

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd



**MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY REZISTENCE NÁDOROVÝCH BUNĚK
K PROTINÁDOROVÉ LÉČBĚ**

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Praha, 2021

Magdalena Koropečká

Prohlášení

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal(a), jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Praze, dne 25.8.2021

Magdalena Koropečká

Tímto bych chtěla poděkovat paní doc. PharmDr. Ivě Boušové, Ph.D. a to hlavně za svatou trpělivost, kterou se mnou do poslední chvíle měla, za její velkou pomoc a cenné rady při vedení mé bakalářské práce. Dále patří nemalý dík mému synovi Prokopovi, který mi umožnil tuto práci vůbec dopsat, celé mé rodině a přátelům, kolegům, kteří mě v celé mé cestě studiem podporovali.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova V Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Titul, jméno, příjmení kandidáta: Magdalena Koropečká

Titul, jméno, příjmení školitele: doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Název bakalářské práce: Molekulární mechanismy rezistence nádorových buněk k protinádorové léčbě

Nádorová rezistence stále představuje nejčastější důvod selhání protinádorové léčby. Předkládaná bakalářská práce je rešerší odborných článků, zabývajících se jednotlivými mechanismy rezistence nádorových buněk k protinádorové léčbě. Detailně jsou zde popsány vybrané mechanismy, a to zvýšená inaktivace léčiva, změna terapeutického cíle, snížený příjem léčiva do buňky, zvýšený eflux léčiva z buňky, oprava poškozené DNA, inhibice buněčné smrti, epiteliálně-mezenchymální tranzice a metastázování a epigenetické vlivy. Studium a pochopení těchto mechanismů odehrávajících se v nádorových buňkách je zásadní volbu pro správné terapie a její úspěšnost.

ABSTRACT

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biochemical Science

Title, Name, Surname of candidate: Magdalena Koropečká

Title, Name, Surname of tutor: doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Title of Bachelor thesis: Molecular mechanisms of cancer cells resistance to anticancer therapy

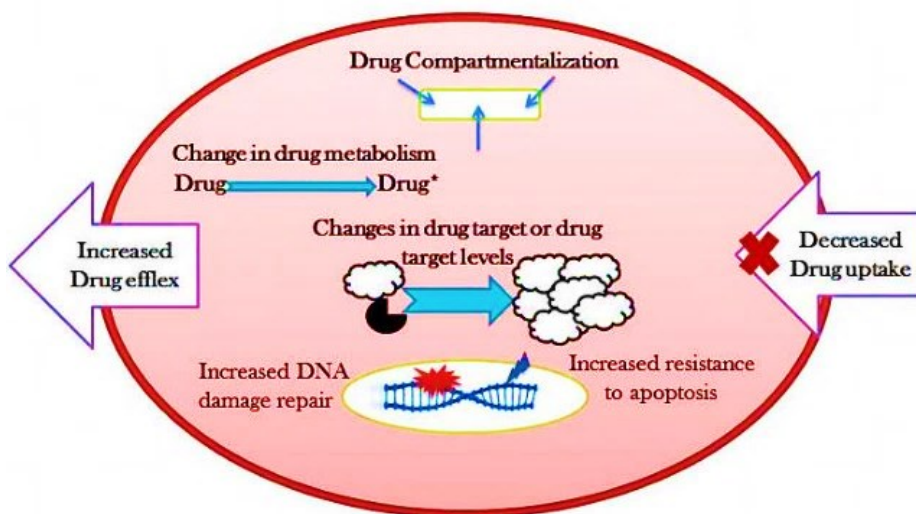
Tumor resistance is still the most common reason for the failure of anticancer therapy. The presented bachelor thesis serves as a summary of professional articles dealing with individual mechanisms of resistance of cancer cells to anticancer therapy. Selected mechanisms are described in detail, namely drug inactivation, alteration of drug targets, decreased drug uptake into the cell, increased drug efflux from the cell, repair of damaged DNA, inhibition of the cell death, epithelial-mesenchymal transition and metastasis, and epigenetic effects. Studying and understanding these mechanisms taking place in tumor cells is crucial for selecting the right treatment and for its success.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. KANCEROGENEZE	8
3. VZNIK A DRUHÝ LÉKOVÉ REZISTENCE.....	11
4. MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY NÁDOROVÉ REZISTENCE	12
4.1 SNÍŽENÝ PŘÍJEM LÉČIVA DO BUŇKY	12
4.2 ZVÝŠENÝ EFLUX LÉČIVA Z BUŇKY	14
4.2.1 <i>P-GLYKOPROTEIN</i>	16
4.2.2 <i>MULTIDRUG RESISTANCE-ASSOCIATED PROTEIN 1 (MRP1, ABCC1)</i> 16	
4.2.3 <i>BREAST CANCER RESISTANCE PROTEIN (BCRP, ABCG2)</i>	16
4.3 ZVÝŠENÁ INAKTIVACE LÉČIVA.....	17
4.3.1 <i>CYTOCHROMY P450</i>	17
4.3.2 <i>GLUTATHION-S-TRANSFERASY A UDP-GLUKURONOSYLTRANSFERASY</i>	18
4.4 ZMĚNA TERAPEUTICKÉHO CÍLE	20
4.5 OPRAVA POŠKOZENÉ DNA	20
4.6 INHIBICE BUNĚČNÉ SMRTI	21
4.6.1 <i>APOPTÓZA</i>	21
4.6.2 <i>AUTOFAGIE</i>	24
4.7 EPITELIÁLNĚ-MEZENCHYMÁLNÍ TRANZICE A METASTÁZOVÁNÍ	25
4.8 EPIGENETICKÉ VLIVY	27
5. ZÁVĚR.....	28
6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	29
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	31

1. ÚVOD

Buňky zdravého organismu představují harmonické společenství, kde každá buňka vykonává svoji specifickou funkci, na daném místě v daný čas. Jednotlivé buňky spolu nesoutěží, naopak se vzájemně podporují a spolupracují. Při nádorovém onemocnění dochází k narušení harmonie vznikem genetické mutace, která postiženým buňkám umožní přežít, namnožit se a produkovat dceřiné buňky s podobnými vlastnostmi. Tyto mutace zvýhodňují postižené buňky v soutěži o přežití na úkor normálních buněk. Proto se populace postižených buněk rozrůstá a dále vyvíjí, což může vést ke vzniku dalších náhodných mutací, které mohou ovlivňovat citlivost buněk k protinádorové léčbě a vznik rezistence (Šmardová a Šmarda 2005). Důležitou roli při vzniku rezistence hrají právě molekulární vlastnosti nádorových buněk, které se snaží využívat všech dostupných mechanismů (obr. 1), aby odolaly účinkům léčby.

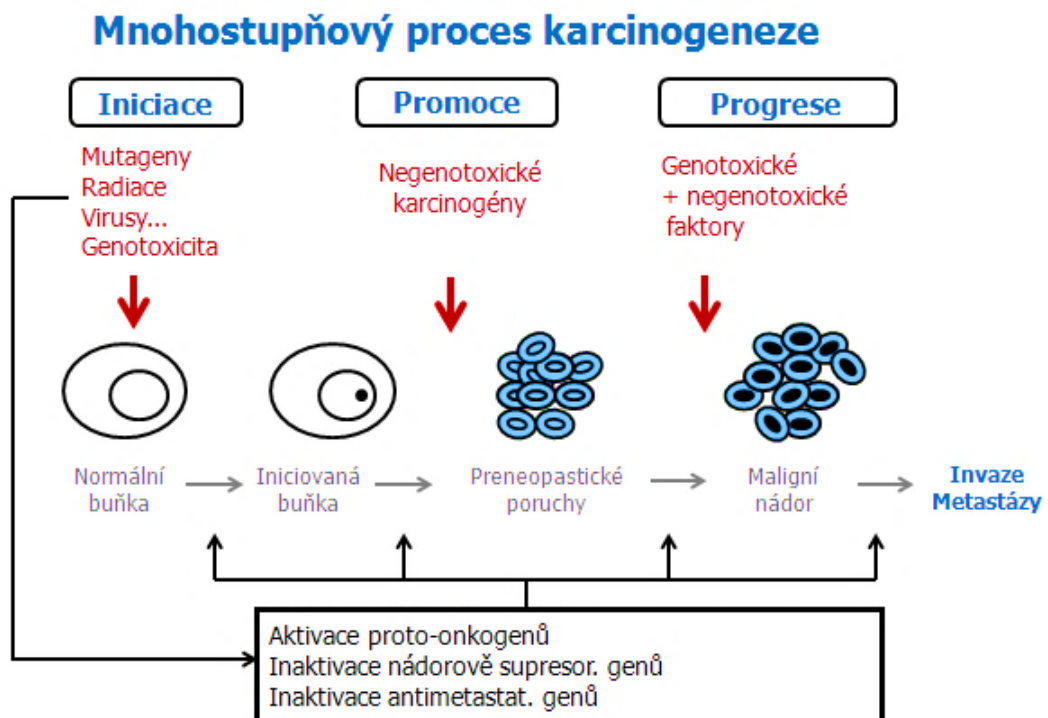


Obr. 1 *Mechanismy lékové rezistence v nádorových buňkách* (Mansoori et al. 2017)

Rezistence k protinádorové léčbě je stále nejčastější příčinou neúspěchu této terapie. Vznik rezistence je často složitý komplexní děj, a proto je důležité k němu takto přistupovat, aby byla vhodně zvolená terapie úspěšná. Cílem této práce je vytvořit průřez vybranými molekulárními mechanismy vzniku rezistence.

2. KANCEROGENEZE

Kancerogeneze je vícestupňový proces, při němž dochází k přeměně normální buňky na buňku nádorovou (obr. 2). Počáteční etapu kancerogeneze můžeme rozdělit na fázi iniciace a promoce. Při iniciaci, což je nevratný proces, dochází díky působení karcinogenního faktoru (iniciátoru) k mutaci určitého kritického genu. Iniciovaná neboli preneoplastická buňka má potenciál stát se buňkou nádorovou, v morfologicky zdravých tkáních však může přežívat léta. Během fáze promoce působí na preneoplastické buňky promotory, což jsou faktory jako např. chemické karcinogeny, ionizující záření či zánět. Promotory mohou maligní nádorovou transformaci pouze podpořit, ale nedokážou ji sami vyvolat. Poslední fází kancerogeneze je progresa, při které dochází k hromadění dalších mutací (zejm. změny počtu chromosomů a jejich přestavby) a tím se zvyšuje rychlost proliferace nádorových buněk a jejich invazivita. Nádorová tkáň získává schopnost tvořit nové cévy (angiogeneze) a metastázovat do okolních tkání. V tomto stadiu se preneoplastická populace buněk nevratně mění na neoplastickou a benigní nádor přechází do maligního stádia (Hofmanová 2013).



Obr. 2 Mnohostupňový proces kancerogeneze (Hofmanová 2013)

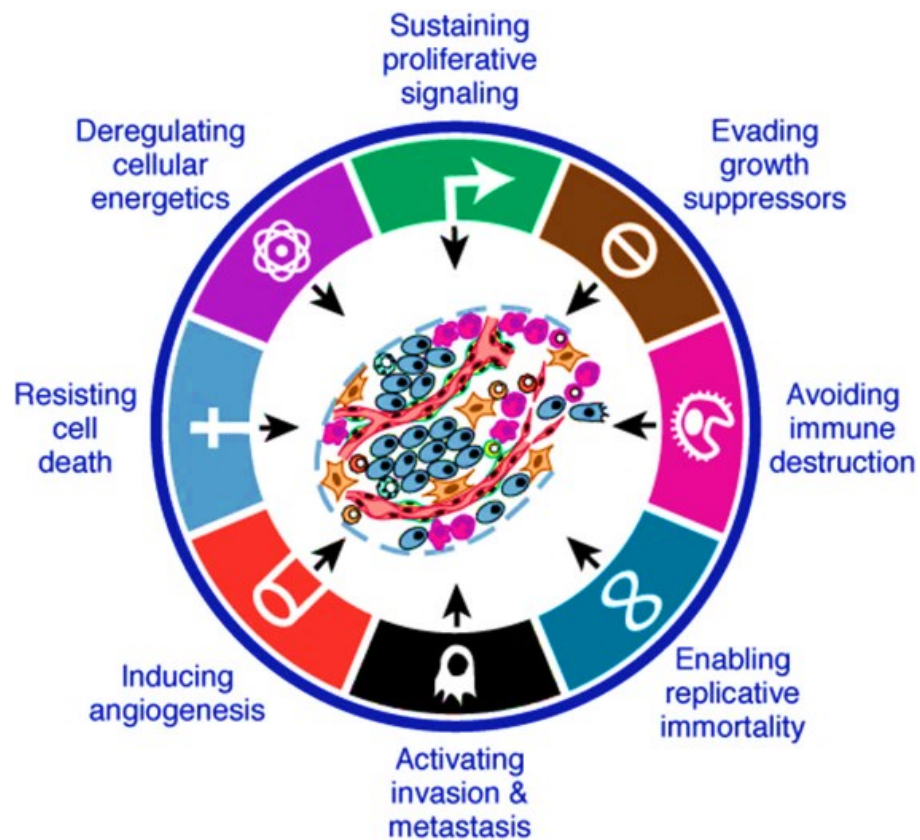
Základem vzniku kancerogeneze jsou genetické změny neboli mutace, které umožňují postiženým buňkám přežít a aktivně se množit bez ohledu na ostatní buňky ve svém okolí. Mezi kritické mutace z hlediska kancerogeneze patří aktivace protoonkogenů, inaktivace tumor-supresorových genů (antionkogenů), zvýšení exprese inhibitorů apoptosy a mutace genů řídících průběh buněčného cyklu (Šmardová a Šmarda 2005, Sommerová et al. 2016, Hofmanová 2013).

Protoonkogeny kódují proteiny, které regulují buněčný cyklus tím, že urychlují buněčnou proliferaci (aktivní dělení buněk) a inhibují apoptózu. Pokud jsou aktivovány nebo modifikovány na strukturní nebo kontrolní úrovni, začnou se chovat jako onkogeny a podporují vývoj nádoru. Mutací protoonkogenů dochází k neregulovanému buněčnému dělení a tím k narušení rovnováhy mezi buněčným dělením a programovanou buněčnou smrtí. Mutace, které vedou ke změně protoonkogenů na onkogeny, jsou aktivující a dominantní (stačí změna jedné alely) (Šmardová a Šmarda 2005). V současnosti je známo kolem 100 onkogenů. Produkty protoonkogenů a onkogenů se označují třípísmennými zkratkami a patří mezi ně např. růstové faktory (*sis*, *hst*), receptory pro růstové faktory (*erbB*, *fms*, *kit*) a tyrosinkinasy (*src*, *fgr*, *fcs*, *trk*), membránově-vázané analogy proteinů vázících GTP (*gsp*, *gip*, *ras*), cytoplazmatické serinové a threoninové kinasy (*mil*, *mos*, *raf*), jaderné proteiny fungující jako aktivátory transkripce (*myb*, *myc*, *fos*, *jun*) (Hofmanová 2013).

Nádorové supresory působí protichůdně vůči protoonkogenům – zpomalují rychlost proliferace buněk a působí jako kontrolní body buněčné proliferace nebo programované buněčné smrti. Ke vzniku kancerogeneze jsou nebezpečné ty mutace antionkogenů, které inaktivují jejich proteinové produkty. Na rozdíl od protoonkogenů jsou tyto mutace recesivní a musí dojít k inaktivaci obou alel. Mutantní formy antionkogenů mohou být dědičné a predisponují ke vzniku určitého nádorového onemocnění (obvykle se dědí zárodečná mutace jedné z alel) (Šmardová a Šmarda 2005). V lidském genomu bylo identifikováno přibližně 30 tumor-supresorových genů. Mezi známé tumor-supresorové geny patří gen *Rb*, *APC*, *p53* nebo *BRCA 1/2*. Předpokládá se, že v některých případech je to právě ztráta funkce genů kódujících tyto proteiny, co způsobuje vývoj nádoru (Hofmanová 2013).

Změna exprese těchto genů dodává nádorovým buňkám charakteristické vlastnosti (obr. 3), a to například schopnost rychle se přizpůsobovat změnám okolního

prostředí, nezávislost na tvorbě růstových faktorů, neomezený růstový potenciál, zvýšenou proliferaci, rezistenci k buněčné smrti, schopnost indukovat angiogenezi, zvýšenou invazivitu a tvorbu metastáz, změnu energetického metabolismu (směrem k energeticky méně výhodné anaerobní glykolýze), únik před imunitním systémem nebo genetickou nestabilitu (Sommerová et al. 2016).



Obr. 3 Charakteristické rysy nádorových buněk (Hanahan a Weinberg 2011)

3. VZNIK A DRUHY LÉKOVÉ REZISTENCE

Úspěšnost léčby nádorových onemocnění se postupně zvyšuje, rezistence k protinádorovým léčivům však zůstává hlavní příčinou úmrtí onkologických pacientů. Jednou z nejzávažnějších komplikací v protinádorové léčbě, která může vést až k jejímu selhání, je vznik rezistence nádorových buněk na podané léčivo (chemorezistence). Jsou-li nádorové buňky rezistentní již při prvním podání protinádorového léčiva, jedná se o rezistenci primární neboli přirozenou. V tomto případě jsou již před zahájením terapie přítomny faktory, které ovlivňují citlivost buněk k léčbě. Jestliže rezistence vzniká až v průběhu léčby, kdy původně citlivé buňky přestávají odpovídat na podávané léčivo, jedná se o rezistenci sekundární neboli získanou (Nosková et al. 2000, Holčáková et al. 2014).

Chemorezistence vzniká obvykle ve dvou krocích – v první fázi nádor odpovídá na léčbu, ale nejsou zničeny všechny nádorové buňky. Tyto rezistentní buňky jsou pak příčinou vzniku sekundárních nádorů, které již neodpovídají na léčbu (Holčáková et al. 2014). Při ztrátě citlivosti k podávanému léčivu může být zachována citlivost k léčivům jiným. Pokud však dochází ke vzniku rezistence na více strukturně příbuzných léčiv, jedná se o zkříženou rezistenci (Nosková et al. 2000). Zvláštním případem zkřížené rezistence je rezistence, která vzniká na léčiva, která se od sebe liší jak strukturou, tak mechanismem účinku. V tomto případě se jedná o mnohočetnou lékovou rezistenci (MDR, multidrug resistance) (Baguley 2010, Nosková et al. 2000).

Ke vzniku rezistence může vést změna farmakokinetiky (snížený příjem léčiva, biotransformace, zvýšená inaktivace a vylučování léčiva z buněk), změna cytokinetiky (většina nádorových buněk zastavuje buněčný cyklus a přechází do klidové fáze G_0 , ve které je citlivost k léčivům omezena, dále může docházet ke vzniku spontánních mutací zvyšujících heterogenitu, která dává vzniknout buňkám s rozdílnou citlivostí k léčivu) a strukturální a funkční změny v buňce (ovlivňují transport léčiva v nádorové buňce, či nádorové populaci, zvyšuje intenzitu oprav DNA) (Nosková et al. 2000). U pevných nádorů může být příčinou vzniku chemorezistence i neprostupnost okolních tkání pro léčivo nebo slabá vaskularizace nádoru (Holčáková et al. 2014).

4. MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY NÁDOROVÉ REZISTENCE

Chemorezistence je příčinou relapsu onemocnění a vzniku metastáz, negativně ovlivňuje zlepšení klinického stavu onkologických pacientů a zůstává hlavní překážkou léčby nádorových onemocnění. Proto je to velmi důležité pochopit molekulární mechanismy chemorezistence a odhalit nové terapeutické přístupy k terapii rakoviny (Zheng 2017). Mezi známé molekulární mechanismy chemorezistence, které budou dále diskutovány, patří ovlivnění lékových transportérů, zvýšená inaktivace léčiva, alterace mitochondriálních funkcí, reparace DNA, inhibice buněčné smrti (apoptóza, autofagie), epiteliálně-mezenchymální tranzice, změna terapeutického cíle a epigenetické vlivy.

4.1 SNÍŽENÝ PŘÍJEM LÉČIVA DO BUŇKY

Bez ohledu na způsob podání, ať už se jedná o orální, intravenózní, intraarteriální či jiné, musí být protinádorové léčivo transportováno z krevního řečiště do nádorové tkáně (Baguley 2010). Protinádorové léky vstupují do nádorové tkáně aktivním nebo pasivním transportním procesem.

Při pasivním transportu procházejí molekuly léčiva přes buněčnou membránu prostřednictvím kanálů a přenašečových proteinů. Základními typy pasivního transportu jsou prostá difúze, usnadněná difúze a osmóza. Tento proces je závislý na tlakovém gradientu uvnitř cév a intersticiálního prostoru, permeabilitě a množství cév zásobující nádor (difúzní vzdálenost, ovlivňuje dobu difúze), objemu a struktuře extracelulární matrix (Baguley 2010). Tlakový gradient nádorů je obvykle nulový, zatímco tlak intersticiální tekutiny bývá vysoký a srovnatelný s kapilárním tlakem. To má za následek vznik rezistence způsobené sníženým průchodem molekul léčiva do nádorové tkáně, obzvlášť do její centrální části (Kachalaki et al. 2016).

Vznik rezistence může dále ovlivňovat rozdílné intracelulární a extracelulární pH nádorové tkáně. Charakteristickou vlastností nádorové tkáně je neutrální až alkalické intracelulární pH s hodnotami 7,0 až 7,4 a kyselé extracelulární pH s hodnotami 6,2 až 7,0. U nenádorových tkání je tomu naopak (Chlapek et al. 2014). Kyselé mikroprostředí

nádoru má za následek snížený příjem kyselých léčiv (např. doxorubicin, vinblastin a další) v mikroprostředí nádoru a omezený přenos léčiv, jako je methotrexát (Kachalaki et al. 2016).

Hypoxie ovlivňuje vznik rezistence přítomností perfúzní bariéry (geometrií, nebo časovou změnou průtoku krve nádorem) a je způsobena nerovnováhou mezi příjmem a spotřebou kyslíku (Baguley 2010). Je regulovaná transkripčními faktory indukovanými hypoxií (HIFs, hypoxia inducible factors), které brání buněčné diferenciaci, podporují formování cév, regulují glykolýzu, spotřebu kyslíku, apoptózu i vznik metastáz a jejich migraci. Tyto faktory podporují vznik rezistence na protinádorová léčiva, která způsobují poškození molekuly DNA a angiogenezi (vznik cévního zásobení) (Holčáková et al. 2014).

Pasivní transport závisí nejen na stavbě nádoru a jeho dynamice, ale také na vlastnostech protinádorového léčiva. Vyžaduje vysokou extracelulární koncentraci a slabý elektrický náboj na molekule léčiva. Například sloučeniny rozpustné v lipidech snadněji prochází přes buněčnou membránu, která má vysoký obsah lipidů (Goldie a Coldman 2009).

Sloučeniny, které jsou ionizované a rozpustné ve vodě, mají ztížený transport do buňky, pokud nejsou v extrémně vysokých koncentracích. Musí totiž překonat termodynamickou bariéru ve formě hydrofobní uhlovodíkové oblasti buněčných membrán. Jejich pohyb usnadňuje vazba na speciální transportní molekuly na buněčném povrchu, které pak translokují molekulu léčiva do buňky a to za spotřeby energie (Nikolaou et al. 2018, Baguley 2010, Goldie a Coldman 2009). Na buněčném povrchu existuje velké množství transportních proteinů, které slouží k transportu esenciálních živin a růstových faktorů do buňky. Pokud je molekula cytotoxického léčiva dostatečně podobná běžnému substrátu, který je zachytáván transportérem může být transportována do buňky. Díky aktivní transportu se mohou molekuly léčiva pohybovat i proti koncentračním i elektrickým gradientům a mohou být přenášeny, i když je léčivo ve velmi nízké extracelulární koncentraci (Baguley 2010, Goldie a Coldman 2009). I léčivo s nízkou afinitou k transportéru může být úspěšně přenášeno při mnohem vyšší extracelulární koncentraci, než má klasický substrát (Goldie a Coldman 2009).

Rezistence vzniklá sníženým příjmem léčiva do buňky je často spojována s mutantními formami transportéru, kdy afinita ke klasickému substrátu je zachována, ale afinita k léčivu je výrazně snížena. Dále může docházet k celkovému snížení počtu molekul transportéru na buněčném povrchu, což může také bránit rychlosti příjmu léčiva. Důsledkem těchto změn může být významné snížení intracelulární koncentrace léčiva a tím i jeho účinnosti (Goldie a Coldman 2009).

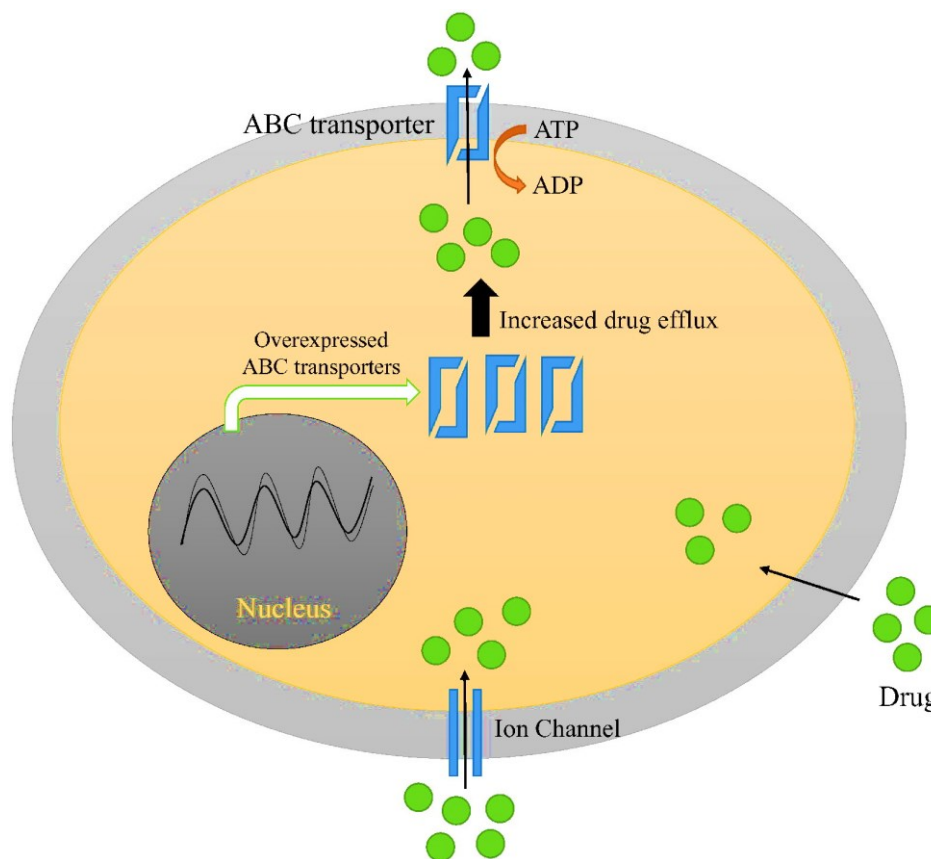
Je obtížné navrhnout léčebné strategie, které by překonaly difúzní odpor. Jedním z možných přístupů je použití protinádorových léčiv s vysokou mírou difúze do tkání; dalším je použití léčiv, které využívají k přenosu do buňky aktivních transportérů. Zároveň je nutné využít léčiva, která nepodléhají rychlé detoxikaci. Použití pomalé rychlosti infuze léčiva může usnadnit dobrou distribuci v oblastech tkání, které mají neefektivní, nebo přerušované zásobování krví (Baguley 2010).

4.2 ZVÝŠENÝ EFLUX LÉČIVA Z BUŇKY

Zvýšené vylučování (eflux) léčiva je jedním z nejběžnějších mechanismů rezistence nádorových buněk. Tento mechanismus snižuje intracelulární akumulaci protinádorových léčiv, a právě buněčné transportéry hrají neodmyslitelnou roli v mnohočetné lékové rezistenci nádorů (Kachalaki et al. 2016, Nosková et al. 2000). Rezistence způsobená zvýšeným efluxem léčiva může být vlastní, nebo získaná, a to v závislosti na tom, zda existuje před podáním léčiva nebo se vyvíjí až po jeho podání (Wang et al. 2019).

Transmembránové proteiny zodpovědné za eflux léčiv patří do nadrodiny ABC transportérů. ABC proteiny obsahující doménu vázající ATP (ATP-binding cassette) jsou membránové proteiny, které mají značný klinický význam. Doposud bylo v lidském genomu nalezeno kolem 50 různých ABC transportních genů (Cree a Charlton 2017, Kachalaki et al. 2016, Wang et al. 2019). Tyto geny byly rozděleny do sedmi podrodin (ABCA-ABCG) na základě sekvence a strukturní homologie. Tyto transportéry se skládají ze dvou transmembránových domén, které rozpoznávají a přenášejí látky přes plazmatickou membránu, a dvou domén vázajících nukleotidy, které hydrolyzou ATP na ADP generují energii potřebnou pro přenos širokého spektra látek proti koncentračnímu

spádu (Kachalaki et al. 2016, Liu 2009, Wang et al. 2019). Mechanismus působení transportérů ABC znázorňuje obr. 4.



Obr. 4 Mechanismus působení transportérů ABC v rezistenci k léčivům (Kachalaki et al. 2016)

Většina ABC transportérů se účastní vzniku MDR a jejich typ zapojení je pro každý z nich specifický. Mezi nejdůležitější a nejúčinnější z nich z hlediska MDR patří P-glykoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1), *multidrug resistance-associated protein 1* (MRP1, ABCC1) a *breast cancer resistance protein* (BCRP, ABCG2) (Cree a Charlton 2017, Kachalaki et al. 2016; Holčáková et al. 2014). Zvýšená exprese těchto transportérů v nádorových buňkách vede k aktivnějšímu vylučování cytotoxických léčiv z buněk do extracelulárního prostoru a ke snížení jejich koncentrace uvnitř buněk. Mezi substráty těchto tří transportérů patří mnohá klasická protinádorová léčiva (Kachalaki et al. 2016).

4.2.1 P-GLYKOPROTEIN

Nadměrná exprese P-glykoproteinu (P-gp, ABCB1/MDR1), transmembránové pumpy závislé na ATP, vede k MDR u mnoha typů rakoviny (např. leukémie, maligní onemocnění ledvin, jater, tlustého střeva a konečníku a rakoviny prsu) prostřednictvím aktivního přenosu molekul protinádorového léčiva z nádorových buněk. P-glykoprotein transportuje amfipatické/neutrální a v tucích rozpustné hydrofobní sloučeniny (Liu 2009, Wang et al. 2019). ABCB1 brání akumulaci širokého spektra protinádorových léčiv (např. doxorubicin, paklitaxel, vinblastin, etoposid a mnoho dalších) v nádorových buňkách (Kachalaki et al. 2016, Wang et al. 2019). ABCB1 je regulován řadou různých faktorů (Liu 2009).

Zvýšení exprese ABCB1 probíhá dvěma mechanismy: 1) vlastní expesí u nádorů odvozených z epiteliálních tkání, které vykazují přítomnost ABCB1 nebo 2) indukovanou expesí ABCB1 v průběhu léčby. Čím vyšší je exprese ABCB1, tím větší je riziko progresu nádorového onemocnění a vzniku rezistence (Kachalaki et al. 2016).

4.2.2 MULTIDRUG RESISTANCE-ASSOCIATED PROTEIN 1 (MRP1, ABCC1)

MRP1 je strukturně podobný P-gp a je exprimován ve většině zdravých tkání, ale i u mnoha typů nádorů (např. rakoviny plic, karcinomů jícnu a leukémií). MRP1 transportuje organické aniontové substráty, sloučeniny konjugované s glutathionem (GSH), sulfátem nebo glukuronidy a také protinádorové léky (methotrexát, kamptotheciny, antracykliny a další) (Kachalaki et al. 2016, Liu 2009, Wang et al. 2019, Baguley 2010).

4.2.3 BREAST CANCER RESISTANCE PROTEIN (BCRP, ABCG2)

BCRP (ABCG2) je exprimován jak na normálních, tak na nádorových kmenových buňkách, které v hypoxickém prostředí vykazují jeho zvýšenou expesi. ABCG2 je také exprimován na biologických bariérách, jako je gastrointestinální trakt a hematoencefalická bariéra, čímž omezuje absorpci toxických látek. Funkčně se ABCG2 nachází ve formě dimeru (tvoří pár s jiným ABCG2). Monomer ABCG2 tvoří jedna

transmembránová doména složená ze šesti transmembránových segmentů a jedna doména vázající nukleotidy na N-konci (Kachalaki et al. 2016, Liu 2009).

ABCG2 má širokou substrátovou specifitu a transportuje pozitivně i negativně nabitá léčiva (včetně inhibitorů tyrosinkinas, antracyklinů daunorubicinu a doxorubicinu, etoposidu, topotekanu, prazosinu, mitoxantronu, methotrexátu, SN-38) a také endogenní sloučeniny, jako jsou steroly a riboflavin. Kromě rakoviny prsu je spojován i s mnoha dalšími typy nádorů (např. leukémie a rakoviny plic) (Kachalaki et al. 2016, Wang et al. 2019).

V buněčné linii MCF-7 rezistentní k mitoxantronu (MCF-7/MX) byla pozorována zvýšená exprese ABCG2 ve srovnání s buňkami parentní linie MCF-7. Estrogen v buňkách MCF-7 zvyšoval toleranci k mitoxantronu indukcí exprese ABCG2, tento účinek však nenastal po inhibici estrogenového receptoru α . Buňky linie MDA-MB231, které nemají estrogení receptor, byly citlivější k mitoxantronu než MCF-7. Za rezistencí MCF-7 buněk k mitoxantronu stojí tedy nadměrná exprese ABCG2 indukovaná estrogenem prostřednictvím estrogenového receptoru α (Chang et al. 2017).

4.3 ZVÝŠENÁ INAKTIVACE LÉČIVA

Většina protinádorových léčiv musí podstoupit metabolickou aktivaci, aby získala klinickou účinnost. Nádorové buňky si však vyvinuly schopnost zastavit tyto aktivační procesy, nebo použít jiné procesy k inaktivaci aktivních forem léčiv. Snížená intracelulární aktivace léčiv i zvýšená inaktivace léčiva enzymy první a druhé fáze biotransformace hrají zásadní roli při vzniku rezistence k protinádorové léčbě (Pan et al. 2016, Housman et al. 2014).

4.3.1 CYTOCHROMY P450

Cytochromy P450 (CYP) jsou zodpovědné za reakce první fáze biotransformace léčiv, které vedou k jejich detoxikaci a následně po druhé fázi k jejich eliminaci z buněk

(Stiborová et al. 1999). Z hlediska karcinogeneze mají největší význam izoformy CYP1A1, 1A2, 2E1 a 3A4, které se podílí na přeměně prokarcinogenů na jejich aktivní formy. Vliv CYP na vývoj a regulaci nádorového bujení ovlivňuje, do jaké míry se podílejí na metabolismu látek, které potencují kancerogenezi, i látek, které působí na nádorové buňky cytotoxicky (Stiborová et al. 1999, Housman et al. 2014).

Proces kancerogeneze ovlivněný působením CYP lze rozdělit do tří fází, a to fáze iniciace, promoce a progresu. V iniciační fázi vzniká prekancerogenní léze vyvolaná modifikací v molekule DNA zdravých buněk. CYP katalyzují aktivaci prokarcinogenů na reaktivní formy, které tvoří kovalentní adukty (kovalentní vazba karcinogenů na dusíkaté báze DNA nebo na cukernou složku, deoxyribózu), které vedou k rychlejší a častější apurinaci a apyrimidinaci DNA. V promoční fázi dochází ke zvýšení proliferace primárně modifikovaných nádorových buněk. Podmětem pro růst nádoru v promoční fázi mohou být oxidační změny v DNA podmíněné aktivitou některých CYP (při reakcích katalyzovaných CYP dochází k tvorbě kyslíkových radikálů). Ve fázi progresu kancerogeneze dochází k efektivnějším procesům modifikace DNA a tím k tvorbě maligních nádorových buněk (Stiborová et al. 1999).

4.3.2 GLUTATHION-S-TRANSFERASY A UDP-GLUKURONOSYLTRANSFERASY

Enzymy druhé fáze biotransformace konjugují endogenní substráty s protinádorovým léčivem nebo jeho metabolitem za vzniku polárních sloučenin, které jsou snáze eliminovány z buněk (Pan et al. 2016). Patří sem nadrodina glutathion-S-transferas (GST) a nadrodina UDP-glukuronosyltransferas (UGT) (Cree a Charlton 2017, Housman et al. 2014).

Enzymy GST (detoxikační enzymy, chránící buněčné makromolekuly před elektrofilními sloučeninami) zvyšují rezistenci k protinádorovým léčivům přímou detoxikací nebo nepřímo inhibicí dráhy mitogenem aktivovaných proteinkinás (MAPK) (Townsend a Tew 2003, Mansoori et al. 2017, Housman et al. 2014). Zvýšená exprese GST v nádorových buňkách zvyšuje detoxikaci protinádorových léčiv, která brání

cytotoxickému poškození nádorových buněk a zároveň zvyšuje odolnost buněk proti apoptóze (Townsend a Tew 2003, Mansoori et al. 2017).

Některá protinádorová léčiva lze přímo inaktivovat katalytickou konjugací s thiolovou skupinou GSH, jedná se o silný antioxidant inhibující buněčný stres, který může poškodit nukleové kyseliny tvorbou kovalentní thioesterové vazby (Longley et al. 2005, Townsend a Tew 2003). Výsledný komplex tvoří substrát pro ABC transportní proteiny a tím podporuje eflux léčiva (Longley et al. 2005). GST se významnou měrou podílí na inaktivaci protinádorových léčiv cisplatinu, oxaliplatinu a karboplatinu (Kachalaki et al. 2016).

Nadměrná exprese izoformy GSTP byla nalezena v některých rezistentních buněčných liniích například v linii MCF-7/ADR, která je rezistentní k doxorubicinu. U této linie se zvýšená exprese GSTP vyskytovala společně s nadměrnou expresí P-gp. U pacientů s primární rakovinou ovarií léčených cisplatinou byla popsána přímá souvislost mezi zvýšením exprese GSTP a rezistencí k cisplatině (Kachalaki et al. 2016).

Nadrodina UGT je skupina enzymů katalyzujících glukuronidaci endogenních i xenobiotických substrátů. UGT katalyzují kovalentní připojení glukuronidu z UDP-glukuronové kyseliny na hydroxylovou, karboxylovou nebo aminokupinu substrátu. Tento proces reguluje tvorbu neaktivních hydrofilních glukuronidů s protinádorovými léčivy (Housman et al. 2014). Vznikají polární metabolity, které jsou snadno vylučovány.

Úloha UGT v chemorezistenci byla poprvé rozpoznána před více než 30 lety, kdy byla prokázána souvislost mezi vysokým efluxem glukuronidu daunorubicinu z leukemické buněčné linie a rezistencí této linie k daunorubicinu. V současné době zahrnuje seznam protinádorových léčiv, u nichž bylo prokázáno, že podléhají glukuronidaci, většinu v současnosti používaných léků všech tříd. Příkladem léčiv, u kterých může glukuronidace výrazně snížit aktivitu a expozici léčiva, je irinotekan, sorafenib či tamoxifen (Allain et al. 2020).

V různých stádiích nádorového onemocnění dochází ke snížení exprese izoformy UGT1A1, její exprese je také nepřímou regulována metylací v promotorové oblasti DNA. Tento epigenetický silencing může podpořit aktivitu některých léčiv, příkladem může být irinotekan, který je inaktivován pomocí UGT1A1. Methylace promotoru UGT1A1 tedy zvyšuje protinádorovou aktivitu tohoto léčiva (Holohan et al. 2013).

Zvýšená nebo snížená aktivita konjugujících enzymů v důsledku genetických mutací, indukce nebo inhibice proto může změnit účinnost a toxicitu protinádorových léčiv, která jsou těmito enzymy převážně metabolizována.

4.4 ZMĚNA TERAPEUTICKÉHO CÍLE

Tradiční chemoterapie (ničí nádorové buňky narušením rychlé proliferace) ovlivňují i zdravé buňky. Na druhou stranu cílené terapie blokují růst nádorových buněk inhibicí aktivity specifických cílových proteinů, které jsou důležité pro vývoj nádoru (Song et al. 2020). Čím jsou tyto terapie selektivnější a účinnější proti nádorovým buňkám, tím méně jsou škodlivé pro zdravé buňky. I v cílené terapii může docházet ke vzniku rezistence, vyplývající ze změny terapeutického cíle. Může docházet k sekundární mutaci v cílových proteinech, nebo ke změnám úrovně exprese v důsledku epigenetických změn (Wang et al. 2019).

Dalším typem cílené terapie jsou protinádorová léčiva zaměřená na určitý molekulární cíl a změnami tohoto cíle (mutace, nebo modifikace na úrovni exprese) je ovlivněna. I zde může docházet ke vzniku rezistence, pokud je cíl terapie aktivován několika různými drahami, pak může buňka aktivovat alternativní cestu (Cree a Charlton 2017, Housman et al. 2014).

4.5 OPRAVA POŠKOZENÉ DNA

Schopnost opravit DNA poškozenou protinádorovou léčbou může určovat vliv na chemosenzitivitu nádoru. Mnoho protinádorových léčiv, jako jsou například platinová cytostatika a 5-fluorouracil, zabíjí nádorové buňky poškozením DNA, a to přímou vazbou na molekulu DNA nebo interakcí s enzymy podílejícími se na udržování integrity DNA (Goldie a Coldman 2009). Reakce na poškození DNA protinádorovými léčivy (tj. oprava lézí) snižuje jejich účinnost a tím může způsobovat vznik rezistence (Wang et al. 2019).

V případě protinádorových léčiv působících přímou vazbou na molekulu DNA existuje komplexní biochemický aparát pro rozpoznávání poškození a následnou opravu

léze. Mechanismus opravy spočívá v identifikaci poškozené oblasti v molekule, odstranění abnormálního segmentu a nahrazení segmentem s nově syntetizovanou částí DNA (Goldie a Coldman 2009, Housman et al. 2014). Účinnost cytotoxických léčiv poškozujících DNA závisí na selhání primárních mechanismů opravy DNA nádorové buňky, proto by inhibice opravných cest DNA mohla zvýšit úspěšnost terapie poškozující DNA (Housman et al. 2014).

Ačkoli deregulace oprav poškozené DNA může zamezit rezistenci, může také zvýšit riziko vzniku nových mutací v důsledku nestability genomu (rychlý, ale vadný opravný mechanismus a následná tolerance poškození DNA), což může vést k dalšímu rozvoji onemocnění v neletálně poškozených buňkách (Song et al. 2020, Wang et al. 2019, Goldie a Coldman 2009). Odpověď na poškození DNA je komplexním mechanismem léčby rakoviny a případných recidiv, a proto vyžaduje důkladné prozkoumání, má-li být použita jako terapeutický cíl.

Je-li poškození DNA příliš rozsáhlé a nelze jej opravit, buňky podléhají apoptóze. Pokud je však apoptotický potenciál snížený, buňky mohou přežít i značné poškození DNA, což je strategií přežití mnoha nádorových buněk (Cree a Charlton 2017).

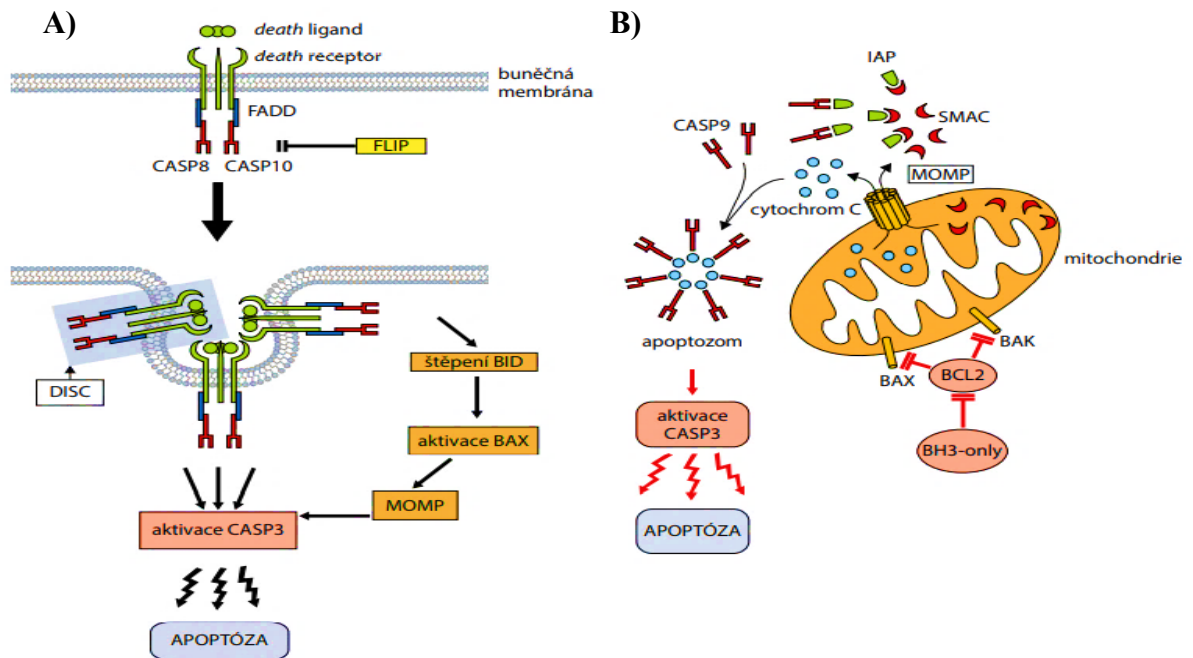
Genové defekty v mechanismech zodpovědných za opravu DNA mohou v nádorových buňkách působit vznik rezistence k protinádorovým léčivům poškozujícím DNA včetně platinových cytostatik. Produkty těchto genů opravují během syntézy DNA chyby v nukleotidech (Kachalaki et al. 2016).

4.6 INHIBICE BUNĚČNÉ SMRTI

4.6.1 APOPTÓZA

Inhibice apoptózy vede k řadě patologických stavů a je významným znakem většiny nádorových onemocnění. Klíčovým znakem rezistence vůči inhibici apoptózy je signalizace přežití, která brání buněčné smrti (Cree a Charlton 2017). Apoptóza je spouštěna vnější nebo vnitřní cestou (obr. 5). Obě cesty jsou spouštěny aktivací cysteinových proteas, tzv. kaspas, které štěpí řadu cílových proteinů. Kaspasy se dělí na iniciátorové a efektorové. Iniciátorové kaspasy (CASP8, 9, 10) interagují s proteiny spouštějícími apoptózu, aktivací těchto kaspas dojde ke spuštění efektorových kaspas

(CASP3, 6, 7). Následně dochází k nevratným strukturálním změnám v buňce a k její přeměně na apoptotická tělíska (Klener a Klener 2013).



Obr. 5 Schéma apoptózy. A) receptorová/extrinzická apoptóza, B) mitochondriální/intrinzická apoptóza (Klener a Klener 2013)

Vnější cesta apoptózy je spuštěna navázáním tzv. smrtících ligandů (death ligands) na membránové receptory smrti (death receptors) a jejich následnou agregací, která vede k internalizaci a následnému vzniku multiproteinového efektorového komplexu DISC (Death inducing signaling complex). V DISCu dochází k autoaktivaci iniciátorových kaspas (CASP8 a 10), které následně aktivují efektorové kaspasy (CASP3 a 7) (Klener a Klener 2013).

Vnitřní, mitochondriální apoptotická cesta je spuštěna porušením vnější membrány mitochondrií a následným vypuštěním reaktivních forem kyslíku a proapoptotických molekul (např. cytochrom c, AIF – apoptosis inducing factor, endonukleasa G a další) do cytosolu. Dochází ke vzniku multiproteinového efektorového komplexu zvaného apoptosom, k autoaktivaci kaspasy CASP9, která následně aktivuje efektorové kaspasy (CASP 3 a 7) (Klener a Klener 2013).

V tomto bodu při aktivaci CASP3 a 7 dochází k aktivaci společné apoptotické cesty, apoptóza se stává nevratnou a nastává řízená buněčná degradace (Klener a Klener 2013, Housman et al. 2014). Buňky jsou přeměněny v apoptotická tělíška, tedy v malé fragmenty rozpadlé buňky obalené membránou, která jsou následně rozpoznána a fagocytována makrofágy a dalšími pomocnými buňkami bez rozvoje zánětlivé reakce (Klener a Klener 2013).

Aktivace apoptotických drah je přísně kontrolovaná řadou pozitivních a negativních regulátorů. Vnější cesta je regulovaná „receptory smrti“ z rodiny receptorů tumor-nekrotizujícího faktoru (TNF), jako jsou Fas (CD95/APO-1), DR4 (TRAIL-R1, TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor 1) a DR5 (TRAIL-R2) (Longley et al. 2005).

Vnitřní cestu reguluje rodina proteinů Bcl-2, a ačkoli tyto proteiny vykazují určitou homologii, některé působí proapoptoticky (Bax, Bak a Bad) a jiné anti-apoptoticky (Bcl-X_L, Mcl-1 i samotný Bcl-2). Proapoptotické proteiny podporují uvolnění cytochromu c z mitochondrií do cytosolu, kde vytváří spolu s CASP9 a APAF1 apoptosom. Anti-apoptotické Bcl-2 proteiny se váží na ty proapoptotické a inhibují změny mitochondriálního membránového potenciálu a tím brání uvolnění cytochromu c (Pan et al. 2016, Mansoori et al. 2017, Longley et al. 2005).

Apoptóza má nezastupitelný význam v boji proti malignitám. Pokud buňka prodělá mutaci DNA, má pouze dvě možnosti, a to opravit vzniklou chybu v DNA, nebo být eliminována apoptózou (Holčáková et al. 2014). Účinek většiny protinádorových léčiv je založen právě na aktivaci apoptózy. Důležitou roli zde hraje tumor-supresorový transkripční faktor p53 (Mansoori et al. 2017). Pokud dojde k defektu v genu kódujícím protein p53 nebo k poruše signalizace kterékoli části apoptotické cesty, dochází k přežívání mutovaných buněčných klonů a tím ke zvýšení rizika vzniku dalších mutací, které mohou vést až ke vzniku nádorového onemocnění (Klener a Klener 2013).

Necitlivost k chemoterapií vyvolané apoptóze hraje důležitou roli při získávání lékové rezistence. Signál k apoptóze lze v zásadě potlačit nebo dokonce zrušit zvýšením exprese anti-apoptotických genů (Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1), nebo snížením či defektní funkcí proapoptotických genů (Bax, PUMA, NOXA) v nádorových buňkách, což vede k porušení rovnováhy a zvýšení odolnosti vůči protinádorové terapii (Mansoori et al. 2017). Nadměrná produkce anti-apoptotických Bcl-2 proteinů může být způsobena

translokací chromosomů t(14;18), amplifikací genu Bcl-2 nebo delecí chromosomu, která má za následek ztrátu mikroRNA specifické pro Bcl-2. Snížená produkce nebo mutace proapoptotických genů může být zapříčiněná ztrátou funkce tumor-supresorového transkripčního faktoru p53 (Holčáková et al. 2014).

Proteiny teplotního šoku (HSPs, heat shock proteins), které buňka produkuje jako odpověď na stres, integrují s komponentami signálních drah vedoucích k apoptóze, čímž zabraňují apoptóze, a naopak podporují přežití a proliferaci buňky. Inhibice apoptózy probíhá na třech úrovních, a to při modulaci signálních drah, kontrole uvolňování apoptotických molekul a blokování pozdních fází apoptózy. Zvýšená hladina HSP byla identifikována u mnoha lidských malignit a je spojována s jejich odolností vůči apoptóze indukované chemoterapeutiky (Holčáková et al. 2014).

Rezistence vůči apoptóze může být způsobena aberantní expresí nebo funkcí inhibitorů kaspas (IAP, Inhibitors of Apoptosis Proteins, c-IAP1, c-IAP2, X-IAP a survivin), které se mohou vázat na kaspasy (3,7 a 9) a tím přímo inhibovat jejich aktivitu (Pan et al. 2016, Holčáková et al. 2014, Longley et al. 2005). X-IAP vykazuje nejvyšší antiapoptotické vlastnosti a inhibuje signalizaci apoptózy vazbou na aktivní CASP3 a 7 a prevencí aktivace CASP9. Reguluje i další signalizační kaskády, jako je dráha nukleárního faktoru- κ B (NF- κ B). V rezistentních nádorových buňkách hrají IAPs i NF- κ B klíčovou roli při inhibici apoptózy a nadměrná exprese těchto proteinů často vede k rezistenci spojené se špatnou prognózou (Pan et al. 2016).

Inhibice vnější cesty apoptózy též přispívá k rozvoji rezistence. Může docházet ke snížené expresi (DRs, Fas TRAILs), nebo k poruchám jejich funkce. Další možností je jejich špatná syntéza, kdy vznikají nefunkční analogy receptorů smrti (decoy receptory) tedy receptory, které jsou schopné účinně poznávat a vázat specifické faktory, ale strukturálně nejsou schopny signalizovat nebo aktivovat receptorový komplex. Těmto receptorům chybí cytosolová doména, což znemožňuje vazbu FADD (Fas Associated Death Domain), a tím aktivaci DISC_u (Holčáková et al., 2014).

4.6.2 AUTOFAGIE

Autofagie je cesta, která umožňuje buňkám znovu získat potřebnou ATP a základní prvky pro biosyntézu, a tím jim umožní přežít v prostředí chudém na živiny či kyslík (charakteristické znaky mikroprostředí nádoru). Je způsobena fagolysosomální

smrtí v kyselém lyzosomalním pH (Housman et al. 2014, Song et al. 2020). Tato dráha je důležitým regulátorem buněčné homeostázy. Má paradoxní roli ve vývoji, růstu a metastázování nádorů, jelikož pomáhá přežívání nádorových buněk, ale zároveň může vést k buněčné smrti postupnou autodegradací. Inhibice autofagie je předmětem studia v protinádorové terapii (Cree a Charlton 2017, Pan et al. 2016, Klener a Klener 2013).

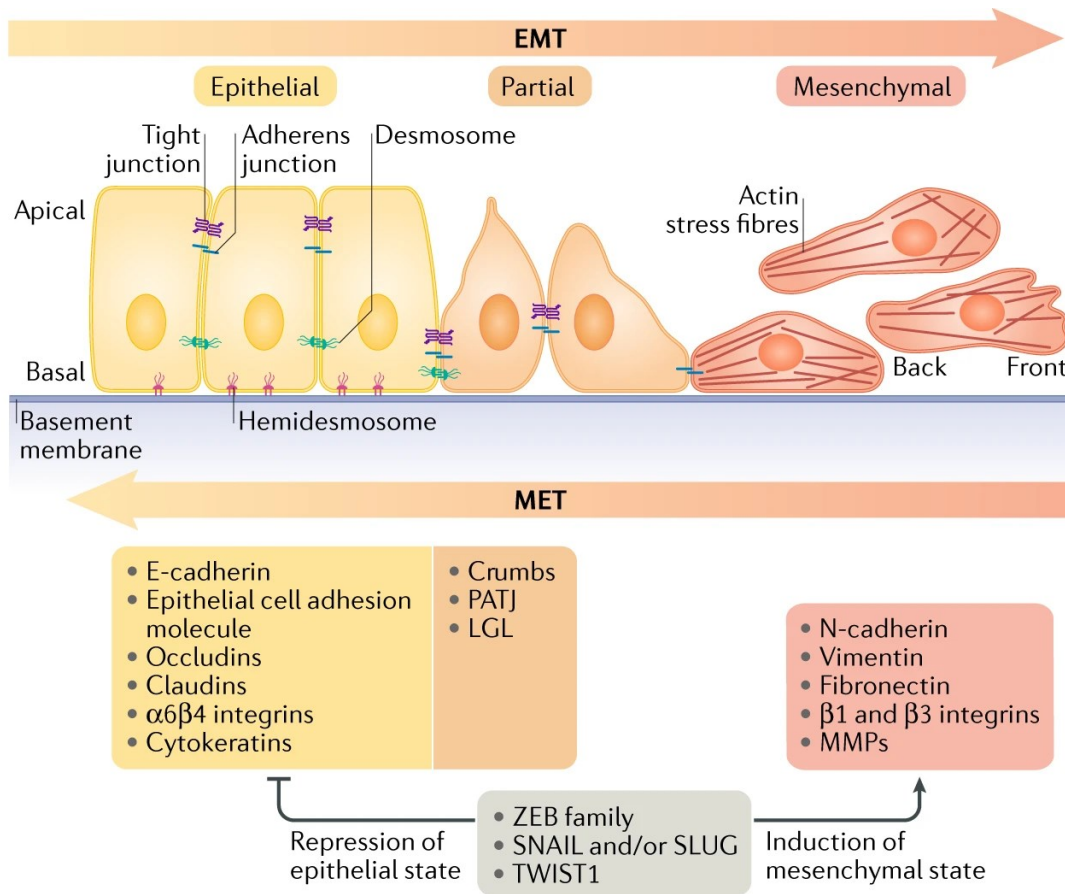
4.7 EPITELIÁLNĚ-MEZENCHYMÁLNÍ TRANZICE A METASTÁZOVÁNÍ

Epiteliálně-mezenchymální tranzice (EMT) je proces, během kterého epiteliální buňky postupně ztrácejí svůj fenotyp a získávají vlastnosti mezenchymálních kmenových buněk (Holčáková et al. 2014) a solidní nádory se stávají metastazujícími (Housman et al. 2014). Metastázy se šíří vstupem primárních nádorových buněk do krevního oběhu nebo lymfatických cév. Tyto buňky se poté usazují na dalších místech v organismu (Song et al. 2020).

EMT je přechodná změna ve fenotypu nádorových buněk, která zahrnuje nárůst fibroidní morfolgie a invazivity, kdy dochází ke snížené expresi receptorů buněčné adheze (integrinů a kadherinů) podporujících přilnutí buňky k buňce, a naopak ke zvýšené expresi receptorů indukujících pohyblivost buněk. Buněčná invazivita závisí také na cytokinech a chemokinech uvolňovaných buňkami mikroprostředí nádoru nebo nádory samotnými (Housman et al. 2014), odolnosti vůči apoptóze a navýšení sekrece složek extracelulární matrix (Holčáková et al. 2014). EMT také podporuje zvýšenou angiogenezi.

EMT indukují transkripční faktory (EMT-TF), které hrají roli při podpoře rezistence k léčivu (obr. 6). Je známo, že nadměrná exprese EMT-TF, jako jsou TWIST a SNAIL, indukují rezistenci k léčivům (Wang et al. 2019) a potlačují expresi E-kadherinu (glykoprotein napomáhající ukotvení epiteliálních buněk) a stimulují buňky k získání mezenchymálních markerů (Song et al. 2020). Některé z těchto EMT-TF podporují rezistenci zvýšeným efluxem léčiva zprostředkovaným ABC transportéry (Holčáková et al. 2014, Wang et al. 2019). Silencing EMT-TF senzibilizuje nádorové

buňky k terapii potlačením ABC transportérů a tím inhibuje vznik rezistence a metastáz (Wang et al. 2019).



Obr. 6 *Koncept průběhu epiteliálně-mezenchymální tranzice* (Dongre a Weinberg 2018). Ve žlutém a oranžovém rámečku jsou uvedeny molekuly, které jsou spojeny s epiteliálním stavem a pomáhají udržovat polaritu buněk. Indukce EMT vede k expresi EMT-indukujících transkripčních faktorů (EMT-TF) ZEB, SNAIL a TWIST (šedý rámeček), které inhibují expresi genů spojených s epiteliálním stavem (žlutý rámeček) a současně aktivují expresi genů spojených s mezenchymálním stavem (růžový rámeček). EMT je reverzibilní proces a mezenchymální buňky se mohou vrátit do epiteliálního stavu prostřednictvím mezenchymálně-epiteliálního přechodu (MET).

Dalšími regulátory EMT v souvislosti s ABC transportéry jsou mikroRNA (miRNA), které regulují ABC transportéry na různých úrovních, přičemž většina miRNA působí na post-transkripční úrovni prostřednictvím vazebných míst v 3'-nepřekládané

oblasti genu (3'-UTR, three prime untranslated region). Některé miRNA působí na transkripční úrovni vazbou na oblast promotoru. Dále se účastní regulace markerů EMT a podporují vznik rezistence k protinádorovým léčivům regulací dalších mechanismů, jako jsou apoptóza a autofagie, řízení biotransformace léčiv, modulace terapeutických cílů, opravy DNA a regulace biosyntézy GSH (Wang et al. 2019).

4.8 EPIGENETICKÉ VLIVY

Dalším důležitým mechanismem přispívajícím k chemorezistenci nádorových buněk jsou epigenetické změny, které se také podílejí na vývoji dalších mechanismů rezistence, jako je zvýšený eflux léčiv, opravy poškozené DNA a inhibice apoptózy (Wang et al. 2019).

Epigenetické modifikace zahrnují metylaci DNA, modifikaci histonů (acetylaci nebo metylaci), remodelaci chromatinu a změny exprese nekódujících RNA významně přispívají ke snášenlivosti léčiv (Housman et al. 2014, Mansoori et al. 2017, Nikolaou et al. 2018, Wang et al. 2019).

Důležitou roli ve vzniku rezistence k protinádorovým léčivům hrají nekódující RNA, včetně miRNA a dlouhých nekódujících RNA (lncRNA). miRNA (RNA příliš krátké na kódování bílkovin) jsou důležitými regulátory post-transkripční genové exprese. Regulují navázání na komplementární mRNA, degradaci mRNA a represi syntézy proteinů. lncRNA se podílejí na regulaci genové exprese blokováním vazby aktivátorů transkripce na klíčové sekvence DNA v genech, nebo získání proteinů pro remodelaci chromatinu. miRNA i lncRNA regulují expresi proteinů souvisejících s rezistencí k protinádorovým léčivům (Wang et al. 2019). miRNA ovlivňují genovou expresi třemi mechanismy, a to rozštěpením řetězce mRNA, destabilizací mRNA (zkrátí se poly(A) ocas) a sníženou translací mRNA do řetězce proteinu na ribosomech (Mansoori et al. 2017).

5. ZÁVĚR

Tato rešeršní práce podává stručný přehled poznatků pojednávajících o nádorové buňce, lékové rezistenci a vybraných molekulárních mechanismech vzniku nádorové rezistence. Vznik rezistence na protinádorovou léčbu stále značně limituje úspěšnost léčby onkologických onemocnění. Proto je studium a další poznání mechanismů účastnících se vzniku onemocnění, progresu a vzniku chemorezistence zásadní pro porozumění dějů probíhajících v nádorových buňkách, a především pro zvolení účinné léčby.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

3'-UTR	three prime untranslated region
ABC	ATP-Binding Cassette
ABCB1/MDR1/P-gp	P-glykoprotein
ABCC1/MRP1	multidrug resistance-associated protein 1
ABCG2/BCRP	breast cancer resistance protein
ADP	adenosindifosfát
ATP	adenosintrifosfát
CASP	kaspasa
CYP	cytochromy P450
DISC	death inducing signaling complex
EMT	epiteliálně-mezenchymální tranzice
GSH	glutathion
GST	glutathion S-transferasa
GTP	guanosintrifosfát
HIFs	hypoxia inducible factors
HSPs	heat shock proteins
IAP,	Inhibitors of Apoptosis Proteins
LncRNA	long non-coding RNA
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MET	mezenchymálně-epiteliální tranzice
MET-TF	EMT-indukující transkripční faktory
MDR	Multiple Drug Resistance
miRNA	mikroRNA

mRNA messenger RNA

NF-kB nukleární faktor-kB

p53 tumor-supresorový transkripční faktor

UST UDP-glukuronosyltransferasa

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Allain, E.P., Rouleau, M., Lévesque, E. a Guillemette, C., 2020. Emerging roles for UDP-glucuronosyltransferases in drug resistance and cancer progression. *British Journal of Cancer*. 122(9), pp. 1277-1287.
- Baguley, B.C., 2010. Multiple drug resistance mechanisms in cancer. *Molecular Biotechnology*, 46(3), pp. 308-316.
- Chang, F.W., Fan, H.C., Liu, J.M., Fan, T.P., Jing, J., Yang, C.L. a Hsu, R.J., 2017. Estrogen Enhances the Expression of the Multidrug Transporter Gene ABCG2—Increasing Drug Resistance of Breast Cancer Cells through Estrogen Receptors. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(1), Art. No. 163.
- Cree, I.A. a Charlton, P., 2017. Molecular chess? Hallmarks of anti-cancer drug resistance. *BMC Cancer*, 17(1), pp. 1-8.
- Goldie, J.H. a Coldman A.J., 2009. Molecular aspects of drug resistance. *Drug Resistance in Cancer: Mechanisms and Models*. 1st edition. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 59-89.
- Hanahan, D. a Weinberg, R., 2015. Hallmarks of Cancer. In: DeVita, V.T., Lawrence, T.S. a Rosenberg, S.A. (eds.) *Cancer: Principles & Practice of Oncology: Primer of the Molecular Biology of Cancer*. 2nd edition. Wolters Kluwer,
- Hofmanová J., 2013. Genotoxicita a karcinogeneze. 1. vydání. Masarykova univerzita, Brno, 322 pp.
- Holčaková, J., Nekulová, M., Orzol, P. a Vojtěšek, B., 2014. Mechanizmy lékové rezistence a nádorové kmenové buňky. *Klinická onkologie*, 27(Suppl 1), pp. 34-41.
- Holohan, C., Van Schaeybroeck, S., Longley, D.B. a Johnston, P.G., 2013. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nature Reviews. Cancer*. 13(10), pp. 714-726.
- Housman, G., Byler, S., Heerboth, S., Lapinska, K., Longacre, M., Snyder, N. a Sarkar, S., 2014. Drug resistance in cancer: an overview. *Cancers*, 6(3), pp. 1769-1792.

Chlapek, P., Chovanová, S., Sláviková, V. a Veselská, R. 2014. Mikroprostředí nádoru – možnosti výzkumu v podmínkách in vitro. *Klinická Onkologie*, 27(Suppl 1), pp. S48–S52.

Kachalaki, S., Ebrahimi, M., Khosroshahi, L.M., Mohammadinejad, S. a Baradaran, B., 2016. Cancer chemoresistance; biochemical and molecular aspects: a brief overview. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89, pp. 20-30.

Klener, P. jr. a Klener, P., 2013. Úvod do problematiky nádorových onemocnění a protinádorové léčby. *Principy systémové protinádorové léčby*. 1. vydání. Grada, Praha, pp. 23-27.

Liu, F.S., 2009. Mechanisms of chemotherapeutic drug resistance in cancer therapy - a quick review. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 48(3), pp. 239-244.

Longley, D.B. a Johnston, P.G., 2005. Molecular mechanisms of drug resistance. *The Journal of Pathology*, 205(2), pp. 275-292.

Mansoori, B., Mohammadi, A., Davudian, S., Shirjang, S. a Baradaran, B., 2017. The different mechanisms of cancer drug resistance: a brief review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(3), pp. 339-348.

Nikolaou, M., Pavlopoulou, A., Georgakilas, A.G. a Kyrodimos, E., 2018. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. *Clinical & Experimental Metastasis*, 35(4), pp. 309-318.

Nosková, V., Hajdúch, M., Mihál, V. a Cwiertka, K., 2000. Mechanismy mnohočetné lékové rezistence a jejich význam pro klinickou praxi I. typická MDR. *Onkologie*, 13(2), pp. 4-9.

Pan, S.T., Li, Z.L., He, Z.X., Qiu, J.X. a Zhou, S.F., 2016. Molecular mechanisms for tumour resistance to chemotherapy. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 43(8), pp. 723-737.

Raudenská, M., Balvan, J., Gumulec, J., Svobodová, M., Holcová Polanská, H., Adam, V., Stiborová, M., Eckschlager, T., Kizek, R. a Masařík, M., 2014. Molekulární mechanismy rezistence u nádorového onemocnění prostaty. *Praktický Lékař*, 94(2), pp. 87-92.

Sommerová, L., Ondroušková, E. a Hrstka, R., 2016. Nádorové buňky jako dynamický systém–molekulární a fenotypové změny v průběhu vzniku, progresu a šíření nádoru. *Klinická onkologie*, 29 (Suppl. 4), pp. 6-11.

Song, H., Liu, D., Dong, S., Zeng, L., Wu, Z., Zhao, P., Zhang, L., Chen, Z.S. a Zou, C., 2020. Epitranscriptomics and epiproteomics in cancer drug resistance: therapeutic implications. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), pp. 1-16.

Stiborová, M., Hudeček, J., Hodek, P. a Frei, E., 1999. Význam cytochromů P450 pro lidské zdraví. *Chemické listy*, 93(4), pp. 229-237.

Šmardová, J. a Šmarda J., 2005. Jak vznikají nádory? *Universitas - revue Masarykovy univerzity*, 38(4), pp. 29-37.

Townsend, D.M. a Tew, K.D., 2003. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*, 22(47), pp.7369-7375.

Wang, X., Zhang, H. a Chen, X., 2019. Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer Drug Resistance*, 2(2), pp.141-160.

Zheng, H.C., 2017. The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers. *Oncotarget*, 8(35), pp. 59950-59964.