

**Kůže, její obnova a regenerace;
prostata, prsní epitel jako příklady
endokrinně regulovaných tkání**

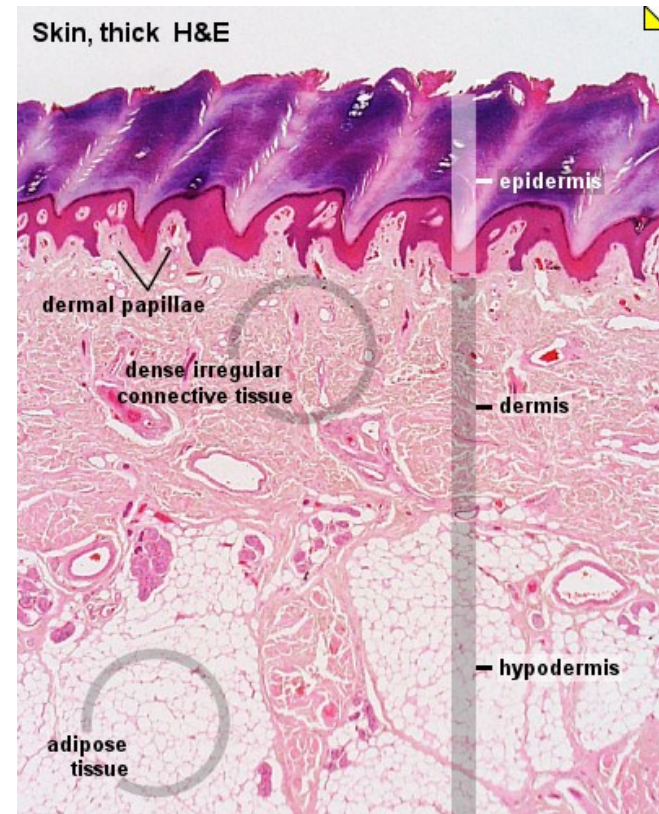
Karel Souček

Rychlost obnovy buněk

cell type	turnover time	BNID
small intestine epithelium	2-4 days	107812, 109231
stomach	2-9 days	101940
blood Neutrophils	1-5 days	101940
white blood cells Eosinophils	2-5 days	109901, 109902
gastrointestinal colon crypt cells	3-4 days	107812
cervix	6 days	110321
lungs alveoli	8 days	101940
tongue taste buds (rat)	10 days	111427
platelets	10 days	111407,111408
bone osteoclasts	2 weeks	109906
intestine Paneth cells	20 days	107812
skin epidermis cells	10-30 days	109214, 109215
pancreas beta cells (rat)	20-50 days	109228
blood B cells (mouse)	4-7 weeks	107910
trachea	1-2 months	101940
hematopoietic stem cells	2 months	109232
sperm (male gametes)	2 months	110319, 110320
bone osteoblasts	3 months	109907
red blood cells	4 months	101706, 107875
liver hepatocyte cells	0.5-1 year	109233
fat cells	8 years	103455
cardiomyocytes	0.5-10% per year	107076, 107077, 107078
central nervous system	life time	101940
skeleton	10% per year	109908
lens cells	life time	109840
oocytes (female gametes)	life time	111451

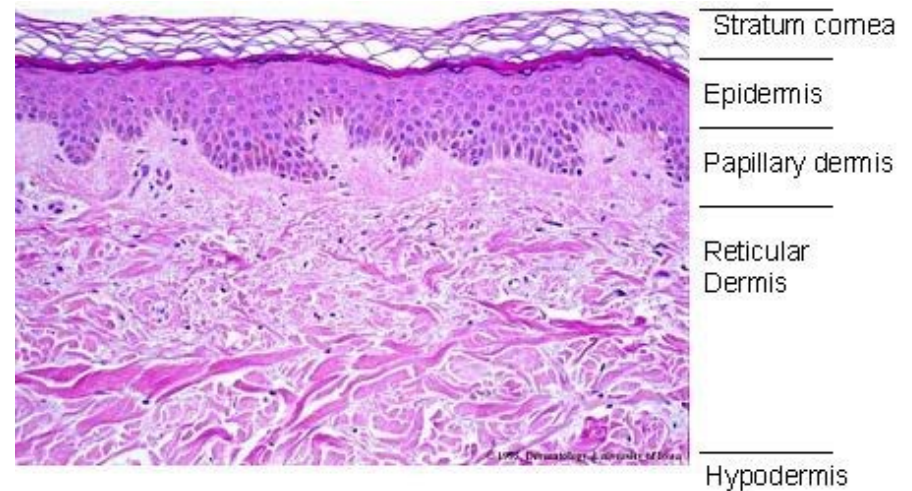
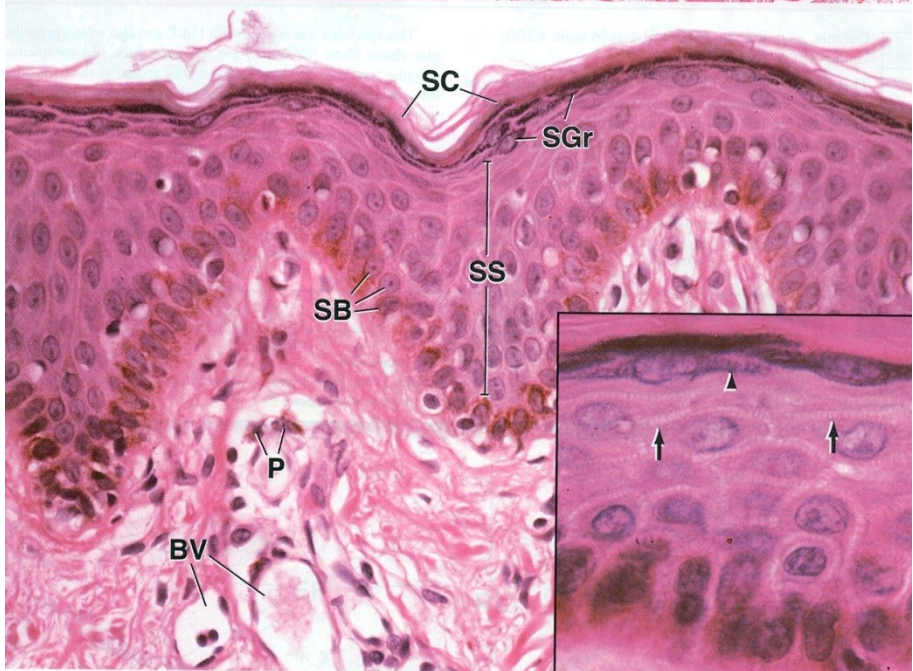
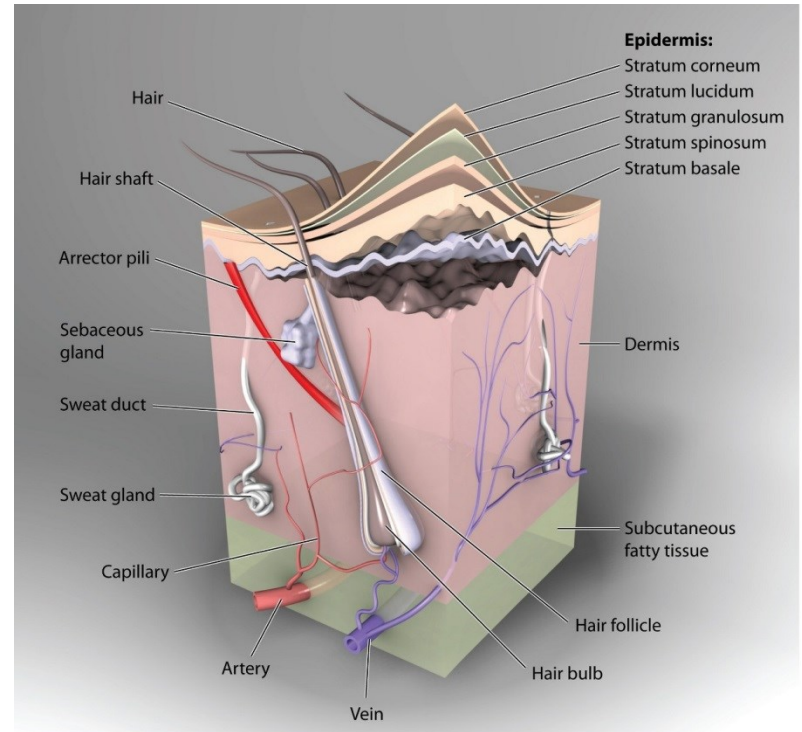
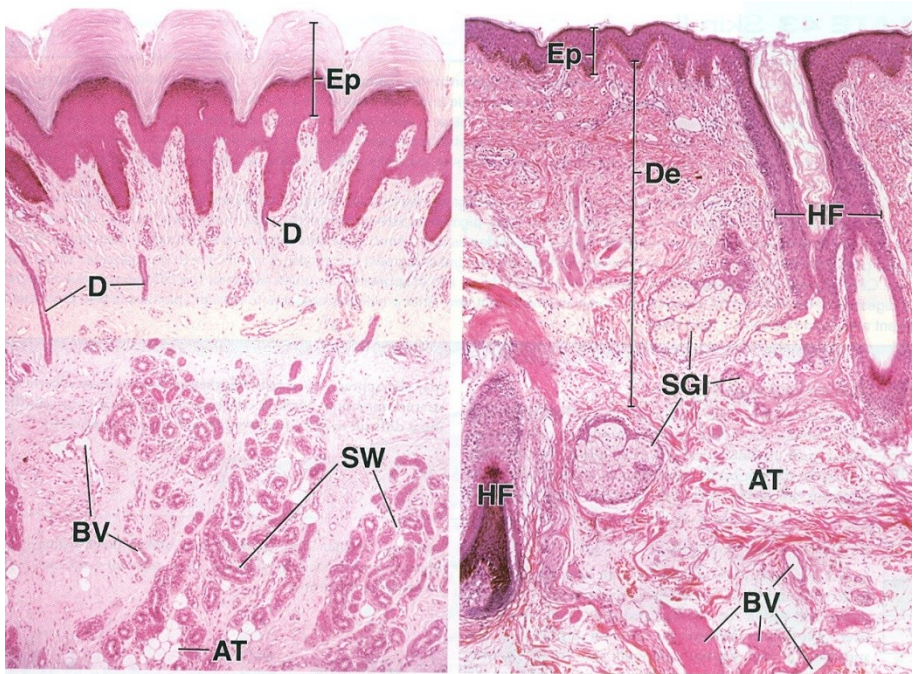
KOŽNÍ SYSTÉM

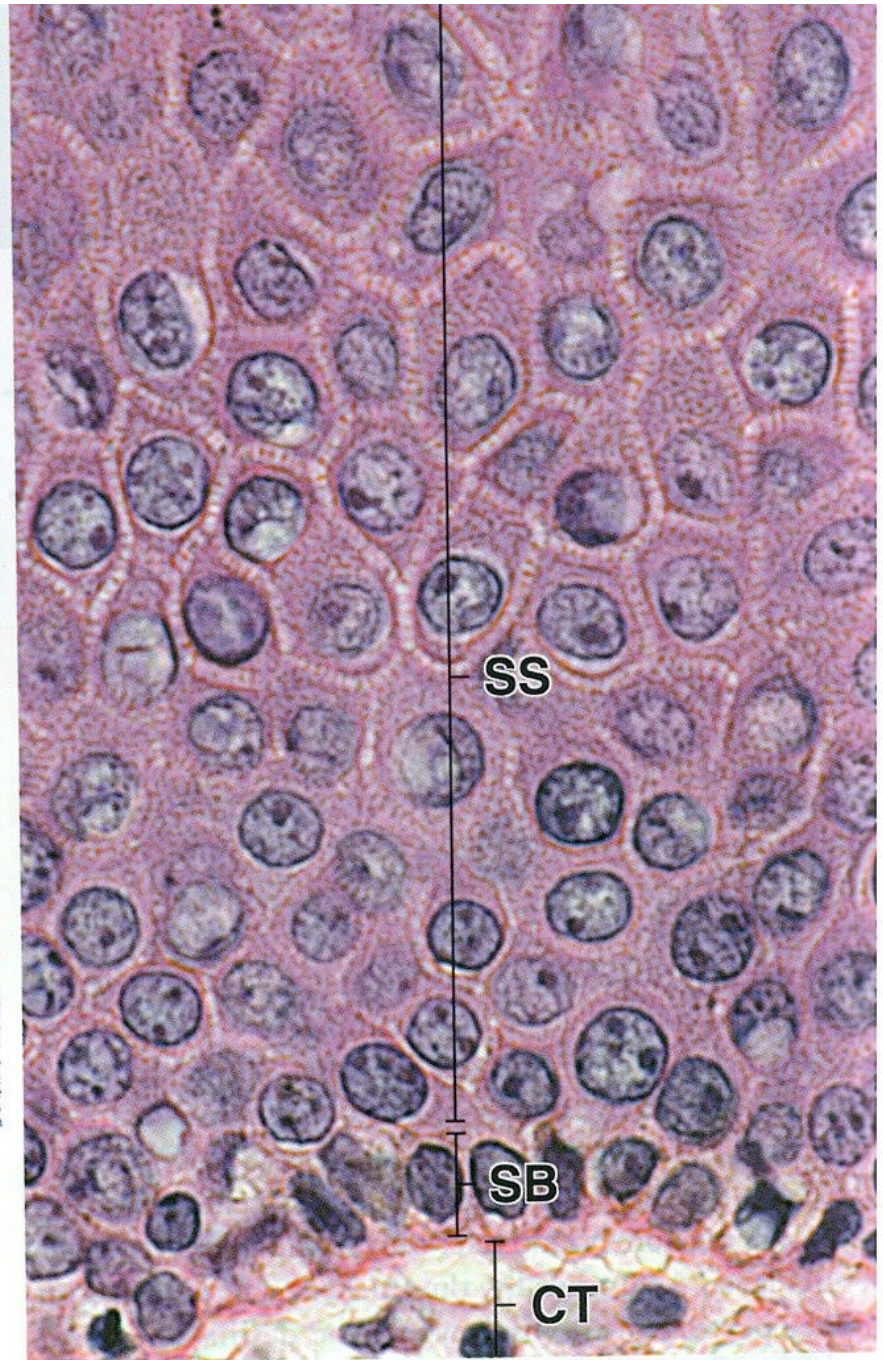
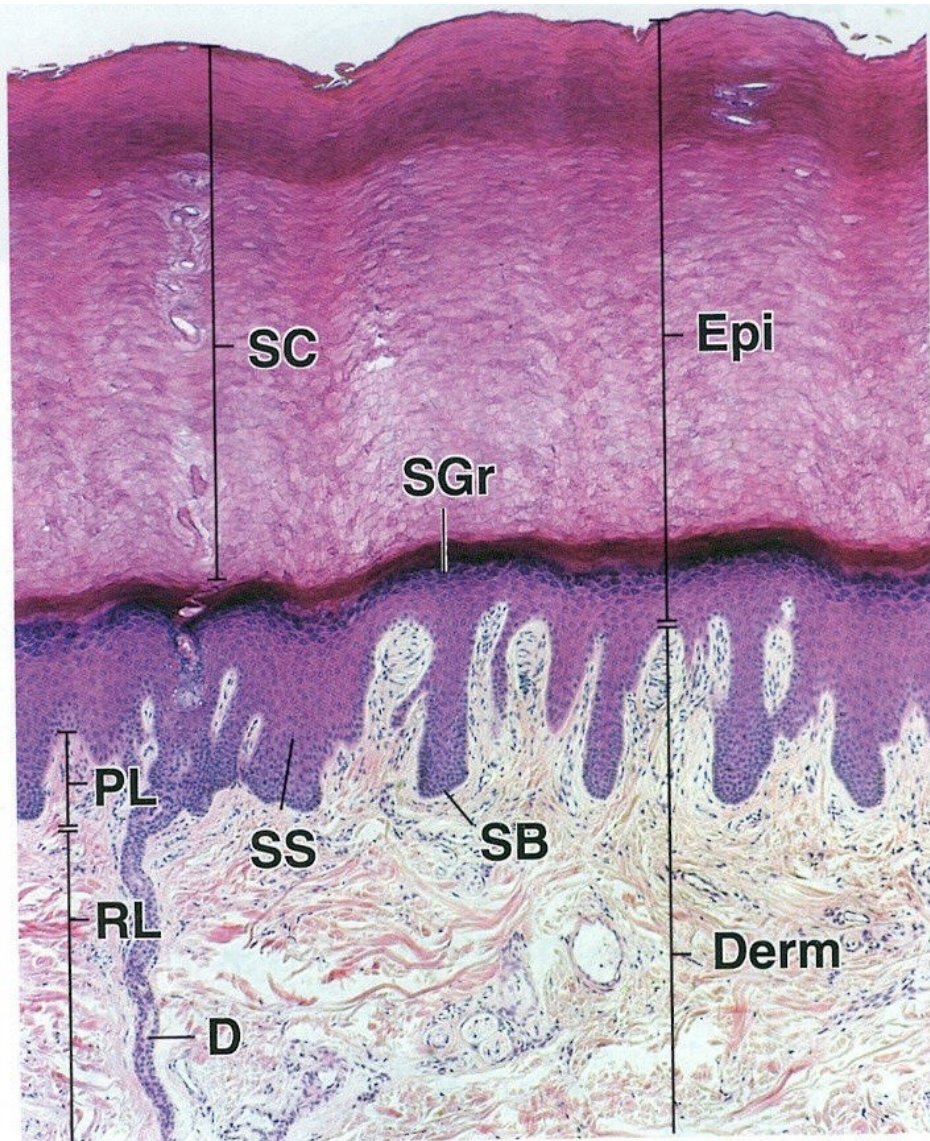
- zevní obal těla, chrání tělo před ztrátou tekutin, škodlivými vlivy vnějšího prostředí, je zapojena do metabolických a imunitních procesů, má význam v termoregulaci, obsahuje smyslové receptory (hmat, bolest, teplota)
- Pokožka
 - Epidermis (rohovějící epitel)
 - Dermis, škára (vazivová složka)
- Kožní orgány, adnexa
 - Deriváty epidermis
 - Vlasy, nehty
 - Kožní žlázy
 - Mléčná žláza



EPIDERMIS

- ▶ nepropustná pro mnohé látky, chrání organismus před UV zářením, termický a chemický izolátor
- ▶ **vrstvy:**
 - ▶ **Stratum basale:** vrstva kubických až cylindrických keratinocytů vzájemně pospojovaných desmosomy, silně bazofilní, intenzivní mitotické množení – zdroj nových keratinocytů, **kmenové a progenitorové buňky**
 - ▶ **Stratum spinosum:** několik (2-5) vrstev polyedrických keratinocytů, které vysílají množství výběžků (v místě jejich kontaktu jsou desmosomy a tonofilamenta → soudržnost mezi buňkami), rozšířené mezib. štěrby vyplněné tekutinou (difúze látek)
 - ▶ obě tyto vrstvy jsou mitoticky aktivní → **Malpighiho vrstva**
 - ▶ **Stratum granulosum:** obsahuje cca 3 vrstvy, granula keratohyalinu, cytoplasmatické agregáty filament cytokeratinu a dalších proteinů, proces rohovění
 - ▶ **Stratum lucidum:** Stratum lucidum je tenká vrstva epidermis obsahující 2–3 vrstvy buněk. V této vrstvě se přeměňuje keratohyalin v granula glykogenu a eleidinu. Tvoří důležitou bariéru a nejnápadněji je vyvinuta na dlaních a chodidlech.
 - ▶ **Stratum corneum:** Skládá se z několika vrstev bezjaderných, zcela oploštělých buněk, korneocytů. Podle tloušťky této vrstvy rozlišujeme tlustý a tenký typ epidermis. Nejsilnější typ je na chodidlech a dlaních. Stratum corneum se dělí na dvě části - stratum conjunctum (spodní kompaktní vrstva) a stratum disjunctum (horní olupující se vrstva).

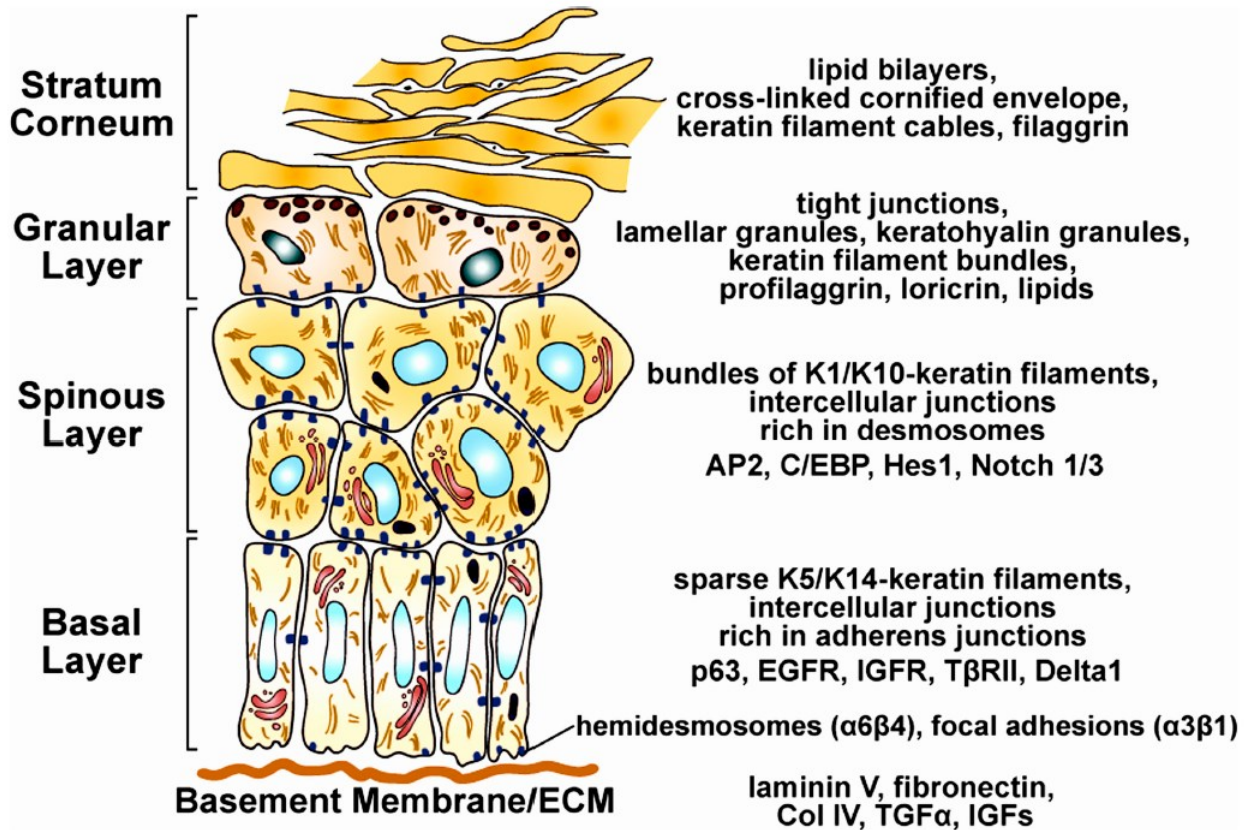




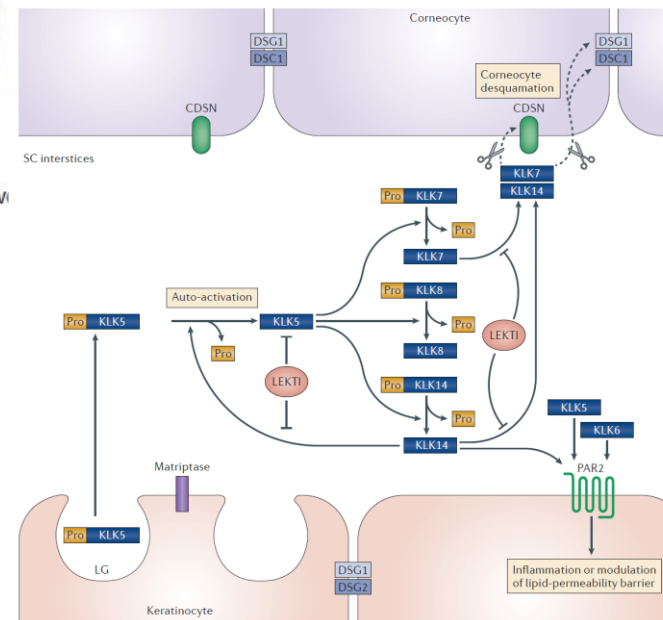
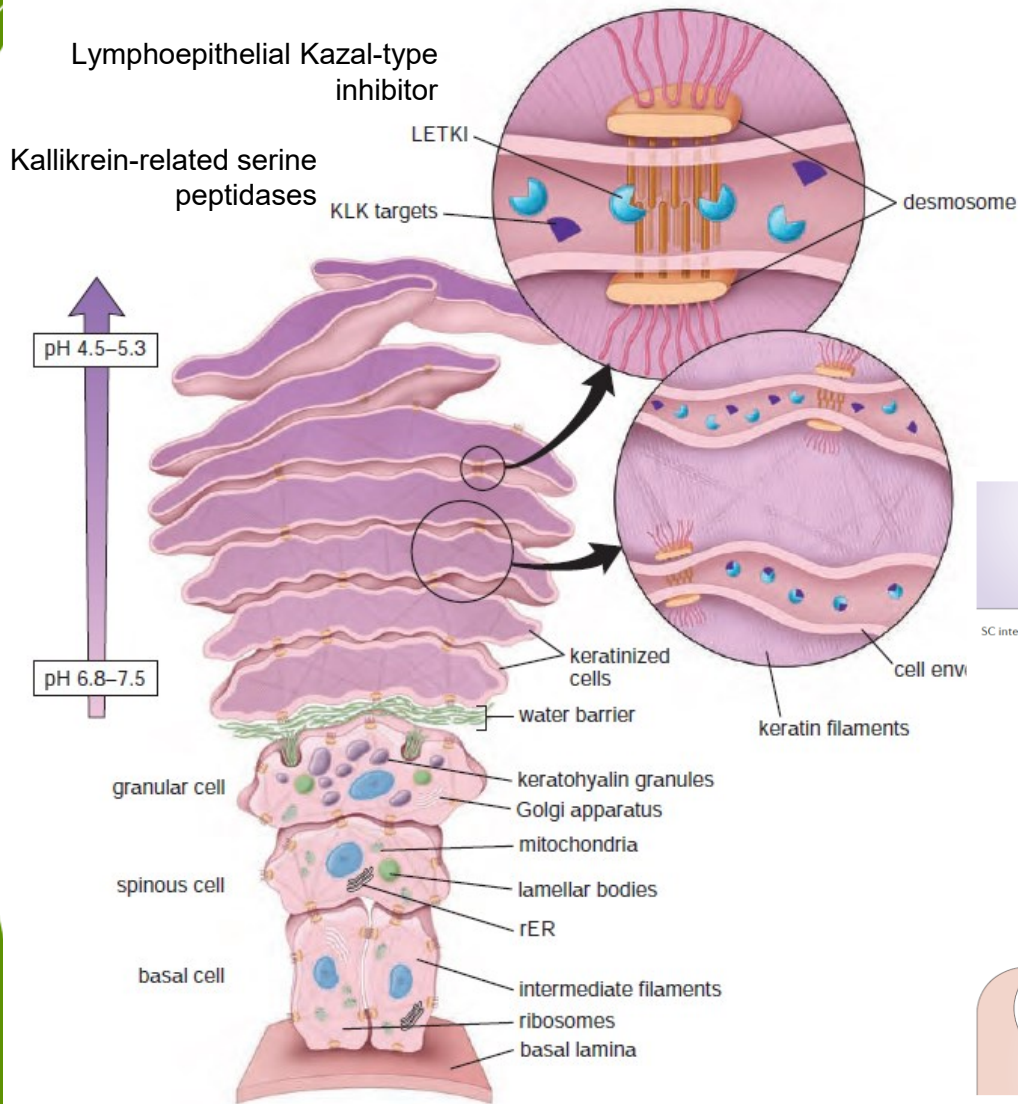
Epi – Epidermis
 Derm – Dermis
 SC – stratum corneum
 SB – stratum basale
 SS – stratum spinosum

SGr – stratum granulosum
 PL – papillary layer
 RL – reticular layer
 D – duct
 CT – connective tissue

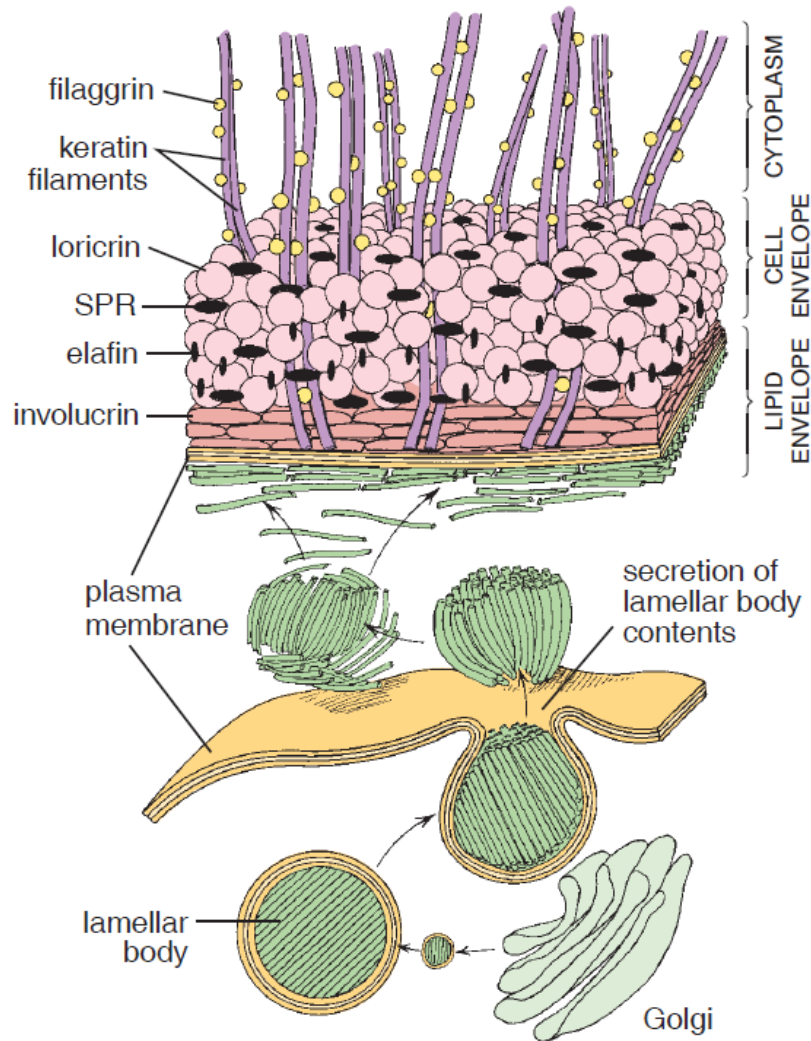
Epidermální diferenciace



Epidermální diferenciace



Epidermální vodní bariéra



- ▶ Buněčný obal – 15 um nerospustná vrstva proteinů
 - ▶ Mechanická pevnost a opora
- ▶ Lipidový obal – 5 um vrstva lipidů
 - ▶ „teflonová“ vrstva
- ▶ Lamelární tělíška jsou sekretována exocytózou do mezibuněčného prostoru stratum granulosum a stratum corneum
- ▶ Tvoří je heterogenní směs fosfolipidů, glykosfingolipidů a ceramidů

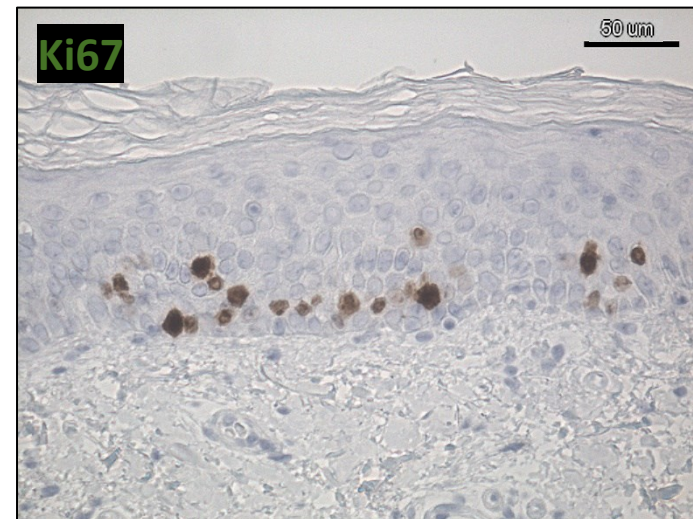
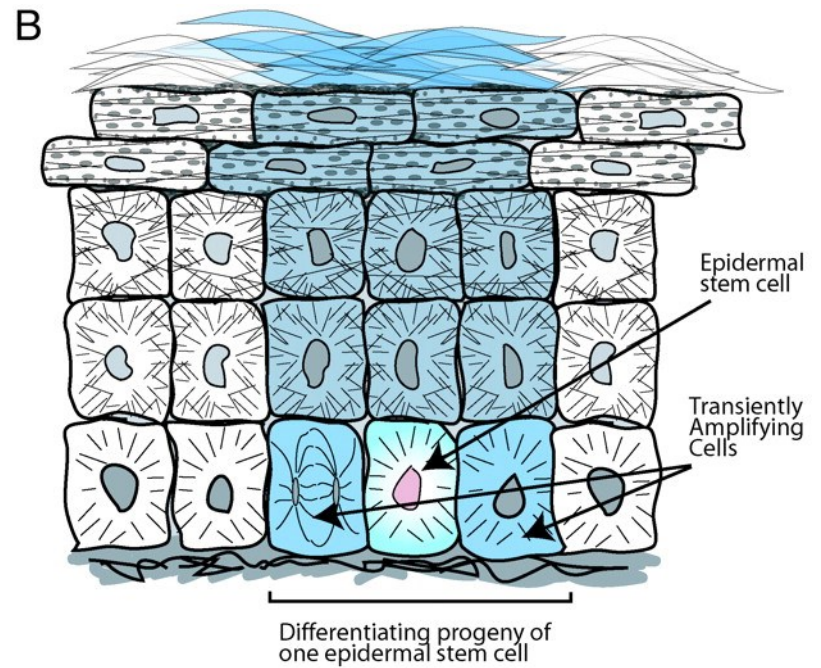
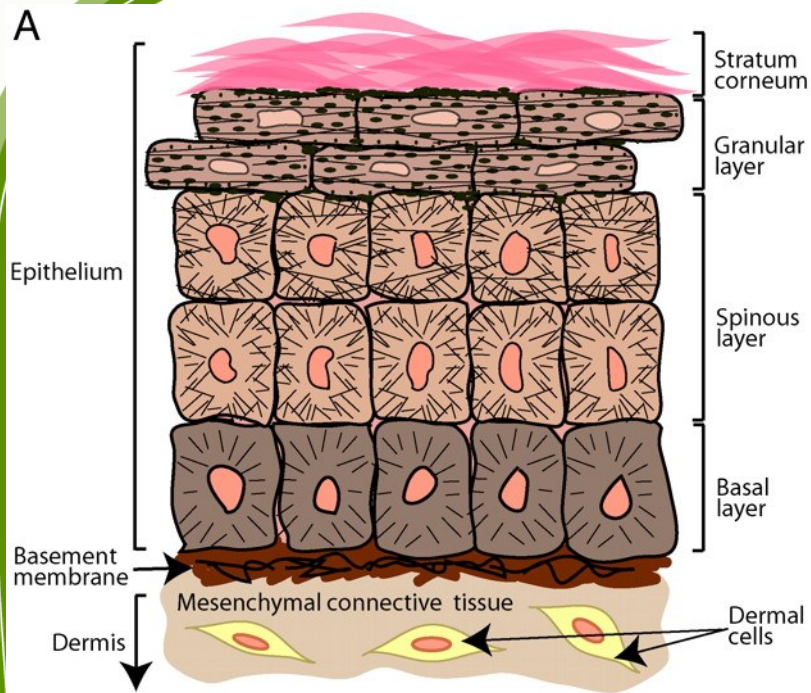
BUŇKY EPIDERMIS:

- **keratinocyty** – tvorba keratohyalinu až keratinu; ve všech vrstvách pokožky; tvoří lamelární tělíska – kontrola odpařování vody
- **Langerhansovy buňky** – dendritické buňky původem z kostní dřeně, hvězdovitý tvar, antigen prezentující buňky; ve stratum spinosum
- **Merkelovy buňky** – mechanoreceptory (při jejich bazi jsou volná nervová zakončení – dendrit pseudounipolárního neuronu); ve stratum basale
- **melanocyty** – pocházejí s neurální lišty a do epidermis vcestovaly, produkce melaninu (eu/feomelanin) → uvolňování do mezib. prostor → vychytávání keratinocyty (1/36) → rozložení pigmentu; ve stratum germinativum

Kmenové buňky kůže

- Epidermální kmenové buňky
 - Regenerace kůže
 - Bazální vrstva epidermis
- Kmenové buňky vlasových folikulů
 - Obnova vlasových folikulů
 - Regenerace epidermis a mazových žláz po poškození
- Kmenové buňky melanocytů
 - ?

(A) Diagrammatic representation of skin epithelial histology.



Model sebeobnovy kmenové buňky kůže

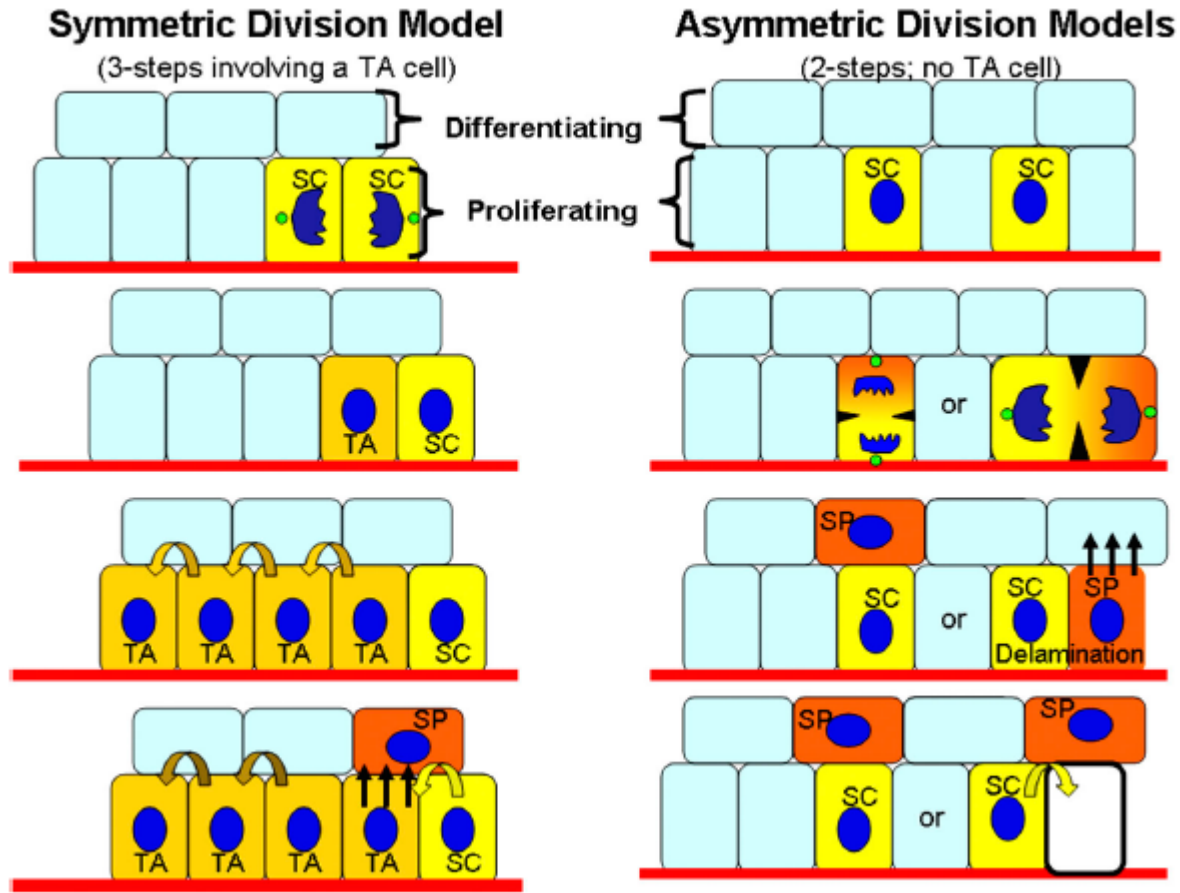
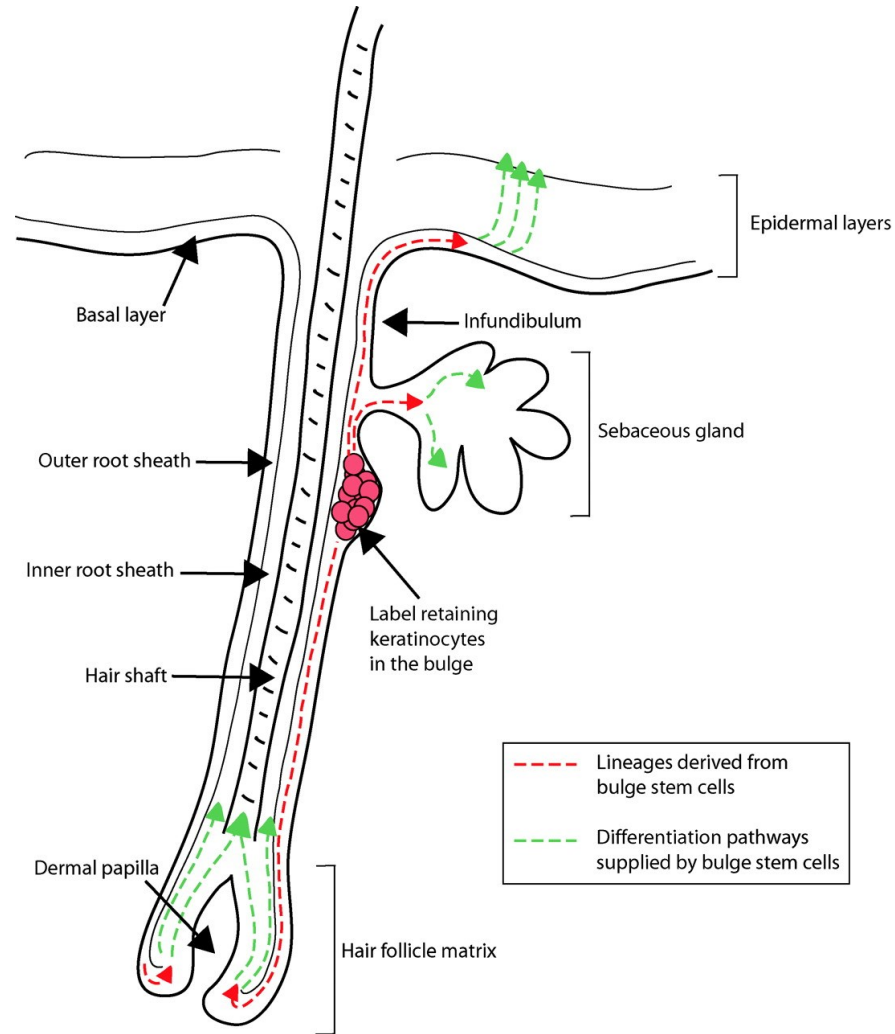


Diagram of the hair follicle and cell lineages supplied by epidermal stem cells.



Laura Alonso, and Elaine Fuchs PNAS 2003;100:suppl 1:11830-11835

PNAS

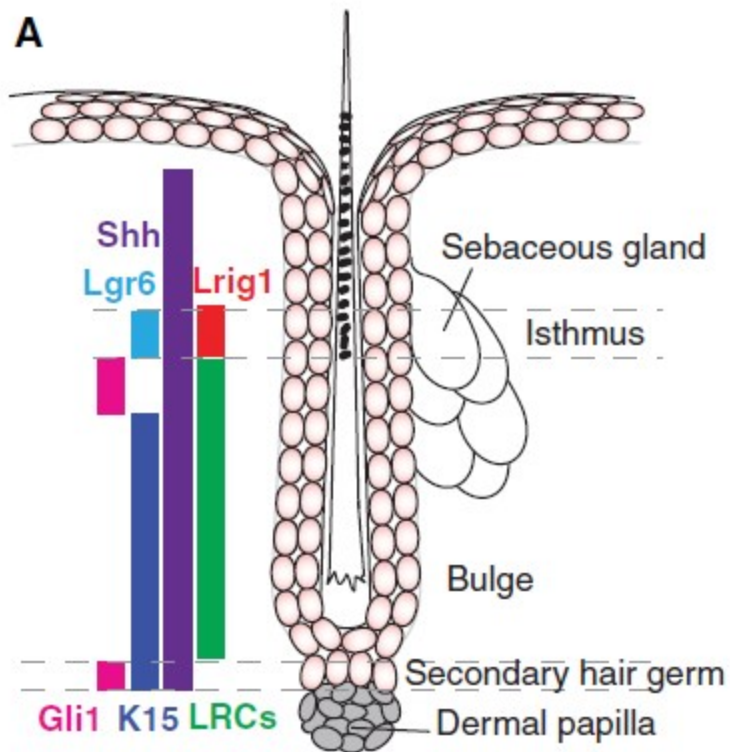
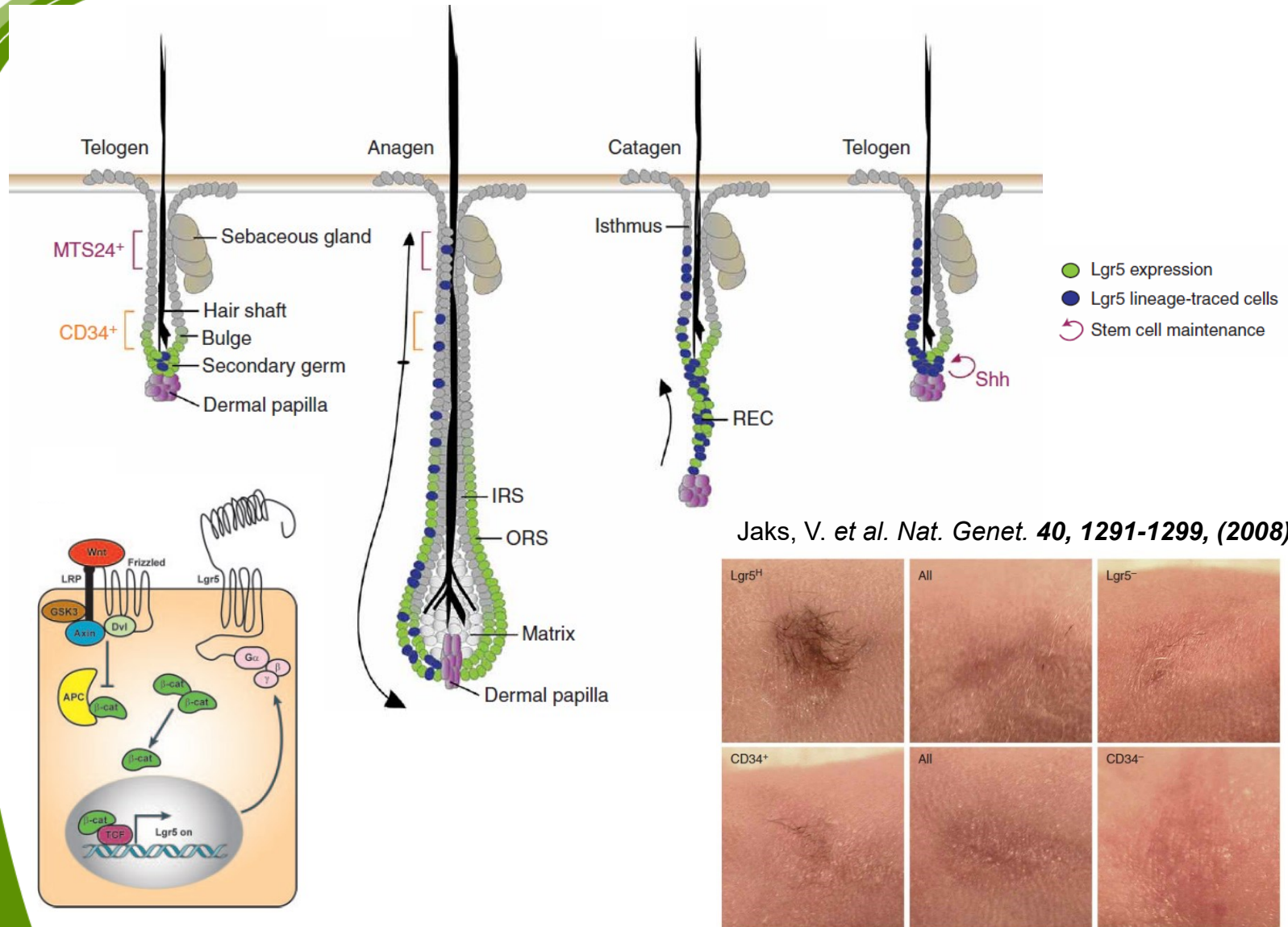


Figure 1. Contributions of hair follicle stem cells to re-epithelialization. (A) Schematic illustration of bulge stem cell markers that contribute to re-epithelialization. (B) Lineage tracing of $K15^+$ hair follicle stem cells after excisional wound using *K15-LacZ* mice. LacZ-positive cells were not found in IFE at 2 d after wounding (right panel). At 5 d, LacZ⁺ cells start to migrate from hair follicle to wound center (middle panel). At 8 d after wounding, re-epithelialization is completed and about 26% of re-epithelialized cells are lacZ⁺ (left panel). (From Ito et al. 2005; reprinted, with permission.)

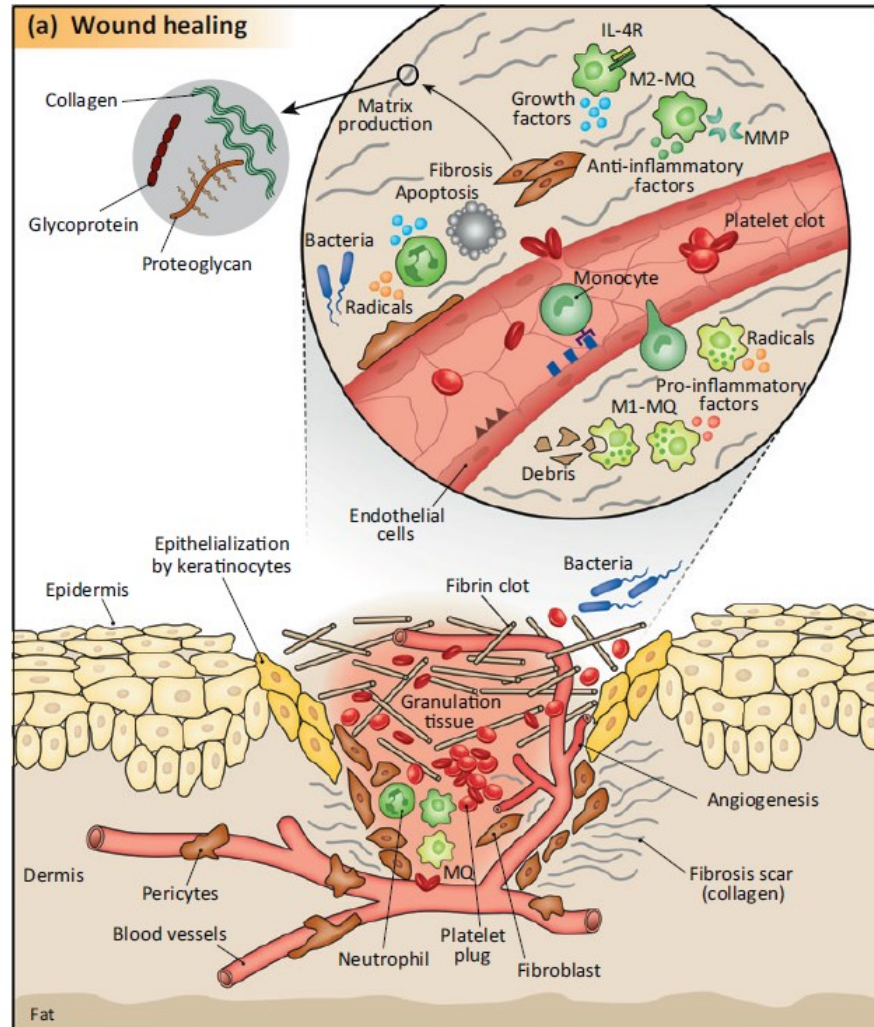
Kmenová buňka vlasového folikulu



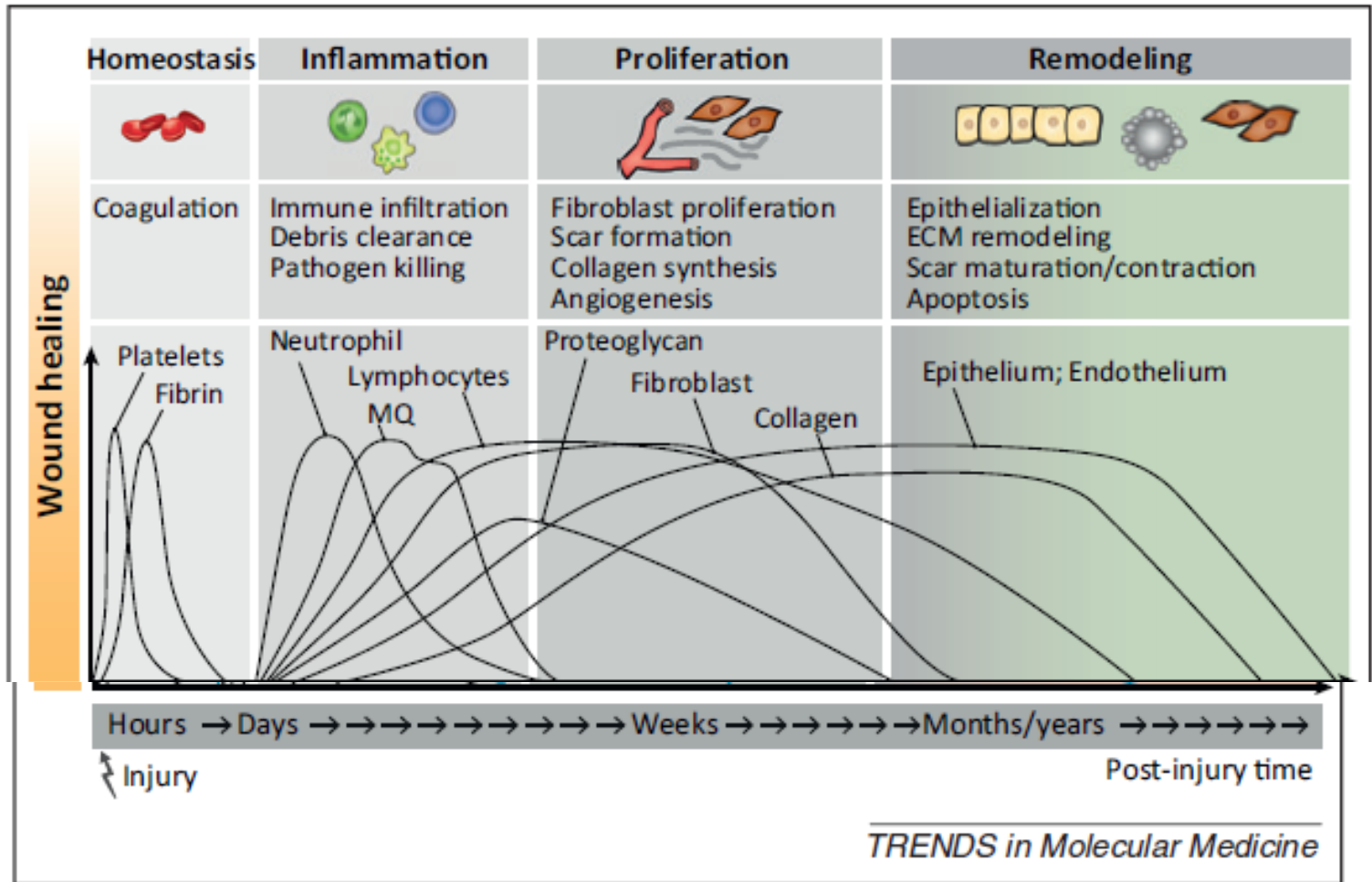
Hojení rány

- Zajištění homeostázy (sekundy – minuty)
 - Koagulace
 - Provizorní ECM
- Zánět (hodiny – dny)
 - Infiltrace leukocytů
 - Trofické faktory stimulují migraci a proliferaci dalších buněk
- Proliferace (dny – týdny)
 - Vstup fibroblastů a endoteliálních buněk do rány
 - Reorganizace ECM
- Remodelace a maturace (týdny – měsíce – roky)
 - Reorganizace kolegenové ECM
 - Zakrytí rány epitelem
 - Migrace keratinocytů, ustanovení nové bazální membrány

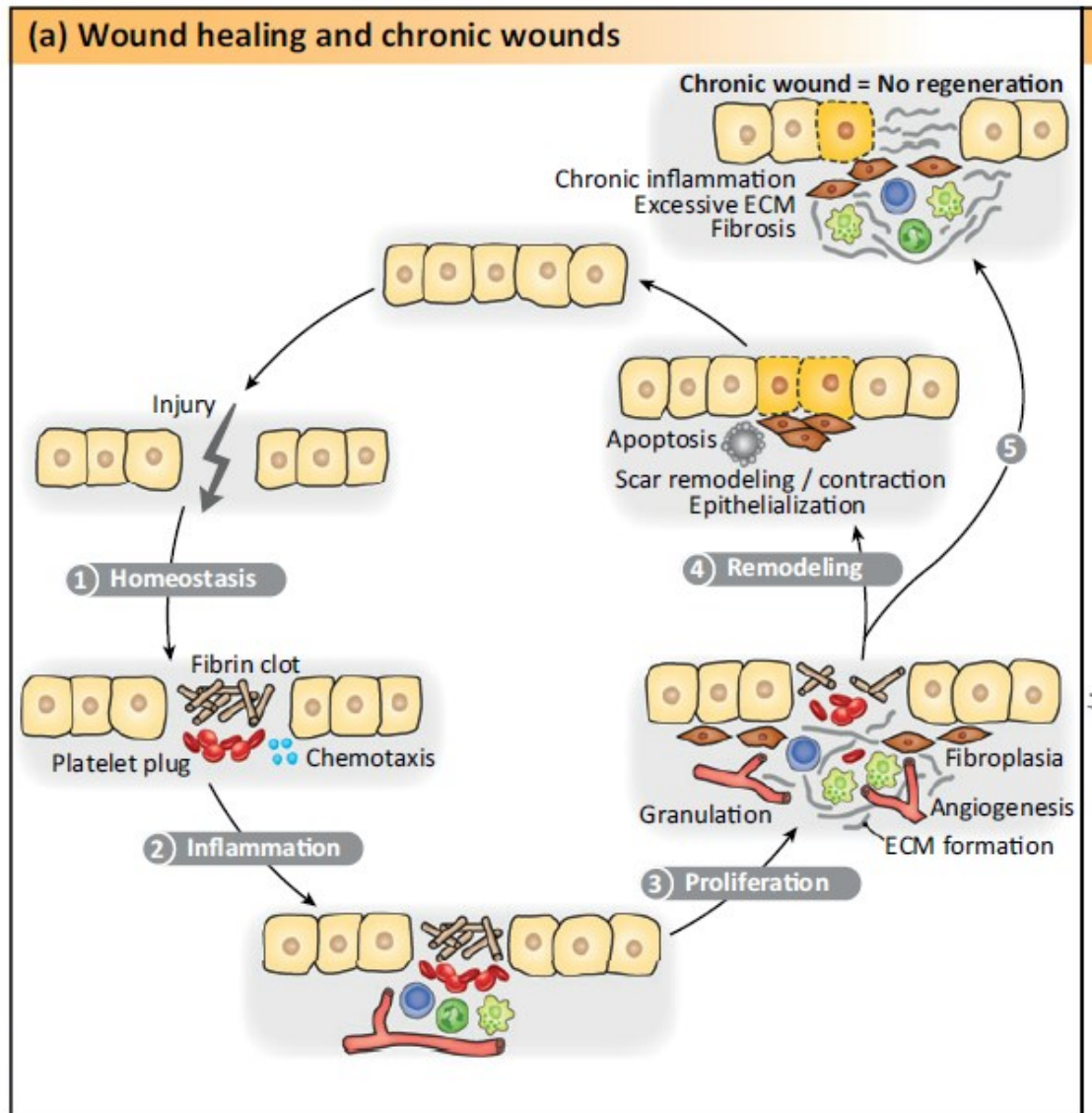
Hojení rány



Hojení rány



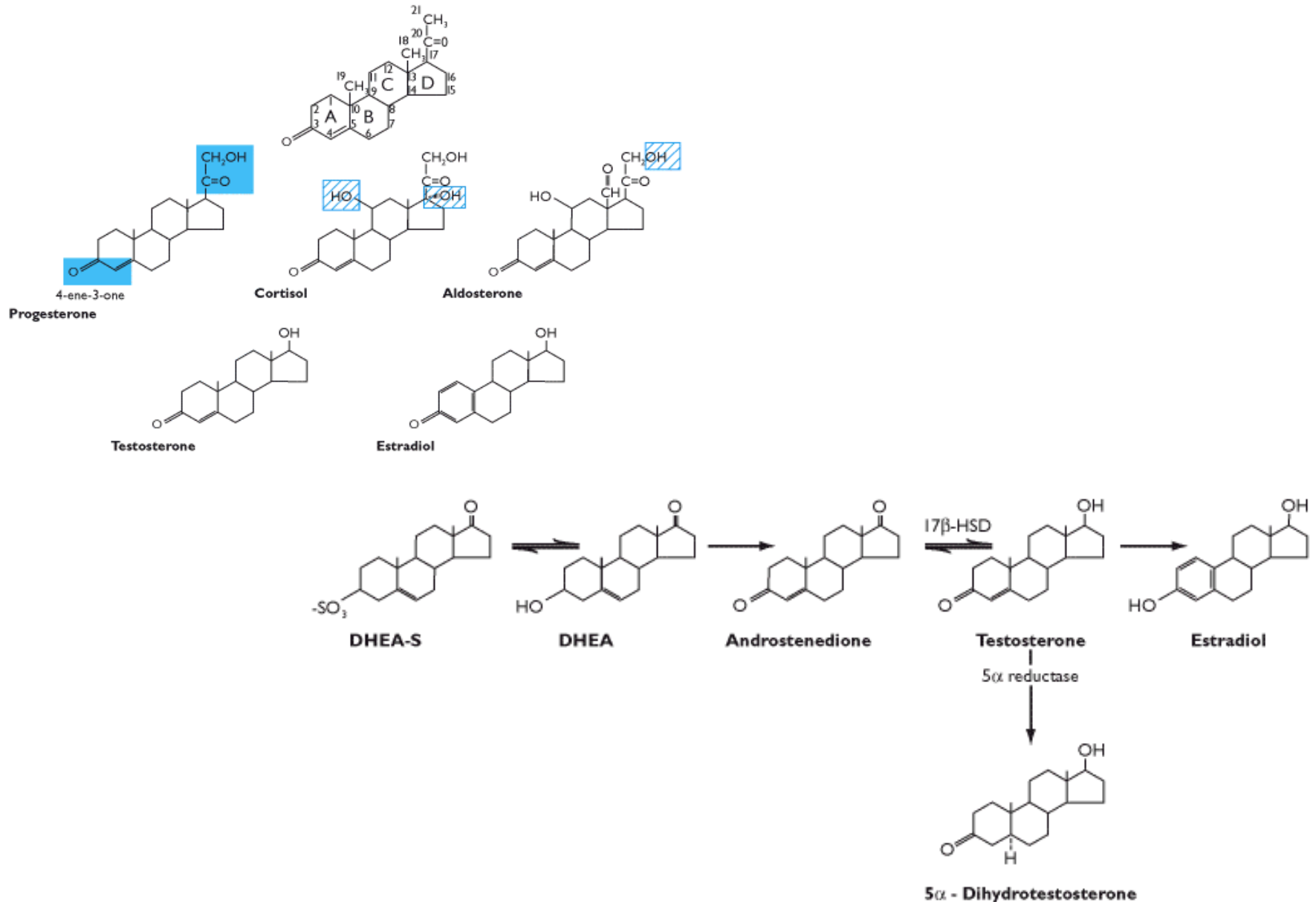
Hojení rány



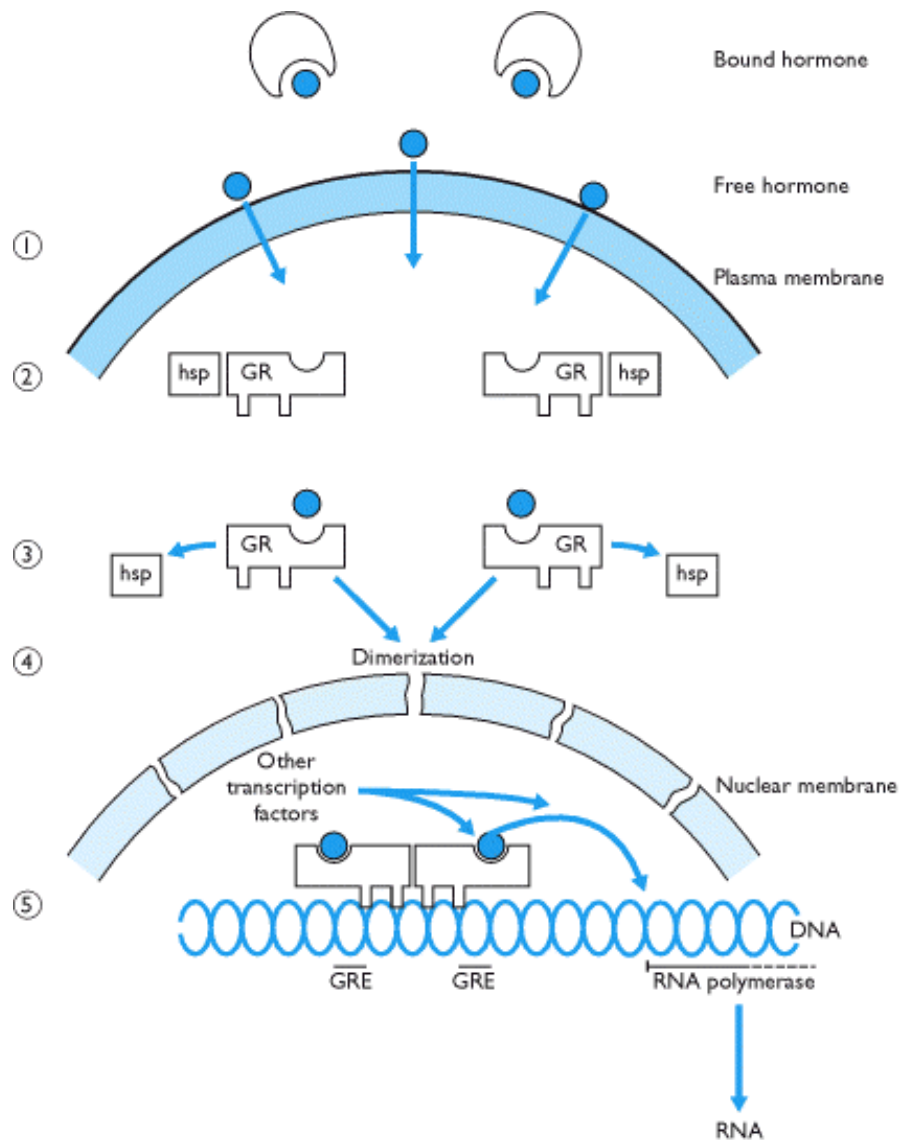
Fyziologie buň. systémů



Struktura a biosyntéza pohlavních steroidních hormonů:



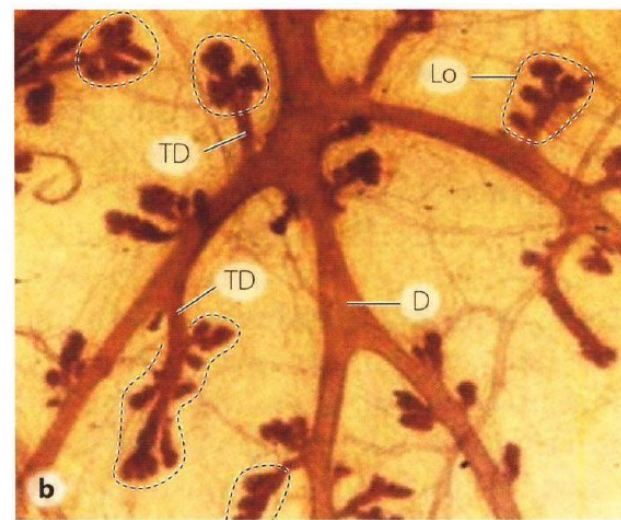
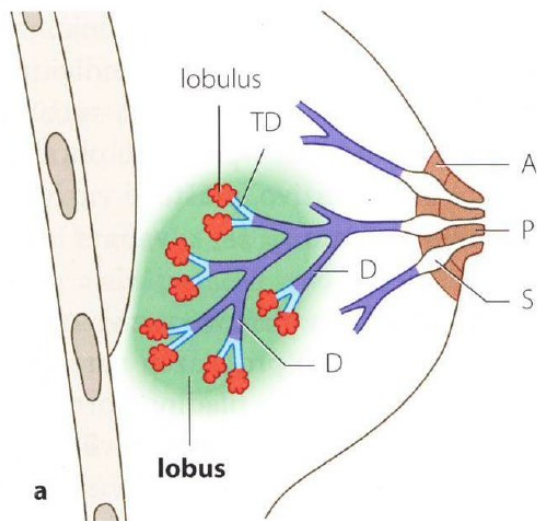
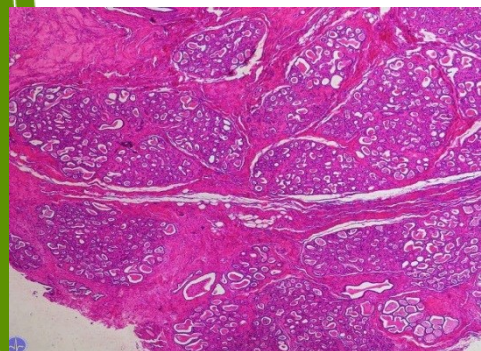
Modelová aktivace jaderného receptoru – příklad glucocorticoid receptor (GR)



1. Volný lipofilní kortizol snadno prochází buněčnou membránou a váže se na GR;
2. Podobně jako další steroidní receptory je GR v neaktivním stavu vázán v cytoplasmě na tzv. heat shock proteiny (hsp-90, hsp-70 a hsp-56);
3. Po navázání ligandu na receptor dochází k uvolnění Hsp a translokaci GR do jádra;
4. Vznikající homodimer se váže na specifické sekvence DNA – glukokortikoidní responzivní elementy (GRE);
5. Ve spolupráci s dalšími koaktivátory a faktory remodelujícími chromatin iniciuje transkripci cílových genů;

MLÉČNÁ ŽLÁZA

- Soubor 15 – 20 tuboaveolárních žláz tvořící laloky - **lobi**
- Každý vývod se rozvětluje, sekreční oddíly - **lobuly**
- Spolu s tukovou tkání a vazivovým stromatem je podkladem prsu
- K plnému rozvoji dochází v průběhu těhotenství – laktace
 - Intenzivní proliferace **alveolů** na konci interlobulárních vývodů

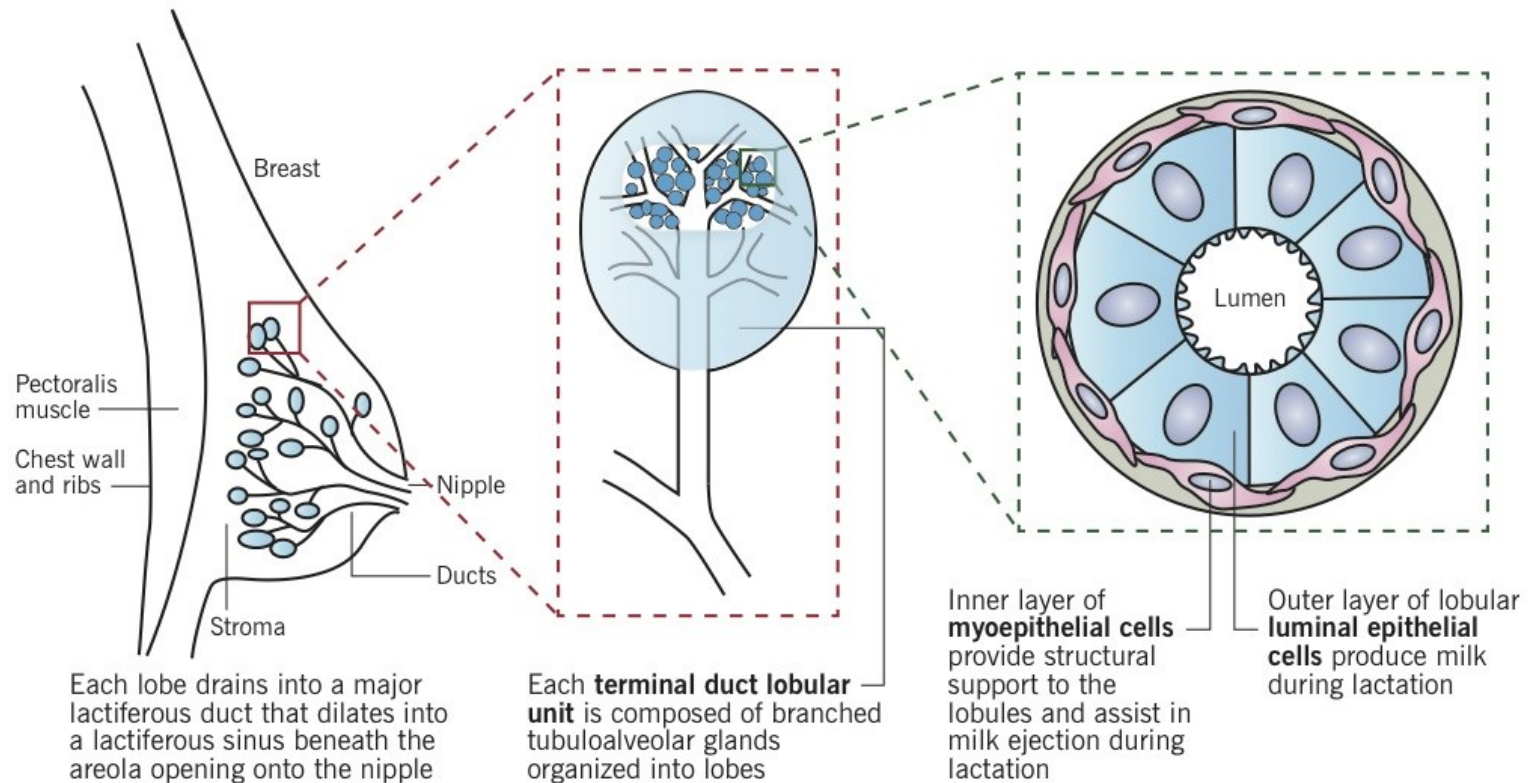


Breast anatomy and histology

Eric Wong

Clin Obstet Gynecol. 2011 Mar;54(1):91-5.

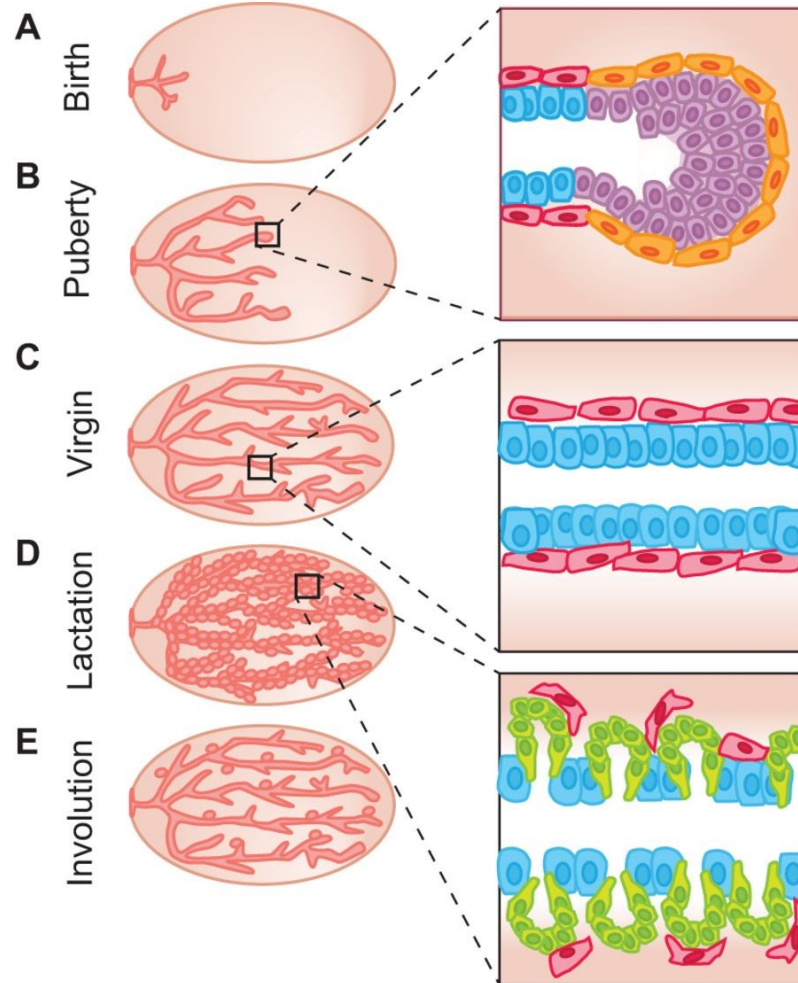
The breast is composed of glandular and stromal tissue. Glandular tissue includes the ducts and lobules. **Stroma** comprises area between lobes.



Změny mléčné žlázy spojené s věkem

- Prepuberta
 - Základ duktů vytvořen, lobuly zůstávají nevyvinuté
- Puberta
 - Estrogen a progesteron produkovaný ovárií indukují větvení duktů a vývoj lobulů
- Těhotenství
 - Progesteron a prolaktin indukují kompletní maturaci prsní žlázy
 - Zvýšení počtu a velikosti lobulů
 - Oxytocin indukuje proliferaci a diferenciaci myoepiteliálních buněk
 - Po ukončení laktace dochází k apoptóze epitelu a atrofii lobulů
- Menopausa
 - Lobulární a duktální atrofie
 - Zvýšení množství interlobulárního stromatu, fibrózní a tukové tkáně

Postnatální vývoj mléčné žlázy (myš)



Key	Alveolar cells	Epithelial cap cells
Epithelial body cells	Luminal epithelial cells	Myoepithelial cells

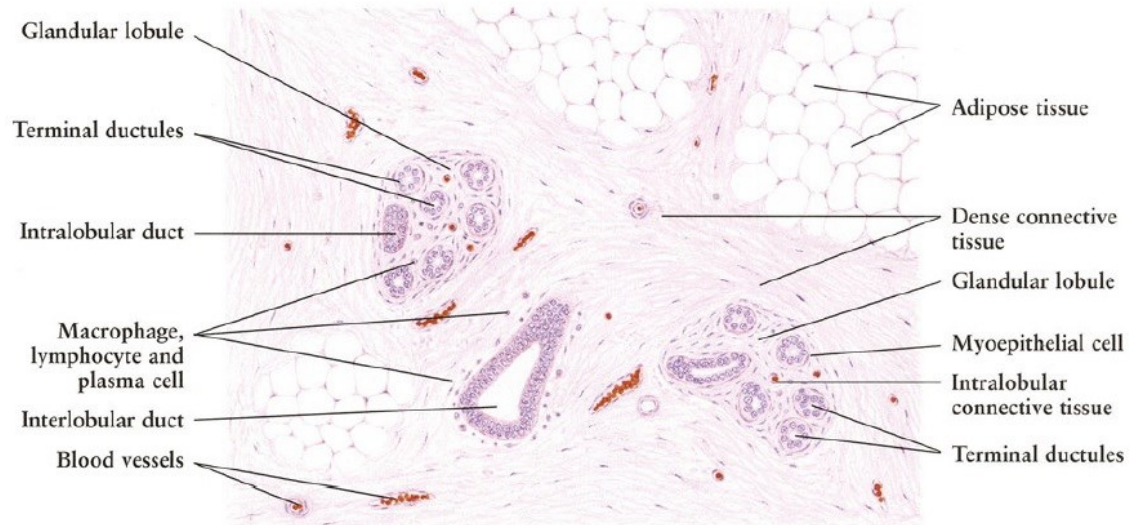
HORMONÁLNÍ OVLIVNĚNÍ MLÉČNÉ ŽLÁZY

- **prolaktin** – produkován mamotropními buňkami adenohypofýzy; podpora sekrece mléka; jeho produkce se zvyšuje po porodu → pokles progesteronu
- **oxytocin** – produkce nucl. paraventricularis hypotalamu; podpora ejekce mléka (myoepitelové buňky); jeho produkce se zvyšuje po porodu → pokles progesteronu
- **estrogeny** – produkce žlutým tělískem, granulosa cells folikulů, placenta; podpora růstu vývodů
- **progesteron** – produkován žlutým tělískem/syncytitotrofoblastem; podpora růstu acinů
- **placentární laktogen** – produkován placentou; podporuje rozvoj žlázek



STROMA MLÉČNÉ ŽLÁZY

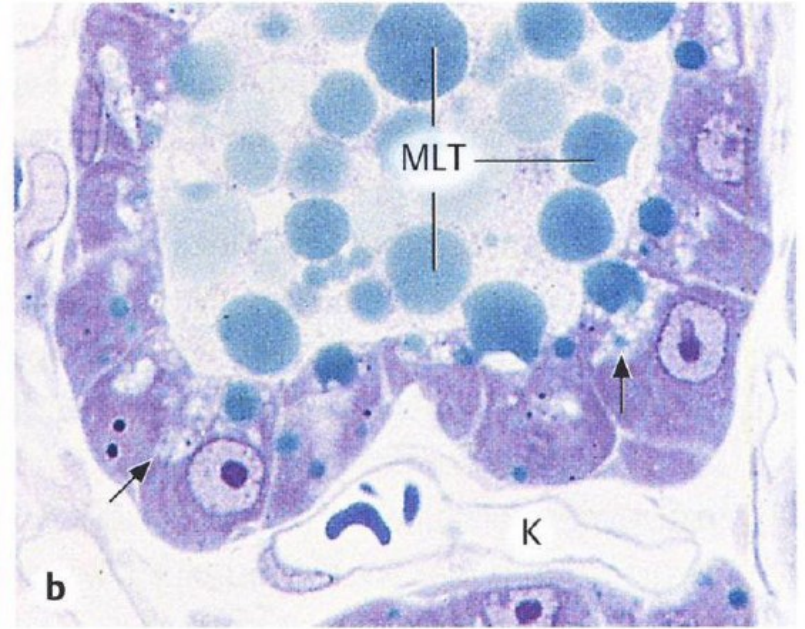
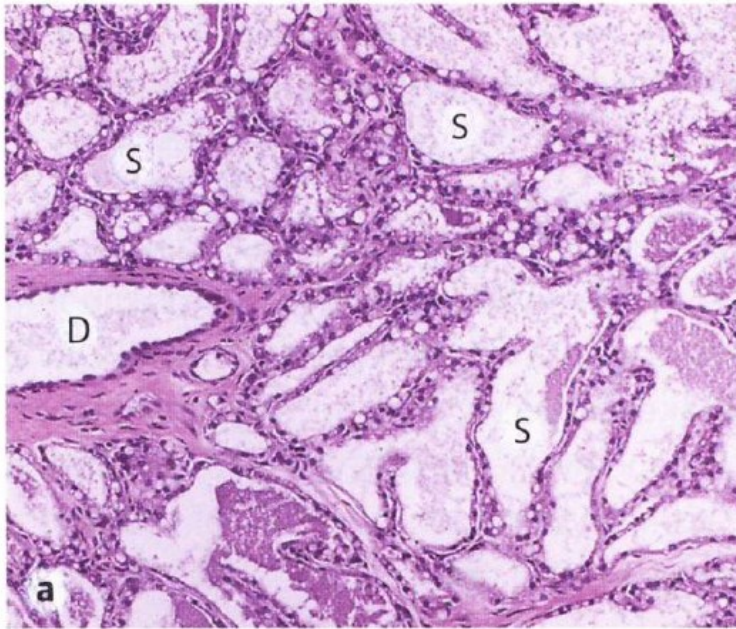
- ▶ tvořeno hustým kolagenním vazivem (**interlobulární septa**) a tukovou tkání + cévní a nervové zásobení
- ▶ podklad lalůčku je tvořen řídkým kolagenním vazivem + cévní a nervové zásobení (*v období laktace se zde objevují plazmatické buňky → produkce IgA*)



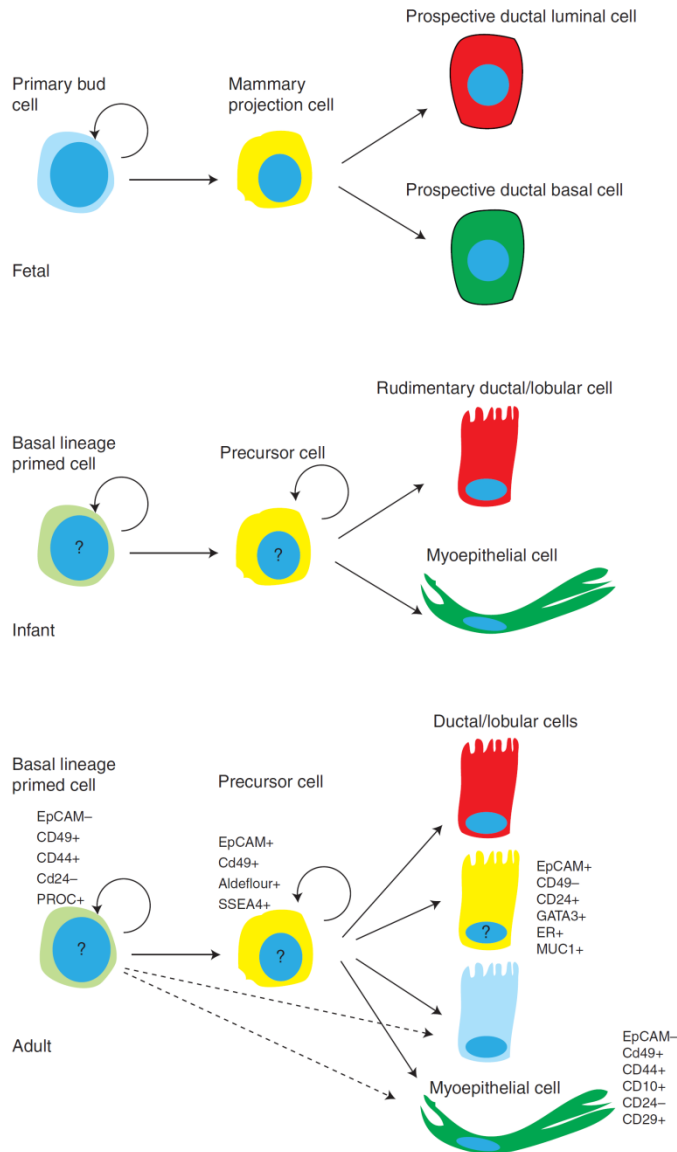
LAKTUJÍCÍ MLÉČNÁ ŽLÁZA

- ▶ základní **stavební** jednotka = **lalůček** (řídké vazivo + intralobulární vývody) → velké lalůčky
- ▶ základní **funkční** jednotka = **mléčné aciny**
- ▶ úzké interlobulární septa (husté vazivo + cévní a nervové zásobenění + interlobulární vývody)
- ▶ produkce **mléka**: voda, mléčné bílkoviny (kaseiny, laktalbumin...), tuk, laktóza, minerály, vitamíny, protilátky
 - ▶ **kolostrum**: přechodný typ mateřského mléka, má vyšší podíl bílkovin, vitamínu A, sodíku a chlóru, protilátek

Laktující mamma (Macacus, potkan)

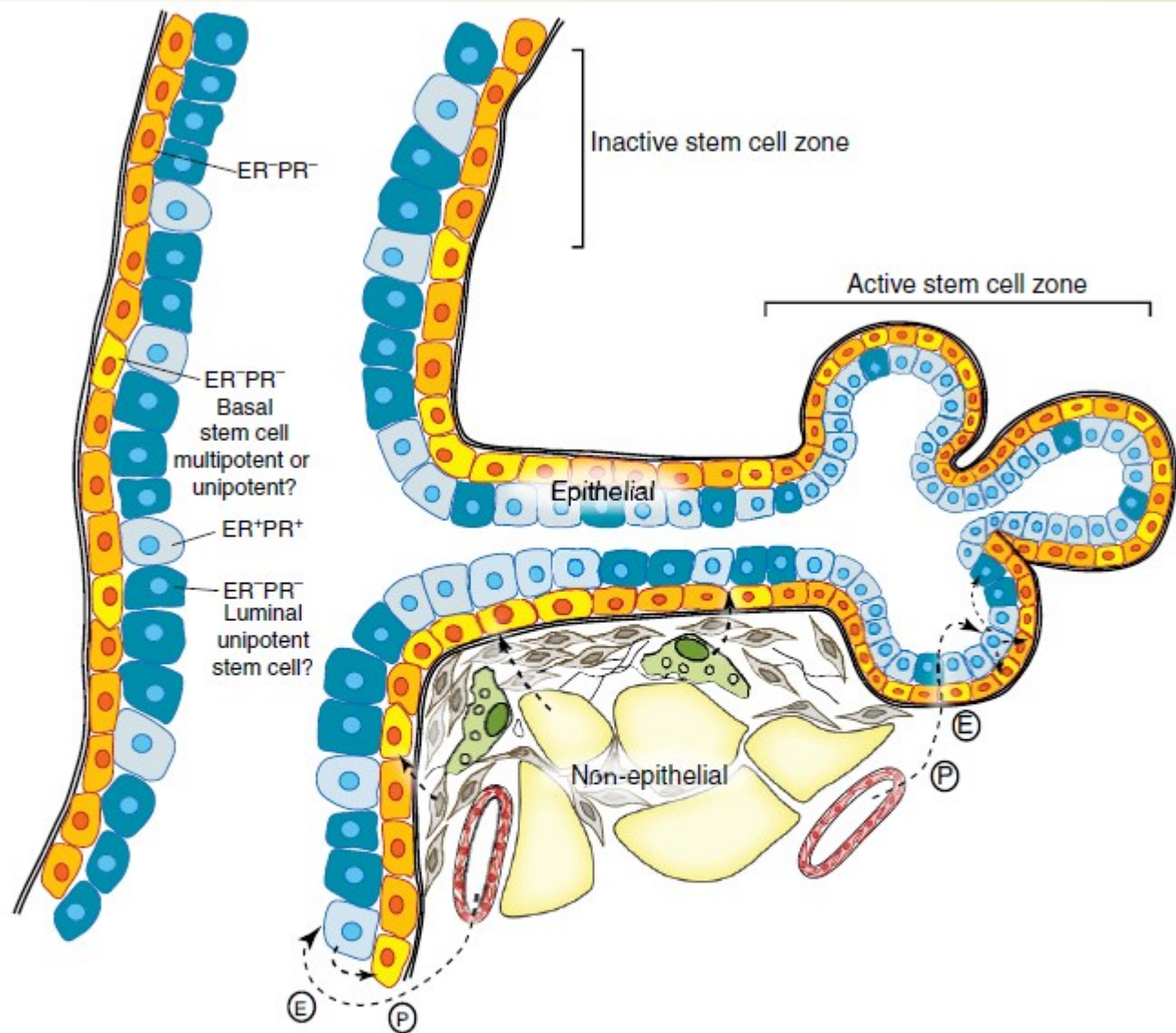


Model liniové hierarchie prsní žlázy



- Nejprimitivnější fetální buňky jsou negativní na K14 a K19
- Multipotentní progenitorové buňky jsou pozitivní na K14/K19
- Diferencované bazální buňky/myoepiteliální a epiteliální buňky jsou pozitivní na K14, K19, double pozitivní nebo double negativní

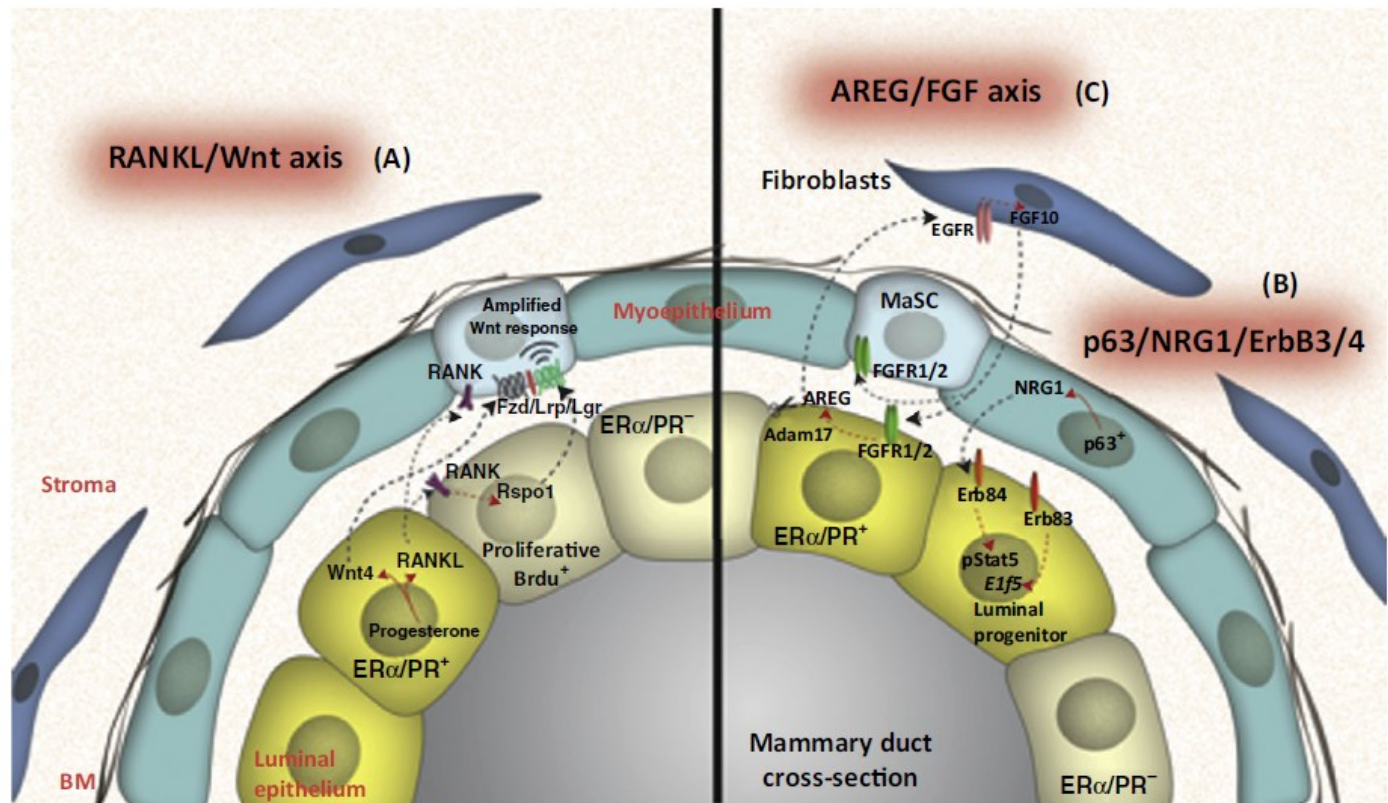
Fyziologie buň. systémů



Key:

										
(ER ⁻ PR ⁻)	(ER ⁺ PR ⁺)	(ER ⁻ PR ⁻)	(ER ⁻ PR ⁻)					E	P	
CD24 ⁺ CD29 ^{lo} CD49f ^{lo}		CD24 ⁺ CD29 ^{hi} CD49f ^{hi}								
Luminal epithelial cells		Basal epithelial cells		Fibroblast	Macrophage	Adipocyte	Blood vessel	Estrogen	Progesterone	Basement membrane

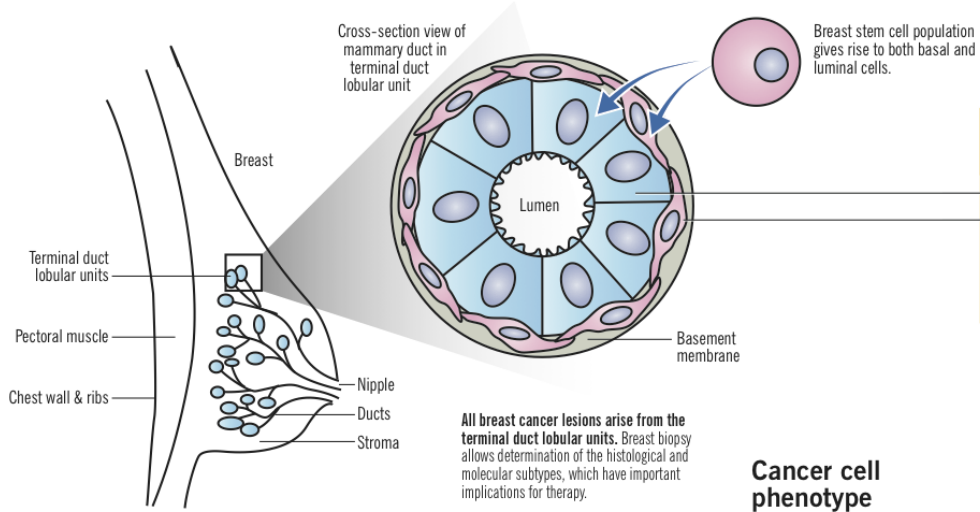
Parakrinní interakce v mléčné žláze



- A) Rspo-1 a Wnt4 jsou sekretovány luminálními buňkami (pod kontrolou ER a PG) a indukují expanzi MaSC. RANKL spolupůsobí prostřednictvím Rspo1
- B) ErbB3 exprese je nezbytná pro diferenciaci luminálních buněk a pro udržování rovnováhy mezi luminálním a bazálním epitelem. Exprese p63 je klíčová pro laktační potenciál luminálních buněk
- C) FGFR1 indukuje ligand EGFR amphiregulin (AREG) u luminálních buněk

Breast cancer pathogenesis and histologic vs. molecular subtypes

Eric Wong and Jenna Rebelo



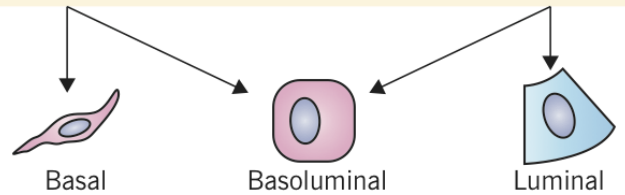
Normal breast stem cells or progenitor cells transform into breast cancer cells. The cancer cells are similar in phenotype to the normal basal and luminal cells of the ductal structure.

Basal or myoepithelial cells

- Contractile cells for milk ejection
- Estrogen receptor –
- Progesterone receptor –

Luminal or epithelial cells

- Respond to hormonal stimulation for milk production
- Estrogen receptor +
- Progesterone receptor +/-



All breast cancer lesions arise from the terminal duct lobular units. Breast biopsy allows determination of the histological and molecular subtypes, which have important implications for therapy.

Histological subtypes	Ductal	Lobular
Preinvasive cancer 25% Cells limited to basement membrane	Ductal carcinoma in situ (DCIS) 80% May spread through ducts and distort duct architecture 1% progress to invasive cancer per year Usually unilateral	Lobular carcinoma in situ (LCIS) 20% Does not distort duct architecture Same genetic abnormality as ILC – E-cadherin loss 1% progress per year Can be bilateral
Invasive cancer 75% Extension beyond the basement membrane	Invasive ductal carcinoma (IDC) 79% Usually from DCIS precursor Cause fibrous response, producing a palpable mass on examination Metastasis through lymphatics and blood	Invasive lobular carcinoma (ILC) 10% Usually from LCIS precursor Minimal fibrous response, presents less often with palpable mass Metastasis through abdominal viscera to GI, ovaries, uterus Almost always ER+

Molecular subtypes	Triple negative	HER2+	Luminal B	Luminal A
	ER-, PR-, HER2-			
% of breast cancers	15-20%	10-15%	20%	40%
Receptor expression	HER2		ER+/PR+	
Histologic grade Level of cell differentiation	High (grade III)		Low (grade I)	
Prognosis Correlates to histologic grade	Poor		Good	
Response to medical therapy	Chemotherapy		Trastuzumab	Endocrine

Curr Treat Options Oncol. 2000 Aug;1(3):199-209.
Clin Transl Oncol. 2008 Dec;10(12):777-85.

Nat Clin Pract Oncol. 2007 Sep;4(9):516-25.
Robbins 8E

Triple negative tumours respond best to chemotherapy, similar to other aggressive cancers.

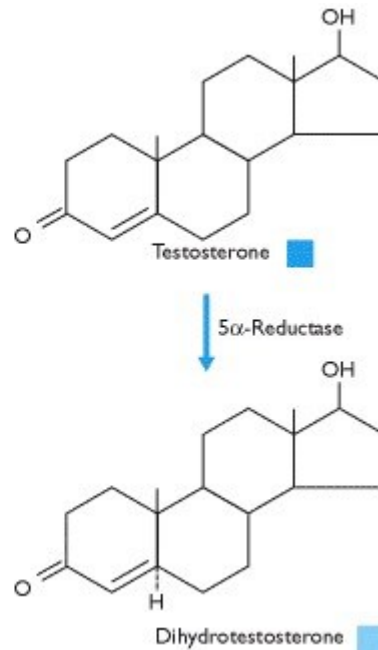
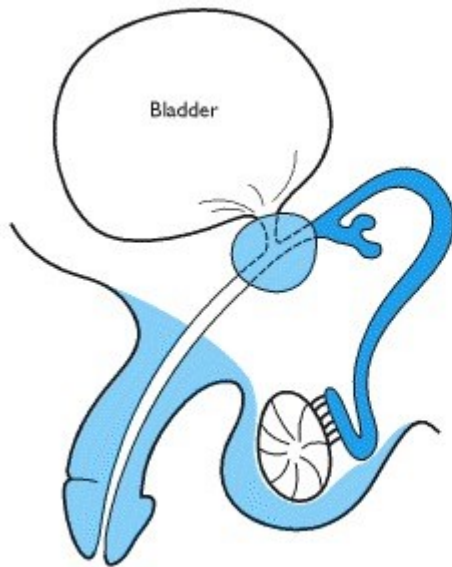
Luminal A tumours respond best to endocrine therapy, e.g. antiestrogen or aromatase inhibitor.

Fyziologie buň. systémů



Hlavní místa syntézy mužských pohlavních hormonů:

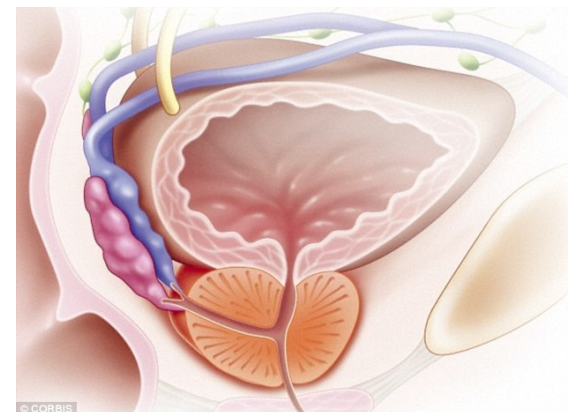
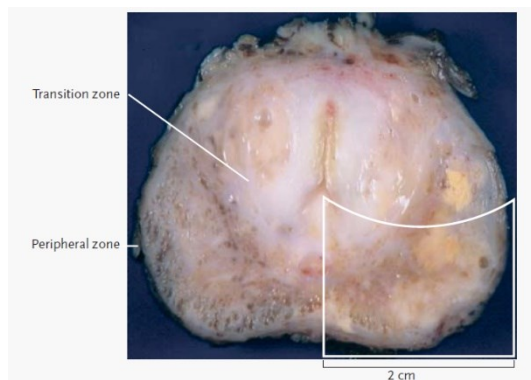
Muž (%)	Varlata	Nadledvinky	Konverze ve tkáních
Testosterone	95	<1	<5
5 α -DHT	20	<1	80
Androstenedione	20	<1	90
DHEA	2	<1	98
DHEA-S	<10	90	-



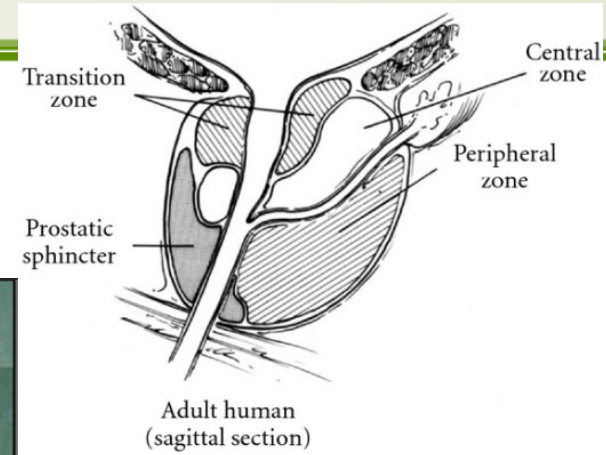
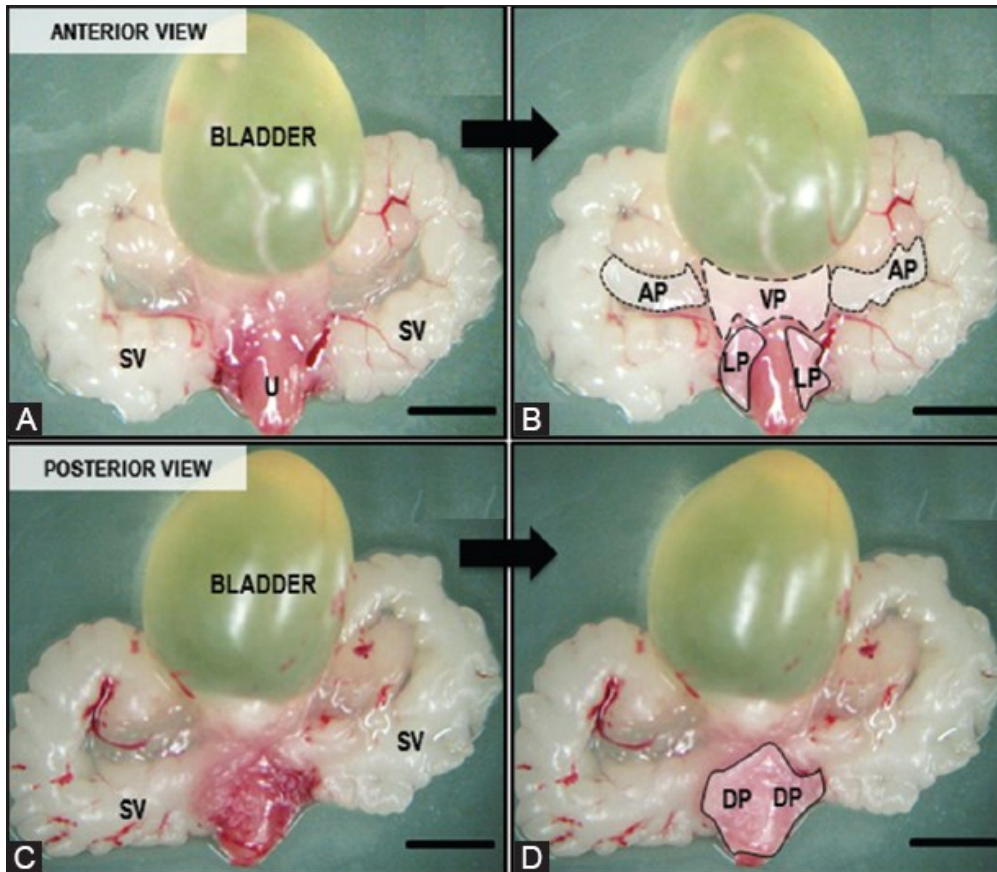
- **úloha testosteronu a DHT ve vývoji vnitřních a vnějších pohlavních orgánů**

PROSTATA

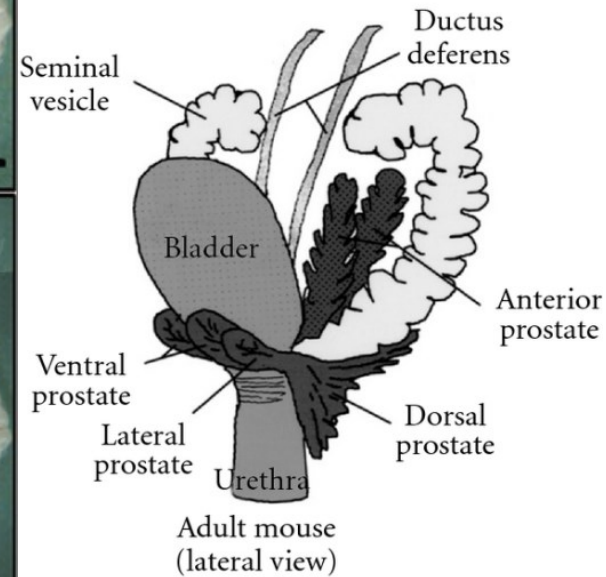
- ▶ parenchymatozní orgán, lumen žlázek je složeno v slizniční řasy (vystlány 1vrst.-dvouřadým kubickým až cyl. epitelem)
- ▶ 30-50 rozvětvených tuboalveolární žlázek uložených ve vazivově-svalovém stromatu; vývody ústí na colliculus seminalis uretry
- ▶ žlázy mají jako podklad **fibromuskulární stroma**
 - ▶ **trojí lokalizace: slizniční , podslizniční, hlavní**
- ▶ **sekret:** hojně bílkovin, kapénky lipidů, kyselá fosfatáza (klin.významná), pH lehce kyselé, kyselina citronová, fibrinolysin, prostaglandiny; ve vyšším věku konkrementy prostaty (corpora amylacea)



Prostata člověk vs. myš

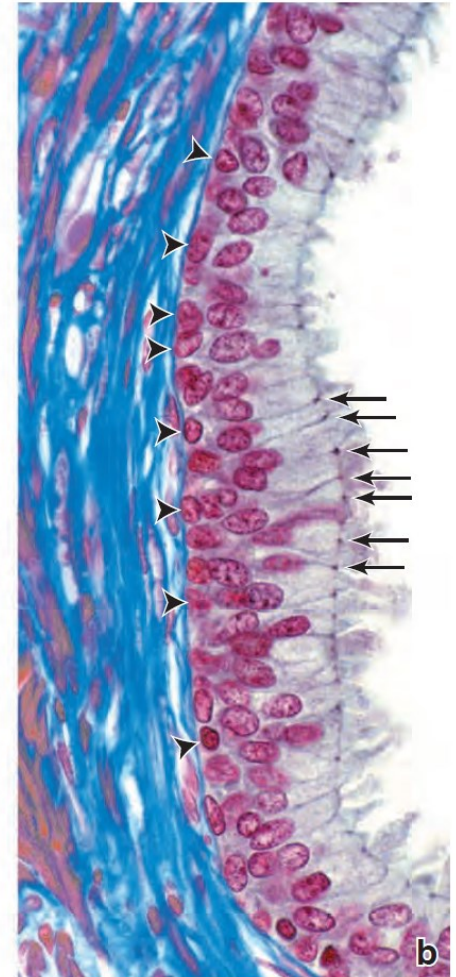
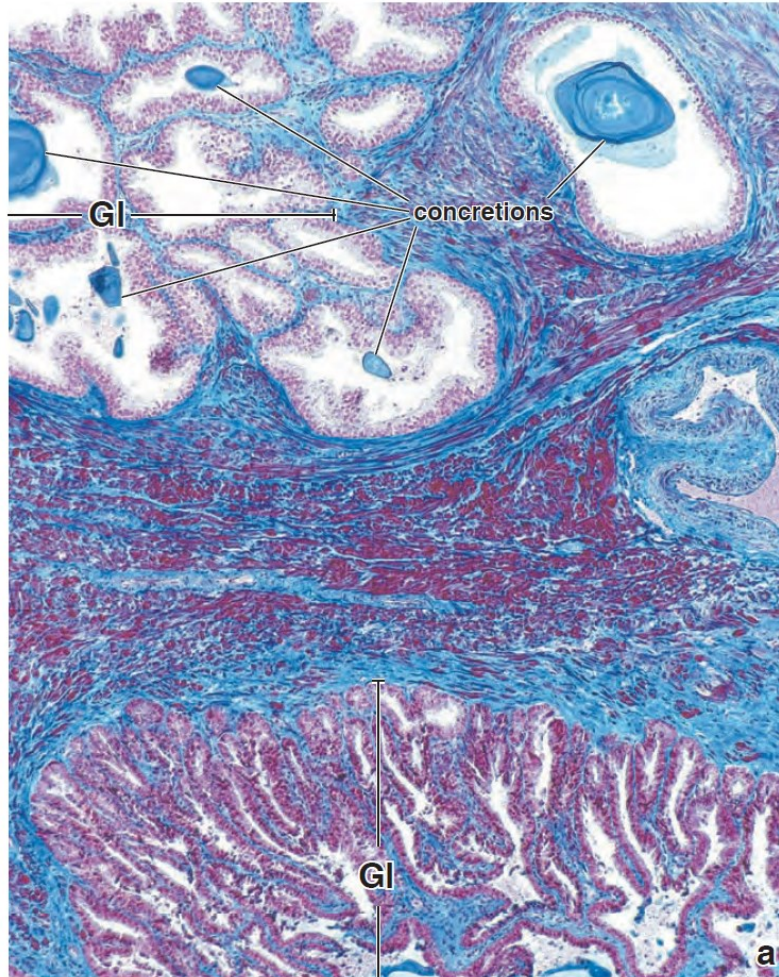


(a)

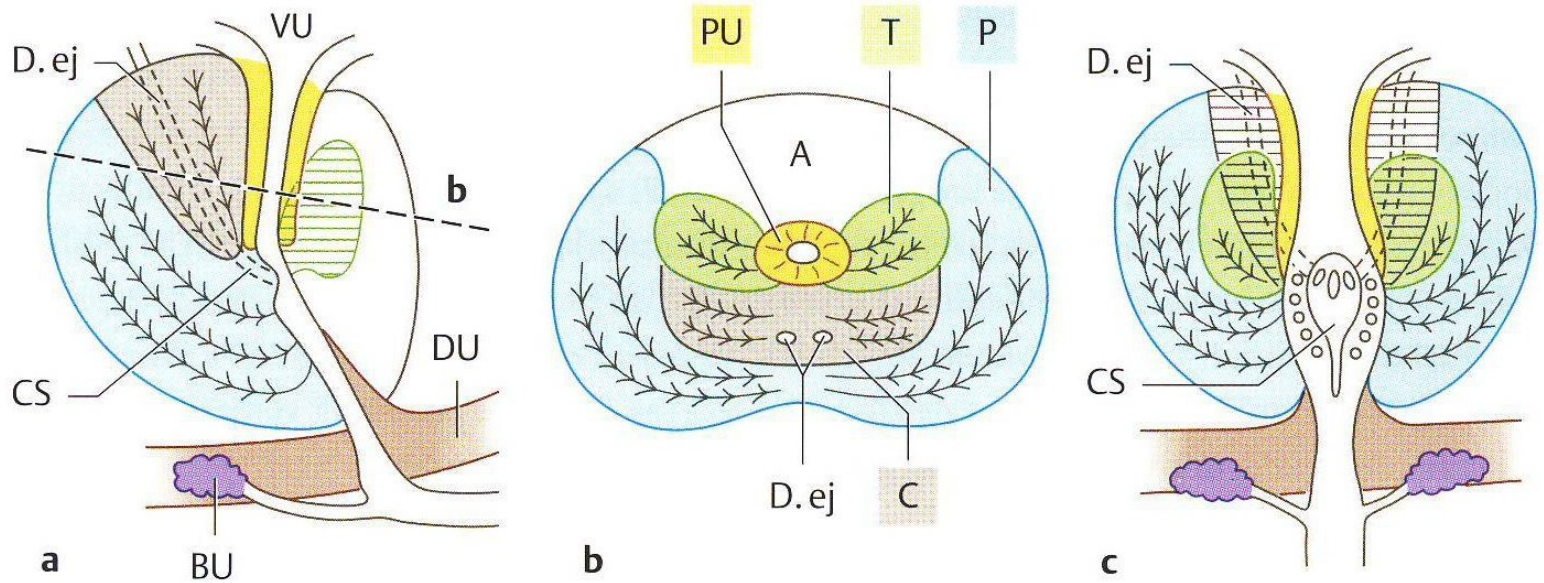


(b)

Prostata - člověk



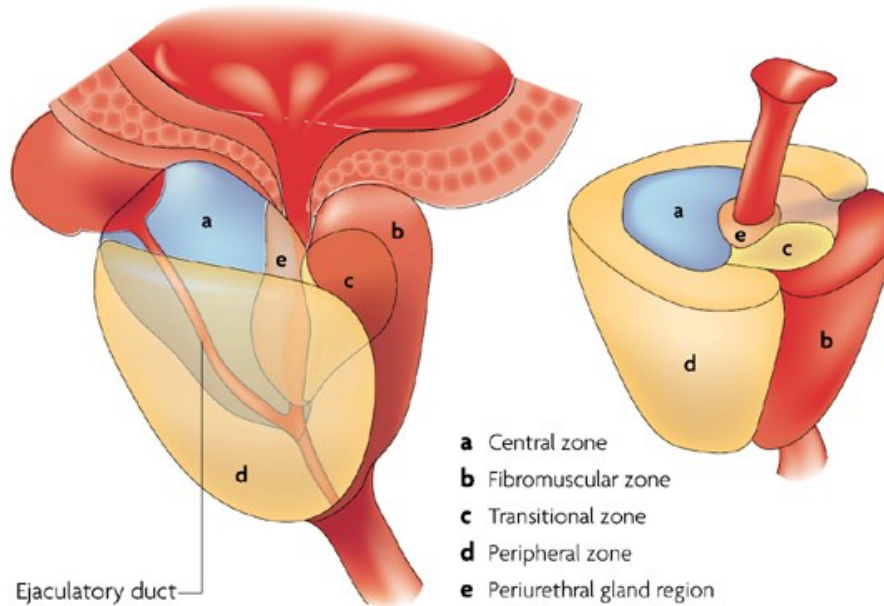
Členění prostaty člověka



- Zóna centrální (C), periferní (P), přechodová (T), periuterální (PU), přední, nežlaznatá (A)

Zonální predispozice k onemocnění prostaty

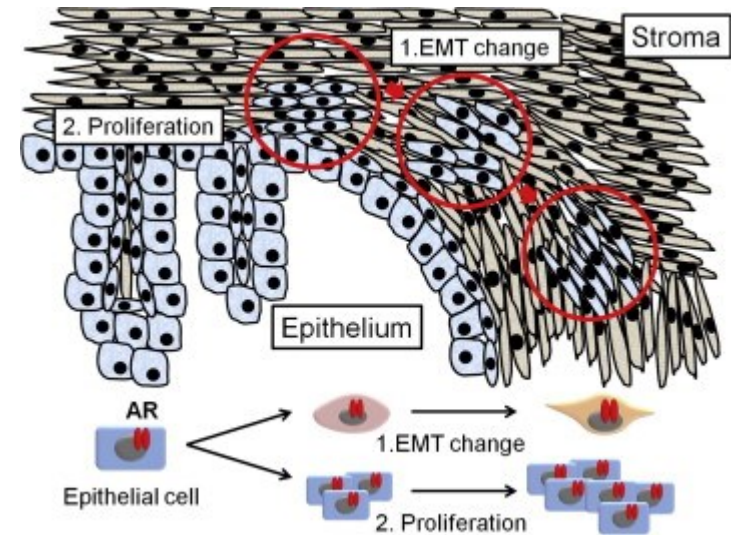
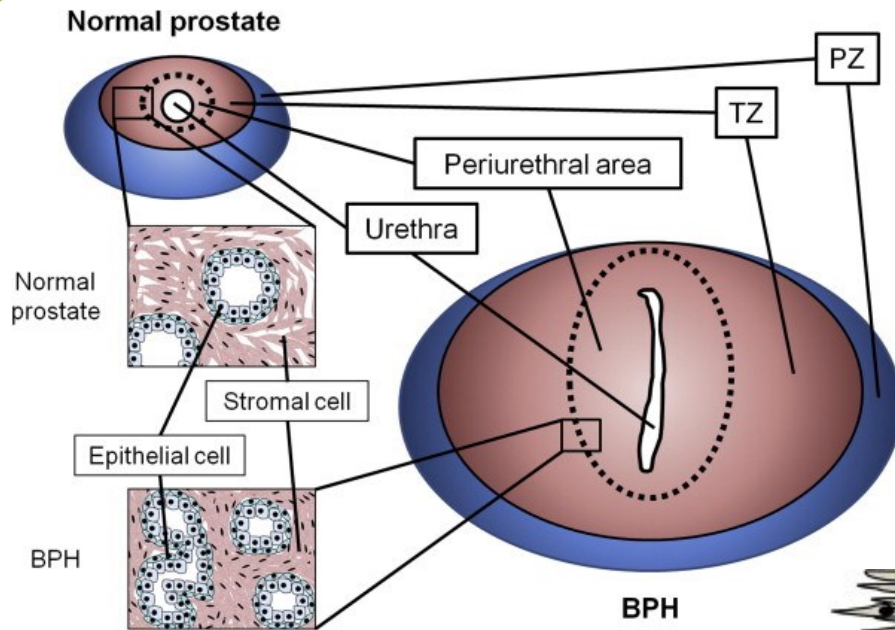
Prostate zones



	Prostate zone		
	Peripheral	Transition	Central
Focal atrophy	High prevalence	Medium-high prevalence	Low prevalence
Acute inflammation	None	None	None
Chronic inflammation	Medium-high prevalence	Medium-high prevalence	Low prevalence
Benign prostatic hyperplasia	None	High prevalence	Low prevalence
High-grade PIN	High prevalence	Medium-high prevalence	Low prevalence
Carcinoma	High prevalence	Medium-high prevalence	Low prevalence

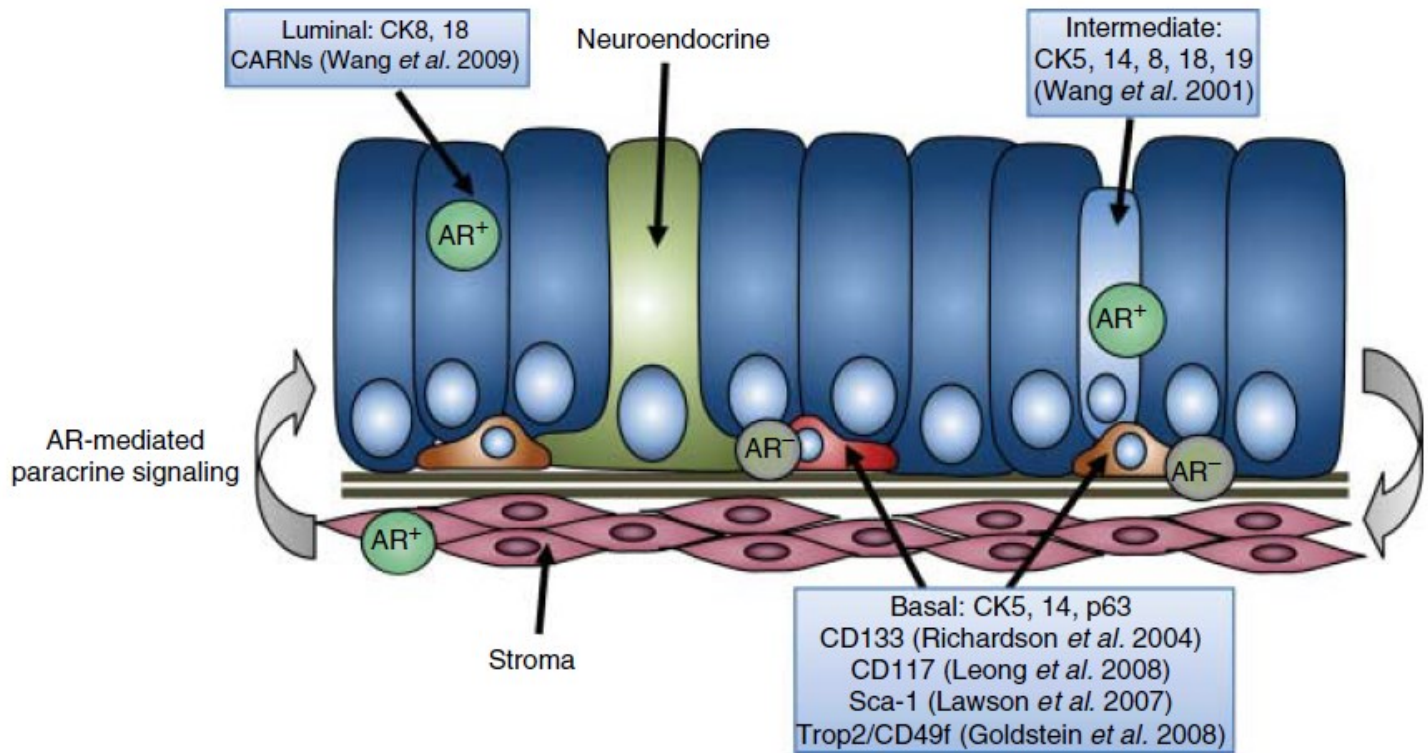
High prevalence
 Low prevalence
 Medium-high prevalence
 None

Benigní hyperplazie prostaty

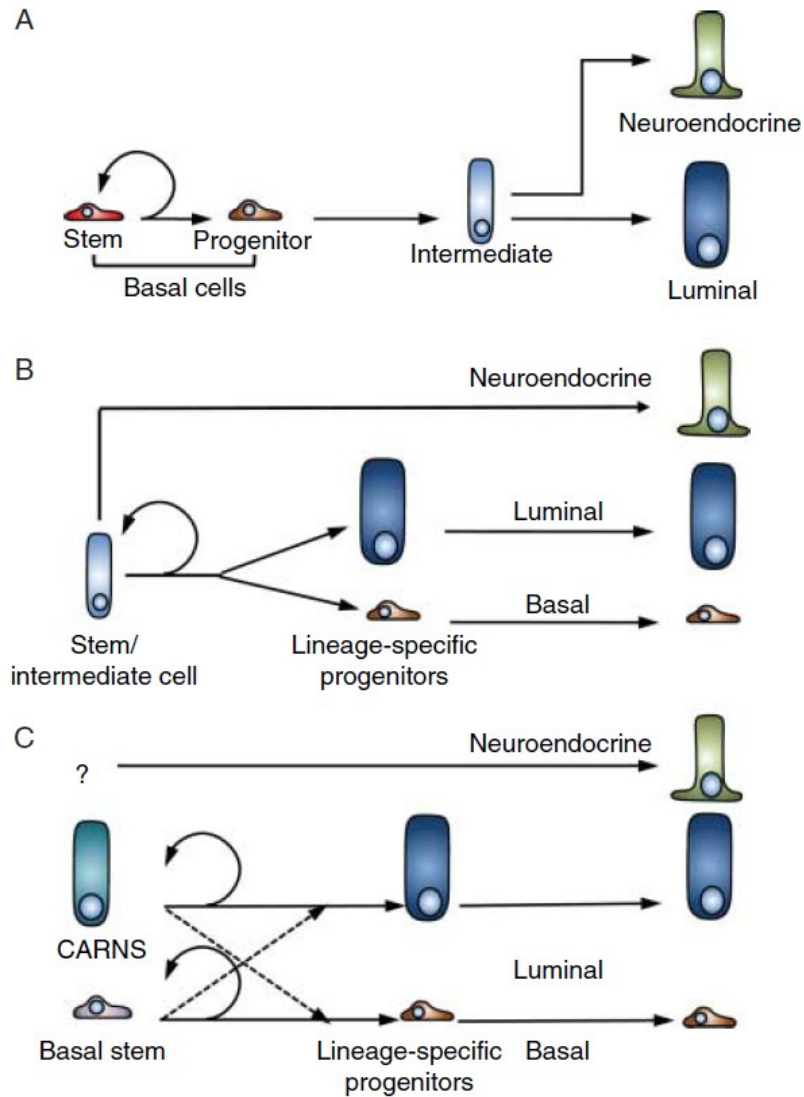


Izumi, K. et al. *The American Journal of Pathology* 182, 1942-1949, (2013).

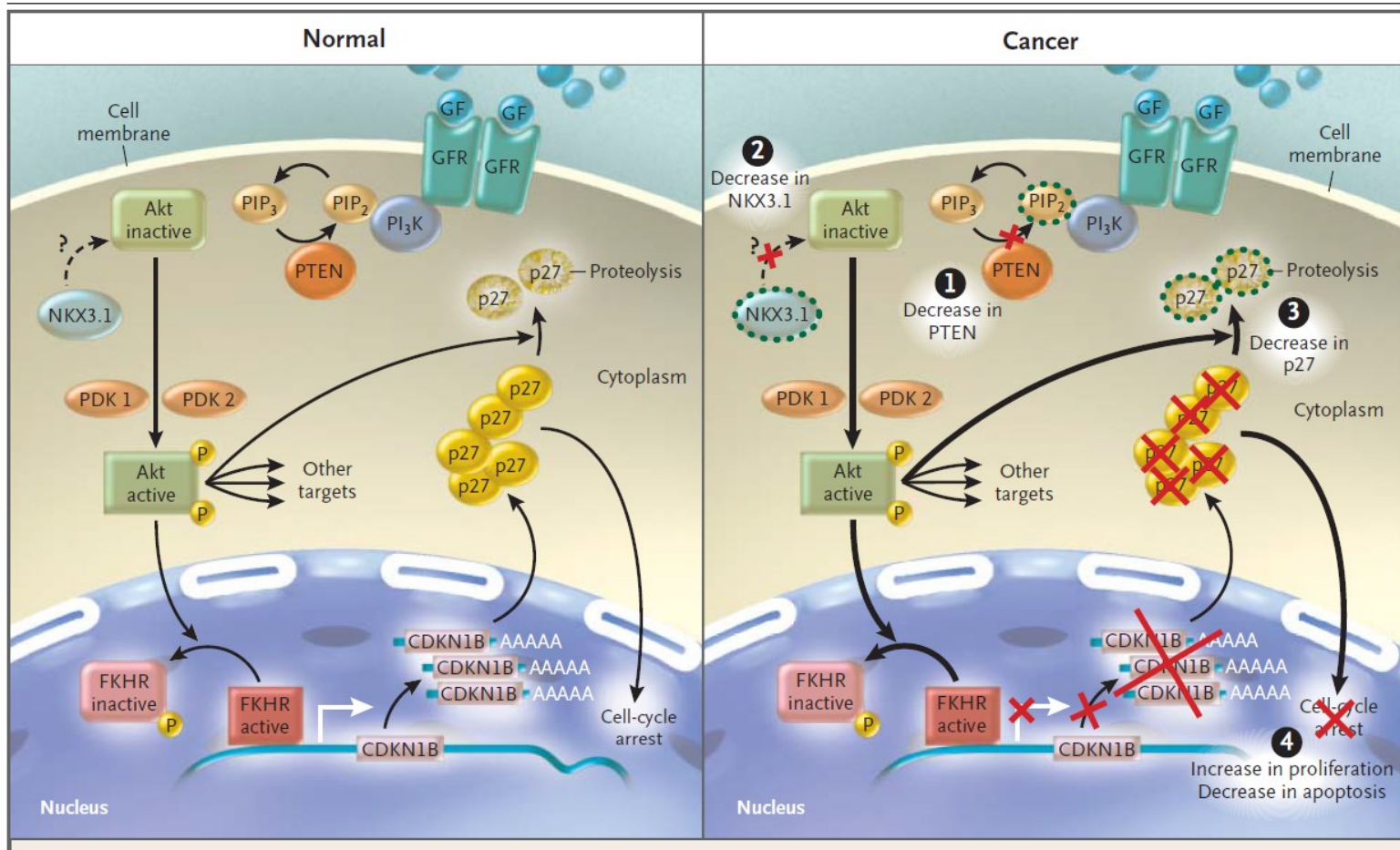
Kmenová buňka prostaty



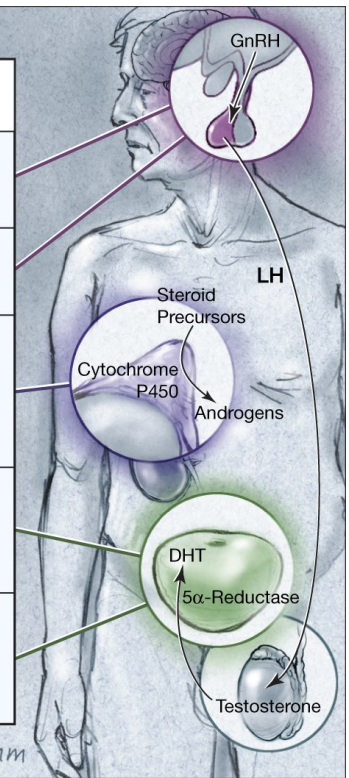
Model liniové hierarchie prostaty



Fyziologie buň. systémů



Drug Class	Drugs	Site of Action	Mechanism of Action	Comments/Risks
Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Agonists	Leuprolide Goserelin	Anterior Pituitary Gland	Decreases Release of LH Through Down-regulation of GnRH Receptors	Testosterone Surge
GnRH Antagonists	Abarelix*	Anterior Pituitary Gland	Directly Inhibits GnRH Receptors	Anaphylaxis
Adrenal Ablating Drugs	Ketoconazole	Adrenal Gland	Decreases Androgen Synthesis From Steroid Precursors Through Inhibition of Cytochrome P450 Enzymes	Administration Requires Steroid Supplementation to Prevent Adrenal Insufficiency
Androgen Receptor Antagonists	Flutamide Bicalutamide Nilutamide	Prostate Gland	Inhibits Androgen Receptor Ligand-Binding Domain Through Competitive Binding	Gynecomastia, Increased Liver Transaminases, and Mastodynia
5 α -Reductase Inhibitors	Finasteride	Prostate Gland	Decreases Conversion of Testosterone to DHT Through Inhibition of 5 α -Reductase	No Defined Role in Standard Care of Prostate Cancer

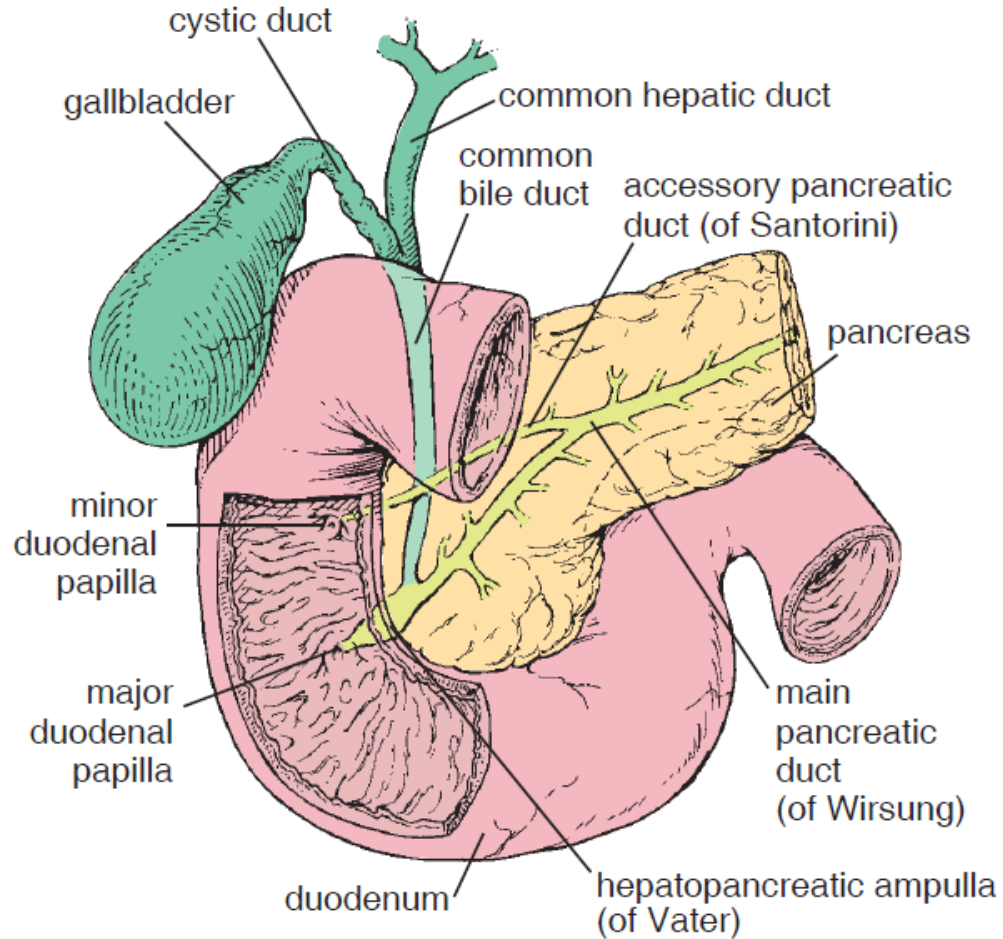


C. Lynn

Fyziologie buň. systémů

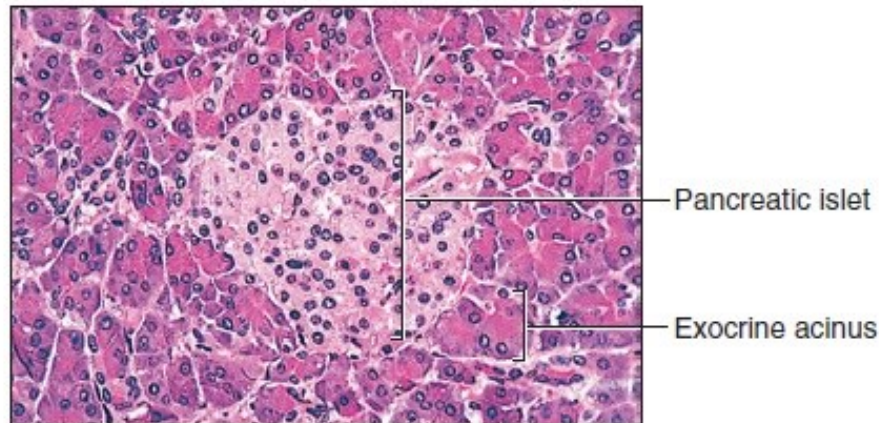


Slinivka břišní, pankreas

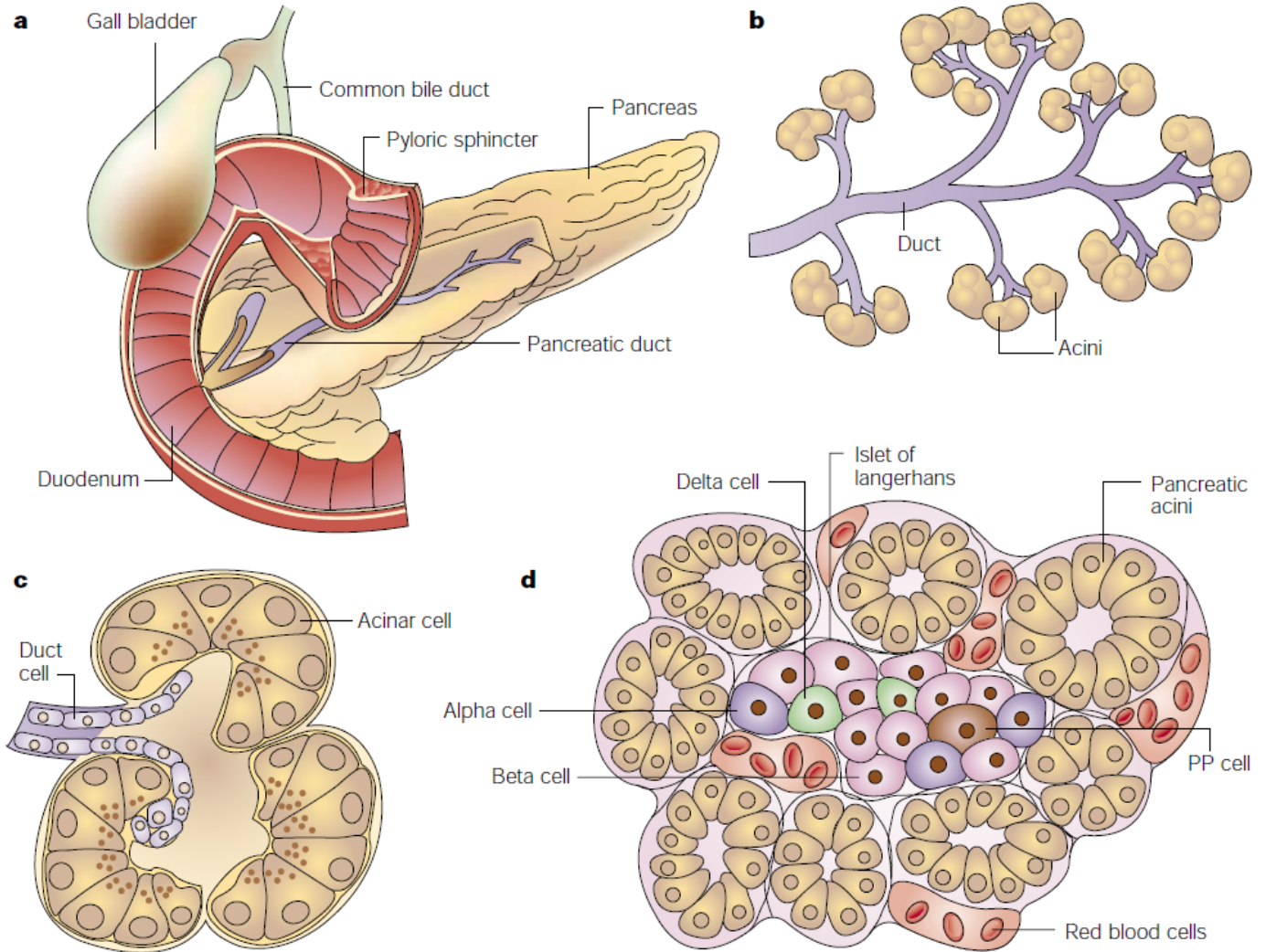


Slinivka břišní, pankreas

- ▶ smíšená exo/endokrinní žláza, produkující trávicí enzymy a hormony (váha ~ 80g, velikost ~ 15 cm)
- ▶ **stroma:** na povrchu pouzdro (husté vazivo) – z něj vybíhají septa → laloky → lalůčky (cévní + nervové zásobení + větvení vývodů); podkladovou tkání je řídké vazivo
- ▶ **parenchym:** pankreatické aciny + trámčité uspořádání buněk (Langerhansovy ostrůvky)

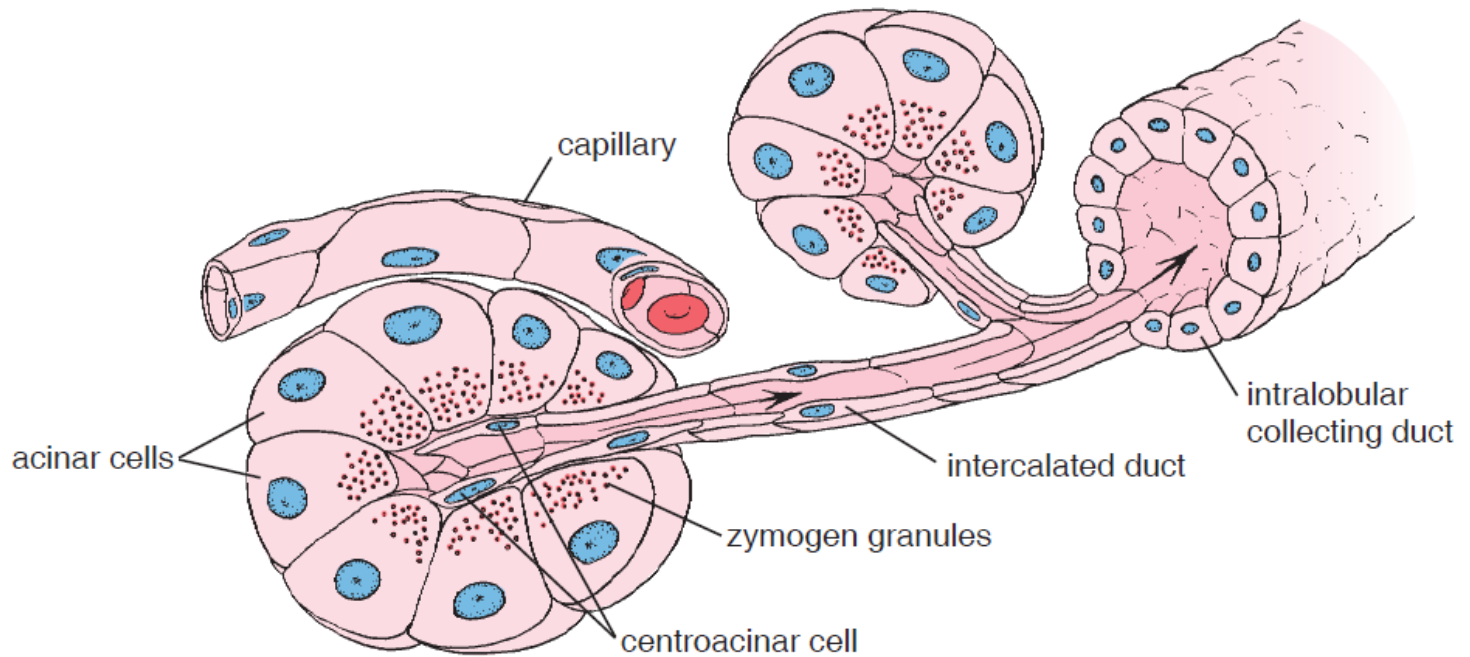
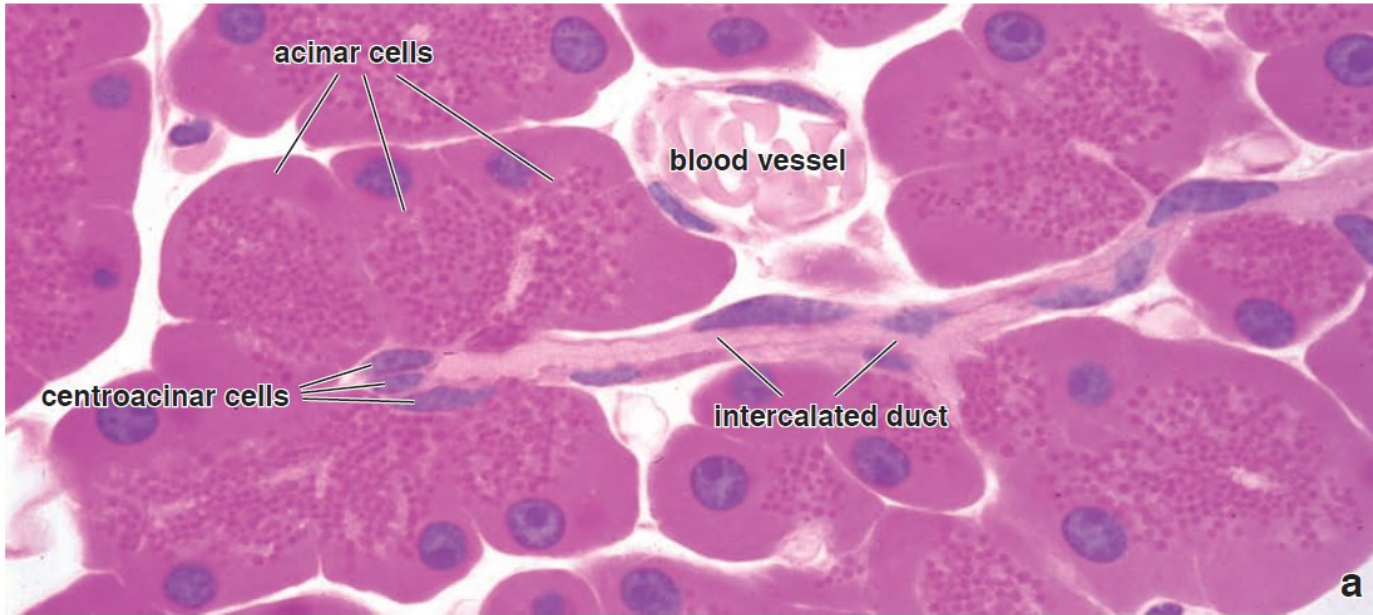


Pankreas



EXOKRINNÍ ČÁST PANKREATU

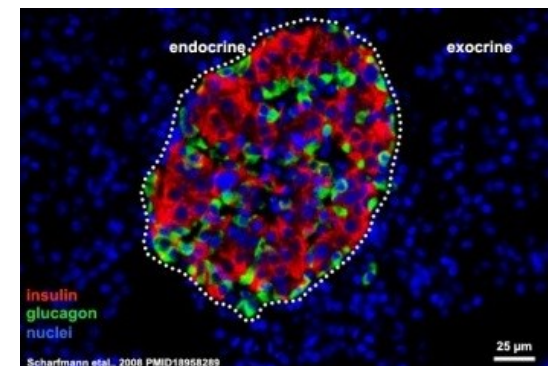
- složená alveolární žláza
- syntetizuje a produkuje trávicí šťávu (cca 2 L/den): proteolytické endopeptidázy (trypsinogen, chymotrypsinogen), amylázy, lipázy a deoxyribonukleázy → mají za úkol štěpit tráveninu (chymus), přicházející z žaludku
- také zde probíhá produkce látek, podílejících se na alkalizaci sekretu (snížení pH = ↑ funkčnost trávicích enzymů)
- **pankreatické aciny** – bazofilní cytoplazma, množství sekrečních granulí, produkce trávicích enzymů
- **centroacinózní buňky** – světlá cytoplazma, přímo navazují na vsunuté vývody, alkalizace sekretu
- **absence myoepitelových buněk**



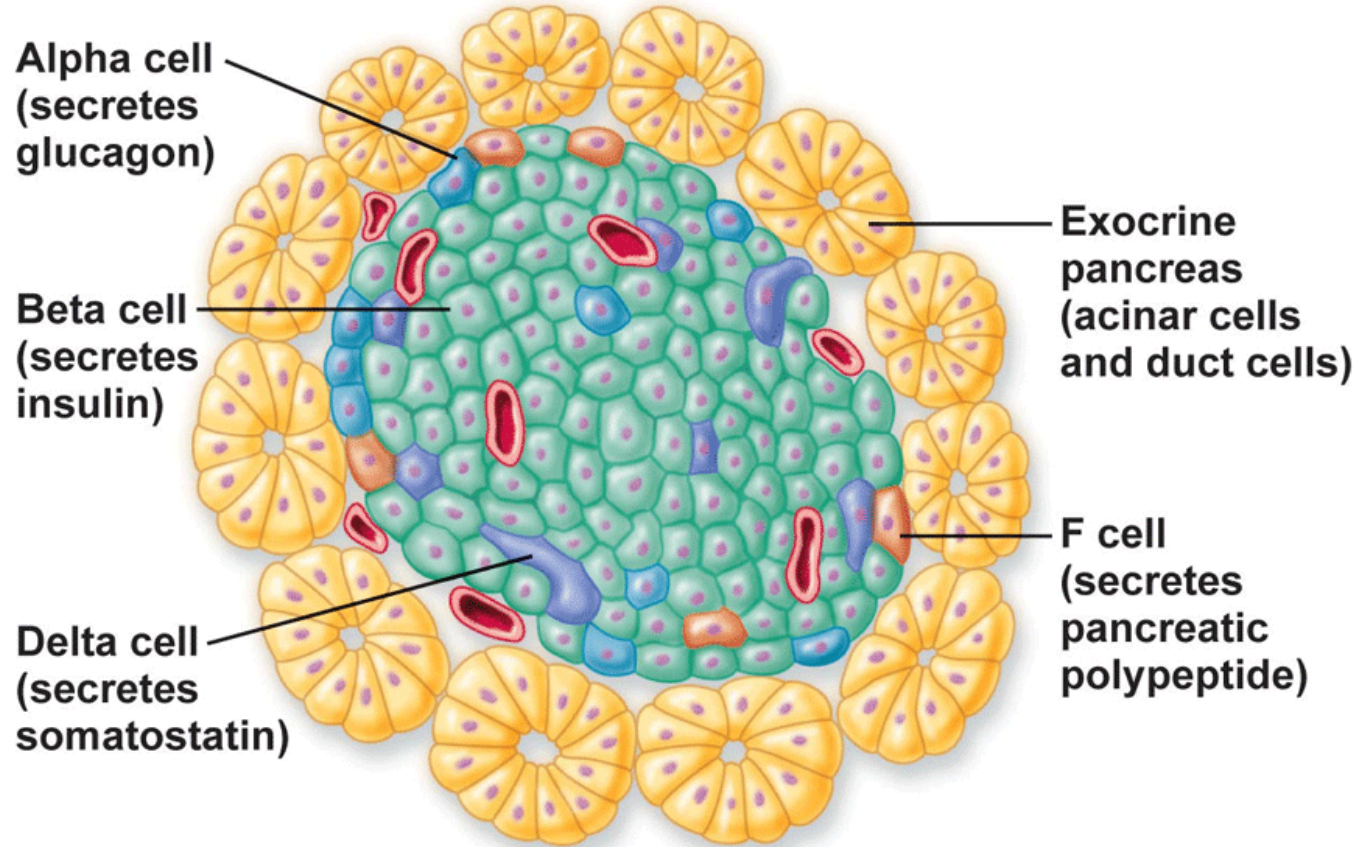
ENDOKRINNÍ ČÁST PANKREATU

Langerhansovy ostrůvky

- velikost 100-200 um, počet ~ 1 mil., 1-2% objemu slinivky
- **trámčitý** stavební typ s bohatým kapilárním zásobením (fenestrované kapiláry)
- ostrůvky jsou obklopeny tenkou vrstvou řídkého vaziva
- součástí „Diffuse Neuroendocrine System“ (DNES) systému
- světlá cytoplazma s přítomností sekrečních granulí → 4 typy buněk:
 - **A buňky – glukagon (cca 20%)**
 - **B buňky – inzulín (cca 70%)**
 - **D buňky – somatostatin (cca 5%)**
 - **PP buňky – pankreatický polypeptid (< 5%)**



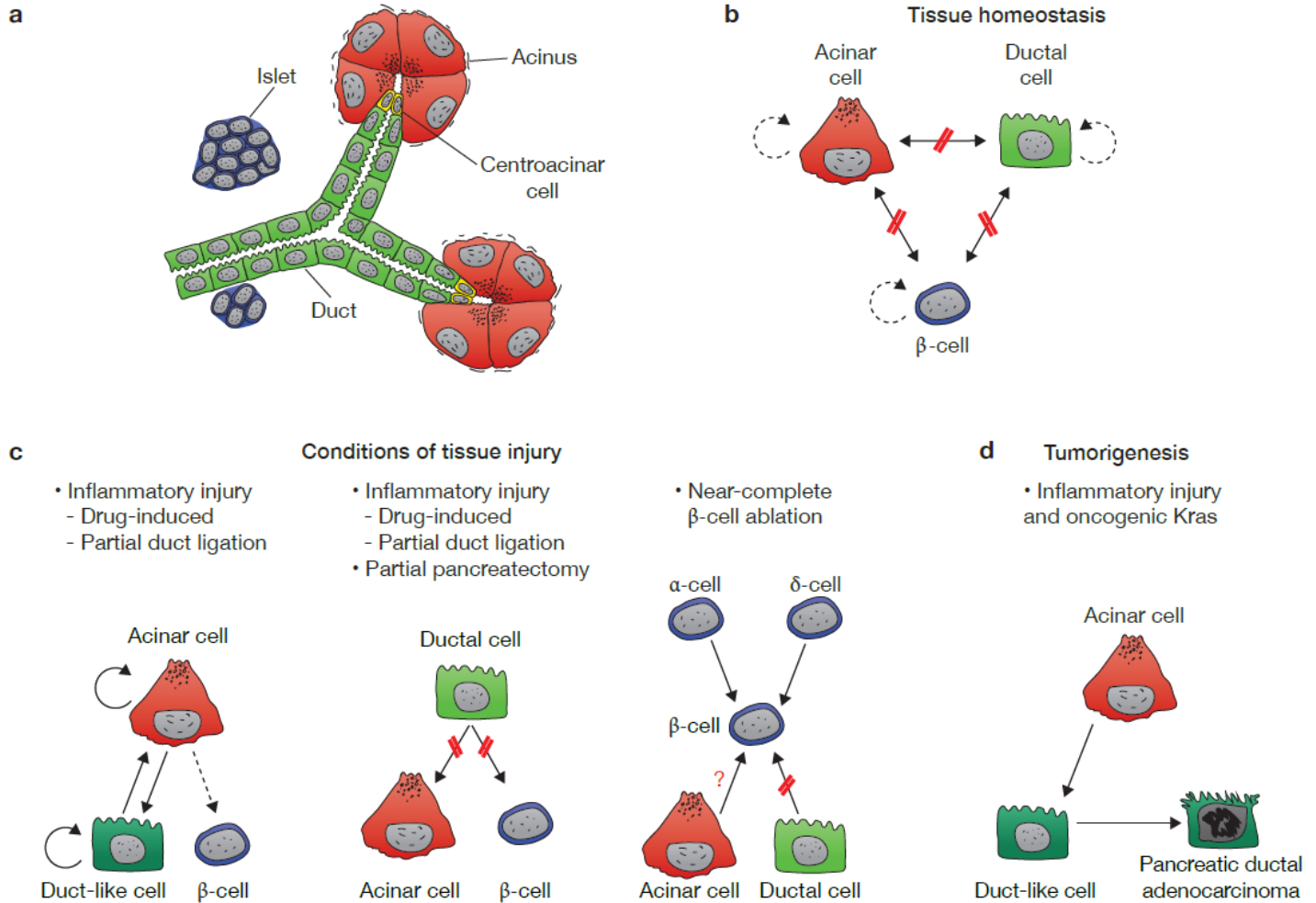
Langerhansův ostrůvek



Regenerace pankreatu

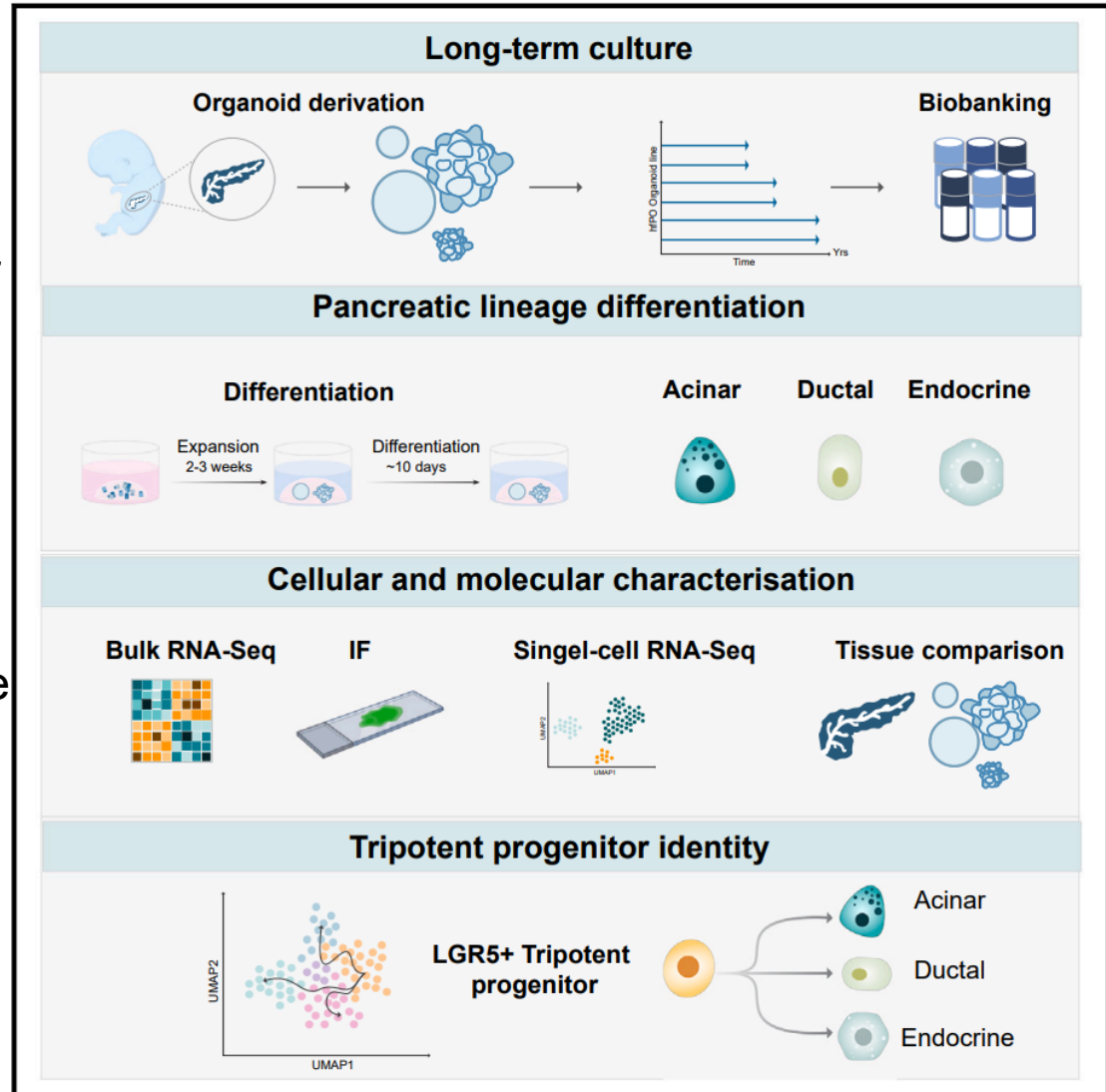
- Nízká intenzita proliferace
- Nízká klonogenní kapacita
- Délka života u myších buněk ~ 1 rok (podobně jako u jater)
- Regenerační kapacita odlišná od jaterní
 - Buňky zvýší svoji proliferační kapacitu, ale k úplné obnově poškozené tkáně nedojde
 - Lgr5+ buňky nejsou přítomny, jsou indukovány při poškození v buňkách ductu nebo v podmínkách in vitro – vliv mikroprostředí?
- Buňky pankreatu jsou plastické
 - Během zánětu lze nalézt buňky s ductální i acinární charakteristikou
 - Transdiferenciace
 - Risk pro vznik onemocnění (acinar-to-ductal metaplasia)

Regenerace pankreatu



Long-term *in vitro* expansion of a human fetal pancreas stem cell that generates all three pancreatic cell lineages

Identification of an LGR5 as a marker for a tripotent stem/progenitor cell of the human fetal pancreas. Organoids derived from single LGR5+ cells are capable of long-term expansion in vitro and generation of the three main epithelial cell lineages that make up the mammalian pancreas.



Literatura

- Histologie, Renate Lullmann-Rauch, GRADA, 2012
- Histology – A Text and Atlas, M. H. Ross. W. Pawlina, Wolters Kluwer, 2011
- GUIDE to GENERAL HISTOLOGY and MICROSCOPIC ANATOMY, Petr Vaňhara, Miroslava Sedláčková, Irena Lauschová, Svatopluk Čech, Aleš Hampl, Published by Masaryk University, ISBN 978-80-210-8453-7
- Atlas fyziologie člověka, S. Stefan, D. Agamemnon, Grada, 2016