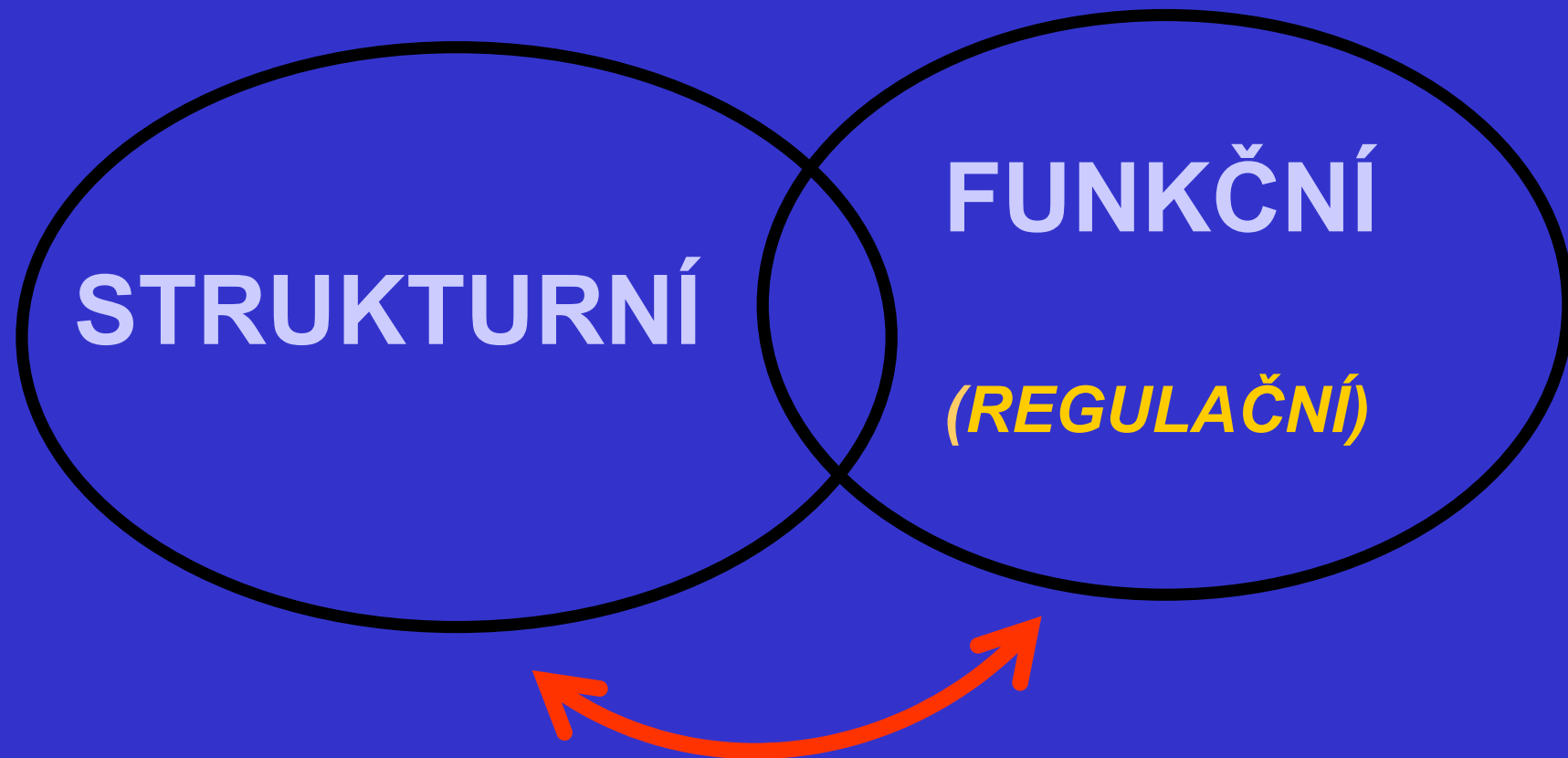
**MEMBRÁNOVÉ
SYSTÉMY
a buněčné
kompartmenty**

protientropické
důsledky



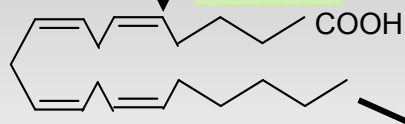
NEODDĚLITELNÁ OD BUNĚČNÝCH FUNKCÍ

Přirozené funkce membránových lipidů



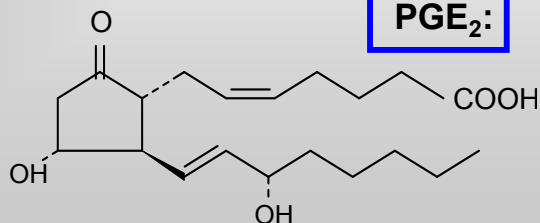
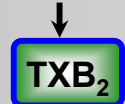
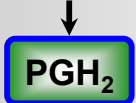
MEMBRANE PHOSPHOLIPIDS

PLA₂



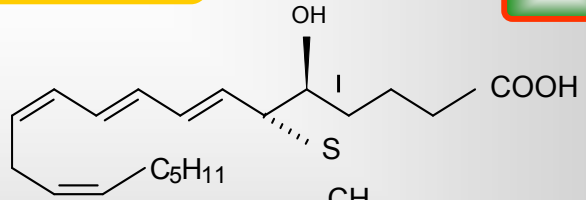
CYCLOOXYGENASE

S



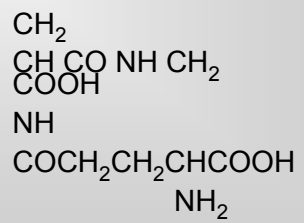
EPOXYGENASES

(P450)

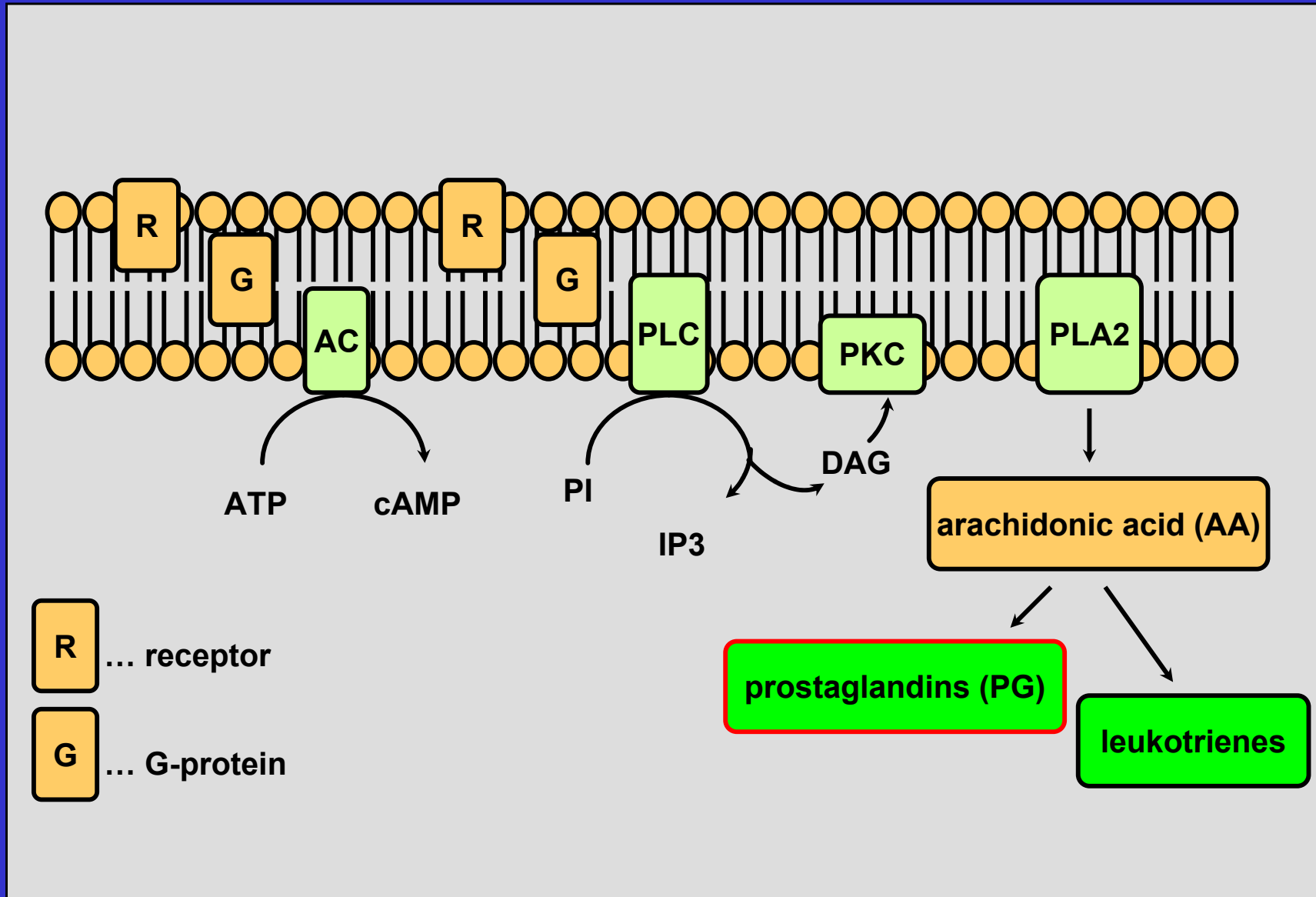


LIPOXYGENASE

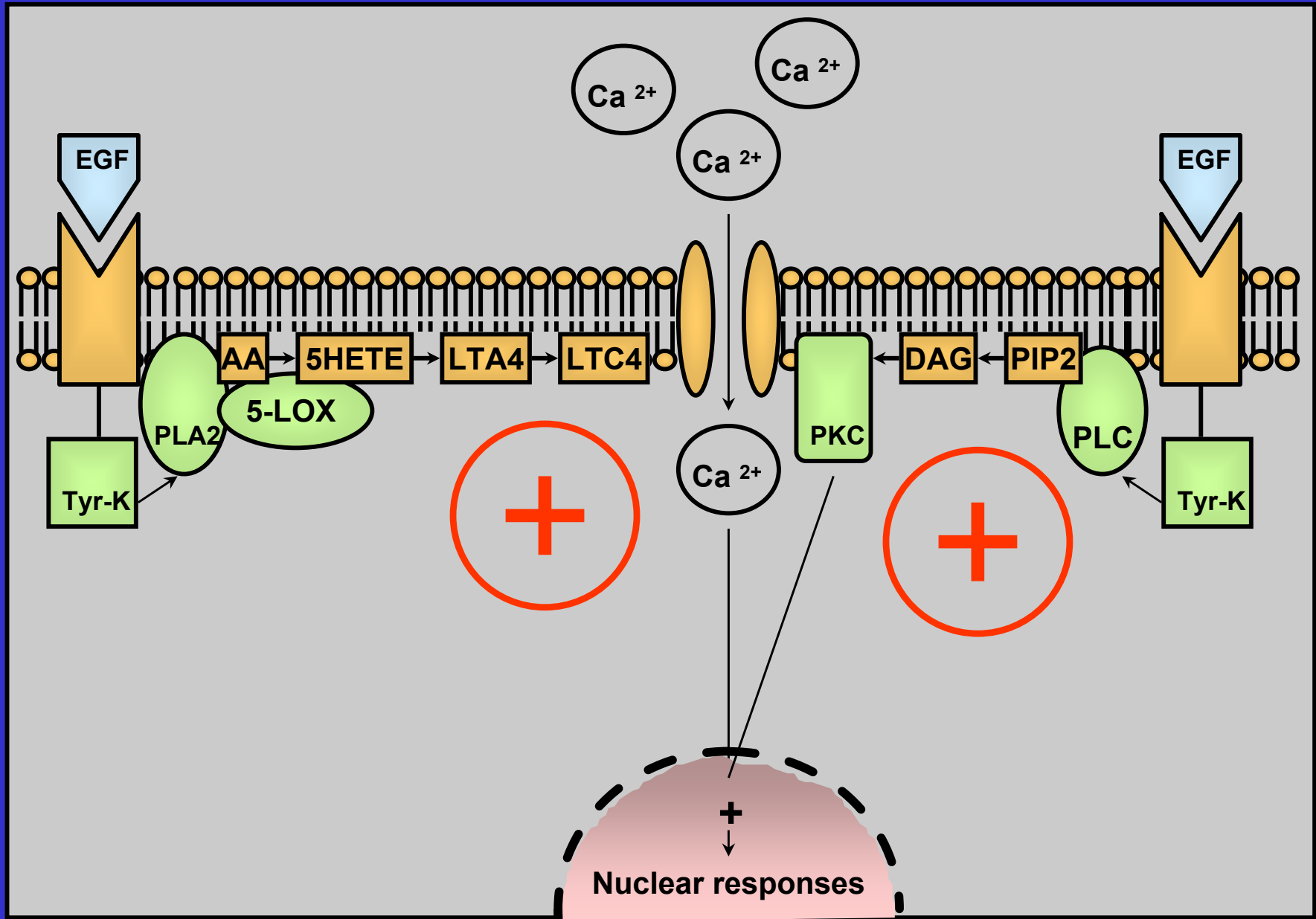
S



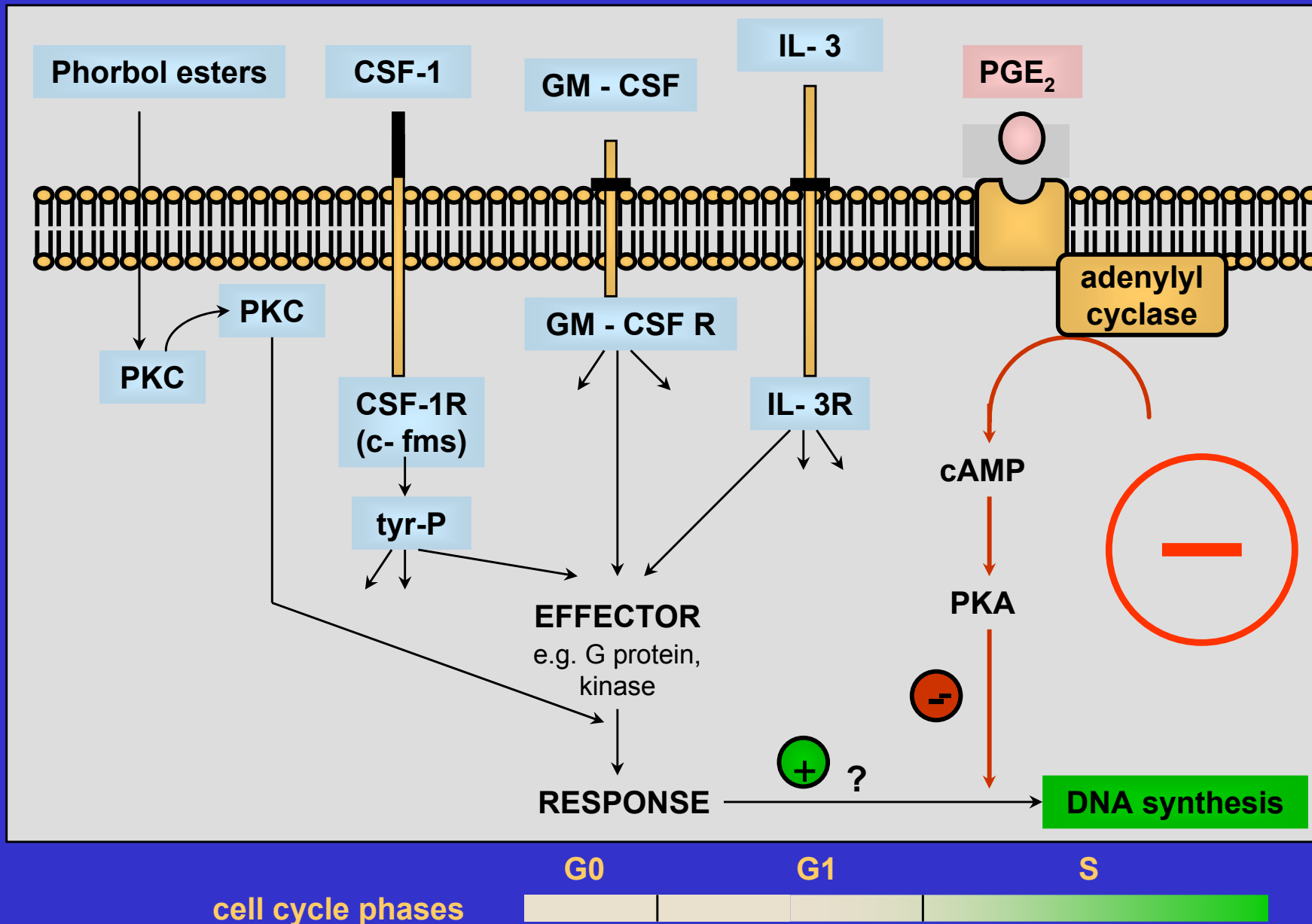
Signal transmission systems

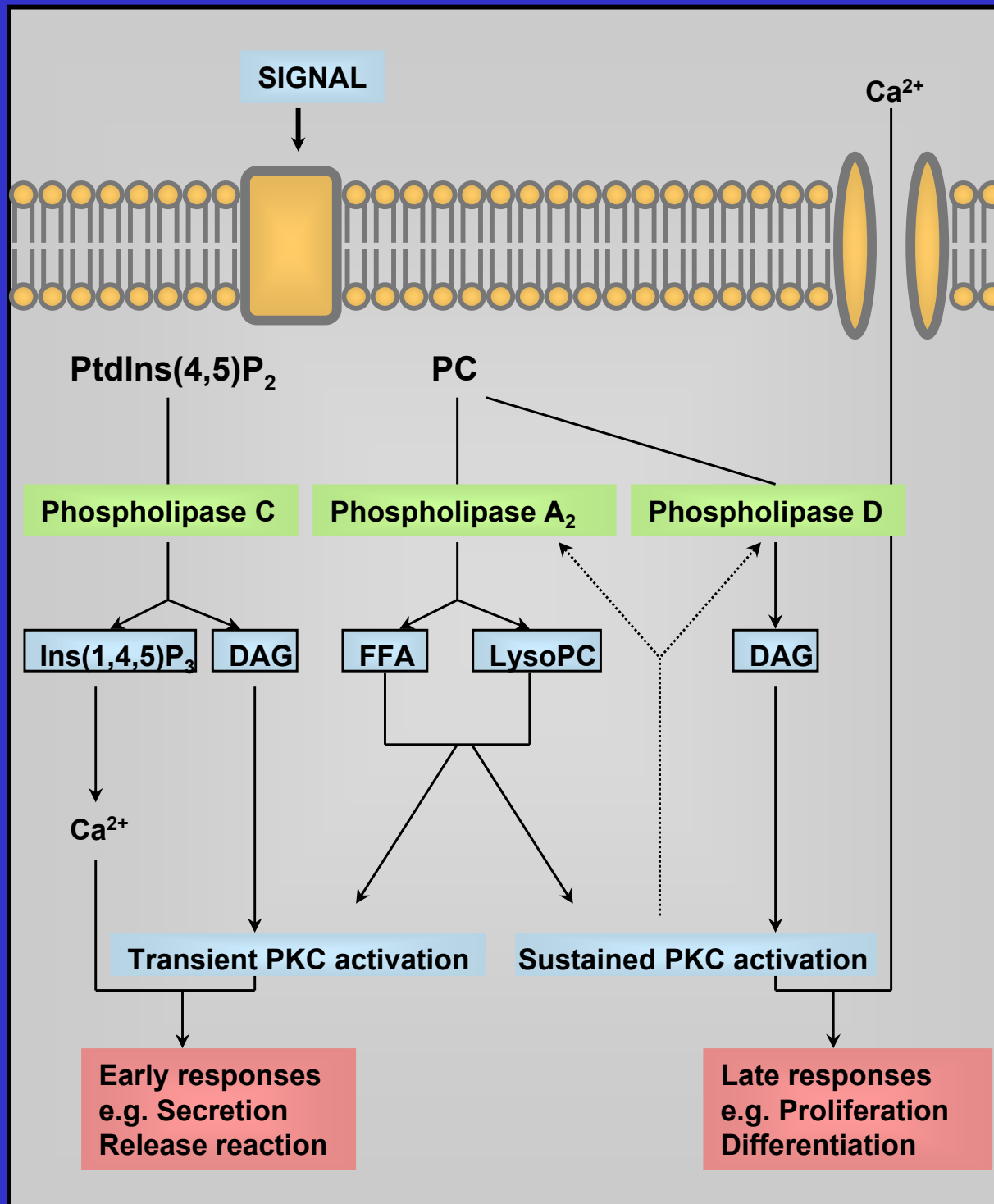


positive effect on cell proliferation– an example



Negative effect on cell proliferation— an example

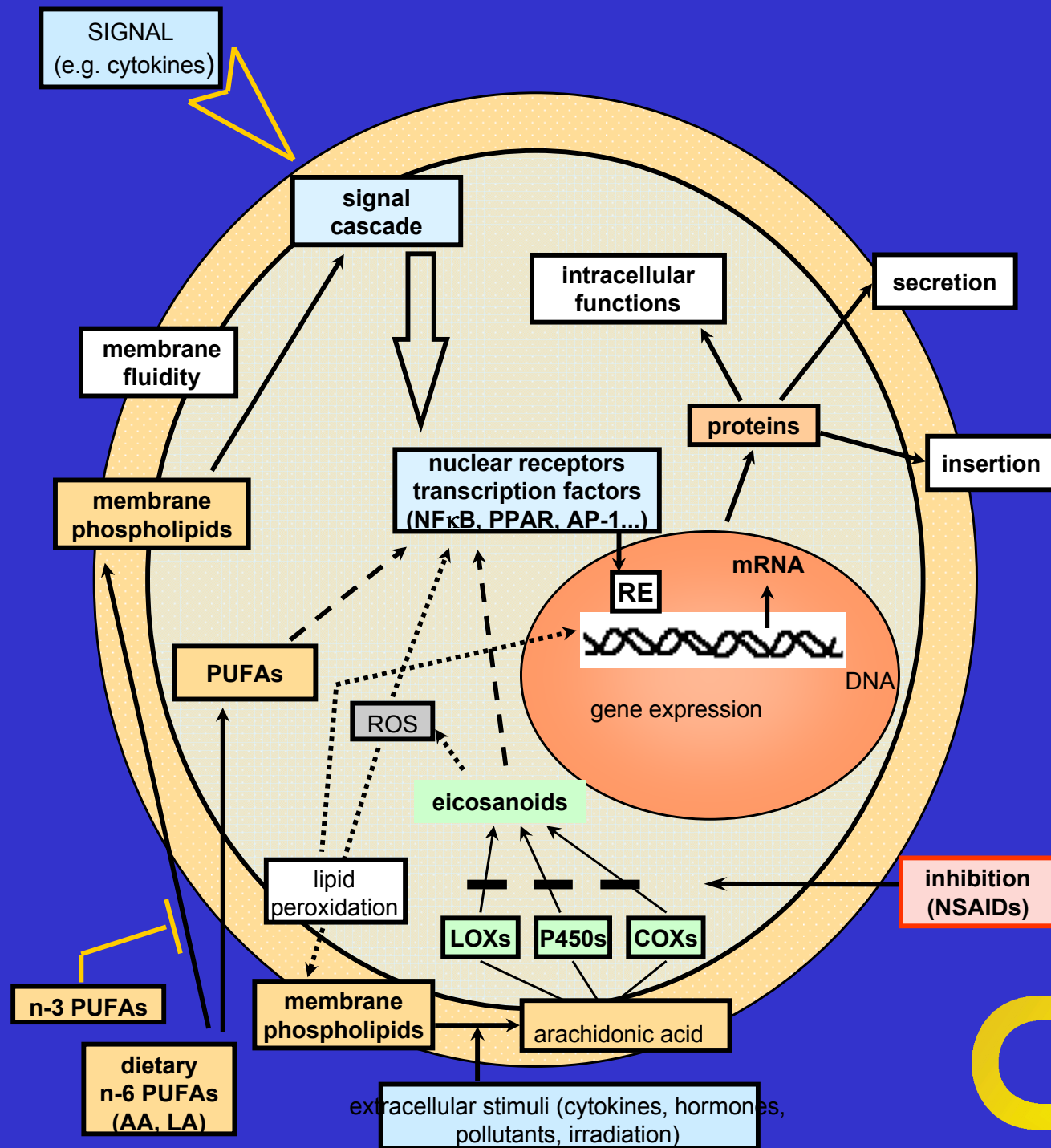


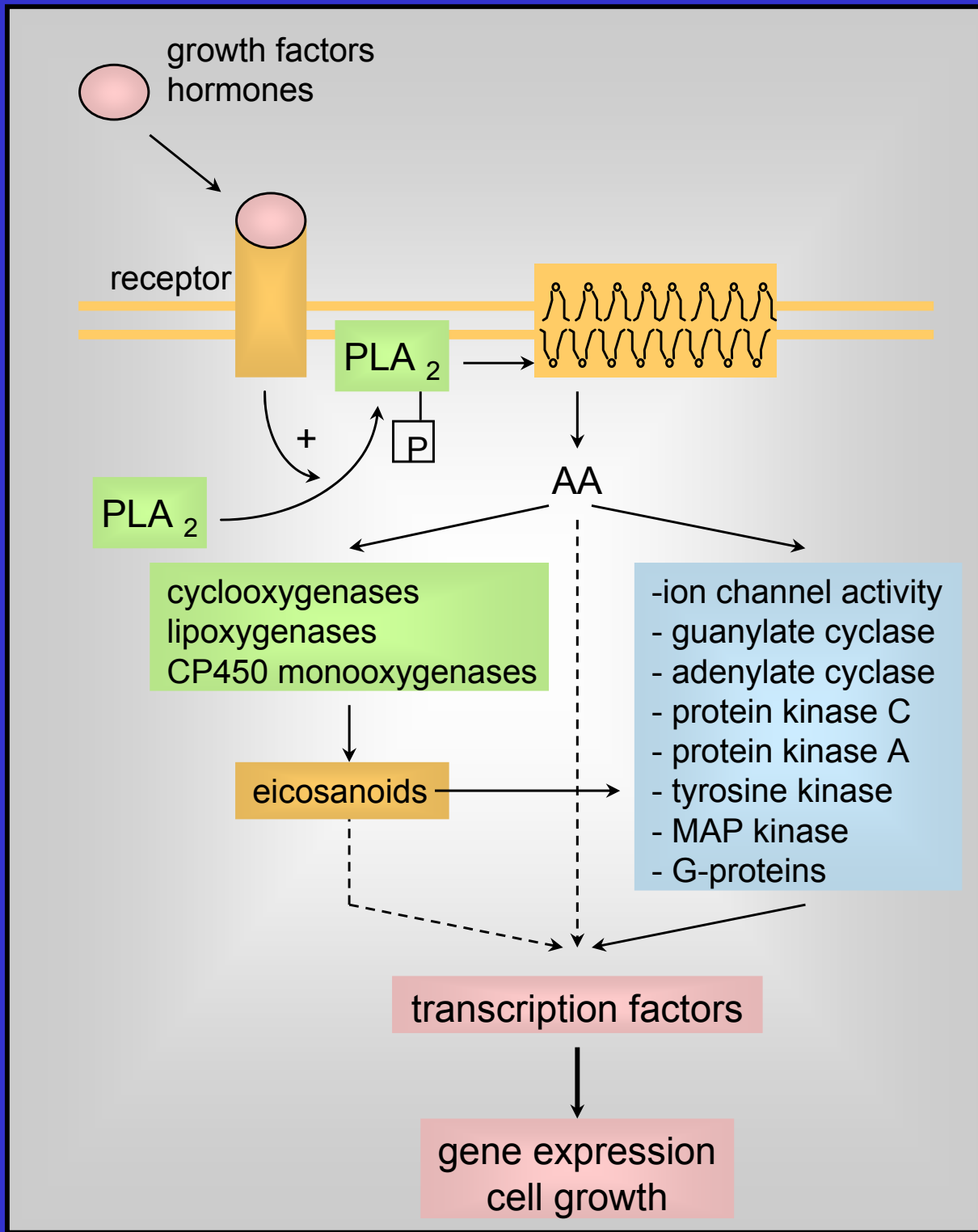


Protein kinases and phosphatases

pokračování

Spolupůsobení
„regulátorů růstu“
rozdílné chemické povahy





According to: A. Sellmayer et al.:

Prostaglandins, Leukotrienes
and Essential Fatty Acids ;

57: 353 - 357, 1997.

Arachidonic acid: metabolic pathways and its possible modulations

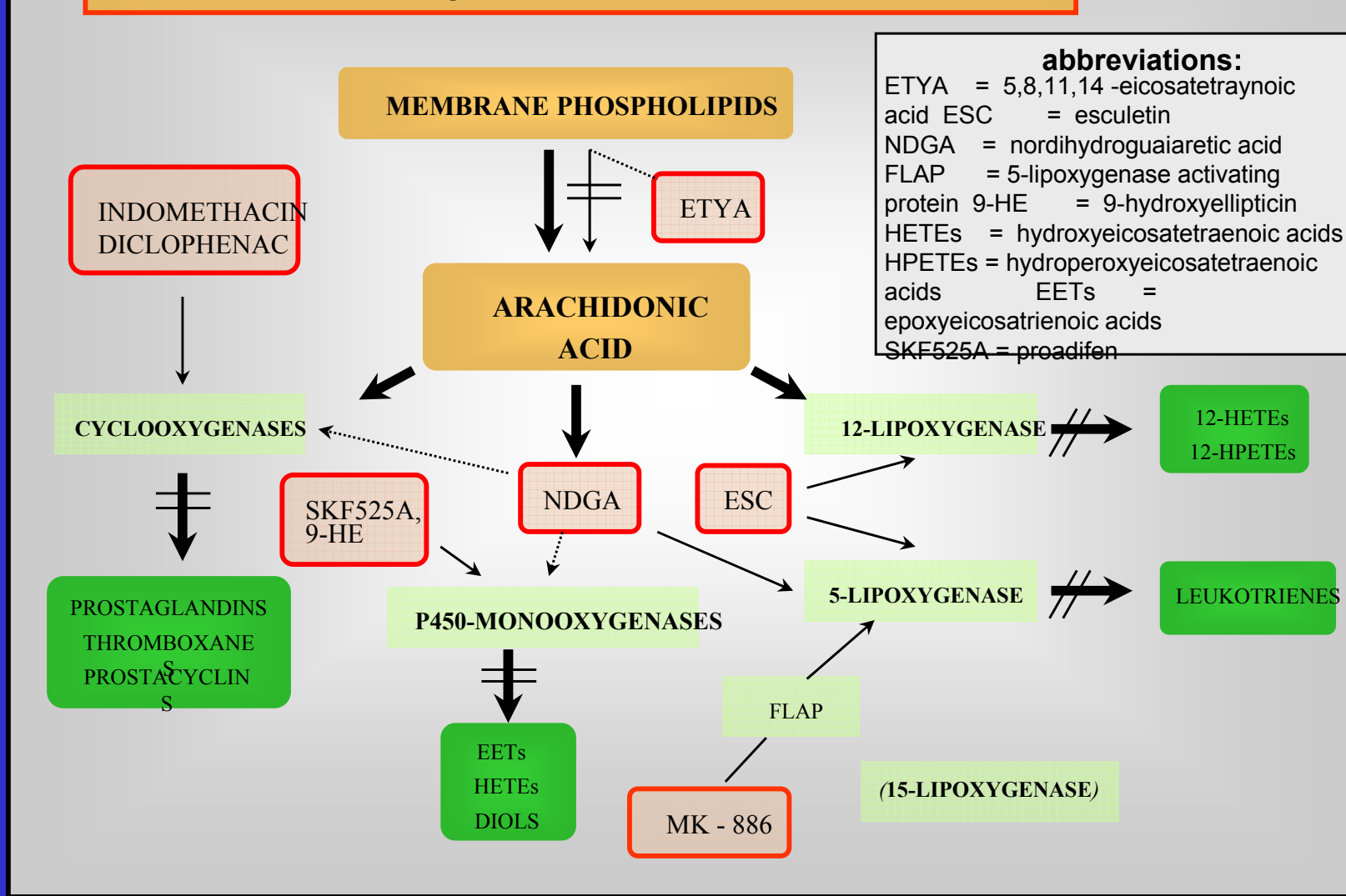


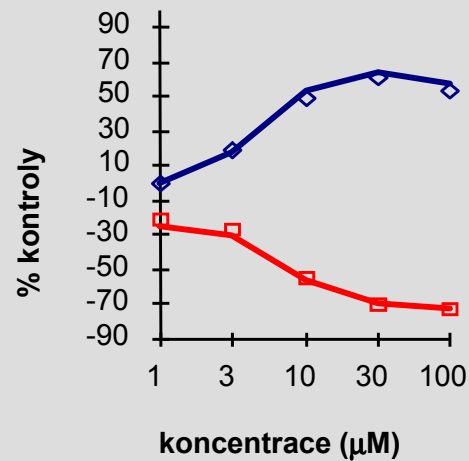
Figure 1

PRODUKTY

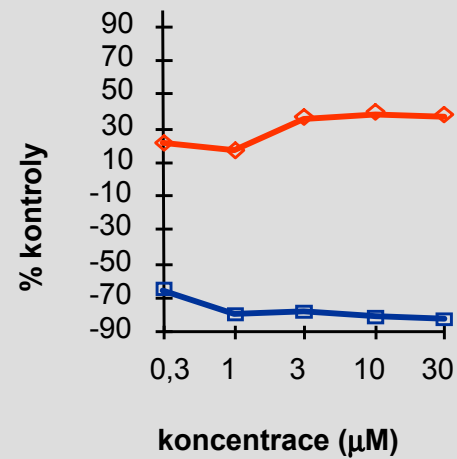
LIPOXYGENÁZ A CYKLOOXYGENÁZ

VORE et al., J. Immunol. :
11, 435 - 442, 1989

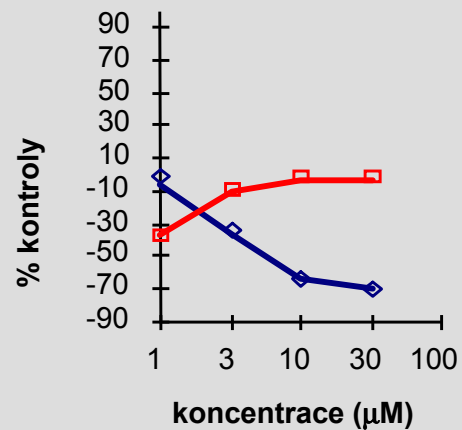
Esculetin



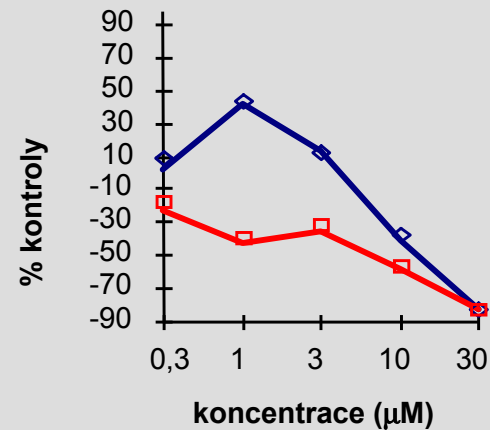
Indomethacin

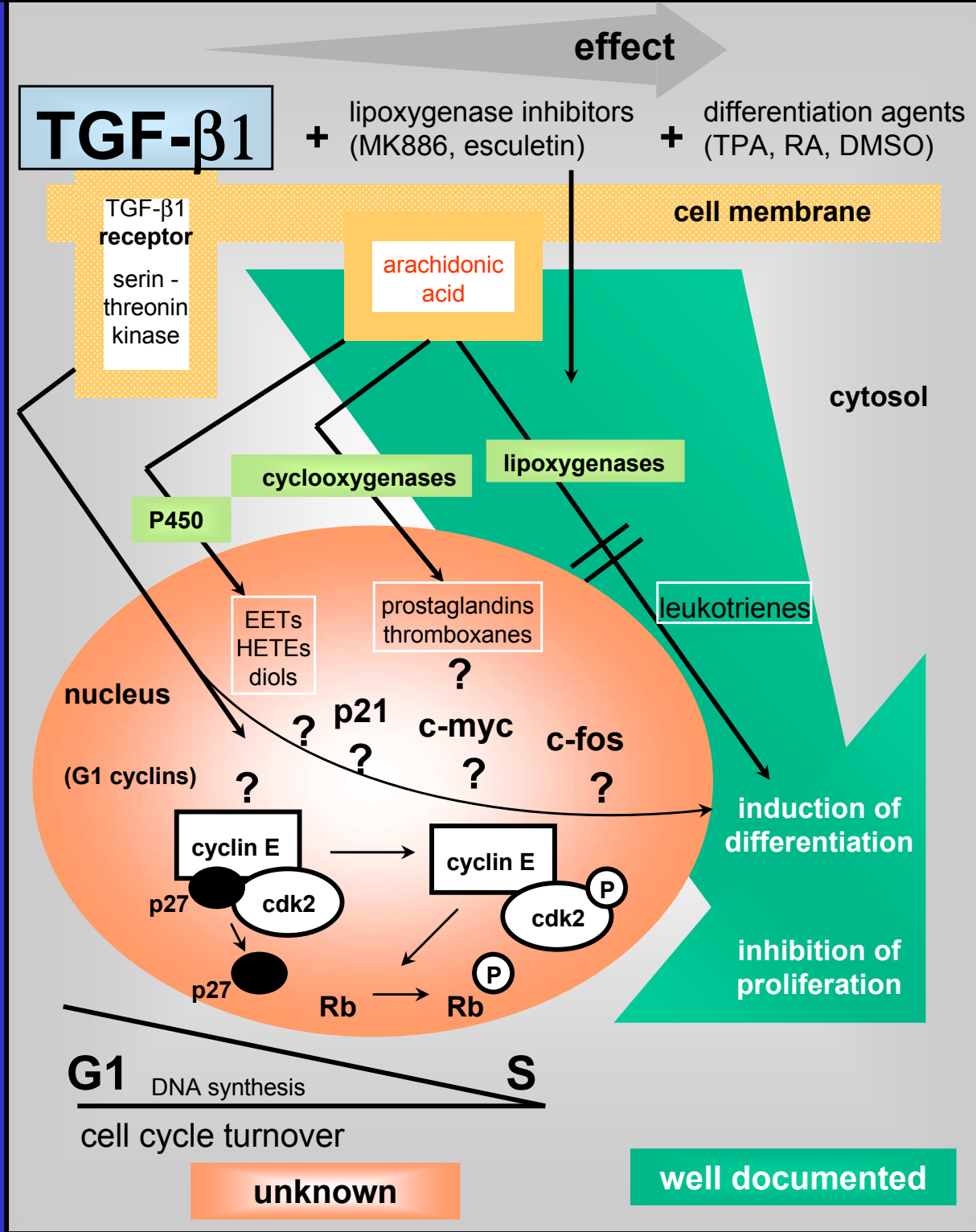


Ibuprofen

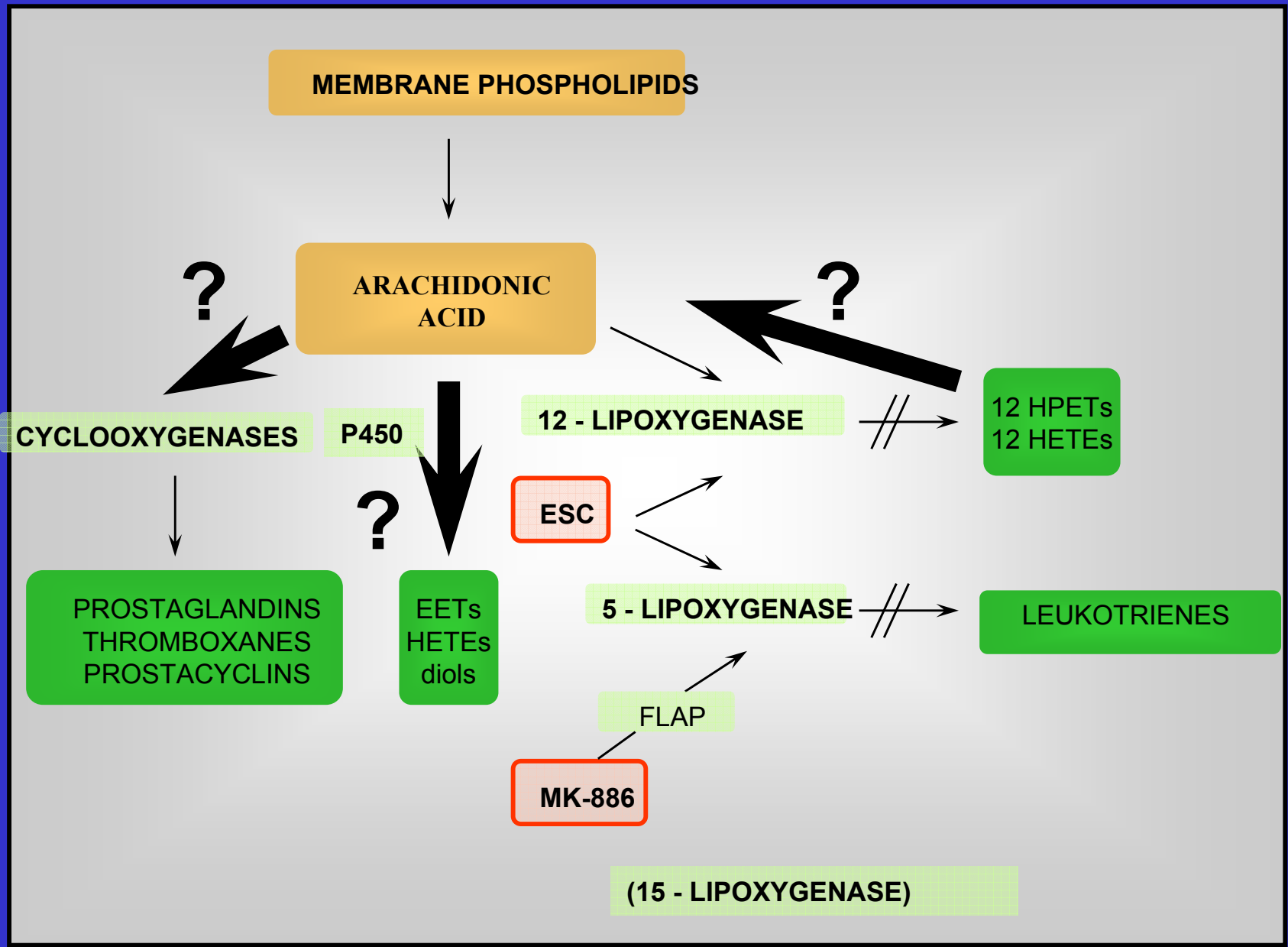


NDGA





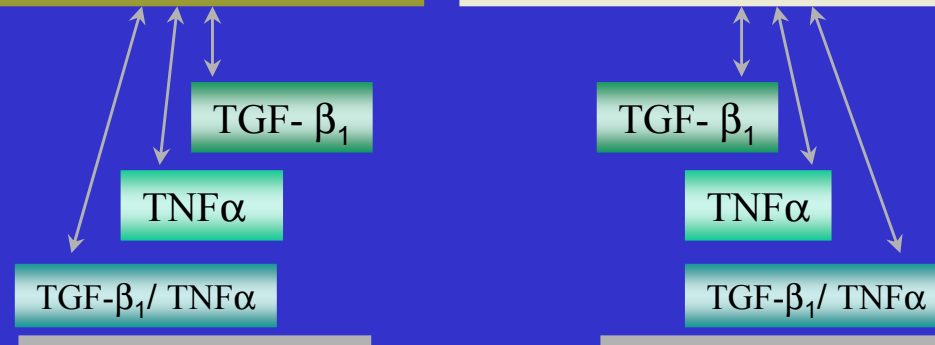
some interactions of TGF-β1 and AA metabolism with other regulatory molecules which should be studied (unknown effects)



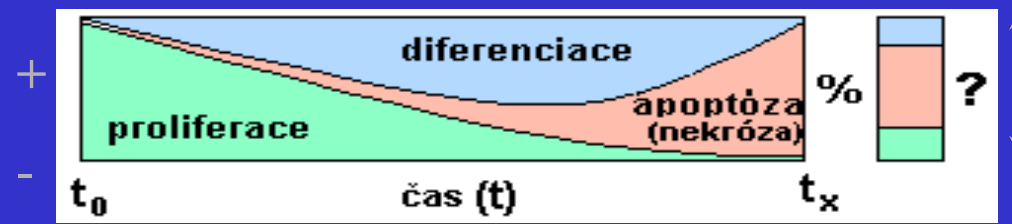
Ovlivnění metabolismu eikosanoidů

I. dodáním exogenní kyseliny arachidonové (AA)

II. ovlivněním produkce eikosanoidů s využitím inhibitorů: LPO nebo CO nebo P450

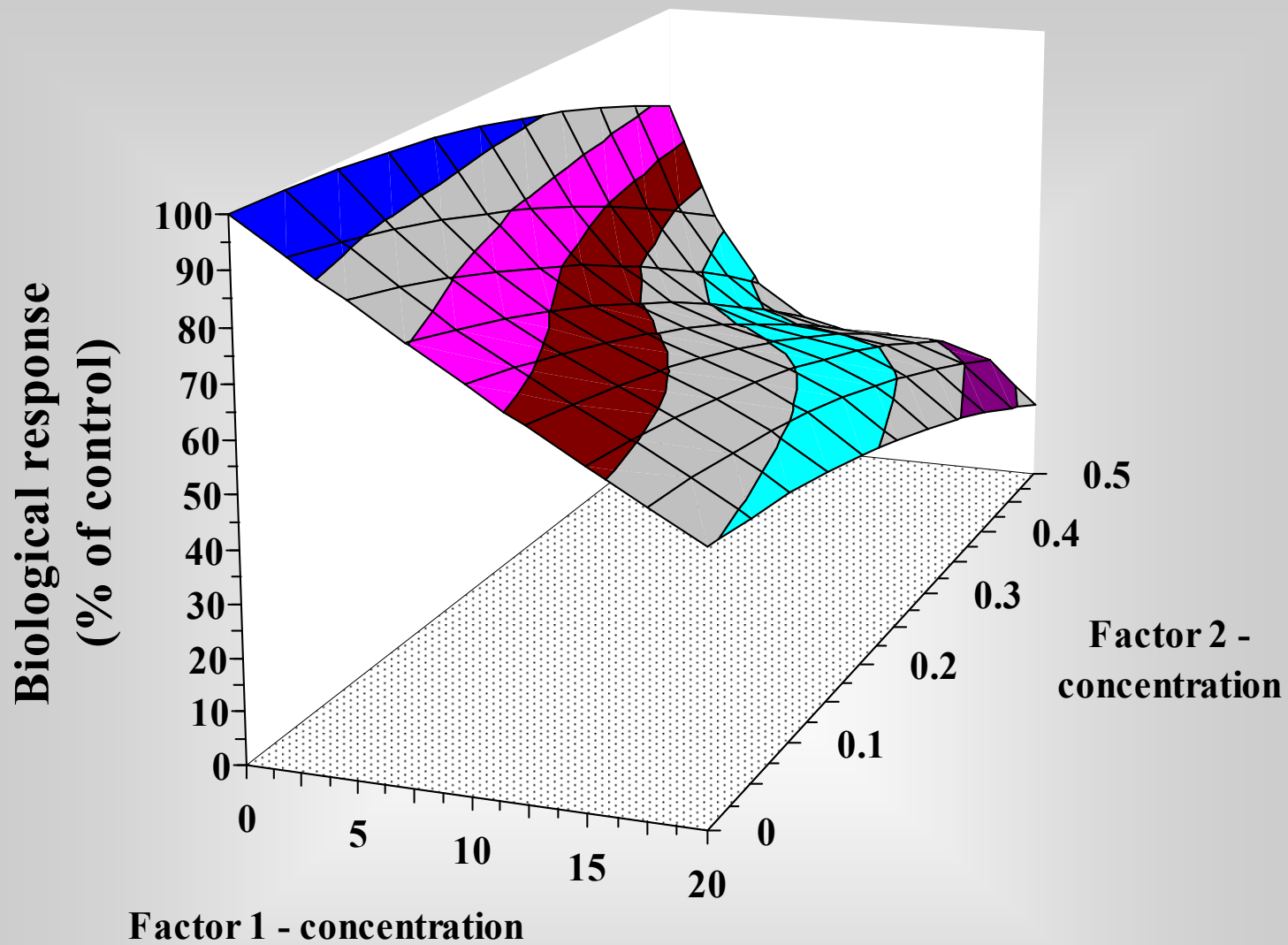


diferenciace (+)
po indukci do:
granulocytů
nebo
monocytů -
makrofágů

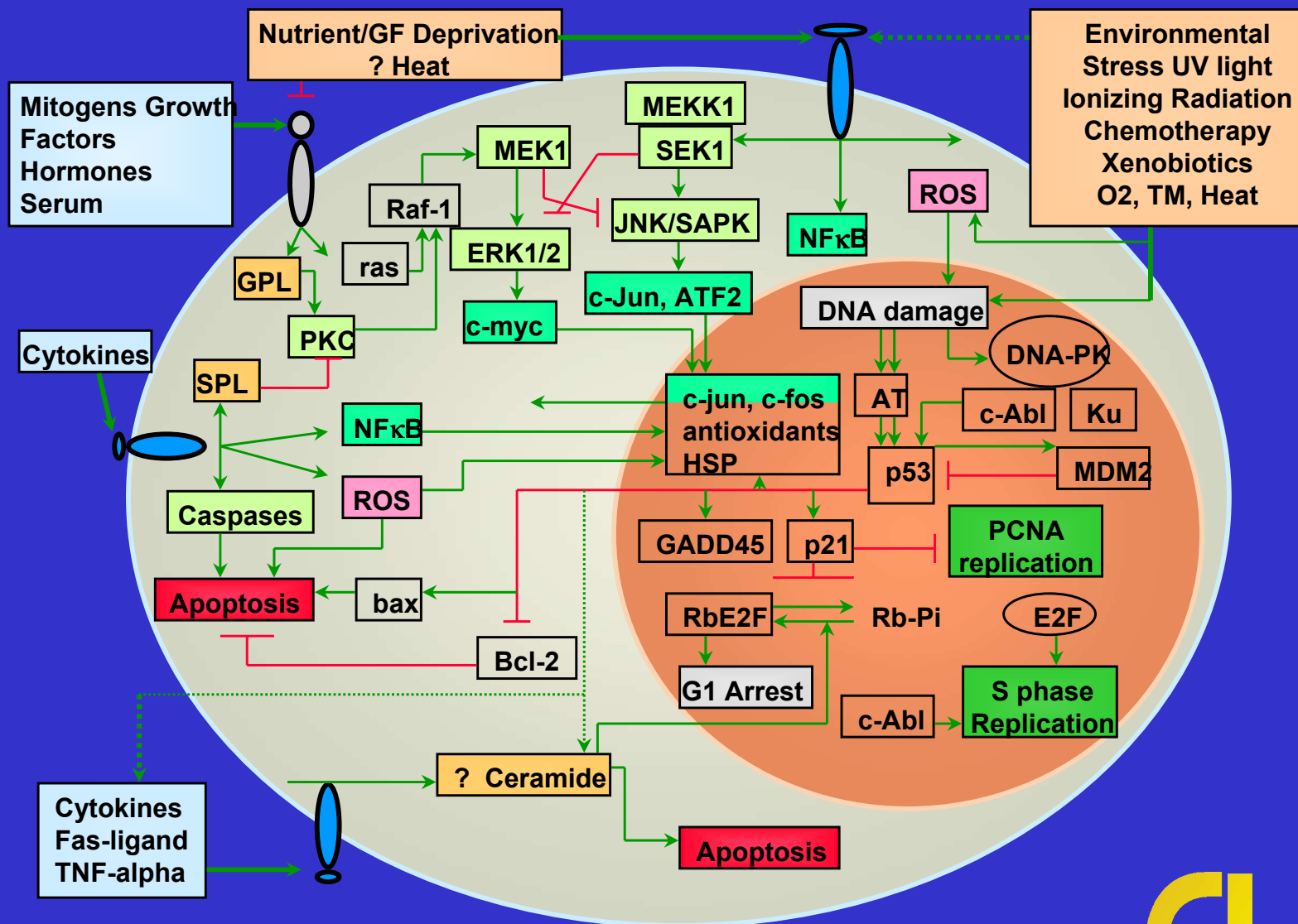


Vytvoření souboru dat detekcí proliferace, diferenciace a apoptózy u buněk v definovaných časových intervalech

Zhodnocení dat: vymezení významných interakcí pomocí matematické analýzy dat **upřesnění** modelových exp. podmínek pro detailnější **studium mechanismů**



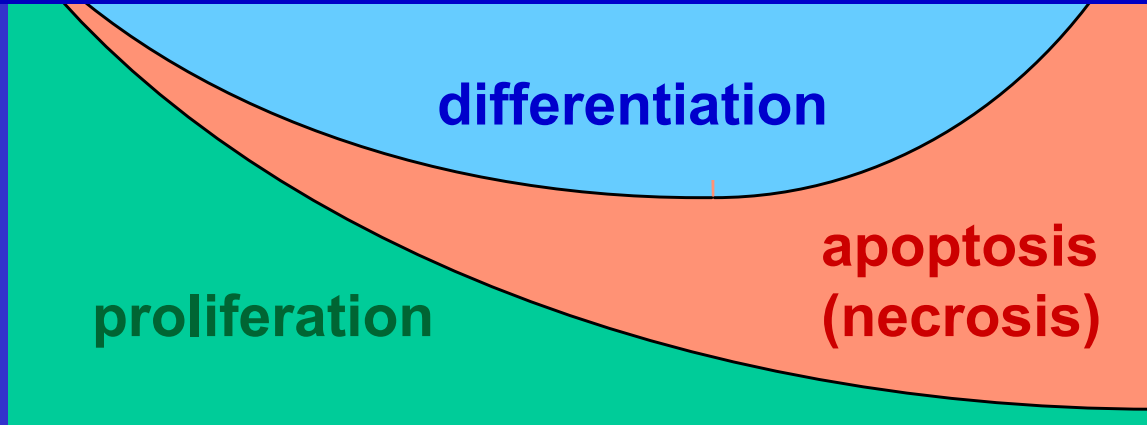
An example of interactions of two factors (data from Eur. J. Pharmacol. 316, 349-357, 1996, see [Publications.](#))



According to: Rizzieri: Drug Resistance Updates; 1: 359 - 376, 1998

+

-



differentiation

proliferation

apoptosis
(necrosis)

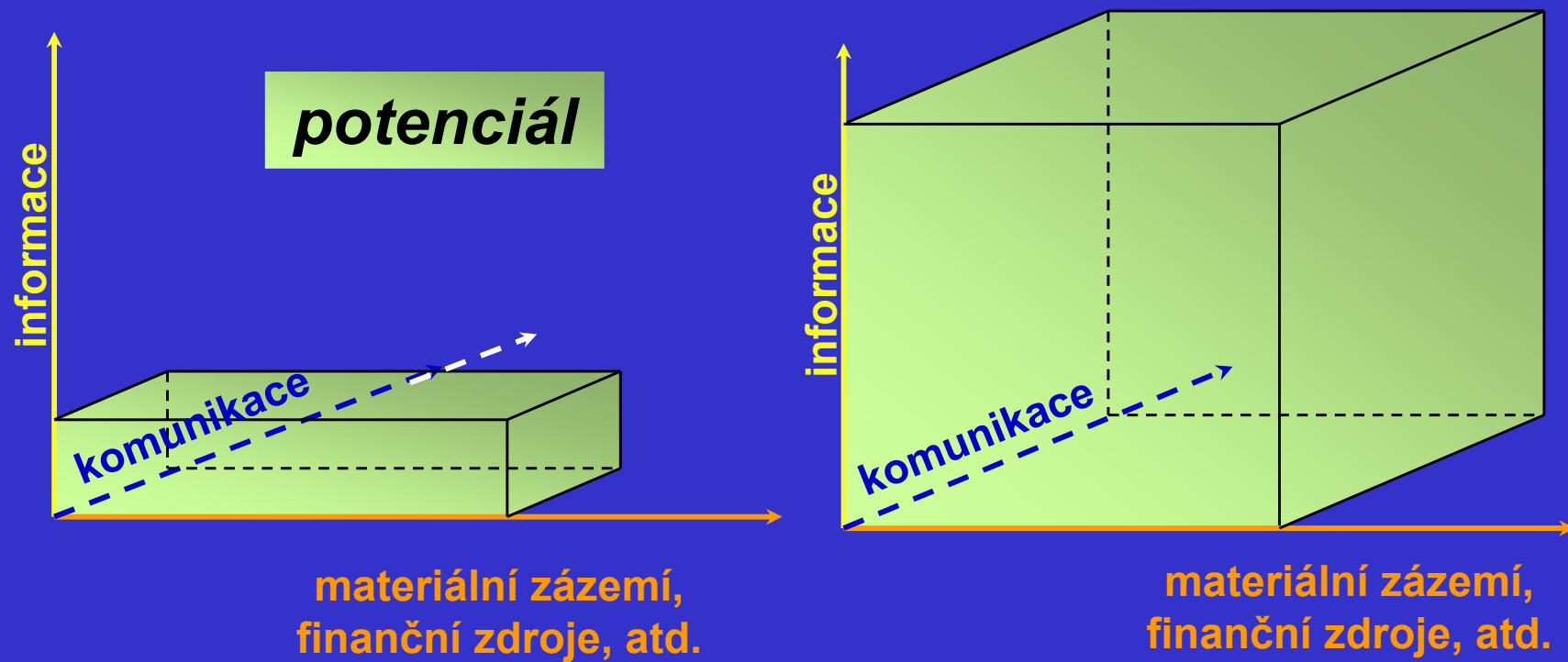
%

?

t_0

time (t)

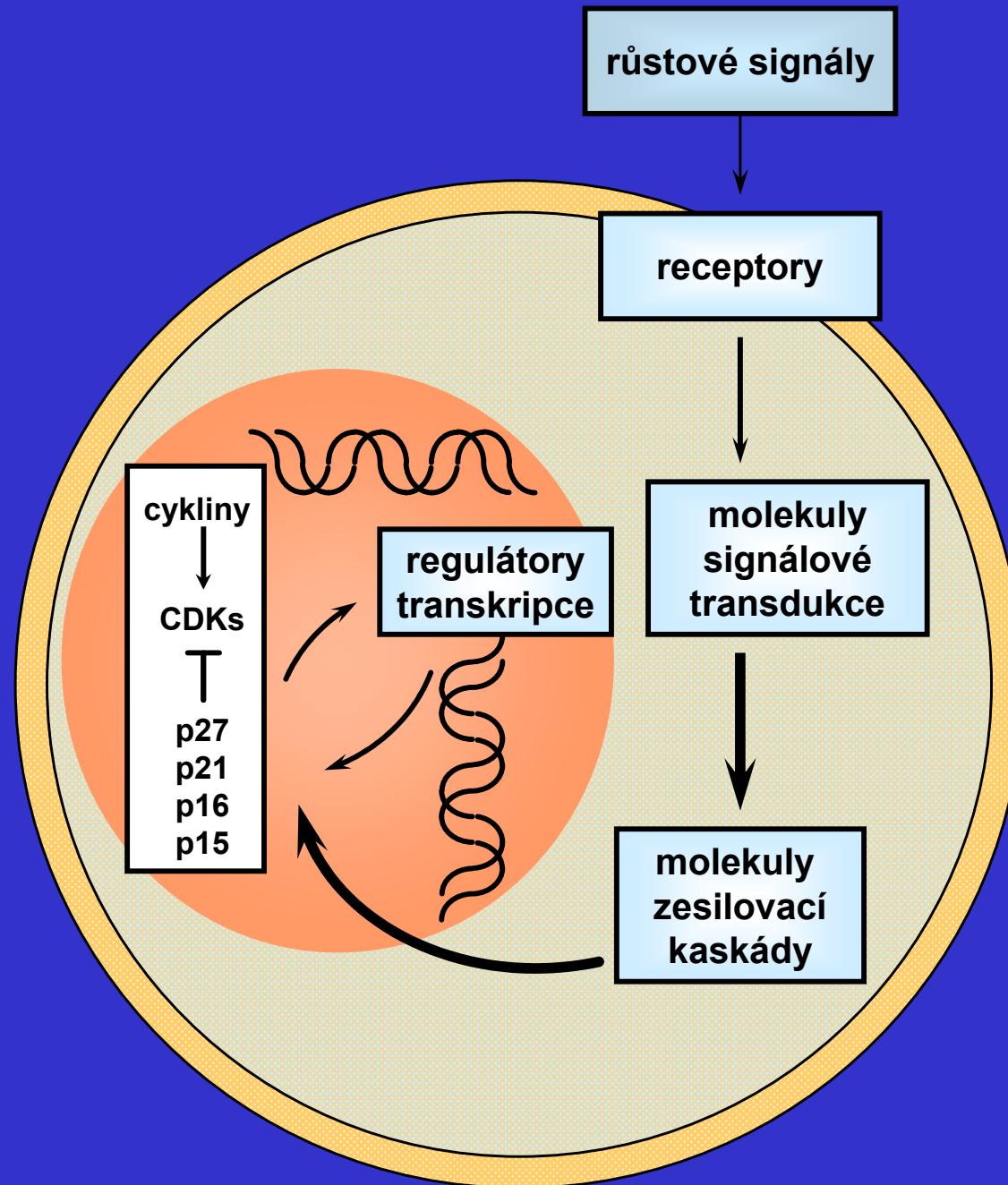
t_x



;; některá
OBECNÁ VÝCHODISKA,

**DŮLEŽITÁ PRO POSTIŽENÍ CHOVÁNÍ A SMĚROVÁNÍ BUNĚČNÝCH
POPULACÍ, Z NICHŽ LZE VYCHÁZET, MOHOU BÝT TATO:**

- Zachování rovnováhy v nejširším slova smyslu mezi produkcí buněk (intenzitou proliferace) a jejich úbytkem (např. smrtí apoptózou) je podmínkou pro zachování homeostázy na tkáňové úrovni.
- Proto změny v intenzitě proliferace, diferenciace a apoptózy po působení jakýchkoli podnětů, jež mohou tyto procesy ovlivnit, lze chápat jako integrální ukazatele porušení této homeostázy.
- Vhodný způsob detekce těchto změn, které vedou k trvalejšímu porušení rovnováhy mezi produkcí a úbytkem buněk může celkově odrážet nejen poruchy, které jsou základem tzv. proliferativních chorob (nádorových onemocnění), ale být i ukazatelem procesů vedoucích k obnově porušené rovnováhy.
- Parametry, jimiž lze postihnout tyto tendence, by proto měly být předmětem zájmu nejen teoreticky orientovaných pracovníků, ale i laboratoří zabývajících se účinky škodlivých látek vnějšího prostředí, šlechtitelských a zejména klinicky orientovaných laboratoří.



Summary of the mechanisms by which specific gene regulatory proteins control gene transcription in procaryots

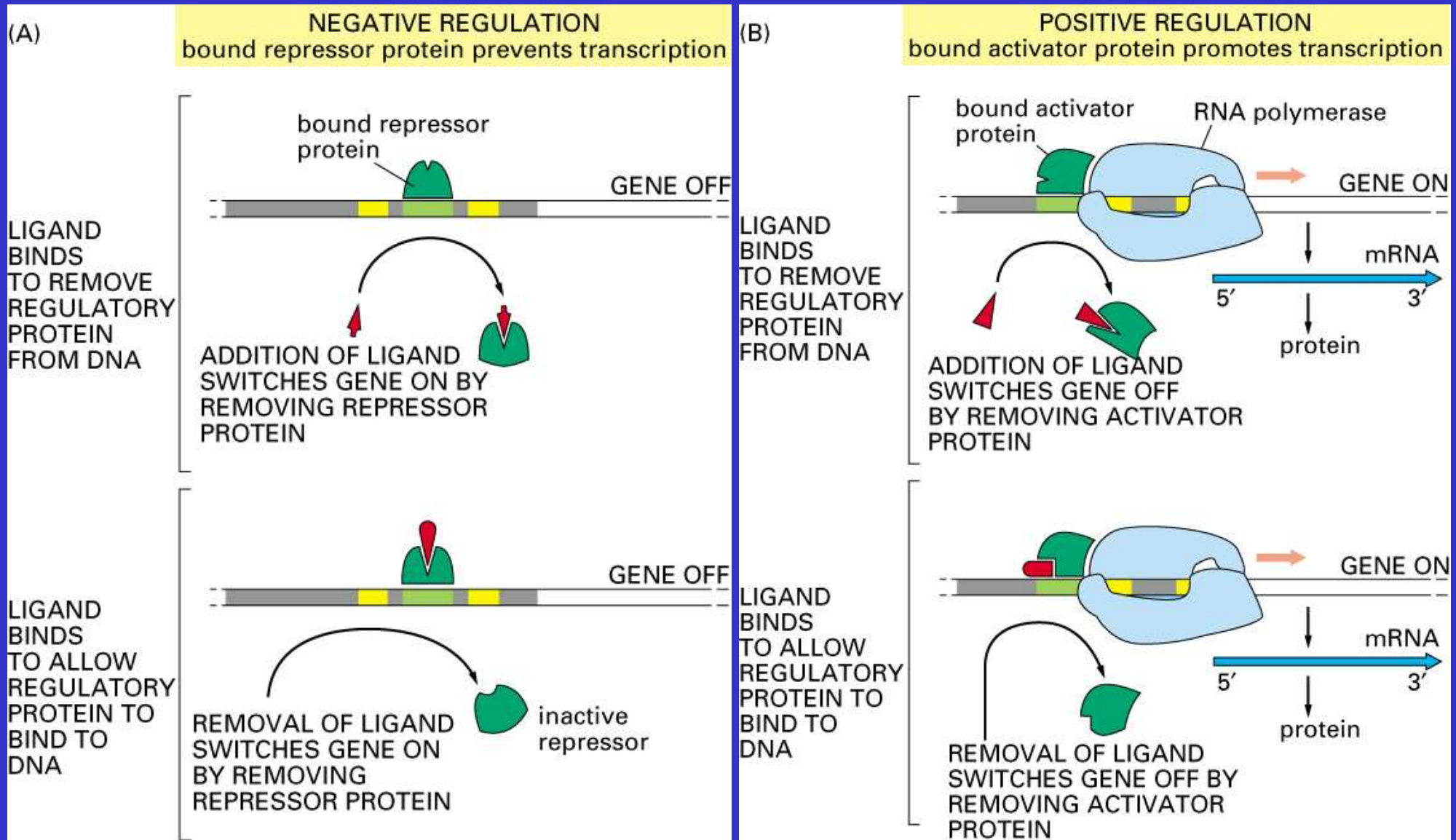


Figure 7-36 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 7-36 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Co by mělo být rozhodováno nejdřív:

Proč chceme studovat, jaký je opravdový zájem?

Na základě čeho se rozhodujeme?

Kdy začít a proč? Vlastní projekty a aplikace.

Kde začít?

Jaké máme možnosti uplatnění

po skončení studia?



Biofyzikální ústav AVČR, BRNO