

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Nádorová transformace buněk  
Bakalářská práce

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology

Tumor cell transformation  
Bachelor Thesis

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Markéta Orlíková**  
Osobní číslo: **C18266**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Nádorová transformace buněk**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Zásady pro vypracování

- 1) Bakalářskou práci na téma nádorová transformace buněk zpracujte na základě literární rešerše. Úvodní část práce zaměřte na shrnutí patobiochemie nádorové transformace. Popište především podstatu nádorové transformace včetně genetického pozadí tohoto procesu a shrňte základní typy nádorů.
- 2) V hlavní části bakalářské práce se podrobně věnujte rozdílům v metabolismu fyziologických a maligně transformovaných buněk. Popište, k jakým změnám buněčného mikroprostředí při nádorovém bujení dochází. Dále charakterizujte zejména jaké obranné mechanismy mohou buňky využít proti nádorové transformaci. Zároveň se pokuste shrnout základní způsoby a možnosti přirozeného odstraňování nádorových buněk z organismu.
- 3) Jako zdroj informací pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce využijte odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jiří Handl, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd  
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Jana Báčová**  
Katedra biologických a biochemických věd  
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Nádorová transformace buněk jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Markéta Orliková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na těchto stránkách bych ráda poděkovala svému vedoucímu panu Mgr. Jiřímu Handlovi Ph.D. za odborné vedení a užitečné rady po celou dobu psaní bakalářské práce. Zároveň bych ráda poděkovala své rodině a blízkým za podporu po celou dobu studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce poskytuje ucelený přehled o procesech vedoucích k přeměně zdravé buňky na buňku nádorovou. V první části jsou shrnuty základní procesy, kterými buňka musí během nádorové transformace projít. Zároveň se v této práci nachází stručné shrnutí základních typů tumorů. Následně je popsána změna v metabolismu, kterou musí buňka projít, aby přežila v pozměněném nádorovém mikroprostředí. To je v práci také popsáno. Na závěr jsou zmíněny procesy, kterými se buňka dokáže bránit v případě, že hrozí vznik nádorového bujení. Celá práce shrnuje především aktuální informace o nádorovém onemocnění.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Nádorová buňka, nádorové bujení, transformace buněk, metabolismus, mikroprostředí

## **TITLE**

Tumor cell transformation

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis provides a comprehensive overview of the processes leading to the transformation of a cell into a tumor cell. The first part summarizes the basic processes that the cell must go through. At the same time, this work contains a brief summary of the basic types of tumors. Subsequently, a change in metabolism that a cell must undergo in order to survive in an altered tumor microenvironment is described. The microenvironment is also described in this work. Finally, the processes by which the cell can defend itself in the event of a threat of cancer growth are mentioned. The whole work summarizes mainly current information about cancer.

## **KEYWORDS**

Tumor cell, tumor growth, cell transformation, metabolism, microenvironment



## OBSAH

Úvod	15
1 Patobiochemie nádorových onemocnění	16
1.1 Neomezené dělení	16
1.2 Nesmrtelnost nádorových buněk	18
1.2.1 Telomeráza	18
1.2.2 Alternativní cesta prodloužení telomer	19
1.3 Angiogeneze	19
1.4 Vznik metastáz	21
1.5 Únik nádorových buněk z imunitního dohledu	22
2 Klasifikace tumorů	24
2.1 Klasifikace dle chování	24
2.2 Klasifikace histogenetická	24
2.2.1 Epitelový tumor	24
2.2.2 Mezenchymální tumor	25
2.2.3 Leukémie	25
2.2.4 Tumory ze zárodečných buněk	26
2.2.5 Tumory neuroektodermové	27
2.3 TNM klasifikace	27
3 Změny v metabolismu nádorové buňky	28
3.1 Metabolismus nenádorové buňky	28
3.1.1 Metabolismus cukrů	28
3.1.2 Metabolismus tuků	29
3.1.3 Metabolismus bílkovin	30
3.2 Metabolismus nádorové buňky	31
3.2.1 Metabolismus cukrů	32
3.2.2 Metabolismus tuků	33

3.2.3	Metabolismus bílkovin .....	35
4	Mikroprostředí nádorové buňky .....	38
4.1	Fibroblasty .....	39
4.2	Imunitní buňky .....	40
4.3	Mezenchymální kmenové buňky .....	40
5	Mechanismy zabraňující vzniku nádorového bujení .....	42
5.1	Tumor-supresorové geny .....	42
5.1.1	RB1 .....	42
5.1.2	Protein p53 .....	42
5.1.3	Protein p21 .....	44
5.2	Apoptóza .....	45
5.2.1	Bcl proteiny .....	47
5.2.2	Kaspázy .....	48
5.3	Imunitní systém .....	49
6	Závěr .....	52
7	Seznam použité literatury .....	53

## SEZNAM ZKRATEK

ABCA1	ATP-dependentní kazetový transportér A1
ACLY	ATP-citrát lyáza
ALL	akutní lymfoidní leukémie
ALT	alternativní mechanismus prodlužování telomer
AMK	aminokyseliny
AML	akutní myeloidní leukémie
APAF1	faktor aktivující apoptotickou proteázu 1
APB	ALT asociované PML tělíska
ATP	adenosintrifosfát
CAF	fibroblasty asociované s nádorem
CDK	cyklin-dependentní kináza
CLL	chronická lymfoidní leukémie
CML	chronická myeloidní leukémie
CXCL12	chemokinový ligand 12 s motivem C-X-C
CXCR4	chemokinový receptor 4 s motivem C-X-C
ECM	extracelulární matrix
EGF	epidermální růstový faktor
EMT	epiteliálně mezenchymový přechod
E2F	transkripční faktory regulující buněčný cyklus
FADH <sub>2</sub>	flavinadenindinukleotid
FasL	Fas ligand
FGF	fibroblastový růstový faktor
GCNIS	nádory odvozené z neoplastických zárodečných buněk <i>in situ</i>

HIF	hypoxií indukovaný faktor
IAP	protein inhibující apoptózu
IFN- $\gamma$	interferon- $\gamma$
IL-6	interleukin 6
IL-9	interleukin 9
LDH	laktátdehydrogenáza
LDL	lipoproteinové částice o nízké hustotě
LKB1	jaterní kináza B1
LOX	lysoxidáza
LPL	lipoproteinová lipáza
MHC	hlavní histokompatibilní komplex
miRNA	malé nekódující RNA
MMP	matrixové metaloproteinázy
MSC	mezenchymální kmenové buňky
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
PDGF	růstový faktor odvozený od krevních destiček
PML	protein promyelocytární leukémie
RB1	retinoblastomový protein 1
ROS	reaktivní formy kyslíku
SQLE	skvalenepoxidáza
SREBP	protein vázající sterolový regulační prvek
TAA	antigeny asociované s nádorem
TAG	triacylglycerol
TAM	makrofágy asociované s nádorem

TCR	T-buněčný receptor
TERC	telomerázová RNA
TERT	telomerázová reverzní transkriptáza
TGF- $\beta$ 1	transformující růstový faktor $\beta$ 1
TNF	tumor nekrotizující faktor
TSA	nádorově specifické antigeny
TSP-1	trombospondin 1
VEGF	vaskulární endotelový růstový faktor
VLDL	lipoproteiny s velmi nízkou hustotou

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> Kontaktní inhibice.....	17
<b>Obrázek 2:</b> Vznik metastáz .....	22
<b>Obrázek 3:</b> Metabolismus zdravé a nádorové buňky.....	28
<b>Obrázek 4:</b> Metabolismus glukózy ve zdravé a nádorové buňce .....	33
<b>Obrázek 5:</b> Metabolismus lipidů ve zdravé a nádorové buňce.....	35
<b>Obrázek 6:</b> Využití aminokyselin v Krebsově cyklu .....	37
<b>Obrázek 7:</b> Účinky mezenchymálních kmenových buněk.....	41
<b>Obrázek 8:</b> Působení proteinu p53.....	43
<b>Obrázek 9:</b> Ovlivnění vzniku proteinu p21 proteinem p53.....	45
<b>Obrázek 10:</b> Vnější a vnitřní cesta apoptózy.....	47

## SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1:</b> Rozdělení leukémií.....	26
<b>Tabulka 2:</b> Rozdělení kaspáz.....	49

## Úvod

Rakovina je onemocnění, jehož incidence nejen v České republice, ale i po celém světě, stále stoupá. Nyní postihuje rakovina v České republice cca každého třetího člověka, přičemž pro každého pátého je toto onemocnění smrtelné. Postihuje ženy i muže v jakémkoliv věku. Přestože již po desetiletí probíhají výzkumy zaměřené na maligní onemocnění, neexistuje na tuto nemoc univerzální lék. Zároveň jsou stále publikovány nové poznatky související se vznikem rakoviny. Právě náhled na aktuální informace byl jedním z cílů mé bakalářské práce.

Nádory existují v benigní nebo maligní podobě. Benigní nádory jsou poměrně snadno operovatelné, nezpůsobují metastázy a mohou se ve své neinvazivní podobě vyskytovat v těle po mnoho let. Naopak maligní nádory jsou zodpovědné za tvorbu metastáz. Jsou agresivnější a poškozují okolní buňky. Existují také tzv. intermediární nádory, označované jako potencionálně maligní. Jedná se o rozhraní mezi maligním a benigním útvarem. Podíl na vzniku rakoviny mají jak vnitřní, tak vnější faktory. Mezi vnitřní faktory se řadí například chyba v replikaci DNA či nestabilita volných radikálů vznikajících během metabolismu. Mezi vnější faktory se pak řadí například UV záření či různé chemické karcinogeny. Zdravá buňka má mechanismy, díky kterým se může vyhnout vzniku tumoru. Často ale dochází k chybám v těchto mechanismech, což zapříčiní nedostatečnou ochranu a vznik malignity. Přeměna zdravé buňky na nádor zahrnuje inaktivaci tumor supresorových genů, které za normálních okolností kontrolují buněčnou proliferaci. Zároveň dochází k aktivaci tzv. onkogenů, které podporují vznik tumorů. Vedle těchto procesů musí dojít k dalším přeměnám, včetně změn buněčného metabolismu. Dalším důležitým bodem je překonání buněčného stárnutí a vnik nesmrtelné buňky. Zároveň musí být zajištěn dostatečný přísun živin a kyslíku.

Na počátku karcinogeneze tedy dochází k transformaci jedné buňky, která je schopná přežít a vytvořit novou geneticky odlišnou populaci maligních buněk, souhrnně označovaných jako nádor. Ten je schopen se dále šířit po těle prostřednictvím svých metastáz a touto cestou napadat i vzdálené části organismu.

# 1 Patobiochemie nádorových onemocnění

Rakovina je onemocnění zapříčiněné genovou mutací. K jejímu vzniku dochází v momentě, kdy se buněčné dělení vymkne kontrole. Lze říci, že základní procesy, které se při vzniku nádoru odehrávají, jsou prakticky pro všechny typy tumorů totožné. Nádory nevznikají v jednom okamžiku, ale určitou dobu se v průběhu času vyvíjí. Jejich vývoj se může pohybovat v řádech týdnů ale i v řádech let (D. Hanahan et al.; 2011). Vývoj nádoru je v jistém smyslu podobný procesu hojení ran. Stejně jako při hojení, i při tvorbě tumoru jsou do dané lokality situovány imunitní buňky, dochází k vytvoření fibrinové sítě a zvyšuje se tvorba proteinů potřebných pro modelaci extracelulární matrix (ECM). Na rozdíl od procesu hojení mají nádorové buňky tendenci napadnout sousední tkáň a přesouvat se v rámci organismu prostřednictvím cévního řečiště (T. Liu et al.; 2019). Nejdříve dojde ke vzniku mutované buňky, která se rozdělí. Tato buňka a její dceřiné buňky se následně začnou dělit příliš často, tento stav se nazývá hyperplazie. Dochází ke vzniku další mutace, dalšímu dělení a vzniká dysplazie. Při dysplazii dochází k morfologické změně a ke změně uspořádání buněk, nemění se však typ tkáně. Poté dojde k další mutaci, dalšímu dělení a vzniknou buňky, které jsou oproti původní tkáni abnormální jak v rychlosti dělení, tak ve vzhledu.

Nádor může být lokalizován na jednom místě v organismu po neomezenou dobu, aniž by napadal sousední tkáň. V takovém případě se jedná o nádor benigní. Pokud ovšem dojde k napadení sousedních tkání, jedná se o nádor maligní. Ten většinou vytváří metastázy, které z původního nádoru unikají a jsou krevní cestou roznášeny po těle. Mezi charakteristické znaky rakoviny se řadí: konstantní proliferativní signalizace, nesmrtelnost nádorových buněk, tvorba nových cév, tvorba metastáz, odolnost vůči inhibitorům růstu a vzdorování buněčné smrti (D. Hanahan et al.; 2011).

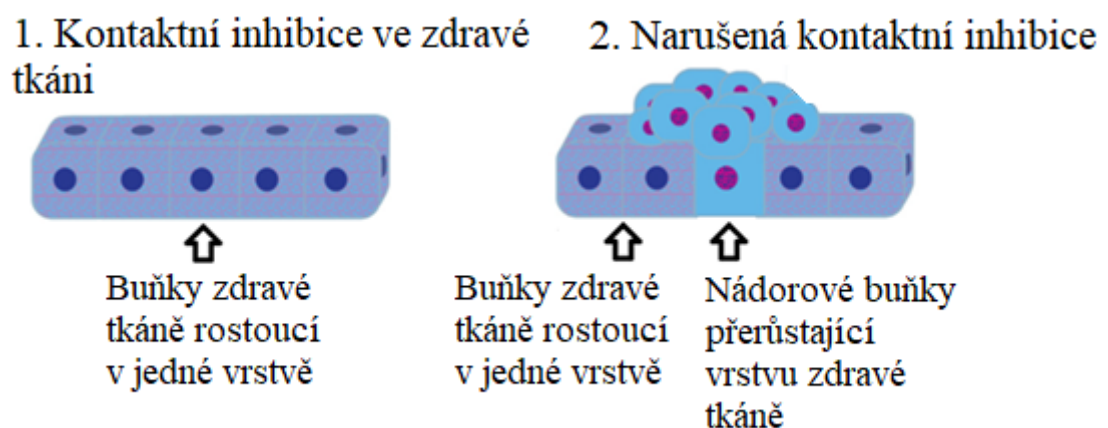
## 1.1 Neomezené dělení

Základní vlastností nádorových buněk je schopnost neustálé proliferace. Zdravé tkáně jsou schopny striktně kontrolovat produkci a vysílání signálů podporujících růst, vstup do buněčného cyklu a buněčné dělení. Díky tomu je udržen stálý počet buněk a je zachována architektura tkání. Naopak v nádorových buňkách dochází k poruše těchto signálních drah a díky tomu k nekontrolovatelnému buněčnému růstu. Rakovinné buňky mohou samy produkovat ligandy růstových faktorů. Mohou také zvýšit počet receptorů pro růstové faktory, které následně exprimují na svém povrchu. Další možností, díky které je zajištěna nezávislost



na růstovém faktoru, je neustálá aktivace složek signálních drah. Tím odpadá nutnost aktivace receptoru zprostředkované ligandem (D. Hanahan et al.; 2011).

Vedle udržování neustálé pozitivní stimulace růstu musí rakovinné buňky obcházet dráhy, prostřednictvím kterých se buňka rozhoduje, zda se bude dělit, nebo zahájí apoptózu. Mnoho z těchto drah závisí na působení tumor-supresorových genů. Buňky pocházející z fyziologických tkání využívají ke kontrole růstu i tzv. kontaktní inhibici (Obr. 1). Během ní je proliferace buněk řízena buňkami okolními. Kontaktní inhibice je zajištěna mnoha mechanismy. Jedním z těchto mechanismů je například působení proteinu zvaného merlin. Ten je produktem genu NF2. Jeho úkolem je posílení vazeb mezi buňkami, omezuje množství růstových faktorů a omezuje schopnost produkce signálů pro dělení. Dalším příkladem takového mechanismu je funkce proteinu LKB1. LKB1 přispívá k udržení integrity tkáně. Existuje skupina proteinů řadící se mezi onkogeny zvaná Myc, jejíž nadměrná exprese je pozorována u většiny lidských rakovin. Právě na tuto skupinu proteinů působí LKB1 (D. Hanahan et al.; 2011). Myc se řadí mezi hlavní lidské onkoproteiny. Díky tomu se v posledních letech stala rodina Myc předmětem výzkumu protinádorové terapie. Myc ovlivňují například proliferaci, metabolismus, replikaci DNA nebo vznik metastáz. V lidských buňkách můžeme najít 3 typy genů produkující proteiny Myc – geny c-Myc, n-Myc a l-Myc. C-Myc je nejčastěji nadměrně exprimován v krevních nádorech, n-Myc v nádorech nervového původu a l-Myc najdeme u malobuněčných plicních nádorů (W. P. Tansey; 2014).



**Obr. 1: Kontaktní inhibice**  
Upraveno dle S. Libring et al.; 2020

## 1.2 Nesmrtelnost nádorových buněk

Nenádorové buňky jsou schopné projít jen určitým počtem dělení. Tuto schopnost nádorové buňky ztrácejí a stávají se v podstatě nesmrtelnými. Při dělení se buňkám postupně zkracují telomery, které se nacházejí na koncích chromozomů (D. Hanahan, et al.; 2011).

Telomery jsou opakující se sekvence nukleotidů. Jedná se o sekvenci TTAGGG (P. M. Lansdorp; 2004). V lidských buňkách je průměrná délka telomer do 20 kB v závislosti na replikační historii buňky, typu tkáně a věku jedince. Délka těchto telomer určuje, kolikrát se může buňka rozdělit. V momentě, kdy se telomery zkrátí natolik, že ztratí svou ochrannou funkci, je navozena buněčná smrt, případně děj nazývaný senescence. Jedná se o stav, ve kterém buňka stárne a nadále se již nedělí. Zůstává aktivní a může uvolňovat látky, které mohou způsobovat zánět, případně mohou přispívat karcinogenezi (D. Hanahan, et al.; 2011). Telomery zároveň chrání chromozomy před fúzí. Fúze neboli spojování chromozomů, je pozorováno u většiny typů tumorů. Může nastat například při translokaci, inverzi či delecii chromozomů. Ve výsledku můžeme díky fúzi vidět například část chromozomu připojenou k chromozomu jinému, nebo nově vzniklý tzv. ring chromozom (M. A. Jafri et al.; 2016). Ring chromozom je chromozom stočený do kruhu. V lidském genomu není jeho výskyt příliš častý. V případě výskytu tohoto chromozomu se může u jedince vyskytovat různý stupeň postižení, od nízkého vzrůstu až po vývojové opoždění (I. E. Pristiyazhnyuk et al.; 2017).

### 1.2.1 Telomeráza

Ve většině buněk se nachází enzym zvaný telomeráza. Jedná se o specializovanou DNA polymerázu (P. M. Lansdorp; 2004). Skládá se z telomerázové reverzní transkriptázy (TERT) a telomerázové RNA (TERC). Tato TERC slouží jako templát pro syntézu telomerické DNA. Podjednotku TERT bychom mohli najít také například v mitochondriích, kde funguje jako antioxidantní enzym a chrání mitochondriální DNA. Dále udržuje stálou hladinu reaktivních forem kyslíku (ROS) jak v cytosolu, tak v mitochondriích (J. Rosen et al.; 2020). TERT je kódován pomocí genu hTERT. Právě mutace v tomto genu, konkrétně v místech 124 nebo 146 párů bází před místem zahájení translace, jsou spojovány se zvýšenou aktivitou telomerázy v rakovinových buňkách (M. A. Jafri et al.; 2016). Úkolem telomerázy je připojovat segmenty DNA na konce telomer a tím je prodlužovat (P. M. Lansdorp; 2004). Na koncích telomer najdeme tzv. Shelterin. Jedná se o komplex proteinů, který udržuje telomery stabilní a řídí přístup telomerázy k telomerám. Stabilitu telomer udržuje tento

komplex nezávisle na mechanismech, pomocí kterých jsou telomery prodlužovány. Mutace v proteinech patřící do toho komplexu podporuje vznik nádoru (B. Donati et al.; 2019).

Ve fyziologických buňkách je aktivita telomerázy inhibována. Při regulaci aktivity telomerázy má klíčovou úlohu kontrola transkripce TERT části. Zatímco TERC část telomerázy je exprimována v lidských somatických buňkách, exprese TERT části je ve většině buněk potlačena (B. Donati et al.; 2019). Následkem toho není v somatických buňkách telomeráza aktivní. Naopak v nádorových buňkách má tento enzym zvýšenou aktivitu. Díky této zvýšené aktivitě je zabráněno stárnutí buňky a následné apoptóze. Vedle prodlužování telomer má telomeráza další důležité funkce. Funguje jako kofaktor transkripčního faktoru a podílí se na opravě poškozené DNA (D. Hanahan et al.; 2011). Díky tomu, že je telomeráza aktivní pouze v nádorových buňkách a v somatických její aktivita obecně chybí, stala se jedním z možných terčů protinádorové terapie (B. Donati et al.; 2019).

### 1.2.2 Alternativní cesta prodloužení telomer

U některých typů nádorů nedochází k aktivaci enzymu telomerázy. Místo toho využívají aktivaci alternativního mechanismu prodlužování telomer (ALT) (B. Donati et al.; 2019). ALT je dráha, která je aktivovaná poškozením telomerní DNA nebo replikačním stresem. Využívá děje zvaného homologní rekombinace, při níž dochází k záměně genetické informace na sesterských chromatidách či homologním páru chromozomů. V důsledku toho může dojít ke vzniku mutace vedoucí ke vzniku ALT podporující tumorigenezi. Buňky, které využívají ALT, můžeme označit jako ALT+. Na telomerách ALT+ buněk najdeme několik charakteristických znaků. Mezi tyto znaky se řadí například přítomnost ALT asociovaných PML tělísek (APB), která obsahují mimo jiné telomerickou DNA. PML je protein promyelocytární leukémie. Tento komplex představuje ideální prostředí pro rekombinaci telomer a syntézu DNA. Je prokázáno, že vyčerpáním PML dojde k narušení APB, díky čemuž dochází k blokaci syntézy telomerní DNA. Dalším znakem ALT+ buněk je výskyt heterogenních telomer nebo častá výměna telomer mezi sesterskými chromatidami. Díky těmto ALT markerům bylo identifikováno, že mechanismus ALT využívají povětšinou nádory mezenchymálního původu (J. M. Zhang et al.; 2020).

## 1.3 Angiogeneze

Nádorové buňky potřebují přísun živin a kyslíku. Zároveň potřebují odvádět metabolity. K tomu jim slouží nové cévy tvořené procesem angiogeneze. Angiogeneze je aktivována

pomocí signálních proteinů. Ty se váží na receptory vyskytující se na povrchu endotelových buněk cév (D. Hanahan et al.; 2011). Mezi faktory, které podporují tvorbu nových cév, se řadí například vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF), růstový faktor odvozený z krevních destiček (PDGF) nebo fibroblastový růstový faktor (FGF). Tyto růstové faktory ovlivňují syntézu matrixové metaloproteinázy (MMP), která významně ovlivňuje proces angiogeneze. Zvýšená exprese tohoto genu je pozorována právě u nádorových buněk (J. Wang et al.; 2019).

Angiogeneze se objevuje už v premaligní fázi nádorového onemocnění. U některých typů nádorů je angiogeneze aktivována pomocí onkogenů nebo pomocí imunitních buněk. Jedná se o buňky vrozeného imunitního systému, které napomáhají udržení průběhu angiogeneze a chrání vznikající cévy. Ke vzniku nových cév přispívají u některých typů nádorů také buňky odvozené z kostní dřeně. Ty se přesouvají na místo nově vznikající cévy a řadí se do ní buďto jako pericyty, nebo endotelové buňky. Pericyty jsou buňky, které poskytují podporu endotelovým buňkám cév (D. Hanahan et al.; 2011). Nově vznikající cévy nejsou kryty pomocí pericytů natolik, jako normální cévy. Díky tomu je pro nádorové buňky snadnější vstoupit do těchto nových cév (S. Valastyan et al.; 2011).

V těle se objevují inhibitory angiogeneze, mezi které se řadí například trombospodin 1 (TSP-1). TSP-1 je součástí mikroprostředí nádorové buňky. Do tohoto mikroprostředí je produkován pomocí fibroblastů, imunitních buněk a endoteliálních buněk (J. Lawler; 2002). Angiogeneze na fyziologické úrovni je udržována rovnováhou mezi inhibitory a aktivátory. Díky této rovnováze jsou možné děje jako například hojení ran nebo pravidelné cykly endometria (C. Failla et al.; 2018). K inhibici angiogeneze dochází prostřednictvím několika dějů, mezi které se řadí potlačení faktoru VEGF a navození apoptózy či inhibice migrace endotelových buněk. Potlačení faktoru VEGF je zajištěno buďto inhibicí uvolňování tohoto faktoru z ECM, přímým kontaktem nebo inhibicí signální transdukce. Pokud je hladina inhibitorů zvýšena, je omezen růst nádoru. Nádorové buňky ale často vykazují sníženou tvorbu těchto inhibitorů, díky genetickým mutacím, které v nich proběhly (P. R. Lawler et al.; 2012). V souladu s tím jsou ale sníženy i fyziologické procesy jako je například již zmíněné hojení ran, které taktéž vyžaduje tvorbu nových cév.

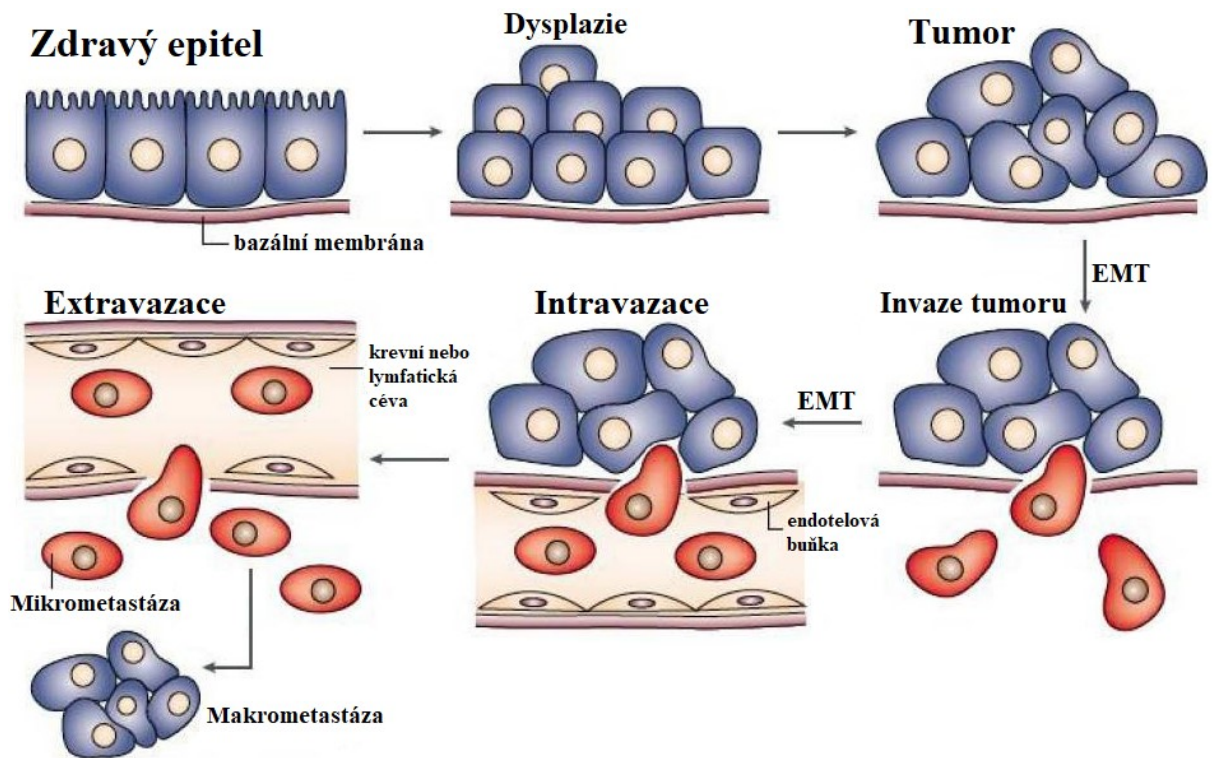
Cévy nádorů bývají nadměrně rozvětvené. Průtok krve bývá nepravidelný a často se objevuje mikrohemorhagie. Endotelové buňky těchto cév vykazují nadměrnou úroveň proliferace a apoptózy (D. Hanahan et al.; 2011).

## 1.4 Vznik metastáz

Z nádorů, které postoupily do vyšších stupňů malignity, mohou vznikat metastázy. Vznik metastáz je podporován ztrátou E-kadherinu. E-kadherin je molekula, která podporuje adhezi mezi buňkami. Jeho inaktivací je tato adheze snížena a buňky se od sebe snáz oddělují (D. Hanahan et al.; 2011).

Vznik metastáz má několik kroků (Obr. 2). Nejdříve dojde k napadení extracelulární matrix a průniku buněk do krevních cév. Aby mohly buňky uniknout z primárního nádoru, musí narušit bazální membránu. Bazální membrána představuje specializovanou extracelulární matrix. Bazální membrána má funkci podpůrnou, navíc jsou v ní důležité molekuly jako například růstový faktor. Růstový faktor může být uvolňován pomocí enzymů, které obsahuje nádor a podporovat proliferaci. Za účelem narušení bazální membrány mohou buňky spustit tzv. epiteliálně mezenchymový přechod (EMT), který napomáhá k rozrušení spojů a ztrátě polarity buňky. Díky EMT jsou vrstvy epiteliálních buněk rozděleny na jednotlivé buňky. Ty získávají vlastnosti mezenchymálních buněk. EMT je řízen pomocí některých transkripčních faktorů, například pomocí Twist nebo Slug, které podporují přechod do mezenchymového stavu buňky. Některé z těchto transkripčních faktorů mohou také přímo potlačovat hladiny E-kadherinu. Ztráta bazální membrány je řízena pomocí MMP, které jsou z buněk uvolňovány při rozkladu bazální membrány. V nádorových buňkách je aktivita MMP zvýšena.

Po rozrušení bazální membrány jsou nádorové buňky uvolňovány do nádorového stromatu. Odtud vstupují buňky do krevních nebo lymfatických cév. Pomocí těchto cév jsou buňky rozváděny po těle. Tomuto transportu musí odolat bez poškození a zastavit se na místě vzdáleném od primárního nádoru. Možnosti míst, do kterých putují metastázy z různých typů nádorů, jsou omezené (S. Valastyan et al.; 2011). Ochranu nádorovým buňkám před mechanickým poškozením a imunitním dohledem v cévách poskytují krevní destičky, které tyto nádorové buňky obalí (X. Jiang et al.; 2017). Následně dojde k průniku z cévy do tkáně a vzniku mikrometastáz. Ve tkáních se musí tyto mikrometastázy přizpůsobit novému prostředí. Následně je zahájena proliferace a vznikají makroskopické metastázy. Právě metastázy jsou nejčastější příčinou úmrtí na nádorové onemocnění (S. Valastyan et al.; 2011).



**Obr. 2: Vznik metastáz**

EMT = epiteliálně mezenchymový přechod

Upraveno dle T. N. Seyfried et al.; 2013

## 1.5 Únik nádorových buněk z imunitního dohledu

Mikroprostředí nádorové buňky vytváří ideální prostředí pro nesprávnou funkci imunitního systému. Na T-lymfocytech a na většině B-lymfocytů se běžně vyskytuje receptor CD24. Tento receptor CD24 nalezneme ve velkém množství i na nádorových buňkách. Jeho exprese na nádorových buňkách je zajištěna pomocí hypoxií indukovaného faktoru (HIF). Vznik těchto faktorů HIF je indukován právě hypoxií, která vzniká díky nedostatečnému zásobení nádorových buněk kyslíkem. Naproti tomu, na povrchu buněk imunitních najdeme skupinu receptorů zvanou Siglec. Jedním z důležitých receptorů z této skupiny je konkrétně Siglec-10. Ten se řadí mezi inhibiční receptory. Můžeme ho najít především na B-lymfocytech, monocytech a v menší míře pak na NK-buňkách, případně T-lymfocytech. Tento Siglec-10 se váže s receptorem CD24 nádorových buněk. Tím je spuštěna kaskáda vedoucí k inhibici buněk imunitního systému. Receptory na imunitních buňkách, které napomáhají tomuto úniku, jsou důležité i za fyziologických podmínek. Za normálních okolností totiž napomáhají obraně proti nadměrné imunitní odpovědi (S. Yin et al.; 2020).

Na rakovinové imunitní odpovědi se podílí i malé nekódující RNA (miRNA). Jedná se o malé nekódující RNA, které ovlivňují mimo jiné celou škálu genů důležitých pro imunitu rakovinných buněk (M. Yi et al.; 2020).

## 2 Klasifikace tumorů

Tumory můžeme rozlišovat na základě mnoha kritérií. Příkladem je klasifikace dle chování, histogenetická klasifikace nebo tzv. TNM klasifikace.

### 2.1 Klasifikace dle chování

Podle chování rozlišujeme nádory benigní a maligní, případně intermediární. Benigní nádory mívají obecně lepší prognózu. Nádory intermediární představují přechod mezi těmito dvěma. Mívají lepší prognózu než nádory maligní. Maligní nádory mívají agresivnější chování a povětšinou jsou schopny tvořit metastázy.

Benigní nádory se vyznačují tím, že netvoří metastázy. Zůstávají tak pouze na svém původním místě. Díky tomu nenapadají vzdálené tkáně. Jedná se o nádory s dobře rozlišitelnými okraji. Problematické mohou být ve chvíli, kdy vyrostou natolik, že stlačují okolní oblasti a způsobí tak zdravotní komplikace. V takovém případě je nutné benigní tumory chirurgicky odstranit. Ve většině případů je tento typ nádoru poměrně dobře operovatelný a po jejich vyjmutí většinou nedochází k recidivě. Některé typy benigních nádorů, jako jsou například polypy tlustého střeva, se mohou změnit na maligní. Proto bývají sledovány a v případě komplikací odstraněny.

Maligní tumory se vyznačují nekontrolovatelným růstem a invazí do okolí. Maligní tumory tvoří metastázy, které se šíří po těle krevním nebo lymfatickým řečištěm. V případě maligních tumorů je možné jejich odstranění chirurgicky. V případě, že se rozšířily po těle, je obvyklá léčba chemoterapií či radioterapií (Patel A.; 2020).

### 2.2 Klasifikace histogenetická

Histogenetická klasifikace je založena na původu nádoru, tzn. na tkáni, ze které nádor pochází. Z tohoto hlediska rozlišujeme nádory epitelové, mezenchymální, tumory ze zárodečných buněk a neuroektodermální. Vedle těchto čtyř typů existují také nádory smíšené. Ty představují nádory vzniklé kombinací dvou různých tkání jako například osteofibrom nebo myofibrom.

#### 2.2.1 Epitelový tumor

Epitelové tumory se souhrnně označují jako karcinomy. Jedná se o nejčastější typ tumoru. Pochází z epitelu kůže a z výstelky orgánů, například z prostaty, plic, prsu, žaludku nebo střeva (M. Muzzopappa et al.; 2018). Příkladem nádorů řadících se mezi epitelové



tumory, vykazujících vysokou úmrtnost, je karcinom děložního čípku nebo nemalobuněčný karcinom plic (S. Rogalla et al.; 2015). Tento typ nádorů můžeme rozdělit dále na dva základní typy a to na adenokarcinomy a karcinomy dlaždicových buněk (M. Muzzopappa et al.; 2018).

Zdravé epitelové buňky komunikují se svým okolím pomocí adhezních molekul a spojů. Díky tomu je vytvořena komunikační síť. Tento systém je při vzniku tumoru narušován (Y. Tamori et al.; 2016). V případě, že jsou tyto tumory včas detekovány, ještě před napadením sousední tkáně nebo vznikem metastáz, je většinou možné jejich chirurgické odstranění (S. Rogalla et al.; 2015).

### 2.2.2 Mezenchymální tumor

Mezenchymální tkáň se v průběhu let vyvíjí v tukovou tkáň, kosterní svaly, periferní nervy, krevní cévy a vazivovou tkáň. Ze všech těchto tkání tak může vzniknout tumor mezenchymálního původu. Obecně se takový nádor nazývá jako sarkom. Většinou jsou pacienti s tímto typem tumoru bez příznaků. K vyšetření nádoru měkkých tkání se využívají některé markery, jako například CD34. Ten je charakteristický pro buňky obalující nervovou tkáň (D. Chowdhury et al.; 2017). Mikroprostředí nádoru se snaží shromáždit mezenchymální buňky, které jsou díky jejich schopnosti vysoce podporovat angiogenezi pro nádorové mikroprostředí velmi výhodné (M. Galie et al.; 2007).

### 2.2.3 Leukémie

V případě leukémie se jedná o nadměrnou proliferaci hematopoetických kmenových buněk v kostní dřeni. Konkrétně se jedná o kmenové buňky, ze kterých se diferencují bílé krvinky (A. S. Davis et al.; 2014). Důležitou roli při vzniku leukémie hrají genetické predispozice. Buňky zasažené leukémií vykazují mnoho změn v počtu a vzhledu chromozomu. Tyto abnormality zahrnují ztrátu či zisk části, případně celého chromozomu, nebo různé translokace mezi chromozomy (J. D. Rowley; 2001).

Dělí se dále na čtyři typy a to na chronickou myeloidní leukémii (CML), akutní myeloidní leukémii (AML), chronickou lymfoidní leukémii (CLL) a akutní lymfoidní leukémii (ALL). ALL je nejčastěji se vyskytující leukémií u dětí. Příznaky leukémie jsou velmi nespecifické, řadí se mezi ně horečka, únava, úbytek hmotnosti, tvorba modřin nebo časté krvácení. Při diagnostice se sleduje krevní obraz, který odhalí abnormální buněčné linie v krvi. Následuje další vyšetření kostní dřene, nebo periferní krve (A. S. Davis et al.; 2014).

Toto onemocnění se často vyskytuje u pacientů s Downovým nebo Klinefelterovým syndromem (T. Lahans et al.; 2007).

Tab. 1: Rozdělení leukémií

<b>Rozdělení leukémií</b>	
<b>Akutní myeloidní leukémie (AML)</b>	AML s rekurentní genetickou abnormalitou
	AML s myelodysplastickými rysy
	„Therapy-related“ AML
	Bližší nespecifikovaná AML
	Myeloidní sarkom
	AML u Downova syndromu
<b>Myeloproliferativní onemocnění (MPO)</b>	<b>Chronická myeloidní leukémie (CML)</b>
	Polycytemia vera (PV)
	Esenciální trombocytémie
	Chronická idiopatická myelofibróza
	Chronická neutrofilní leukémie
	Chronická eozinofilní leukémie
	Chronická myeloproliferativní neklasifikovaná
<b>Akutní lymfoblastická leukémie (ALL)</b>	T-lymfoblastická ALL
	B-lymfoblastická ALL
<b>Chronická lymfatická leukémie (CLL)</b>	T-lymfoblastická CLL
	B-lymfoblastická CLL

#### 2.2.4 Tumory ze zárodečných buněk

Tumory ze zárodečných buněk jsou nazývány též jako germinální tumory. Tento typ nádorů najdeme na pohlavních žlázách a v mozku. Dělíme je do dvou základních skupin. První skupinou jsou nádory odvozené z neoplastických zárodečných buněk *in situ* (GCNIS). Do této skupiny spadají například tumory žloutkového vaku a choriokarcinomy. Druhou

skupinou jsou nádory, které nepocházejí z GCNIS. Jedná se především o nádory u dětí, dále o benigní teratom nebo spermatocytický nádor varlete (R. Singh et al.; 2021).

### 2.2.5 Tumory neuroektodermové

Neuroektodermové tumory mají původ v neuroektodermu. Nejčastěji se jedná o nádory centrálního či periferního nervového systému. Tyto nádory můžeme rozdělit do dvou skupin. První skupinou jsou nádory vykazující diferenciaci epitelu označovány také jako neuroendokrinní karcinomy, například neuroektodermální karcinom hrtanu. Druhou skupinou jsou nádory s převážně neurálními rysy, například čichový neuroblastom nebo maligní melanom (S. E Mills; 2001).

## 2.3 TNM klasifikace

TNM klasifikace je systém rozdělující maligní nádory. Používá se především pro solidní tumory. Základem tohoto systému je hodnocení nádoru, lymfatických uzlin a metastáz.

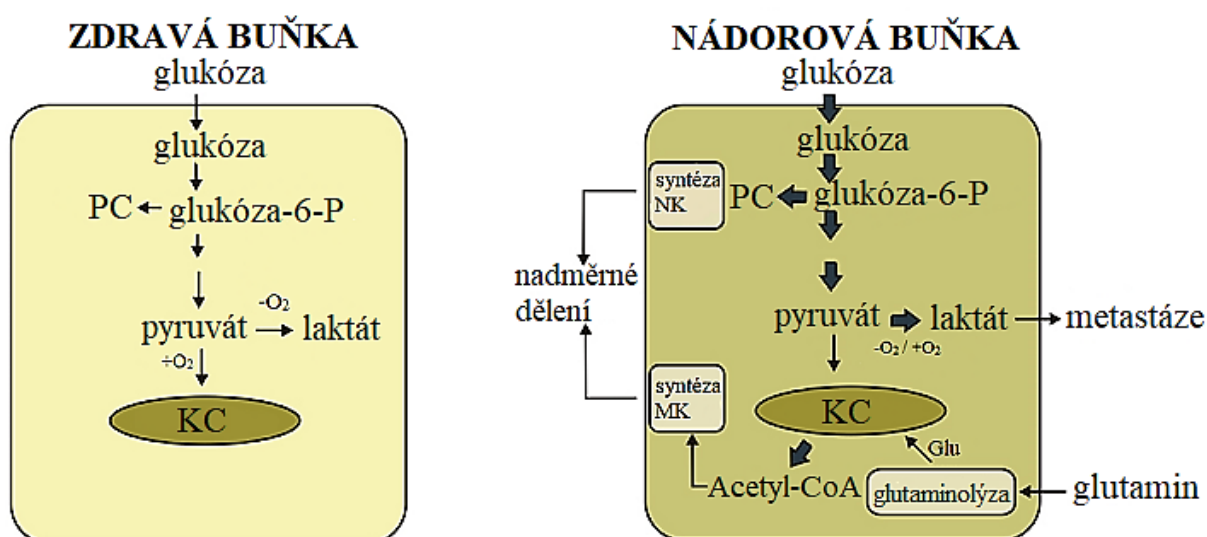
T se využívá k popisu velikosti primárního nádoru a jeho invaze do jiných tkání. Můžeme použít  $T_1$  až  $T_4$ . Je možná také zkratka  $T_0$  která značí, že není přítomen žádný důkaz o existenci nádoru. Dále zkratka  $T_x$  která značí nádor, jehož velikost nelze stanovit.

N představuje postižení lymfatických uzlin. N se značí v rozmezí  $N_1$  až  $N_3$ . Pokud je použita zkratka  $N_0$  znamená to, že lymfatické uzliny nejsou postiženy.  $N_x$  znamená, že nelze stanovit postižení uzlin.

M se používá k popisu přítomnosti metastáz.  $M_x$  se používá v případě, že nelze stanovit, zda jsou přítomny metastázy.  $M_0$  značí nepřítomnost metastáz, naopak  $M_1$  se používá v případě jejich přítomnosti (R. D. Rosen et al.; 2021).

### 3 Změny v metabolismu nádorové buňky

Zvýšená proliferace nádorových buněk vyžaduje přeprogramování normálního metabolismu zdravé buňky. Množení zdravé buňky je závislé na buňkách okolních, chemických signálech, prostředí kolem buňky a vnitřním prostředí buňky. Množí se až poté, co je spuštěna kaskáda reakcí, díky navázání růstových faktorů na jejich receptory. U nádorově transformované buňky je proliferace neustálá díky schopnosti stimulovat sebe samou. K tomu, aby byla nádorová buňka schopna neustálého množení, potřebuje pozměnit metabolismus zdravé buňky (Obr. 3). Nádorová buňka potřebuje neustálý přísun energie. Zároveň potřebuje přežít a množit se v pozměněném prostředí buňky (Ch. Plathow et al; 2008).



**Obr. 3: Metabolismus zdravé a nádorové buňky**

PC = pentózový cyklus; KC = Krebsův cyklus; NK= nukleová kyselina; MK = mastná kyselina;  
Acetyl-CoA = Acetyl-koenzymA  
Upraveno dle P. Józwiak et al.; 2014

#### 3.1 Metabolismus nenádorové buňky

##### 3.1.1 Metabolismus cukrů

Sacharidy tvoří nezastupitelnou část naší stravy. V tenkém střevě jsou sacharidy absorbovány do krevního oběhu. Koncentrace sacharidů v krvi je řízena inzulínem, glukagonem a epinefrinem. Glukóza je z krve přenášena do jater a svalů, kde je přeměněna na zásobní formu – glykogen. Tento proces je známý pod pojmem glykogeneze. Při potřebě

energie se glykogen štěpí procesem, který je nazýván jako glykogenolýza, na glukózu. Glukóza je centrální molekulou všech sacharidů v metabolismu cukrů.

Glykolýza je děj, který probíhá v cytoplazmě buňky. Tento děj tvoří sled několika reakcí. V první polovině glykolýzy dochází ke spotřebě energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP). Naproti tomu v druhé polovině glykolýzy ATP vzniká. Při tomto procesu dochází k přeměně glukózy na dvě molekuly pyruvátu, 2 molekuly ATP a 2 molekuly NADH. Hlavním úkolem glykolýzy je poskytnutí energie a metabolických produktů, které jsou dále využívány.

V přítomnosti kyslíku jsou dále molekuly vzniklého pyruvátu enzymaticky převedeny na Acetyl-CoA. Tento děj je katalyzován enzymem pyruvátdehydrogenázou. Molekula Acetylu-CoA dále prochází cyklem kyseliny citrónové (Citrátovým cyklem). Tento cyklus je znám také jako Krebsův cyklus. Ten představuje spojnici mezi metabolismy cukrů, tuků a bílkovin. Z jedné molekuly pyruvátu v Krebsově cyklu vznikají tři molekuly NADH a jedna molekula FADH<sub>2</sub>.

Tyto molekuly dále vstupují do elektrontransportního řetězce na membráně mitochondrie. Zde probíhá oxidační fosforylace, při které vznikají další molekuly ATP, které buňka využívá jako energii. Z jedné molekuly glukózy celkově vzniká 38 molekul ATP (A. Fadaka et al.; 2017).

### 3.1.2 Metabolismus tuků

Lipidy jsou důležitou součástí biologických membrán a využívají se jako zdroj energie. Hlavní složkou buněčné membrány jsou fosfolipidy a cholesterol. Pokud má buňka dostatečné množství živin, jsou lipidy uloženy v tukových zásobách ve formě triacylglycerolů (TAG). V případě nutnosti využití energie z tukových zdrojů dochází k degradaci TAG, při které vznikají mastné kyseliny. Mastné kyseliny jsou dále oxidovány, a tím dochází k uvolňování energie (M. Maan, et al.; 2018).

Proces, při kterém dochází k rozkladu komplexních lipidů, se nazývá lipolýza. Dochází při ní ke vzniku mastných kyselin z TAG, fosfolipidů nebo esterů cholesterolu. Mastné kyseliny s krátkým nebo středním řetězcem jsou z tenkého střeva absorbovány do portálního oběhu. Odtud jsou pomocí albuminu transportovány do jater, kde probíhá jejich oxidace. Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem jsou spolu se žlučovými kyselinami v enterocytech zpracovávány do sérových lipoproteinů (B. A. Griffin; 2013).

Mastné kyseliny jsou z tukové tkáně uvolňovány díky působení epinefrinu a glukagonu. Tyto hormony zvyšují rychlost lipolýzy. Dále jsou mastné kyseliny v buňce zpracovávány oxidací. Proces se nazývá Beta-oxidace a je významným zdrojem energie, především ve stavech zvýšené potřeby, jako je například cvičení.

Beta-oxidace se skládá z několika kroků. Mezi hlavní kroky se řadí aktivace a transport do buněčných částí. Aktivace probíhá reakcí koenzymu A s mastnou kyselinou za spotřeby ATP. Reakce je katalyzována pomocí enzymu Acyl-CoA syntetáza (S. M. Houten et al.; 2016). Tento enzym najdeme na vnější mitochondriální membráně, peroxizomální membráně a membráně endoplazmatického retikula. Je však specifická pouze pro mastné kyseliny o délce 12 až 20 uhlíků. V případě mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem je potřeba specifické syntetázy, která se nachází pouze na membráně peroxizomu. Po aktivaci vzniká molekula Acyl-CoA (J. T. Talley et al.; 2020). Následuje dehydrogenace katalyzována enzymem Acyl-CoA dehydrogenáza. V tomto kroku vzniká molekula  $\text{FADH}_2$ , která putuje do dýchacího řetězce probíhajícího na membráně mitochondrie. Následuje adice vody a dehydrogenace, za vzniku molekuly  $\text{NADH}+\text{H}^+$ , která taktéž putuje do dýchacího řetězce (M. Wajner et al.; 2015). Posledním krokem je reakce meziprojektu s Koenzymem A, za vzniku molekuly Acetyl-CoA a Acyl-CoA. Acyl-CoA je o 2 uhlíky kratší, než byla původní mastná kyselina. Opět prochází celým procesem Beta-oxidace až do chvíle, kdy se molekula mastné kyseliny zcela promění v Acetyl-CoA. Acetyl-CoA je využíván dále v Krebsově cyklu. V případě mastných kyselin s lichým počtem uhlíků v řetězci jsou konečnými produkty Acetyl-CoA a propionyl-CoA, který se dále využívá.

Vedle Beta-oxidace existuje také Alfa-oxidace a Omega-oxidace. Alfa-oxidace probíhá v peroxizomu. Je využívána především k degradaci vedlejších produktů chlorofylu z požitě rostlinné stravy. Omega-oxidace probíhá v endoplazmatickém retikulu. Slouží ke zpracování velkých mastných kyselin, které by byly ve vyšších koncentracích pro buňku toxické (J. T. Talley et al.; 2020).

### 3.1.3 Metabolismus bílkovin

Bílkoviny mají v těle nespočet funkcí. Lze je metabolizovat za vzniku energie, sacharidů, lipidů a produktů prospěšných pro Krebsův cyklus. Zároveň představují jediný zdroj dusíku v organismu, díky čemuž jsou klíčovými molekulami při syntéze např. látek na bázi purinu či pyrimidinu. Poměr mezi jejich syntézou a odbouráváním musí být v organismu v rovnováze. Neexistuje žádné místo, kde by se proteiny skladovaly. Proto jsou proteiny neustále odbourávány a znovu syntetizovány z aminokyselin (AMK), které cirkulují

v krevním oběhu. Tato rovnováha může být narušena v důsledku nemoci, buďto zvýšením odbourávání nebo snížením syntézy bílkovin (E. Pasini et al.; 2018).

Bílkoviny dělíme na esenciální, tedy ty, které si tělo nedokáže samo syntetizovat a musí být přijímány potravou a neesenciální, které si tělo dokáže vytvořit. Stavebními kameny bílkovin jsou AMK. Optimální rovnováha AMK je zásadní pro udržení homeostázy celého těla. Každá AMK má svou vlastní katabolickou cestu. Tyto cesty mají řadu společných bodů. Při metabolismu AMK vzniká mnoho důležitých ketolátek (G. Wu; 2009).

Hlavním místem katabolismu AMK jsou játra, ve kterých jsou AMK částečně oxidovány. Obecně se bílkoviny štěpí na uhlíkovou kostru a amoniak, přičemž se velká část uhlíkové kostry přeměňuje na glukózu procesem glukoneogeneze. Kromě glukózy mohou vznikat z uhlíkového skeletu například lipidy nebo molekuly potřebné v Krebsově cyklu. Protože existuje široká škála AMK, je různorodé také jejich zpracování uhlíkového skeletu pro vstup do Krebsova cyklu. Některé AMK mohou vstupovat například v podobě molekuly Acetyl-CoA, jiné například v podobě molekuly Sukcynyl-CoA (E. Pasini et al.; 2018). Při oxidaci uhlíkové kostry je spotřebováván kyslík a produkována energie ve formě ATP, které je dále spotřebováváno například při tvorbě močoviny v Ornitinovém cyklu. Ornitinový cyklus, nazýván též jako močovinový cyklus, je důležitý v odstranění pro tělo toxického amoniaku, který vzniká vedle uhlíkové kostry při katabolismu bílkovin. V tomto cyklu z něj vzniká močovina. V menší míře může namísto močoviny vznikat glutamin.

V případě potřeby energie jsou přednostně využívány cukerné a tukové zdroje. Po jejich vyčerpání, které může nastat například při hladovění, jsou využívány k získání energie i zdroje bílkovinné (J. T. Brosnan; 2000).

### 3.2 Metabolismus nádorové buňky

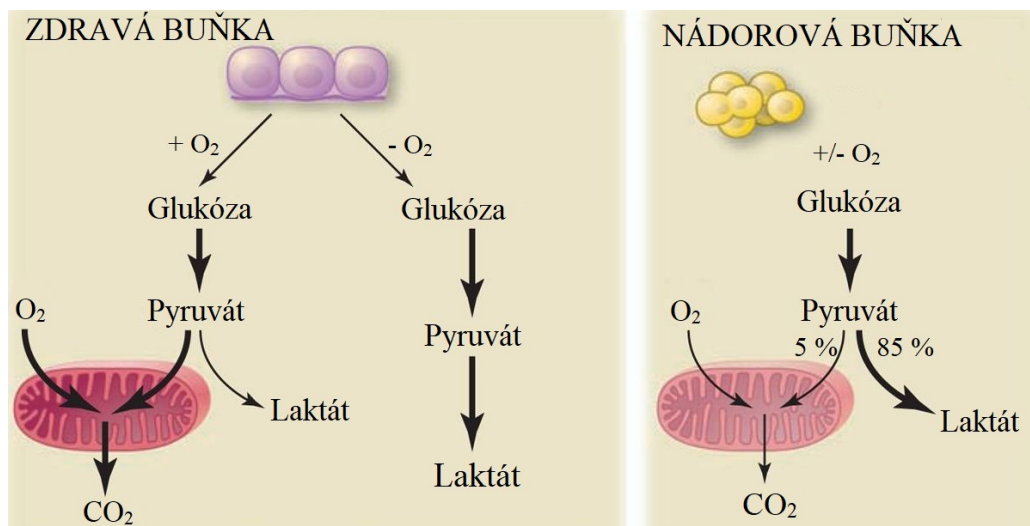
Při vzniku nádoru je nutné, aby byl přeprogramován buněčný metabolismus. Společným rysem metabolismu všech nádorových buněk je schopnost přežít v prostředí, které často obsahuje nízkou hladinu živin. Metabolické přeprogramování umožňuje neustálou proliferaci rakovinných buněk. Navíc umožňuje pozměnění mikroprostředí tak, aby napomáhalo v šíření s růstu tumorů. Přežití a biosyntéza v nádorových buňkách spočívá především ve změně metabolismu glukózy a glutaminu. Nezbytná je ovšem i změna metabolismu například lipidů a řady dalších AMK (N. N. Pavlova et al.; 2016).

### 3.2.1 Metabolismus cukrů

Německý biochemik Otto Warburg objevil, že nádorové buňky využívají jinou metabolickou cestu při zpracování glukózy, oproti buňkám fyziologickým. Přestože nádorové buňky vykazují zvýšenou potřebu energie, využívají k jejímu získání méně účinný proces, oproti buňkám nenádorovým. Tímto procesem je aerobní glykolýza. Tato aerobní glykolýza je regulována pomocí onkogenů i pomocí tumor-supresorových genů (A. S. Gomes et al.; 2018). Při tomto ději se glukóza přeměňuje na kyselinu mléčnou, za katalýzy enzymem laktátdehydrogenázou (LDH). Díky tomu si nádorové buňky kolem sebe vytvářejí kyselejší mikroprostředí, než je kolem fyziologických buněk. V důsledku poklesu pH dochází k usmrcování okolních zdravých buněk. To podporuje invazi nádoru do okolí. Je prokázáno, že blokáce přeměny pyruvátu na laktát může významným způsobem narušit růst nádorových buněk. Celkově při tomto ději vznikají z jedné molekuly glukózy dvě molekuly ATP a dvě molekuly laktátu. Díky tomu vznikají, pro nádorovou buňku důležité, metabolity, které jsou dále spotřebovány. Využití aerobní glykolýzy tedy představuje specifickou adaptaci, díky které mohou nádorové buňky neomezeně růst (L. W. S. Finley et al.; 2015). Protože nádorové buňky produkují většinu své energie v procesu aerobní glykolýzy, jsou nuceny přijímat zvýšené množství glukózy oproti buňkám nenádorovým, aby si dokázaly vytvořit dostatečné množství energie. Proto jsou na rakovinné buňce zvýšeně produkovány transportéry glukózy. Zároveň dochází ke změnám na mitochondriích. V nádorových buňkách dochází k nevratné změně v dýchacím řetězci, který probíhá na membráně mitochondrie. Do jejich membrány jsou transportovány hexokinázy v průběhu posttranslačních modifikací. Zároveň je zde snižené množství komplexů I, III a IV, které se podílejí na průběhu elektrontransportního řetězce (A. Fadaka et al.; 2017).

Aerobní glykolýza probíhá v nádorových buňkách velkou rychlostí. Pokud tedy tato buňka nemá omezený zdroj glukózy, je schopná, díky vysoké rychlosti reakce, touto cestou vytvořit dostatečné množství ATP. Nádorová buňka je schopna přežít krátké období hypoxie. Riziko pro ni představuje přerušená dodávka glukózy. Stejně jako kyslík, je i glukóza dodávána krevním řečištěm. Nádorové buňky jsou ovšem schopny zajistit si tvorbu nových cév a tím i neustálý přísun tolik potřebného zdroje energie. (L. W. S. Finley et al.; 2015). Je důležité poznamenat, že tento jev, tzn. využívání méně účinné aerobní glykolýzy nádorovou buňkou jako hlavní zdroj získání energie, není zapříčiněn nedostatkem kyslíku. Probíhá i při zcela normálním okysličování (A. Fadaka et al.; 2017).





**Obr. 4: Metabolismus glukózy ve zdravé a nádorové buňce**

Upraveno dle M. G. Vander Heiden et al.; 2009

### 3.2.2 Metabolismus tuků

V nádorových buňkách má velký význam přeprogramování metabolismu lipidů. Má důležitou roli při formování mikroprostředí nádorové buňky, což přispívá k rozvoji nádoru. Metabolismus lipidů je pozměněn několika způsoby. Nejrozsáhlejší změny byly pozorovány v metabolismu mastných kyselin, cholesterolu a kyseliny arachidonové (W. Wang et al.; 2020).

Mastné kyseliny mají důležitou roli např. při syntéze biologických membrán nebo jako zdroj energie. Změna jejich metabolismu přispívá ke zvýšení invazivity a proliferace nádoru. V nádorových buňkách dochází ke zvýšení biosyntézy mastných kyselin a k jejich akumulaci. Naproti tomu beta-oxidace je potlačena (Obr. 5). Substrátem pro syntézu mastných kyselin je Acetyl-CoA. Tento Acetyl-CoA vzniká v cytoplazmě z citrátu, který byl již předtím vytvořen v Krebsově cyklu a transportován do cytoplazmy (J. Yan Lim et al.; 2020). Tento děj je katalyzován enzymem ATP-citrát lyáza (ACLY). Dále může vystupovat jako zdroj mastných kyselin potrava, ze které jsou enzymovou cestou tyto mastné kyseliny získávány.

Nádorové buňky jsou schopny vytvořit funkční aparát, ve kterém mají klíčové enzymy pro syntézu mastných kyselin zvýšenou aktivitu, oproti buňce nenádorové. Jedním z těchto klíčových enzymů je např. lipoproteinová lipáza (LPL). Jedná se o enzym vázaný na povrch endotelu kapilár (X. Ding et al.; 2019). Jeho úkolem je hydrolýza TAG z chylomikronů a lipoproteinů s velmi nízkou hustotou (VLDL). LPL bývá nadměrně exprimována

např. při invazivním cervikálním spinocelulárním karcinomu, přičemž zvyšuje jeho invazi. Dalšími příklady enzymů se zvýšenou aktivitou je ATP, ACLY a AcCoA-karboxyláza. AcCoA-karboxyláza je enzym katalyzující karboxylaci Acetylu-CoA v nádorové buňce za vzniku malonyl-CoA, který je využíván při syntéze mastných kyselin.

Důležitou roli v metabolismu lipidů má také membránový přenašeč CD36. Jedná se o protein přenášející mastné kyseliny s dlouhým řetězcem z cirkulace do buňky. U některých typů nádoru je prokázáno, že CD36 zrychluje jejich růst, vznik metastáz a rezistenci vůči chemoterapii a radioterapii (W. Wang et al.; 2020).

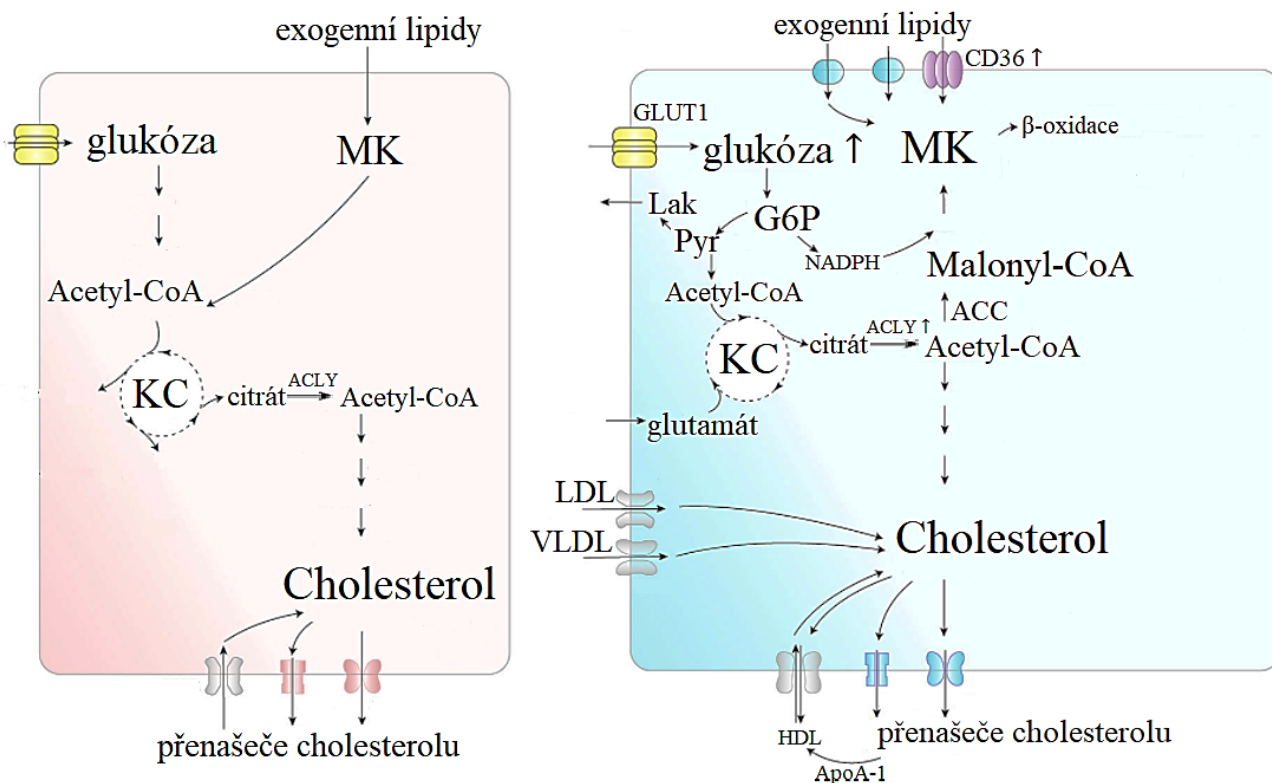
Vedle změny metabolismu mastných kyselin je pozměněn taky metabolismus cholesterolu. V nádorových buňkách dochází ke zvýšené syntéze a příjmu cholesterolu a k jeho sníženému vylučování. Do syntézy cholesterolu je zapojeno mnoho enzymů. Příkladem takovýchto enzymů je skvalenepoxidáza (SQLE), která katalyzuje oxidaci skvalenu při syntéze cholesterolu. Tvorba těchto enzymů je regulována pomocí SREBP. Jedná se o komplex proteinů, díky kterým je regulováno množství intracelulárního cholesterolu. Mutací a aktivací SREBP dochází k akumulaci intracelulárního cholesterolu.

Na membráně buňky se vyskytuje přenašeč cholesterolu z intracelulárního do extracelulárního prostoru. Tímto přenašečem je ABCA1. Snížená exprese tohoto přenašeče umožňuje zvyšovat hladinu intracelulárního cholesterolu a přispívat tím ke vzniku prostředí podporujícího progresi nádoru.

Pro transport cholesterolu do tkání jsou důležité lipoproteinové částice o nízké hustotě (LDL). V případě nádorového onemocnění je vyzorováno snížené množství těchto částic v plazmě. Po odstranění tumoru se toto množství vrací do normálu (X. Ding et al.; 2019).

## ZDRAVÁ BUŇKA

## NÁDOROVÁ BUŇKA



**Obr. 5: Metabolismus lipidů ve zdravé a nádorové buňce**

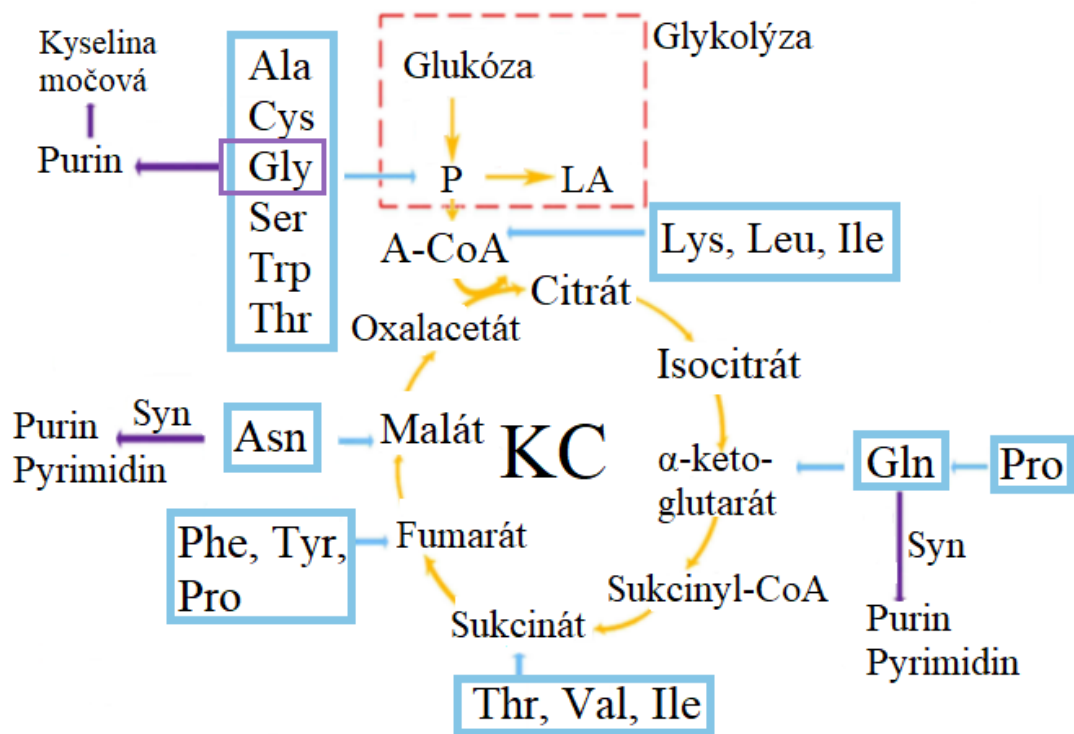
ACC = Acetyl-CoA karboxyláza, ACLY = ATP-citrát lyáza, ApoA-1 = membránový přenašeč, CD36 = membránový přenašeč, GLUT1 = glukózový přenašeč, G6P = glukóza-6-fosfát, HDL = lipoproteinové částice o vysoké hustotě, KC = Krebsův cyklus, Lak = laktát, LDL = lipoproteinové částice o nízké hustotě, MK = mastné kyseliny, Pyr = pyruvát, VLDL = lipoproteinové částice o velmi nízké hustotě

Upraveno dle W. Wang et al.; 2020

### 3.2.3 Metabolismus bílkovin

V nádorových buňkách nalezneme vyšší množství AMK oproti zdravým buňkám. Zároveň můžeme pozorovat nižší množství AMK v krevním řečišti. V nádorových buňkách fungují AMK, které mohou vstoupit do Krebsova cyklu v podobě jedné z molekul toho cyklu (Obr. 6), jako jeden ze zdrojů energie pro množení rakovinných buněk. Zároveň jsou zdrojem proteinů například pro tvorbu buněčných membrán či cytoskeletu. V mikroprostředí nádorových buněk se nachází vysoká hladina AMK, což přispívá k tvorbě nádoru. Vysoká hladina některé AMK má v nádorovém mikroprostředí specifickou funkci. Příkladem je prolin, který se podílí na aktivaci MMP a degradaci ECM (S. Xiao et al.; 2017).

Nejhojnější volnou aminokyselinou v těle je glutamin. Bez jeho přítomnosti v mikroprostředí nádorových buněk tyto buňky nepřežívají. Glutamin může působit jako donor dusíku pro syntézu například purinových nebo pyrimidinových bází. Je klíčovou molekulou pro anaplerotické reakce Krebsova cyklu. Díky anaplerotickým reakcím jsou doplňovány do Krebsova cyklu důležité metabolity. Ty jsou dále používány k vytváření dalších molekul během buněčné proliferace. V případě glutaminu je tímto metabolitem především oxalacetát. V nádorových buňkách metabolismus glutaminu převyšuje metabolismus všech neesenciálních aminokyselin. Glutamin je pomocí specifických transportérů přenášen do mitochondrie, ve kterých jeho metabolismus probíhá. Reakce je katalyzována enzymem glutaminázou za vzniku glutamátu a amoniaku. Glutamináza je aktivována pomocí fosfátu. V nádorových buňkách se vyskytují vysoké koncentrace tohoto fosfátu, díky čemuž vykazují nádorové buňky zvýšenou aktivitu glutaminázy. Více jak polovina glutaminu je přeměňována na laktát, přičemž je generováno NADPH, které je využíváno pro různé anabolické reakce (S. Romeo-Garcia et al.; 2014).



**Obr. 6: Využití aminokyselin v Krebsově cyklu**

A-CoA = Acetylkoenzym A, Ala = alanin, Asn = asparagin, Cys = cystein, Gln = glutamin, Gly = glycin, Ile = izoleucin, LA = laktát, Leu = leucin, Lys = lysin, P = pyruvát, Phe = fenylalanin, Pro = prolin, Ser = serin, Syn = syntéza, Thr = threonin, Trp = tryptofan, Tyr = tyrosin, Val = valin  
 Upraveno dle S. Xiao et al.; 2017

## 4 Mikroprostředí nádorové buňky

Vytvoření nádorového mikroprostředí je nedílnou součástí procesu tvorby nádoru. Díky modifikovanému mikroprostředí může docházet například k tvorbě nových cév, díky kterým dochází k zásobování tumoru živinami a kyslíkem a odvádění metabolitů. Navíc přispívá ke zvýšení počtu mutací v nádorové buňce. Pojem mikroprostředí zahrnuje nádorový parenchym – tzn. samotné rakovinné buňky, stroma a extracelulární matrix (ECM). Tato extracelulární matrix vytváří jakýsi obal kolem již jmenovaných částí. V případě, že je prostředí fyziologické, může napomáhat v ochraně proti vzniku nádorového bujení (M. Wang at al.; 2017).

Hlavní rozdíl mezi prostředím obklopujícím nenádorové a nádorové buňky spočívá ve snížení přísunu živin, kyslíku, glukózy a ve snížení pH. Rakovinné buňky jsou schopny adaptace k tomuto prostředí. Zároveň díky změně svého metabolismu jsou schopny využít toto nehostinné prostředí ve svůj prospěch (C. E. Weber et al.; 2012). Metabolismus nádorové buňky je podporován procesem zvaným autofagie. Ta přispívá k přežití buněk zejména při nedostatku živin a k růstu tumoru (A. C. Kimmelman et al.; 2017). Mikroprostředí nádorové buňky se vyznačuje hypoxií. Z tohoto důvodu mění nádorová buňka svůj metabolismus z aerobního na anaerobní (C. E. Weber et al.; 2012). Tato metabolická změna je příčinou okyselení mikroprostředí nádoru (C. Roma-Rodrigues et al.; 2019). Při hypoxii je aktivován transkripční faktor HIF-1, díky kterému je tento přechod zajištěn. Po období hypoxie následuje okysličení. Následkem okysličení dochází ke vzniku ROS. Ty jsou schopny poškodit DNA buňky, což vede ke vzniku dalších mutací (C. E. Weber et al.; 2012). Mikroprostředí dále ovlivňuje metabolismus terapeutických činidel a jejich distribuci k nádorům (T. Liu et al.; 2019).

Jednou z důležitých složek nádorového mikroprostředí je nádorové stroma, které podporuje přežití nádorových buněk (M. Wang at al.; 2017). Za fyziologických podmínek má stroma protinádorové účinky. Při vývoji nádoru je proto nedílnou součástí jeho přeměna (T. Alkasalias et al.; 2018). Nádorové stroma je složeno z několika složek. Jeho součástí jsou například fibroblasty, imunitní buňky, cévy, tukové molekuly a epiteliální buňky (M. Wang at al.; 2017). Tyto buňky přispívají k přežití, růstu nebo například progresi nádoru. Sami o sobě ale nejsou maligní (T. Alkasalias et al.; 2018).

## 4.1 Fibroblasty

Fibroblasty nacházející se v nenádorové tkáni tvoří jedenu z hlavních složek této tkáně. Za fyziologických podmínek se jedná o ploché buňky v klidovém stavu (T. Liu et al.; 2019). Jejich úlohou je zejména katalýza syntézy či degradace molekul, které jsou součástí extracelulární matrix (ECM), a přispívají k tvorbě bazální membrány (T. Alkasalias et al.; 2018). Fibroblasty produkují MMP, díky kterým dochází k neustálé produkci a degradaci proteinů ECM. Tímto je zajištěna její podpora pomocí fibroblastů (H. Li et al.; 2007). Mezi takovéto proteiny se řadí např. fibrilární kolagen, fibronectin nebo proteoglykany. Jedná se o proteiny, které jsou schopny tvořit síť. Právě tato síť poskytuje buňkám strukturní podporu. Dále mají fibroblasty vliv na imunitní buňky (T. Alkasalias et al.; 2018). Účastní se procesu hojení ran, při kterém se mění z klidového stavu do stavu aktivovaného. Fibroblasty nenádorové tkáně mají schopnost potlačovat růst rakovinotvorné buňky. Tato schopnost je zprostředkována buďto přímým kontaktem buněk, nebo pomocí faktorů, které fibroblasty vylučují (H. Li et al.; 2007). Účinnost inhibice růstu je dána typem tkáně, ze které fibroblasty pocházejí, a věkem jedince (T. Alkasalias et al.; 2018).

Fibroblasty asociované s nádorem (CAF) jsou jednou z hlavních složek nádorového stromatu (H. Li et al.; 2007). Přeměna normálního stroma na stroma nádorové, které obsahuje CAF, je jedním ze základních kroků při rozvoji rakoviny (T. Alkasalias et al.; 2018). CAF jsou oproti fibroblastům v nenádorové tkáni neustále aktivovány a nedochází u nich k apoptóze. Přeměna fyziologických fibroblastů na CAF je doprovázena narušením normální tkáňové architektury, což opět podporuje růst nádoru. CAF nadměrně produkují růstové faktory, které napomáhají v proliferaci rakovinných buněk (H. Li et al.; 2007). Dále nadměrně produkují kolagen a proteiny tvořící ECM. Modelace nádorové ECM je zajištěna pomocí dvou hlavních enzymů. Jedná se o lisyloxidázu (LOX) a matrixovou metaloproteinázu (T. Liu et al.; 2019). V neposlední řadě mohou CAF regulovat T-lymfocyty a vytvářet prostředí inhibující imunitní buňky. Je několik možností, jak CAF vznikají. Buďto jsou přeměněny z fyziologických fibroblastů, nebo vznikají pomocí epiteliálně-mezenchymálního přechodu epitelových buněk, případně se diferencují z mezenchymálních buněk kostní dřeně (T. Liu et al.; 2019), přičemž nejvíce CAF pochází právě z kostní dřeně (J. Guan et al.; 2013). CAF mají svou roli i při regulaci metabolismu nádorové buňky. Regulace probíhá pomocí parakrinní signalizace, ke které jsou využívány cytokiny. Při zvýšené hladině cytokinů dochází ke zvýšení glykolýzy v nádorových buňkách (F. Demircioglu et al.; 2020).

## 4.2 Imunitní buňky

Imunitní buňky, které jsou součástí nádorového stroma, mohou být různého typu. V nádorovém stroma se nacházejí například makrofágy, dendritické buňky, T-lymfocyty nebo NK-buňky. Všechny tyto buňky mají pozitivní i negativní vliv na rozvoj nádoru. Na jednu stranu jsou schopny potlačit tvorbu nádoru, který vzniká pomocí patogenu, např. viru, naopak se při vyhubení patogenu vytváří vhodné zánětlivé prostředí pro rozvoj nádoru. Akutní zánět sice funguje jako obranný mechanismus a dokáže nádorové buňky eliminovat, nesmí ale přejít v zánět chronický. Ten už vytváří prostředí přispívající k tvorbě nádoru.

Mezi interakcí zánět-nádor mají důležitou úlohu makrofágy asociované s nádorem (TAM). TAM produkují mimo jiné růstové faktory, jako například EGF. Tyto růstové faktory podporují pozměnění imunitní odpovědi a tvorbu nových cév. TAM se v procesu vzniku nádoru mění. Obecně můžeme fyziologické makrofágy rozdělit do skupiny M1 a M2. TAM se z počátku procesu tvorby nádoru podobají makrofágům spadajícím do skupiny M1. Po čase ale nastane období, ve kterém dochází ke změně fenotypu. Poté se podobají makrofágům ze skupiny M2 (J. Wang et al.; 2019).

## 4.3 Mezenchymální kmenové buňky

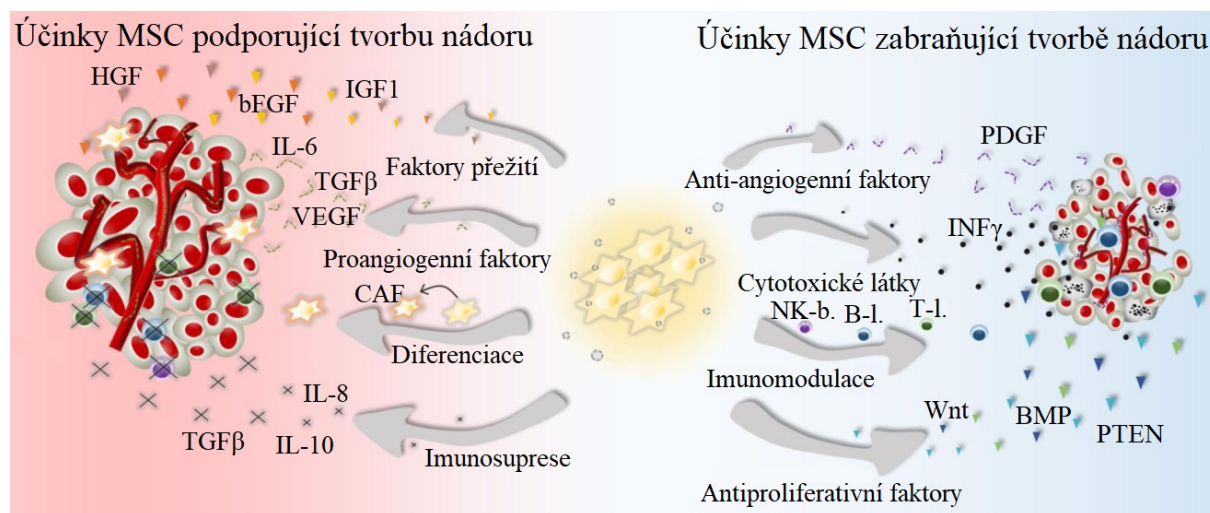
Mezenchymální kmenové buňky (MSC) se řadí mezi multipotentní progenitorové buňky. Fyziologicky jsou MSC důležité při regulaci hematopoézy, opravě kostí nebo opravy tkání při poranění. Diferenciace MSC může vézt ke vzniku například adipocytů, chondrocytů, osteoblastů, myoblastů, endotelových buněk, fibroblastů nebo hepatocytů (B. G. Cuiffo et al.; 2012). Najdeme je především v kostní dřeni, ale i v řadě dalších tkání jako je tuková tkáň nebo plodová voda. (J. Guan et al.; 2013). MSC bývají součástí nádorového stroma a ovlivňují mnoho dějů, které přispívají k progresi nádoru. Jsou schopny podporovat proliferaci a vznik metastáz působením parakrinních signálů, které jsou buďto přímo nebo v podobě extracelulárních vezikul vylučovány do extracelulárního prostoru (B. G. Cuiffo et al.; 2012). Dále podporují angiogenezi produkcí faktoru VEGF (J. Guan et al.; 2013). Mohou se diferenciovat v jiné typy tkání, například v CAF, které taktéž podporují růst a přežití nádoru. Zároveň mohou napomáhat modulaci imunitního systému (B. G. Cuiffo et al.; 2012). Mají vliv na zrání T-lymfocytů, B-lymfocytů, dendritických buněk a NK-buněk. Tím chrání rakovinné buňky před imunitní reakcí.

MSC se vyznačují mnoha povrchovými antigeny, mezi které se řadí CD73, CD105, CD90. Zároveň na nich ale nenajdeme hematopoetické a endotelové markery, jako například



CD34, CD45, CD14 nebo CD31. Nádorové buňky produkují faktory, které signalizují mobilizaci MSC do místa nádoru. Mezi tyto faktory se řadí TGF- $\beta$ 1, IL-6 nebo taky IL-9. Dále je tato migrace podporována signální dráhou CXCL12/CXCR4 (A. Hmadcha et al.; 2020). CXCL12 se řadí mezi CXC chemokiny a CXCR4 je jeho receptorem. Oba jsou v některých typech rakovin nadměrně exprimovány. Regulace obou molekul je řízena pomocí faktorů jako je TGF- $\beta$ 1 nebo tumor nekrotizující faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (F. Guo et al.; 2015). V přilákání MSC do místa rostoucího tumoru hraje roli vznik hypoxického prostředí. V takovémto prostředí vylučují nádorové buňky signály, jako například IL-6, který napomáhá v přilákání MSC. Stimulace MSC nádorovými buňkami vyvolává změny na úrovni genů. MSC taky aktivně podporuje EMT, při kterém se podocyty oddělují od bazální membrány, což vede ke vzniku metastáz (J. Guan et al.; 2013).

Existují studie, které dokazují protinádorové účinky MSC (Obr. 7). Je pozorováno, že záleží jednak na typu tkáně a taky na poměru MSC k nádorovým buňkám (H. Atiya et al.; 2020). MSC mohou produkovat látky indukující apoptózu. Dále mohou prostřednictvím inhibice určitých signálních drah potlačovat růst nádoru. Je taky pozorována blokáde angiogeneze, opět blokáde určitých mechanismů vedoucích k tvorbě nových cév. Pomocí signálních molekul mohou navodit protinádorovou imunitní reakci. Díky těmto poznatkům by mohly být MSC v budoucnu využívány v protinádorové léčbě (A. Hmadcha et al.; 2020).



**Obr. 7: Účinky mezenchymálních kmenových buněk**

bFGF = fibroblastový růstový faktor, B-1. = B-lymfocyty, BMP = kostní morfogenetický protein, CAF = fibroblasty asociované s nádorem, HGF = hepatocytární růstový faktor, IGF1 = inzulínu podobný růstový faktor-1, IL-6 = interleukin 6, IL-8 = interleukin 8, IL-10 = interleukin 10, INF $\gamma$  = interferon gama, NK-b. = NK-buňky, PDGF = růstový faktor odvozený od trombocytů, PTEN = tumor-supresorový gen, TGF $\beta$  = transformující růstový faktor  $\beta$ , T-1. = T-lymfocyty, VEGF = vaskulární endotelový růstový faktor, Wnt = signální glykoproteiny

Upraveno dle A. Hmadcha et al.; 2020

## 5 Mechanismy zabraňující vzniku nádorového bujení

### 5.1 Tumor-supresorové geny

Tumor-supresorové geny se řadí mezi skupinu genů podporující správný průběh buněčného cyklu. Produkty těchto genů mohou fungovat jako kontrolní body v  $G_1$  a  $G_2$  fázi, jako regulátory onkogenů, případně jako „dodavatelé“ nejrůznějších složek, díky kterým je zabráněno buněčnému stresu. K tomu, aby došlo ke ztrátě funkce těchto genů, musí dojít k mutaci v obou alelách, jedná se o tzv. recesivní charakter alel. Ve většině případů dochází k mutaci obou alel najednou a to buď rekombinací, nebo ztrátou jednoho chromosomu a následným vytvořením kopie již mutovaného chromosomu (A. J. Levine et al.; 2009). Tím dochází ke ztrátě funkcí produktů těchto genů, buněčný cyklus se stává nekontrolovatelným a zvyšuje se buněčná proliferace (J. L. Berry et al.; 2019). Tumor-supresorové geny dokáží regulovat onkogeny, jejich cesty spolu navzájem komunikují a ovlivňují se. Mutace v tumor-supresorových genech a onkogenech jsou jevy, které se vyskytují ve všech nádorových buňkách (A. J. Levine et al.; 2009).

#### 5.1.1 RB1

Prvním popsaným tumor-supresorovým genem byl gen RB1, který potlačuje vznik dětského retinoblastomu a osteosarkomu. Je umístěn na dlouhém raménku chromozomu 13. Mutace v tomto genu může být dědičná i nedědičná. Produktem zmíněného genu je protein pRB, který reguluje buněčný cyklus interakcí s transkripčním faktorem E2F, tím zabráňuje přestupu z  $G_1$  fáze do fáze S, čímž zastavuje buněčný cyklus. Přesné mechanismy genomových změn po ztrátě genu RB1 nejsou dosud známy (J. L. Berry et al.; 2019).

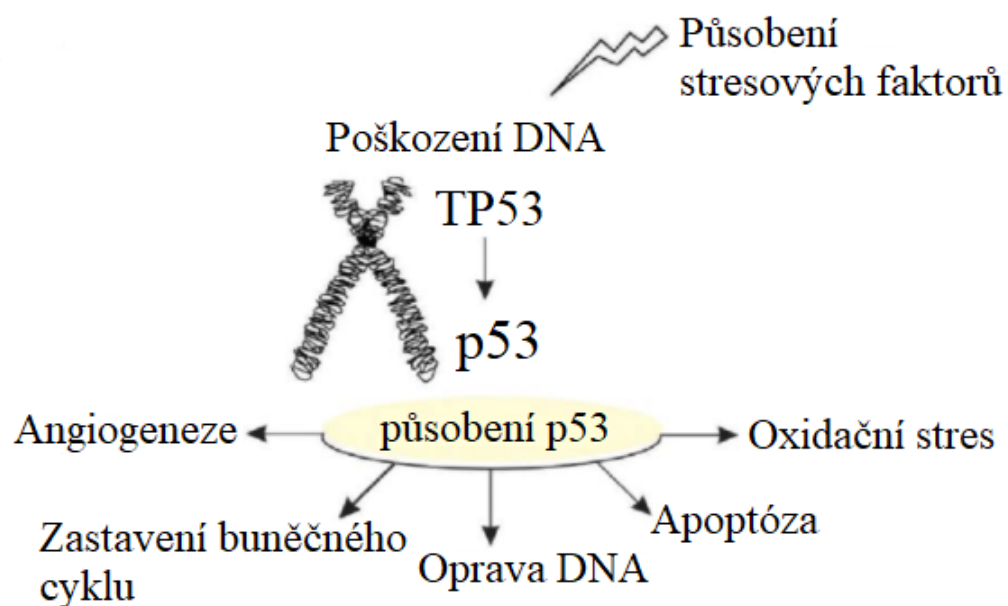
#### 5.1.2 Protein p53

Protein p53 je kódován genem TP53, který se řadí mezi důležité tumor-supresorové geny a najdeme ho na krátkém raménku chromozomu 17. Tento protein má klíčovou úlohu při prevenci vzniku rakoviny.

V buňkách se p53 vyskytuje v neaktivním stavu v podobě komplexu, který je tvořen tímto proteinem a onkogenem MDM2. Tyto dva geny se navzájem regulují, v případě, že dojde ke zvýšení hladiny proteinu p53, dojde i ke zvýšení hladiny MDM2, což vede k následnému snížení hladiny p53. Vytvořením takového komplexu je zajištěna rovnováha ve zdravých buňkách. V mnoha nádorových buňkách je pozorována vyšší hladina MDM2 oproti p53.

K aktivaci proteinu p53 může dojít působením řady stresových faktorů jako je poškození DNA, zkracování telomer na chromozomech, působení mitotických jedů, nebo nedostatek ATP v buňce. Působení těchto faktorů zaznamená protein p53 prostřednictvím široké škály enzymů, které jsou zodpovědné za procesy jako je metylace, ubikvitinace nebo fosforylace. Působení stresových faktorů může mít za následek zastavení buněčného cyklu, stárnutí buňky nebo spuštění apoptózy (Obr. 8). To, který proces je spuštěn, záleží na druhu stresového faktoru a na následně vzniklé modifikaci proteinu p53 (A. J. Levine et al.; 2008).

K inaktivaci proteinu p53 a tedy následnému vzniku rakoviny může dojít buď mutací samotného genu TP53, případně narušením kterékoli dráhy vedoucí ke vzniku proteinu (Oren, 2003). Pokud dojde ke vzniku mutovaného p53, je tento protein schopen podporovat nádorové vlastnosti buňky, jako je zvýšená proliferace, vznik metastáz, nebo přežití buňky (P. A. J. Muller et al.; 2013). V případě, že dojde k mutaci v genu TP53, nejsou tyto buňky citlivé na chemoterapii (A. Blanco et al.; 2017).

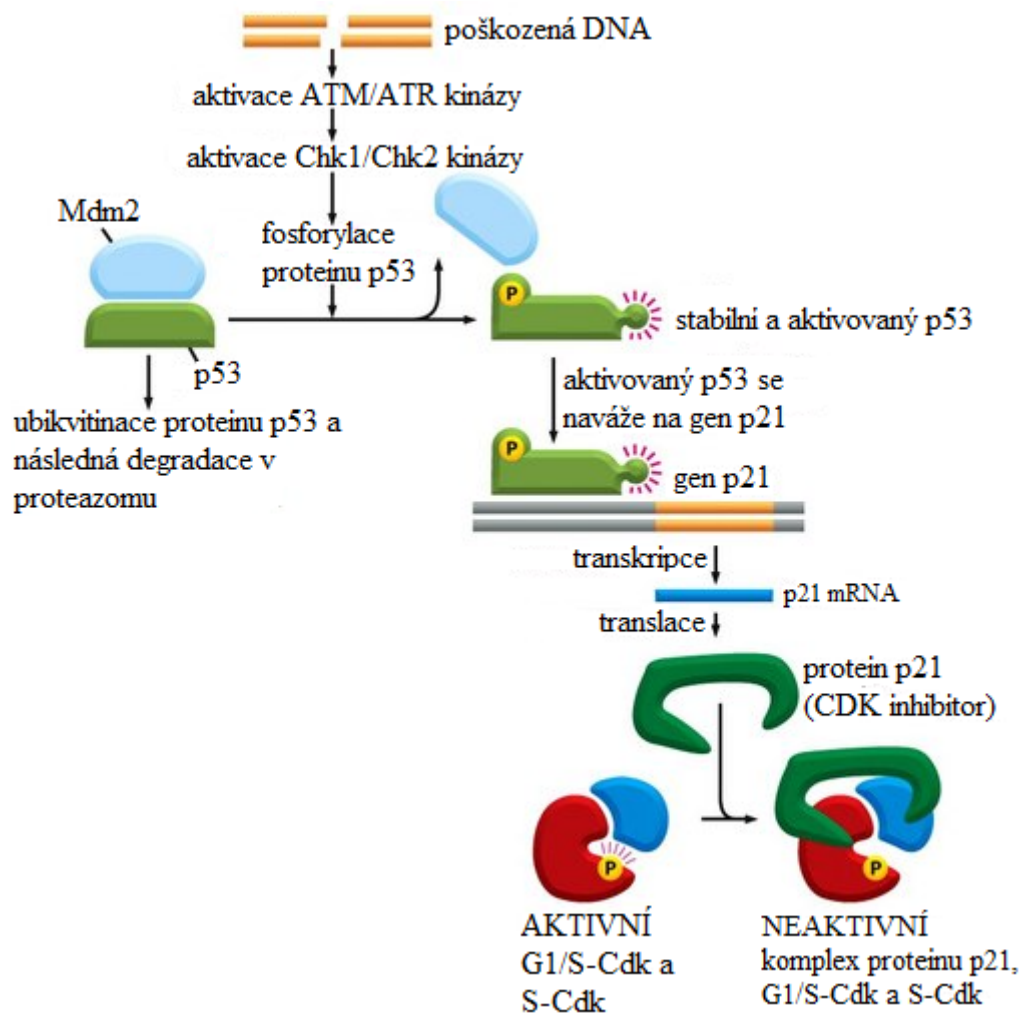


**Obr. 8: Působení proteinu p53**  
Upraveno dle S. e Kleber Santiago Freitas; 2019

### 5.1.3 Protein p21

Protein p21 je kódován genem *Cdkn1a*. Řadí se mezi inhibitory cyklin-dependentní kinázy (CDK), čímž zajišťuje inhibici buněčného cyklu reakcí s těmito komplexy (A. L. Gartel; 2006). Jeho exprese je vyvolána proteinem p53 a regulována transkripčními i post-transkripčními mechanismy (K. Fukuchi et al.; 1998). Tento protein je důležitý při zastavení buněčného cyklu s cílem opravit poškozenou DNA.

Za normálních okolností se protein p53 váže na Mdm2, díky čemuž je ubikvitinován a poslán do proteazomu k degradaci. V případě, že dojde ke vzniku poškozené DNA, nedochází k ubiquitinaci a Mdm2 se od proteinu p53 oddělí procesem fosforylace. Tím dojde k aktivaci proteinu p53 který je tak schopen se navázat na gen pro protein p21. Tím dojde k transkripci a translaci proteinu p21, který se naváže na CDK a vytvoří neaktivní CDK komplex (Obr. 9). Důsledkem této kaskády je zastavení buněčného cyklu. Je prokázáno, že pokud dojde k mutaci v tomto genu, začne tento gen působit jako tzv. onkogen. V takovém případě pak protein p21 podporuje proliferaci buněk a působí antiapoptoticky (A. L. Gartel; 2006).



**Obr. 9: Ovlivnění vzniku proteinu p21 proteinem p53**

ATM/ATR kináza a Chk1/Chk2 = kináz opravující poškozenou DNA; Mdm2 = enzym, který přidává ubiquitin k proteinu p53 a posílá ho do proteazomu k likvidaci. G1/S-Cdk a S-Cdk = komplex, jehož inhibicí dochází k zastavení buněčného cyklu

Upraveno dle B. Alberts et al.; 2008

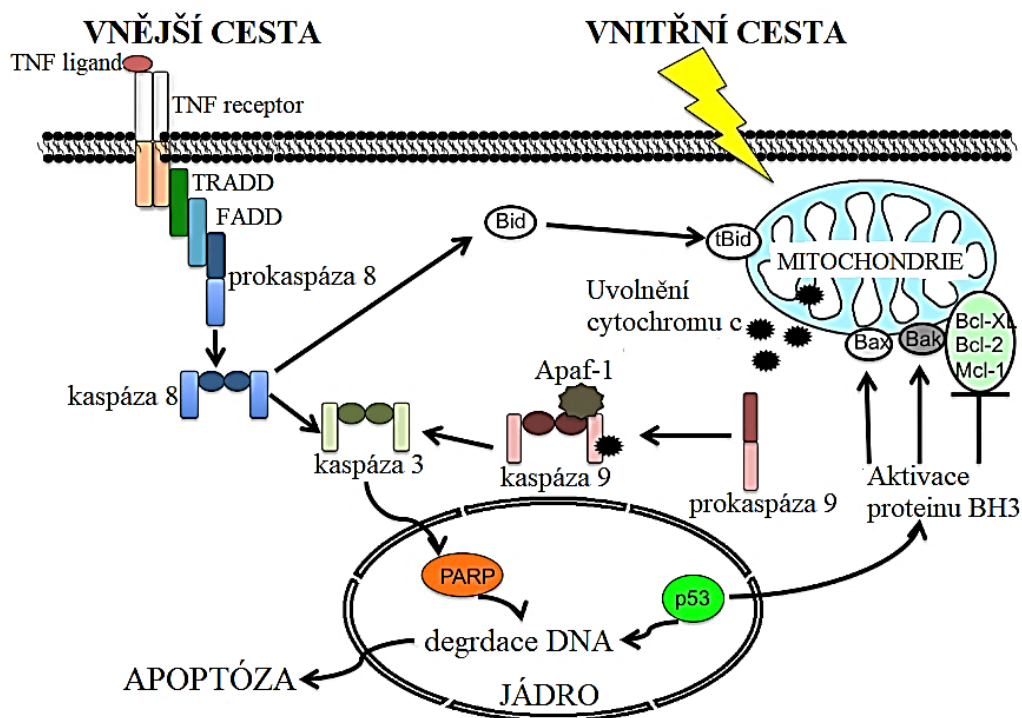
## 5.2 Apoptóza

Apoptóza představuje jednu z možností programované buněčné smrti a je jedním z hlavních mechanismů, kterými jsou eliminovány poškozené buňky. Díky apoptóze dochází k udržování fyziologického vývoje a normálního fungování organismu (S. Elmore, 2007). Jedná se o aktivní proces vyžadující přísun energie. Je důležitá nejen při ochraně organismu, ale taky například v embryonálním vývoji (P. Çikla-Süzgün et al.; 2019). Při tomto procesu dochází k četným morfologickým změnám. Během apoptózy jsou z buňky uvolňována tzv. apoptotická tělíska (G. Pistritto et al.; 2016). Ta jsou charakteristická tím,

že na svém povrchu vystavují molekuly fosfatidylserinu, který se fyziologicky u buněk vyskytuje pouze na vnitřní straně buněčné membrány (S. Elmore, 2007). Díky této expresi na povrchu může být odumřelá buňka včas rozpoznána pomocí makrofágů. To vede k fagocytóze bez toho, aby vznikl zánět (G. Pistritto et al.; 2016). U apoptózy tedy nedochází k vylízení buněčného obsahu a ke vzniku zánětlivé reakce, jako je tomu například u nekrózy (S. Elmore, 2007). Při nekróze zase nedochází ke vzniku tělísek. Jedná se o nekontrolovatelnou buněčnou smrt, při níž se vylívá buněčný obsah do okolí za vzniku zánětu. Při nekróze bývá poškozena jak buňka samotná, tak i její okolí (M. S. D'Arcy; 2019). Porucha apoptózy je spjata s řadou patologických procesů (S. Elmore, 2007). Jedním z takových procesů je nádorové bujení. V takovém případě je narušená apoptóza spojována s progresí nádoru a s rezistencí vůči nádorové terapii (G. Pistritto et al.; 2016).

Jsou známy dva typy signálních drah apoptózy v závislosti na tom, jaké podněty ji vyvolávají. Vnější cesta je vyvolána podněty z vnějšího prostředí, jako je například nedostatek živin nebo působení stresových faktorů. Naopak vnitřní cesta je vyvolána podněty z vnitřního prostředí buňky, jako je například signál o poškození DNA, které není buňka schopna svými reparačními mechanismy opravit (S. Elmore, 2007). Oby tyto typy jsou zprostředkovány díky enzymům, které se nazývají kaspázy. Konkrétně se jedná o efektorové kaspázy. Do této skupiny řadíme kaspázy 3, 6 a 7 (G. Pistritto et al.; 2016). Vnější a vnitřní cesta se kříží v momentě, ve kterém je aktivována prokaspáza 3.

Jedním z hlavních proteinů apoptózy je cytochrom c. Tento protein se vyskytuje na vnitřní membráně mitochondrie a je součástí elektron-transportního řetězce. Cytochrom c se v případě apoptózy uvolňuje do cytosolu, kde se váže na APAF-1. Vznikne komplex cytochrom c – APAF1 – prokaspáza 9, který je označován jako apoptozom. Tím dojde k aktivaci prokaspázy na kaspázu 9, která spustí kaskádu reakcí aktivující efektorové kaspázy (Obr. 10). Kromě cytochromu c se do cytosolu uvolňují i další molekuly aktivující kaspázy, například endonukleáza G. Kaspázy lze aktivovat taky stresovými faktory které například narušují integritu jádra (S. Elmore, 2007).



**Obr. 10: Vnější a vnitřní cesta apoptózy**

Upraveno dle Ch. H. Yuan, M. Filippova, P. Duerksen-Hughes; 2012

### 5.2.1 Bcl proteiny

Regulace apoptózy je zajištěna Bcl proteiny, které jsou ve zdravé buňce v rovnováze. Fungují primárně jako regulátory faktorů uvolňujících se z mitochondrií při aktivaci vnitřní cesty apoptózy a nacházejí se na vnější mitochondriální membráně. Můžeme je rozdělit do dvou skupin – antiapoptotické a proapoptotické (F. Atyabi et al.; 2017). Příkladem antiapoptického proteinu je Bcl-2, který tlumí apoptózu. Rakovinné buňky jsou tak díky němu v podstatě nesmrtelné. Existují také proapoptotické proteiny ze skupiny Bcl, například Bax a Bak. Tyto proteiny napomáhají ke zvýšení propustnosti mitochondriální membrány vytvářením pórů, přes které se poté snadněji dostane cytochrom c do cytosolu (A. Blanco, G. Blanco; 2017).

Bcl proteiny mohou obsahovat 4 domény, které se označují písmeny BH. Antiapoptotické Bcl mají obvykle všechny 4 domény, proapoptické 3 a regulátory Bcl pouze jednu označovanou jako BH3. Tato doména BH3 je schopna vytvořit s Bcl proteiny komplex a regulovat tak jejich aktivitu. Příkladem je protein Egl-1, který je schopen inaktivovat antiapoptický Bcl-2 a spustit tím apoptózu. Vytvoření komplexu mezi sebou dokáží i antiapoptotické a proapoptotické proteiny – například Bcl-2 a Bax. Výsledkem je vzájemná regulace těchto proteinů.

Nadměrná exprese antiapoptotických proteinů a snížená exprese proapoptotických proteinů vede ke vzniku nádorového bujení. (T. D. Pollard, W. C. Earnshaw, G. T. Johnson et al. in Cell Biology (Third Edition); 2017).

### 5.2.2 Kaspázy

Kaspázy se řadí mezi aspartátové specifické proteázy s cysteinem v aktivním místě. Jeho prostřednictvím se váží na své substráty. Dělí se do dvou hlavních skupin (tab. 2). První skupinou jsou zánětlivé kaspázy, které se účastní zánětu prostřednictvím proteolytické aktivace zánětlivých cytokinů. Do této skupiny řadíme kaspázy 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14. Druhou skupinou jsou apoptotické kaspázy, které se účastní kaskády reakcí vedoucích k apoptóze. Tyto apoptotické kaspázy dále dělíme na iniciační (kaspázy 2, 8, 9, 10) a efektorové (kaspázy 3, 6, 7) (I. Chowdhury et al.; 2008).

Všechny kaspázy se v organismu vyskytují ve své neaktivní podobě jako tzv. prokaspázy a jsou aktivovány reakcí na specifické signály.

Kaspázy jsou regulovány řadou regulačních proteinů, mezi které se řadí například IAP. Tento protein reaguje přímo s kaspázami a je schopen je inhibovat, případně označit, následkem čehož jsou degradovány (A. Blanco, G. Blanco; 2017).



Tab. 2: Rozdělení kaspáz

<b>ROZDĚLENÍ KASPÁZ</b>		
<b>Zánětlivé kaspázy</b>		Kaspáza 1
		Kaspáza 4
		Kaspáza 5
		Kaspáza 11
		Kaspáza 12
		Kaspáza 13
		Kaspáza 14
<b>Iniciační kaspázy</b>	Vnitřní cesta	Kaspáza 2
		Kaspáza 9
	Vnější cesta	Kaspáza 8
		Kaspáza 10
<b>Efaktorové kaspázy</b>		Kaspáza 3
		Kaspáza 6
		Kaspáza 7

### 5.3 Imunitní systém

Imunitní systém se významně podílí na prevenci a obranně proti vzniku rakovinných buněk. Dělí na vrozený a získaný. Oba tyto systémy spolu úzce souvisí a jejich dráhy se často překrývají. Společně plní v těle funkci imunitního dohledu a odlišují od sebe tělu vlastní a cizí buňky. Vrozená imunita se objevuje již při narození. Je schopna aktivovat nespecifickou imunitní odpověď uvolňováním cytokinů. Imunitní odpověď vyvolaná vrozenou imunitou je rychlá. Pokud není tato odpověď dostatečná, je možné vyvolat specifitější odpověď pomocí systému získané imunity. Ta vyvolává odpověď pomalejší a vyvíjí se v průběhu času. Získaná imunita zahrnuje produkci protilátek B-lymfocytů a působení T-lymfocytů. Posledním krokem získané imunity je tvorba imunologické paměti. Tato paměť umožňuje imunitnímu systému rozpoznat antigen, kterému byl organismus již dříve vystaven. Díky tomu je pak imunitní reakce rychlejší (M. Abbott, Y. Ustoyev; 2019).

Buňky imunitního systému pronikají do nádorového mikroprostředí. V tomto mikroprostředí jsou schopny negativně ovlivňovat progresi nádoru. Při potlačení nádoru

pomocí vrozené imunity se uplatňují například NK-buňky, fagocytující buňky nebo dendritické buňky. Pomocí těchto buněk mohou být přímo nádorové buňky usmrceny, případně je spuštěna získaná imunitní odpověď, která taktéž vede k záhubě nádorových buněk (Y. Zhang et al.; 2020).

Existují čtyři hlavní způsoby, jakými imunitní systém eliminuje nádorové buňky. První z nich je využití perforinu, který je produkován pomocí lymfocytů. Díky této látce je narušena membrána nádorové buňky. Konečným výsledkem je indukce apoptózy cílové buňky. Druhým způsobem je prezentace Fas ligandu (FasL), který po napojení se na receptor na nádorové buňce spustí apoptózu. Třetí možností je indukce apoptózy pomocí tumor nekrotizujícího faktoru (TNF). Čtvrtou možností je indukce apoptózy pomocí interferonu- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Jedná se o cytokin podílející se na imunoeditaci nádoru. Chronická exprese IFN- $\gamma$  ale naopak podporuje rozvoj některých typů nádorů, jako je například kolorektální karcinom (H. F. Aqbi et al.; 2018).

V případě vzniku nádoru a případných metastáz se nádorovým buňkám musí podařit uniknout z dohledu imunitního systému. K tomu dochází v poslední fázi vzniku nádorové buňky, v tzv. únikové fázi. Jedním z mechanismů, pomocí kterého se nádorová buňka vyhýbá imunitě, je schopnost exprimovat molekuly imunitního kontrolního bodu na svůj povrch. Stejně molekuly se nacházejí na povrchu zdravých buněk (M. Abbott, Y. Ustoyev; 2019). Dalším z mechanismů je přijímání imunosupresivních buněk, díky kterým je efektivita imunitního systému snížena (Y. Zhang et al.; 2020).

Imunitní systém je schopen rozpoznat rakovinné buňky, přesto že jsou tělu vlastní. Rozpoznává je díky odlišnému biochemickému složení, biologickému chování a odlišné antigenní struktuře (M. Abbott et al.; 2019).

Mnoho nádorových buněk produkuje antigeny, které mohou být rozpoznány imunitním systémem. Takovéto antigeny byly identifikovány u většiny lidských nádorů. Rozlišujeme 2 základní typy těchto antigenů. Prvním typem jsou antigeny asociované s nádorem = TAA. Tyto antigeny se běžně mohou vyskytovat i na zdravých buňkách. Druhým typem je TSA = nádorově specifické antigeny. Jedná se o antigeny vyskytující se specificky pouze na nádorových buňkách.

Nádorové antigeny mohou vznikat různými způsoby. Jedním z nich je mutace onkogenů a tumor-supresorových genů a vznik mutovaných produktů. Další možností je např. zavedení nové genetické informace viru. Vznikem nádorového antigenu pomocí viru se vyznačuje např. tumor děložního čípku. Další možností je vzestup hladiny některých proteinů, které jsou v buňce jinak normálně přítomny, jen v o mnoho nižším množství.

V případě antigenu TAA dochází ke zvýšené transkripci lokusu, ve kterém je zapsaná informace pro TAA. V případě TSA dochází nejdříve k mutaci daného lokusu a následně transkripci. Díky tomu vzniká mutovaný protein specifický pouze pro nádorové buňky. Následuje translace a úpravy vedoucí ke konečné prezentaci antigenu na povrchu buňky. Antigeny jsou napojeny na molekuly MHC. Díky této expresi antigenů na povrchu buňky může dojít k rozpoznání pomocí T-lymfocytů. K tomu T-lymfocytům složí receptor TCR. Může se ale stát, že taková nádorová buňka není rozpoznána díky expresi molekuly PD-L1, která se řadí mezi molekuly imunitního kontrolního bodu. Taková molekula se objevuje ve větší míře na buňkách s povrchovým antigenem ze skupiny TSA (S. Wagner et al.; 2018).

## 6 Závěr

V této práci jsem se pokusila shrnout procesy související se vznikem nádorového bujení. První část textu je zaměřena především na změny, kterými musí vznikající nádorová buňka projít. Obecně lze říci, že musí dojít ke změně vedoucí k neomezenému dělení. Dále se buňka musí stát v podstatě nesmrtelnou. K tomu dochází buď pomocí enzymu zvaného telomeráza, případě může být aktivována alternativní cesta prodlužování telomer. Dalšími rysy nádorových buněk je schopnost vyvolávat angiogenezi, aby bylo zajištěno dostatečné zásobení kyslíkem a živinami. V případě maligního bujení dále dochází k tvorbě metastáz, díky kterým se nádor dostává do vzdálených míst od nádoru primárního. V neposlední řadě musí mít nádorové buňky schopnost uniknout z imunitního dohledu.

V další části této práce jsou stručně shrnuty vybrané systémy, dle kterých můžeme klasifikovat tumory. Dále jsou popsány změny v metabolismu buněk. K těmto změnám musí dojít, aby byla buňka schopna přežít a nadále se dělit. Zároveň díky změně metabolismu dochází k modifikaci mikroprostředí nádorové buňky, které je v této práci taktéž popsáno. Nově vznikající mikroprostředí podporuje proliferaci rakovinných buněk. Nachází se v něm snížené pH oproti prostředí fyziologické buňky. Tomu se však nádorová buňka dokáže přizpůsobit a dokonce ho i využít ve svůj prospěch.

V poslední části práce jsou shrnuty mechanismy, díky kterým je zabráněno nádorovému bujení. Zároveň díky těmto mechanismům dochází k odstraňování potencionálně maligních buněk z organismu. Jedním z těchto mechanismů je apoptóza, která se řadí mezi jednu z programovaných buněčných smrtí. Další způsob obrany organismu představuje imunitní systém. Pokud nedojde k úniku nádorových buněk z imunitního dohledu, je několik možností, jakými dokáže imunitní systém eliminovat nádorové buňky v počáteční fázi jejich vývoje.

Informace v předložené bakalářské práci vycházejí především z aktuálních a nejnovějších poznatků týkající se nádorové transformace. Při psaní byla využita především zahraniční literatura.

## 7 Seznam použité literatury

1. ABBOTT Maura, Yelena USTOYEV: Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy. *Seminars in Oncology Nursing*. 2019, 35(5), doi:10.1016/j.soncn.2019.08.002.
2. ALBERTS, Bruce, Johnson ALEXANDER, Lewis JULIAN, Raff MARTIN, Roberts KEITH a Walter PETER: *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York: Garland Science, 2002. ISBN 0-8153-4072-9.
3. ALKASALIAS Twana, Lidia MOYANO-GALCERAN, Marie ARSENIAN-HENRIKSSON, Kaisa LEHTI: Fibroblasts in the Tumor Microenvironment: Shield or Spear? *International Journal of Molecular Sciences*. 2018, 19(5), doi:10.3390/ijms19051532.
4. AQBI Hussein F., Matthew WALLACE, Samay SAPPAL, Kyle K. PAYNE, Masoud H. MANJILI: IFN- $\gamma$  orchestrates tumor elimination, tumor dormancy, tumor escape, and progression. *Journal of Leukocyte Biology*. 2018, 103(6), s. 1219-1223, doi:10.1002/JLB.5MIR0917-351R.
5. ATIYA Huda, Leonard FRISBIE, Catherine PRESSIMONE, Lan COFFMAN: Mesenchymal Stem Cells in the Tumor Microenvironment. BIRBRAIR Alexander, ed. *Tumor Microenvironment*. Cham: Springer International Publishing, 2020, s. 31-42, doi:10.1007/978-3-030-37184-5\_3.
6. ATYABI Fatemeh, Forouhe ZAHIR, Fatemeh KHONSARI, Akram SHAFIEE, Fatemeh MOTTAGHITALAB: Combination therapy of macromolecules and small molecules: approaches, advantages, and limitations. *Nanostructures for Cancer Therapy*. 2017, s. 541-561, doi:10.1016/B978-0-323-46144-3.00021-0.
7. BERRY Jesse L., Ashley POLSKI, Webster K. CAVENEE, Thaddeus P. DRYJA, A. Linn MURPHREE, Brenda L. GALLIE: The RB1 Story: Characterization and Cloning of the First Tumor Suppressor Gene. *Genes*. 2019, 10(11), doi:10.3390/genes10110879.
8. BLANCO, Antonio, Gustavo BLANCO: *Medical Biochemistry*. Academic Press: Copyright © 2017 Elsevier Inc. All rights reserved., 2017. ISBN 978-0-12-803550-4.
9. BROSANAN John T: Glutamate, at the Interface between Amino Acid and Carbohydrate Metabolism. *The Journal of Nutrition*. 2000, 130(4), s. 988-990, doi:10.1093/jn/130.4.988S.

10. CUIFFO Benjamin G., Antoine E. KARNOUB: Mesenchymal stem cells in tumor development. *Cell Adhesion & Migration*. 2014, 6(3), s. 220-230, doi:10.4161/cam.20875.
11. D'ARCY Mark S.: Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International*. 2019, 43(6), s. 582-592, doi:10.1002/cbin.11137.
12. Davis A. S., Viera A. J., Mead M. D.: Leukemia: an overview for primary care. *Am Fam Physician*. 2014, 89(9), s. 731-738.
13. DEMIRCIOGLU Fevzi, Jun WANG, Juliana CANDIDO, et al.: Cancer associated fibroblast FAK regulates malignant cell metabolism. *Nature Communications*. 2020, 11(1), doi:10.1038/s41467-020-15104-3.
14. DING X., W. ZHANG, S. LI, H. YANG: The role of cholesterol metabolism in cancer. *Am J Cancer Res*. 2019, 9(2), s. 219-227. PMID: 30906624; PMCID: PMC6405981.
15. DONATI Benedetta, Alessia CIARROCCHI: Telomerase and Telomeres Biology in Thyroid Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20(12), doi:10.3390/ijms20122887.
16. ELMORE Susan.: Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*. 2016, 35(4), s. 495-516, doi:10.1080/01926230701320337.
17. FADAKA Adewale, Basiru AJIBOYE, Oluwafemi OJO, Olusola ADEWALE, Israel OLAYIDE, Rosemary EMUOWHOCHERE.: Biology of glucose metabolization in cancer cells. *Journal of Oncological Sciences*. 2017, 3(2), s. 45-51, doi:10.1016/j.jons.2017.06.002.
18. FAILLA Cristina, Miriam CARBO, Veronica MOREA.: Positive and Negative Regulation of Angiogenesis by Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018, 19(5), doi:10.3390/ijms19051306.
19. FINLEY Lydia W. S., Craig B. THOMPSON: The Metabolism of Cell Growth and Proliferation. *The Molecular Basis of Cancer*. 2015, s. 191-208, doi:10.1016/B978-1-4557-4066-6.00013-5.
20. FUKUCHI Kuniyuko, Shigeru TOMOYASU, Tsuyoshi NAKAMAKI, Nobuyoshi TSURUOKA a Kunihide GOMI.: DNA damage induces p21 protein expression by inhibiting ubiquitination in ML-1 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* -

- Molecular Cell Research*. 1998, 1404(3), s. 405-411, doi:10.1016/S0167-4889(98)00089-5.
21. GALIÈ M., G. KONSTANTINIDOU, D. PERONI, et al.: Mesenchymal stem cells share molecular signature with mesenchymal tumor cells and favor early tumor growth in syngeneic mice. *Oncogene*. 2008, 27(18), s. 2542-2551, doi:10.1038/sj.onc.1210920.
  22. GARTEL Andrei L.: Is p21 an oncogene? *Molecular Cancer Therapeutics*. 2006, 5(6), s. 1385-1386, doi:10.1158/1535-7163.MCT-06-0163.
  23. GOMES Ana Sara, Helena RAMOS, Joana SOARES, Lucília SARAIVA.: P53 and glucose metabolism: an orchestra to be directed in cancer therapy. *Pharmacological Research*. 2018, 131, s. 75-86, doi:10.1016/j.phrs.2018.03.015.
  24. GRIFFIN Bruce A.: Lipid metabolism. *Surgery (Oxford)*. 2013, 31(6), s. 267-272, doi:10.1016/j.mpsur.2013.04.006.
  25. GUAN Jian, Jie CHEN.: Mesenchymal stem cells in the tumor microenvironment. *Biomedical Reports*. 2013, 1(4), s. 517-521, doi:10.3892/br.2013.103.
  26. GUO F., Y. WANG, J. LIU, S. C. MOK, F. XUE, W. ZHANG.: CXCL12/CXCR4: a symbiotic bridge linking cancer cells and their stromal neighbors in oncogenic communication networks. *Oncogene*. 2016, 35(7), s. 816-826, doi:10.1038/onc.2015.139.
  27. HANAHAN Douglas, Robert A. WEINBERG.: Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011, 144(5), s. 646-674, doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
  28. HMADCHA Abdelkrim, Alejandro MARTIN-MONTALVO, Benoit R. GAUTHIER, Bernat SORIA, Vivian CAPILLA-GONZALEZ.: Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells for Cancer Therapy. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020, 8, doi:10.3389/fbioe.2020.00043.
  29. HOUTEN Sander M., Sara VIOLANTE, Fatima V. VENTURA, Ronald J. A. WANDERS. The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid  $\beta$ -Oxidation and Its Genetic Disorders. *Annual Review of Physiology*. 2016, 78(1), s. 23-44, doi:10.1146/annurev-physiol-021115-105045.
  30. CHOWDHURY Debkumar, Michal CHUDY, Sanjeet BHATTACHARYA.: Soft tissue mesenchymal tumour – a case report with review of literature. *International Journal of Surgery Case Reports*. 2017, 31, s. 89-92, doi:10.1016/j.ijscr.2017.01.013.

31. CHOWDHURY Indrajit, Binu THARAKAN, Ganapathy K. BHAT.: Caspases — An update. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2008, 151(1), s. 10-27, doi:10.1016/j.cbpb.2008.05.010.
32. JAFRI Mohammad A., Shakeel A. ANSARI, Mohammed H. ALQAHTANI, Jerry W. SHAY.: Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Medicine*. 2016, 8(1), doi:10.1186/s13073-016-0324-x.
33. JIANG Xiaocheng, Keith H. K. WONG, Aimal H. KHANKHEL, et al.: Microfluidic isolation of platelet-covered circulating tumor cells. *Lab on a Chip*. 2017, 17(20), s. 3498-3503, doi:10.1039/C7LC00654C.
34. JÓŹWIAK Paweł, Ewa FORMA, Magdalena BRYŚ, Anna KRZEŚLAK: O-GlcNAcylation and Metabolic Reprograming in Cancer. *Frontiers in Endocrinology*. 2014, s. 1664-2392, doi:10.3389/fendo.2014.00145.
35. KIMMELMAN Alec C., Eileen WHITE.: Autophagy and Tumor Metabolism. *Cell Metabolism*. 2017, 25(5), s. 1037-1043, doi:10.1016/j.cmet.2017.04.004.
36. KLEBER SANTIAGO FREITAS E Silva: Genetic Counseling, Polymorphisms and Breast Cancer. *Journal of Family Medicine and Disease Prevention*. 2019, 5(1), doi:10.23937/2469-5793/1510098.
37. LAHANS Tai.: Leukemia. *Integrating Conventional and Chinese Medicine in Cancer Care*. Elsevier, 2007, 2007, s. 283-300, doi:10.1016/B978-044310063-5.50015-4.
38. LANSDORP Peter M.: Telomeres and Telomerase Regulation. *Handbook of Stem Cells*. 2004, s. 127-137, doi:10.1016/B978-012436643-5/50101-2.
39. LAWLER Jack.: Thrombospondin-1 as an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2002, 6(1), s. 1-12, doi:10.1111/j.1582-4934.2002.tb00307.x.
40. LAWLER P. R., J. LAWLER: Molecular Basis for the Regulation of Angiogenesis by Thrombospondin-1 and -2. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012, 2(5), doi:10.1101/cshperspect.a006627.
41. LEVINE Arnold J., Moshe OREN: The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nature Reviews Cancer*. 2009, 9(10), s. 749-758, doi:10.1038/nrc2723.
42. LI Hanchen, Xueli FAN, JeanMarie HOUGHTON: Tumor microenvironment: The role of the tumor stroma in cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2007, 101(4), 805-815, doi:10.1002/jcb.21159.



43. LIU Tianyi, Linli ZHOU, Danni LI, Thomas ANDL, Yuhang ZHANG: Cancer-Associated Fibroblasts Build and Secure the Tumor Microenvironment. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2019, 7, doi:10.3389/fcell.2019.00060.
44. LIBRING Sarah, Luis SOLORIO: Cancer mechanobiology: interaction of biomaterials with cancer cells. *Biomaterials for Cancer Therapeutics*. 2020, s. 445-470, doi:10.1016/B978-0-08-102983-1.00016-8.
45. MAAN Meenu, Jeffrey M. PETERS, Mainak DUTTA, Andrew D. PATTERSON: Lipid metabolism and lipophagy in cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018, 504(3), s. 582-589, doi:10.1016/j.bbrc.2018.02.097.
46. MILLS, Stacey E: Neuroectodermal Neoplasms of the Head and Neck with Emphasis on Neuroendocrine Carcinomas. *Modern Pathology*. 2002, 15(3), 264-278, doi:10.1038/modpathol.3880522.
47. MULLER Patricia A. J., Karen H. VOUSDEN: P53 mutations in cancer. *Nature Cell Biology*. 2013, 15(1), s. 2-8, doi:10.1038/ncb2641.
48. MUZZOPAPPA Mariana, Marco MILÁN: Epithelial tumors: Growing from within. *Fly*. 2018, 12(2), s. 127-132, doi:10.1080/19336934.2018.1441652.
49. OREN M.: Decision making by p53: life, death and cancer. *Cell Death & Differentiation*. 2003, 10(4), s. 431-442, doi:10.1038/sj.cdd.4401183.
50. PASINI Evasio, Giovanni CORSETTI, Roberto AQUILANI, Claudia ROMANO, Anna PICCA, Riccardo CALVANI, Francesco DIOGUARDI: Protein-Amino Acid Metabolism Disarrangements: The Hidden Enemy of Chronic Age-Related Conditions. *Nutrients*. 2018, 10(4), doi:10.3390/nu10040391.
51. PATEL, Aisha: Benign vs Malignant Tumors. *JAMA Oncology*. 2020, 6(9), doi:10.1001/jamaoncol.2020.2592.
52. PAVLOVA Natalya N., Craig B. THOMPSON: The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metabolism*. 2016, 23(1), s. 27-47, doi:10.1016/j.cmet.2015.12.006.
53. PISTRITTO Giuseppa, Daniela TRISCIUOGLIO, Claudia CECI, Alessia GARUFI a Gabriella D'ORAZI: Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging*. 2016, 8(4), s. 603-619, doi:10.18632/aging.100934.
54. PLATHOW Ch., W. A. WEBER: Tumor Cell Metabolism Imaging. *Journal of Nuclear Medicine*. 2008, s. 43-63, doi:10.2967/jnumed.107.045930.

55. POLLARD Thomas D., William C. EARNSHAW, Graham JOHNSON, Jennifer LIPPINCOTT-SCHWARTZ: Cell biology. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2017. ISBN 9780323341264. ISBN 9780323341264.
56. PRISTYAZHNYUK, Inna E., Aleksei G. MENZOROV. Ring chromosomes: from formation to clinical potential. 2018, 255(2), s. 439-449, doi:10.1007/s00709-017-1165-1.
57. ROGALLA Stephan, Christopher H. CONTAG: Early Cancer Detection at the Epithelial Surface. *The Cancer Journal*. 2015, 21(3), s. 179-187, doi:10.1097/PPO.000000000000122.
58. ROMA-RODRIGUES Catarina, Rita MENDES, Pedro BAPTISTA, Alexandra FERNANDES: Targeting Tumor Microenvironment for Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20(4), doi:10.3390/ijms20040840.
59. ROMERO-GARCIA Susana, Jose Sullivan LOPEZ-GONZALEZ, José Luis B'EZ-VIVEROS, Dolores AGUILAR-CAZARES, Heriberto PRADO-GARCIA: Tumor cell metabolism. *Cancer Biology & Therapy*. 2014, 12(11), s. 939-948, doi:10.4161/cbt.12.11.18140.
60. ROSEN Julia, Philipp JAKOBS, Niloofar ALE-AGHA, Joachim ALTSCHMIED, Judith HAENDELER: Non-canonical functions of Telomerase Reverse Transcriptase – Impact on redox homeostasis. *Redox Biology*. 2020, 34, doi:10.1016/j.redox.2020.101543.
61. Rosen RD, Sapra A.: TNM Classification: Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553187/>.
62. ROWLEY J. D.: Leukemia. *Encyclopedia of Genetics*. Elsevier, 2001, 2001, s. 1088-1091, doi:10.1006/rwgn.2001.0758.
63. SEYFRIED Thomas N., Leanne C. HUYSENTRUYT: On the Origin of Cancer Metastasis. *Critical Reviews* in Oncogenesis. 2013, 18(1 - 2), s. 43-73, doi:10.1615/CritRevOncog.v18.i1-2.40.
64. SINGH Ratnakar, Zeeshan FAZAL, Sarah J. FREEMANTLE, Michael J. SPINELLA: Between a Rock and a Hard Place: An Epigenetic-Centric View of Testicular Germ Cell Tumors. *Cancers*. 2021, 13(7), doi:10.3390/cancers13071506.
65. TALLEY J. T., MOHIUDDIN S. S.: Biochemistry, Fatty Acid Oxidation. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. PMID: 32310462.

66. TAMORI Yoichiro, Emiko SUZUKI, Wu-Min DENG, Bruce A EDGAR: Epithelial Tumors Originate in Tumor Hotspots, a Tissue-Intrinsic Microenvironment. *PLOS Biology*. 2016, 14(9), doi:10.1371/journal.pbio.1002537.
67. TANSEY William P.: Mammalian MYC Proteins and Cancer. *New Journal of Science*. 2014, s. 1-27, doi:10.1155/2014/757534.
68. VALASTYAN Scott, Robert A. WEINBERG: Tumor Metastasis: Molecular Insights and Evolving Paradigms. *Cell*. 2011, 147(2), s. 275-292, doi:10.1016/j.cell.2011.09.024.
69. VANDER HEIDEN M. G., L. C. CANTLEY, C. B. THOMPSON: Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science*. 2009, 324(5930), s. 1029-1033, doi:10.1126/science.1160809.
70. WAGNER Sandra, Christina S MULLINS a Michael LINNEBACHER: Colorectal cancer vaccines: Tumor-associated antigens vs neoantigens. *World Journal of Gastroenterology*. 2018, 24(48), s. 5418-5432, doi:10.3748/wjg.v24.i48.5418
71. WAJNER Moacir, Alexandre Umpierrez AMARAL: Mitochondrial dysfunction in fatty acid oxidation disorders: insights from human and animal studies. *Bioscience Reports*. 2016, 36(1), doi:10.1042/BSR20150240.
72. WANG Jing, Danyang LI, Huaixing CANG, Bo GUO: Crosstalk between cancer and immune cells: Role of tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment. *Cancer Medicine*. 2019, 8(10), s. 4709-4721, doi:10.1002/cam4.2327.
73. WANG Maonan, Jingzhou ZHAO, Lishen ZHANG, et al.: Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *Journal of Cancer*. 2017, 8(5), s. 761-773, doi:10.7150/jca.17648.
74. WANG Wenjun, Ling BAI, Wei LI a Jiuwei CUI: The Lipid Metabolic Landscape of Cancers and New Therapeutic Perspectives. *Frontiers in Oncology*. 2020, 10, doi:10.3389/fonc.2020.605154.
75. WEBER Cynthia E., Paul C. KUO: The tumor microenvironment. *Surgical Oncology*. 2012, 21(3), s. 172-177, doi:10.1016/j.suronc.2011.09.001.
76. WU Guoyao: Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*. 2009, 37(1), s. 1-17, doi:10.1007/s00726-009-0269-0.

77. XIAO Shiyu, Liya ZHOU: Gastric cancer: Metabolic and metabolomics perspectives (Review). *International Journal of Oncology*. 2017, 51(1), s. 5-17, doi:10.3892/ijco.2017.4000.
78. YI Ming, Linping XU, Ying JIAO, Suxia LUO, Anping LI, Kongming WU: The role of cancer-derived microRNAs in cancer immune escape. *Journal of Hematology & Oncology*. 2020, 13(1), doi:10.1186/s13045-020-00848-8.
79. YAN LIM, Jin a Hiu YEE KWAN. Roles of Lipids in Cancer. VALENZUELA BAEZ, Rodrigo, ed. *Advances in Lipid Metabolism* [online]. IntechOpen, 2020, doi:10.5772/intechopen.80788.
80. YIN Shan-Shan, Feng-Hou GAO: Molecular Mechanism of Tumor Cell Immune Escape Mediated by CD24/Siglec-10. *Frontiers in Immunology*. 2020, 11, doi:10.3389/fimmu.2020.01324.
81. YUAN Chung-Hsiang, Maria FILIPPOVA, Penelope DUERKSEN-HUGHES: Modulation of Apoptotic Pathways by Human Papillomaviruses (HPV): Mechanisms and Implications for Therapy. *Viruses*. 2012, 4(12), s. 3831-3850, doi:10.3390/v4123831.
82. ZHANG Jia-Min, Lee ZOU: Alternative lengthening of telomeres: from molecular mechanisms to therapeutic outlooks. *Cell & Bioscience*. 2020, 10(1), doi:10.1186/s13578-020-00391-6.
83. ZHANG Yuanyuan a Zemin ZHANG: The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. *Cellular & Molecular Immunology*. 2020, 17(8), s. 807-821, doi:10.1038/s41423-020-0488-6.