

Faktory ovlivňující vznik a rozvoj nádorů  
Životní prostředí a životní styl  
Výživa – složky potravy

Lipidové složky výživy – vysoce nenasycené mastné kyseliny (VNMK)

VNMK a nádorová onemocnění

Molekulární mechanismy působení VNMK

Metabolismus VNMK – eikosanoidy

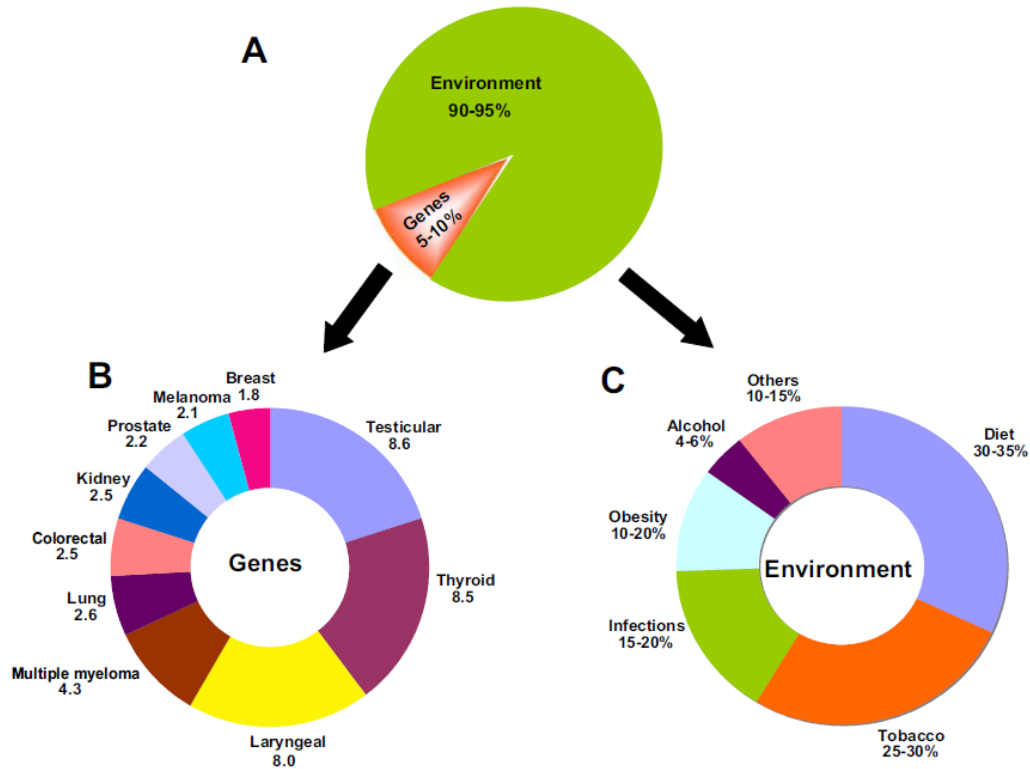
Praktické aspekty – klinika





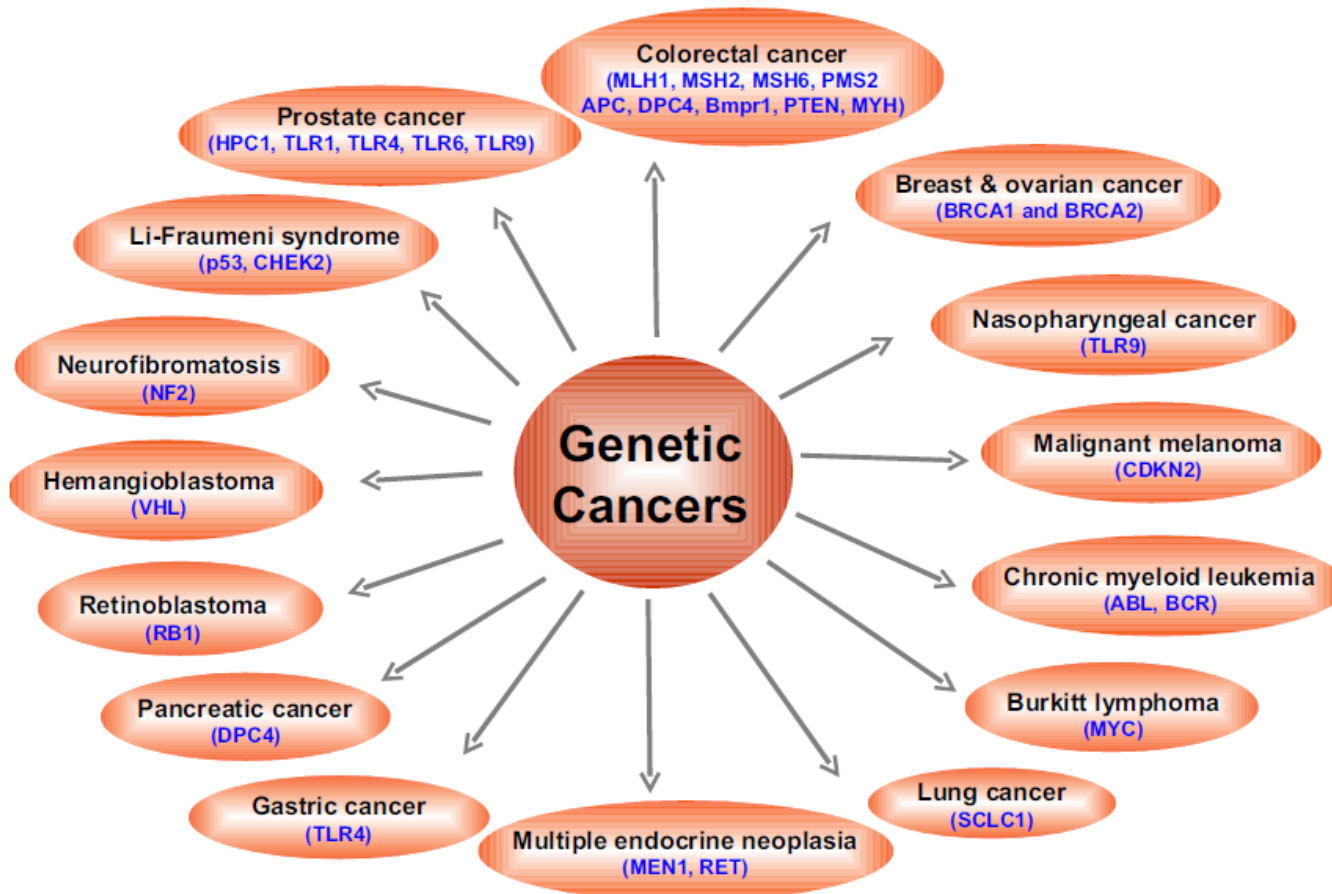
# Faktory ovlivňující vznik a rozvoj nádorů

# Úloha genů a prostředí ve vývoji nádorů



**Fig. 1.** The role of genes and environment in the development of cancer. **A** The percentage contribution of genetic and environmental factors to cancer. The contribution of genetic factors and environmental factors towards cancer risk is 5–10% and 90–95% respectively. **B** Family risk ratios for selected cancers. The numbers represent familial risk ratios, defined as the risk to a given type of relative of an affected individual divided by the population prevalence. The data shown here is taken from a study conducted in Utah to determine the frequency of cancer in the first-degree relatives (parents + siblings + offspring). The familial risk ratios were assessed as the ratio of the observed number of cancer cases among the first degree relatives divided by the expected number derived from the control relatives, based on the years of birth (cohort) of the case relatives. In essence, this provides an age-adjusted risk ratio to first-degree relatives of cases compared with the general population. **C** Percentage contribution of each environmental factor. The percentages represented here indicate the attributable-fraction of cancer deaths due to the specified environmental risk factor.

# Geny spojené s rizikem různých typů nádorů



# Typy nádorů spojované s konzumací alkoholu a kouřením

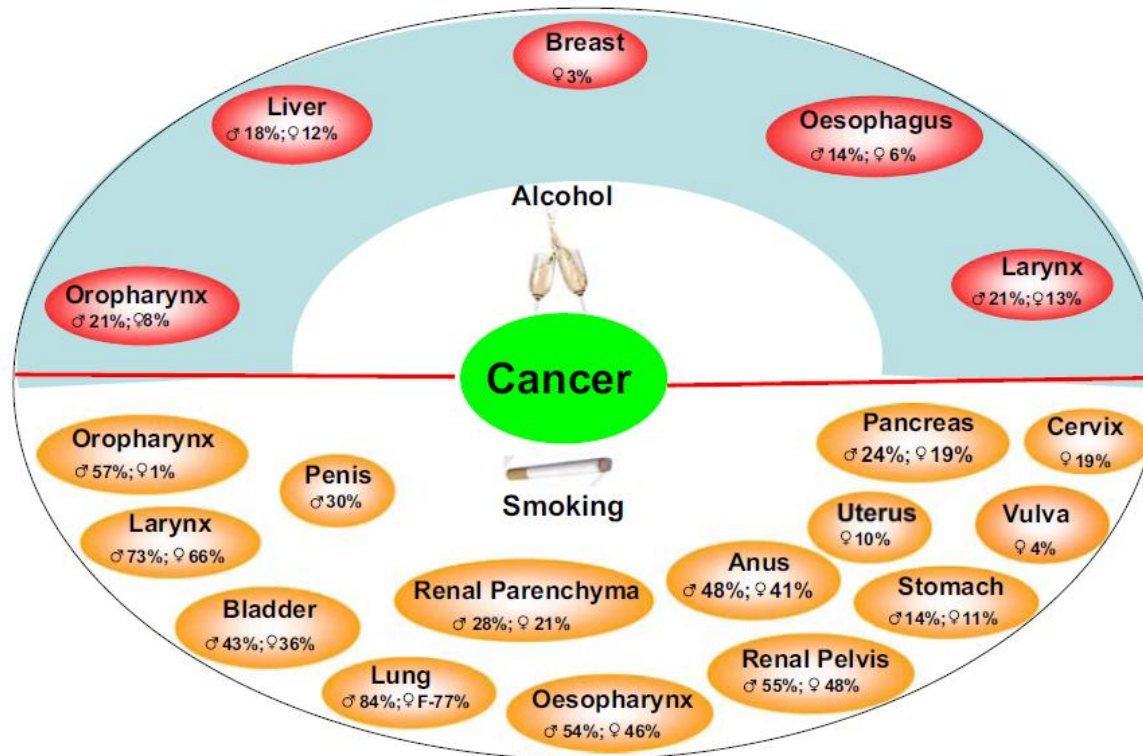


Fig. 3. Cancers that have been linked to alcohol and smoking. Percentages represent the cancer mortality attributable to alcohol and smoking in men and women as reported by Irigaray *et al.* (see 13).

# Různé typy nádorů spojené s obezitou

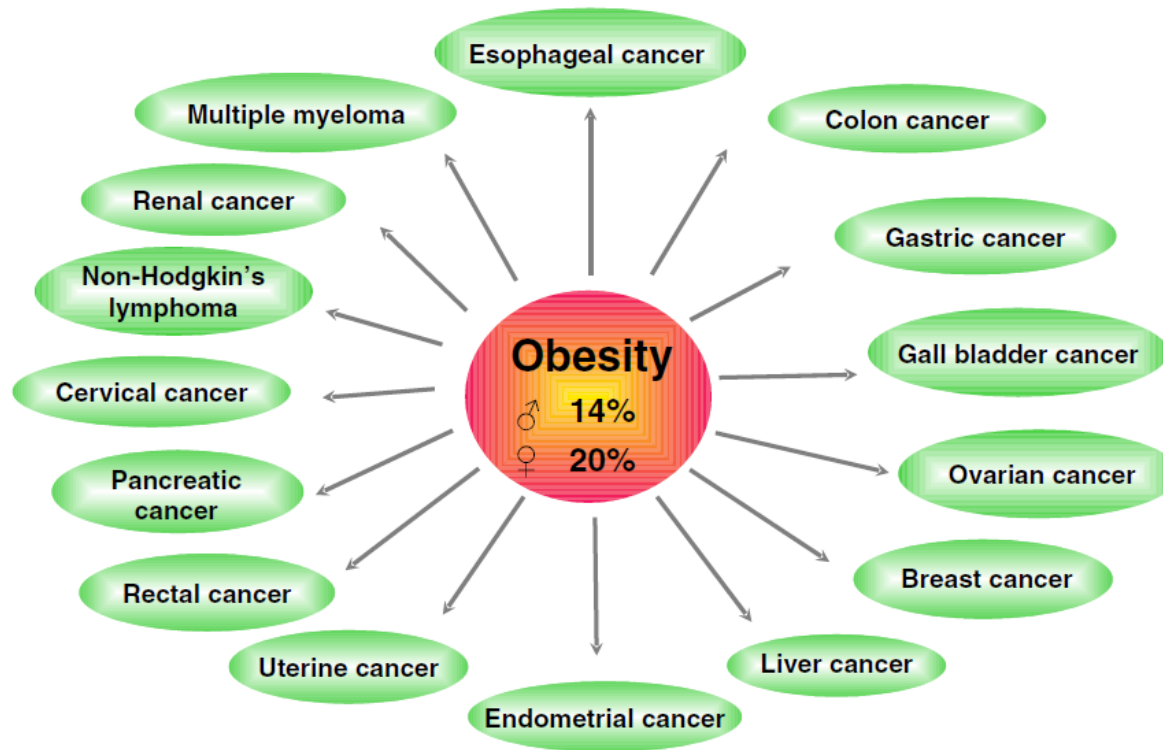
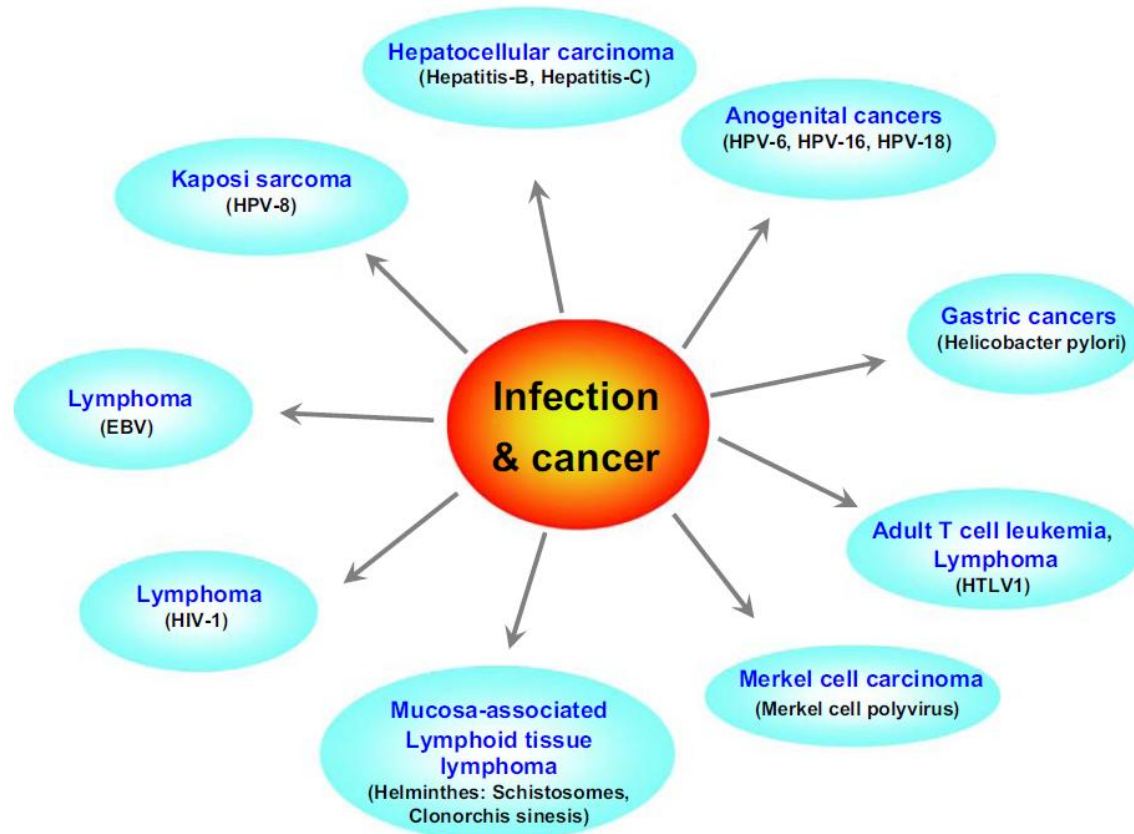


Fig. 5. Various cancers that have been linked to obesity. In the USA overweight and obesity could account for 14% of all deaths from cancer in men and 20% of those in women (see 51).

# Různé typy nádorů spojené s infekcí



**Fig. 6.** Various cancers that have been linked to infection. The estimated total of infection attributable cancer in the year 2002 is 17.8% of the global cancer burden. The infectious agents associated with each type of cancer is shown in the *bracket*. *HPV* Human papilloma virus, *HTLV* human T-cell leukemia virus, *HIV* human immunodeficiency virus, *EBV* Epstein-Barr virus (see 57).

# Různé typy nádorů spojené s environmentálními karcinogeny

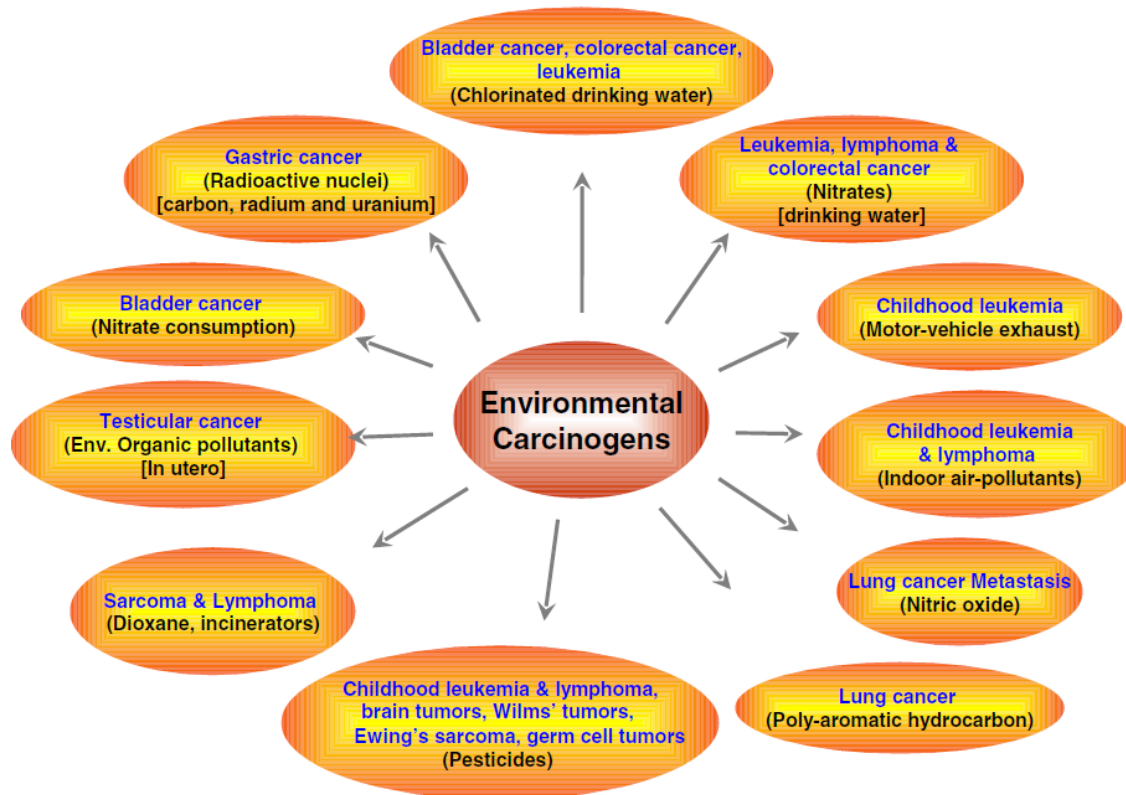


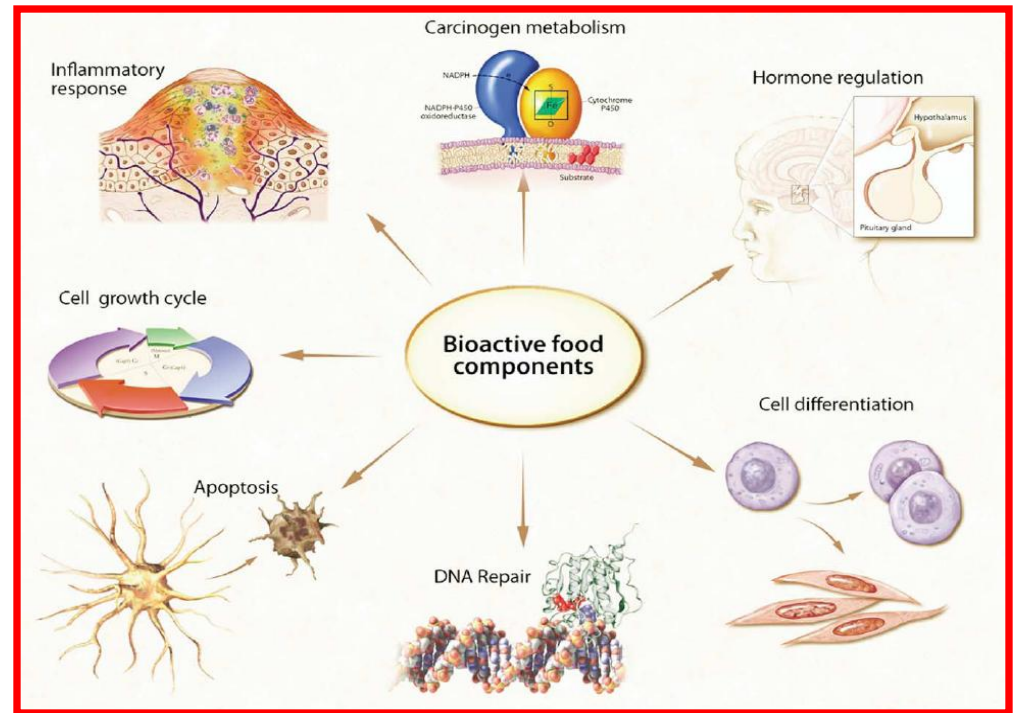
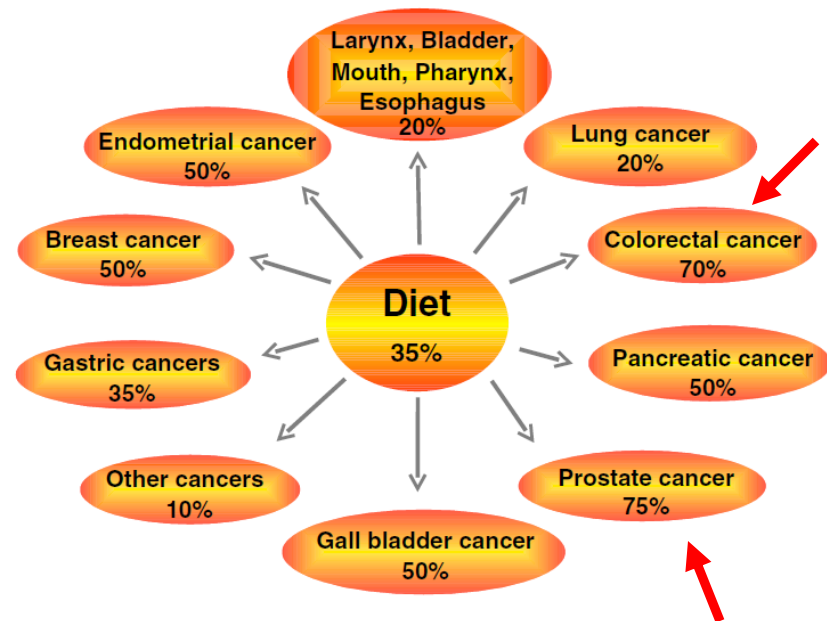
Fig. 7. Various cancers that have been linked to environmental carcinogens. The carcinogens linked to each cancer is shown inside *bracket*. (see 64).



# Vznik a rozvoj nádorů genetické faktory + faktory vnějšího prostředí

??Podíl výživy stále diskutován???

## Bioaktivní složky potravy



**ovlivňují genetické a epigenetické děje  
spojené se vznikem různých patologických procesů**

# Ovoce, zelenina, koření a cerealie působící protinádorově

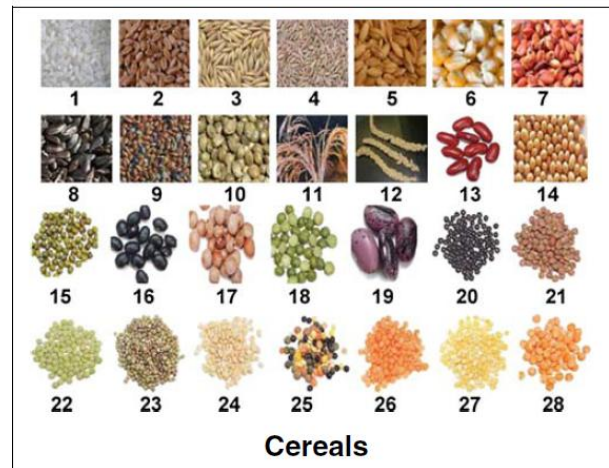
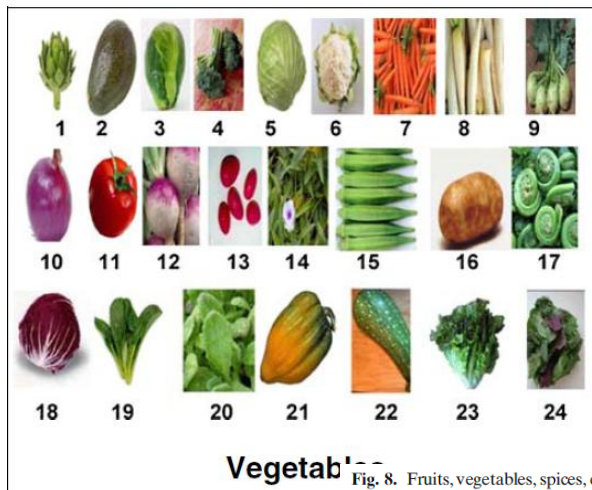
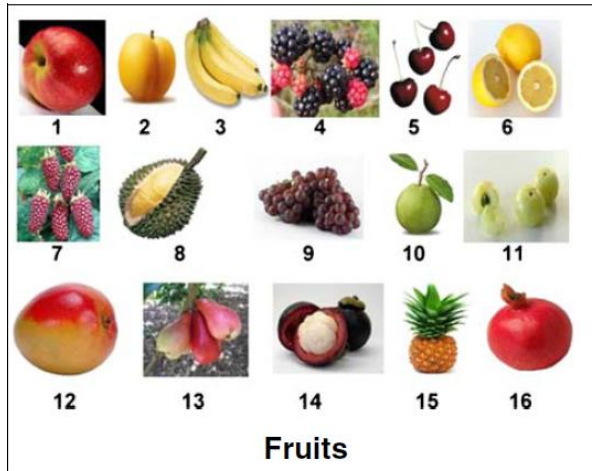


Fig. 8. Fruits, vegetables, spices, condiments and cereals with potential to prevent cancer. Fruits include 1 apple, 2 apricot, 3 banana, 4 blackberry, 5 cherry, 6 citrus fruits, 7 dessert date, 8 durian, 9 grapes, 10 guava, 11 Indian gooseberry, 12 mango, 13 malay apple, 14 mangosteen, 15 pineapple, 16 pomegranate. Vegetables include 1 artichok, 2 avocado, 3 brussels sprout, 4 broccoli, 5 cabbage, 6 cauliflower, 7 carrot, 8 daikon, 9 kohlrabi, 10 onion, 11 tomato, 12 turnip, 13 ulluco, 14 water cress, 15 okra, 16 potato, 17 fiddle head, 18 radicchio, 19 komatsuna, 20 salt bush, 21 winter squash, 22 zucchini, 23 lettuce, 24 spinach. Spices and condiments include 1 turmeric, 2 cardamom, 3 coriander, 4 black pepper, 5 clove, 6 fennel, 7 rosemary, 8 sesame seed, 9 mustard, 10 licorice, 11 garlic, 12 ginger, 13 parsley, 14 cinnamon, 15 curry leaves, 16 kalonji, 17 fenugreek, 18 camphor, 19 pecan, 20 star anise, 21 flax seed, 22 black mustard, 23 pistachio, 24 walnut, 25 peanut, 26 cashew nut. Cereals include 1 rice, 2 wheat, 3 oats, 4 rye, 5 barley, 6 maize, 7 jowar, 8 pearl millet, 9 proso millet, 10 foxtail millet, 11 little millet, 12 barnyard millet, 13 kidney bean, 14 soybean, 15 mung bean, 16 black bean, 17 pigeon pea, 18 green pea, 19 scarlet runner bean, 20 black beluga, 21 brown spanish pardina, 22 green, 23 green (eston), 24 ivory white, 25 multicolored blend, 26 petite crimson, 27 petite golden, 28 red chief.

# Karcinogeny aktivují a chemopreventivní látky tlumí transkripční faktor NFκB - hlavní mediátor zánětu

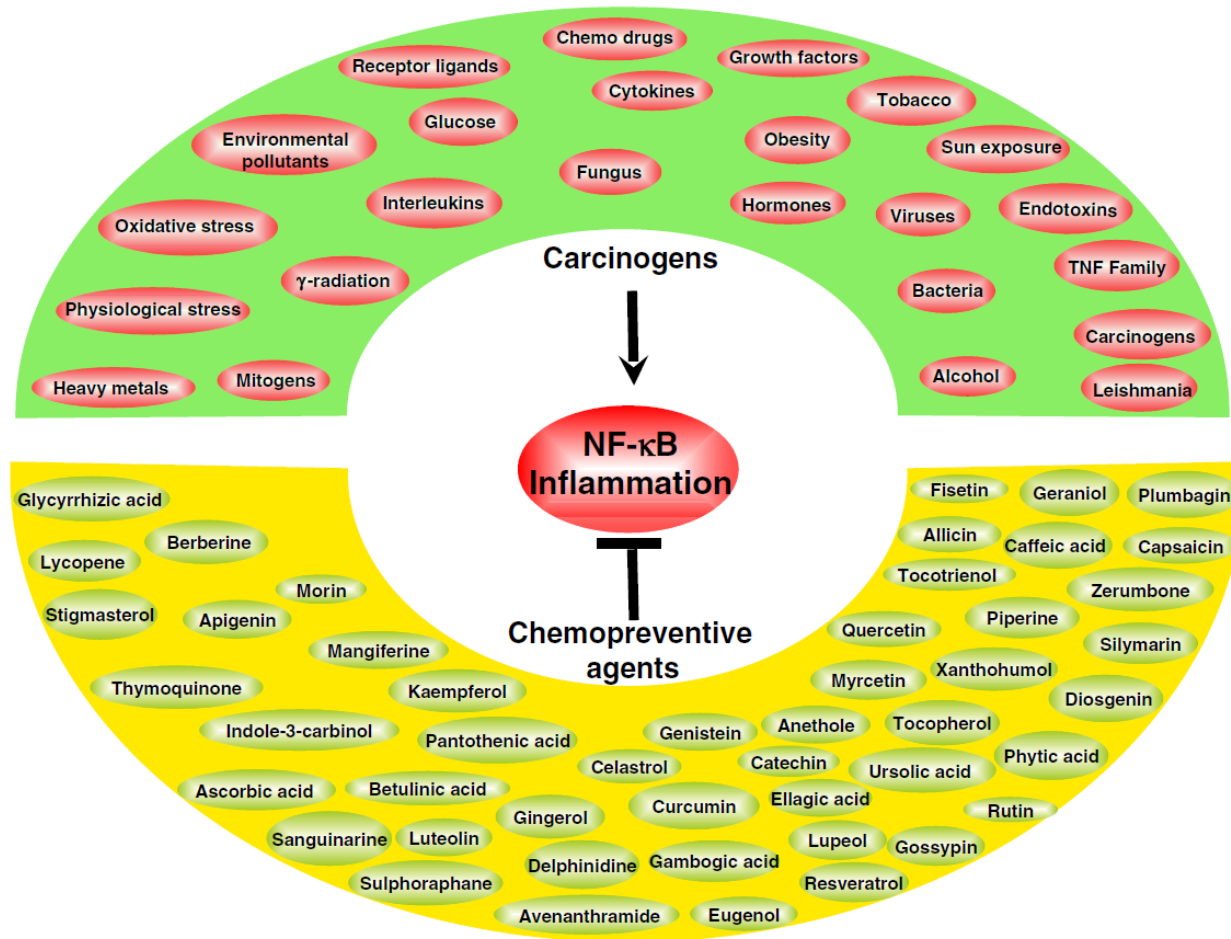


Fig. 10. Carcinogens activate and chemopreventive agents suppress NF-κB activation, a major mediator of inflammation.

The slide features a white background with decorative elements consisting of several overlapping circles in shades of orange and yellow. One large orange circle with a yellow center is in the top-left corner. Another large orange circle is in the top-right corner, partially overlapping a smaller yellow circle. The bottom-left corner contains a cluster of circles in orange, yellow, and light blue. A single orange circle is in the bottom-right corner.

# Faktory životního prostředí a životního stylu

# Příčiny chronických onemocnění

<b>Příčiny úmrtí v USA, 1997*</b>		
	<b>Muži x 10<sup>3</sup></b>	<b>Ženy x 10<sup>3</sup></b>
Všechny příčiny	1154	1160
Srdeční choroby	357	370
Rakovina	281	258
Cerebrovaskulární ch.	62.6	97.2
* (Greenlee, 2000)		

Životní styl jednotlivce je spojen s rizikem vzniku koronárních srdečních chorob, mrtvice, rakoviny nebo diabetes typu II

# Známé a předpokládané příčiny vzniku lidských nádorů

Table 2.7 Known or suspected causes of human cancers

Environmental and lifestyle factors known or suspected to be etiologic for human cancers in the United States <sup>a</sup>	
Type	% of total cases <sup>b</sup>
Cancers due to occupational exposures	1–2
Lifestyle cancers	
Tobacco-related (sites: e.g., lung, bladder, kidney)	34
Diet (low in vegetables, high in nitrates, salt) (sites: e.g., stomach, esophagus)	5
Diet (high fat, lower fiber, broiled/fried foods) (sites: e.g., bowel, pancreas, prostate, breast)	37
Tobacco and alcohol (sites: mouth, throat)	2

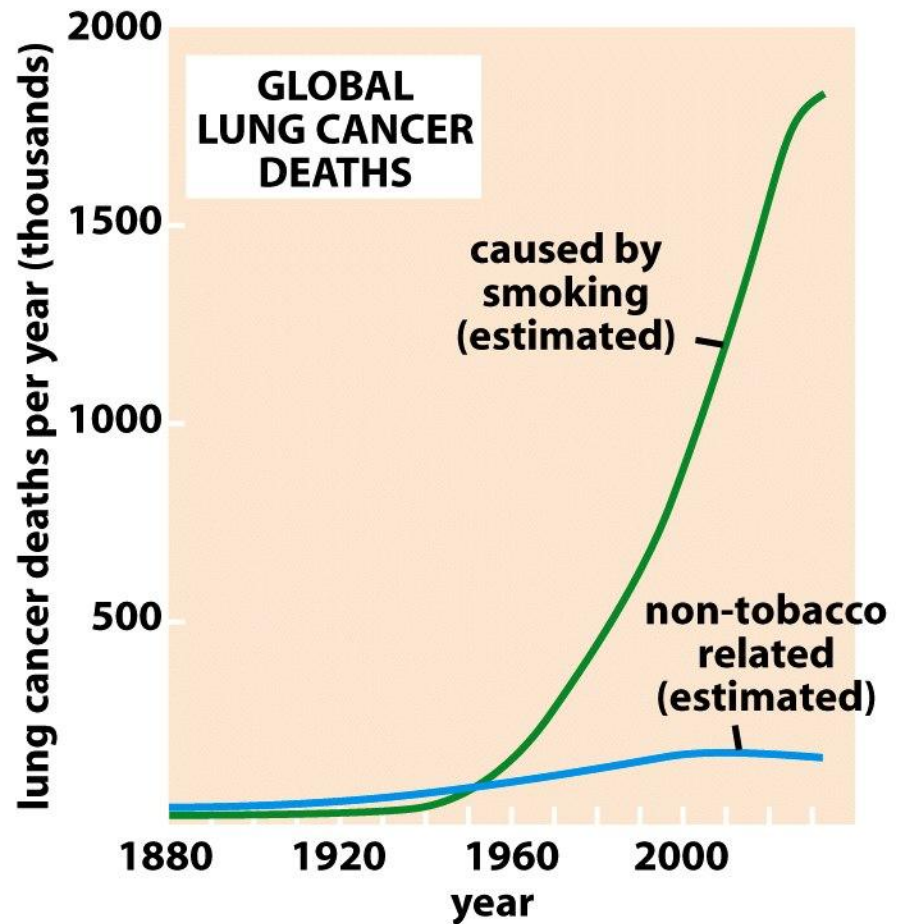
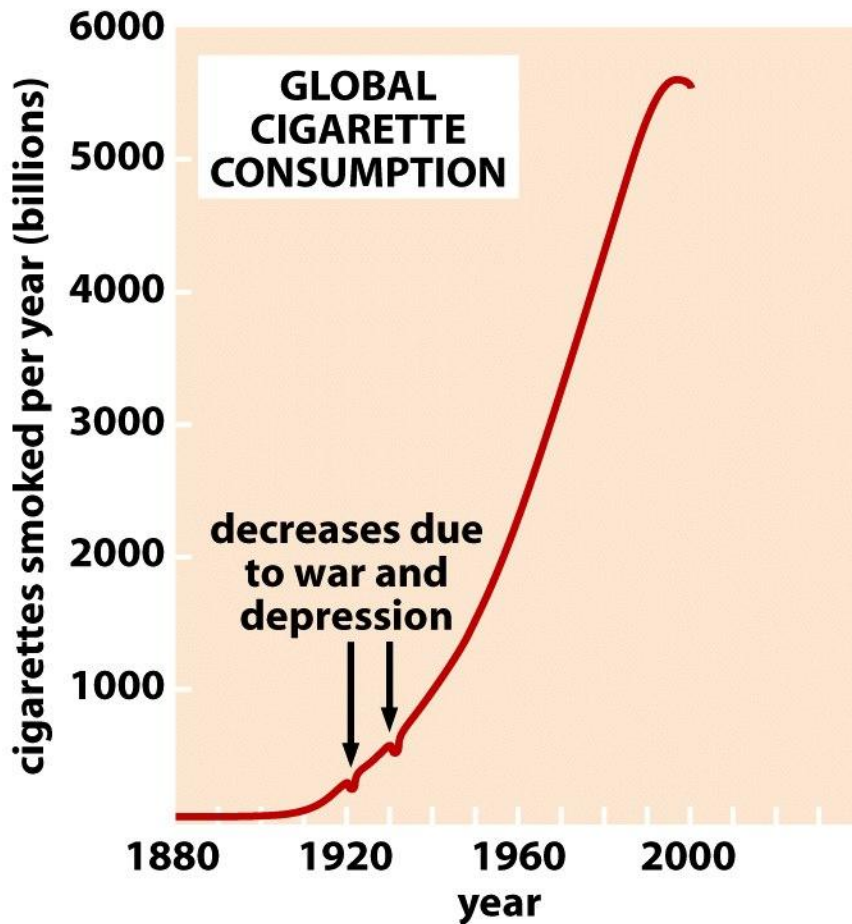
Specific carcinogenic agents implicated in the causation of certain cancers <sup>c</sup>	
Cancer	Exposure
Scrotal carcinomas	chimney smoke condensates
Liver angiosarcoma	vinyl chloride
Acute leukemias	benzene
Nasal adenocarcinoma	hardwood dust
Osteosarcoma	radium
Skin carcinoma	arsenic
Mesothelioma	asbestos
Vaginal carcinoma	diethylstilbestrol
Oral carcinoma	snuff

<sup>a</sup>Adapted from Cancer Facts and Figures, American Cancer Society, 1990.

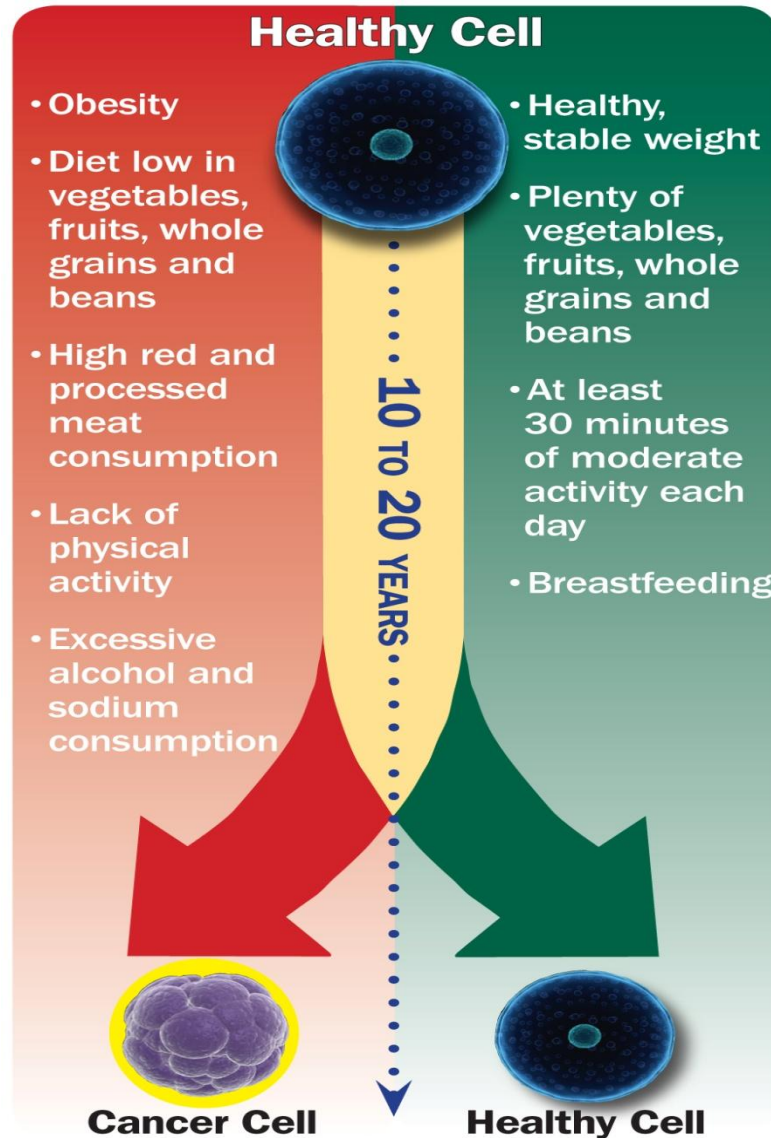
<sup>b</sup>A large number of cancers are thought to be provoked by a diet high in calories acting in combination with many of these lifestyle factors.

<sup>c</sup>Adapted from S. Wilson, L. Jones, C. Coussens and K. Hanna, eds., *Cancer and the Environment: Gene-Environment Interaction*, Washington, DC: National Academy Press, 2002.

# Souvislost konzumace tabáku a úmrtí na nádory plic



# Faktory ovlivňující přeměnu zdravé buňky v nádorovou v průběhu let





# Životní styl a další faktory ovlivňující riziko vzniku nádorů

Typ nádoru	Zvýšení rizika	Snížení rizika
<b>Tlustého střeva a rekta</b>	Adenomatózní polypy, zánět střeva, obezita (muži)	Fyzická aktivita
<b>Prsu</b>	Brzká první menstruace, pozdní menopauza, první těhotenství v pozdním věku, vysoký vzrůst, obezita (po menopauze)	Fyzická aktivita
<b>Plic</b>	Kouření, profesní zátěž	Fyzická aktivita
<b>Žaludku</b>	Infekce Helicobacterem pylori	
<b>Děložního čípku</b>	Lidský papillomavirus, kouření	
<b>Dělohy</b>	Expozice estrogenu, obezita	
<b>Jícnu</b>	Kouření, gastro-esophagální reflux (Barrettův jícen)	
<b>Slinivky břišní</b>	Kouření	
<b>Krve</b>	Kouření, profesní zátěž, schistosomální infekc	
<b>Vaječníků</b>		Dlouhodobé užívání orální hormonální antikoncepce

# Hlavní příčiny úmrtí na nádorová onemocnění v USA, 1999

<b>Životní styl</b>	<b>% z celk. počtu</b>
Dieta s vysokým obsahem tuků a smažených jídel a s nízkým obsahem nestravitelné vlákniny, zeleniny a čaje může vést ke vzniku nádorů kolorekta, prsu, slinivky břišní, prostaty, vaječníků a dělohy.	<b>35</b>
Dieta s vysokým obsahem soli a konzervovaných jídel a s nízkým obsahem zeleniny a čaje může vést ke vzniku nádoru žaludku.	<b>2-3</b>
Užívání tabáku může vést ke vzniku nádorů plic, hrtanu, ústní dutiny, močového měchýře, ledvin, slinivky břišní nebo žaludku.	<b>36</b>
Tabák a alkohol mohou způsobit vznik nádorů úst, jícnu nebo slinivky břišní.	<b>6</b>
Užívání alkoholu může vést ke vzniku nádorů jater nebo jícnu.	<b>3</b>
Sluneční záření a genetické faktory mohou způsobit vznik melanomů.	<b>2</b>
Nedostatek pohybu, sedavé zaměstnání a obezita mohou přispívat k výskytu nádorových onemocnění.	
Podobné faktory životního stylu mohou vést i ke vzniku kardiovaskulárních chorob.	

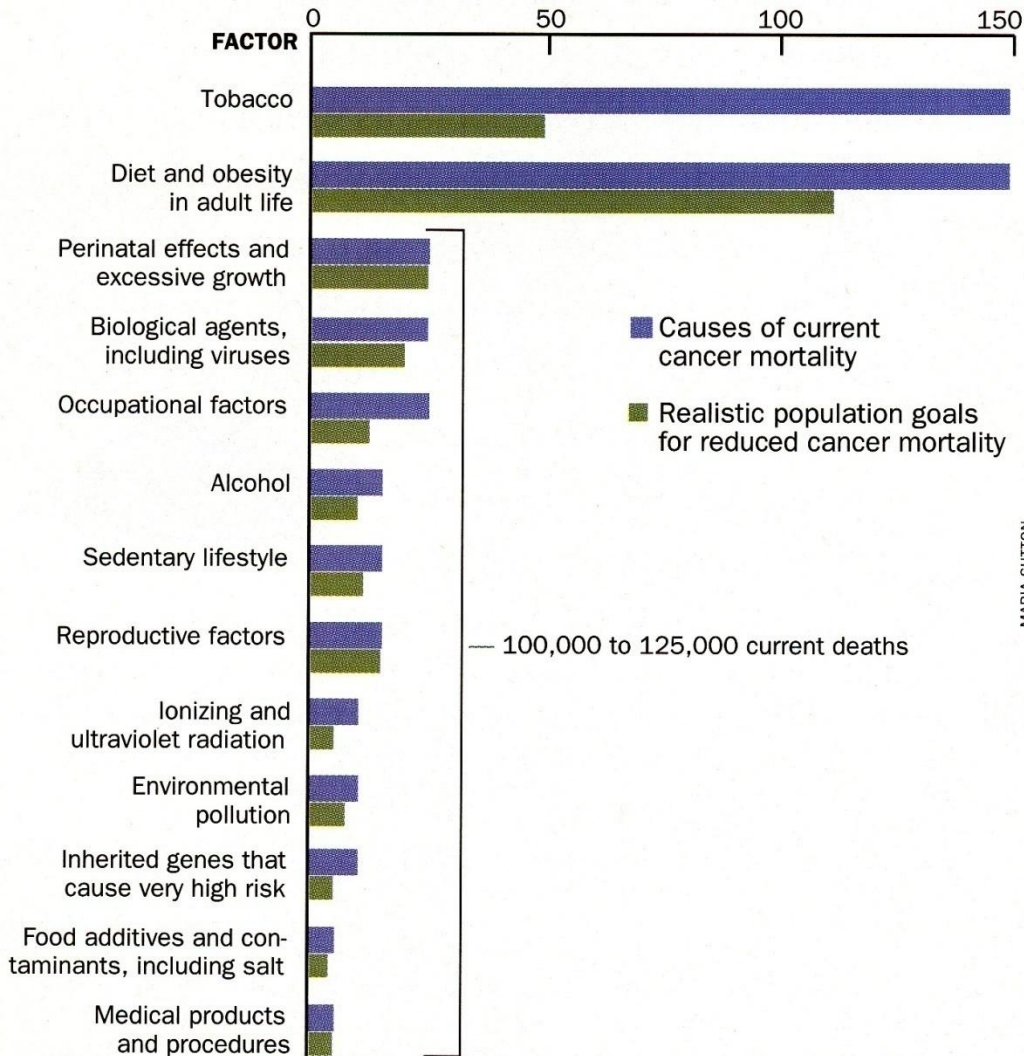
# Rady pro snížení rizika vzniku nádorů

- Nekuřte
- Pravidelně cvičte
- Nebud'te sexuálně promiskuitní
- Vyvarujte se dlouhému pobytu na přímém slunci
- Vyvarujte se rizika hepatitidy B a C

# Reálné cíle pro snížení mortality na nádorová onemocnění

## Realistic Goals for Reducing Cancer Mortality

ESTIMATED NUMBER OF DEATHS IN THE U.S. (THOUSANDS PER YEAR)



MARIA SUTTON

Snížení úmrtnosti zahrnuje zejména změnu životního stylu:

- omezení kouření a podporu zdravé výživy a fyzické aktivity

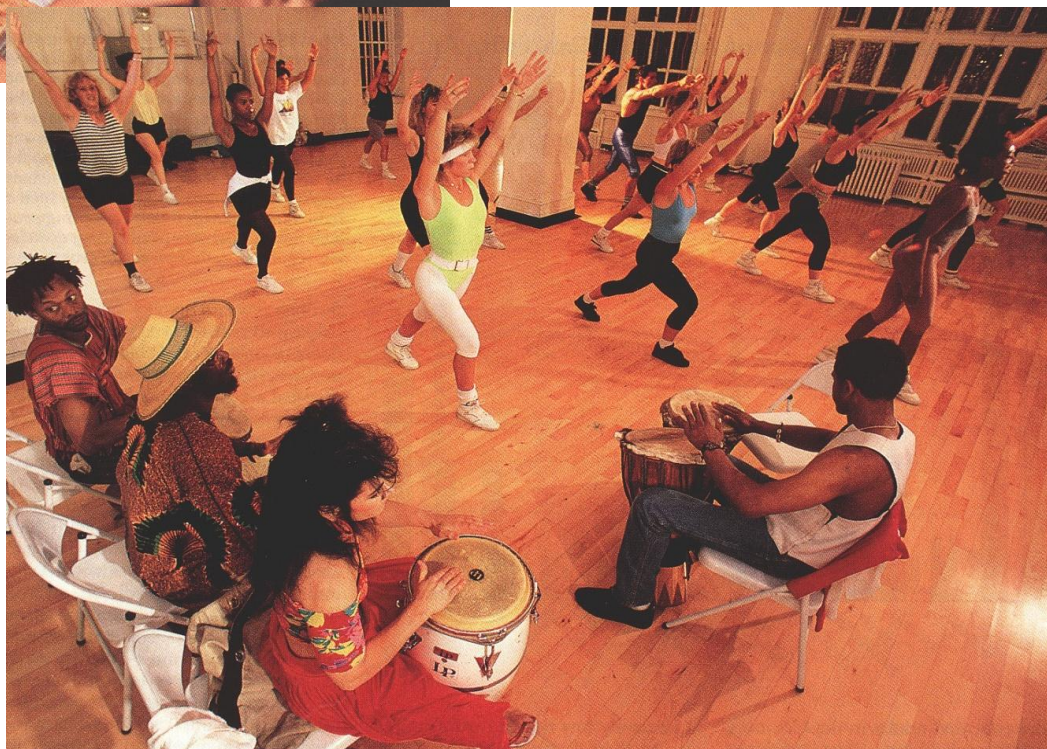


- zvýšený přísun kalorií (snížený) výdej
- vysoký obsah tuků
- nerovnováha v lipidovém metabolismu

Negenetické příčiny vzniku kardiovaskulárních a nádorových onemocnění

## Strategie minimalizace rizika vzniku onemocnění

- Fyzická aktivita
- relaxace, „mír na duši“
- snížení stresu
- žádné kouření
- správná výživa



# Typy studií úlohy různých faktorů etiologii onemocnění

**Etiologie** – studium původu a příčin nemocí

- **experimentální studie *in vitro*** – cílené studie na úrovni buněčné a molekulární (buněčné kultury, moderní metody molekulární biologie)
- **experimentální studie *in vivo*** – cílené studie na laboratorních zvířatech
- **klinické studie** – cílené studie na pacientech i na zdravých jedincích, retrospektivní studie
- **epidemiologické studie** – údaje z vybraných populací, vztahy mezi životním stylem a výskytem onemocnění
- **migrační studie** – důležité pro výzkum podílu dědičných faktorů a faktorů prostředí

# Výživa – složky potravy

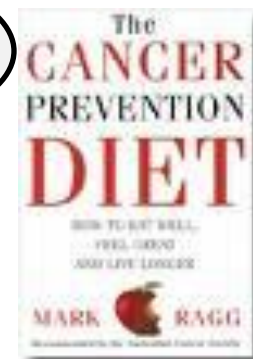
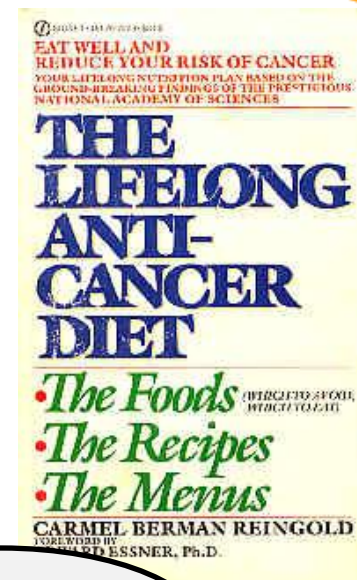
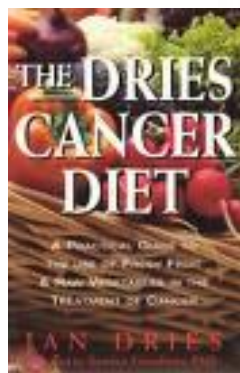
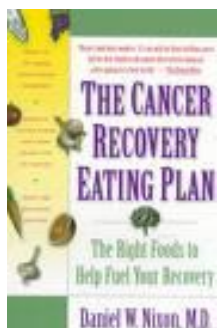
## Výživa – prevence rakoviny

<http://bestsyndication.com/MAINpages/special-features/health/cancer.htm>

internet

publikace

osvěta



**Výživa – složení potravy** hraje roli v karcinogenezi řadou různých mechanismů.

Je prokázáno, že **vysoký příjem kalorií a tvorba tukových zásob** je rizikovým faktorem.

Příjem, absorpce a metabolismus velkého množství potravy vyžaduje **oxidativní metabolismus** a produkuje více reaktivních kyslíkových radikálů, které poškozují DNA.

Ukázalo se, že příjem tuků může zvyšovat riziko nádorů. Epidemiologické studie předpokládají **pozitivní korelaci mezi příjmem tuků a nádory prsu, kolonu a prostaty**.

Navzdory dlouhé historii studií tuků a nádorů, zůstává řada protikladů.

Ukazuje se, že **nejen kvantita, ale i kvalita** hraje důležitou roli a že se zde uplatňují i tuky rostlinné, zejména **esenciální vysoce nenasycené mastné kyseliny (PUFAs) typu n-3, n-6, olivový olej atd.**



# Úmrtí na nádorová onemocnění v souvislosti s výživou, 1997\*

	USA		Ostatní	
	Muži x 10 <sup>2</sup>	Ženy x 10 <sup>2</sup>	Muži x 10 <sup>2</sup>	Ženy x 10 <sup>2</sup>
Žaludek (sůl) #	7.6	5.4	3970	2300
Kolon (smažená jídla, tuky)	23.1	24.6	2220	2150
Rektum (smaž. jídla, tuky, alkohol)	4.7	3.9	2220	2150
Slinivka bř. (smaž. jídla, tuky) §	13.7	14.5	900	780
Prs (smaž. jídla, tuky) §	0.4	40.8	-	3140
Děloha (obezita, tuky)	-	6.5	-	420
Vaječníky (tuky)	-	14	-	1010
Prostata (smaž. jídla, tuky)	31.9	-	1650	-
Játra (mykotoxiny)	10	5.3	3060	1210

\* Spočítáno a adaptováno podle Greenleeho, 2000 a Parkina et al., 1999.

# Také bakterie *Helicobacter pylori*.

§ Také kouření.

§ V USA především po menopauze.

|| Také nadměrný příjem etanolu a antigeny hepatitidy.

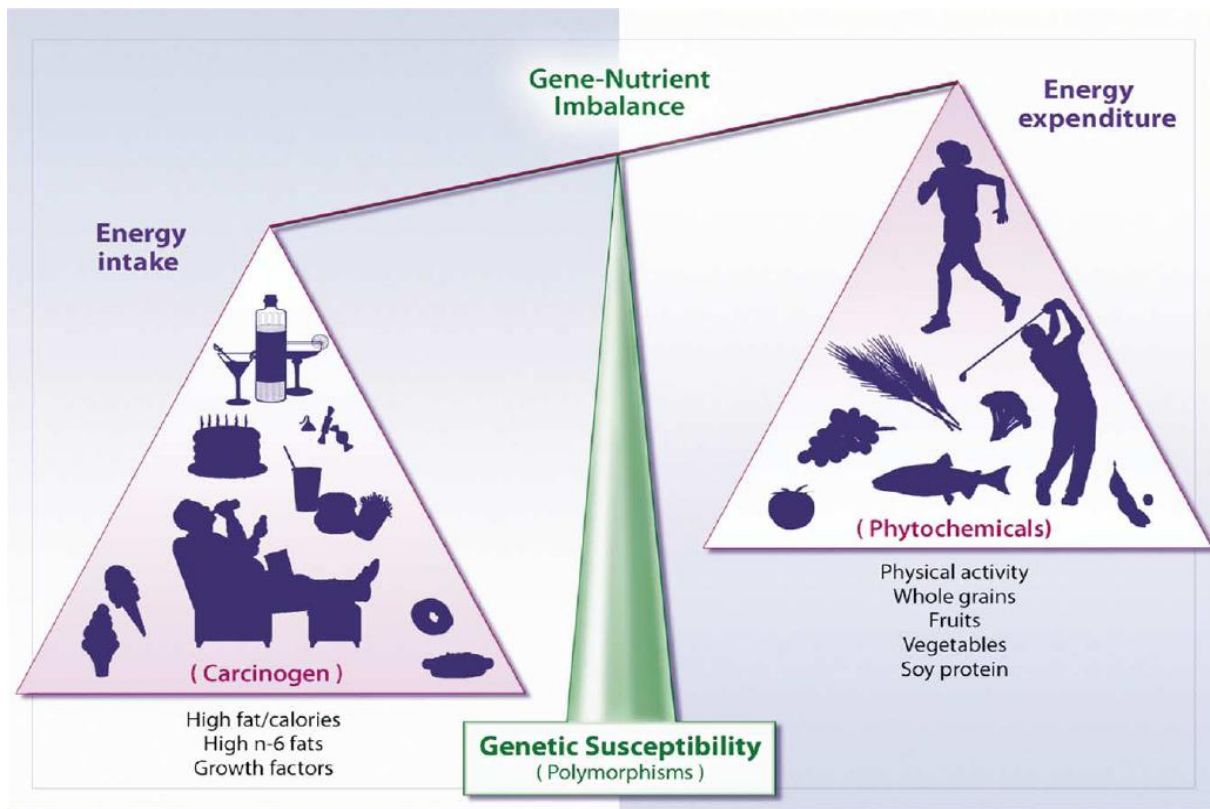
# Rizikové faktory výživy pro hlavní typy nádorů

Typ nádoru	Pravděpodobně zvyšuje riziko	Snižuje riziko	Možná zvyšuje riziko	Snižuje riziko
<b>Tlustého střeva</b>	Červené maso Zpracované maso	Zelenina, vláknina	Alkohol Tuk	Folát
<b>Prsu</b>	Alkohol Červené maso Opečené maso	Zelenina		Ovoce, Fyto-estrogeny
<b>Plic</b>			Alkohol Maso	Ovoce a zelenina
<b>Žaludku</b>	Sůl Nakládané a konzervované jídlo	Ovoce a zelenina Vitamín C		Karotenoidy
<b>Prostaty</b>		Vitamín E	(Červené) maso Tuk	Zelenina
<b>Děložního čípku</b>		Ovoce a zelenina Vitamín C		Folát, Vitamín A
<b>Jícen</b>	Alkohol	Ovoce a zelenina		
<b>Slinivka břišní</b>			Červené maso	Ovoce a zelenina Vitamín C, vláknina
<b>Krve</b>		Ovoce a zelenina		
<b>Jater</b>	Alkohol			

# Složky potravy ovlivňující genetické a epigenetické děje v organismu

<b>Nutrient group</b>	<b>Example</b>
Phytochemicals	Carotenoids, flavonoids, indoles, isothiocyanates, allyl sulfur
Zoochemicals	Conjugated linoleic acid, n-3 fatty acids
Fungochemicals	$\beta$ -glucans, lentinan, schizophyllan, and other compounds in mushrooms
Bacteriochemicals	Equol, butyrate, and other compounds formed from gastrointestinal flora fermentation

# Nerovnováha mezi příjmem a výdejem energie ve vztahu k obezitě a chronickým onemocněním



Genetické polymorfismy posouvají rovnováhu mezi příjmem a výdejem energie. Vyšší příjem energie, nízký poměr nenasycené/nasycené tuky, inzulinová rezistence, a sedavý životní styl jsou rizikovými faktory vedoucími k obezitě a chronickým onemocněním (srdeční choroby, diabetes a nádory). To je vyvažováno fyzickou aktivitou a dietou bohatou na celá zrna, ovoce, zeleninu, sóju atd., která snižuje riziko těchto chorob. (Trujillo E., J Amer Diet Assoc., 106, 2006)

# Bioaktivní složky potravy mohou ovlivňovat genetické i epigenetické děje související se vznikem onemocnění

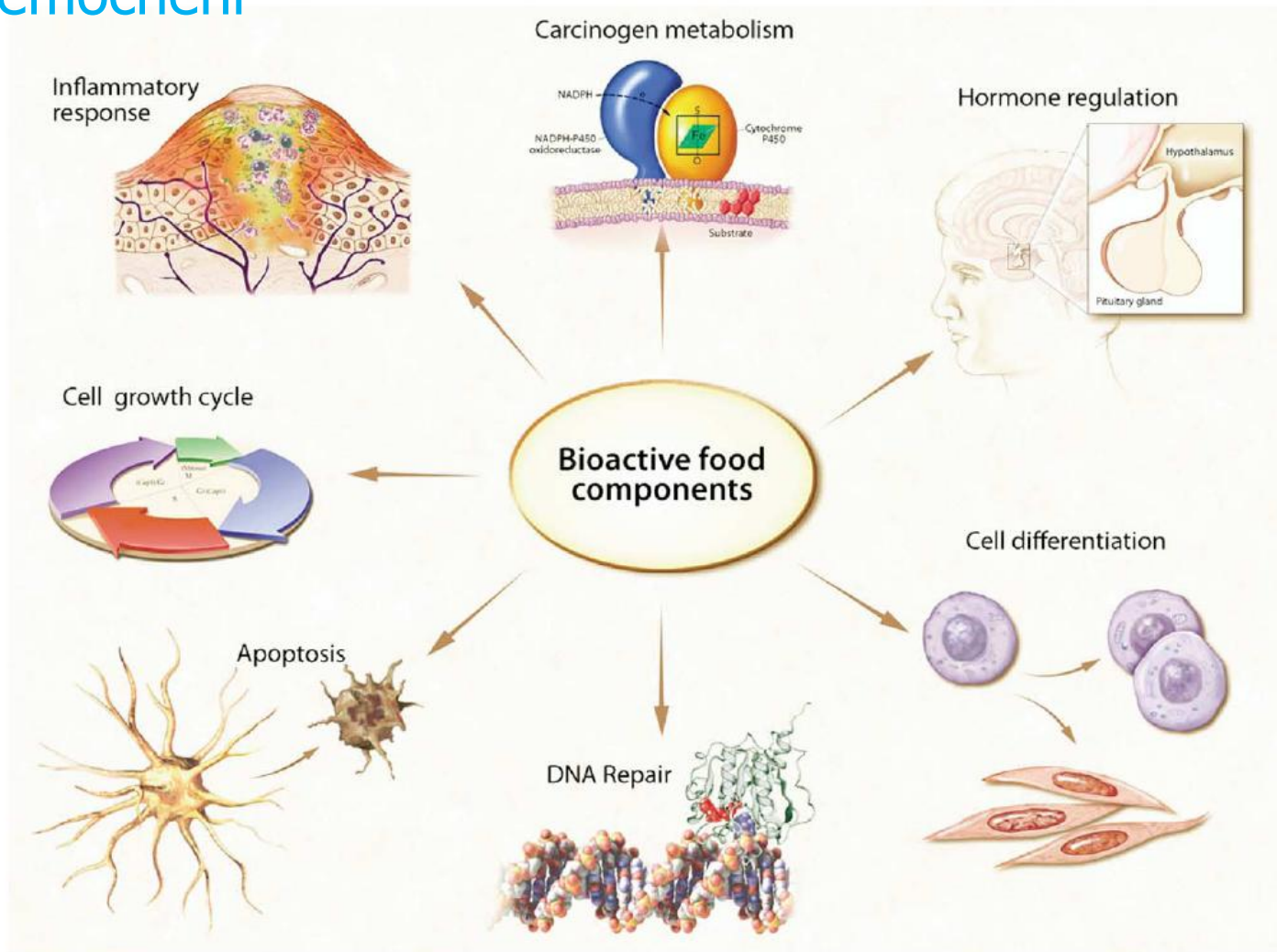


Figure 3. Bioactive food components can influence genetic and epigenetic events associated with a host of disease processes.

# Indukce apoptózy složkami diety

**Table I.** Dietary agents shown to induce apoptosis of cancer cells *in vitro* or during chemopreventive intervention

Dietary agent	Major dietary source	Target/mechanism	References
EGCG	Green tea	Activation of Fas	(16)
		Enhancement of TRAIL-induced apoptosis	(20)
		Activation of caspases	(34)
		Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria, inhibition of Bcl-2	(34, 35, 38)
Curcumin	Turmeric	Reduction in tumor growth and increase in apoptotic markers in mice	(34)
		TRAIL-induced apoptosis, activation of caspases	(18)
		Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria	(36)
Genistein	Soybean	Increase in the number of apoptotic tumor cells in mice	(61)
		Degradation of c-FLIP	(24)
		Induced MMP change, caspase-3 activation and PARP cleavage	(29)
Indole-3-carbinol	Cruciferous vegetables	Downregulation of Bcl-2 and Bcl-XL expression, activation of caspase-3	(40)
		Downregulation of survivin, IAP1, IAP2, X chromosome-linked IAP and FLIP	(23, 25)
Resveratrol	Grape, red wine	TNF receptor-associated factor 1 and c-FLIP	(55)
		Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria, activation of caspases, induction of p53-dependent transcriptional activation	(15)
Isothiocyanates	Cruciferous vegetables	Sensitizes TRAIL-induced apoptosis	(19)
		Decrease in survivin, increase in Smac/DIABLO	(63)
		Activation of caspases	(39)
Luteolin	Celery, green pepper and peppermint	Activation of p53 activity, induction of apoptosis in lung tissues, effect on AP-1 and p53	(52)
		Sensitizes TRAIL-induced apoptosis	(21)
Lycopene	Tomato	Induction of TRAIL, along with Bid cleavage and the activation of caspases	(22)
		Decrease in the expression of surviving	(56)
Anthocyanins	Pomegranate	Release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria	(33)
		Effect on p53, activation of caspases, decrease in PCNA, increase in Bax	(54)
Delphinidin	Pigmented fruits and vegetables such as strawberry and pomegranate	Bcl-XL downregulation, mitochondrial release of cytochrome <i>c</i> , activation of caspases	(37)
		Shift in the ratio of Bax to Bcl-2	(43)
Lupeol	Mango, olive and grape	PARP cleavage, nuclear condensation and fragmentation, induced MMP change	(31)
		Activation of caspases, increase in Bax, decrease in Bcl-2, upregulation of Bid, Bak, downregulation of Bcl-xL, inhibition of UVB-mediated apoptosis in mice	(48)
Caffeic acid phenethyl ester	Honey	Increase in the expression of Fas receptor and FADD, activation of caspases	(14)
		Fas activation, induction of p53, Bax and activation of caspases	(17, 68)
Apigenin	Parsley, celery and lettuce	Activation of caspases and PKCdelta	(41, 64)
Silymarin	Milk thistle	Activation of caspases and PARP cleavage	(42)
		Decrease in the apoptotic sunburn cells, increase in p53, p21	(67)
Gingerol	Ginger	Induced MMP change, release of cytochrome <i>c</i> from mitochondria, downregulation of Bcl-2 and enhancement of Bax	(47)
Capsaicin	Red pepper	Dissipation of the mitochondrial inner transmembrane potential, activation of caspase-3, induced apoptosis of prostate tumor cells in nude mice	(30)
		Increase in protein expression of p53, p21 and Bax	(46)
Organosulfur compounds	Garlic and onion	Induction of p53, Bax and downregulation of Bcl-2, cytochrome <i>c</i> release, activation of caspases	(49)

This list provides selected examples.

# Apoptóza indukovaná dietetickými faktory indukce signálních drah

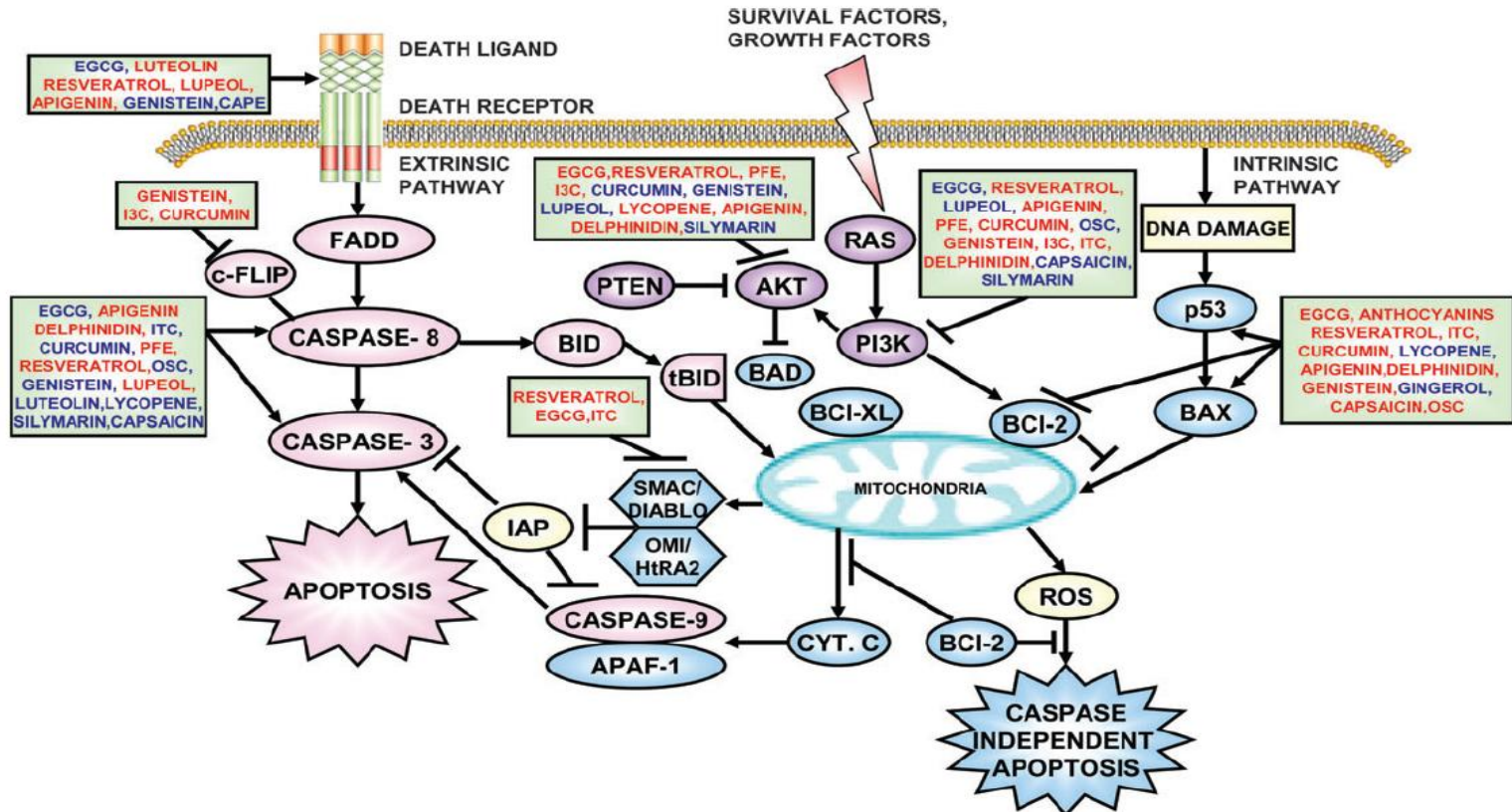


Fig. 1. Induction of apoptosis by dietary chemopreventive agents. The extrinsic pathway is initiated by ligation of transmembrane death receptors (CD95, TNF receptor and TRAIL receptor) to activate membrane-proximal (activator) caspase-8 via the adaptor molecule FADD. This in turn cleaves and activates effector caspase-3. Dietary agents block the death receptor and also target the caspases blocking the caspase cascade. This pathway can be regulated by c-FLIP, which inhibits upstream activator caspases and IAPs, that affects both activator and effector caspases. The intrinsic pathway requires disruption of the mitochondrial membrane and the release of mitochondrial proteins into the cytoplasm. Stress signals elicited by the dietary chemopreventive compounds regulate the proapoptotic proteins and antiapoptotic proteins, leading to the release of cytochrome *c* from the mitochondrial inner membrane. Cytochrome *c* forms an apoptosome with Apaf-1 and caspase-9, thereby initiating the apoptotic caspase cascade, whereas Smac/DIABLO and high-temperature requirement protein-A2 bind to and antagonize IAPs. The activated caspases catalyze the dissolution of intracellular structure that leads to apoptotic cell death. The Bcl-2 family proteins regulate apoptosis as they form complexes that enter the mitochondrial membrane, regulating the release of cytochrome *c* and other proteins. The activation of the caspase cascade occurs by the TNF family receptor and it also causes activation of Bid that activates mitochondria-mediated apoptosis. Bax is activated and releases cytochrome *c* and other mitochondrial proteins. Dietary agents can also block growth factor-mediated antiapoptotic signals through the direct inhibition of the binding of growth factors to the receptor or inhibition of the downstream phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt pathway. Blue color of dietary chemopreventive agents denotes that both the *in vivo* and *in vitro* effects have been demonstrated and red color denotes that only *in vitro* effects have been demonstrated.

**Genomics + proteomics = cytomics**

**Metabolomics**

**Transcriptomics**

**Nutrigenomics**

**Pharmacogenomics**

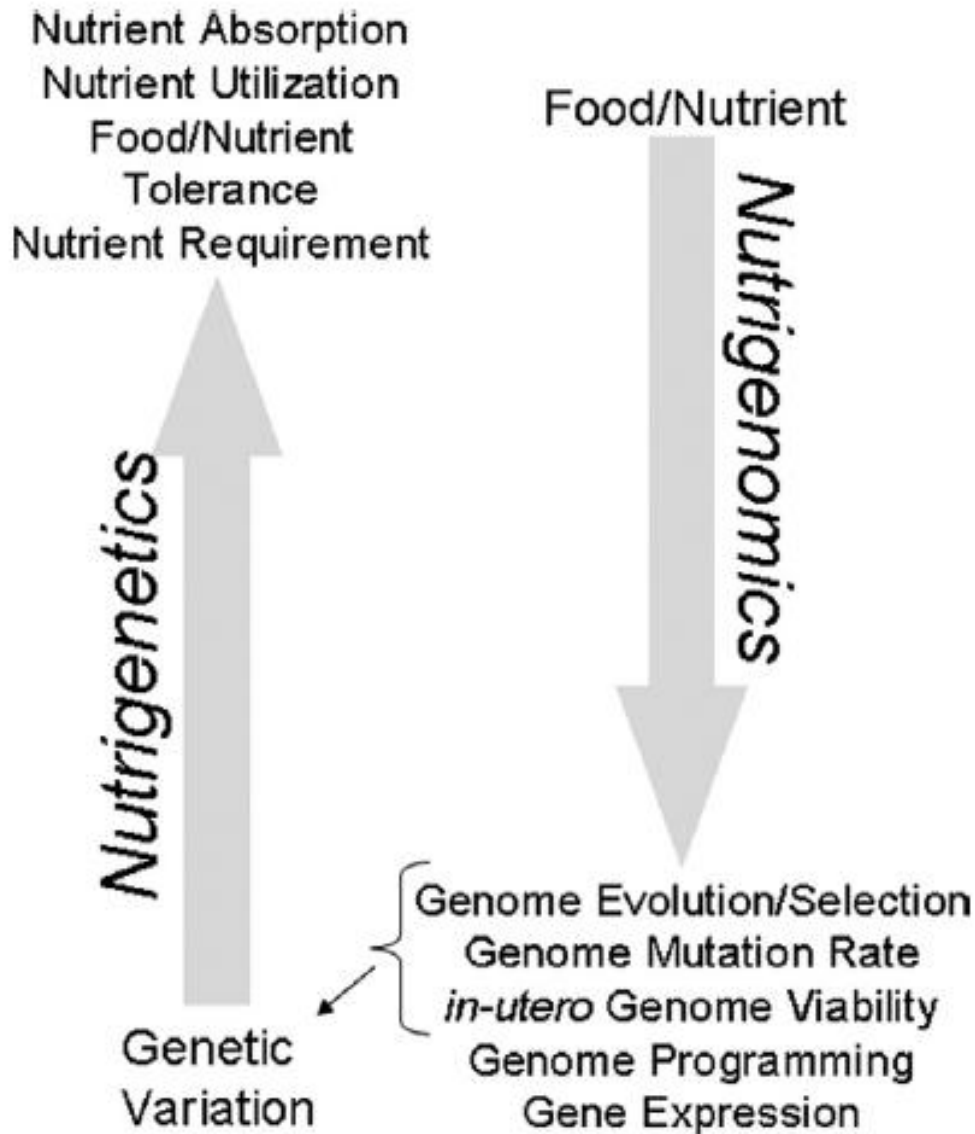
**Lipidomics**

**„OMICS“**

vědecké směry od mapování  
vnitřního spektra lipidů  
v biologických systémech k popisu  
funkce a metabolismu jednotlivých  
lipidů.



# Interakce živin a genomu



## Nutrigenetika

vliv genetických variant na požadavek, utilizaci, toleranci a metabolismus živin

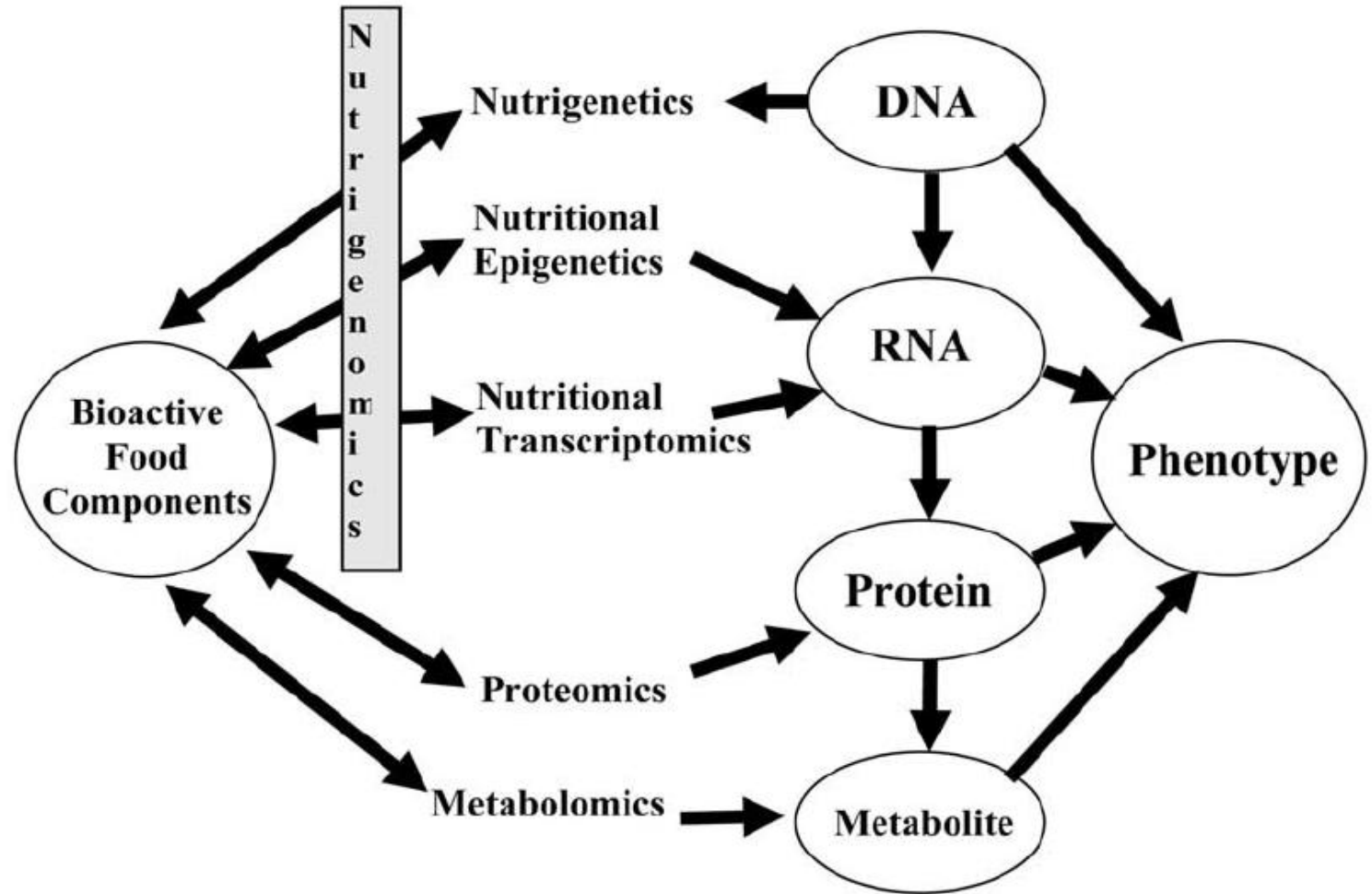
vs.

## Nutrigenomika

modulační úloha živin na evoluci genomu, frekvenci mutací, *in-utero* viabilitu

Nutrigenomika zpětně ovlivňuje genetické variace pozorované v různých lidských populacích

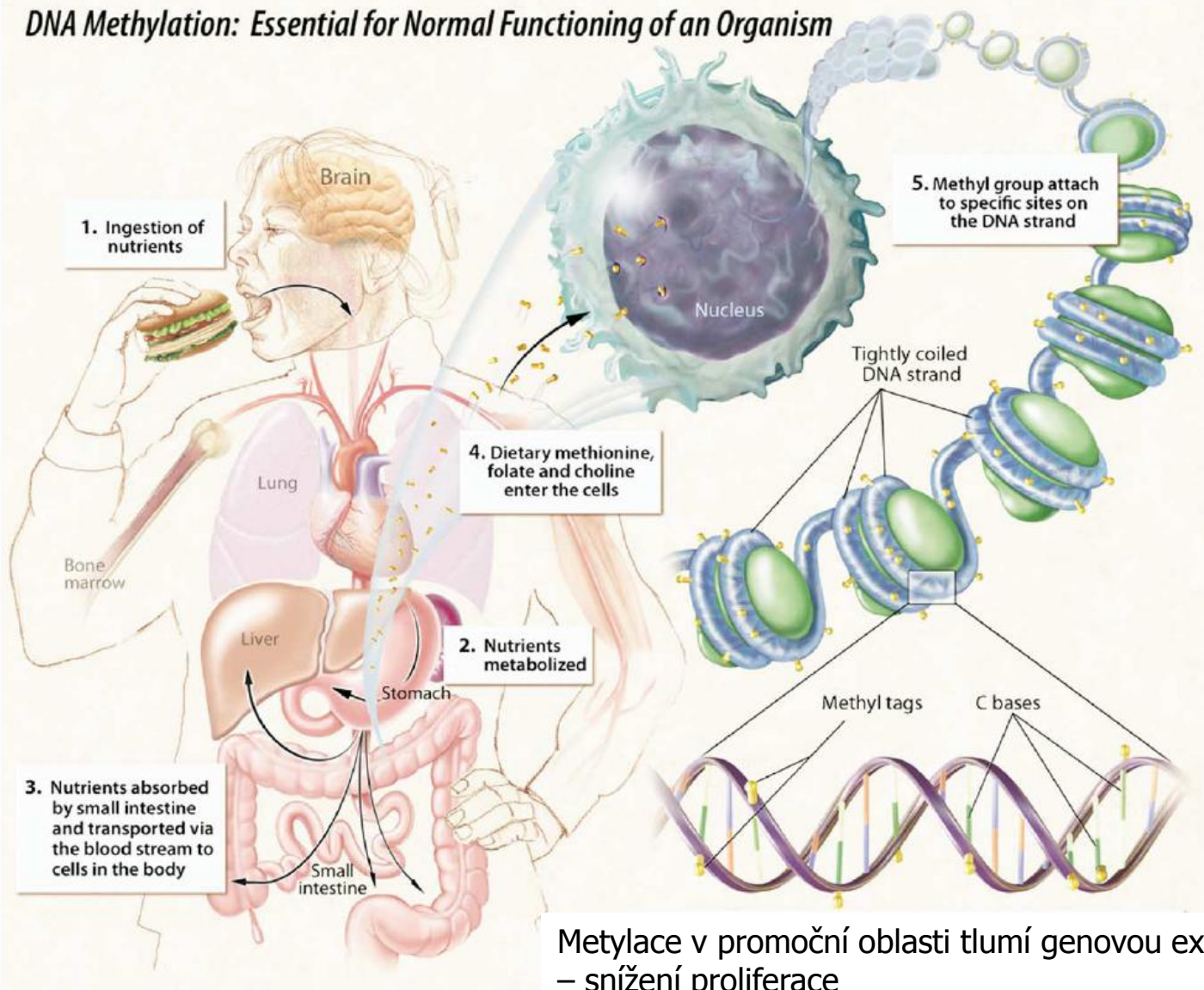
# OMICS, farmakogenomika, nutrigenomika



Using the “omics” of nutrition to identify how dietary factors contribute to establishing a phenotype.

# Ovlivnění metylace DNA složkami diety (methionin, folát, cholin)

*DNA Methylation: Essential for Normal Functioning of an Organism*



Metylace v promoční oblasti tlumí genovou expresi  
– snížení proliferace

# Rozvoj nádorového onemocnění kolonu (od benigní neoplasie do invazivního maligního stádia) trvá řadu let

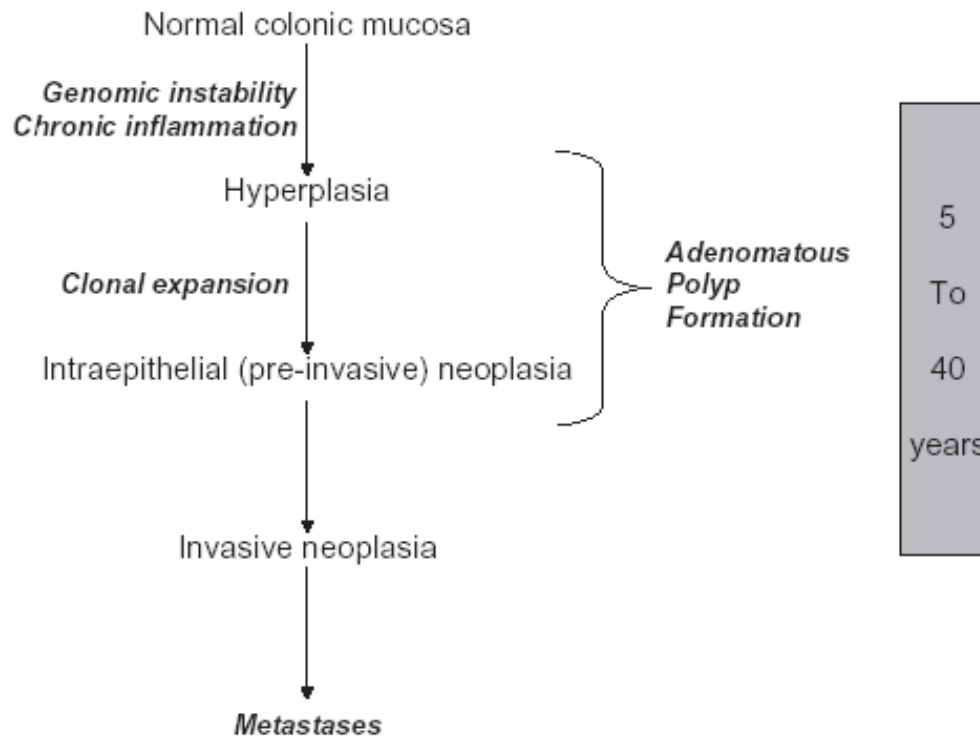
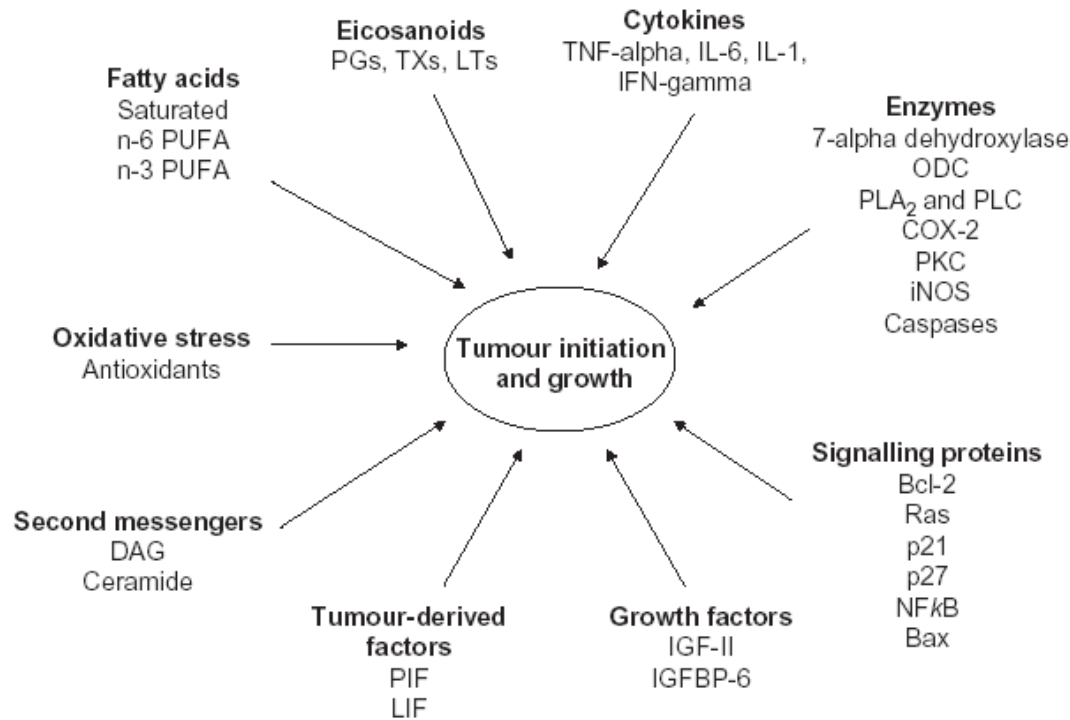


Figure 1 Simplified view of the initiation and progression of colon cancer.

# Faktory ovlivňující vzniku a rozvoj nádorů kolonu



**Figure 3** Involvement of various factors in colon cancer. TNF, tumour necrosis factor; IL, interleukin; IFN, interferon; PG, prostaglandin; LT, leukotriene; TX, thromboxane; ODC, ornithine decarboxylase; PL, phospholipase; PKC, protein kinase C; COX-2, inducible cyclooxygenase; iNOS, inducible nitric oxide synthase; IGF, insulin growth factor; IGFBP, insulin growth factor binding protein; PIF, proteolysis inducing factor; LIF, lipolysis inducing factor; DAG, diacylglycerol; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

# Lipidové složky výživy – vysoce nenasycené mastné kyseliny (VNMK)

Imbalance v lipidovém metabolismu hraje roli u mnoha závažných onemocnění

- Vysoká hladina cholesterolu je spojena s **kardiovaskulárními chorobami**, které jsou nejčastější příčinou úmrtí v populaci.
- Lipidy produkované buňkami imunitního systému jsou zahrnuty v **zánětlivých onemocněních** jako je revmatoidní artritida, sepse, astma, zánětlivé onemocnění střeva.
- Změny lipidů hrají úlohu také v **neurodegenerativních a psychických onemocněních** (Alzheimerova choroba, deprese, hyperaktivita, schizofrenie apod.)
- Lipidy a jejich metabolismus se uplatňují též při vzniku a rozvoji **nádorových onemocněních**.

**Zdraví - výživa – lipidy**

# Relativní procento různých mastných kyselin v potravě a změny v průběhu vývoje lidské populace od lovců sběračů, zemědělskou společnost a společnost po průmyslové revoluci

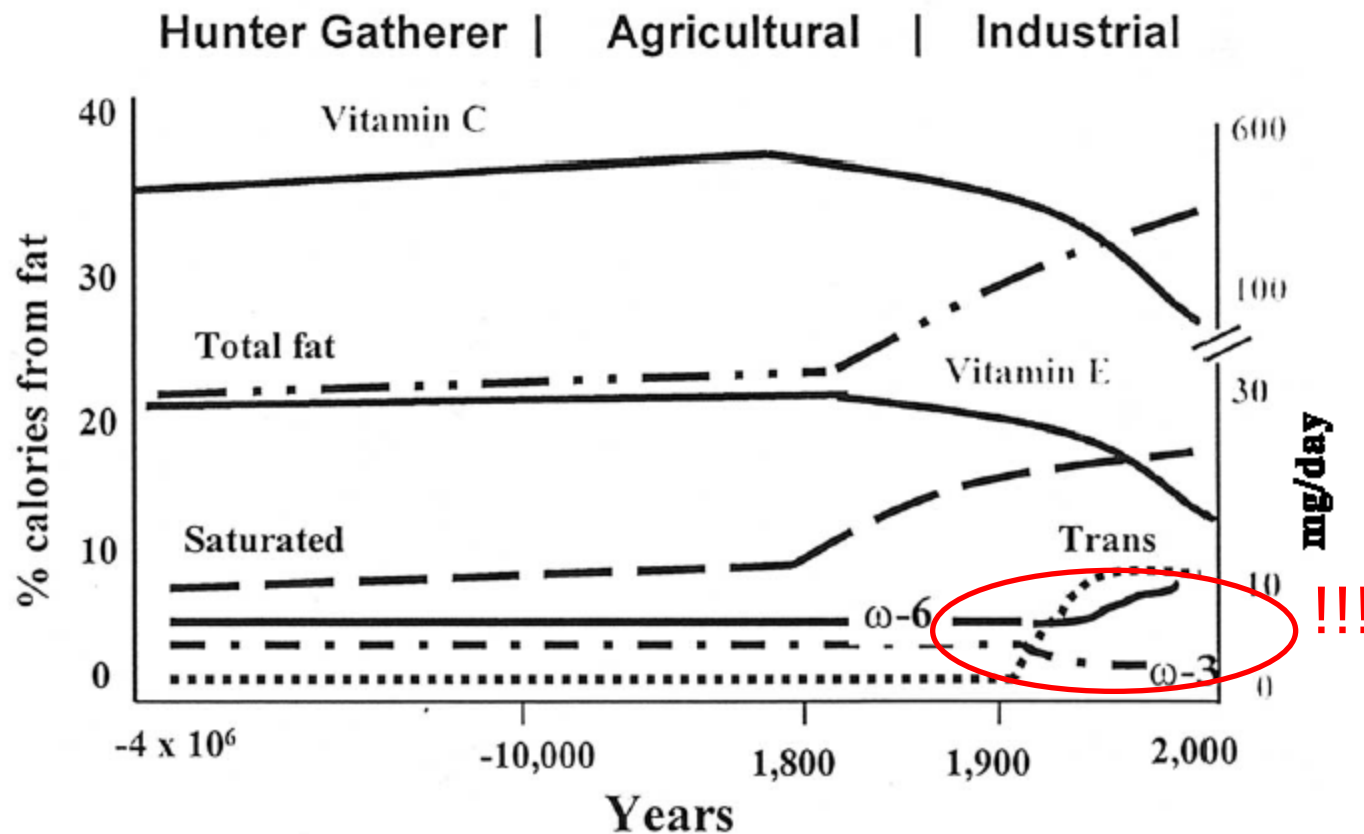


Fig. 1. Hypothetical scheme of fat, fatty acid ( $\omega 6$ ,  $\omega 3$ , *trans* and total) intake (as percentage of calories from fat) and intake of vitamins E and C (mg/d). Data were extrapolated from cross-sectional analyses of contemporary hunter-gatherer populations and from longitudinal observations and their putative changes during the preceding 100 years [75].

# Různá biologická úloha lipidů

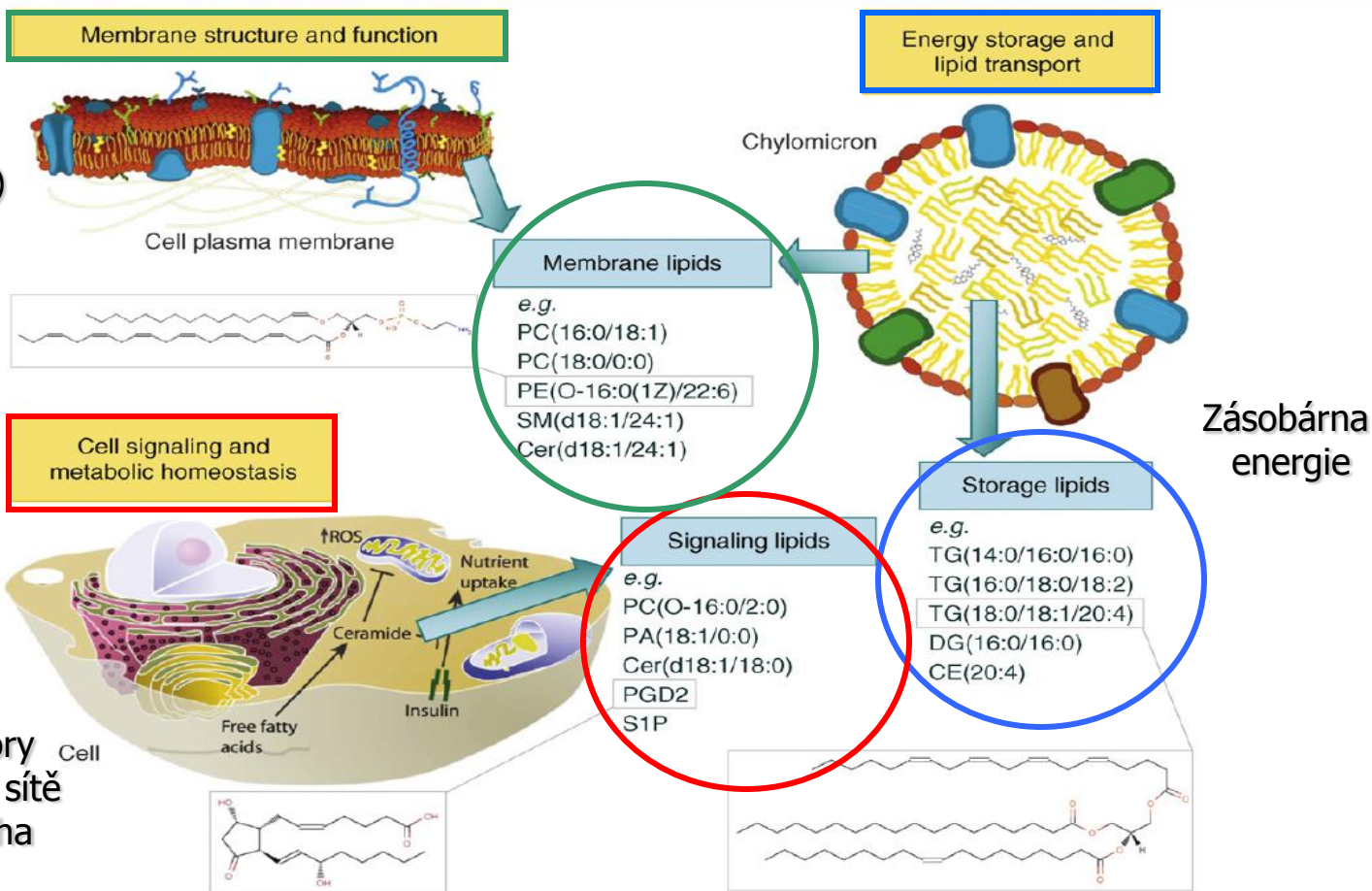
**TUKY (lipidy) NEJSOU POUZE ZDROJ ENERGIE !!!**

**Strukturální a regulační úloha s významným dopadem na fyziologické funkce organismu**  
**Úloha v patofyziologii - nádory**

Aktivita proteinů  
(přenašečů, receptorů)

**ODPOVĚĎ a  
CHOVÁNÍ BUNĚK**

Mediátory a modulátory  
vnitrobun. signalizační sítě  
Metabolická rovnováha



TRENDS in Biotechnology



# Lipidy

## Více, nežli jen zdroj energie!!!!

- strukturální a regulační úloha
- dopad na fyziologické funkce organismu
- účinky na imunitní systém
- regulace proliferace, diferenciaci a apoptózy

## úloha v karcinogenezi

(etiologie nádorů tlustého střeva, prostaty, prsu)

# Zdroje tuků

živočišné a rostlinné

## Mastné kyseliny

*s krátkým řetězcem – 6-12 C (SCFA)*

- kys. máselná
- kys. propionová

*nasyčené – 12 a více C*

- kys. palmitová
- kys. stearová

*mononenasyčené – 16 a 18 C, 1 dvojná vazba*

- kys. palmitoolejová
- kys. olejová

*polynenasycené (PUFA) – 18 a více C, 2 a více dvojných vazeb*

- kys. linoleová
- kys. alfa-linolenová – **esenciální MK**

## Vysoce nenasycené mastné kyseliny

(Polyunsaturated fatty acids - PUFAs) - mastné kyseliny s 2 i více dvojnými vazbami.

Tři hlavní skupiny PUFAs:

n-3 (omega-3), n-6 a n-9, podle polohy dvojných vazby nejbližší ke koncovému metylovanému uhlíku.

Tyto jsou metabolizovány stejným způsobem alternativními **desaturačními a elongačními enzymy**.

### Nomenklatura:

Např. kyselina arachidonová - **20:4, n-6**

**20** - počet uhlíků

**4** - počet konjugovaných dvojných vazeb

**n-6** - poloha první dvojných vazby od metylovaného konce molekuly

Téměř všechny dvojných vazby jsou ve víceméně stabilní cis - konfiguraci.

Živočichové nedovedou syntetizovat n-3 a n-6 PUFAs de novo ani nedovedou přeměnit jednu sérii v druhou.

Tyto **esenciální mastné kyseliny** musí být obsaženy v potravě podobně jako vitamíny. Jsou životně důležité jako složka všech membrán a permeabilní bariéry pokožky a jako prekursory eikosanoidů a s nimi souvisejících látek, které hrají důležitou regulační úlohu ve tkáních.

Zdrojem jsou **rostlinné oleje (n-6 PUFA) a rybí olej (n-3 PUFA)**

Tuky z potravy ovlivňují počátek a rozvoj řady onemocnění včetně nádorových. Existují v zásadě dvě úrovně ovlivnění:

- změny složení mastných kyselin (MK) v buněčných membránách
- přímá kontrola procesů v jádře na úrovni transkripce genů

**n-3 a n-6 PUFA jsou metabolicky i funkčně odlišné.** Jejich rovnováha je důležitá pro homeostázu a normální vývoj. Efekty jsou pleiotropní.

Zatímco **proteiny jsou geneticky determinovány**, složení buněčné membrány s ohledem na lipidy (a tím i řada buněčných funkcí jako je aktivita membránových enzymů a přenašečů, vazba hormonů, mechanismy signálové transdukce) je z velké části **závislé na příjmu z potravy**.

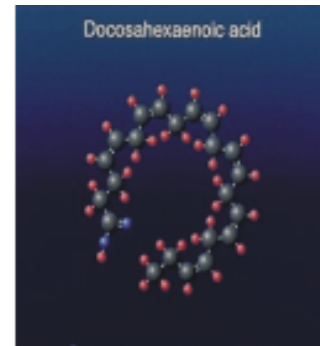
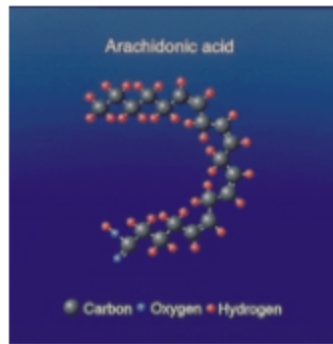
**n-3 a n-6 PUFA mohou účinně a přímo řídit transkripci specifických genů** (např. geny kódující lipogenní proteiny, delta desaturázy atd.).

Tak může příznivý a nepříznivý účinek tuků na různé choroby zahrnovat kombinaci interaktivních regulačních mechanismů:

- **akutní, rychlá a přímá regulace exprese genů**
- **dlouhodobá adaptivní modulace složení membrán, která může přímo ovlivnit příjem a přenos signálů hormonů, cytokinů, produkci eikosanoidů apod.**

**Během průmyslové revoluce se drasticky poměr n-6:n-3 PUFA.**

V tzv. západní dietě je dnes místo 1:1 až 10-25:1.



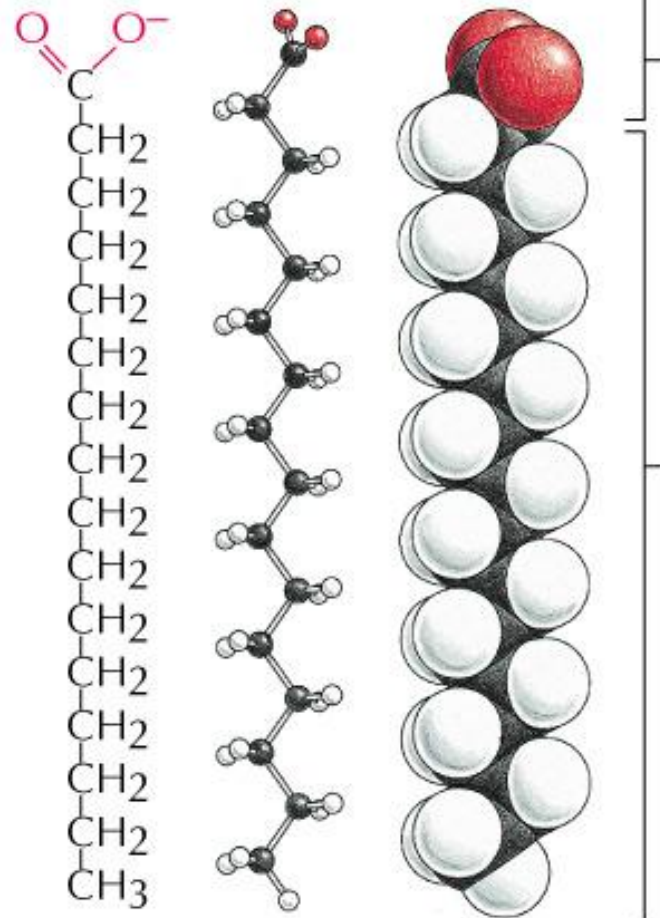
Lipidové složky fungují spolu s cytokiny a hormony jako **intra- i intercelulární mediátory a modulátory buněčné signalizační sítě**

Poměr obsahu  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3 esenciálních vysoce nenasycených **mastných kyselin (VNMK)** ovlivňuje vlastnosti membrán, zejména jejich fluiditu a produkci látek vznikajících hydrolýzou membránových fosfolipidů.

Tyto změny pak ovlivňují **vazbu cytokinů, aktivitu receptorů i funkci na membránu vázaných signálních molekul (G proteinů, fosfolipáz atd.)**.

# Mastná kyselina

hydrophilic carboxylic acid head



hydrophobic hydrocarbon tail

(A)

(B)

(C)

Figure 2-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.





# Struktura fosfolipidů a jejich orientace v buněčné membráně

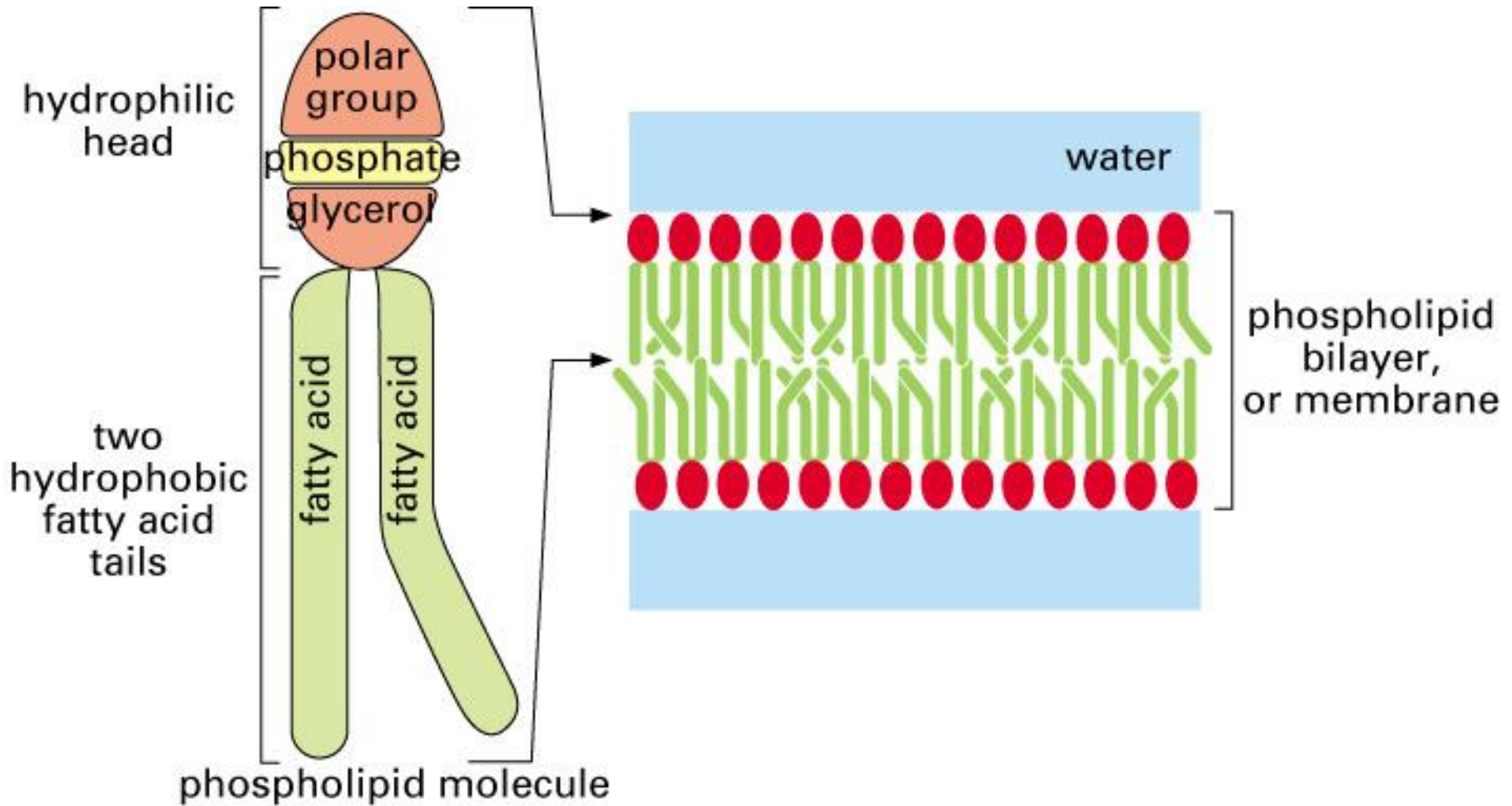


Figure 2–22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

## **Důležitý je poměr n-3: n-6 VNMK!!!**

### **Kys. linolová (18:2, $\omega$ -6)**

kyselina arachidonová (AA, 20:4), rostlinné oleje  
zdroj eikosanoidů (prostaglandiny, leukotrieny) význam u různých nádorů.

V experimentálních systémech často podpůrný účinek pro vznik a rozvoj nádorů

### **Kys. alfa-linolenová (18:3, $\omega$ -3)**

kys. eikosapentaenová (20:5) a dokosaheptaenová (22:6)

z rybích a některých rostl. olejů (pupalka, len, rakytník)

V experimentálních systémech často inhibiční účinek pro vznik a rozvoj nádorů

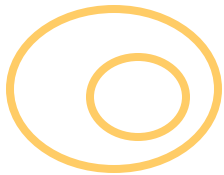


# DIETA

**INICIACE**

MUTAGENY  
RADIACE  
VIRUSY....

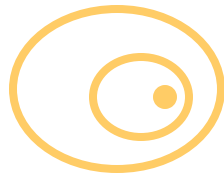
GENOTOXICITA



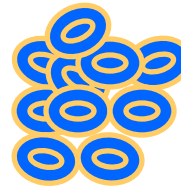
NORMÁLNÍ  
BUŇKA

**PROMOCE**

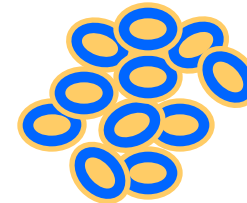
NEGENOTOXICKÉ  
KARCINOGENY



INICIOVANÁ  
BUŇKA



PRENEOPLASTICKÉ  
ZMĚNY



MALIGNÍ  
NÁDOR

**PROGRESE**

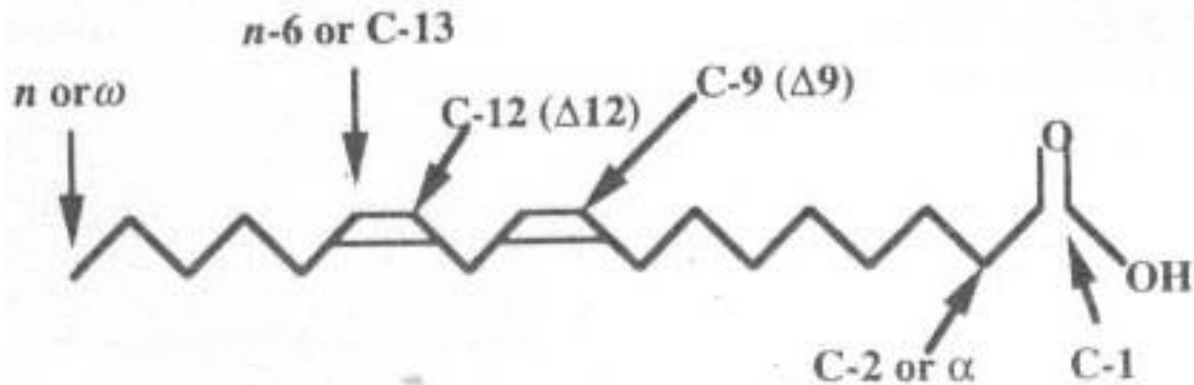
GENOTOXICKÉ  
+NEGENOTOXICKÉ  
FAKTORY

METASTÁZY

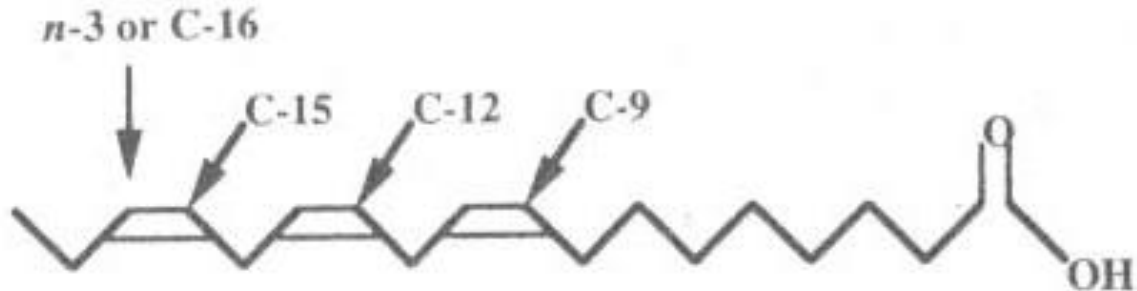
AKTIVACE PROTO-ONKOGENŮ  
INAKTIVACE NÁDOROVĚ SUPRESOR. GENŮ  
INAKTIVACE ANTIMETASTAT. GENŮ

**Mnohostupňový proces karcinogeneze**

# Struktura výchozích esenciálních mastných kyselin linoleové a $\alpha$ -linolenové



Linoleic Acid (18 carbons : 2 double bonds,  $n-6$ )



$\alpha$ -Linolenic Acid (18:3,  $n-3$ )

# ESENCIÁLNÍ VYSOCE NENASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY (VNMK)

dlouhé C řetězce a 2 i více dvojných vazeb

## Řada n-6 a n-3

v záp dietě až 20:1 (1:1)



rostl.oleje

18:2n-6

Linoleic acid

18:3n-3

$\alpha$ -linolenic acid



$\Delta 6$  desaturase

18:3n-6

Elongase

18:4n-3



20:3n-6

Dihomo- $\gamma$ -linolenic acid (DGLA)

20:4n-3

$\Delta 5$  desaturase



20:4n-6

Arachidonic acid (AA)

20:5n-3

Eicosapentaenoic acid (EPA)



Elongase

22:4n-6

Elongase,  
 $\Delta 6$  desaturase and  
peroxisomal  $\beta$ -oxidation

22:5n-3

rybí oleje  
plankton, řasy



22:5n-6

Docosapentaenoic acid (DPA)

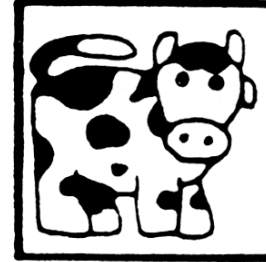
22:6n-3

Docosahexaenoic acid (DHA)

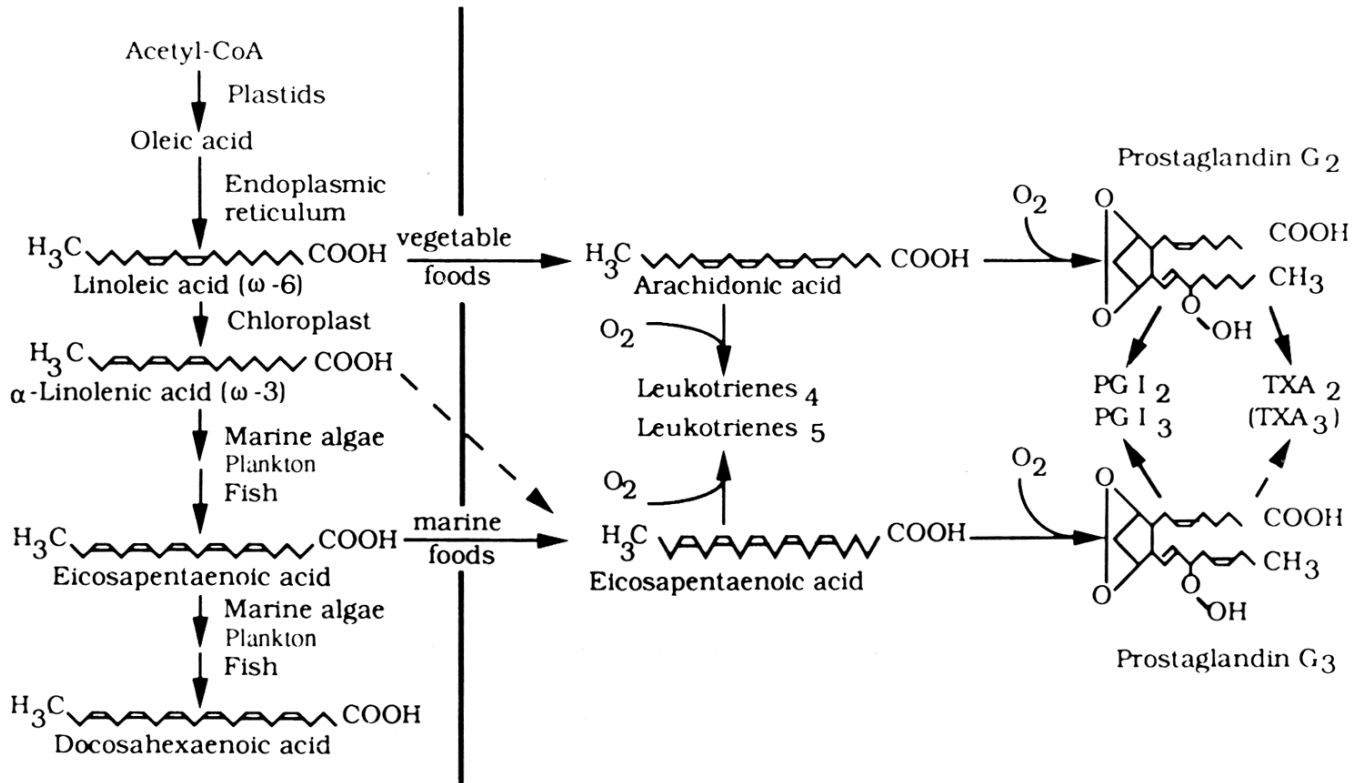
# Původ n-3 and n-6 nenasycených mastných kyselin, biosyntéza eikosanoidů z kys. arachidonové a ikosapentaenové



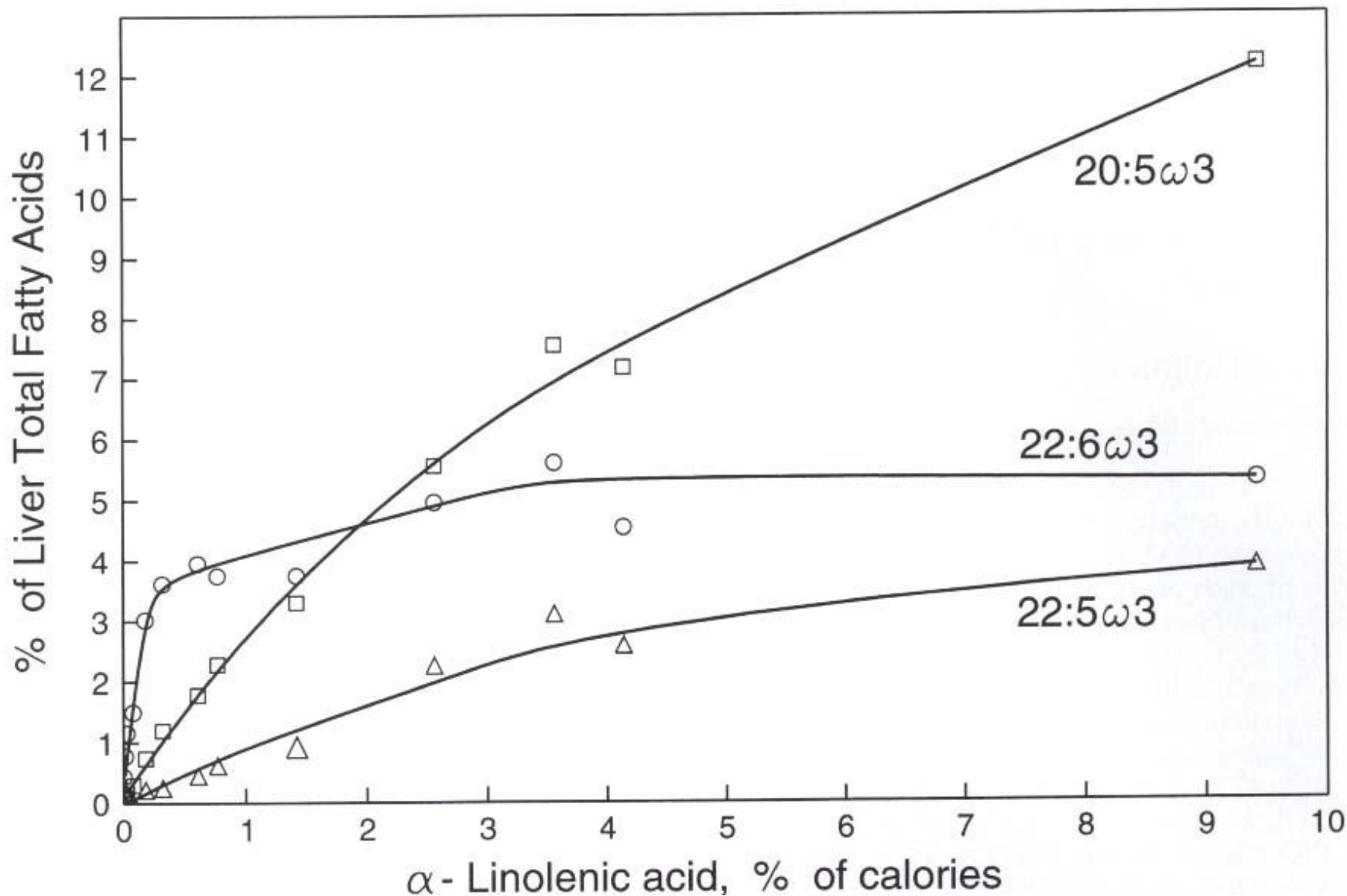
PLANT METABOLISM



MAMMALIAN METABOLISM



# Účinky dietetické hladiny alfa-linolenové kyseliny na obsah jejích metabolitů v jaterních lipidech



# VNMK a nádorová onemocnění

## Prevence

**Epidemiologické studie** – snížená incidence nádorů (kolonu) v populacích konzumujících velké množství  $\omega$ -3 VNMK z mořské stravy

## Experimentální studie

- $\omega$ -3 VNMK inhibují karcinogeny-indukovanou karcinogenezi
- redukují růst transplantovaných nádorů u laboratorních zvířat
- snižují proliferaci a indukují apoptózu u nádorových buněk kolonu *in vitro*.

**Klinické studie** – EPA a DHA inhibují proliferaci epiteliálních buněk kolonu u pacientů s adenomy a vysokým rizikem nádorového onemocnění

## Terapie

Při **chirurgických zákrocích** předoperační perorální nebo pooperační enterální či parenterální dieta s  $\omega$ -3 VNMK zlepšuje postoperační zánětlivou a imunitní odpověď a snižuje infekci.

Dieta s  $\omega$ -3 VNMK zlepšuje **nádorovou kachexii a kvalitu života**

**Kombinace se standartní terapií** (chemoterapie, záření)

- dieta s  $\omega$ -3 VNMK netoxický způsob zvýšení účinků terapie
- samotné použití  $\omega$ -3 VNMK užitečný přístup, jestliže je vyloučena toxická standartní terapie.



# Prokázány změny ve složení a metabolismu lipidů!!!!

- v plazmě nádorových pacientů
- v nádorové tkáni a buňkách ve srovnání s nenádorovými

Zejména snížení obsahu  $\omega$ -3 VNMK (DHA) ve srovnání s  $\omega$ -6 (kys. linolová a arachidonová)

Integrovaný pohled na komplexní lipidové interakce, které určují výsledný tzv. LIPIDOM – lipidový profil jednotlivce.

S protekcí určitých typů nádorů (např. prsu) spojen složený indikátor kombinující zvýšené mononenasycené MK a nízký poměr omega6/omega3. Tento lipidom by se mohl stát templátem pro detekci rizika nádorů prsu ve vztahu k dietě.

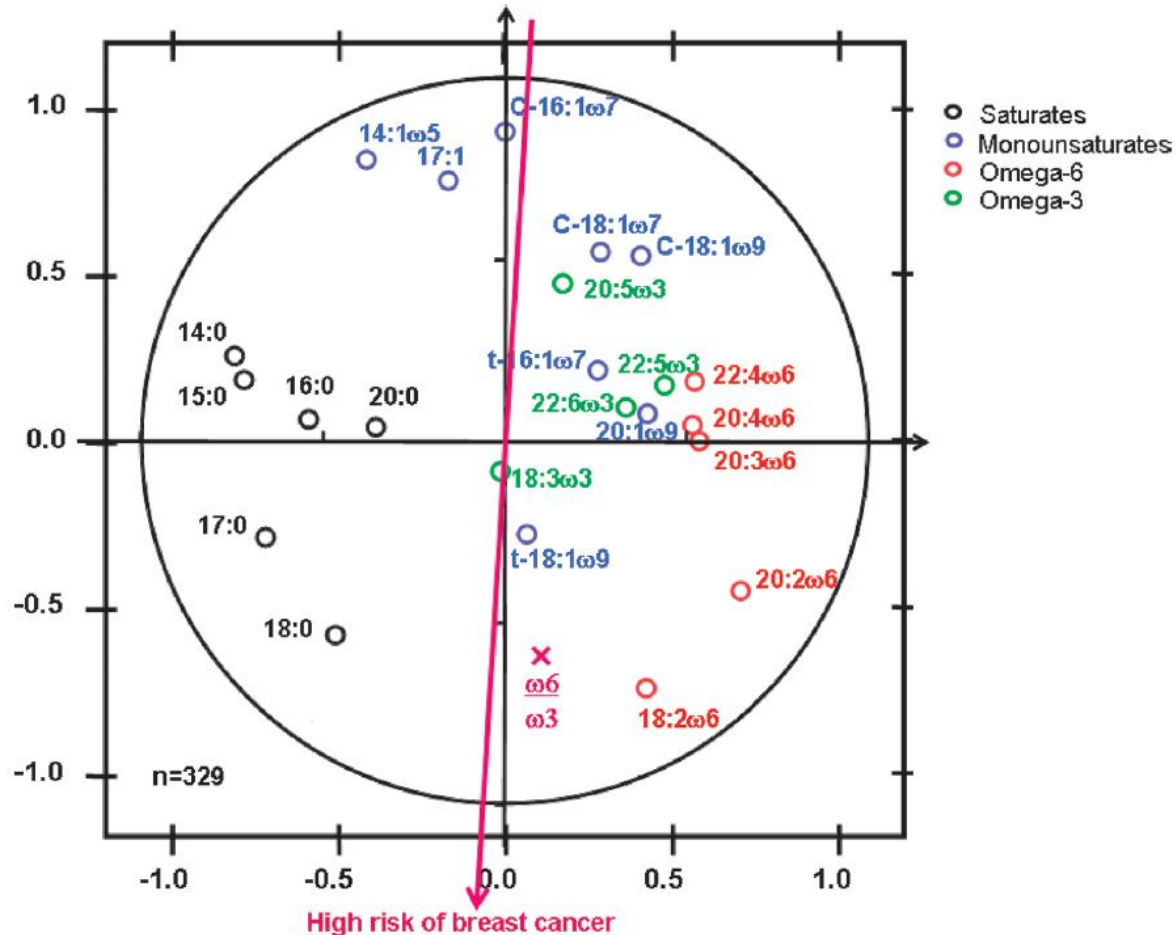
**Patologické změny v produkci a funkci cytokinů a eikosanoidů** přispívají k rozvoji nádorových onemocnění zejména ovlivněním imunitního systému a buněčné kinetiky

Metabolismus a obrat fosfolipidů v membránách i oxidativní metabolismus nádorových buněk se zásadně liší od buněk nenádorových.

**Nádorové buňky kolonu vykazují:**

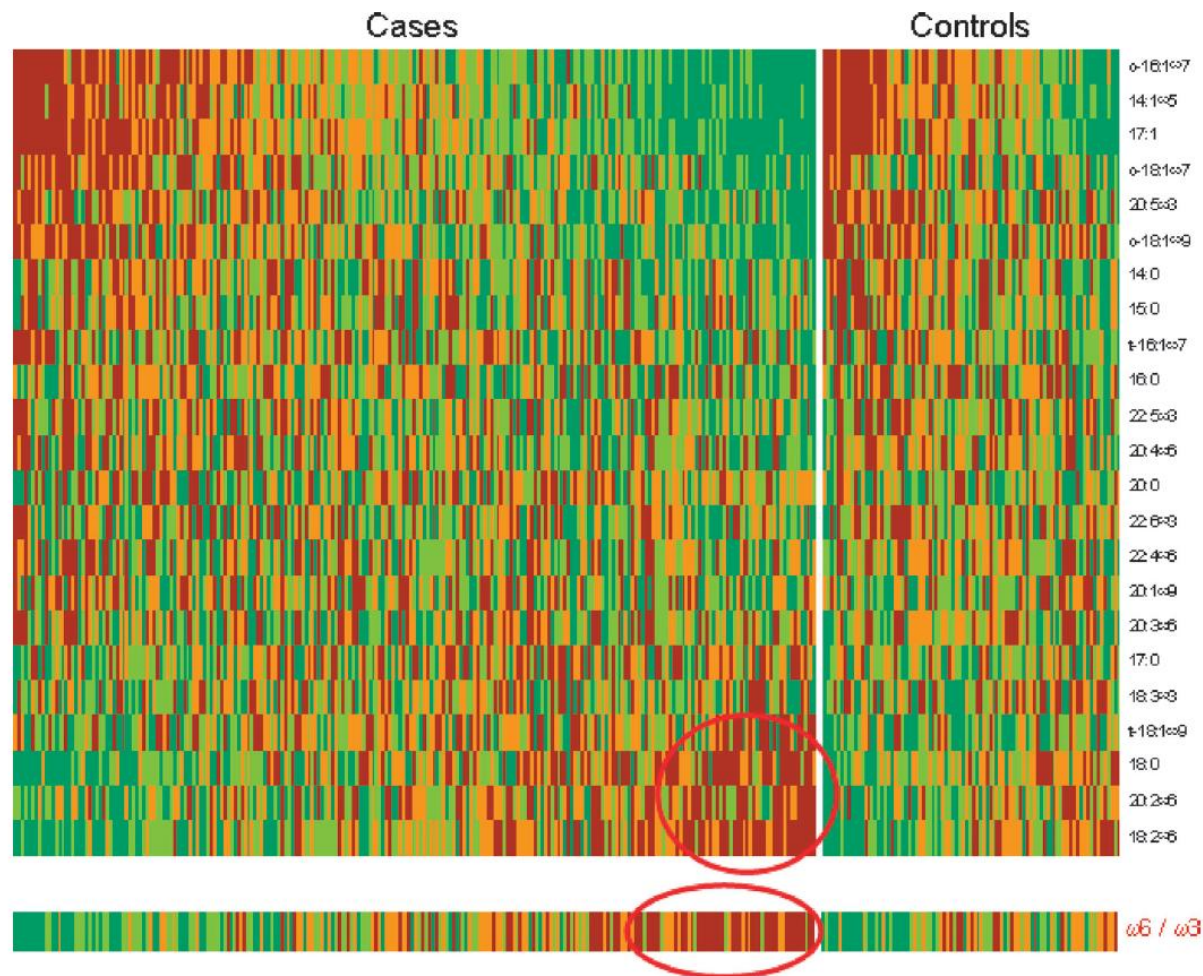
- změny ve spektru a koncentraci VNMK ve srovnání s normální
- tkánízvýšenou periferní utilizací VNMK z potravy změny v oxidativním metabolismu a antioxidační ochraně zvýšenou aktivitu
- enzymů metabolismu kys. arachidonové (COX2, 12-LPO...) a produkci eikosanoidů
- sníženou citlivost k endogenním inhibitorům růstu (TGF- $\beta$ 1), induktorům apoptózy (TNF $\alpha$ , FasL, TRAIL) a diferenciaci (butyrát)

# Analýza hlavních komponent (PCA) mastných kyselin v tukové tkáni ukazující zvýšené riziko nádoru prsu



**Figure 3.** Principal component analysis of adipose tissue fatty acids. In the scatter plot of the second principal component against the first principal component (in which the  $X$  axis represents the first principal component and the  $Y$  axis represents the second principal component), the coordinates of each fatty acid equals the coefficients of correlation between the fatty acid and the principal components. The unity correlation circle drawn defines the limits in which the fatty acids locate: the closer a fatty acid to this unity circle, the higher its contribution to the definition of the principal components. The  $\omega 6/\omega 3$  ratio is located as illustrative variables—i.e., it does not contribute to the definition of the principal components, but it is positioned in the scatter plot according to its correlation with the two principal components. *Red arrow*, increased risk of breast cancer, taking into account the OR associated with both the  $X$  and  $Y$  axis, adjusted for BMI, age, menopausal status, and height. The position of this arrow is almost superposed on the  $Y$  axis because the OR associated with the first component is close to 1, whereas the OR associated with the second principal component is 1.28 (95% CI, 1.11-1.49;  $P = 0.001$ ).

# Analýza (array) hladiny mastných kyselin u benigních a maligních nádorů prsu



**Figure 4.** Fatty acid level array in patients with benign (controls) or malignant (cases) breast tumors. Each lane represents a patient, sorted according to its position on the second principal component as shown in Fig. 3. Each line represents one fatty acid, according to its correlation with the second principal component. Fatty acid values are represented as different colors for each quartile, from green (low) to red (elevated). *Bottom*, the  $\omega 6 / \omega 3$  ratio of PUFAs.

# Změny spektra mastných kyselin v tukové tkáni krys po podávání alfa-linolenové a dokosahexaenové kyseliny

Diet, Cancer, and the Lipidome

**Table 1. Changes in rat WAT fatty acid composition induced by either  $\alpha$ -linolenic acid or DHA supplementation (16, 19)**

Fatty acids (mol%)	$\alpha$ -Linolenic acid		DHA	
	Control ( <i>n</i> = 12)	Supplemented ( <i>n</i> = 14)	Control ( <i>n</i> = 7)	Supplemented ( <i>n</i> = 6)
Saturates				
16:0	15.2	17.3	22.9	20.8
18:0	2.7	2.9	2.8	3.4
Total*	19.4	21.8	27	28.9
Monounsaturates				
<i>c</i> -18:1 $\omega$ 9	56.9	48.3 <sup>†</sup>	52.7	43.8 <sup>†</sup>
Total <sup>†</sup>	62.4	54.7 <sup>†</sup>	57.9	48.9 <sup>†</sup>
$\omega$ 6 PUFA				
18:2 $\omega$ 6	13.9	13.4	12.2	11.1
Total <sup>§</sup>	14.4	13.7	12.7	11.3
$\omega$ 3 PUFA				
18:3 $\omega$ 3	1.3	6.9 <sup>†</sup>	0.6	0.8 <sup>†</sup>
22:6 $\omega$ 3	0.1	0.1 <sup>†</sup>	0.1	8.2 <sup>†</sup>
Total <sup>  </sup>	1.4	7.0 <sup>†</sup>	0.7	9.3 <sup>†</sup>
Ratio				
$\omega$ 6/ $\omega$ 3	10.3	1.9 <sup>†</sup>	18.1	1.2 <sup>†</sup>

\*Including: 14:0, 15:0, 17:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, and 24:0.

<sup>†</sup>Within diet, significantly different from control values (*P* < 0.05).

<sup>‡</sup>Including: 14:1, 15:1, 16:1, 17:1, *c*-18:1 $\omega$ 7, and 20:1.

<sup>§</sup>Including: 18:3 $\omega$ 6, 20:2 $\omega$ 6, 20:3 $\omega$ 6, and 20:4 $\omega$ 6.

<sup>||</sup>Including: 20:3 $\omega$ 3, 20:5 $\omega$ 3, 22:5 $\omega$ 3, and 22:6 $\omega$ 3.

**WAT** – white adipose tissue

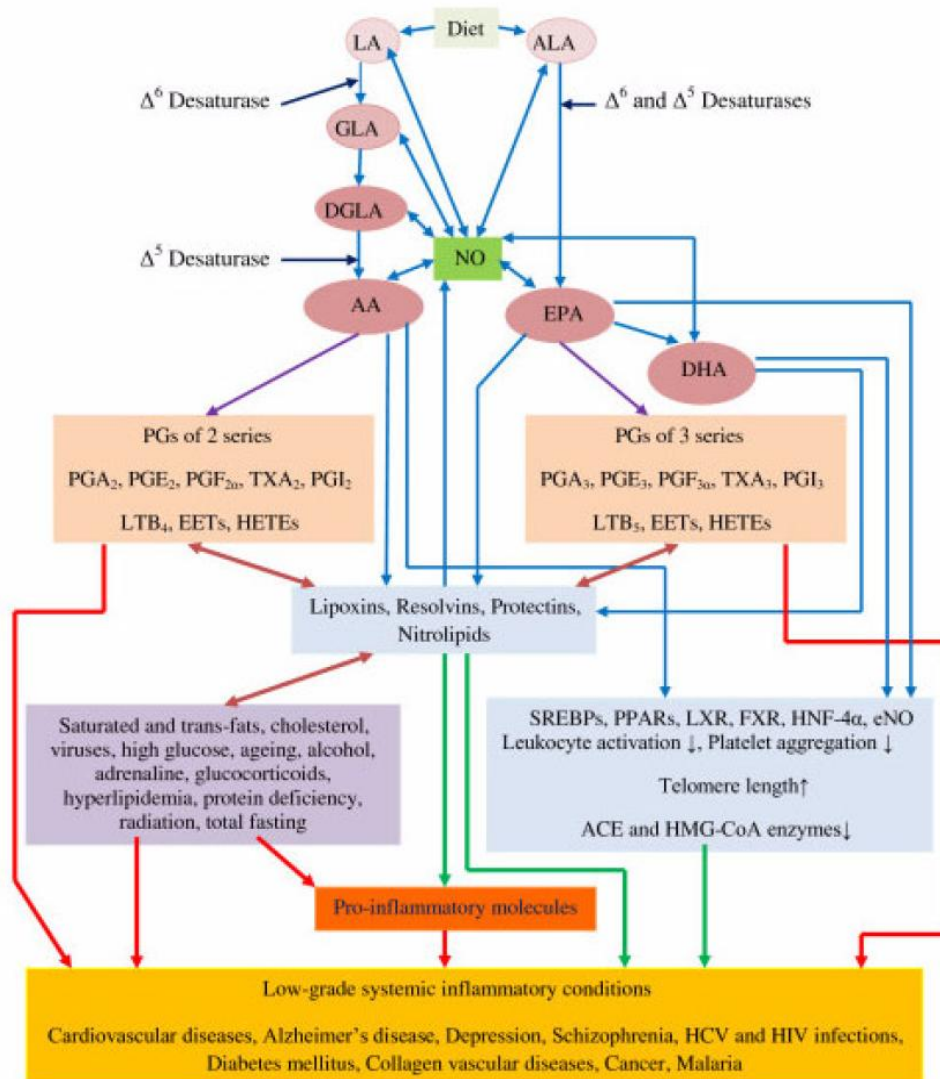
# Molekulární mechanismy působení VNMK

## Molekulární mechanismy působení $\omega$ -3 VNMK

- změny vlastností buněčných membrán (fluidita, lipidové rafty)
- suprese biosyntézy eikosanoidů odvozených od AA – změna imunitní odpovědi a modulace zánětu, proliferace, apoptózy, tvorby metastáz a angiogeneze
- ovlivnění signálové transdukce, aktivity transkripčních faktorů (NF $\kappa$ B, PPAR $\gamma$ ) a genové exprese – změny metabolismu, buněčného růstu a diferenciacce
- změny metabolismu estrogenů – redukce estrogeny stimulovaného růstu
- zvýšená nebo snížená produkce volných radikálů (kyslíku, dusíku)
- mechanismy zahrnující citlivost k insulinu



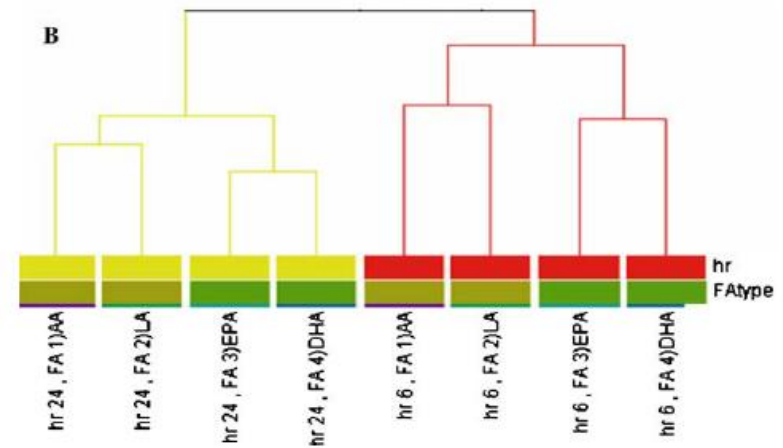
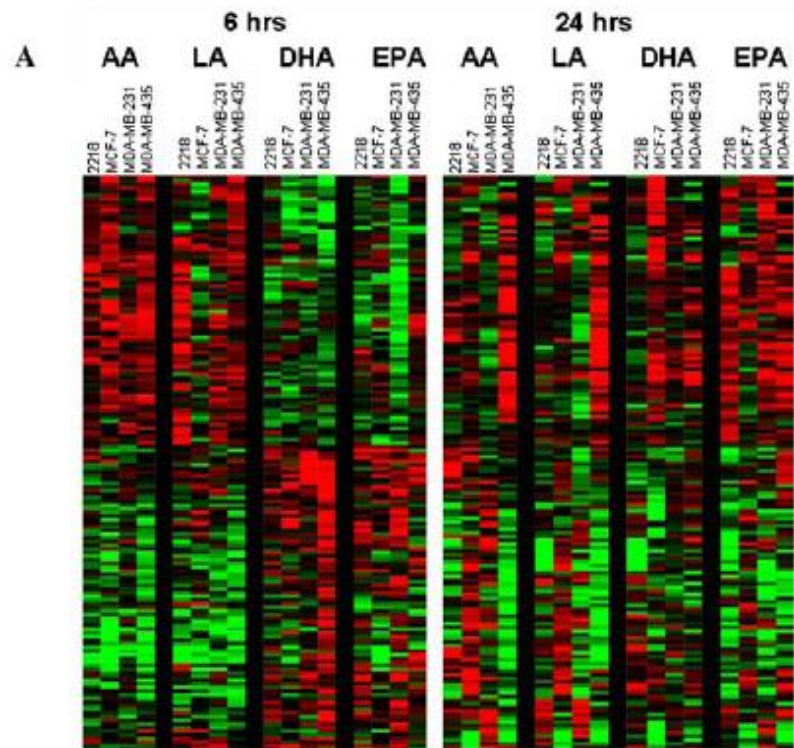
# Schéma metabolismu esenciálních VNMK a faktorů modulujících tvorbu a účinky jejich metabolitů



**Schéma showing metabolism of essential fatty acids and factors that modulate the formation of their metabolites and their actions.** Pro-inflammatory molecules include various PGs, LTs, TXs, and cytokines. For further details see text. NO = Endothelial Nitric oxide. Green line: Indicates prevention or suppression of disease and augmentation of healing process and inhibition of pro-inflammatory events or production of pro-inflammatory molecules. Red line: Indicates initiation or progression of disease, inflammatory process or augmentation of production of pro-inflammatory molecules. Double arrow: Indicates interaction between these molecules or feedback regulation. Eicosanoids formed from EPA are generally less inflammatory in nature compared to those formed from AA. Eicosanoids includes PGs, LTs, TXs, EETs, and HETEs.

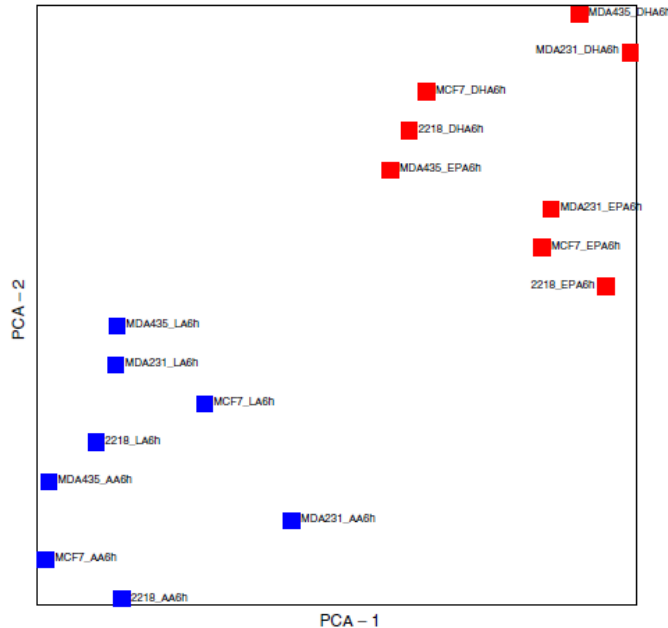


# Rozdílné účinky omega-3 a omega-6 VNMK na genovou expresi nádorových buněk prsu

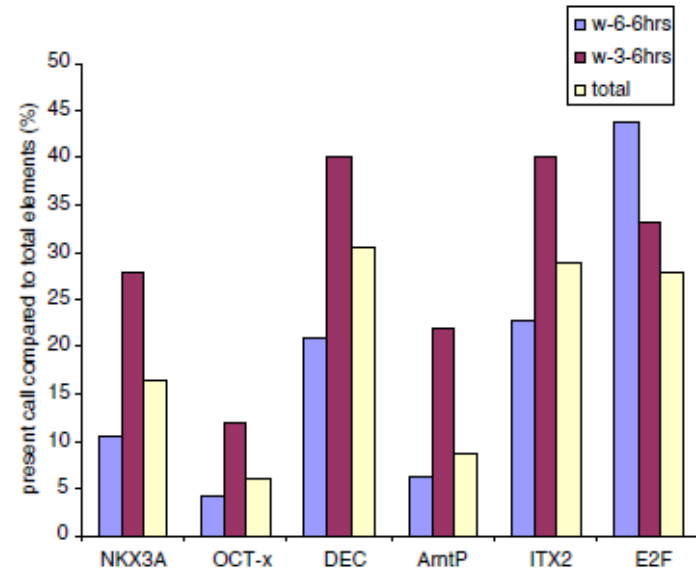


**Fig. 1** (A) Pseudo color cluster view of genes differentially expressed between omega-3 ( $\omega$ -3) and omega-6 ( $\omega$ -6) fatty acids. Cells were treated with the four fatty acids at 6 and 24 h. RNA was isolated and hybridized on the cDNA microarray slides as detailed in materials and methods. Images were analyzed using GenePix 4.0 and data were analyzed using GeneSpring 7.0. (B) Conditional tree-view of genes showing the most variation between the four pre-designed groups. This figure shows that the period of incubation with the fatty acids has an important effect on cell responses to the treatments. Red and yellow color branches are representative of the 6 and 24 h time points, respectively

# Klasifikace všech genů pomocí PCA a rozdílná aktivita některých transkripčních faktorů



**Fig. 2** Classifying genes as variable, principal component analysis (PCA) was carried out over the genome selected under the 6 h treatment. The separation between omega-3 ( $\omega$ -3) and omega-6 ( $\omega$ -6) EFA treated samples is clearly evident in both time domains



**Fig. 3** Activities of some of the transcription factors that were differentially regulated between omega-3 ( $\omega$ -3) and omega-6 ( $\omega$ -6) fatty acids in breast cancer cell. Cells were treated with the four fatty acids at 6 and 24 h. RNA was isolated and hybridized on the cDNA microarray slides as detailed in materials and methods. Images were analyzed using GenePix 4.0 and data were analyzed using GeneSpring 7.0. Data were then analyzed using FATIGO<sup>+</sup> to identify transcription factors regulated by treatments. We calculated the percentage of TF found in the list of genes up regulated by either group ( $\omega$ -3 or  $\omega$ -6) and compared it to the percentage of TF found in the total gene list of the cDNA array

# Microarray analýza lidské nádorové buněčné slinie kolonu CaCo-2 po působení DHA (48h)

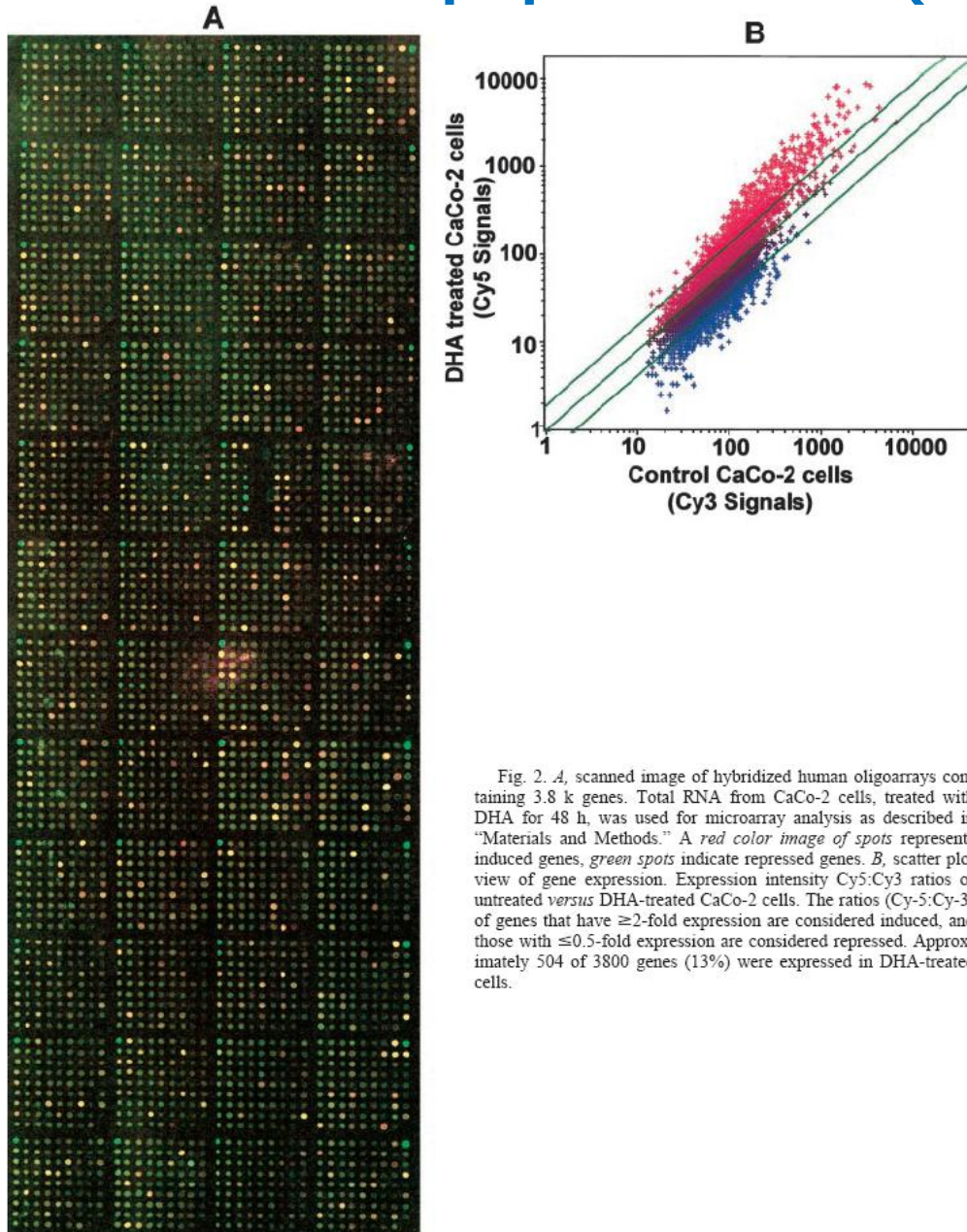


Fig. 2. *A*, scanned image of hybridized human oligoarrays containing 3.8 k genes. Total RNA from CaCo-2 cells, treated with DHA for 48 h, was used for microarray analysis as described in "Materials and Methods." A red color image of spots represents induced genes, green spots indicate repressed genes. *B*, scatter plot view of gene expression. Expression intensity Cy5: Cy3 ratios of untreated versus DHA-treated CaCo-2 cells. The ratios (Cy-5: Cy-3) of genes that have  $\geq 2$ -fold expression are considered induced, and those with  $\leq 0.5$ -fold expression are considered repressed. Approximately 504 of 3800 genes (13%) were expressed in DHA-treated cells.

Indukované geny  
Reprimované geny

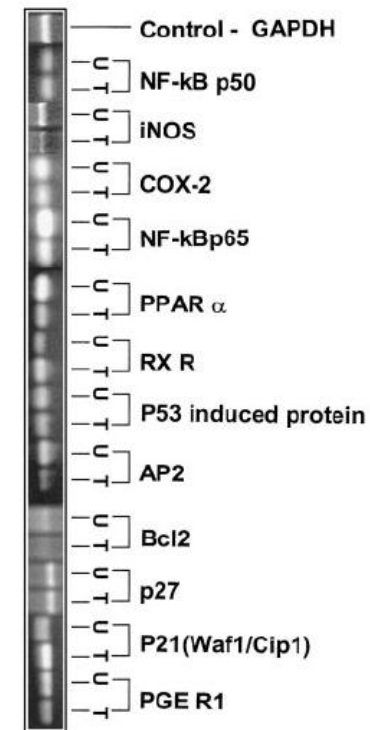
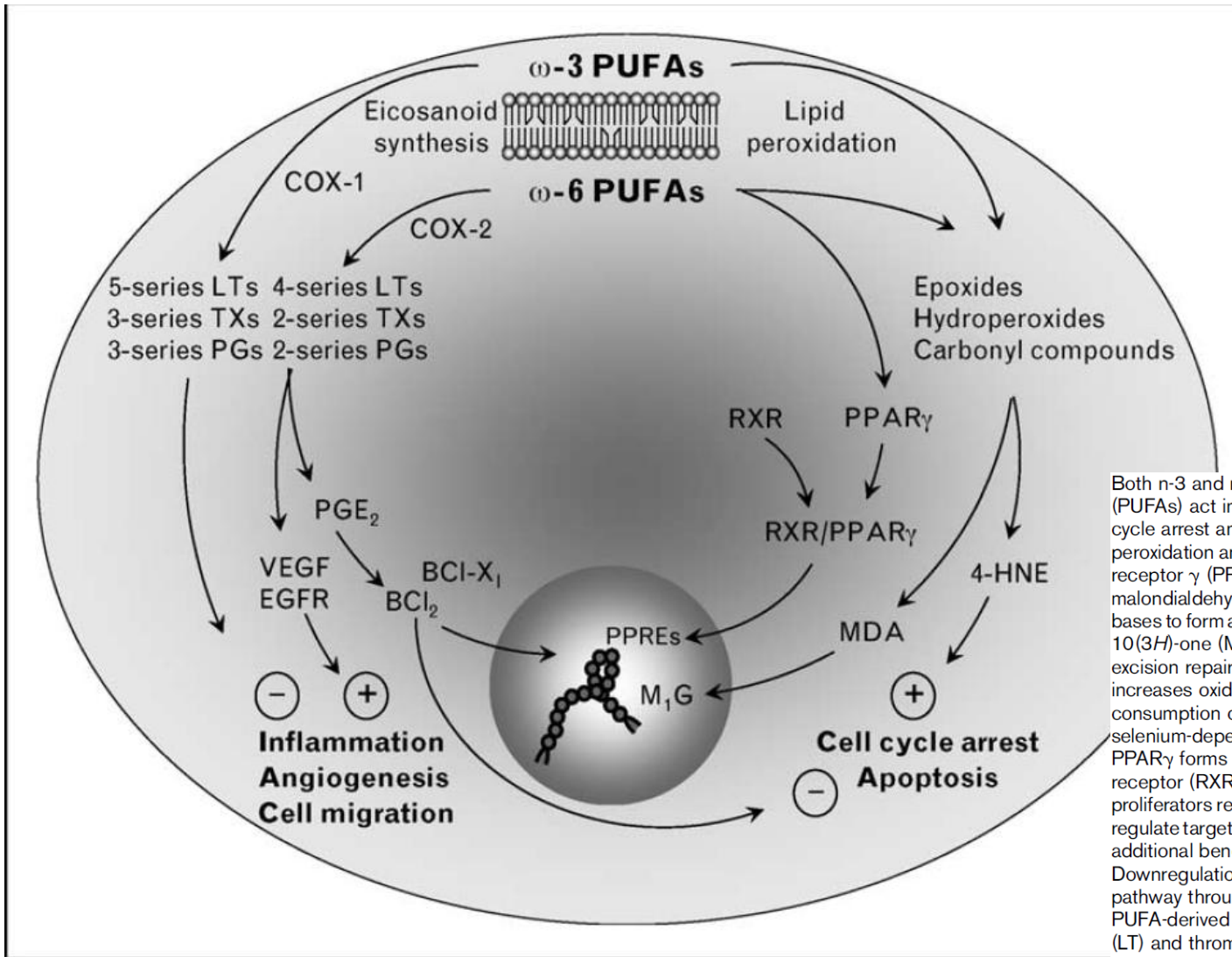


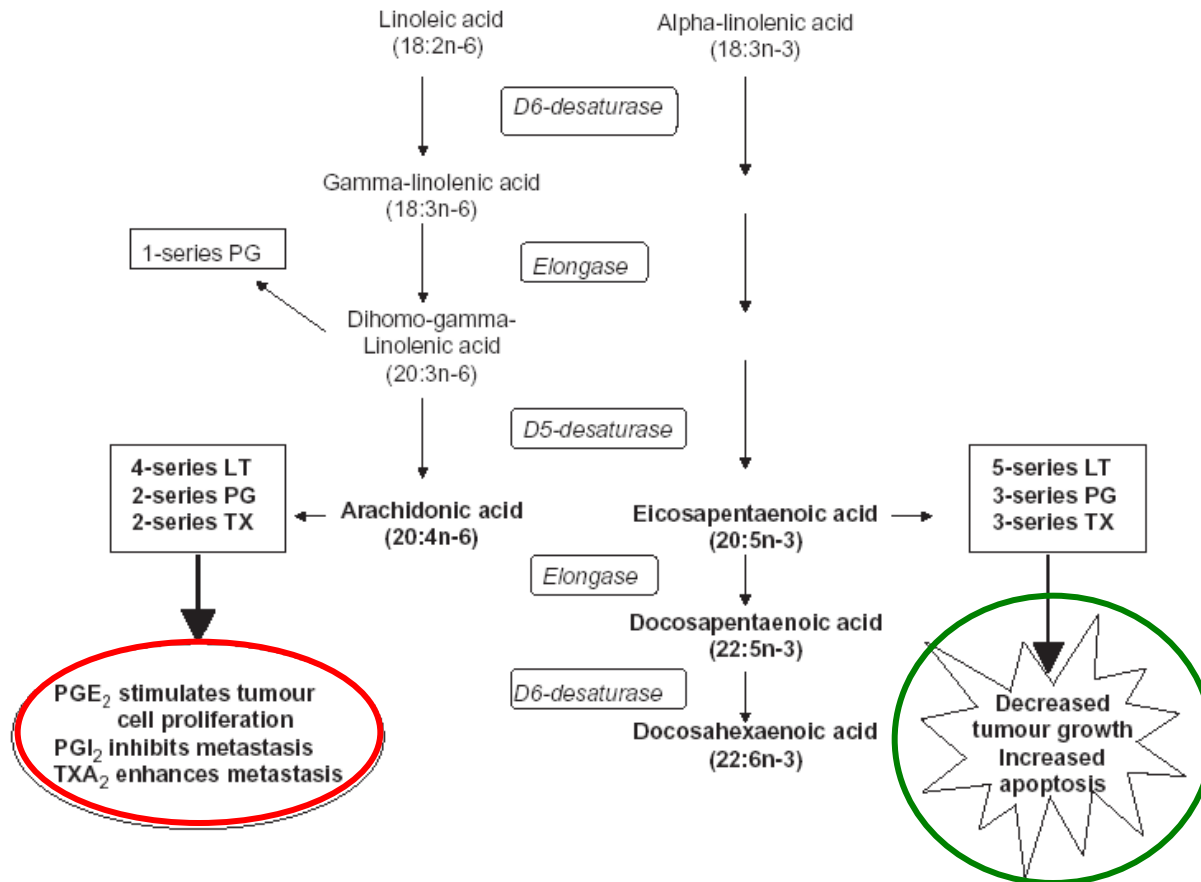
Fig. 3. RT-PCR validation of selected genes listed in Table 1. Differential expression of potential molecular targets modulated by DHA in CaCo-2 cells is shown on 2% agarose gel.

# Rozdílné účinky omega-3 a omega-6 PUFAs na buňky nádoru kolonu



Both n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) act in a similar way to induce cancer cell cycle arrest and apoptosis through lipid peroxidation and activation of peroxisome-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). Their peroxidation product malondialdehyde (MDA) reacts with nucleic acid bases to form adducts, like the pyrimido[1,2 $\alpha$ ]purin-10(3*H*)-one (M<sub>1</sub>G), which inhibits nucleotide excision repair. 4-Hydroxy-2-nonenal (4-HNE) increases oxidative stress by promoting cellular consumption of glutathione and inactivating selenium-dependent glutathione peroxidase. PPAR $\gamma$  forms heterodimer with the retinoid X receptor (RXR) and then binds to peroxisome proliferators response elements (PPREs) in DNA to regulate target genes. n-3 PUFAs, however, present additional benefits compared with n-6 PUFAs. Downregulation of cyclooxygenase II (COX-2) pathway through competitive synthesis of n-3 PUFA-derived prostaglandins (PG), leukotrienes (LT) and thromboxanes (TX) reduces not only inflammation but also angiogenesis and cell migration through activation of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR), respectively. Moreover, downregulation of the antiapoptotic Bcl-2 favours colon cancer cell suicide.

# Dráhy metabolismu n-6 a n-3 VNMK a jejich účinky v nádorové biologii



**Figure 2** Pathway of n-6 and n-3 PUFA metabolism and suggested effects on tumour biology. n-6 and n-3 Fatty acids compete for metabolism by a series of common enzymes (desaturases and elongases). Twenty-carbon fatty acids of either family (dihomo-gamma-linolenic acid, arachidonic acid, eicosapentaenoic acid) can act as precursors for different series of eicosanoids which include leukotrienes (LT), prostaglandins (PG) and thromboxanes (TX).

N-6 a n-3 VNMK soutěží o stejné enzymy (desaturázy a elongázy). 20C VNMK (DGLA, AA, EPA) jsou prekursory pro tvorbu různých typů eikosanoidů (prostaglandiny, leukotrieny, tromboxany) – soutěž o stejné enzymy (cyklooxygenázy, lipoxygenázy)

# n-3 PUFA

složení mastných kyselin v membránových fosfolipidech  
molekuly membránových fosfolipidů  
třídy membránových fosfolipidů

fluidita membrán

interakce  
ligand - receptor

funkce G-proteinu

funkce fosfolipáz  
A2, C, D

funkce tyrosin  
kináz, fosfatáz

IP<sub>3</sub>

PUFA

molekuly DAG

molekuly fosfatidové  
kyseliny

hladiny  
intracelulárního Ca

funkce protein kináz  
např. PKC

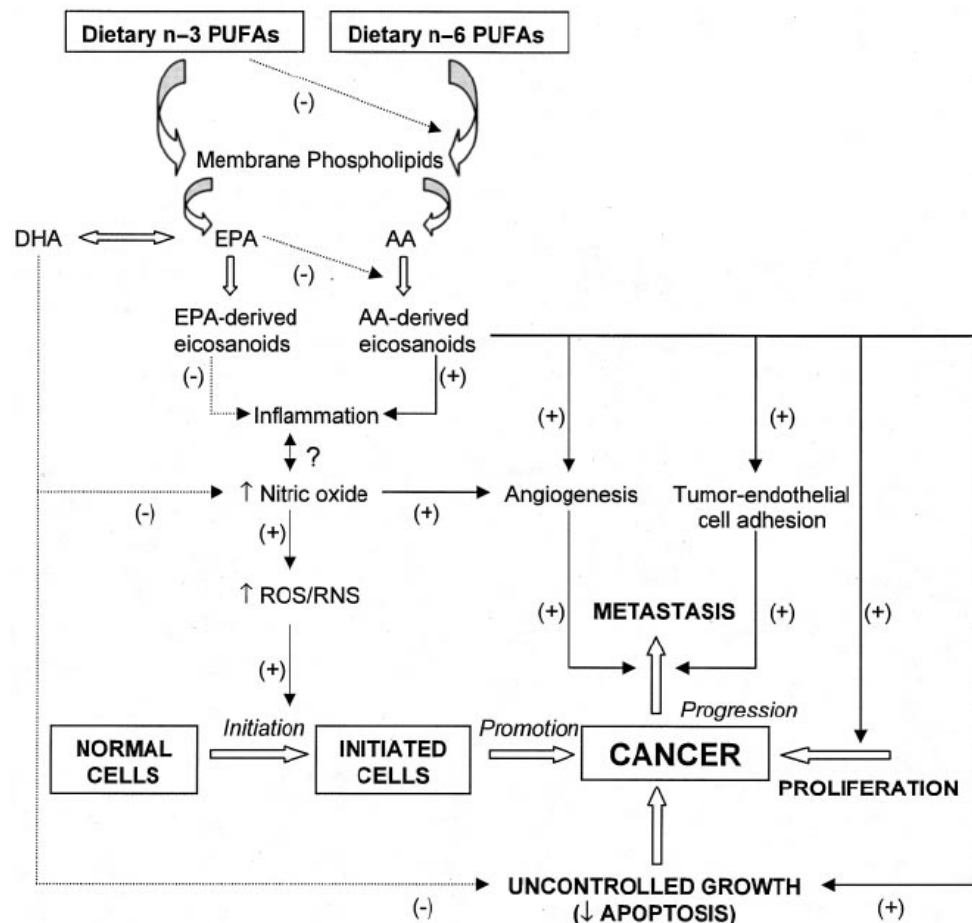
funkce proteinových  
fosfatáz

funkce transkripčních faktorů

další signální systémy  
např. přes cAMP, cGMP

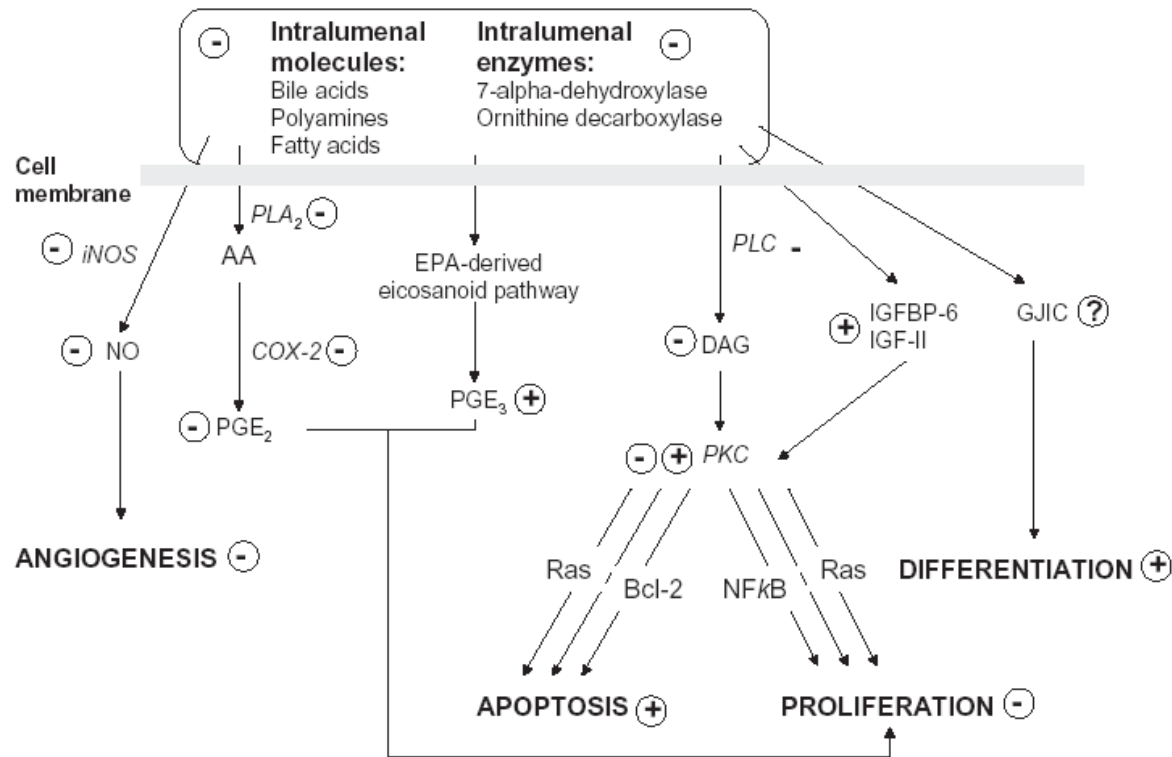
steroidní hormony

# Předpokládané mechanismy podpůrných (n-6) a tlumících (n-3) účinků VNMK v karcinogenezi



**FIGURE 2.** Hypothetical scheme showing potential mechanisms whereby n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and n-3 PUFAs may promote and suppress carcinogenesis, respectively. In initiated tumor cells, phospholipase A<sub>2</sub>, cyclooxygenase 2, and lipoxygenases are often overexpressed, which leads to overproduction of arachidonic acid (AA, 20:4n-6)-derived eicosanoids that augment inflammation. Nitric oxide, which is elevated in inflammation, is implicated in both the initiation and the progression stages of carcinogenesis. Nitric oxide may stimulate tumor growth and metastasis by enhancing the angiogenic and migratory abilities of tumor cells. Dietary n-3 PUFAs reduce the desaturation and elongation of linoleic acid (18:2n-6) to AA, the incorporation of AA into membranes, and the biosynthesis of AA-derived eicosanoids; suppress inflammation; stimulate apoptosis; up-regulate the expression of genes coding for antioxidant enzymes; and thus inhibit tumor growth and metastasis. + and solid arrows, stimulation; - and dashed arrows, suppression; ↑, increase. EPA, eicosapentaenoic acid (20:5n-3); DHA, docosahexaenoic acid (22:6n-3); ROS, reactive oxygen species; RNS, reactive nitrogen species.

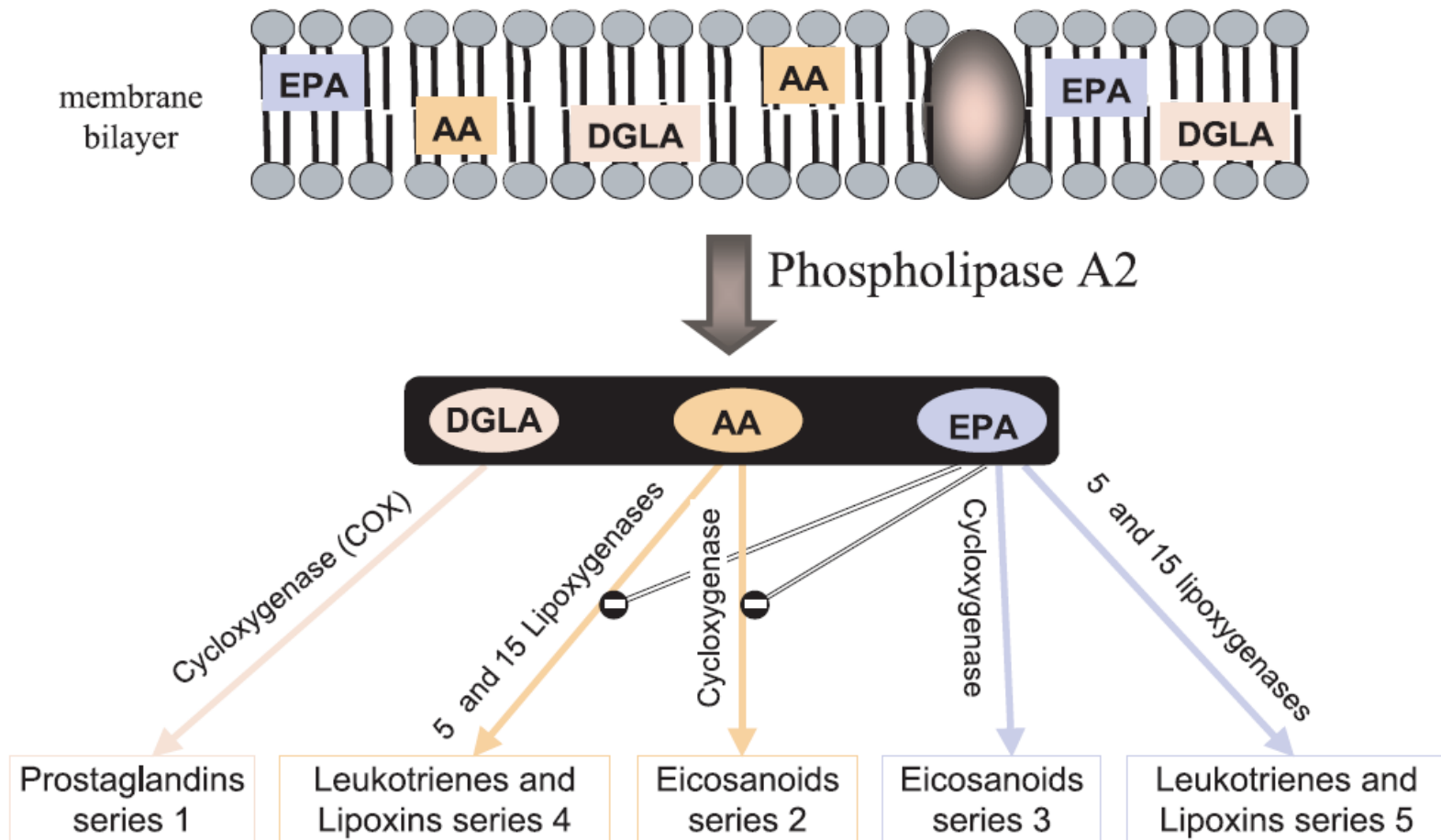
# Místa působení n-3 VNMK při snižování karcinogeneze kolonu



**Figure 4** Summary of the sites of action of long chain n-3 PUFAs in decreasing colon carcinogenesis. AA, arachidonic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; PL, phospholipase; PKC, protein kinase C; COX-2, inducible cyclooxygenase; PGE, prostaglandin E; NO, nitric oxide; iNOS, inducible nitric oxide synthase; IGF-II, insulin growth factor-2; IGFBP-6, insulin growth factor binding protein-6; DAG, diacylglycerol; GJIC, gap junctional intercellular communication; NFκB, nuclear factor kappa B). Identified and hypothetical sites at which n-3 PUFAs exert their anti-carcinogenic action are shown as: +: level, activity or expression increased by n-3 PUFAs; -: level, activity or expression decreased by n-3 PUFAs; ?: effect of n-3 PUFAs is not clear or is under investigation.



# Buněčná membrána



VNMK se vestavují do fosfolipidů buněčných membrán, po příslušných podnětech jsou uvolňovány fosfolipázou A2 a metabolizovány za účasti COX a LOX enzymů na různé typy eikosanoidů (prostaglandiny, leukotrieny)

# Změny biofyzikálních vlastností buněčných membrán

- provázejí procesy diferenciaci a apoptózy savčích buněk
- souvisejí do značné míry s modulacemi ve složení, struktuře, symetrii a metabolismu buněčných lipidů.
- pozorovány rozdíly u
  - nádorových a normálních buněk
  - nádorových buněk senzitivních a rezistentních k cytostatikám

# Základní model fluidní mozaikové struktury buněčné membrány

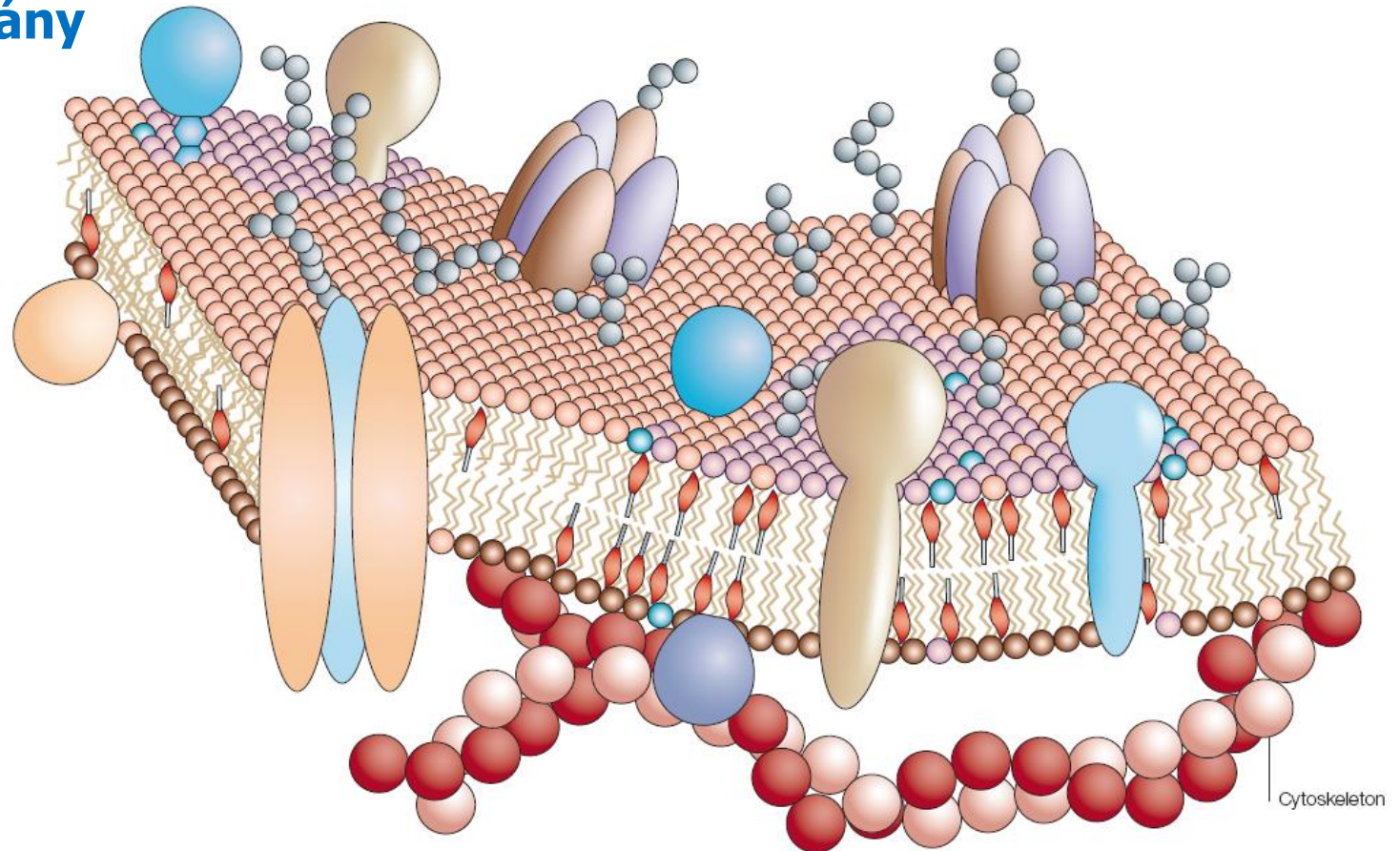
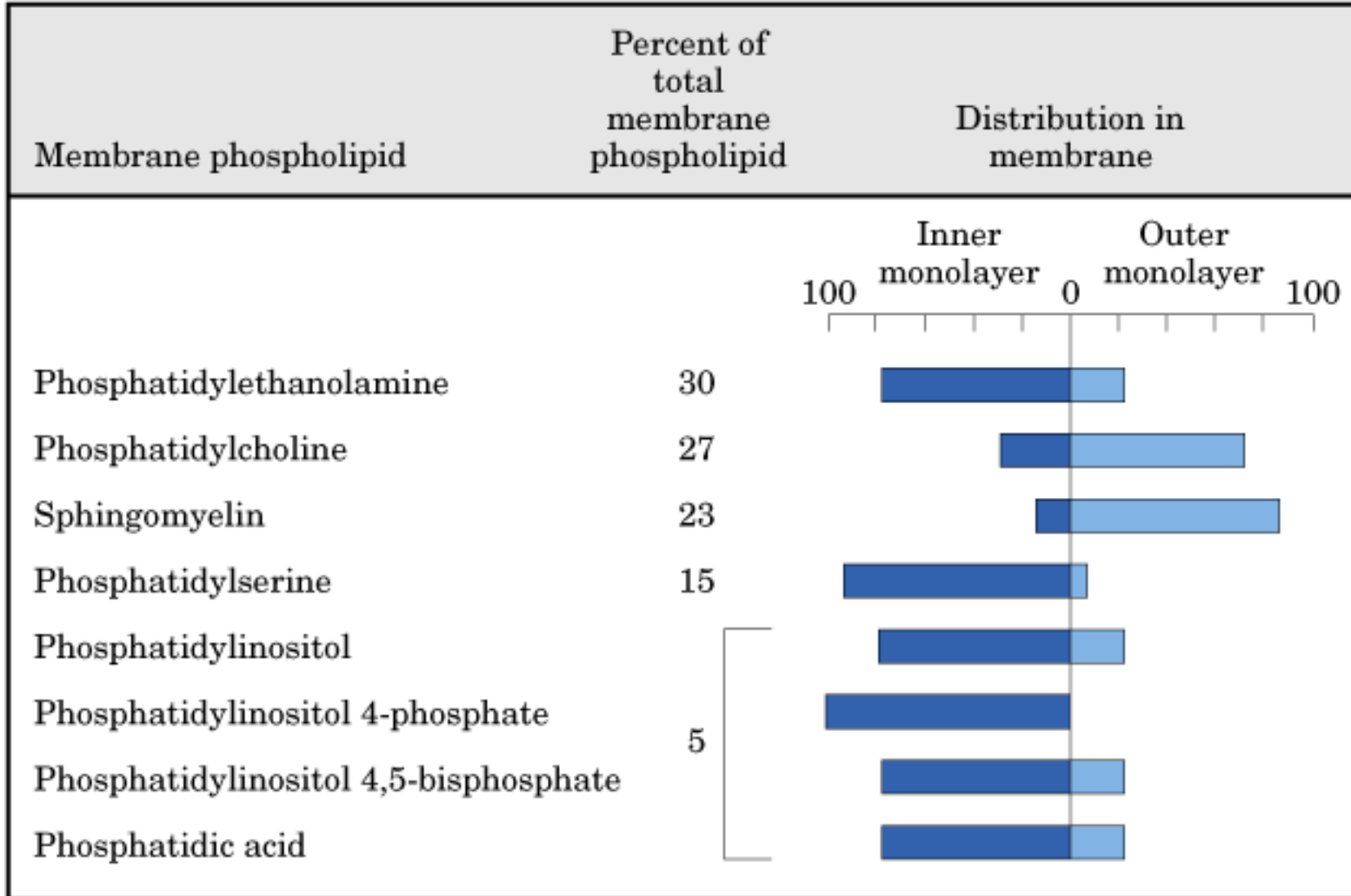


Figure 2 | **The Fluid-Mosaic-Model of the cell membrane.** Like a mosaic, the cell membrane is a complex structure made up of many different parts, such as proteins, phospholipids and cholesterol. The relative amounts of these components vary from membrane to membrane, and the types of lipids in membranes can also vary.

# Distribuce různých typů fosfolipidů ve vnitřní a vnější vrstvě membrány

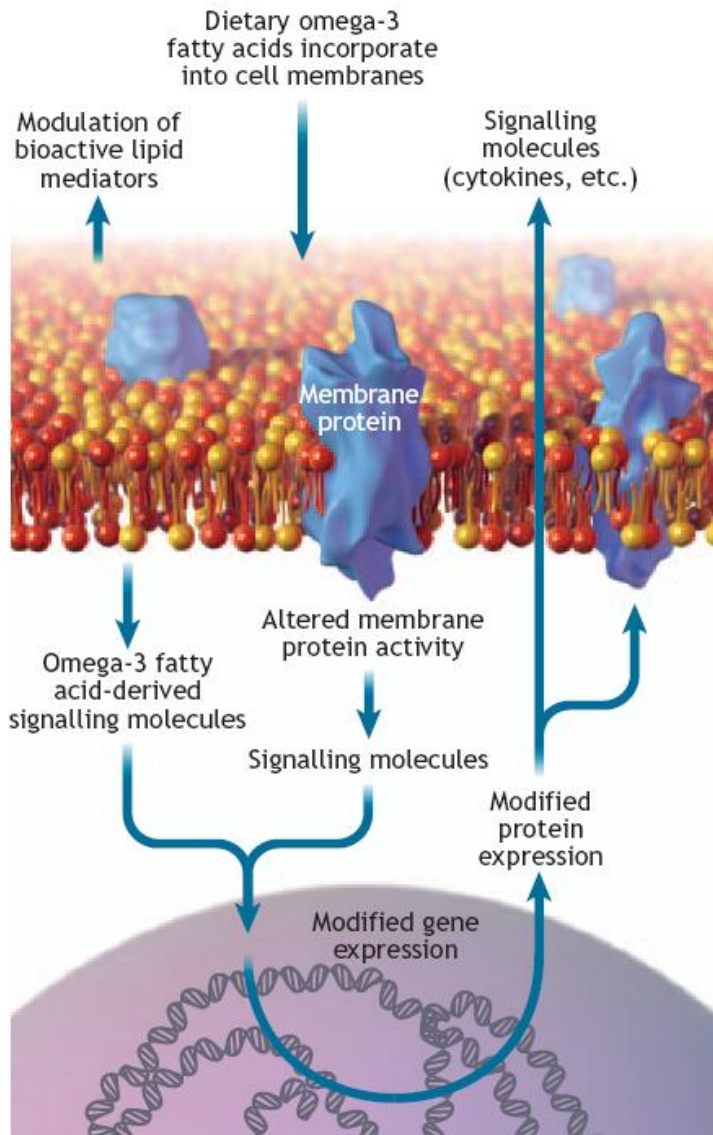




Phospholipids  
lacking omega-3  
fatty acids



Phospholipids  
containing omega-3  
fatty acids



**Omega-3 VNMK** jsou inkorporovány do fosfolipidové dvojvrstvy buněčných membrán.

Mohou modulovat aktivitu membránových proteinů, expresi genů a proteinů a fungují jako zásobárna bioaktivních lipidových mediátorů.

# Lipidové membránové mikrodomény - rafty

malé oblasti proteinů a lipidů v membráně s unikátním složením lipidů, bohaté na cholesterol a sfingolipidy.

Tyto struktury jsou funkčně zahrnuty v kompartmentalizaci, modulaci a integraci buněčných signálů a tak modulují důležité procesy jako buněčný růst, přežití a adhezi.

VNMK jsou základní složkou lipidových raftů a předpokládá se, že např. DHA může částečně působit zvýšením fázové separace lipidů v membráně.

Strukturální integrita LR a caveolae jsou základní pro příjem VNMK. Caveolin-1 a FAT/CD36 jsou vázány v LR

# Lipidové rafty a caveolae v plazmatické membráně

modifikují aktivaci membránových receptorů a signálních proteinů

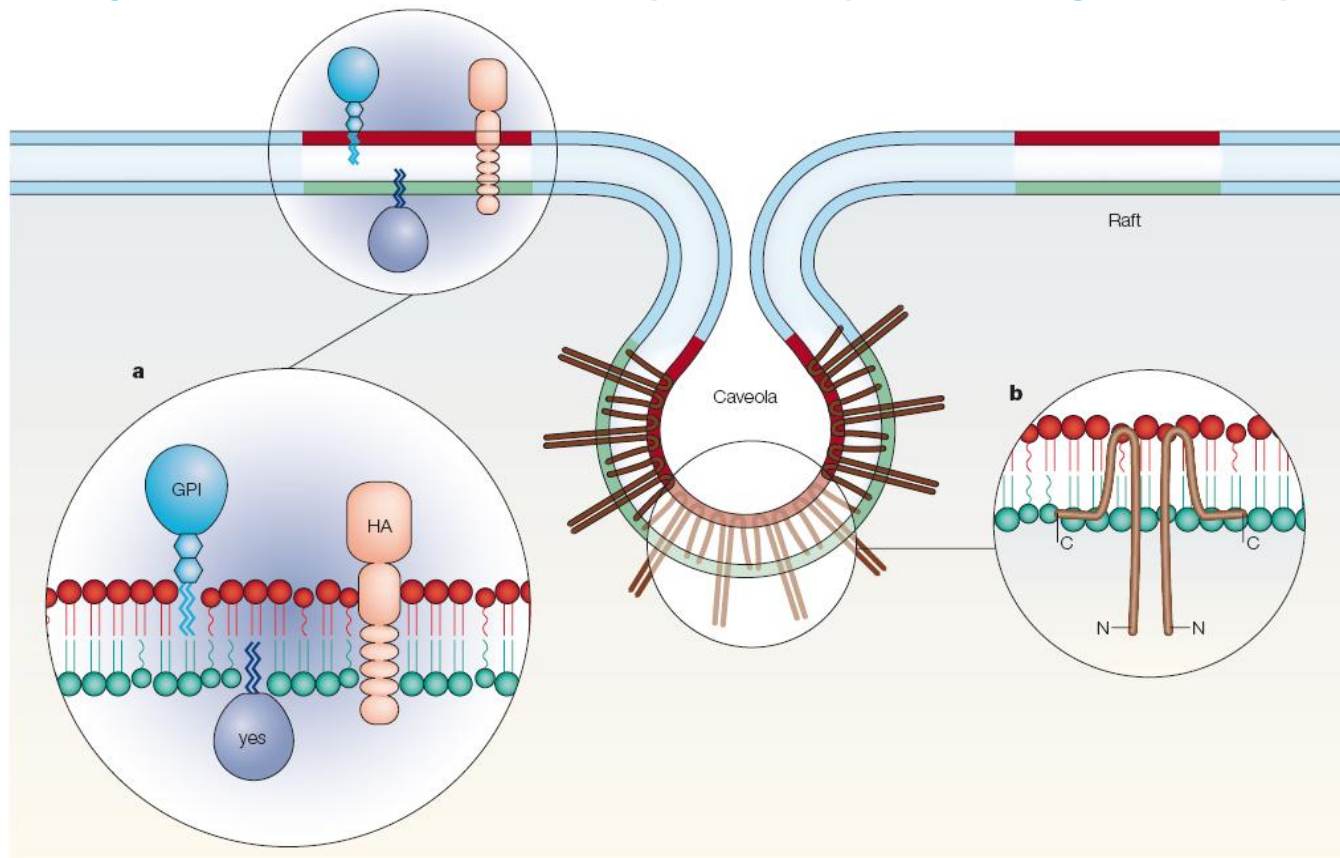
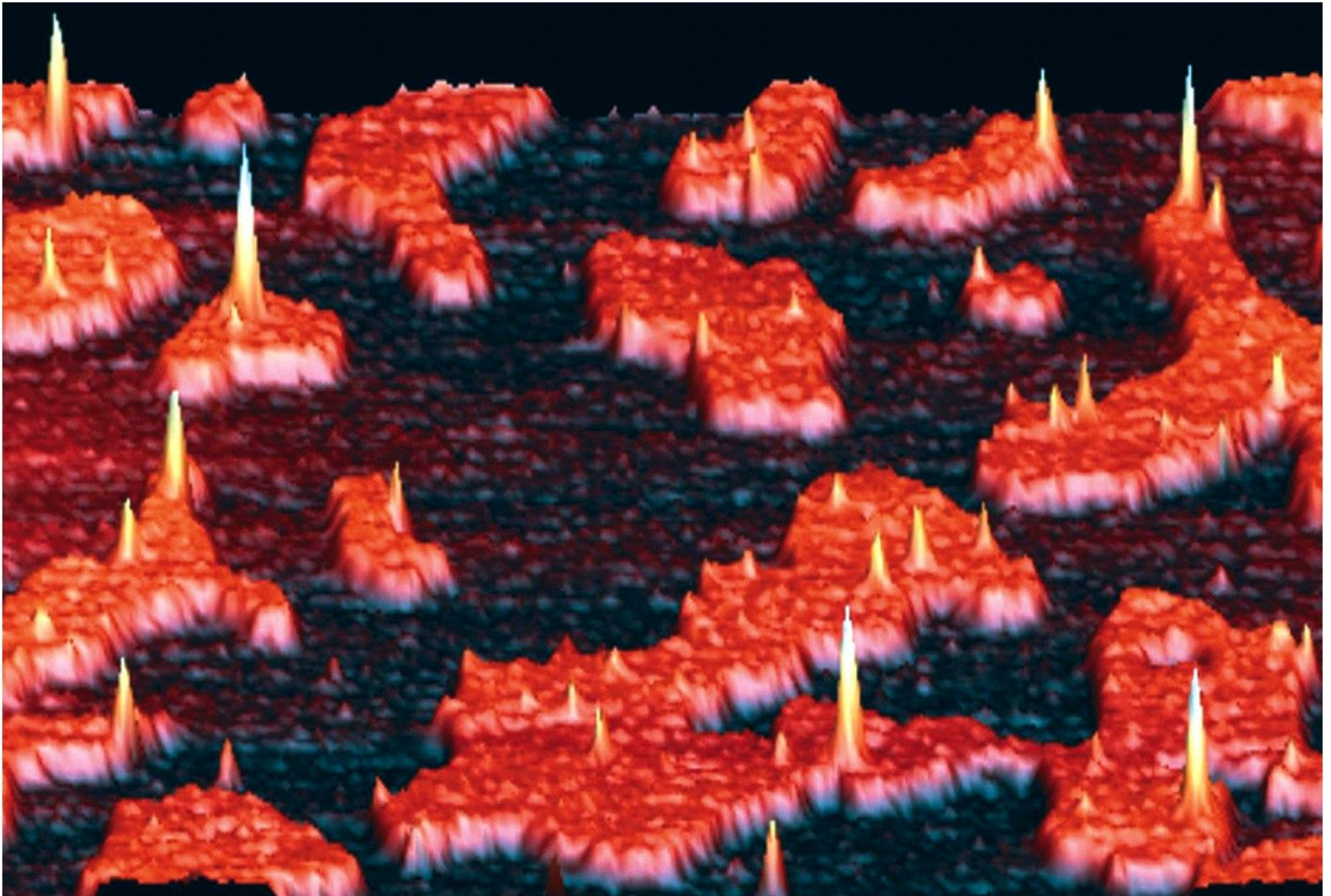


Figure 4 | **Model for the organization of rafts and caveolae in the plasma membrane.** Lipid rafts (red/green) segregate from the other regions (blue) of the bilayer, which have a different lipid composition. The lipid bilayer in rafts is asymmetric, with sphingomyelin and glycosphingolipids (both red) enriched in the 'outer' layer known as the exoplasmic leaflet, and glycerolipids (green) in the 'inner' layer known as the cytoplasmic leaflet. **a** | Rafts contain proteins attached to the bilayer by their GPI anchors, by acyl tails (for example, the Src-family kinase Yes), or through their transmembrane domains, like the influenza virus proteins neuraminidase and haemagglutinin (HA). **b** | Caveolae are formed by self-associating caveolin molecules making a hairpin loop in the membrane. Interactions with raft lipids may be mediated by binding to cholesterol (brown) and by acylation of carboxy-terminal cysteines (not shown). Figure modified from Simons, K. & Ikonen, E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* **387**, 569–572 (1997) © Macmillan Publishers Ltd.

# Lipidové rafty – atomový skenovací mikroskop





# Co jsou to lipidové rafty?

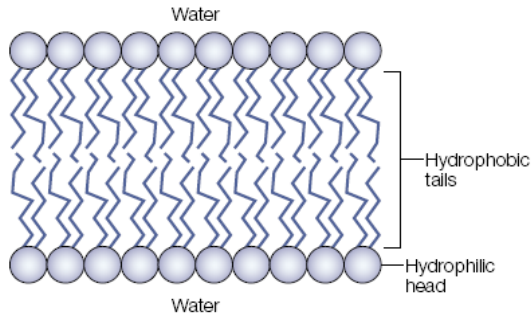
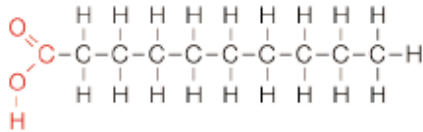
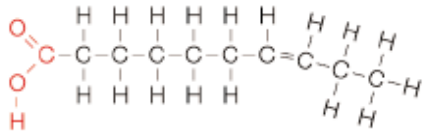


Figure 1 | **Basic structure of the lipid bilayer.** Phospholipids, the type of lipid that makes up the majority of lipids found in the cell membrane, are made up from a phosphate head (circles) that likes water and a fatty-acid, or lipid, tail (lines) that hates it. In an aqueous environment, such as that found in cells, these lipids line up so as to limit the exposure of the hydrophobic portions to water, thus forming a membrane layer.

## Saturated



## Unsaturated

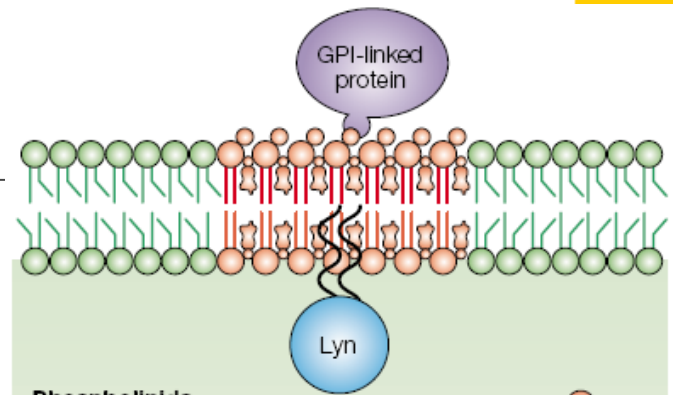


## Box 1 | What are lipid rafts?

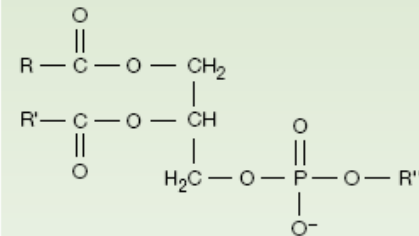
Lipid rafts are sphingolipid- and cholesterol-rich membrane microdomains in the outer leaflet of the plasma membrane. The plasma membrane is composed primarily of sphingolipids, phospholipids and cholesterol. Sphingolipids differ from most phospholipids in that they have long, largely saturated acyl chains that allow them to pack tightly in a bilayer, forming a gel phase in which there is very little lateral movement or diffusion. The gel phase of the sphingolipids is altered by the association of cholesterol, which condenses the packing of the sphingolipids by occupying the spaces between the acyl chains. So, cholesterol-containing sphingolipid microdomains exist in a liquid-ordered phase that is significantly more fluid than the gel phase.

By contrast, phospholipids are rich in unsaturated acyl chains that tend to be kinked and consequently to pack loosely into a liquid-disordered phase that is considerably more fluid, allowing rapid lateral movement within the bilayer. The different packing of the sphingolipids and phospholipids probably leads to their phase separation in membrane bilayers. Sphingolipid microdomains float in a phospholipid bilayer, leading to the coining of the term 'lipid rafts'. Cholesterol preferentially partitions into the liquid-ordered phase rather than the liquid-disordered phospholipid bilayer and is essential for the maintenance of the two phases.

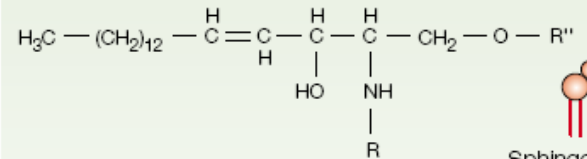
The membrane outer leaflet rafts are believed to be linked to an inner leaflet that is probably rich in phospholipids with saturated fatty acids and cholesterol. The size of rafts and their lifetimes in the membranes of resting cells are uncertain. Current evidence indicates that the elemental rafts might be small (26–70 nm in diameter), containing only several thousand molecules and therefore accommodating only a few proteins. Rafts were shown selectively to include some proteins and to exclude others, so rafts provide a mechanism for the lateral sorting of proteins in the membrane. Modified from Pierce, S. K. Lipid rafts and B-cell activation. *Nature Rev. Immunol.* 2, 96–105 (2002) © Macmillan Magazines Ltd



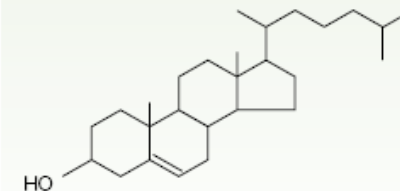
## Phospholipids



## Sphingolipids



## Cholesterol



R, R', Hydrocarbon chains of fatty acids  
R'', Head group  
GPI, glycosylphosphatidyl inositol

Pietzsch J et al., *Nature Reviews*, 2004

# Modulace lipidů (DHA)– lipidové rafty – modulace signálů TNFR

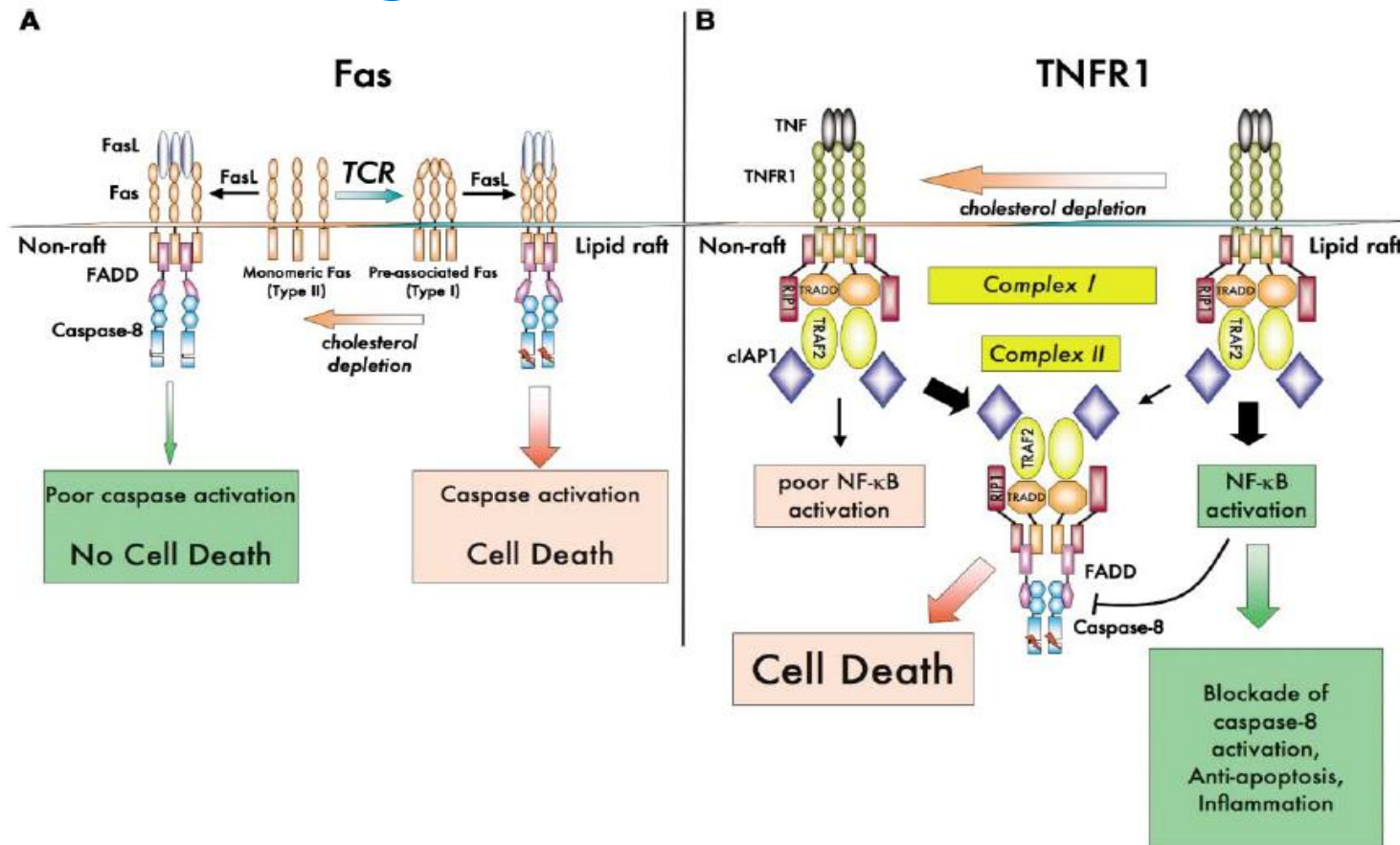
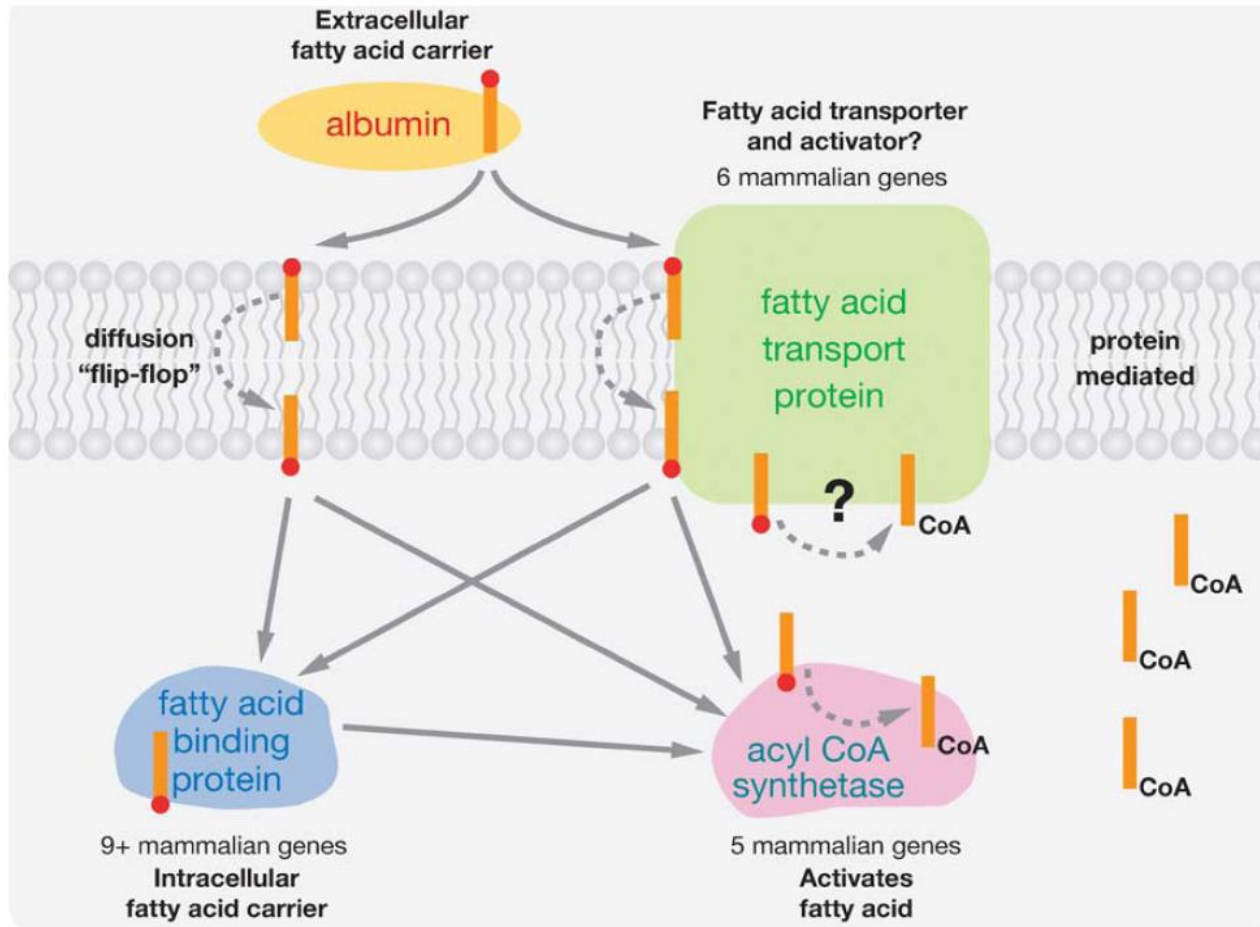


Figure 2. Examples of How Lipid Rafts Can Modify Early Events in TNFR Family Signaling

(A) In activated CD4<sup>+</sup> T cells, Fas is excluded from lipid rafts. Outside of lipid rafts, Fas is likely to be monomeric. After engagement by FasL, although FADD and caspase-8 are recruited to Fas, they do not signal efficiently for death. Upon TCR restimulation, Fas translocates into lipid rafts where it tends to preassociate. Within lipid rafts, upon FasL binding, FADD and caspase-8 are recruited to Fas where caspase-8 can autoactivate and trigger cell death.

(B) Upon TNF binding, TNFR1 translocates into lipid rafts wherein complex I formation takes place and results in the activation of NF-κB. Through mechanisms described in Figure 1, NF-κB can inhibit caspase activation within complex II. When cholesterol is depleted, lipid raft structure is disrupted and complex I forms outside of lipid rafts and cannot signal efficiently for NF-κB and therefore cannot inhibit death induced by complex II. The thickness of the arrows indicates relative efficiency of each signaling pathway.

# Transport MK do buňky



Marszalek JR and Lodish HF, Annual Rev Cell Dev Biol 2005

MK vázány na albumin v séru

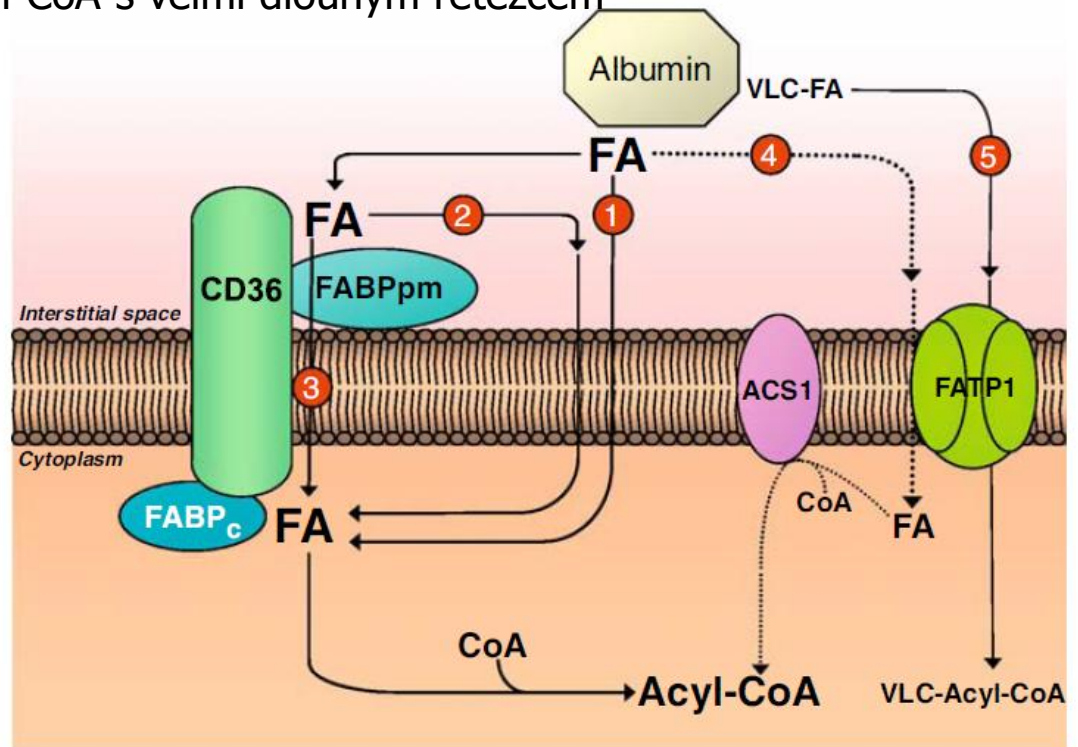
Přenos přes membránu difúzí nebo pomocí specifických transportních proteinů (FATPs).

Vazba na specifické vazebné proteiny (FABP), přenos na ACS proteiny katalyzující reakci konvertující volné MK na jejich CoA deriváty.

# Transport MK přes cytoplasmatickou membránu

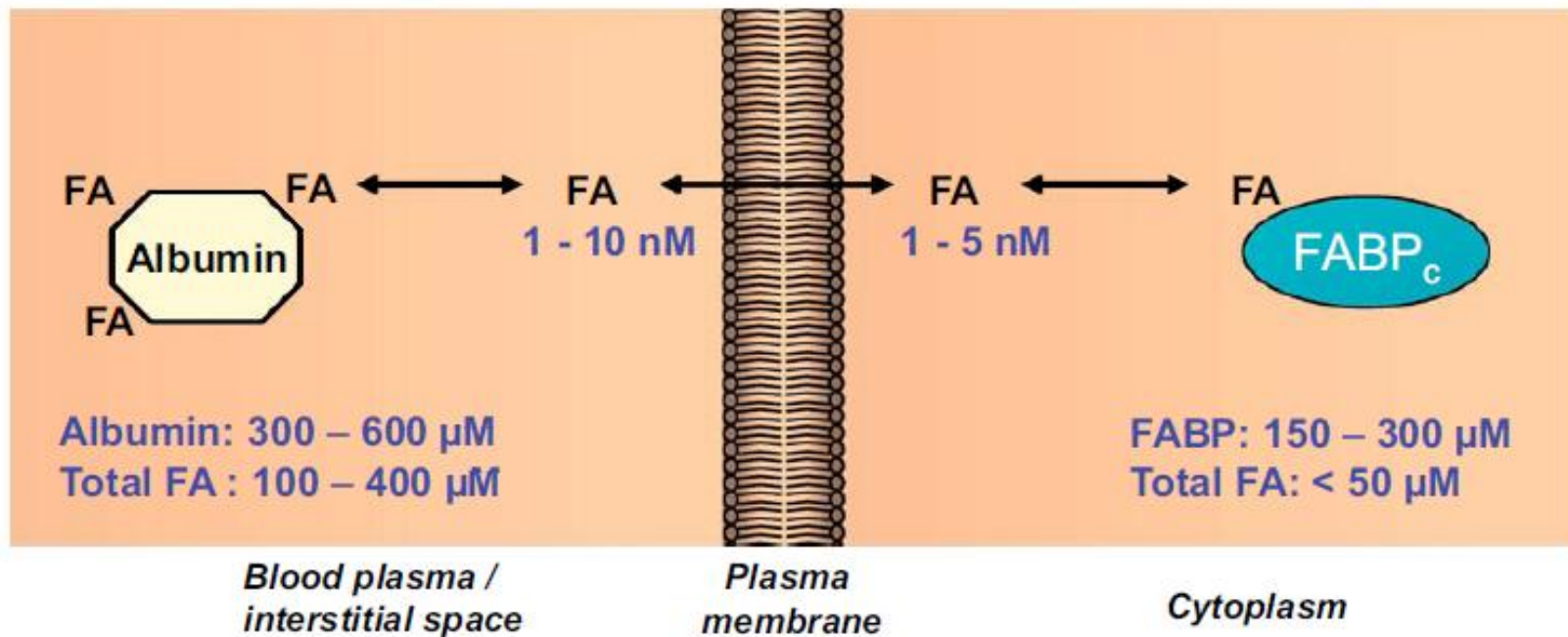
## Různé modely:

- Jednoduchá difúze
- CD36 (88kDa) a FABPpm (plasma membrane-associated fatty acid-binding protein (43kDa) vážou MK na povrchu, zvyšují lokální konc. a usnadňují tak difúzi
- aktivní transport pomocí CD36
- Uvnitř buněk se MK vážou na cytoplasmatické vazebné proteiny (FABPc) před vstupem do metabolických či signálních drah
- Malá část MK je transportována FABP a rychle aktivována membránovými acyl-CoA syntetázami (ACS1) a tvoří estery acyl-CoA .
- MK s dlouhým řetězcem > C22) jsou transportovány preferenčně a přímo konvertovány na estery acyl-CoA s velmi dlouhým řetězcem



Kvantitativní srovnání přítomnosti albuminu v mimobuněčném prostoru, fatty-acid binding proteins (FABPc) v cytoplasmě a koncentrace mastných kyselin za fyziologických podmínek.

Albumin (3-6 vazebných míst pro MK) a FABPc (9 typů) vytvářejí prostředí pro extrémně nízké konc. MK s dlouhým řetězcem.

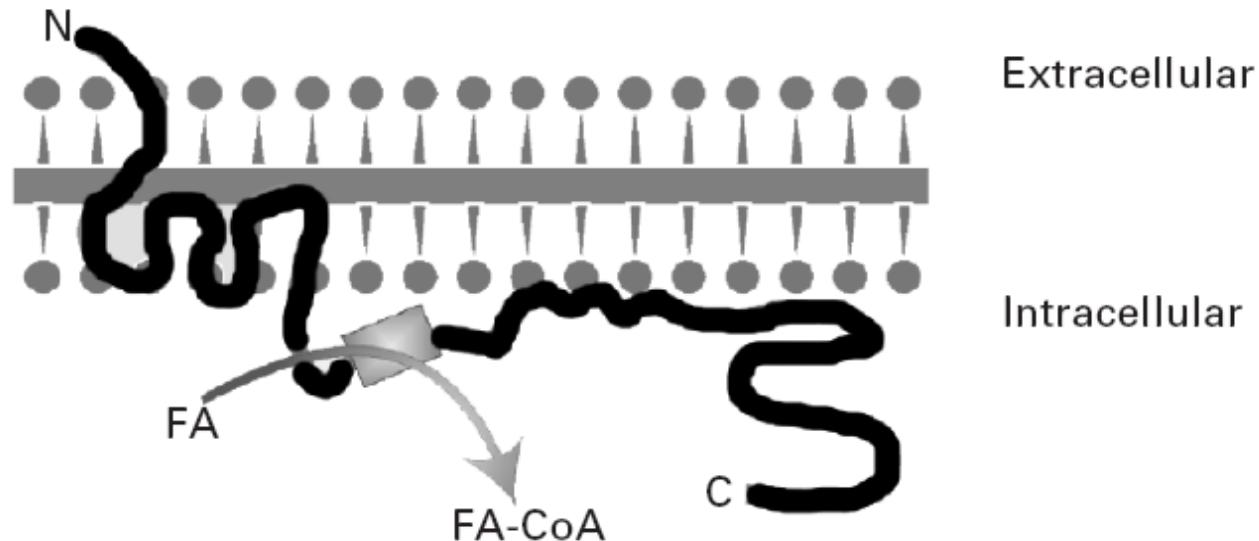


# Translokáza mastných kyselin - FAT/CD36 (fatty acid translocase)

Protein v plasmatické (mitochondriální?) membráně

CD36 – multifunkční adhezní receptor pro trombospodin a collagen a scavenger receptor pro LDL exprimovaný na plateletech, monocytech ale i jiných typech buněk.

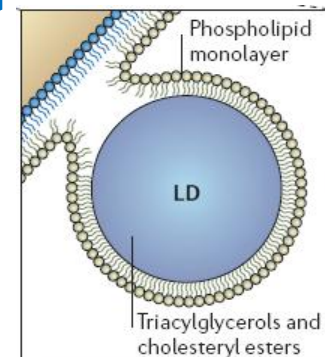
Nově prokázána funkce při transportu VNMK i jeho přítomnost v buňkách gastrointestinálního traktu (Lobo MVT et al., J Histochem Cytochem 2001, Campbell SE et al. J Biol Chem 2004. Drover VA. J Clin Invest 2005)



**Fig. 1.** Schematic representation of the membrane topology of fatty acid (FA) transport protein.

# Akumulace lipidů v cytoplazmě vznik „lipid droplets, lipid bodies“

- akumulace lipidových kapének (lipid droplets, LD) v cytoplazmě buněk (působení lipidových látek, diferenciace a apoptózy )
- obsahují **neutrální lipidy** (obvykle triacylglyceroly nebo estery cholesterolu), obklopeny monovrstvou fosfolipidů za normálních podmínek - zásobárna energie a cholesterolu
- důležité pro udržení homeostázy lipidů, pro lipidový metabolismus a signálování
- souvislost s regulací procesů diferenciace a apoptózy není zcela objasněna
- citlivé vitální barvení lipidových kapének
- **fluorescenční barvivo** Nile Red (flow cytometrie) nebo BODIPY 493/503 (fluoresc. mikroskopie)



## TVORBA LDs V CYTOPLAZMĚ

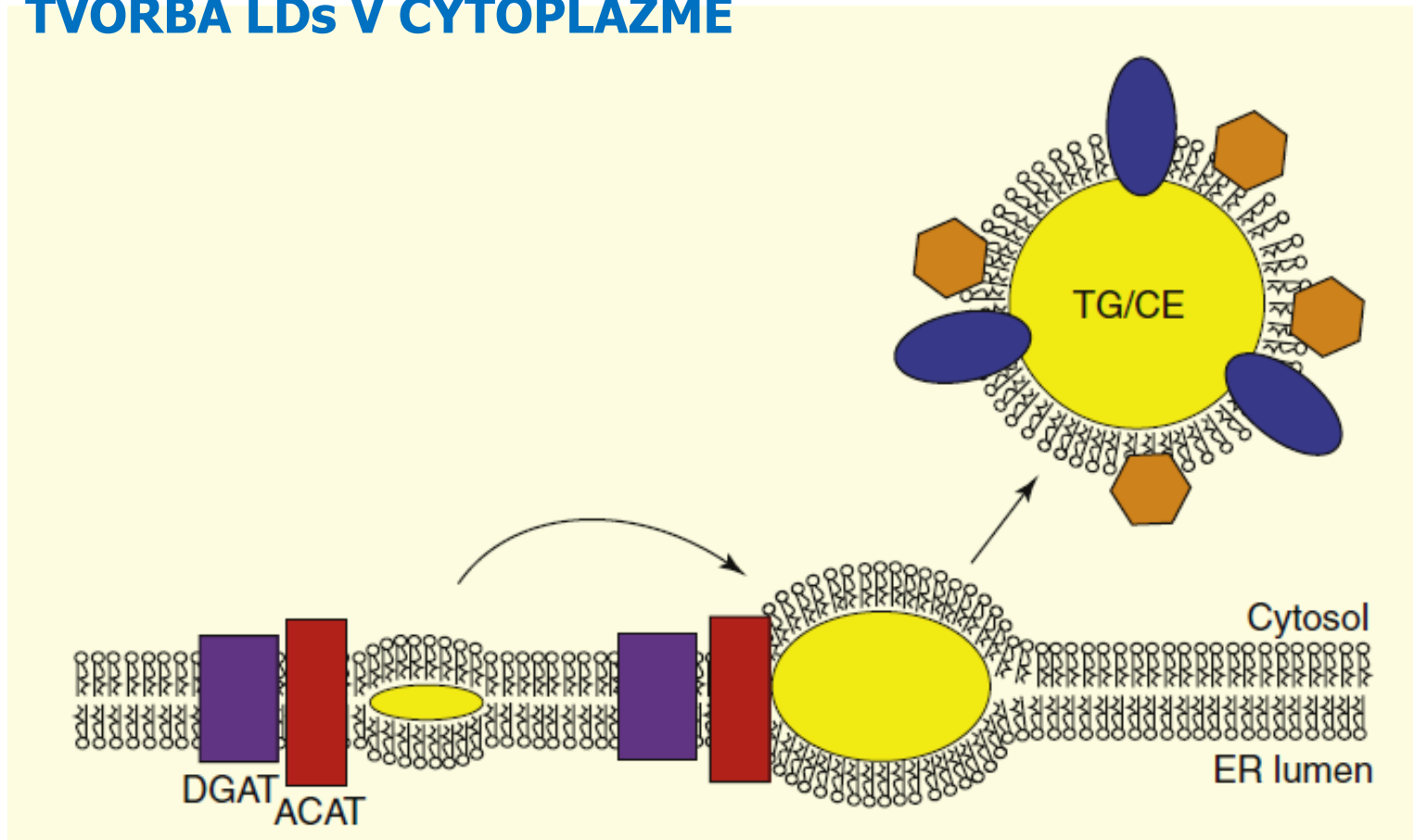
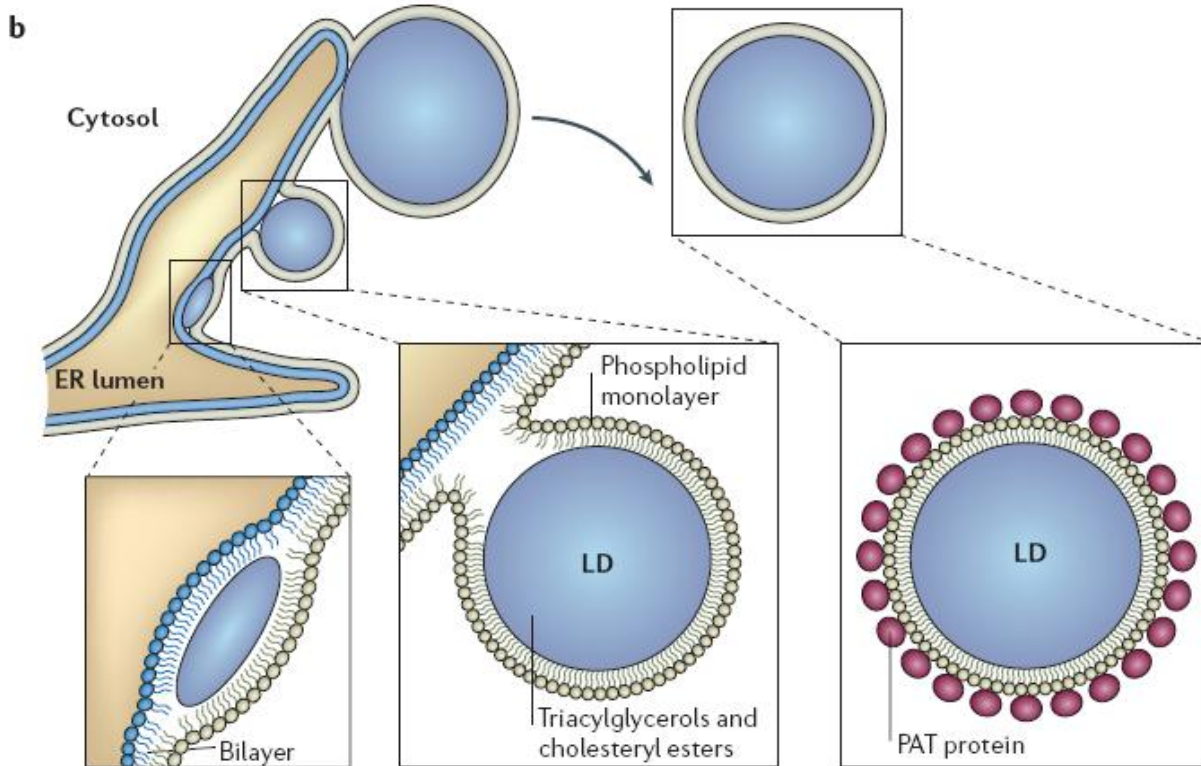


Figure 1. Model of lipid droplet formation. Lipid droplets may form via coalescence of newly synthesized neutral lipids in the interior of the ER membrane and subsequent budding into the cytosol. Mature lipid droplets consist of a neutral lipid core surrounded by a phospholipid monolayer and associated proteins, mostly recruited from the cytosol. ACAT, acyl-CoA: cholesterol acyltransferase; CE, cholesteryl ester; DGAT, diacylglycerol acyltransferase; TG, triacylglyceride.



# Tvorba (LDs) v endoplasmatickém retikulu

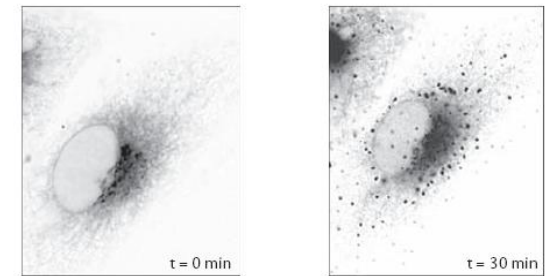


Po přidání mastných kyselin se syntetizují neutrální lipidy v membráně endopl. retikula (ER).

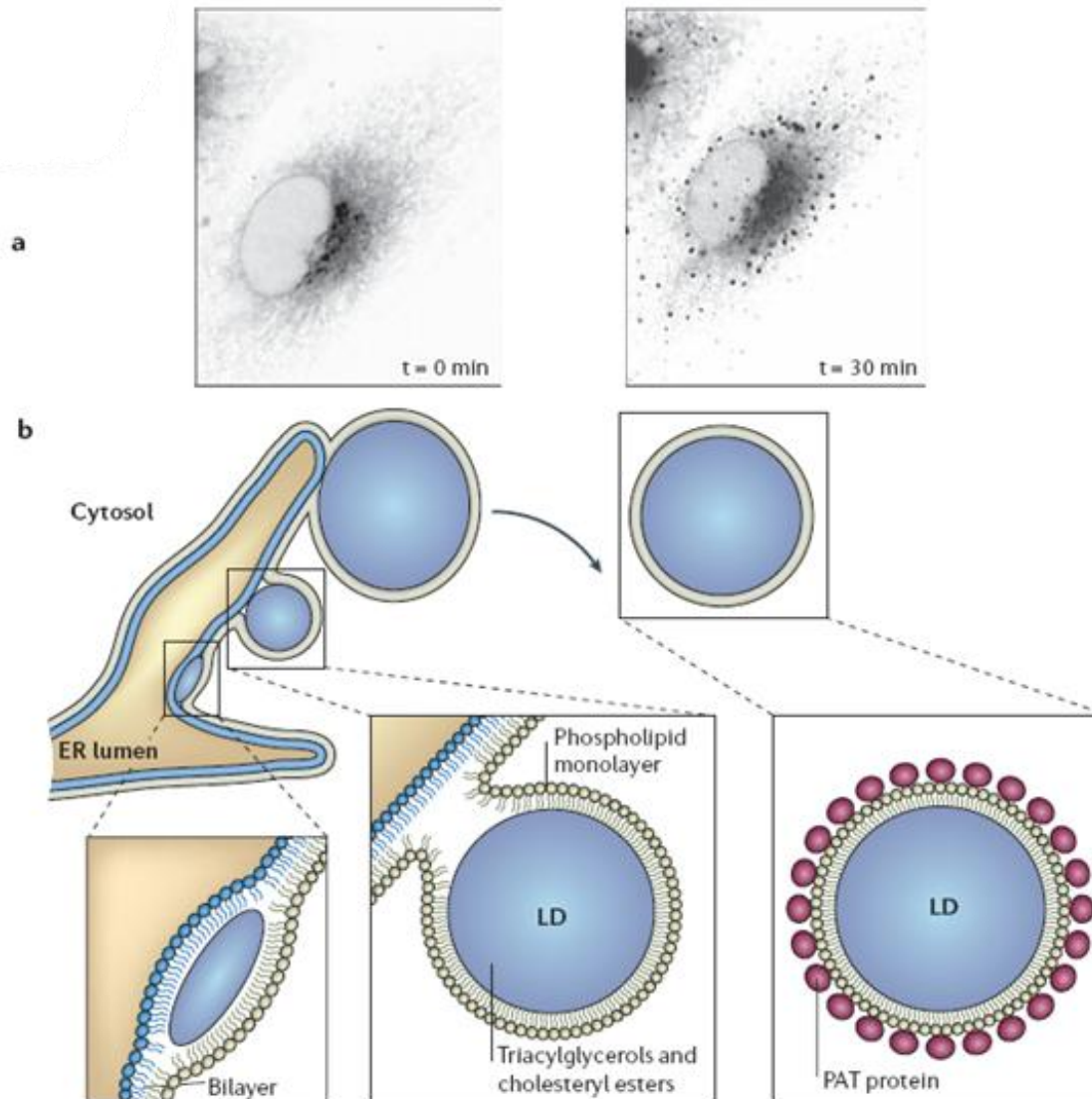
Zralé LD se odštěpují z ER membrány a tvoří samostatné organelly ohraničené monovrstvou fosfolipidů a spojené se specifickými proteiny.

Rodina PAT proteinů (perilipin, ADRP, TIP-47).

Figure 1 | **The formation of lipid droplets.** **a** | The formation of lipid droplets (LDs) as monitored by the use of a caveolin-truncation-mutant-green-fluorescent-protein fusion protein ( $Cav3^{DGV}$ -GFP). Before fatty acid addition ( $t = 0$  min),  $Cav3^{DGV}$ -GFP localizes to the endoplasmic reticulum (ER) and Golgi region (the image has been inverted to show dark staining for GFP). After fatty acid addition, LDs appear throughout the cell within minutes (the  $t = 30$  min image is shown here). For a movie of this process, see the Further information. **b** | In the current model of LD formation, neutral lipids are synthesized between the leaflets of the ER membrane. The mature LD is then thought to bud from the ER membrane to form an independent organelle that is bounded by a limiting monolayer of phospholipids and LD-associated proteins. Some of the best understood LD-associated proteins are members of the PAT (perilipin, ADRP and TIP47-related protein)-domain family of proteins. Part a modified with permission from REF. 8 © (2004) The American Society for Cell Biology.



# Lipid droplets (LD)



Po dodání mastných kyselin jsou **neutrální lipidy** syntetizovány v endoplasmatickém retikulu (ER), kde se tvoří a odlučují LD tvořící nezávislé organely ohraničené **monovrstvou fosfolipidů a napojených specifických proteinů**. Zásobárna energie a zdroj signálních molekul.

# Funkce LD a důležité proteiny s nimi spojené

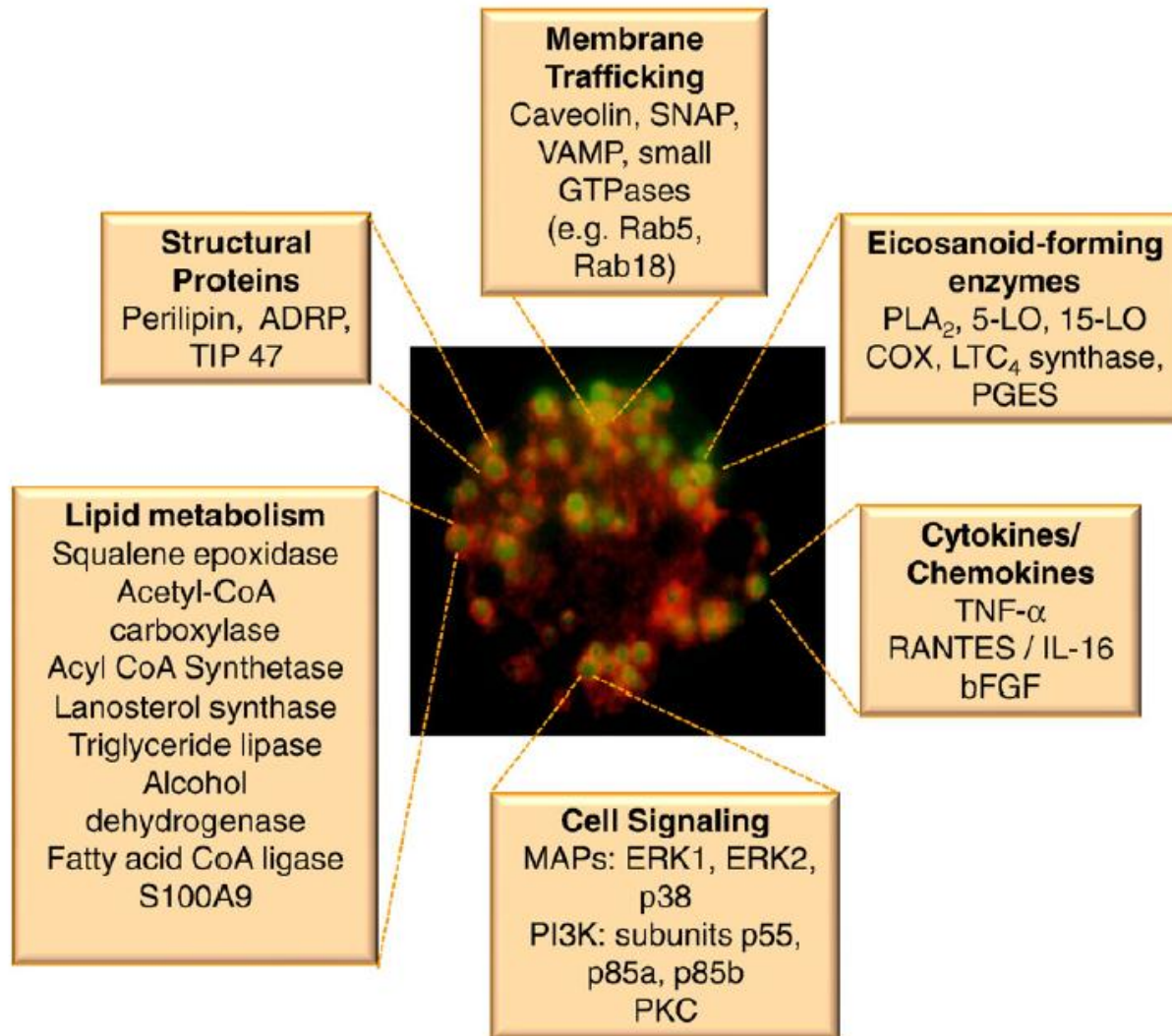
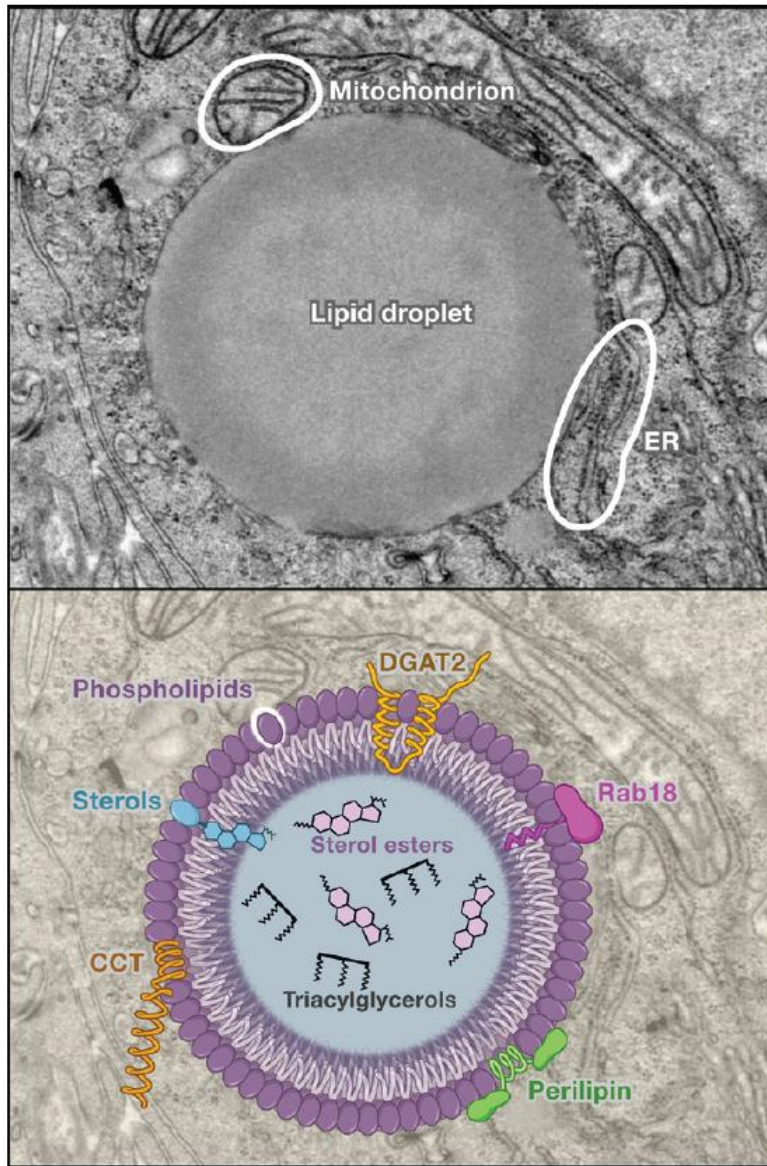


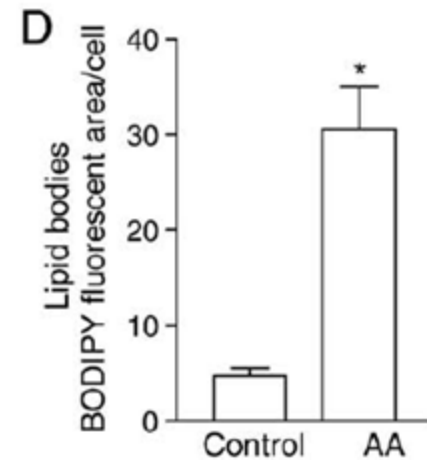
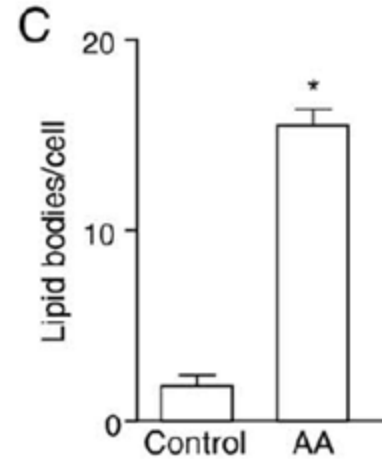
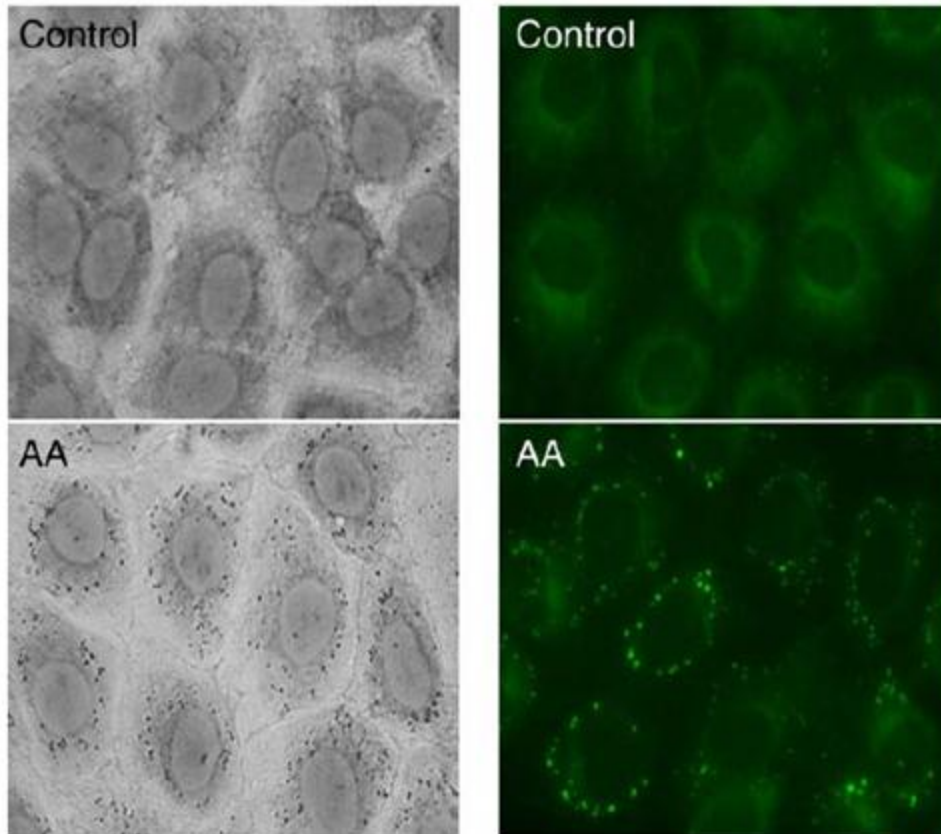
Fig. 1. Lipid body-associated proteins.



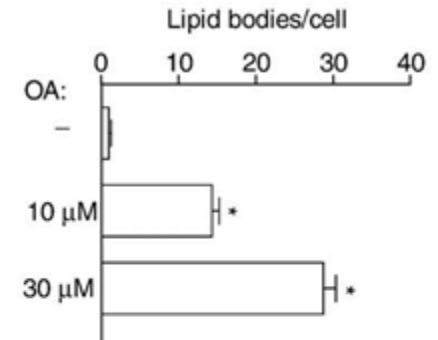
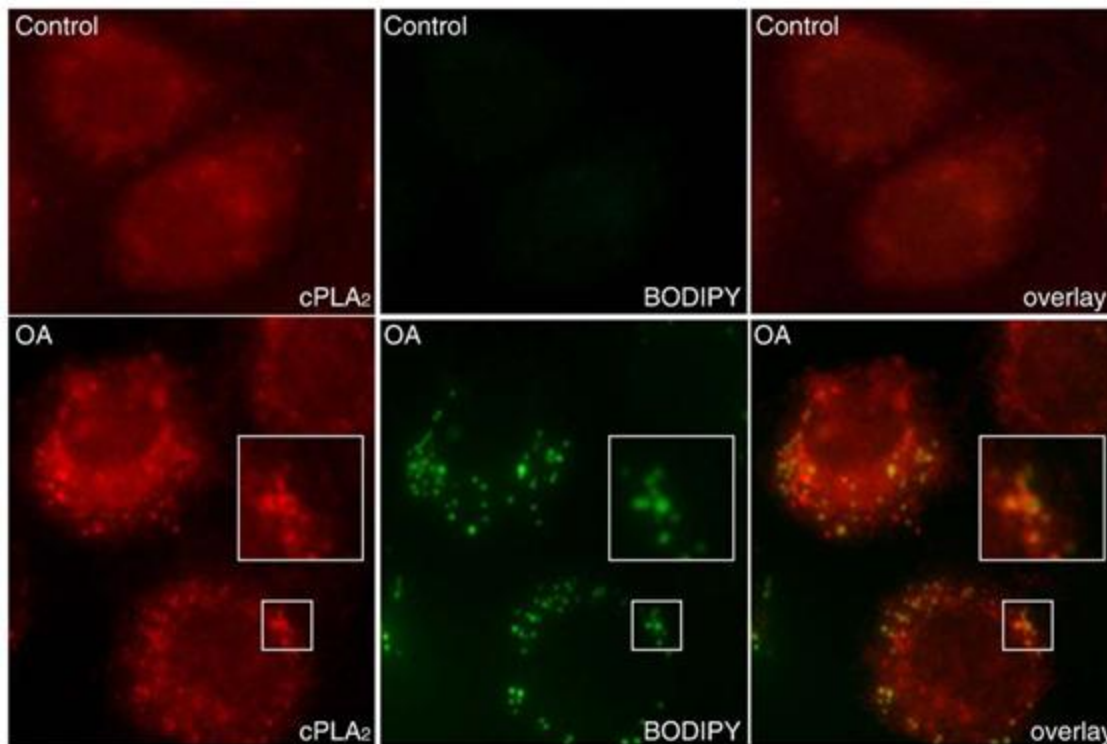
### Figure 1. Anatomy of a Lipid Droplet

(Top) An electron micrograph of a lipid droplet in a cultured hepatoma cell. The membrane monolayer surrounding the lipid droplet is visible, as are close associations with mitochondria and ER membranes. (Bottom) The structural features of a lipid droplet. Shown are polar surface lipids of the monolayer (e.g., phospholipids and sterols), the nonpolar lipids of the core (e.g., sterol esters and triacylglycerols), and a variety of proteins decorating the surface of the droplet. These proteins include DGAT2, Rab18, perilipin, and CCT (CTP:phosphocholine cytidyltransferase; the rate-limiting enzyme in phosphatidylcholine synthesis). Several hypothetical mechanisms for how proteins interact with the lipid droplet are shown, including amphipathic  $\alpha$  helices, embedding of hydrophobic regions directly in the droplet, and lipid anchors. (Electron micrograph courtesy of S. Stone and J. Wong; image reprinted from *Biochim. Biophys. Acta 1791*, T.C. Walter and R.V. Farese, Jr. (2009), with permission from Elsevier.)

# Akumulace LD v cytoplasmě buněk kolonu po přidání kyseliny arachidonové (AA)



# Kolokalizace LD s cPLA2 a uvolňování AA u kolonových buněk po působení kyseliny olejové



# Během karcinogeneze se vyvíjí tzv. lipogenní charakter buněk

Zvýšená endogenní syntéza mastných kyselin a snížená citlivost k nutričním zásahům **FASN – fatty acid synthase** (syntáza mastných kyselin) pod transkripční kontrolou SREBP1c (sterol regulatory element-binding protein)

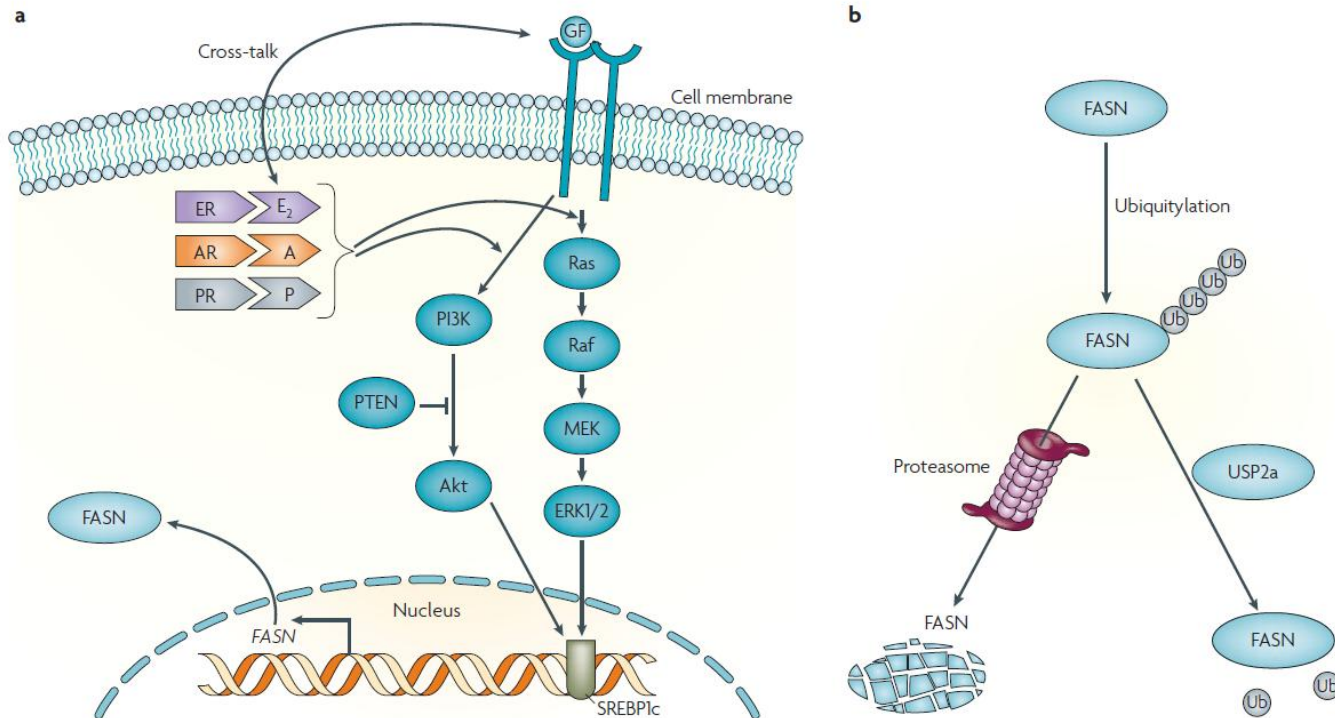
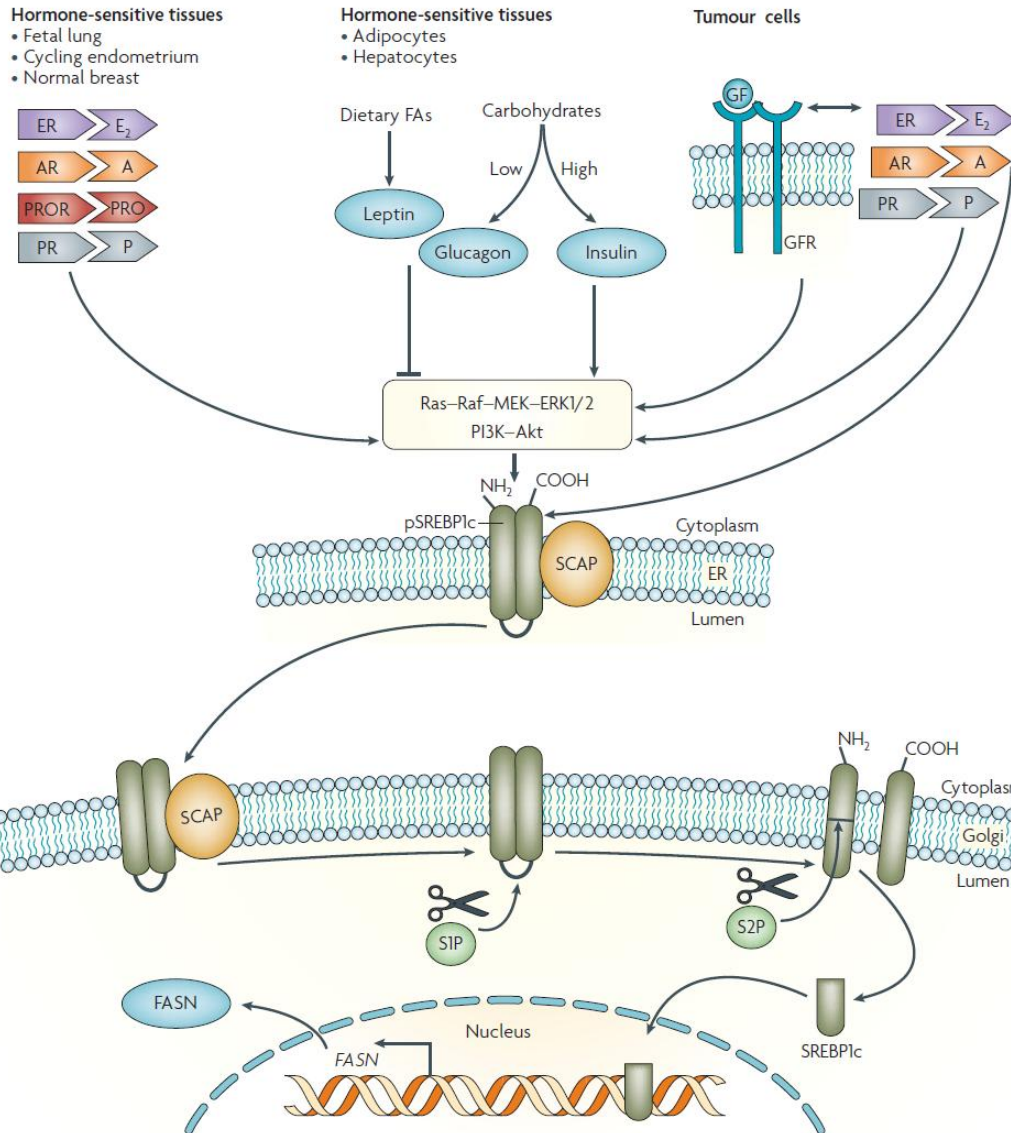


Figure 2 | **Two main pathways to regulate the expression of tumour-associated FASN.** **a** | On the surface of tumour cells, growth factor (GF)-dependent or independent autophosphorylation of receptor tyrosine kinases (RTKs) such as the GF receptors (GFRs) epidermal growth factor receptor (EGFR, also known as ERBB1) and ERBB2 (also known as HER2) leads to downstream activation of phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)–Akt and extracellular signal-regulated kinases (ERK1 and ERK2) signal transduction cascades. Steroid hormones (SH) including oestradiol ( $E_2$ ), progestins (P) and androgens (A) bound to their corresponding SH receptors (SHRs; ER, PR and AR, respectively) can also trigger identical transduction mechanisms. These ultimately stimulate fatty acid synthase (FASN) expression through the modulation of the expression and/or nuclear maturation of the transcription factor sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP1c), which binds to and activates sterol regulatory elements in the promoter region of FASN (see FIG. 3). Cross-talk between GFs–GFRs and SHs–SHRs converging on PI3K–Akt and mitogen-activated ERK kinase (MEK)–ERK cascades amplify the responses of FASN expression in hormone-responsive cancer cells. **b** | Tumour-associated FASN overexpression can also be achieved at the post-translational level through interaction with USP2a, a pre-proteasomal ubiquitin-specific protease that, by removing ubiquitin from FASN, strongly stabilizes the enzyme. It should be noted that these two pathways regulating FASN might concurrently take place in tumour cells. PTEN, phosphatase and tensin homologue.

# Modulace transkripčního faktoru SREBP1c (sterol regulatory element - binding protein)



Souvislost s regulací FASN u normálních a nádorových buněk.

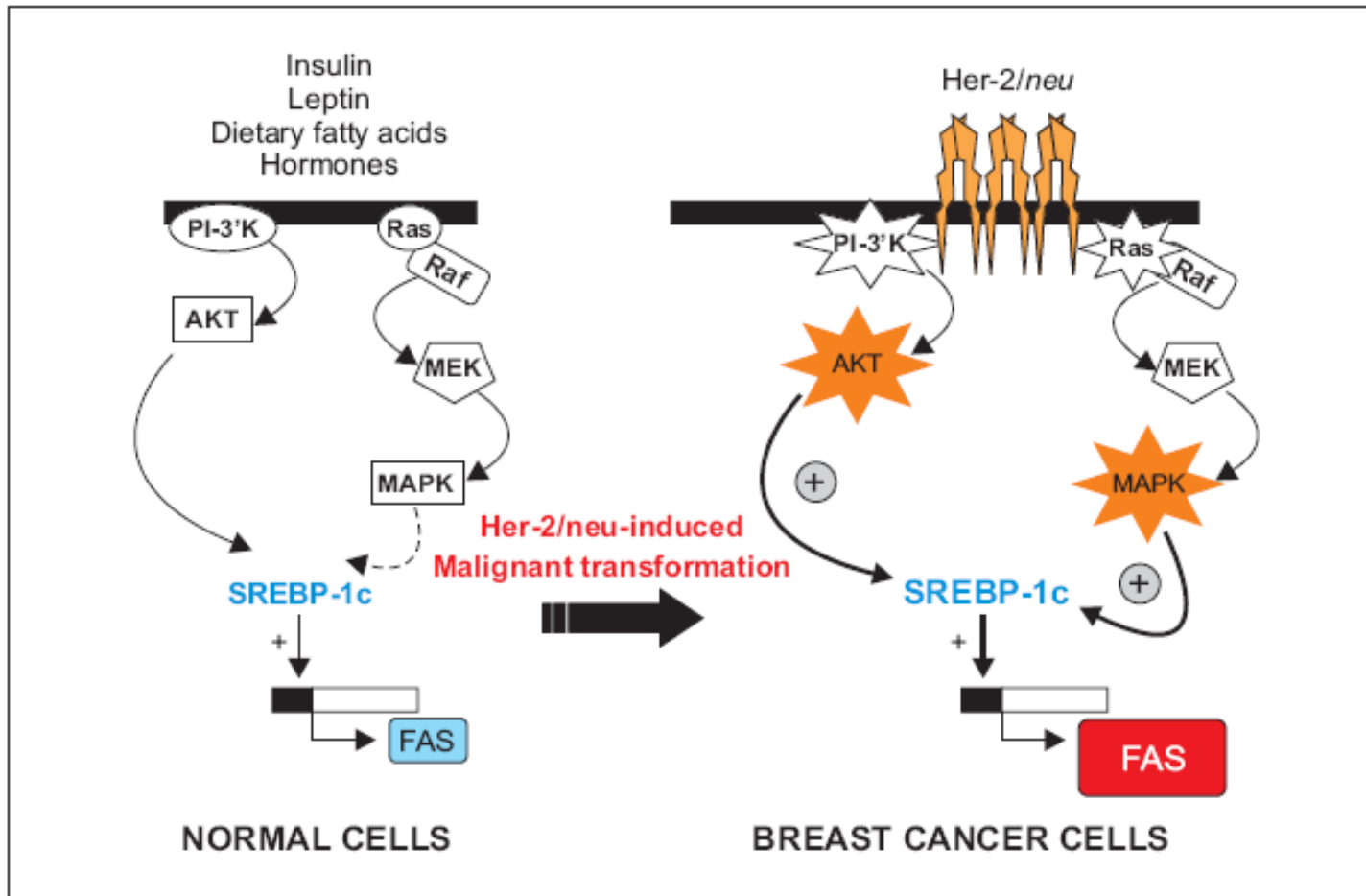
Hormonální a nutriční regulace FASN napojena částečně na PI3K/Akt a ERK1/2 signálovou transdukci regulující expresi a maturaci SREBP.

U nádorových buněk hyperaktivace této dráhy v důsledku onkogenní deregulace (nadprodukce růst. Faktorů, hyperaktivace receptorů, nebo ztráta funkce negativních regulátorů (např. PTEN) způsobí konstitutivní expresi či maturaci SREBP a transkripci FASN.

Figure 3 | Modulation of SREBP1c: a common partner for FASN regulation in normal and tumour cells. The pathways that regulate fatty acid synthase (FASN) expression in normal and tumour cells share identical downstream elements including sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP1c). In hormone-sensitive tissues (such as fetal lung, cycling endometrium and normal breast) and lipogenic tissues (such as hepatic and adipose tissues), FASN expression is regulated by hormones, carbohydrates, fatty acids (FAs) and fasting. This hormonal and nutritional regulation converges, at least in part, on phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)-Akt and extracellular signal-regulated kinases (ERK1 and ERK2) signal transduction cascades that modify either the expression and/or the maturation of SREBP1c. In tumour cells, SREBP1c expression and/or maturation will be constitutively driven by the aberrant hyperactivation of these pathways in response to a variety of oncogenic changes including overproduction of growth factors (GFs), ligand-dependent or independent hyperactivation of GF receptors (GFRs), and/or gain or loss of function of components of the signalling cascade such as loss of phosphatase and tensin homologue (PTEN) function. The inactive SREBP1c precursor (pSREBP1c) is anchored in the membrane of the endoplasmic reticulum (ER). The release of active SREBP1c requires SREBP cleavage-activating protein (SCAP), which forms a complex with pSREBP1c. When cellular demand for endogenous FAs rises, the pSREBP1c-SCAP complex exits the ER and travels to the Golgi apparatus to encounter active site-1 protease (S1P), which cleaves pSREBP1c into two halves that remain bound in the membrane. Site-2 protease (S2P) then cleaves the N-terminal half of pSREBP1c, releasing the cytoplasmic portion (SREBP1c) so it can travel to the nucleus and transcribe FASN. Cross-talk between GFs, GFRs, steroid hormones (SHs) and SH receptors (SHRs) converging on SREBP1c ensures robust responses to FASN expression in tumour cells. A, androgens; AR, androgen receptor; E<sub>2</sub>, oestradiol; ER, oestrogen receptor; P, progestins; PR, progesterone receptor; PRO, prolactin; PROR, prolactin receptor.



# Ovlivnění exprese a aktivity FASN



Zvýšení exprese a aktivity FAS během buněčné transformace, spojitost s působením a signálními drahami epidermálního růstového faktoru -EGF  
 Zvýšená exprese a aktivace receptoru Her-2/neu a aktivace PI3K/Akt a MAPK signálních drah u nádorů prsu.

# Děje na mitochondriích a oxidativní metabolismus

- VNMK fyzicky interagují s mitochondriální membránou, mění její permeabilitu otevíráním MTP (membrane permeability pores) a snižují tak membránový potenciál.
- DHA je přednostně inkorporována do kardiolipinu, fosfolipidu vnitřní mitoch. membrány. To souvisí se stupněm nenasycenosti, indukci oxidativního stresu, uvolněním cytochromu c a apoptózou.
- VNMK modulují hladinu proteinů rodiny Bcl-2 (Bid, Bcl-2), které interagují s lipidy mit. membrány.
- Zvýšené množství VNМК vyvolává oxidativní stres (produkce ROS, NOS a lipidová peroxidace)

# Souvislost mezi složením membrány a délkou života

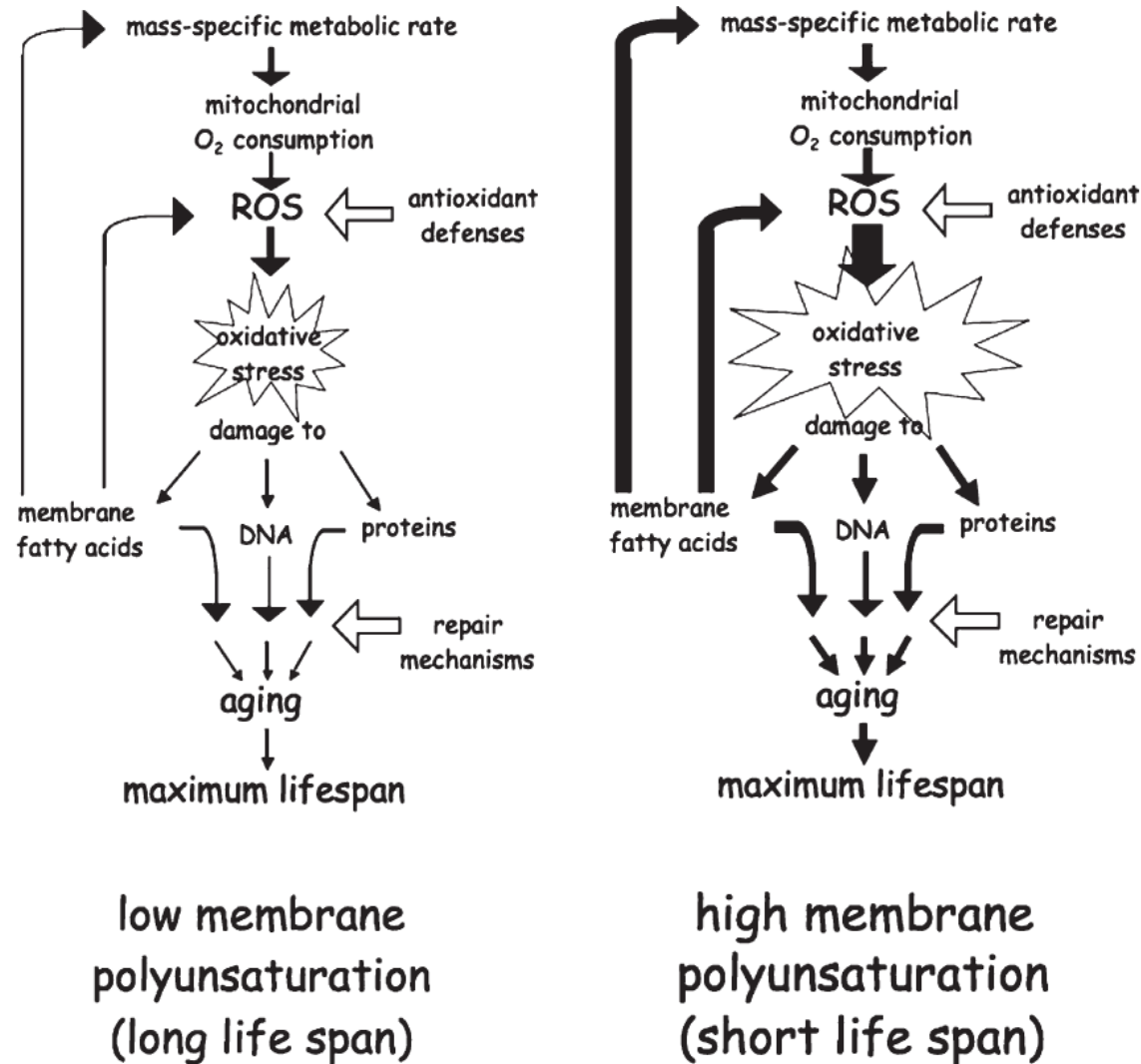


Fig. 5. Schematic outline of “membrane pacemaker” theory of aging. Two examples are shown. The example on the left represents a species with cellular membranes that have a low content of highly polyunsaturated acyl chains (and consequently has a relatively long maximum life span). The right hand example represents a species with cellular membranes with a high content of highly polyunsaturated acyl chains (and consequently has a low maximum life span). The thickness of arrows is used to indicate the relative intensity of the process between the two examples. Unfilled arrows (i.e. antioxidant defenses and repair mechanisms) represent negative influence.

# Souvislost mezi peroxidačním indexem fosfolipidů v jaterních mitochondriích a v kosterním svalstvu a max. délkou života savců a ptáků

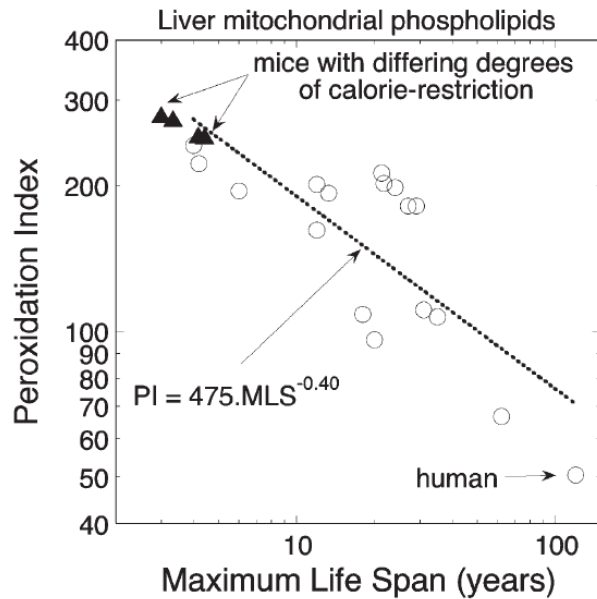


Fig. 7. Relationship between peroxidation index (PI) of liver mitochondrial phospholipids and maximum life span (MLS) of mammals and birds. Solid circles show data for mice under 4 levels of food energy intake (from Faulks et al., in press). Open circles show data for a variety of mammal and bird species (from Hulbert, 2005). Data point for humans are also identified.

- Zvýšená polynenasycenost membránové dvojvrstvy (zejména následkem obsahu DHA) – změněné fyzikální vlastnosti, zvýšená molekulární aktivita membránových proteinů, zvýšení metabolické aktivity buněk, tkání a celého organismu
- Zvýšená peroxidace a oxidativní stres
- „Membrane pacemaker“ teorie stárnutí

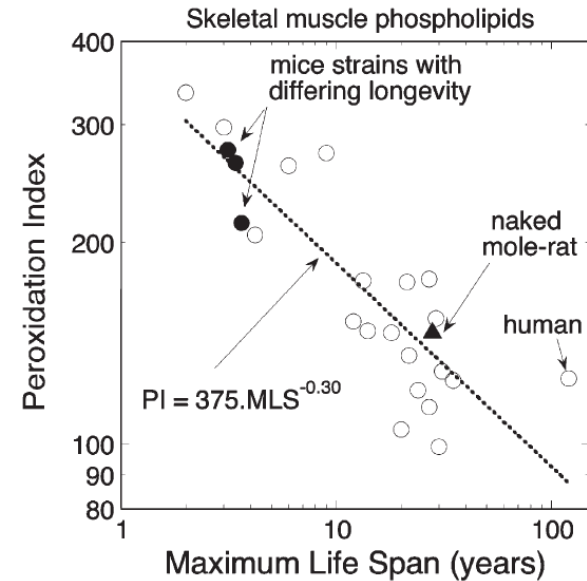
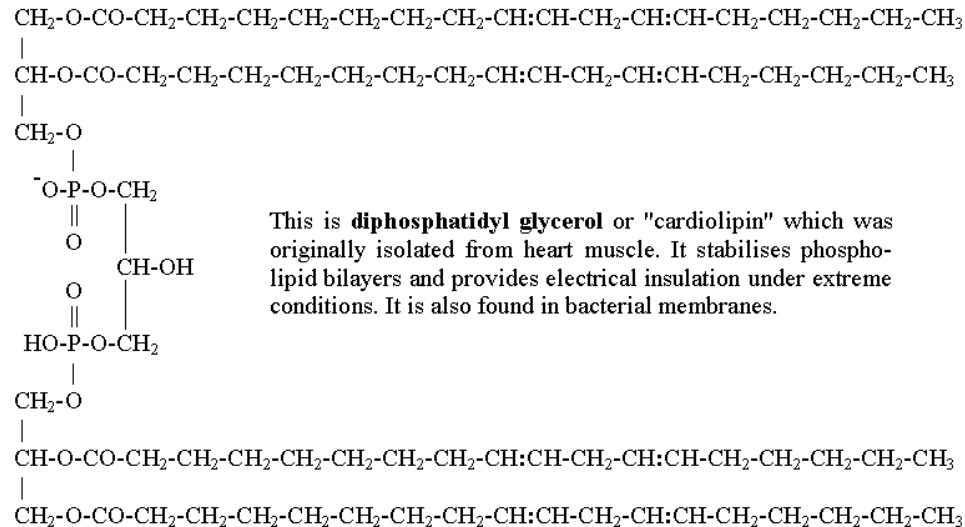
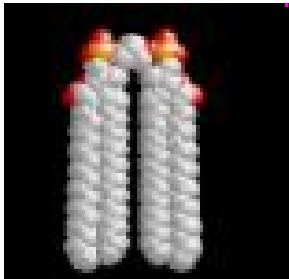


Fig. 6. Relationship between peroxidation index (PI) of skeletal muscle phospholipids and maximum life span (MLS) of mammals and birds. Solid circles show data for three strains of wild-derived mice that differ in longevity (from Hulbert et al., 2006a). Solid triangle shows data for the mouse-sized naked mole rat (from Hulbert et al., in press). Open circles show data for a variety of mammal and bird species (from Hulbert, 2005). Data point for humans are also identified.

# Kardiolipin (Difosfatidyl glycerol, glycerolfosfolipid)

## Hlavní součást membrán mitochondrií



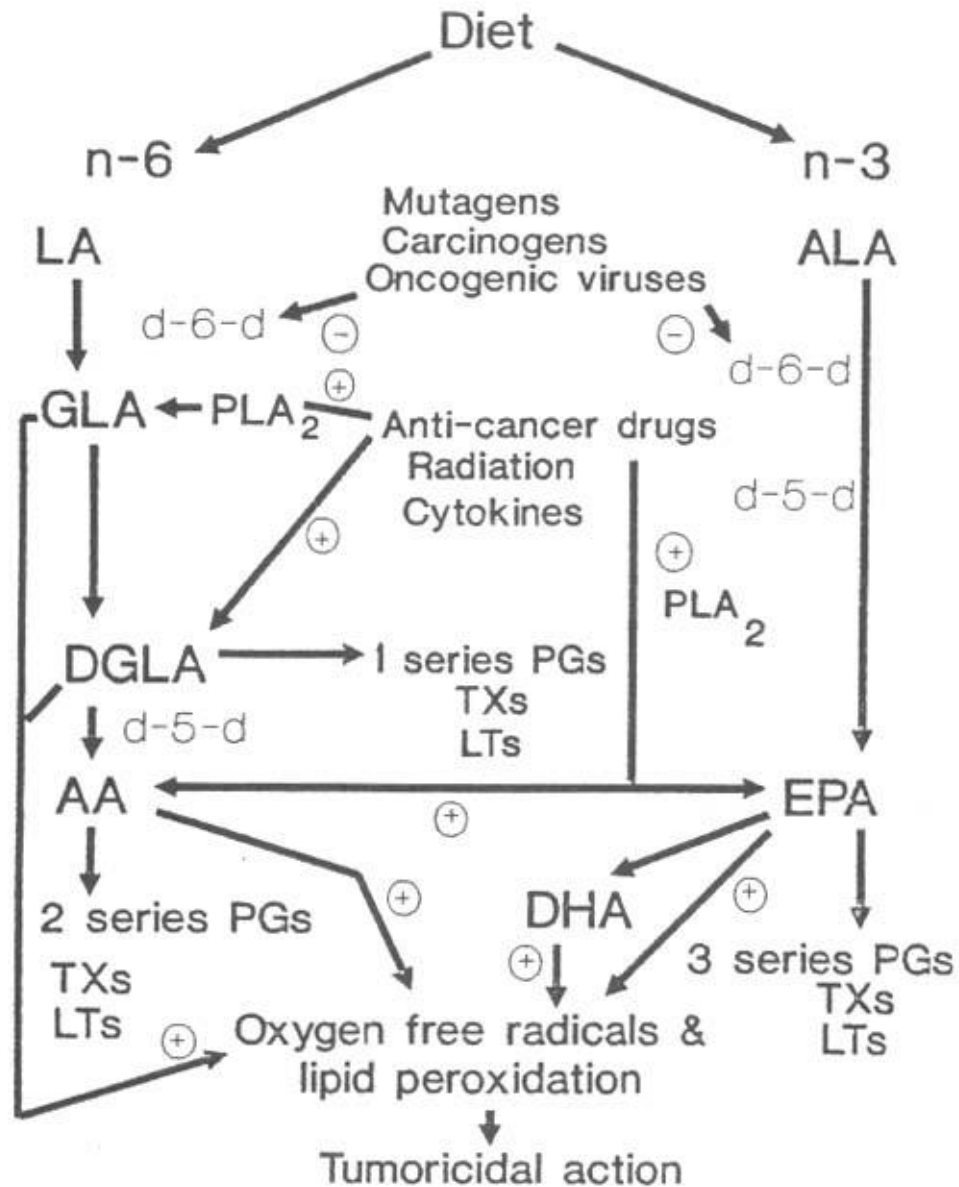
This is **diphosphatidyl glycerol** or "cardiolipin" which was originally isolated from heart muscle. It stabilises phospholipid bilayers and provides electrical insulation under extreme conditions. It is also found in bacterial membranes.

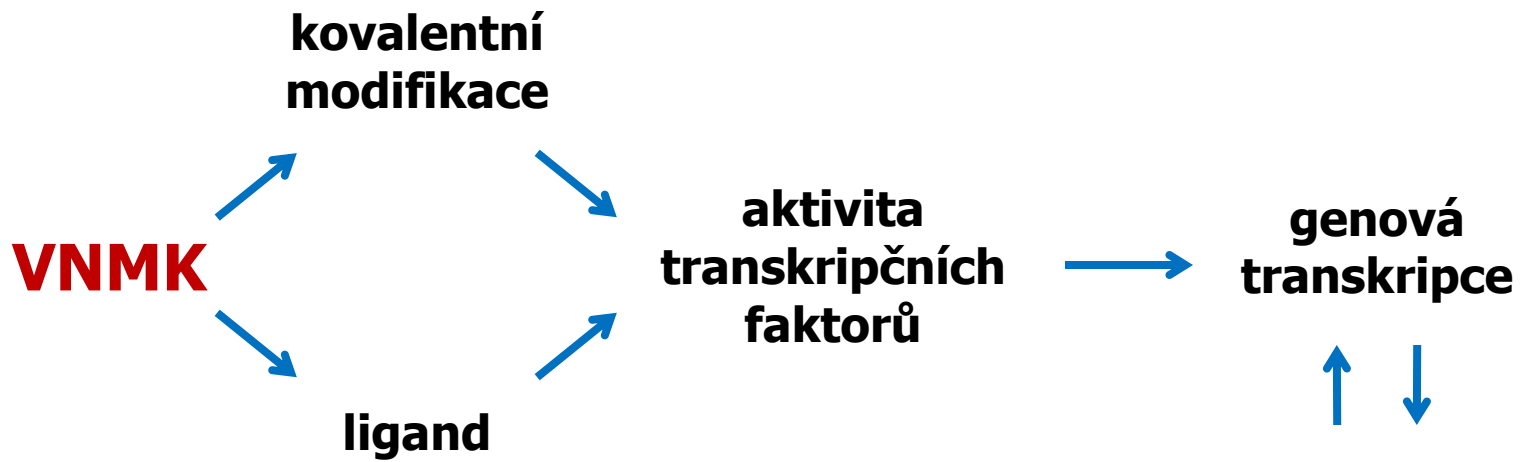
- sn-1 – SFAs – LA, OA
- sn-2 – PUFAs – DHA – přednostně se vestavuje do kardiolipinu – mění nenasycenost mit. membrány a oxidativní metabolismus.
- Souvislost s aktivitou cytochrom c oxidázy a uvolňováním cytochromu c
- Význam pro apoptózu



# Metabolismus VNMK eikosanoidy

# Souvislost metabolismu VNMK s karcinogenezí







# Fosfolipáza A2

Enzym účastnící se lipidového metabolismu, důležitý pro řadu buněčných procesů.

Tři skupiny:

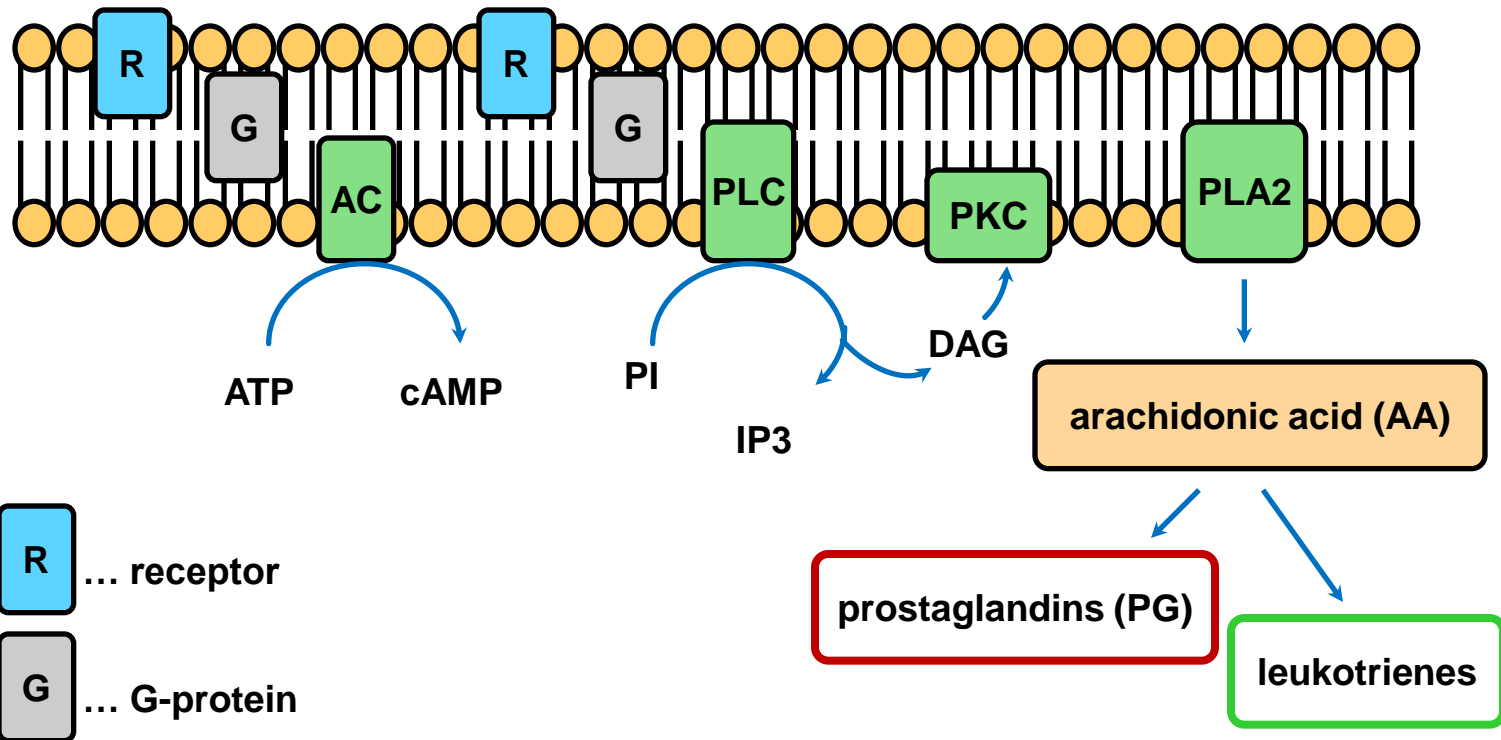
- sekretovaná PLA2 (sPLA2),
- na vápníku nezávislá PLA2 (iPLA2),
- na vápníku závislá cytosolová PLA2 (cPLA2).

Kromě úlohy v buněčném signálování souvisejí PLA2 s různými patologickými stavy, včetně zánětu, tkáňové reparace a nádorů.

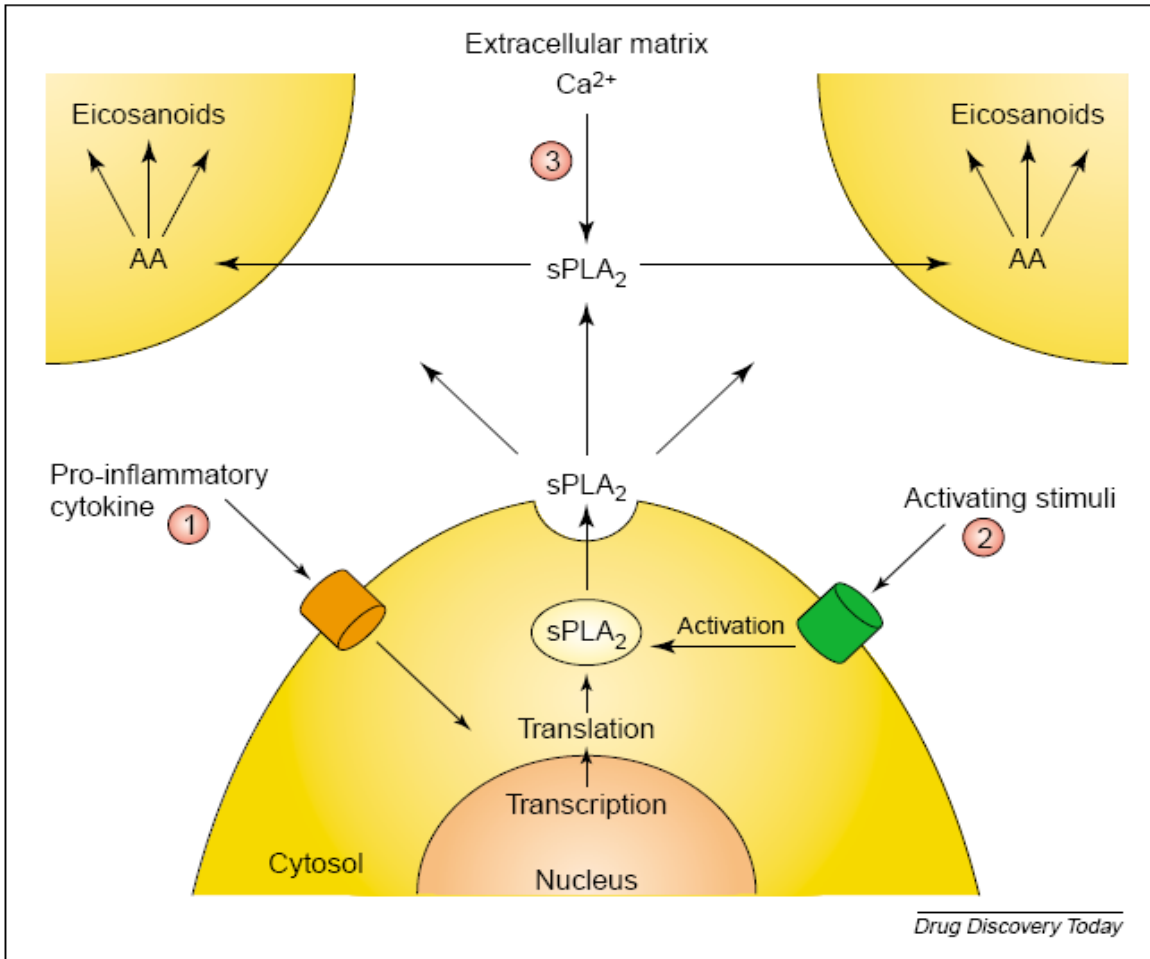
U řady nádorů jsou hladiny sPLA2 a cPLA2 zvýšeny.

PLA2 jsou také cílem protinádorové terapie

# Přenos signálu







*Drug Discovery Today*

**Figure 2.** sPLA<sub>2</sub> participating in an inflammatory response. (1) Pro-inflammatory cytokines such as tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) or interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) induce cellular expression of sPLA<sub>2</sub>. (2) Activating factors cause release of sPLA<sub>2</sub> from secretory granules into the extracellular matrix. (3) In the presence of millimolar concentrations of Ca<sup>2+</sup>, sPLA<sub>2</sub> hydrolyzes membrane-bound phospholipids of neighbouring cells. Released fatty acids, such as arachidonic acid, are further metabolized into eicosanoids, generating an inflammatory response in neighbouring cells.

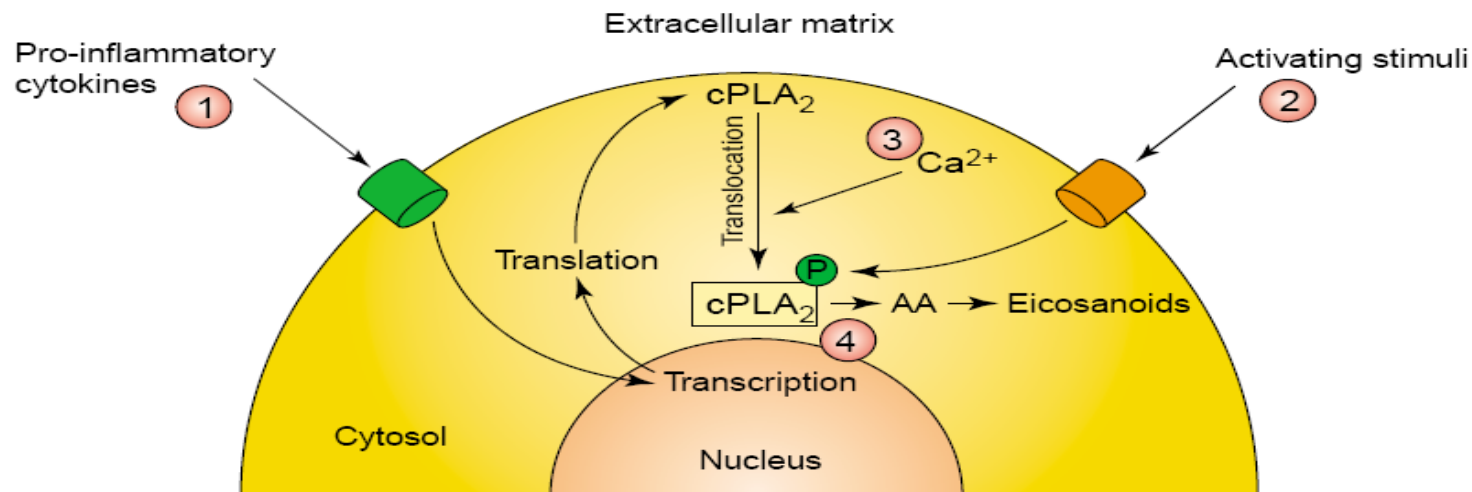
## sPLA2 v zánětlivé odpovědi

Prozánětlivé cytokiny indukují expresi sPLA2.

Aktivační faktory uvolňují sPLA2 ze sekrečních granul do ECM..

Za přítomnosti Ca<sup>2+</sup> sPLA2 hydrolyzuje membránové fosfolipidy sousedních buněk.

Uvolnění AA a následná tvorba eikosanoidů indukuje zánět.



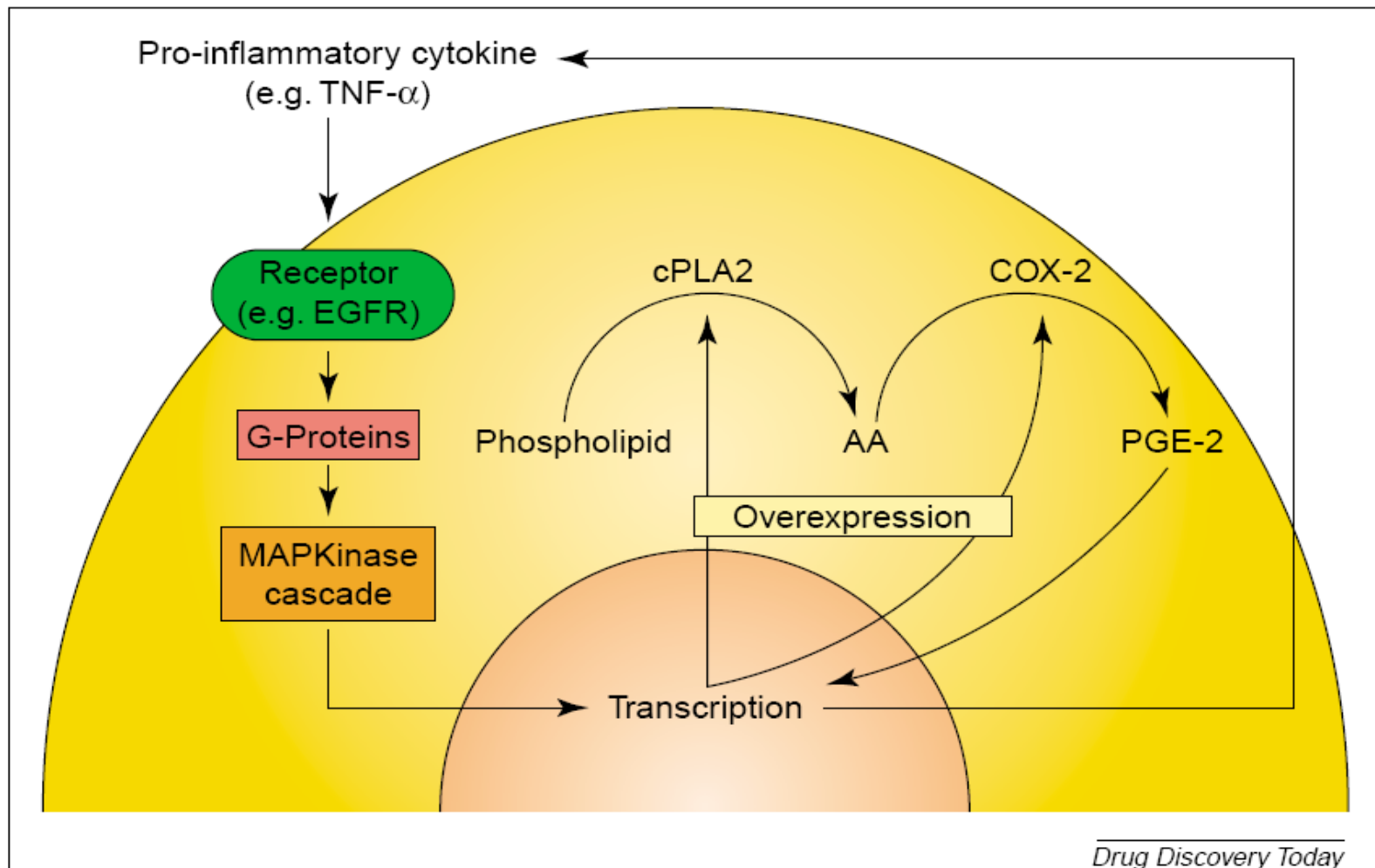
*Drug Discovery Today*

**Figure 3.** Activation of cPLA<sub>2</sub>-α. (1) Pro-inflammatory cytokines including tumour necrosis factor α induce expression of cPLA<sub>2</sub>-α. (2) Activation leads to mitogen-activated protein kinase-pathway-directed phosphorylation of cPLA<sub>2</sub>-α. (3) Extracellular influx or mobilization of intracellular stores of Ca<sup>2+</sup> bring about cPLA<sub>2</sub>-α translocation from the cytosol to perinuclear membranes. This brings cPLA<sub>2</sub>-α in close proximity to both its substrate and enzymes involved with eicosanoid synthesis. (4) Activated cPLA<sub>2</sub>-α lyses membrane phospholipids providing arachidonic acid (AA) to a range of enzymes involved with eicosanoid synthesis, specifically COX and LOX.

## Aktivace cPLA2

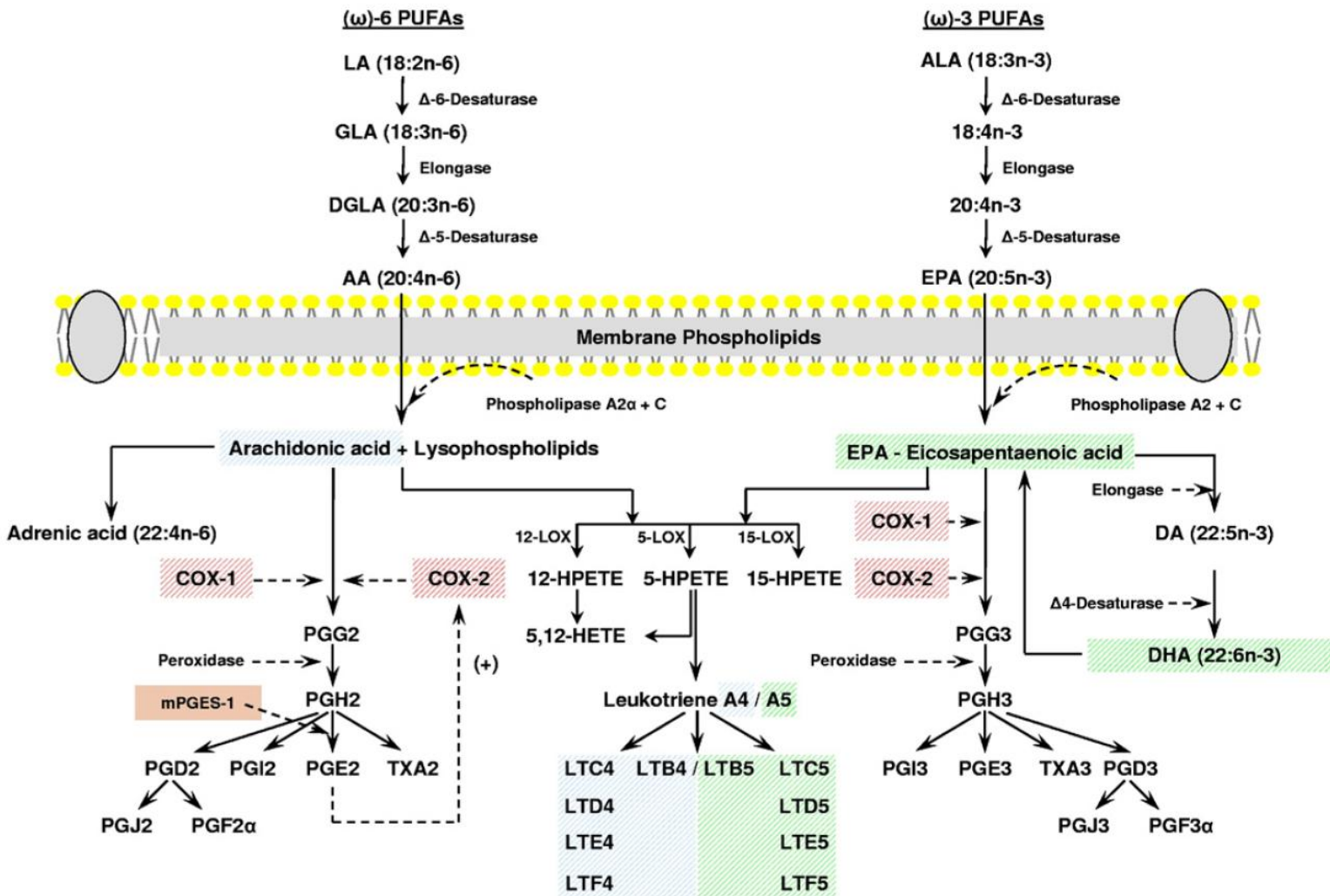
Prozánětlivé cytokiny indukují expresi cPLA2. Následuje fosforylace zprostředkovaná MAP kinázami. Ca<sup>2+</sup> způsobuje translokaci cPLA2 z cytosolu do perinukleární membrány, kde je také její substrát a enzymy nutné k tvorbě eikosanoidů. Aktivovaná cPLA2 lyzuje membránové fosfolipidy a uvolňuje AA, která je metabolizovaná COX a LOX.

# Model konstitutivní overexprese cPLA2 a COX-2 u nádorových buněk



**Figure 4.** Model of constitutive overexpression of cPLA<sub>2</sub> and COX-2 in tumour cells (reviewed in [4]).

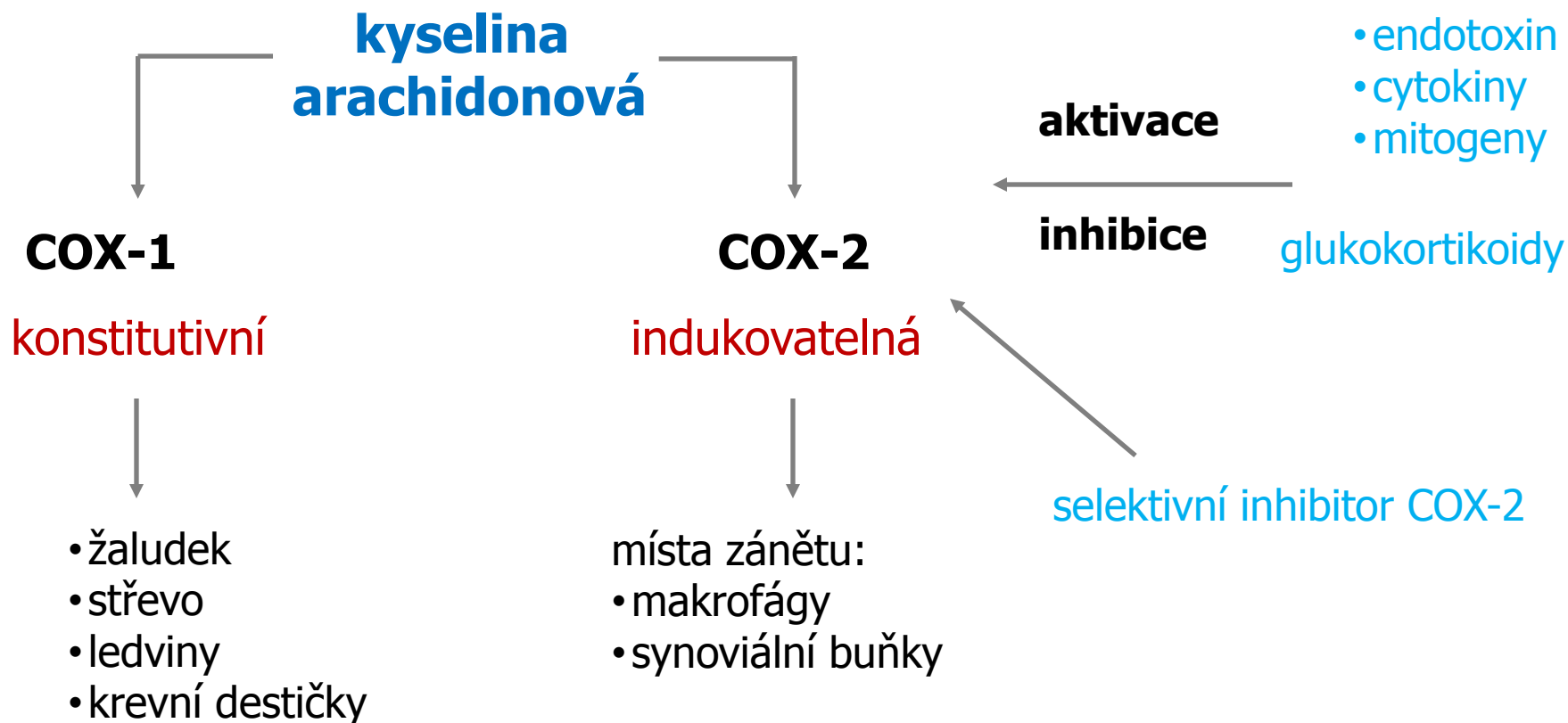
# Schéma hlavních drah přeměny n-6 a n-3 VNMK

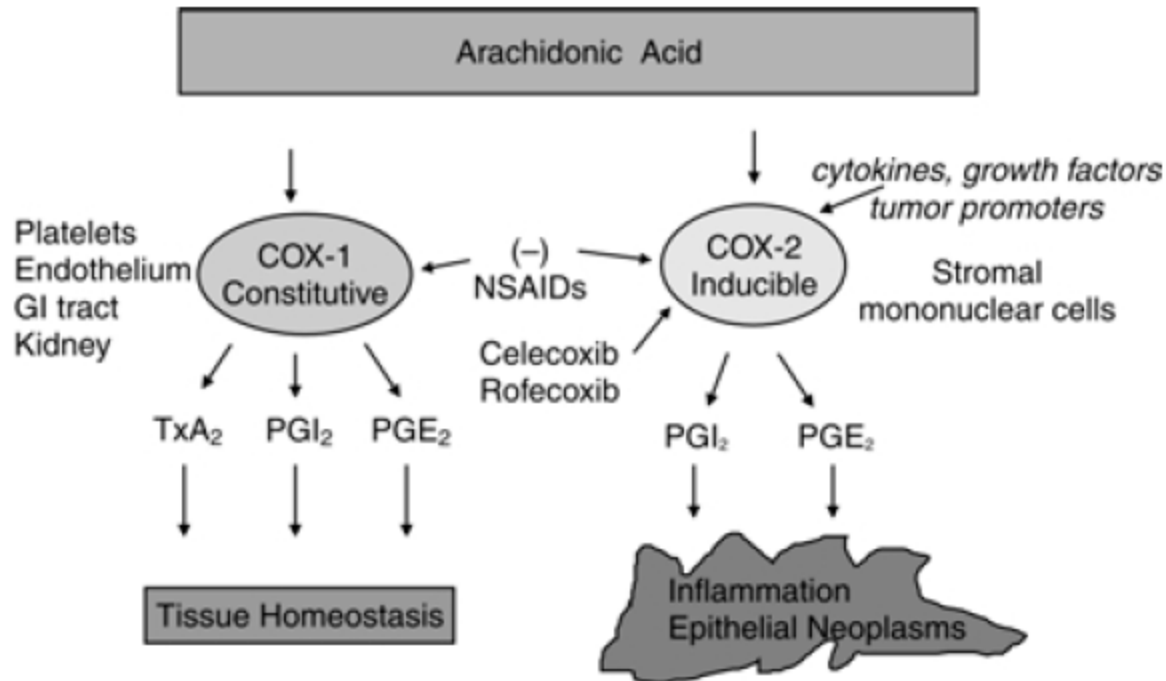






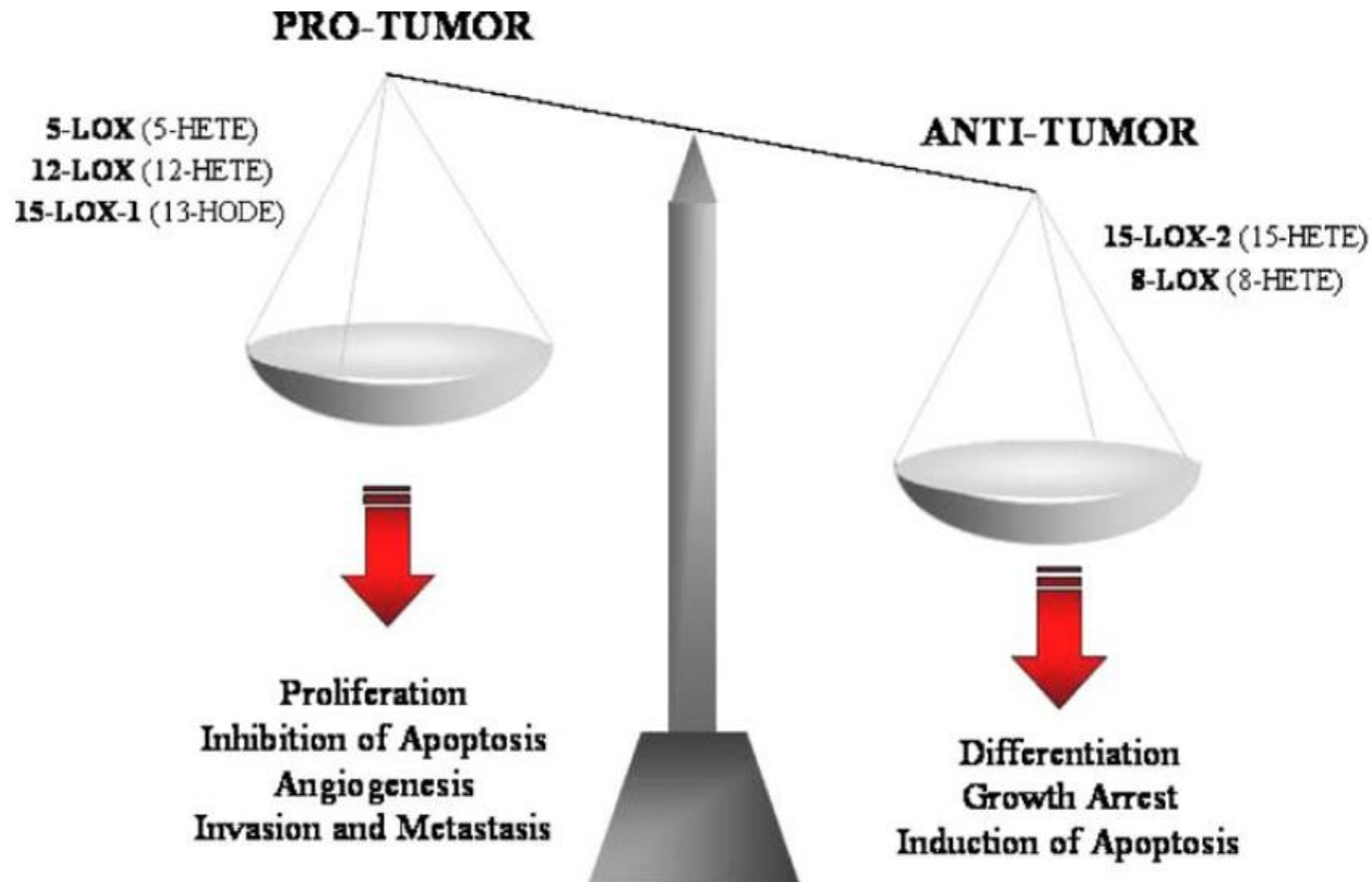
# Cyklooxygenázové dráhy





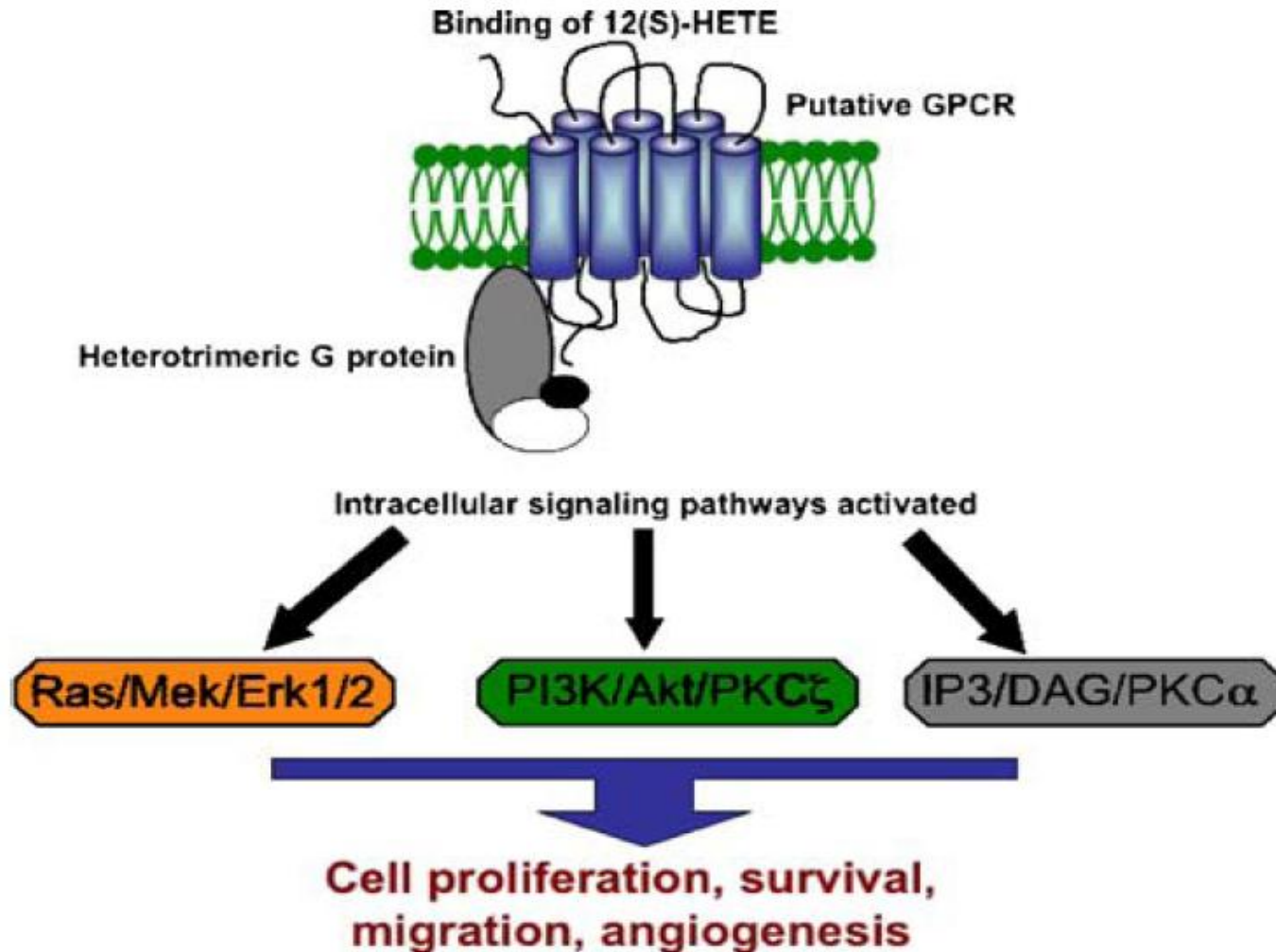
*Figure 1.* COX isoforms include constitutive COX-1 which is involved in normal tissue homeostasis and inducible COX-2 which is upregulated at sites of inflammation and in colorectal neoplasms. NSAID inhibit both COX isoforms, whereas COX-2 inhibitors are selective for the COX-2 enzyme. TxA<sub>2</sub> = -thromboxane.

# ÚLOHA LIPOXYGENÁZ (LOX) V ROZVOJI NÁDORU



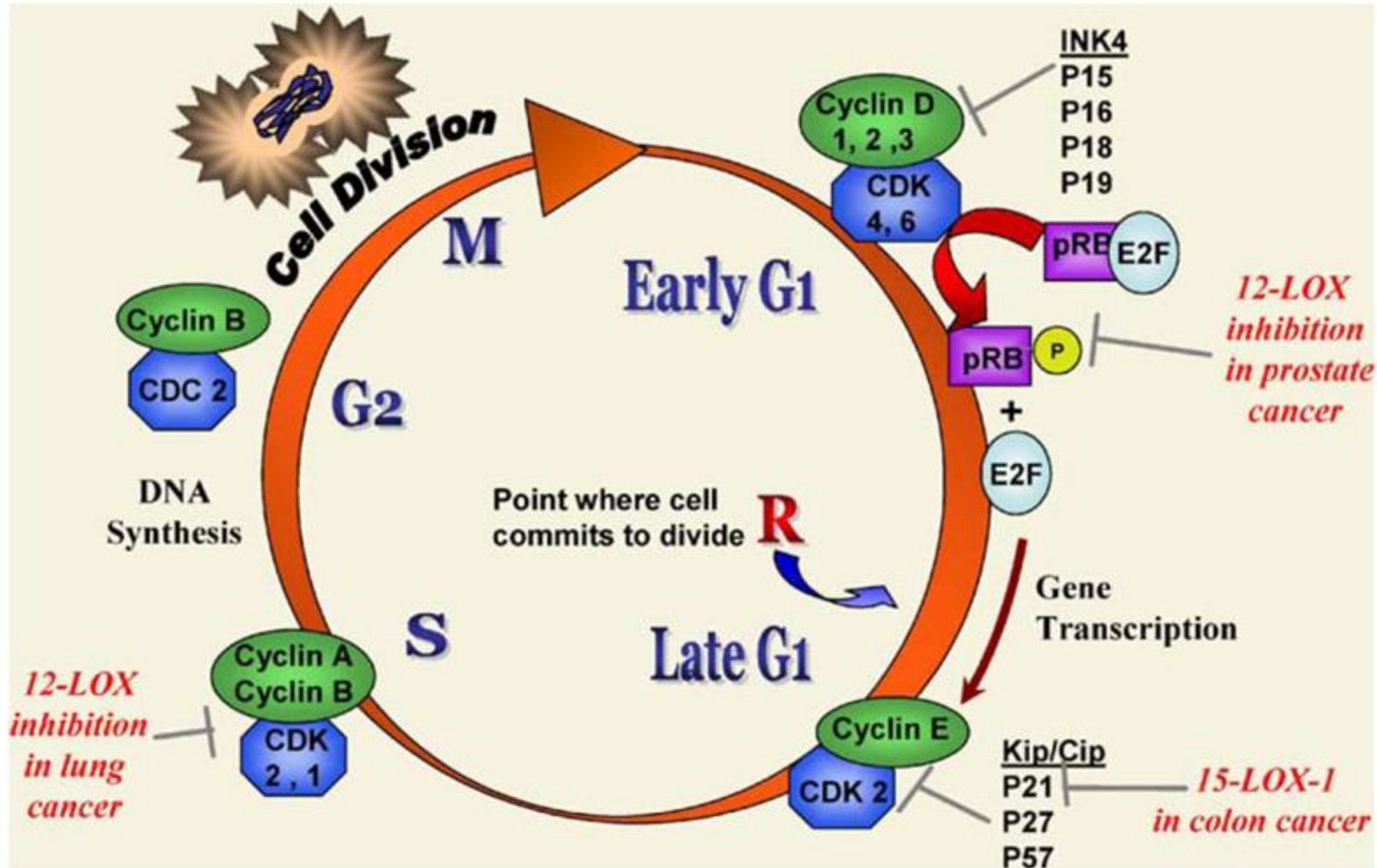
Rovnováha v produkci různých isoformů LOX (pro- i protinádorově působících) a jejich biologická aktivita rozhoduje o vývoji nádorů.

# Signální dráhy aktivované 12(S)-HETE



12(S)-HETE se váže na receptory spojené s G-proteiny. Aktivace receptoru spouští vnitrobuněčné signální dráhy, např. ERK, PI3K/Akt, IP3/DAG zprostředkující funkční odpověď zahrnutou v progresi nádoru.

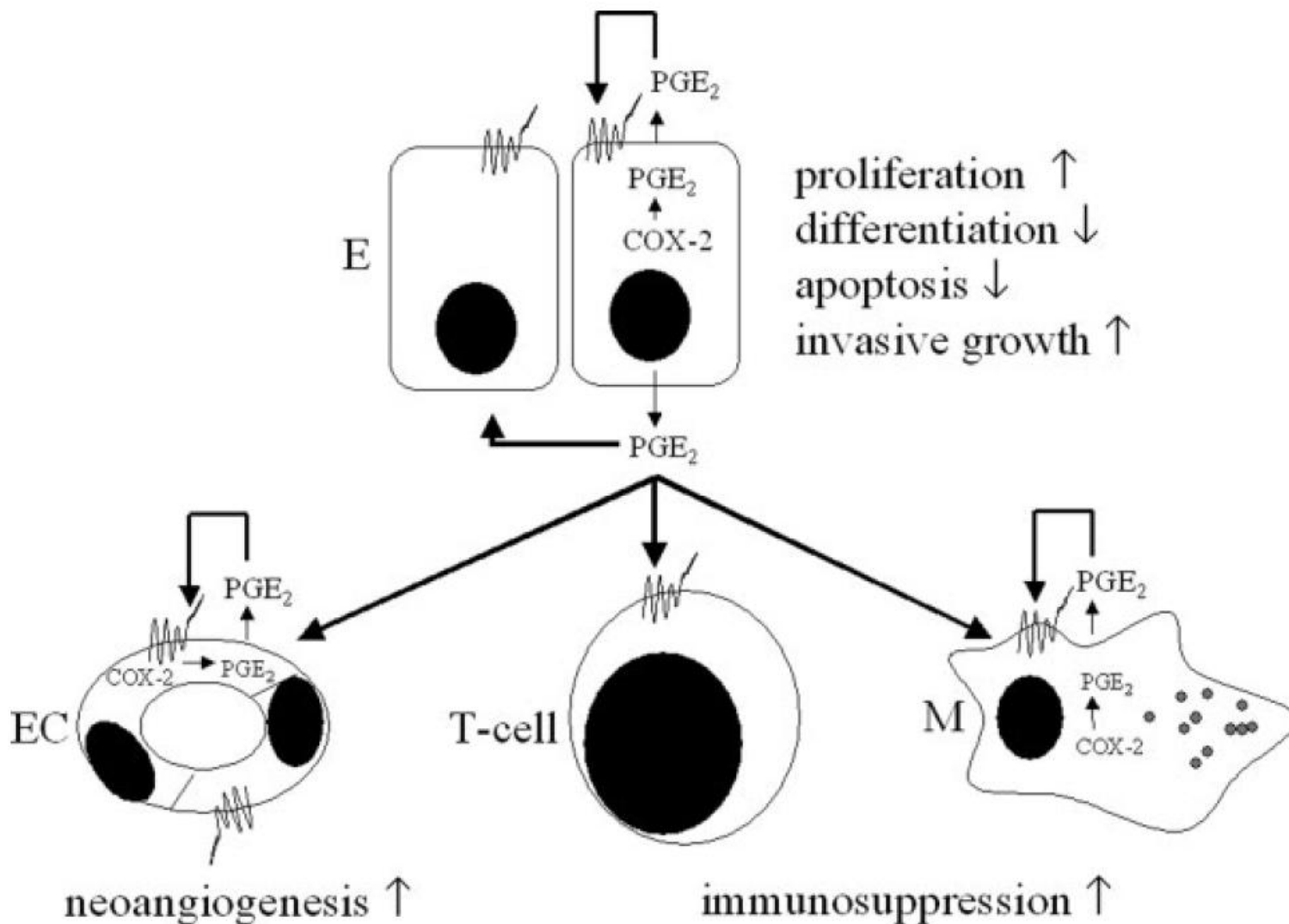
# Metabolismus LOX podporuje průchod buněk buněčným cyklem



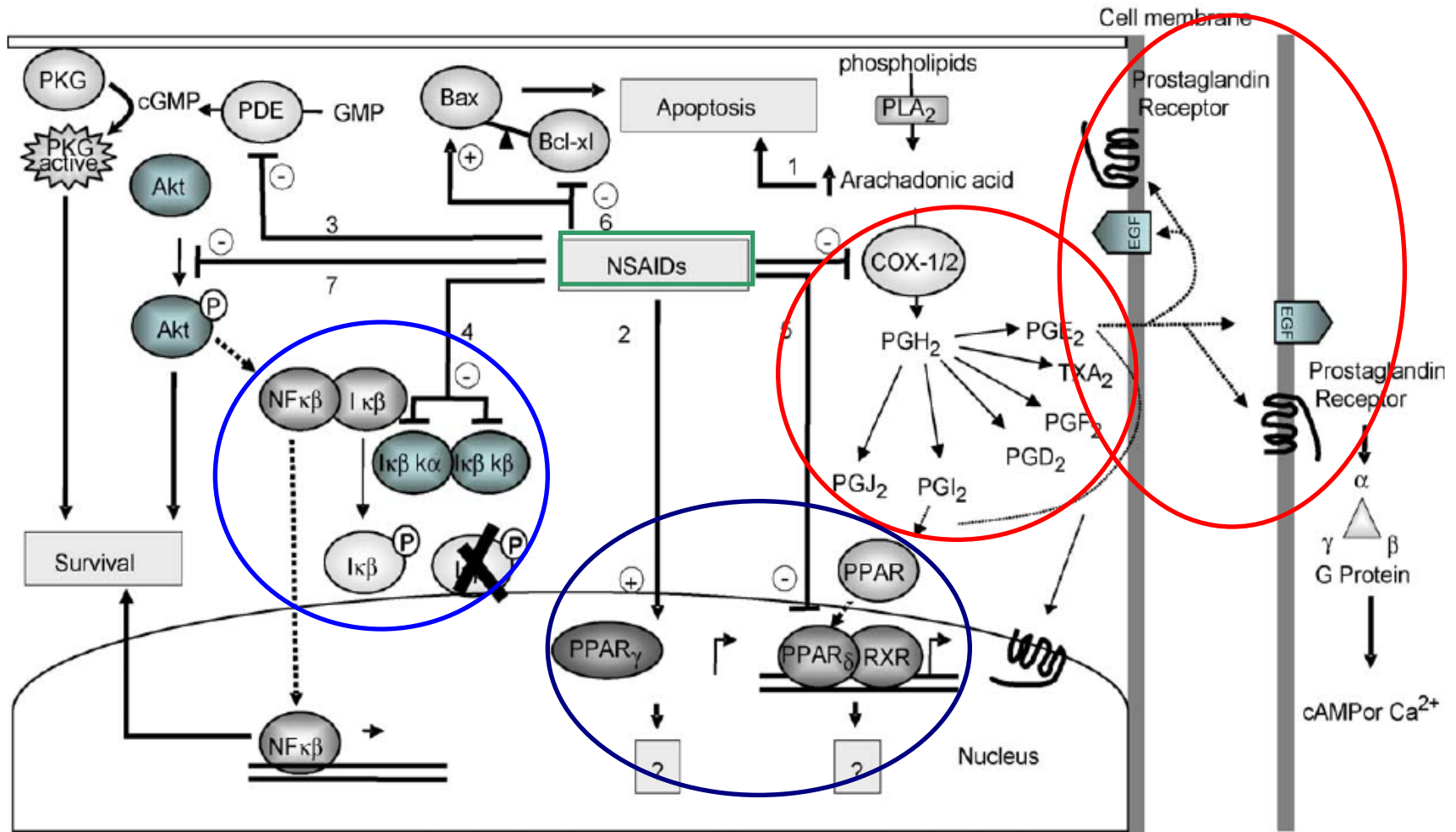
12- a 15-LOX a jejich metabolity podporují průchod nádorových buněk buněčným cyklem. Jejich inhibice způsobuje zástavu buněčnou cyklu následovanou obvykle apoptózou.

# Účinky nesteroidních protizánětlivých látek - NSAIDs

Tlumí pronádorové a imunosupresivní působení COX-2 a PGE<sub>2</sub>



# Hlavní molekulární cíle COX-2 a NSAIDs



# Účinky omega-3 nenasycených mastných kyselin na růst nádoru

S.N. Stehr, A.R. Heller / Clinica Chimica Acta 373 (2006) 1–8

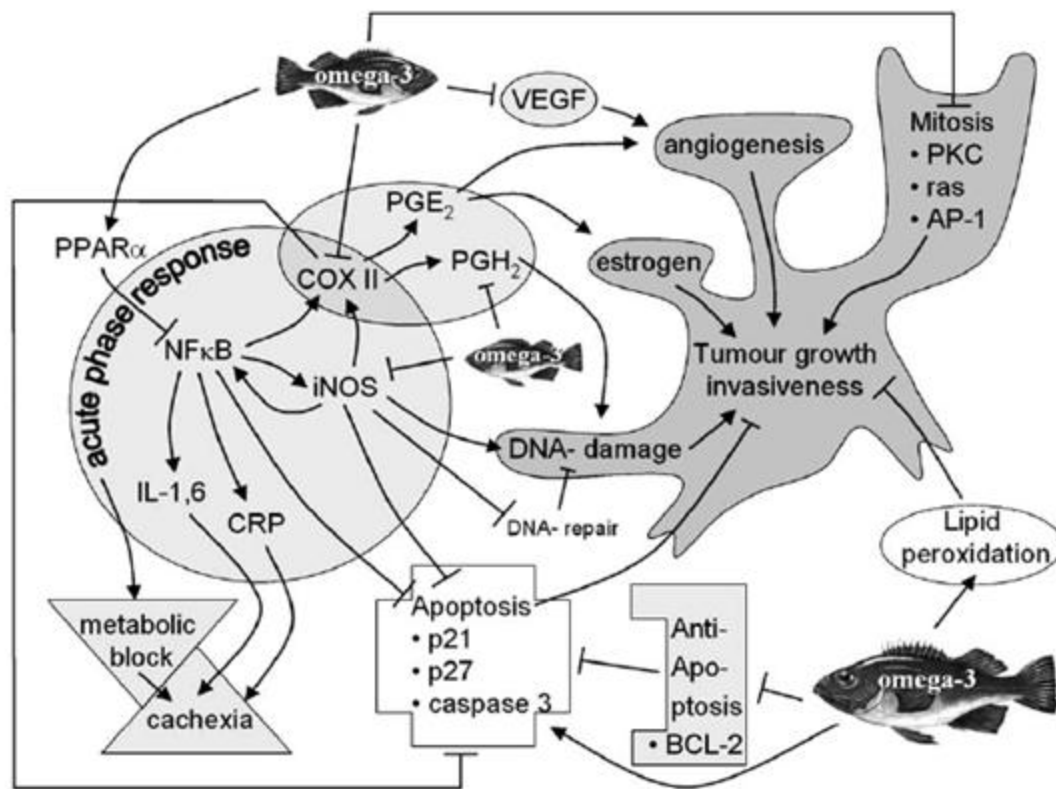


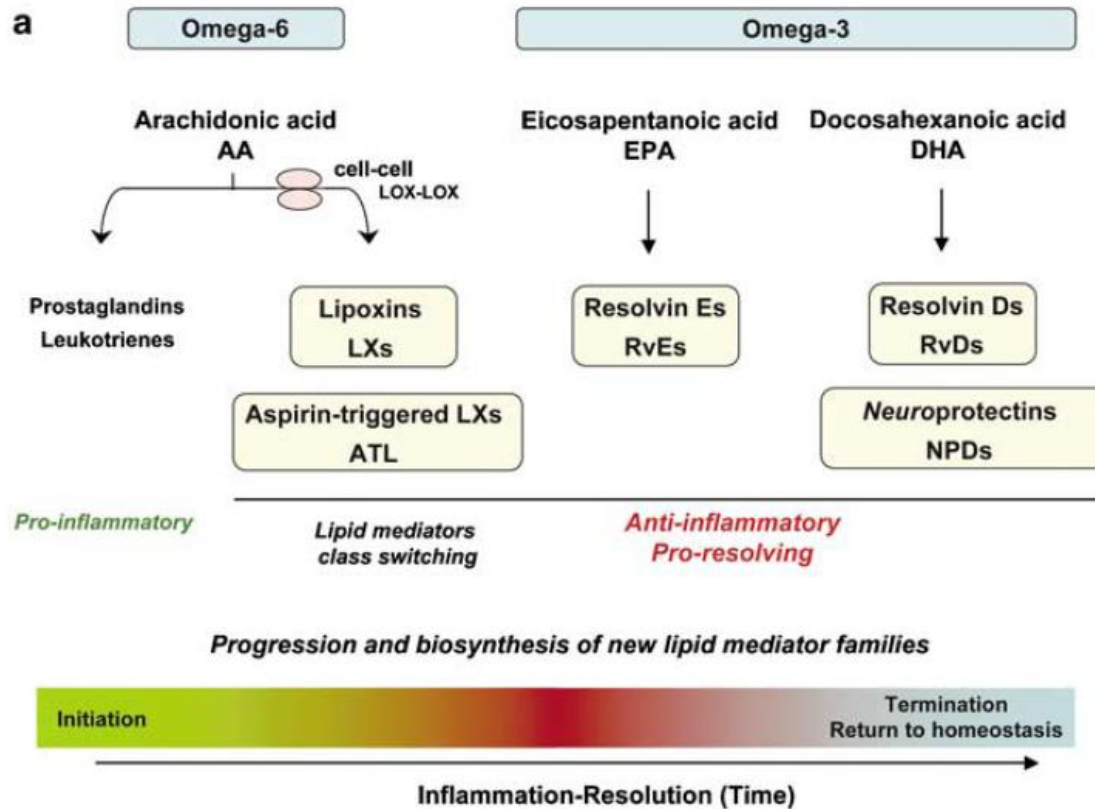
Fig. 1. Mechanisms of omega-3 FA action in tumor growth. Cyclooxygenase (COX) II and inducible NO synthase (iNOS) are key propagators of tumor development and inhibitors of tumoricidal activity. → favors activity; ⊥ blocks activity [1].

**COX-2** a **i-NOS** jsou klíčové molekuly podporující rozvoj nádorů a blokují protinádorovou aktivitu

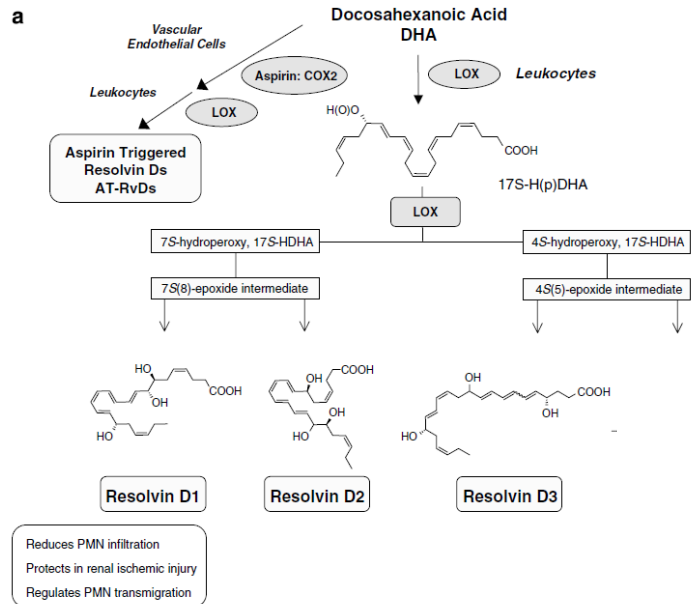


# Nové lipidové mediátory odvozené od omega-3 PUFAs

## Resolviny a neuroprotektiny

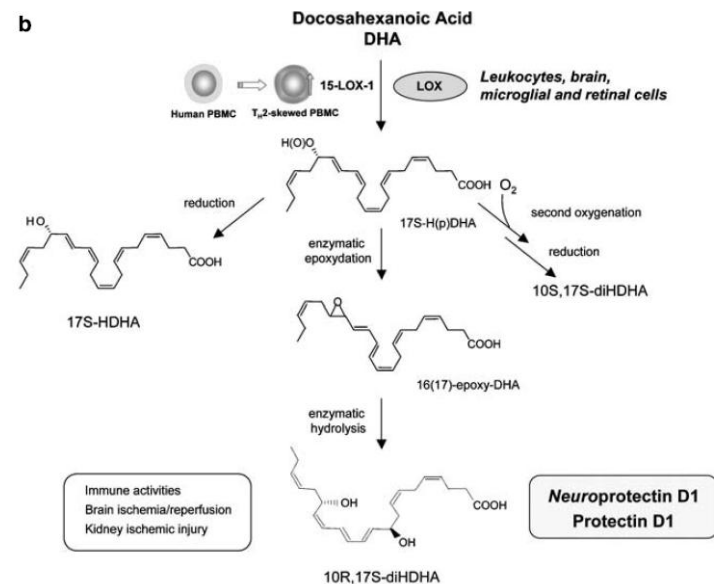


# Produkce a struktura mediátorů odvozených od DHA



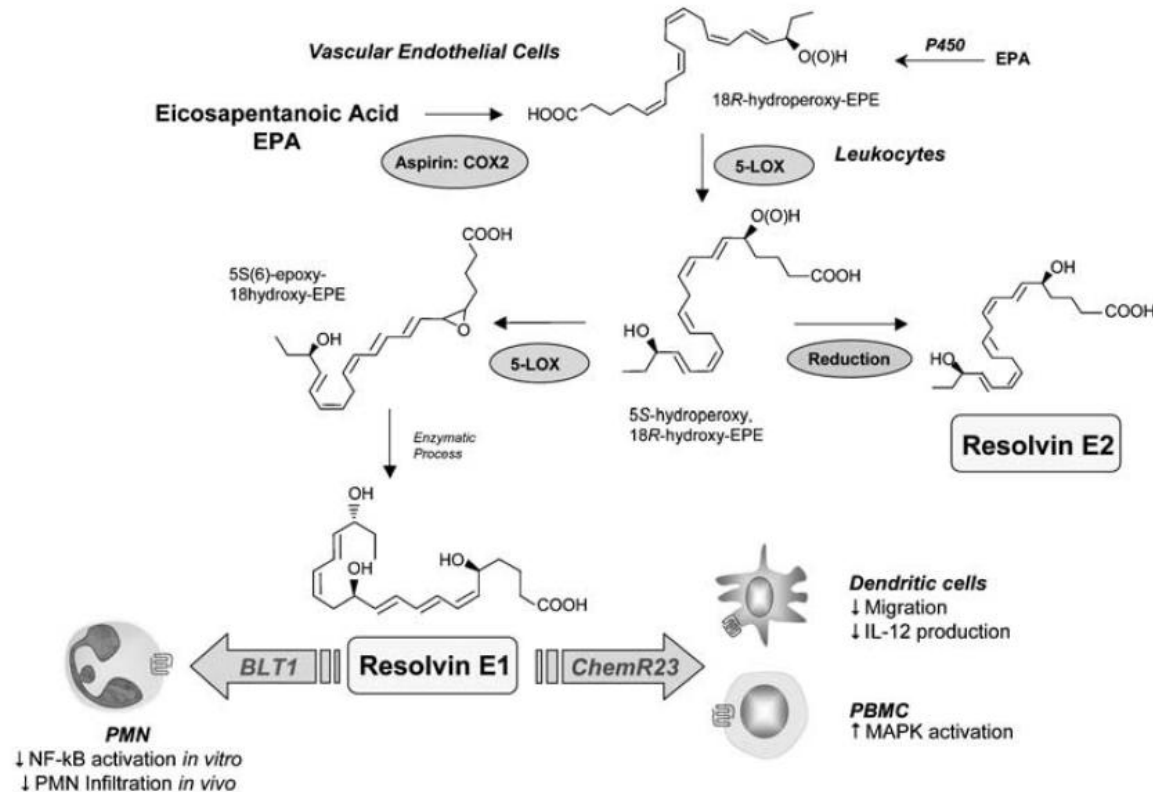
## D resolvin

## D Neuroprotektiny



**Figure 3** D-series resolvins and protectins. (a) Resolvin Ds: formed from docosahexaenoic acid (DHA), the proposed biosynthetic pathways reconstructed *in vitro* involve the lipoxygenase (LOX) product 17S-H(p)DHA, which is rapidly transformed by the LOX activity in human polymorphonuclear leukocyte (PMN) into two epoxide intermediates. These two novel epoxide intermediates open to form bioactive products denoted 17S-resolvin D series (RvD1-4). Aspirin also impacts the formation of resolvin D series by catalytically switching COX-2 to a 17R-lipoxygenase-like mechanism that generates 17R-H(p)DHA, and subsequently 17R-resolvin D series (AT-RvDs). (b) Protectins: the initial enzymatic product 17S-H(p)DHA is converted to neuroprotectin D1/PD1. The complete stereochemistries of the bioactive mediators and related natural isomers are established (see text for further details).

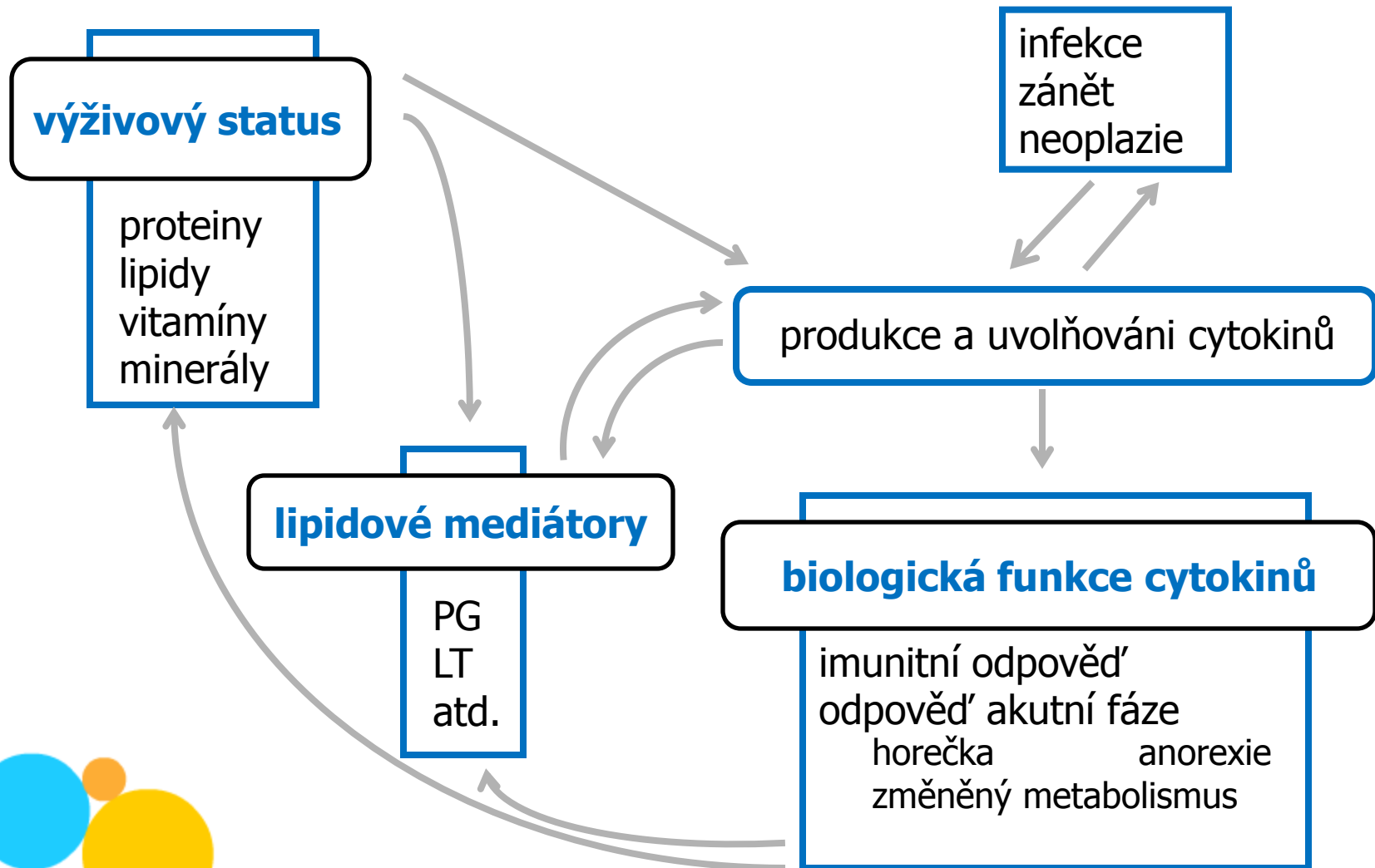
# Produkce a struktura mediátorů odvozených od EPA



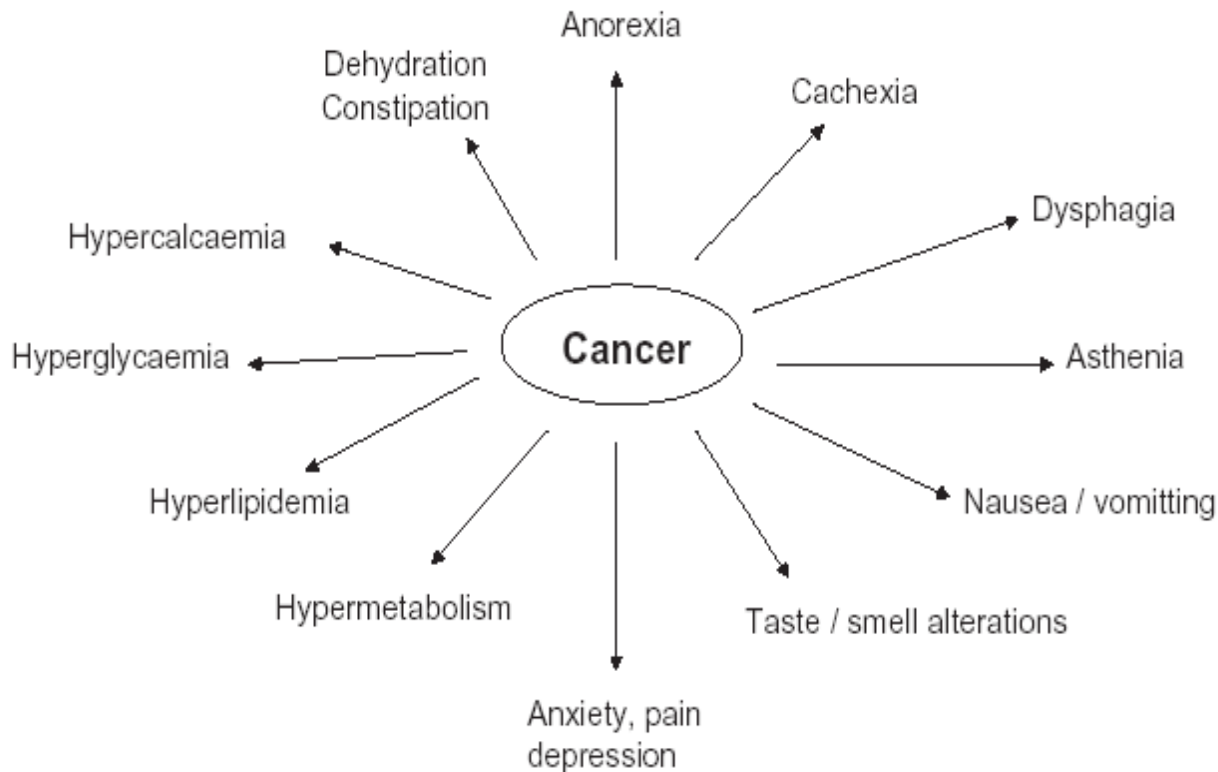
**Figure 2** E-series resolvins. Aspirin impacts the formation of resolvin E1 (RvE1) by acetylating COX-2 in vascular endothelial cells that stereoselectively generate 18*R*-hydroperoxy-EPE (18*R*-H(p)EPE). 18*R*-HEPE is further converted via sequential actions of leukocyte 5-LOX, leading to formation of RvE1. The complete stereochemistry of RvE1 was recently established. Microbial P-450s can also contribute to RvE biosynthesis via converting eicosapentaenoic acid (EPA) to 18-HEPE (Arita *et al.*, 2005b). Human recombinant 5-LOX also generates resolvin E2 (RvE2) from 18-HEPE. At least two separate GPCRs can specifically interact with RvE1: (1) ChemR23, on mononuclear cells and DCs, and (2) BLT1, on human PMN. Also, when expressed on epithelial cells ChemR23 and RvE1 stimulated CD-55-dependent clearance of PMN from the mucosal surface (Campbell *et al.*, 2007).

# Praktické aspekty - klinika

Vzájemné vztahy mezi výživou a infekčními a zánětlivými chorobami zprostředkovanými cytokiny



# Klinické symptomy vznikající u pacientů v průběhu nádorového onemocnění



**Figure 5** Cancer at the whole body level. A range of clinical symptoms burden the patient during cancer.



# Praktické aspekty poznatků o působení mastných kyselin

Nejedná se o farmaka, součást stravy, poměrně vysoké dávky (0,5-2g)

## VYUŽITÍ : DIETETICKÁ DOPORUČENÍ

Zdraví a prevence chorob

Středomořská dieta

Funkční potraviny

Potraviny pro zvláštní lékařské účely



## TERAPEUTICKÉ VYUŽITÍ – nutriční farmakologie

Imunomodulace, antikachektické účinky, kombinovaná terapie, adjuvantní terapie, „disease specific nutrition“, nosiče léků



## PARENTERÁLNÍ A ENTERÁLNÍ VÝŽIVA

optimalizace složení  
lipidových emulzí



# Obsah mastných kyselin v tucích obilovin a luštěnin

Tab. 24. Obsah mastných kyselin v tucích obilovin a luštěnin (Davídek a kol., 1983)

Mastná kyselina	Počet C : dvojj. vazbám	Obsah % z veškerých mastných kyselin				
		Pšenice	Žito	Oves	Rýže	Sója
Palmitová	16:0	14 - 17	2 - 6	10	13 - 16	7 - 10
Stearová	18:0	1 - 3	3 - 8	2	1 - 2	2 - 5
Olejová	18:1	20 - 45	18 - 35	59	42 - 52	22 - 30
Linolová E	18:2	40 - 50	48 - 61	31	29 - 40	50 - 60
Linolenová E	18:3	2 - 3	1 - 2	0	stopy	5 - 9

E = esenciální (nezbytné)

# Obsah mastných kyselin v rostlinných olejích

Tab. 23. Obsah mastných kyselin v důležitých rostlinných olejích (Davídek a kol., 1983)

Mastná kyselina	Počet C : dvojj. vazbám	Obsah % z veškerých mastných kyselin					
		Sójový olej	Slunečnicový	Olivový	Podzemnicový	Řepkový	Ř. bezeruk.
Myristová	14:2	0 - 0,2	0,1 - 0,3	0 - 0,2	0,3 - 0,5	0,1 - 0,3	0 - 2
Palmitová	16:0	7 - 10	3,5 - 7,5	11 - 14	6 - 12	2,5 - 4,2	4,0 - 5,2
Stearová	18:0	2 - 5	2,4 - 3,0	2 - 3	2,8 - 6,3	0,2 - 1,0	0,9 - 1,8
Arachová	20:0	0,2 - 1,0	0,5 - 0,7	0,1 - 0,4	1,6 - 2,8	0,2 - 0,5	0,9 - 1,2
Palmitoolej.	16:1	0,0 - 0,5	0,2 - 1,0	0,2 - 0,6	0,9 - 2,4	0,1 - 1,3	0,2 - 0,4
Olejová	18:1	22 - 30	30 - 39	70 - 78	42 - 72	9,1 - 12,5	54 - 60
Ikosenová	20:1	0	0	0,1 - 0,4	0	6,1 - 9,5	0,3 - 3,8
Eruková	22:1(13)	0	0	0	0	45 - 64	0,3 - 0,6 <sup>+</sup>
Linolová E	18:2	50 - 60	46 - 65	5 - 12	13 - 33	8,2 - 15,9	19 - 25
Linolenová E	18:3	5 - 9	0 - 0,8	0,2 - 0,8	0,5 - 5,0	5,1 - 11,6	8 - 11

E = esenciální (nezbytné)

<sup>+</sup> v našich podmínkách do 5 %



# Klinika

## Složení a využití lipidových emulzí

Směsi přírodních olejů (sojový –LCT, kokosový – MCT), emulgované fosfolipidy (vaječný lecitin, sojové fosfolipidy), izotonizační přísada (glycerol)

Tukové částice podobné chilomikronům

**Parenterální výživa** – emulze součást tzv. „all-in-one“ vaků

**Funkce** - zdroj energie a esenciálních MK

**Enterální a orální výživa**

Na základě nových poznatků o regulační úloze lipidů využití jako **farmaka**

**Nutriční farmakologie**

Výživa cílená na určité onemocnění – „Disease-specific nutrition“

# VÝZNAM SLOŽENÍ TUKŮ V ENTERÁLNÍ A PARENTERÁLNÍ VÝŽIVĚ PACIENTŮ

## LCT - “long chain” triglyceridy

z rostlinných olejů s vysokým obsahem VNMK (důležitý poměr n-3 : n-6) - regulační funkce, mohou zvyšovat nebo snižovat např. produkci  $\text{TNF}\alpha$  (kachektin) - prozánětlivý cytokin spojený s kachexií

**MCT - “medium chain” triglyceridy** - nasycené MK (6-12 uhlíků) - zdroj energie, působí proti supresi imunitních a fagocytárních funkcí u silně stresovaných pacientů.

Možnosti ovlivnění celkového metabolismu, podpora imunity, protizánětlivé účinky

**Využití:** pooperační stavy, nádorová anorexie a kachexie  
Imunonutrice: Omega-3, L-glutamin, L-arginin, RNA



# Složení klinicky využívaných lipidových emulzí v parenterální výživě

Components	Intralipid	Elolipid	Lipofundin MCT/LCT	Nutralipid MCT	Nutralipid P
<i>Soybean oil</i>	200	200	100	100	200
<i>Egg phospholipids</i>	12	12	12	12	12
<i>Glycerol</i>	22	25	25	22.5	22.5
<i>Coconut oil (MCT)</i>	–	–	100	100	–
<i>α-tocopherol</i>	–	–	0.2	–	–
<i>Sodium oleate</i>	–	–	0.3	–	–
<i>Oleic acid</i>	–	0.30 - 0.45	–	–	–
<i>Sodium hydroxide</i>	to pH 8	0.04 - 0.08	–	–	–
<i>Water for injection to</i>	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000

Omegaven – obsahuje rybí olej (omega-3 MK)

SMOFlipid – sójový, kokosový, olivový a rybí olej

Umělé strukturální triglyceridy



# Procesy ovlivňované lipidy

- Složení lipidových výživ ovlivňuje spektrum lipidů v plasmě i v buněčných membránách, přičemž metabolismus a obrat fosfolipidů v membránách transformovaných-nádorových buněk se zásadně liší od buněk netransformovaných-nenádorových.
- Změny ve složení fosfolipidů membrán mění její vlastnosti (fluiditu, produkci volných reaktivních radikálů a biologicky aktivních metabolitů - eikosanoidů), což se dále odráží ve schopnosti příjmu a přenosu signálů důležitých regulačních molekul s následnými účinky na důležité biologické procesy jako jsou buněčný růst, diferenciace a apoptóza a dále funkce buněk imunitního systému

# Procesy ovlivňované lipidy

- VNMK a jejich metabolity mohou být důležitými regulátory genové exprese. Předpokládá se, že tyto látky jsou schopny ovlivňovat aktivitu transkripčních faktorů, které se pak váží na klíčové elementy spojené se specifickými geny.
- Změny membrán a růstových vlastností nádorových buněk po působení VNMK mohou modulovat jejich citlivost k různým terapeutickým zásahům (cytostatika, záření)
- Inhibitory metabolismu AA, tj. produkce eikosanoidů, k nimž patří i řada běžně v klinice využívaných NSAID, mohou významným způsobem modulovat zmíněné procesy.

# Účinky inhibice cyklooxygenáz a lipoxygenáz na nádorové buněčné populace

- Řada nádorů má změněný metabolismus VNMK a produkuje zvýšené množství jejich metabolitů
- Úroveň exprese jednotlivých typů enzymů (COX1, COX2, 5-, 12- 15- LOX, FLAP, P450) se liší podle typu a histologického stupně nádoru
- Mitogenní a viabilitní faktory (EGF, HGF atd.) a prozánětlivé cytokiny (TNF- $\alpha$ , IL-1) indukují uvolňování AA a tvorbu eikosanoidů, které slouží jako přenašeče nebo modulátory signálů regulujících proliferaci a apoptózu
- Nesteroidní antiflogistika (NSAID - aspirin, sulindac, indometacin, ibuprofen , piroxicam) inhibují aktivitu COX a mají preventivní a terapeutické účinky na rozvoj nádorů, zejména kolonu - využití selektivních inhibitorů COX2 (inducibilní) - coxiby

- NSAID - snižují proliferaci a indukují apoptózu mechanismy závislémi i nezávislémi na aktivitě COX
- Účinky mohou být přímé nebo nepřímé - zprostředkované např. změnami aktivity imunitního systému (liší se účinky v systémech *in vitro* a *in vivo*)
- Inhibitory LOX (NDGA, esculetin, MK-886) inhibují proliferaci a indukují apoptózu řady nádorových linií
- Produkty 5-LOX fungují jako „second messengers“ řady růstových a viabilitních faktorů
- Produkty 12-LOX se uplatňují v procesu invaze a tvorby metastáz - ovlivnění exprese proteáz, adhezivních molekul - využití inhibitorů

# The Traditional Healthy Asian Diet Pyramid



Vše, co chcete vědět o lipidech  
<http://www.cyberlipid.org/>



# Výukovou pomůcku zpracovalo **Servisní středisko pro e-learning na MU**

<http://is.muni.cz/stech/>

Technické řešení této výukové pomůcky je spolufinancováno Evropským sociálním fondem  
a státním rozpočtem České republiky.



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ