

Rakovinná buňka a změny jejího metabolismu: cesta k přežití i nástroj k destrukci

Rakovina patří bezesporu k nejobávanějším civilizačním nemocem naší doby. Žádná jiná choroba nevyvolává v lidech tolik emocí. Ačkoli příčin transformace normální buňky na rakovinnou může být celá řada a jednotlivé nádory se liší po genetické stránce, jedno mají společné: rakovinné buňky zcela změň úroveň svého metabolismu, aby uspokojily nároky na rychlý buněčný růst a dělení (proliferaci). V následujících řádcích se budeme snažit popsat složitou problematiku fyziologických rozdílů v metabolismu zdravé a rakovinné buňky a naznačit, jak tyto poznatky použít jako vhodnou zbraň v onkologické léčbě.

Vznik a růst zhoubných nádorů je již několik desetiletí předmětem zájmu lékařů a vědců z mnoha oborů. Z hlediska léčby jde především o rozpoznání znaků, které jsou pro rakovinnou buňku jedinečné a které lze využít pro její cílené zničení bez poškození buněk zdravých. A právě jedním z takových univerzálních znaků rakovinných buněk je specifický metabolismus.

Intenzivní výzkum se věnuje i faktorům, které přispívají ke vzniku různých typů zhoubného bujení. Kromě doposud popsaných vrozených genetických faktorů a účasti onkogenních virů hraje při vzniku rakoviny zásadní vliv prostředí a životní styl. Již v r. 1775 si britský chirurg Percivall Pott všiml několikanásobně vyššího výskytu rakoviny šourku u kominíků v porovnání se zbytkem mužské populace. Několik desetiletí je též známa souvislost mezi nadměrným sluněním a vznikem rakoviny kůže (melanomu), účinek kouření na vznik nádorového bujení v plicích nebo vliv výživy na rakovinu gastrointes-

tinálního traktu. Konzumace červeného masa, nasycených tuků, alkoholu a nadměrně slaných či sladkých pokrmů může podle nejnovějších poznatků ovlivňovat vznik mnoha dalších typů rakoviny. Všechny tyto na sobě nezávislé faktory mohou ale způsobit totožnou změnu: ze zdravé buňky, která má jen omezenou schopnost dělení, se stane buňka v podstatě nesmrtelná, dělící se rychle a neomezeně. A k tomu musí udělat kromě jiného zásadní věc – zcela změnit svůj metabolismus.

Jednou z podmínek rychlého dělení buněk je dostatečná a rychlá syntéza prekurzorů pro stavbu buněk nových. Rakovinné buňky upraví svůj metabolismus právě tak, aby těmto zvýšeným nárokům vyhověly. Začnou spotřebovávat velké množství glukózy a glutaminu (viz dále) a stanou se do značné míry závislé hlavně na rychlé glykolýze. Respirační řetězec, který je v normálních buňkách hlavním zdrojem adenosintrifosfátu (ATP), se téměř zastaví. A to vše hlavně proto, aby buňka

posílila syntézu nukleových kyselin, aminokyselin a lipidů nutných pro růst a následné dělení. Těto specifické změny si všiml již v r. 1922 německý lékař Otto Warburg a jev byl později pojmenován Warburgův efekt. Kvůli němu si buňka musí poradit i se značnými změnami vnitřního pH a mobilizovat systémy, které ho udržují na fyziologické úrovni.

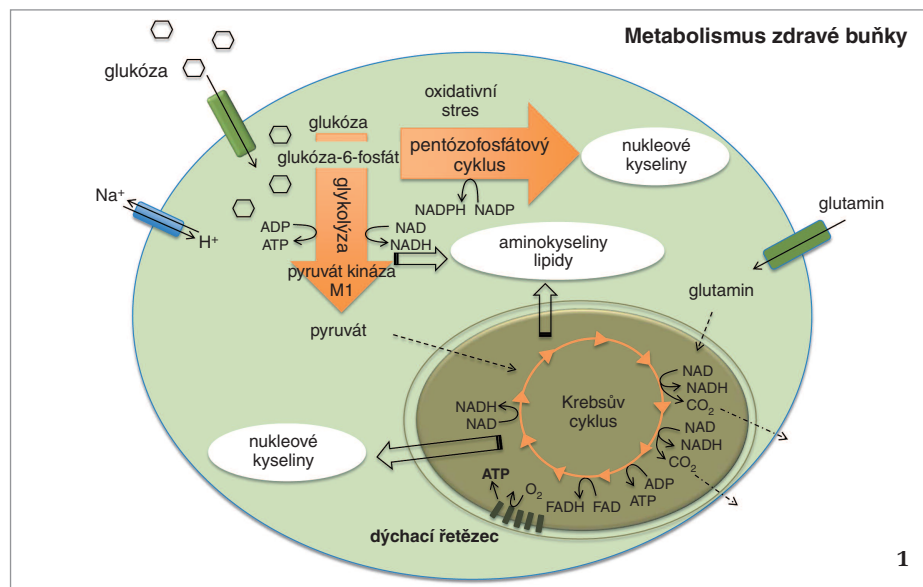
Co však dává nádorovým buňkám sílu, lze použít i proti nim. V současné době probíhají klinické studie několika chemických látek, které mají za cíl omezit Warburgův efekt nebo regulaci buněčného pH, a tím výrazně zpomalit rakovinný růst, zatímco ostatní buňky v těle jsou ovlivněny jen minimálně (Zhao a kol. 2013).

Metabolismus zdravé buňky

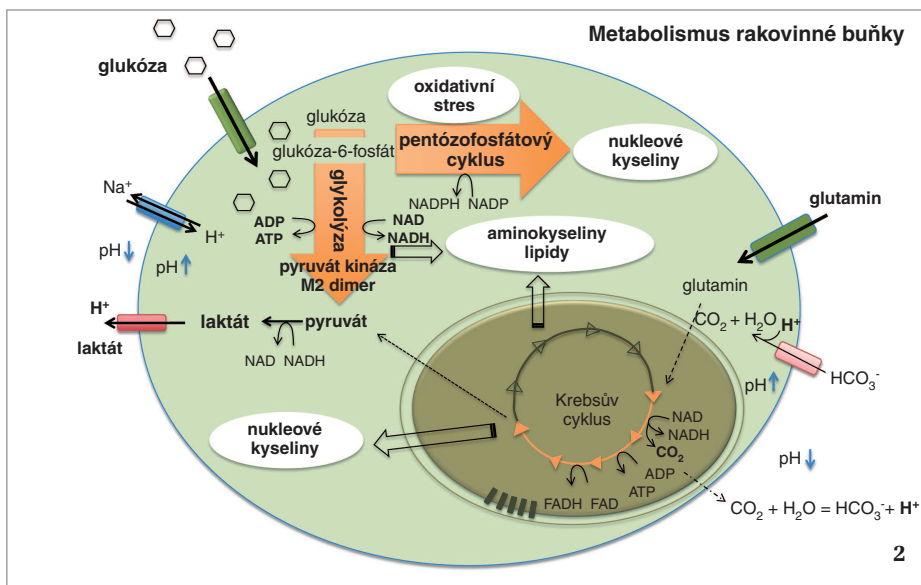
Abychom plně pochopili odlišnosti rakovinného metabolismu, jeho příčiny a důsledky, musíme se nejprve stručně seznámit s metabolickými procesy zdravé buňky (o základních dějích v buňkách viz např. seriál V. Kubišty Život není samozřejmost, viz Živa 1993, 1–4 a 1994, 1–2). V lidském těle existují desítky metabolických drah, v nichž je zapojeno několik tisíc různých enzymů. Jde tedy o neuvěřitelně komplexní a provázaný systém zajišťující buňce dostatek energie a stavebního materiálu pro její přežití a správnou funkci v rámci tkáně či celého organismu.

Hlavním zdrojem energie pro jednotlivé buňky v těle jsou glukóza a glutamin. Glukóza dodává uhlík, kyslík a vodík pro produkci energie a pro syntézu nových strukturních jednotek, jako jsou aminokyseliny, mastné kyseliny a nukleové kyseliny. Glutamin poskytuje především dusík pro syntézu nukleových kyselin a aminokyselin. Připomeňme nejprve základní metabolické dráhy, které glukózu a glutamin zpracovávají (obr. 1).

Rozklad glukózy přes glykolýzu dodává organismu největší množství energie v podobě ATP, a to až 36 jednotek na jednu vstupní molekulu glukózy. V prvním kroku se glukóza v cytoplazmě přemění na glukózu-6-fosfát. Z něho v několika soustředných reakcích vznikají buď dvě molekuly pyruvátu, nebo je přeměňován do jiné metabolické dráhy nazývané pentózofosfátový cyklus. V tomto cyklu se tvoří



1 Hlavními zdroji energie pro většinu buněk v těle jsou glukóza a glutamin. Glukóza se zpracovává během glykolýzy na výsledný produkt pyruvát (za účasti pyruvát kinázy izoformy enzymu M1). Čistým výtěžkem jsou dvě molekuly ATP a dvě molekuly NADH. Pyruvát je pak transportován do mitochondrie a po úpravě vstupuje do Krebsova cyklu, kde vzniká ATP a další redukční ekvivalenty sloužící ke tvoření protonového gradientu pomocí dýchacího řetězce na vnitřní mitochondriální membráně a k výrobě dalšího ATP. Glykolýza spřažená s Krebsovým cyklem a dýchacím řetězcem vytvoří z jedné molekuly glukózy 36 molekul ATP. Meziprodukty Krebsova cyklu jsou také zdrojem stavebních prvků pro výrobu aminokyselin, lipidů a nukleových kyselin. Stejně tak část glukózy přeměňovaná v podobě glukózy-6-fosfátu do pentózofosfátového cyklu



je zdrojem NADPH a stavebních prekurzorů nukleových kyselin. Dusík v nukleotidech a aminokyselinách pochází z glutaminolýzy. Blíže v textu 2 Rakovinné buňky stejně jako buňky rychle se dělících tkání (během embryonálního vývoje) výrazně upravují svůj metabolismus, s důrazem na zvýšenou tvorbu stavebních prekurzorů pro buněčné dělení, ochranu před oxidativním stresem a udržení vnitřního pH (látky produkované rakovinnou buňkou ve zvýšeném množství jsou vyznačeny tučně). Přijímají větší množství glukózy a glutaminu. Navíc oddělením (oddělením) glykolýzy od Krebsova cyklu může samotná reakce probíhat mnohem rychleji. Aby ale přicházelo dostatečné množství glukóza-6-fosfátu do pentózo-fosfátového cyklu, snižuje dimerická M2 izoforma pyruvát kinázy rychlost posledního kroku glykolýzy, a tím i celé reakce. Pyruvát je přeměněn na kyselinu mléčnou (laktát), který se uvolňuje ven z buňky. Částečná funkčnost Krebsova cyklu (tím i dýchacího řetězce a meziproductů Krebsova cyklu pro syntézu aminokyselin a lipidů) je zachována díky zvýšenému příjmu glutaminu buňkou. Okyselení vnitřního prostředí kvůli zvýšené produkci laktátu a CO_2 (mění se na hydrogenuhličitan HCO_3^-) se buňka brání expresí specifických membránových přenašečů regulujících pH. Díky nim je prostředí vnitřního pH stabilní, ale vnější pH klesá, což má pozitivní vliv na invazivitu buněk. Blíže v textu. Všechny orig. A. Krejčí

ribóza-5-fosfát nutná pro syntézu nukleotidů a také velké množství NADPH (redukovaný nikotinamidadenindinukleotid-fosfát), kofaktoru potřebného pro syntézu mastných kyselin a také účinné zbraně pro boj s volnými radikály, jako jsou např. superoxid (O_2^-) nebo hydroxylový radikál ($\cdot\text{HO}$); podrobněji viz dále v textu. Jeden z produktů glykolýzy, glyceralddehyd-3-fosfát, je navíc prekurzorem pro tvorbu triacylglyceridů potřebných pro syntézu mastných kyselin. Během vlastní glykolýzy pak vznikají z jedné glukózy dvě molekuly ATP a dvě molekuly NADH (redukovaný nikotinamidadenindinukleotid).

V tuto chvíli se začínáme zaplétat do fasciující propojenosti metabolických drah.

Nastupuje mitochondrie, v učebnicích biochemie nazývaná elektrárnou buňky. Pyruvát vzniklý v glykolýze prochází pomocí přenašečů mitochondriální membránou do matrix, kde se přemění na acetyl koenzym A. Mitochondriální matrix obsahuje enzymy Krebsova (nebo též citrátového) cyklu, který slouží jednak k produkci prekurzorů pro syntézu nukleových kyselin, lipidů a aminokyselin, ale především pro tvorbu přenašečů elektronů (např. NADH a FADH_2 – redukovaný flavinadenindinukleotid). Díky nim se pomocí komplexů dýchacího (respiračního) řetězce tvoří tonový gradient na vnitřní membráně mitochondrií, který se v konečném důsledku využije na tvorbu zbývajících 34 molekul ATP.

Nyní musíme zmínit druhý z uvedených zdrojů buněčné energie – glutamin. Po přijetí do buňky je transportován do mitochondrie, kde v procesu zvaném glutaminolýza přechází na α -ketoglutarát, jeden z meziproductů Krebsova cyklu. Glutamin pak slouží jako významný zdroj prekurzorů pro tvorbu nukleotidů, aminokyselin a také NADH a FADH_2 .

Limitujícím faktorem pro produkci velkého množství ATP výše uvedeným způsobem je však přítomnost kyslíku v buňce. Ten slouží jako konečný akceptor elektronů v dýchacím řetězci, bez něj by se nemohlo syntetizovat ATP. Zastaví-li se přísun kyslíku do buňky, není jiná možnost, než spoléhat pouze na glykolýzu a energii získávat pomocí tzv. anaerobní glykolýzy. Tak je tomu např. krátkodobě u silně namáhaných svalových vláken, kdy přísun kyslíku momentálně neodpovídá zvýšeným požadavkům tkáně. V tomto případě je pyruvát vzniklý v glykolýze převeden na kyselinu mléčnou (laktát) a Krebsův cyklus s dýchacím řetězcem se téměř zastaví.

Metabolismus rakovinné buňky

Rakovinné buňky přijímají několikanásobně více glukózy a glutaminu než ostatní buňky a pomocí glykolýzy vyrábějí až 60 % celkového ATP; tvorba ATP v mitochondrii je naopak potlačena. Zapnou tedy metabolismus anaerobní glykolýzy, a to i v přítomnosti kyslíku (Warburgův efekt; Ferreira a kol. 2012). Pokusíme se vysvětlit,

jak toto na první pohled zvláštní metabolické přizpůsobení plní daleko lépe a efektivněji požadavky rakovinné buňky než klasický aerobní metabolismus (obr. 2).

Původně se předpokládalo, že zvýšený tok glykolytickou drahou je pouhou odpovědí na zastavení Krebsova cyklu a respirace způsobené nevratným poškozením mitochondrií pozorovaným v rakovinných buňkách. Je pravdou, že rakovinné buňky mají obecně vyšší podíl mitochondriálních mutací, což může vést ke snížení jejich funkčnosti. Nevratné defekty mitochondrie jsou ale přesto i u nich vzácné. Různé experimenty prokázaly, že pokud je glykolýza v nádorových buňkách potlačena, funkce mitochondriálního metabolismu se znovu obnoví. U rychle rostoucích tumorů je navíc ATP tvořeno z velké části i v respiračním řetězci a některé nádorové buňky přijímají stejné množství kyslíku jako buňky zdravé. Zdá se tedy, že potlačení funkce mitochondrie není ve většině nádorů způsobeno jejím poškozením, ale regulací aktivity na úrovni exprese, nebo aktivity proteinů zapojených do Krebsova cyklu či dýchacího řetězce. A skutečně, např. za zpomalení Krebsova cyklu u lidských melanomových buněk je zodpovědná inhibice enzymu akonitázy (nebo také akonitát hydrolázy, která reverzibilně mění citrát na cis-akonitát a ten na izocitrát) volnými radikály. Teorii aktivní regulace mitochondriálních funkcí podporuje i fakt, že Warburgův efekt není vlastní pouze rakovinným buňkám, ale podobně se chovají i endoteliální buňky (lemující vnitřní stranu cév) a všechny rychle se množící buňky včetně embryonálních.

Proč tedy rakovinné, ale i embryonální buňky používají pro produkci ATP tak neefektivní způsob, jakým je oddělená (probíhá odděleně od Krebsova cyklu) glykolýza? Respirační řetězec je schopen z jediné molekuly glukózy vyprodukovat 18× více molekul ATP, než kolik lze získat pouze glykolýzou. Na první pohled tak jde o zjevný paradox. Situace dává větší smysl, když si uvědomíme, že glykolýza je až 100× rychlejší, pokud se oddělí od mitochondriálního metabolismu. Jestliže má tedy buňka zajištěný vysoký přísun glukózy, může za daný čas vyprodukovat více ATP glykolýzou než při zapojení respirace. A to s sebou přináší další výhody.

Dělící se buňky kromě nároků na energii také musí zdvojnásobit svou biomasu. Je nutné zreplikovat celý genom, ale i vytvořit množství mastných kyselin pro tvorbu membrán, nemluvě o aminokyselinách pro syntézu proteinů. Prekurzorem pro tvorbu nukleotidů je ribóza-5-fosfát, jeden z meziproductů pentózo-fosfátového cyklu. Tato metabolická dráha je přímo napojena na glykolýzu a produkuje i NADPH nutný pro syntézu mastných kyselin a lipidů a pro ochranu buňky před volnými radikály. Zvýšený tok glykolytickou dráhou s sebou přináší i rychlejší pentózo-fosfátový cyklus a Warburgův efekt tedy dokáže pokrýt jak vysoké energetické nároky rakovinné buňky, tak její požadavky na stavební materiál pro buněčné dělení.

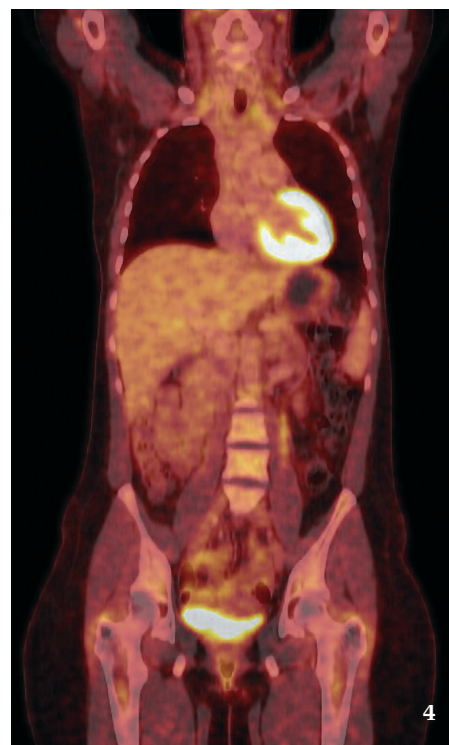
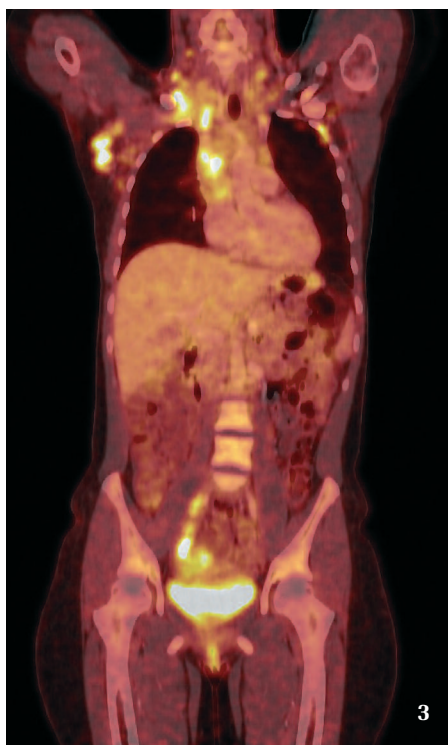
Zvýšená potřeba biomolekul však není jediným požadavkem nádorových buněk. Již jsme uvedli výše, že je ohrožují, tak jako všechny buňky, volné radikály a s nimi

spojený oxidativní stres. Volné radikály vznikají i ve zdravé buňce a, nejsou-li včas zneškodněny, poškozují DNA mitochondrií i jádro buněk a oxidují proteiny a lipidy, které tím ztrácejí funkčnost. Tumor produkuje vlivem zrychleného metabolismu mnohem více volných radikálů, než je obvyklé, a rakovinné buňky jsou navíc vůči tomuto oxidativnímu stresu citlivější než buňky netransformované. Jedním z ochránců buněk před oxidativním stresem je glutathion, který ke své funkci potřebuje NADPH. Rakovinné buňky tedy opět poslouží efektivnější pentózofosfátový cyklus, který NADPH produkuje a chrání ji před poškozením volnými radikály.

Pentózový cyklus je tedy pro rakovinnou buňku velice důležitý. Pokud ale reakce glykolýzy probíhají příliš rychle, glukóza-6-fosfát je zpracována na pyruvát dříve, než se odkloní do pentózofosfátového cyklu. Proto rakovinné buňky produkují dimer izoformy pyruvátkinázy M2, který (na rozdíl od izoformy M1) vykazuje nižší rychlost. Zpomalením posledního kroku glykolýzy – změnou pyruvátkinázy konvertující fosfoenolpyruvát na pyruvát, dosáhne buňka přeměrování části glukózy z hlavní glykolytické dráhy do pentózofosfátového cyklu. M2 izoforma pyruvátkinázy je navíc citlivá k působení volných radikálů, což vede k dalšímu snížení její aktivity. Ještě více glykolytických metabolitů je tlačeno do pentózového cyklu a tvorby NADPH, čímž tvoří regulační smyčku.

Pro hladký běh Warburgova efektu je ale zapotřebí vyřešit další problém. Rychlost glykolýzy limituje dostupné množství cytosolického NAD⁺ (oxidovaná forma NADH), který je v jednom z kroků redukován na NADH. Tato látka se za normálních okolností oxiduje zpět na NAD⁺ během mitochondriální respirace. Tato možnost však vzhledem k potlačené respiraci u rakovinných buněk odpadá. Problém lze obejít zvýšenou produkcí enzymu laktátdehydrogenázy, který mění pyruvát v cytosolu na laktát a během tohoto procesu regeneruje NADH zpět na NAD⁺. Vzniká však obrovské množství laktátu, jež nelze za daných okolností dále zpracovat, a pokud by se v buňce hromadil, glykolýza by se nakonec stejně zastavila a také buněčné pH by začalo nebezpečně klesat. Buňka proto raději laktát uvolňuje do vnějšího prostředí, čímž se sice zbaví potenciální využitelné energie z tříuhlíkaté molekuly, ale zamezí zpomalení glykolýzy.

Sekrece laktátu poskytuje rakovinným buňkám další selekční výhody. Laktát totiž okyseluje vnější prostředí buňky, čímž může např. inhibovat cytotoxické T lymfocyty a chránit rakovinné buňky před imunitním systémem. Oslabuje také buněčnou adhezi, což může přispívat ke snazšímu odpoutání rakovinných buněk od hlavního nádoru a vznik metastáz, nejobávanějšího stadia nádorového bujení. Pevné (solidní) tumory nejsou homogenním prostředím a někdy může dojít k metabolické symbióze, kdy je laktát z hypoxické, glykolytické populace buněk z vnitřní části nádoru zdrojem uhlíku pro buňky v okysličené části na jeho povrchu. Rakovinné buňky tedy i v tomto případě naleznou způsob, jak využít metabolismus ve svůj prospěch.



V neposlední řadě se dostává ke slovu glutamin, který rakovinné buňky přijímají v enormním množství, stejně jako glukózu. Uvedly jsme, že tato aminokyselina je nezbytná pro všechny buňky, protože poskytuje dusík pro syntézu aminokyselin a nukleotidů. V životě rakovinné buňky plní ale ještě důležitější funkci. Je tu sice zvýšená poptávka po nukleotidech a aminokyselinách, ale příjem glutaminu značně přesahuje potřebu dusíku pro tyto syntetické procesy. Co se tedy dále děje s přijatým a nevyužitým glutaminem?

Jak bylo řečeno dříve, respirační řetězec je v některých typech rakovinných buněk potlačen, nikdy však není zcela zastaven. Úplná inhibice respiračního řetězce není možná, protože vytváří membránový potenciál nezbytný pro dělení mitochondrií a tím i celé buňky. Vstupem glutaminu do mitochondrie, kde je převeden na glutamát a dále na α -ketoglutarát, rakovinná buňka rozběhne alespoň část Krebsova cyklu i bez pyruvátu z glykolýzy. Glutamin může být též přes α -ketoglutarát přeměněn na citrát a dále na cytosolický acetylkoenzym A nutný pro syntézu lipidů, nebo až na laktát uvolňovaný ven z buňky. Během této reakce vzniká NADPH potřebné pro syntézu lipidů i dalších stavebních jednotek. Přebytečný dusík, který není zabudován do aminokyselin nutných pro syntézu proteinů, se mění na alanin a amoniak a následně uvolňuje ven z buňky. Během zpracování glutaminu vzniká také oxid uhličitý (CO₂), který volně difunduje do okolí buňky. Glutaminolýzou tak buňka elegantně vyřeší nejen syntézu aminokyselin a lipidů, ale i nedostatek meziproduktů Krebsova cyklu doprovázející Warburgův efekt, a tím zajistí produkci redukčních ekvivalentů NADH a FADH₂ nutných pro udržení mitochondriálního membránového potenciálu.

Zvýšená produkce laktátu glykolýzou, stejně jako zvýšená produkce CO₂ glutaminolýzou a jeho následná přeměna na uhličitán (HCO₃⁻) však vedou k zásadnímu

3 a 4 Zvýšený příjem glukózy rakovinnými buňkami se využívá v lékařství při detekci nádorů zobrazovací metodou hybridní pozitronové emisní a výpočetní tomografie (PET/CT). Pomocí izotopicky značené ¹⁸F-deoxy-glukózy (FDG) můžeme přesně detekovat tkáně vykazující zvýšený příjem glukózy. Při vstupním vyšetření pacientky s Hodgkinovým lymfomem (zhoubné nádorové onemocnění mízních uzlin) jsou patrná množství ložiska vysoké spotřeby glukózy v obou podpažních jamkách, mezihrudí, na krku a vpravo u kyčelního cévního svazku (obr. 3). Po léčbě došlo k normalizaci nálezu (obr. 4). V obou případech se fyziologicky zobrazuje FDG vyloučená do moče v močovém měchýři. Fyziologickou variantou u prvního vyšetření je i nízká a u druhého zobrazení naopak vysoká spotřeba glukózy v srdečním svalu, který někdy více spaluje volné mastné kyseliny, jindy glukózu. Obr. poskytl s laskavým svolením Oddělení nukleární medicíny a PET centra Nemocnice Na Homolce v Praze.

problému: okyselení vnitřního prostředí buňky. Pokud by pH kleslo pod 7,1–7,2, buňka by nebyla schopna se dělit. Je tedy třeba mobilizovat systémy, které nadbytečné vodíkové ionty odčerpají. Ty jsou tak výkonné, že vnitřní pH rakovinné buňky bývá výsledně ještě o něco vyšší než u normální buňky. Její vnější pH je ale výrazně kyselější, což přispívá ke změnám mezi-buněčné hmoty a metastázi nádorů.

Metabolismus jako nezbytná podmínka rakovinné transformace

Změn, které se v metabolismu rakovinné buňky odehrávají, je více – záleží na typu rakoviny i na jejím stadiu. Glykolytický fenotyp je však atributem v zásadě všech typů nádorových buněk. Tato skutečnost vedla vědce k vyslovení hypotézy, že buňka nemůže být zcela změněna na buňku rakovinnou, dokud „nepřehodí“ svůj me-

tabolismus z respirace na glykolýzu. Co však k takové změně vede? Jaké mechanismy stojí za Warburgovým efektem? Abychom mohli na tyto otázky odpovědět, musíme se zanořit hlouběji do regulace buněčného metabolismu. Na rozdíl od jednobuněčných organismů jsou buňky organismu mnohobuněčného vystaveny neustálému a v zásadě konstantnímu proudu živin. Nemohou přijímat živiny neomezeně, stejně jako se nemohou bez vnějšího podnětu začít dělit. Příjem živin i pokyn k buněčnému dělení přísně reguluje síť signálních drah, které monitorují změny v podmínkách prostředí a fyziologického stavu buňky, a patříčně na ně odpovídají.

Rakovinná buňka má ale tak vysoké nároky, že obvyklý přísun živin by jí nestačil. Vyvinula si tedy opět mechanismy, jak ho zvýšit. Během své transformace musí nahromadit mutace v proteinech signálních drah nebo jejich regulatorů, jež jí umožní nezávislost na signálech z prostředí. V mnoha případech také mutované onkogeny přímo zvyšují expresi nebo aktivitu metabolických enzymů či glukózových přenašečů. Buňka pak může sama řídit příjem živin a způsob jejich zpracování, stejně jako rozhoduje o svém buněčném dělení. Díky Warburgově efektu je také osvobozena od závislosti na kyslíku. V podstatě se tak stává samostatným organismem, jakýmsi parazitem s vlastním genomem, v mnohém odlišným od genomu „hostitele“, řídícím se vlastními pravidly.

V některých případech jde právě o změnu metabolismu, která nikoli jen doprovází, ale je přímo příčinou rakovinné transformace. To bylo dosud popsáno u několika případů, kdy buňka získala mutace v konkrétních enzymech Krebsova cyklu. Inaktivace těchto enzymů velice účinně blokuje chod Krebsova cyklu a nutí buňky do glykolýzy, čímž se spouští Warburgův efekt. Např. mutace v sukcinát dehydrogenáze je typická pro paragangliom (neuroendokrinní nádor v hlavě, krku, hrudi nebo břiše), mutace ve fumarát hydratáze se objevuje v hypernefromu (nádoru ledvinových kanálků) a mutovaná izocitrát dehydrogenáza je přítomna ve značném počtu případů glioblastomu (nádoru gliových buněk mozku; Cairns a kol. 2011).

Destrukce vlastními zbraněmi

Tento účinný obranný mechanismus rakovinné buňky – Warburgův efekt – se může stát mocným nástrojem v rukou lékařů a vědců. Jde o natolik specifický jev, že ho lze použít nejen k diagnostice (a to i ve velice časném stadiu), ale i k léčbě (Heiden 2011, Pelicano a kol. 2006, Zhao a kol. 2013, Parks a kol. 2013).

Buňky různých tkání mají odlišnou schopnost přijímat a zpracovávat glukózu. Obecně však platí, jak již bylo uvedeno, že rakovinné buňky (až na několik málo výjimek) vykazují mnohem vyšší příjem glukózy než buňky v jejich okolí. Toho využívá jedna z metod pro nalezení nádoru v těle. Pacientovi je podáván roztok radio-nuklidem značeného derivátu glukózy (2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-glukóza, zkráceně FDG), který je přijímán buňkami shodnými přenašeči jako neznačená glukóza. Při testu prováděném pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) je následně za-

chyceno záření vycházející z FDG. Rakovinné buňky, které přijímají několikanásobně více glukózy (a tedy i FDG), se na výsledných tomografických řezech zobrazují s vyšší intenzitou (obr. 3 a 4).

Zvýšený příjem glukózy je rovněž vhodným farmakologickým cílem pro léčbu. Jednou z látek využívajících glukózový přenašeč pro proniknutí do buňky je glufosfamid. Tento konjugát D-glukózy a aktivní části cytotoxinu ifosfamidu patří do rodiny chemoterapeutik nazývaných alkylátory. Do buňky vstupuje stejně snadno jako normální glukóza, ale díky Warburgově efektu ho rakovinná buňka přijme několikanásobně více. Uvnitř buňky se pak štěpí pomocí enzymů na glukózu a aktivní ifosfamid, který je schopen kovalentně spojit řetězce DNA v buněčném jádře a tím účinně zabránit replikaci, a tedy růstu nádoru. Glufosfamid se v současné době nachází ve třetí fázi klinických studií a je tudíž naděje, že se brzy začne roz-sáhleji využívat pro léčbu.

Úspěšná léčba může být založena i na efektivních inhibitech glykolýzy. Jednou z možností je rovnou zablokovat příjem glukózy do buňky pomocí inhibitorů glukózových přenašečů (např. látka WZB117), nebo zastavit glykolýzu využitím některých analogů glukózy (např. 2-deoxyglukóza). Analogy buňka přijímá stejně jako glukózu, nemožou však být plně metabolizovány glykolýzou a nakonec způsobí její zastavení. Bohužel nefungují stoprocentně. Protože pouze soutěží s normální glukózou, jež se spolu s nimi vyskytuje v krevním řečišti, při daných koncentracích snášených pacienty dochází pouze k částečné inhibici glykolýzy a samotná léčba výhradně těmito analogy nevyvolává zásadní odezvu nádoru. Vývoj takových látek ale není zbytečný. Ze studií vyplývá, že analogy glukózy nebo inhibitory glukózových přenašečů podávané spolu s běžně používanými léčivými výrazně zvyšují jejich protinádorovou aktivitu.

O zastavení rakovinného růstu zpomalením glykolýzy se vědci pokoušejí také vývojem inhibitorů glykolytických enzymů. V dnešní době jsou dostupné inhibitory hexokinázy (lonidamin, 3-bromopyruvát), pyruvát kinázy (shikonin) nebo laktát dehydrogenázy (oxamát, FX11). Stejně tak dichloracetát, inhibitor pyruvát dehydrogenázy kinázy, zvyšuje tok pyruvátu do mitochondrie, čímž snižuje rychlost glykolýzy a zpomaluje Warburgův efekt. Všechny tyto látky nyní procházejí různými fázemi preklinických nebo klinických zkoušek, ať již jako samostatné léky či jako podpůrná léčba v kombinaci s léčbou konvenční.

Stejně tak inhibitory pentózofosfátového cyklu jsou ve středu zájmu z hlediska farmakologického využití. Jak jsme si řekli dříve, tento cyklus je hlavním zdrojem NADPH nezbytným pro ochranu buňky před oxidativním stresem. Víme také, že oxidativní stres zabíjí rakovinné buňky s vyšší účinností než ty normální a že rakovinné buňky produkují díky svému zrychlenému metabolismu daleko více volných radikálů. Zvládnutí oxidativního stresu tedy pro nádorovou buňku představuje jednu z důležitých podmínek přežití a inhibitory pentózofosfátového cyklu

jsou zřejmými kandidáty pro farmakologické využití. Příkladem může být 6-aminonikotinamid, inhibitor glukózy-6-fosfát dehydrogenázy. Sám o sobě sice žádný významný efekt vůči rakovinným buňkám nevykazuje, je-li však podáván v kombinaci s chemoterapií nebo radioterapií, zvyšuje citlivost buněk k protinádorové léčbě.

Cílem pro boj s rakovinou jsou rovněž mitochondrie. Přestože respirace probíhá u nádorových buněk s velmi nízkou intenzitou, je nezbytná pro udržení mitochondriálního membránového potenciálu a tím pádem i pro přežití a dělení buňky. Inhibitory respirace tak mohou rakovinnou buňku snadno usmrtit (zatímco zdravou buňku mírné snížení respirace zásadně neovlivní). Stejněho efektu lze dosáhnout i pomocí inhibitorů glutaminázy (např. BPTES – bis-2-[5-fenylacetamido-1,2,4-thiodiazol-2-yl]etyl sulfid, momentálně se nachází v preklinické fázi výzkumu).

Možností léčby, která se v poslední době také dostává do popředí, je inhibice aparátu syntetizujícího mastné kyseliny. Tato aktivita je v normálních buňkách a tkáních velice nízká nebo dokonce nezjistitelná. V rakovinných buňkách však probíhá zvýšená syntéza mastných kyselin a její rychlost koreluje s prognózou u pacientů s rakovinou prsu nebo slinivky břišní. Dva inhibitory syntézy mastných kyselin, cerulenin a C75, jsou právě testovány v preklinických až časných klinických zkouškách.

Jako vhodný terapeutický cíl se ukazuje i pH regulační systémy specifické pro rakovinné buňky. Je prokázáno, že rychlé snížení pH vnitřního prostředí buňky vede k její smrti. U rakovinných buněk je tedy nasnadě blokovat specifické transportéry pro laktát, což povede ke snížení buněčného pH, ale také k zastavení glykolýzy (inhibicí produktem). Rovněž inhibice transportérů pro hydrogenuhličitanové anionty povede k nerovnováze pH. Ukazuje se, že aplikace těchto dvou typů inhibitorů sice vede k zastavení rakovinného růstu, ale bohužel ne přímo ke smrti buňek. Použití jejich kombinace právě s blokátory glykolýzy a respirace však buňka překonává mnohem obtížněji a myšlenka navození tzv. metabolického kolapsu se dostává do popředí klinického zájmu.

Ve světle skutečností popsaných v tomto článku vyvstává ovlivňování buněčného metabolismu jako jedna z možných cest, které lze použít proti rakovinným buňkám. Pravdou ovšem zůstává, že většina výše zmíněných látek je stále ve fázi výzkumu nebo klinického testování a širší lékařské uplatnění zatím nenachází. I díky těmto znalostem však můžeme doufat, že bude den ode dne více možností, jak se nádorovému bujení účinně bránit.

Veškerou použitou literaturu podrobně uvádíme na webu Živý.

Článek vznikl v rámci projektu GA ČR P305/11/0126 a instalačního grantu Evropské organizace pro molekulární biologii (EMBO).