

Fyziologie buněčných systémů (proliferace, diferenciace)

A. Kozubík

Biofyzikální ústav AVČR, v.v.i., (*Oddělení cytokinetiky*)
Ústav experimentální biologie, PŘF MU
(*Oddělení fyziologie a imunologie živočichů*)
Brno

Diferenciace

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

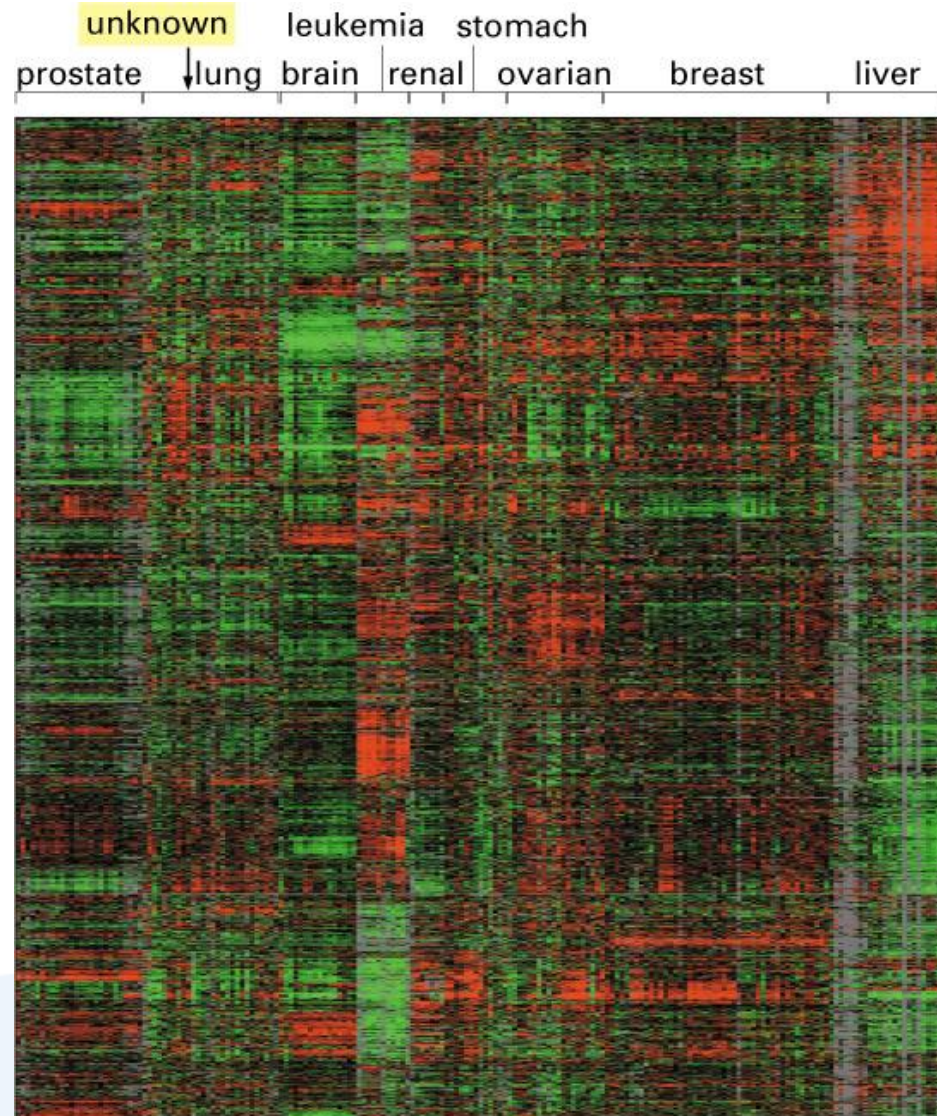


Figure 7-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Differences in the proteins expressed by two human tissues

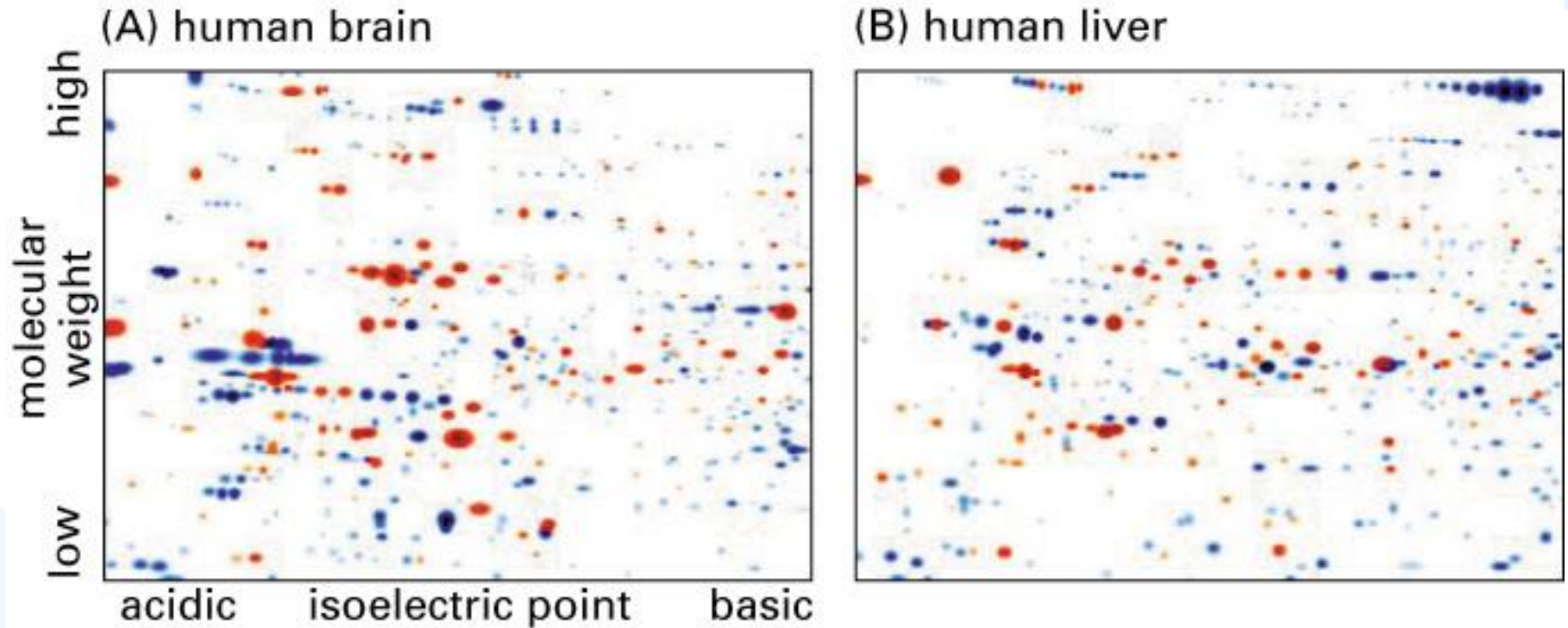


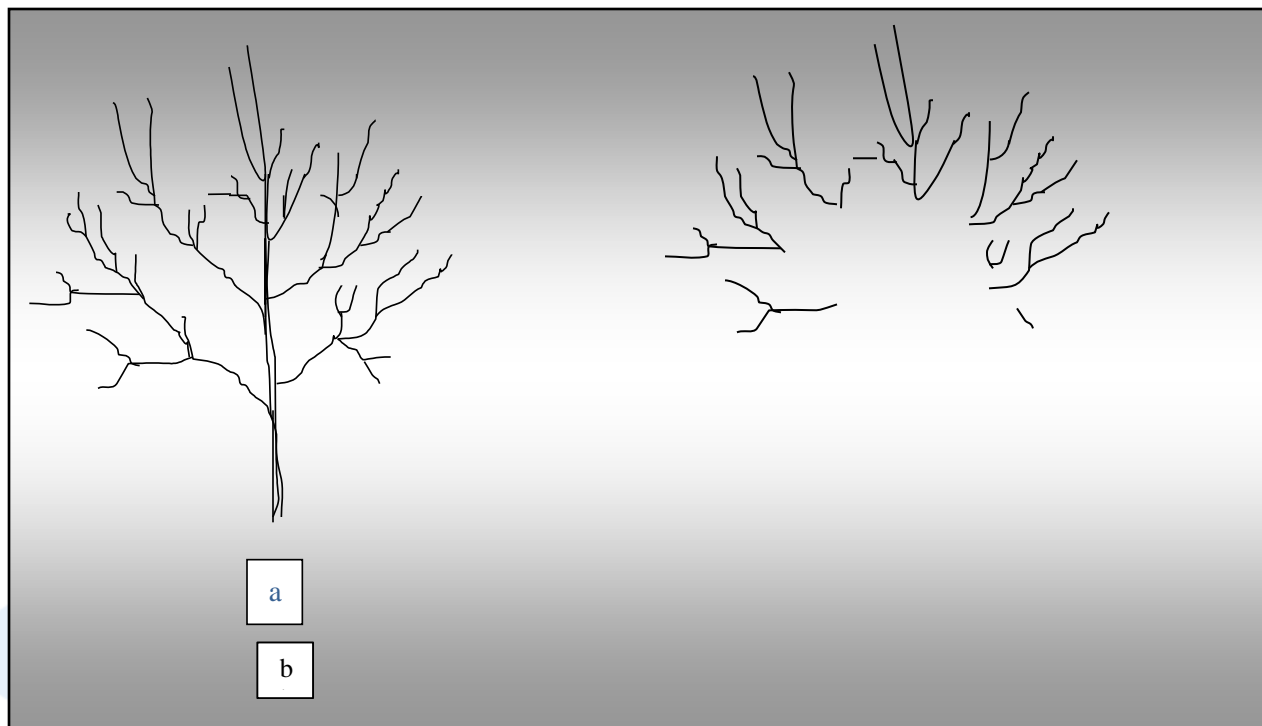
Figure 7-4. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition

Polyklonální charakter kostních buněk

Přirovnání kmenové buňky ke stromu:

a – kmenová buňka v embryonální podobě

b – kmenová buňka v dospělosti



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

(podle Knospe 1978)

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

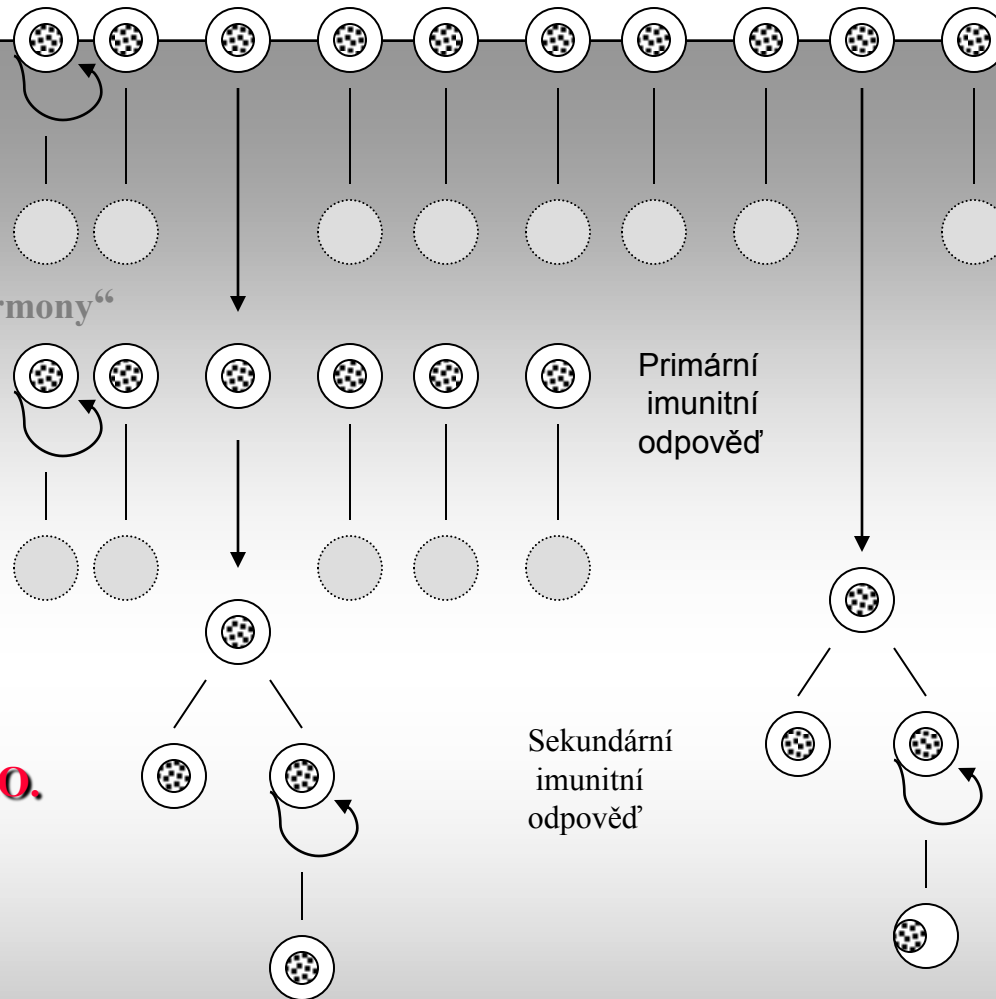
LYMFOPOÉZA

Kostní dřeň

PRIMÁRNÍ L.O.

Thymus –“thymové hormony“

SEKUNDÁRNÍ L.O.
(Lymfatické uzliny
a slezina)



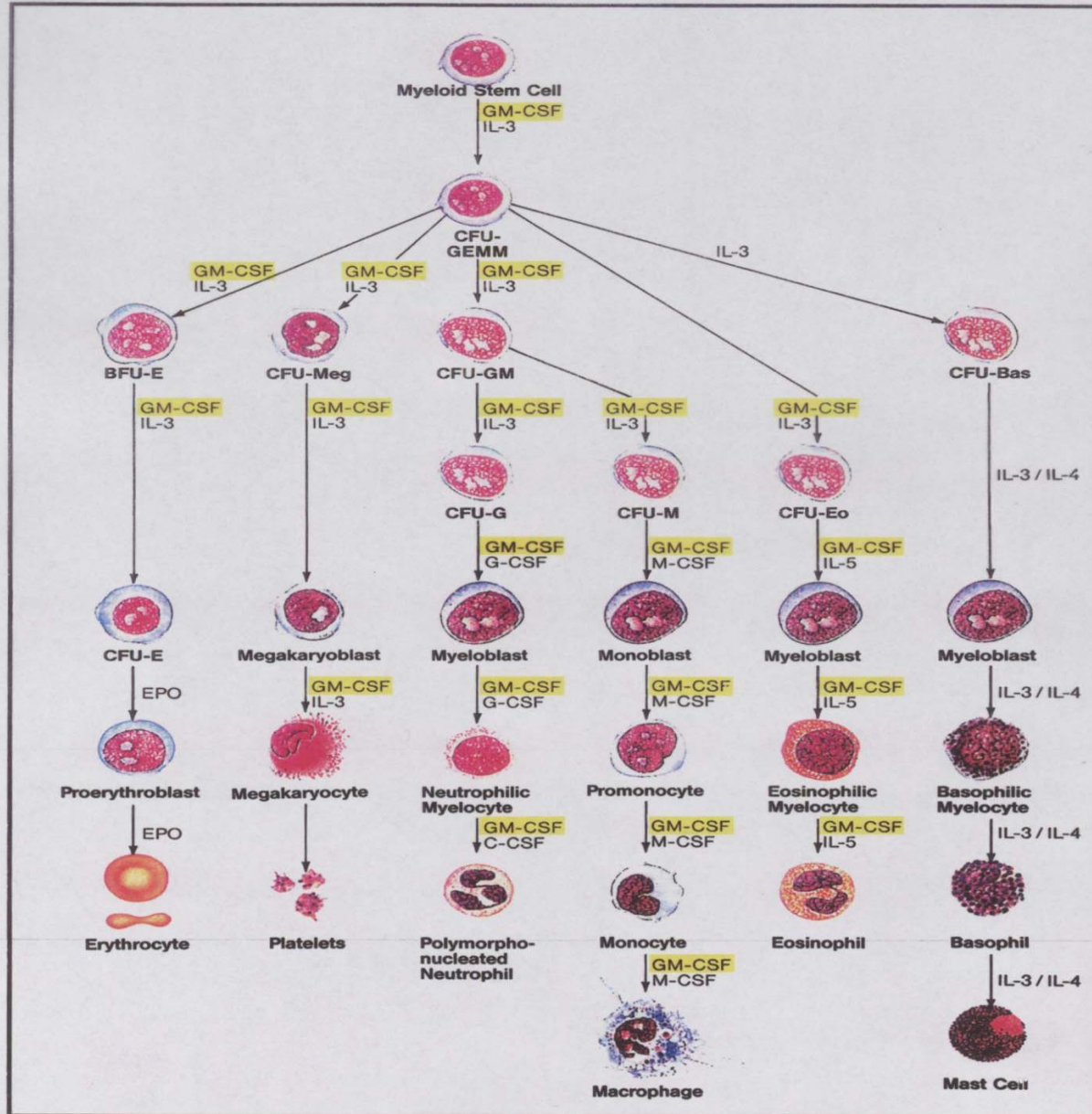
Recirkulující paměťové buňky
s dlouhou dobou života
T-lymfocyty

Buněčná imunita

Plazmatická buňka

B lymfocyty
Humorální (IG)
imunita

The early acting growth factor which maximises host defense



Hematopoetické buňky kostní dřeně

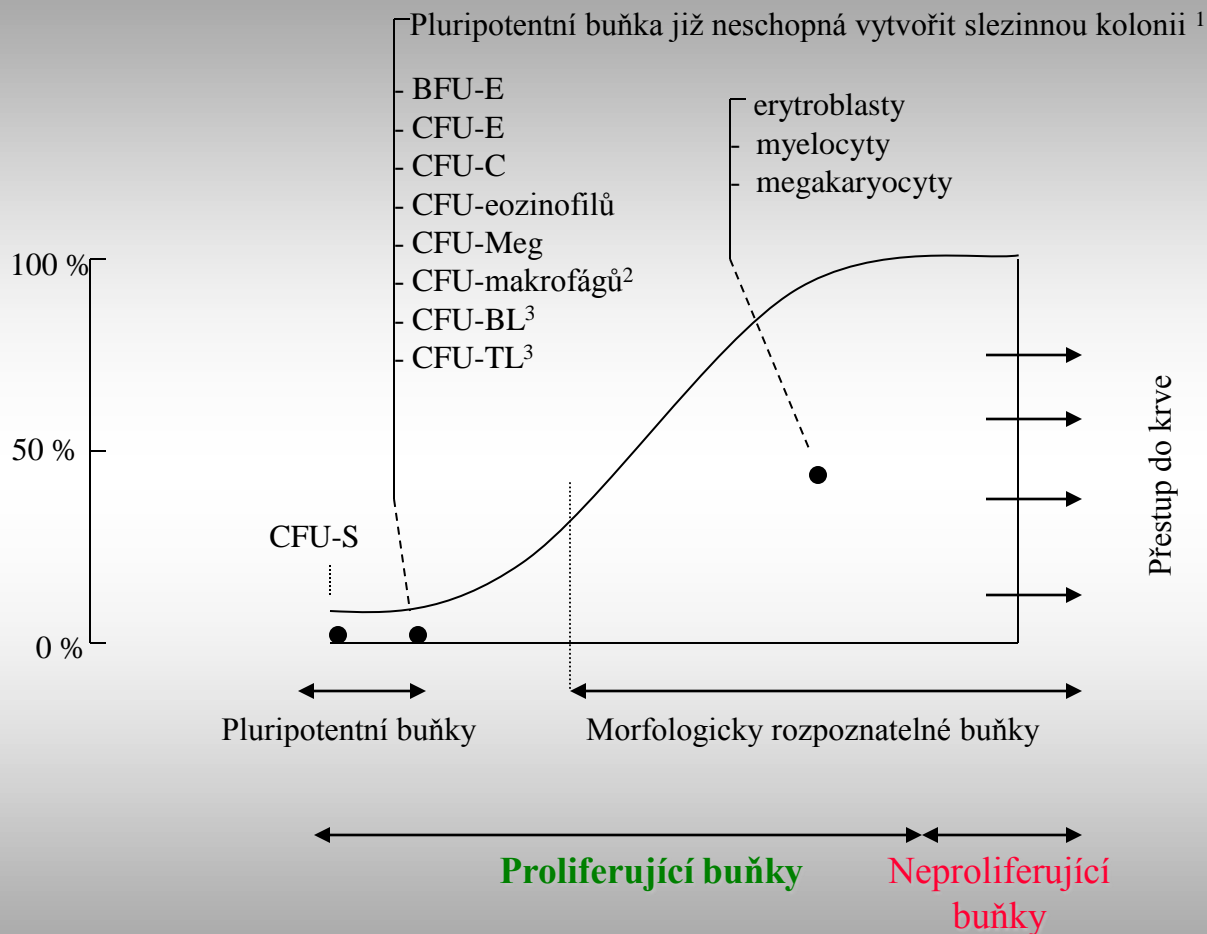
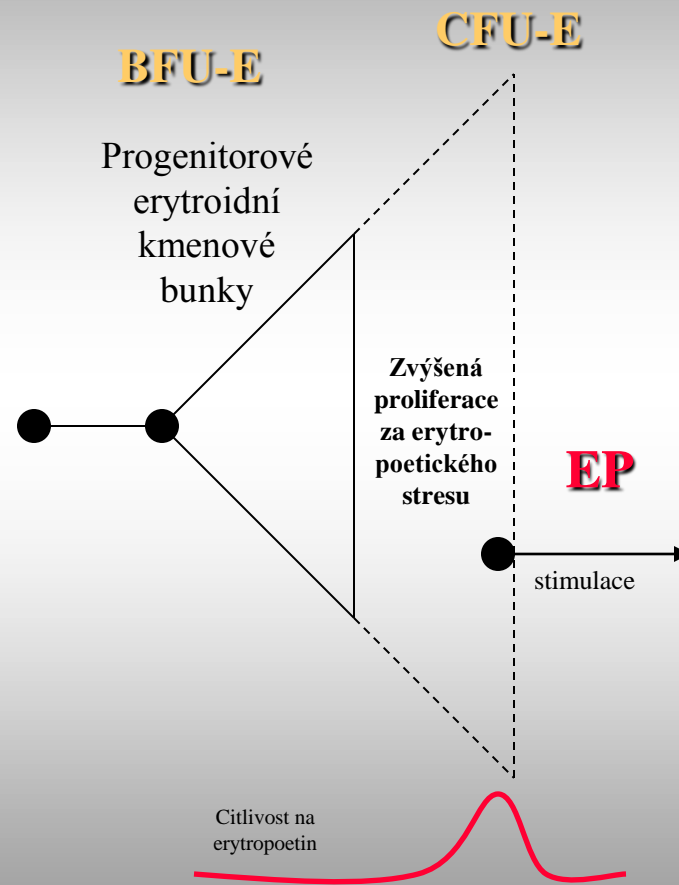
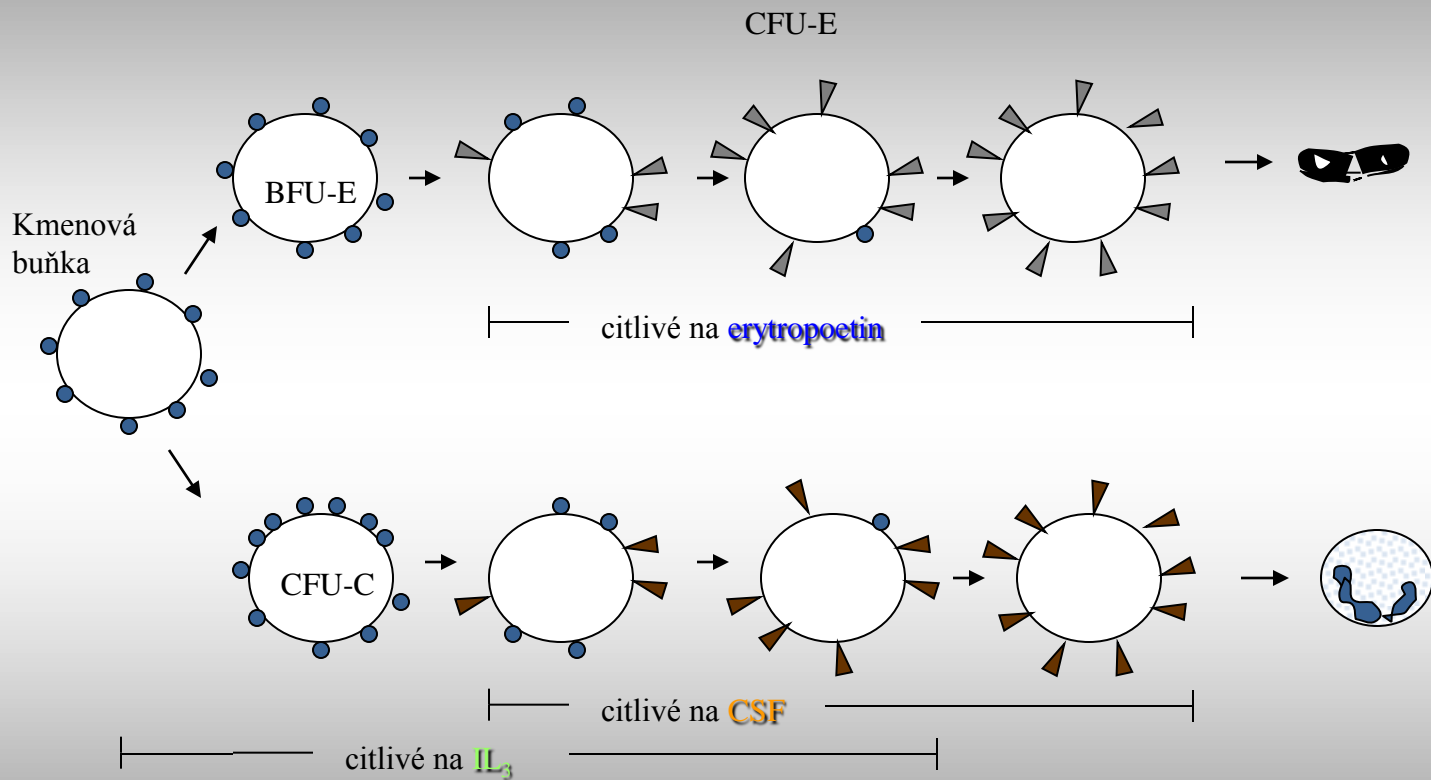


Schéma kvantitativního zastoupení různých prekurzorů krevních buněk v krvetvorné tkáni.

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

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)*.





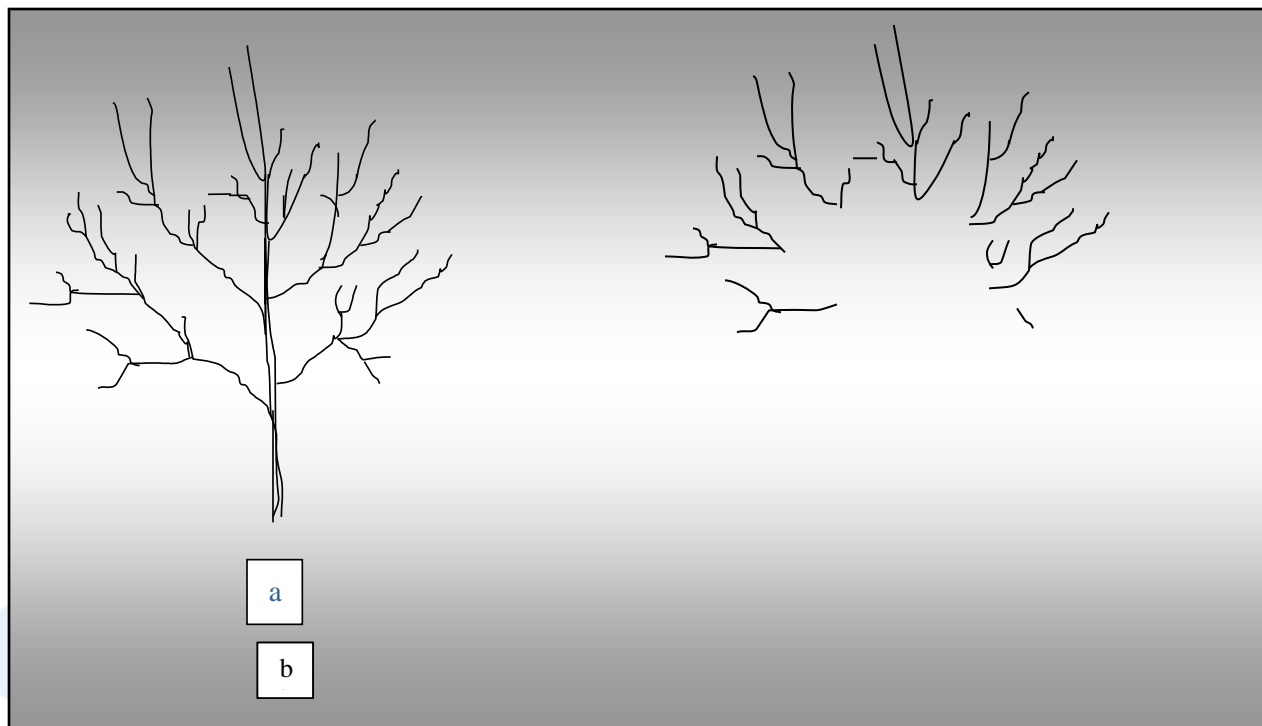
Obr.27. Model humorálního řízení hemopoézy. Nejnezralejší buňky obsahují receptory ● k faktorům nezávislým na diferenciaci jednotlivých řad, jako je IL₃. Při maturaci se postupně tyto receptory ztrácejí a objevují se specifické receptory pro humorální faktory jednotlivých řad [pro erythropoetin (▽) a pro CSF (▼)]. Podle Iscova (1978)

Polyklonální charakter kostních buněk -

Přirovnání kmenové buňky ke stromu:

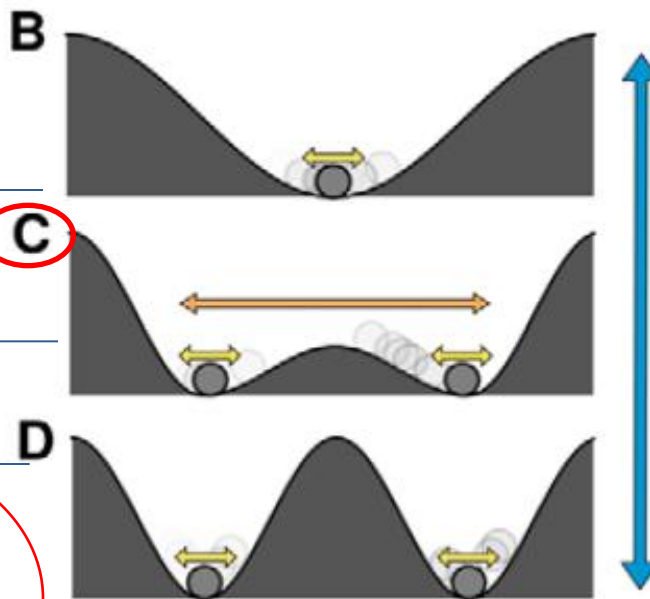
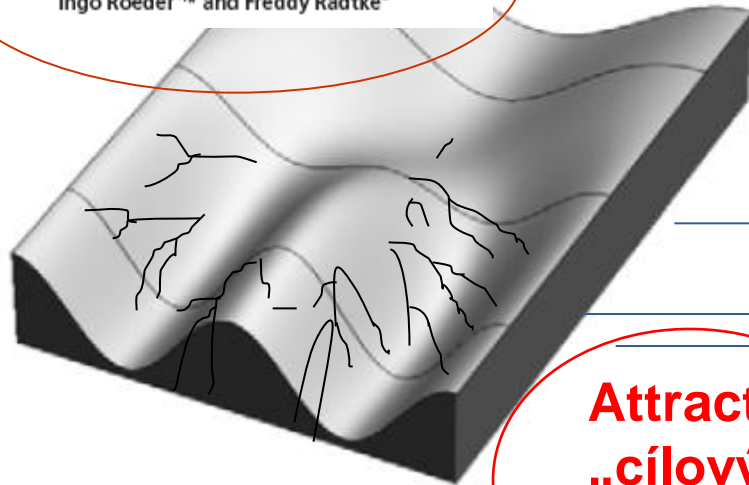
a – kmenová buňka v embryonální podobě

b – kmenová buňka v dospělosti



A Stem cell biology meets systems biology

Ingo Roeder^{1,*} and Freddy Radtke²



Attraktor
„cílový“
pohyb

Fig. 1. Attractor concept for the description of cellular states and different levels of variability. (A) A three-dimensional illustration of an attractor landscape. The valleys represent stable stationary states (i.e. attractors) generated by a hypothetical regulatory network. Depending on the particular configuration of the network (e.g. different parameter values, such as transcription or decay rates), a different number and/or different qualities of attractors are possible. (B-D) Selected attractor configurations (i.e. cross-sections of the given landscape) with corresponding variance components. (B) A single attractor, characterised by a small degree of potential fluctuations in cellular characteristics within the attractor ('microheterogeneity'). (C) Two accessible attractors. This configuration allows for heterogeneity within attractors and for potential exchange between the attractors ('macroheterogeneity'). (D) Two separated attractors. Cells are trapped in one of the two possible attractors and cannot exchange between them. However, a third level of heterogeneity (illustrated by the blue arrow) corresponds to potential changes in the attractor landscape itself. This can be achieved by changes in the configuration (e.g. the parameter values) of the network, even without changing the structure/topology of the network.

Attractor „cílový“ pohyb

Někter

Limita

je matematická konstrukce, vyjadřující, že se hodnoty zadané posloupnosti nebo funkce blíží libovolně blízko k nějakému bodu. Právě tento bod je pak označován jako limita.

Trajektorie

souvislá čára, kterou hmotný bod při svém pohybu opisuje, se nazývá trajektorie hmotného bodu.

Atraktory - vizualizace

Jedním způsobem vizualizace chaotického pohybu, nebo opravdu libovolného typu pohybu, je vytvoření fázového diagramu pohybu.

někdo kreslí pozici kyvadla vůči jeho rychlosti.

*Kyvadlo v klidu bude zobrazeno jako bod a **kyvadlo v periodickém pohybu** bude nakresleno jako jednoduchá uzavřená **křivka**.*

*Když takový graf vytváří, **uzavřenou křivku**, **křivka** se nazývá orbita.*

Lorenzův atraktor popisuje pohyb systému ve stavovém prostoru.

V matematice a fyzice se **teorie chaosu** zabývá chováním jistých nelineárních dynamických systémů, které (za jistých podmínek) **vykazují jev známý jako deterministický chaos**, nejvýznamněji charakterizovaný citlivostí na počáteční podmínky (viz motýlí efekt). **Malá změna v počátečních podmínkách vede po čase k velmi odlišnému výsledku.**

V důsledku této citlivosti se chování těchto fyzikálních systémů, vykazujících chaos, jeví jako náhodné, i když model systému je

deterministický v tom smyslu, že je dobře definovaný a neobsahuje žádné náhodné parametry.

Příklady takových systémů zahrnují atmosféru, solární systém, tektoniku zemských desek, turbulenci tekutin, ekonomii, **vývoj populace.**

Systemy, které vykazují deterministický chaos, jsou v jistém smyslu složitě uspořádané.

Tím je význam slova v matematice a fyzice v jistém nesouladu s obvyklým chápáním slova chaos jako totálního nepořádku. Původ tohoto slova lze najít v řecké mytologii - viz [chaos](#).

Chaotický pohyb

Abychom mohli klasifikovat chování systému jako chaotické musí

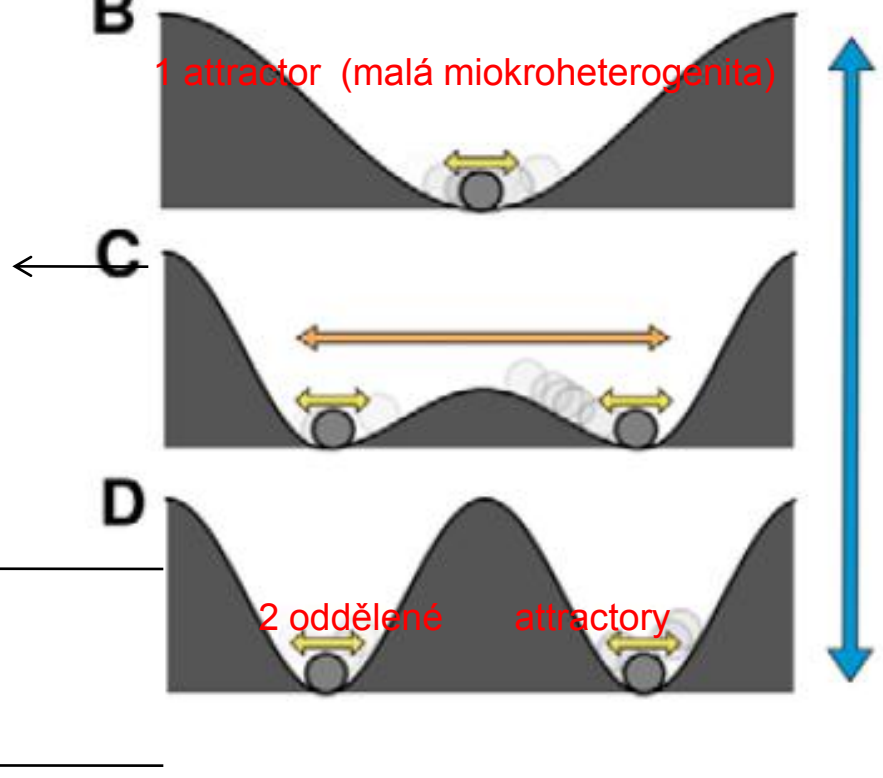
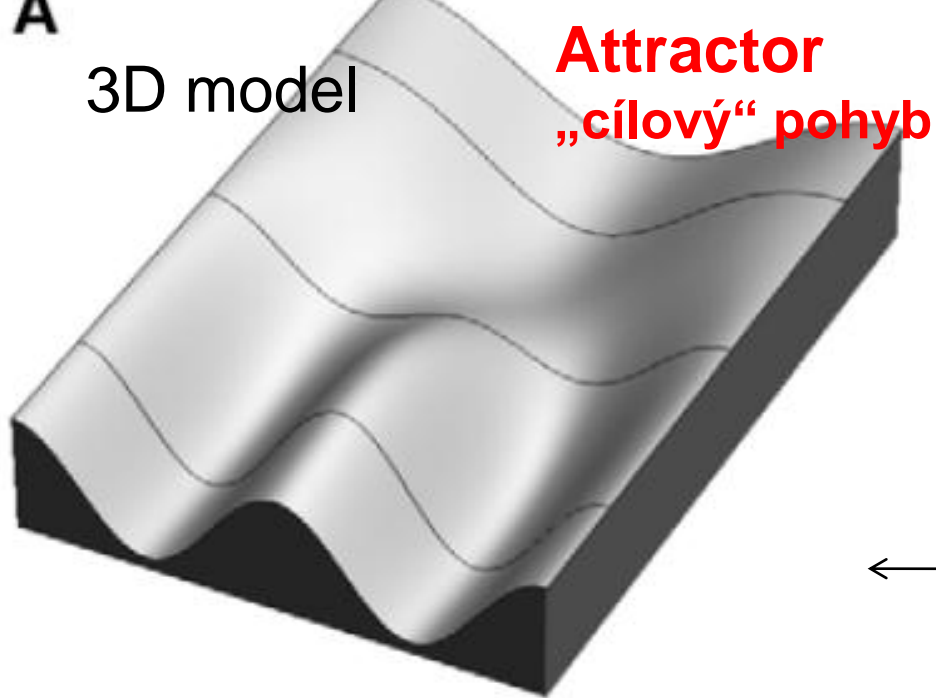
musí být *citlivý na počáteční podmínky*

musí být topologicky tranzitivní
jeho periodické *orbity* musí být husté

Citlivost k počátečním podmínkám znamená, že dvě blízké trajektorie ve fázovém prostoru se s rostoucím časem **rozbíhají (exponenciálně)**.

System se chová identicky pouze když jeho počáteční konfigurace je *úplně* stejná. Již při malých diferencích toto neplatí.

Příkladem takové citlivosti je tzv. které ale v průběhu času mohou vést až k tak dramatickým změnám, jako je výskyt tornáda Mávnutí křídel motýla zde představuje malou změnu počátečních podmínek systému, která ale způsobí řetěz událostí vedoucí k rozsáhlým jevům jako jsou tornáda. Kdyby motýl nemávl svými křídly, trajektorie systému by mohla být zcela odlišná.



Stem cell biology meets
systems biology

Ingo Roeder^{1,*} and Freddy Radtke²

Development 136, 3525-3530 (2009)

Atraktor většina stavových trajektorií (*drah hmotného bodu*) se přibližuje a „obmotává“ nějakou obecnou limitu.

System končí ve stejném pohybu pro všechny počáteční stavy v oblasti okolo tohoto pohybu, téměř jako by byl systém k tomuto pohybu (trajektorii fázového prostoru) přitahován (anglicky 'attracted').

Six steps at which eucaryotic gene expression can be controlled

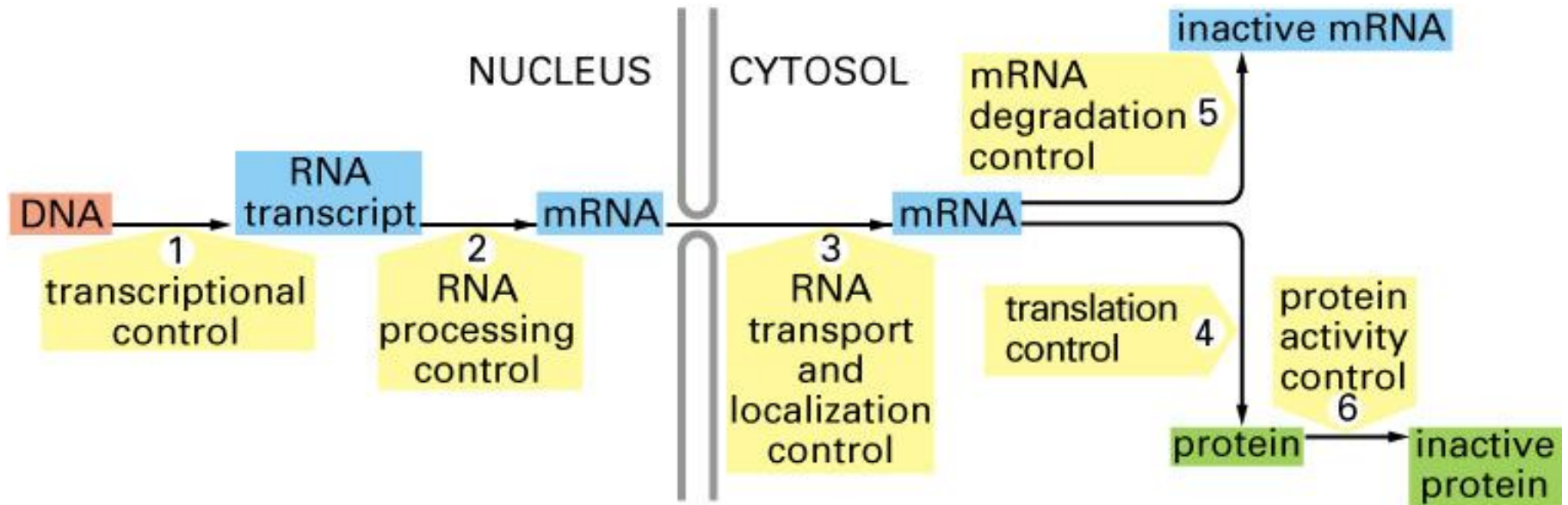
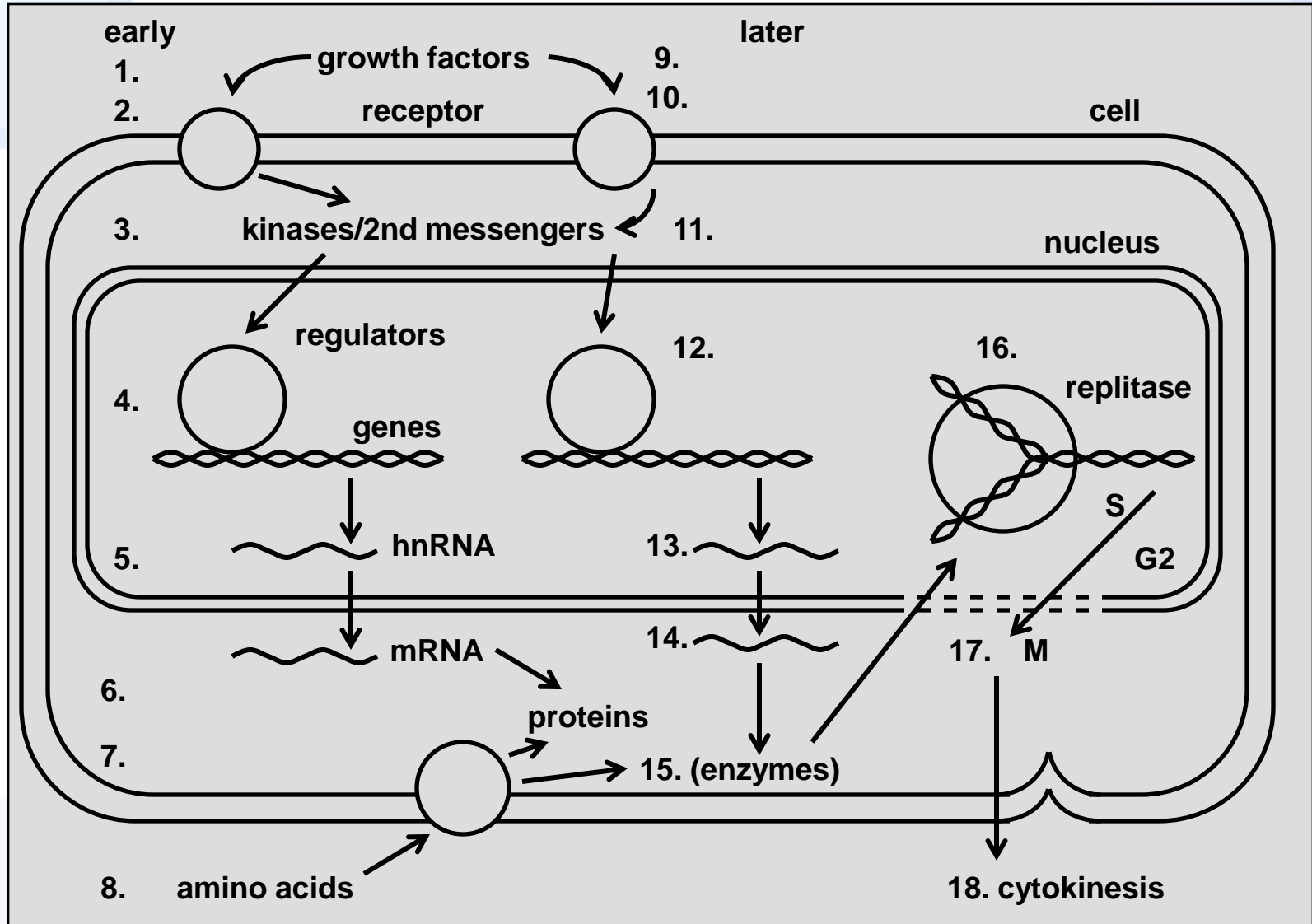


Figure 7-5. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Děje v buněčné diferenciaci



Spolupůsobení

„regulátorů růstu“

rozdílné chemické povahy

a

regulace PROLIFERACE

(příklady)

The four important families of small organic molecules in cells

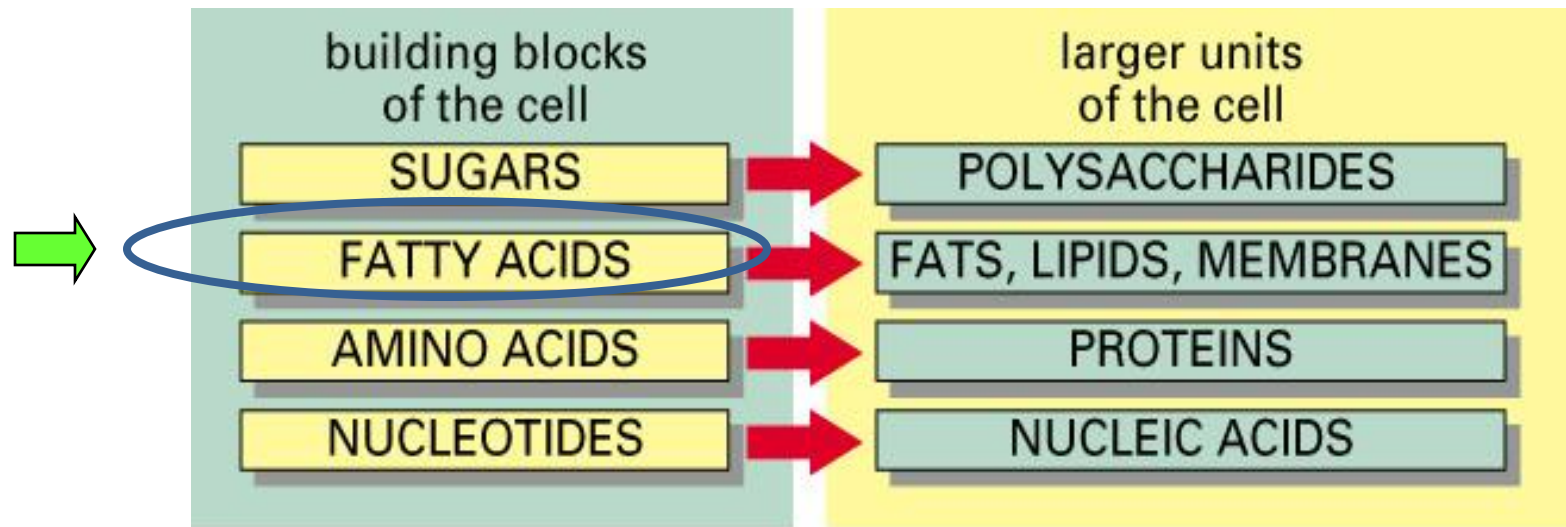


Figure 2-17. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Cytokiny

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 spíše 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

PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH CYTOKINŮ - 2.

cytokin	zdroj	působení
IFN α 1 IFN α 2	dvojitě negativní lymfocyty, monocyty, makrofágy	zvyšuje rezistenci proti virům; inhibuje proliferaci normálních i nádorových buněk; indukuje syntézu MHC I, receptoru pro Ig; aktivuje NK-buňky
IFN β 2	fibroblasty, monocyty	stejně jako u IFN α
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
G-CSF	monocyty, makrofágy, T-buňky, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje proliferaci kolonií granulocytů; aktivuje granulocyty
M-CSF	monocyty, makrofágy, fibroblasty	stimuluje růst kolonií monocytů a makrofágů; aktivuje monocyty
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

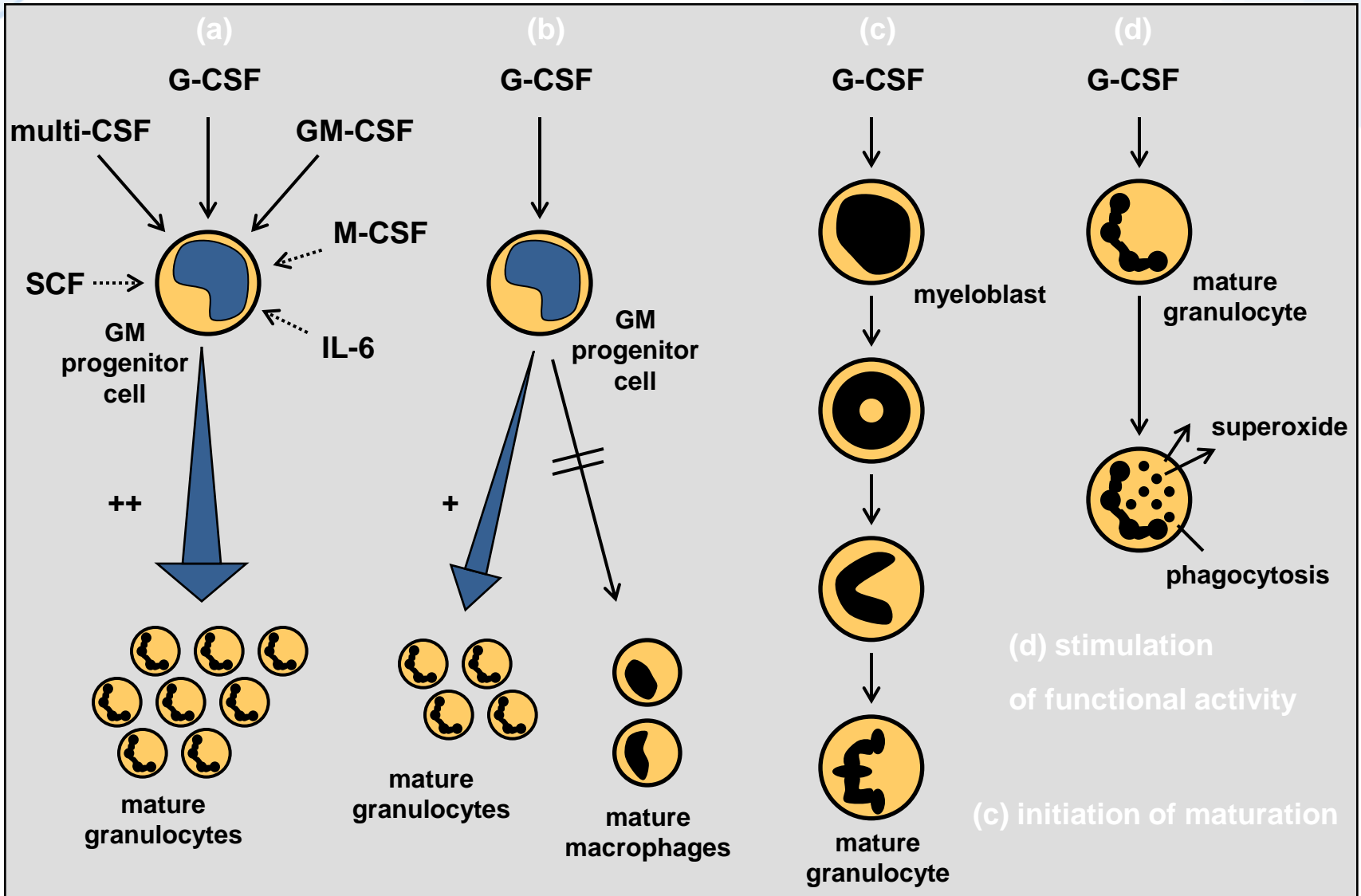
zdroj

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 - 3	T-buňky (+ žírné buňky)	stimuluje proliferaci prekurzorů granulocytů, erytrocytů, megakaryocytů, makrofágů; aktivuje monocyty a makrofágy
IL - 5	T – buňky	stimuluje diferenciaci a růst eozinofilů, proliferaci T- a B-buněk
IL - 7	buňky kostní dřeně monocyty, makrofágy, lymfocyty, fibroblasty, buňky endotelu	stimuluje proliferaci prekurzorů B- a T-buněk a T-buněk
IL - 9	T-buňky	stimuluje proliferaci T-buněk bez přítomnosti antigenu a APC
IL - 11	buňky kostní dřeně	stimuluje proliferaci multipotentních prekurzorů leukocytů (synergie s IFN γ) a prekurzorů megakaryocytů (synergie s IL – 3)

IL - 12 B-0

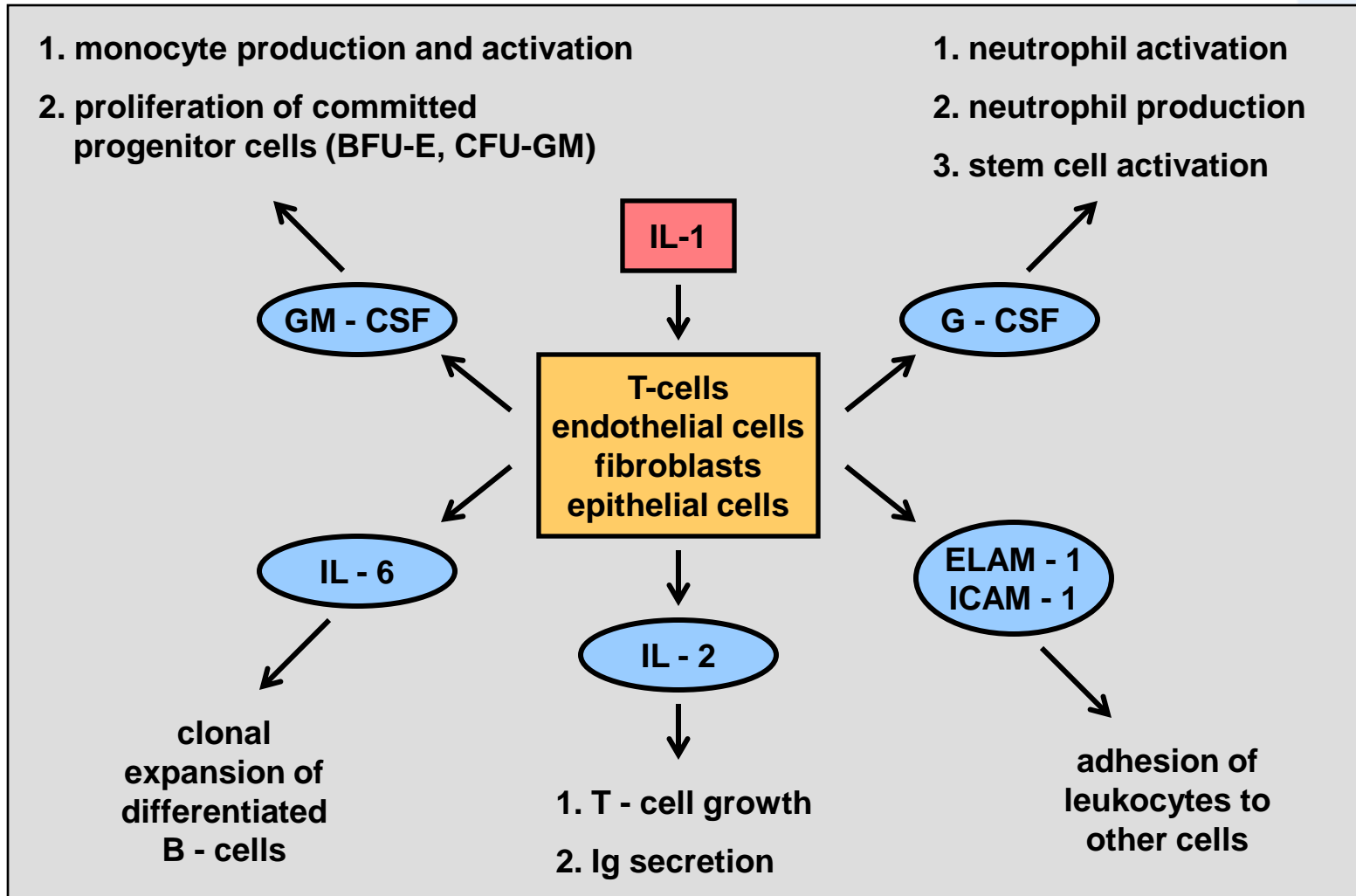
cytokiny jsou polyfunkční



(a) cell production

(b) induction of

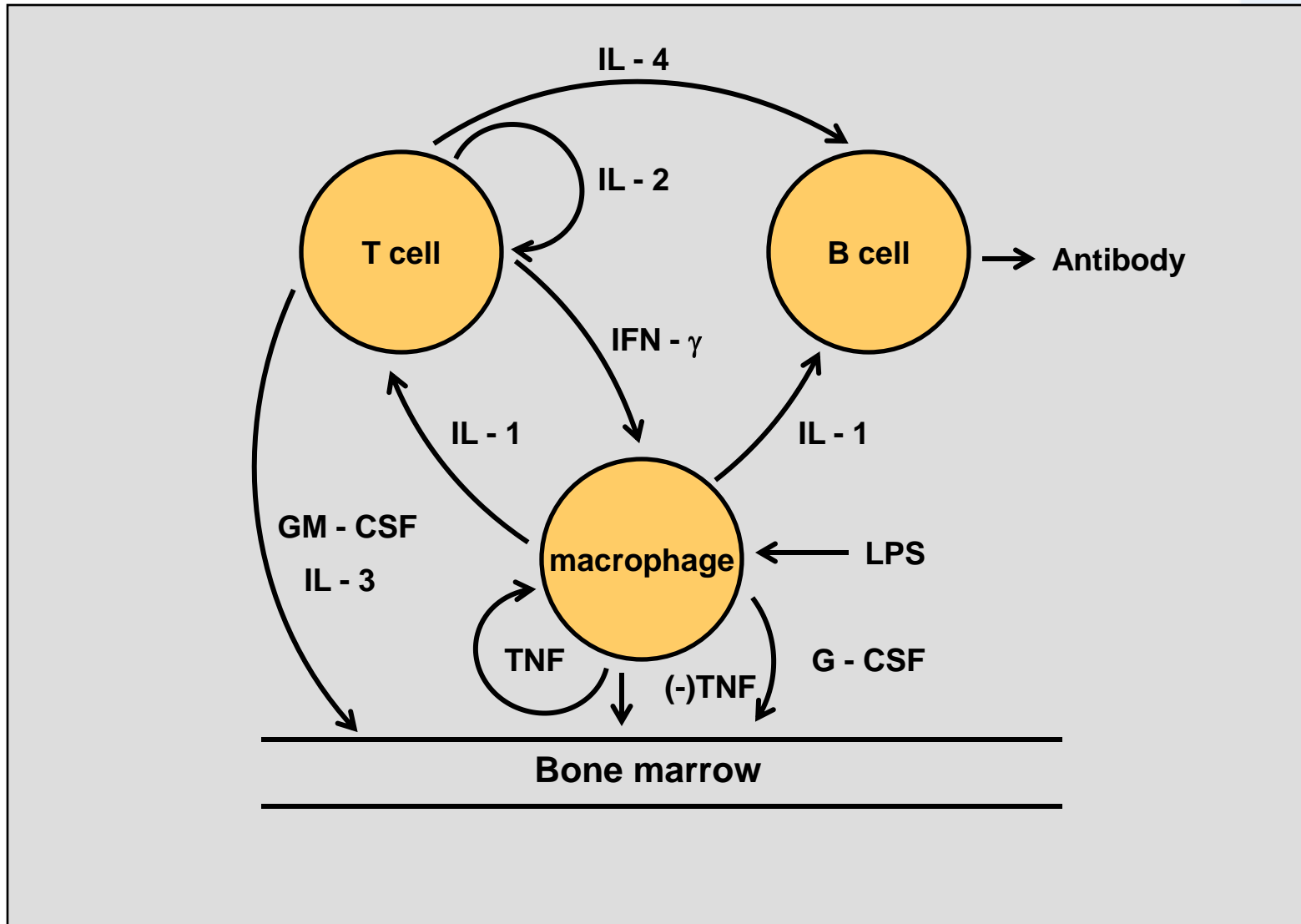
Úloha IL – 1 v hematopoéze



ELAM - endothelial leukocyte adhesive molecule

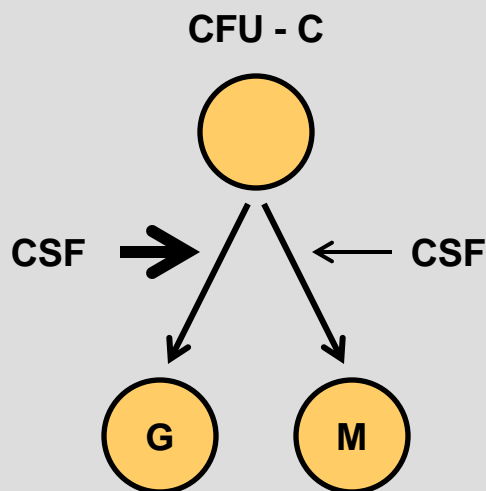
ICAM - intercellular adhesive molecule

„Network“ interakcí cytokinů



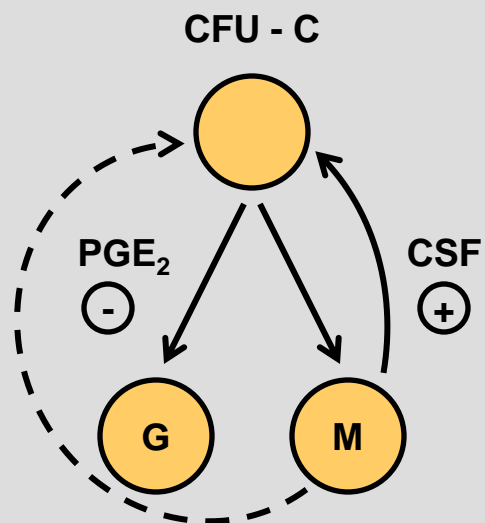
Autoregulace uvnitř systému granulocytů - makrofágů

CFU - C
(GM - CFC)



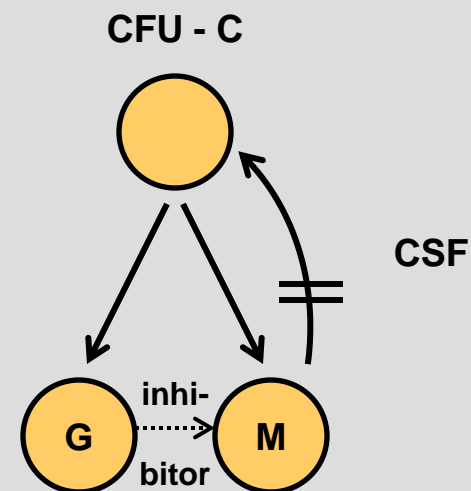
A

různé koncentrace CSF



B

zpětnovazebná stimulace →
a inhibice PGE - - →

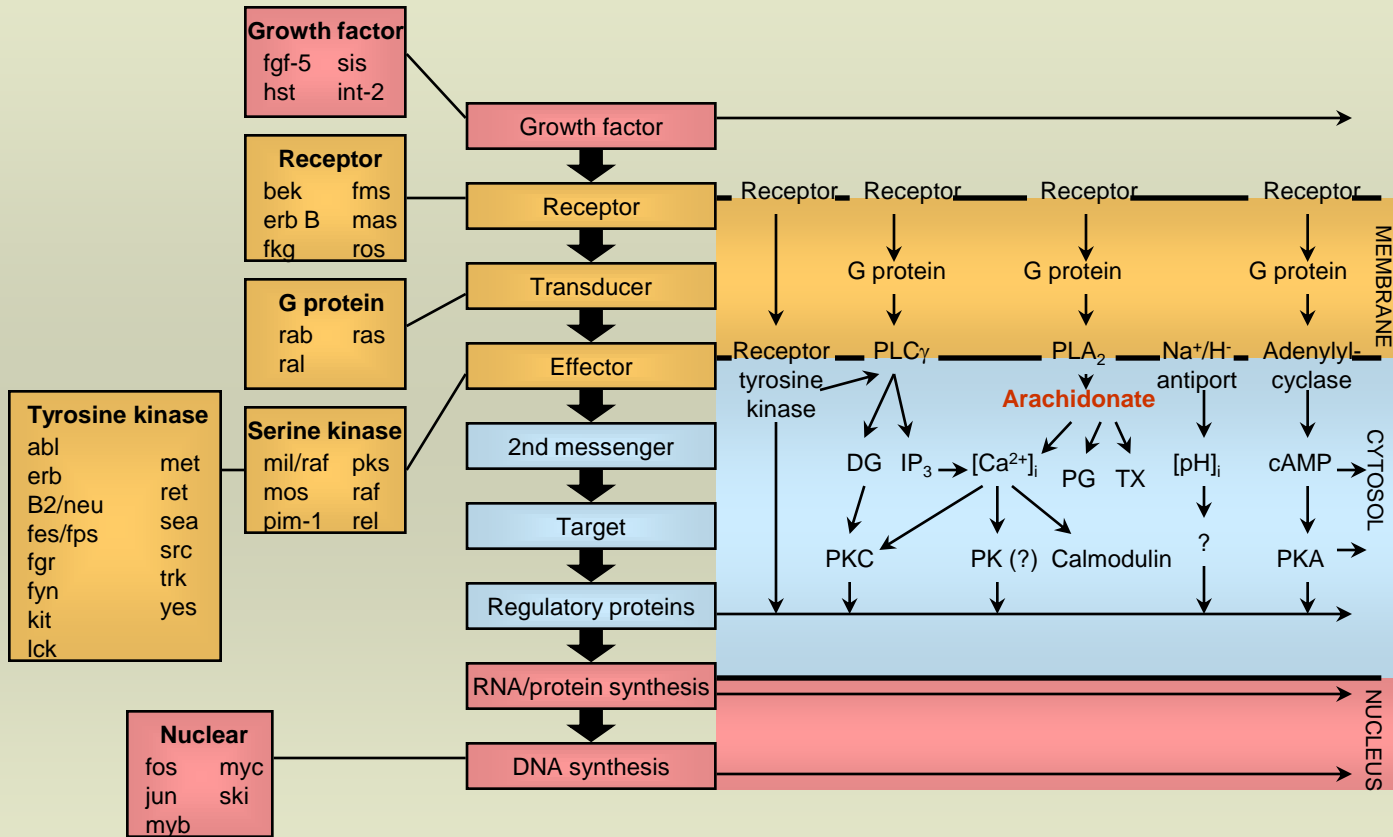


C

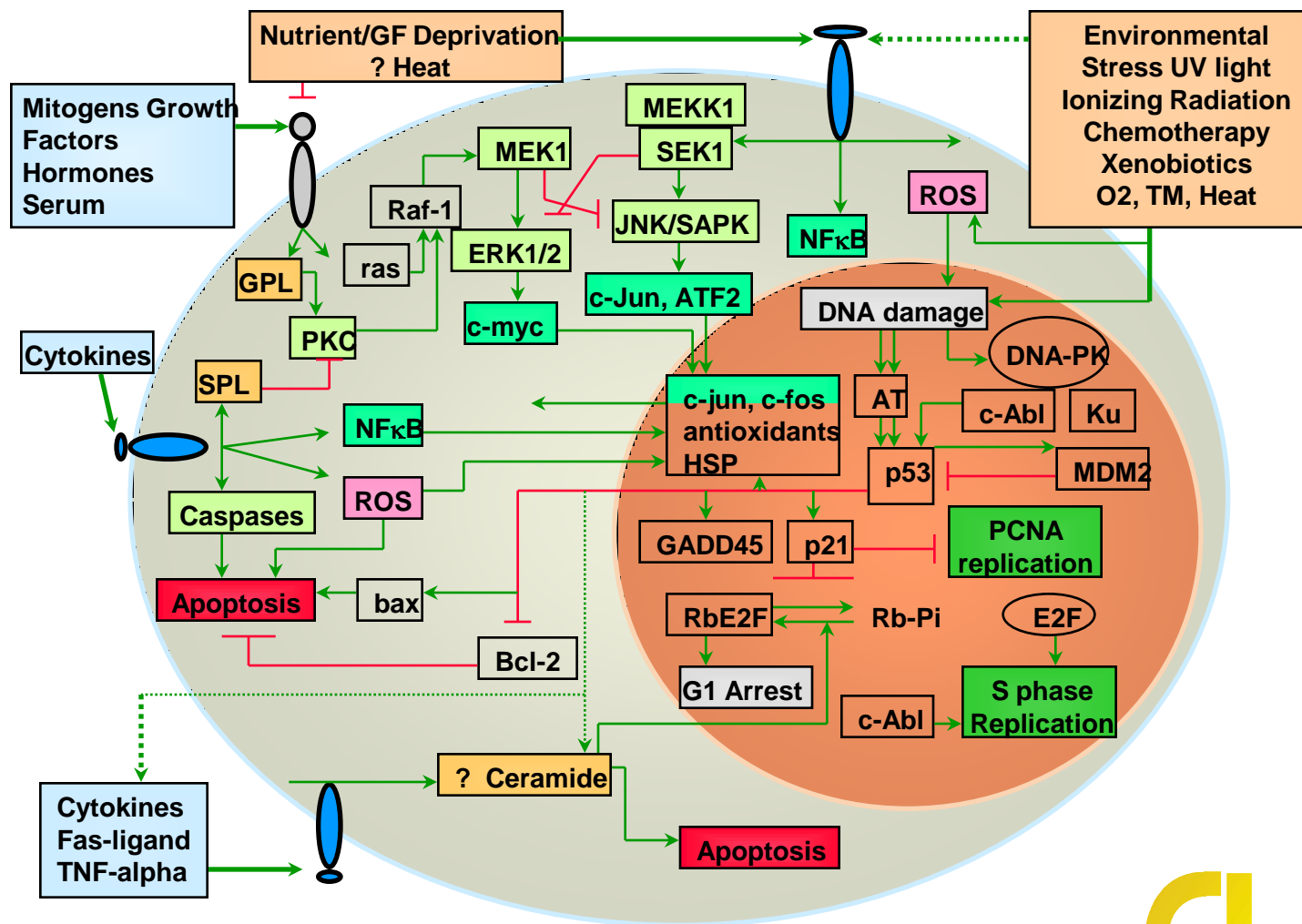
produkce inhibitoru
tvorby CSF

G - granulocyty M - makrofágy

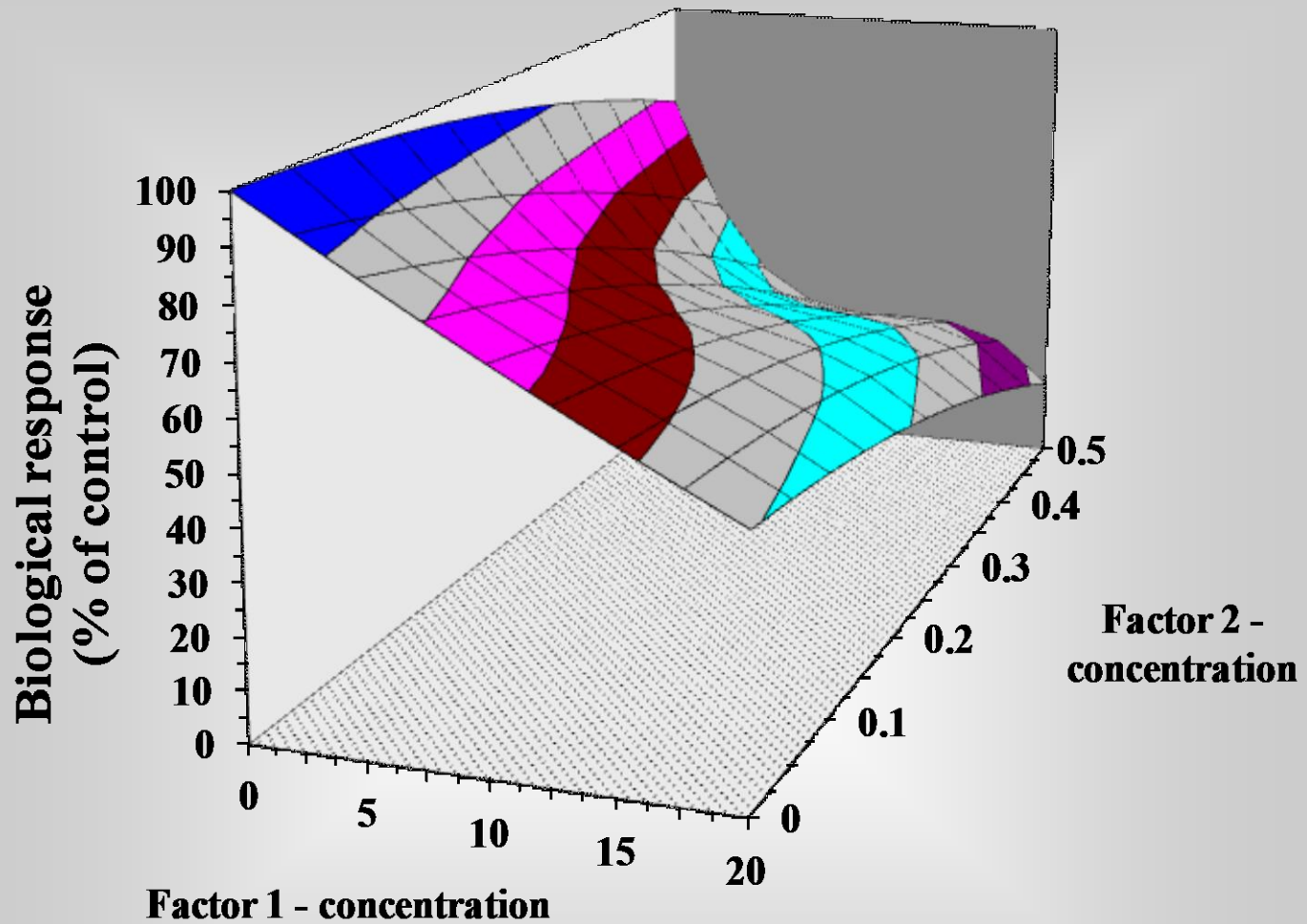
Oncogenes



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

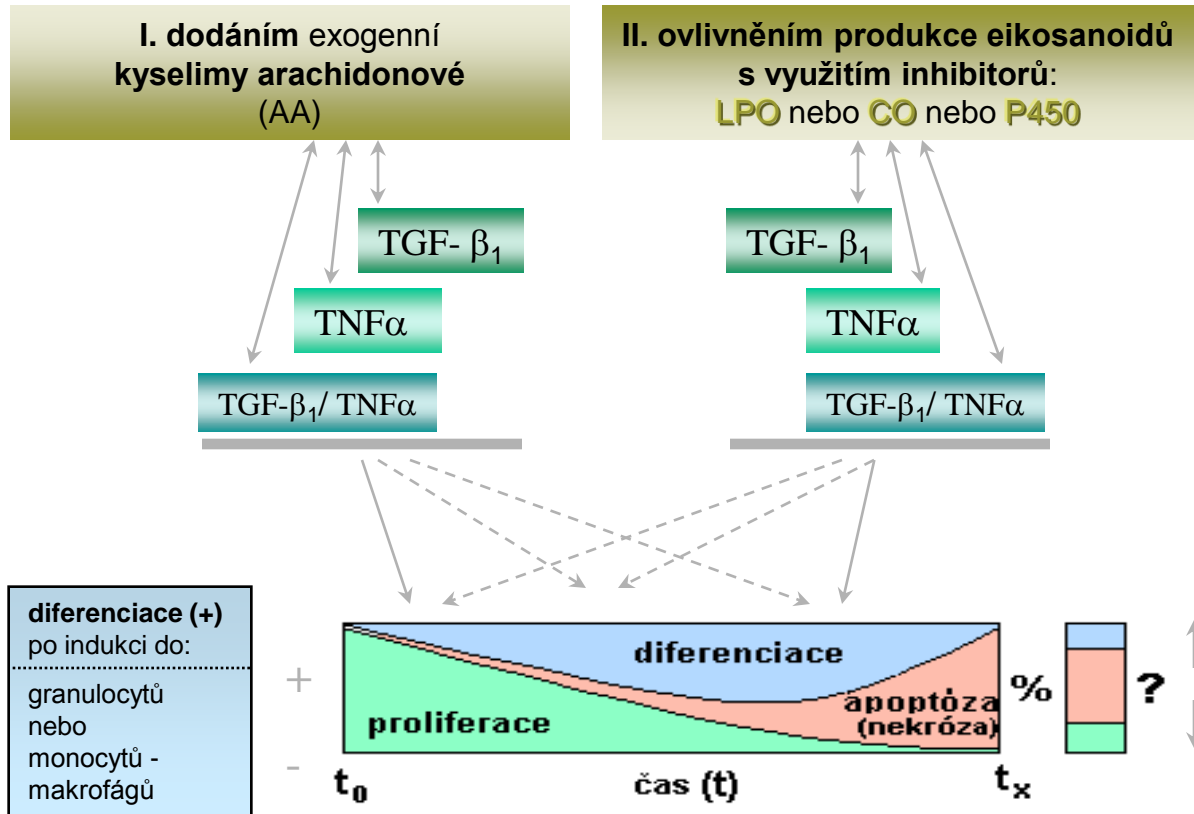


According to: Rizzieri: Drug Resistance Updates; 1: 359 - 376, 1998



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

Ovlivnění metabolismu eikosanoidů



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**

STRUKTURNÍ ÚLOHA FOSFOLIPIDŮ V BUŇKÁCH



**MEMBRÁNOVÉ
SYSTÉMY
a buněčné
kompartmenty**

protientropické
důsledky



NEODDĚLITELNÁ OD BUNĚČNÝCH FUNKCÍ

Kompartmenty

funkčně nebo prostorově oddělené soubory prvků (složek).

Důsledek kompartmentace (existence jednotlivých kompartmentů) prvky (např. látky nebo buňky) jsou nerovnoměrně rozděleny.

Příklady:

všechny membránami ohraničené struktury mají (z hlediska rozdělení látek) „své vnitřní prostředí“ a selektivně akumulují nebo zadržují určité látky proti koncentračnímu spádu.

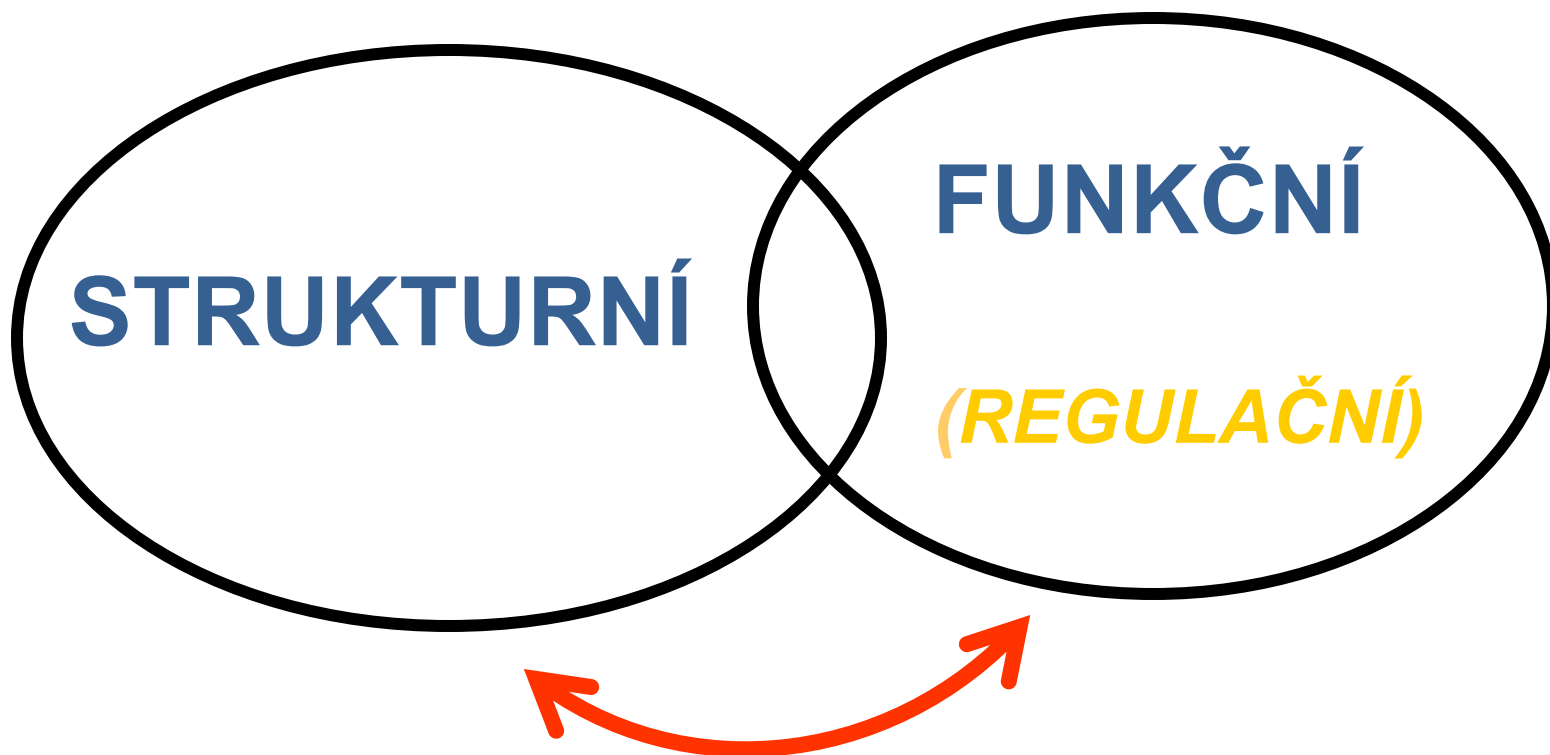
Už tímto prostým faktem jsou některé reakce umožněny, jiným může být zabráněno.

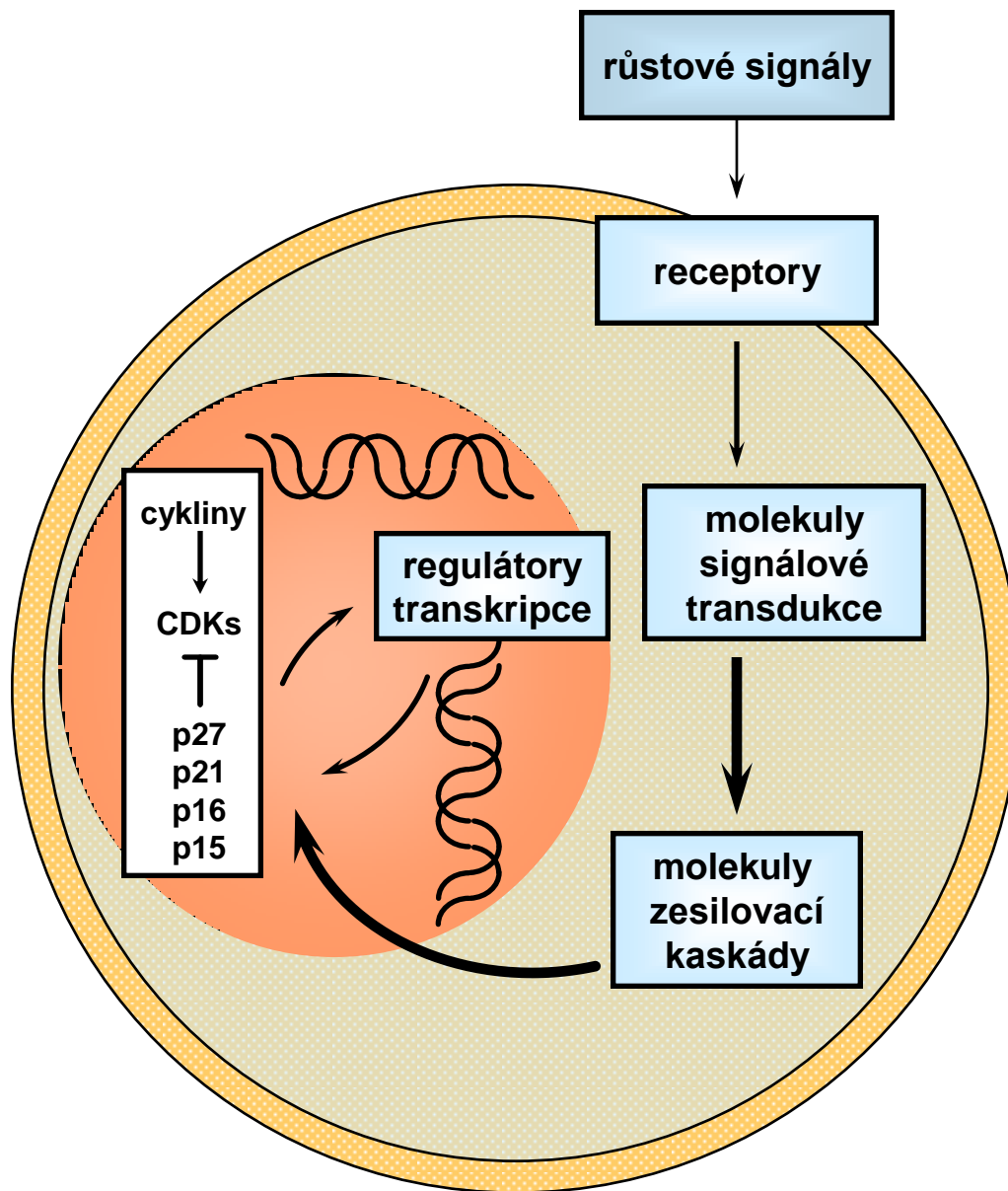
Tato **protientropická distribuce molekul** v buňce směřující proti neuspořádanosti má velký význam pro buněčný metabolismus a regulace.

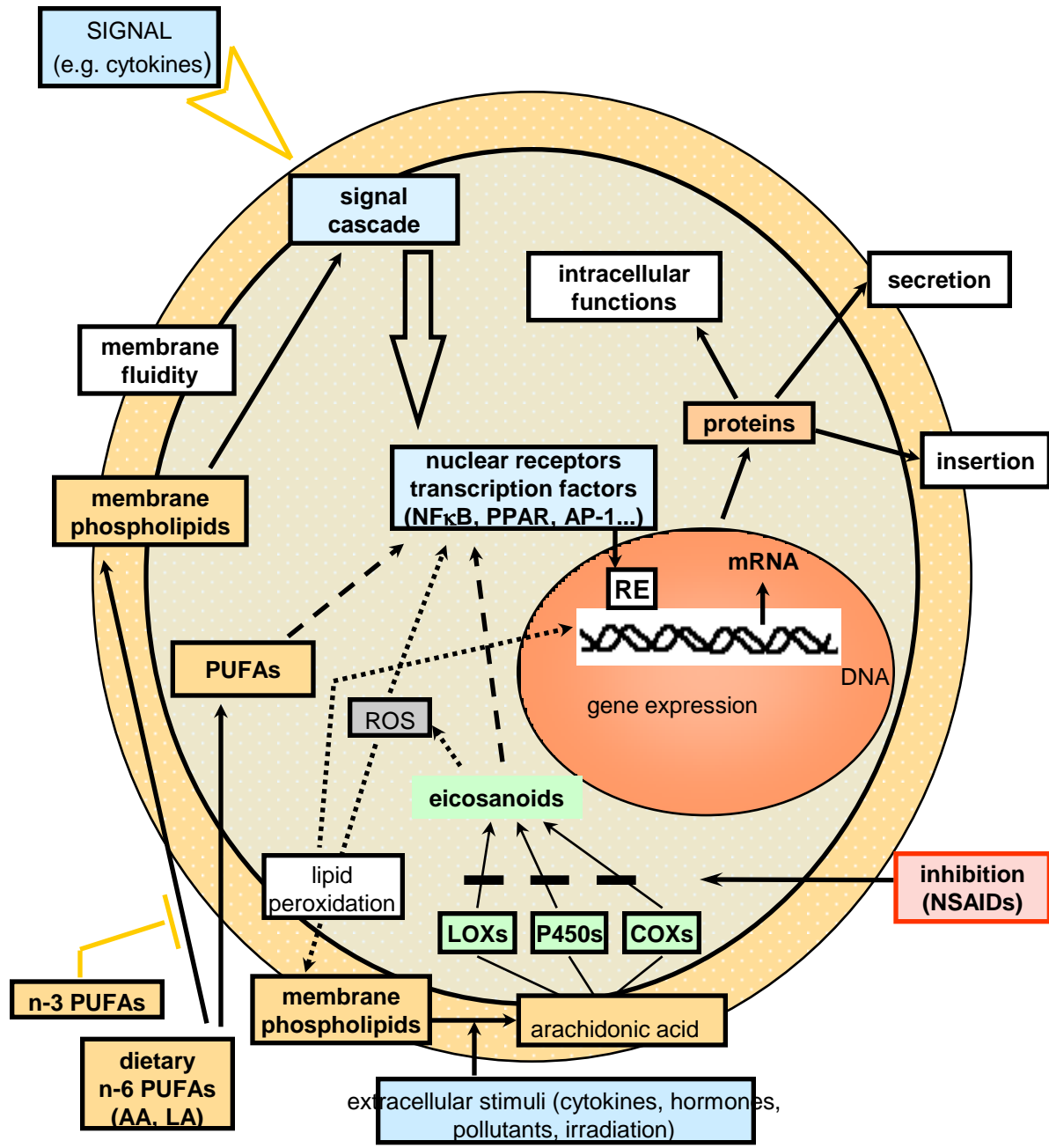
Umožňuje ji právě
existence buněčných membrán – jeden ze základů biologických systémů

Bude rozvedeno později

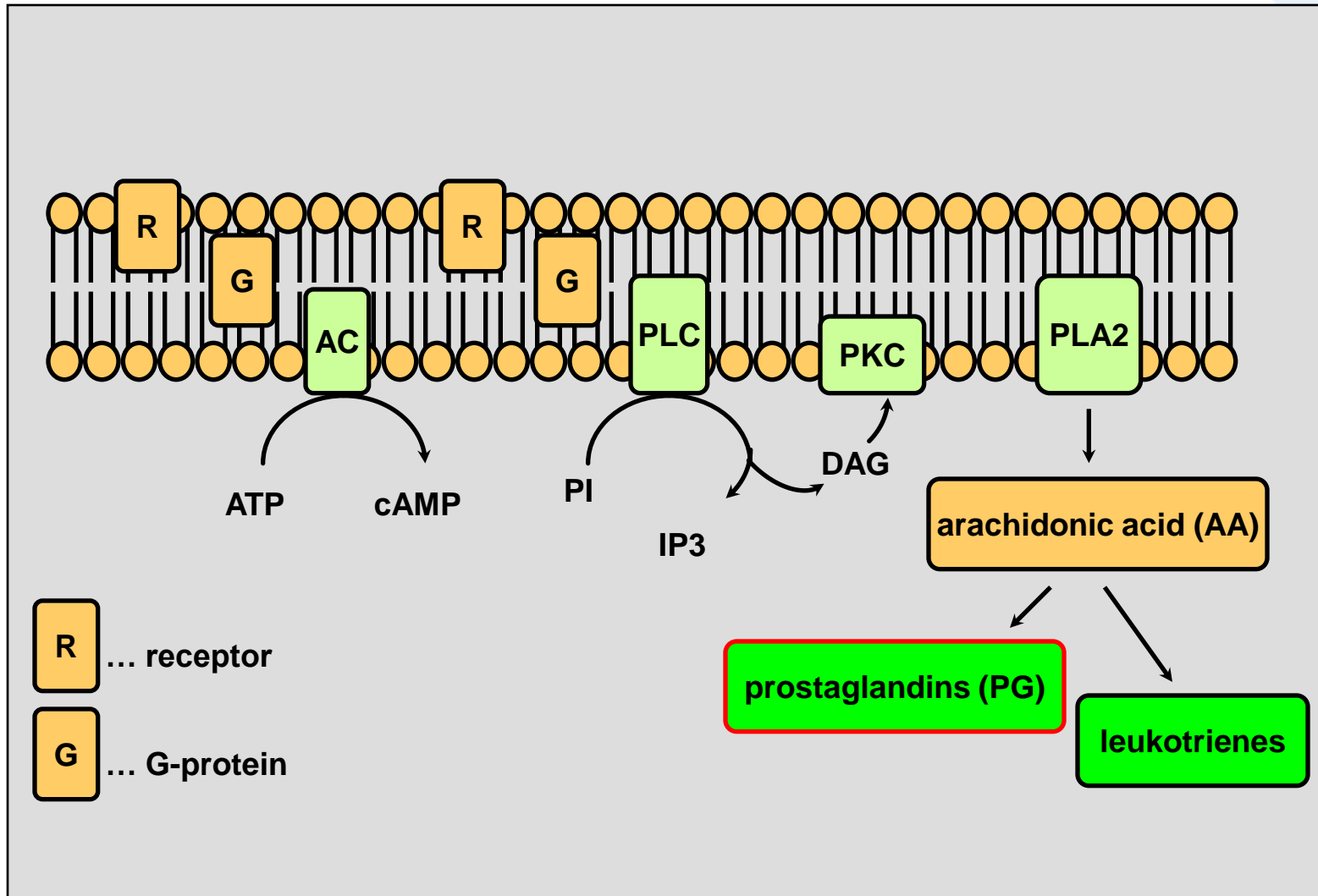
Přirozené funkce membránových lipidů



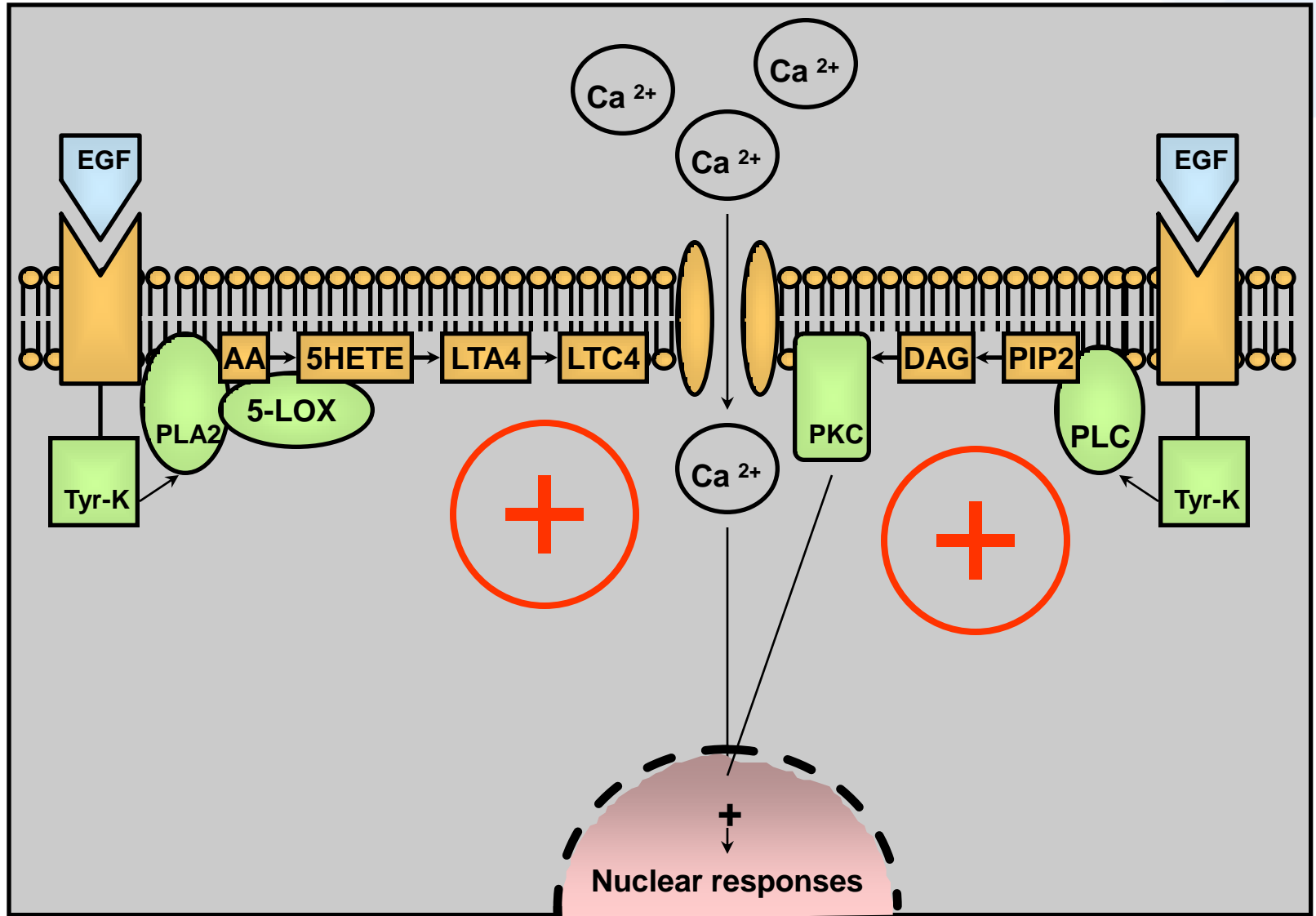




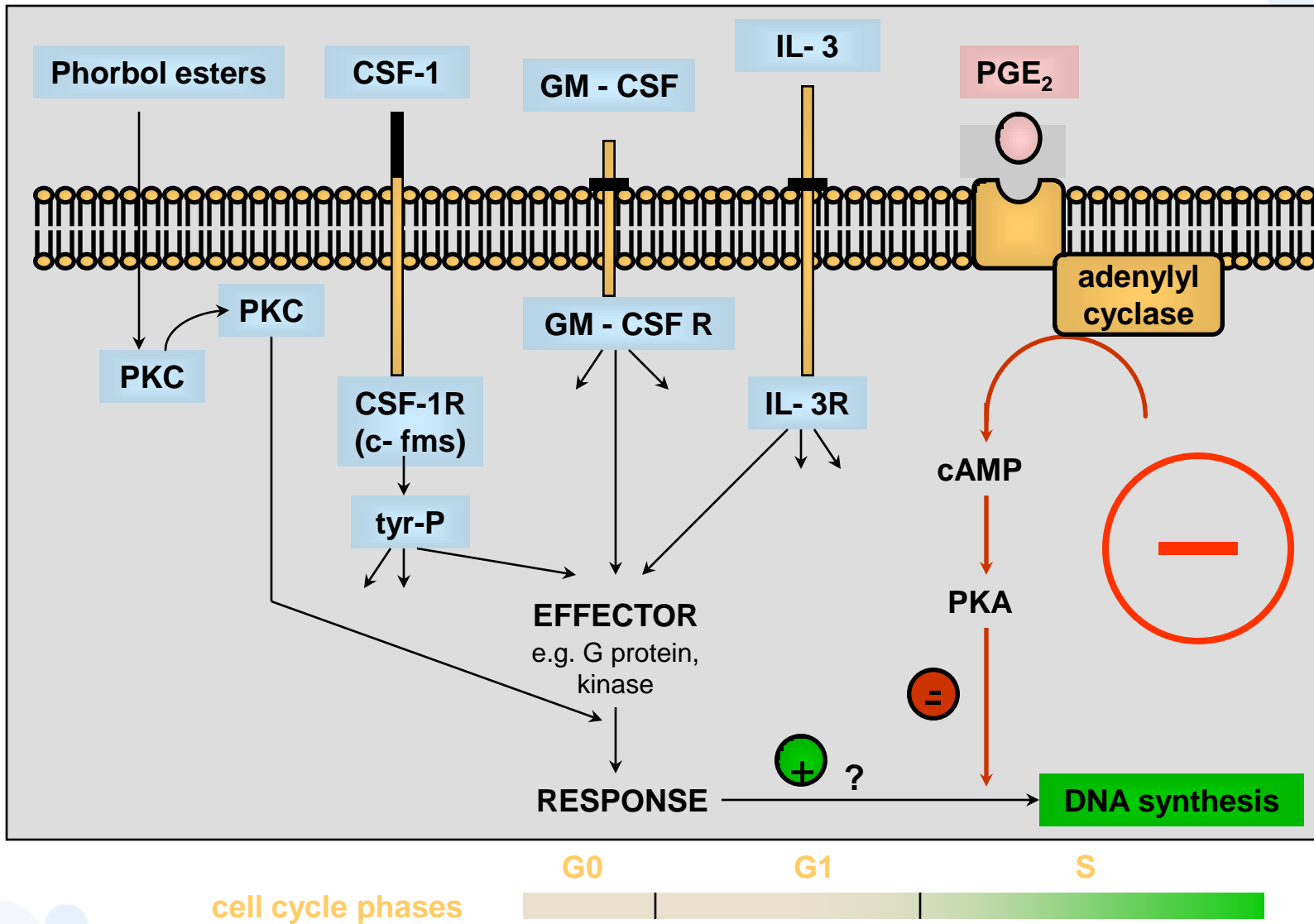
Signal transmission systems



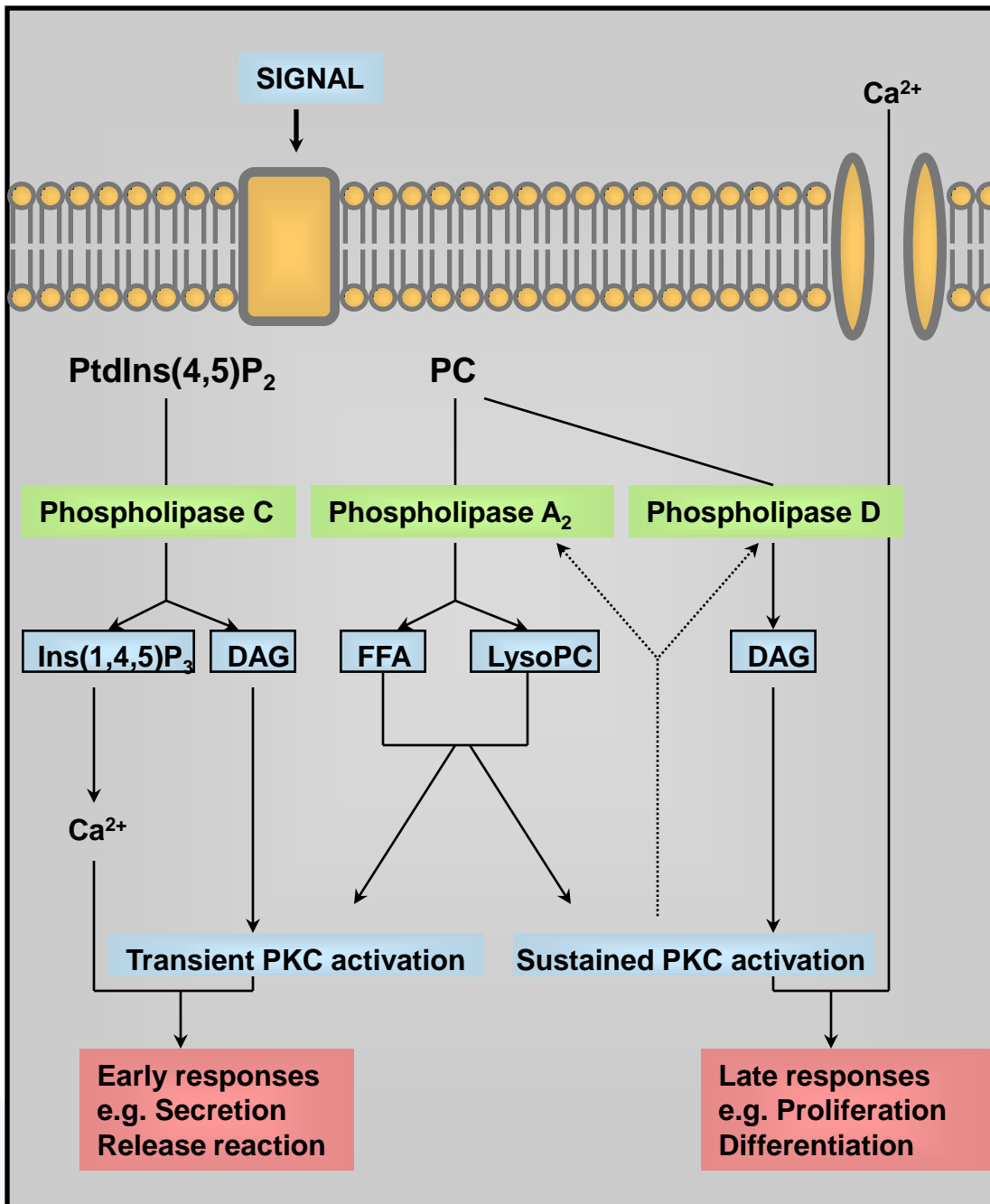
positive effect on cell proliferation– an example



Negative effect on cell proliferation– an example



Protein kinázy a fosfatázy



Arachidonic acid: metabolic pathways and its possible modulations

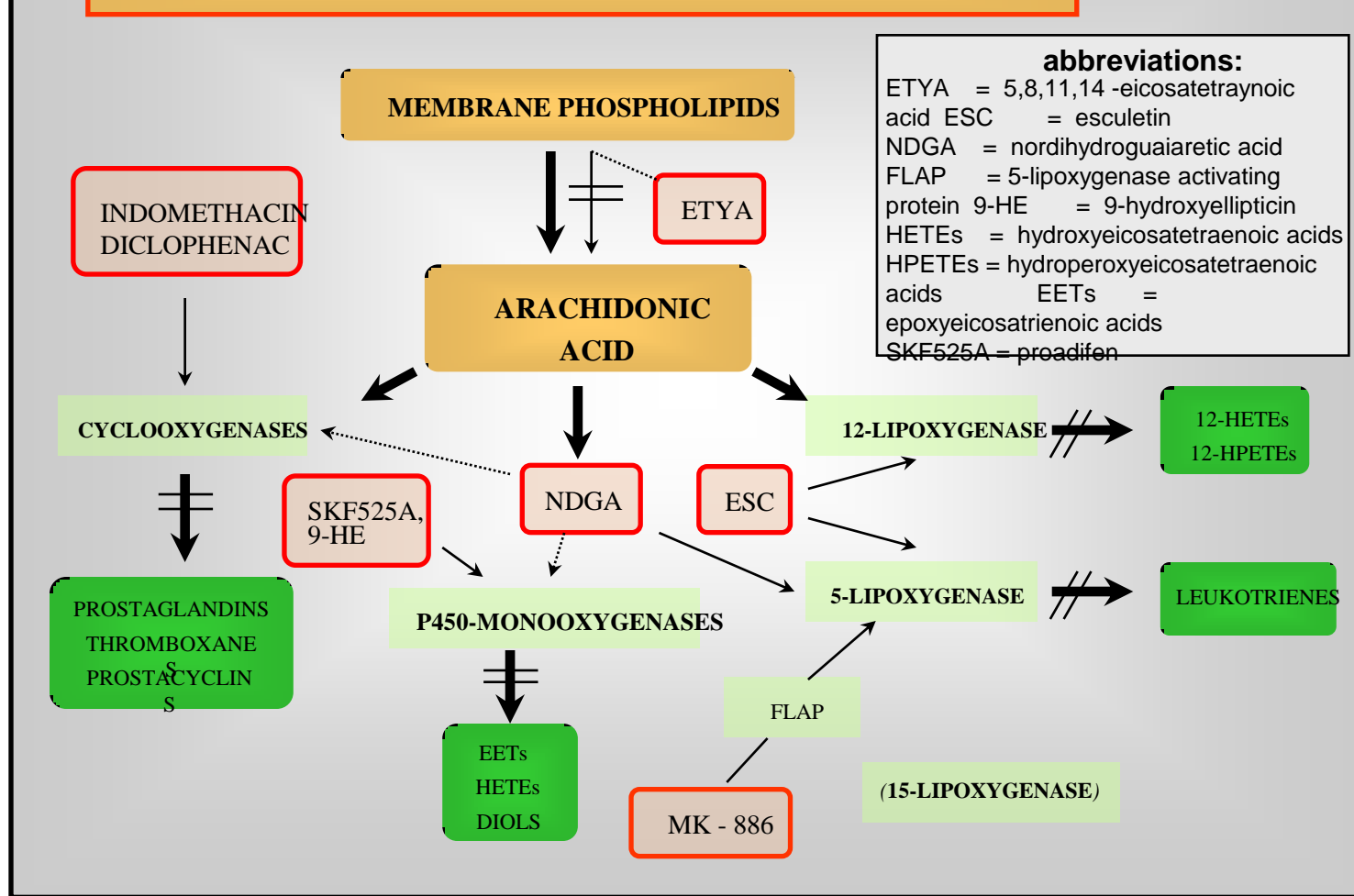


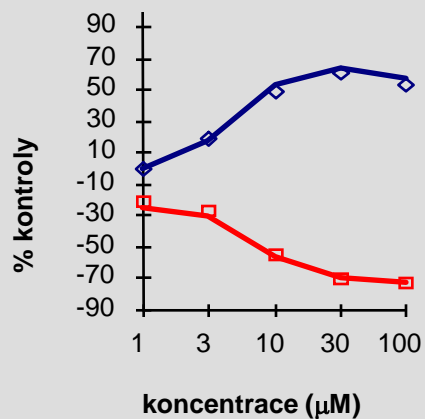
Figure 1

PRODUKTY

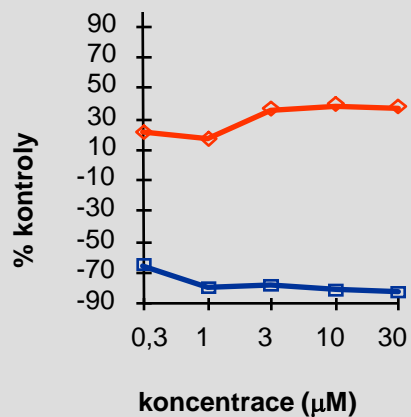
LIPOXYGENÁZ A CYKLOOXYGENÁZ

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

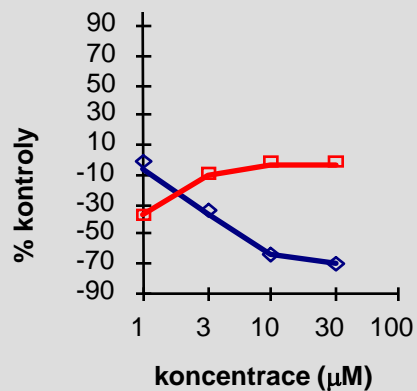
Esculetin



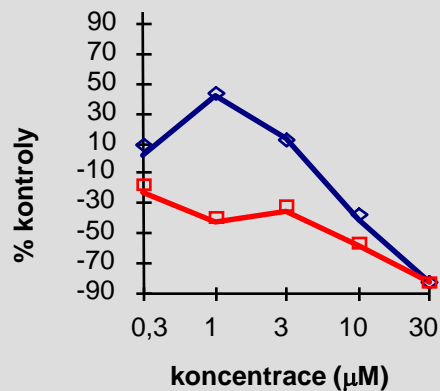
Indomethacin



Ibuprofen



NDGA



TGF-β1

+ lipoxygenase inhibitors
(MK886, esculetin)

+ differentiation agents
(TPA, RA, DMSO)

effect

cell membrane

TGF-β1 receptor
serin - threonin kinase

arachidonic acid

cytosol

cyclooxygenases

lipoxygenases

P450

EETs
HETEs
diols

prostaglandins
thromboxanes

leukotrienes

nucleus

p21

c-myc

c-fos

(G1 cyclins)

cyclin E
p27
cdk2

cyclin E
cdk2 (P)

p27

Rb

Rb (P)

induction of differentiation

inhibition of proliferation

G1

DNA synthesis

S

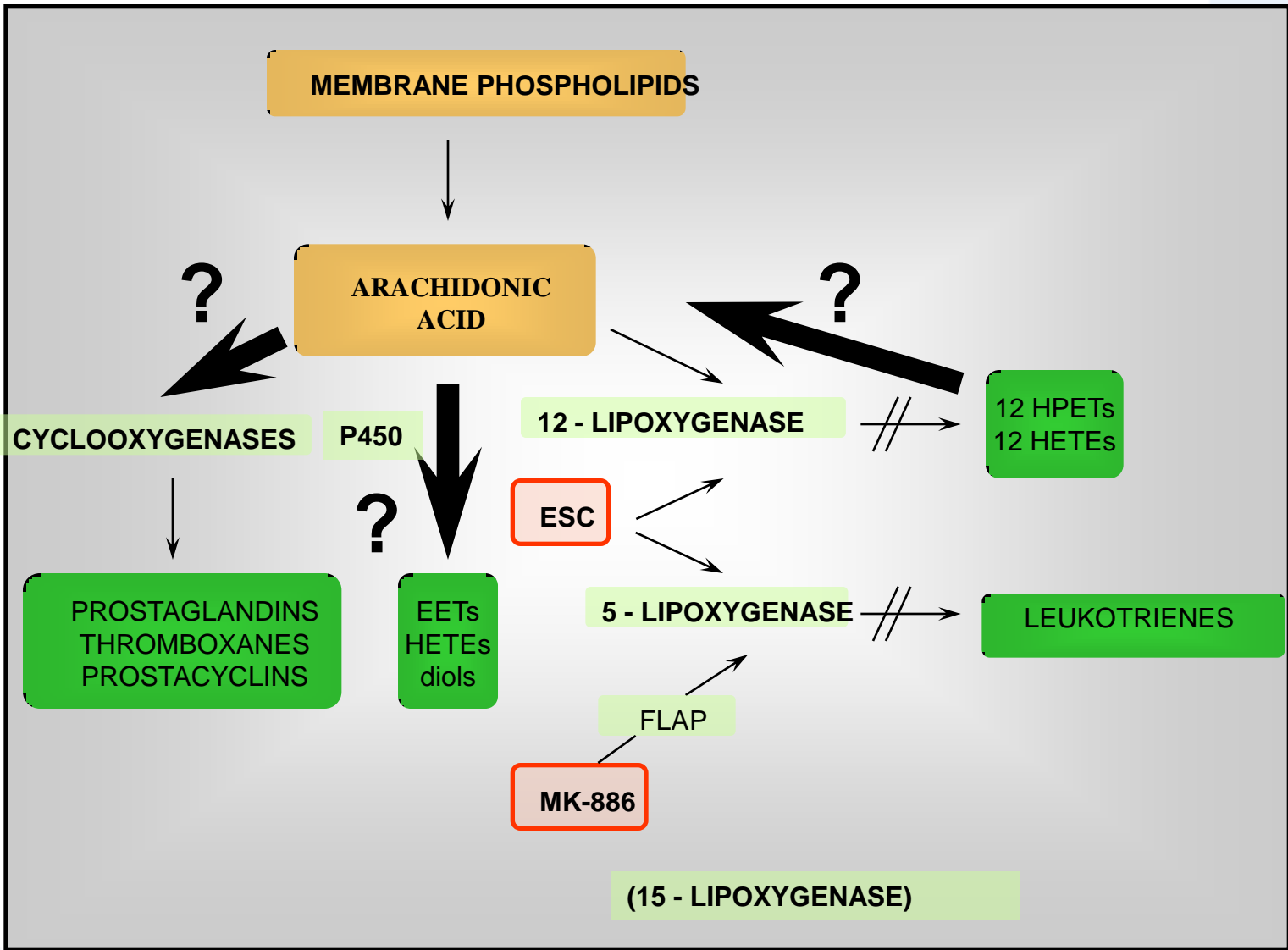
cell cycle turnover

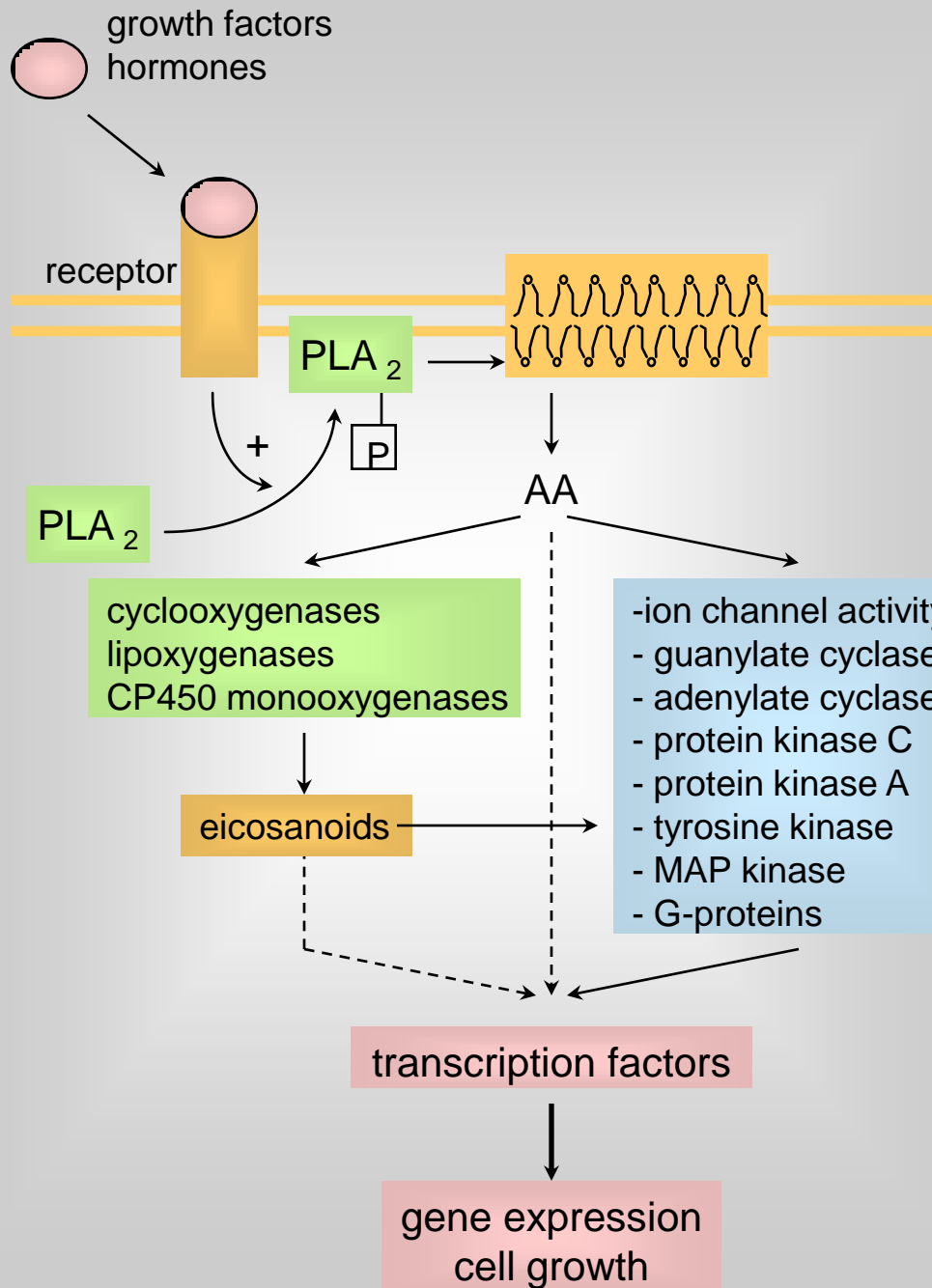
unknown

well documented

Laboratoř
cytokinetiky

Biofyzikální ústav AVČR, BRNO





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