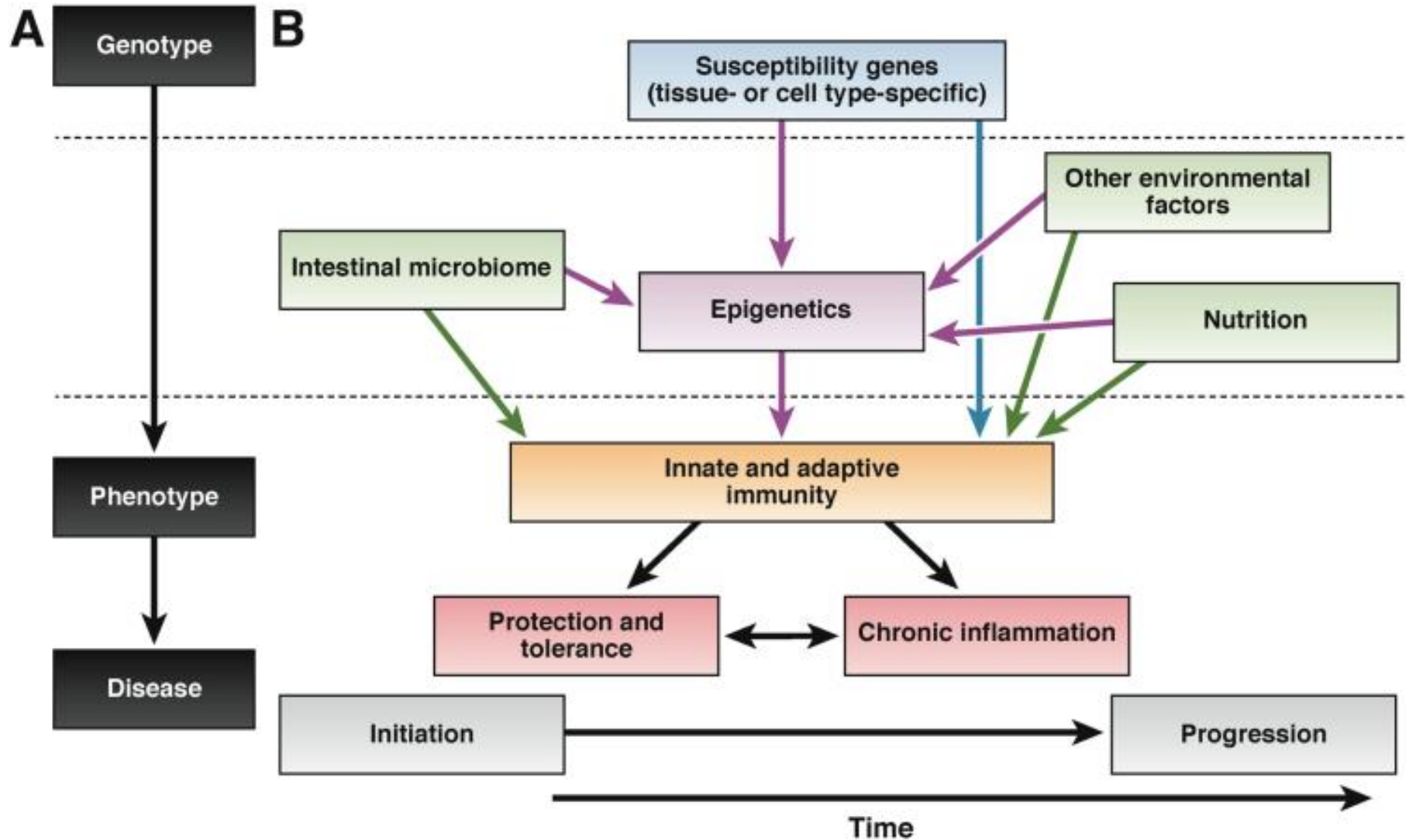




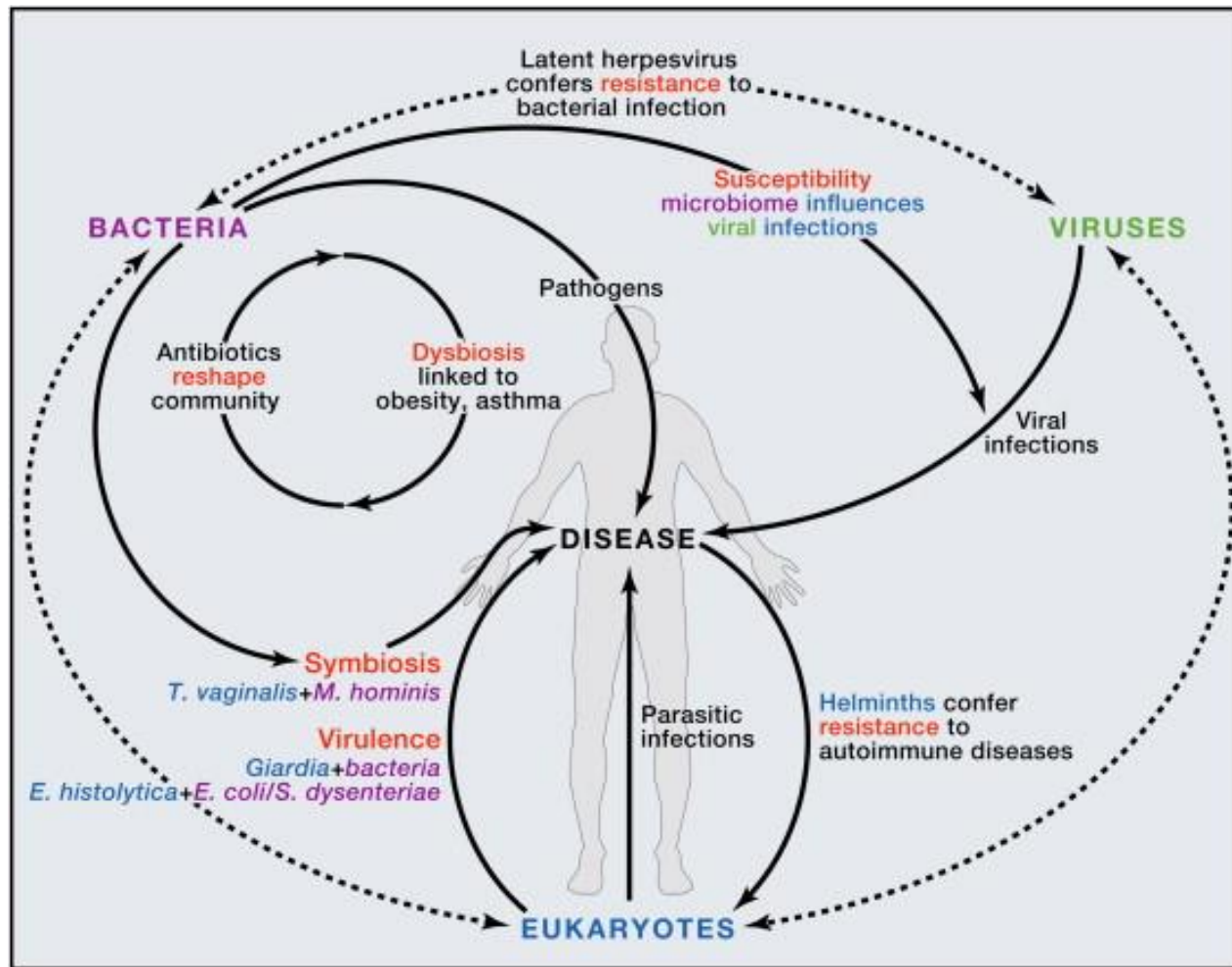
Komplexní nemoci, genetika, epigenetika, zánět, obezita, kachexie a tumor

NTP 7.12. 2017

Role epigenetiky v patogenezi nemoci

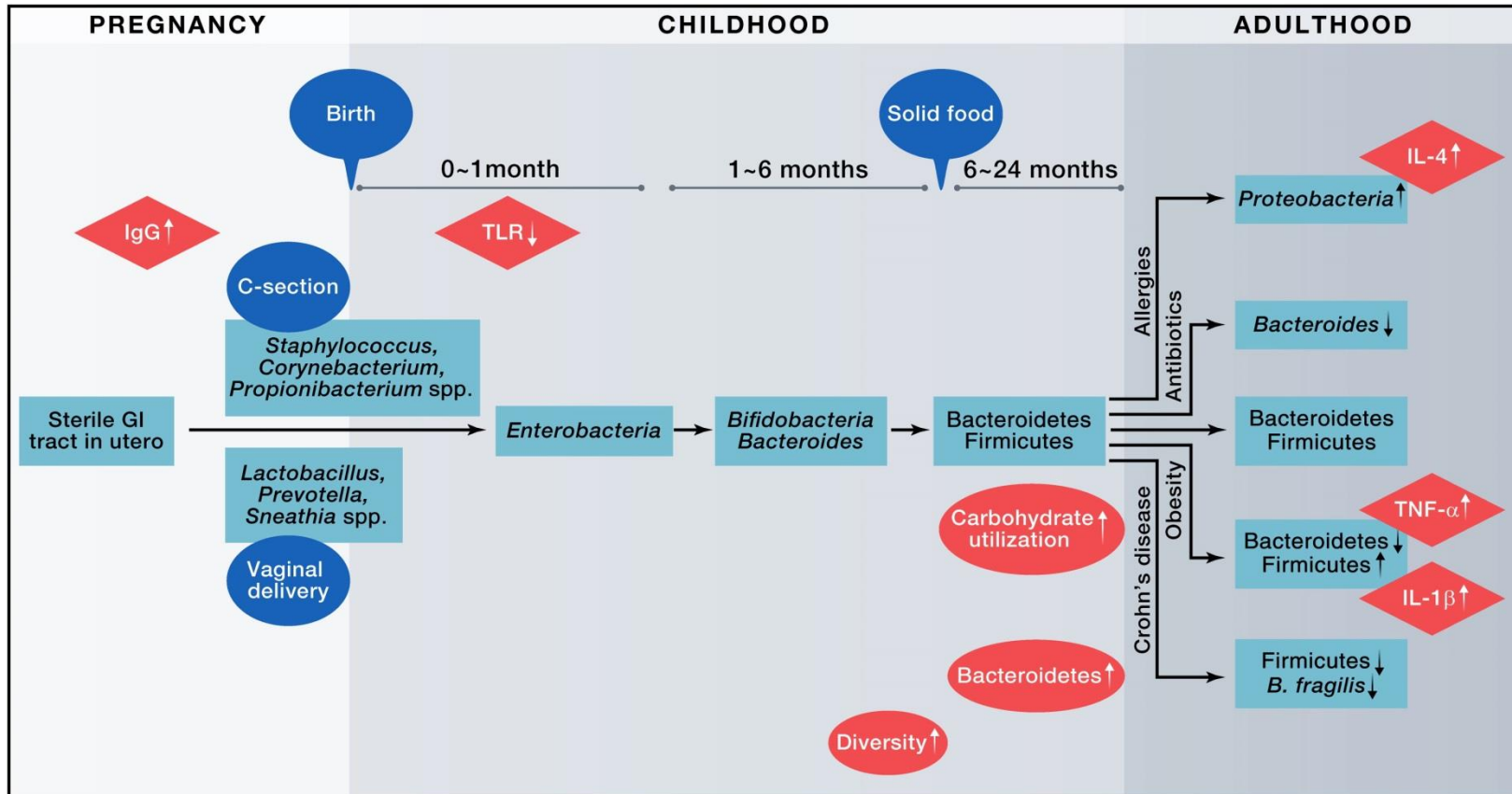


Efekt interakce bakterií, virů a eukaryot ve zdraví a nemoci



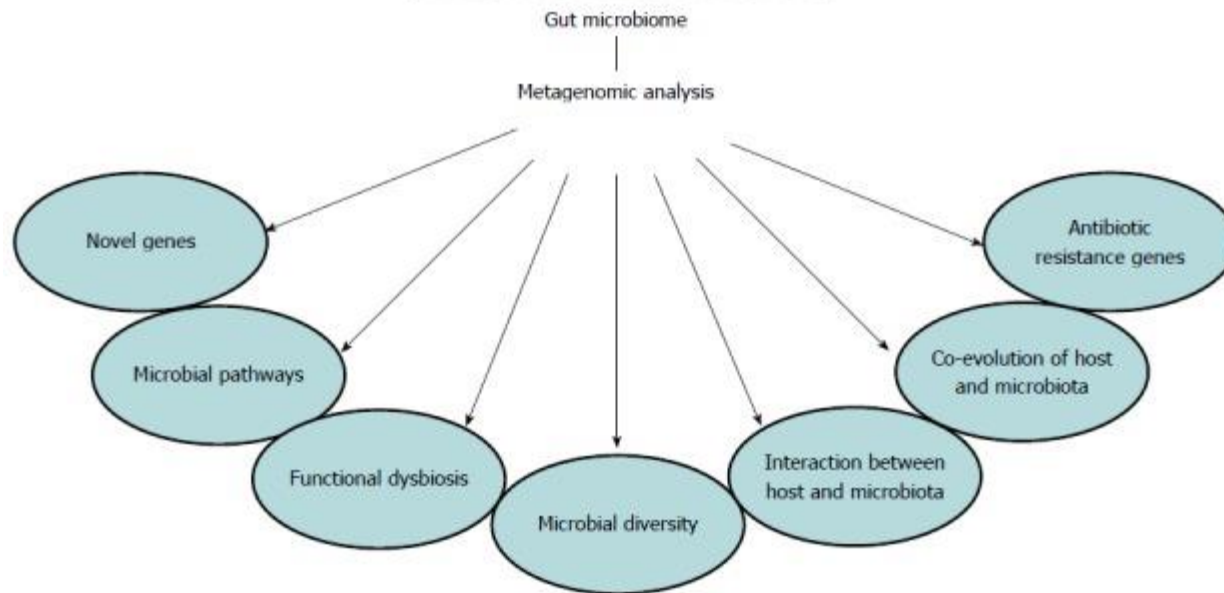
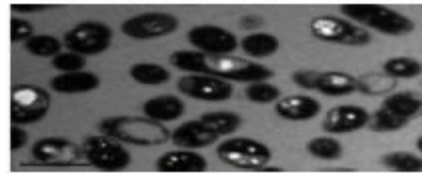
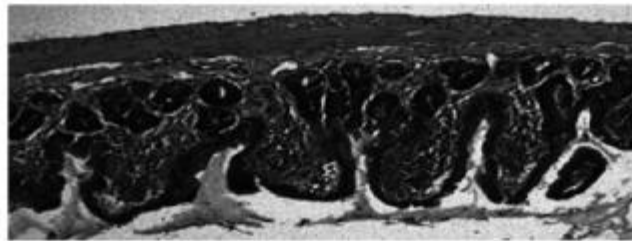
- Paradigma "jeden mikrob, jedna nemoc" překonáno.
- Komplexní interakce
- Virulence některých eukaryot je například podmíněna přítomností některých bakterií (*E. histolytica* a *E. coli* nebo *S. dysenteriae*).
- Vnímavost hostitele k virové infekci je podmíněna zvláštní konfigurací mikroorganismů
- Infekce herpesvirem může podmiňovat resistenci vůči některým bakteriálním infekcím.
- Antibiotika mohou významně změnit složení mikrobiotu.
- Jasná korelace zjištěna mezi mnohými nemocemi a dysbiózou.
- Široké užívání antibiotik může být významné ve vztahu k dramatickému nárůstu autoimunních nemocí v posledních letech.
- Parazitární infekce naopak podporují resistenci vůči rozvoji autoimunitních nemocí.

Rozvoj střevní mikroflóry



Až do porodu je GIT plodu sterilní, po narození začíná kolonizace GIT novorozence. Podle typu porodu se tato iniciace podobá **kolonizaci kůže** (cisařský řez) nebo **kolonizaci vaginální** (vaginální porod). Během prvních týdnů života je snížena aktivita TLR, což zřejmě umožní stabilizaci střevní kolonizace. Po zavedení pevné výživy se zvyšuje diverzita střevní mikroflóry a střevní kolonizace se začíná podobat dospělému jedinci. V té době se imunitní systém „učí“ rozlišovat mezi „hodnými“ a patogenními bakteriemi. V dospělém věku je dosaženo relativně stabilního (interindividuálně odlišného) složení střevní mikroflóry, s dominantním zastoupením *Bacteroidetes* a *Firmicutes*. Různé nemoci se významně liší změnami ve střevní mikroflóře a produkci cytokinů v GIT.

Metodologie studia střevního mikrobiomu

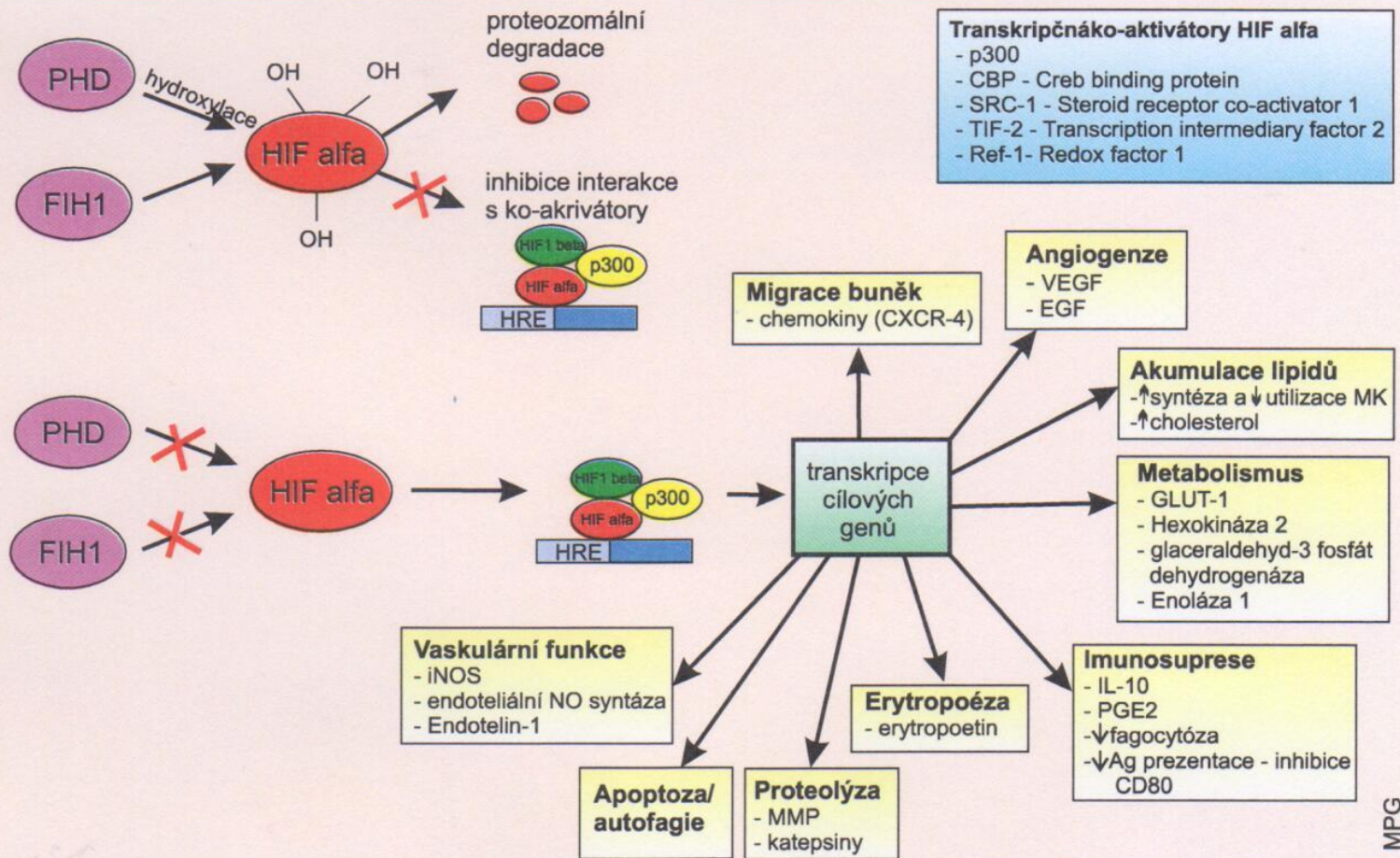


[World J Gastroenterol.](#) 2015 Jan 21;21(3):803-14.

Normoxie

Kyslík

Hypoxie



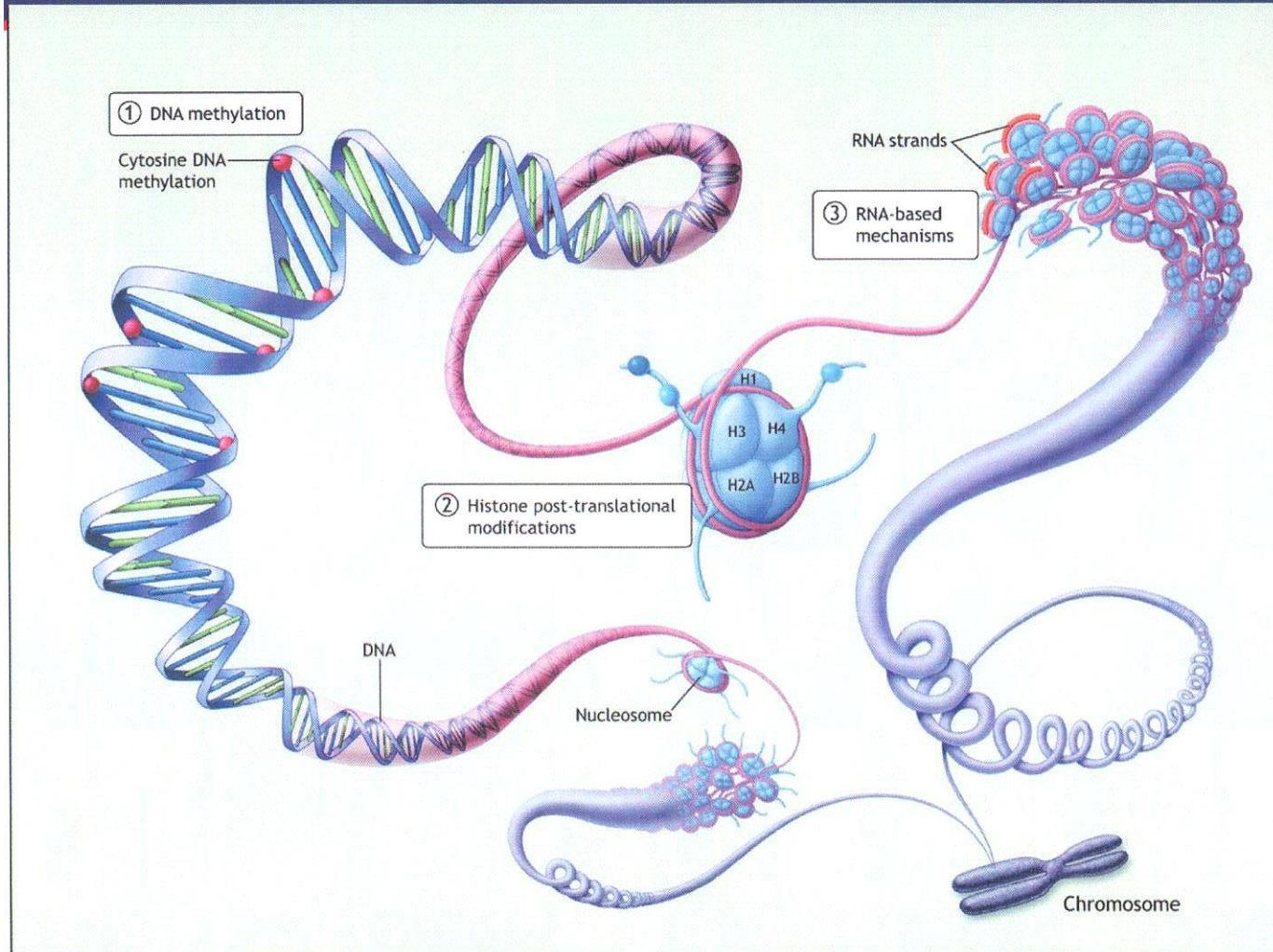
MPG

Buněčná reakce na hypoxii: Hladiny hypoxického indukibilního faktoru-1 (HIF-1) jsou regulovány úrovní buněčné oxigenace prostřednictvím hydroxylace prolinu. Reakce je katalyzována enzymy: prolyl 4-hydroxyláza (PHD1, 2 a 3). Za normoxie je intracelulární hladina HIF-1 α udržována na nízké úrovni rychlou ubikvitinací a následnou proteasomální degradací prostřednictvím von Hippel-Lindau proteinu (pVHL) závislého na hydroxylaci prolinových zbytků. Za hypoxie jsou intracelulární hladiny i transkripční aktivita HIF-1 α zvýšené, a to v důsledku potlačení aktivity PHD. HIF-1 α tvoří heterodimer s HIF-1 β a mění míru transkripce HIF-1-regulovaných genů za hypoxie. Mezi takto modulované procesy patří angiogeneze, migrace buněk, zánět, modulace metabolismu, akumulace lipidů (zvýšené TG a cholesterol), vaskulární funkce, proteolýza, erytropoéza a buněčná smrt.

Epigenetika

- = stabilní a heritabilní změny v genové expresi, které nezahrnují změny v sekvenci DNA
- Epigenetické procesy řídí genovou expresi během buněčného cyklu, vývoje a v odpovědi na modifikace prostředím nebo biologickými faktory

Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation

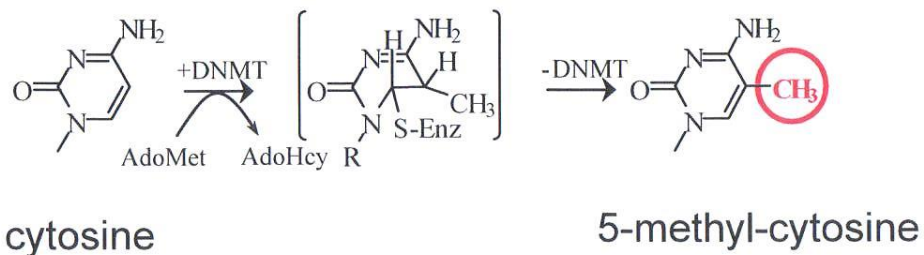


Matouk, C. C. et al. *Circ Res* 2008;102:873-887
Copyright ©2008 American Heart Association

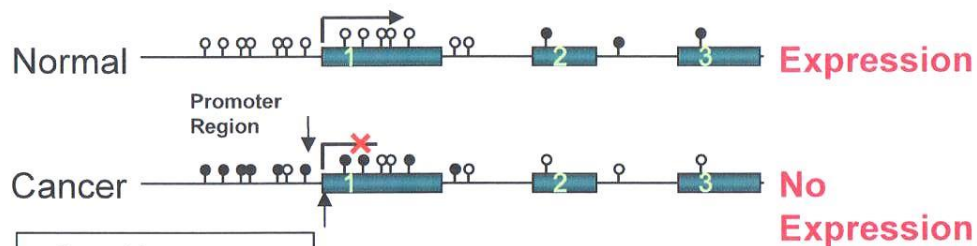
Typy epigenetických procesů

1. Metylace DNA = kovalentní vazba metylových skupin na CpG ostrůvky v DNA:

- Typicky jsou metylovány v netranskribujících se genech
- Typicky jsou snížene metylovány v genech, které jsou transkribovány
- Změna metylačních programů jako výraz dysregulace („rakovinný program“)
- 5 typů metyltransferáz (DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, DNMT3L a DNMT2)



- Stable, covalent DNA modification that targets CpG dinucleotides
- 70%-80% of the CpG dinucleotides are methylated in healthy mammalian cells
- These methylated regions are typical of the bulk chromatin that is relatively inaccessible to transcription factors.
- Associated with gene silencing

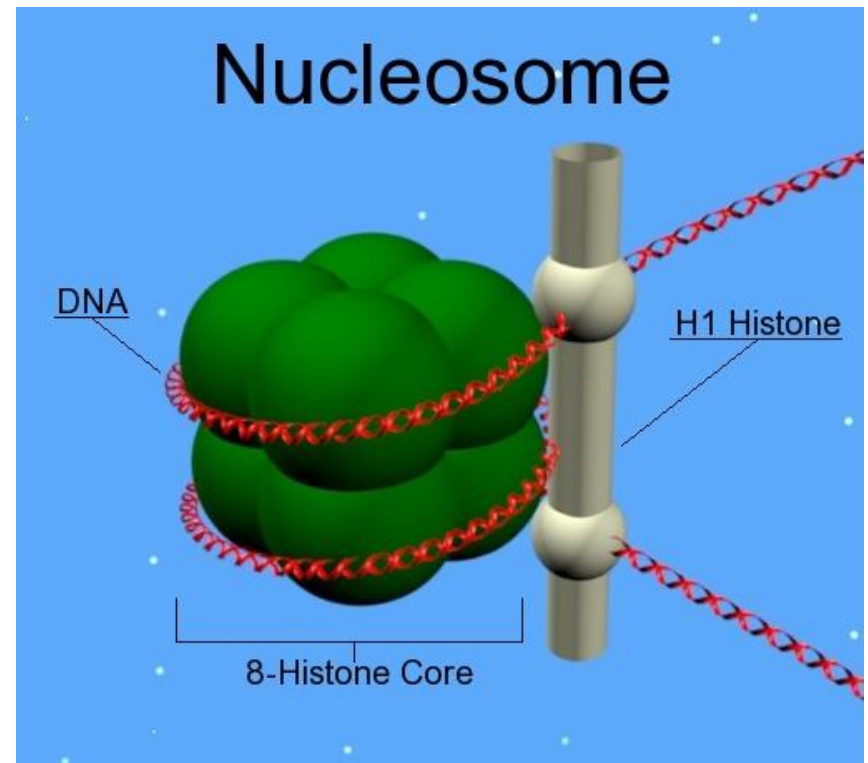


Adapted from Herman, J. and Baylin, S. N. Engl. J. Med. 2003

- CpG islands: CpG-rich regions in human gene promoters
- Promoter CpG islands are usually unmethylated in normal tissues.
- Exceptions include genes involved in X-chromosome inactivation, gene imprinting and tissue-specific expression.

Typy epigenetických procesů

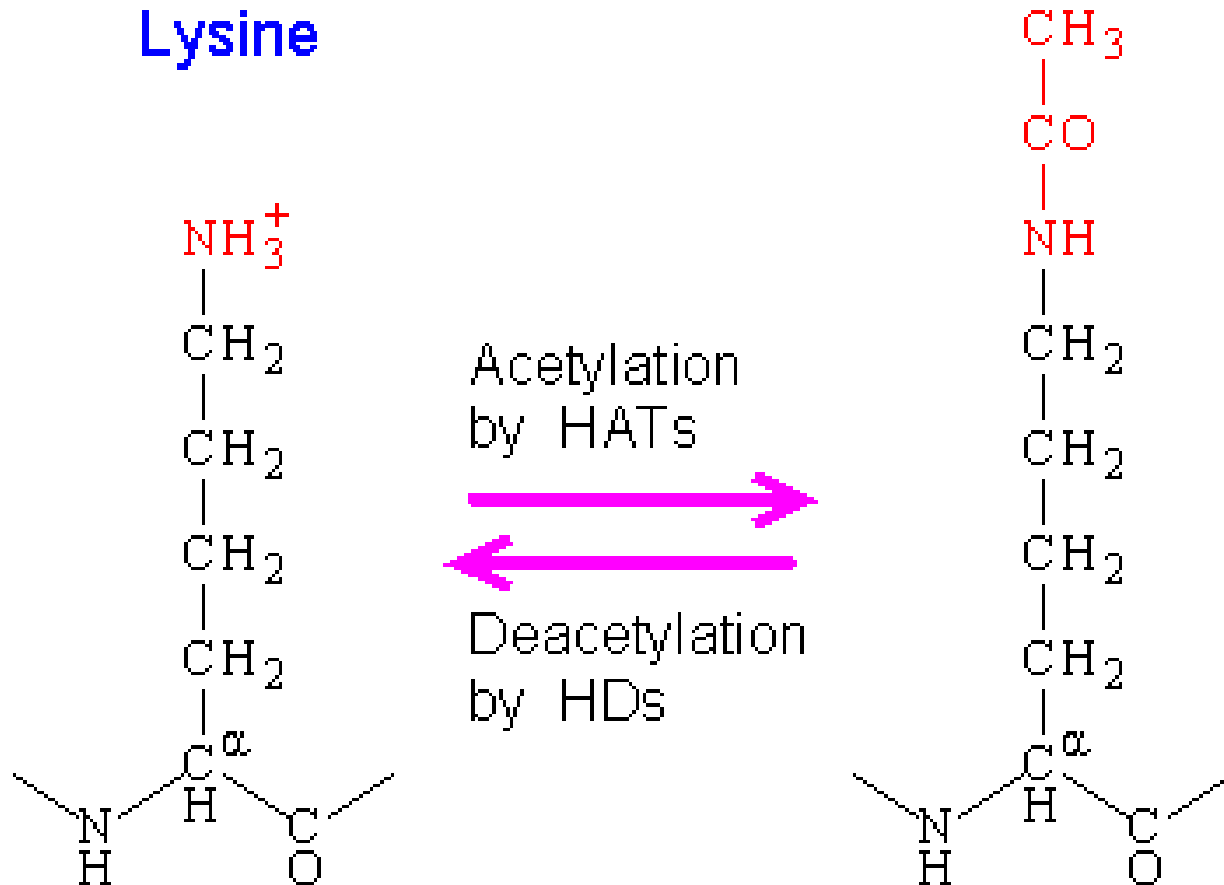
- **2. Postranslační modifikace histonů**
- Nukleosom je základní jednotka chromatinu skládající se z 146 bp DNA obtočené kolem oktameru proteinů, který se skládá ze dvou podjednotek všech 4 histonů : H2A, H2B, H3 a H4.
- 2 typy modifikací: acetylace a metylace



Typy epigenetických procesů

- 3. Mechanismy založené na RNA
- Zralé mikroRNA (*miRNA*) jsou malé jednořetězcové molekuly RNA, typicky s 22 nukleotidy.
- Poprvé byly identifikovány u organismu *Caenorhabditis elegans* v roce 1993, dosud identifikovány u mnoha druhů živočichů i rostlin.
- V lidském genomu bylo dosud identifikováno více než 700 genů pro miRNA (<http://microrna.sanger.ac.uk/>).
- Asi 30% lidských genů je patrně regulováno miRNA.

Lysine



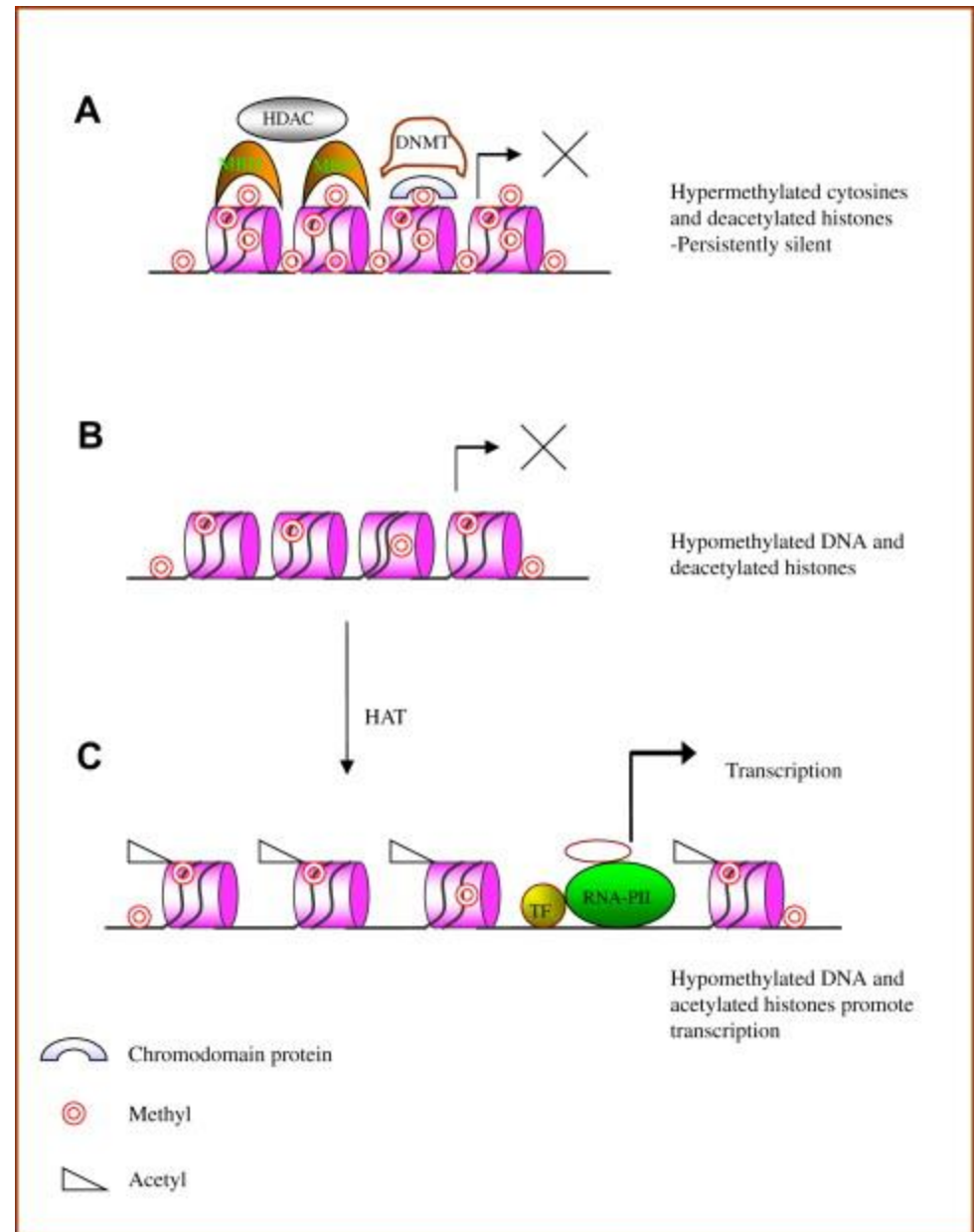
Acetylace histonů je katalyzována **histon acetyltransferázami (HATs)** a deacetylace histonů **histon deacetylázami (HDs nebo HDACs)**.

Role DNA metylace a histonové modifikace v regulaci genů.

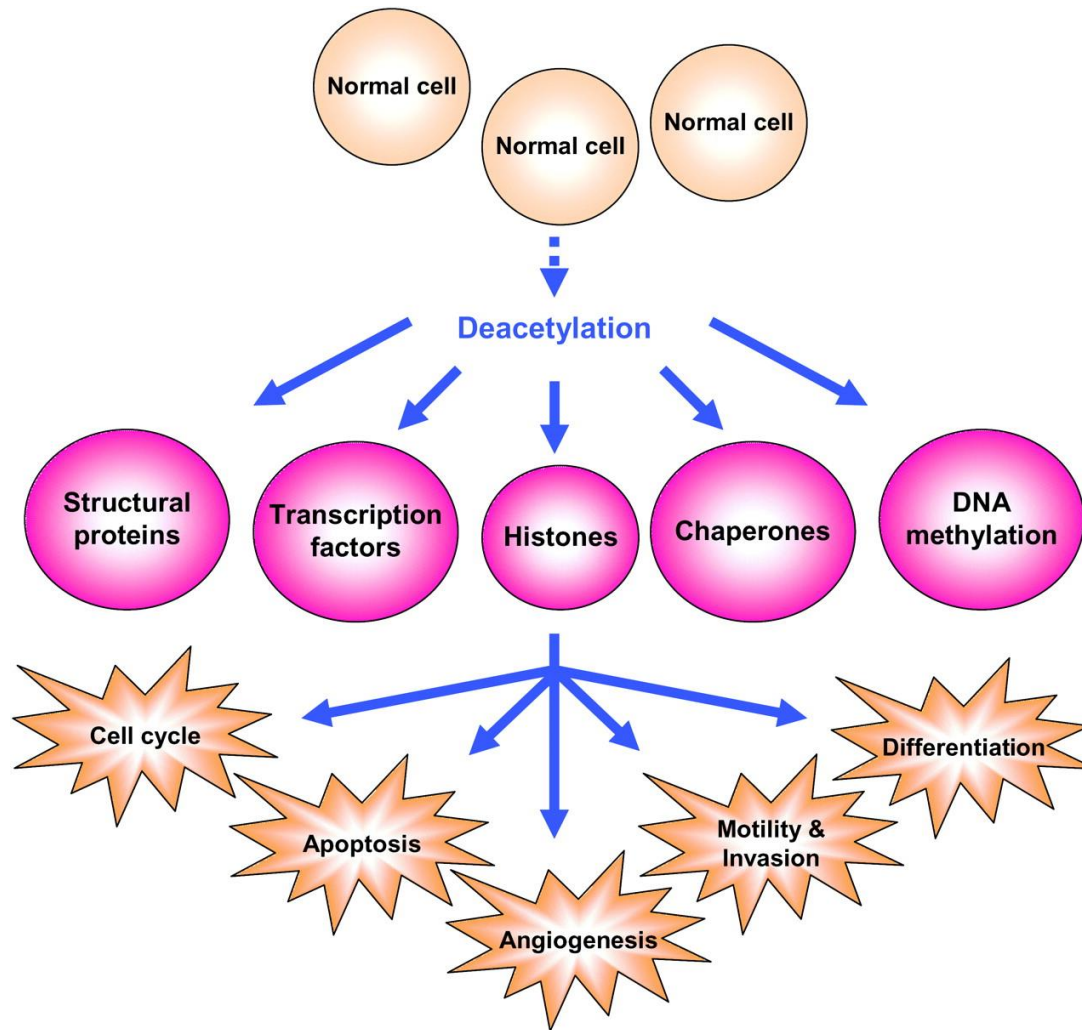
A. Methylace cytosinu v CpG párech povolává proteiny obsahující methyl-CpG-binding domain (MBD), jako jsou MeCP2. Pokud se MBD naváže, vytváří komplex s histon deacetylázami (HDAC) nebo přímo blokuje vazbu transkripčních faktorů

B. MBD se nemohou vázat na hypometylovanou DNA.

C. Acetylace pozitivně nabitých lysinových amino skupin v histonech histonovými acetyltransferázami (HAT) neutralizuje náboj a uvolňuje vazbu negativně nabitých fosfátů v DNA. Takto "relaxovaná" DNA podporuje vazbu a aktivní transkripci.



The pathways affected by HDAC activity.



Stimson L et al. Ann Oncol 2009;20:1293-1302

„Dostupnost“ chromatinu

- DNA je normálně svinuta do B-DNA= jeden pravotočivý závit na 10,5 bp. Toto svinutí ovlivňují topoizomerázy, vazba proteinů, transkripce, replikace, změny v iontovém složení.
- Zvýšené zavínutí („positive supercoiling stress“)
- Snížené zavínutí („negative supercoiling stress“)
- **Euchromatin – relaxovaný, transkripčně aktivovatelný**
- **Heterochromatin –kondenzovaný, relativně nedostupný**

Epigenetická kontrola genové exprese u malignit

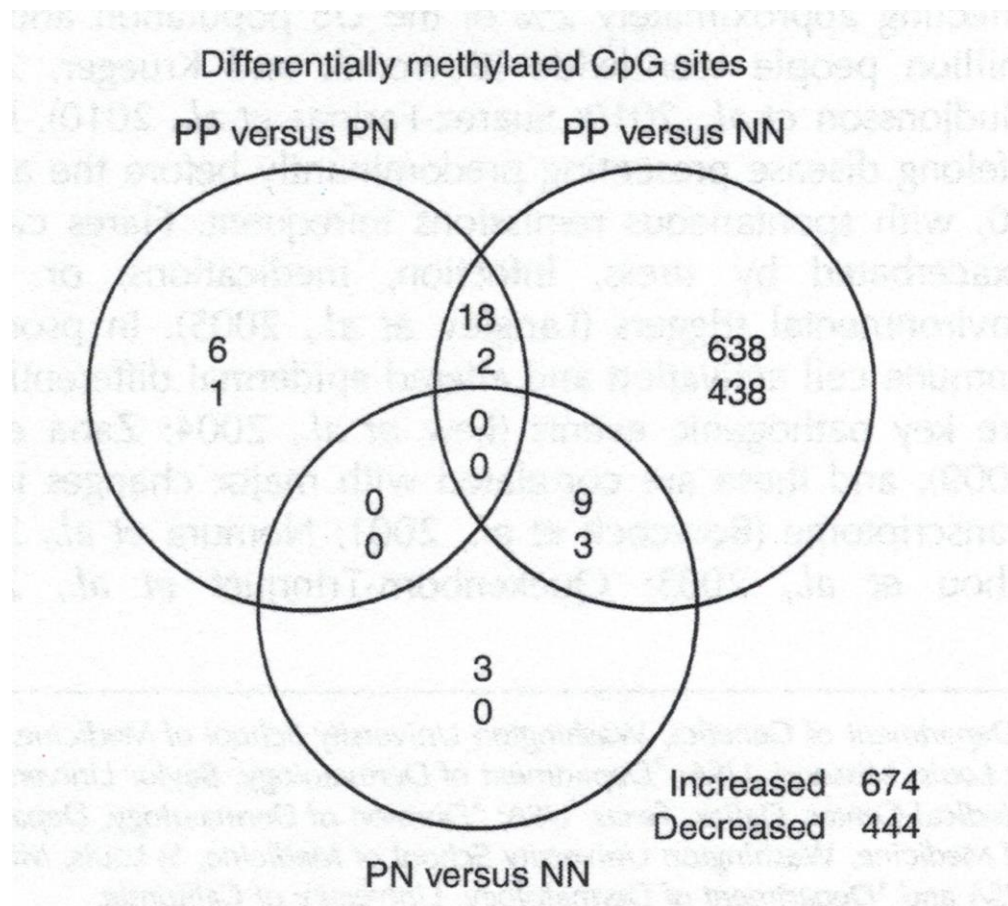
- Je ovlivněna metylací/ demethylací cytosinu a modifikacemi histonů (methylace, acetylace a glykosylace). Tento epigenetický program je narušen u rakovinných buněk, což vede k jejich dediferenciaci a rychle proliferujícímu fenotypu. Enzymy odpovědné za modifikace cytosinu a histonů jsou citlivé na buněčnou metabolickou rezervu a mohou být aktivovány nárůstem svých substrátů nebo inhibovány nárůstem produktů těchto substrátů nebo kompetitorů s vazbou na substrát.

Epigenetická kontrola genové exprese u malignit

U malignit vedou **změny v produkci glykolytických enzymů (HIF)** ke **zvýšené produkci serinu**, (což zvyšuje rezervu **S-adenosylmetioninu**-největšího donora metylových skupin pro metylační reakce- a **UDP-N-acetylglukosaminu** -substrátu metylových skupin pro O-linked glykozylnaci histonů a cytosinových metyltransferáz).

Mutace v enzymech citrátového cyklu vede k akumulaci fumarátu, sukcinátu a hydroxyglutarátu, které všechny **inhibují demetylaci cytosinu a histonů**.

Metabolismus **prolinu** naproti tomu produkuje **alfa-ketoglutarát** a **reaktivní kyslík**, které oba podporují aktivitu enzymů, které **odstraňují metylové skupiny z histonů a cytozinu** a klíčový enzym katabolismu prolinu funguje jako tumorový supresor.



Vztahy stavu metylace CpG (1 108 GpC míst) v bioptických vzorcích postižené psoriatické kůže, nepostižené kůže psoriatika a kůže zdravého jedince.

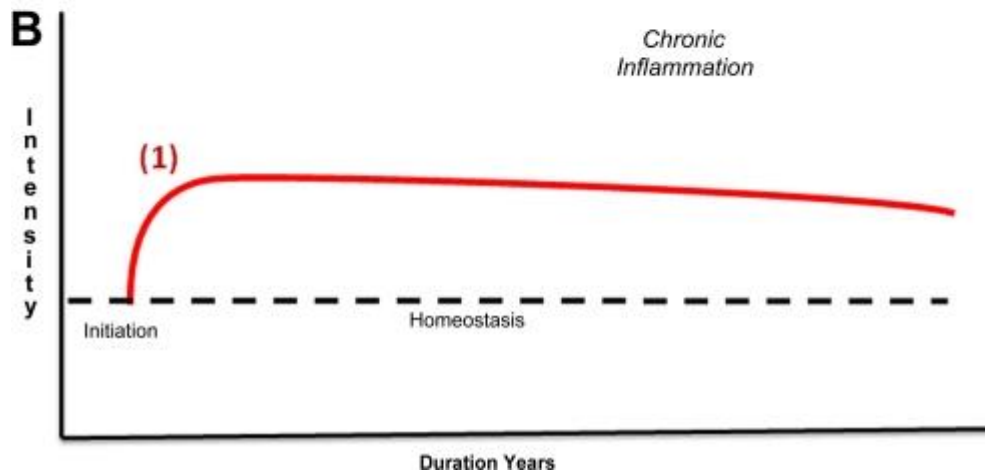
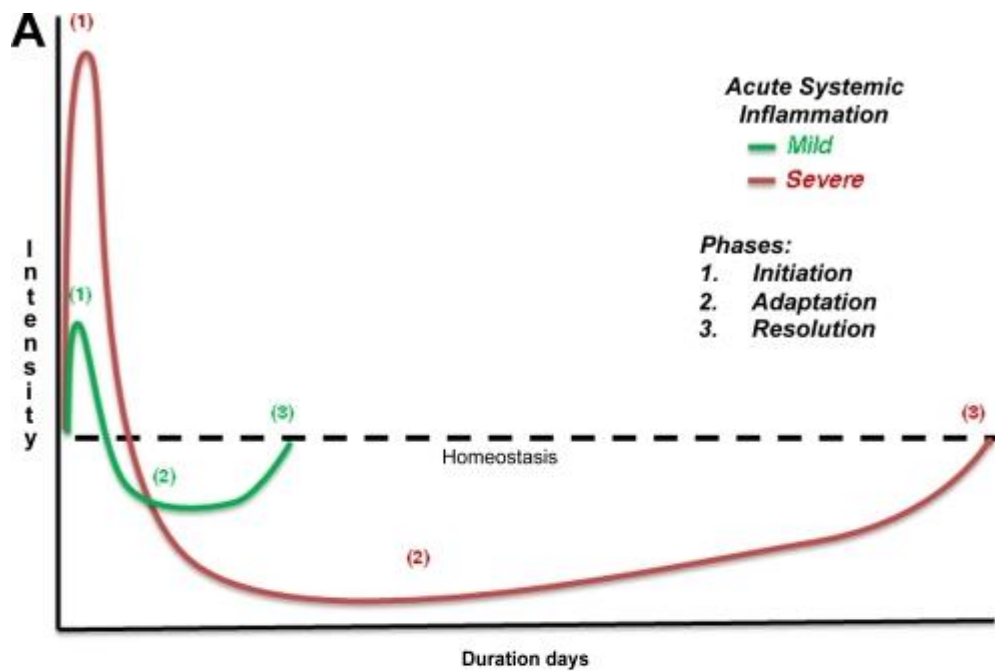
Journal of Investigative Dermatology (2012) 132, 583-592)

Záněť

- Historicky je záněť popisován pomocí základních příznaků (**rubor , calor , tumor, dolor, functio laesa**), které mají prediktabilní časově prostorové rysy.
- Současný pohled: **interpretace společného molekulárního „sdělení“** Buňky vrozené imunity užívají mnohočetné senzory k tomu, aby rozpoznaly externí i interní výzvy k obnovení homeostázy a aby na ně odpovídaly.
- **Lokální a systémový akutní záněť** (např. absces, sepse), stejně jako **záněť chronický** (např. metabolický syndrom, obezita, ateroskleróza, autoimmunity a stárnutí) jsou vnitřně konzistentní procesy
- Koordinaci prediktabilních rysů zánětu zajišťuje **epigenetika včetně miRNA** a **bioenergetika** během vrozené imunitní odpovědi monocytů, makrofágů a neutrofilů.

Akutní systémový zánět (ASZ)

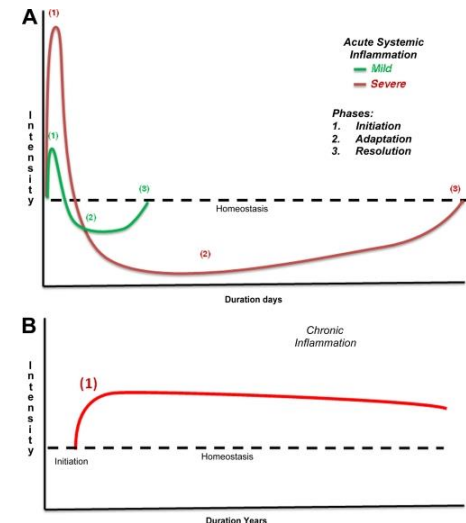
- ASZ infekční nebo neinfekční etiologie má stereotypní rysy:
- Iniciační (=prozánětlivá) fáze
- Adaptační (protizánětlivá) fáze (= tolerance endotoxinu)
- Obnovná fáze (=obnovení homeostázy)
- Tyto fázové posuny jsou doprovázeny hlubokými a prediktabilními změnami v genetické expresi a metabolismu.

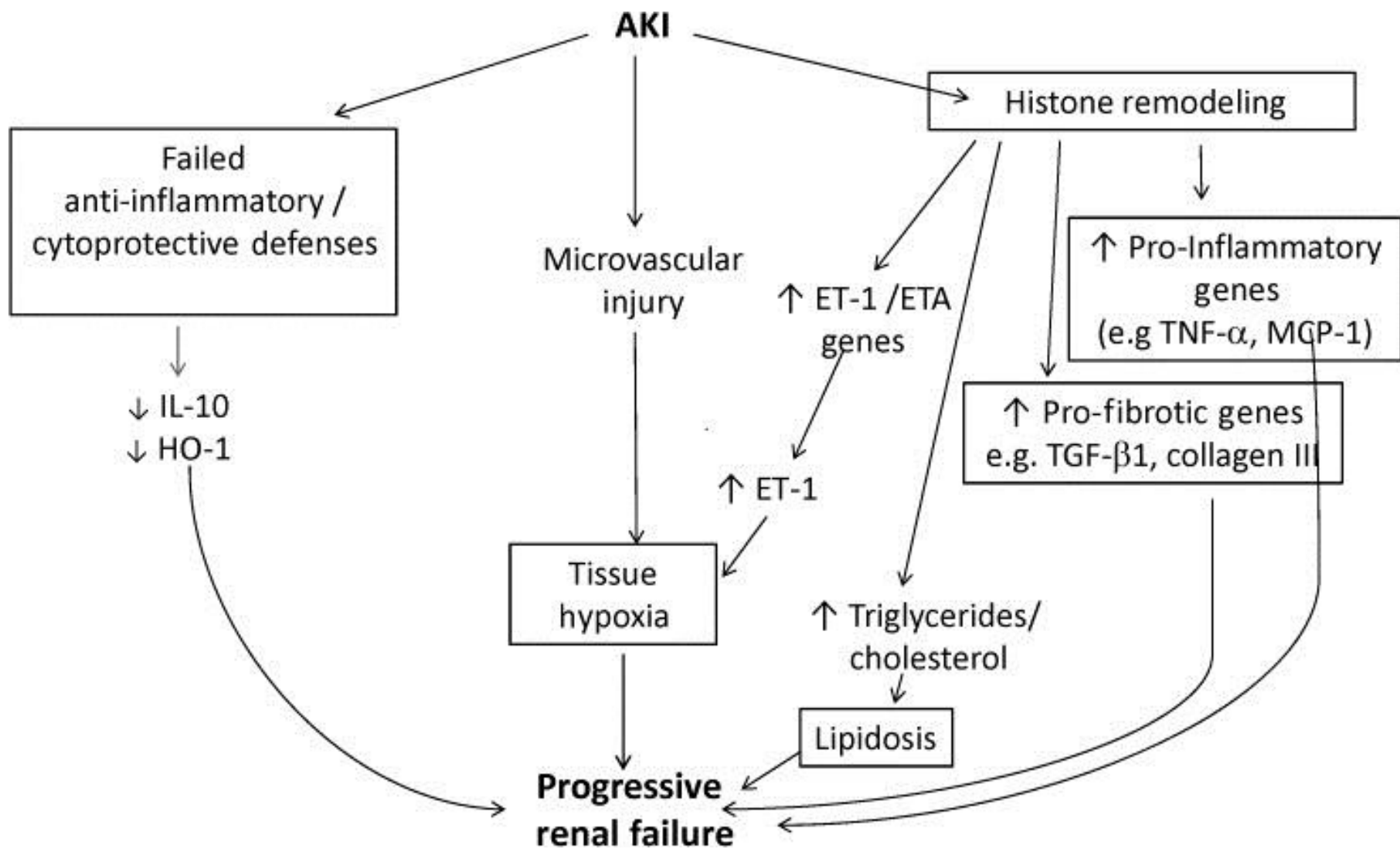


Posun z prozánětlivého do protizánětlivého stavu, kdy jsou tolerovány endotoxiny, koreluje s „reprogramováním“ genetické exprese, tj. procesem, kdy exprese některých genů je zvýšena a jiných utlumena. Toto paradigma fázového posunu a reprogramování během akutního zánětu vidíme na obrázku A. Obrázek B naproti tomu ukazuje setrvalý, prozánětlivý průběh u chronického zánětu se zjevnou nepřítomností adaptační a obnovné („restoration“) fáze se ne tak častým ukončením („resolution“) zánětu

Akutní systémový zánět

- „Hyperzánět- hypozánět – homeostáza“
- Průběh **lehký** (=rychlý)
- **těžký** se závažnou hyperaktivací zánětu, dlouhou fází hypoaktivace zánětu s opožděným ukončením zánětu.
- Hyperzánět **s multiorgánovým selháním**, následovaný prodlouženým hypozánětem, je typický pro **sepsi**, nejčastější formu závažného akutního systémového zánětu. Riziko rozvoje vysoce letálního multiorgánového selhání je přímo úměrně síle pohrůžky, že detekující a signalizační procesy spustí prozánětlivou „**cytokinovou bouři**“.





Vztahy mezi akutní renální nedostatečností (AKI) a progresivním selháním ledvin
[Nephrol Dial Transplant.](#) 2013 Aug;28(8):1985-93.

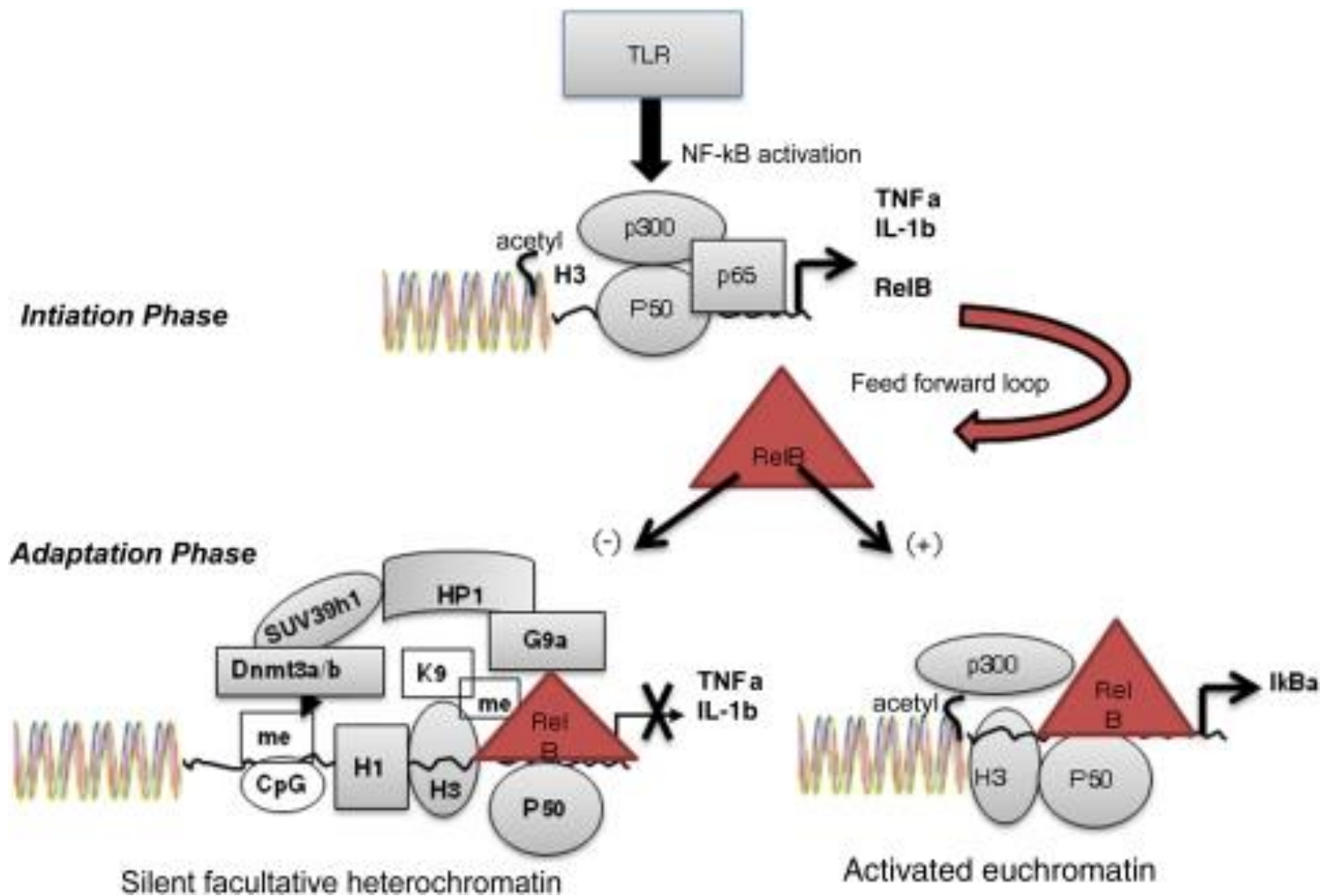
13.12.2017

Akutní systémový zánět - průběh

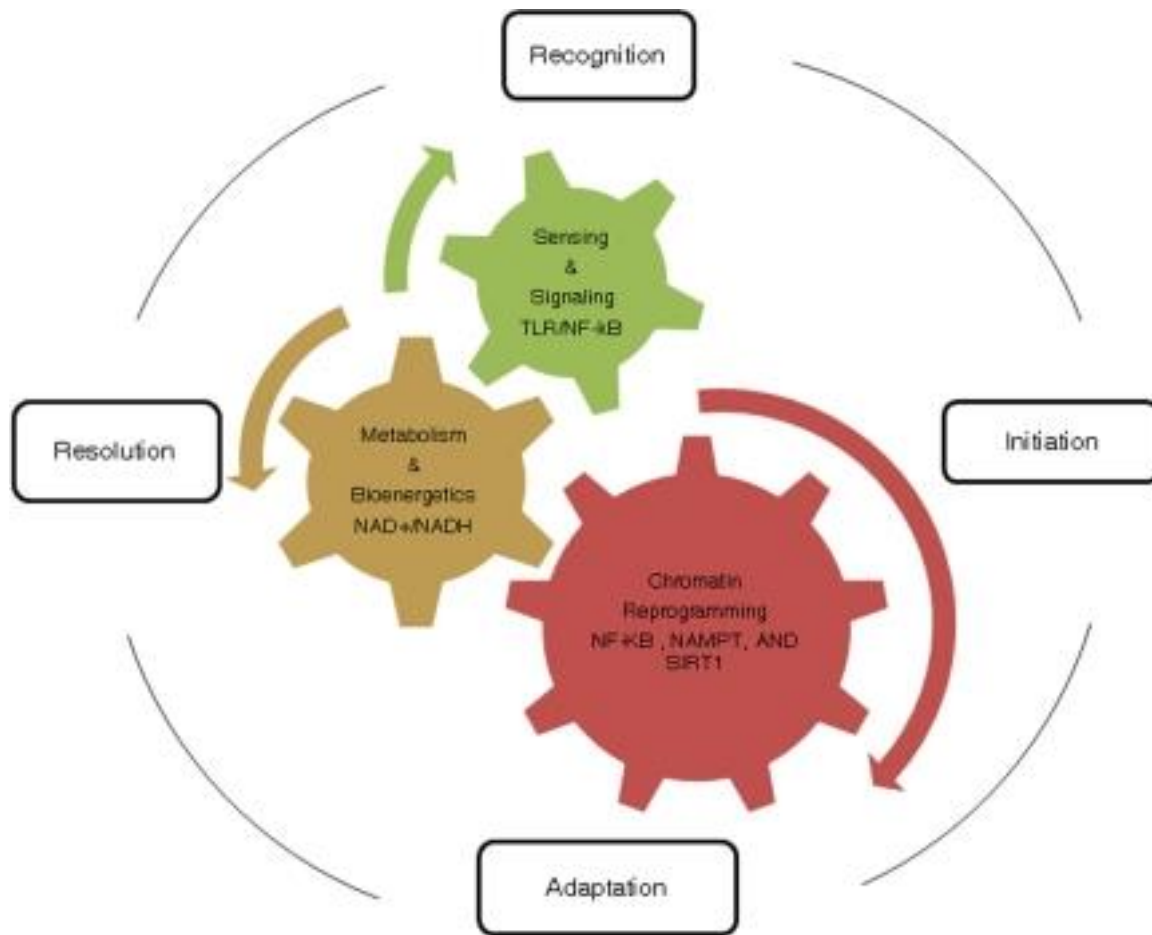
- **Iniciační fáze**: detekce a signalizace - receptory Toll-like, regulátory NF- κ B a stresové kinázy - iniciaci transkripce mnoha prozánětlivých genů (např. TNF- α a IL- β).
- **Adaptační fáze**-po několika hodinách dochází k přerušení transaktivace p65 přes NF- κ B prostřednictvím posttranslační deaktivace p65, degradace p65 závislé na proteosomu a zvýšené degradace miRNA. Pokud adaptační fáze přetrvává (dny-týdny), je naděje na vyléčení zhoršená.
- **Obnovovací fáze** - obnovení homeostázy.

Akutní systémový zánět (ASZ)

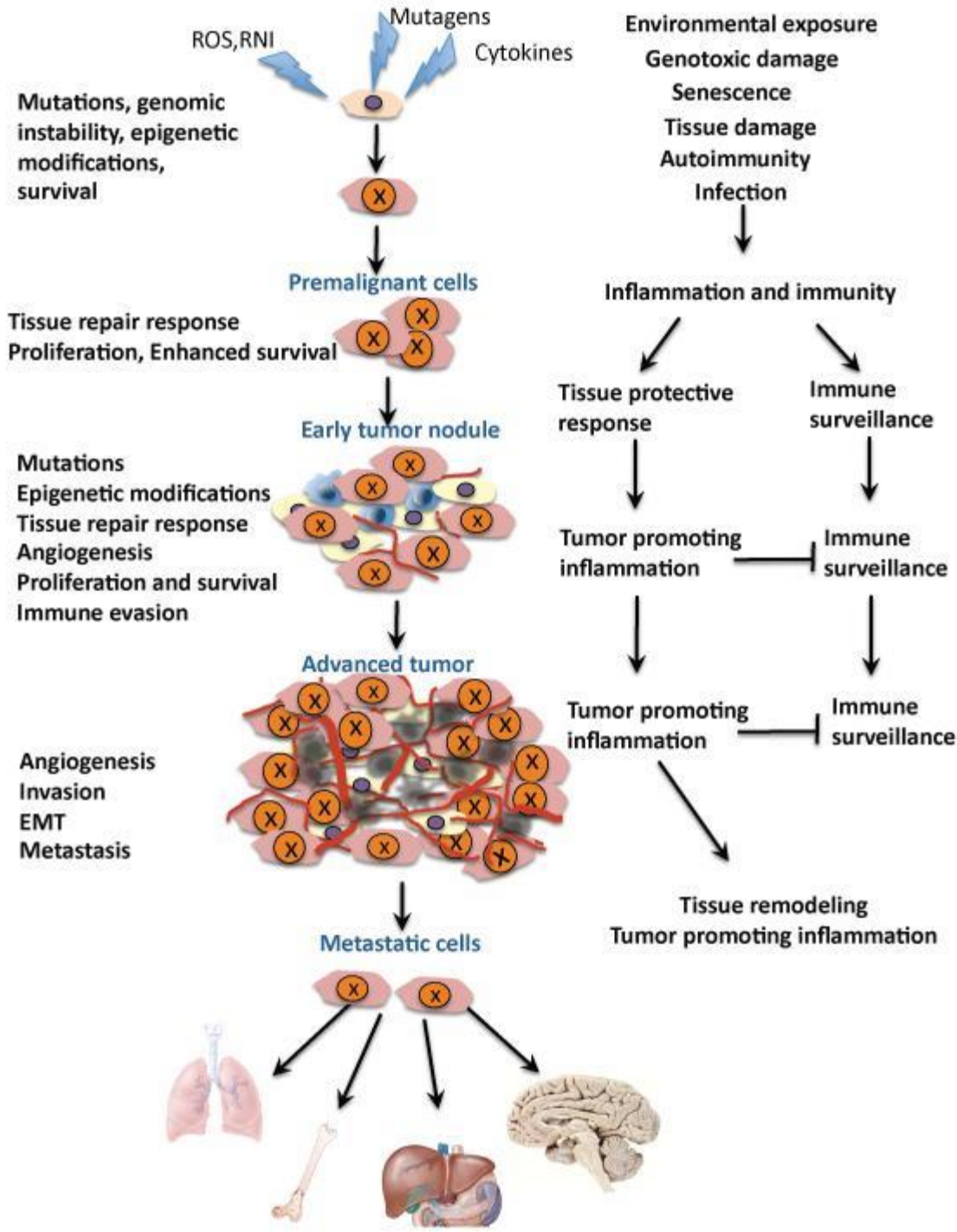
- Časové fáze ASZ jsou řízeny integrovaným bioenergetickým a epigenetickým mostem, což vede k načasování transkripčních a postranskripčních procesů specifických sad genů.
- Realizace „bioenergetické“ účasti: **redox sensor** **NAD⁺-dependentní deacetyláza, Sirt1**, a **p65 (NF- κ B-dependentní)** a **RelB pozitivně zpětnovazebná, geneticky specifická cesta**: vzniká **tichý dočasný heterochromatin** a **aktivní euchromatin**.
- Realizace epigenetické účasti: různá exprese miRNA, které přímo a nepřímo znemožňují translaci prozánětlivých genů.
- Tyto cykly **molekulárního reprogramování** tvoří **dynamický stav chromatinu**, který časově definuje průběh akutního zánětu (=R&W genome)



Epigenetická remodelace chromatinu a reprogramování genů během akutního systémového zánětu.



Integrace bioenergetiky a epigenetiky během akutního systémového zánětu.



Chronický zánět se potenciálně účastní všech fází tumorigeneze

- Chronický zánět zvyšuje riziko tumorigeneze
- I subklinický chronický zánět zvyšuje toto riziko (obezita)
- V tumorech je přítomno mnoho buněk imunitního systému, jejichž role může být v různých krocích tumorigeneze různá
- Zánět může ovlivnit všechny kroky v tumorigenezi

Zánět asociovaný s malignitou

- Dvě kategorie:
- 1. Prekancerózní zánětlivá ložiska
- 2. Zánět je přítomen ve všech rakovinných tkáních včetně těch, u kterých prekancerózní zánětlivá ložiska nebyla. Vztah malignita- zánět má dvě cesty
 - ❖ **Extrinsický mechanismus**, kde chronický zánětlivý stav zvyšuje riziko malignity (např. střevní záněty);
 - ❖ **Intrinsický mechanismus**, kde získané genetické alterace (aktivace protoonkogenů na onkogeny) podporují rozvoj tumoru.

Záněť asociovaný s malignitou

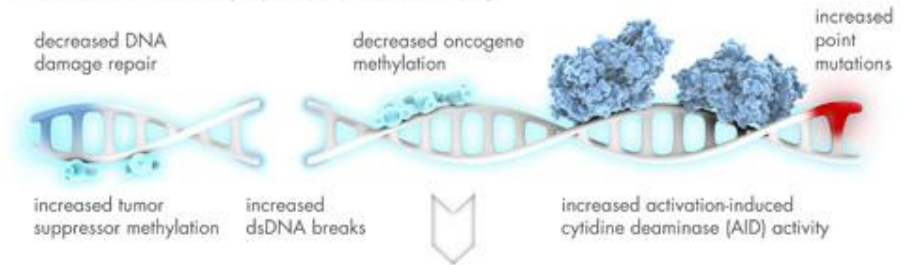
- Prekancerózní záněť může zvýšit genetické a epigenetické poškození
- Aberantní onkogenní signalizace může indukovat záněť
- Zánětlivá odpověď v tumoru může zvýšit možnosti remodelace tumorózní tkáně a jeho metastazování.

Zánět **vnějšího**
původu je
odpovědný za
zvýšené riziko
tumoru cestou
indukce
genetických a
epigenetických
aberrací v
postižených
buňkách.

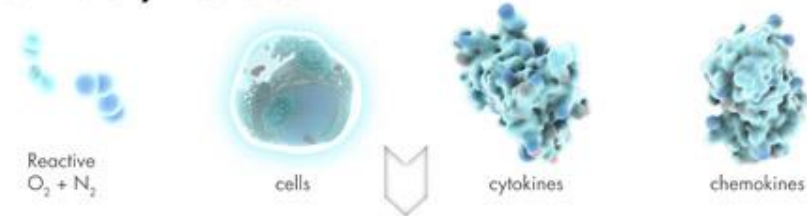
Extrinsic pathway



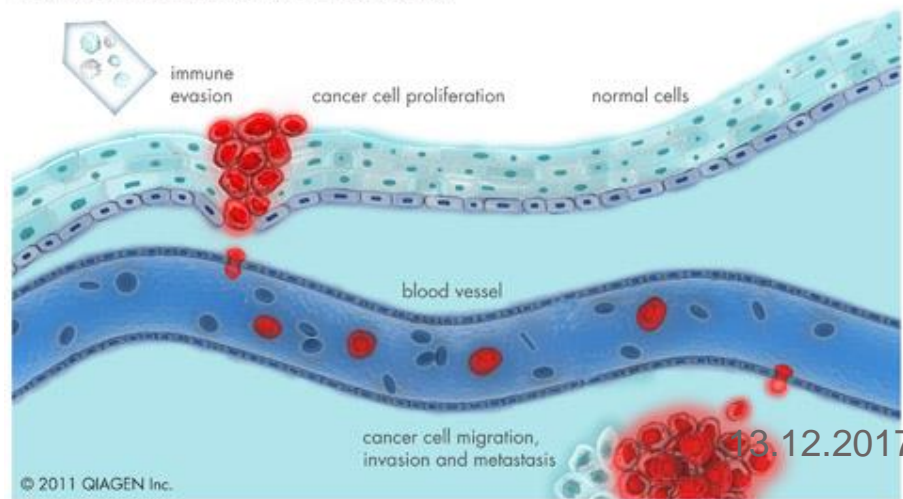
Genomic and epigenetic instability



Inflammatory mediators

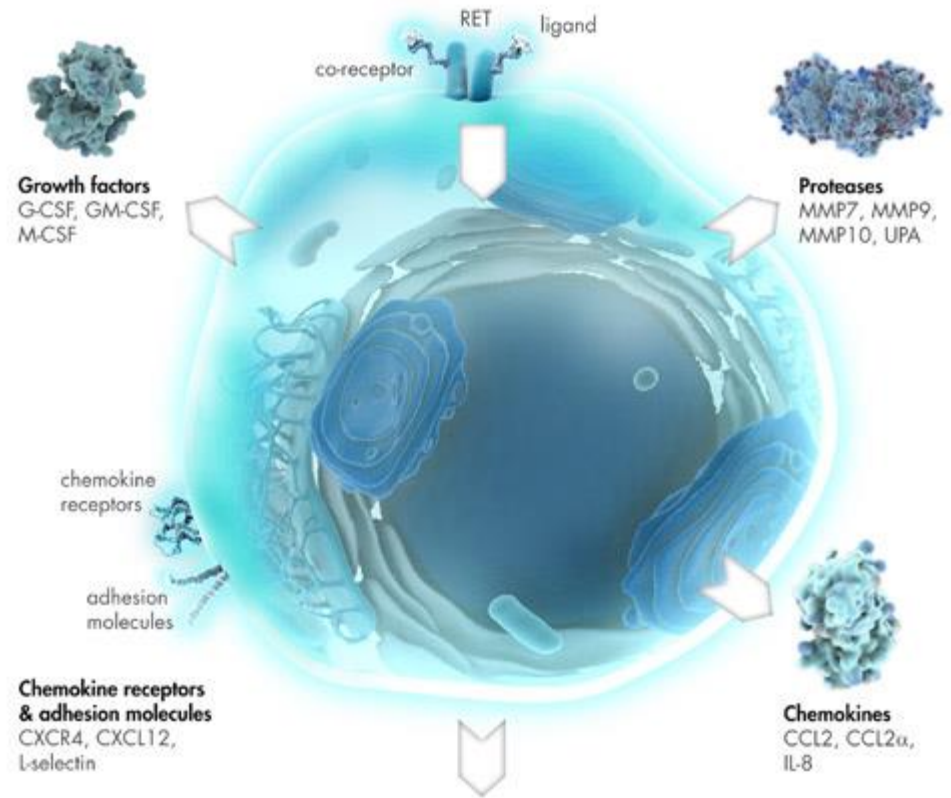


Transformation and metastasis

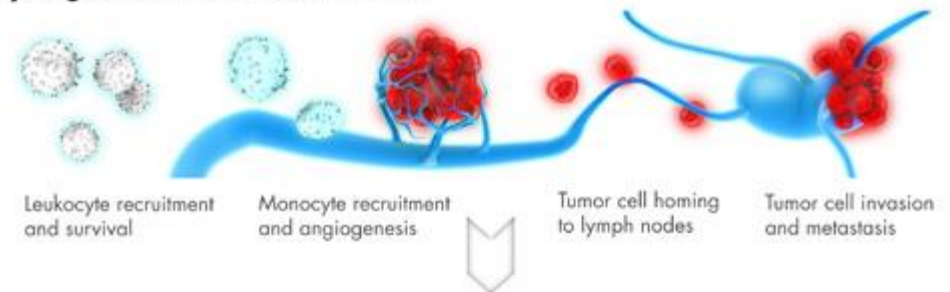


Cesta onkogenní signalizace RET je dobře charakterizovaným případem zánětu **vnitřního původu** zánětu v tumoru. Aberantní aktivace jistých signálních cest proonkogenů může vyvolat zánětlivé odpovědi, které jsou potřebné pro přežití a progresi buněk tumoru. Mechanismus působení tyrozin kinázového onkogenu RET na vývoj zánětu v rakovinné tkáni štítné žlázy.

Intrinsic RET activation of inflammatory response



Inflammatory response promotes maintenance and progression of cancer state



Thyroid carcinoma and lymph node metastasis 13.12.2017

Somatické nebo získané mutace

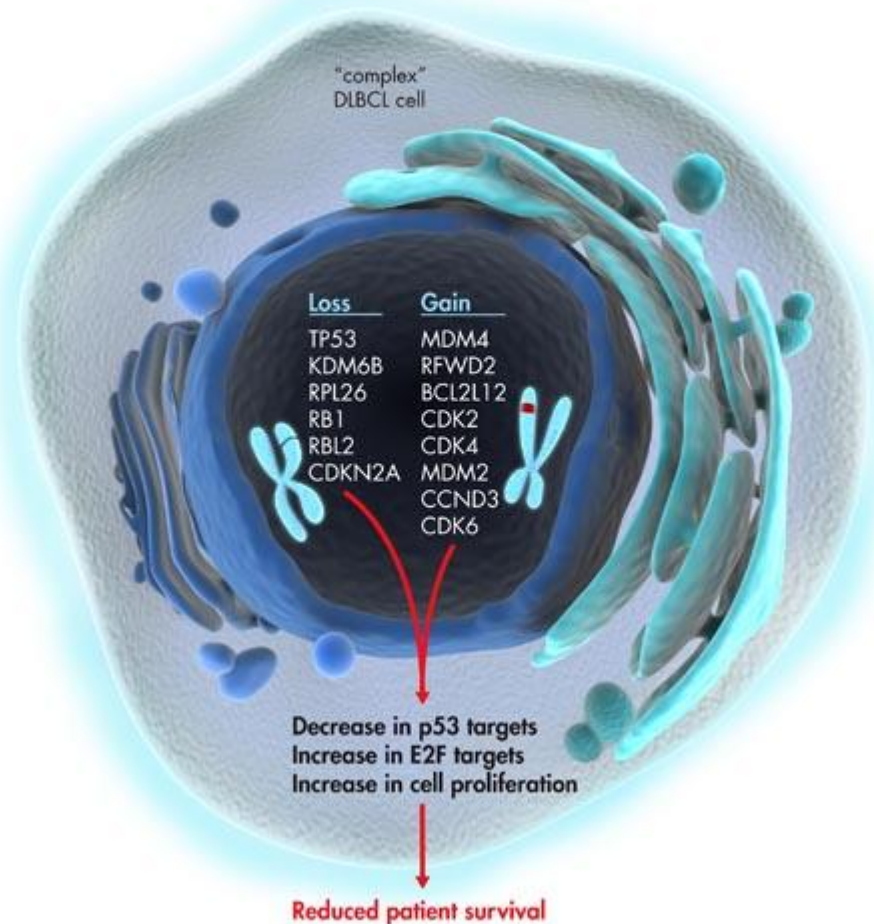
- Jsou **nedědičné**, vznikají **chybami během replikace** nebo **expozicí UV záření nebo potenciálně kancerogenním chemikáliím**, jedná se o somatické mutace, které **vedou k maligní transformaci buňky**.
- **Změny počtu kopií (copy number alterations (CNAs))** vznikají v důsledku chromosomálních změn, **gain of copies, loss of copies**. Prevalentní u mnohých malignit .
- Genové mutace určitých genů jsou společné pro mnohé typy malignit (např. mutace **p53** - small-cell lung cancer (SCLC), melanoma, breast cancer).
- Mutace v **RB1** – (retinoblastoma gene) - glioblastoma a SCLC.
- Mutace v genech rodin RAS a RAF také časté.
- Geny postižené somatickými mutacemi se stávají **cílem terapie**: např. vemurafenib inhibující BRAF úspěšný v léčbě melanomu. Inhibitory tyrosin kinázy pro EGFR používány již řadu let.

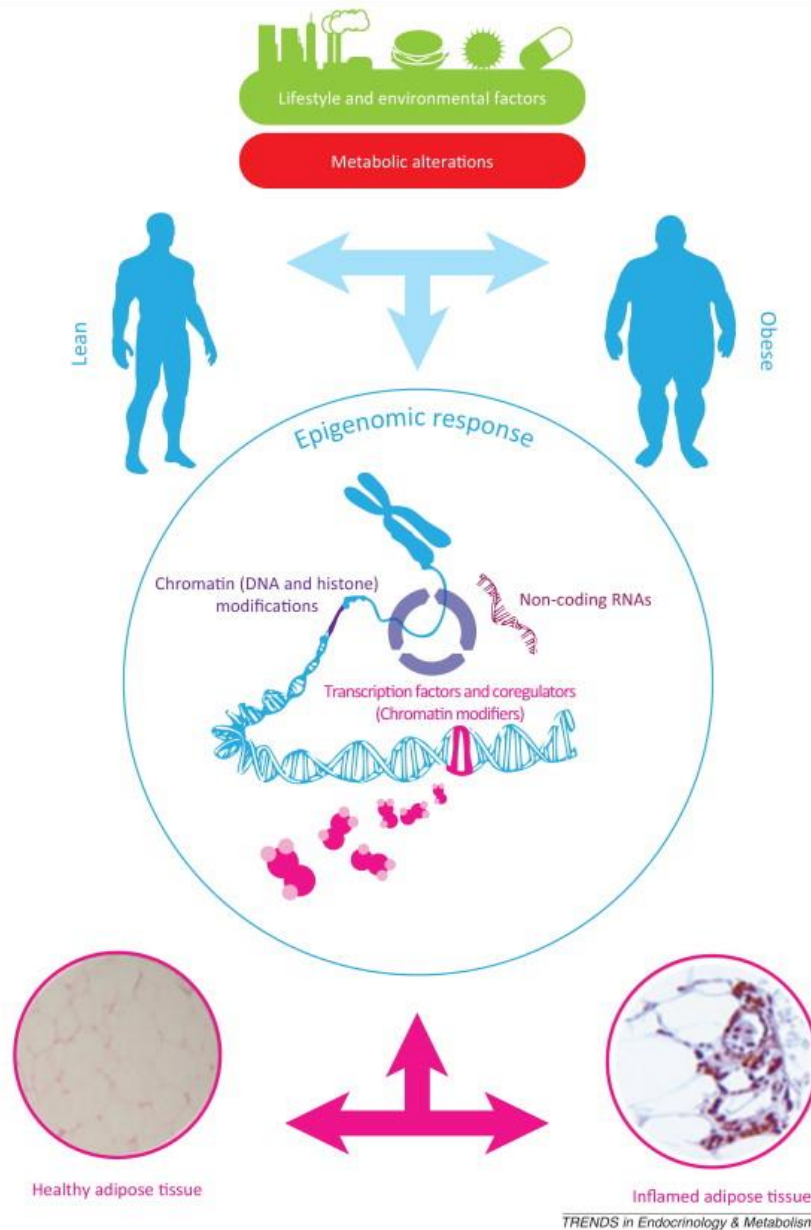
Copy number alterations define "complex" or "clean" tumors in diffuse large-cell B-cell lymphoma.

The value of copy number changes as prognostic markers and guides for therapeutic intervention was recently demonstrated in a study of DLBCL tumors, which identified numerous copy number changes in regions associated with immune recognition of tumors, p53 signaling, other apoptotic pathways, and cell cycle.

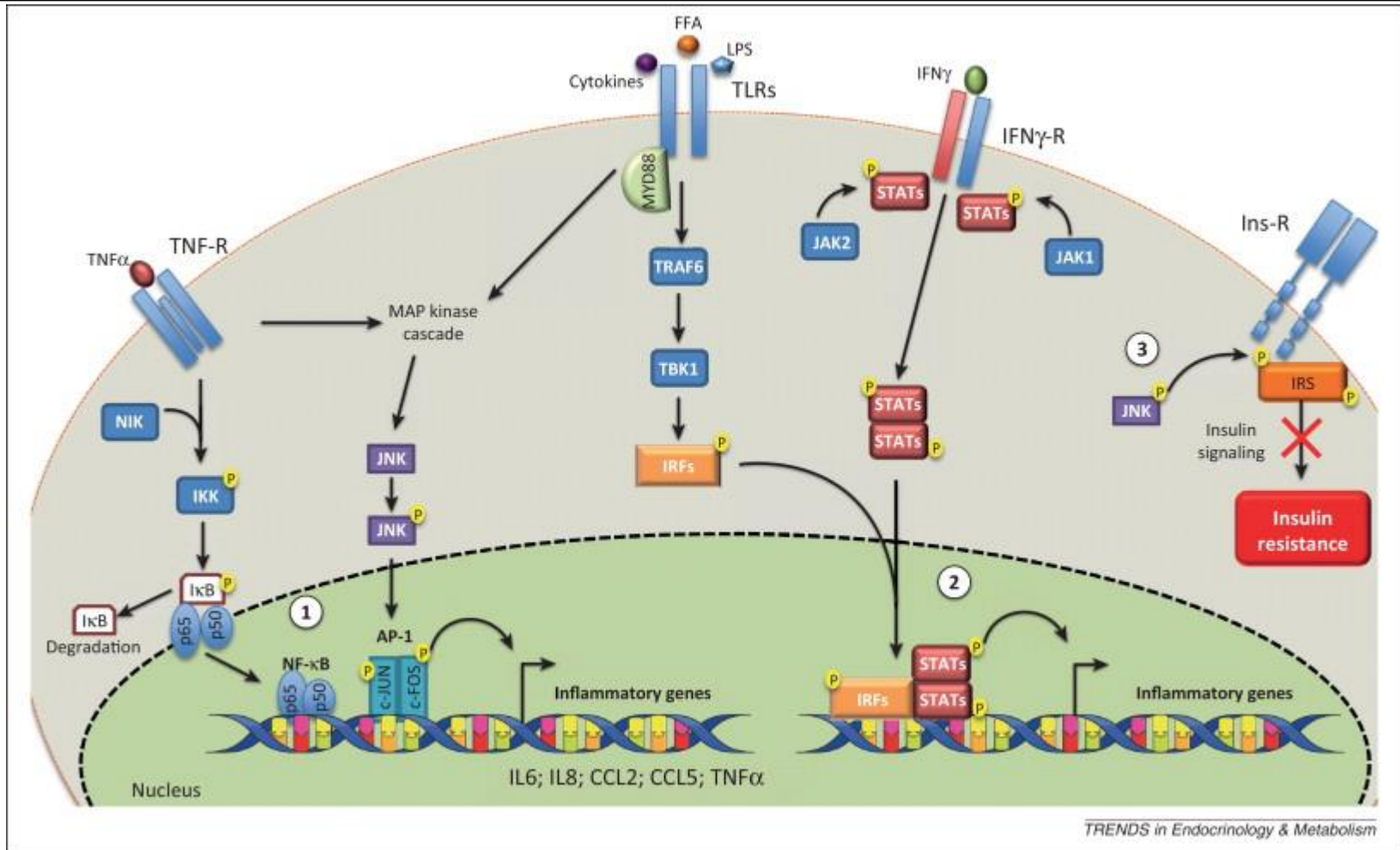
Strikingly, tumors with "complex" CNA profiles that included varying combinations of p53- and cell cycle-affecting changes were associated with decreased survival over 5 years in patients treated with R-CHOP therapy, whereas patients with "clean" profiles, which lacked these alterations, showed 100% survival when treated with R-CHOP. Targeting cell cycle components using pan-CDK inhibitor treatment led to reduced tumor growth, suggesting that characterization of copy number changes may not only have prognostic value in DCBCL, but may also be able to direct more effective, targeted therapy.

Copy number alterations in cancer





Epigenetické odpovědi, které ovlivňují zánět tukové tkáně u obezity. Faktory prostředí, životního stylu a genetický „make-up“ mají za následek **‘personalizované’ epigenomické odpovědi a alterace v metabolických cestách.** Ty zřejmě ovlivňují zánět tukové tkáně během progresu obezity.



Prozánětlivá signalizace v tukové tkáni

Toubal A¹, Treuter E, Clément K, Venticlef N.

Genomic and epigenomic regulation of adipose tissue inflammation in obesity. *Trends Endocrinol Metab.* 2013 Dec;24(12):625-34.

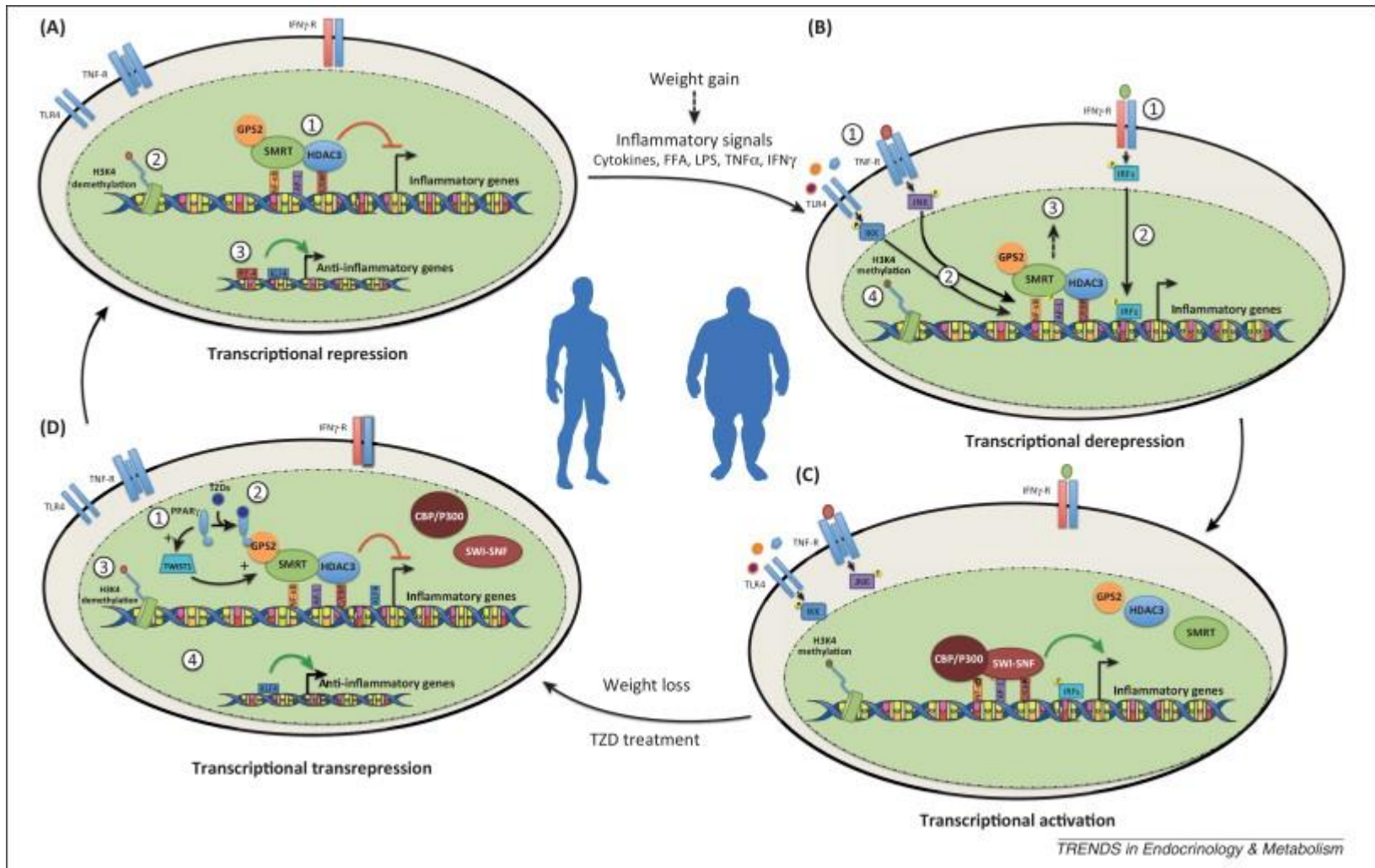
13.12.2017

Prozánětlivá signalizace v tukové tkáni

- Signalizace z tukové tkáně (lipidy, cytokiny a LPS) aktivují buňky imunitního systému a adipocyty prostřednictvím TNFR a TLR, což vede k posttranslační modifikaci NF- κ B a JNK. Aktivace NF- κ B je indukována aktivací komplexů IKK a degradací I κ B, což umožní translokaci NF- κ B do jádra a jeho vazbu na promotory prozánětlivých genů. Aktivace těchto receptorů vede také k podpoře fosforylace (posttranslační úprava) (P) JNK kaskádou MAP kinázy. Fosforylovaná JNK aktivuje prozánětlivé transkripční faktory jako c-Jun a c-Fos (AP-1).
- Zkratky: IFN, interferon; I κ B, inhibitor of NF- κ B; IKK, I κ B kinase; IRF, interferon regulatory factor; IRS, insulin receptor substrate; JAK, Janus kinase; JNK, Jun N-terminal kinase; LPS, lipopolysaccharide; MAP, mitogen-activated protein; MYD88, myeloid differentiation primary response gene 88; NF- κ B; nuclear factor κ light-chain-enhancer of activated B cells; STAT, signal transducer and activator of transcription; TBK1, TANK-binding kinase; TLR, Toll-like receptor; TNF, tumor necrosis factor; TNFR, TNF receptor; TRAF6; TNF receptor-associated factor 6.

Prozánětlivá signalizace v tukové tkáni

- Aktivace TLR signály z tukové tkáně indukuje také fosforylaci IRF pomocí TRAF6/TBK1 kaskády. Fosforylované IRF mohou dimerizovat s proteiny STAT (aktivovanými kaskádou JAK/STAT) a vytvářejí tak regulační komplex, který je přiveden k IFN-stimulovaným promotorům a aktivuje jejich expresi (2). Tyto prozánětlivé signály mohou indukovat insulinovou rezistenci v adipocytech zejména podporou fosforylace serinových reziduí IRS cestou JNK (3).
- Zkratky: IFN, interferon; IκB, inhibitor of NF-κB; IKK, IκB kinase; IRF, interferon regulatory factor; IRS, insulin receptor substrate; JAK, Janus kinase; JNK, Jun N-terminal kinase; LPS, lipopolysaccharide; MAP, mitogen-activated protein; MYD88, myeloid differentiation primary response gene 88; NF-κB; nuclear factor κ light-chain-enhancer of activated B cells; STAT, signal transducer and activator of transcription; TBK1, TANK-binding kinase; TLR, Toll-like receptor; TNF, tumor necrosis factor; TNFR, TNF receptor; TRAF6; TNF receptor-associated factor 6.



Epigenomická regulace zánětu v tukové tkáni

[Toubal A](#)¹, [Treuter E](#), [Clément K](#), [Venteclef N](#).

Genomic and epigenomic regulation of adipose tissue inflammation in obesity. [Trends Endocrinol Metab.](#) 2013 Dec;24(12):625-34. 13.12.2017

Epigenomická regulace zánětu v tukové tkáni

- **(A)** V tukové tkáni štíhlého člověka je exprese prozánětlivých genů reprimována korepresorovým komplexem SMRT/GPS2, který suprimuje aktivaci prozánětlivých transkripčních faktorů (NF- κ B, AP-1, C/EBP) (1). Demethylace histonu H3K4 indukuje tvorbu heterochromatinu, což zastavuje transkripční mašinerii (RNA polymerázu II) (2). Transkripční faktor KLF4 je povolán do promotorů protizánětlivých genů, což vede k jejich expresi (3).
- **(B)** Nárůst váhy vede k metabolickým alteracím, které způsobí prozánětlivé stimuly. Aktivace TLR4, TNF-R a IFN-R jejich ligandami (1) indukuje prozánětlivé kaskády (2), což vede k uvolnění SMRT/GPS2 korepresorového komplexu z promotorů prozánětlivých genů (3). Methylace H3K4 indukuje dekondenzaci chromatinu, což obnoví transkripční mašinerii (RNA polymerázu II) (4).
- Zkratky: CBP/P300, CREB-binding protein (p300); C/EBP, CCAAT-enhancer-binding protein; FFA, free fatty acids, GPS2, G protein pathway suppressor 2; H3K4, histone 3 lysine 4; IFN-R, interferon receptor; KLF4, Krüppel-like factor 4; PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor γ ; SMRT, silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptor; SWI-SNF, switching-defective sucrose non-fermenting; TWIST1, E-box transcription factor Twist-related protein 1; TZD, thiazolidinedione.

[Toubal A](#)¹, [Treuter E](#), [Clément K](#), [Venteclef N](#).

Genomic and epigenomic regulation of adipose tissue inflammation in obesity. [Trends Endocrinol Metab.](#) 2013 Dec;24(12):625-34.

13.12.2017

Epigenomická regulace zánětu v tukové tkáni

- **(C)** Uvolnění korepresorového komplexu SMRT/GPS2 a metylace H3K4 umožňuje povolání kofaktorového komplexu CBP/P300–SWI-SNF, který dále remodeluje a modifikuje chromatin (např. acetylací) a tak spolupracuje s transkripční mašinérií při indukci genové transkripce.
- **(D)** Ztráta váhy nebo léčba TZD indukuje signifikantní snížení zánětu tukové tkáně. Indukuje také aktivaci PPAR γ /TWIST1, což vede k obnově exprese a aktivity SMRT/GPS2 v komplexu (1). TZD léčba stabilizuje interakci PPAR γ –GPS2, což zabraňuje uvolnění korepresorového komplexu nebo uplatnění koaktivátorů. Konečně demethylace H3K4 (3) a povolání protizánětlivých transkripčních faktorů jako KLF4 (4) uzavírá návrat tukové tkáně do nezápětlivého nebo lehce zápětlivého stavu.
- Zkratky: CBP/P300, CREB-binding protein (p300); C/EBP, CCAAT-enhancer-binding protein; FFA, free fatty acids, GPS2, G protein pathway suppressor 2; H3K4, histone 3 lysine 4; IFN-R, interferon receptor; KLF4, Krüppel-like factor 4; PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor γ ; SMRT, silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptor; SWI-SNF, switching-defective sucrose non-fermenting; TWIST1, E-box transcription factor Twist-related protein 1; TZD, thiazolidinedione.

[Toubal A](#)¹, [Treuter E](#), [Clément K](#), [Venteclef N](#).

Genomic and epigenomic regulation of adipose tissue inflammation in obesity. [Trends Endocrinol Metab.](#) 2013

Dec;24(12):625-34.

13.12.2017

Epikardiální tuková tkáň

Epikardiální část – mezi vnitřním povrchem visserálního listu pleury a vlastním povrchem myokardu (bez fascie-sdílená mikrocirkulace) -původ-splanchnopleurický mezoderm – zásoben difúzí z koronárních arterií. Podobný hnědému tuku (vysoká exprese UCP-1 aj.)
Výskyt: volná plocha PK, část LK, síní a okolo cév

Epikardiální tuková tkáň

Epikardiální část

Funkce

- ❑ Tukový depot pro zátěžové situace
- ❑ Pufrační systém pro liperlipidemické situace, které kardiomyocyty špatně tolerují
- ❑ Udržování tepla v myokardu při změnách teploty tělového jádra (vlastnosti hnědého tuku)
- ❑ Polštář pro cévy při rázech pulsové vlny
- ❑ Remodelace cév (pozitivní)

Epikardiální tuková tkáň

- Perikardiální složka (parakardiální) – tuk mezi vnějším povrchem parientální listu pleury a stěnou hrudníku – původ- primitivní hrudní mezenchym–zásobení z a. mammaria int.

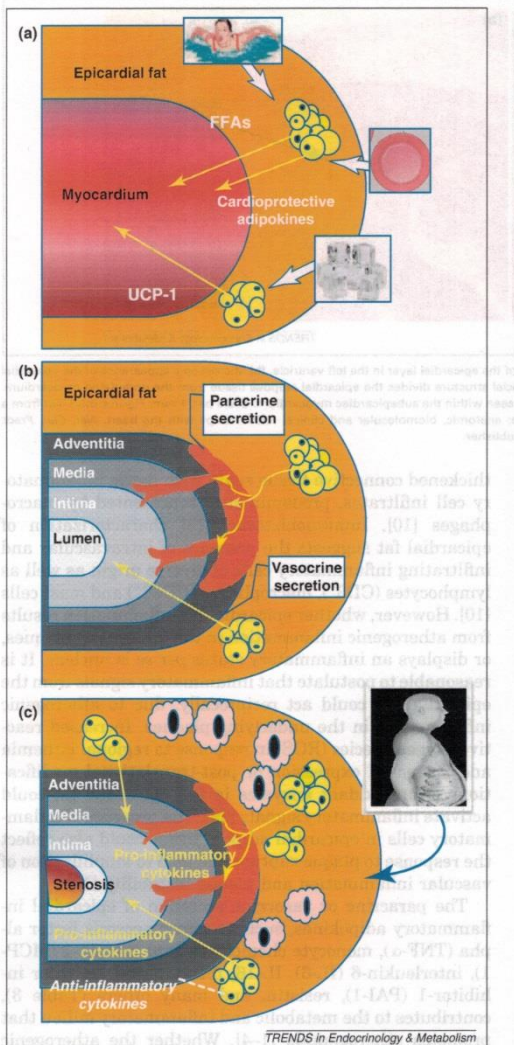


Figure 2. Potential physiological, pathophysiological mechanisms and vasocrine/paracrine pathways of epicardial fat. (a) Possible physiological roles attributed to the epicardial fat: release of FFAs as energy to the myocardium in condition of high metabolic demand; expression of the thermogenic protein UCP-1 in response of cold exposure; expression and secretion of cardioprotective factors in conditions of normal coronary and local circulation. (b) Putative mechanisms by which adipokines might reach the coronary artery lumen from the epicardial fat. Adipokines from periaortic epicardial fat could traverse the coronary wall by diffusion from outside to inside, via a paracrine mechanism. Adipokines might also be released from epicardial tissue directly into the vasa vasorum and be transported downstream into the arterial wall via a vasocrine mechanism. (c) Putative pathophysiological role of epicardial fat in CAD: proinflammatory cytokines are highly expressed and secreted into the coronary lumen; anti-inflammatory adipokines are thought to be downregulated. In high-risk subjects, as well as those with metabolic syndrome and excessive visceral fat accumulation, epicardial fat increases in size and cellularity, exhibiting an elevated number of macrophages.

Table 3. Epicardial adipose tissue bioactive molecules

| Proinflammatory, proatherogenic | Anti-inflammatory, anti-atherogenic |
|---|--|
| TNF- α MCP-1 IL1, IL1 β , IL-1Ra, IL6, IL8, IL10 CRP PAI-1 Prostaglandin D(2), haptoglobin, α 1-glycoprotein, JNK sPLA2-IIA, fatty-acid-binding protein 4 RANTES ICAM | Adiponectin, Adrenomedullin |
| Insulin-mimetic, markers of visceral fat | Thermogenic |
| Resistin Visfatin Omentin | UCP 1 |
| Growth factors | Brown fat differentiation transcription factors |
| NGF FLT1 | PRDM16 PGC-1 α |
| Vascular remodeling, blood pressure control, myocardial hypertrophy, adipogenesis | |
| Angiotensin, Angiotensinogen Leptin | |
| Receptors | |
| Angiotensin II type 1 receptor TLRs PPAR γ GLUT-4 | |

Abbreviations: CRP, C-reactive protein; FLT1, soluble vascular endothelial growth factor receptor; GLUT-4, glucose transporter-4; ICAM, soluble intercellular adhesion molecule; IL, interleukin; IL-1Ra, interleukin-1 receptor antagonist; JNK, c-Jun N-terminal kinase; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; NGF, nerve growth factor; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; PGC-1 α , PPAR- γ coactivator-1 α ; sPLA2-IIA, secretory type II phospholipase A2; PPAR- γ , peroxisome-proliferator-activated receptor γ ; PRDM16, brown adipocyte differentiation transcription factor PR-domain-missing16; RANTES, regulated upon activation normal T cell and secreted; TLRs, toll-like receptors; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; UCP1, uncoupling protein-1.

Zánět

- je soubor reakcí , které se objevují po tkáňovém poškození nebo infekci nebo imunologické stimulaci jako obrana proti cizím, nebo alterovaným vlastním substancím.
- Zánětlivé reakce zahrnují četné biochemické a celulární alterace, jejichž rozsah koreluje s rozsahem iniciálního traumatu. Nevhodná aktivace zánětlivých odpovědí jako bazální příčina nemocí.

Celkové a místní klinické příznaky zánětu

Celkové

- ✓ horečka
- ✓ tachykardie
- ✓ hyperventilace
- ✓ únava
- ✓ ztráta chuti
k jídlu

Místní

- ✓ calor
- ✓ rubor
- ✓ dolor
- ✓ tumor
- ✓ functio laesa

| Změny při zánětu | Zvýšení | Pokles |
|------------------|--|--|
| Buněčné | Fagocytující buňky (v krvi i místně) | erytrocyty |
| Metabolické | Proteiny akutní fáze serová Cu katabolismus bílkovin glukoneogeneze | sérové Fe sérový Zn syntéza albuminu transtyrelin transferin |
| Endokrinní | glukagon insulin ACTH GH T4 kortisol aldosteron vasopressin | T3 TSH |

Reakce akutní fáze

- ✗ Je systémová reakce na lokální nebo systémový imunologický stres způsobený infekcí, tkáňovým poškozením, traumatem nebo neoplastickým růstem.
- ✗ V místě léze uvolňují lokální prozánětlivé buňky- neutrofily a makrofágy- **prozánětlivé cytokiny** (TNF- α/β , IL-1 α/β , IL-6, INF- α/γ a IL-8) do krve.
- ✗ Tyto cytokiny aktivují různé cílové buňky, což vede k aktivaci hypotalamu, redukci sekrece růstového hormonu a dalším dějům charakterizovaným jako horečka, anorexie a katabolismus svalových buněk.
- ✗ **Při dostatečně vysoké hladině prozánětlivých cytokinů (zejména IL-6) v periferní krvi játra** odpovídají změnou exprese proteinů akutní fáze.

Systemové manifestace zánětu

→1. Horečka

→2. Reakce akutní fáze

Reakce akutní fáze

- Metabolické změny: pokles LDL a HDL v krvi, nárůst ACTH a glukokortikoidů, aktivace komplementu, pokles hladin Ca^{++} , Zn, Fe, vitaminů rozpustných v tucích a změny v koncentracích proteinů akutní fáze.
- Smysl reakce: zábrana mikrobiálního růstu a pomoc při obnově homeostázy (limitace poškození navozených vlastním zánětlivým procesem).

Proteiny akutní fáze

- ✘ Je třída proteinů, jejichž plasmatická koncentrace stoupá (**pozitivní proteiny akutní fáze**) nebo klesá (**negativní proteiny akutní fáze**) v odpovědi na tkáňové poškození.
- ✘ Tato reakce se nazývá reakce akutní fáze (AFR).

Pozitivní proteiny akutní fáze

- (1) ceruloplamin a složka komplementu C3
- (2) haptoglobin, fibrinogen, α -globuliny a LPS-binding proteinázy
- (3) C-reaktivní protein a sérový amyloid A

Funkce:

- Oponizace a vychytávání bakterií a jejich produktů
- Aktivace komplementu
- Vychytávání volného hemoglobinu a radikálů

Negativní proteiny akutní fáze

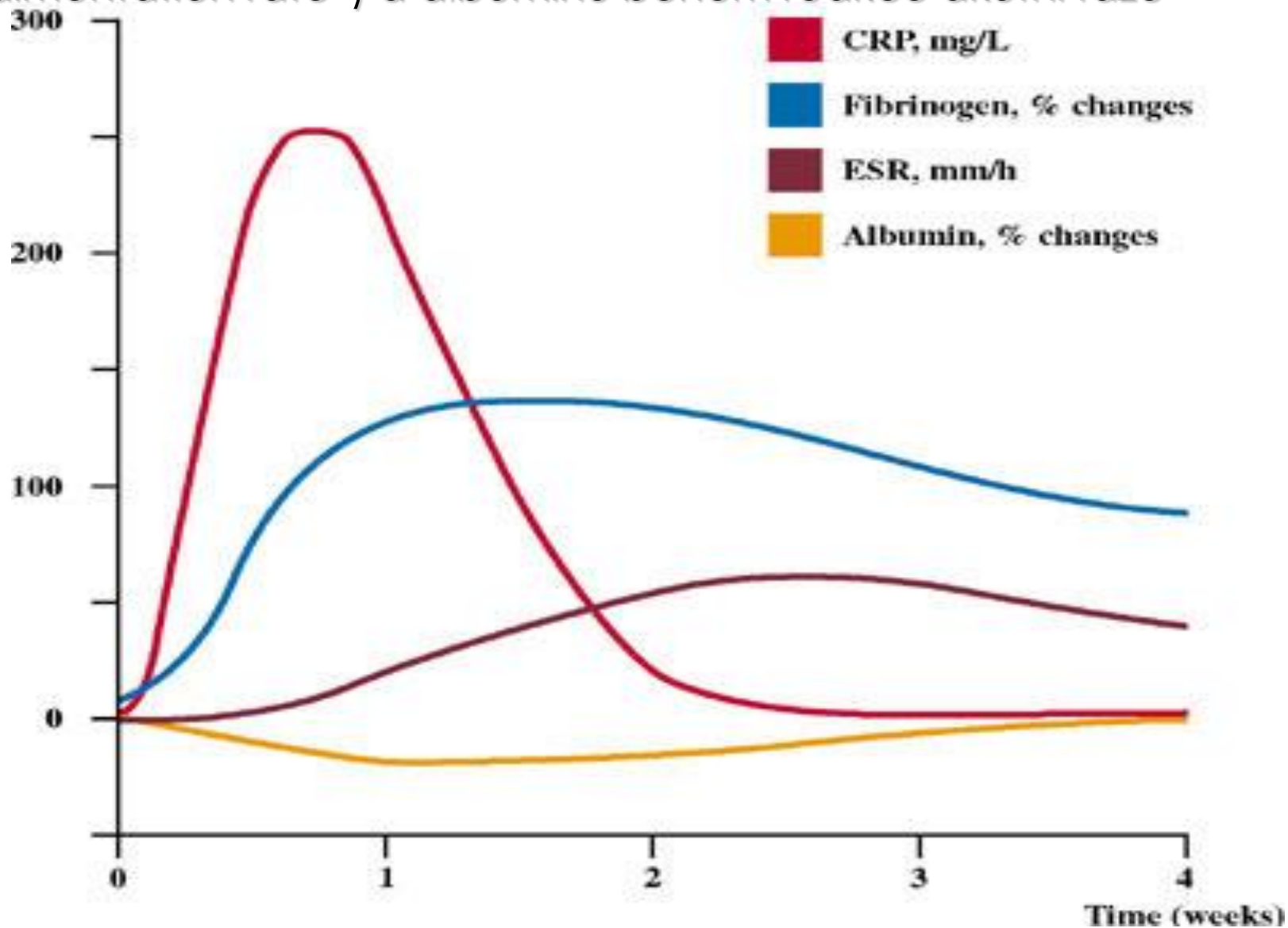
- ✘ Pokles albuminu, transferinu, kortisol-binding globulinu, transthyretinu a vitamin A binding proteinu vedou dočasně ke zvýšené nabídce volných hormonů, které se na tyto bílkoviny obvykle vážou.
- ✘ Transthyretin (prealbumin vážící thyroxin, transportuje hormony štítné žlázy z plexus choroideus do mozkomíšního moku) inhibuje produkci IL-1 β monocyty a endoteliálními buňkami. Jeho pokles je tedy možno považovat za prozánětlivý mechanismus. Tyto změny krevních bílkovinných profilů zřejmě částečně souvisí s hladověním a katabolismem ve svalech. Jde také o nabídku aminokyselin pro produkci pozitivních proteinů akutní fáze.

| Funkce | Protein akutní fáze | Nárůst v průběhu |
|---|---|-------------------------|
| Inhibitory proteáz | α_1 -antitrypsin α_1 -antichymotrypsin | 4 x 6 x |
| Koagulační proteiny (serin proteinázy) | fibrinogen prothrombin factor VIII plasminogen | 8 x |
| Složky komplementu | C1s C2b C3, C4, C5 C9 C5b | 2 x |
| Transportní proteiny | haptoglobin hemopexin feritin | 8 x 2 x 4 x |
| Scavengerové proteiny | ceruloplasmin | 4 x |
| Různé | α_1 -kyselý glykoprotein (orosomukoid) serum amyloid A protein C-reactive protein | 4 x 1000 x 1000 x |

C-reaktivní protein

- ✓ CRP aktivuje komplement
- ✓ CRP se váže na chromatin pocházející z mrtvých buněk a na zbytky buněk, který je nutno z cirkulace odstranit fagocytózou, a to přímo, vazbou na receptory Fc, C3b nebo CRP.
- ✓ Inhibice destičkové agregace snižuje riziko trombózy.
- ✓ CRP se váže na LDL.

Typické změny hladin CRP, fibrinogenu, ESR („erythrocyte sedimentation rate“) a albuminu během reakce akutní fáze



Cytokiny a reakce akutní fáze (APR)

- ✘ Malnutrice, hladovění a anorexie redukuje odpověď akutní fáze.
- Bakteriální infekce obvykle vedou k silné systémové reakci akutní fáze. Silná reakce monocytů a polymorfonukleárů jako odpověď na endotoxin vede k expresi vysokých hladin TNF- α a IL-1 β .
- U virových infekcí je APR mírnější. V tomto případě se z buněk napadených viry uvolňují zejména interferony, také TNF- α a IL-1 β .
- Plně rozvinutou APR pozorujeme v případě, že dochází k závažné destrukci buněk.

Prozánětlivé cytokiny

Odpovídají

- × za indukci horečky, katabolismu ve svalech a aktivaci prekurzorů bílé krevní řady ve dřeni.
- × **TNF- α , IL-1 β a INF- γ** jsou klíčové pro expresi zánětlivých lipidových mediátorů (**prostaglandiny a leukotrieny**) a indukují produkci „platelet-activating factor“ (PAF) a **IL-6**. Po stimulaci těmito cytokiny Kupfferovy buňky v játrech produkují IL-6.
- × **IL-6** je významným mediátorem sekrece většiny proteinů akutní fáze hepatocyty.
- × **TNF- α** způsobuje katabolismus ve svalech (hyperglykémie způsobená glukagonem a glukokortikoidy a vychytávání aminokyselin játry).

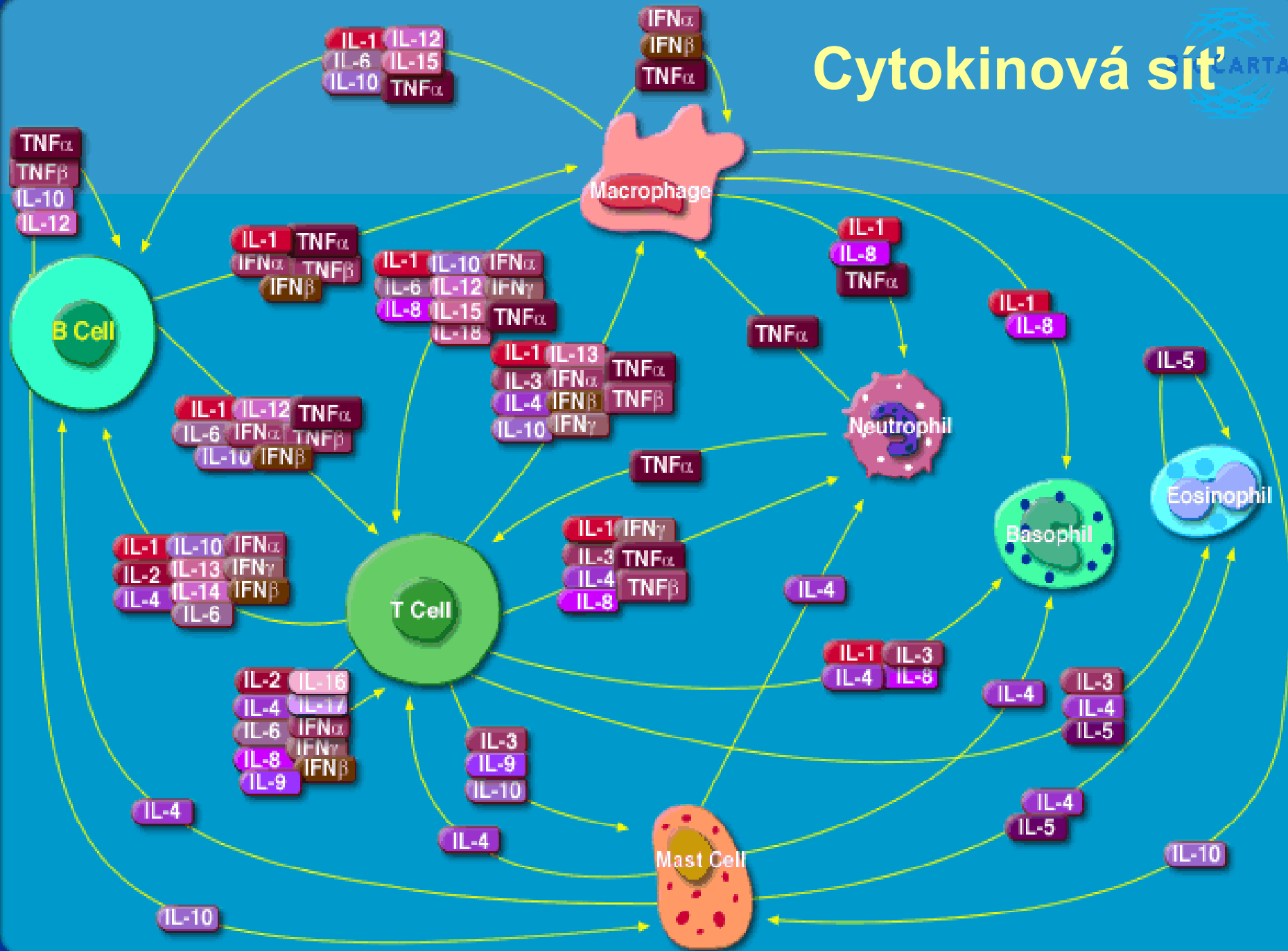
Glukokortikoidy

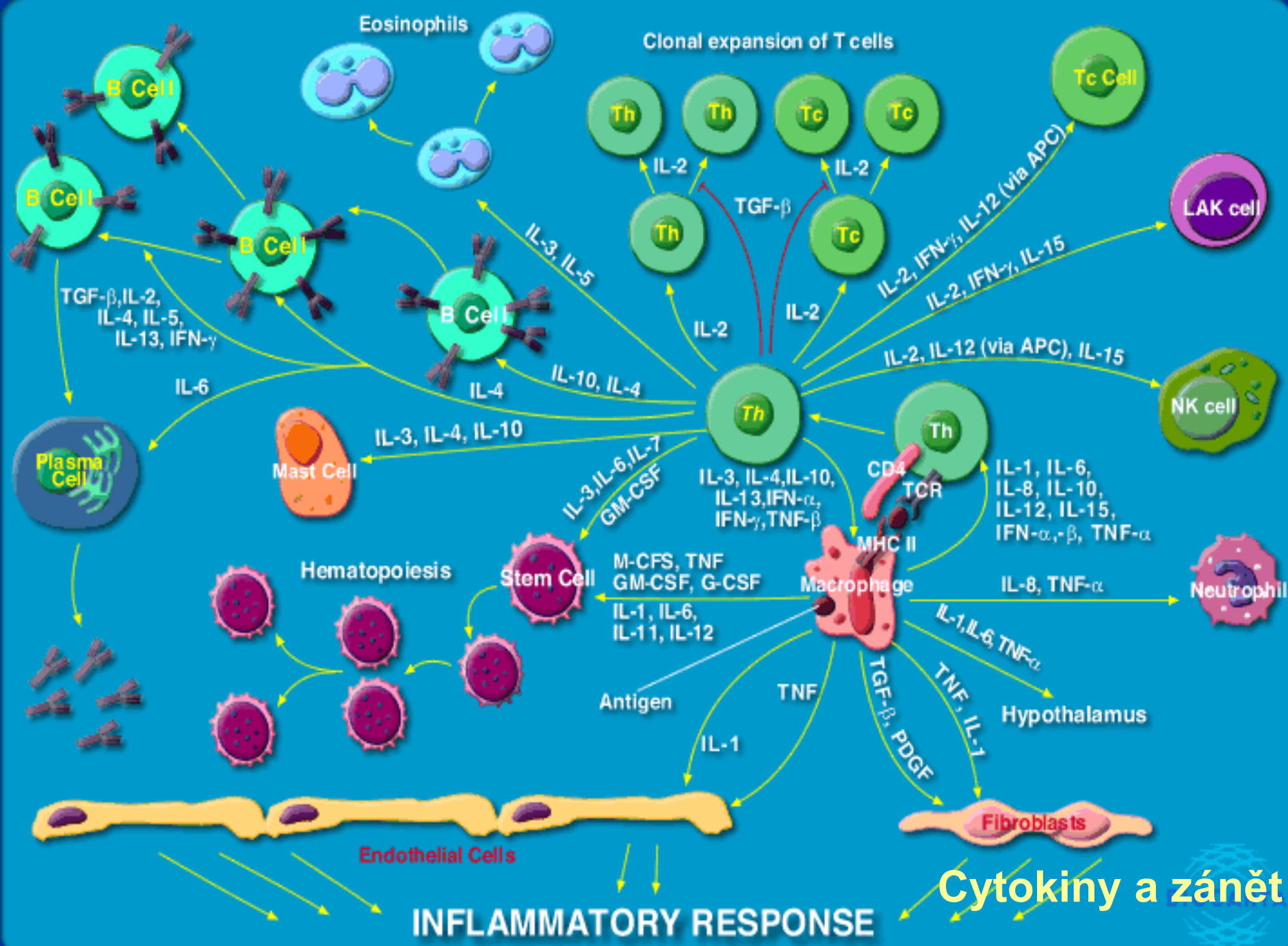
- × **Glukokortikoidy** způsobují:
- × **stimulaci hepatocytů** prostřednictvím IL-6, která je závislá na glukokortikoidech
- × **downregulaci produkce cytokinů monocyty a makrofágy**, modulující APR.
- × **supresi cytochromu P-450**. Cytochrom P-450 oxidázy jsou přítomny v mnoha tělesných buňkách (játra, sliznice GIT). Je schopen metabolizovat četné substráty (včetně léků a toxinů) a účastní se syntézy a štěpení hormonů, cholesterolu a metabolismu vitamínu D.
- × produkci **heat shock proteinů** a **metallothioneinu**. Metallothionein indukuje zvýšenou resistenci jater vůči toxickým kovům a zvyšuje intracelulární vaznou kapacitu pro kovy. Společně se sníženou sekrecí albuminu játry snižuje hladiny železa a zinku v krvi, což je zřejmě v dané situaci přínosné, protože železo je esenciálním prvkem pro mikrobiální růst.

„Heat shock“ proteiny (Hsp)

- Jsou vysoce konzervované proteiny, které jsou schopny chránit buňku proti noxám a poškození.
- Intracelulárně fungují jako molekulární chaperony a jako antiapoptotické regulátory buněčné signalizace.
- Mají přímé prozánětlivé účinky
- Indukce Hsp před působením prozánětlivého stimulu je jasně přínosná, ale po zánětlivém stimulu je cytotoxická. To je zřejmě dáno různými funkcemi intracelulárních a extracelulárních Hsp: extracelulární Hsp, uvolňované z buněk s kompromisní integritou mohou fungovat jako signály nebezpečí aktivující vrozenou imunitu interakcí s jejími receptory. Potenciální cíl pro imunomodulační protizánětlivou terapii.

Cytokinová síť



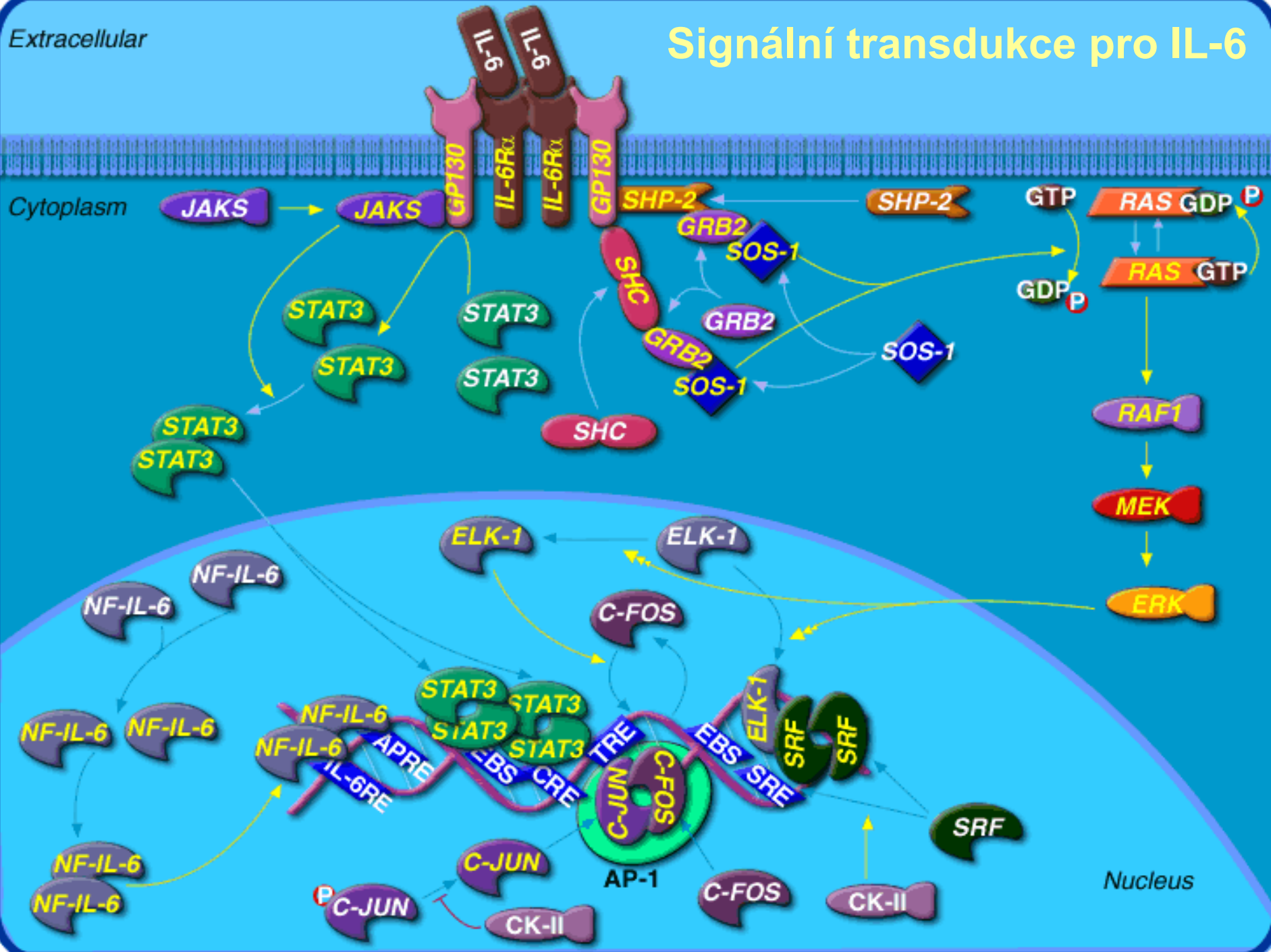


Extracellular

Signální transdukce pro IL-6

Cytoplasm

Nucleus



Cytokiny

- Téměř všechny jsou **pleiotropní**, tj. vykazují několikeré biologické aktivity. Cytokiny s mnohonásobnými účinky se často ve svých aktivitách přesahují a jednotlivé buňky vstupují do interakce s nimi zdánlivě identickým způsobem. Jsou tedy **funkčně nahraditelné, nebo alespoň částečně funkčně kompenzovatelné.**

Cytokiny

- Účinné modulátory během embryogeneze a organogeneze. Jejich aktivity v pozdějším životě se mohou od působení v tomto období výrazně lišit.
- Typy cytokinů (nazvy často podle buněčného původu nebo první objevené funkce:
- Interleukiny, lymfokiny, monokiny, interferony, CSF aj.



Chemokiny

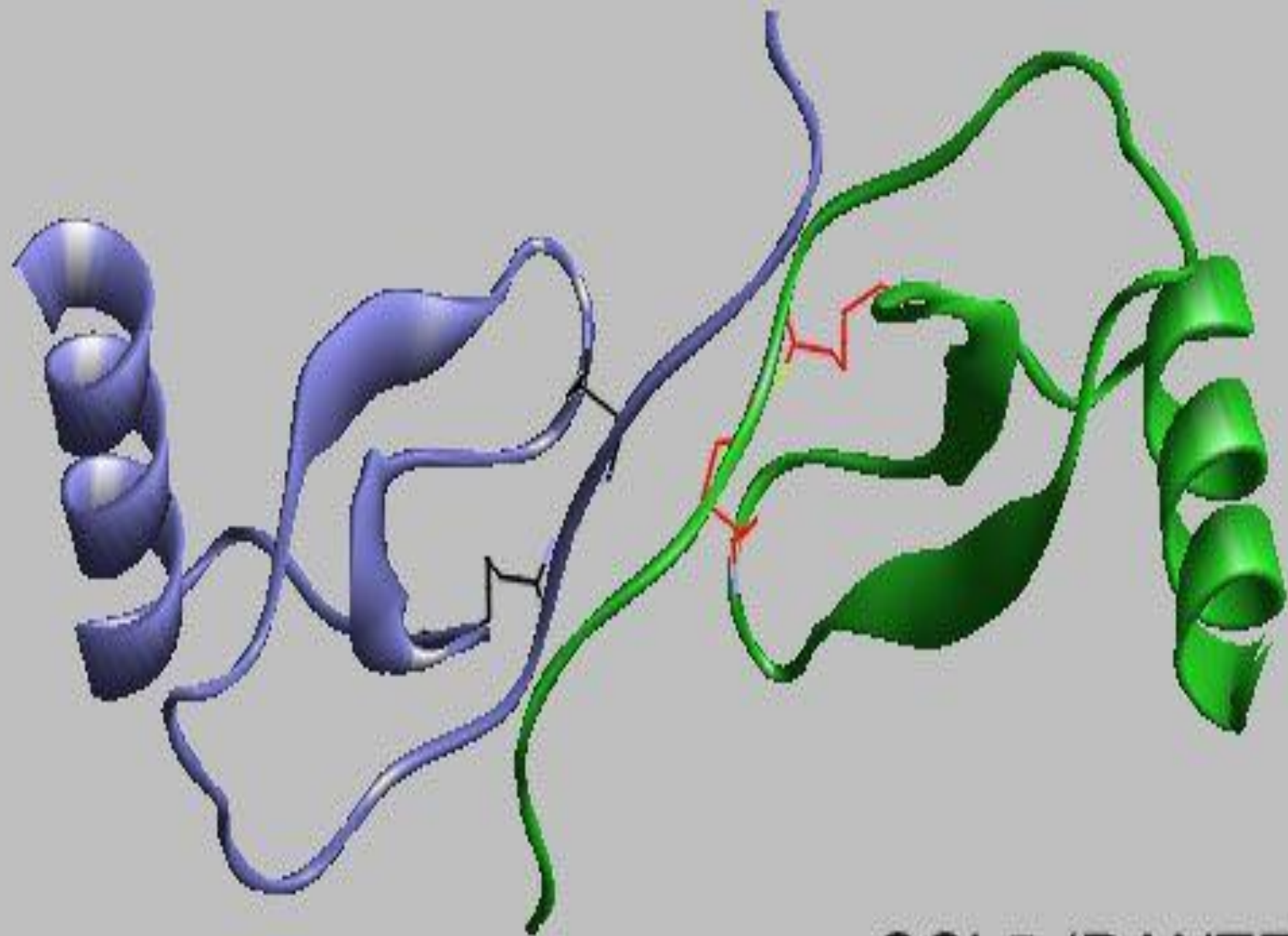
→Tvoří rodinu cytokinů, indukovatelných prozánětlivou aktivací. 8-10kDa, 20-50% sekvenční homologie, podobná genetická a terciární struktura. Všechny tyto proteiny poskytují množství konzervovaných **cysteinových** zbytků, které se účastní v tvorbě intramolekulárních disulfidových vazeb.

Chemokinové rodiny

- × α - Chemokinová rodina (4q12-21, CXC-chemokiny- CXCL 1-16)
- × Někteří její členové obsahují **ELR** sekvenční motiv (kys.glutamová-leucin-arginin), umístěný před prvním cysteinem blízko N-terminálnímu konci)
- × 1. Chemokiny **s ELR motivem**-chemoatrakce a aktivace neutrofilů
- × 2. Chemokiny **bez ELR motivu**-chemoatrakce a aktivace monocytů, APC, T, NK, B-buněk, basofilů a eosinofilů

Chemokinové rodiny

- × β -chemokinová rodina 17q (17q11-32, CC-chemokiny- CCL 1-28)
- × Biologické aktivity chemokinů jsou řízeny specifickými receptory a receptory s překrývajícími se ligandovými specifitami, které vážou některé z těchto proteinů, které vždy náleží buď k CC nebo k CXC. Chemokinové receptory jsou G-coupled, 7 hydrofobních α -helixových segmentů (domén), které směřují přes membránu.



CCL5 (RANTES)

Chemokinové rodiny

- × γ -chemokinová rodina 16q (CXXXC-chemokiny)
- × Fraktalkin- má silnou chemoatrakční aktivitu pro T-lymfocyty a monocyty a zvyšuje adhesivitu leukocytů na aktivované endoteliální buňky indukci povrchového vazného proteinu
- × CX3CR1 receptor pro fraktalkin

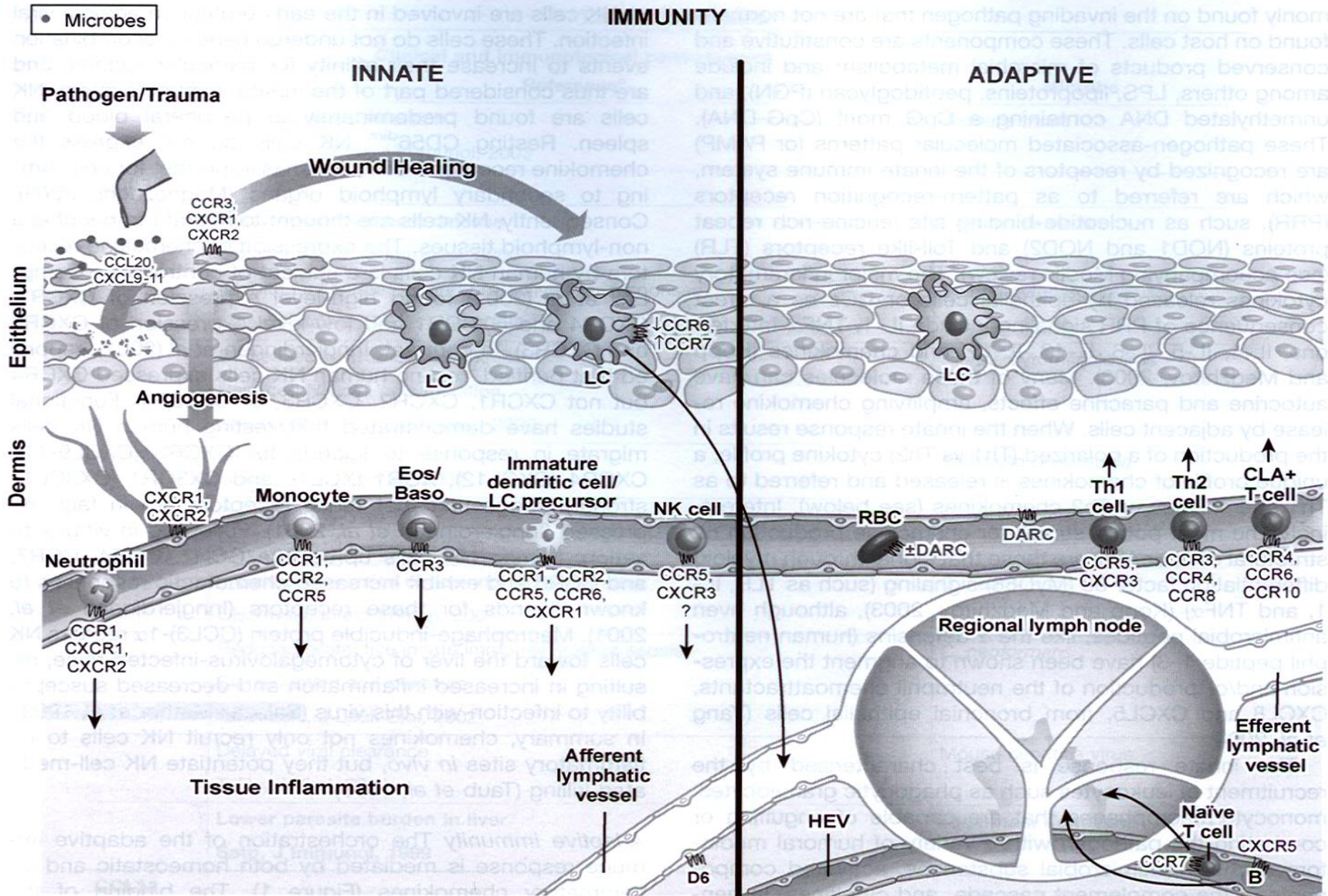
Chemokinové receptory

→CXCR 1-7

→CCR 1-12

→CXXCR 1

→Kombinatorické efekty mnoha chemokinů a jiných mediátorů jsou odpovědné za buněčné složení v místech zánětu. Mnohé geny kódující chemokiny se silně exprimují v průběhu mnohých patofyziologických procesů včetně autoimunních, nádorů, aterosklerózy a chronických zánětlivých onemocnění.



Sarkopenie a záněť

- Vyšší hladiny prozánětlivých markerů jsou asociovány s poklesem fyzických schopností, možná díky katabolickým efektům prozánětlivých markerů ve svalu.
- TNF- α – prokázána asociace s poklesem svalové hmoty a síly.
- Ztráta svalové hmoty při zánětu nízkého stupně (low-grade inflammation) je možná dána ztrátou stimulace syntézy proteinů jídlem (insulin?) při nezměněné proteinové degradaci.

Kachexie a zánět

- TNF- α , interleukin-1 (IL-1), IL-6 a IFN- γ se účastní v indukci ztráty svalové hmoty v průběhu rakoviny.
- Akcelerovaná proteolýza svalů během růstu maligního tumoru je řízena aktivací non-lysosomální ATP-dependentní ubiquitin proteasomové cesty.
- Prozánětlivé cytokiny ovlivňují expresi funkčních enzymů u srdeční kachexie. TNF- α , IFN- γ a IL-1- β , jejichž hladiny bývají u kachektických pacientů zvýšeny, jsou mocnými aktivátory exprese iNOS. To vede k produkci toxických hladin NO schopných inhibovat klíčové enzymy oxidativní fosforylace. NO je schopen in vitro snížit kontraktilitu kosterních svalů.

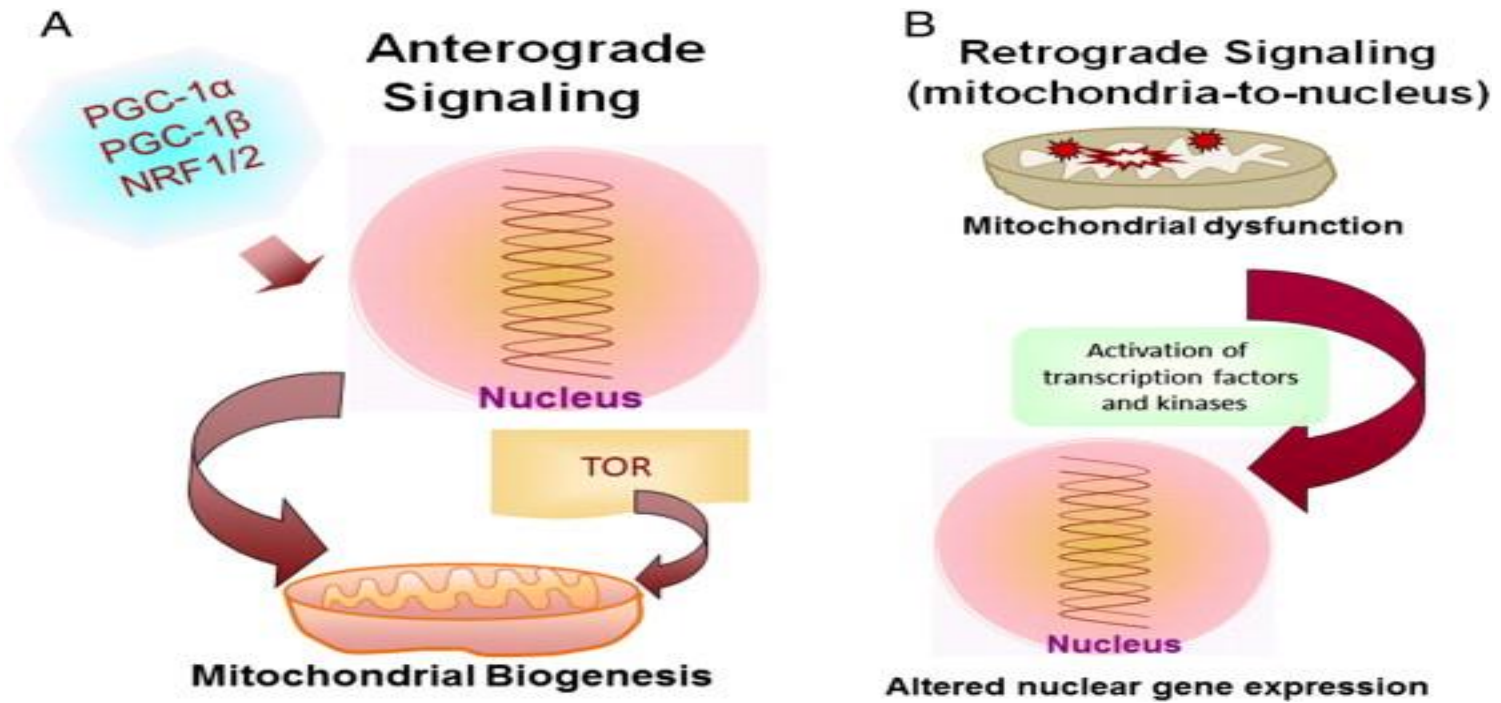


Fig. 1 Outline of the two major mitochondrial signaling pathways. (A) Anterograde signaling is transmitted by activated nuclear transcription factors and cytoplasmic proteins essential for mitochondrial biogenesis. (B) Retrograde signaling originates in dy...

Manti Guha , Narayan G. Avadhani

Mitochondrial retrograde signaling at the crossroads of tumor bioenergetics, genetics and epigenetics

Mitochondrion Volume 13, Issue 6 2013 577 - 591

<http://dx.doi.org/10.1016/j.mito.2013.08.007>

13.12.2017

Závěr

- Teprve začínáme rozumět tomu, jak hra **mezi metabolismem, bioenergetikou a epigenetikou** modifikuje buněčnou a systémovou patofyziologii během zánětu.
- Tyto koordinované cesty řídí časování fenotypických posunů během akutní systémové zánětlivé reakce pomocí transkripce, translace a posttranslační regulace.
- Je kriticky důležité pochopit, jaký je rozdíl v těchto procesech mezi akutním a chronickým systémovým zánětem, protože události pozorované u akutního zánětu nevidíme u zánětu chronického.

Děkuji vám za pozornost



13.12.2017