

HOMEOSTÁZA a ZPĚTNÉ VAZBY

Typy buněčných populací a buněčné modely;
Negativní a pozitivní zpětné vazby;

Alois Kozubík

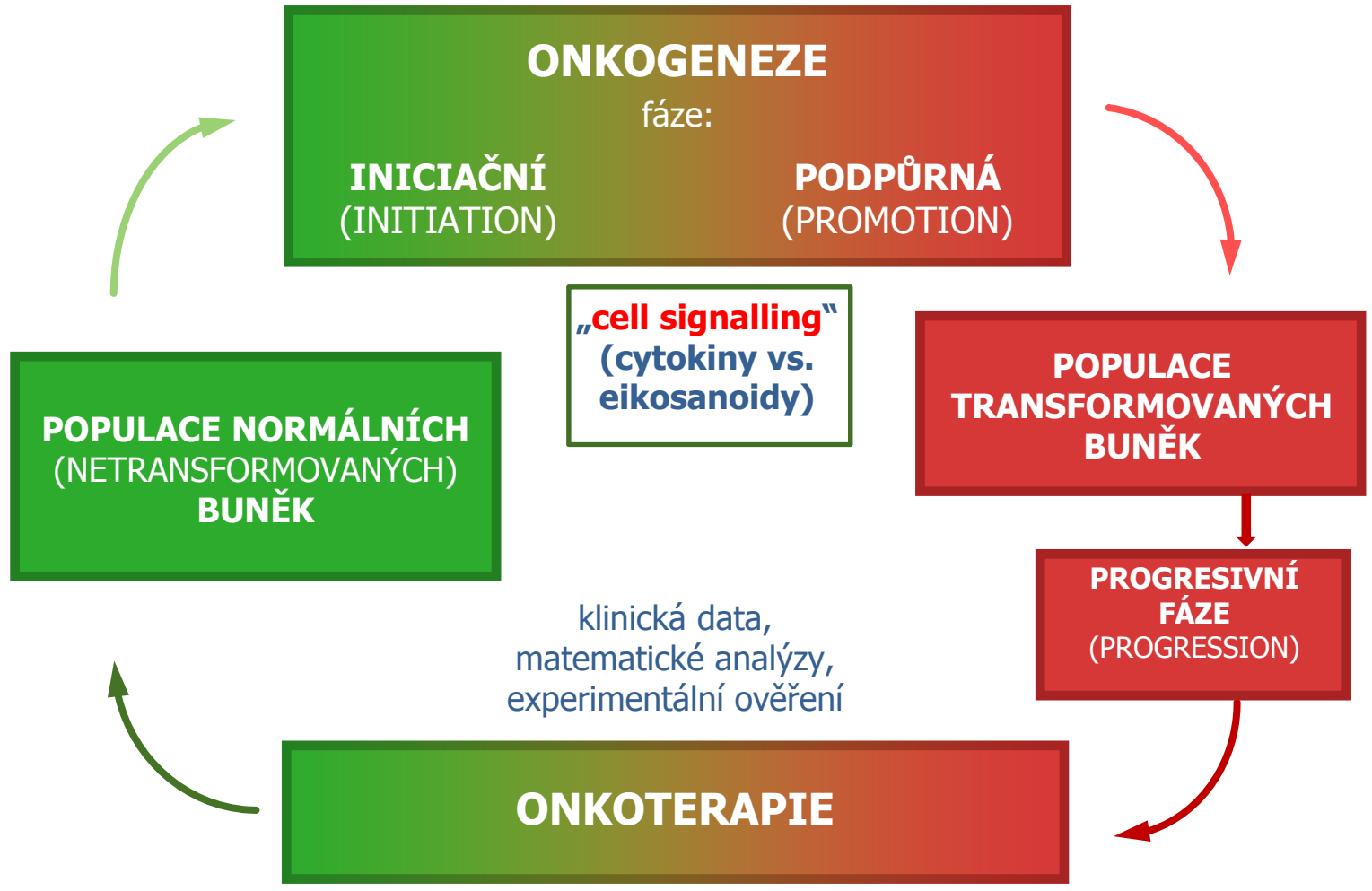
POJEM „HOMEOSTÁZA“

Homeostáza: automatické udržování hodnoty nějaké veličiny na přibližně stejné úrovni.

V biologii se jedná o **schopnost** živých organismů **udržovat stabilní vnitřní prostředí v podmínkách** měnícího se vnějšího prostředí.

Výsledkem je relativní stálost vnitřního prostředí, jako nezbytné podmínky existence a fungování živých systémů.

Porušení homeostázy a vznik patologických stavů



Typy buněčných
populací
a buněčné modely

Dělení buněčných populací podle intenzity obnovy

Tabulka 1

Dělení buněčných populací podle intenzity obnovy u dospělé myši

1. Statické populace bez známek obnovy během života:

neurony všech typů
srdeční svalové buňky
odontoblasty
Sertoliho buňky

2. Velmi pomalu se obnovující buněčné populace:

Během života se obnoví jen část populace:

hladké svalové buňky
gliové buňky
osteocyty
buňky ledvinných tubulů
buňky dřeně nadledvinek
hlavní buňky žaludeční sliznice
intersticiální buňky Leydigovy
buňky hnědé tukové tkáně

3. Rychle se obnovující buněčné populace:

A. Ne příliš rychle se obnovující populace. Populace, která se během života zcela obnoví, ale za dobu delší než 30 dní:

hepatocyty a litorální buňky
epitelová výstelka dýchacího traktu
buňky slinných žláz
buňky pankreatu
buňky v kůře nadledvinek
parietální buňky žaludeční sliznice
pojivové buňky v kůži

B. Velmi rychle se obnovující buněčné populace. Všechny se obnoví za dobu kratší než 30 dní:

střevní epitel
krvetočné buňky, prekursori krevních buněk
epidermis
kornea
epitelová výstelka ústní dutiny a esofagu
povrchový epitel žaludeční sliznice
semíniferní epitelová tkáň

C. Buňky nádorové

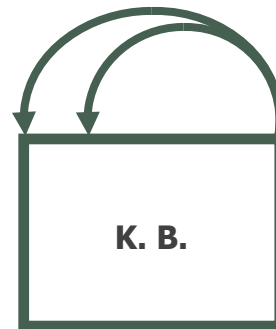
Typy buněčných populací

TYPY PROLIFERUJÍCÍ

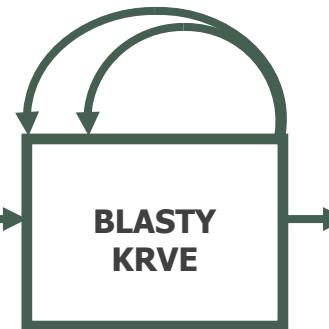
expandující,
neopouštějí populaci,
množí se



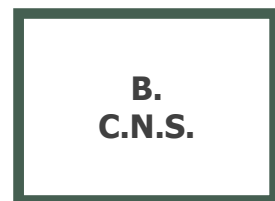
populace coby zdroj
buněk pro jiné populace
c. konstantní



Tranzitní populace, ve
které se buňky pomnoží
c. konstantní



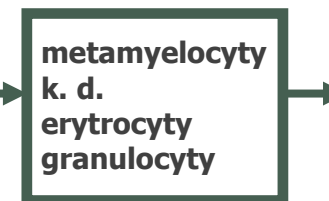
TYPY NEPROLIFERUJÍCÍ



stacionární
c. konstantní



stále ubývá



typ průchozí (tranzitní)
c. konstantní

podle Gilberta a Lajthy (1965)

BIOLOGICKÉ MODELY zvolené pro další výklad

Buňky tzv. intenzívně proliferujících populací
(zejména buňky křvetvorné),
anebo

buňky nádorové
(leukemické, střevních epitelů, prostaty, etc.)
v celém organismu (*in vivo*) a *in vitro*:

Využití radiací utlumené křvetvorby

jako modelu

pro studium regenerace křvetvorných funkcí

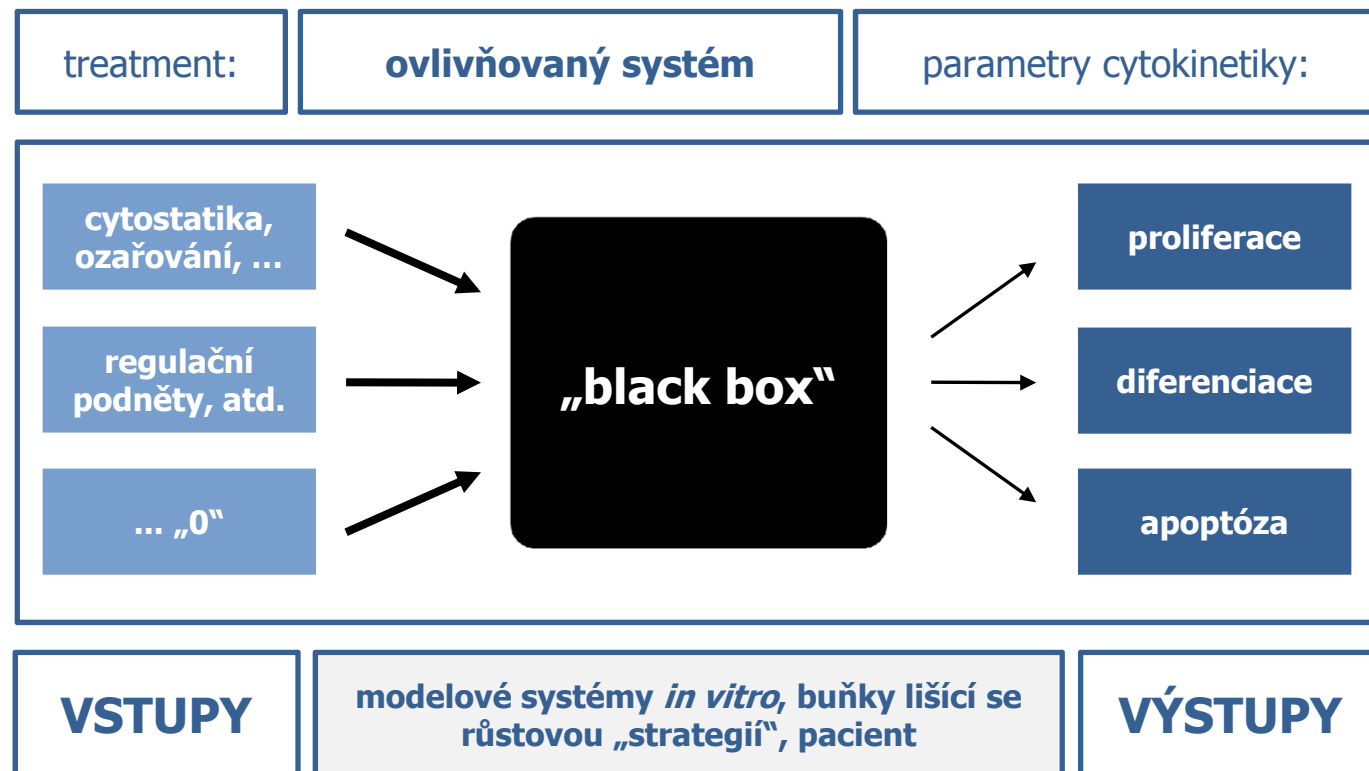
Princip,
volba dávky,
volba druhu laboratorního zvířete (myš)
Metoda CFU-S

Některá OBECNĚJŠÍ VÝCHODISKA,

DŮLEŽITÁ PRO POSTIŽENÍ CHOVÁNÍ A SMĚROVÁNÍ BUNĚČNÝCH POPULACÍ,
MOHOU BÝT TATO:

- Zachování rovnováhy mezi produkcí buněk (intenzitou proliferace) a jejich úbytkem (např. smrtí apoptózou) je podmínkou pro zachování homeostázy na tkáňové úrovni.
- Proto změny v intenzitě proliferace, diferenciaci 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.
- Vysokou vypovídací hodnotu mohou mít tzv. „integrální ukazatele“ odpovědi systému jako jsou např. hmotnost orgánů, počet buněk apod. a jejich změny v čas. Podávají prvotními informací o stavu systému, jeho směřování, a naznačují, jakým směrem orientovat další, detailnější, výzkum.

Jednoduché, snadno měřitelné
„integrální ukazatele“



Model radiací utlumené krvetvorby

Dobový kontext

od 40.- 80. léta 20. stol.

Radiobiologický výzkum
především pro vojenské účely.

Důsledky:

Utlumení a poškození krvetvorby
(intenzívně proliferujících populací)
imunitních funkcí a celého organismu.
Vznik nádorů včetně leukémií atd. ,smrt.



(Nevada, USA)

Porušení rovnováh na úrovni
buněk, tkání, organismu

Jestliže dojde k celotělovému vystavení ionizujícímu záření, dochází k rozvoji tzv.
RADIAČNÍHO SYNDROMU provázeného devastujícími účinky na organismus

Formy nemoci z ozáření (myš)

Průběh nemoci závisí zejména

- 1) na dávce ozáření
- 2) na druhu a celkové „kondici“ organismu.

Forma nemoci z ozáření	Dávka	Hlavní oblasti postižení
Dřeňová (má smysl ¹⁾)	0.1- 6 Gy	Kmenové buňky K.D.
Střevní	5 -10 Gy	Epitely, zejména střeva
Centrálně nervová	100 Gy	Viz. výše včetně C.N.S.

1) zvládnutí této formy (u myši do 6-10ti Gy) rozhoduje o přežití organismu

Pozitiva:

- 1) výsledky uplatnitelné v **radioterapii** nádorů
- 2) **objev** kmenové buňky krvetvorby
- 3) radiací **utlumená krvetvorba** – **model** pro studium regeneračních schopností krvetvorby a **celého savčího organismu viz níže:**

Po ozáření (cca 8 Gy) dojde k vyhlazení krvetvorných buněk. Po transplantaci syngenních kmenových buněk kostní dřeně ze zdravých jedinců ozářeným zvířatům lze sledovat úpravné procesy po rozličných typech ovlivnění a studovat, které faktory rozhodují o výsledném efektu.

Cíl: Obnovení dynamické rovnováhy

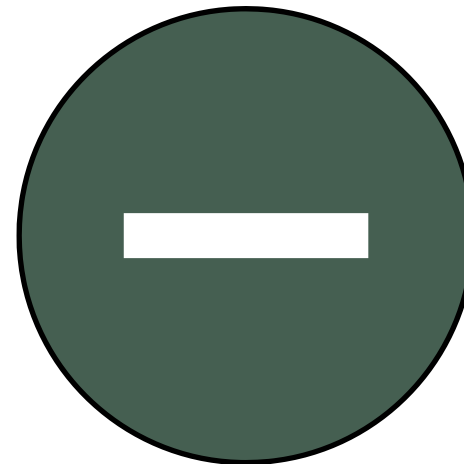


Homeostáza

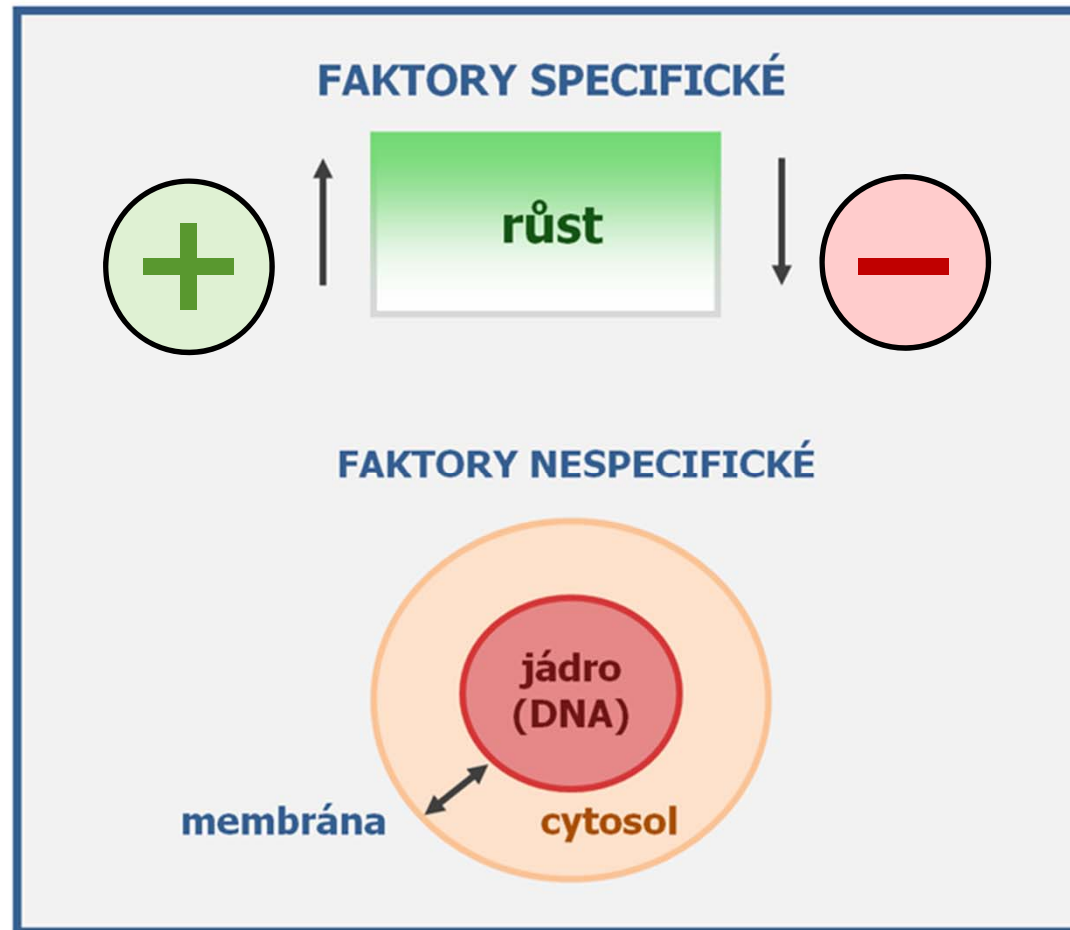
(relativní stálost vnitřního prostředí)

Rovnováha

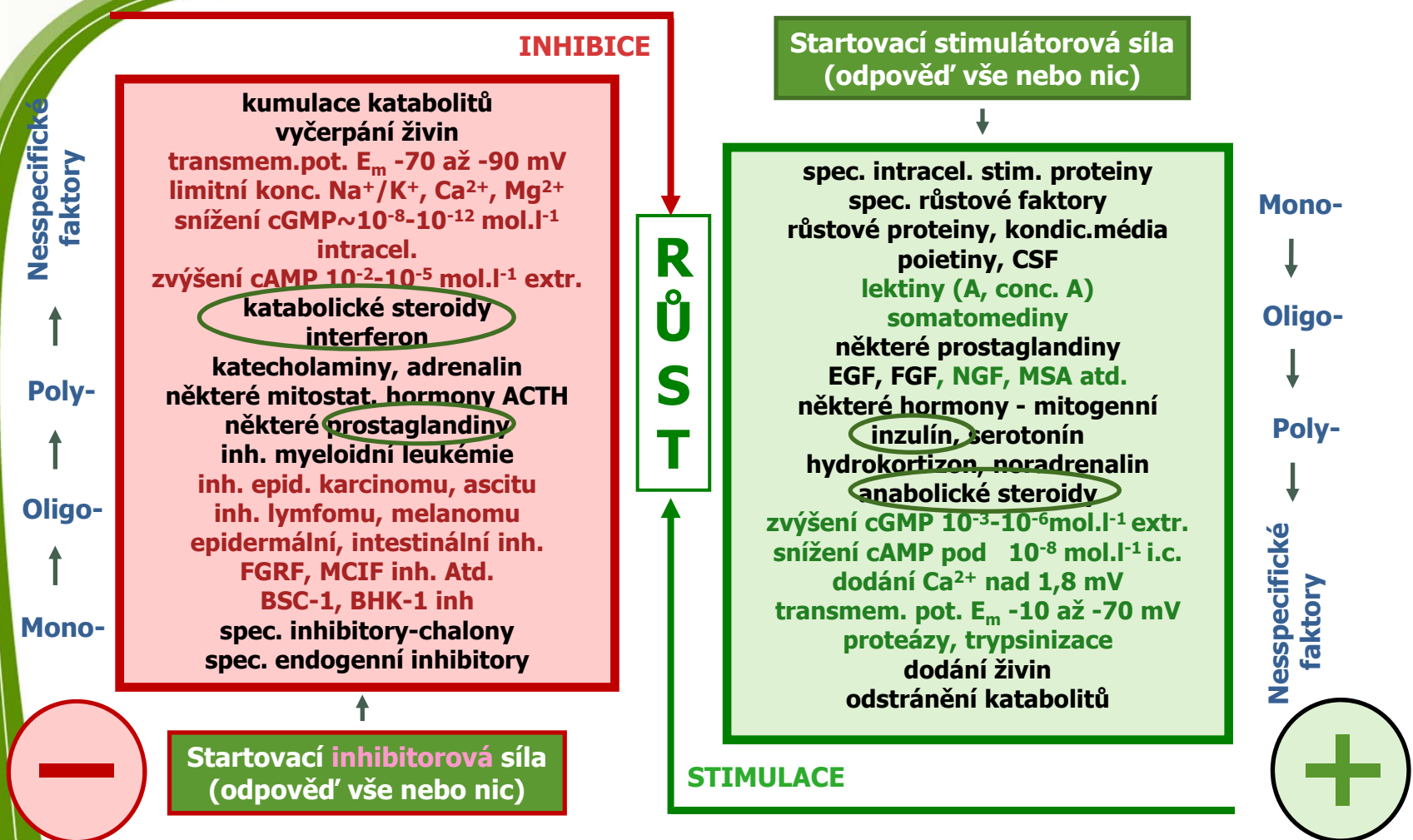
Výsledek působení mnohočetných zpětných vazeb



Zachování rovnováhy je výsledkem působení protichůdných tendencí



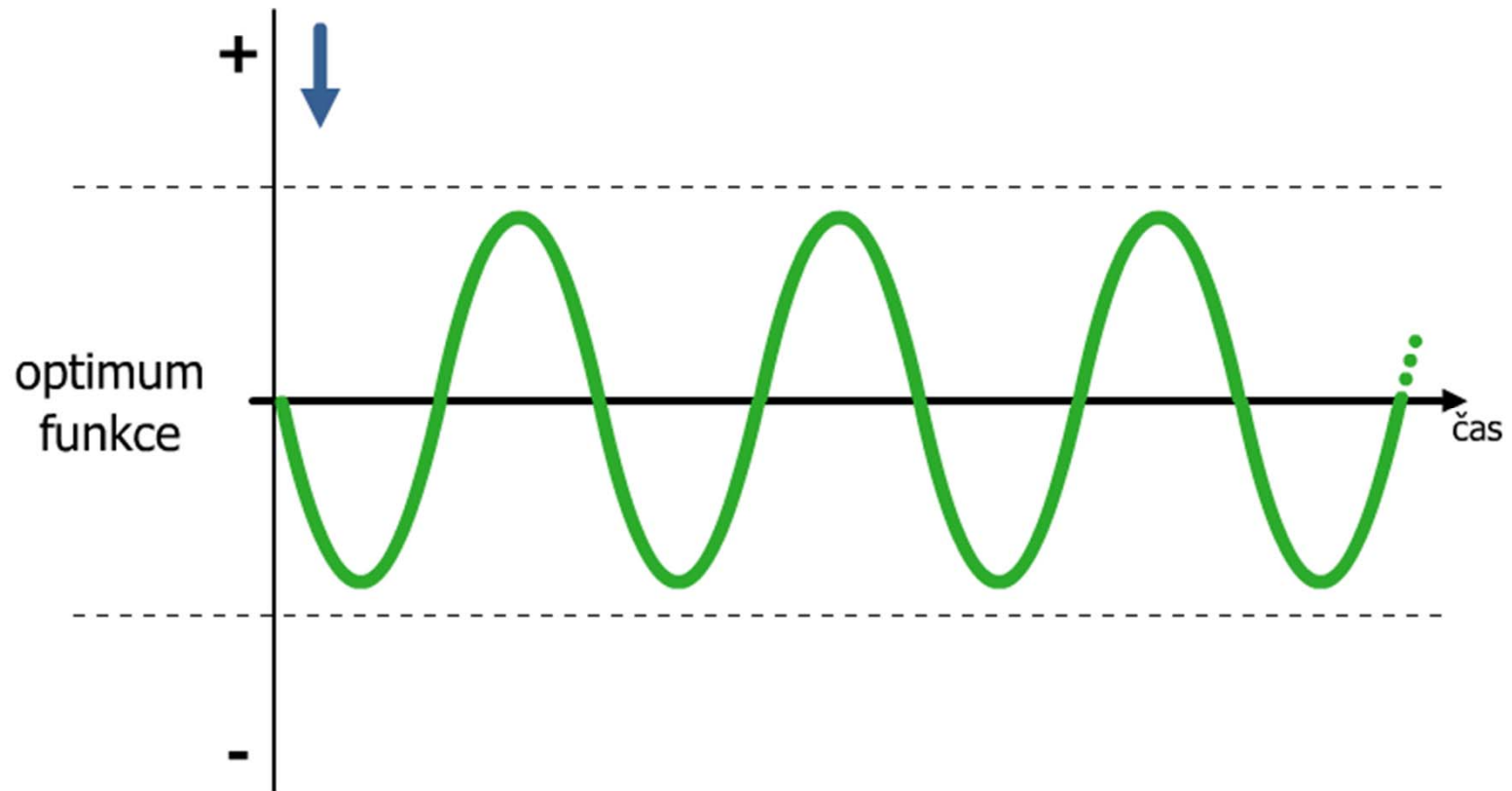
REGULACE „NORMÁLNÍHO“ RŮSTU



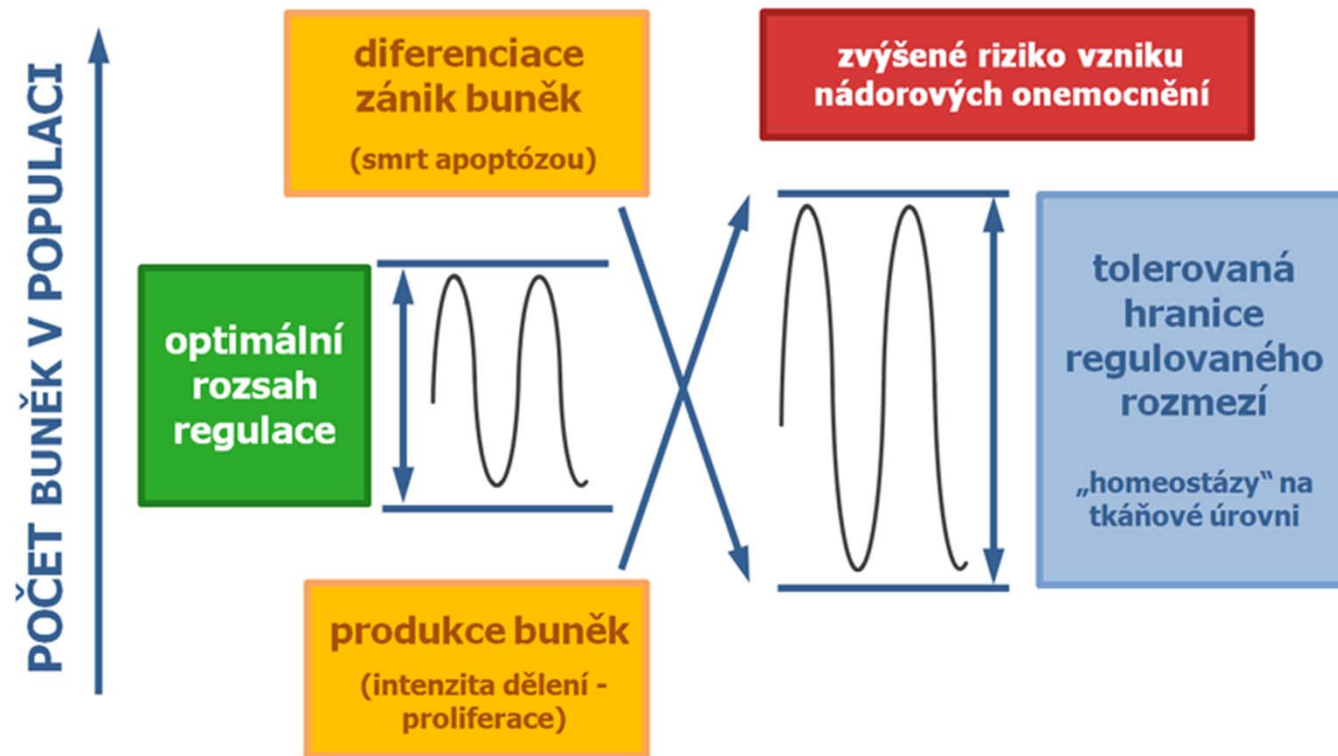
1A Schematické znázornění stimulace a inhibice růstu specifickými a nespécifickými faktory. Převaha pozitivního nebo negativního signálu rozhoduje o výsledné stimulaci nebo inhibici závisí na metabolické a růstové aktivitě buněk, typu buněk a dalších podmínkách - viz text. Specifické růstové účinky vnějšího prostředí buněk zahajují specifické růstové faktory (specifické stimulatory) a specifické endogenní inhibitory (chalony). CSF-kolonie stimulační faktor, EGF-epidermální růstový faktor, FGF-fibroblastový růstový faktor, NGF-nervový růstový faktor, MSA-multiplikaci sti-mulující aktivita, cAMP-cyklický 3' 5'-guanosinmonofosfát, BSC-1, BHK-1, MCIF, FGRF-specifické inhibitory daných buněčných linií.

Regulace a inhibice růstu normálních a nádorových buněk, Fremuth F., SPN, Praha, 1986

Cíl: Dosažení dynamické rovnováhy

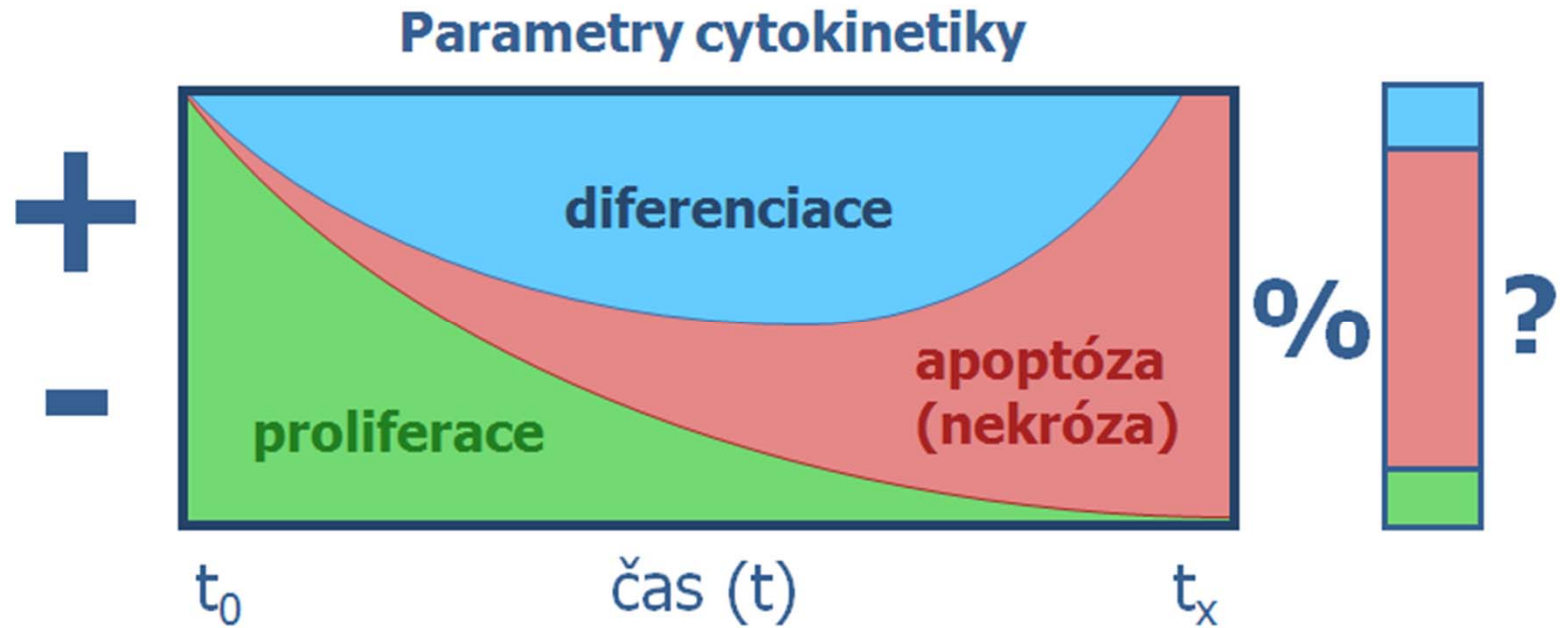


Úroveň buněčných populací



Dynamické změny

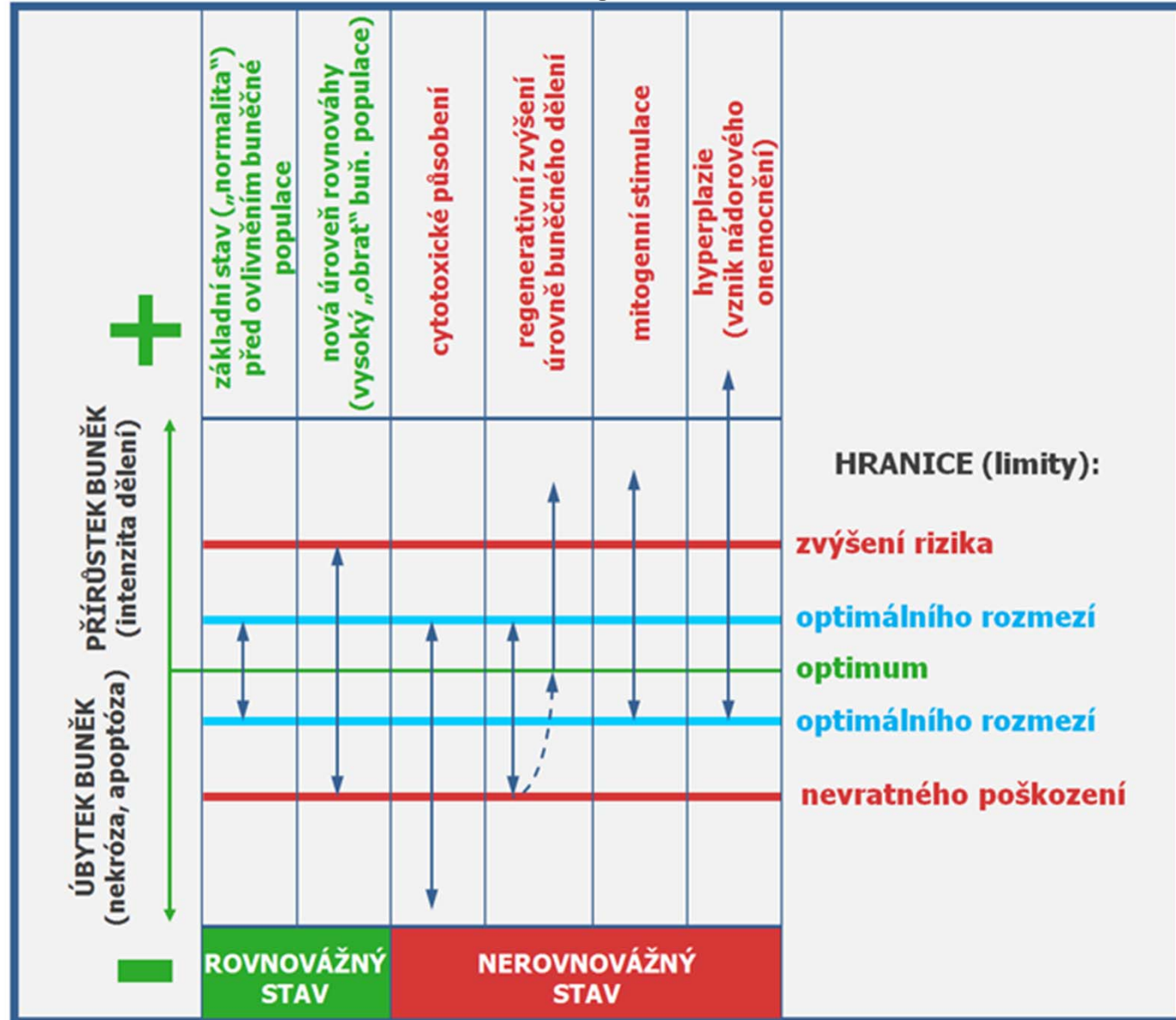
na úrovni buněčných populací



pojem „CYTOKINETIKA“

Rovnovážné vs. nerovnovážné stavy

na úrovni buněčných populací



K čemu jsou tkáňově specifické kmenové buňky obecně?

- 1) K zajištění homeostázy
- 2) K zajištění procesu hojení a regenerace

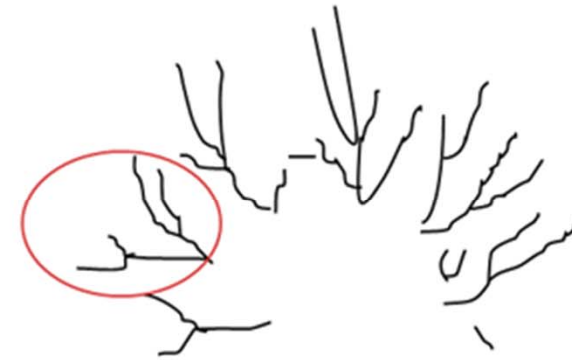
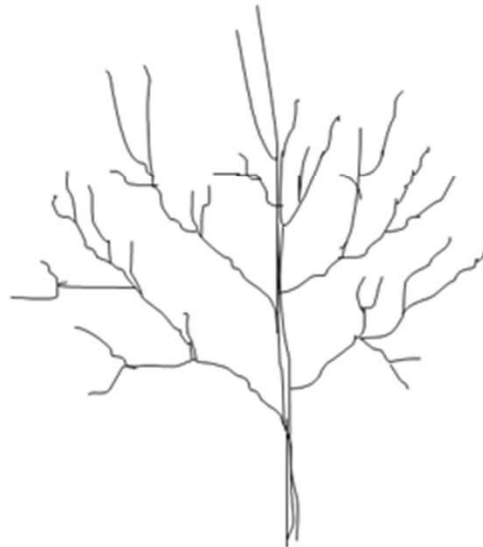
To je **zprostředkováno řadou regulátorů** rozdílné specifity působících v rámci systému **zpětných vazeb**

Polyklonální charakter kmenových buněk krvetvorby

Přirovnání kmenové buňky ke stromu

a – kmenová buňka v embryonální době

b – kmenová buňka v dospělosti



Pluripotentní, prekurzorové a diferencované k. buňky

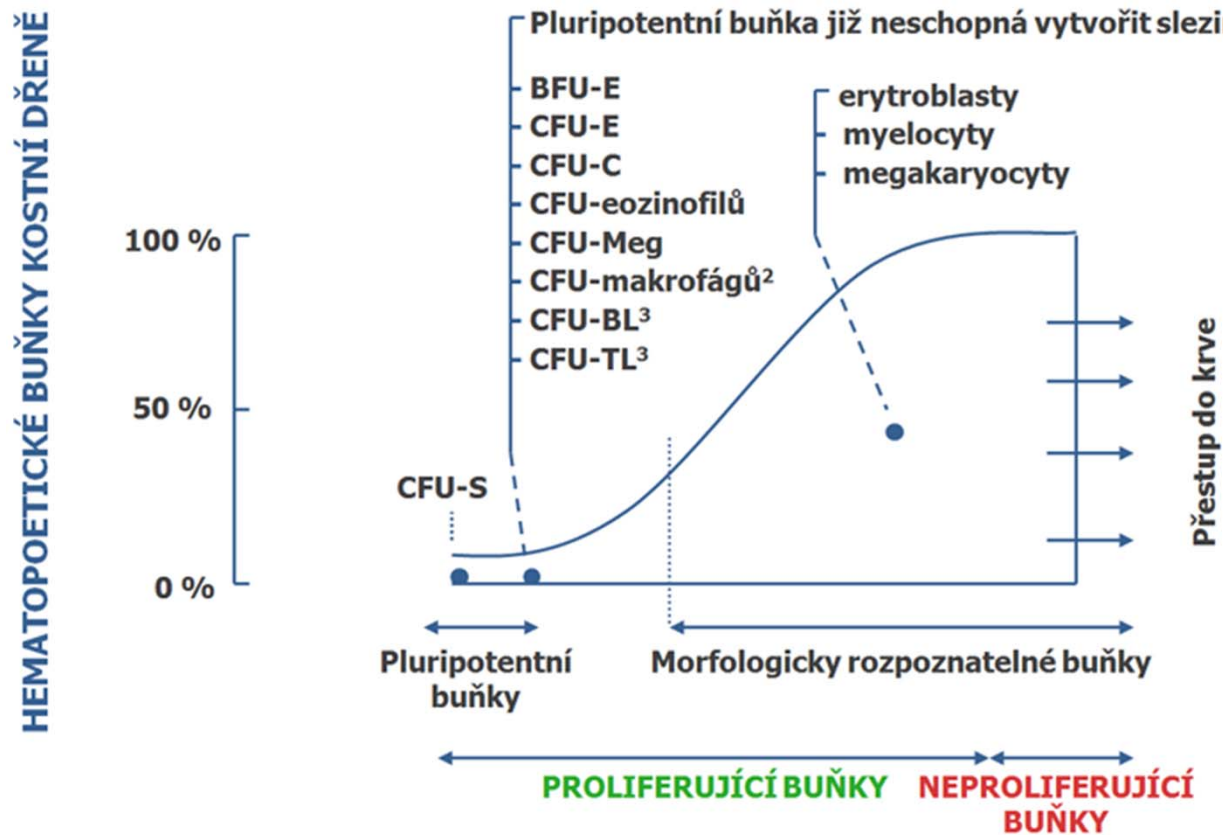


Schéma kvantitativního **zastoupení** různých prekurzorů krevních buněk v **krvetočné tkáni (%)**.

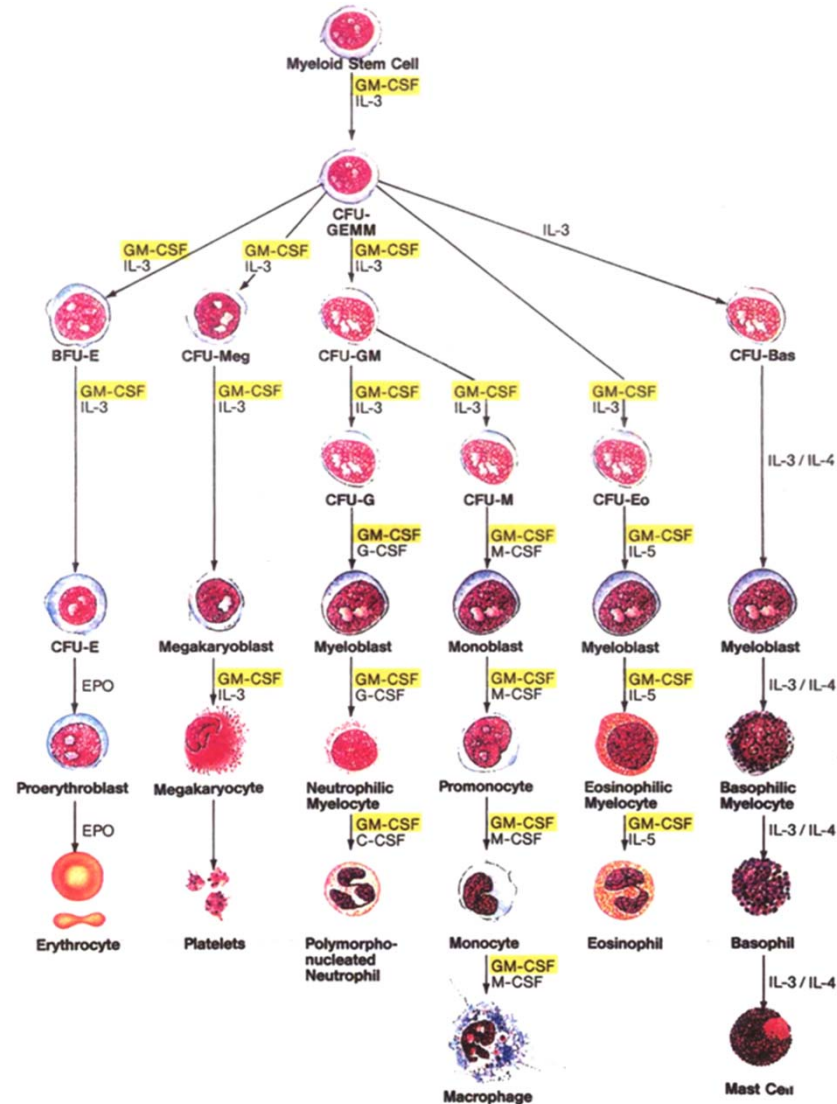
¹ Podle Gregorové a Henkelmana (1977)

² Podle MacVittieho a Provazníka (1978)

³ Nejsou odvozeny od CFU-S

Časně působící růstové faktory, které maximalizují

schopnost obrany postiženého organismu

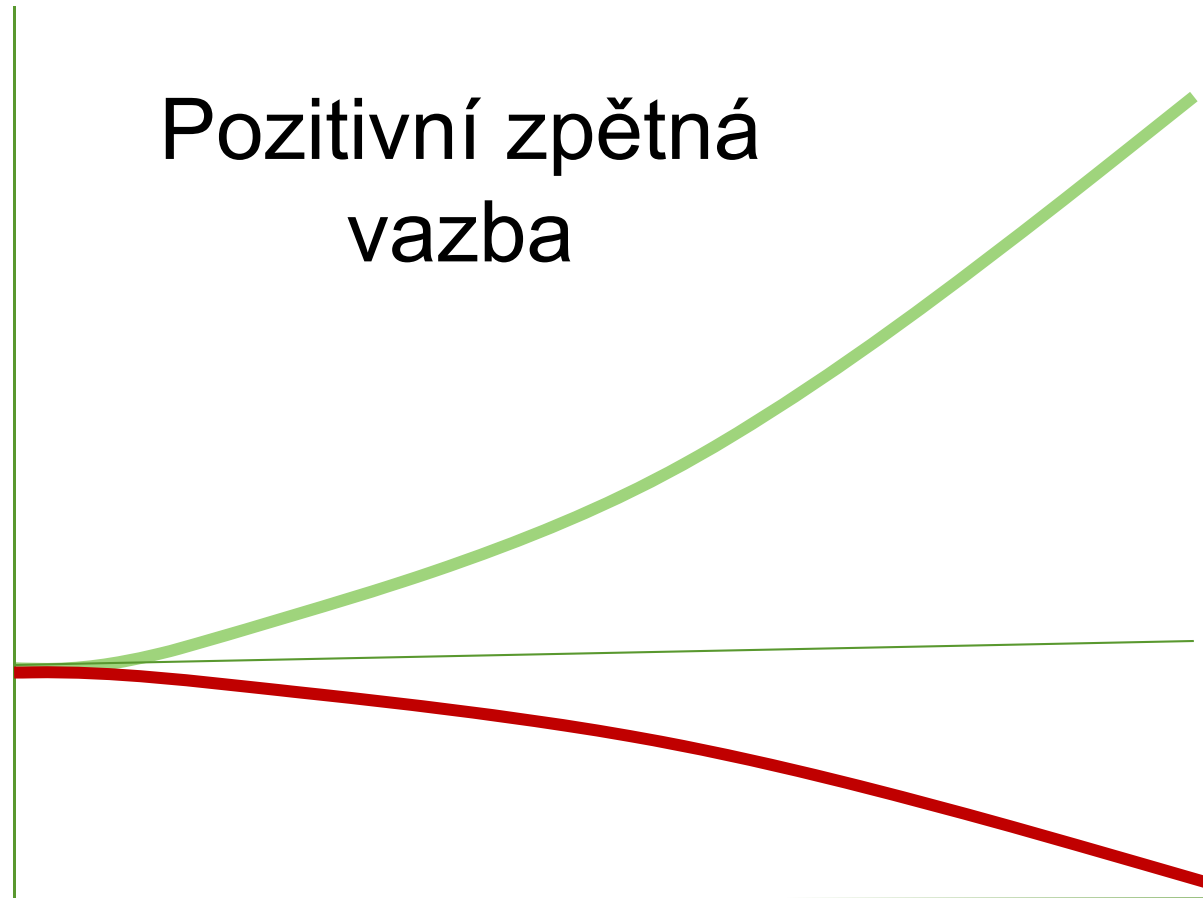


Zpětné vazby

Situace, kdy výstup nějakého systému ovlivňuje zpětně jeho vstup.

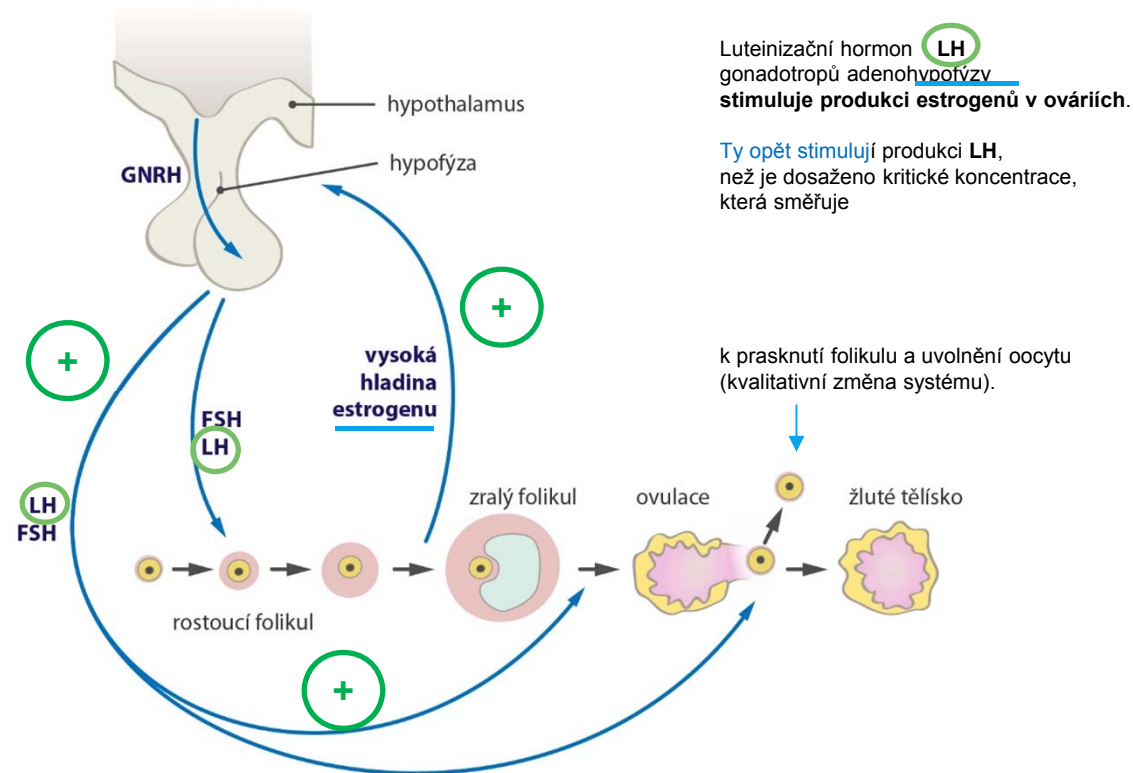
Negativní a pozitivní vazby působí často v systémech současně.

Pozitivní zpětná vazba



Pokud zvýšení hodnoty, přiváděné z výstupu na vstup, způsobí další zvýšení hodnoty na výstupu. Zesílení může být jak **stimulačně**, tak **inhibičně** působící signál.

Ovulace (klasický příklad pozitivní zpětné vazby)



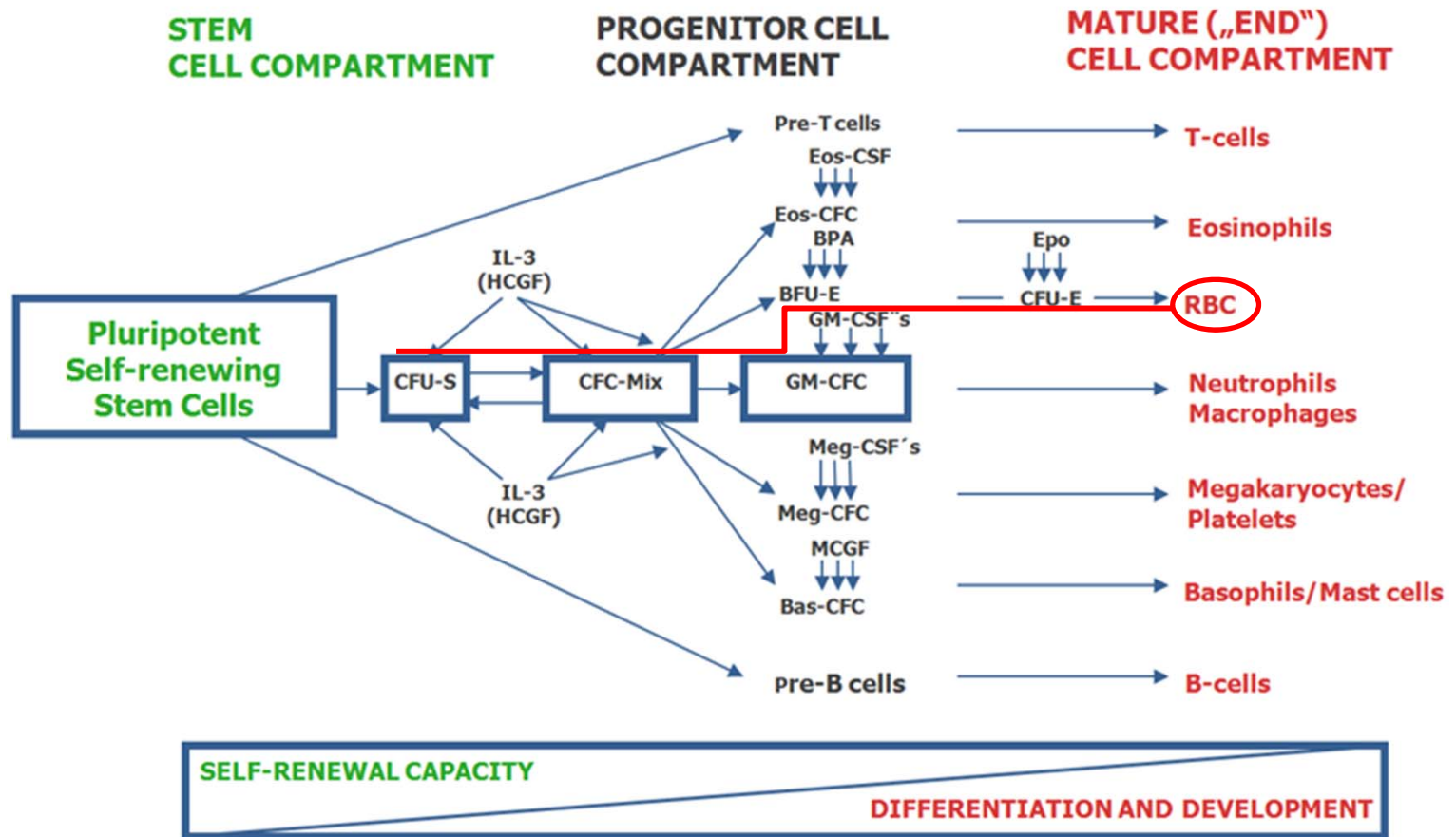
<http://fblt.cz/skripta/xi-regulacni-mechanismy-1-endokrinni-regulace/2-obecne-principy-endokrinni-regulace/>

Hematopoéza

Klíčový význam cytokinů,
růstových faktorů \oplus a inhibitorů \ominus „růstu“
v regulaci **hematopoézy** (cytokinetiky)

Působení růstových a diferenciačních faktorů

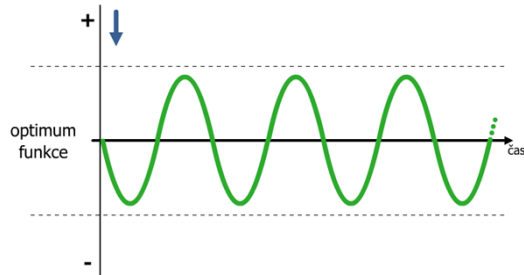
T.M.Dexter and M.Moore



Příklad zesílení signálu vedoucího ke zralým erytrocytům (RBC)

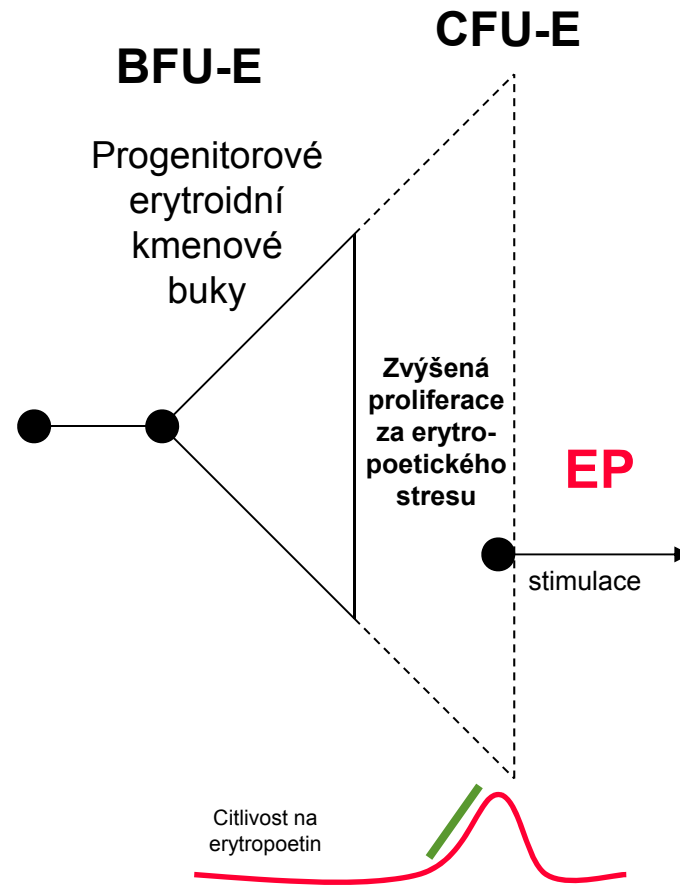
Signalizace indukovaná zpětnovazebnými signály (reakce na nedostatek kyslíku, málo červených krvinek)

Regulace směřuje k optimu, konstantnímu počtu buněk v krvi (**zapojení negativní zpětné vazby** na úrovni organismu)



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.

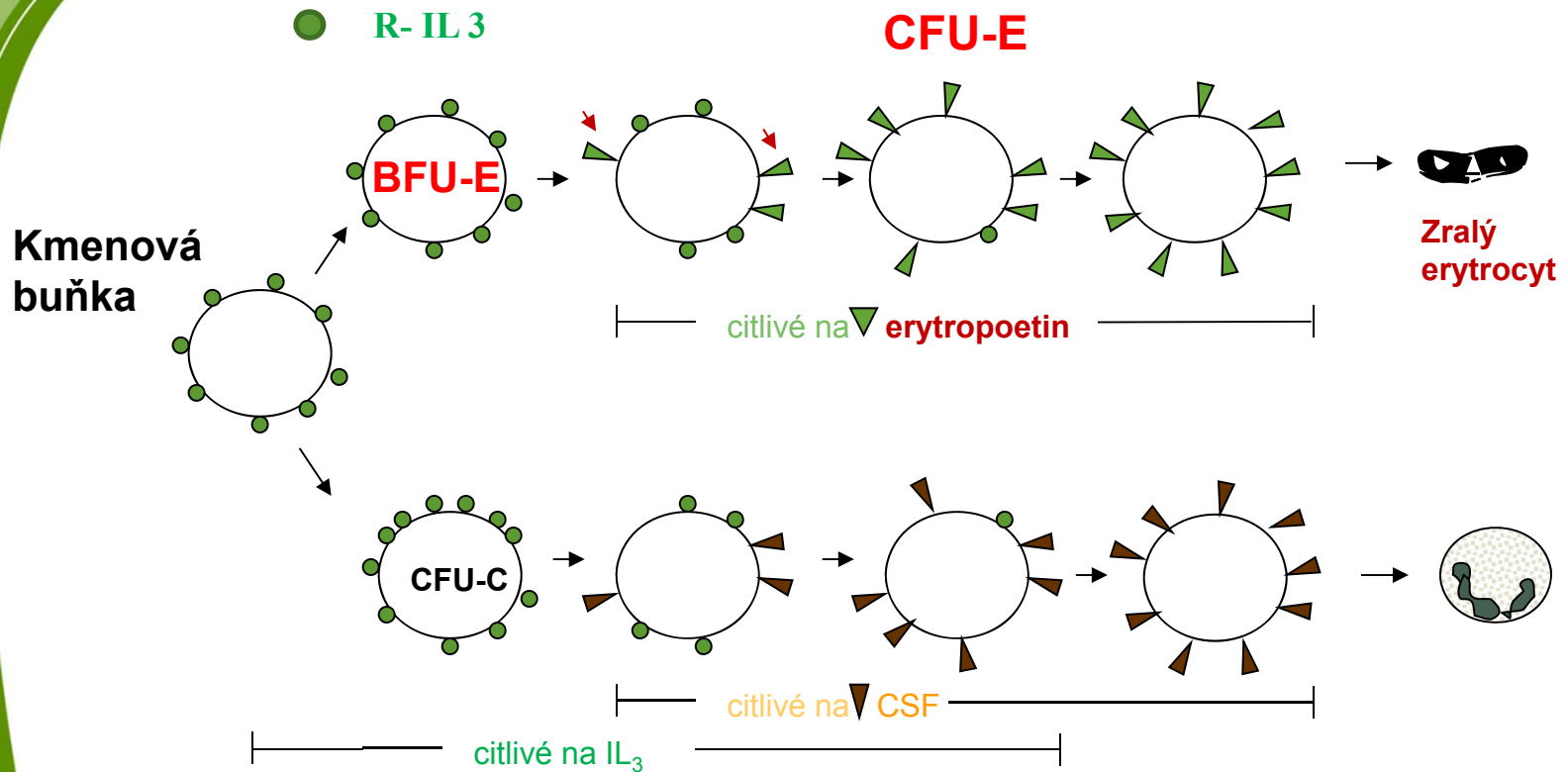
S využitím dat podle Schofielda a Lajthy (1977).



Aktivace erythropoézy
(zahrnuje i pozitivní zpětnovazebnou složku)

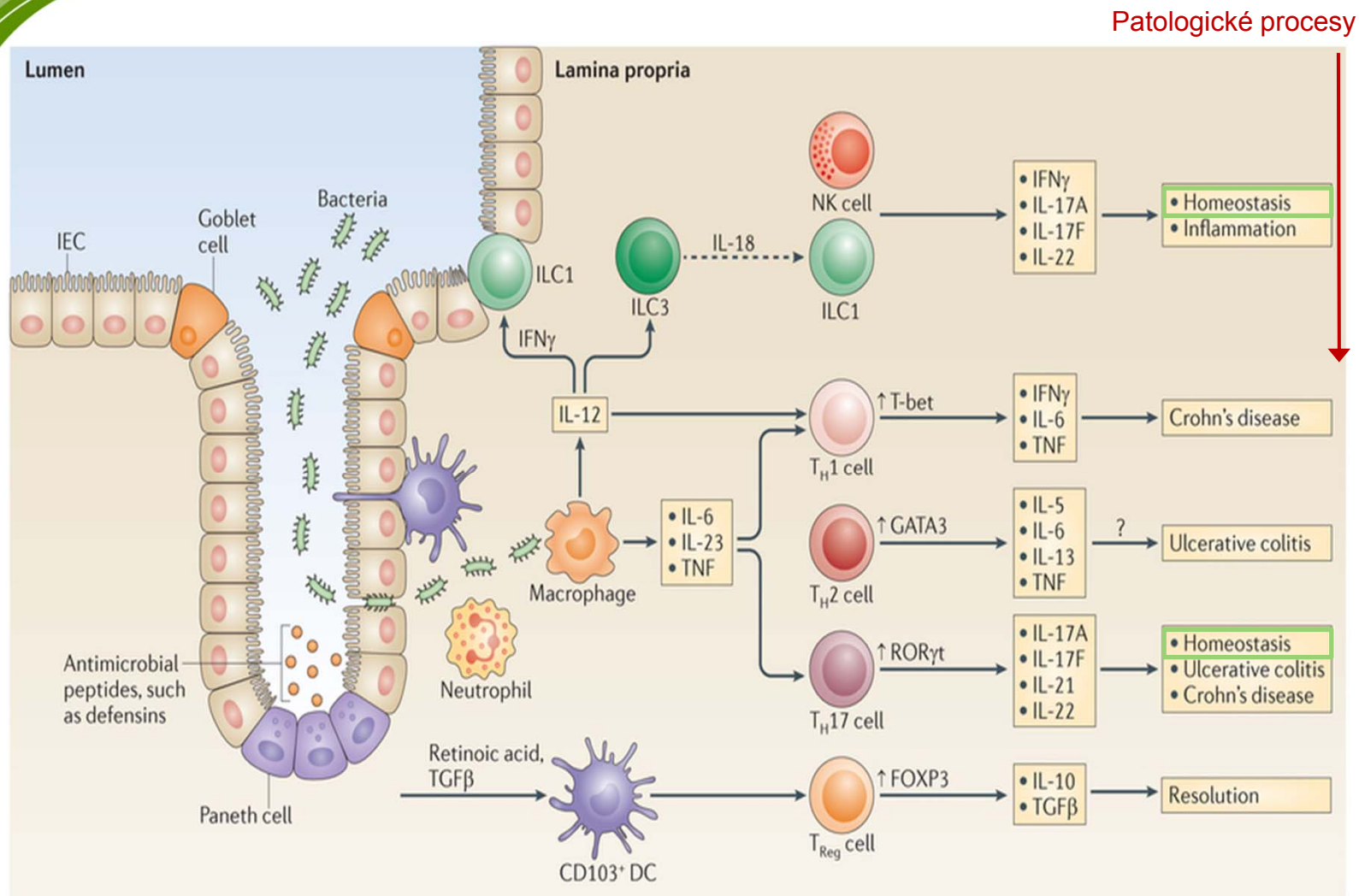
odpověď při nadbytku kyslíku

Model humorálního řízení hematopoézy



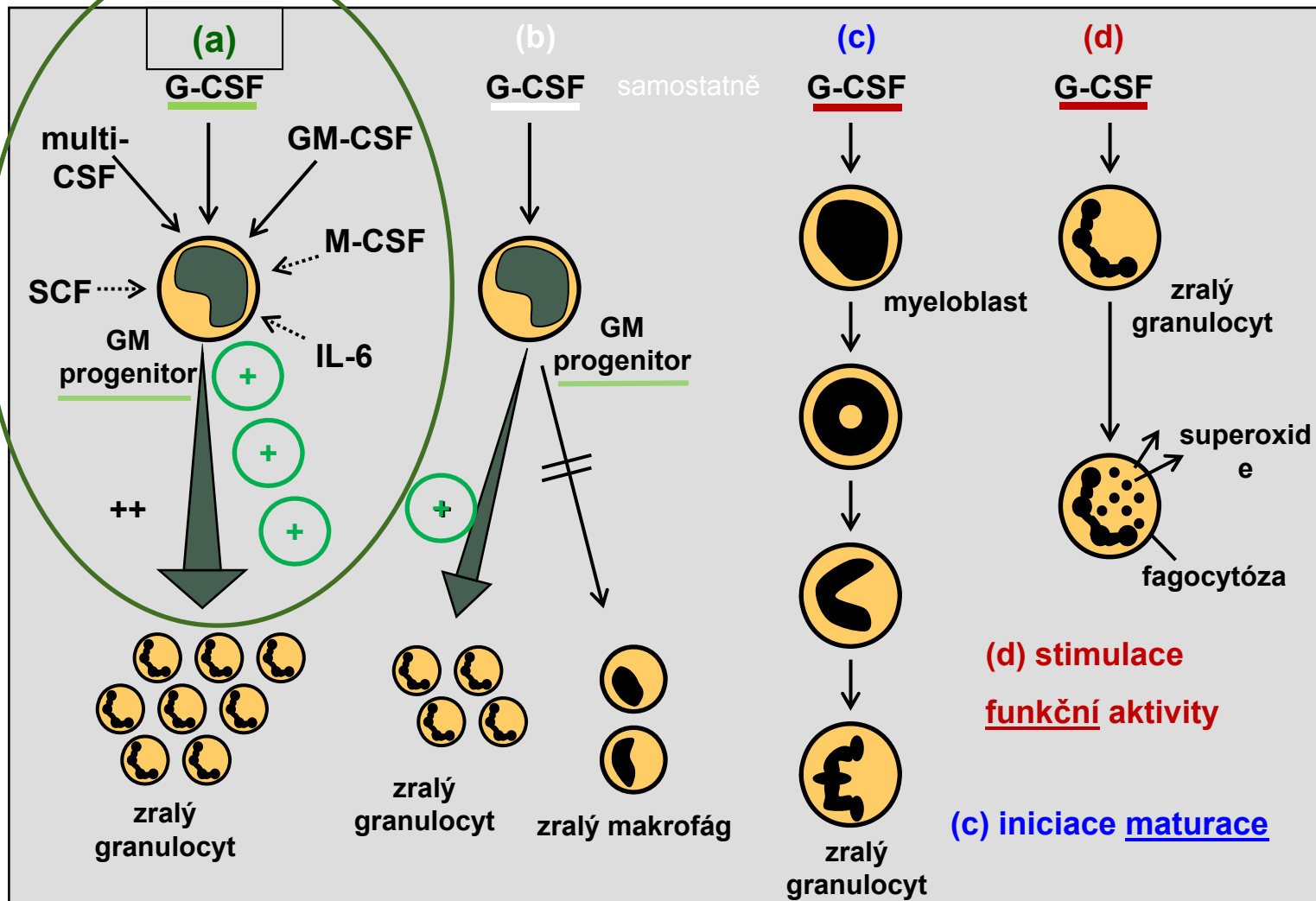
Nejnezralejší buňky obsahují receptory citlivé k faktorům nezávislým na diferenciaci (●) jednotlivých řad, jako je IL₃. Při maturaci se postupně tyto receptory ztrácejí a objevují se specifické receptory pro humorální faktory jednotlivých řad [pro erythropoetin (▼) a pro CSF (▼)]. Podle Iscova (1978)

Cytokiny/interleukiny ve střevních onemocněních a zánětu (příklad **síťového** spolupůsobení):



Nature Reviews | Immunology

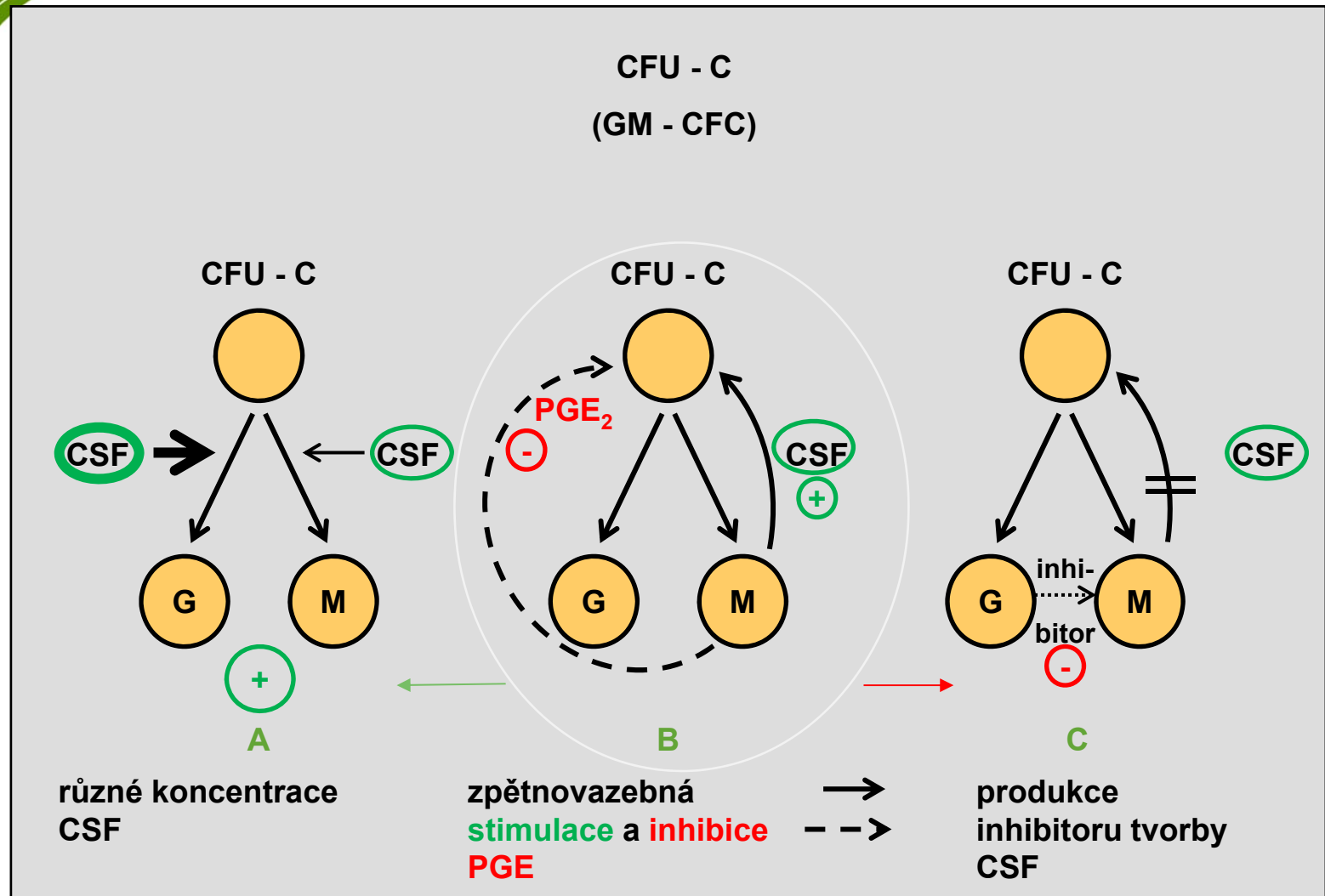
Cytokiny jsou polyfunkční – příklad zesílení signálu (+)



(a)

Působení na granulopoézu (produkce granulocytů je závislé na stimulaci odvislé od dostupnosti a koncentrace specifických regulátorů v prostředí).

Autoregulace uvnitř systému granulocytů - makrofágů



G - granulocyty M - makrofágy

Dílčí závěr

Specifické regulátory „cytokinetiky“

- spolupůsobí v regulačních **sítích**
- **v konkrétním prostoru** (kompartmentu) a **čase**.
- Výsledný celkový **efekt** je **závislý na** jejich **dostupnosti a koncentraci**.
- Charakteristická pro ně je vysoká účinnost (působí už ve velmi malých koncentracích).

„Atraktorová koncepce“ pro popis buněčných stavů a rozdílné úrovně variability

Fyziologie buň. systémů

Modelové přiblížení chování složitých systémů

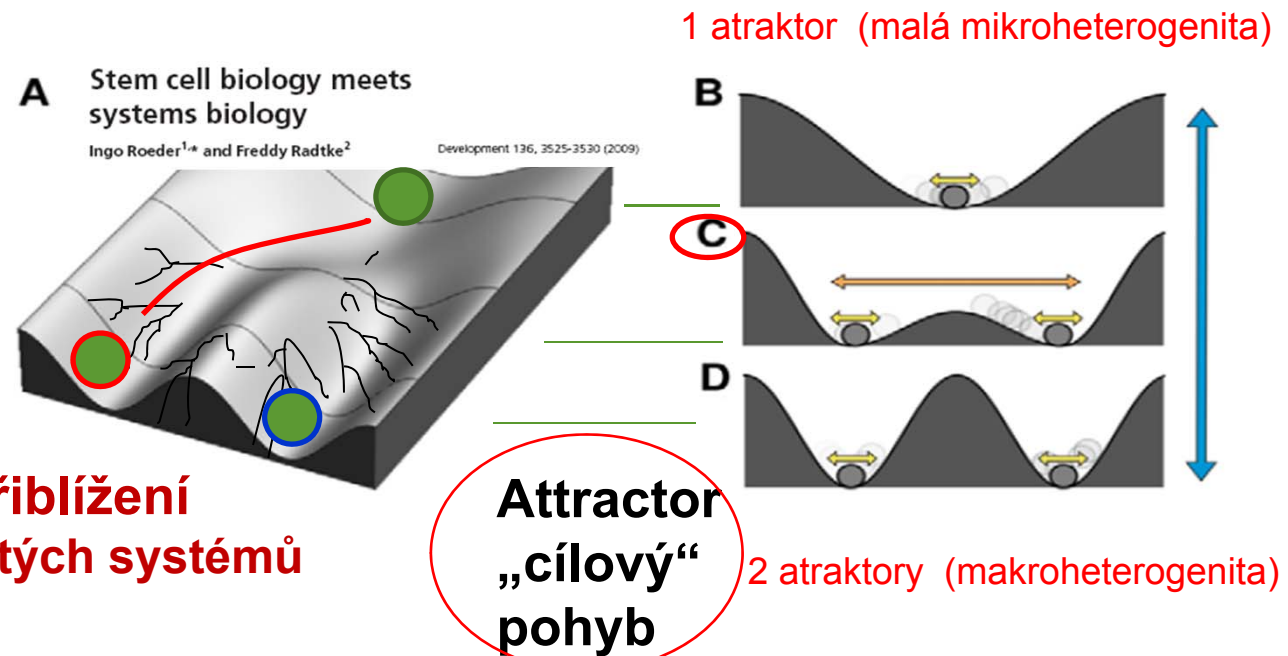


Fig. 1. Attractor concept for the description of cellular states and different levels of variability. (A) A three-dimensional illustration of an attractor landscape. The valleys represent stable stationary states (i.e. attractors) generated by a hypothetical regulatory network. Depending on the particular configuration of the network (e.g. different parameter values, such as transcription or decay rates), a different number and/or different qualities of attractors are possible. (B-D) Selected attractor configurations (i.e. cross-sections of the given landscape) with corresponding variance components. (B) A single attractor, characterised by a small degree of potential fluctuations in cellular characteristics within the attractor ('microheterogeneity'). (C) Two accessible attractors. This configuration allows for heterogeneity within attractors and for potential exchange between the attractors ('macroheterogeneity'). (D) Two separated attractors. Cells are trapped in one of the two possible attractors and cannot exchange between them. However, a third level of heterogeneity (illustrated by the blue arrow) corresponds to potential changes in the attractor landscape itself. This can be achieved by changes in the configuration (e.g. the parameter values) of the network, even without changing the structure/topology of the network.

Jak lze postihnout zákonitosti ➔ „deterministického chaosu“?

Systémy, které vykazují deterministický chaos, jsou v jistém smyslu **složitě uspořádané**.

Pozn.: V matematice a fyzice je význam termínu v jistém nesouladu s obvyklým chápáním slova chaos jako totálního zmatku či nepořádku (nezaměňovat).

Chaotický pohyb

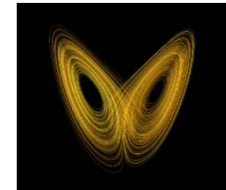
Abychom mohli klasifikovat chování systému jako chaotické musí být *citlivý na počáteční podmínky*.

Musí být dále topologicky tranzitní
jeho periodické **orbity** musí být husté



Vizualizace chaotického pohybu

Jedním ze způsobů vizualizace chaotického pohybu, nebo libovolného typu pohybu, je vytvoření **fázového diagramu pohybu**.



(orbity)

Lze vyjádřit např. pozicí kyvadla vůči jeho rychlosti.
Kyvadlo v klidu bude zobrazeno jako **bod**
a kyvadlo v periodickém pohybu
bude **zobrazeno jako jednoduchá uzavřená křivka.**

Když graf vytváří, **uzavřenou křivku, křivka se nazývá **orbíta**.**

„Atraktory“ a deterministický chaos

Lorenzův atraktor popisuje pohyb systému ve stavovém prostoru.

V matematice a fyzice se **teorie chaosu** zabývá chováním určitých nelineárních dynamických systémů, které (za jistých podmínek) vykazují jev známý jako **deterministický chaos** nejvýznamněji **charakterizovaný citlivostí na počáteční podmínky** (viz dále motýlí efekt).

Malá změna v počátečních podmínkách vede po čase *k* závažným důsledkům.

Díky této citlivosti se chování těchto fyzikálních systémů, vykazujících chaos, jeví jako náhodné, i když **model systému je deterministický** v tom smyslu, že je dobře definovaný a neobsahuje žádné náhodné parametry.

Příklady: atmosféra, solární systém, tektonika zemských desek, turbulence tekutin, ekonomie, vývoj populace atd..

Efekt „motýlích křídel“

Citlivost k počátečním podmínkám znamená, že **dvě blízké trajektorie** ve fázovém prostoru se s rostoucím časem **rozbíhají (exponenciálně)**.

Systém se chová identicky pouze tehdy, když jeho počáteční konfigurace je úplně stejná. Již při malých diferencích toto neplatí.

*Příkladem takové citlivosti je tzv. které ale v průběhu času mohou vést až k tak dramatickým změnám, jako jsou **tornáda**.*

Mávnutí křídel motýla zde představuje malou změnu počátečních podmínek systému, která ale způsobí řetěz událostí vedoucí k rozsáhlým důsledkům (viz tornádo),

Kdyby „motýl nemávnul svými křídly“, trajektorie systému by mohla být zcela odlišná.

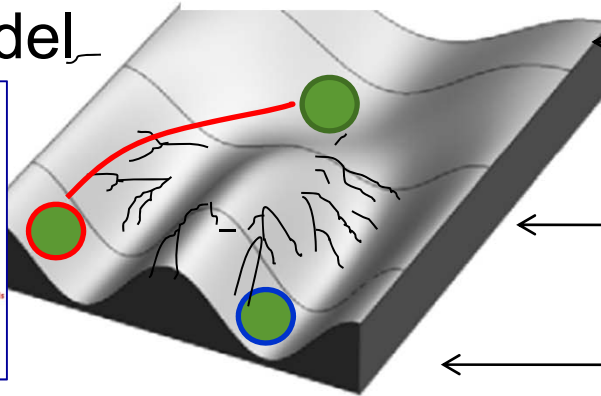
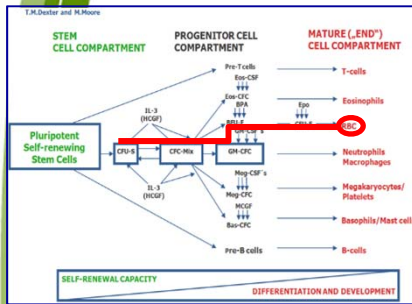
Zpětnovazebná „determinace“ ve složitých systémech

Stem cell biology meets systems biology

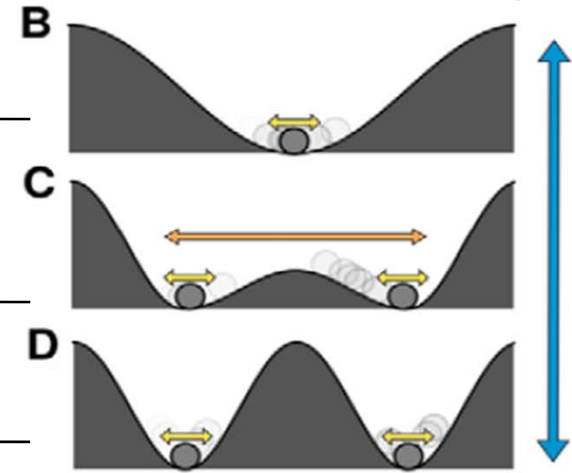
Ingo Roeder^{1*} and Freddy Radtke²

Development 136, 3525-3530 (2009)

3D model



1 atraktor (malá mikroheterogenita)

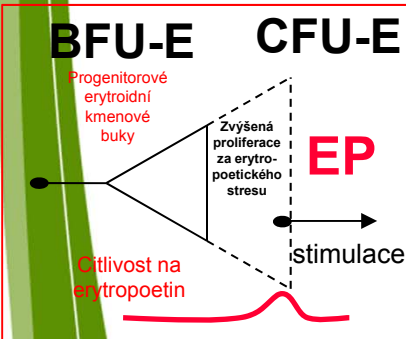


2 oddělené atraktory

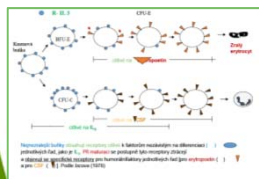


Attraktor „cílový“ pohyb

Většina stavových trajektorií (dráh hmotného bodu) se přibližuje a „obmotává“ nějakou obecnou limitu.



Systém končí ve stejném pohybu pro všechny počáteční stavy v oblasti okolo tohoto pohybu, téměř jako by byl systém k tomuto pohybu (trajektorii fázového prostoru) přitahován (anglicky 'attracted').



Konečný výsledek s odvíjí od zastoupení jednotlivých komponent v systému. Od určité kombinace dějů v systému se situace stává do té míry **determinovanou**, že pro něj existuje pouze jediná možnost – dospět k „cílovému“, „konečnému stavu“ (např. terminálně diferencovaným buňkám).

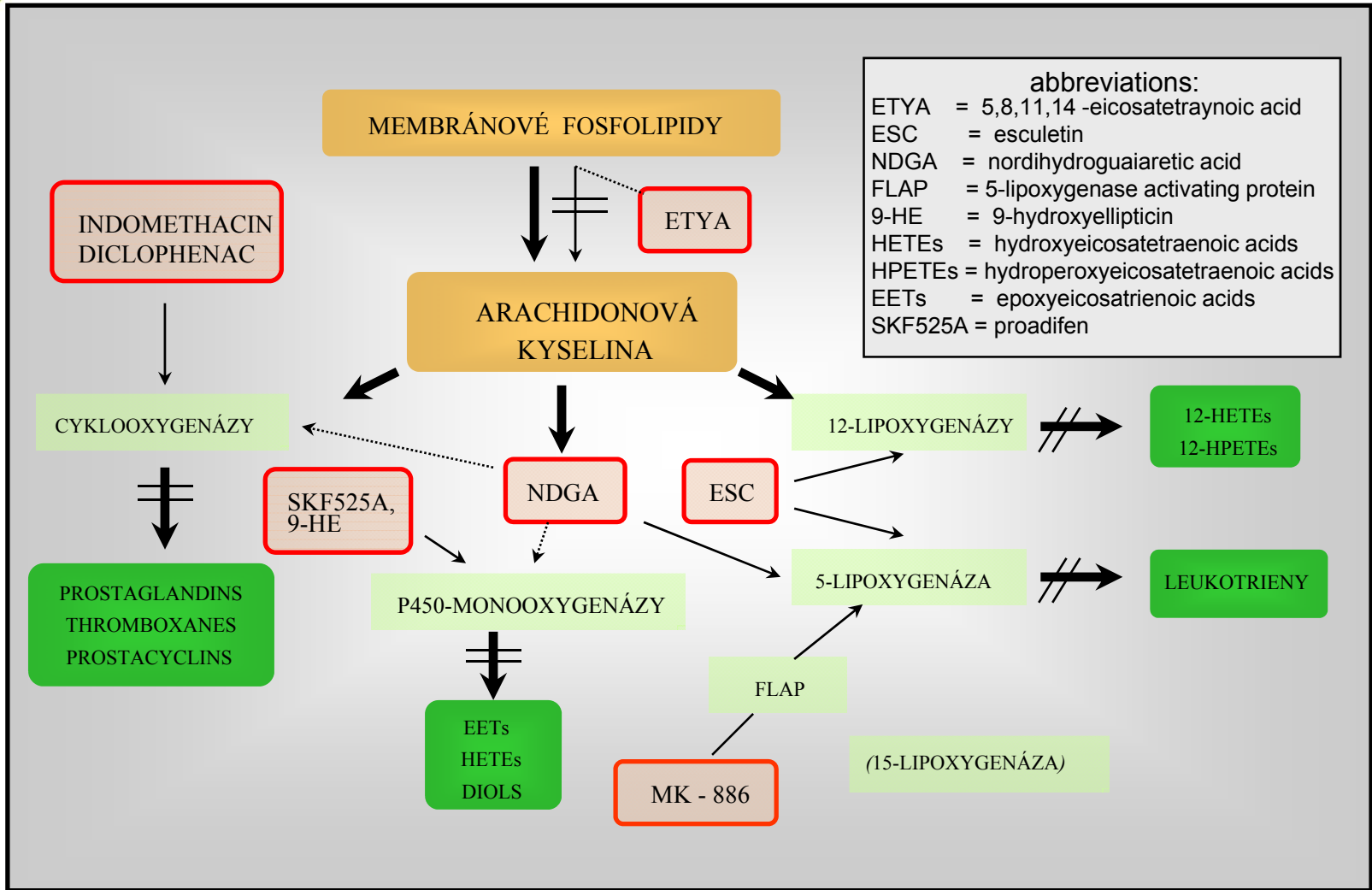
Efekty PUFAs a inhibitorů metabolismu AA



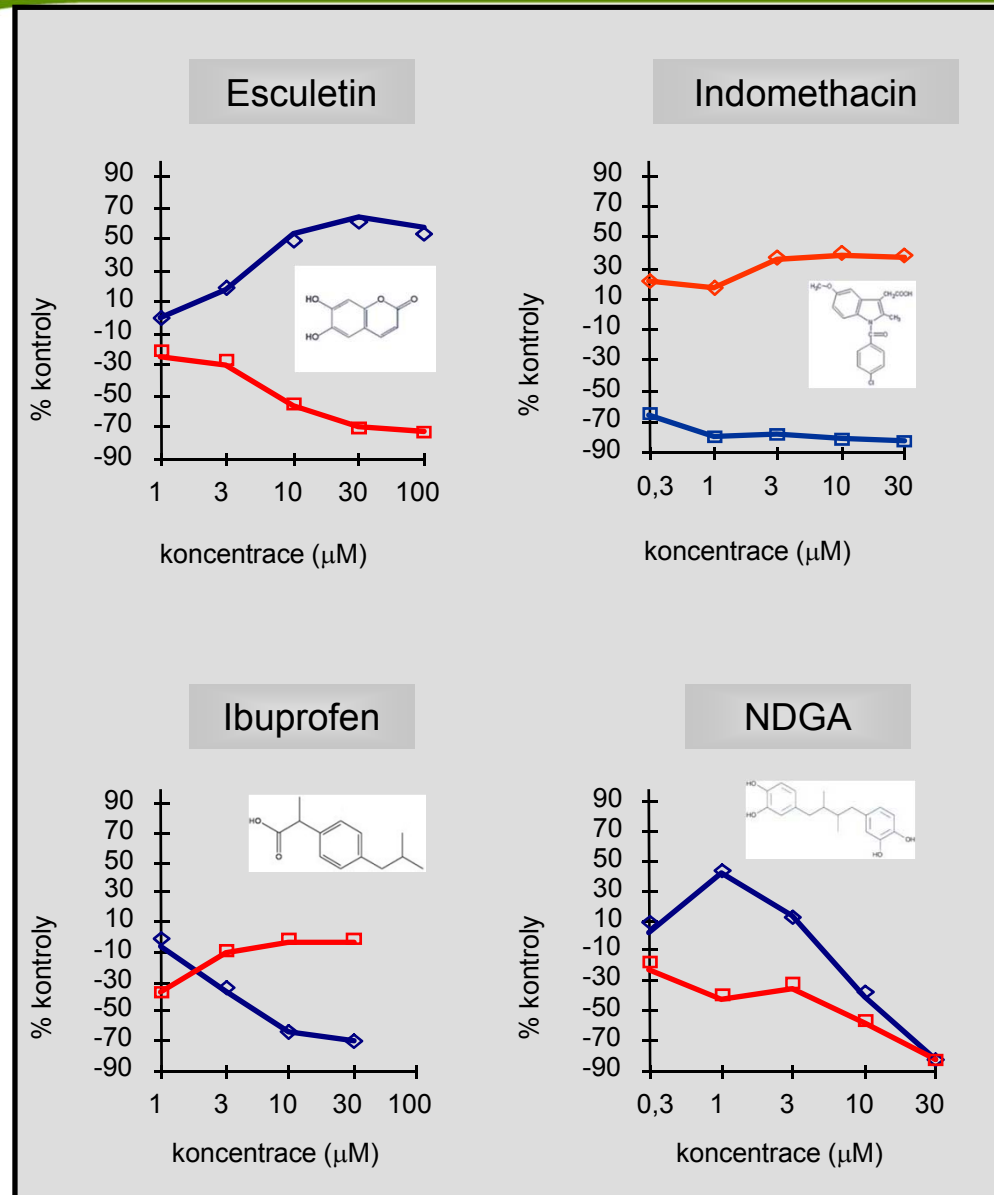
Význam rovnováhy
v přísunu prekurzorových PUFAs
a
v produkci jednotlivých jejich metabolitů

Vysoce nenasycené mastné kyseliny (VNMK = PUFAs),
kyselina arachidonová – (AA)

Kyselina arachidonová: hlavní metabolické dráhy a možné způsoby ovlivnění

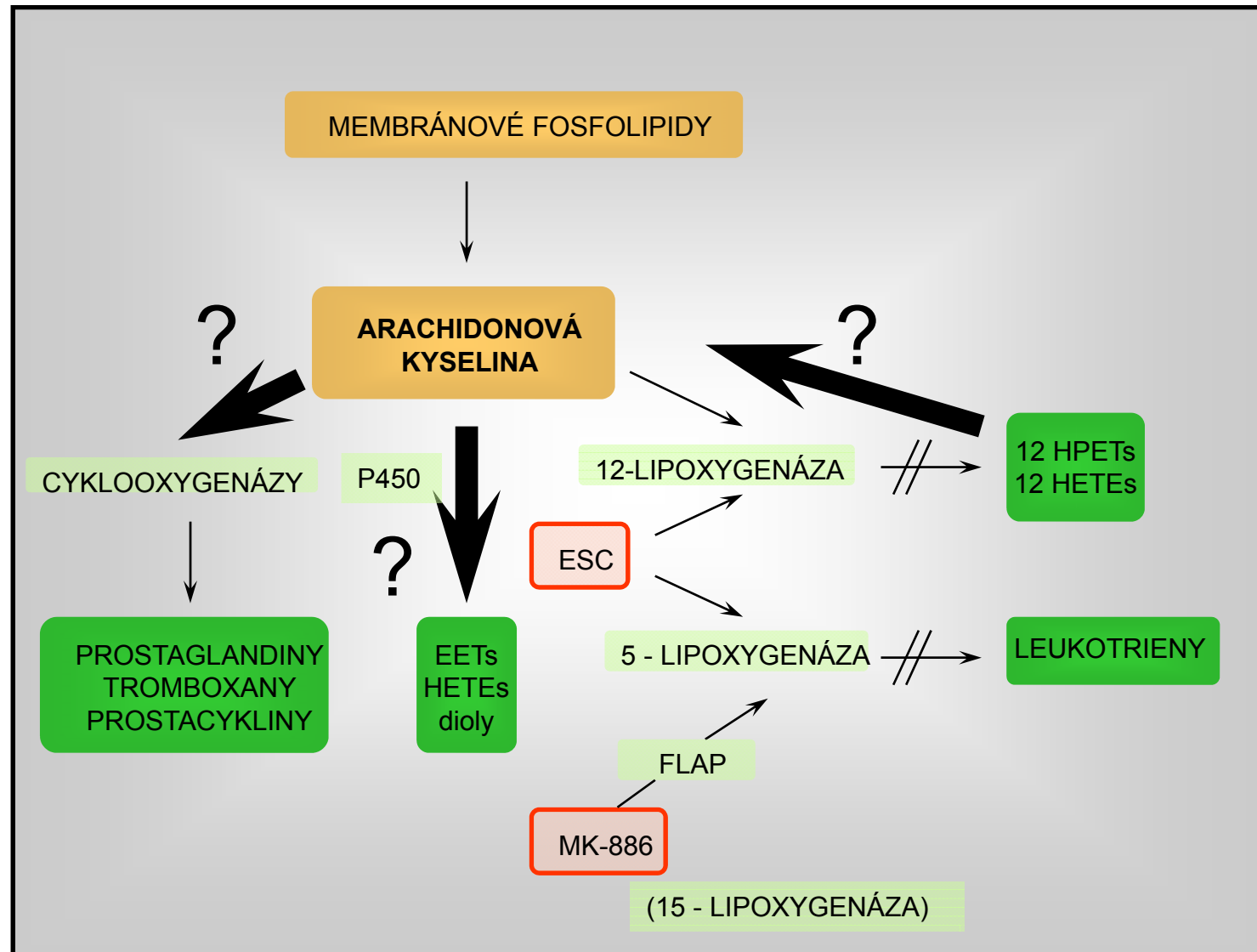


Koncentračně závislé **změny produkce** eikosanoidů po působení vybraných inhibitorů jejich biosyntézy u myši



PRODUKTY
LIPOXYGENÁZ
 (červeně)
CYKLOOXYGENÁZ
 (modře)

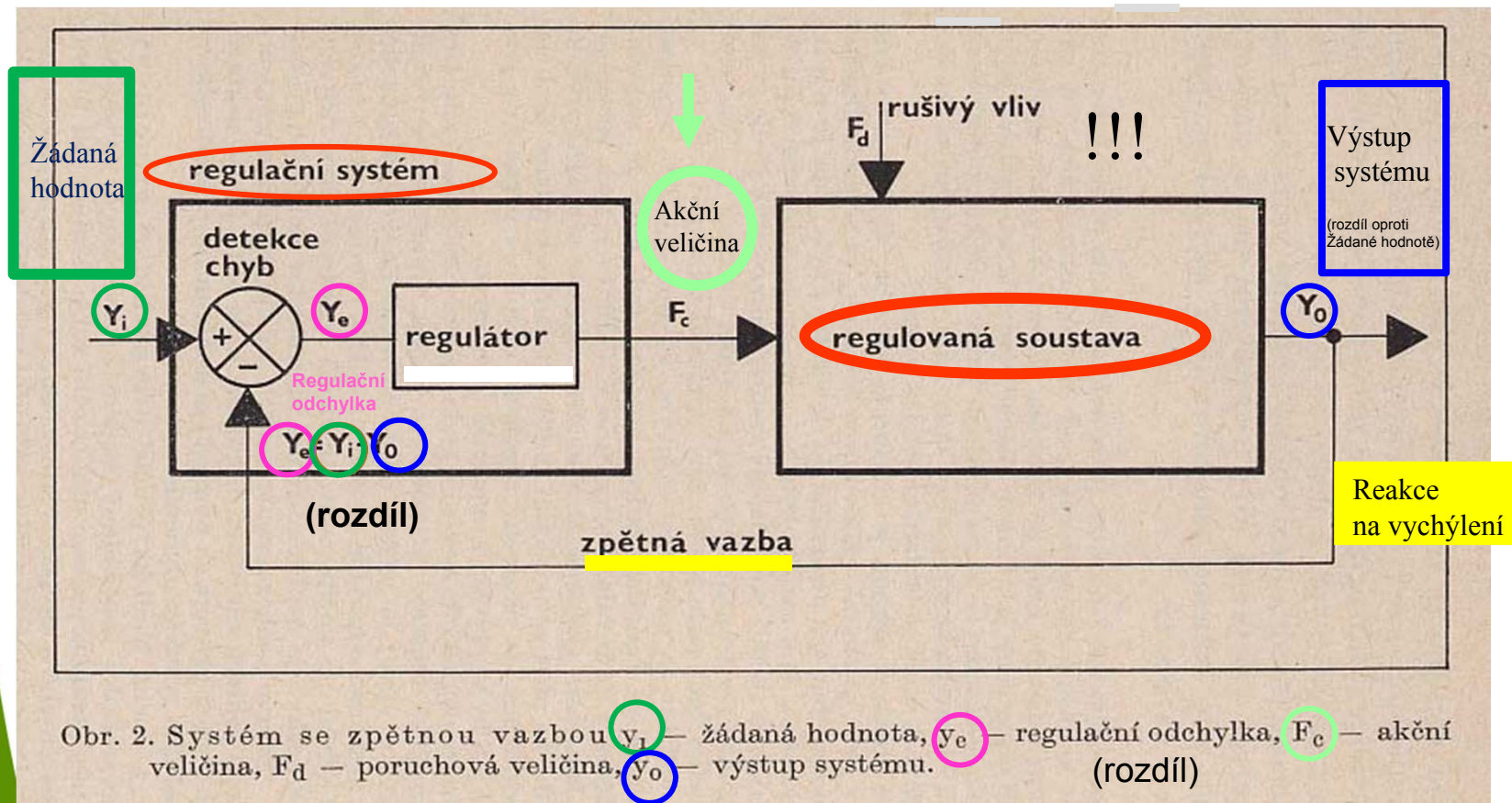
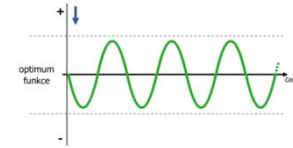
Význam rovnováhy
v přísunu prekursorových PUFAs
a
v produkci jednotlivých jejich metabolitů



Negativní zpětná vazba

zvýšení hodnoty,
přiváděné **z výstupu** na **vstup**,
způsobí
snížení hodnoty na **výstupu**,

Negativní zpětná vazba



Obr. 2. Systém se zpětnou vazbou y_i – žádaná hodnota, y_e – regulační odchylka, F_c – akční veličina, F_d – poruchová veličina, y_o – výstup systému. (rozdíl)

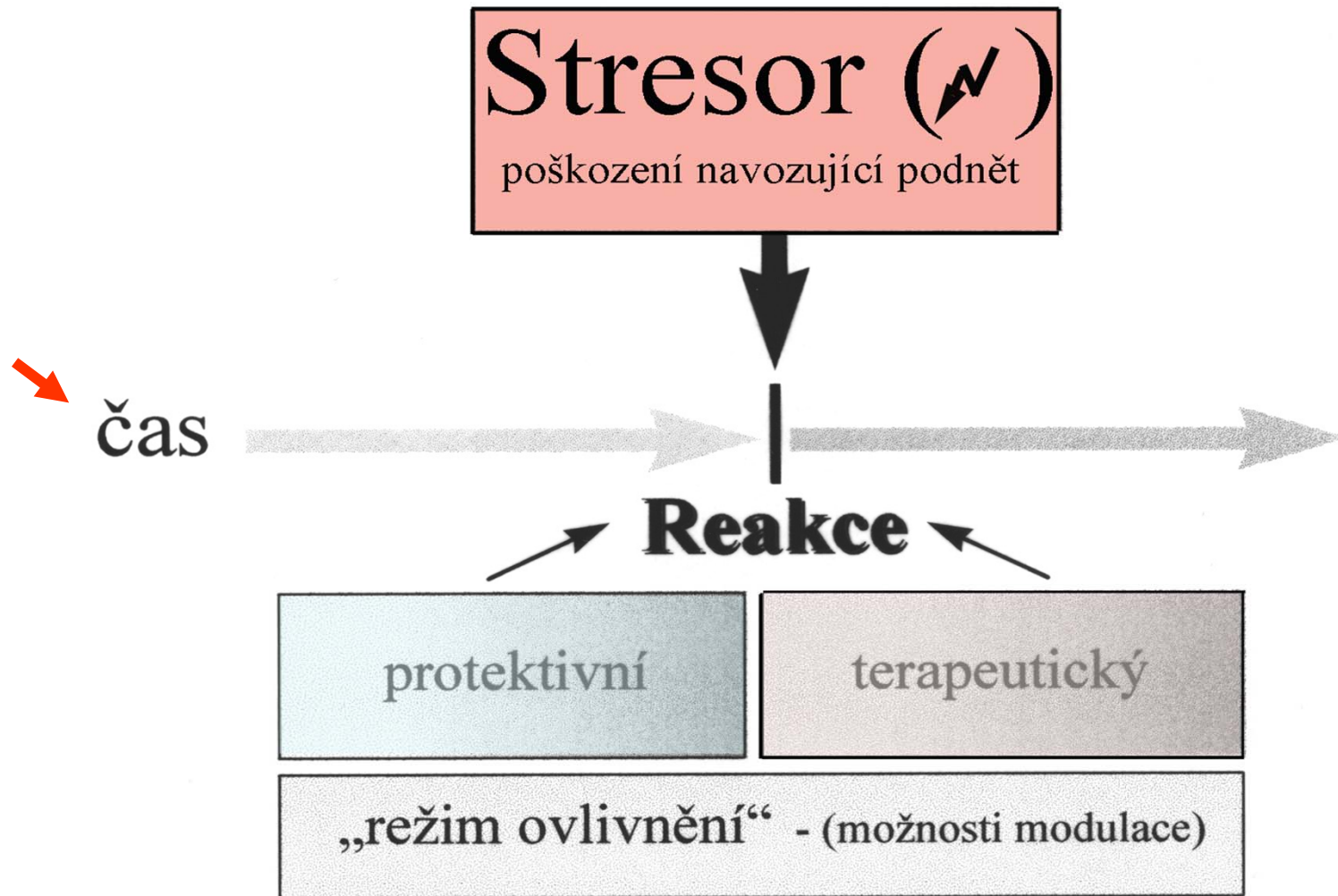
Zpětné vazby

Negativní zpětná vazba
na systémové úrovni
(tkáně a organismus)

Zpětné vazby:

Působení na vyšších úrovních
organizace systémů

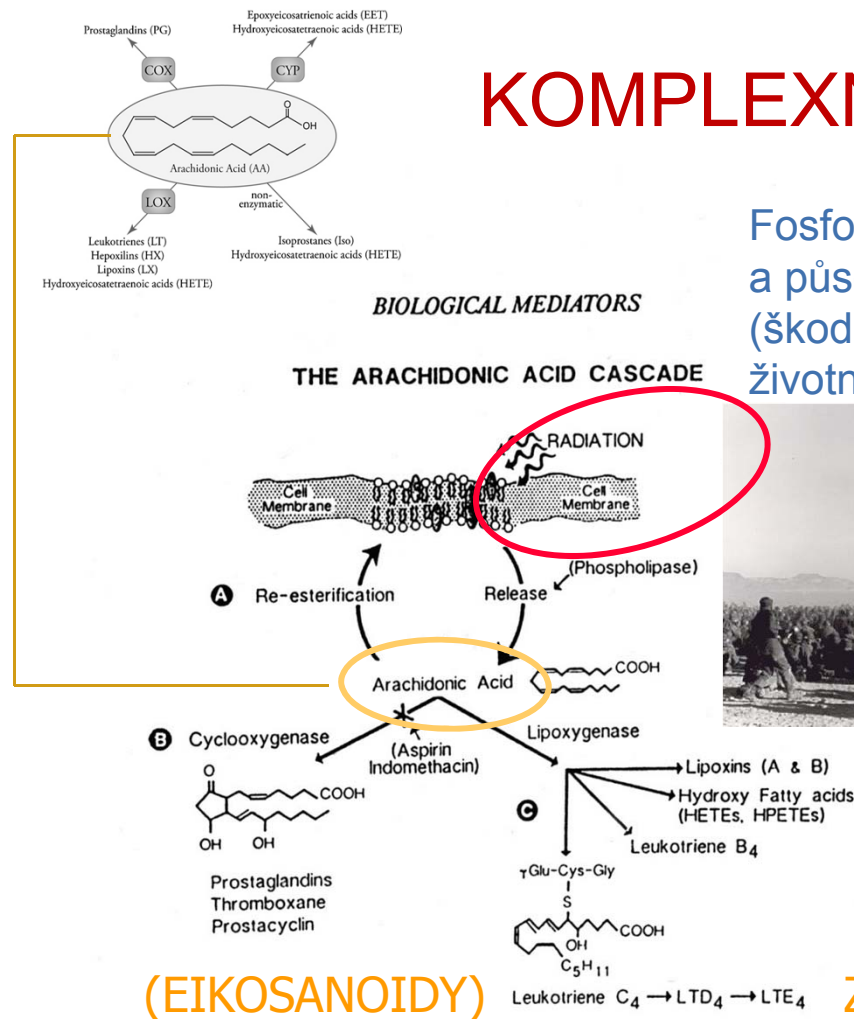
Využití předchozích poznatků



Eikosanoidy po ozáření

KOMPLEXNÍ ODPOVĚĎ

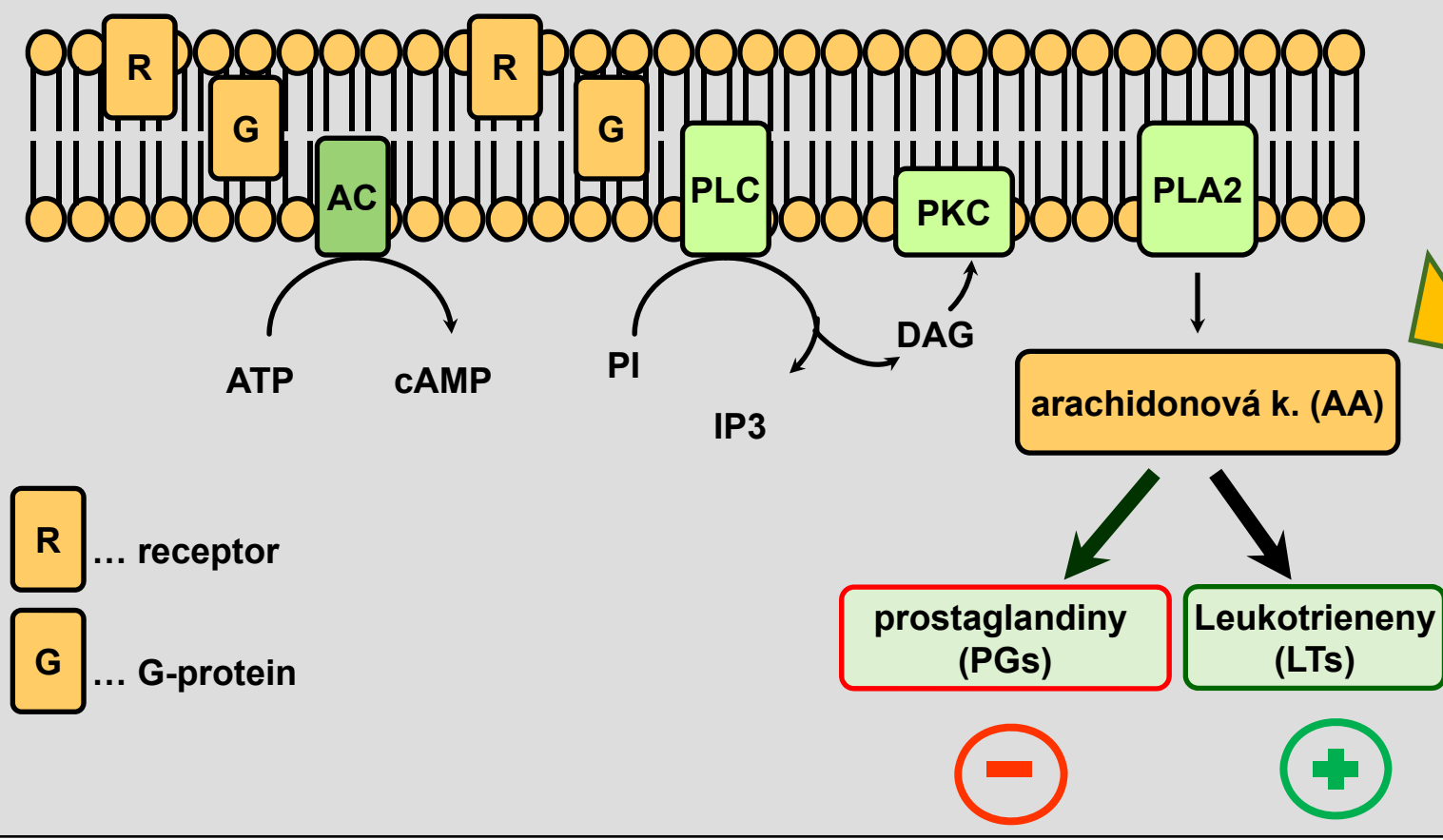
Fosfolipidový metabolismus a působení ionizujícího záření (škodlivých faktorů životního prostředí)



Záněť, karcinogeneze

Působení eikosanoidů v hematopoetickém systému se zapojením fosfolipidových metabolitů

V hematopoéze mají Leukotrieny pozitivní (+) a Prostaglandiny řady E negativní (-) vliv na proliferaci.



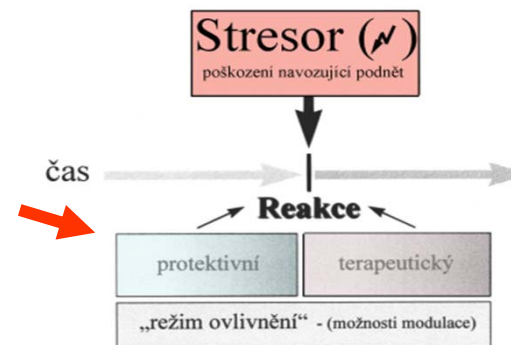
Aplikace NDGA „protektivním režimem“

Experimental Hematology 21:138–142 (1993)
 © 1993 International Society for Experimental Hematology

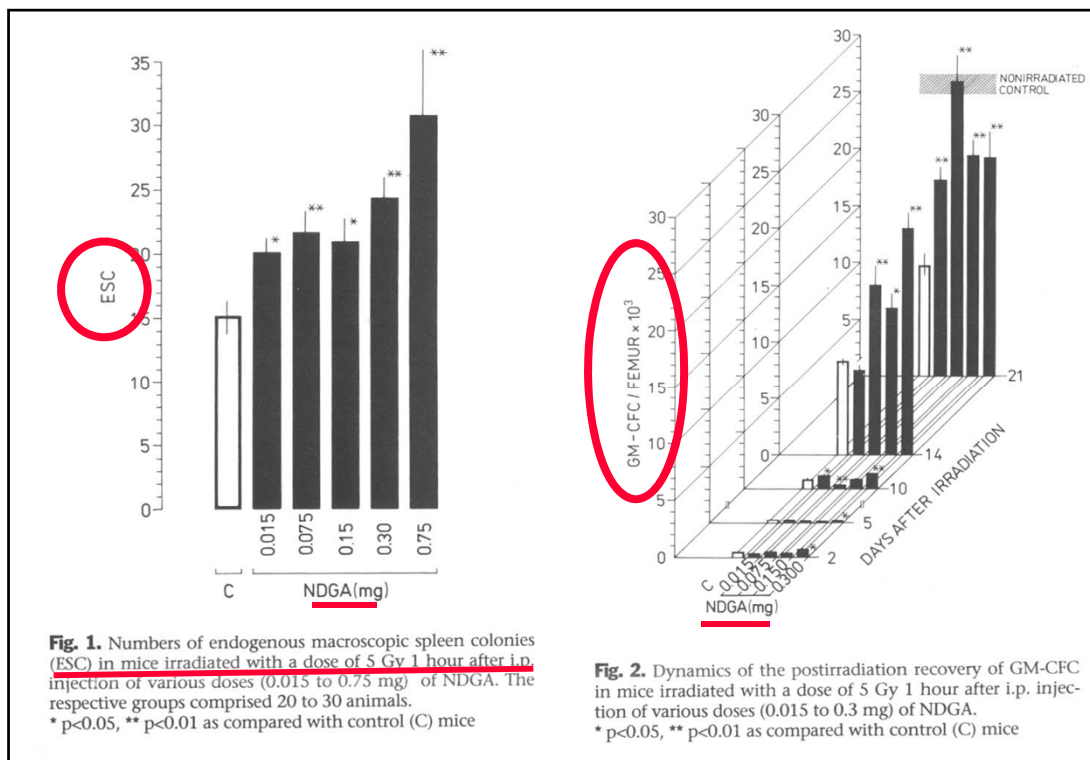
The effect of nordihydroguaiaretic acid, an inhibitor of prostaglandin and leukotriene biosynthesis, on hematopoiesis of gamma-irradiated mice

Alois Kozubík, Jirina Hofmanová, Jirina Holá, Jaromíra Netkivá

Experimental Hematology



Dávkově závislé účinky na regeneraci ESC a GM-CFC



Inhibitor NDGA aplikovaný v **protektivním režimu** (před gama ozářením) inhibuje v uvedených koncentracích produkci Prostaglandinů (PG).

To se projeví zlepšenou úpravou kmenových (ESC) i progenitorových (GM-CFC) buněk krvetvorby po ozáření.

Efekt je závislý na koncentraci NDGA.

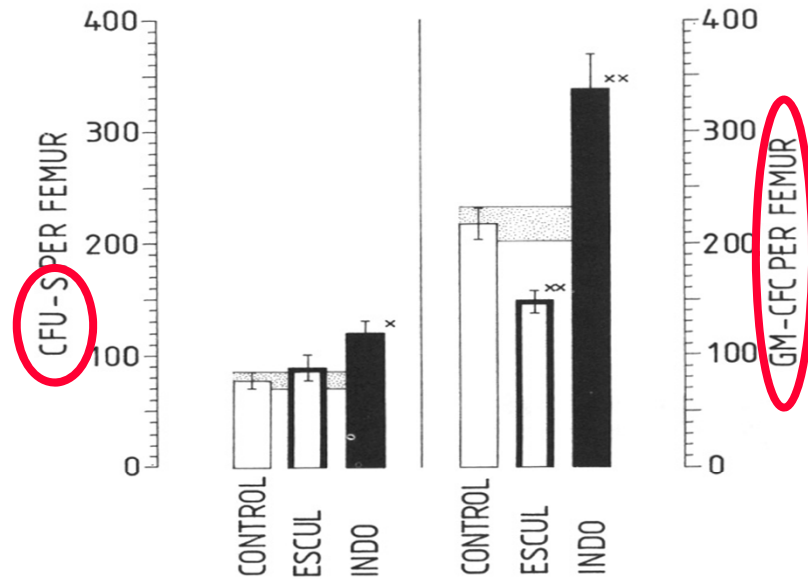
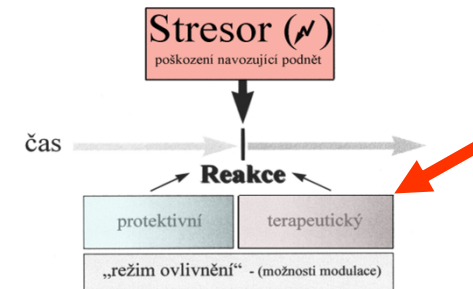


Figure 2. Mean ± SEM numbers of CFU-S and GM-CFC in the femoral bone marrow of the 8.5 Gv-irradiated and bone marrow-transplanted mouse determined on day 6 after transplantation. On days 3, 4 and 5 after transplantation mice were injected with indomethacin (INDO, 0.025 mg/mouse and dose) or esculetin (ESCUL, 0.0125 mg/mouse and dose), in two daily doses (a total of six injections were administered). Control mice (open columns and dotted areas) were treated in the same way with the vehicle. Two independent experiments were performed and the data were pooled. Twelve mice per group were used. Statistical significance: x, $p < 0.05$; and xx, $p < 0.01$ as compared with controls.

Příklad aplikace inhibitorů metabolismu AA v terapeutickém režimu



INT. J. RADIAT. BIOL., 1994, VOL. 65, NO. 3, 369-377

Effects of drugs inhibiting prostaglandin or leukotriene biosynthesis on postirradiation haematopoiesis in mouse

A. KOZUBÍK*, J. HOFMANOVÁ, M. POSPÍŠIL, J. NETIKOVÁ, J. HOLÁ and A. LOJJEK

(Received 21 May 1993; revised 21 August 1993; accepted 15 October 1993)

Závěr: Inhibičními zásahy do metabolismu AA (v protektivním i terapeutickém režimu aplikace), lze modulovat regeneraci kmenových buněk krvetvorby po ozáření.

V použitých koncentracích a pokusných uspořádáních inhibitory biosyntézy PG (NDGA a Indomethacin - INDO) regeneraci posilují, inhibitory leukotrienů (ESCUL) zhoršují.

Dynamika odpovědi (úpravy) v periferní krvi

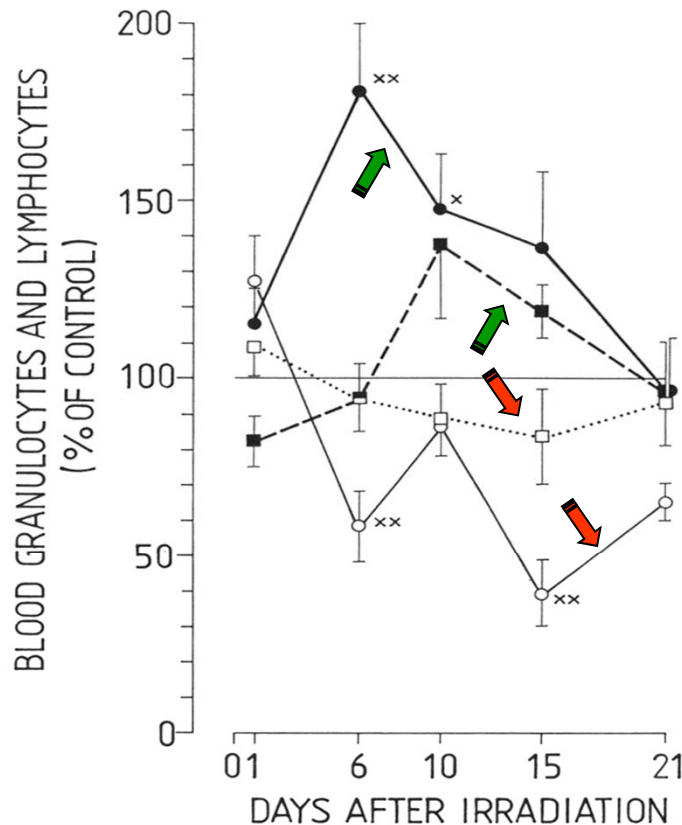


Figure 3. Percentage changes (related to 100% of irradiated control) of peripheral blood granulocytes (●, ○) and lymphocytes (■, □) in selected intervals after 5-Gy irradiation of mice. One hour before irradiation, mice were injected i.p. with indomethacin (0.3 mg/mouse, closed symbols) or esculetin (0.15 mg/mouse, open symbols). Control mice were injected with the vehicle. Ten mice from two independent experiments per point were used (mean ± SEM). Statistical significance: x, $p < 0.05$; and xx, $p < 0.01$ as compared with control.

Stav kmenových krvetvorných populací se odrazí i na úrovni diferencovaných krvetvorných kompartmentů (v periférii).

Inhibice produkce PGs vede ke zlepšené úpravě lymfopoézy i granulopoézy a navozuje tak příznivější podmínky regeneraci celého organismu po ozáření (mj. i díky zlepšené funkci regenerovaného imunitního systému). Inhibice leukotrienů vede k opačnému efektu.

Inhibitory
 cyklooxygenáz **stimulují (+)**
 a lipoxygenáz **inhibují (-)**

granulopoézu ○ ●
 i
 lymfopoézu □ ■

INT. J. RADIAT. BIOL., 1994, VOL. 65, NO. 3, 369-377

Effects of drugs inhibiting prostaglandin or leukotriene biosynthesis on postirradiation haematopoiesis in mouse

A. KOZUBÍK*, J. HOFMANOVÁ, M. POSPÍŠIL, J. NETÍKOVÁ, J. HOLÁ and A. LOJEK

(Received 21 May 1993; revised 31 August 1993; accepted 15 October 1993)

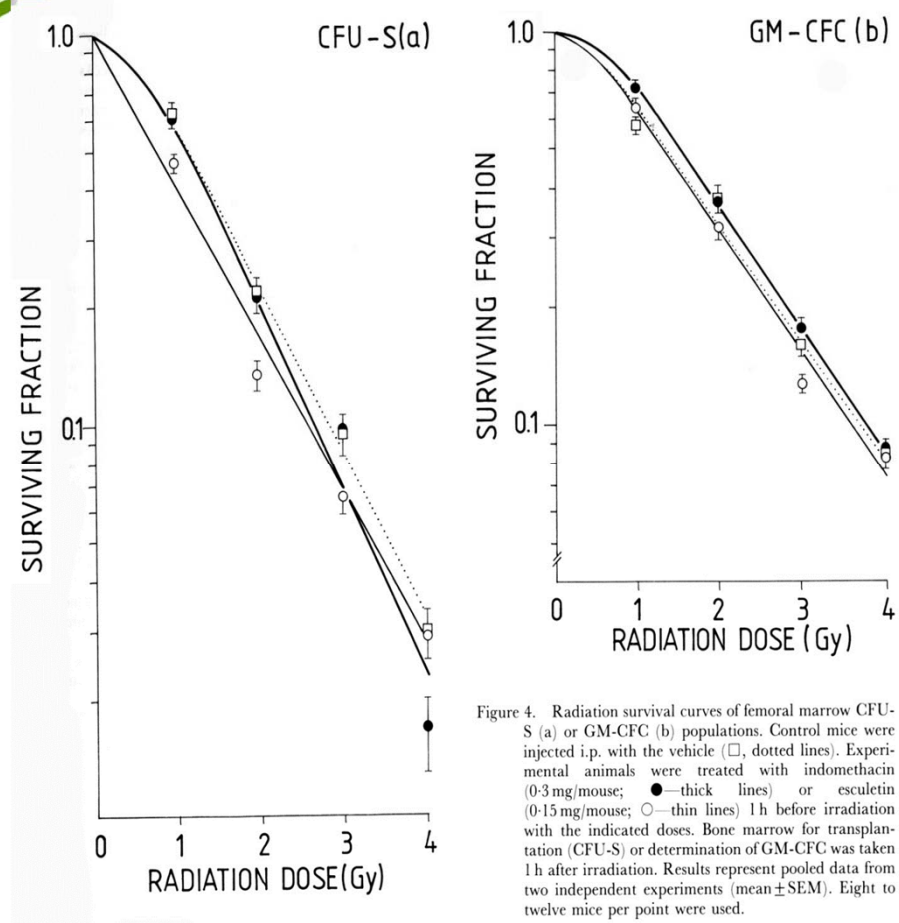


Figure 4. Radiation survival curves of femoral marrow CFU-S (a) or GM-CFC (b) populations. Control mice were injected i.p. with the vehicle (□, dotted lines). Experimental animals were treated with indomethacin (0.3 mg/mouse; ●—thick lines) or esculetin (0.15 mg/mouse; ○—thin lines) 1 h before irradiation with the indicated doses. Bone marrow for transplantation (CFU-S) or determination of GM-CFC was taken 1 h after irradiation. Results represent pooled data from two independent experiments (mean ± SEM). Eight to twelve mice per point were used.

INT. J. RADIAT. BIOL., 1994, VOL. 65, NO. 3, 369-377

Effects of drugs inhibiting prostaglandin or leukotriene biosynthesis on postirradiation haematopoiesis in mouse

A. KOZUBÍK*, J. HOFMANOVÁ, M. POSPÍŠIL, J. NETÍKOVÁ, J. HOLÁ and A. LOJJEK

(Received 21 May 1993; revised 31 August 1993; accepted 15 October 1993)

Dílčí shrnutí (MOŽNÉ MECHANISMY)

Radiorezistence kmenových (ESC) a prekursorových (GM-CFC) buněk **není** oblivněna !!!

ani po aplikaci **Indomethacinu** (●) ani po aplikaci **Esculetinu** (○) ve Srovnání s kontrolami (□).

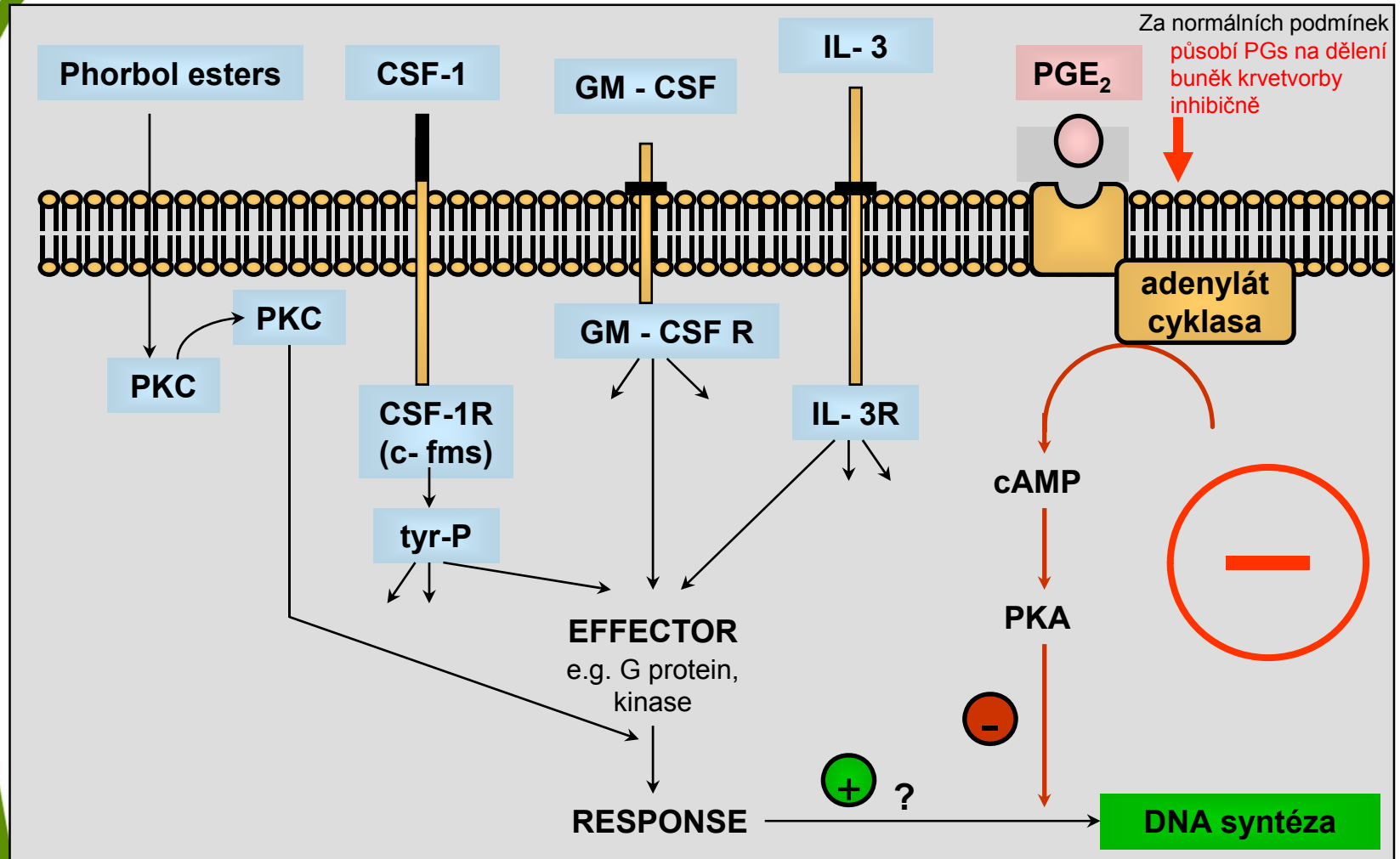
Pozn.: sklon přímek se nemění. Kdyby látky působily radioprotektivně, došlo by ve srovnání s kontrolami k navýšení počtu přežívajících buněk u pokusných zvířat i po vyšších dávkách záření a tím ke změně sklonu přímek (odklon od kontrolních skupin směrem nahoru po vyšších dávkách ozáření).



Efekty inhibitorů metabolismu eikosanoidů **mohou být vysvětleny** zásahy do biosyntézy eikosanoidů a jejich **regulačními účinky na krevtvorbu.**

Mechanismus působení vybraných regulátorů na proliferaci

buněk hematopoézy se zdůrazněním úlohy prostaglandinů (PGs)



Fáze b. cyklus



Odstranění negativního účinku PGE-2 na proliferaci kmenových buněk krvetvorby podáním indomethacinu

+ Indomethacin

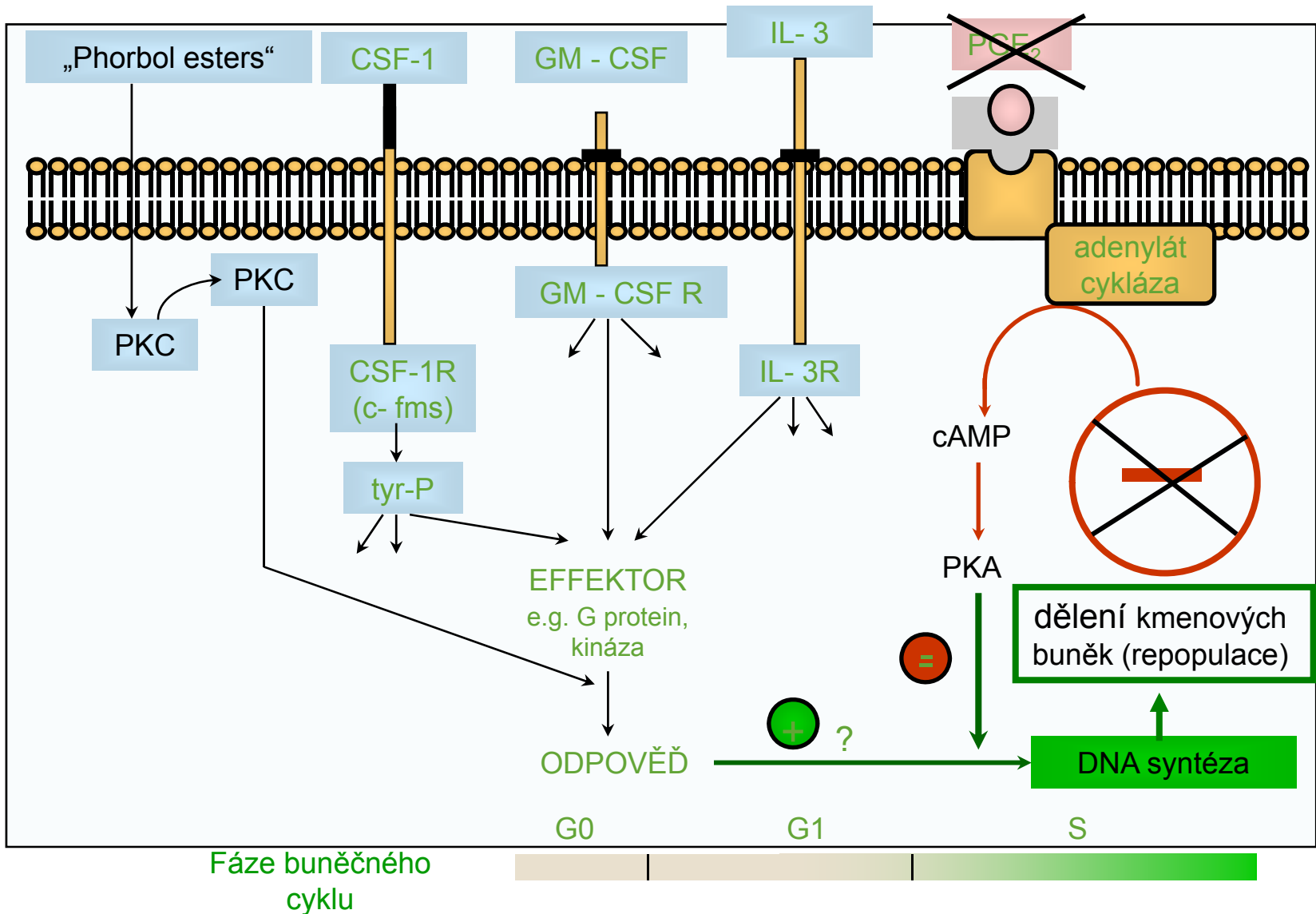
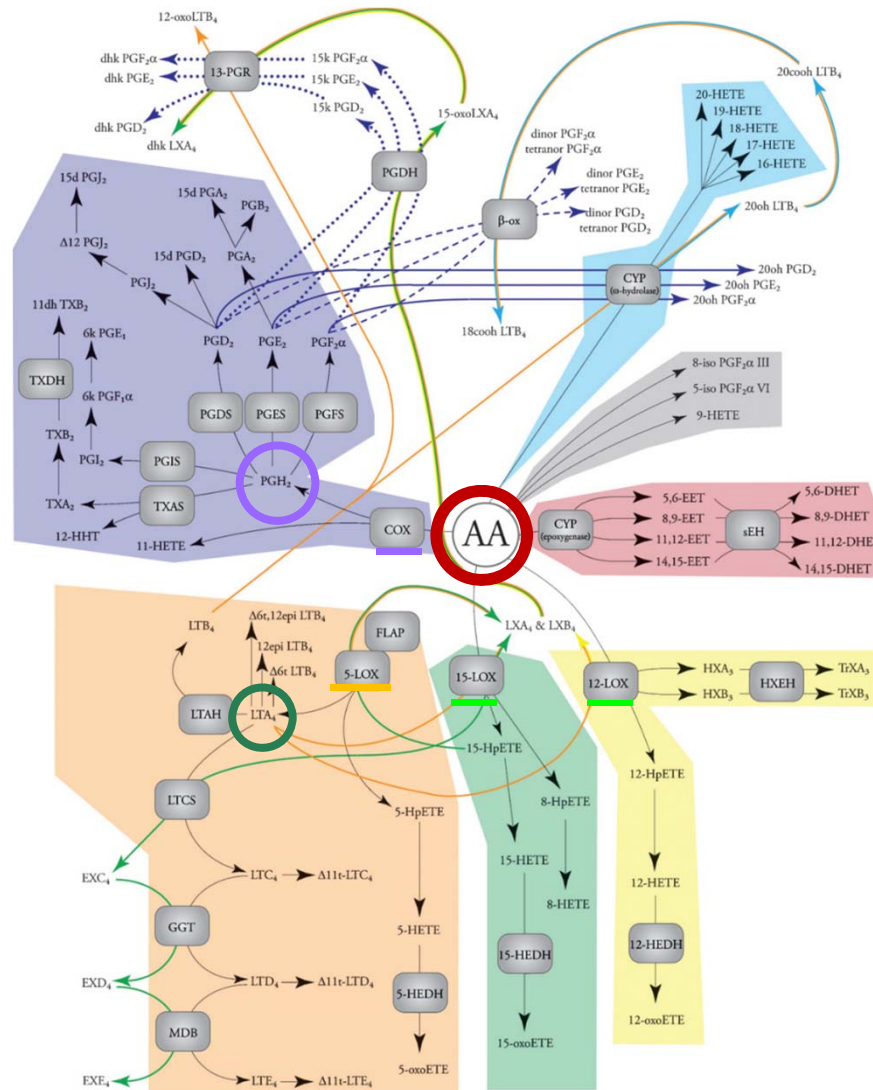


Schéma hlavních směrů biosyntézy eikosanoidů.



Hlavní osy biosyntézy eikosanoidů.

Metabolity hlavních směrů přeměny jsou barevně odlišeny:

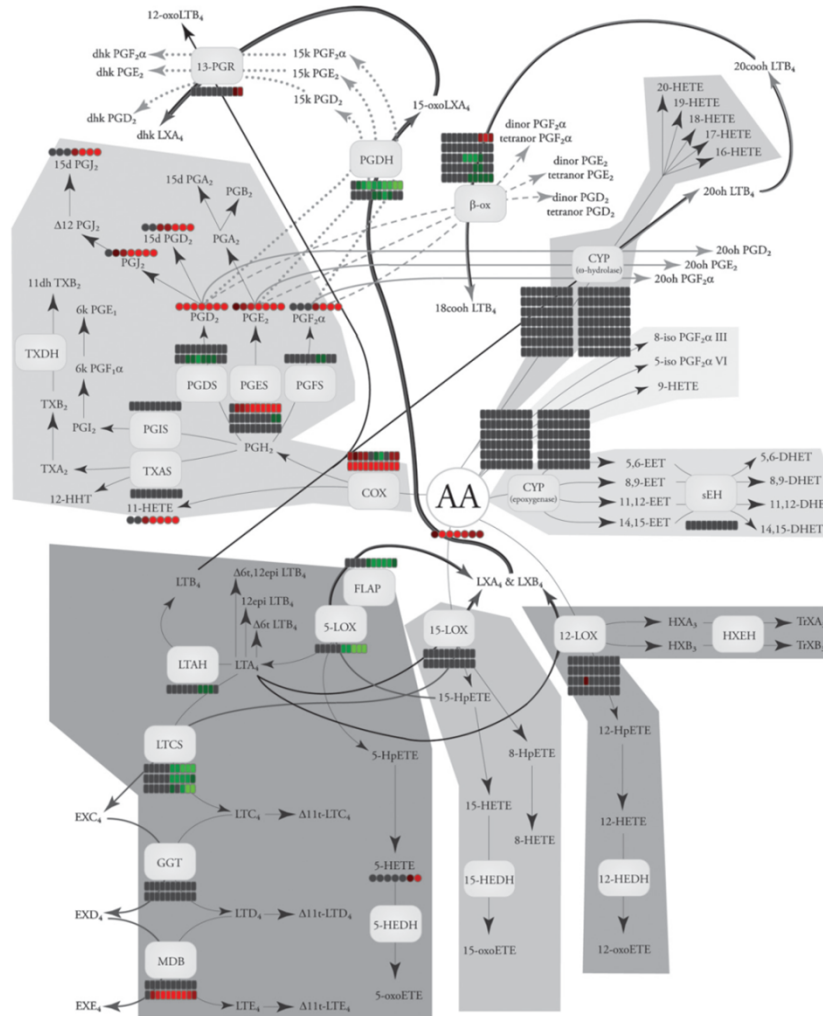
COX (fialově),
5-LOX (oranžově),
15-LOX (zeleně),
12-LOX (žlutě),

CYP epoxygenázy (červeně),
CYP ω-hydroxylázy (modře),

nenzymatická oxidace (šedě)

From: J. Lipid Res. 2009 June; 50 (6): 1015-1038.

Výsledky *in vitro* doplňující předchozí závěry



J Lipid Res. 2009 June; 50(6): 1015–1038.

Změny genomických a lipidomických parametrů odrážejících biosyntézu eikosanoidů u makrofágů RAW264.7 jako odpověď na stimulaci po podání Kdo₂-Lipid A.

Pozn.: Pokud nedojde k celkové destrukci organismu, dochází po ozáření k okamžité a intenzivní aktivaci buněk imunitního systému v závislosti na dávce záření.

Obdobná situace nastává po stimulaci makrofágů jinými podněty (zde linie *in vitro* po stimulaci Kdo₂-Lipid A – viz **obrázek vlevo**).

Zvýšená intenzita **červené** barvy indukuje **zvýšené hladiny**, zvýšená intenzita **zelené** barvy indukuje **snížené hladiny** eikosanoidů.
(šedá barva - nezměněno)



Po stimulaci tedy u makrofágů **dochází ke značné nadprodukcí prostaglandinů (PGs)** (s negativními účinky na krvetvorbu) a **nedostatečné produkci leukotrienů (LTs)**, které mají „normálně“ na krvetvorbu stimulační efekt. Tím je nerovnováha na úrovni regulace leukopoézy značně umocněna.

Jednou z **možných cest, vedoucích k úpravě**, je omezení zvýšeného negativního působení PGE s využitím inhibitorů jejich biosyntézy.

Tyto **výsledky *in vitro* doplňují a potvrzují** předchozí **závěry** učiněné na základě studií na úrovni *in vivo*.

K zamyšlení

Dovedeš popsat a vysvětlit

- ▶ Co je to homeostáza?
- ▶ Jak mohou metabolické procesy aktivně ovlivňovat buněčnou proliferaci a diferenciaci buněk?
- ▶ **Vysvětlit princip** a význam negativní a pozitivní zpětné vazby pro buněčné funkce?
- ▶ Nakreslit obecné schéma negativní zpětné vazby s upřesněním jednotlivých komponent (složek). Objasni a) její obecné důsledky b) význam pro rovnováhu na úrovni buněčných populací c) význam pro rovnováhu vyšších úrovních organizace biologických systémů.
- ▶ Dovedeš objasnit podstatu zpětnovazebné „determinace“ ve složitých systémech na základě „**atraktorové**“ koncepce?
- ▶ Objasnit **význam biosyntézy mastných kyselin a eikosanoidů pro zdraví organismu a terapii** některých onemocnění?
- ▶ Uvést příklady spolupůsobení látek různé chemické povahy?

Děkuji za pozornost