

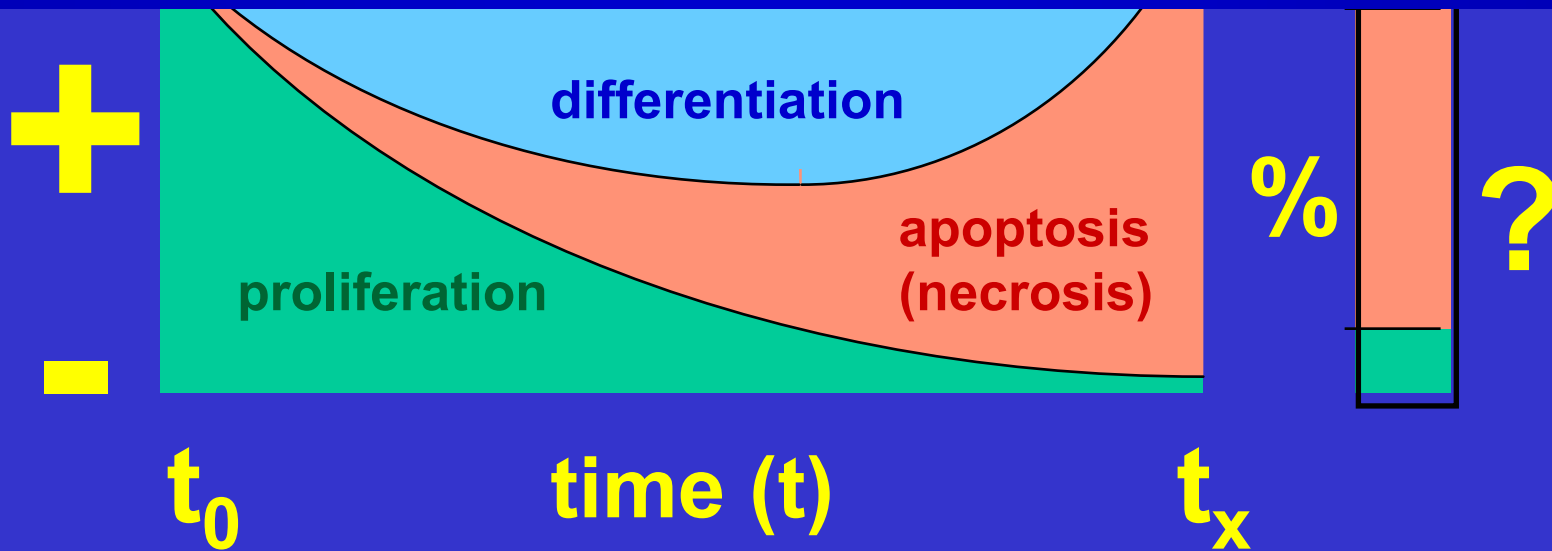
FYZIOLOGIE BUNĚČNÝCH SYSTÉMŮ

Doc. RNDr. Kozubík Alois, CSc. - Doc. RNDr. Hofmanová Jiřina, CSc.

Laboratoř
ytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Diferenciace



Differences in mRNA expression patterns among different types of human cancer cells

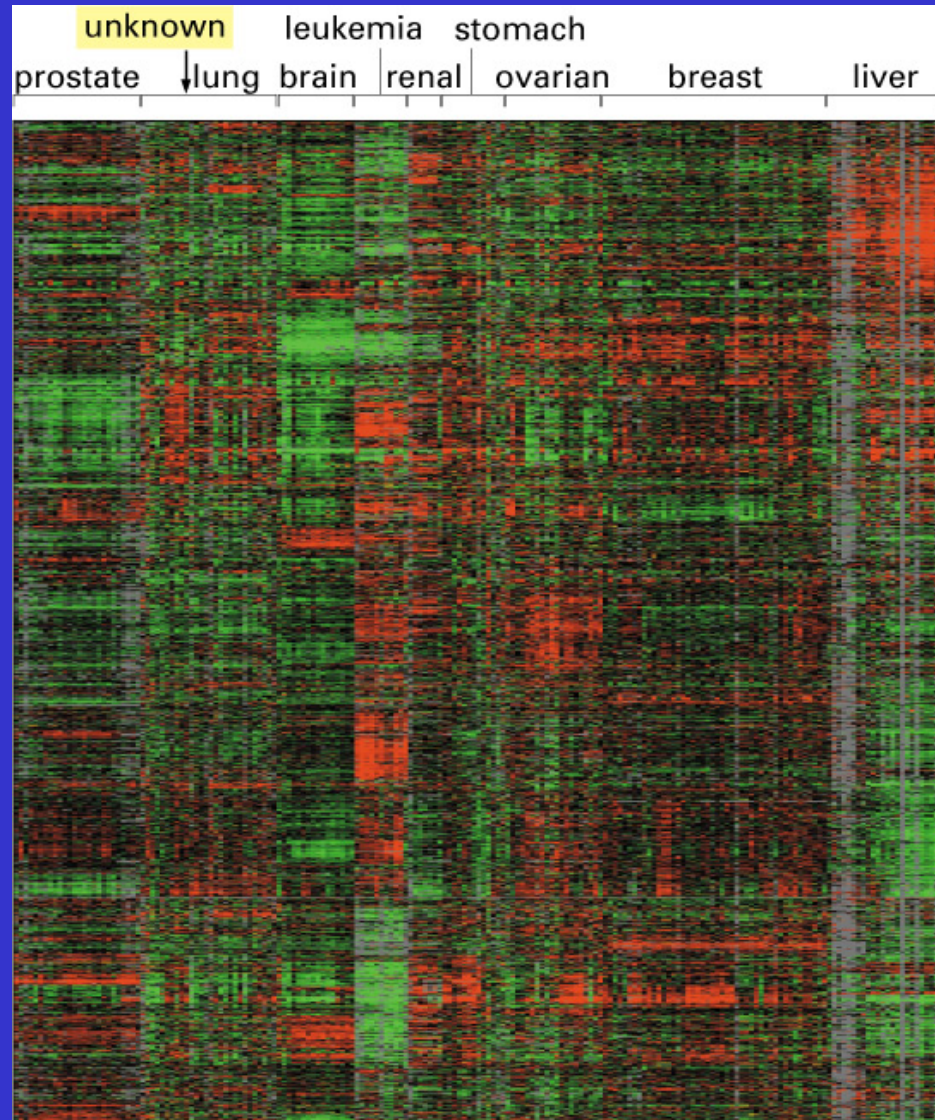


Figure 7-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Differences in the proteins expressed by two human tissues

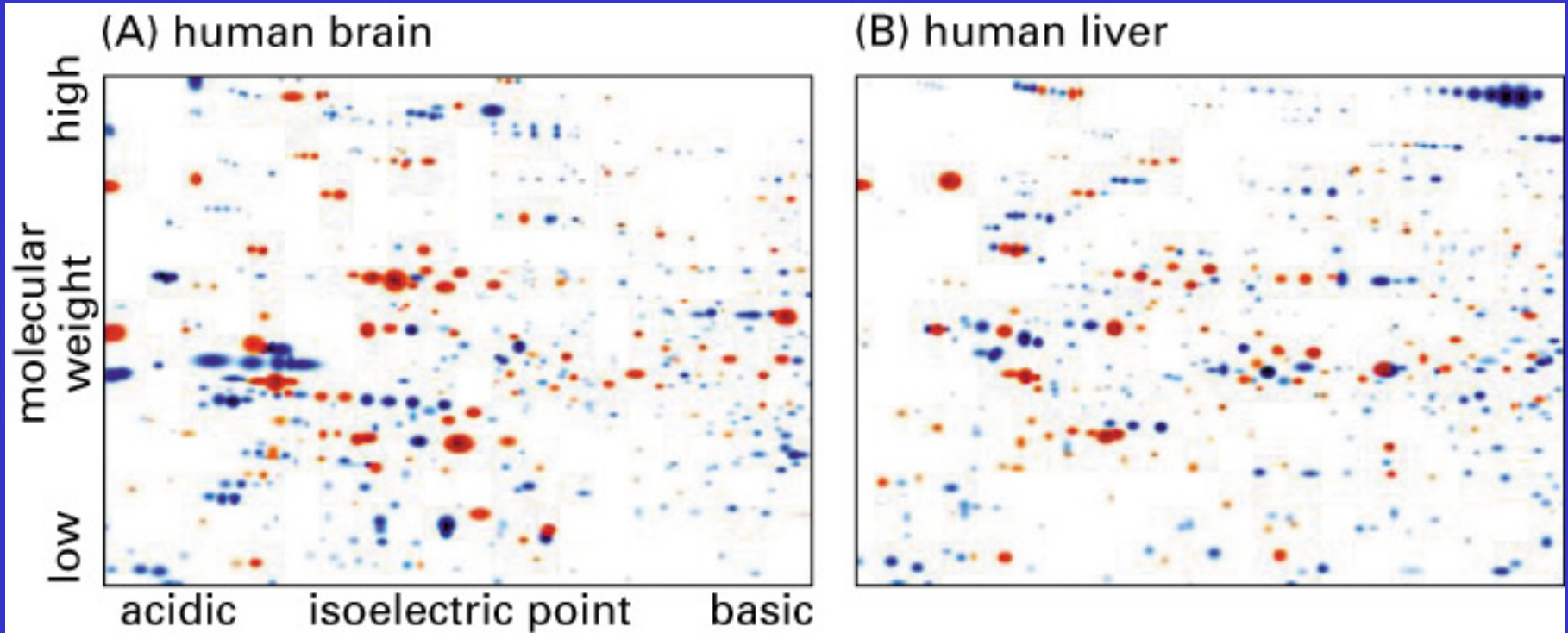


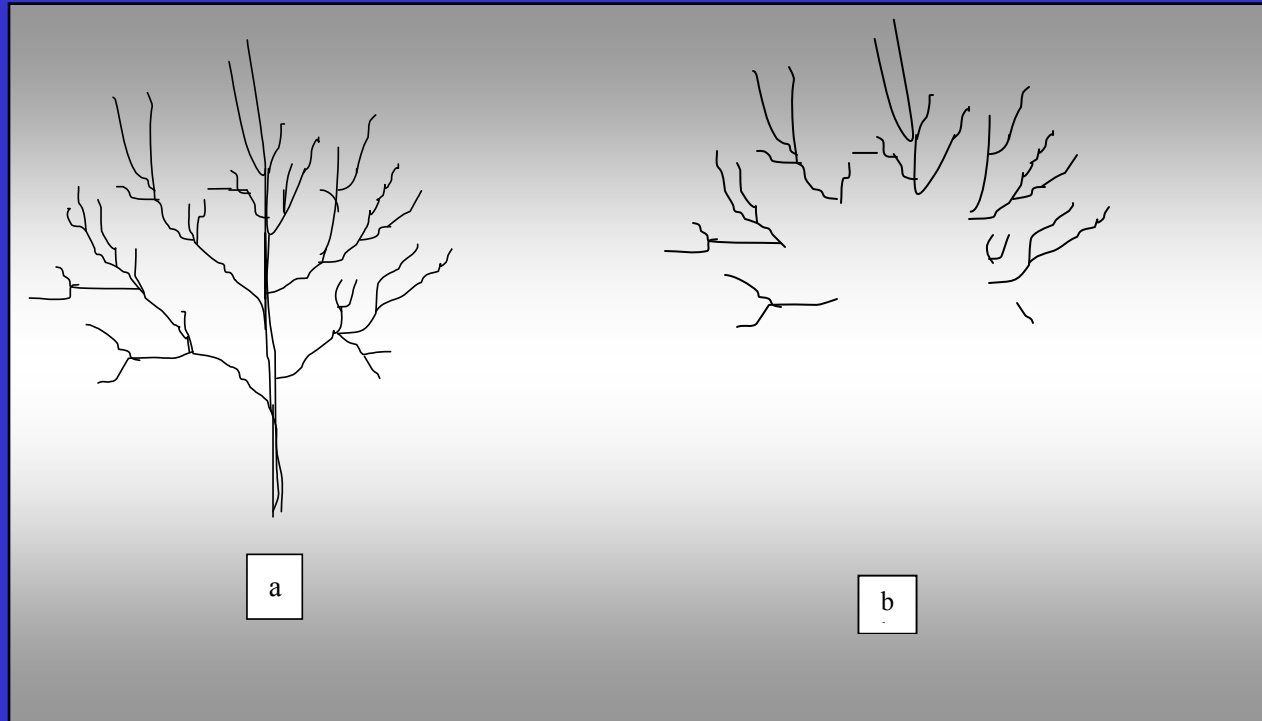
Figure 7-4. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition

Polyklonální charakter kostních buněk

Obr. 1. Přirovnání kmenové buňky ke stromu:

a – kmenová buňka v embryonální době

b – kmenová buňka v dospělosti



Hematopoetické buňky kostní dřeně

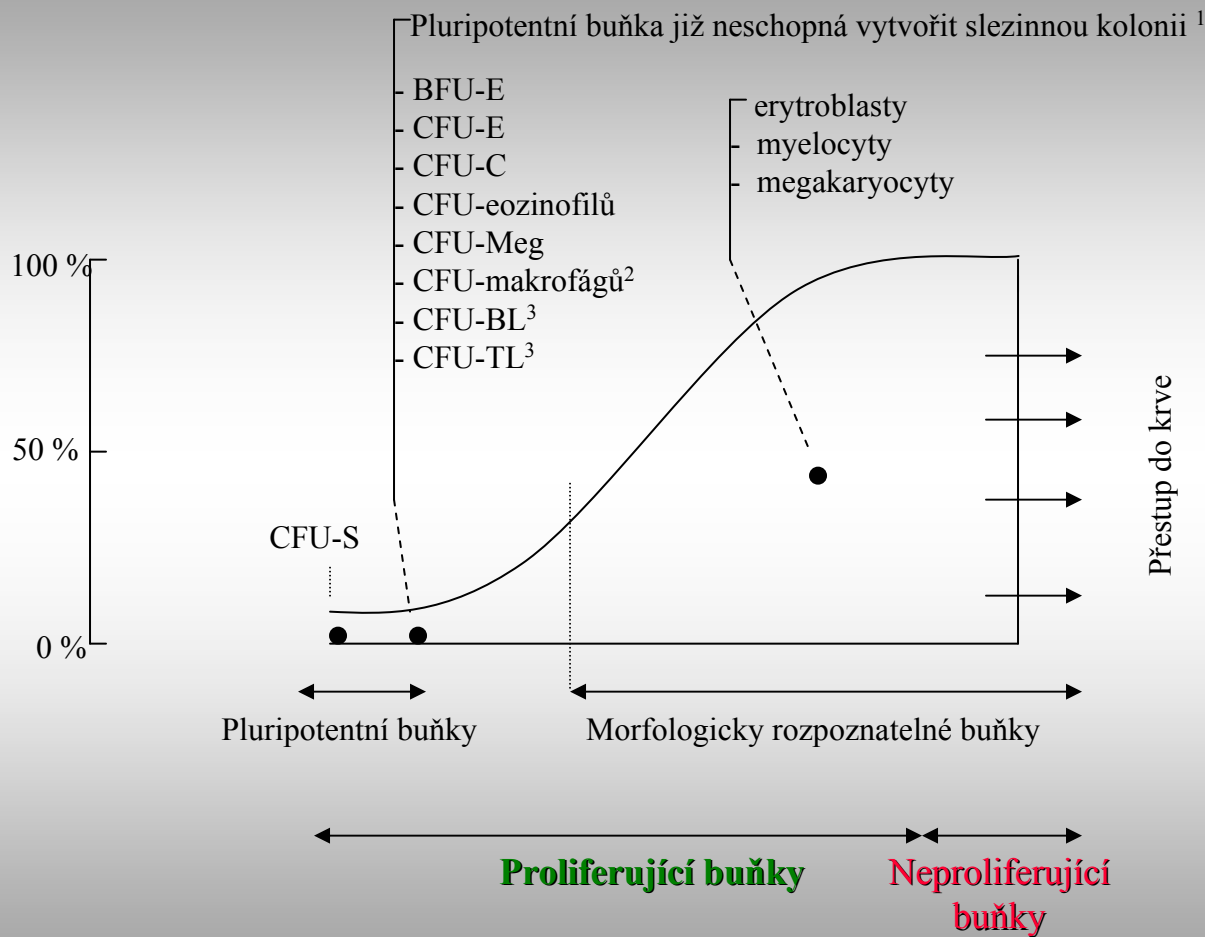
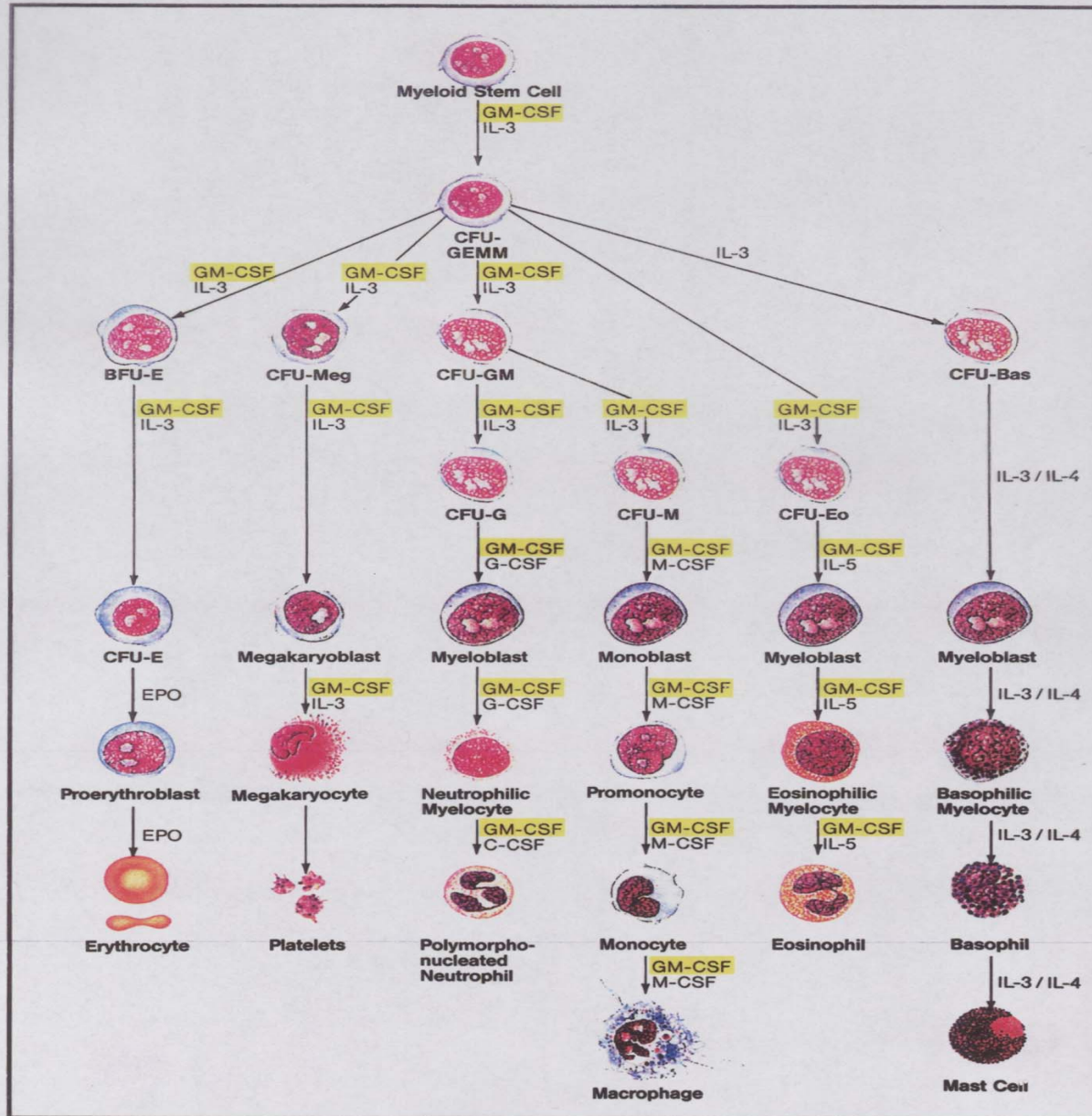


Schéma kvantitativního zastoupení různých prekurzorů krevních buněk v krvetvorné tkáni.

¹Podle Gregorové a Henkelmana (1977); ²podle MacVittieho a Porvaznika (1978); ³nejsou odvozeny od CFU-S.

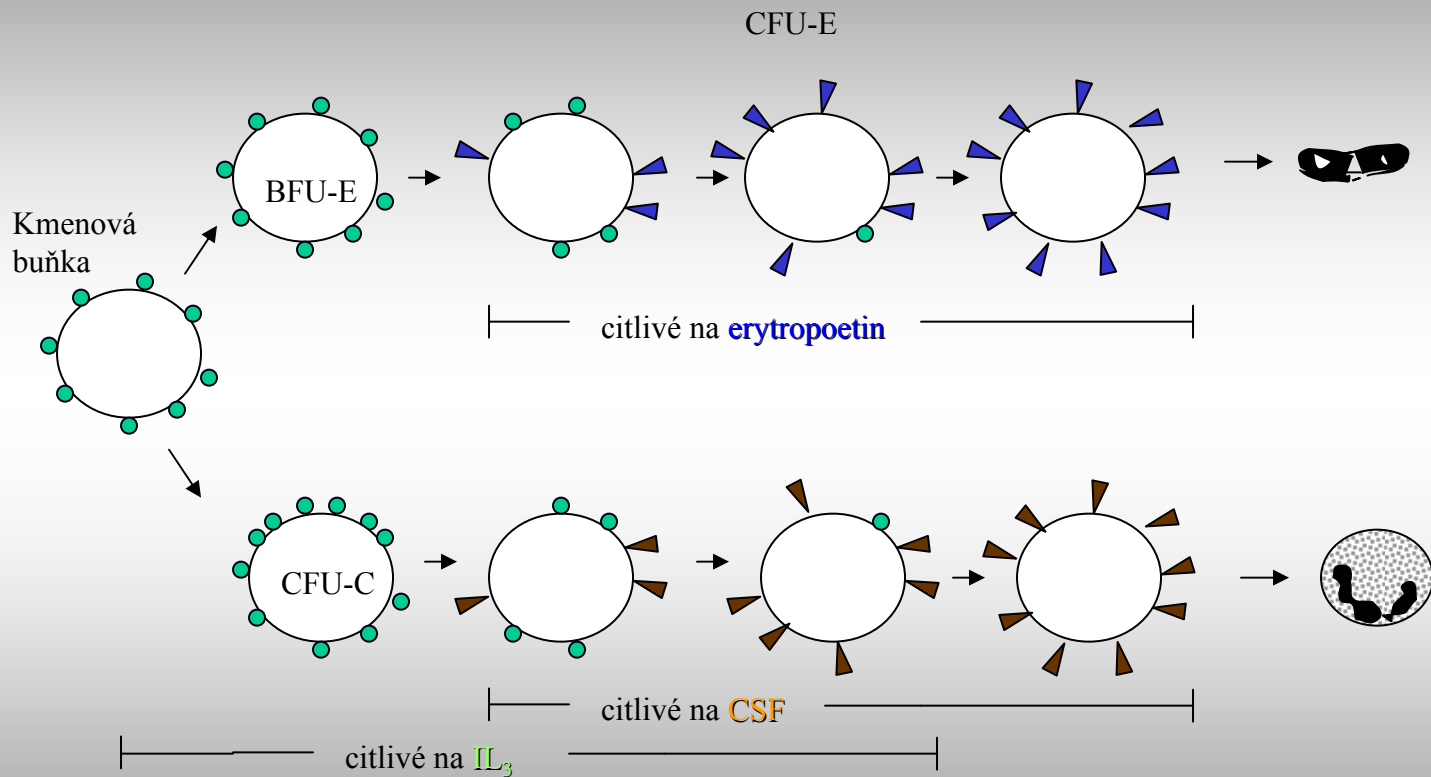
The early acting growth factor which maximises host defense



Buněčné komponenty hematopoetického mikroprostředí (H.I.M.) v kostní dřeni (K.D.)

(podle Knospeho 1978)

Buněčný typ	Předpokládaná funkce
Endotelie sinusoidů	zachycování kmenových buněk, výměna metabolitů, uvolňování zralých buněk do cirkulace, součást mikroprostředí umožňující buněčnou proliferaci
Fibroblasty	tvorba kolagenu, mukopolysacharidů, indukce diferenciací?
Tukové buňky	vyplnění prostoru po zaniklé kostní dřeni, proliferace pluripotentních kmenových buněk
Retikuloendotelové buňky, monocyty	fagocytóza, tvorba CSF a jiných hemokininů, indukce diferenciací?
Endostální buňky	tvorba CSF a jiných hemokininů, kmenové buňky stromatu?
Kost	mechanická ochrana, tvorba hemokininů?



Obr.27. Model humorálního řízení hemopoézy. Nejnezralější buňky obsahují receptory● k faktorům nezávislým na diferenciaci jednotlivých řad, jako je IL_3 . Při maturaci se postupně tyto receptory ztrácejí a objevují se specifické receptory pro humorální faktory jednotlivých řad [pro erythropoetin (▽) a pro CSF (▽)]. Podle Iscova (1978)

LYMFOPOÉZA

Kostní dřeň

PRIMÁRNÍ L.O.

Thymus –“thymové hormony“

Primární
imunitní
odpověď

SEKUNDÁRNÍ L.O.
(Lymfatické uzliny
a slezina)

Sekundární
imunitní
odpověď

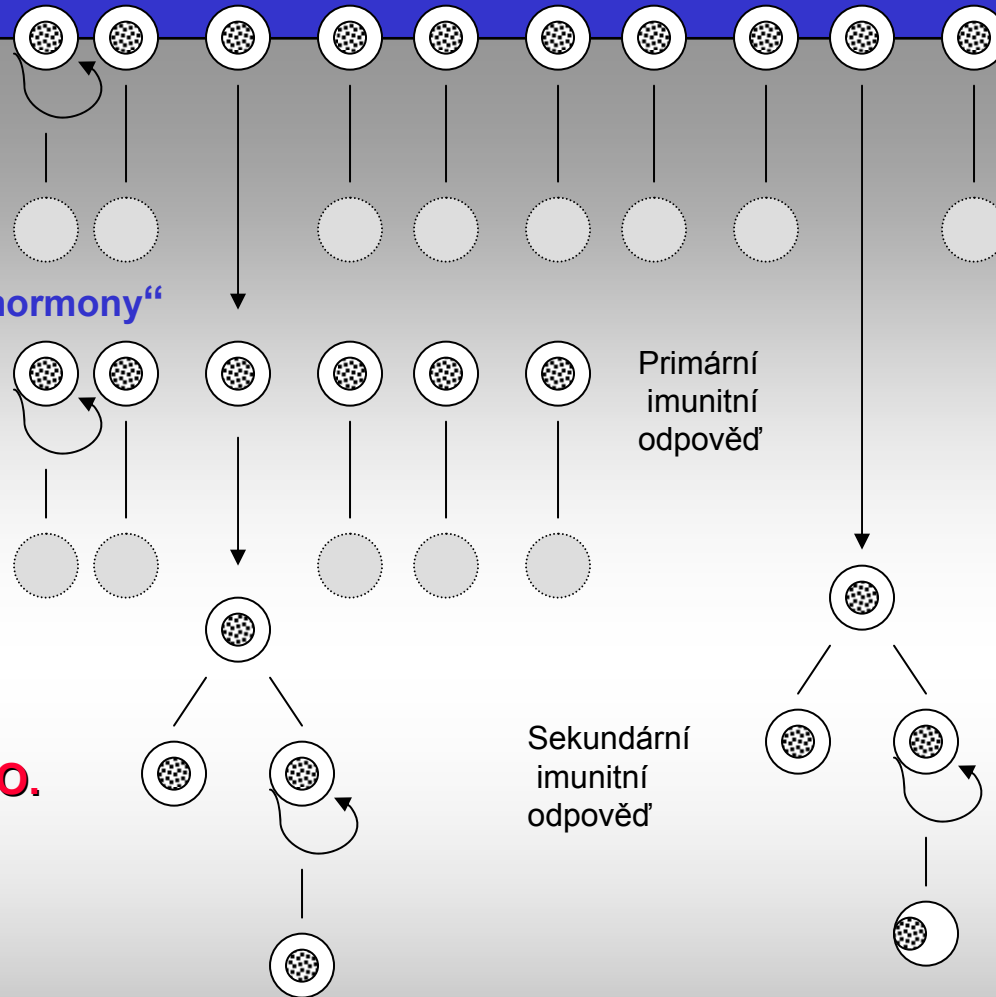
Recirkulující paměťové buňky
s dlouhou dobou života

T- lymfocyty

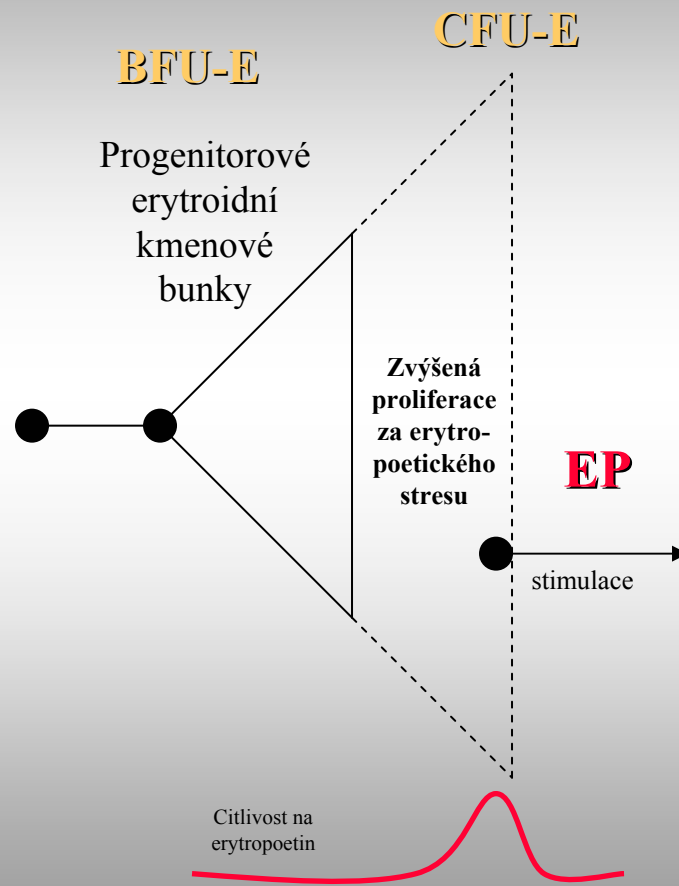
Buněčná imunita

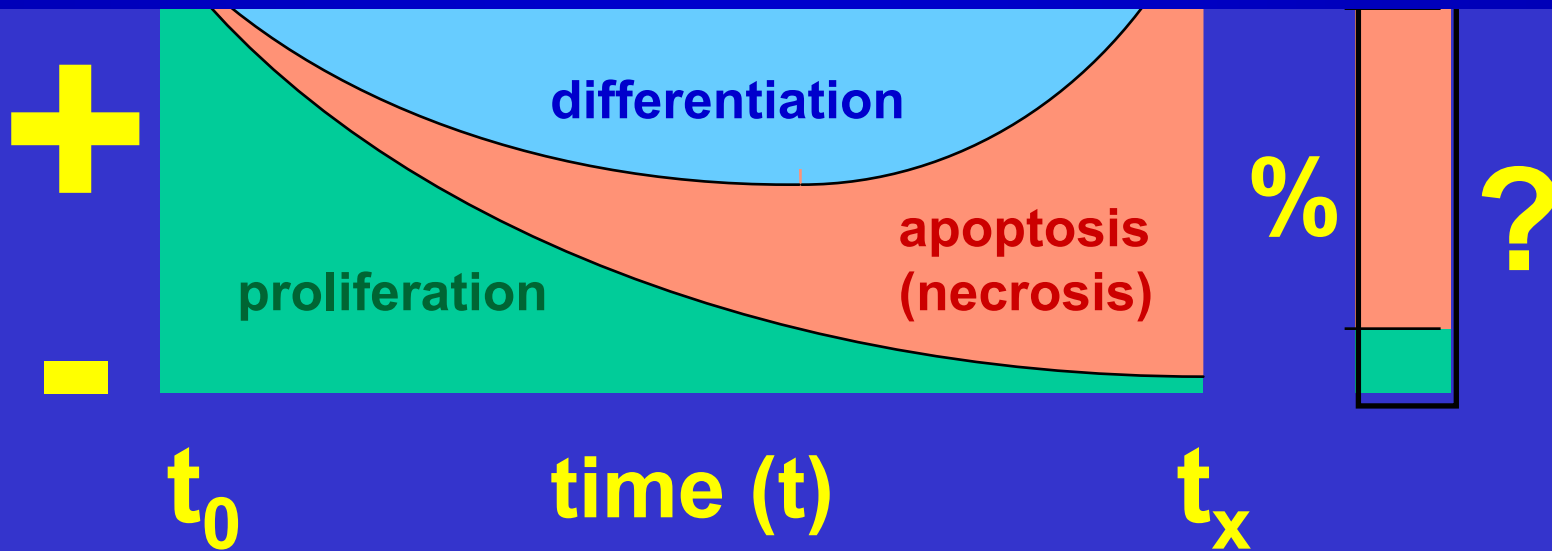
Plazmatická buňka

B lymfocyty
Humorální (IG)
imunita



Obr. 23. Na obrázku je znázorněna zvýšená proliferace při erythropoetickém stresu, která může vést k značné expanzi kompartmentu progenitorových erytroidních kmenových buněk. **Citlivost k erythropoetinu (EP)** se objevuje až v pozdějších stádiích. Upraveno podle *Schofielda a Lajthy (1977)*.





Six steps at which eucaryotic gene expression can be controlled

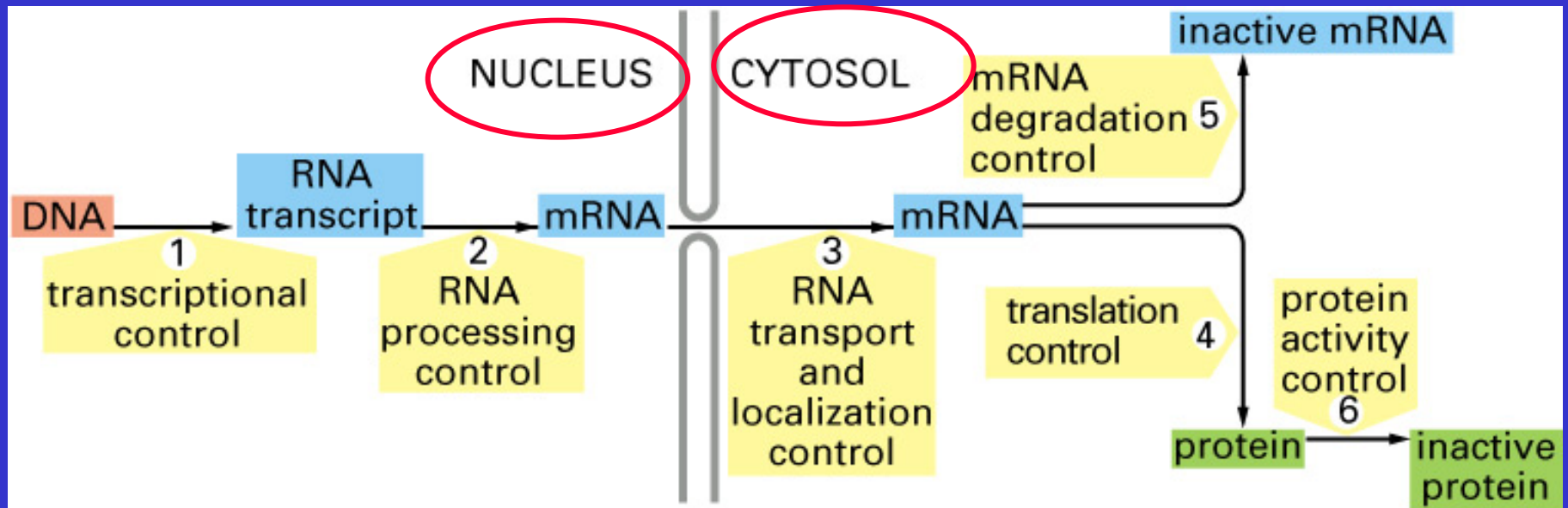
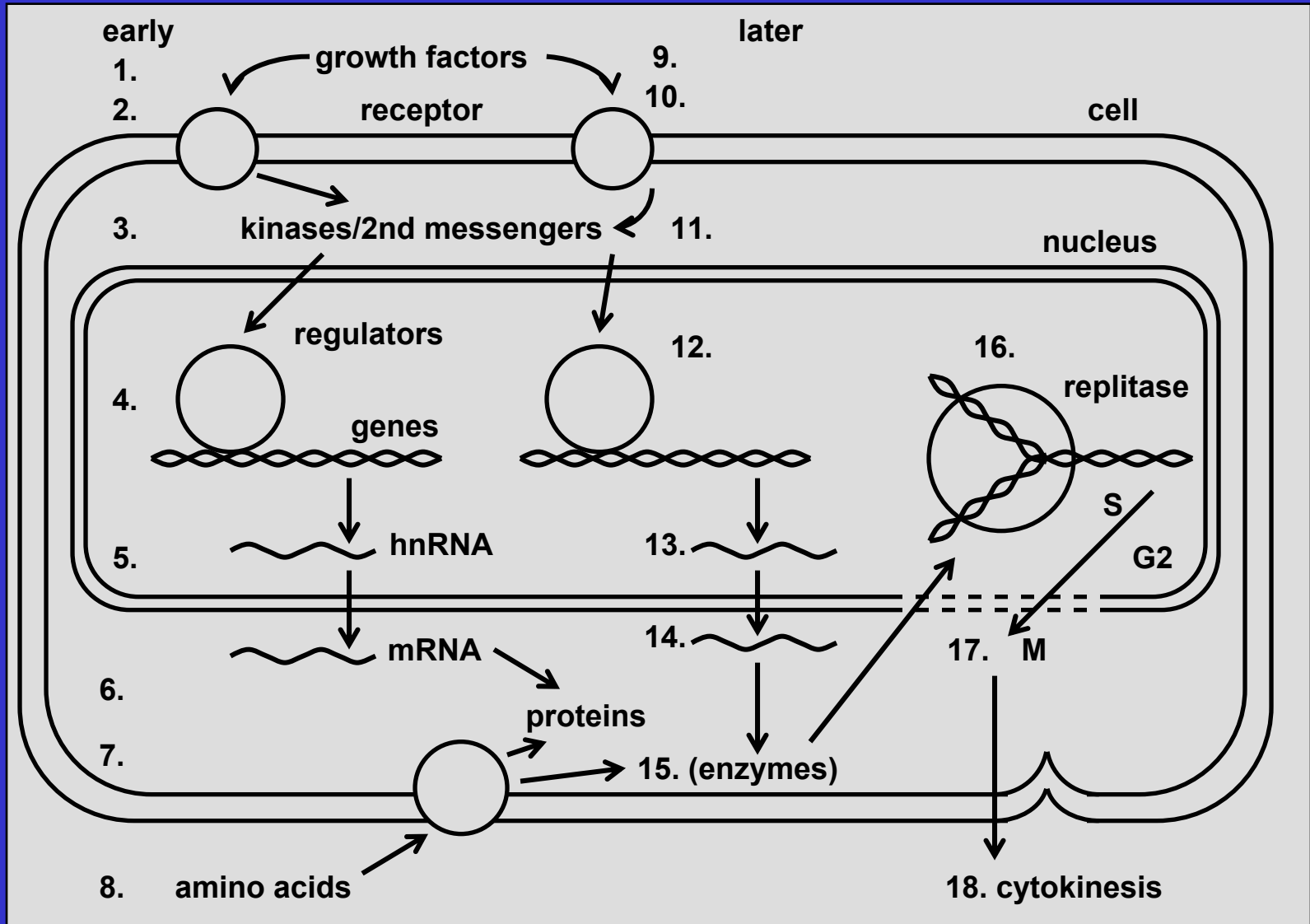


Figure 7-5. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Events in cell proliferation



Cytokiny

Některé příklady

PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH CYTOKINŮ - 2.

cytokin	zdroj	působení
IFN α 1	dvojitě negativní	zvyšuje rezistenci proti virům; inhibuje proliferaci normálních i nádorových buněk; indukuje syntézu MHC I, receptoru pro Ig; aktivuje NK-buňky
IFN α 2	lymfocyty, monocyty, makrofágy	stejně jako u IFN α
IFN β 1	fibroblasty, buňky epitelu	stejně jako u IFN α
IFN β 2	fibroblasty, monocyty	stejně jako u IFN α
IFN γ	T – buňky, NK-buňky	podobná jako u IFN α a β , navíc má větší schopnost aktivovat makrofágy, zvyšovat odolnost vůči parazitům; indukuje syntézu MHC I i MHC II; stimuluje syntézu IgG2 a inhibuje syntézu IgE B-buňkami
TNF α	makrofágy, T-buňky, thymocyty, B-buňky, NK-buňky	působí nekrózu různých typů buněk, převážně nádorových; pleiotropní účinky na široké spektrum buněk, např. reguluje proliferační a funkční odpověď B- a T-buněk; stimuluje diferenciaci prekurzorů myeloidní řady; stimuluje expresi cytokin, MHC a prostaglandinů
TNF β	T – buňky	má stejné účinky jako TNF α
G-CSF	monocyty, makrofágy, T-buňky, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje proliferaci kolonií granulocytů; aktivuje granulocyty
GM-CSF	T-buňky, monocyty, makrofágy, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje proliferaci prekurzorů granulocytů, makrofágů; aktivuje makrofágy, neutrofile, eozinofily
M-CSF	monocyty, makrofágy, fibroblasty	stimuluje růst kolonií monocytů a makrofágů; aktivuje monocyty
EPO	ledviny	stimuluje růst kolonií erytrocytů a megakaryocytů
TGF β	krvní destičky, kosti - matrix, placenta, ledviny, některé nádory	reguluje růst buněk (většinou inhibuje proliferaci vyvolanou působením hematopoietických cytokinů)

PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH CYTOKINŮ - 1.

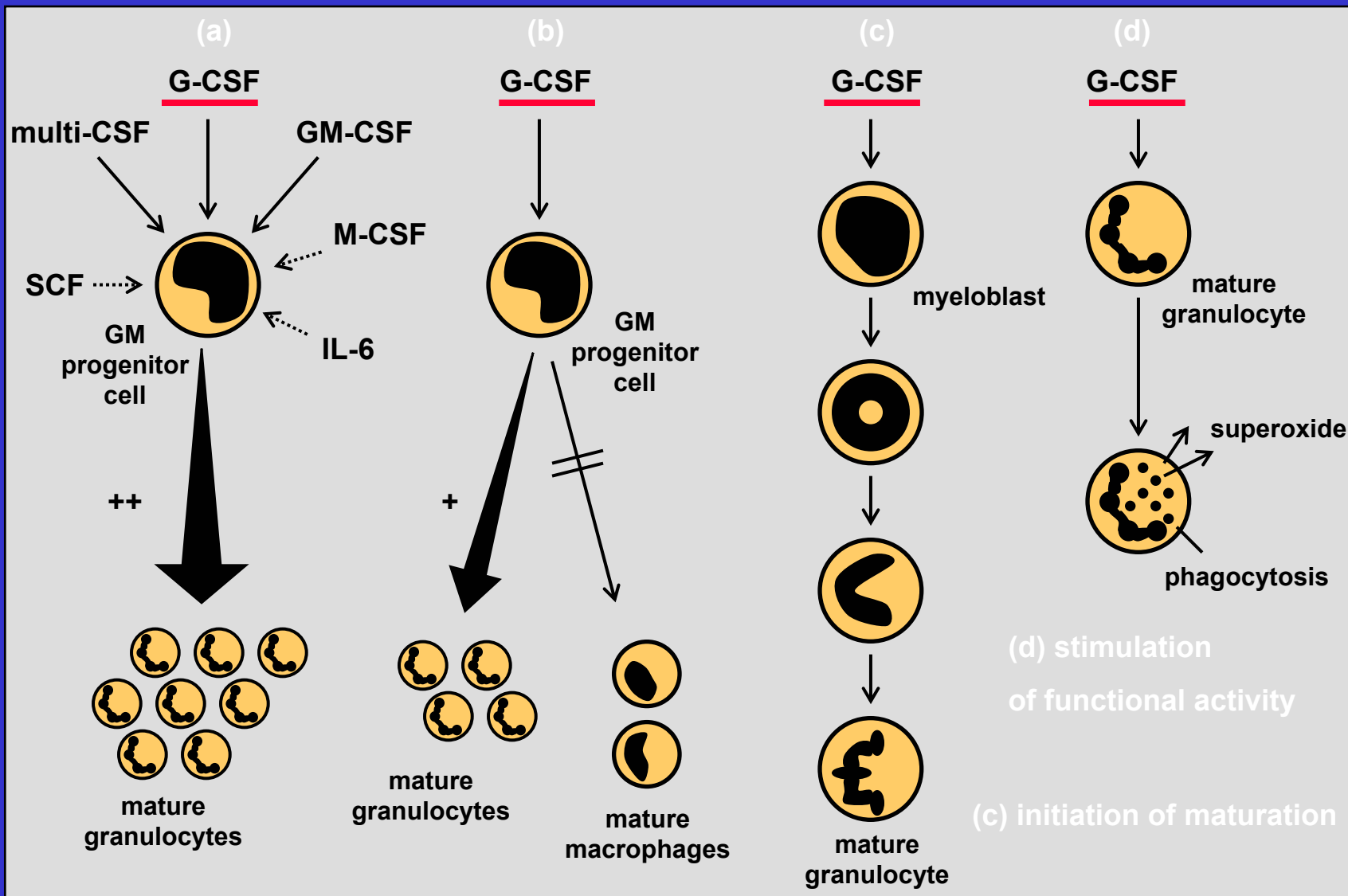
cytokin	zdroj	působení
IL - 1	monocyty (+ téměř všechny buňky s jádrem)	pyrogen, komitogenní faktor T-buněk; stimuluje uvolnění lymfokinů T-buňkami; aktivuje NK-buňky; stimuluje diferenciaci B-buněk
IL - 2	T – buňky	růstový faktor T-buněk a thymocytů, zvyšuje cytotoxicitu, aktivuje NK-buňky, stimuluje diferenciaci B-buněk
IL - 3	T-buňky (+ žírné buňky)	stimuluje proliferaci prekurzorů granulocytů, erytrocytů, megakaryocytů, makrofágů; aktivuje monocyty a makrofágy
IL - 4	T – buňky	stimuluje syntézu IgG1 a IgE B-buňkami, proliferaci makrofágů, NK-buněk, T-buněk
IL - 5	T – buňky	stimuluje diferenciaci a růst eozinofilů, proliferaci T- a B-buněk
IL - 6	T – buňky, makrofágy, monocyty, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje syntézu Ig B-buňkami; stimuluje proliferaci thymocytů, prekurzorů neutrofilů, makrofágů, megakaryocytů, myelomu, plazmacytomu, B-lymfomu
IL - 7	buňky kostní dřeně	stimuluje proliferaci prekurzorů B- a T-buněk a T-buněk
IL - 8	monocyty, makrofágy, lymfocyty, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje chemotaxi neutrofilů a dalších leukocytů
IL - 9	T-buňky	stimuluje proliferaci T-buněk bez přítomnosti antigenu a APC
IL - 10	T-buňky (+ žírné buňky)	Inhibuje syntézu některých cytokinů (IFN γ)
IL - 11	buňky kostní dřeně	stimuluje proliferaci multipotentních prekurzorů leukocytů (synergie s IFN γ) a prekurzorů megakaryocytů (synergie s IL – 3)
IL - 12	B-buňky	stimulace NK-buněk, cytolyticých T-buněk, T-buněk aktivovaných lymfokiny

SPOLEČNÉ CHARAKTERISTIKY CYTOKINŮ

Přestože cytokiny představují velmi heterogenní skupinu proteinů, lze uvést některé jejich společné charakteristiky:

- 1) Nízká MW (< 80 kDa), často bývají glykosylovány (glykoproteiny)
- 2) účastní se imunity a zánětu, kde regulují intenzitu a délku trvání odpovědi
- 3) jsou produkovány - lokálně, po přechodnou dobu
- 4) působí autokrinně a parakrinně
- 5) jsou vysoce účinné (pM)
- 6) interagují vysoce specificky s povrchovými receptory
- 7) po vazbě na receptory indukují syntézu mRNA a receptorových proteinů
- 8) působí v síti, kde
 - svoje efekty vzájemně ovlivňují (zejm. svoji produkci)
 - indukují transmodulaci povrchových receptorů
 - mohou působit na buněčné funkce aditivně, synergicky anebo antagonisticky

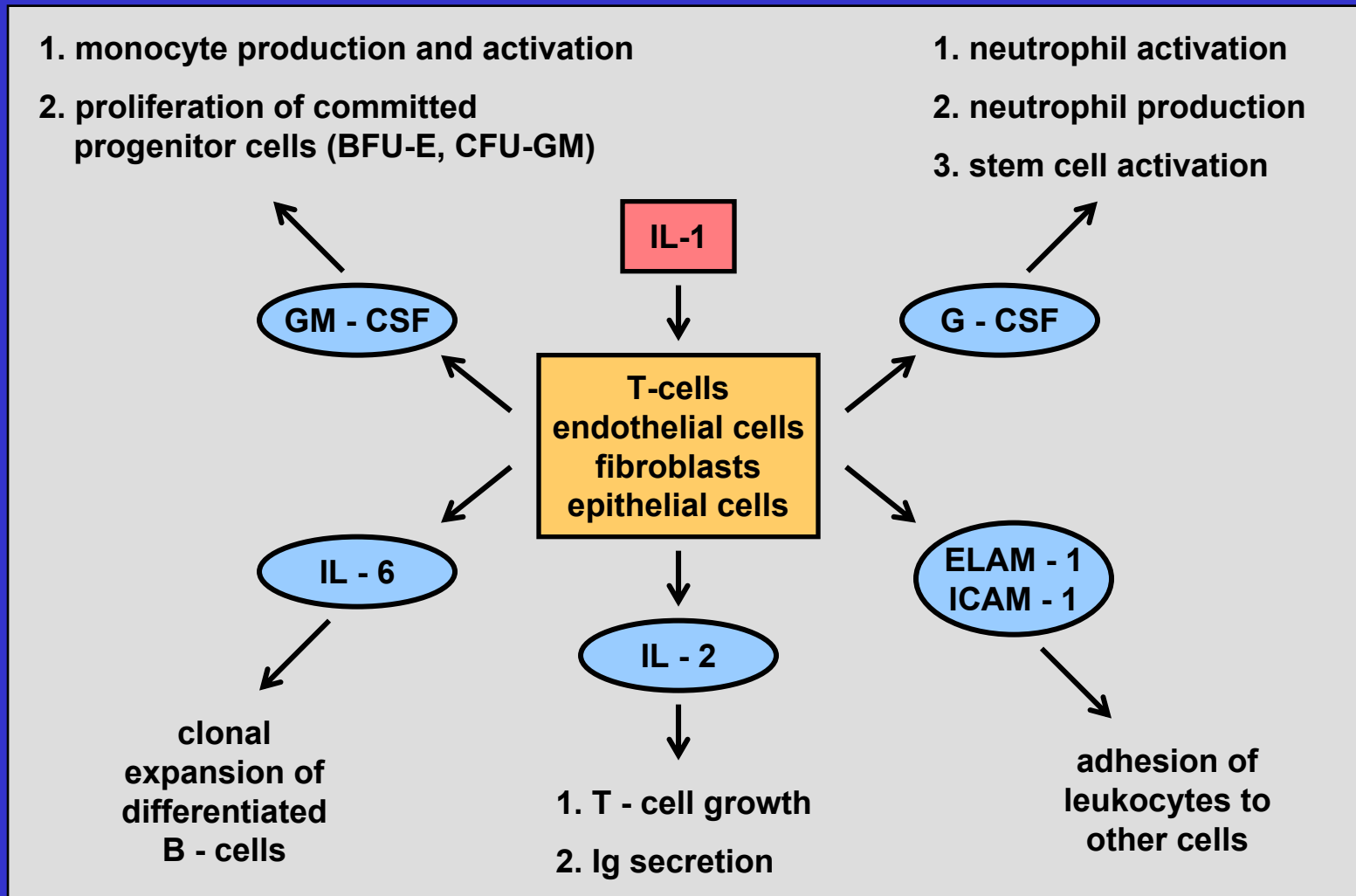
cytokiny jsou polyfunkční



(a) cell production is dependent on regulator stimulation

(b) induction of commitment to form cells in a restricted lineage

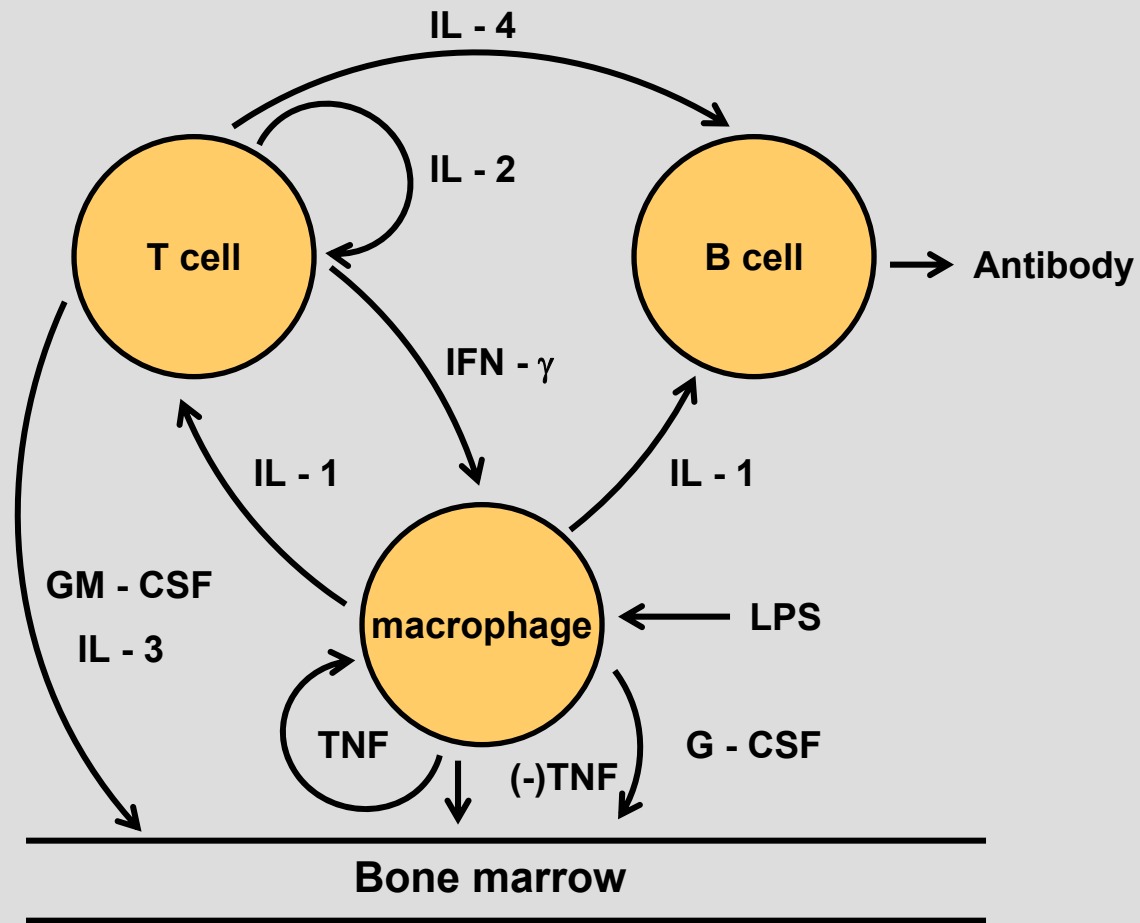
The role of IL - 1 in hematopoiesis (jiný př.)



ELAM - endothelial leukocyte adhesive molecule

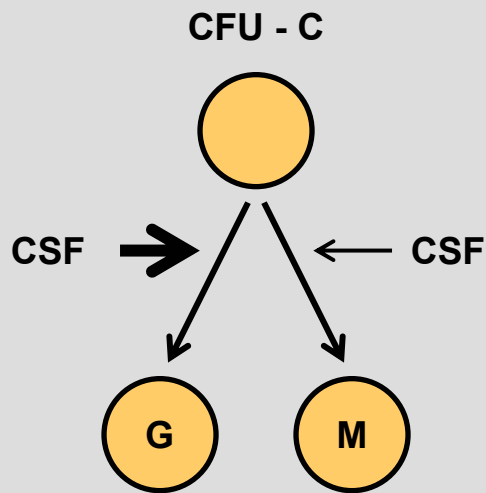
ICAM - intercellular adhesive molecule

Network of cytokine interaction



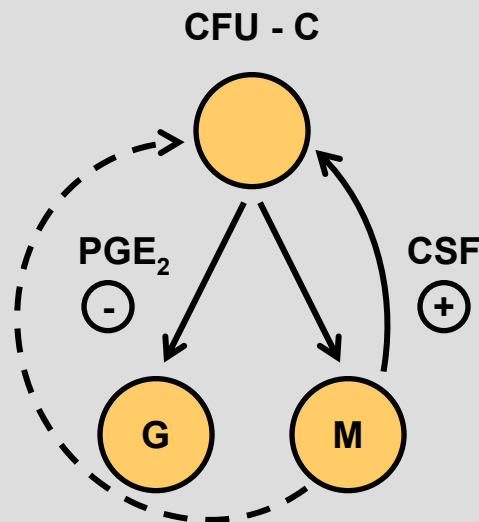
Autoregulace uvnitř systému granulocytů - makrofágů

CFU - C
(GM - CFC)



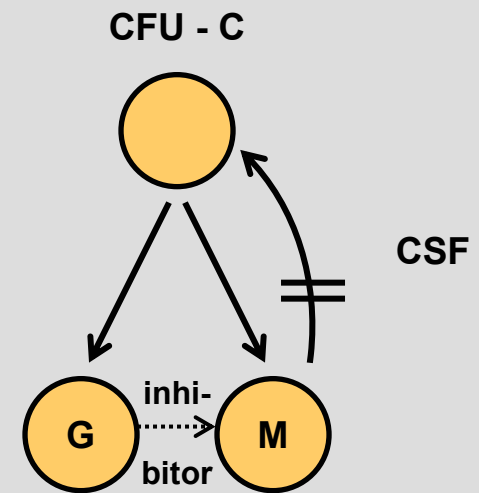
A

různé koncentrace CSF



B

zpětnovazebná stimulace →
a inhibice PGE - - →



C

produkce inhibitoru
tvorby CSF

G - granulocyty M - makrofágy

Spolupůsobení
„regulátorů růstu“
rozdílné chemické povahy

The four important families of small organic molecules in cells

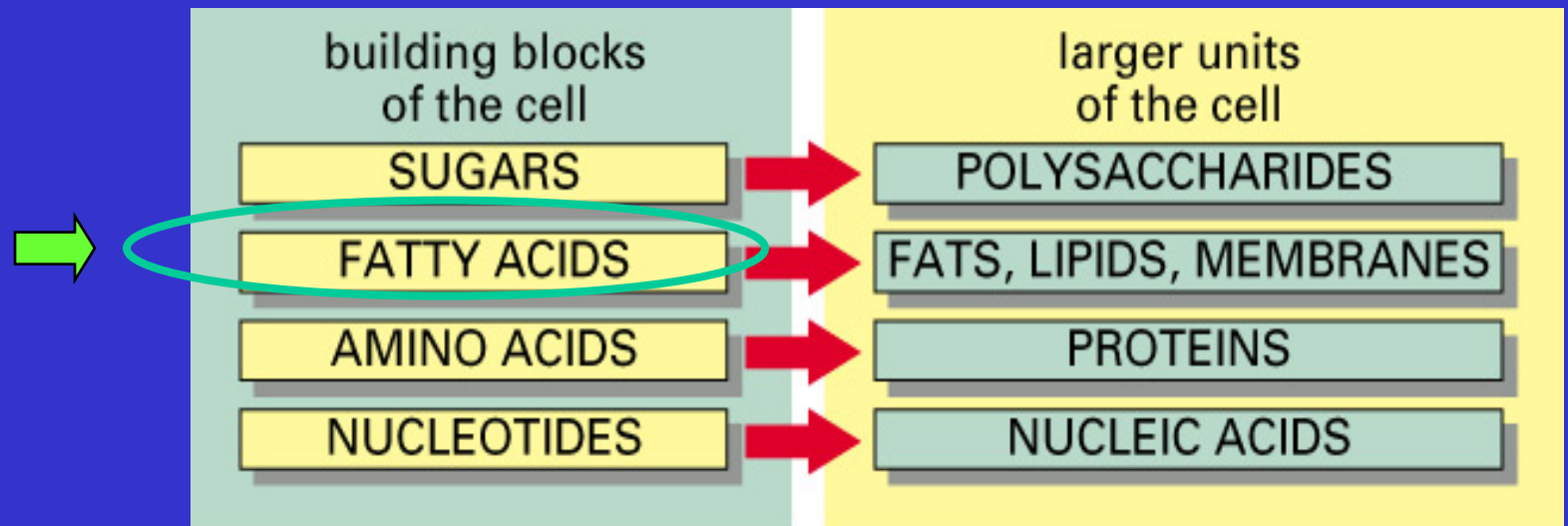
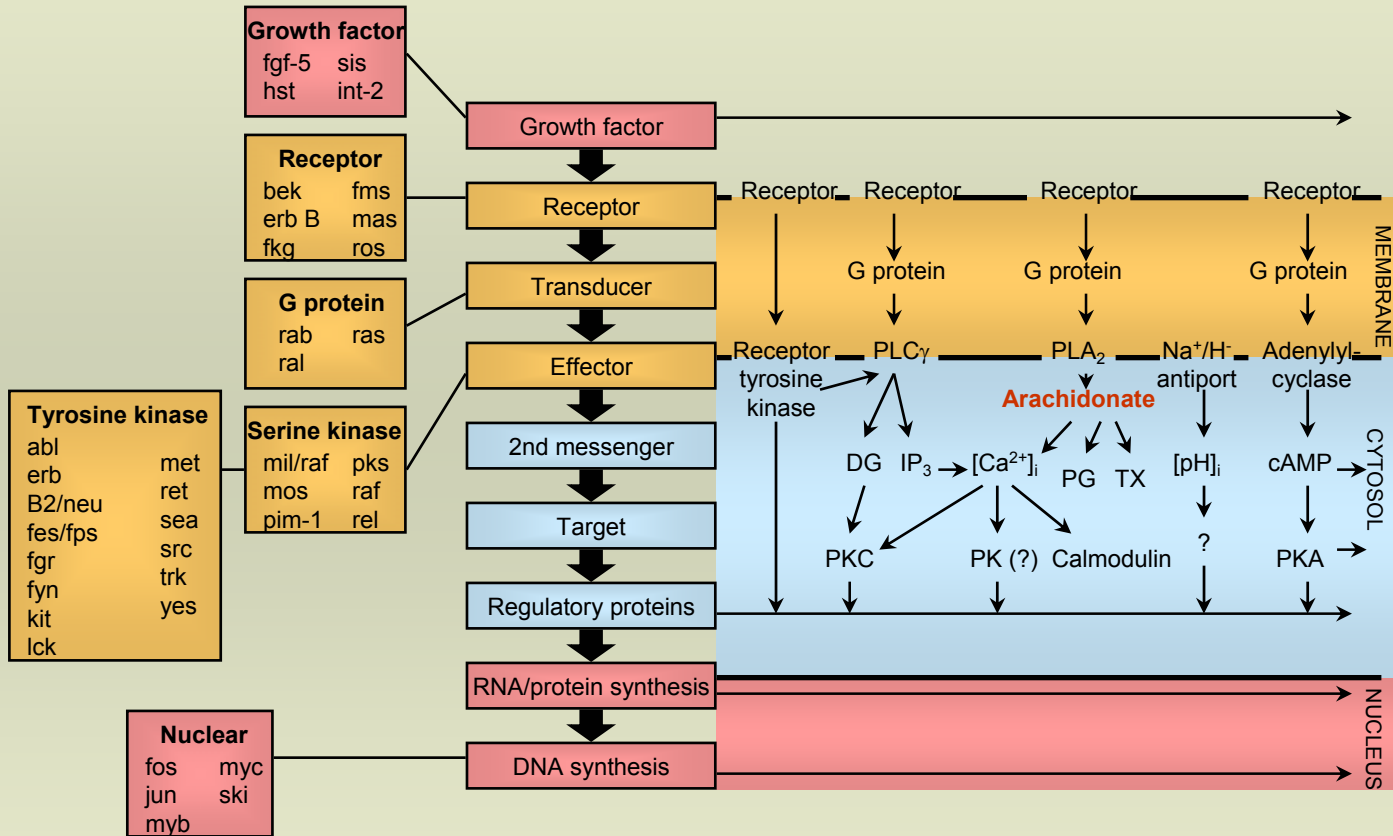


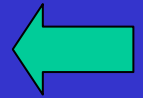
Figure 2-17. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Oncogenes



According to: G.Powis: TIPS; 12: 188 -194, 1991

STRUKTURNÍ ÚLOHA FOSFOLIPIDŮ V BUŇKÁCH

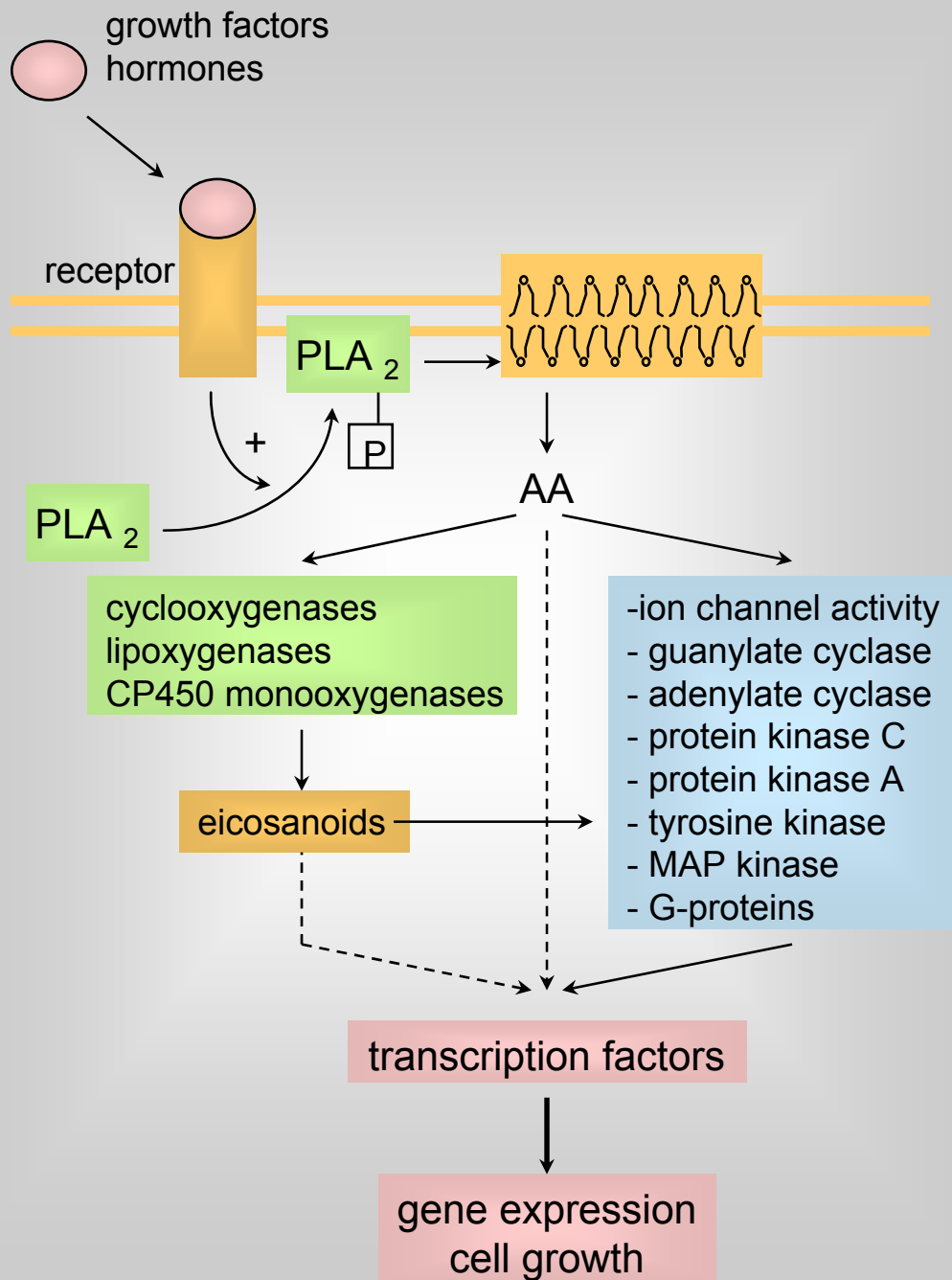


**MEMBRÁNOVÉ
SYSTÉMY
a buněčné
kompartmenty**

protientropické
důsledky



NEODDĚLITELNÁ OD BUNĚČNÝCH FUNKCÍ



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

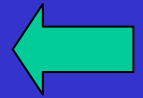
pokračování

TABLE 2-3 The Approximate Chemical Composition of a Bacterial Cell

	PERCENT OF TOTAL CELL WEIGHT	NUMBER OF TYPES OF EACH MOLECULE
Water	70	1
Inorganic ions	1	20
Sugars and precursors	1	250
Amino acids and precursors	0.4	100
Nucleotides and precursors	0.4	100
Fatty acids and precursors	1	50
Other small molecules	0.2	~300
Macromolecules (proteins, nucleic acids, and polysaccharides)	26	~3000

STRUKTURÁLNÍ ÚLOHA

FOSFOPIDŮ V BUŇKÁCH



**MEMBRANOVÉ
SYSTÉMY
a buněčné
kompartmenty**

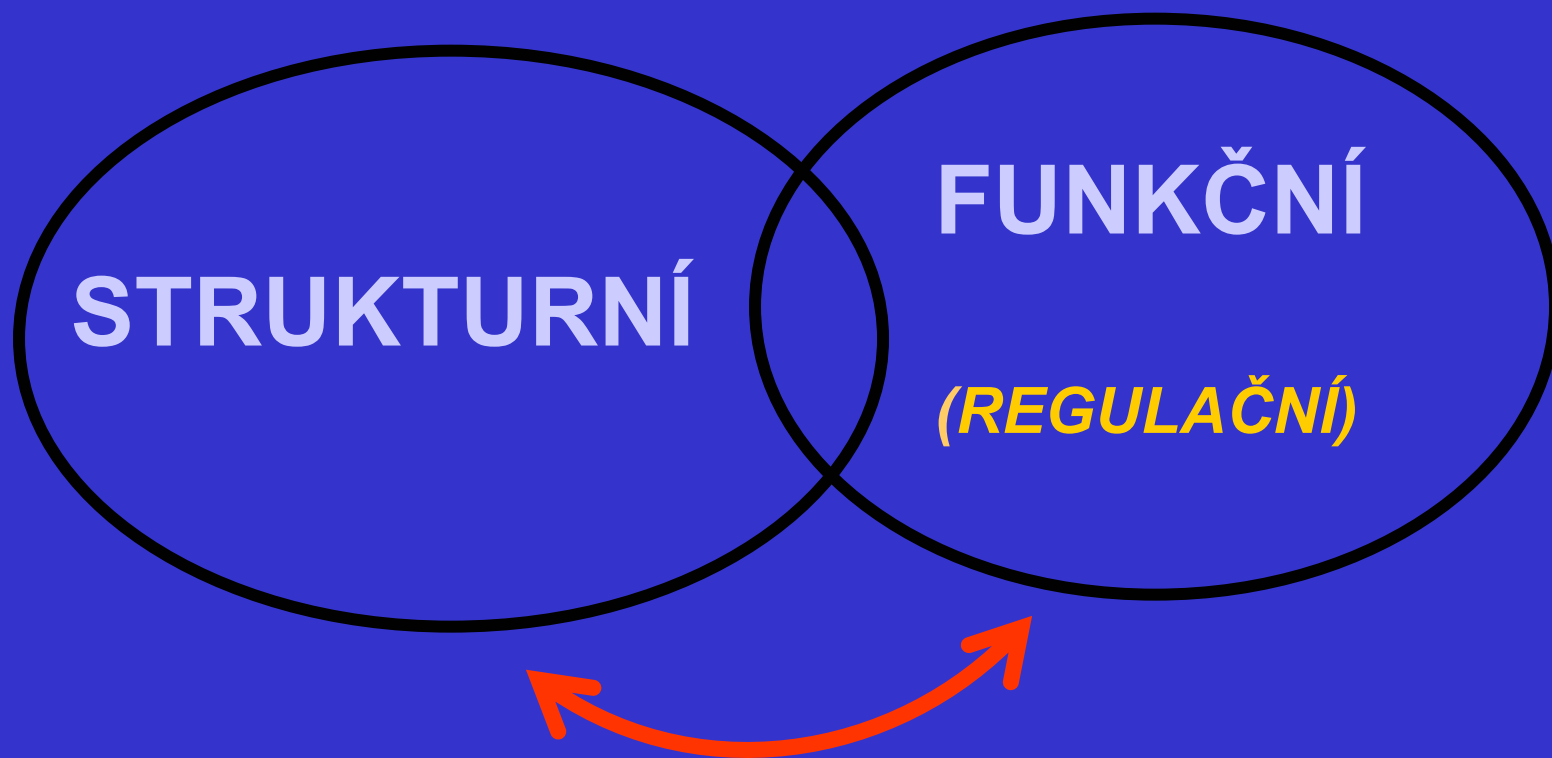
Protientropické
důsledky



Laboratoř
ytokinety
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

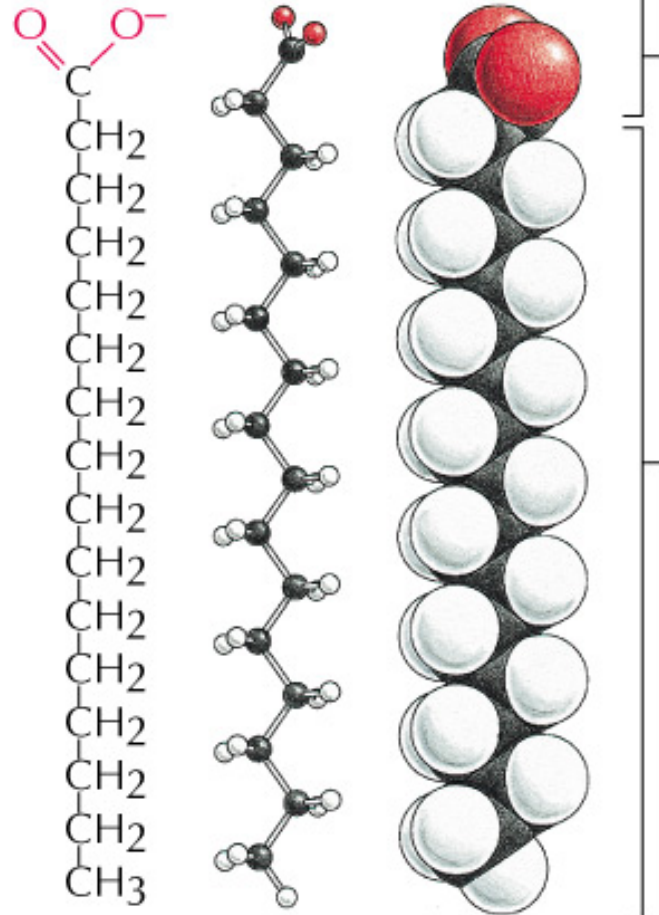
NEODMYSLITELNÉ od BUNĚČNÝCH FUNKCÍ

Přirozené funkce membránových lipidů



A fatty acid

hydrophilic carboxylic acid head



hydrophobic hydrocarbon tail

(A)

(B)

(C)

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

Phospholipid structure and the orientation of phospholipids in membrane

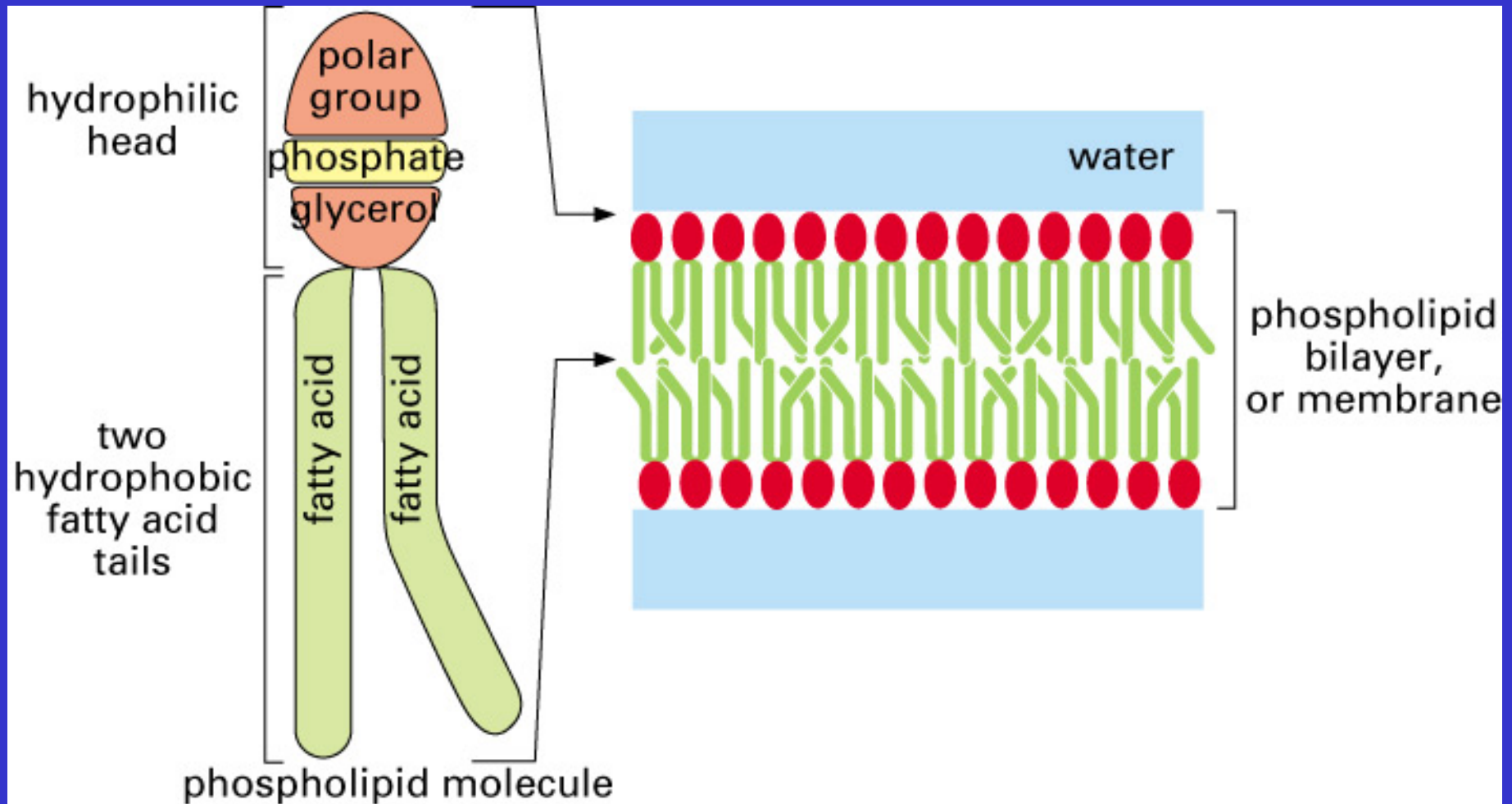


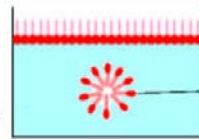
Figure 2-22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

LIPID AGGREGATES

Fatty acids have a hydrophilic head and a hydrophobic tail.



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



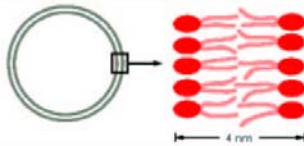
Their derivatives can form larger aggregates held together by hydrophobic forces:

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



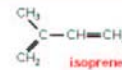
200 nm or more

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



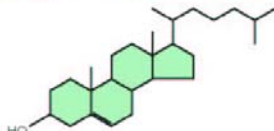
OTHER LIPIDS

Lipids are defined as the water-insoluble molecules in cells that are soluble in organic solvents. Two other common types of lipids are steroids and polyisoprenoids. Both are made from isoprene units.

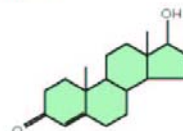


STEROIDS

Steroids have a common multiple-ring structure.



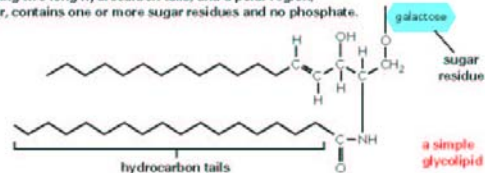
cholesterol—found in many membranes



testosterone—male steroid hormone

GLYCOLIPIDS

Like phospholipids, these compounds are composed of a hydrophobic region, containing two long hydrocarbon tails, and a polar region, which, however, contains one or more sugar residues and no phosphate.



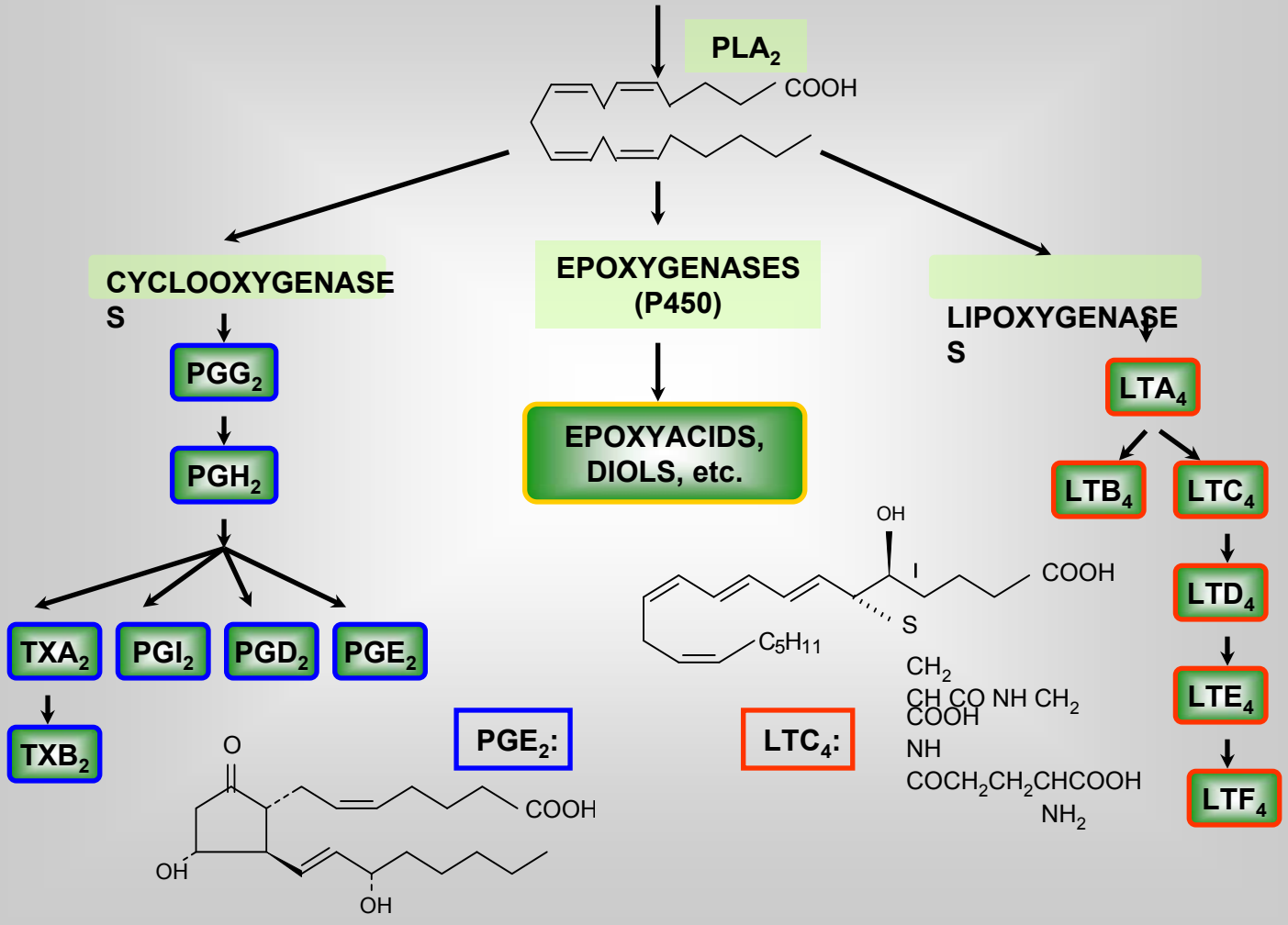
POLYISOPRENOIDS

long chain polymers of isoprene

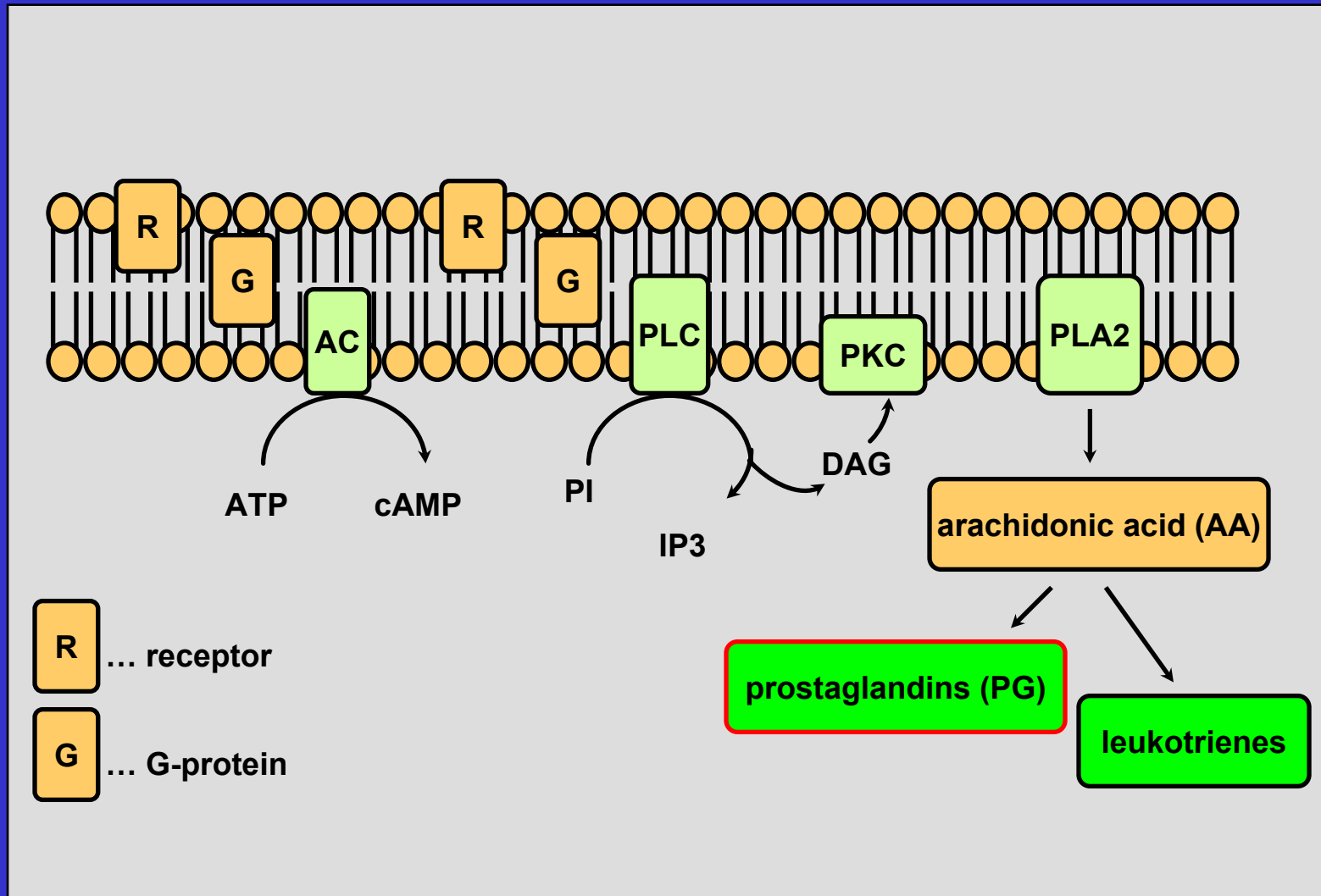


dolichol phosphate—used to carry activated sugars in the membrane-associated synthesis of glycoproteins and some polysaccharides

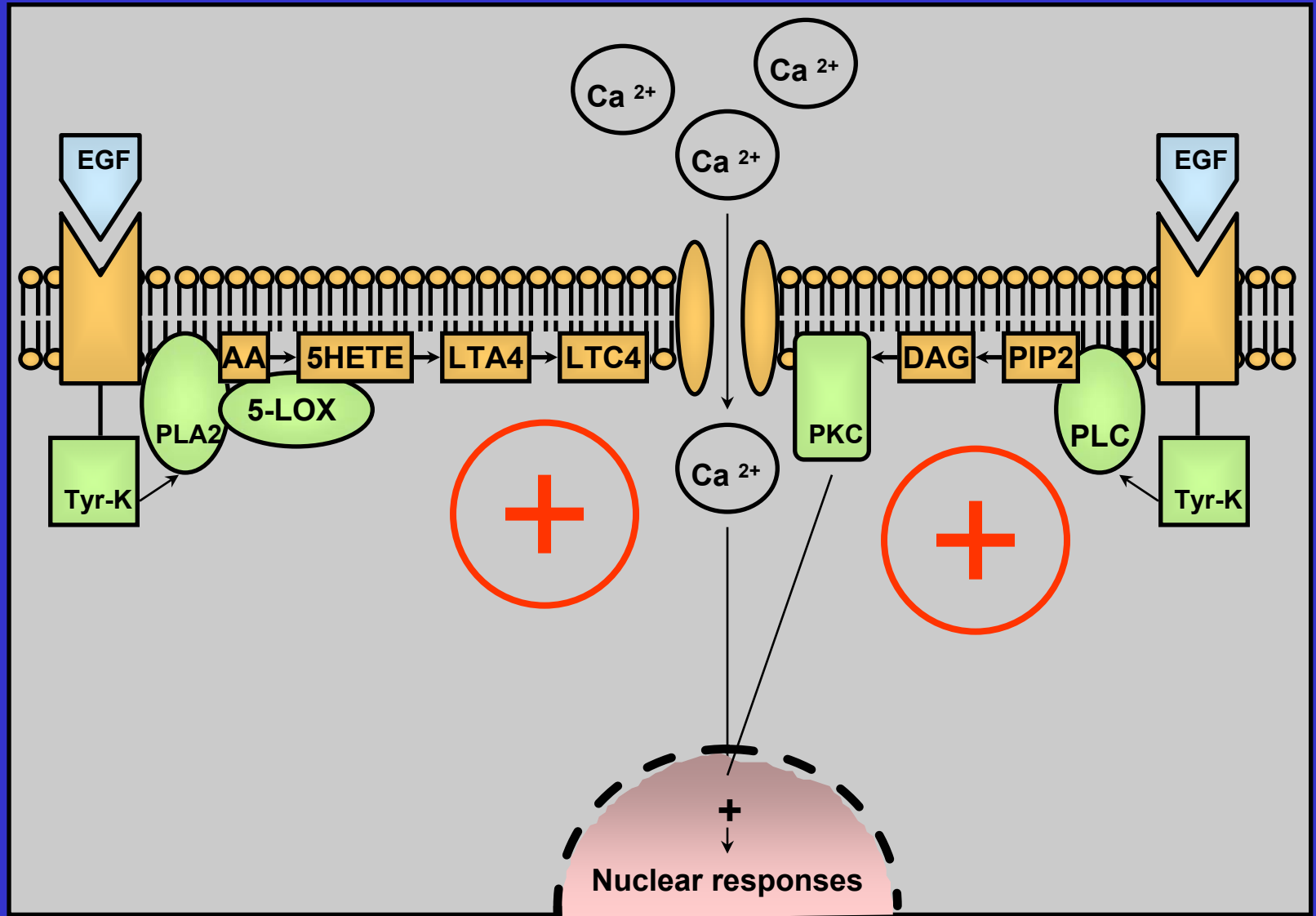
MEMBRANE PHOSPHOLIPIDS



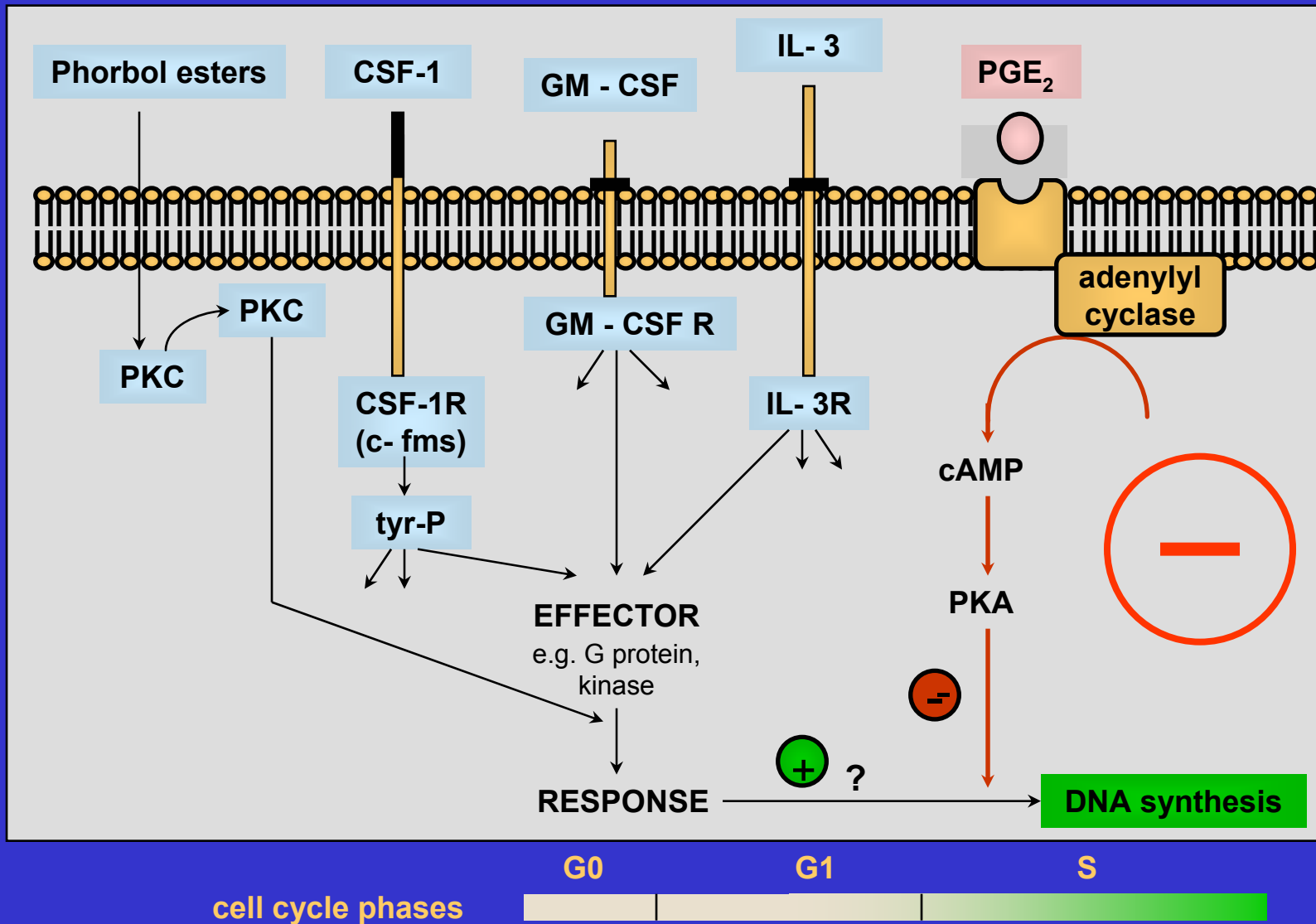
Signal transmission systems



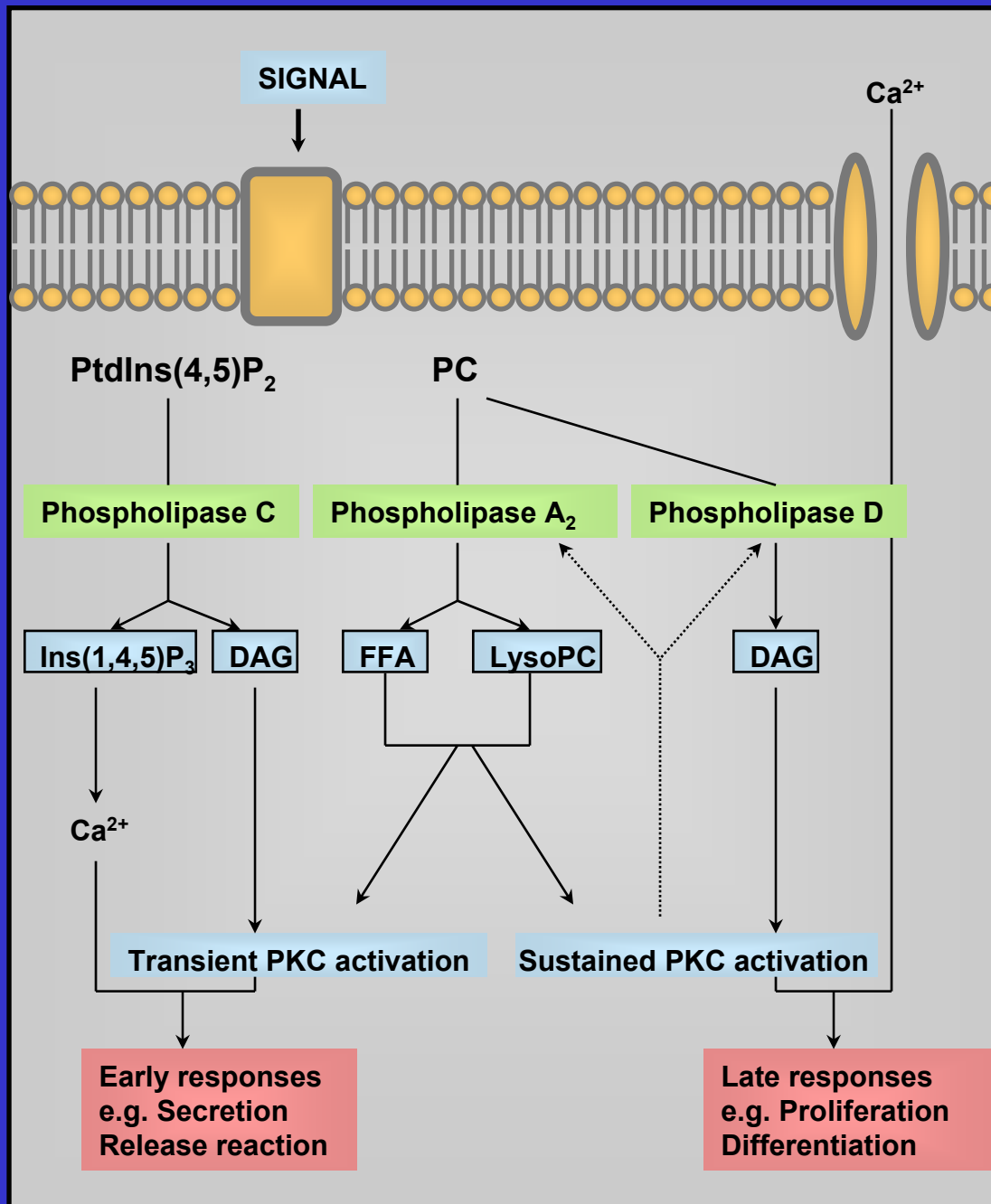
positive effect on cell proliferation– an example



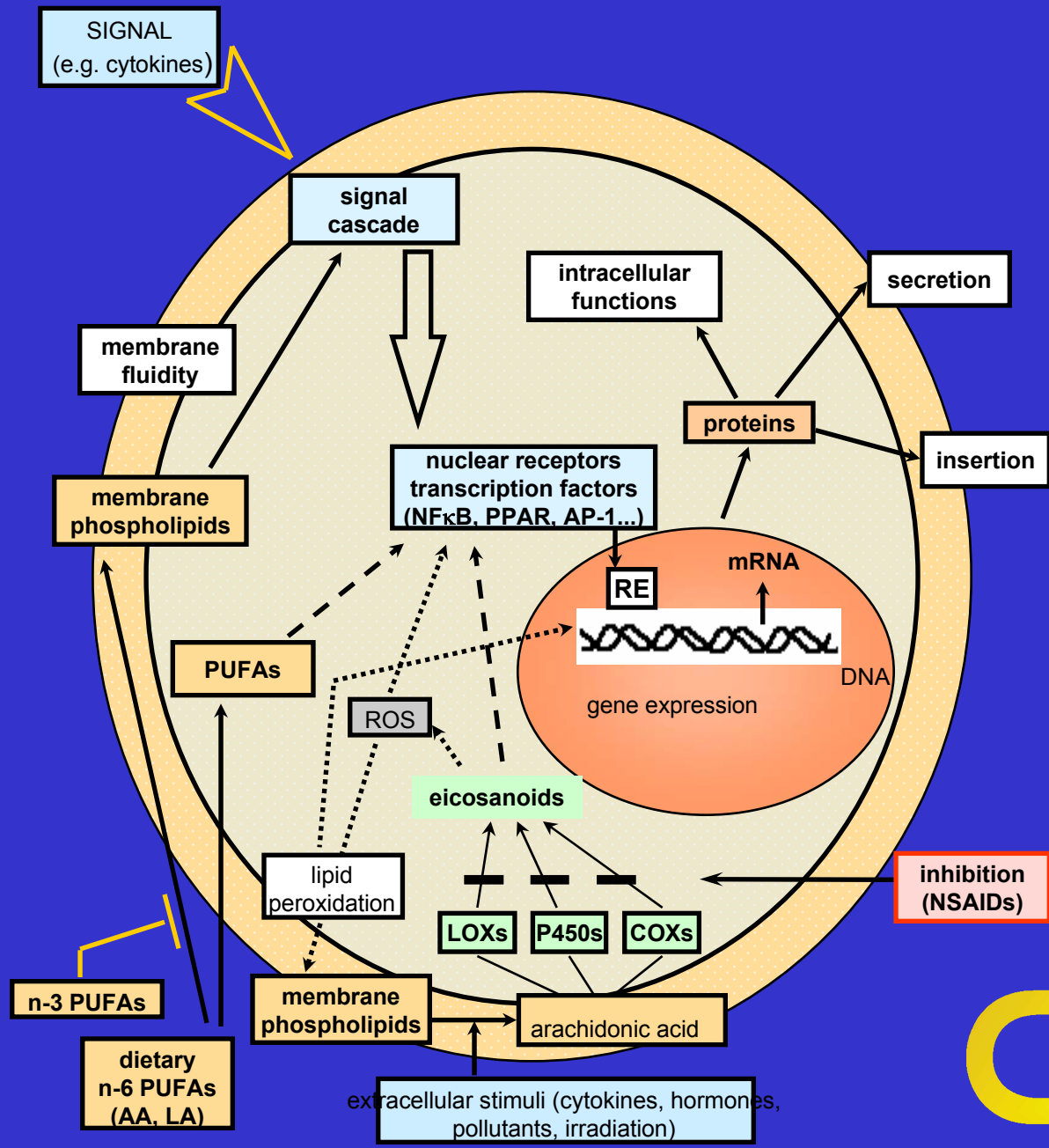
Negative effect on cell proliferation— an example



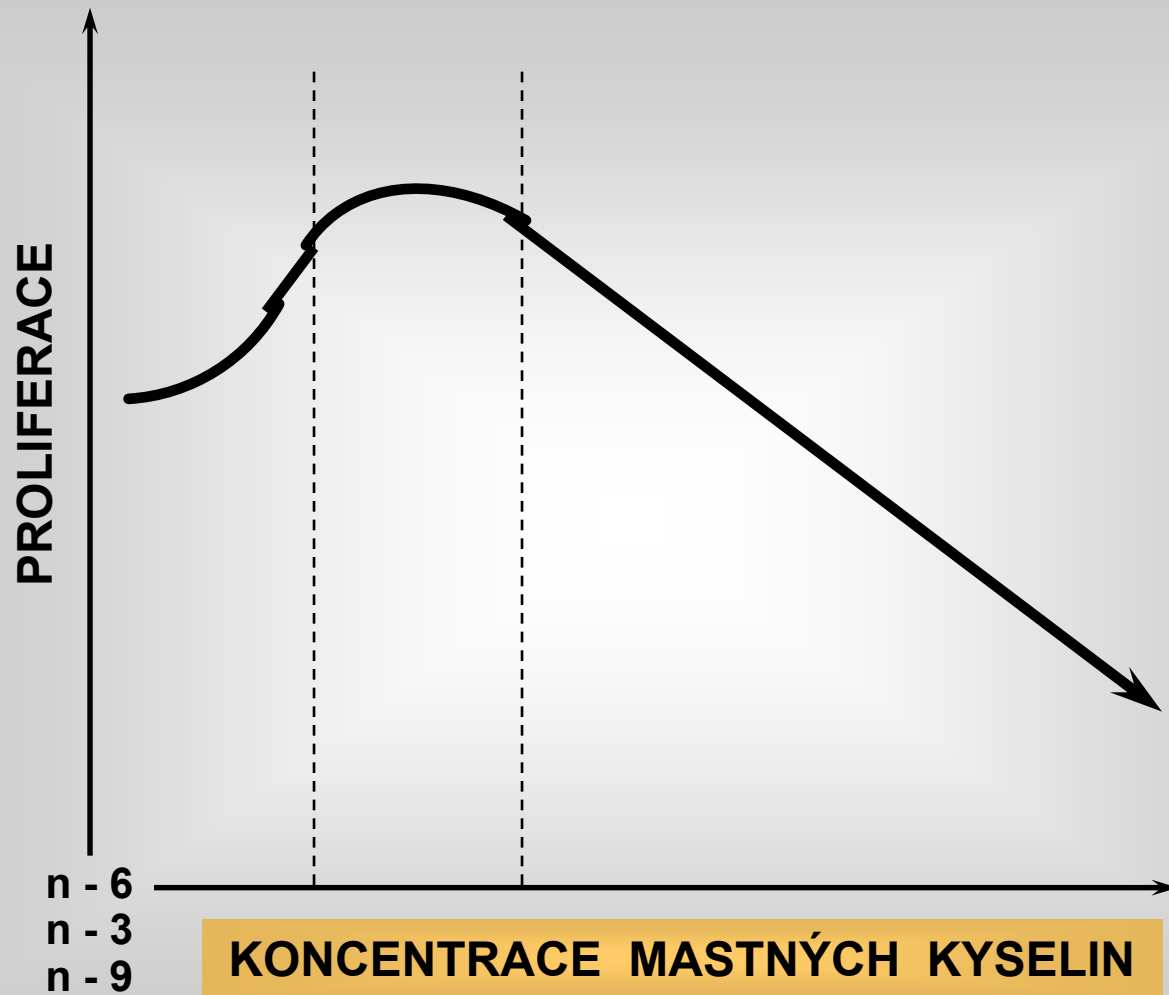
Protein kinases and phosphatases



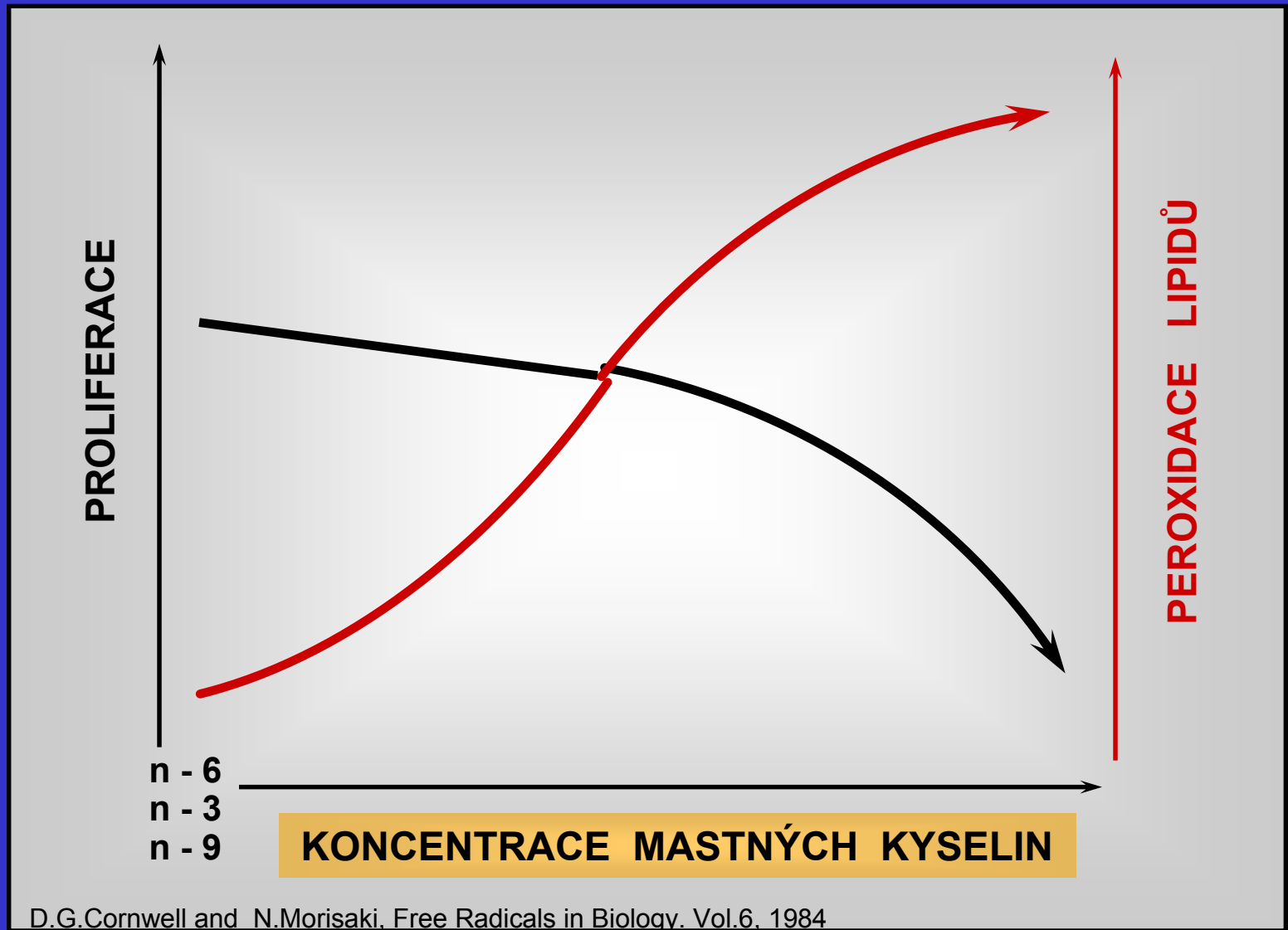
Spolupůsobení
„regulátorů růstu“
rozdílné chemické povahy

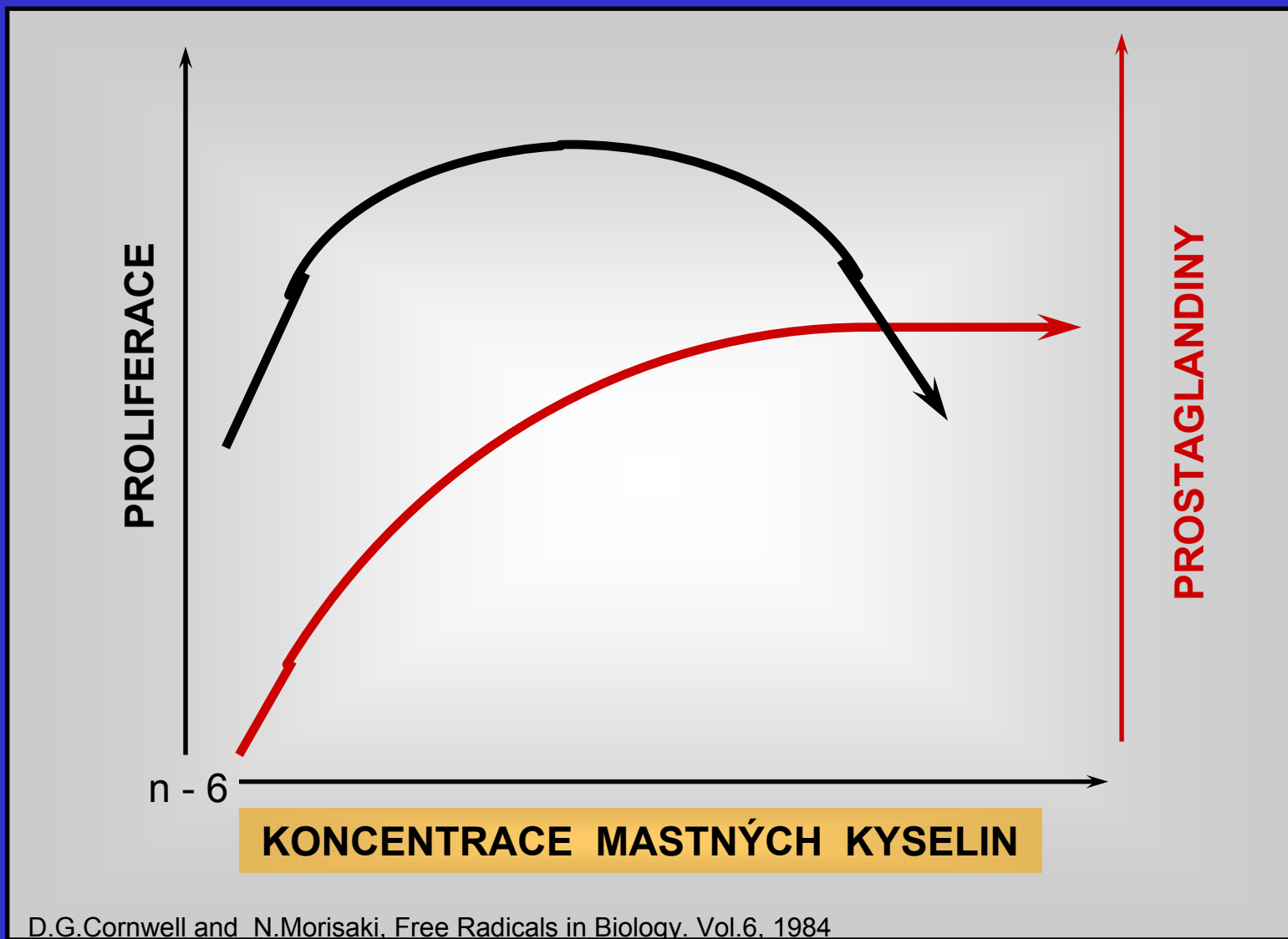


Význam rovnováhy v přísunu prekursorových PUFAs
a
v produkci jednotlivých jejich metabolitů



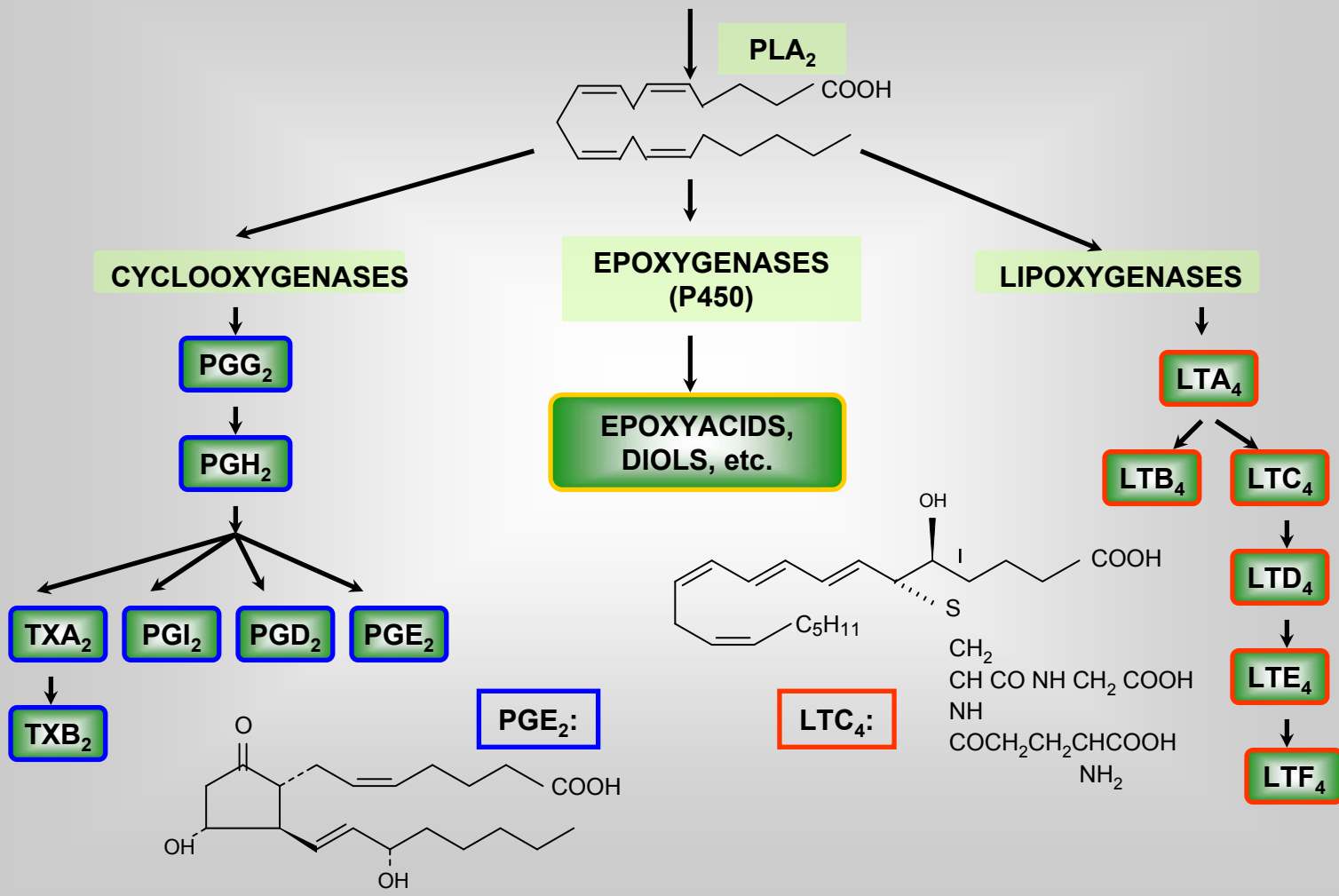
D.G.Cornwell and N.Morisaki, Free Radicals in Biology. Vol.6, 1984





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

MEMBRANE PHOSPHOLIPIDS



Arachidonic acid: metabolic pathways and its possible modulations

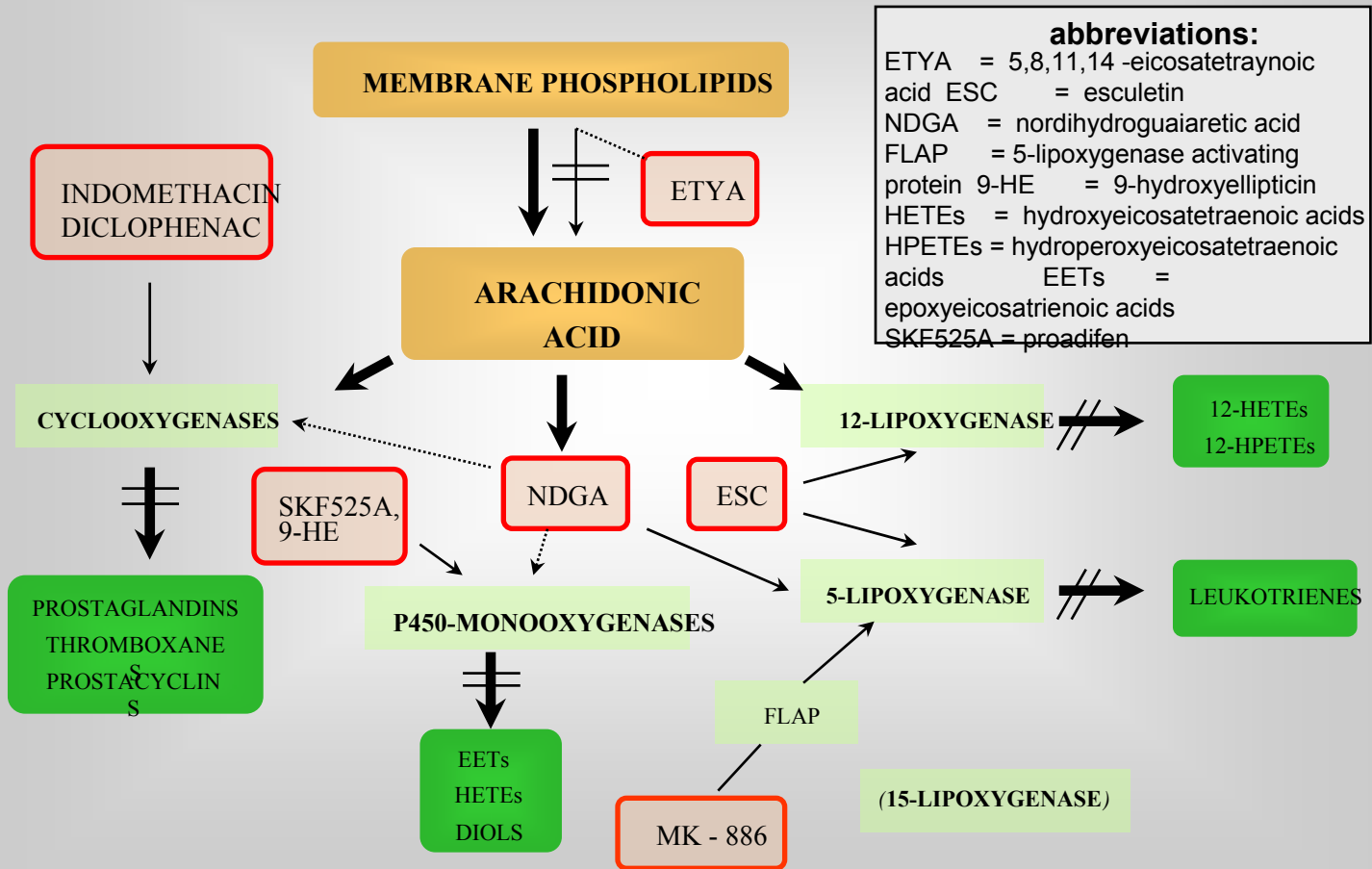


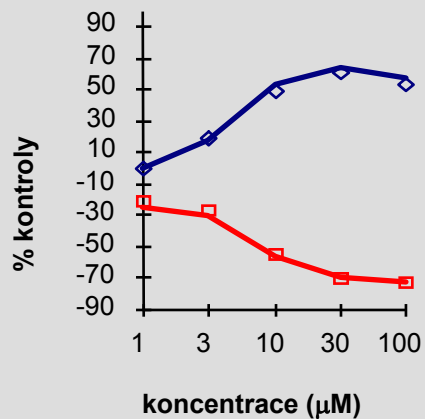
Figure 1

PRODUKTY

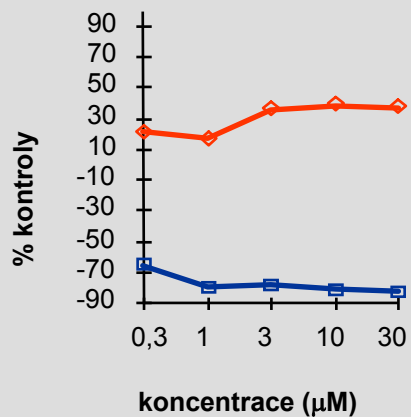
LIPOXYGENÁZ A CYKLOOXYGENÁZ

VORE et al., J. Immunol. :
11, 435 - 442, 1989

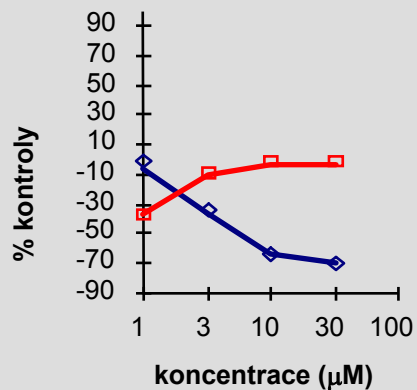
Esculetin



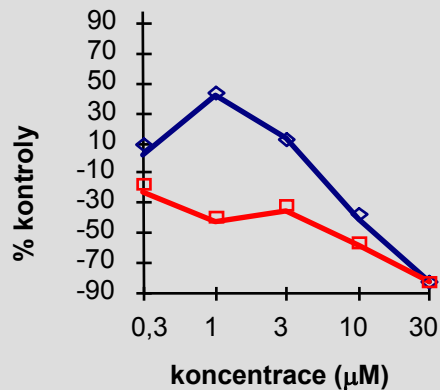
Indomethacin



Ibuprofen



NDGA

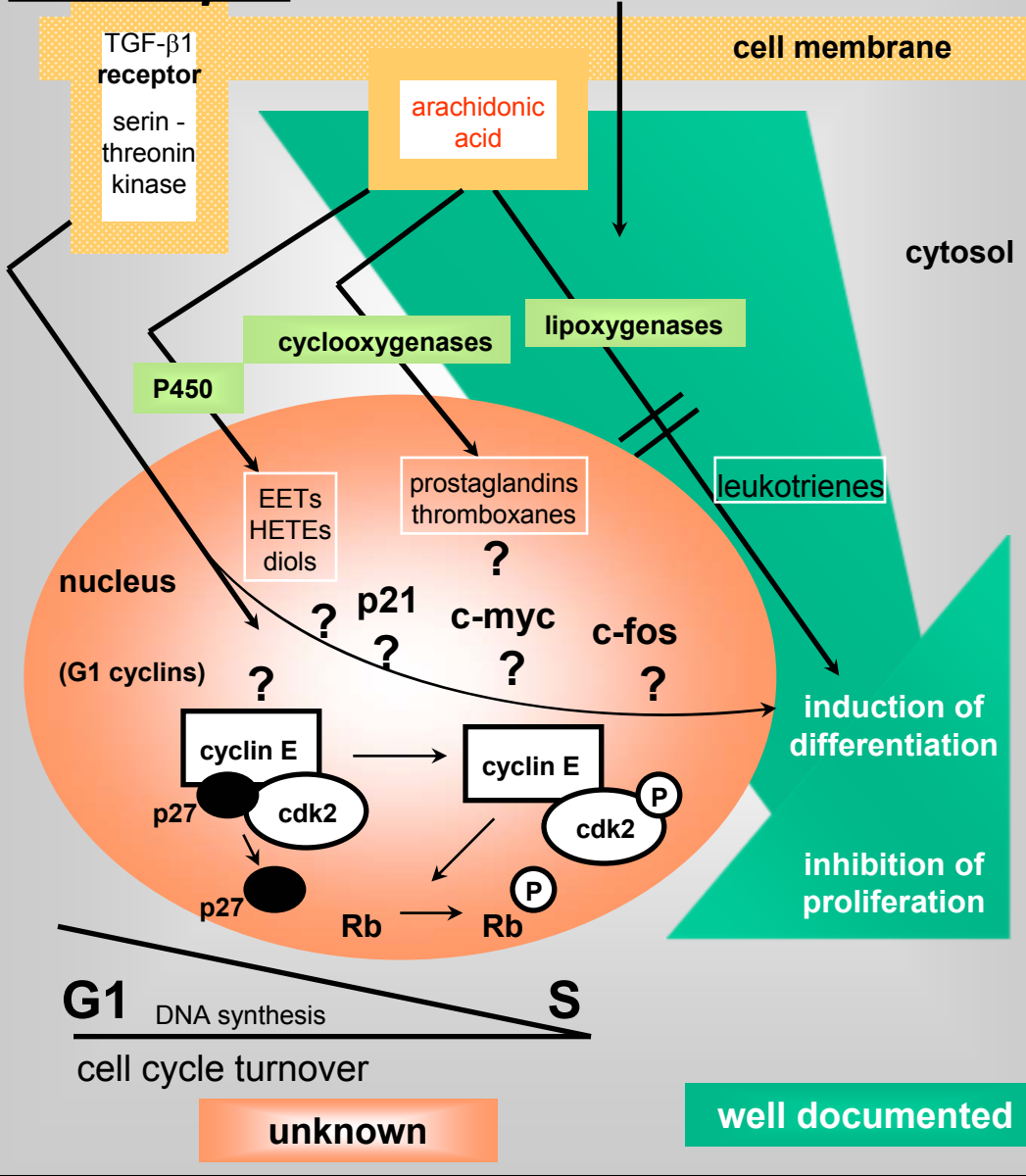


TGF-β1

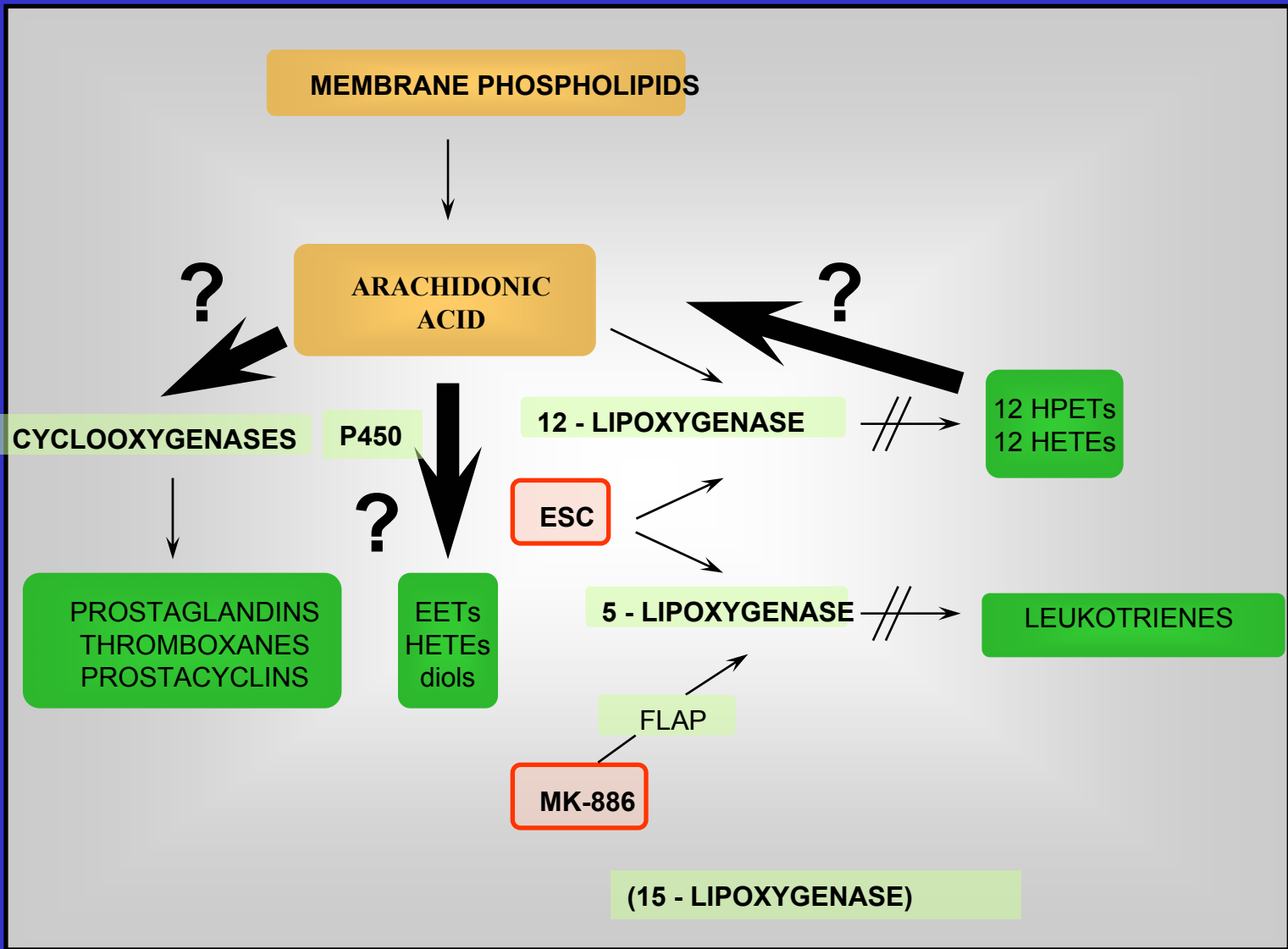
+ lipoxygenase inhibitors
(MK886, esculetin)

+ differentiation agents
(TPA, RA, DMSO)

effect



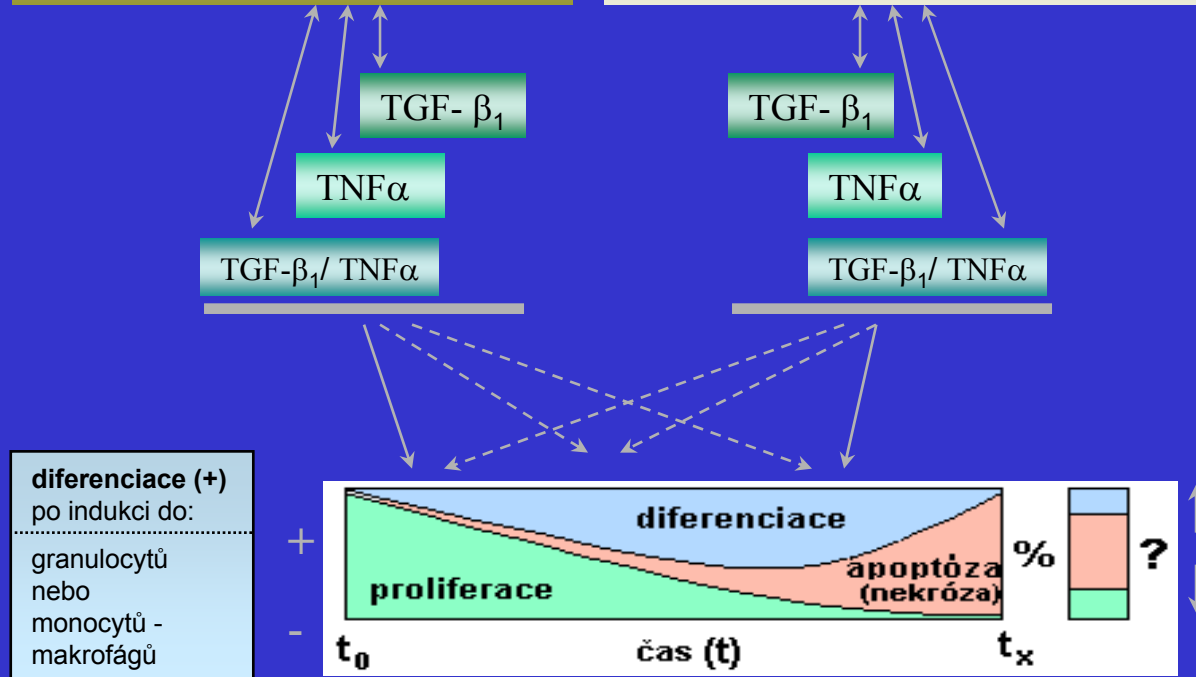
some interactions of TGF-β1 and AA metabolism with other regulatory molecules which should be studied (unknown effects)



Ovlivnění metabolismu eikosanoidů

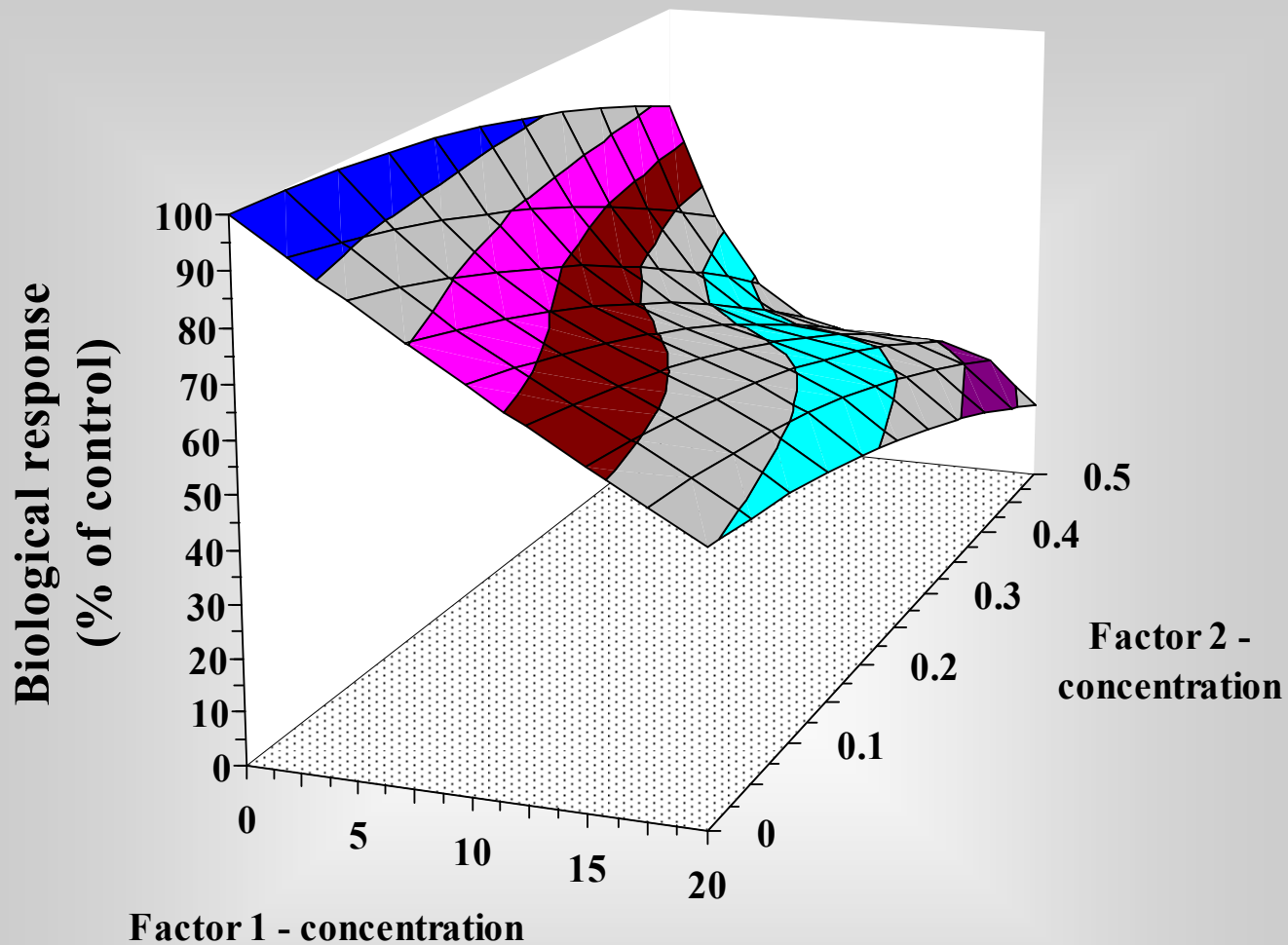
I. dodáním exogenní kyseliny arachidonové (AA)

II. ovlivněním produkce eikosanoidů s využitím inhibitorů: LPO nebo CO nebo P450

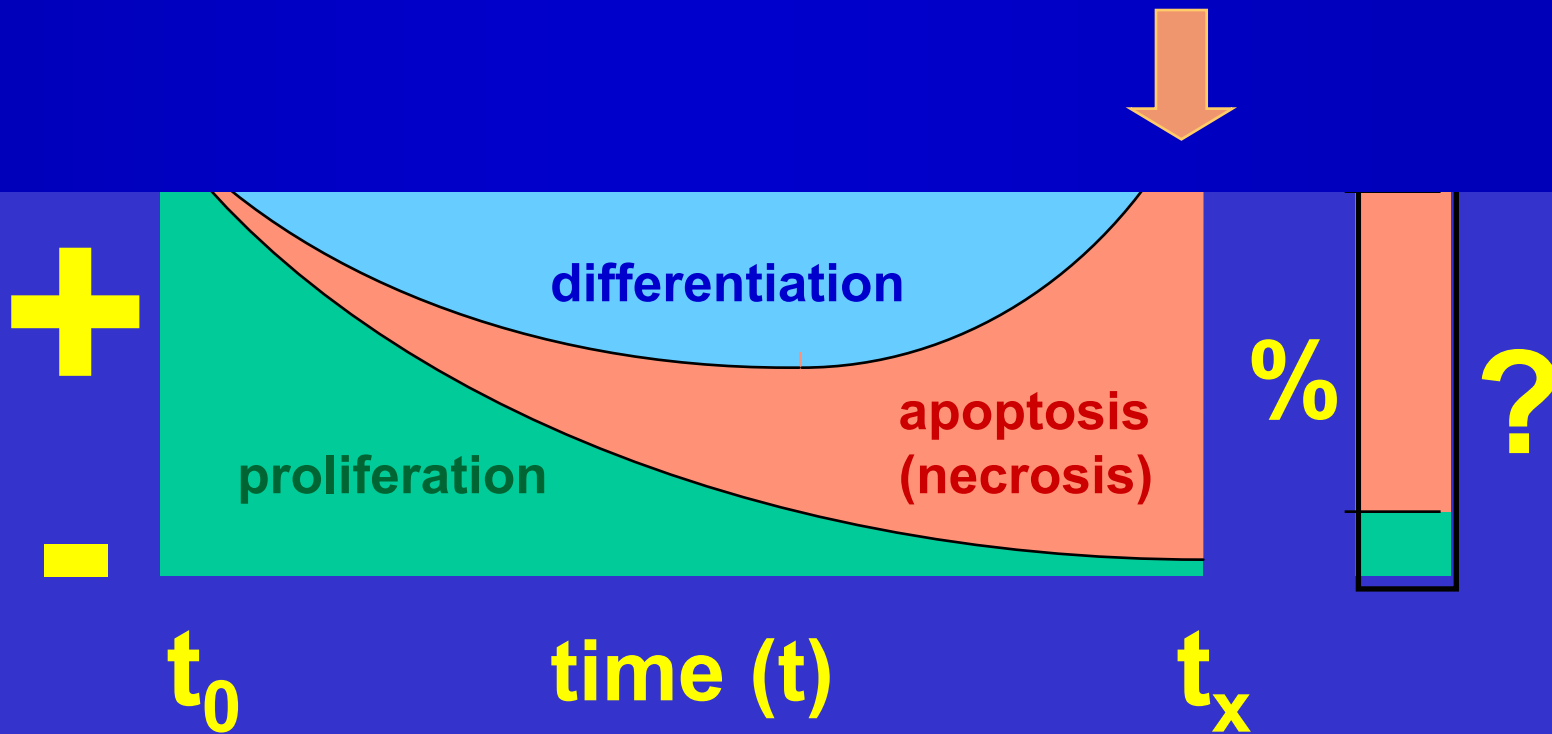


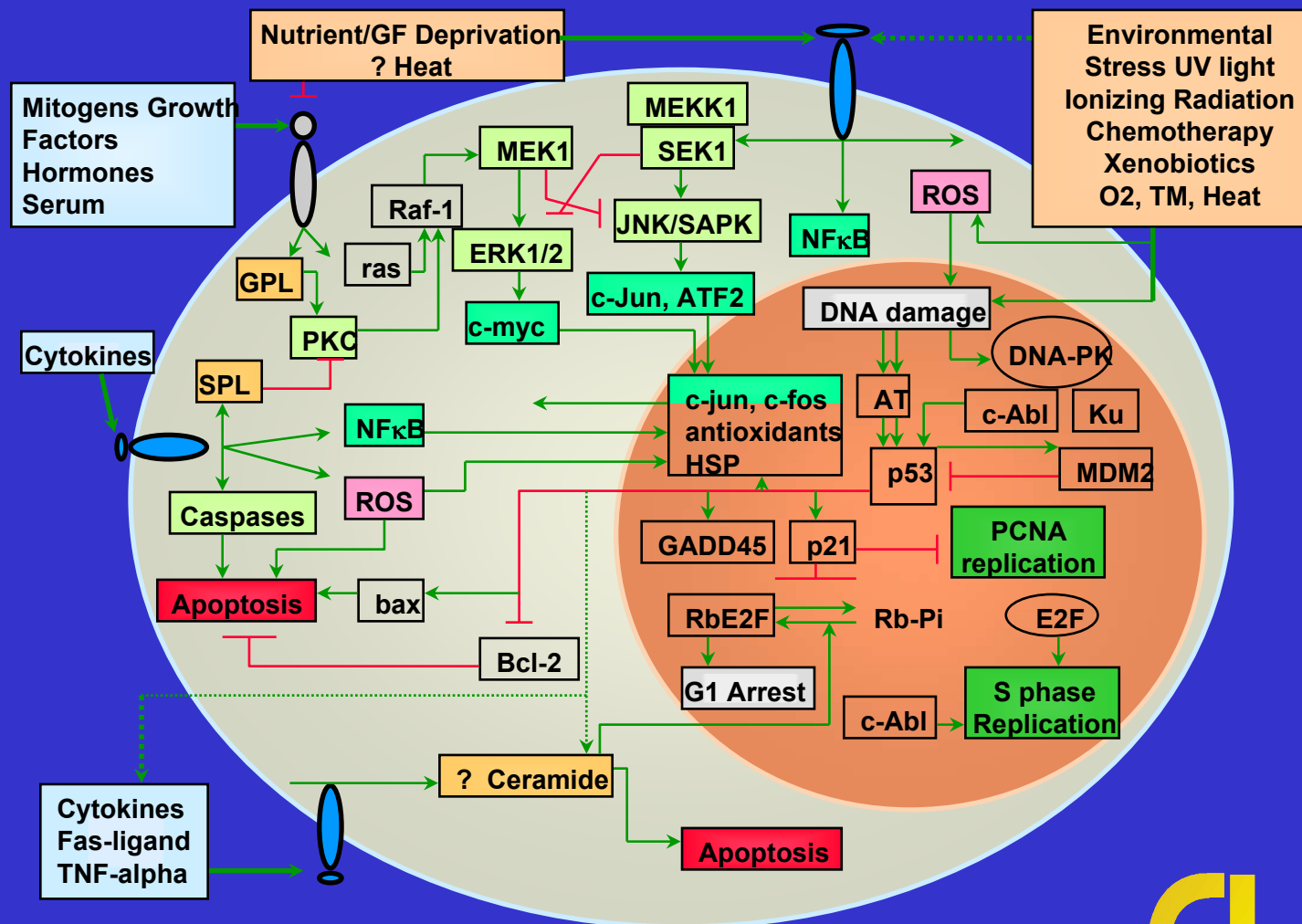
Vytvoření souboru dat detekcí proliferace, diferenciace a apoptózy u buněk v definovaných časových intervalech

Zhodnocení dat: vymezení významných interakcí pomocí matematické analýzy dat **upřesnění** modelových exp. podmínek pro detailnější **studium mechanismů**

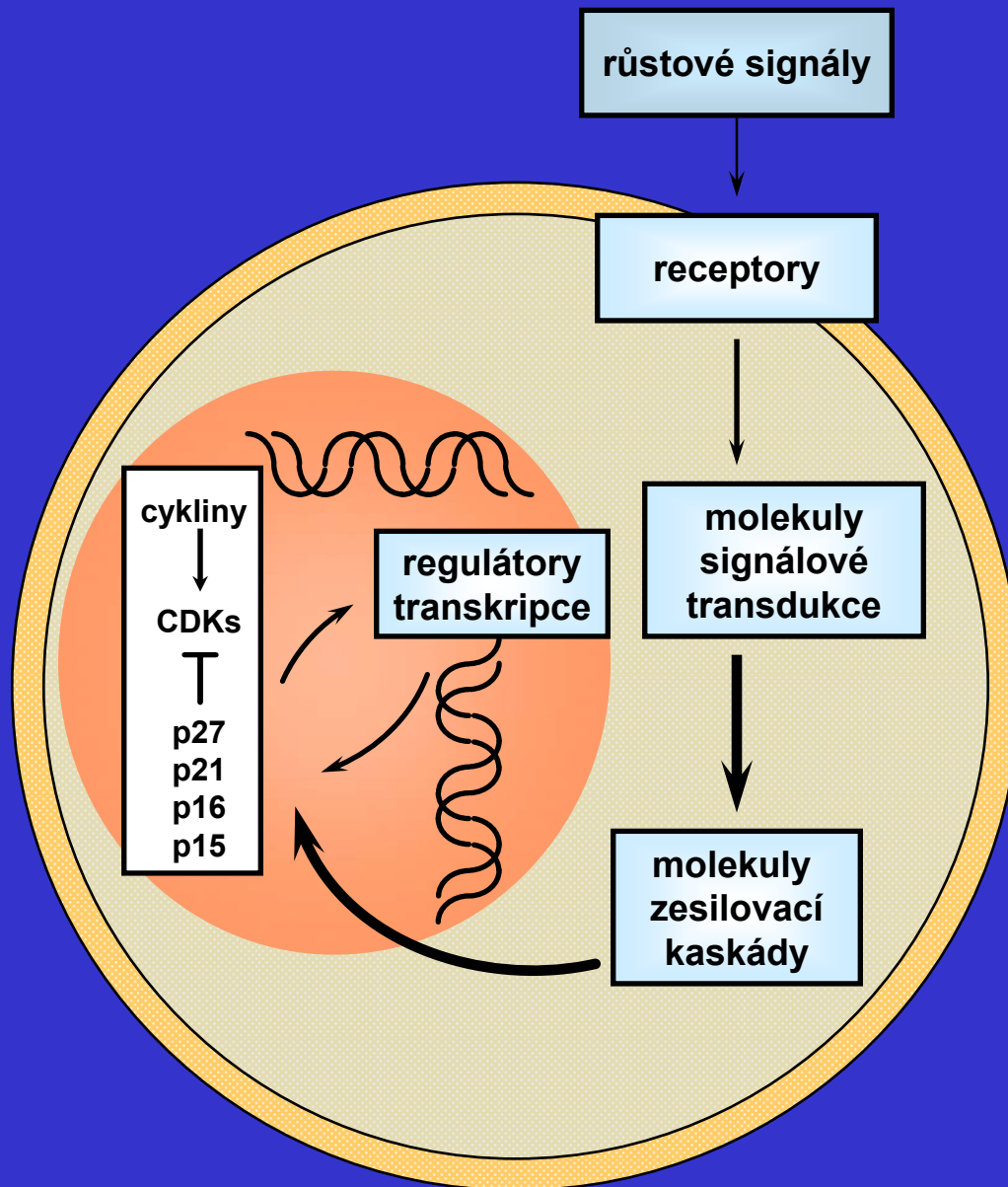


An example of interactions of two factors (data from Eur. J. Pharmacol. 316, 349-357, 1996, see [Publications.](#))





According to: Rizzieri: Drug Resistance Updates; 1: 359 - 376, 1998



Summary of the mechanisms by which specific gene regulatory proteins control gene transcription in procaryots

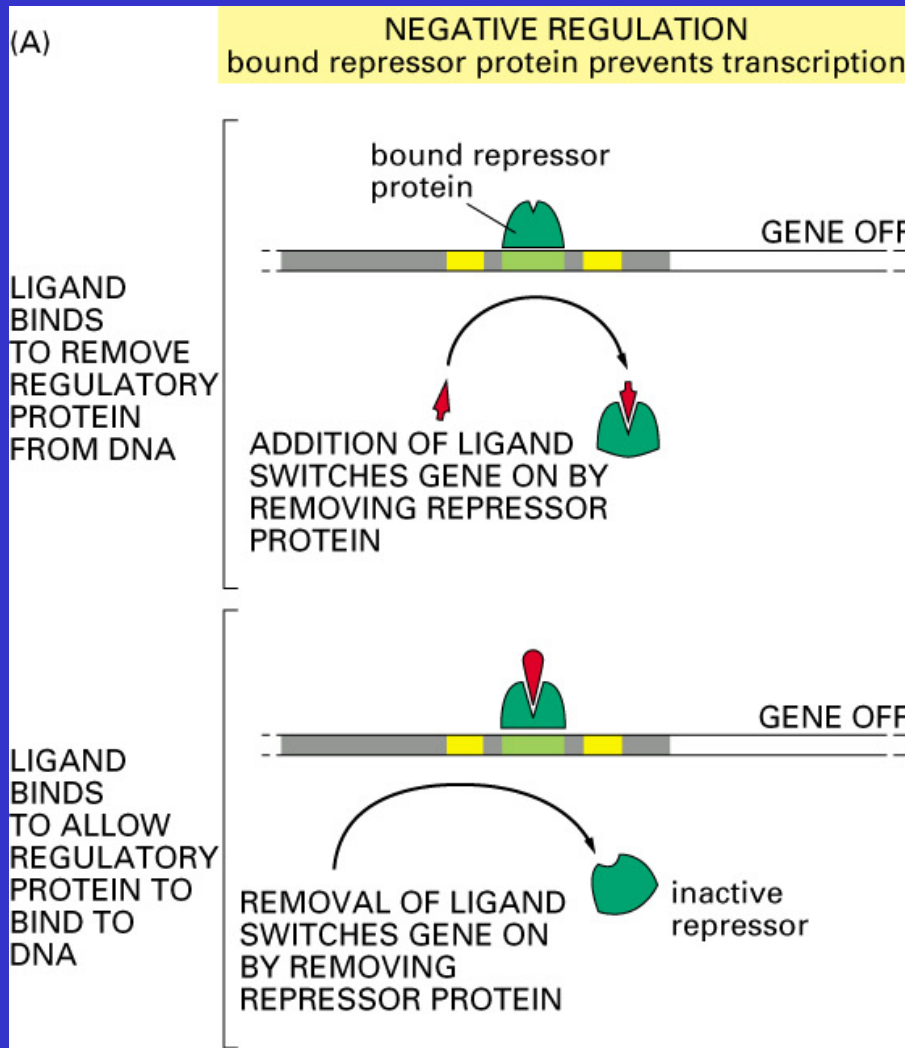


Figure 7-36 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

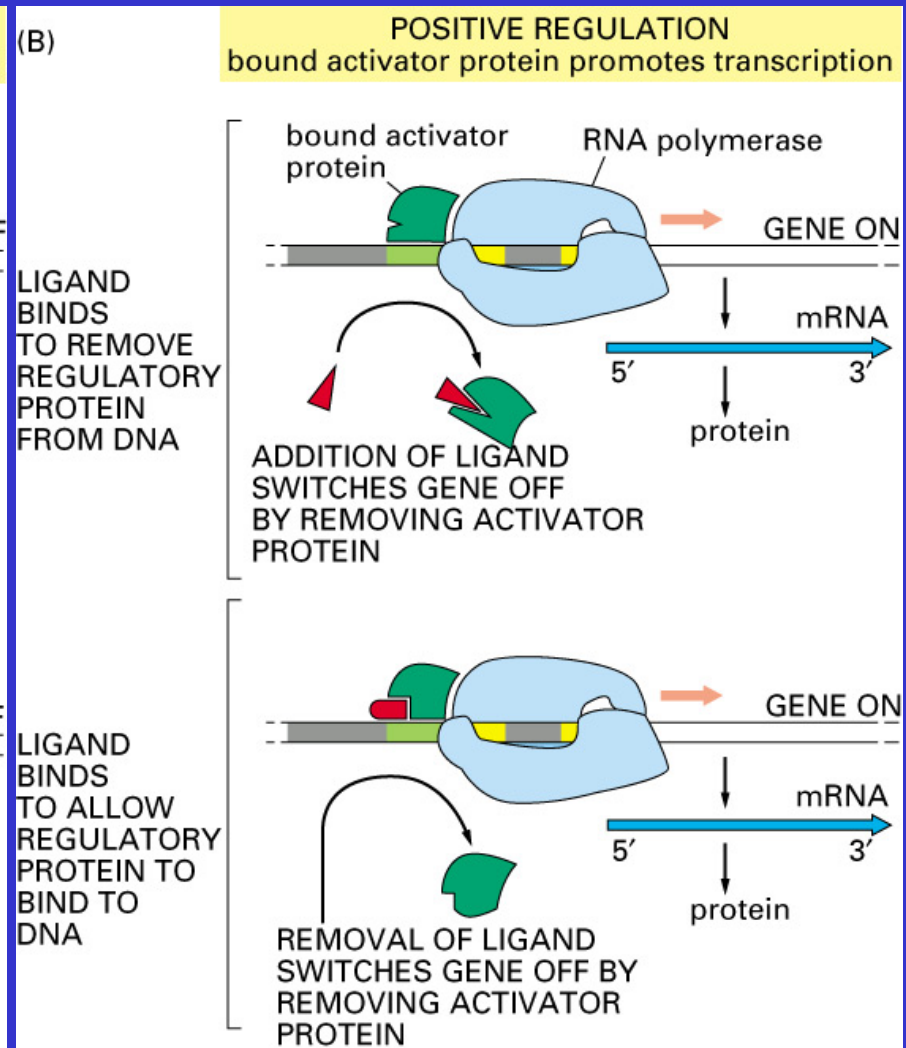
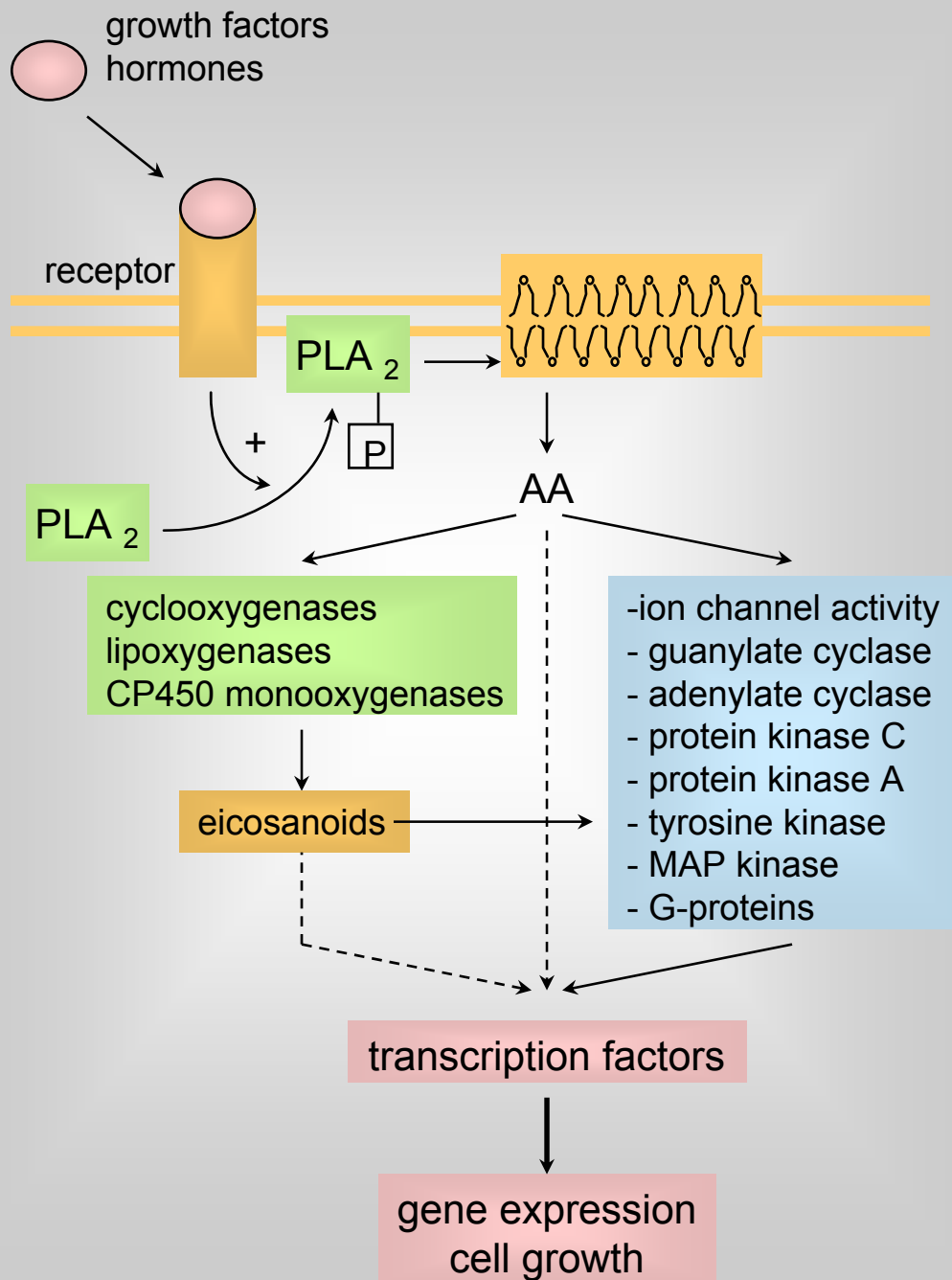


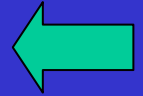
Figure 7-36 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



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

STRUKTURÁLNÍ ÚLOHA

FOSFOPIDŮ V BUŇKÁCH



**MEMBRANOVÉ
SYSTÉMY
a buněčné
kompartmenty**

Protientropické
důsledky



Laboratoř
ytokinety
Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

NEODMYSLITELNÉ od BUNĚČNÝCH FUNKCÍ

„Epigeneticky“ působící faktory, které mohou modulovat rychlost dělení, diferenciaci anebo zánik buněk

Faktory, které mohou ovlivnit cytotkinetiku změnami

1) exprese anebo funkce molekul zapojených v přenosu signálů přímo regulujících proliferaci, diferenciaci a buněčnou smrt (apoptózou),

včetně exprese protoonkogenů a nádorově-supresorových genů

2) signálů, které tyto funkce ovlivňují do určité míry nepřímo,

jako jsou inhibice mezibuněčných spojení, ovlivnění funkce enzymů reparujících DNA, metylace DNA apod.

Modulace cytokinetiky látkami tukové povahy

Lipidy a zejména jejich složky *vysoce nenasycené kyseliny* (PUFA), včetně jejich metabolitů *eikosanoidů*,

patří mezi významné epigeneticky působící faktory schopné ovlivnit jak dělení a zánik normálních,

ale i transformovaných buněčných populací, tak proces maligní transformace.

Hlavní mechanismy působení PUFAs

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