

SIGNALIZACE A LIPIDOVÝ METABOLISMUS

- Některé obecnější principy a jejich aplikace v buněčné fyziologii;
- Typy buněčných populací a buněčné modely;
- Spolupůsobení látek různé chemické povahy;
- Buněčné signalizace obecněji s důrazem na metabolismus lipidů;
- Ovlivnění organismu zásahy do intermediárního a energetického metabolismu (příklady);

Syntéza dílčích poznatků.



Alois Kozubík

Shrnutí a doplnění probraného učiva

(obecnější východiska a modely)

Částečné zobecnění

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

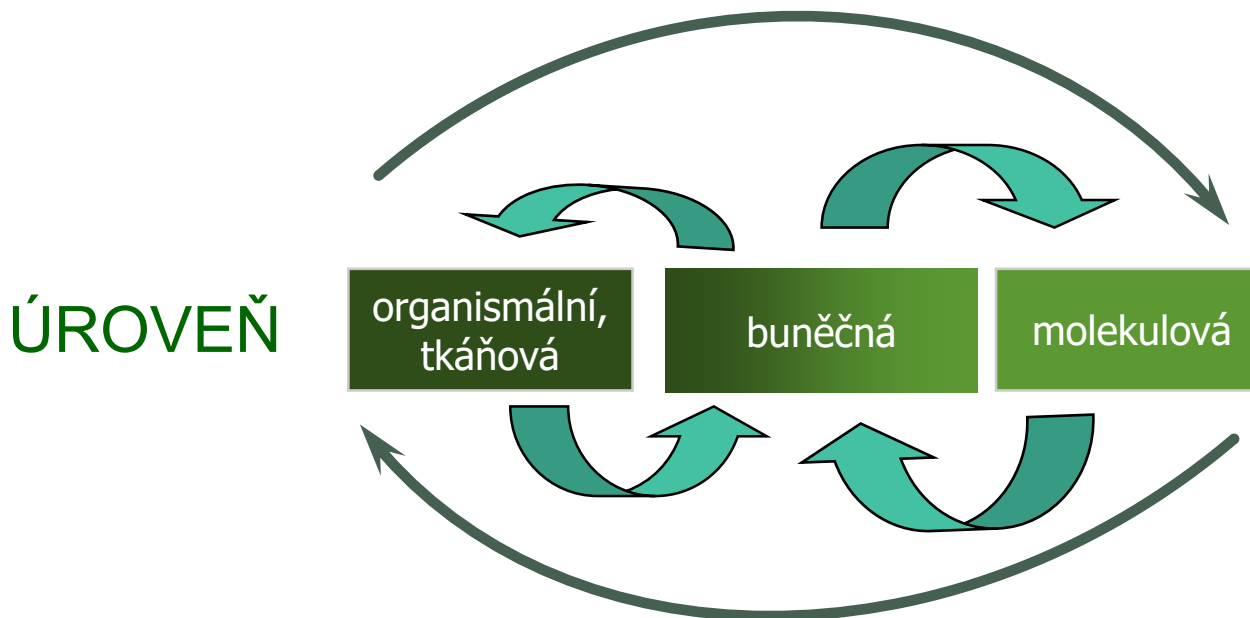
anebo

buňky nádorové

(*leukemické, střevních epitelů, prostaty, jater
etc.*)

*v celém organismu (*in vivo*) a *in vitro*:*

Organismus jako komplexní hierarchický systém



Působení na **jednotlivých úrovních** organizace systému nelze oddělovat chceme-li pochopit fungování celku.

Typy buněčných populací

(možné klasifikace, modely,
obecnější východiska)

Dělení buněčných populací podle intenzity obnovy u dospělé myši

1. Statické populace bez známek obnovy během života:

neurony všech typů
srdeční svalové buňky
odontoblasty
Sertolihovy 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 dřene 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, prekursor krevních buněk
epidermis
kornea
epitelová výstelka ústní dutiny a esofagu
povrchový epitel žaludeční sliznice
semiferní epitelová tkáň

C. Buňky nádorové

Proč tyto rozdíly? - rozdílný způsob regulace

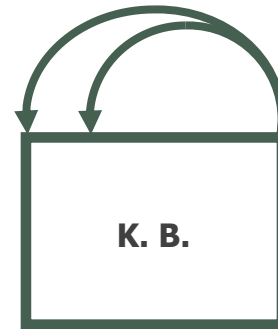
Typy buněčných populací

TYPY PROLIFERUJÍCÍ

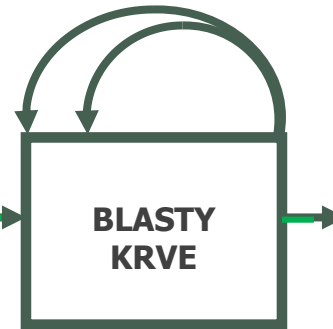
expandující,
neopouštějí populaci,
množí se



populace coby zdroj
buněk pro jiné populace
c. konstantní



Tranzitní populace, ve
které se buňky pomnoží
c. konstantní



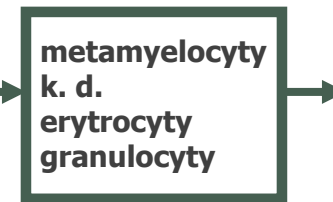
TYPY NEPROLIFERUJÍCÍ



stacionární
c. konstantní



stále ubývá



typ průchozí (tranzitní)
c. konstantní

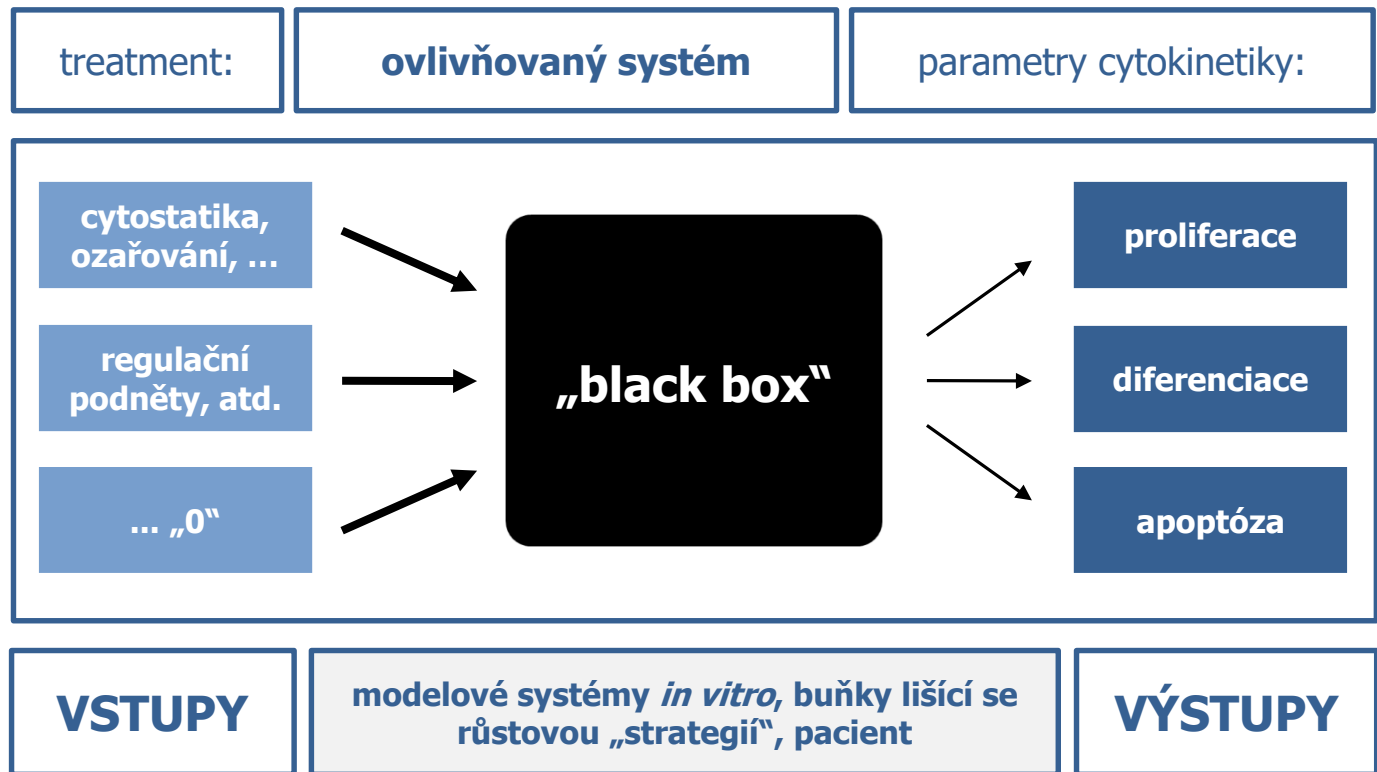
Buňky setrvávají nebo procházejí různým prostředím, kde na ně **mohou působit** různé **regulační faktory** mající např. **vliv na intenzitu proliferace**

Některá OBECNĚJŠÍ VÝCHODISKA,

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

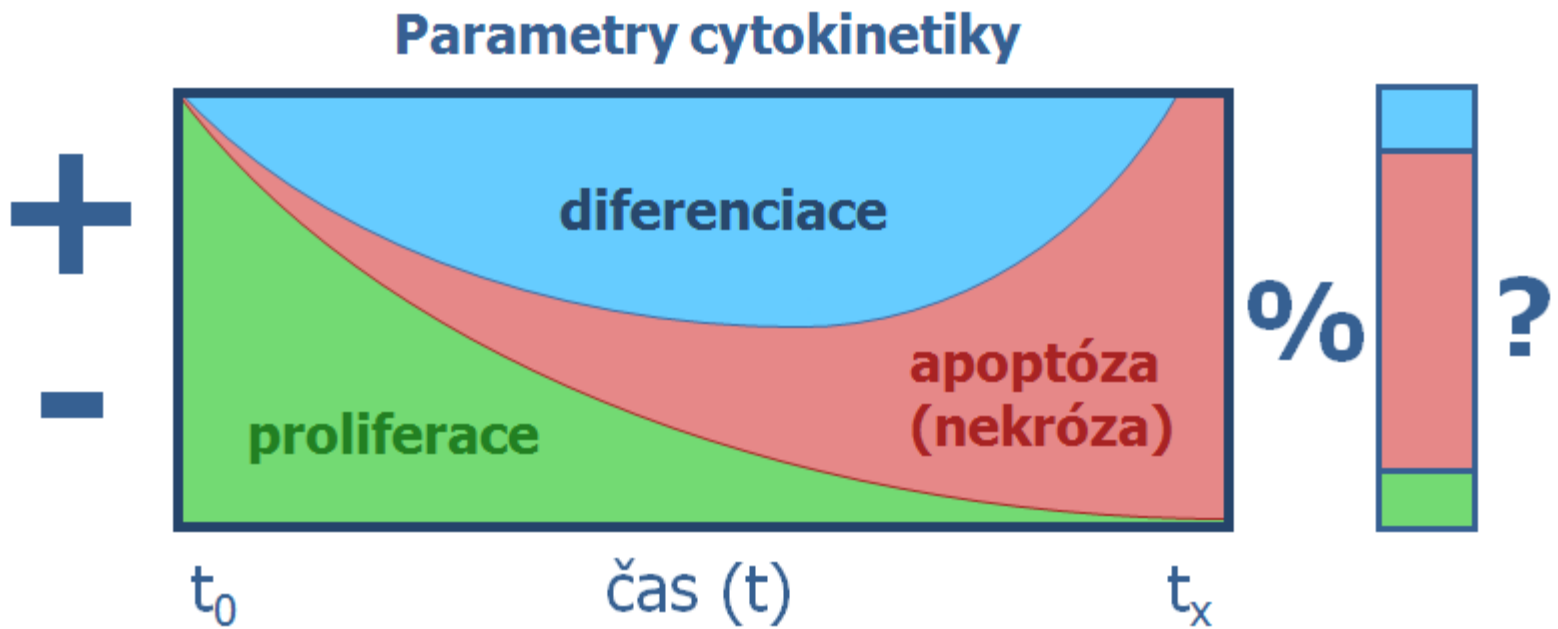
- Zachování rovnováhy mezi produkcí buněk (intenzitou proliferace) a jejich úbytkem (např. smrtí apoptózou) je podmínkou pro zachování homeostázy na tkáňové úrovni.
- Proto změny v intenzitě proliferace, diferenciace a apoptózy po působení jakýchkoli podnětů, jež mohou tyto procesy ovlivnit, lze chápat jako integrální ukazatele porušení této homeostázy.
- **Vhodný způsob detekce** těch 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 čase. Podávají prvotní informaci o stavu systému, jeho směřování, a naznačují, jakým směrem orientovat další, detailnější, výzkum.

Jednoduché, snadno měřitelné
„integrální ukazatele“



Dynamické změny

na úrovni buněčných populací (Možné chyby)



pojem „CYTOKINETIKA“

Které faktory, a jak mohou modulovat

dělení, diferenciaci a zánik buněk?

???

Dochází k tomu změnami

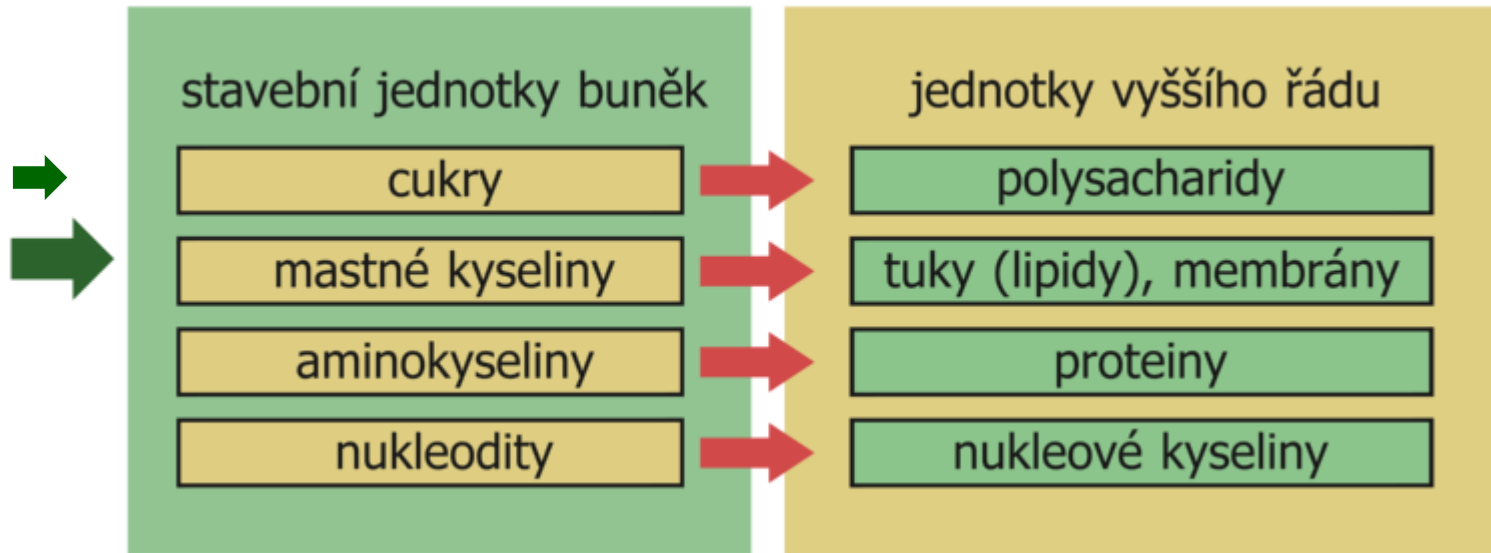
- **exprese** anebo **funkce molekul** zapojených v **přenosu** (*transdukci*) **signálů** **přímo** regulujících *proliferaci, diferenciaci a buněčnou smrt* včetně exprese protoonkogenů a nádorově-supresorových genů,
- **signálů**, které tyto funkce ovlivňují do určité míry **nepřímo**, jako jsou *inhibice mezibuněčných spojení*, ovlivnění *funkce enzymů reparujících DNA*, *metylace DNA*, *metabolismus* apod.

(na různých úrovních organizace
buněčných systémů)

V buňce (buněčných signalizacích a metabolismu)

spolupůsobí látky různé chemické povahy

Čtyři nejdůležitější skupiny
malých organických molekul v buňkách



+ **ionty** atd... důležité jsou všechny, proč dnes důraz na lipidy?

Látky lipidové povahy plní v organismu řadu funkcí

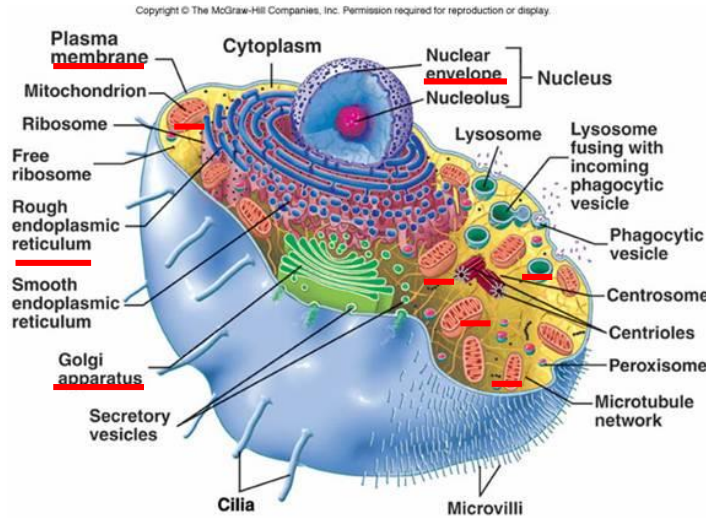
- mj. fosfolipidy a jejich deriváty jsou
- součástí membránových struktur
 - komponenty signálních drah
 - **neutrální tuky** jsou významnou součástí intermediárního a energetického metabolismu *atd.*

Pozn.: Mnohé rozvedeno v rámci dřívějších přednášek.

V tomto kurzu se o nich zmiňoval prof. Vondráček a v předmětu Fyziologie živočišné buňky Dr. K. Souček

Buňky prostoupeny membránovými systémy

tvořenými z velké části
fosfolipidy



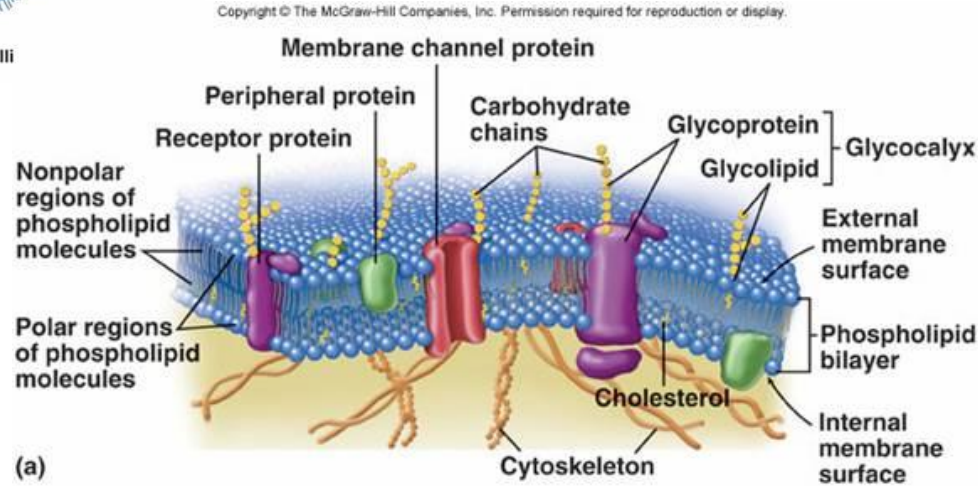
Drsné endoplazmatické retikulum:
syntéza některých bílkovin, oligomerizace proteinů, rozklad poškozených bílkovin.

Hladké endoplazmatické retikulum:
odstraňování toxických látek, některé části metabolismu lipidů a metabolismu hemu, regulované uvolňování Ca^{2+} iontů.

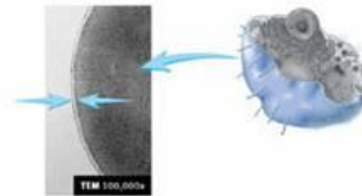
Golgiho komplex slouží k transportu, přechovávání a posttranslační modifikaci proteinů, navazování a odstraňování nebílkovinných (zejména cukerných) složek, syntéze polysacharidů a imunoglobulinů, tvorbě váčků využívaných při exocytóze.

Cytoplazmatická membrána: semipermeabilní obal ohraničující vnitřek buněk od vnějšího prostředí a kontrolující pohyb látek do buňky a ven z buňky. Je selektivně permeabilní pro ionty a organické molekuly. Chrání buňku před vnějšími vlivy. Podílí na různých buněčných procesech jako buněčná adheze, výměna iontů, buněčných signalizacích.

Skládá se z **lipidové dvouvrstvy** se zakotvenými proteiny, glykoproteiny, cholesterolem, sfingolipidy.



(a)





**MEMBRANOVÉ
SYSTÉMY**
a buněčné
kompartmenty

protientropické
důsledky



STRUKTURNÍ ÚLOHA
FOSFOPIDŮ v BUŇKÁCH



a **BUNĚČNÉ FUNKCE**

Kompartmenty

Funkčně nebo prostorově oddělené soubory prvků (složek).
Důsledkem je **kompartmentalizace** – vznik a existence kompartmentů.

V důsledku toho jsou prvky (složky), např. **látky, buňky** atd.,
nerovnoměrně rozmístěny.

Příklady

Všechny membránami ohraničené struktury mají své „**vnitřní prostředí**“.

Selektivně jsou v nich zadržovány určité molekuly proti koncentračnímu spádu. Některé reakce tak proběhnout mohou, jiným může být zabráněno.

Tato **protientropická distribuce molekul a buněčných struktur**,
směřující proti neuspořádanosti, má velký význam pro buněčný metabolismus a regulace.

Základem pro tento stav je **existence buněčných membrán**,
jeden ze **základů existence** biologických systémů.

Struktura fosfolipidů a jejich orientace v plasmatické membráně

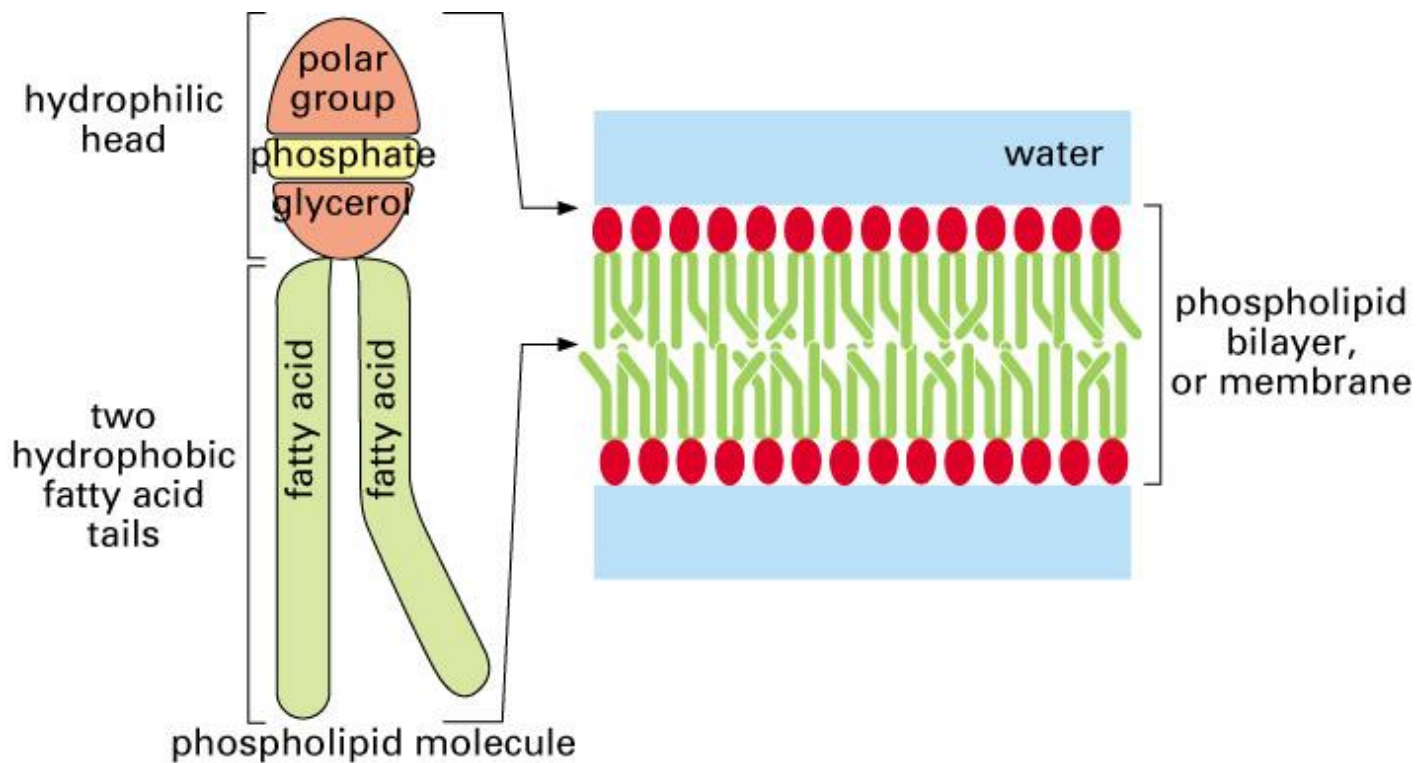


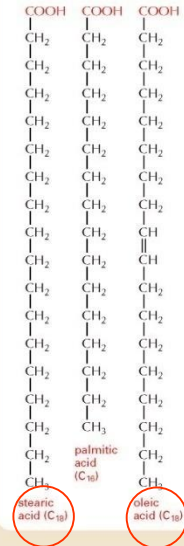
Figure 2-22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Složení fosfolipidů a jejich štěpení fosfolipázami (PL)

PANEL 2-5 Fatty Acids and Other Lipids

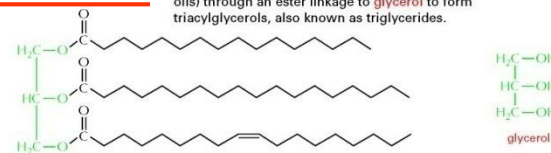
COMMON FATTY ACIDS

These are carboxylic acids with long hydrocarbon tails.



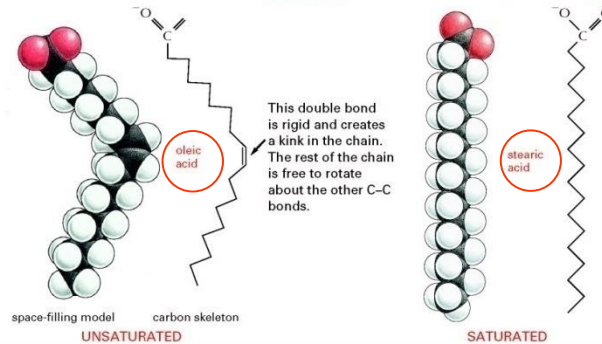
TRICYGLYCEROLS

Fatty acids are stored as an energy reserve (fats and oils) through an ester linkage to glycerol to form triacylglycerols, also known as triglycerides.



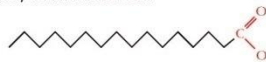
NEUTRÁLNÍ TUKY

Hundreds of different kinds of fatty acids exist. Some have one or more double bonds in their hydrocarbon tail and are said to be **unsaturated**. Fatty acids with no double bonds are **saturated**.

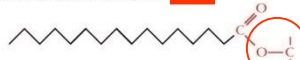


CARBOXYL GROUP

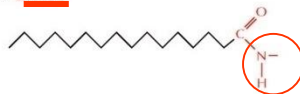
If **free**, the **carboxyl group** of a fatty acid will be **ionized**.



But **more usually**, it is linked to other groups to form either **esters**

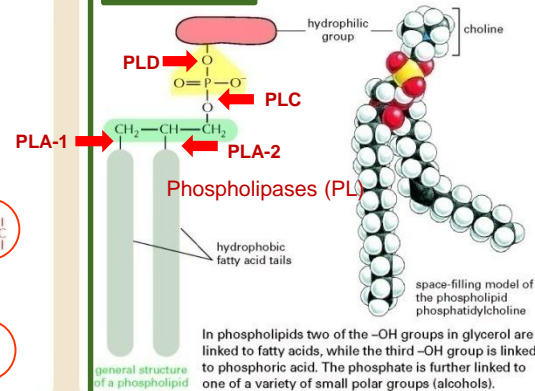


or **amides**.



PHOSPHOLIPIDS

Phospholipids are the major constituents of cell membranes.



Estery - Kyselina + alkohol (-OH skupina karboxylové kyseliny nahrazena organickým zbytkem vzniklým z alkoholu po odštěpení vodíku z OH skupiny).

Amidy - náhradou skupiny OH karboxylové skupiny za amidovou skupinu NH₂.

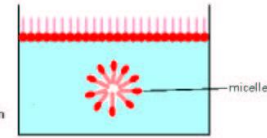
Fyzikálně-chemické vlastnosti fosfo- a glykolipidů dovolují ve vodném prostředí vzniknout strukturám membránového charakteru na **samoorganizačním principu.**

Další formy lipidů

LIPID AGGREGATES

Fatty acids have a hydrophilic head and a hydrophobic tail.

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



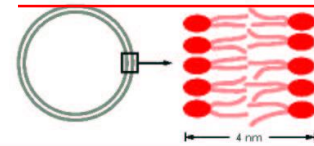
Their derivatives can form larger aggregates held together by hydrophobic forces:

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



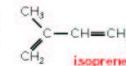
200 nm or more

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



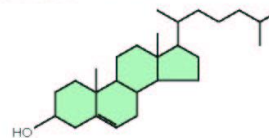
OTHER LIPIDS

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.

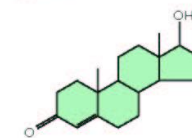


STERIODS

Steroids have a common multiple-ring structure.



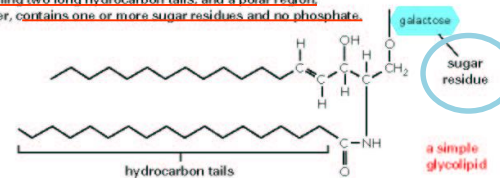
cholesterol—found in many membranes



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.



No phosphate

a simple glycolipid

POLYISOPRENOIDS

long-chain polymers of isoprene

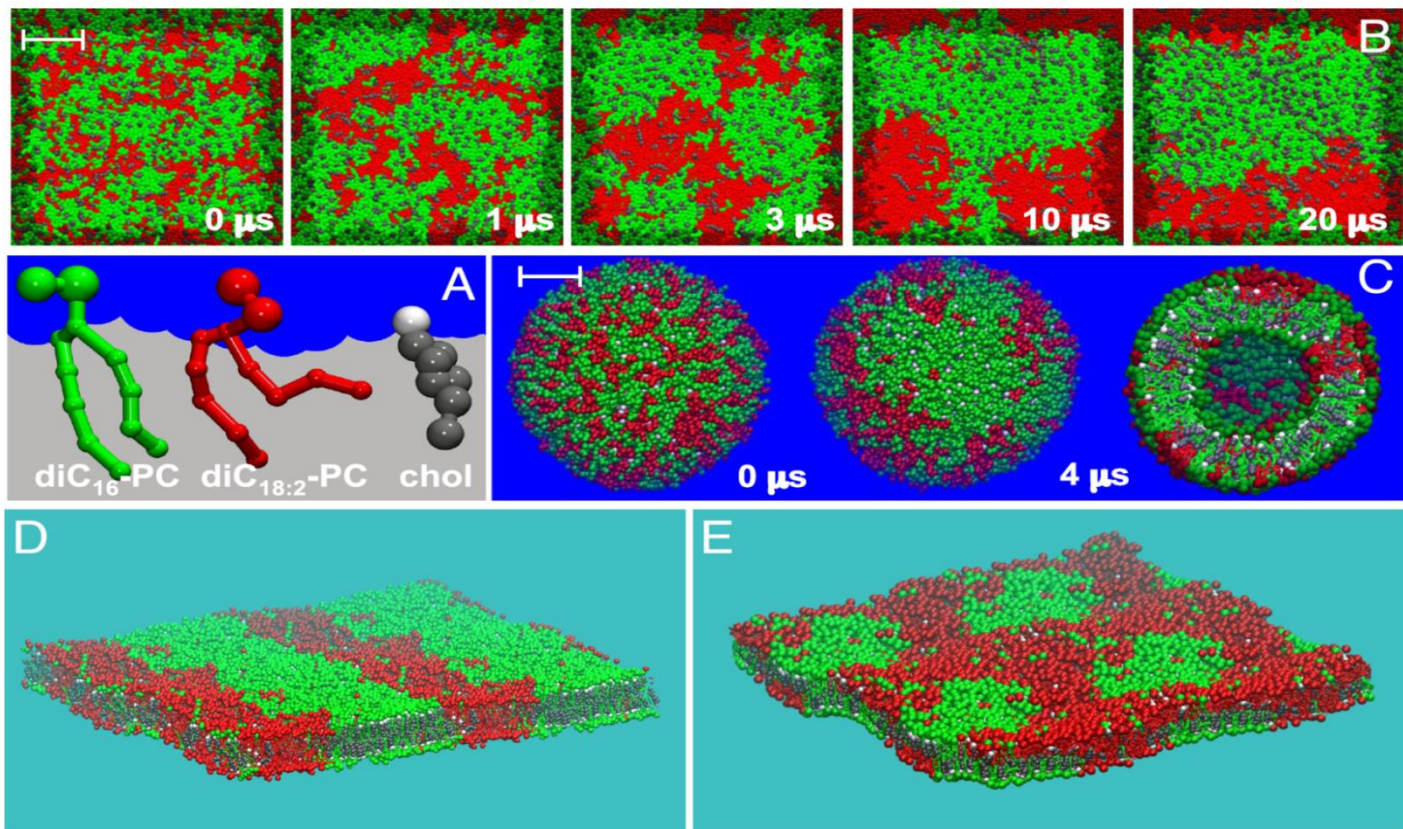


dolichol phosphate—used to carry activated sugars in the membrane-associated synthesis of glycoproteins and some polysaccharides

Dynamický charakter biologických membrán - model

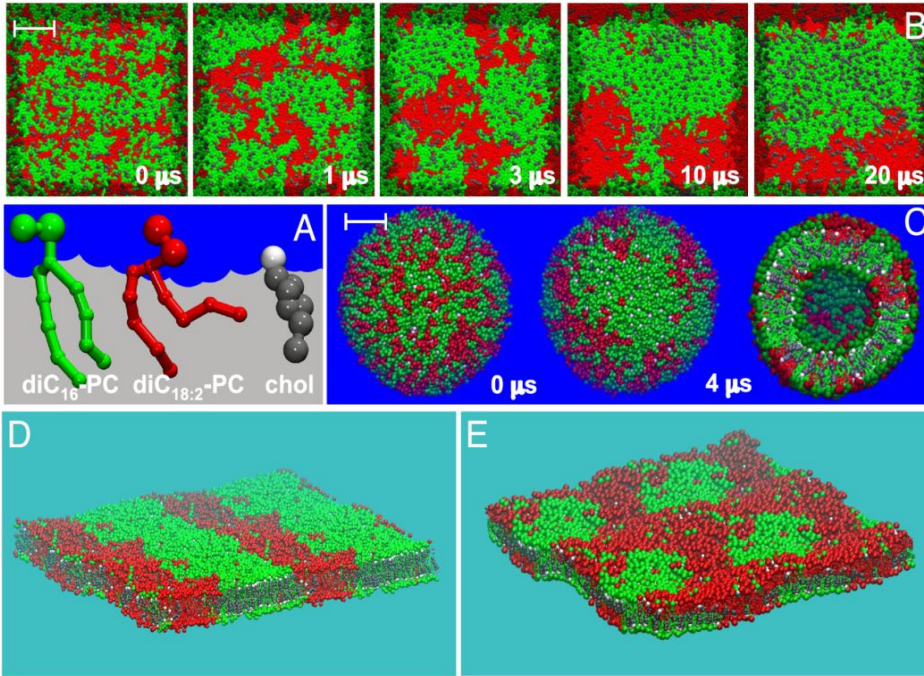
Znázorněna je dynamika „samoorganizačních schopností“ modelového systému (v μs) vytvářet membránové struktury ve vodném prostředí, jsou-li dodány prekursory:

PC - fosfatidylcholin
 diC 16 – k. palmitová
 diC 18:2 – k. linoleová
 chol - cholesterol



Dynamický charakter biologických membrán (model) a lipidové rafty

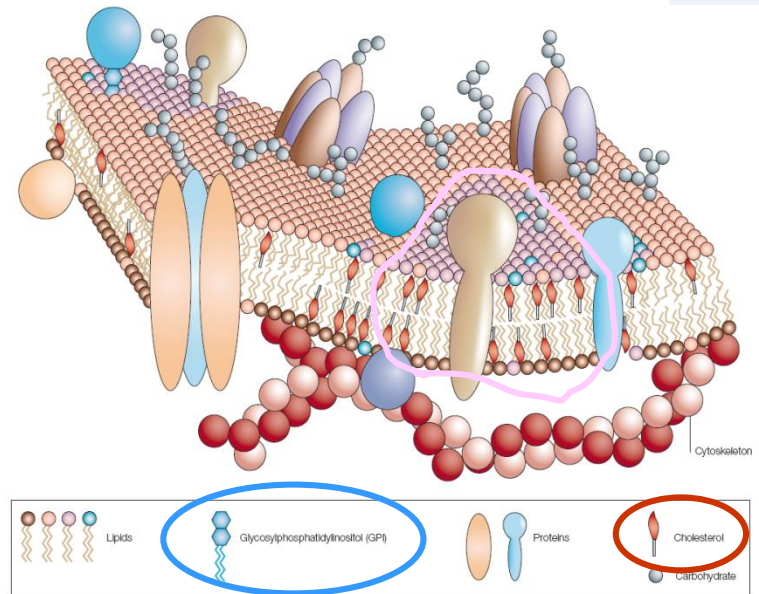
PNAS | November 11, 2008 | vol. 105 | no. 45 | 17367-17372



Prerukury:

PC - fosfatidylcholin
 diC 16 – k. palmitová
 diC 18:2 – k. linoleová
 chol - cholesterol

Červená – nenasycené lipidy
 Zelená - nasycené lipidy
 A - planární rozložení
 C - liposom



Zajištění většiny biologických funkcí se neobejde bez unikátních interakcí lipidových komponent jako jsou VNMK, fosfolipidy s dalšími biologicky významnými molekulami.



VNMK jsou součástí lipidových raftů:
 membránových mikrodomén obohacených o glykosfingolipidy + cholesterol

Jejich modulace mohou významně měnit intenzitu a také směr signálové transdukce

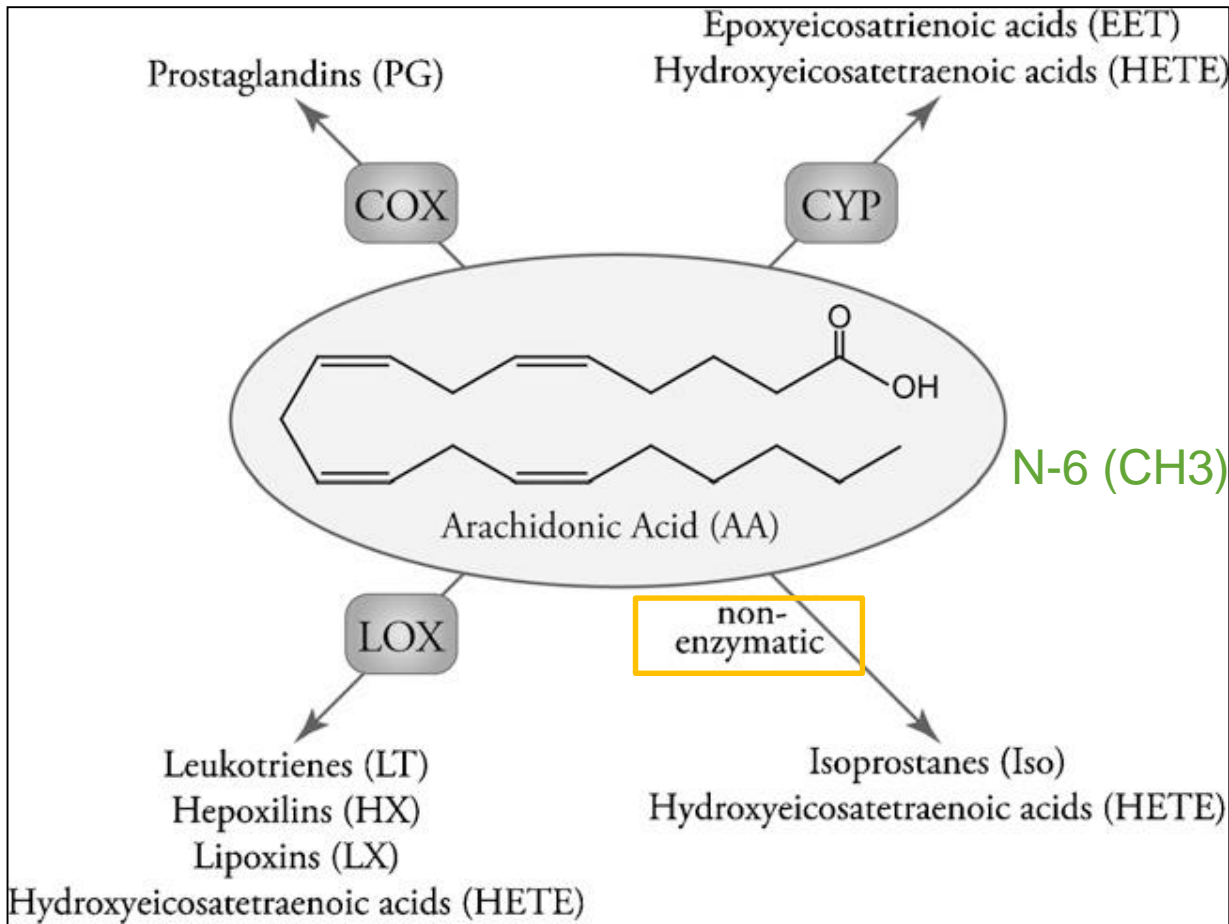
Látky lipidové povahy plní v organismu řadu funkcí

...mj. jsou komponenty signálních drah.....
....a mohou ovlivňovat chování (cytokinetiku)
normálních i nádorových buněčných populací

**Produkty metabolismu fosfolipidů
(jejich regulační úloha)**

Spektrum eikosanoisů

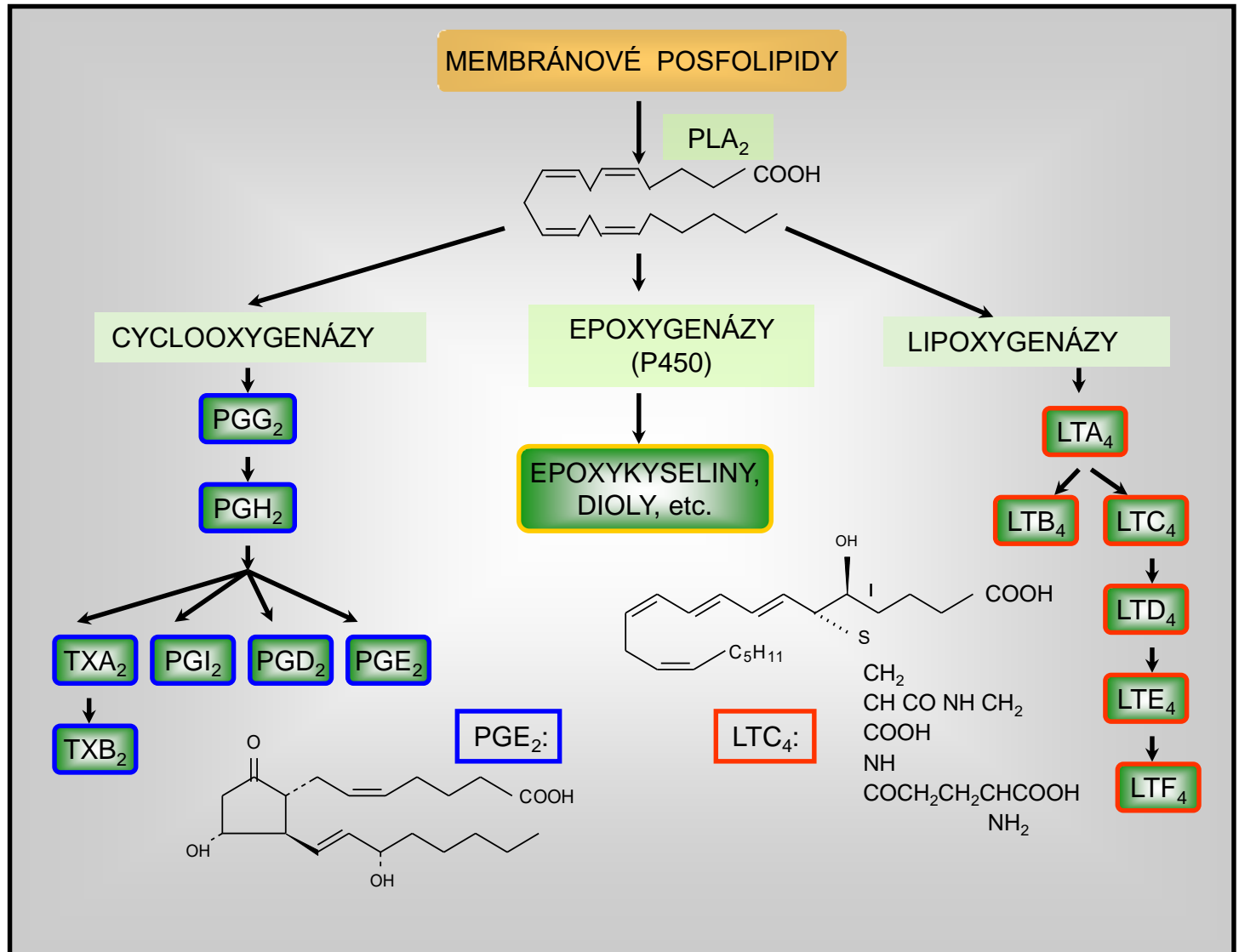
Čtyři cesty přeměny AA na své metabolity eikosanoidy



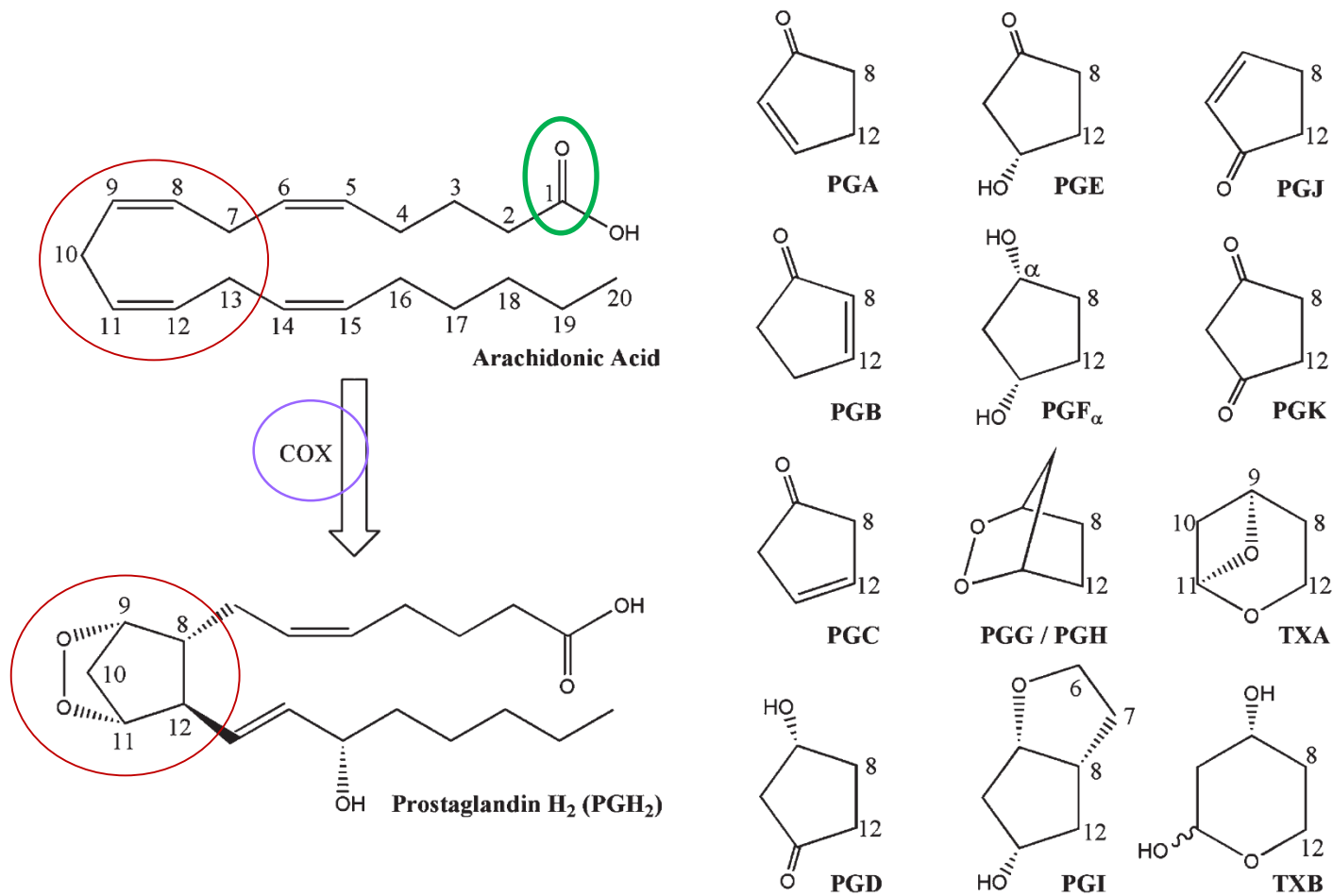
4 = vazby, silně reaktivní, nestabilní
(možný parakrinní způsob regulace)

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

METABOLISMUS KYSELINY ARACHIDONOVÉ



STRUKTURY METABOLITŮ KYSELINY ARACHIDONOVÉ (AA)



prostane ring, with PGH₂ as an example.

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

Struktury metabolitů AA, jejichž vznik je katalyzován cytochromy P450

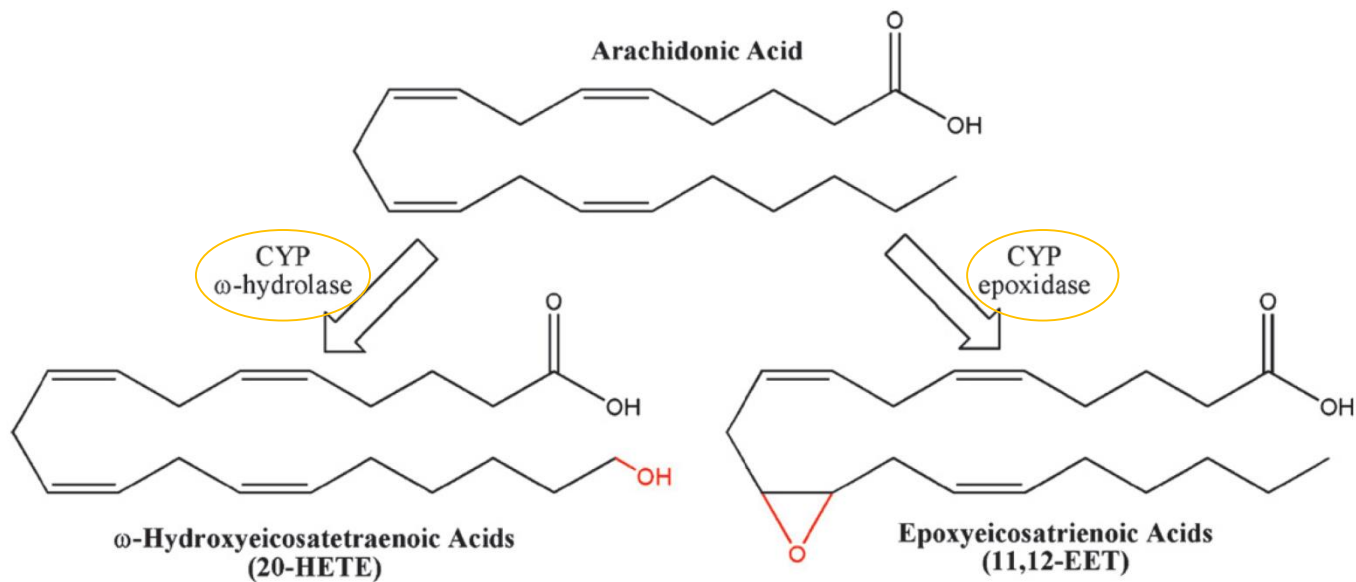
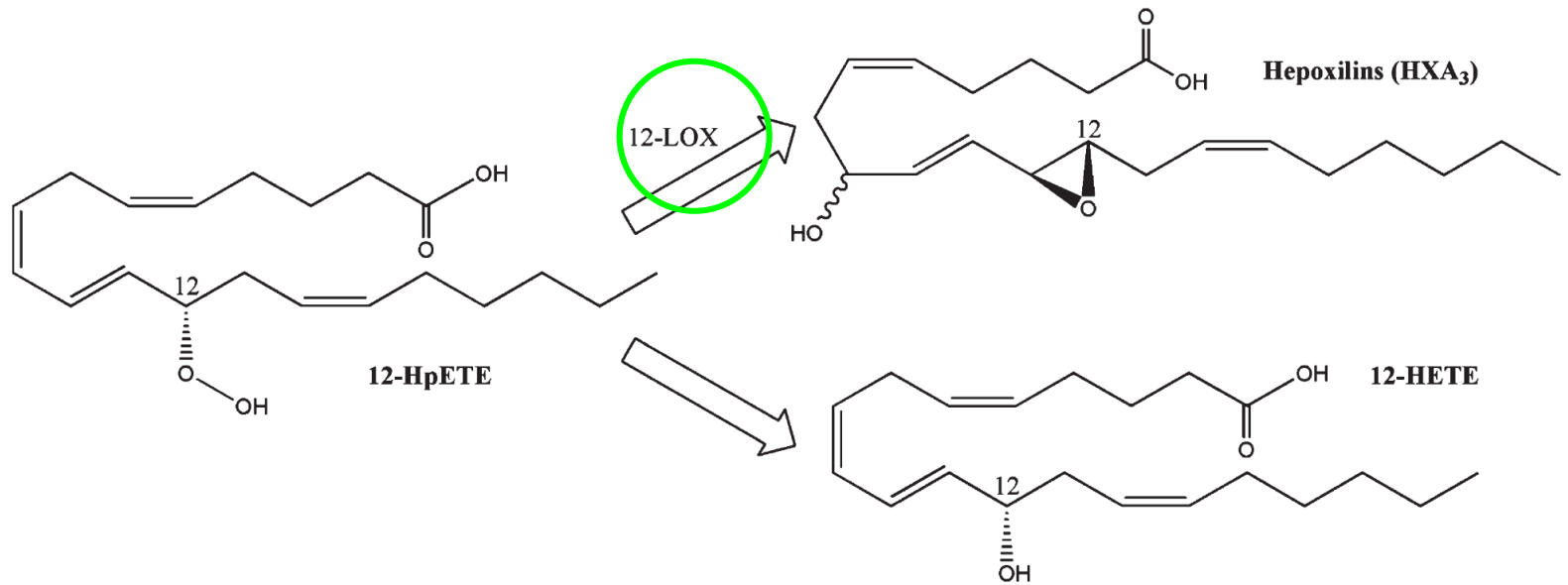


Fig. 7. Structures of cytochrome P450 metabolites. Cytochrome P450 enzymes can catalyze ω-oxidation (example: 20-HETE) and epoxidation (11,12-EET) reactions.

Nestabilní produkty

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

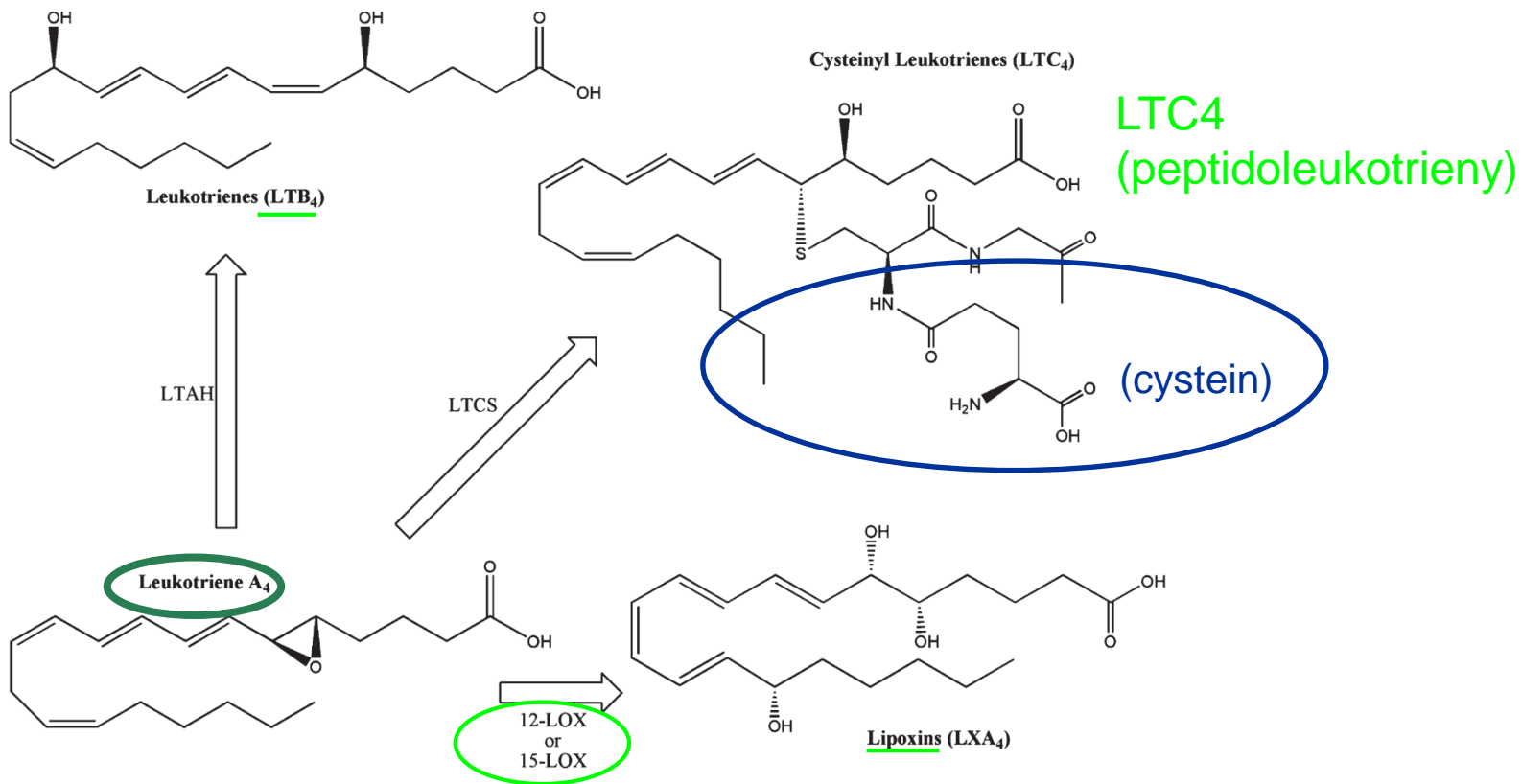
Struktury metabolitů AA, jejichž vznik je katalyzován 12-lipoxygenázou



Structures of 12-lipoxygenase metabolites. 12-Lipoxygenase creates 12-HpETE, which can further isomerize to form HXA₃.

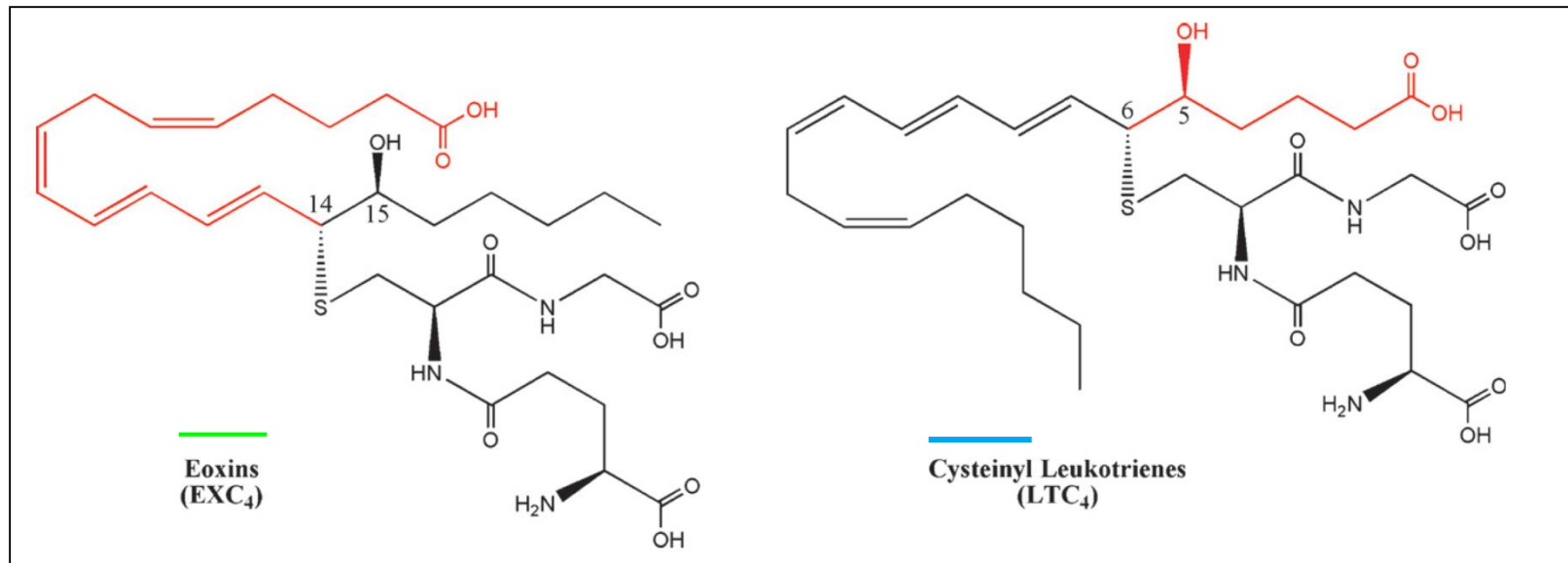
From: J. Lipid Res. 2009 June; 50 (6): 1015-1038.

Struktura metabolitů AA (peptidoleukotrien C4 a Lipoxin (LXA4))

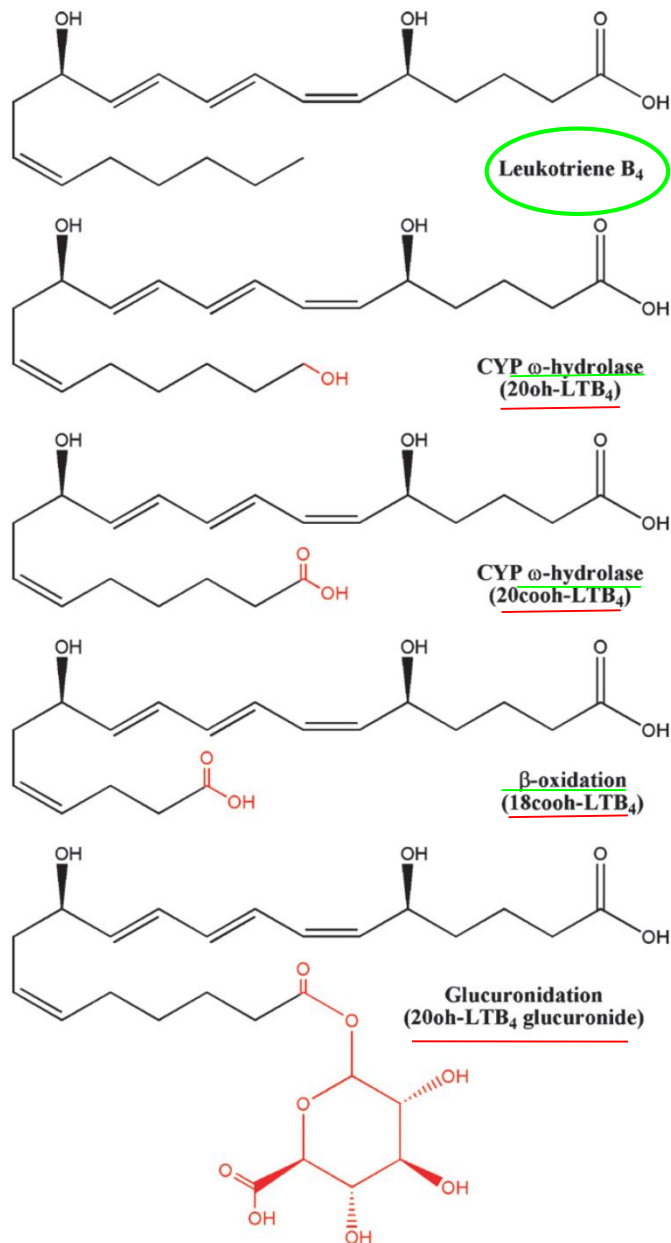


From: J. Lipid Res. 2009 June; 50 (6): 1015-1038.

Struktura metabolitů AA (peptidoleukotrien C4 a Eoxinoxin (EXC4))



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



Příklad metabolismu LTB₄

CYP ω – hydrolasa

CYP ω – hydrolasa

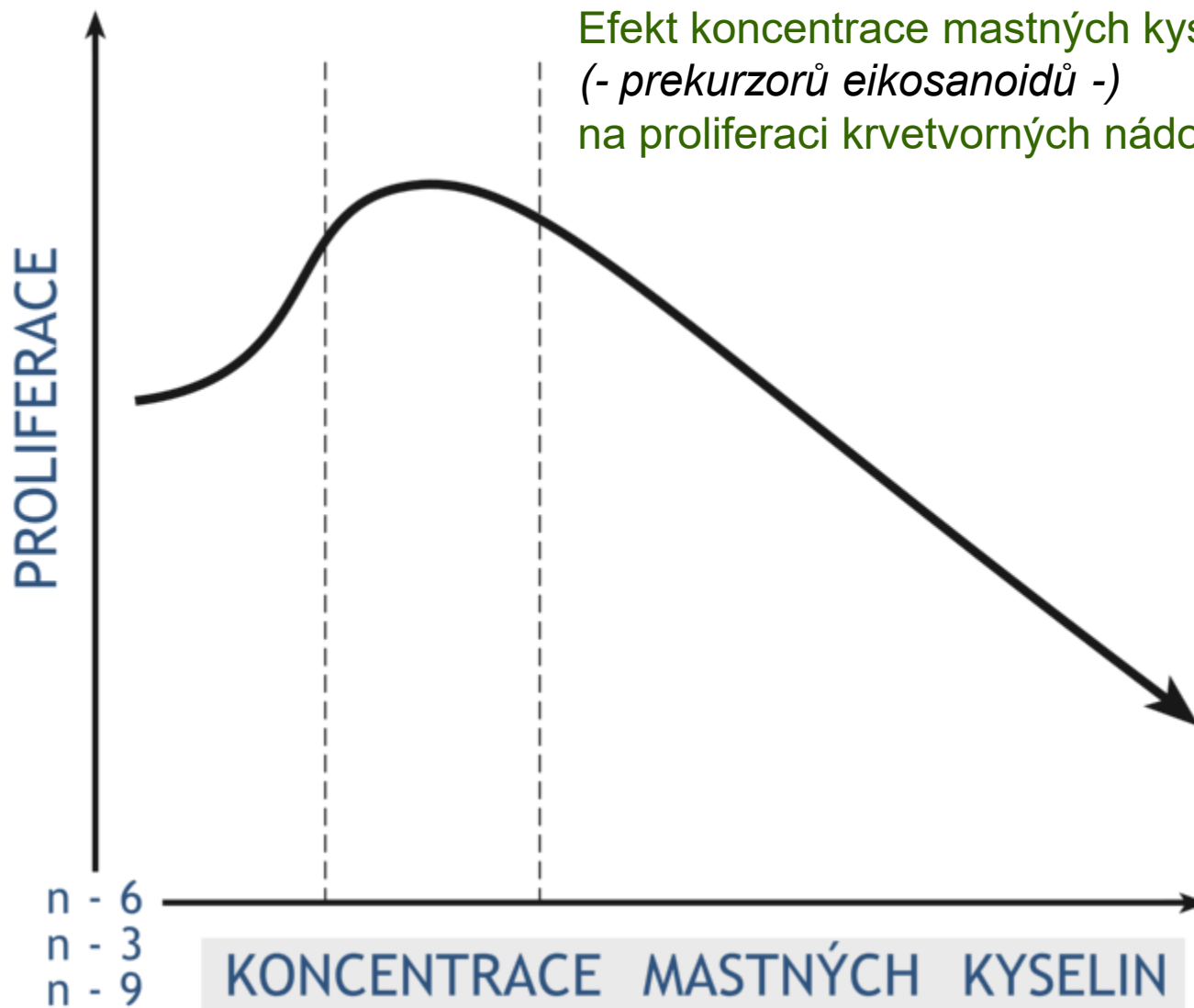
β - oxidace

glucuronidace

Fig. 8. Examples of LTB₄ metabolism by β -oxidation, CYP ω -hydrolases, and glucuronidation.

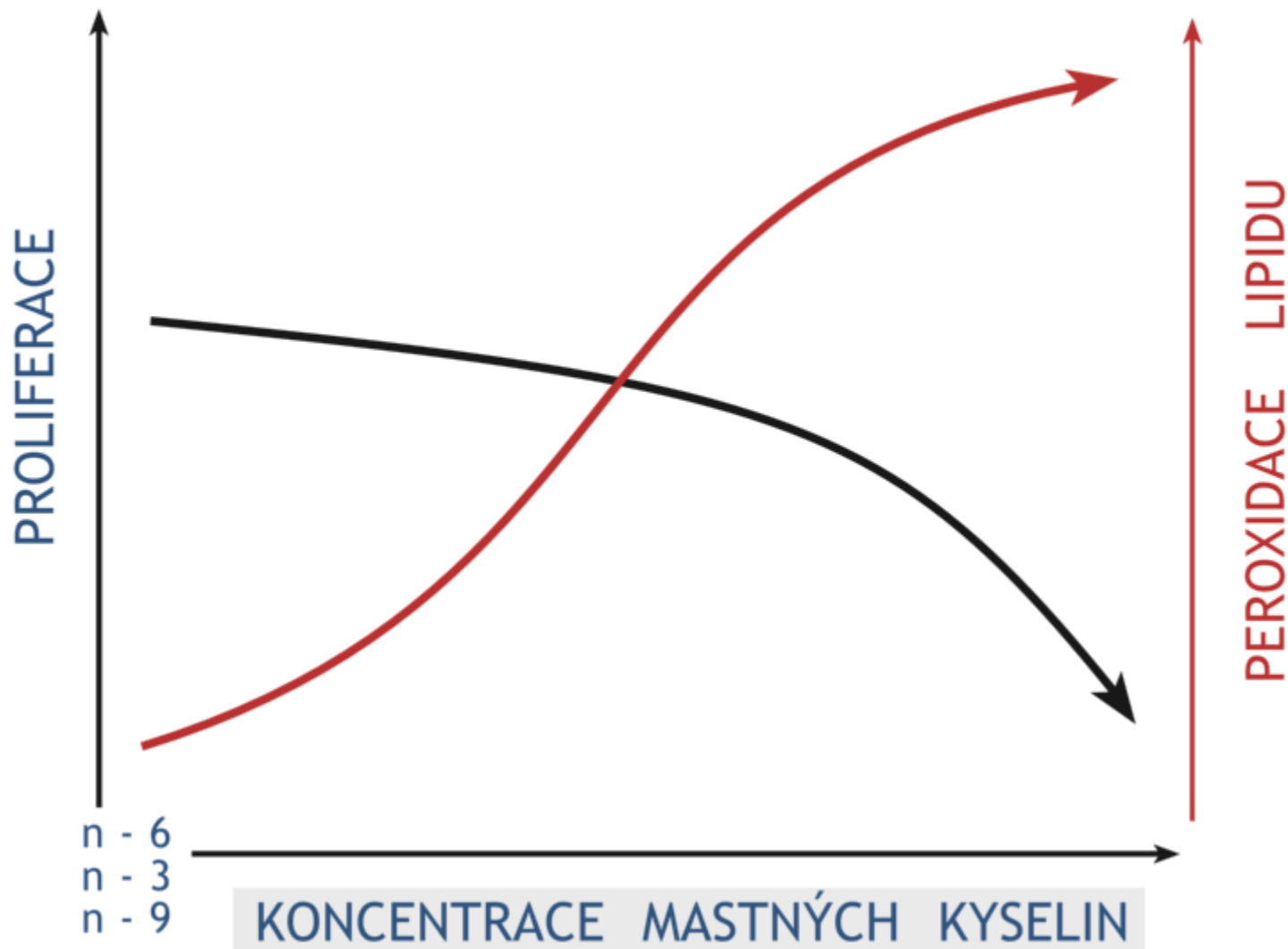
From: J. Lipid Res. 2009 June; 50 (6): 1015-1038.

Glukuronidace - konjugace s kyselinou glukuronovou (glukosiduronovou).
Je to děj lokalizovaný v největším počtu tkání a orgánů.
Má největší spektrum xenobiotik, se kterými vytváří konjugáty.
To zvyšuje polárnost a rozpustnost substrátu ve vodě, což ulehčuje detoxikaci a vylučování.



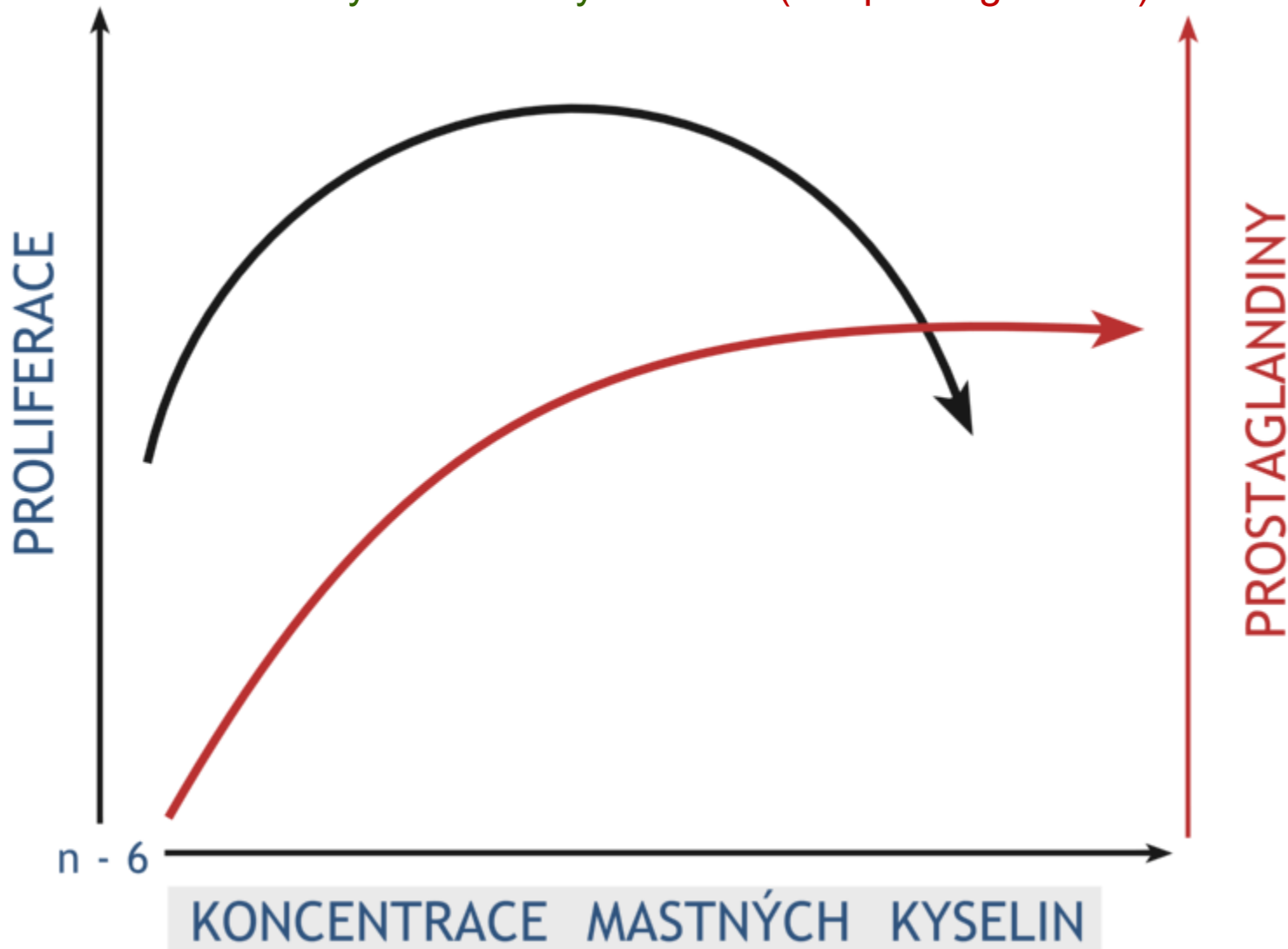
D.G.Cornwell and N.Morisaki, Free Radicals in Biology. Vol.6, 1984

Efekty koncentrace mastných kyselin na proliferaci krvetvorných nádorových buněk (vliv peroxidace lipidů)



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

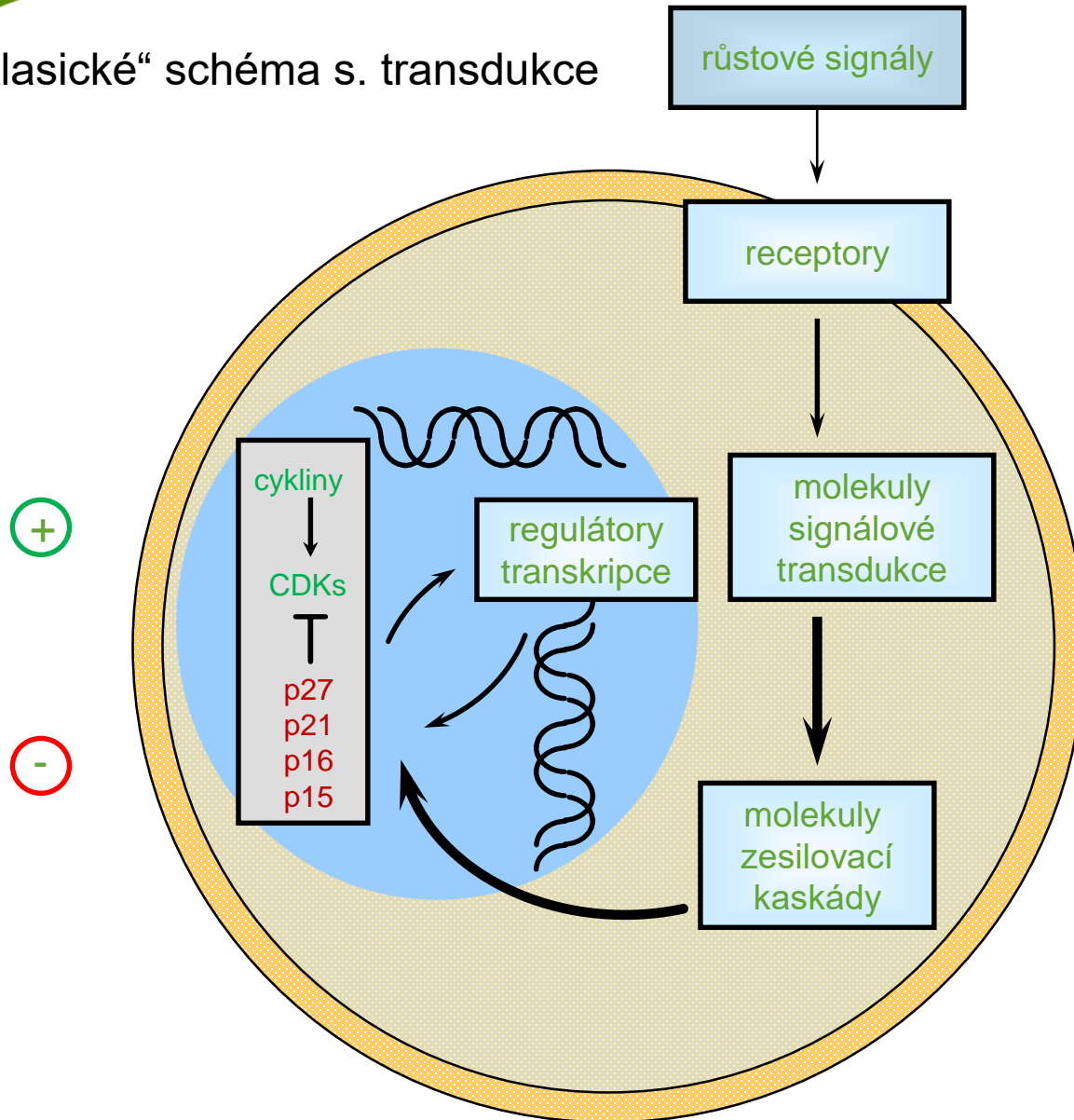
Efekty koncentrace n-6 mastných kyselin na proliferaci krvinečných nádorových buněk (vliv prostaglandinů)



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

Transdukce (přenos) signálů

„klasické“ schéma s. transdukce

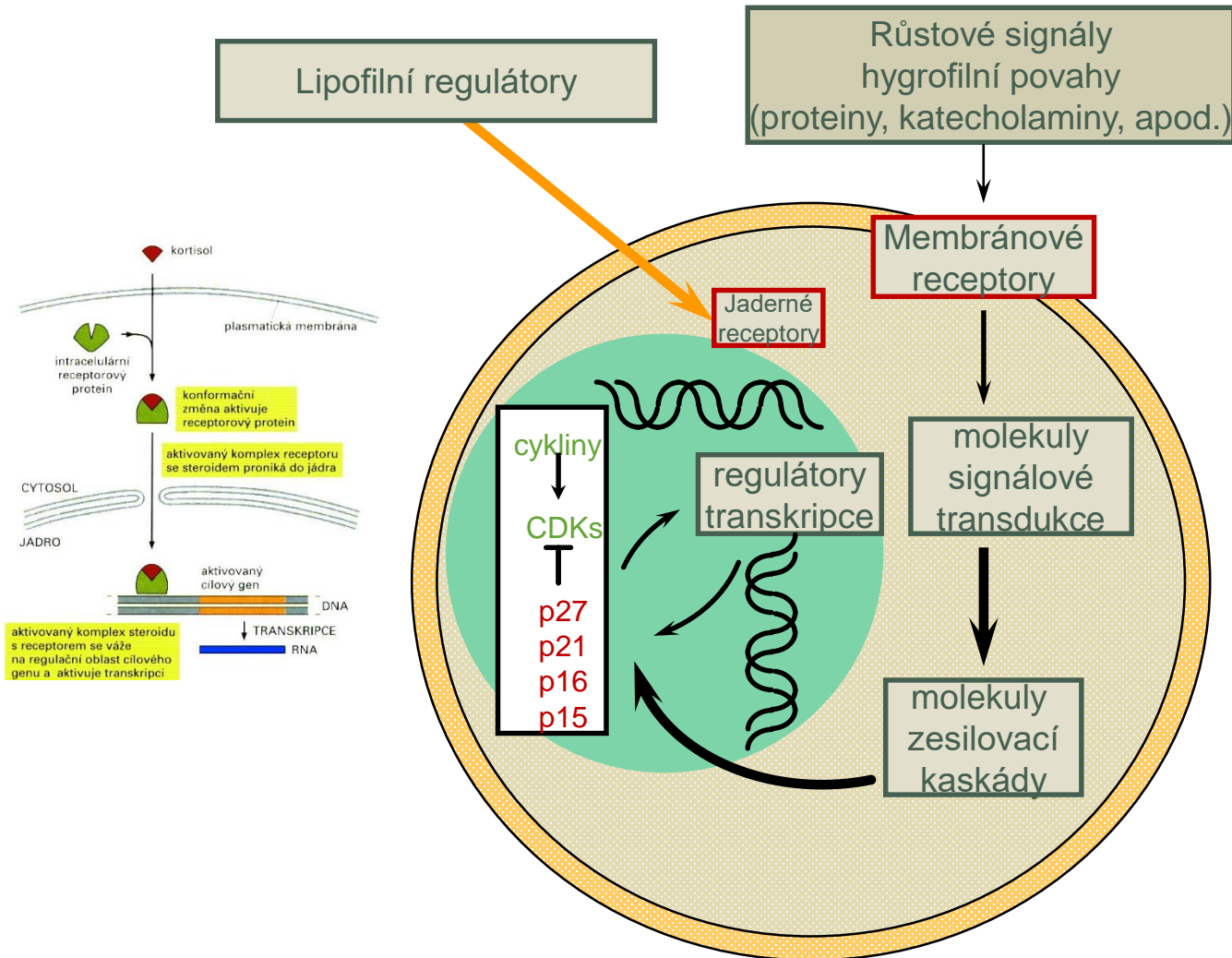


Transdukce (přenos) signálů - podstata

- ▶ Představuje **zákonitě koordinovanou** (a nesmírně rychlou) **souslednost dějů** (reakcí) vedoucích **od vnější plasmatické membrány** (návázání regulátoru -ligandu- na plasmatickou membránu anebo průchod regulátoru touto membránou) **přes cytosol k jádru** (expresi genetické informace).
Jedná se o **PŘENOS INFORMACE**.
- ▶ **Výsledkem je** zabezpečení všech fyziologických funkcí buněk a organismu včetně regulace cytokinetiky (proliferace, diferenciace a smrti buněk v čase).
- ▶ Procesu se účastní **řada regulátorů různé chemické povahy**.
- ▶ **Charakter přenosu** signálu se odvíjí se od **specifické chemické struktury** jednotlivých komponent dané signální dráhy.
Podstatou je změna konformace molekul (souslednost změn konformací).
- ▶ Jeden z **principiálních rozdílů způsobu signalizace** spočívá zejména v tom, zda má daný **regulátor** povahu **hygrofilní** (lipofóbní) anebo **hygrofóbní** (lipofilní).

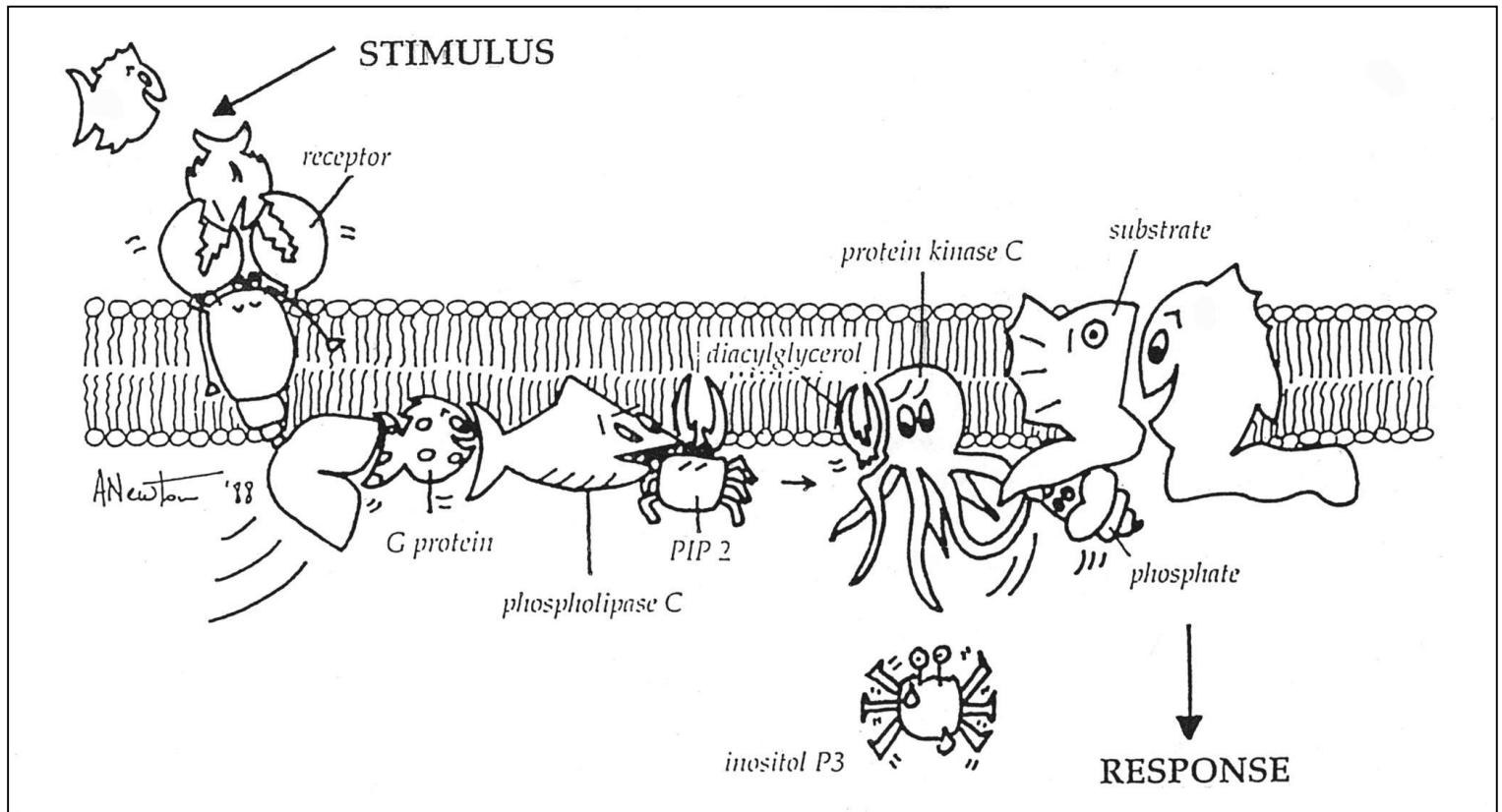
Transdukce (přenos) signálů

Způsob signalizace odvislý od chemické podstaty ligandů



Receptorem zprostředkovaná dráha aktivace

(naznačení sousledností konformačních změn)

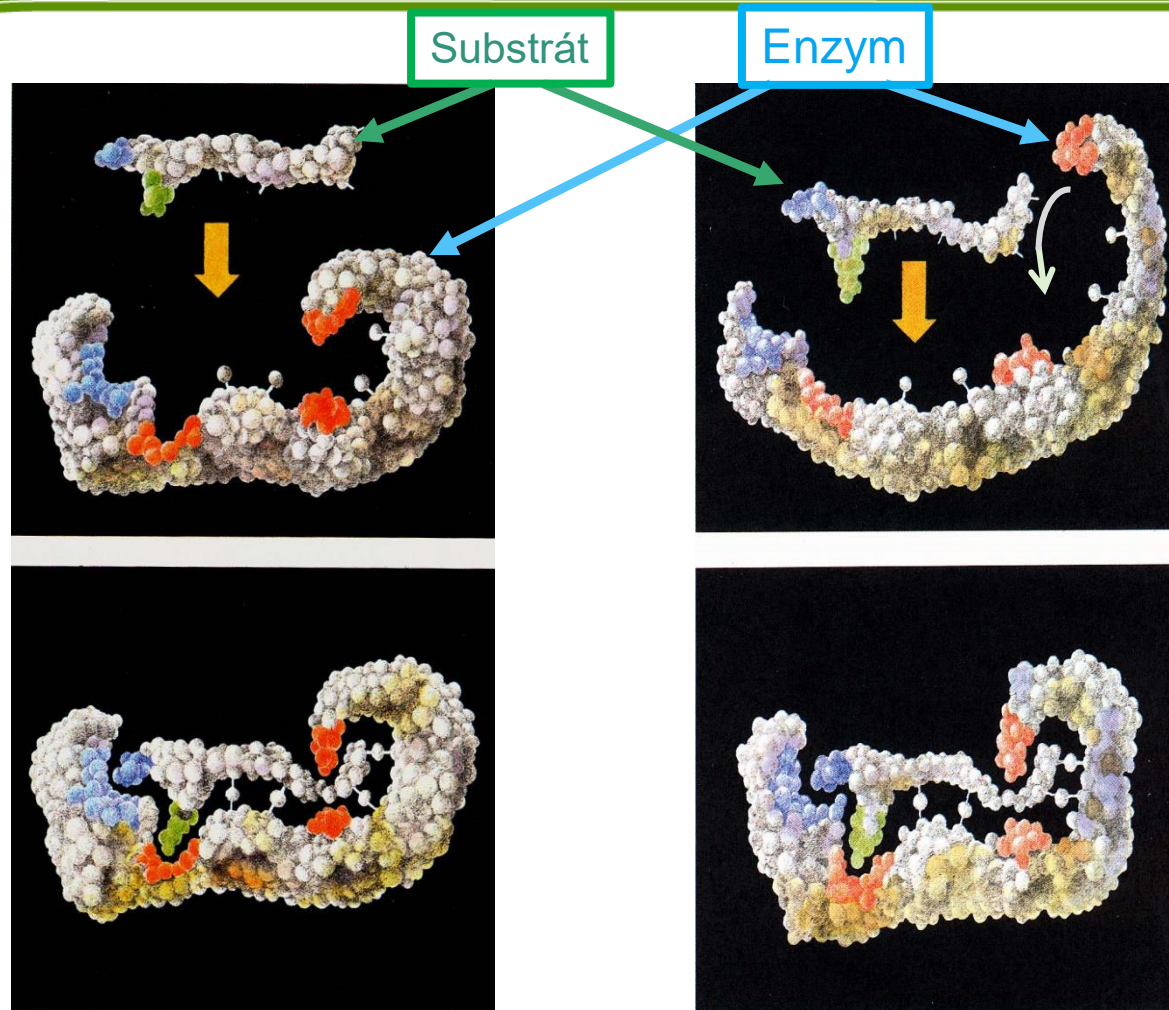


Podstatou je *změna konformace*

(jednotlivé funkce jsou neodmyslitelně spojeny se strukturami od nichž se odvozují)

PŘÍKLAD - ENZYMY

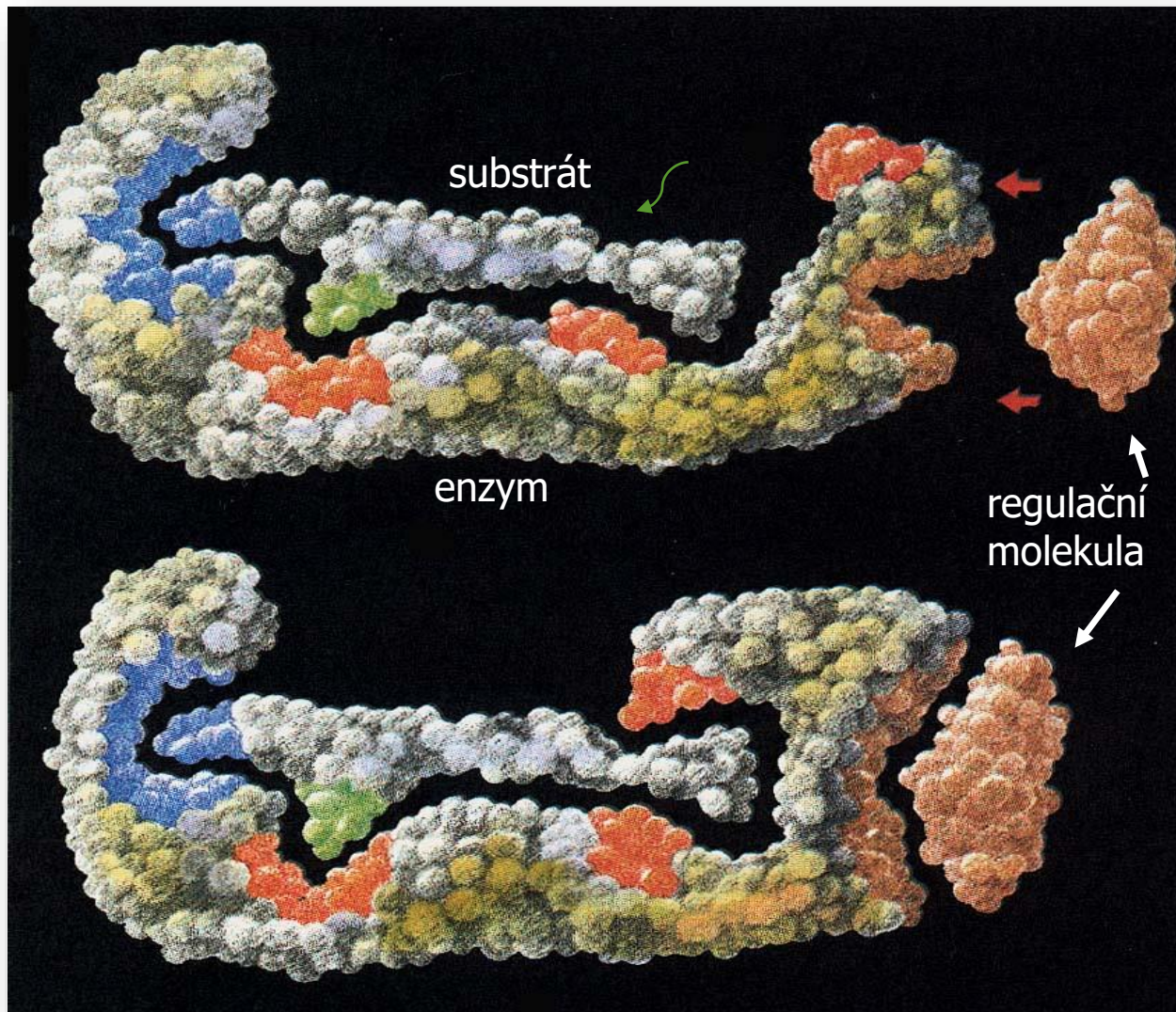
Jak vzniká komplex substrát – enzym



Substrát přesně zapadne do lůžka v molekule enzymu. V tomto lůžku ho poutají různé typy sil: hydrofobní (modrá), přitahování opačně nabitých skupin (zelená v substrátu a červená v lůžku), vodíkové můstky. Štěpená vazba se tím dostane mezi „nůžky“ silně polárních skupin (např. karboxylů).

Při „vyvolaném přizpůsobení“ je enzym teprve domodelován silami, které poutají substrát k jeho lůžku.

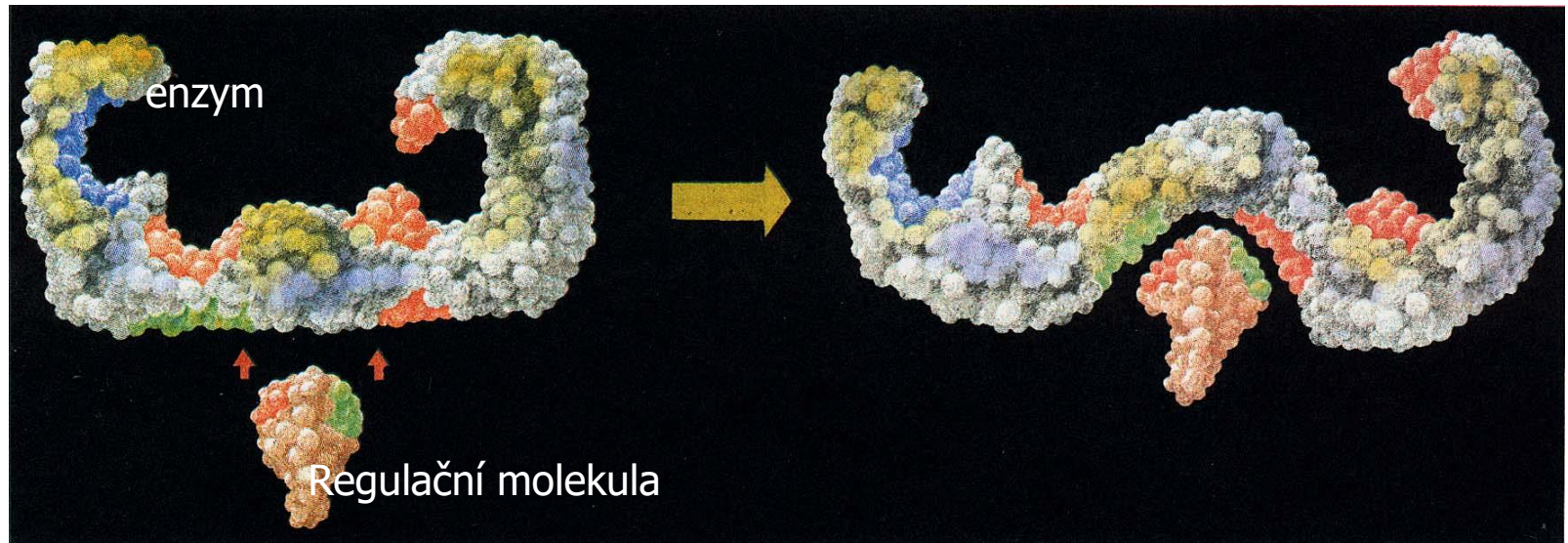
Alosterická aktivace enzymu.



Enzym sám není schopen rozštěpit substrát, neboť jeho molekula nemá správný tvar.

Teprve naváže-li se na jiné místo regulační molekula (hnědá zprava), než se váže substrát, získá funkční formu.

Alosterická inaktivace enzymu.

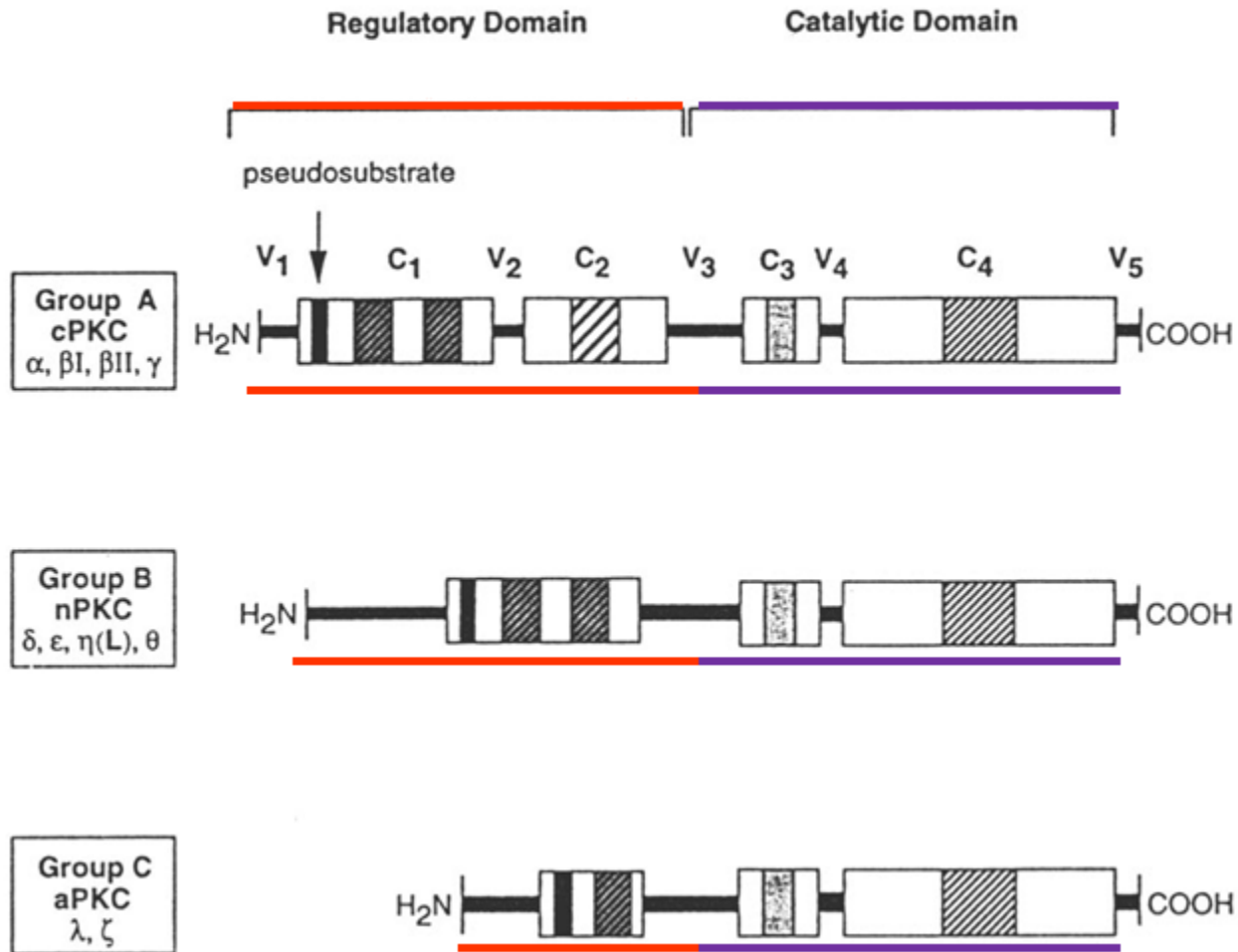


Regulační molekula se připojuje opět na jiném místě molekuly enzymu, než kam se váže substrát.

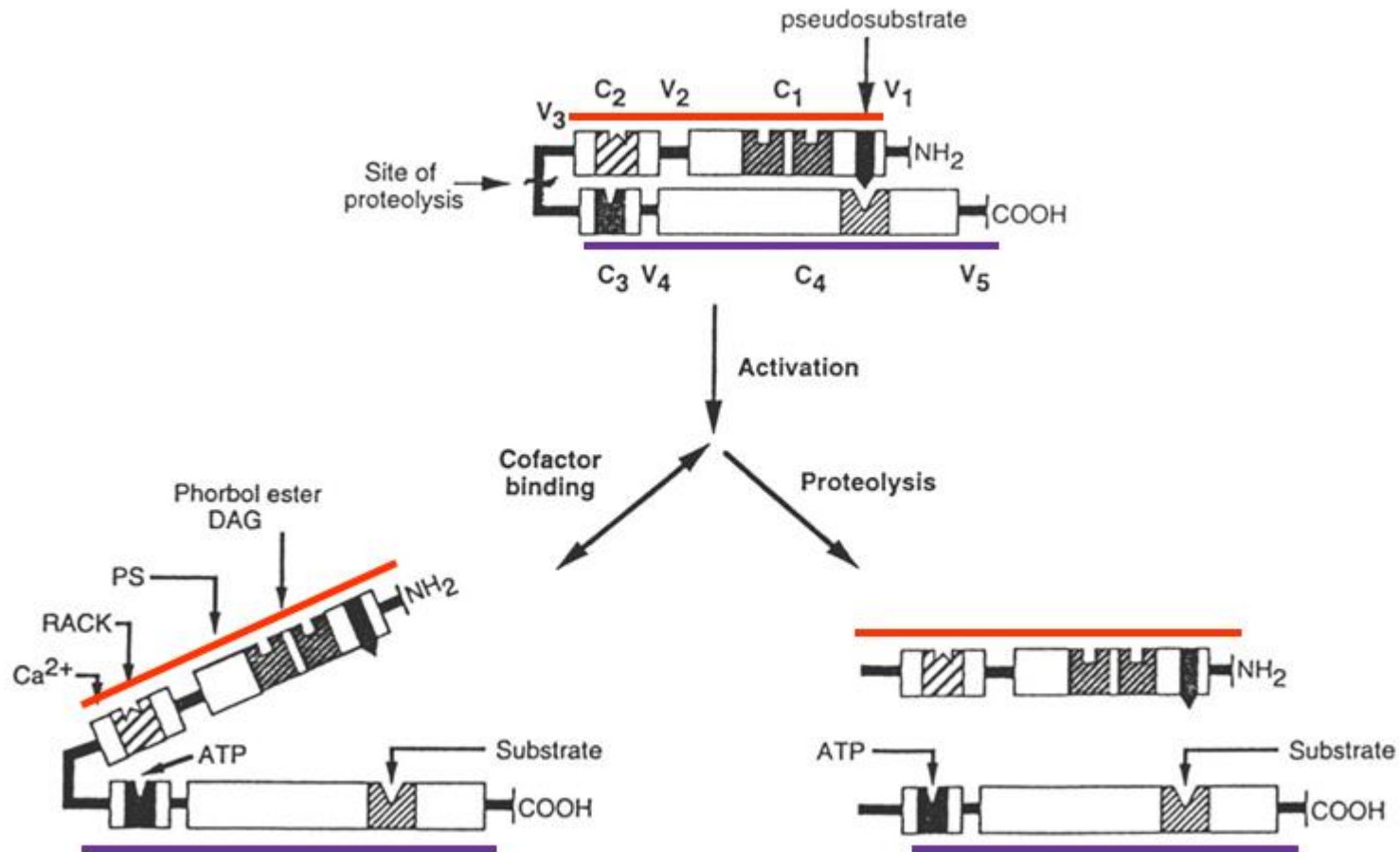
Tím se liší od pouhého blokování lůžka, které může způsobit látka podobná substrátu (soutěživá čili kompetitivní inhibice).

Alosterická inaktivace patří k regulačním pochodům. Může ji vyvolat jen zcela určitá látka, ta, která svými vlastnostmi *přesně odpovídá* místu, na které se váže.

Struktura izoform protein kinázy C (PKC) - schéma



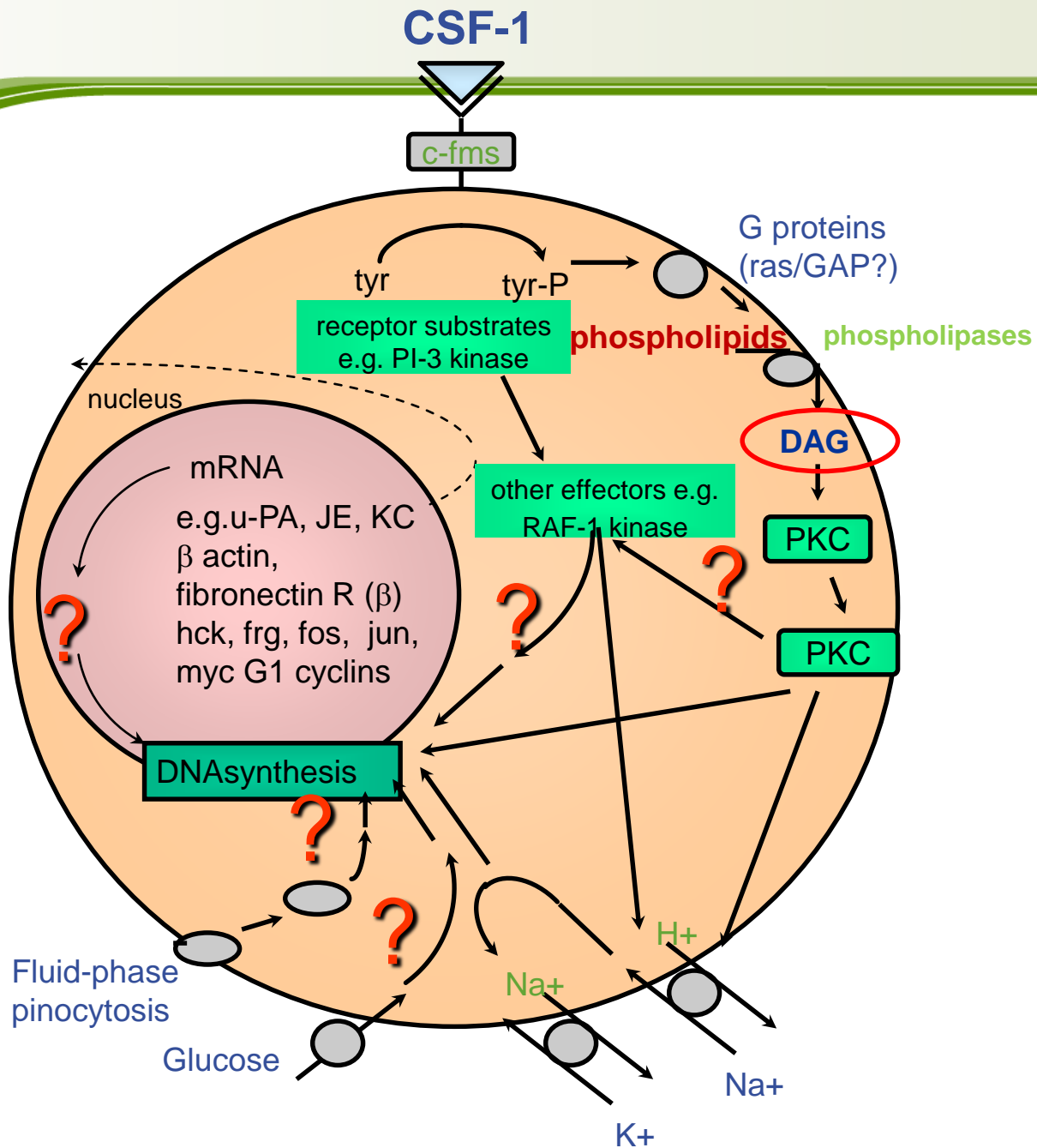
Model aktivace protein kinázy C



A. Basu: Pharmacol. Ther., 59 (3), 257-280, 1993

Buněčné signalizace obecněji

**s důrazem na
metabolismus fosfolipidů**



Pět mezibuněčných paralelních signálních drah aktivovaných receptory svázanými s G-proteiny, tyrozin kinázovými receptory nebo oběma typy

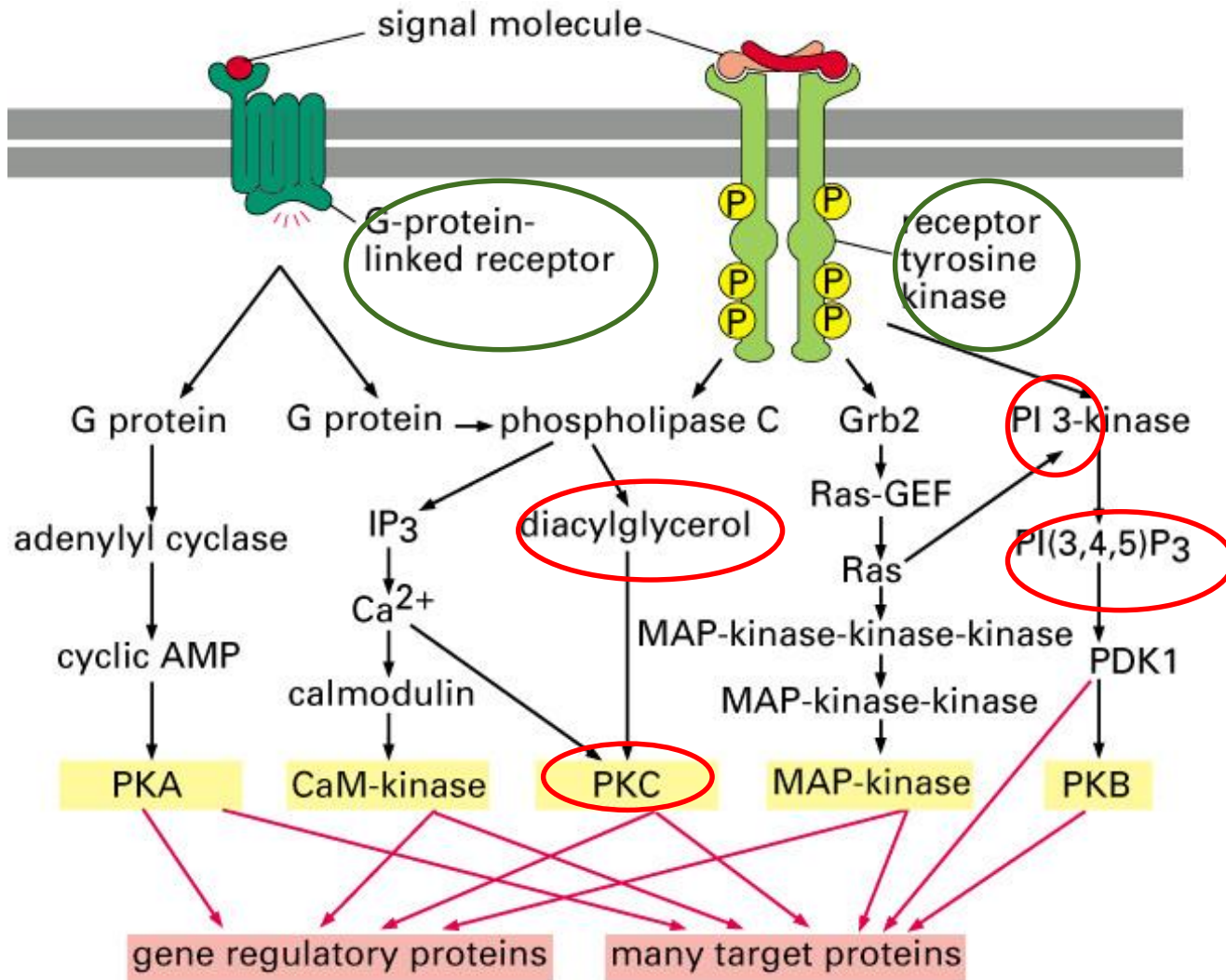
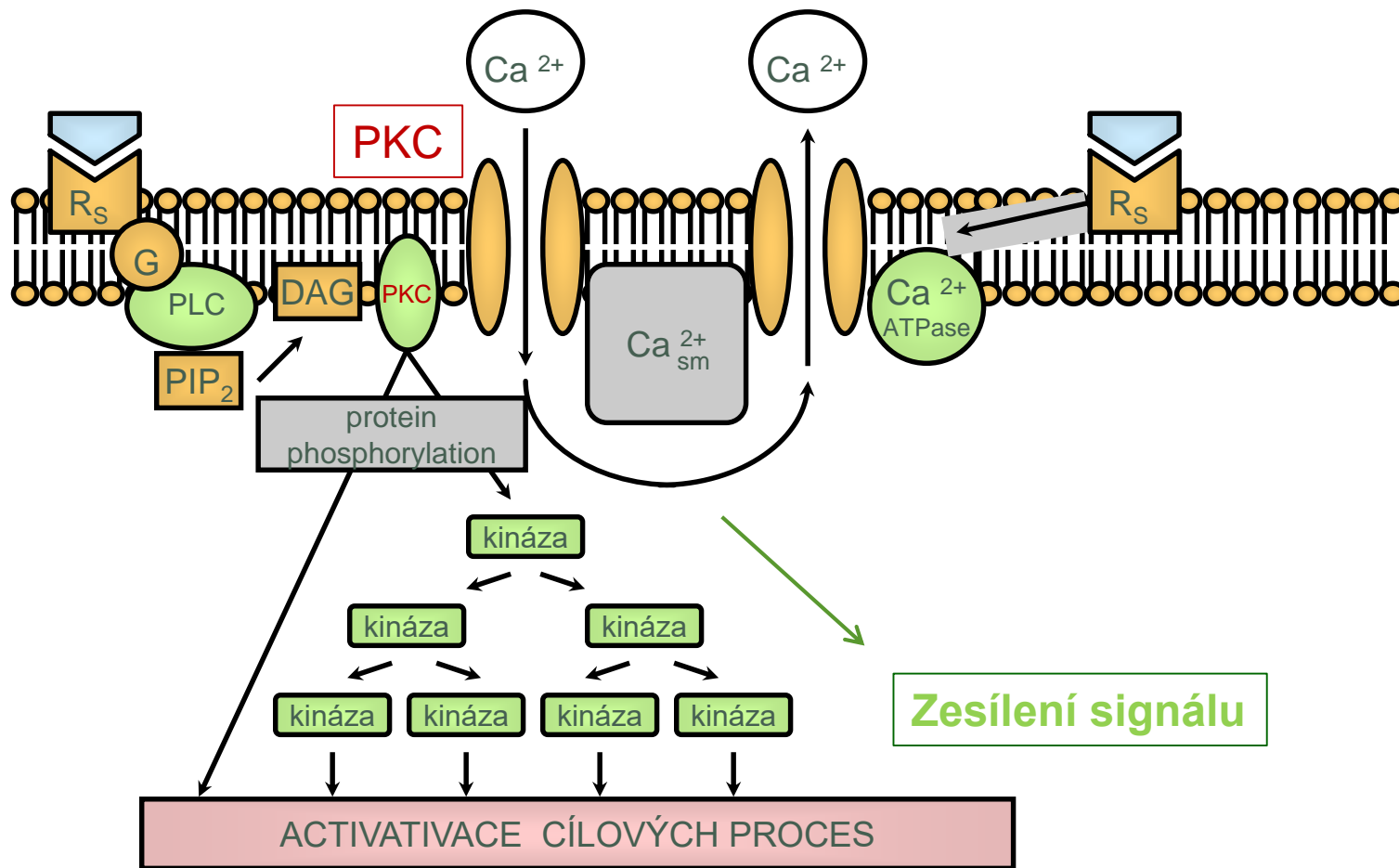
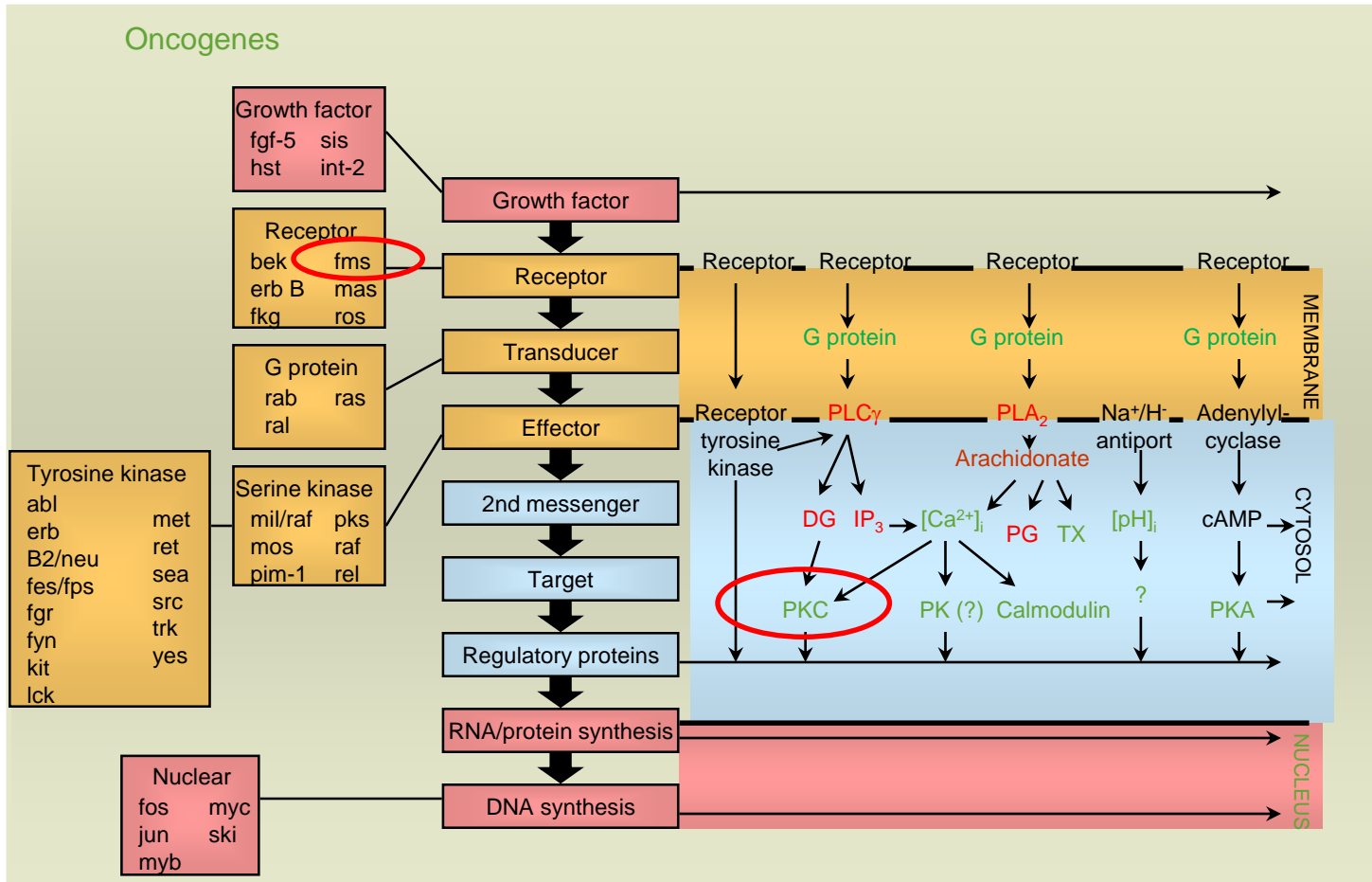


Figure 15-61. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Kaskáda proteinových kináz v přenosu signálu



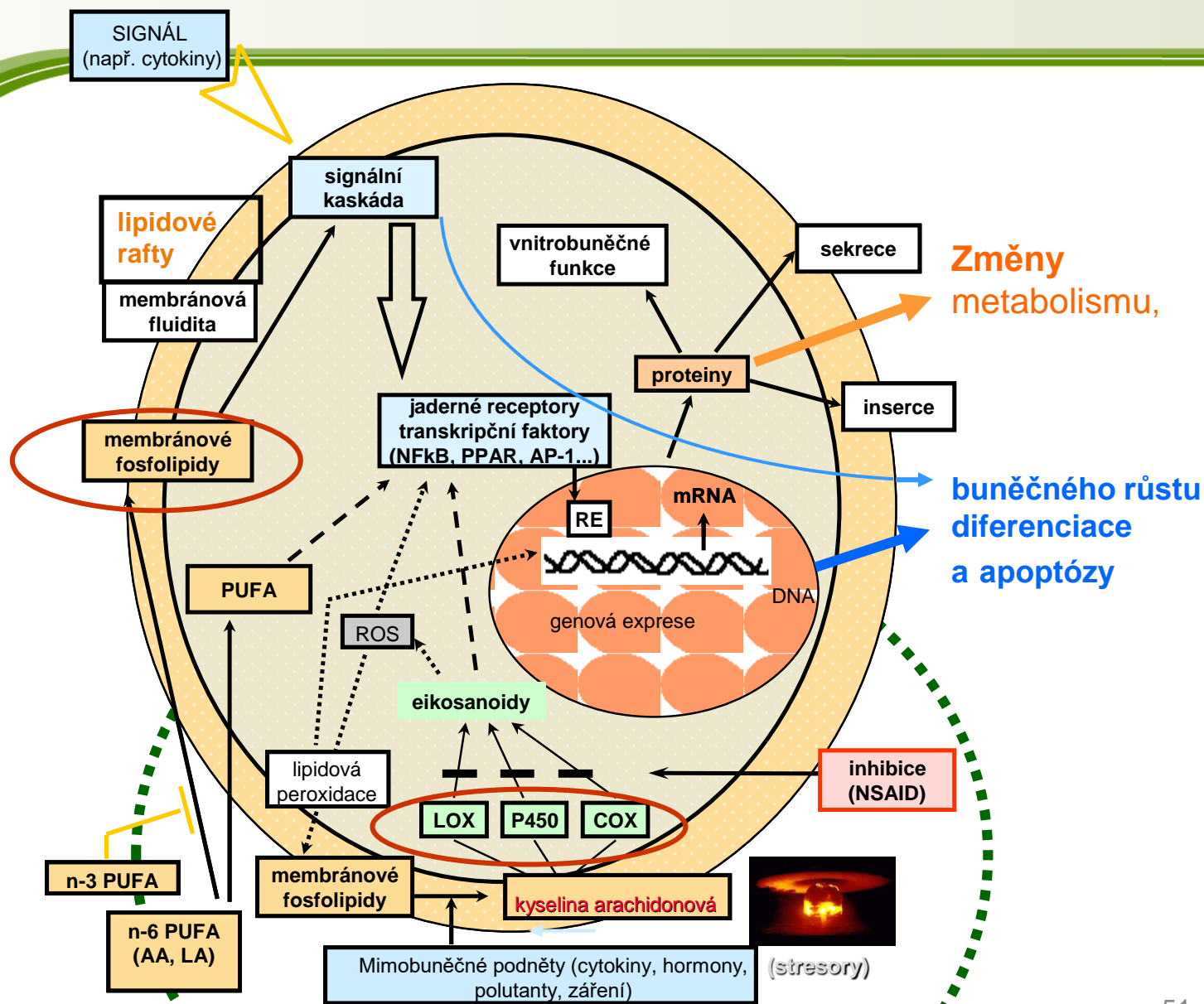
Jednotlivé úrovně signálních kaskád s naznačením zapojení fosfolipidových komponent



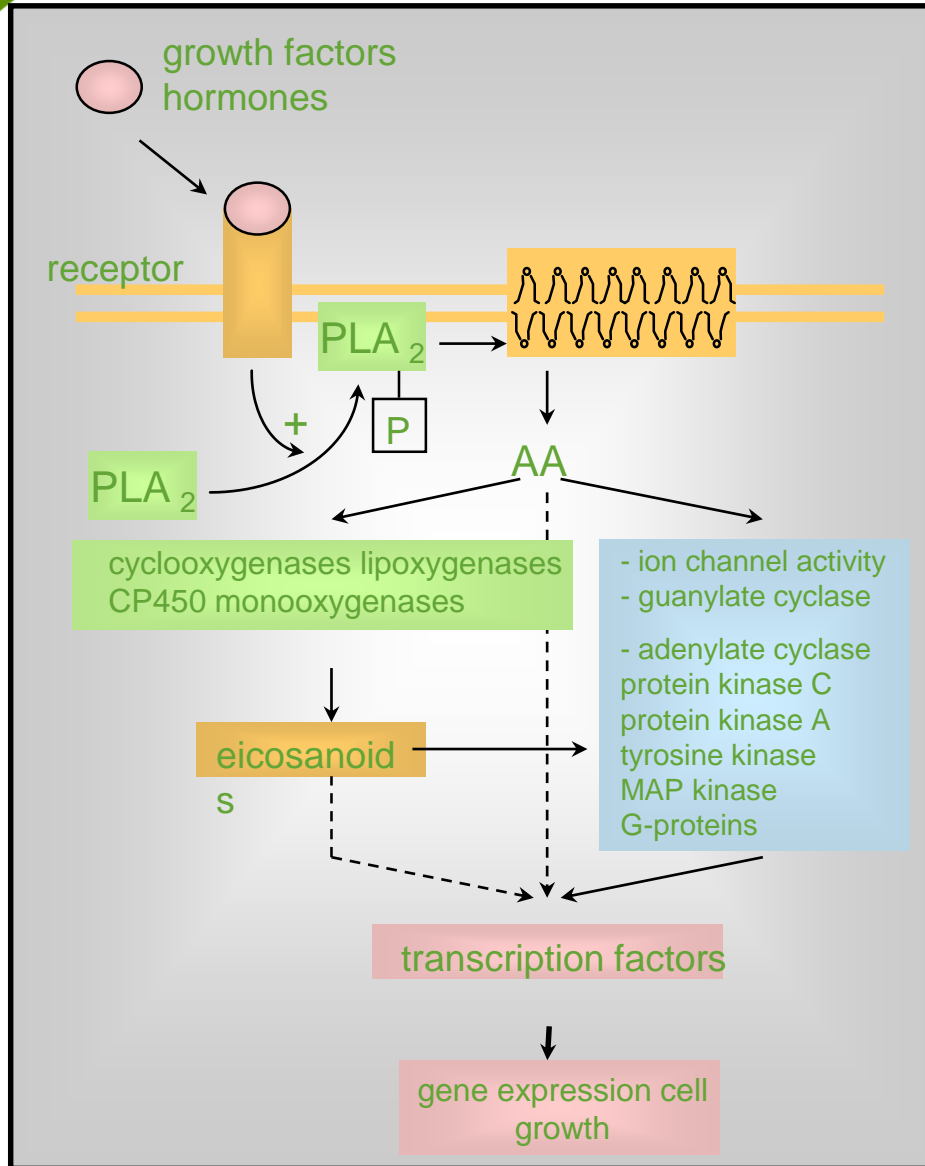
podle: G.Powis: TiPS; 12: 188 -194, 1991

MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY působení ω -3 a ω -6 VNMK

(mediátory a modulátory buněčné signalizační sítě)

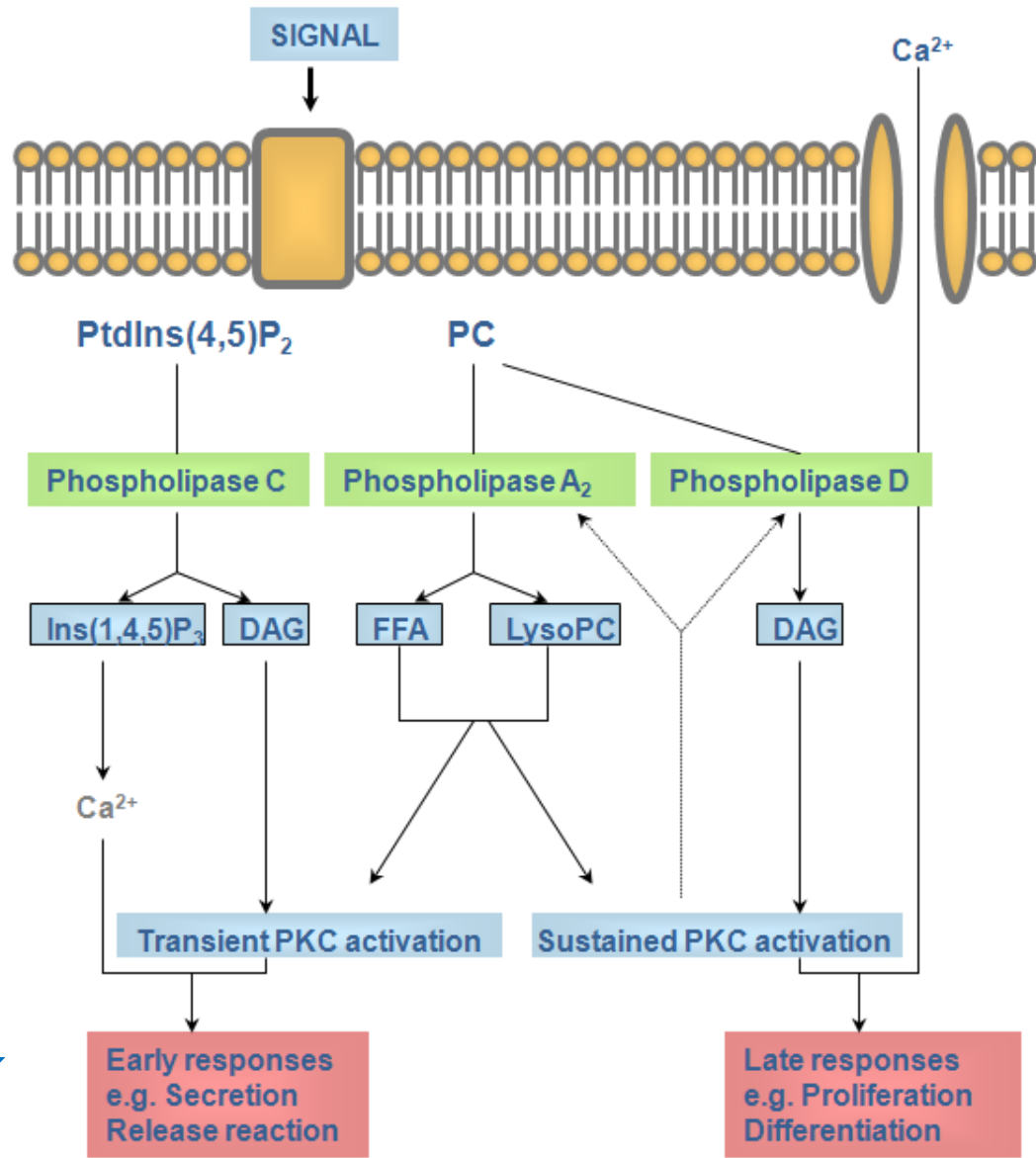


Zjednodušené schéma úlohy eikosanoidů v buněčných signalizacích



According to: A. Sellmayer et al.:
Prostaglandins, Leukotrienes and
Essential Fatty Acids ;
57: 353 - 357, 1997.

Časové hledisko: efekt je závislý na délce působení



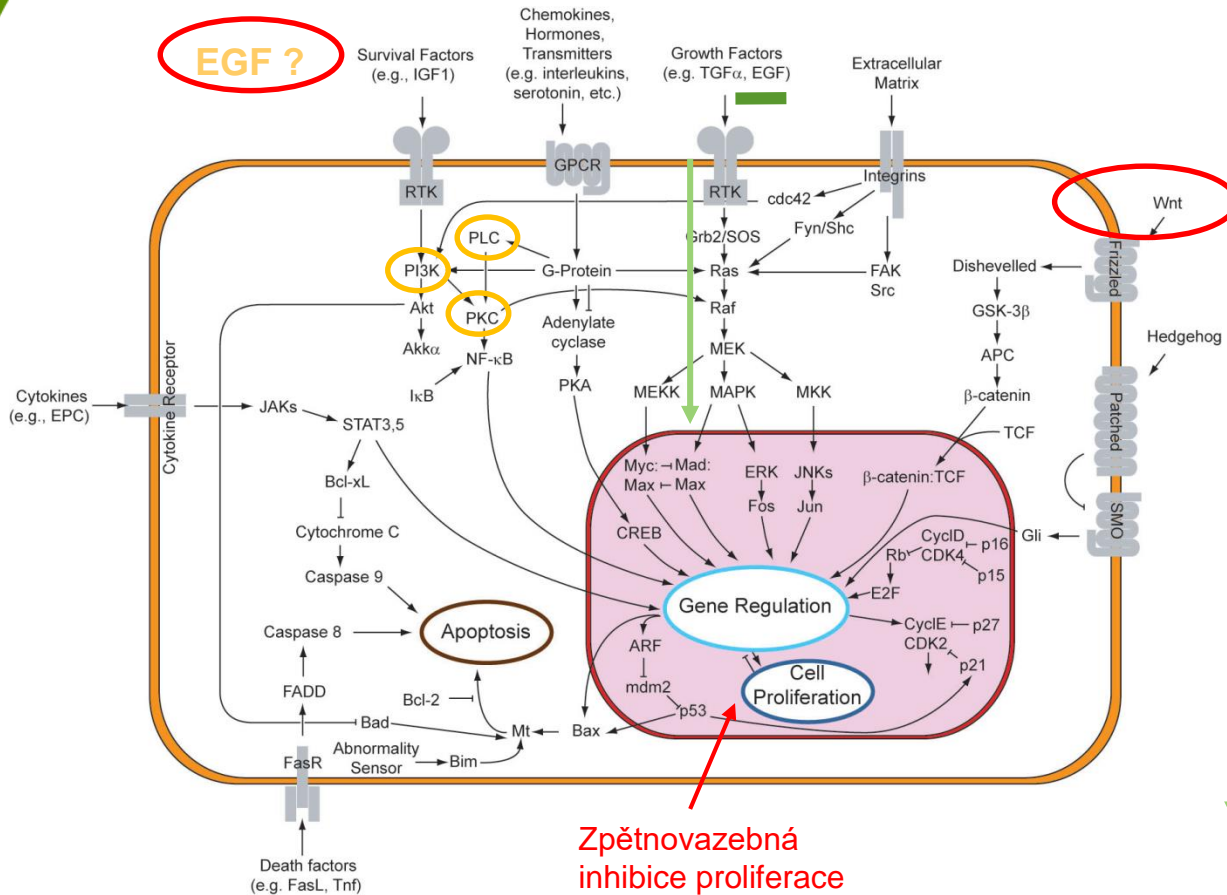
doba působení

Jednotlivé signální dráhy
bývají mezi sebou propojeny.

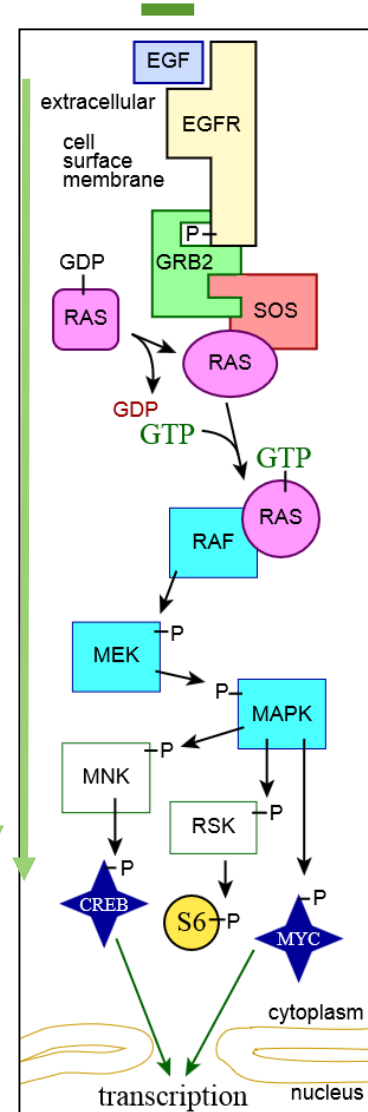
Mohou interagovat, „spolupůsobit“.

Přehled klíčových signálních drah

Key components of a signal transduction pathway (MAPK/ERK pathway shown)

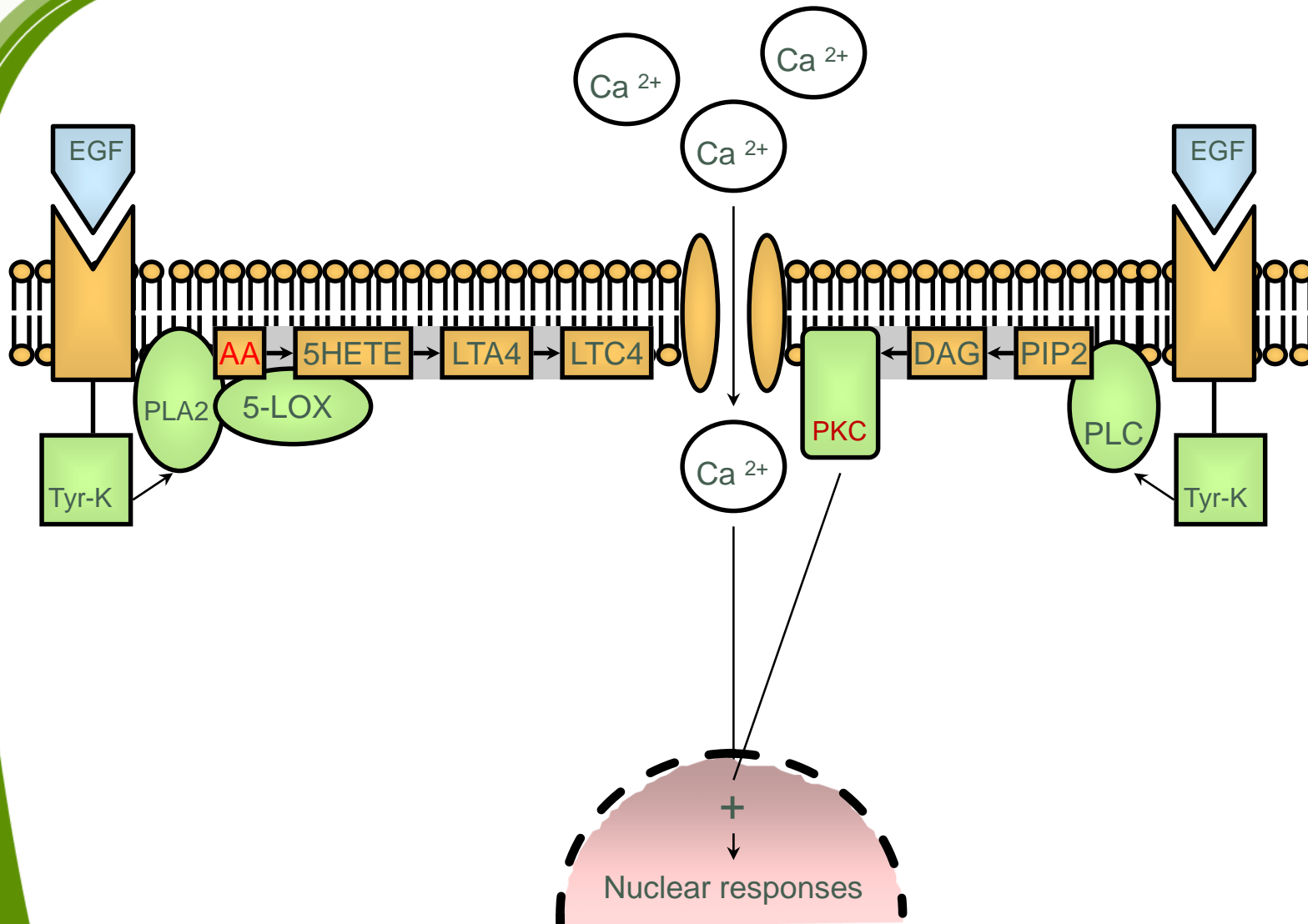


Zpětnovazební
inhibice proliferace



https://en.wikipedia.org/wiki/Cell_signaling

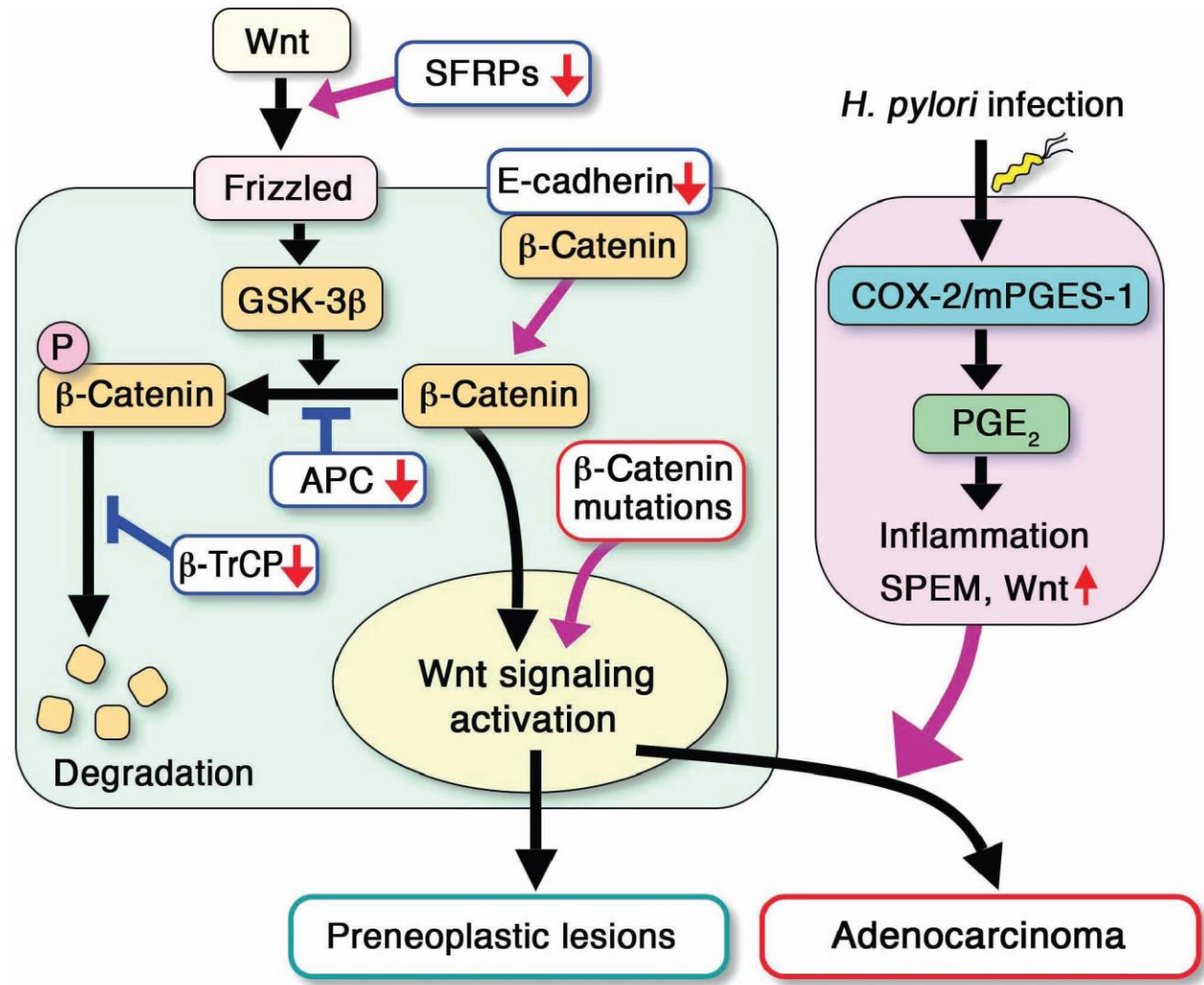
Přenos signálu Epidermálního Růstového Faktoru (EGF) modulovaný metabolity kyseliny arachidonové (AA)



EGF: epidermální růstový faktor, PLA2: fosfolipáza A2, AA: kyselina arachidonová, 5-LOX: 5-lipoxygenáza, 5HETE: 5 hydroxykyselina, LTA4, C4: leukotrien A4, C4, PKC: protein kináza C, DAG: diacylglycerol, PIP2: fosfoinositoldifosfát, PLC: fosfolipáza C, Tyr K: tyrosin kináza

Prostaglandin E₂, Wnt, and BMP in gastric tumor mouse models

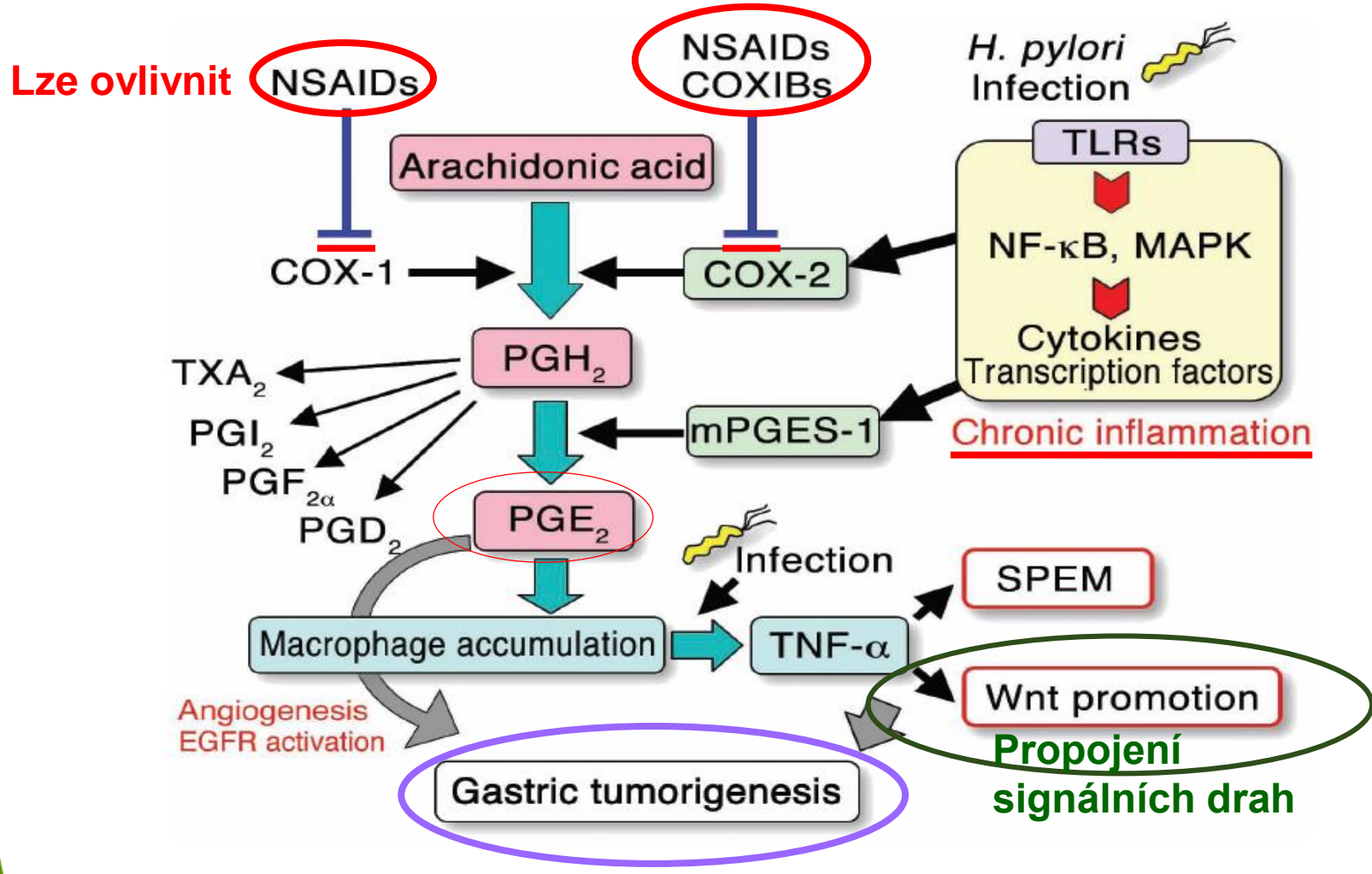
Příklad propojení (Wnt dráha a její modulace eikosanoidy)



(Cancer Sci 2009; 100: 1779–1785)

Prostaglandin E₂, Wnt, and BMP in gastric tumor mouse models

Nadměrná produkce PGE₂ podporuje v žaludku a kolonu vznik nádorů

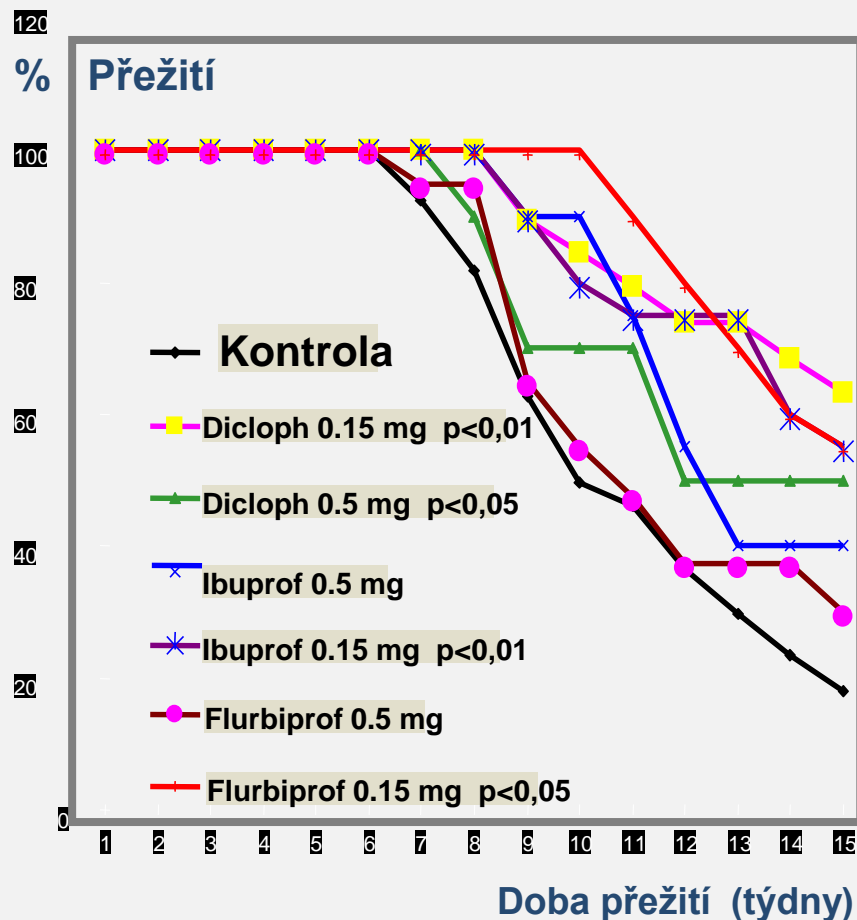


(Cancer Sci 2009; 100: 1779–1785)

Vlastní výsledky - Příklad praktického využití NSAIDs

COX2 **metabolity** mohou v závislosti na typu tkáně dělení buněk **stimulovat**, ale i **inhibovat** jako např. b. krvetvorné. NSAIDs **inhibují COX2 a působí protizánětlivě** (2 mechanismy)

Působení několika strukturálně odlišných NSAIDs na nádorové buňky (G:5:113) *in vivo*



Všem zvířatům (MYŠÍM) byly v několika režimech injikovány nádorové buňky fibrosarkomu (G:5:113) a sledováno jejich PŘEŽÍVÁNÍ.

Výsledky neovlivněných (kontrolních) zvířat byly srovnávány s odpovědí pokusných-ovlivněných zvířat PO TERAPII INHIBITORY COX.

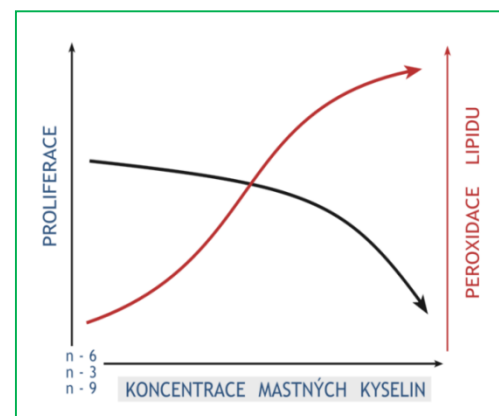
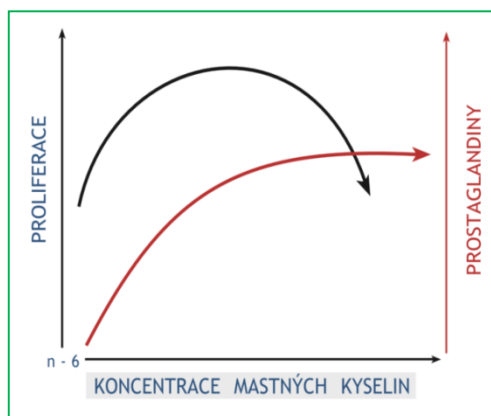
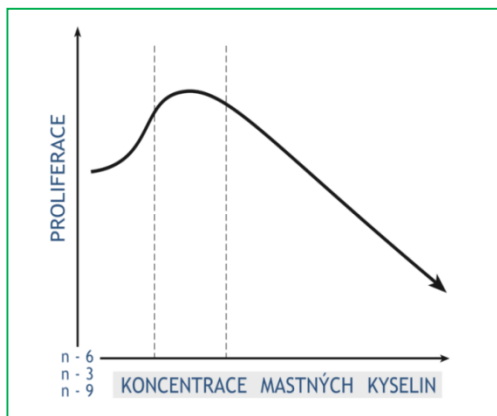
VŠECHNY HLAVNÍ KOMPONENTY SPOLUPŮSOBÍ

Otázkou je charakter interakcí

Efekty závisí na koncentraci

VLIV KONCENTRACE NENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN (VNMK) NA PROLIFERACI NÁDOROVÝCH BUNĚK – shrnutí (do r. 1985)

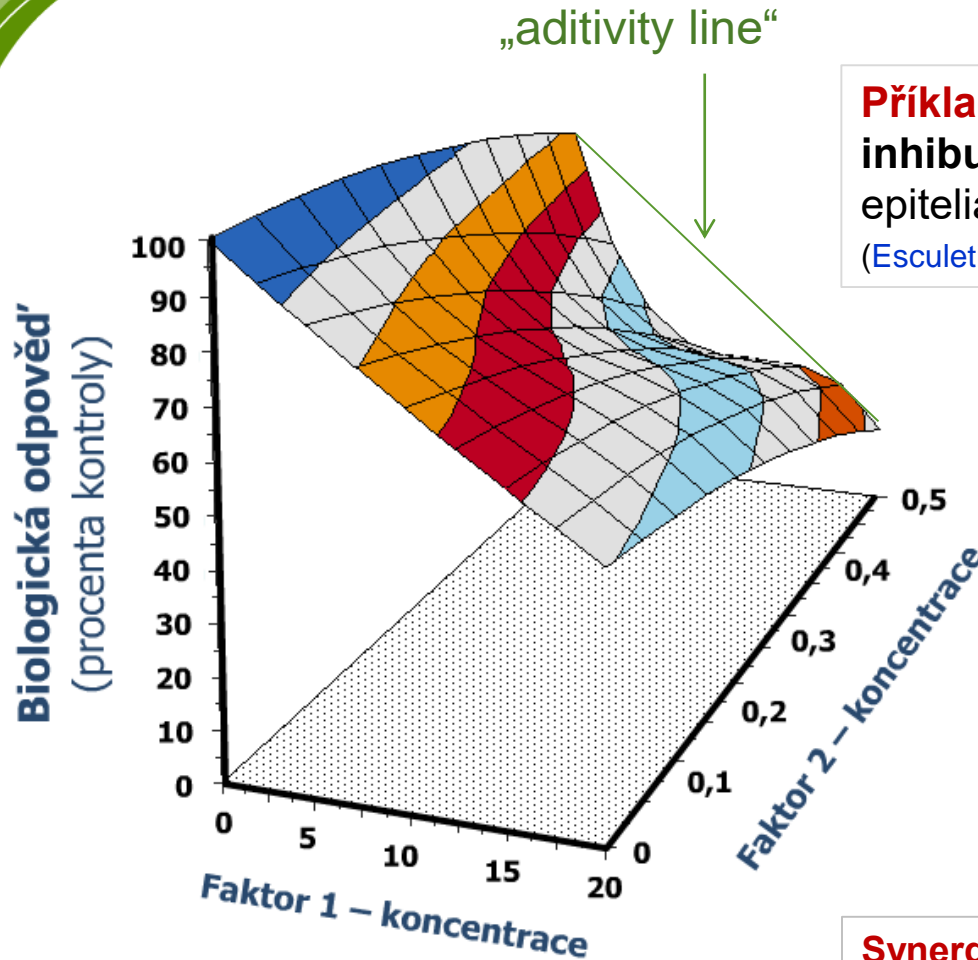
(„FATTY ACID PARADOXES“)



U modelových krvetvorných (nádorových) populací mohou VNMK generovat jak \oplus tak \ominus signál na proliferaci

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

V reálném prostředí jednotlivé faktory spolupůsobí v různých koncentracích



Příklad interakce dvou faktorů inhibujících proliferaci epitelálních buněk CCL64 (%) (Esculetin = Faktor 1) a (TGF- β 1= faktor 2)

Interakce závisí na koncentraci látek a mohou mít různý charakter (antagonistický, aditivní, synergický)

Synergické působení a nelineární charakter odpovědi jsou zjevné po kombinaci vyšších koncentrací obou faktorů.

Fosfolipidy a zejména jejich složky

vysoce nenasycené kyseliny (PUFA), včetně jejich metabolitů **eikosanoidů**, patří mezi významné epigeneticky působící faktory schopné ovlivnit jak dělení a zánik normálních, ale i transformovaných buněčných populací, tak proces maligní transformace.

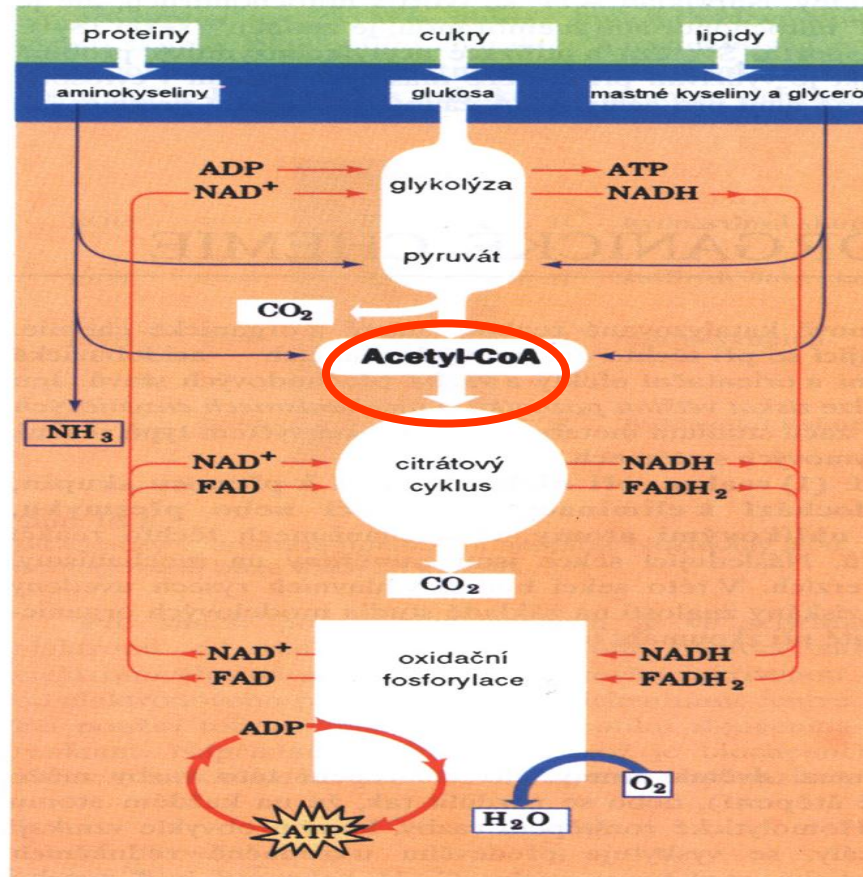
Hlavní mechanismy působení PUFAs

- 1) přímé ovlivnění aktivity transkripčních faktorů regulujících expresi genů významných z hlediska cytokinetiky
- 2) produkce eikosanoidů působících na přenos signálů růstových regulátorů, cytokinů a imunitní systém
- 3) produkce reaktivních kyslíkových metabolitů vznikajících peroxidací lipidů.

Praktické dopady

Význam **lipidových** komponent
(**a metabolismu**)
pro zachování homeostázy, zdraví a
regeneraci organismu *in vivo*

Hlavní dráhy intermediárního metabolismu

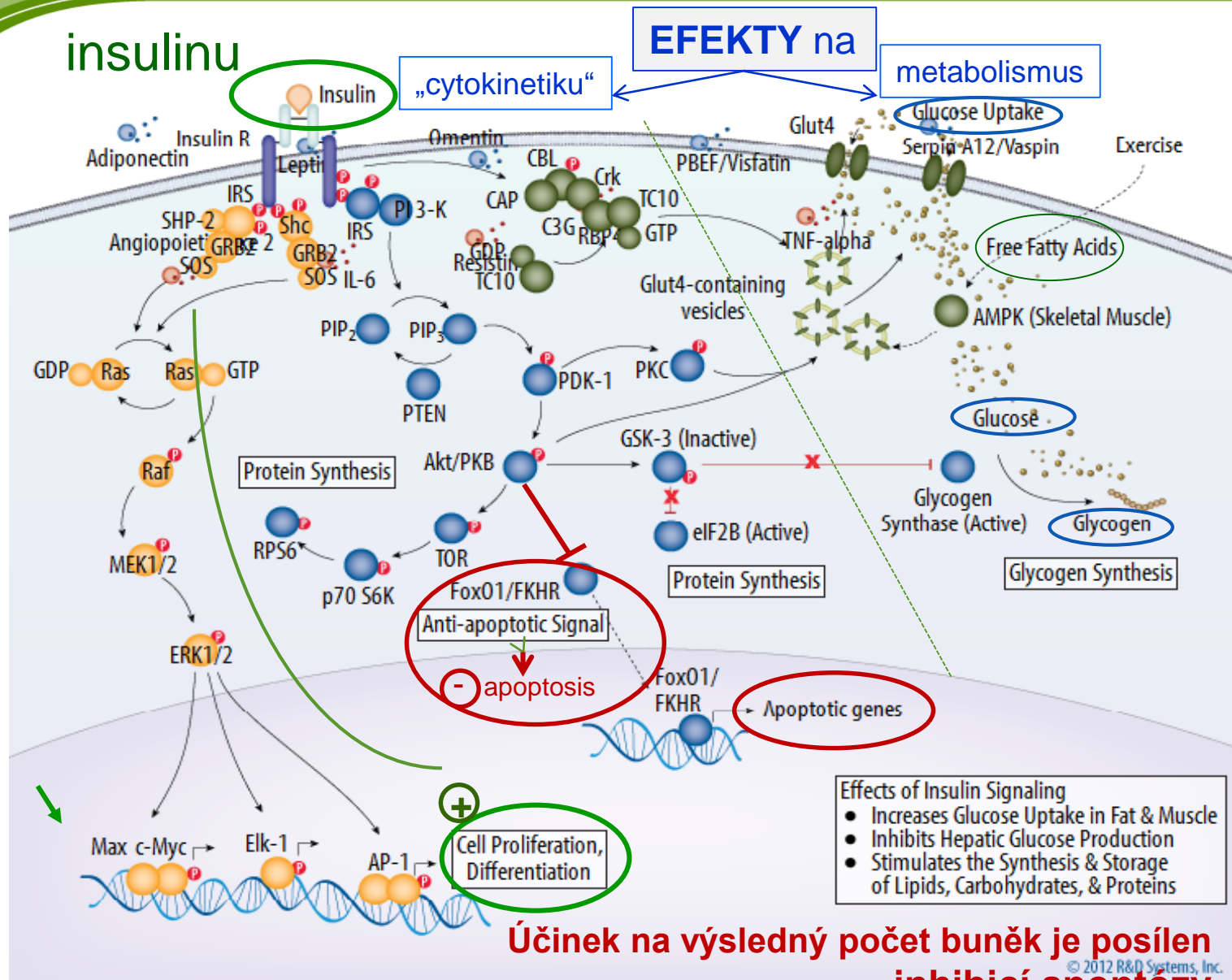


Obr. 15-3

Složité metabolity, jako jsou sacharidy, lipidy a proteiny, jsou nejprve degradovány na své monomerní jednotky, hlavně glukosu, mastné kyseliny a aminokyseliny, a dále na společný meziprodukt – acetyl-CoA. Acetylová skupina je poté oxidována kyslíkem na oxid uhličitý přes citrátový cyklus za současné redukce NAD⁺ a FAD. Reoxidace těchto koenzymů přes řetězec přenosu elektronů a oxidační fosforylaci vede ke vzniku vody a ATP.

(Dále viz ox. fosforylace - OxPhos)

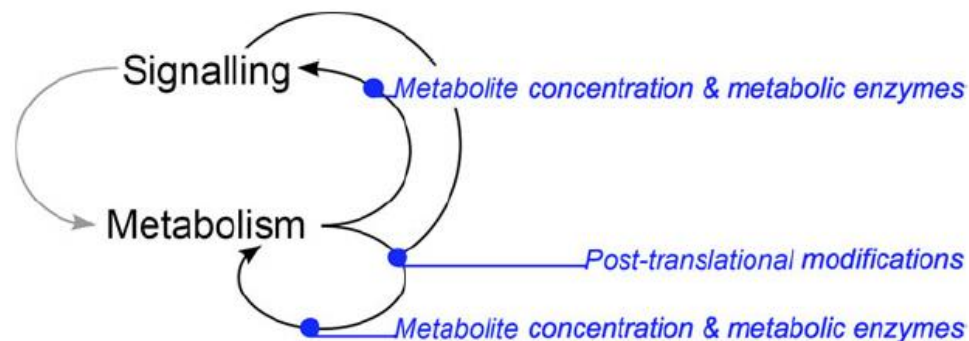
Příklad komplexního zpětnovazebného působení



Insulin generuje pozitivní signál na proliferaci

Účinek na výsledný počet buněk je posílen inhibicí apoptózy

Metabolity a meziprodukty enzymových reakcí zpětná vazba (metabolismus – b. „signálování“)

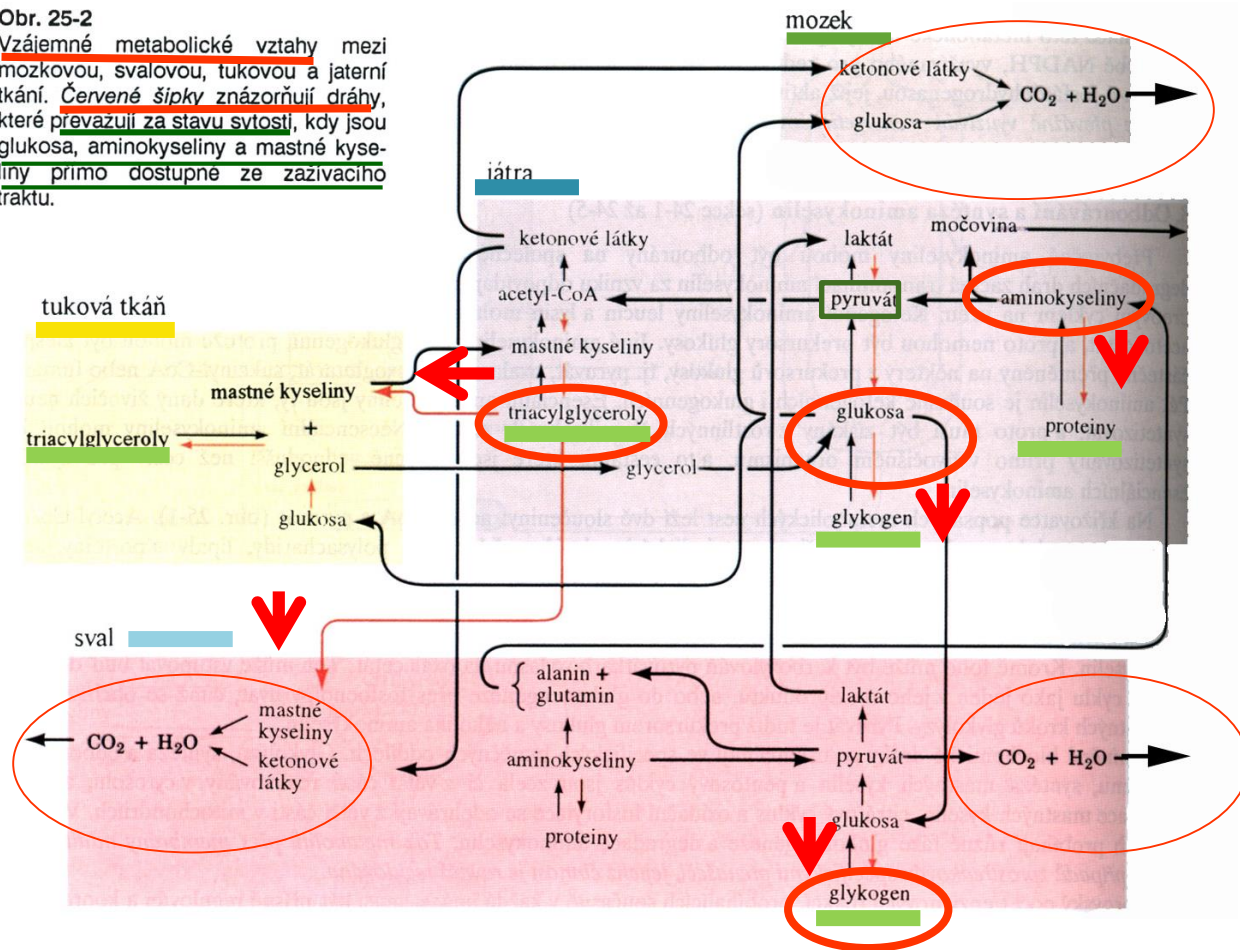


- ▶ alosterická kontrola enzymatické aktivity;
- ▶ **intracelulární metabolity často kontrolují post-translační modifikace** (aktivitu) klíčových proteinů – **signální proteiny i metabolické enzymy**
- ▶ **glukóza je substrátem** pro tvorbu UDP-N-acetylglukosaminu (UDP-GlcNac) – nezbytná pro **glykosylaci receptorů** (folding, transport) růstových faktorů; tvorba acetylkoenzymu A (aktivita ACL) je klíčová pro acylaci histonů – tvorba klíčových enzymů a kofaktorů;
- ▶ hladina **esenciálních aminokyselin** kontroluje aktivitu **mTOR komplexu1**. Pozn.: **Reguluje** růst, proliferaci, b. motilitu a přežívání, autofágii, syntézu proteinů a transkripci. Funguje rovněž jako tyrosin kináza aktivující insulinové receptory;

Metabolické vztahy mezi tkáněmi

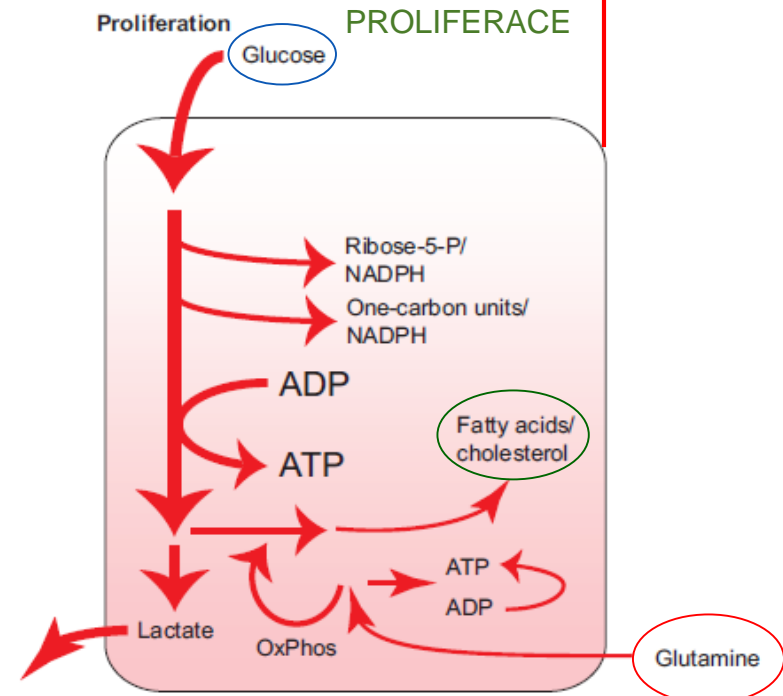
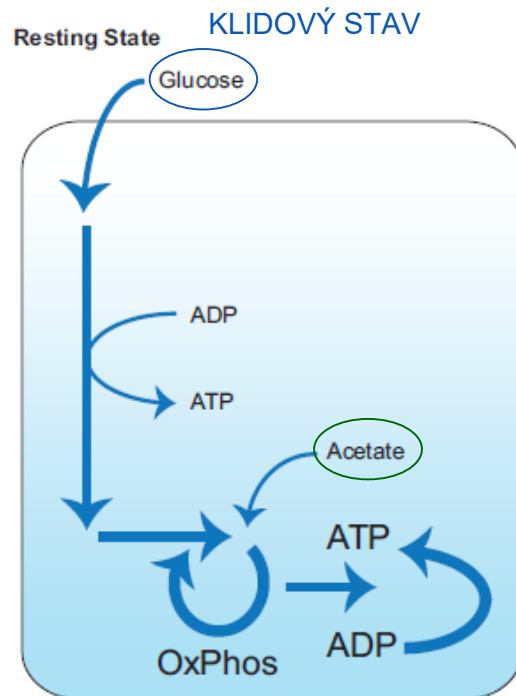
(STAV SYTOSTI)

Obr. 25-2
 Vzájemné metabolické vztahy mezi mozkovou, svalovou, tukovou a jaterní tkání. Červené šipky znázorňují dráhy, které převládají za stavu sytosti, kdy jsou glukosa, aminokyseliny a mastné kyseliny přímo dostupné ze záživacího traktu.



Adaptace metabolismu u proliferujících buněk

- ▶ **proliferující buňky vyžadují** nejen **energii**, ale i velké množství **substrátů** pro **anabolické reakce**;
- ▶ **intenzivní aerobní glykolýza** - podpora syntézy buněčných makromolekul,
- ▶ kofaktorů apod. – **komplexní přestavba buněčného metabolismu** včetně metabolismu **lipidů** a **glycidů**;
- ▶ **Jak je možné energetickou rovnováhu zajistit?**



„Úloha lipidů ve fyziologii a patofyziologii buněk“

POTRAVA: Základní podmínka existence, zdroj živin (E), základ veškerých regulací

Významné je Složení (kvalita), Množství

Časové rozložení (frekvence příjmu) potravy

(FOSFOLIPIDY vs. NEUTRÁLNÍ TUKY)

Má vliv na modulaci lipidového a celkového metabolismu a růstové vlastnosti tkání.

(důležité zejména po poškození a za stresu)

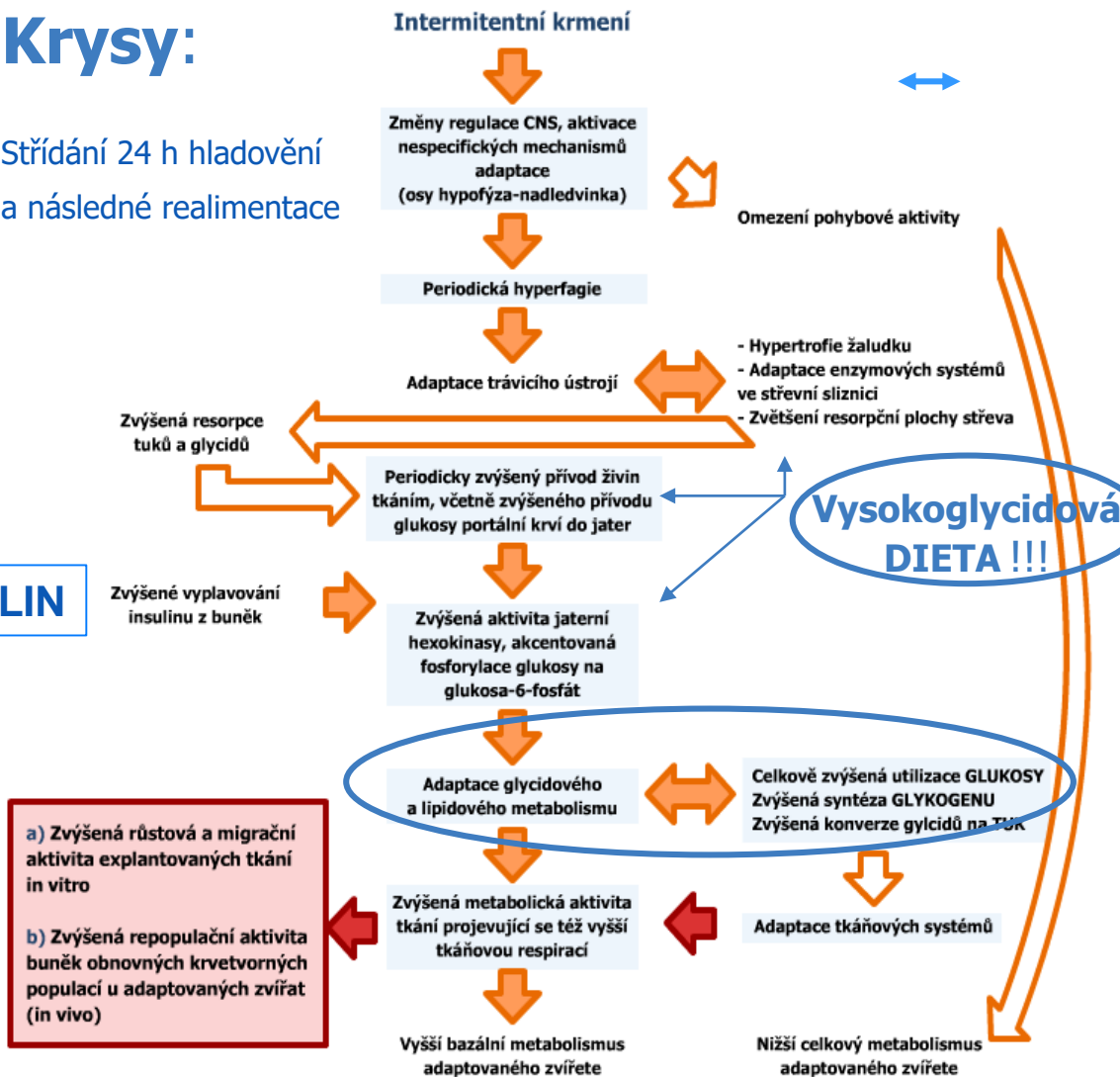
IF- Intermittentní krmení (intermittent feeding/fasting)

(Pokusy z 50.-60. let 20.stol.)

Krasy:

Střídání 24 h hladovění a následné realimentace

INSULIN



Důsledky modulace pomocí potravního režimu

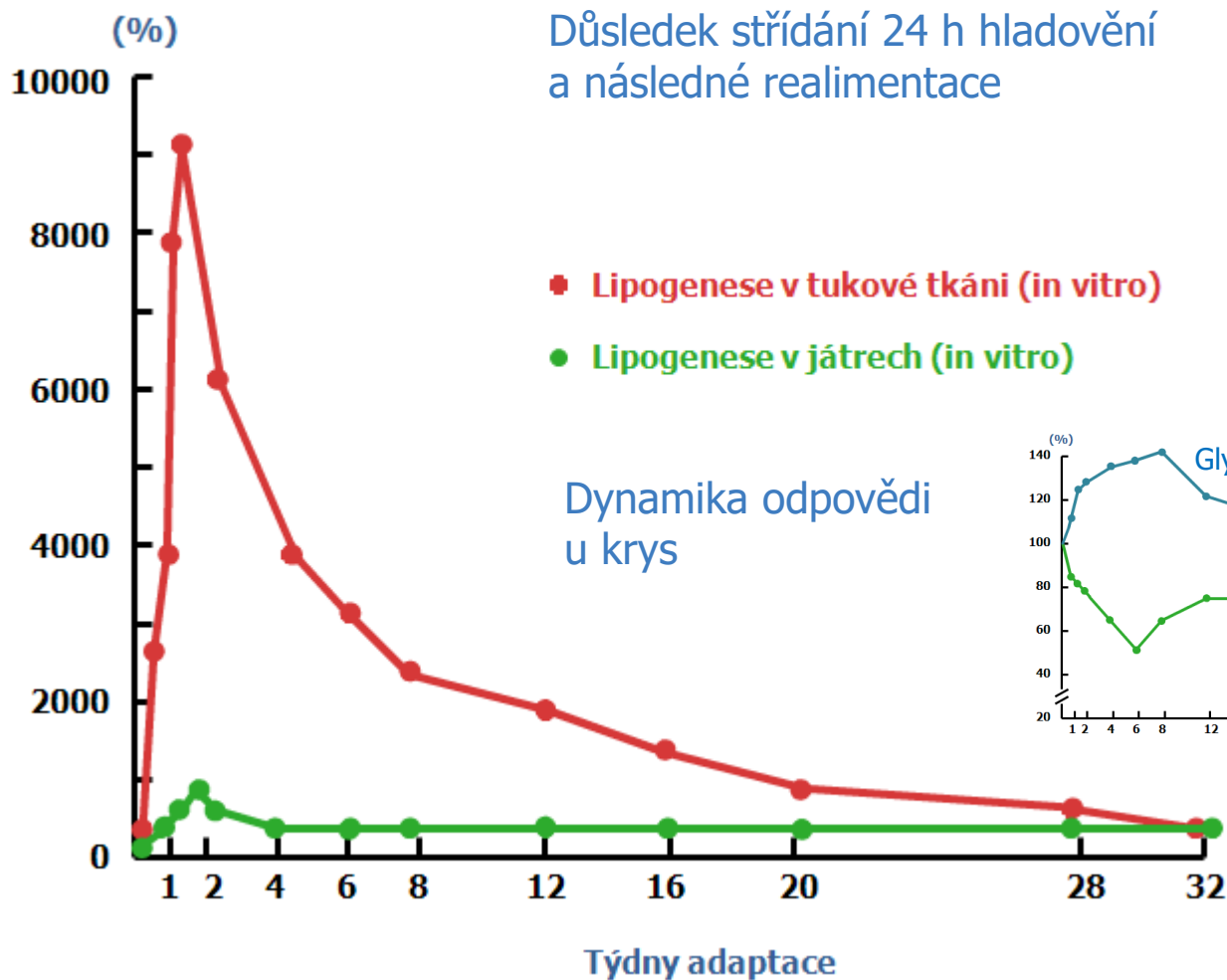
IF ?

je nutriční model spočívající ve změně frekvence příjmu potravy

↓
Významně moduluje metabolismus všech živin (zejména však energetický a lipidový metabolismus)

Současně **významně moduluje růstové vlastnosti tkání**

Adaptace buněčného metabolismu – játra a tuková tkáň - - orgány intenzivního metabolismu (lipogeneze, glykogenosyntéza)



Upraveno podle: Petrásek R. et al., 1970

**Charakter metabolické odpovědi je
nelineární**

**Intenzita odpovědi
je závislá na délce adaptace**

Deregulace cytokinetiky

Rizika vyplývající ze změněné frekvence
příjmu potravy

(**důsledky a možnosti** ovlivnění
fyziologických funkcí – celkové **odolnosti**)

**Tukový a
energetický
metabolismus**

vs.

**radiační stres -
ionizující záření**

Využití radiací utlumené krvetvorby

jako modelu *in vivo*

pro studium regenerace krvetvorných funkcí

Princip,

volba dávky,

volba druhu laboratorního zvířete (myš)

Metoda CFU-S

Model radiací utlumené krvetvorby *in vivo*

Dobový kontext

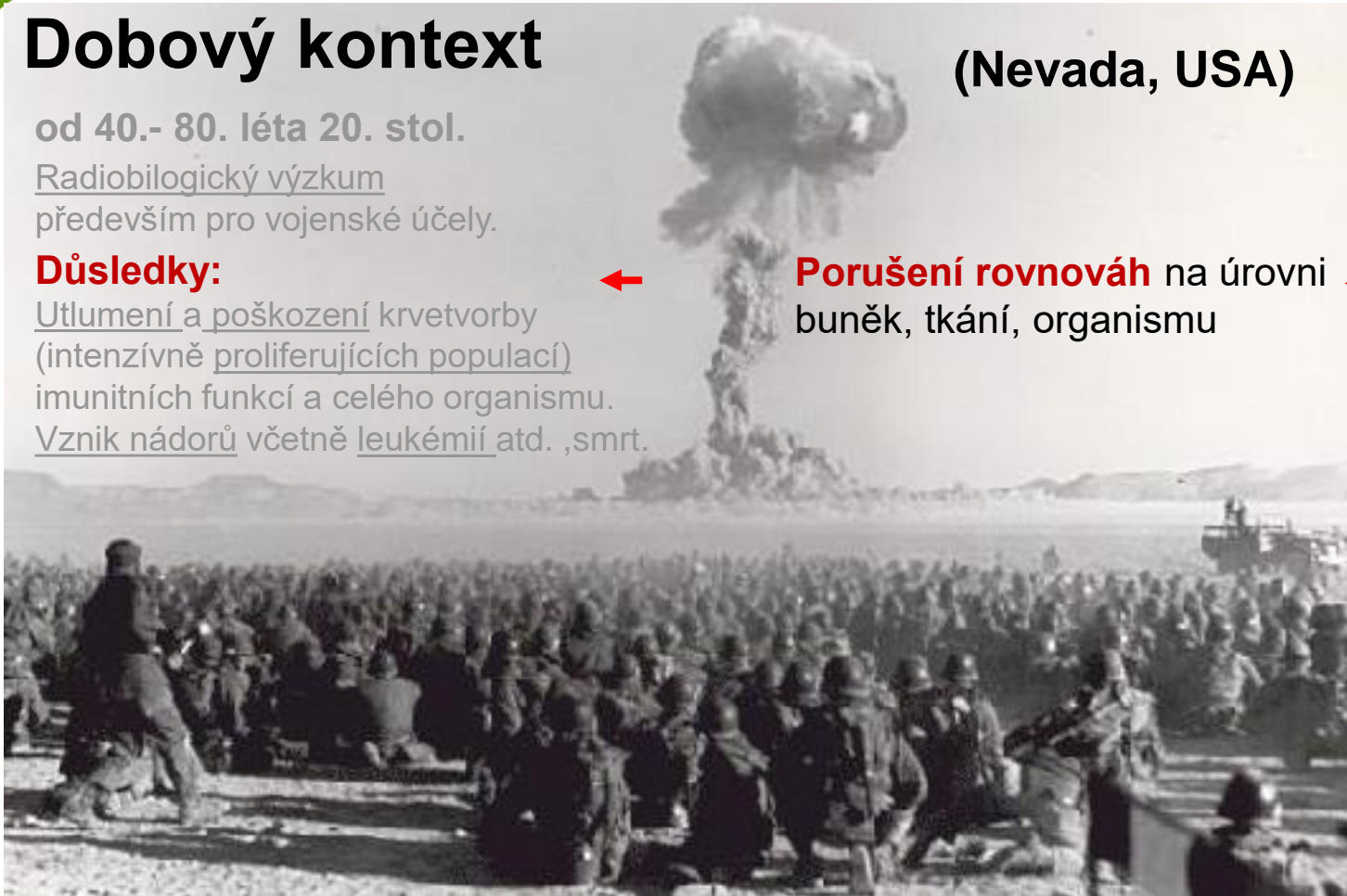
od 40.- 80. léta 20. stol.

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.

Dlouho je známo, že

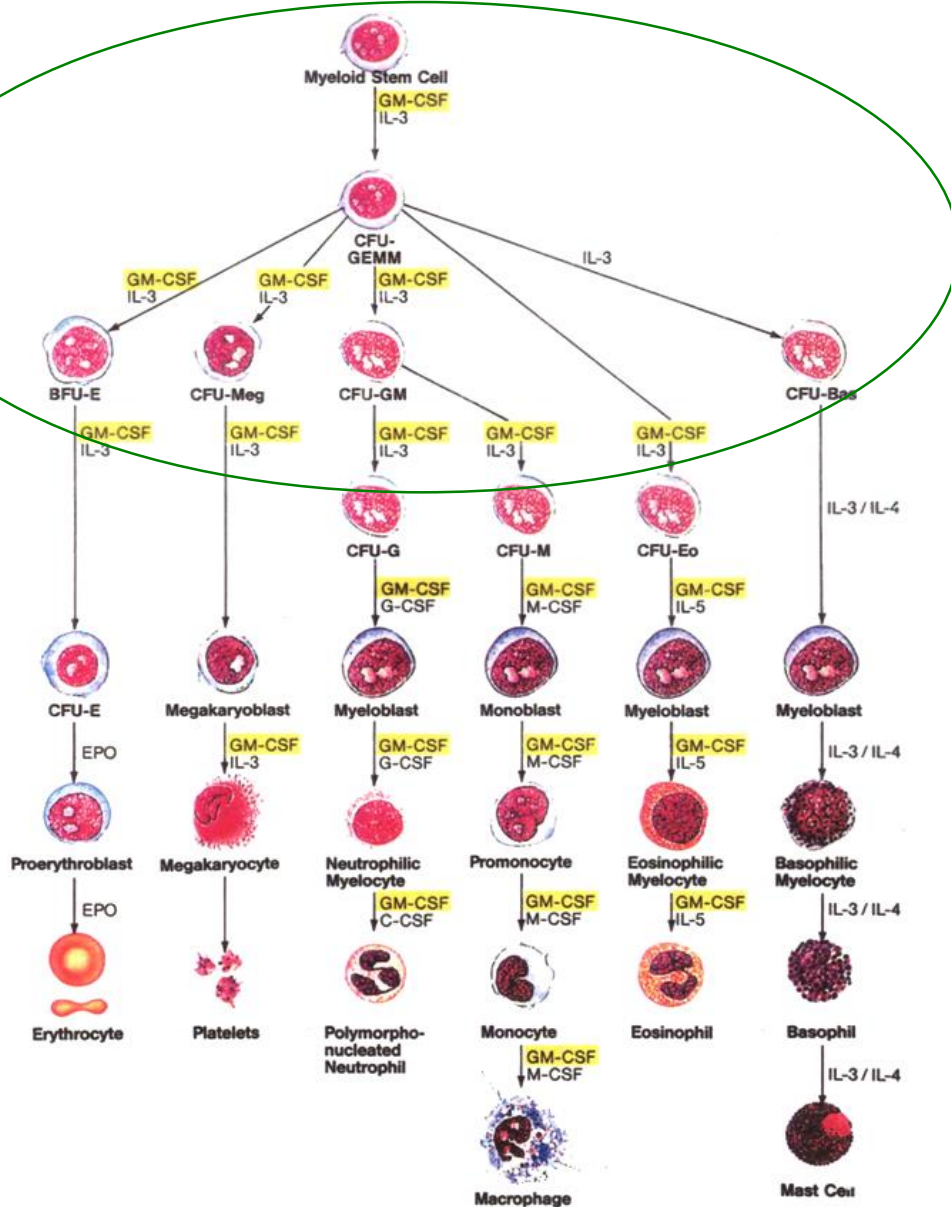
KMENOVÉ a PROGENITOROVÉ buněčné populace

(včetně buněk krvetvorných a buněk střevních epitelů) jsou velmi CITLIVÉ k působení škodlivých faktorů vnějšího prostředí (včetně radiace).

Proto je

- míra jejich poškození, (které vede k destrukci imunitního systému a intoxikaci organismu)
- i rychlost regenerace

limitující pro obnovu a přežití celého organismu



Další východiska vztahující se k problematice

Prof. Milan Pospíšil – BFÚ

Dřívější náhodná pozorování *in vivo* ukázaly, že: zvířata se spontánně vyšší kapacitou lipogeneze a aktivovaným energetickým metabolismem

(RQ > 1)

se vyznačují celkově **vyšší** citlivostí k ozáření (**radiosenzitivitou**) !!!

Otázky:

Do jaké míry a jakým způsobem může určitá metabolická orientace jedince

- ovlivnit celkovou zdatnost a **odolnost** vůči pronikavé radiaci?
- **jak** lze tyto vtahy detailněji **studovat**, metodicky podchytit?
(vhodné metodické propojení)

cíl: *podrobnější vymezení vztahů mezi*

specifickou metabolickou orientací

a

chováním obnovných buněčných populací a **celkovou odolností**
(s využitím ozáření jako zátěžového faktoru)

Vlastní výsledky u myši

Dynamika a intenzita lipogeneze

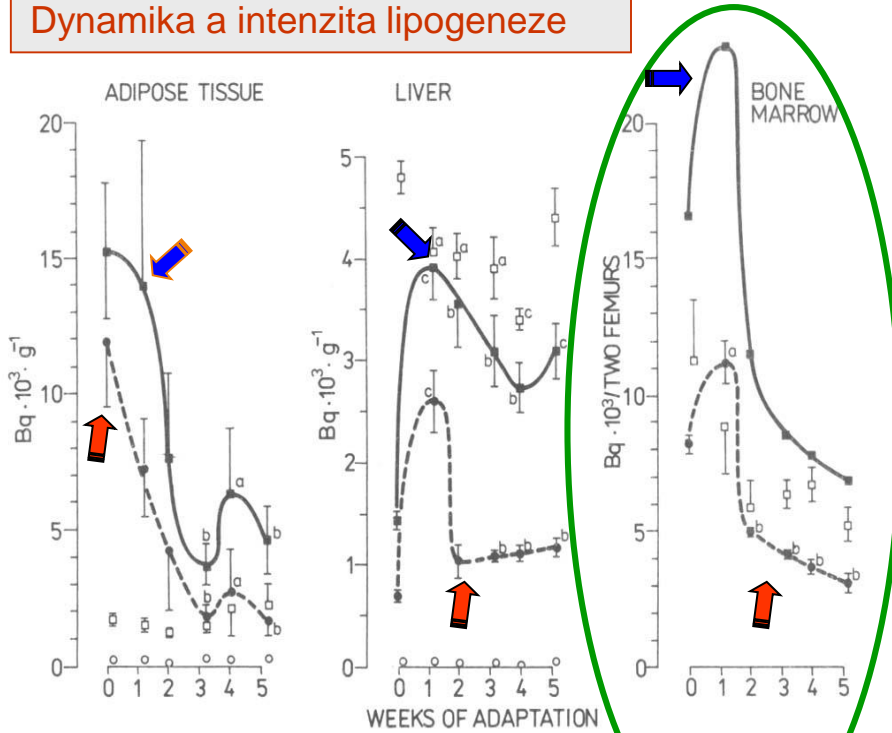
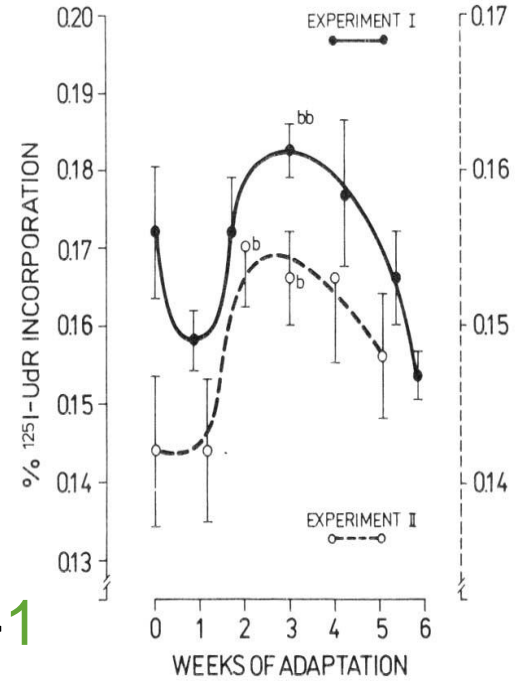


Fig. 1. Incorporation of $U^{14}C$ -glucose into total lipids (■) and total fatty acids (●) in reallimented and fasted mice (open symbols) in the adipose tissue, liver and bone marrow of control (interval "0") and 1—5 weeks adapted animals. *a*: $p < 0.05$, *b*: $p < 0.01$, *c*: $p < 0.001$ as compared with control values.

Bez ozáření

BUŇKY KOSTNÍ DŘEŇE (KB)



RQ > 1

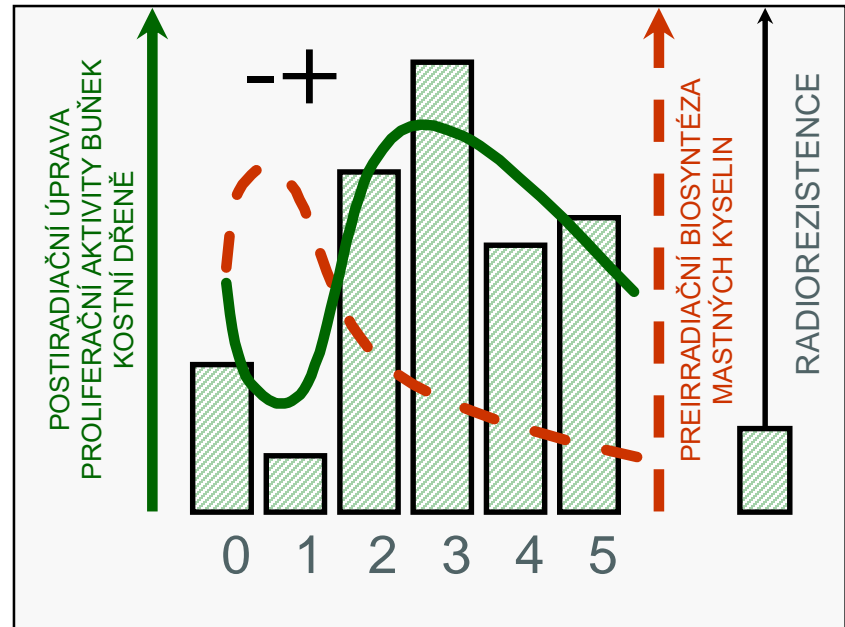
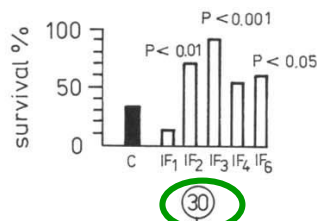
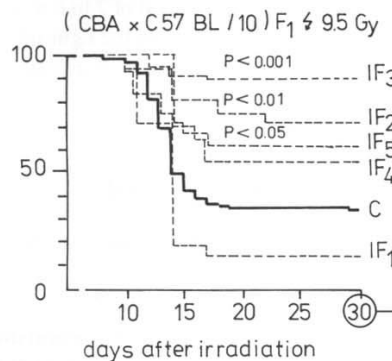
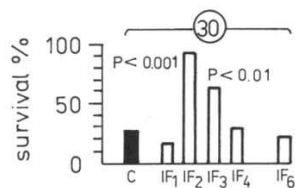
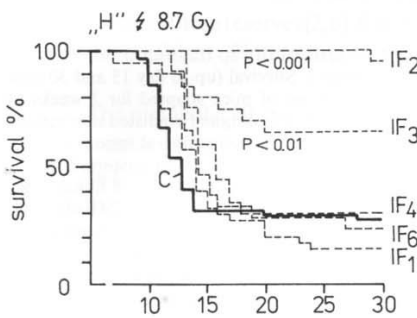
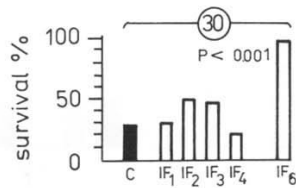
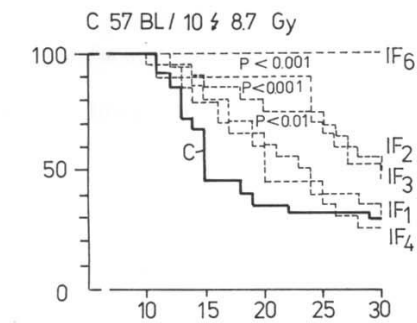
Fig. 2. Incorporation of ^{125}I -UdR into DNA synthesising bone marrow cells of control (interval "0") and 1—6 weeks adapted mice measured on day 10 after sublethal (5 Gy) whole-body irradiation; two independent experiments. *b*: $p < 0.01$ vs. control animals (experiment II); *bb*: $p < 0.01$ vs. animals adapted for 1 week to intermittent feeding (experiment I).

Po ozáření

? „IF“ - Model - změna frekvence příjmu potravy

Přežívání po ozáření

(3 kmeny C a IF myši)



Stejná potrava (přístup nepřetržitě vs. nárazově)

IF je faktor ovlivňující !!

lipidový a energetický metabolismus,
proliferaci buněk a odolnost organismu
(zhoršení i zlepšení)

Vliv délky adaptace na celkovou radiorezistenci ke 30. dni po ozáření

Dílčí závěr

Zásahy do
intermediárního a energetického
metabolismu významně mění
odolnost organismu *in vivo*
(mj. ovlivněním krvetvorných b. populací).

*V závislosti na intenzitě odpovědi
mohou vést ke zvýšení, ale i zhoršení
odolnosti.*

Nezbytná je
„vyváženost tendencí“



Shrnutí

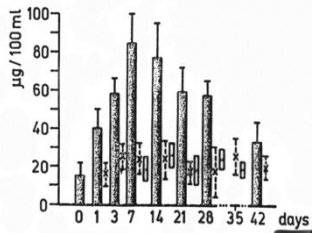
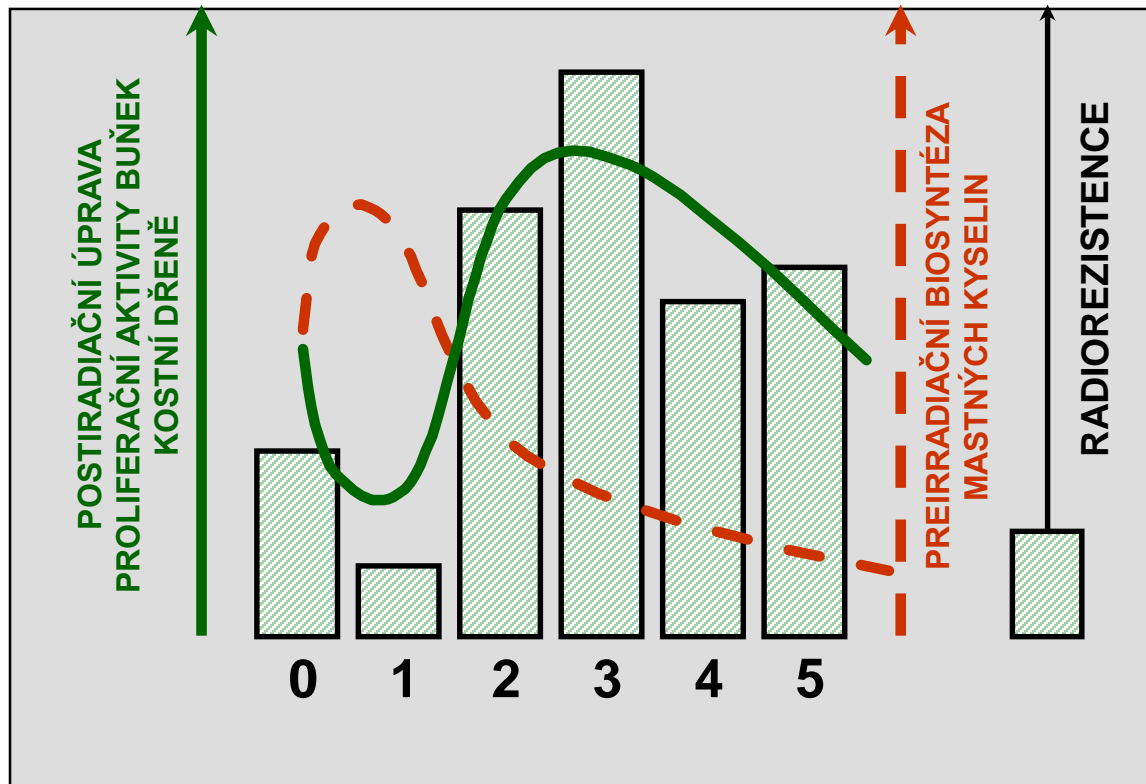


Fig. 3. Corticosterone in plasma of rats during the 42 days repeated 150 min daily immobilization stress (IS). —•—•— = Values in rats killed without immobilization on the given day. ——— Controls, nonstressed rats.

3) Je nárazový příjem živin (IF) stresorem?

Závěry:



- 1) Intenzita odpovědi je závislá na délce adaptace
- 2) Charakter odpovědi - reakce celého organismu - je nelineární.

K maximalní stimulaci lipogeneze dochází v prvním týdnu adaptace, pak klesá. **Lipogeneze je v inverzním vztahu k úpravě proliferace km. buněk kostní dřevě, což pozitivně koreluje s přežíváním myši po ozáření (nejvyšší intenzita biosyntézy mastných kyselin je provázána zhoršenou úpravou krevetvorby i přežíváním a naopak).**

K zamyšlení I

Dovedeš popsat a vysvětlit

- Strukturu biologických membrán a co jsou tzv. lipidové rafty?
- Co je „transdukce signálů“ (molekulární podstata) a jakým způsobem dochází k multiplikaci signálů? Obecné principy.
- Úlohu lipidů a fosfolipidů **obecněji**, jejich význam pro regulaci buněčných procesů a pro organismus (včetně úlohy v energetickém a intermediárním metabolismu)?
- Metabolismus kyseliny arachidonové (AA) a hlavní dráhy přeměny? Co můžete odvodit z její struktury a ze struktury jejich metabolitů? *Dovedeš nakreslit tyto struktury (AA, LTC₄, PGE atd.)? Nakreslit schéma libovolného fosfolipidu a vyznačit místa jeho štěpení fosfolipázami s uvedením jejich názvů?*
- Molekulární mechanismy působení **konkrétních** vysoce nenasycených mastných kyselin (n-3, n-6) a eikosanoidů, jejich fyziologickou úlohu?
- Spolupůsobení látek různé chemické povahy a propojení jednotlivých signálních drah? Uveď příklady.

K zamyšlení II

Co víš o

- ▶ porušení homeostázy a možnostech posílení obnovy poškozených funkcí zásahy do metabolismu neutrálních lipidů;
- ▶ lipidovém metabolismu a jeho vlivu na odolnost a regeneraci organismu v důsledku změn výživy (obecněji);
- ▶ Dovedeš popsat další příklady ovlivnění buněčných populací modulací intermediárního a energetického metabolismu (např. úlohu metabolismu v regulaci dělení buněk v souvislosti s působením stresových faktorů)?

Děkuji za pozornost