

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Jan Dragon

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Glioblastom
Bakalářská práce

2024

Jan Dragon

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Glioblastoma
Bachelor Thesis

2024

Jan Dragon

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jan Dragon**
Osobní číslo: **C21159**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Glioblastom**
Téma práce anglicky: **Glioblastoma**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši zaměřenou na glioblastom. V úvodní části bakalářské práce popište nervovou tkáň a nervový systém. Dále se zaměřte na charakterizaci maligní transformace, a to primárně v rámci nervové tkáně. Shrňte také diagnostické a terapeutické možnosti u nádorů odvozených z nervové tkáně.
2. V hlavní části bakalářské práce klasifikujte nádory mozku. Podrobněji se věnujte neuroepiteliálním nádorům, konkrétně popište jednotlivé typy astrocytárních nádorů včetně morfologie a molekulárních změn nádorových buněk. Samostatnou kapitolu věnujte glioblastomu, charakterizaci glioblastomových buněk, rizikovým faktorům, diagnostice a terapii. Pokuste se zároveň dohledat aktuální data incidence, mortality či průměrné doby dožití pacientů trpících tímto onemocněním. V závěru práce shrňte možnosti získávání a dlouhodobé kultivace glioblastomových buněčných linií izolovaných přímo z nádorů pacientů.
3. Jako primární 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:
podle pokynů vedoucího bakalářské práce

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Jiří Handl, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Lenka Tichá**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlášení

Práci s názvem Glioblastom jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen 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 16.05.2024

Jan Dragon

Poděkování

Zde bych rád vyjádřil své upřímné díky panu RNDr. Jiřímu Handlovi, PhD., mému vedoucímu bakalářské práce, za jeho cenné konzultace a rady, které mi poskytl během psaní této práce. Bez jeho pomoci by tato práce nemohla vzniknout.

Dále bych chtěl vyjádřit vděk mé konzultantce, Mgr. Lence Tiché, za její pomoc při finálním zpracování této práce. Její připomínky a rady byly pro mě velmi cenné.

Nemohu zapomenout ani na svou rodinu, která mě během celého studia podporovala a byla mou největší oporou. Zvláštní díky patří rodině, která mi poskytla a umožnila využití lékařských zpráv pro zpracování kazuistiky.

Vzpomínáme na tebe s láskou.

Anotace

Tato práce pojednává o zhoubném maligním nádoru glioblastomu, který se řadí do IV. třídy astrocytomů. V úvodní části bakalářské práce je popsán obecně nervový systém a nádory vycházející z nervové tkáně jsou podrobně klasifikovány. V hlavní části je glioblastom charakterizován a značný důraz je kladen na diagnostiku a léčbu tohoto onemocnění. Dále byla tato práce zaměřena na shrnutí možností izolace a kultivace buněk glioblastomu. V samotném závěru práce je kazuistika pacientky, které byl diagnostikován glioblastom. V kazuistice je popsáno, jak se u pacientky nemoc projevovала, jaký byl její průběh, a jak bylo postupováno během léčby.

Klíčová slova

glioblastom, CNS, tumory, astrocytom, buněčné linie

Title

Glioblastoma

Annotation

This thesis discusses the malignant glioblastoma tumor, which is classified as IV. classes of astrocytomas. In the introductory part of the bachelor's thesis, the nervous system is described in general, and tumors arising from nervous tissue are classified in detail. In the main part, glioblastoma is characterized, and considerable emphasis is placed on the diagnosis and treatment of this disease. Furthermore, this work was focused on the isolation and cultivation of glioblastoma cells. At the end of the work is a case report of a patient who was diagnosed with glioblastoma. The case report describes how the patient's disease manifested itself, what steps were taken on her part, and how the treatment was carried out.

Keywords

glioblastoma, CNS, tumors, astrocytoma, cell lines

Obsah

Úvod	14
1 Nervová soustava	15
1.1 Mozek	15
1.2 Neuron	16
1.3 Neuroglie	19
1.4 Synapse	21
2 Nádory.....	22
2.1 Nádorová proliferace	23
2.2 Diagnostika	24
2.3 Klasifikace nádorů nervové tkáně.....	27
2.4 Astrocytomy.....	28
2.4.1 Pilocytární astrocytom	30
2.4.2 Pleomorfní xantoastrocytom.....	30
2.4.3 Subependymální obrovskobuněčný astrocytom	31
2.4.4 Difúzní astrocytom	31
2.4.5 Anaplastický astrocytom.....	31
3 Glioblastoma multiforme	32
3.1 Histologická klasifikace a molekulární změny	32
3.2 Diagnóza <i>Glioblastoma multiforme</i>	34
3.3 Příznaky a rizikové faktory <i>Glioblastoma multiforme</i>	35
3.4 Léčba.....	36
3.4.1 Radioterapie	36
3.4.2 Zlaté nanočástice.....	37
3.4.3 Virová genová terapie	38
4 Glioblastomové buněčné linie	39
4.1 Izolace a kultivace <i>glioblastoma multiforme</i>	39

4.2	Buněčná smrt u buněk <i>glioblastoma multiforme</i>	41
4.3	Snížená rezistence na léky vlivem nanomateriálů	43
4.4	Využití kvantových teček pro snižování životaschopnosti.....	45
5	Seznam použité literatury	48
6	Příloha – Kazuistika pacientky s glioblastomem	56
6.1	Úvod.....	56
6.2	Anamnéza	56
6.3	Diagnóza	56
6.4	Léčba.....	57
6.5	Diskuse a závěr	58

Seznam zkratek

5-ALA	kyselina 5-aminolevulová
ADC	aplikovaný difúzní koeficient
BTD	souprava pro disociaci mozkového nádoru
CEA	karcinoembryonální antigen
CNS	centrální nervový systém
CSF	mozkomíšní mok
CT	výpočetní tomografie
DMEM	Dulbeccovo modifikované Eagleovo médium
DTI	difúzní tenzerové zobrazování
DWI	vážené zobrazení
EDTA	trypsin-ethylendiamintetraacetát
EGFR	epidermální růstový faktor
FA	frakční aniozotropie
FBS	fetální bovinní sérum
fMRI	funkční zobrazovací magnetická rezonance
GSC	subpopulace buněk gliomové buňky
HBSS	Hankův pufrovaný solný roztok
HGCC	<i>Human Glioblastoma Cell Culture</i>
IDH1	isocitrátdehydrogenáza 1
IDH2	isocytrátdehydrogenáza 2
MGMT	O6-methylguanin-DNA methyltransferáza
MRI	magnetická rezonance
NAA	N-acetyl-aspartát
NG-2 glia	polydendrocyty
PA	pilocytární astrocytom

PBS	fyziologický roztok
PNS	periferní nervová soustava
PSA	prostatický specifický antigen
PXA	pleomorfní xantoastrocytom
SEGA	subependymální obrovskobuněčný astrocytom
sMRI	strukturní magnetická rezonance
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
TERT	telomerázová reverzní transkriptáza
WHO	světová zdravotnická organizace

Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1: Neurony	17
Obrázek 2: Myelinizace axonů	18
Obrázek 3: Fluorescenční zobrazovací metoda	26
Obrázek 4: Účinky resveratrolu na buněčnou smrt U251 závislé na dávce a čase	42
Obrázek 5: Vizualizace buněk T98G pomocí TEM	44
Obrázek 6: Účinky kvantových teček na životaschopnosti buněk T98G	46
Obrázek 7: Buňky T98G s navázanými kvantovými tečky CdSe	47
Obrázek 8: Lékařská propouštěcí zpráva po první operaci	59
Obrázek 9: Úmrtí - lékařská zpráva; Část 1	60
Obrázek 10: Úmrtí - lékařská zpráva; Část 2	61
Tabulka 1: Klasifikace gliomů	28
Tabulka 2: Astrocytární nádory rozdělené do tříd	29
Tabulka 3: Důležité molekulární změny u Glioblastomu	33

Úvod

Glioblastoma multiforme představuje jednu z nejzávažnějších forem primárních nádorů mozku. Tento agresivní typ nádoru, odolný vůči léčbě, zůstává jednou z největších výzev v oblasti neuroonkologie. Diagnostika *glioblastoma multiforme* prošla v posledních letech významným pokrokem díky rozvoji zobrazovacích technik, jako jsou magnetická rezonance, výpočetní tomografie a pozitronová emisní tomografie. Ty umožňují přesné zobrazení nádoru a jeho okolí, což je klíčové pro stanovení diagnózy a následné plánování léčby. Paralelně s tím se rozvíjejí molekulární diagnostické metody, které pomáhají identifikovat specifické genetické a molekulární charakteristiky glioblastomu což může vést k lepší prognóze a léčebnému zaměření.

V oblasti léčby glioblastomu jsou k dispozici různé terapeutické možnosti, které zahrnují chirurgický zákrok, radioterapii a chemoterapii. Tyto metody se však často střetávají s omezenou účinností v důsledku rezistence nádoru a jeho agresivní povahy. Nové terapeutické strategie, jako je cílená terapie a imunoterapie, nabízejí naději na zlepšení výsledků léčby a prodloužení přežití pacientů.

I přes veškeré úsilí v oblasti diagnostiky a léčby zůstává *glioblastom* onemocněním s vysokou mortalitou. Průměrná doba přežití od diagnózy je stále krátká, obvykle pouze kolem 12 až 15 měsíců. Incidence glioblastomu se pohybuje kolem 3 až 4 na 100 000 lidí. Tato práce se zaměřuje na současné možnosti diagnostiky a léčby *glioblastoma multiforme*, s cílem porozumět výzvám spojeným s tímto onemocněním a hledat nové perspektivy pro zlepšení prognózy a kvality života pacientů.

1 Nervová soustava

Nervová soustava je rozdělena na dvě základní větve, a to na centrální nervový systém (CNS) a na periferní nervový systém (PNS) (*Brodal, 2010*). Do centrální nervové soustavy se řadí mozek, mozeček a mícha. Do periferního nervového systému pak patří periferní nervy, nervová ganglia a periferní nervová zakončení (*Vacek, 1995*).

Nervová tkáň je tvořena sítí nervových buněk, nervových vláken a neuroglií a je rozprostřena v rámci celého organismu. Jednou z jejích charakteristických vlastností je její vysoká dráždivost a vzrušivost. Nervová zakončení obsahují receptory, které dokáží reagovat na přicházející stimuly, respektive vzruchy. Tyto vzruchy jsou dále pomocí synapsí přenášeny na neurony a následně dále až do mozku nebo do prodloužené míchy. Zde probíhá jejich zpracování, vyhodnocení a vyvolání příslušné odpovědi na daný podnět (*Vacek, 1995*).

1.1 Mozek

Mozek je ústřední centrum celého nervového systému. Nacházejí se v něm životně důležité oblasti, jako jsou centra zraku, čichu, dýchání a řeči. Součástí je také hypothalamus, ve kterém se nachází humorální soustava produkující hormony, které svým působením následně ovlivňují celý organismus (*Vacek, 1995*).

Mozek, jako hlavní řídicí centrum nervové soustavy, váží u dospělého člověka 1400 - 1800 gramů. Je rozdělen na pravou a levou hemisféru, které jsou spojeny silným svazkem nervových drah nazývaným *corpus callosum*. Každá hemisféra dále obsahuje čtyři laloky – čelní, spánkový, temenní a týlní. Jsou pojmenovány podle kostí lebky nacházejících se nad nimi. V horním mozku se odehrává zpracovávání nejdůležitějších informací, které do mozku doputují. V oblasti středního mozku dochází ke koordinaci reflexů, zpracování informací z oblasti sluchu a zraku. V zadním mozku jsou uloženy základní reflexy a tělesné funkce.

Další částí mozku je mozkový kmen. Ten navazuje na hřbetní míchu s sestává se z prodloužené míchy, Varolova mostu a středního mozku, který je dlouhý 2,5 cm. Ačkoliv je mozkový kmen poměrně malý, hraje klíčovou roli v CNS. Prodloužená mícha je napojená na míchu a má za úkol řídit nejjzákladnější tělesné funkce. Mezi ně patří dýchání, činnost srdce anebo také regulace krevního tlaku. Varolův most přenáší pohybové informace mezi mozkovou kůrou a mozečkem. Střední mozek, na vrcholu mozkového kmene, řídí smyslové a pohybové

funkce těla. Ve středu mozkového kmene se nachází síť nervových buněk a vláken označovaná jako retikulární formace.

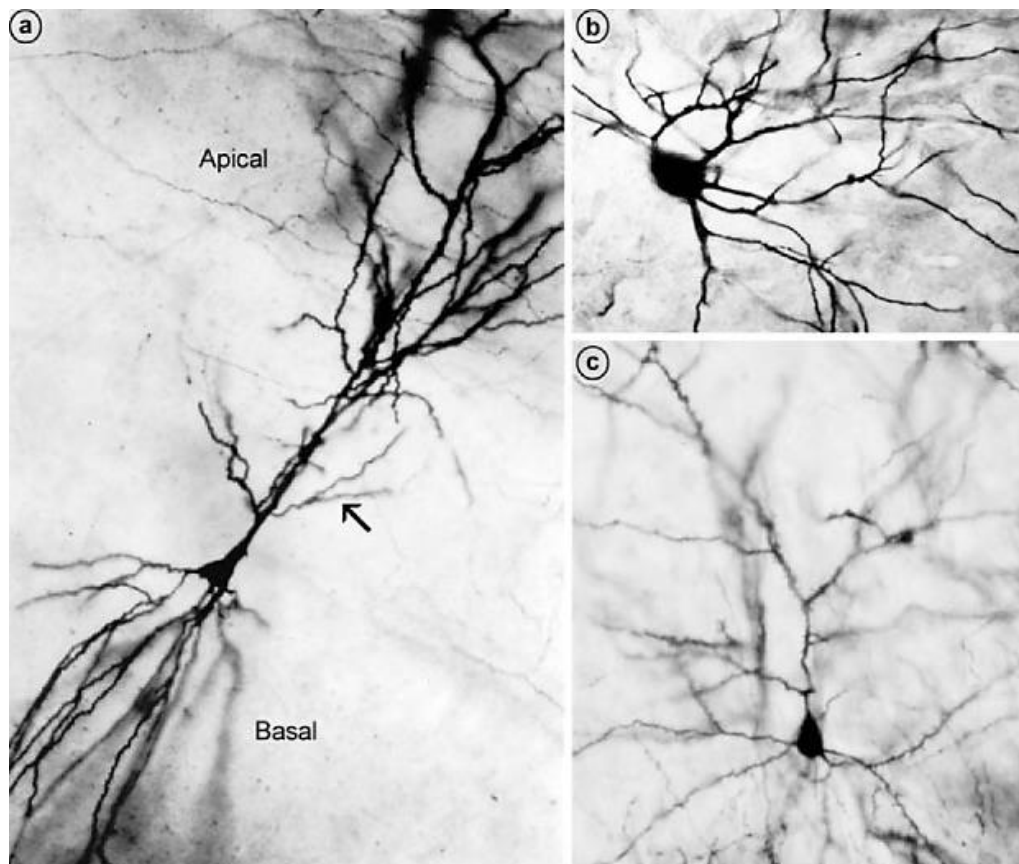
Poruch, jež poškozují mozek, je v dnešní době známo mnoho. Příkladem může být mozková mrtvice, určité druhy demence, Parkinsonova choroba, ale i zhoubné maligní nádory. Mezi nejagresivnější nádory mozku patří glioblastom, který vzniká maligní transformací gliových buněk a velice rychle se šíří (*Mcmillan, 2009*). Glioblastom je schopen indukovat angiogenezi, což je proces tvorby nových cév, která zajišťuje nádoru přísun kyslíku a živin, což mu umožňuje rychle růst. Průměrná doba přežití po diagnóze je relativně nízká, obvykle se pohybuje kolem 12 až 15 měsíců, i když léčba a prognóza se mohou lišit v závislosti na individuálních faktorech (*Smoll et al., 2013*).

1.2 Neuron

Většina neuronů, jak je vidět na obrázku 1, je složena ze tří hlavních částí. Jedná se o dendrit, tělo buňky (*soma*) a axon (*Sidiropoulou et al., 2006*). Většina neuronů má mnohočetné dendrity vycházející z jejich buněčných těl. Až na vzácné výjimky má neuron pouze jeden axon. Axony jsou uzpůsobené a specializované pro vedení vln depolarizace a pro synaptický přenos (*Garman, 2011*). Dendrity, které se nacházejí na neuronu, jsou krátké výběžky a hojně se větví. Vzruchy vedou dostředivě do nitra nervové buňky. Dendrity neobsahují myelinové pochvy. Na jejich povrchu se nacházejí dendritické trny, na kterých jsou synapse (*Otomar et al., 2011*). Rozsah a vzor dendritického větvení určuje rozsah synaptických vstupů, které může neuron zpracovat. Velikost a složitost dendritu se liší podle úkolu neuronu (*Jan et al., 2001*).

Axony jsou obecně 1 μm široké, některé dokonce jsou více než 1 m dlouhé (*Goldberg et al., 2003*). Axony vedou vzruchy směrem ven z neuronu a bývají obaleny myelinovou pochvou, která se významně na přenosu vzruchů podílí (*Otomar et al., 2011*). Myelinová pochva je obal plazmatické membrány neurogliových buněk kolem axonu. Na základě její přítomnosti nebo nepřítomnosti jsou axony rozděleny na myelinizované a demyelinizované jak je znázorněno na obrázku 2 (*Muzio et al., 2020*). Tyto buňky pocházejí ze Schwannových buněk v periferní nervové soustavě nebo z oligodendrocytů v centrální nervové soustavě. Myelinizované axony se dělí na tři kompartmenty. Prvním z nich je počáteční segment, kde se somatické vstupy sčítají a iniciují akční potenciál. Dále potom myelinizovaný axon proměnné délky, který musí spolehlivě přenášet informace jako sled

akčních potenciálů. Posledním segmentem je preterminální axon, za nímž se rozšiřuje synaptické zakončení (*Debanne et al., 2011*). Axon šíří elektrický signál, známý jako akční potenciál. Iniciací akčního potenciálu a účinný přenos pomocí Ranvierových zářezů vyžadují lokalizaci vysokých počtů napěťově řízených iontových kanálů. Po iniciaci se akční potenciál musí rychle pohybovat přes dlouhé vzdálenosti axonem, aby dosáhl synapse. V myelinizovaných axonech dochází k regeneraci akčního potenciálu v Ranvierových zářezech, kde dochází k repolarizaci a depolarizaci akčního potenciálu. Ranvierovy zářezy jsou mezery mezi myelinovými pochvami. Jsou regulovány výhradně axonální vnitřní signalizací (*Nelson et al., 2017*).



Obrázek 1: Neurony. A) neuron z hipokampu; B) neuron vykazující mnoho dendritů z těla buněk; C) neuron z oblasti mozkové kůry (*Fiala, Harris, 1999*).

1.3 Neuroglie

Neuroglie představují až 90 % všech buněk nervového systému (*Otomar et al., 2011*). Jedná se o pomocné, či podpůrné buňky, které mají v nervovém systému, zejména v CNS, za úkol chránit nervové buňky, zajistit jim dostatečnou výživu a odstraňovat odpadní produkty, či odumřelé neurony pomocí fagocytózy. Dále je jejich úkolem také podpora tvorby myelinu, který je důležitý pro rychlejší šíření elektrického potenciálu podél axonu. Myelinizovaný axon vede elektrický potenciál stonásobně rychleji než demyelinizovaný. Je spočítáno, že bez myelinu by každý zrakový nerv musel být delší o 0,75 m, aby rychlost přenosu byla stejná jako u myelinizovaných axonů (*Butt et al., 2018*). Neurogliové buňky můžeme jak v rámci periferního, tak v rámci centrálního nervového systému rozdělit na jednotlivé typy. V PNS se gliové buňky rozdělují na Schwannovy buňky a satelitní buňky. V rámci CNS je lze dělit na čtyři základní typy. Ependymové buňky, astrocyty, oligodendroglie a mikroglie.

Ependymové buňky představují nejstarší gliální element. Buňky jsou vybaveny řasinkami, které zajišťují pohyb a transport vzniklého mozkomíšního moku. Za minutu se vytvoří cca 0,5 ml likvoru (tj. 720 ml za 24 hodin). Každé čtyři hodiny je veškerý likvor obměněn. Jednou z dalších funkcí ependymových buněk je zajištění transcelulárního transportu.

Mozkomíšní mok (CSF) je obsažen v mozkových komorách a v kraniálních a spinálních subarachnoidálních prostorech. Průměrný objem CSF je 150 ml, z toho 25 ml se nachází v komorách a 125 ml v subarachnoidálních prostorech. CSF se obnovuje přibližně čtyřikrát za 24 hodin. Se stářím se rychlost obnovy CSF snižuje. To vede k akumulaci katabolitů v mozku. Sekrece CSF u dospělých jedinců kolísá mezi 400 až 600 ml za den. První krok k sekreci spočívá v pasivní filtraci plazmy z choroidálních kapilár do choroidálního intersticiálního kompartmentu podle tlakového gradientu do lumen komory přes choroidální epitel. Cytoplazmatická karboanhydráza katalyzuje tvorbu iontu H^+ a HCO_3^- z vody a CO_2 . Nosné proteiny bazolaterálních membrán choroidálních buněk vyměňují ionty H^+ a HCO_3^- a Cl^- . Iontové pumpy apikální membrány závislé na ATP vytlačují ionty Na^+ , Cl^- , HCO_3^- a K^+ směrem do lumen komory (*Saka et al., 2011*). Krom toho, že CSF chrání mozek před fyzickým šokem, je jeho další důležitou rolí zajištění cirkulace živin a chemických látek filtrovaných z krve spolu s organickými kyselinami (*Wishart et al., 2008*).

Oligodendroglie, také označované jako oligodendrocyty, vytvářejí kolem axonu myelinovou pochvu. Pochva vzniká rotací výběžků oligodendroglíí kolem axonu. Podobnou roli najdeme u Schwannových buněk, které také vytváří myelin, a to pouze pro jeden jediný specifický axon. Jedna buňka oligodendrocytu vytváří myelin až pro 35 centrálních axonů. Oligodendrocyty se podílí na zajištění správného metabolismu neuronů. Klíčovým zjištěním je, že generování oligodendrocytů u dospělých je zásadní pro myelinizaci nových spojení vyvinutých v reakci na nové životní zkušenosti. Polydendrocyty (NG-2 glia) jsou definovány svou expresí chondroitin sulfátu proteoglykanu NG2 a jsou identifikovány pomocí protilátek proti NG2. Je prokázáno, že NG2-glia generují oligodendrocyty v šedé i bílé hmotě. Snímání aktivity neuronů receptory neurotransmiterů a iontovými kanály v NG2-glia pravděpodobně hraje důležitou roli při řízení a tvorbě oligodendrocytů, proto jsou NG2-glie nezbytné pro fyziologickou funkci mozku (*Buttet et al., 2018*).

Astroglie mají typický hvězdicový tvar s dlouhými výběžky. Jejich výběžky těsně nasedají na těla neuronů a dendritů. Na povrchu mozku vytvářejí tzv. *membrana limitans gliae superficialis*, která odděluje nervové buňky na vnějším povrchu mozku od *pia mater*, tzv. omozečnice. Mimo jiné také zastávají podpůrnou funkci a dodávají neuronu živiny. Dále se podílejí na ustálení extracelulární koncentrace draslíku.

Posledním typem glií v CNS jsou mikroglie, méně známé pod názvem Horteovy glie. Jedná se o nejmenší ze všech glií v CNS. Mikroglie se vyznačují fagocytózou, a právě díky ní mají v CNS nezastupitelnou funkci. Účastní se obranných reakcí při patologických stavech (*Otomar et al., 2011*).

1.4 Synapse

Neurony jsou velmi specializované buňky. Reagují na podněty a předávají si navzájem signál pomocí synapsí a receptorů po celém těle až do mozku, kde je signál vyhodnocen a tělo na něj následně zareaguje. Nejdůležitější funkcí synapse je přenos vzniklých nervových vzruchů mezi neurony. Tato specializovaná funkce se uskutečňuje pouze při kontaktu minimálně dvou buněk, přičemž jedna musí být neuron (*Otomar et al., 2011*).

Princip šíření nervových impulzů spočívá v tom, že neuron je sám od sebe vzrušivý. Pokud dojde ke správnému podráždění, dojde k vyvolání nervového impulsu. Na všech stěnách a membránách nervových buněk je mezi vnitřní a vnější stěnou velmi malé elektrické napětí, které je způsobeno rozdílnou koncentrací sodných a draselných iontů uvnitř, a vně buňky neuronu. Pokud dojde k podráždění, náhle se změní polarita buňky a klidový potenciál se změní na akční potenciál. Elektrická stabilita okolních buněk se poruší a vzniklý impuls se šíří směrem od dendritu, dále po axonu a přes synapsi na další buňky. Aby v místě synapse došlo k přenosu impulsu do další buňky, synaptické váčky uvolní do synapsí molekuly neurotransmiteru, které změní propustnost membrány a impuls je díky tomu přenesen do dalšího neuronu (*McMillan et al., 2009*).

V CNS nalezneme čtyři typy synapsí. Axo-dentrické synapse, které vznikají spojením axonu s dendrity. Axo-somatické synapse, kdy se axon dotýká těla neuronu. Axo-axonové synapse, kdy je axon spojen s druhým axonem. Čtvrtým typem jsou pak dendro-dendritické synapse, kde jsou dendrity jednoho neuronu napojeny na dendrity jiného neuronu. Podle toho, jakým způsobem je vzruch přenášen, tak dělíme synapse na synapse elektrické, chemické a smíšené.

U člověka se vyskytují nejčastěji synapse chemické. Jedná se o pomalou synapsi, která uvolňuje chemickou substanci tzv. mediátor. Rychlost přenášeného signálu se pohybuje v 0,5 ms. Chemická synapse je pouze jednosměrný přenos. Může být excitační, ale i inhibiční. Mechanismus chemické synapse spočívá v tom, že dojde k depolarizaci presynaptické membrány. Toto způsobí vápenaté ionty. Depolarizace způsobí, že se otevřou napěťově řízené Ca^{2+} kanálky v presynaptických membránách. Následuje proces zvaný vezikulární fúze, která je řízena proteiny SNARE, mezi které patří například synaptobrevin. Dojde k uvolnění neurotransmiteru do extracelulárního prostoru a přenosu signálu (*Arzola, 2009*).

2 Nádory

Nádor je chápán jako důsledek nekontrolovatelného dělení buněk, kdy se somatické buňky začnou nekontrolovatelně dělit na úkor celého organismu. Nádory zpravidla vznikají v důsledku toho, že imunitní systém nedokáže toto autonomní množení buněk zastavit. K zastavení nekontrolovatelného buněčného bujení může organismus využít řadu mechanismů včetně fagocytózy „podezřelých“ buněk. Dalším obranným mechanismem organismu proti nekontrolovatelnému dělení buněk je apoptóza (*Lowe et al., 2000*). Imunitní systém taktéž hraje důležitou roli, při likvidaci nádorových buněk. Důležitou roli zastávají NK buňky a CD8⁺ T lymfocyty, které rozpoznávají a eliminují nádorové buňky (*Gonzales et. al., 2018*). Díky eliminaci nádorových buněk hned v prvopočátku již nemůže dojít k jejich proniknutí do dalších tkání a k malignímu bujení. Za nejvíce nebezpečné typy rakoviny se považují ty, které jsou invazivní a vyznačují se tvorbou metastáz v jiných orgánech, než bylo původní místo vzniku.

Nádorové bujení nastává v okamžiku, kdy dochází k aktivaci onkogenů a deaktivaci jednoho či více antionkogenů, které za fyziologického stavu zabraňují nekontrolovatelnému množení. Vznik nádorového onemocnění mohou zapříčinit různé faktory. Může se jednat například o ionizující záření, genetické predispozice, chemické karcinogeny nebo virové infekce (*Mcmillan, 2009*). Pokud nádor vznikl, je nutné klasifikovat, zda se jedná o benigní, či maligní nádor. Na základě této informace může lékař rychle stanovit možnosti léčby, indikovat chemoterapii, naplánovat ozařování, případně připravit pacienta na chirurgický zákrok, při kterém může být nádor odstraněn.

Benigní nádory se vyznačují tím, že se u nich neobjevují metastázy. Nádor v tomto případě zůstává v místě svého vzniku a nešíří se dále organismem, kde by způsobil přídatné nádorové onemocnění. Tento typ nádoru se nevyznačuje agresivním růstem a je jasně ohraničený, proto je lépe operovatelný. Pokud nádor vyrostl, může do značné míry tláčit na příslušnou část těla a způsobit bolest, která může být prvním symptomem rakovinného onemocnění. Benigní nádory bývají většinou odstraňovány operativně a pacient je zpravidla již mimo jakékoliv ohrožení.

Druhou variantou nádorů jsou maligní nádory. Maligní nádory zpravidla metastazují a šíří se do dalších tkání, či orgánů. Jejich růst je agresivní, velice rychlý. Nejsou ohraničeny jako je tomu u benigních nádorů. Tento typ má pro pacienta horší prognózu. Jestliže se maligní nádor zachytí včas, může být chirurgicky odstraněn a následuje léčba v podobě chemoterapie nebo radioterapie, aby se zamezilo tvorbě metastáz. Maligní nádory nejčastěji metastazují do plic, kostí, jater a do mozku (*Aisha et al., 2020*).

2.1 Nádorová proliferace

Proliferace nádorových buněk je stav, kdy se buňka začne nekontrolovatelně množit. Nádorové buňky se vyznačují jednou nebo více genetickými abnormalitami, které u nich mohou být vyvolány různými faktory. Nejčastěji se jedná o faktory fyzikální, kam patří ionizující záření, dále faktory chemické, jež zahrnují celou řadu chemických karcinogenů. Do této kategorie patří například některé složky cigaretového kouře, azbest, benzen, nebo aflatoxin B1 produkovaný plísní *Aspergillus flavus*. Dále pak různá rozpouštědla nebo pesticidy. Poslední faktory jsou faktory biologické. Do této skupiny patří onkogenní viry, jako jsou herpesviry, hepadnaviry, papilomaviry nebo adenoviry, které způsobují mutaci genů (*Klener, 2011*).

Onkogeny jsou geny, které stimulují buněčný cyklus. Pokud dojde k mutaci těchto genů, je nadměrně stimulováno buněčné dělení. Geny, které potlačují růst buněk, jsou nazývány supresorové geny, kam patří například protein p53. Takovéto geny buněčný cyklus zastavují, aby se buňka nemohla nekontrolovatelně dělit. Pokud tyto geny zmutují, buňka se opět může nekontrolovatelně množit. Nemůže dojít k mutaci obou zmíněných typů genů zároveň. Buď zmutují pouze onkogeny, nebo pouze supresorové geny. Výsledek bude ovšem stejný, buňka se začne nekontrolovaně a nezávisle dělit. Zmutované buňky mají značně prodlouženou generační dobu (tj. délka trvání jednoho buněčného cyklu) v porovnání s fyziologickými buňkami. Udává se, že generační doba u nádorových buněk je 30 až 150 hodin (*Klener, 2011*).

2.2 Diagnostika

Díky zobrazovacím metodám lze rychle diagnostikovat vzniklý tumor a následně zahájit léčbu. Nejčastějšími metodami jsou magnetická rezonance (MRI) a její speciální techniky jako jsou funkční zobrazovací magnetická rezonance (fMRI) nebo strukturní magnetická rezonance (sMRI). Dalšími metodami jsou výpočetní tomografie (CT), difuzní tenzorové zobrazení a jedna z nejnovějších metod, a to fluorescenční zobrazovací technika

Magnetická rezonance je jedna z nejvýznamnějších zobrazovacích technik. Její velkou předností je to, že měření probíhá bez ionizujícího záření, tudíž je MRI zcela bezpečná i pro děti nebo pro pacienty, kteří potřebují opakované vyšetření. Tato zobrazovací metoda je založena na principu nukleární magnetické medicíny, která detekuje protonové signály z molekul vody, a ty umožňují vytvořit vysoce kvalitní snímky. MRI dokáže rozlišit různé typy tkání, zejména šedou a bílou hmotu mozkovou. Dále měří velikost a různé části mozku. Anatomické obrazy mozku, které jsou vytvořené MRI, mají prostorové rozlišení přibližně 1 mm^3 . Objem mozku dospělého jedince se udává v průměru mezi $1\,131$ - $1\,273 \text{ cm}^3$.

Další metody jako jsou funkční zobrazovací magnetická rezonance a strukturní magnetická rezonance fungují na stejném principu, rozdíl je pouze v postupu vyšetření. fMRI je neinvazivní zobrazovací postup pomocí kontrastního zobrazení závislém na hladině kyslíku v krvi. Tato metoda je velmi specifická a využívá se u vyšetření nádorů mozku (*Zakaria et al., 2017*). Strukturní magnetická rezonance poskytuje údaje o chemickém složení nádoru. Mezi běžně měřené metabolity řadíme cholin, laktát, lipidy, N-acetyl-aspartát (NAA), kreatin a kreatinfosfát. Pacientovi jsou podány chemické látky a je podroben sMRI. Výsledným záznamem je diagram, na kterém nalezneme množství každé chemické látky v mozku. Například pokud látka NAA bude na diagramu mít větší pík než cholin, lze konstatovat, že se jedná o fyziologický stav (*Young et al., 2006*).

Velká nevýhoda MRI je jeho hlučnost, velké provozní náklady, potřeba velké místnosti pro přístroj a časová náročnost oproti počítačové tomografii. Pacient musí vydržet určitou dobu v klidu a nesmí se pohybovat, aby vznikl daný obraz (*Mills et al., 2014*).

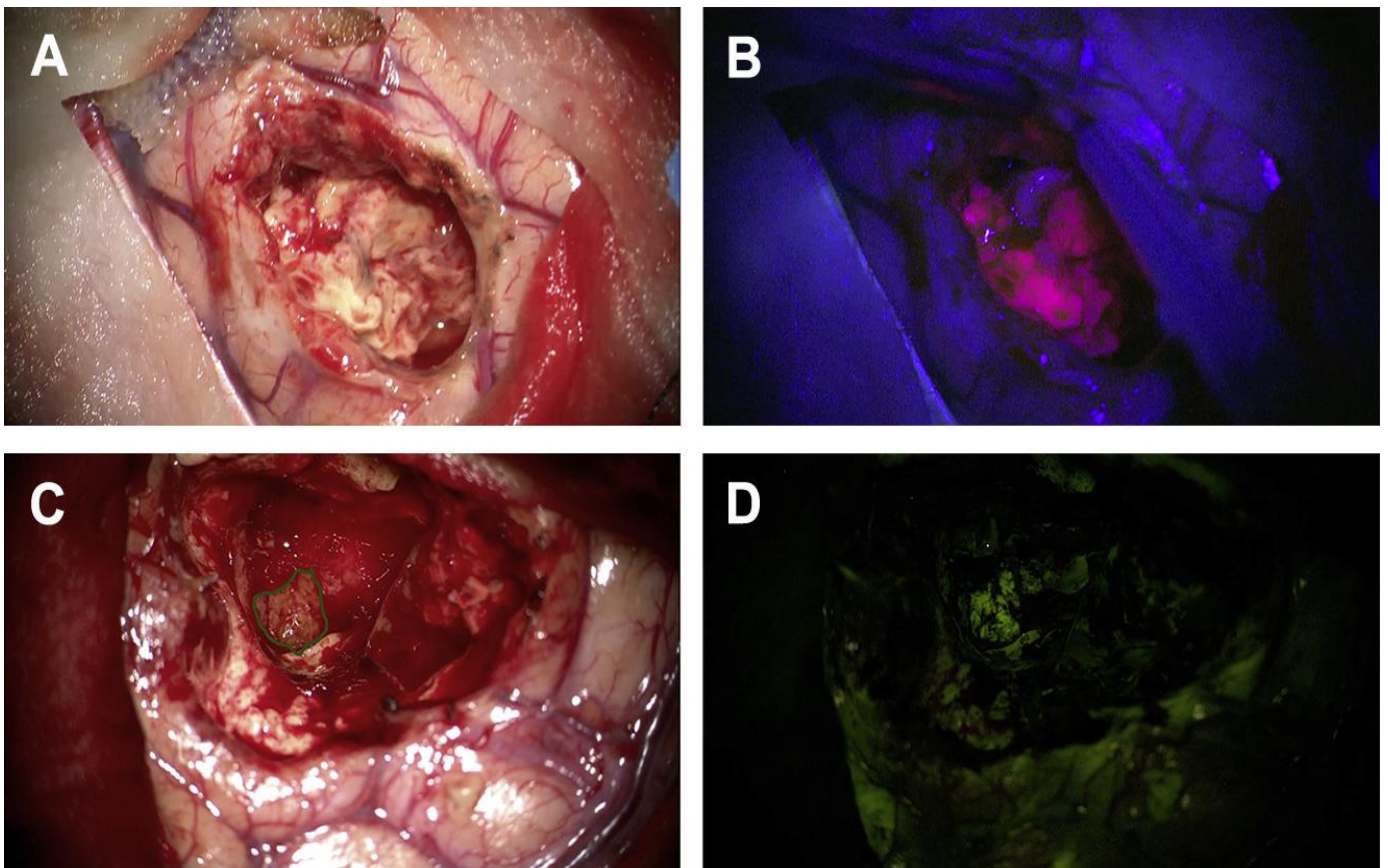
Počítačová tomografie je zobrazovací metoda využívající rentgenového záření za účelem zobrazit tělo, nebo část těla. Výsledný obraz vzniká matematickou rekonstrukcí. Pomocí CT je možné diagnostikovat patologické stavy, které se při prostém vyšetření nebo po podání kontrastní látky liší svou denzitou od okolí (*Kymplová, 2013*).

Jedna z nejnovějších zobrazovacích metod je metoda fluorescenční, viditelná na obrázku 3. Tato metoda se využívá po celém světě a je velmi užitečná pro detekci nádorové tkáně během operace. Využívá se kyselina 5-aminolevulová (5-ALA) anebo se taktéž využívá fluorescein. Specifické nádory mají tu vlastnost, že absorbují určitá barviva. Nádorová tkáň se specificky zabarví, zatímco fyziologická tkáň nikoliv. Obrovská výhoda je zobrazování v reálném čase. Při operaci proto není nutné přerušovat výkon a tuto metodu lze opakovat. Naopak nevýhodou je, že fluorofory mohou být zničeny koagulací nebo může dojít k jejich vysvícení (*Stummer et al., 2017*).

Difúzní tenzorové zobrazování (DTI) je také jedna z novějších technik, která je schopna jako jedna z mála zobrazit bližší strukturu bílé hmoty mozku. Metoda vychází z principu váženého zobrazení (DWI). Proces difuze představuje pohyb molekul vody ve tkáni. Tato difuze je ovlivňována různými faktory. V různých tkáních jsou značné rozdíly v difuzi vody, a je tomu tak také v případě patologických změn ve tkáních stejného druhu. DWI umožní zobrazení difuze pomocí přídatných magnetických gradientů. Ve tkáních, které obsahují protony vodíku vázané v molekulách vody, zapříčiní symetrické, opačně orientované magnetické gradienty, rozfázování a opětovné sfázování spinů, a proto nedojde k žádnému úbytku signálu. Náhodný pohyb vody v oblastech s vysokým stupněm difuze vede ke sfázování a k fázovým posunům, které vedou k poklesu signálu. Pokud je difuze výrazná, je signál DWI obrazu nižší. Výsledky DTI se nejčastěji vyjadřují graficky, ale mohou se vyjádřit i číselně. Jejich základní hodnoty jsou dva parametry, a to aplikovaný difúzní koeficient (ADC), používaný i při DWI obrazu, který vyjadřuje celkovou difuzi vody při měření ve tkáních. Nejdůležitější parametr je však frakční anizotropie (FA). Vyjadřuje míru směrové závislosti difuze. Jedná se o relativní veličiny a nabírá hodnoty 0-1. Čím je tato hodnota vyšší, tím je vyšší FA. Toto vyšetření se provádí v rámci předoperačního vyšetření. Lékařům pomáhá naplánovat strategii operace a následnou pooperační léčbu (*Krekovsky et al., 2010*).

Nádorové markery jsou molekuly rozpustné v krvi a jsou obvykle glykoproteinové povahy. Pro screeningové testy je klíčová vysoká citlivost testu, ale také je důležité, aby měly markery dostatečnou specifitu, aby byly minimalizovány falešně pozitivní výsledky (Sharama, 2009). Mezi nejznámější tumor markery patří prostatický specifický antigen (PSA), jehož zvýšené hladiny jsou spojeny s nádorovým onemocněním prostaty (*Perkins et al., 2003*). Dalším významným markerem je karcinoembryonální antigen (CEA), který se vyskytuje u nemalobuněčného karcinomu plic a malobuněčného karcinomu plic (*Grunnet et al., 2012*). Mezi další významné tumorové markery patří CA 242, který je sacharidové povahy a souvisí

s maligními nádorovými onemocněními trávicího traktu. Dalším příkladem je CA 19-9, který se objevuje u benigních onemocnění pankreatu. Tumorový marker CA 50 je spojen s karcinomem žlučových cest (*Kuusela et al., 1991*). Výše zmíněné nádorové markery jsou důležité nástroje pro diagnostiku a sledování nádorových onemocnění. Jejich správné použití a interpretace mohou přispět k efektivnímu léčebnému postupu a zlepšení prognózy pacientů s rakovinou.



Obrázek 3: Fluorescenční zobrazovací metoda; 5-ALA – fluorescenčně řízená resekce glioblastomu pomocí ALA (Medac, 20 mg/kg tělesné hmotnosti) podaná 4 hodiny před úvodem do anestezie. ALA se specificky hromadí v nádorové tkáni, projevuje se červenou fluorescencí (A, B)

Fluorescein – intraoperační otisk chirurgického zákroku s použitím fluoresceinu (Alcon, 10% roztok, 3 mg/kg) podaný intravenózně. Nádor má silnější fluorescenci než okolní tkáň. Výrazná fluorescence je však také viditelná v okolní prokrvené tkáni a v krvi vytékající do dutiny (C, D) (*Stummer et al., 2017*).

2.3 Klasifikace nádorů nervové tkáně

Nádory nervové tkáně lze rozdělit do dvou skupin. Neuroepiteliální nádory a nádory odvozené od nervových buněk. Mezi neuroepiteliální nádory patří především gliomy, které vycházejí z buněk glií, jako jsou astrocyty, oligodendrocyty a ependymální buňky. Tato skupina zahrnuje také nádory odvozené od choroidního plexu

Gliomy odvozené od astrocytů se dělí do čtyř tříd, přičemž první dvě třídy jsou méně závažné, zatímco třetí a čtvrtá třída představují vysoké riziko. Oligodendrogliomy a anaplastické oligodendrogliomy patří mezi nádory odvozené od oligodendrocytů. Ependymomy, anaplastické ependymomy, myxopapilární ependymomy a subependymomy jsou nádory odvozené od ependymálních buněk (*Ankeret et al., 2023*). Do skupiny neuroepiteliálních nádorů patří i nádory odvozené od nervových buněk, jako jsou ganglioneurom, gangliogliom, retinoblastom, neurocytom a dysembryoplastický neuroepiteliální tumor.

Gangliogliom je vzácný nádor, zejména u dětí, což komplikuje stanovení standardní léčby. Průměrný věk, ve kterém se tento nádor objevuje, je 11,8 let (*Zaky et al., 2018*). Ganglioneurom je dalším vzácným neuroektodermálním nádorem benigní povahy, skládajícím se z gangliových a Schwannových buněk. Jeho typickými rysy jsou oválný tvar a pravidelné okraje, a obvykle se nachází v zadním mediastinu nebo dokonce na dřeni nadledvin u žen (*Pacella et al., 2023*).

Nádory choroidálního plexu jsou vzácné mozkové nádory (*Wolff et al., 2022*), vyskytují se u pacientů všech věkových kategorií, s největší prevalencí u dětí. První případy tohoto onemocnění byly zaznamenány u dětí ve věku pouhých 2 let, s typickými příznaky jako jsou bolest hlavy, poruchy vidění, nevolnost, zvracení a celková malátnost. U malých dětí se můžou objevit také specifické příznaky jako makrocefalie a napjaté fontanely (*Safae et al., 2013*).

Ependymomy jsou třetím nejčastějším nádorem centrální nervové soustavy u dětí, přičemž většina případů se vyskytuje u dětí do 5 let života. I když se mohou vyskytovat kdekoli v mozku a míše, prognóza je obvykle nepříznivá, s mírou 5letého přežití mezi 39 % a 64 %. Dětské ependymomy se geneticky liší od dospělých ependymomů, přičemž u dětí se častěji pozoruje zisk chromozomu 1q (*Gerstner et al., 2018*). Subependymomy jsou vzácné ependymální novotvary, které se nejčastěji objevují u středně starých a starších pacientů. Příznaky se liší podle umístění a velikosti nádoru, avšak často se projevují hydrocefalem, neurologickými deficity, křečemi a subarachnoidálním krvácením (*Rushing et al., 2007*).

Neuroepiteliální nádory tvoří více než 80 % všech nádorů mozku. Zbýlých 20 % nádoru mozku tvoří meningiomy pocházející z meningoepiteliálních buněk. Výčet klasifikace neuroepiteliálních nádorů je popsán v tabulce 1.

Tabulka 1: Klasifikace gliomů (Karschina et al., 2020)

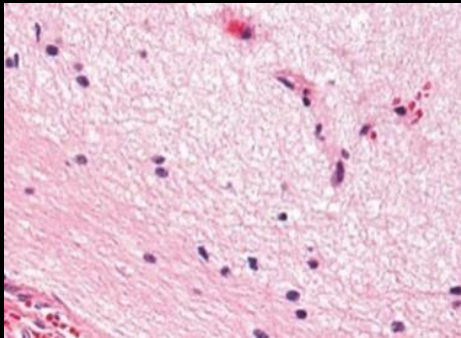
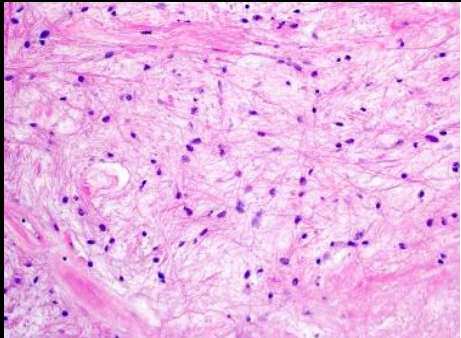
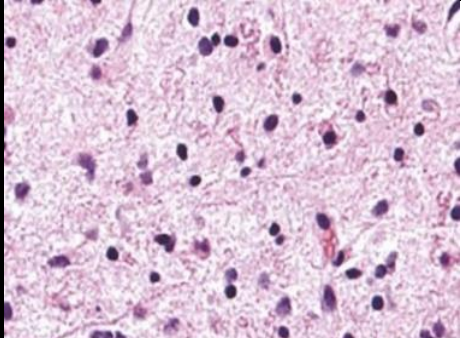
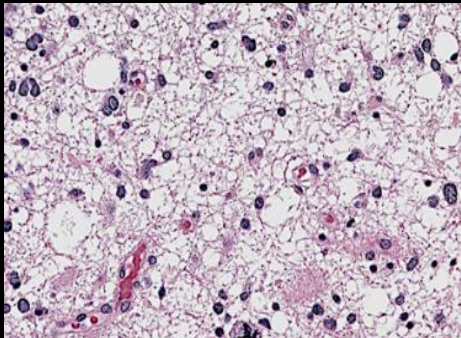
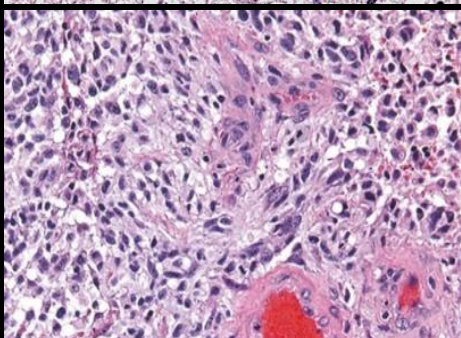
Neuroepiteliální nádory – gliomy			
Astrocyty	Oligodendrocyty	Ependymové buňky	Buňky choroidálního plexu
Pilocytární astrocytom	Oligodendrogliom	Ependymom	Papilom choroidálního plexu
Difúzní astrocytom	Anaplastický oligodendrogliom	Anaplastický ependymom	Papilokarcinom choroidálního plexu
Anaplastický astrocytom	---	Myxopapilární ependymom	---
Glioblastom	---	Subependymom	---

2.4 Astrocytomy

Astrocytomy jsou nádory, které vznikají z astrocytů. Jedná se o nejčastější nádorové onemocnění mozku. Dle statistiky jsou k tomuto onemocnění náchylnější muži než ženy v poměru 1,3/1. Světová zdravotnická organizace (WHO) astrocytomy rozděluje do čtyř tříd. Kritérium pro zařazení nádoru do určité třídy spočívá v jeho charakteru. Odebere se vzorek tkáně a pod mikroskopem se zkoumá atypie buněk. Dále se sleduje růst, mitóza těchto buněk a v neposlední řadě přítomnost nově vytvořených krevních cév v nádoru.

První třída se vyznačuje tím, že se chová benigně, oproti tomu čtvrtá třída se chová nejzhoubněji. Děti většinou trpí astrocytomem první třídy. Také platí, že čím starší pacient je, tím větší je pravděpodobnost vyšší třídy astrocytomy. Do první třídy zařazujeme pilocytární astrocytom (PA), pleomorfní xantoastrocytom (PXA) a subependymální obrovskobuněčný astrocytom (SEGA) V tabulce 2 je znázorněno rozdělení astrocytárních nádorů dle tříd (Thakkari et al., 2014).

Tabulka 2: Astrocytární nádory rozdělené do tříd

	<p>Fyziologická mozková tkáň</p> <ul style="list-style-type: none">○ fyziologická mozková tkáň○ bez nálezu nádorového bujení
	<p>Pilocytární astrocytom</p> <ul style="list-style-type: none">○ I. třída astrocytomu○ benigní chování○ nejčastěji u dětí
	<p>Difúzní astrocytom</p> <ul style="list-style-type: none">○ II. třída astrocytomu○ maligní chování○ výskyt po 40. roce života
	<p>Anaplastický astrocytom</p> <ul style="list-style-type: none">○ III. třída astrocytomu○ maligní chování○ výskyt 65-79 let
	<p>Glioblastom</p> <ul style="list-style-type: none">○ IV. třída astrocytomu○ maligní chování○ výskyt po 60. roce života○ vývin z předešlých tříd, nebo <i>de novo</i>

2.4.1 Pilocytární astrocytom

Pilocytární astrocytomy jsou benigní nádory, které jsou velmi dobře ohraničeny a rostou pomalu. Vytváří se v oblasti mozečku. Výhodou je, že tento nádor neproniká do okolního mozku. Pacienti trpící PA mají pravděpodobnost 10letého přežití přes 90 %. K úspěšné léčbě se vyžaduje chirurgické odstranění a radioterapie. Je malá šance, že se PA dostane do fáze malignity. Symptomy, které pacienti vykazují, závisí na lokalizaci nádoru a rychlosti růstu nádoru. Nejčastější symptomy, které pacienti popisují, jsou bolest hlavy, nevolnost a zvracení. Pokud jsou nádory lokalizovány v oblasti optických drah, mohou způsobit ztrátu zrakové ostrosti. Dále se PA může lokalizovat v oblasti hypotalamu a tam může vést k endokrinním syndromům jako je například diabetes insipidus. U dětí způsobuje předčasnou pubertu (*Collins et al., 2015*). PA jsou z hlediska histologie pomalu rostoucí nádory. Makroskopicky se projevují pevným, šedým uzlem, doprovázeným cystou. Na zobrazovacích vyšetřeních jsou charakteristicky viditelné. Samotná hmota se zvýrazňuje přidáním kontrastu a stěna cysty se tak může zvýraznit (*Bornhorst et al., 2016*).

2.4.2 Pleomorfní xantoastrocytom

Pleomorfní xantoastrocytom je vzácný nádor CNS, objevuje se ve spánkových lalocích. PXA je nejčastěji diagnostikován u pacientů ve věku 16-40 let. Jsou hlášeny i případy, kdy nejmladšímu pacientovi byly 2 roky. Mezi nejčastějšími symptomy jsou bolest hlavy, nauzea a zvracení, občasné záchvaty úzkosti a celkové psychické záchvaty jako jsou například záchvaty vzteku. PXA se nejčastěji lokalizuje na temporálním laloku. Tento typ nádorů má tendenci se šířit mozkomíšním mokem. Z pohledu zobrazovacích technik se nejčastěji vyskytuje jako dobře ohraničená povrchová masa. Dále se pomocí zobrazovacích metod dá zpozorovat pevná cystická membrána. Na počítačové tomografii je cysta hypodenzní. Pevná membrána cysty se často zvýrazňuje pomocí MRI. Léčba spočívá v chirurgickém odstranění nádoru. Po zákroku pacient se doléčuje pomocí radioterapií. Pacientovi je aplikována dávka 45- 54 Gy (*Shaikh et al., 2019*). Šance na přežití pacienta, který byl léčen chirurgickým zákrokem a poté radioterapií je 83 % (*Giannini et al., 1999*).

2.4.3 Subependymální obrovskobuněčný astrocytom

Subependymální obrovskobuněčný astrocytom je vzácný pomalu rostoucí nádor. Mezi hlavními symptomy, kterými pacienti trpí, jsou křeče, bolesti hlavy, malátnost, nauzea a zvracení. Největší pravděpodobnost onemocnění mají děti a dospívající pacienti, vzácně se objevuje po dovršení 20 let. SEGA je většinou velký 1 cm v libovolném směru. Onemocnění SEGA je zobrazováno pomocí MRI a po přidání kontrastu je výrazně lépe viditelné (*Elousrouiti et al., 2016*). Léčba spočívá v chirurgické operaci, při které proběhne úplná resekce nádoru. Pokud by nádor nebyl zcela odstraněn, očekává se v budoucnu jeho další růst. Moderním způsobem resekce nádoru je využití gama nože, při kterém dochází k okamžitému zmenšení nádoru (*Campen, Porter, 2011*).

2.4.4 Difúzní astrocytom

Difúzní astrocytom se řadí mezi masivně se šířící nádory. Zpravidla bývá zasažena větší část mozku. Postihuje především mladé dospělé. Většina pacientů s touto diagnózou nese mutaci isocitrátdehydrogenázy 1 (IDH1) nebo isocitrátdehydrogenázy 2 (IDH2) (*Hasselbatt et al., 2018*). Neexistuje žádná standardní léčba, proto bývá individualizována. Většinou se volí postup chirurgického zákroku. Po zákroku je pacient sledován a plánuje se individuální léčba jako je například chemoterapie či radioterapie (*Aljan Recht, 2014*).

2.4.5 Anaplastický astrocytom

Anaplastický astrocytom je maligní mozkový nádor (*Grimm et al., 2016*). Nejčastěji postihuje dospělé pacienty. Je doprovázen genetickými změnami včetně ztráty heterozygotnosti na chromozomu 19. Existuje řada dědičných syndromů, které mají predispozice ke vzniku anaplastického astrocytomy. Jsou to například neurofibromatóza typu 1 a 2, tuberózní skleróza a Li-Fraumeni syndrom. Diagnóza závisí na správné lokalizaci a velikosti nádoru. Pomocí zobrazovacích technik CT a MRI je možné přesně lokalizovat nádor. Jako léčebný proces se volí standardní postup jako je chirurgická operace, radioterapie a chemoterapie. Chirurgická operace slouží ke získání nádorové tkáně pro histologickou diagnostiku a odstranění nádoru. Poté následuje radioterapie, kterou pacient podstupuje 4 až 6 měsíců. Při ozařování se používá záření o intenzitě 60,2 Gy (*Bleehen et al., 1991*). Účinky chemoterapie nepřináší žádné zlepšení. Jako přípravek pro chemoterapii se dříve používal karmustin, nitromočovina a prokarbazin. Tyto látky byly podávány ve vysokých dávkách, u pacientů ovšem tato léčba nevedla ke zlepšení (*Stupp et al., 2007*).

3 Glioblastoma multiforme

Glioblastoma multiforme (GBM) se řadí do čtvrté třídy astrocytomů. Vyznačuje se velmi silnou agresí a růstem. Napadá mozkovou tkáň, ale nešíří se do dalších vzdálenějších orgánů. GBM v mozku nejčastěji vzniká *de novo*, ale také byly zaznamenány případy, kdy se GBM vyvinul z astrocytomu nižší třídy. U dospělých pacientů nalézáme GBM v mozku konkrétně ve frontálních a temporálních lalocích.

Neléčený GBM většinou končí smrtí pacienta do půl roku i méně. Pokud se tato nemoc včas zachytí a začne se léčit pomocí neuroonkologické a neurochirurgické péče, prodlouží se pacientovi život (*Thakkar et al., 2014*).

3.1 Histologická klasifikace a molekulární změny

Poté, co je pacientovi diagnostikován astrocytom, je nutné provést biopsii pro správné zařazení do třídy. Molekulární biologie vypomáhá při analýze a profilování mozkových nádorů. Díky metodě sekvenování nové generace dochází ke zlepšení, zpřesnění a zrychlení diagnózy. Důležité změny jsou znázorněny v tabulce 3 (*Thakkar et al., 2014*).

IDH mutace označuje mutace v genech pro isocitrátdehydrogenázu, což je enzym podílející se na metabolismu kyseliny citrónové. Tyto mutace jsou často spojeny s gliomy a mají prognostický význam, což znamená, že mohou poskytovat informace o průběhu nemoci (*Horbinski, 2013*). O6-methylguanin-DNA methyltransferáza (MGMT) je důležitým faktorem pro diagnostiku gliomů, včetně glioblastomu. Metylace MGMT je proces, při kterém dochází k přidání metylové skupiny, což má za následek potlačení expresní aktivity enzymu MGMT. Tím dochází k omezení schopnosti opravovat poškození DNA, které může být způsobeno například léčbou alkylačními činidly jako je temozolomid (*Eoli et al., 2007*).

Mutace epidermálního růstového faktoru (EGFR) označuje mutace v genu, který kóduje receptor na povrchu buněk. Tento receptor hraje klíčovou roli v růstu a přežití buněk. Mutace v tomto genu jsou diagnostickým markerem pro glioblastom a také mohou sloužit jako potenciální terapeutický cíl pro léčbu tohoto typu nádoru (*Shinojima et al., 2003*).

Telomerázová reverzní transkriptáza (TERT) je enzym, který katalyzuje prodlužování telomer. Mutace v promotorové oblasti genu pro TERT jsou diagnostickým nástrojem pro glioblastom (*Killela et al., 2013*).

Další molekulární změnou, ke které může u glioblastomu dojít, je zisk 7p a ztráta 10q ramének v genomu buněk. Tyto změny jsou také diagnostickým nástrojem pro glioblastom (Hill et al., 2003).

H3F3A je gen kódující histon H3.3, což je protein, který se váže na DNA a podílí se na regulaci genové exprese. Mutace v tomto genu jsou diagnostickým markerem pro určité podskupiny gliomů a mohou sloužit jako terapeutický cíl.

FGR fúze a NTRK fúze jsou termíny označující fúzi genů, kdy se dva různé geny spojí do jednoho nového genu. Tyto fúze mohou být terapeutickým cílem, protože mohou vytvářet nové proteiny, které mohou být cílem terapeutických léčiv (Simmons et al., 2001). Tyto molekulární změny jsou klíčovými faktory pro lékaře při rozhodování o diagnostice, léčbě a prognóze gliomů a mohou pomoci přizpůsobit terapii individuálním potřebám pacienta.

Tabulka 3: Důležité molekulární změny u GBM (Thakkar et al., 2014)

IDH mutace	Prognostická hodnota, potenciální terapeutický cíl
MGMT metylační stav	Prognostická hodnota, prediktivní hodnota odpovědi na temozolomid
Mutace EGFR	Diagnostický marker pro glioblastom , potenciální terapeutický cíl
Mutace promotoru TERT	Diagnostický nástroj pro glioblastom
Zisk 7p a ztráta 10q	Diagnostický nástroj pro glioblastom
H3F3A	Diagnostický marker pro podskupinu gliomů (H3 K27M-mutant a H3 G34 mutant), terapeutický cíl
FGR fúze	Terapeutický cíl
NTRK fúze	Terapeutický cíl

3.2 Diagnóza *Glioblastoma multiforme*

Moderní zobrazovací techniky dokáží přesně určit o jaký typ nádorového onemocnění se jedná a s velkou přesností zjistit i polohu, kde se nádor v mozku nachází. GBM se dá pomocí zobrazovacích metod velmi rychle diagnostikovat a umožňuje zahájit léčbu. Využívá se magnetická rezonance a její speciální metody, výpočetní tomografie a fluorescenční metoda během operace.

Magnetická rezonance může pomoci GBM rychle diagnostikovat, dále díky MRI můžeme sledovat průběh onemocnění, jelikož toto vyšetření pro pacienta nepředstavuje příliš velkou zátěž. Vlastní provedení je takové, že v první fázi je vytvořen snímek mozku před přidáním čtvrtého kontrastu a následně se udělá snímek s přidáním IV. kontrastu. Takto vytvořené snímky se přes sebe položí. Pokud je na snímcích přítomno zesvětlení, jedná se o GBM nádor. Ostatní astrocytomy nízké třídy nevykazují abnormální zesvětlení jako GBM.

Speciální metody u magnetické rezonance pomáhají lépe zaměřit polohu nádoru, jeho velikost či dokonce jeho chemické složení, které je pro něj charakteristické. Právě chemické složení vyšetřuje speciální technika spektroskopická magnetická rezonance. GBM při tomto vyšetření typicky vykazuje zvýšený pík cholinu a snížení N-acetyl-aspartátu. Funkční magnetická rezonance umožňuje lépe lokalizovat GBM v řečových, jazykových a motorických centrech mozku. Metoda se nazývá BOLD-MRI (*Stumpo et al., 2022*). BOLD-MRI sleduje zejména změny paramagnetického deoxyhemoglobinu.

Aktivací související s úkolem dochází k zvýšení aktivity v mozku, což může vést k nárůstu objemu mozkové kůry. Vlivem mechanismů autoregulace se průtok krve v mozku přizpůsobuje požadavkům spojeným s daným úkolem. Tento proces vede k zvýšení koncentrace oxyhemoglobinu v místní oblasti v porovnání s deoxyhemoglobinem. Deoxyhemoglobin je paramagnetický, což znamená, že má nepárový elektron a chová se jako kontrastní látka, čímž zvyšuje sílu signálu (*Corroyer et al., 2015*). Této změně signálu a barevného kódování je připisována statistická významnost a je superponována na standardní snímky MRI. Umožňuje tak lokalizaci kritických oblastí, kde se GBM nachází (*Zakaria et al., 2008*).

3.3 Příznaky a rizikové faktory *Glioblastoma multiforme*

Pacienti s GBM často trpí škálou příznaků, které jim komplikují kvalitu života. Tyto příznaky jsou často neurologického charakteru. Většinou se projevují v důsledku vzniku nádoru nebo jako vedlejší účinky léčby. Je známo, že příznaky se liší v období diagnózy, během léčby, během sledování a v terminálním stadiu onemocnění. Taktéž jsou popsány symptomy podle stupně gliomu.

Při diagnóze bývají nejčastěji pozorovány příznaky jako bolesti hlavy, závratě, únava, dušnost, zmatenost, porucha řeči, porucha polykání, tonicko-klinické záchvaty a deprese.

V průběhu nemoci se většinou původní příznaky nemění, ale mohou se objevit jiné, nové příznaky, které na začátku nebyly přítomny. Vyskytuje se alopecie, anorexie, zácpy nebo průjemy, poruchy chůze, motorické poruchy a kožní poruchy.

Ke konci života se nové příznaky již neprojevují. Stále převládají příznaky přítomné od začátku diagnózy a v průběhu nemoci. V poslední fázi onemocnění dominuje hlavně únava z důvodu vyčerpání organismu.

Pro zmírnění symptomů mohou být pacientům podávány uklidňující léky, analgetika, nebo léky na deprese, aby došlo ke zvýšení kvality života (*Ijzerman-Korevaar et al., 2018*).

Studie Chandana et al. z roku 2008 uvádí, že nejčastějším symptomem byla bolest hlavy, a to v 56 % případů. Druhým nejčastějším příznakem byla hlášena ztráta paměti (35 % případů). Dále byly ve 34 % případů přítomny kognitivní změny. Dále byly zaznamenány motorické deficity, jazykové deficity, tonicko-klinické záchvaty, či změna osobnosti (*Chandana et al., 2008*). K průběhu onemocnění a změnám osobnosti případu konkrétní pacientky se vztahuje příloha této bakalářské práce.

Dle studií je vznik GBM významně spojen s vzácnými genetickými stavů. Nejčastěji se jedná o autozomálně dominantní poruchu neurofibromatóza 1. Pacienti s touto genetickou vadou trpí řadou dermatologických projevů. Další genetickou predispozicí, která může vést ke vzniku nádorového onemocnění, je stav spojený s mutací p53, který se nazývá Li-Fraumeni syndrom. Tento syndrom se vyskytuje zejména v rodinách s častým výskytem nádorového onemocnění. Většinou se jedná o velmi brzký nástup nádorového onemocnění, zejména pro GBM, který se vyvinul *de novo*.

Dalším rizikem jsou enviromentální faktory, které mohou způsobit nádorové onemocnění. Sem patří například vystavení se vysoké dávce ionizujícího záření. Mezi nedokázané, spekulativní faktory se řadí užívání alkoholu, mobilní telefony, chemické látky, např. barvy na vlasy, pesticidy, rozpouštědla, spotřeba nitrosaminu, dusitanu, dusičnanu, užívání tabáku nebo infekce *Toxoplasma gondii* (Chandana et al., 2008).

3.4 Léčba

Šance na úplné vyléčení GBM je velmi malá. Jedná se o nejsmrtelnější druh rakoviny. Šance na přežití 3 roky a více od diagnózy je 2,2 %. Toto číslo by se ale v budoucnu mohlo zvýšit díky novým léčebným metodám. Existují případy, kdy pacienti přežili po diagnóze déle než 10 let a potenciálně dosáhli vyléčení. Důvodem je to, že v době diagnózy byli mladší než 40 let (Smoll et al., 2012). Pro léčbu se v současnosti využívá chirurgický zákrok, podávání temozolomidu a radioterapie

3.4.1 Radioterapie

Radioterapie je jedna z nejúčinnějších a nejrozšířenějších metod v léčbě nádorových onemocnění. Současný postup v péči o GBM zahrnuje denní podávání temozolomidu v kombinaci s ozařováním. Optimální dávka záření pro GBM je stanovena na 60 Gy (Barani et al., 2015). Vyšší dávky se nedoporučují z důvodu zvýšené toxicity bez významného přínosu pro přežití. Pro zvýšení úspěšnosti radioterapie je důležité vyvinout léky, které zvýší účinnost ozáření a zároveň ochrání fyziologickou tkáň. Radioprotektivní léky zahrnují lapače volných radikálů, regulátory buněčného cyklu nebo inhibitory buněčné apoptózy. Radiosenzitizéry se zaměřují na růstový faktor EGFR. Zejména tyto radiosenzitizéry jsou velmi důležité pro léčbu GBM, jelikož GBM je jeden z nejvíce radiosenzitivních druhů nádorového onemocnění. Příčina senzitivity na tuto terapii je zpříčiněná různými biologickými mechanismy a faktory, jako jsou zmíněný buněčný cyklus a poškození DNA rakovinné buňky (Delaney et al., 2005).

3.4.2 Zlaté nanočástice

V současné době je pro léčbu GBM zavedena nová klinická metoda využívající nanomedicínu. Jsou zde využívány nanočástice kovu s vysokým protonovým číslem. Tyto nanočástice mají vyšší schopnost zastavit záření než měkká tkáň. V klinické radioterapii se používá energie 6 - 20 MeV, jelikož energie v jednotkách keV má malou hloubku průniku do tkání. Nejčastěji se využívají zlaté nanočástice. Pokud jsou zlaté nanočástice ozářeny vlnovou délkou větší, než je jejich velikost, d elektrony jsou polarizovány oscilací, což vede k povrchové plazmonové rezonanci. Zlaté nanočástice mají jedinečnou optickou vlastnost, která se vyznačuje tím, že dokážou měnit svůj tvar a velikost. Tyto nanočástice o velikosti přibližně 25 nm vykazují absorpci ultrafialového záření při 540 nm, tudíž absorpce má tendenci k červenému posunu (*Kincic, 2018*).

Pokud jsou zlaté nanočástice nastaveny tak, aby byly blízko infračervenému záření, mohou být tyto částice použity pro fototermální terapii. Syntetizované zlaté nanočástice o velikosti 25 nm významně zlepšují radiační citlivost GBM *in vitro* i *in vivo*. Lidské buňky GBM ošetřené pomocí radioterapie a zlatých nanočástic vykazovaly 1,7x větší poškození DNA než buňky ošetřené pouze samotnou radioterapií. Taktéž je prokázáno, že kombinací radioterapie se zlatými nanočásticemi se dvojnásobně prodlužuje doba života pacientů trpící tímto onemocněním. Dodání těchto nanočástic do mozku je velmi náročné z důvodu přestupu přes hematoencefalickou bariéru. Bylo zjištěno, že radioterapie může poškodit tuto bariéru a usnadnit vstup nanočástic do mozku. Existují i další metody, jak zvýšit penetraci bariéry, například využití ultrazvuku. Zlaté nanočástice nejsou jediné, které se používají k léčbě. Dále se využívají nanočástice na bázi kovu s vysokým protonovým číslem, jako je stříbro, thantal, gadolinium a supermagnetické oxidy železa (*Choi et al., 2020*).

3.4.3 Virová genová terapie

GBM se pomalu stává rezistentní vůči radioterapii a těžko se léčí. Proto bude nutné brzy najít nový typ léčby tohoto nádorového onemocnění. Nové studie prokazují, že nádor je druh genetického onemocnění. Výzkumy, které hledají nové léčebné postupy, přicházejí s novou metodou, a to virovou genovou terapií. Pro tento typ terapie by se mohly využívat geneticky upravené nelytické a lytické viry, které vykazují účinky proti nádorovým buňkám. Lytickým virům byly vystaveny antigeny GBM, což mělo za následek stimulaci specifické imunitní odpovědi na nádorové buňky. Tato přirozená citlivost buněk GBM na virovou infekci je zdárnou vyhlídkou nové léčby (*Bansal et al., 2000*).

Díky speciálním vlastnostem byly v genové terapii vyzkoušeny retrovirové vektory. Replikující retroviry se byly schopny úspěšně dostat do nádorových buněk a integrovat se jejich genomu. Když se poté podalo léčivo, protein CD133 mohl toto léčivo přeměnit z netoxické formy na cytotoxickou látku a usmrtit buňky GBM. Retrovirové vektory kódují thymidinkinázu viru herpes simplex, která přeměňuje ganciklovir na aktivní látku ganciklovir trifosfát, který inhibuje replikaci DNA a buněčné dělení v nádorových buňkách. TOCA511 je retrovirový vektor, který byl použit k dodání genu cytosindeaminázy do nádorových buněk. Enzym cytosindeaminázy dovede metabolizovat léčivo 5-fluorocytosin na aktivní formu 5-fluoruracil, který způsobuje smrt GBM buněk. Studie prokazují, že tento vektor TOCA511 se dá použít také jako radiosenzibilizační činidlo. Také bylo prokázáno, že je tento vektor bezpečný a poskytuje přínos pro přežití pacientů (*Culver et al., 1992*).

Další viry, které se dají využít, jsou lentiviry. Lentiviry patří do čeledi *retroviridae*. Ve srovnání s retrovirovými vektory jsou lentivirové vektory stabilnější a méně náchylné k mutacím. Ve studii Li et al. byl zkonstruován lentivirový vektor exprimující shRNA k downregulaci Bcl-2 a S-TRAIL, čímž napomáhá k indukci apoptózy v GBM buňkách. Výsledky ukázaly, že tato apoptóza byla zprostředkována právě lentivirovým vektorem a vedla ke zvýšení aktivované kaspázy-3 a kaspázy-7 (*Li et al., 2021*).

4 Glioblastomové buněčné linie

Odolnost vůči terapii je připisována subpopulaci buněk gliomové kmenové buňky (GSC). Aby se v současné době předešlo nedostatku buněčných linií GBM, vědci vyvinuli knihovnu buněčných linií odebraných chirurgicky od švédských pacientů s diagnózou GBM v letech 2009-2012. Tato knihovna nese jméno *Human Glioblastoma Cell Culture* (HGCC) a obsahuje 48 linií buněk glioblastomů. Tyto buňky byly kultivovány za doporučených podmínek pro dokonalé zachování charakteristiky GSC (Xie *et al.*, 2015). Nejrozšířenější buněčné linie jsou U87, U251 a T98G (Joseph *et al.*, 2021).

4.1 Izolace a kultivace *glioblastoma multiforme*

V současnosti je izolace a separace jednotlivých buněk stále technicky náročný proces. Hlavním očekáváním od izolačních a separačních metod jsou výtěžek a kvalita či integrita a čistota buněk. V dnešní době jsou známy moderní metody pro separaci, izolaci a třídění jednotlivých buněk. Tyto technologie lze jednoduše rozdělit dle jejich úrovně automatizace, schopnosti izolovat specifické buňky a kompatibility s určitými aplikačními požadavky (Gross *et al.*, 2015).

Vzorky nádorových buněk se nejčastěji získávají během chirurgické resekce od pacientů s diagnózou GBM. Po odebrání vzorku nádoru jsou transportovány do laboratoře, nejčastěji ve fosfátovém pufovaném fyziologickém roztoku (PBS) obsahujícím 10–15 % penicilinu/streptomycinu. Po transportu laboratoř provede izolaci buněk.

Izolace pomocí trypsinu je nejčastějším způsobem izolace buněk. Vzorek je disociován na malé fragmenty a ty jsou umístěny do roztoku trypsin-ethylendiamintetraacetátu (EDTA). Takto jsou dále inkubovány po dobu 10-15 min při teplotě 37 °C. Na konci inkubace se aktivace trypsinu zastavuje pomocí přídatku média obsahujícího 10 % fetálního bovinního séra (FBS). K peletě se přidá médium a buňky jsou filtrovány přes 70 mikronové buněčné síto. Poté následuje centrifugace a promytí. Promyté buňky jsou naočkovány do kultivačních nádob s médiem složeným z Dulbeccova modifikovaného Eagleova média (DMEM), 10 % FBS, 100 U/ml penicilinu a 0,1 mg/ml streptomycinu při 5 % CO₂ atmosféře a 37 °C (Dundar *et. al.* 2019).

Mezi další metody izolace buněk patří izolace pomocí sady BTB (Brain Tumor Dissociation kit). Vzorek nádorové tkáně je disociován na malé fragmenty a ke tkáni se přidá Hankův pufovaný solný roztok (HBSS). Vzorek je poté přenesen do centrifugační zkumavky a následně je provedena centrifugace. Po centrifugaci je odstraněn supernatant a do tkáně je přidán pufr X (*Janiszewska et al., 2012*). Postupně pak jsou enzym N, enzym A a pufr Y přidány ve specifikovaných poměrech do centrifugační zkumavky a řádně promíchány. Takto připravená tkáň je poté v tomto roztoku 15 min při teplotě 37 °C inkubována. Na konci je tkáň mechanicky disociována a dále inkubována při stejné teplotě po dobu 10 minut. Poté je tkáň zfiltrována přes 70 mikronové buněčné síto, buňky jsou pak dvakrát promyty pomocí HBSS. Po promytí se buňky naočkují do kultivačních nádob s médiem DMEM, 10 % FBS, 100 U/ml penicilinu a 0,1 mg/ml streptomycinu při 5 % CO₂ atmosféře a 37 °C (*Dundar et al., 2019*).

Pro studie a experimenty buněčných kultur se využívá moderní průtoková cytometrie. Je to metoda využívající laserové buzení, která poskytuje možnost izolovat jednotlivé buňky a nabízí různé metody analýzy. Pomocí průtokové cytometrie je možné sledovat buněčné vlastnosti jako je velikost buňky, granulace buněk, pomocí dopředního a bočního rozptylu. Fluorescenčním barvením lze navíc měřit širokou paletu dalších funkčních vlastností buněk. Vzorek buněk je vehnán do přístroje pomocí proudící kapaliny. Využívá se zde efekt hydrodynamické fokusace. Při takovém uspořádání proud buněk prochází laserovým paprskem k zjištění optické excitace. Poté jsou použity optické detektory pro zachycení signálu. Tyto signály závisí na fyzikálních, chemických nebo optických vlastnostech buněk. Krom analýzy velikosti buněk a počítání lze buňky taktéž třídit. Po analýze jsou buňky suspendovány v uzavřeném systému malých kanálků. Pomocí elektricky nabitých destiček pro vychytávání kapiček obsahující zájmové buňky, lze tyto kapky vést do sběrné nádoby.

Mezi pokročilou techniku izolace jednotlivých buněk patří laserová záchytná mikrodisekce která je vhodná pro vzorky pevné tkáně. Tkáňový řez je pozorován mikroskopem a cílová buňka, či cílové buňky jsou vizuálně identifikovány. Pracovník označí na displeji úsek, který má být odříznut pomocí čáry, kterou kolem buněk nakreslí. Podél této čáry laser řeže tkáň a izolované buňky jsou extrahovány (*Gross et al., 2015*).

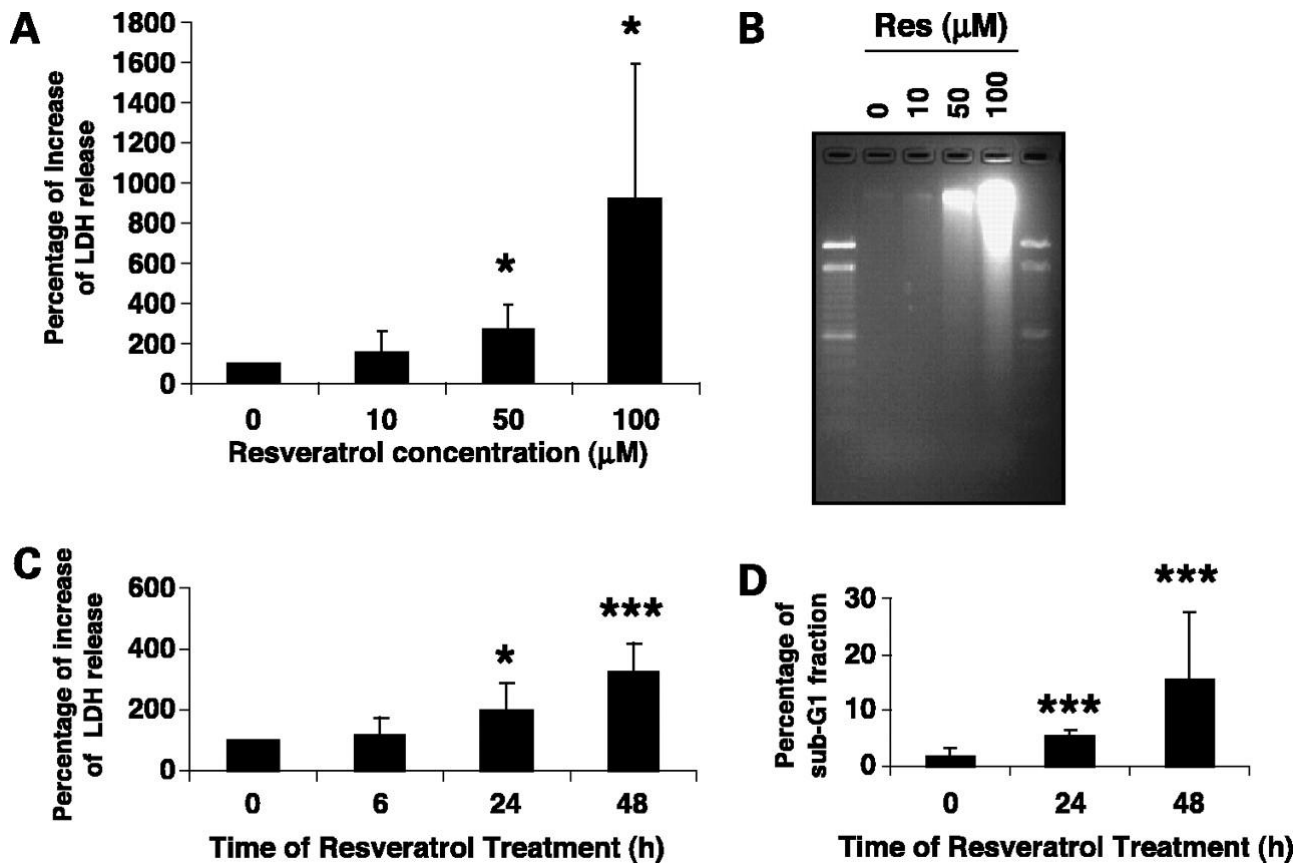
Buňky se poté kryokonzervují pomocí 7-10 % kryoprotektiva dimethylsulfoxidu. Teplota, při které jsou buňky kryokonzervovány je -196 °C (*Silani et al., 1988*). Po rozmrazení se frakce životaschopnosti buněk glioblastomu snižuje z 91 % na 72 % (*Volovitz et al., 2016*).

4.2 Buněčná smrt u buněk *glioblastoma multiforme*

Resveratrol je přirozeně se vyskytující polyfenolová sloučenina, která je vysoce obsažena v hroznech, arašídech a červeném víně. Látka vykazuje protizánětlivé a antioxidační účinky a má také silné protirakovinné vlastnosti. Výzkum ukázal, že vysoká dávka resveratrolu inhibuje buněčnou proliferaci, zastavuje buněčný cyklus a navozuje apoptotickou buněčnou smrt v gliových buňkách U251 (*Jiang et al., 2010*).

Buňky U251 byly experimentálně ošetřeny koncentracemi 0, 10, 50 a 100 $\mu\text{mol/l}$ resveratrolu. Rozsah buněčné smrti byl odečten po 2 dnech. Zjistilo se, že buňky uvolňují během své smrti laktátdehydrogenázu do kultivačního média. Uvolněný enzym laktátdehydrogenáza je úměrný úrovni buněčné smrti. Uvolňování laktátdehydrogenázy se postupně zvyšovalo na 149 %, 261 % a 874 %, kontrolních hladin při koncentraci 10, 50 a 100 $\mu\text{mol/l}$.

Pro stanovení časové závislosti byl proveden další experiment. U251 byly inkubovány po dobu 0, 6, 24 a 48 hodin se 100 $\mu\text{mol/l}$ resveratrolu. Experiment prokázal, že enzym laktátdehydrogenáza byl nejvíce uvolňován po 24 a 48 hodinách. Závěrem této studie je zjištění, že buněčná smrt je závislá na dávce resveratrolu a délce inkubace s tímto polyfenolem, jak ukazuje obrázek 4 (*Jiang et al., 2005*).



Obrázek 4: Účinky resveratrolu na buněčnou smrt U251 závislé na dávce a čase (Jiang *et al.*, 2005).

4.3 Snížená rezistence na léky vlivem nanomateriálů

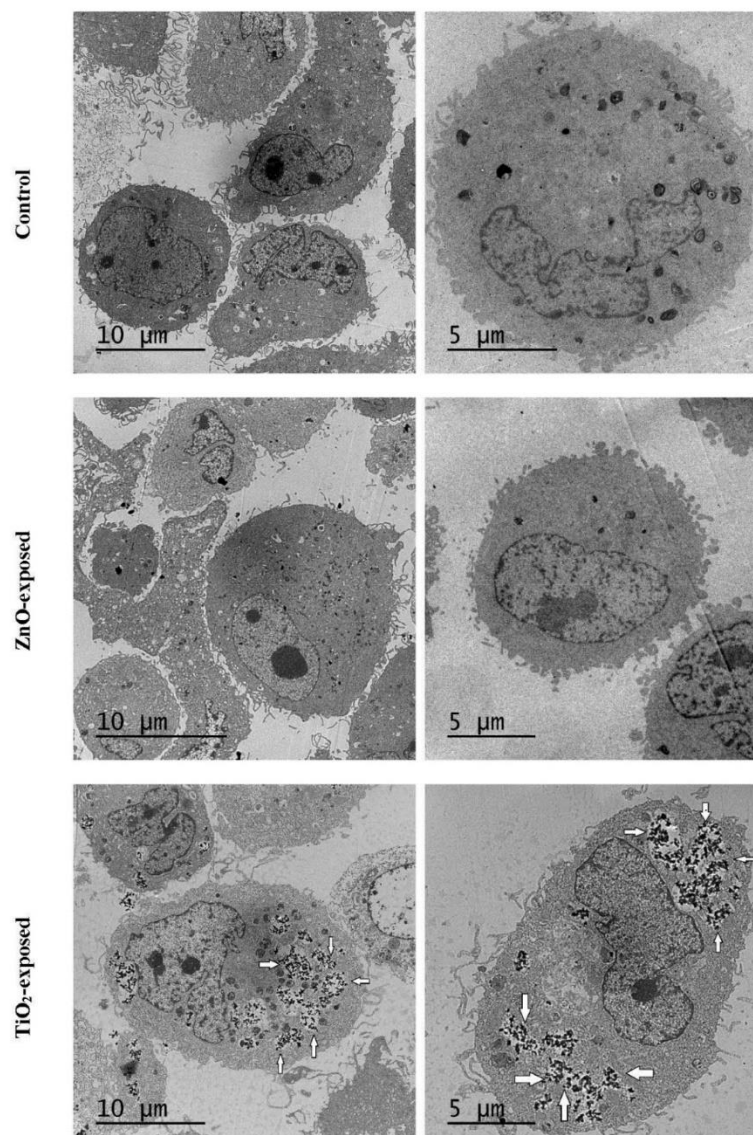
Oxid titaničitý a oxid zinečnatý jsou dva nejpoužívanější nanomateriály. Pro hodnocení účinku různých dávek nanomateriálu na buněčnou linii T98G byly použity TiO_2 s průměrem 27 ± 7 nm a ZnO s průměrem 20 ± 4 nm. Tyto buňky byly zkoumány v laboratorních podmínkách. Výsledky byly publikovány v časopise *International Journal of Molecular Sciences*.

Buňky lidské buněčné linie T98G byly zakoupeny z Evropské sbírky typových buněčných kultur. Tyto buňky byly izolovány z nádoru 61letého bělocha a charakteristicky vypadaly jako fyziologické gliové buňky. Změna byla provedena v jejich buněčném cyklu, který byl zastaven ve fázi G1. T98G byly kultivovány pro 37 stupních celsia v atmosféře 5 % CO_2 .

T98G po kultivaci se naočkovaly do kultivačních nádob ve vhodných denzitách. V první den experimentu byly buňky inkubovány 24 hodin. Druhý den bylo médium od buněčné kultury odstraněno a bylo nahrazeno čerstvým médiem obsahující nanočástice TiO_2 o koncentraci 20 $\mu\text{g/ml}$ nebo ZnO o koncentraci 5 $\mu\text{g/ml}$. Po 72 hodinách byly buňky fixovány pro hodnocení pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM). Nebyly nalezeny významné rozdíly mezi kontrolními buňkami a buňkami s nanočásticemi ZnO . Nanočástice TiO_2 ale prostoupily dovnitř buněk T98G, jak je znázorněno na obrázku 5, a tvořily uvnitř cytoplazmy shluky. Proto byly pro další experimenty zvoleny nanočástice TiO_2 (Fuster et al., 2021). Po působení 5 $\mu\text{g/ml}$ nanočástic oxidu zinečnatého po dobu 72 hodin nebyla zaznamenána žádná reakce. Ovšem 20 $\mu\text{g/ml}$ nanočástic oxidu titaničitého způsobilo mnoho biologických změn v buňkách. Jednou z těchto změn je transkriptomická změna. Nanočástice oxidu titaničitého vyvolaly závažné transkriptomické změny v buňkách glioblastomu T98G. Změny v transkriptomu naznačují, že nanočástice TiO_2 ovlivňují genovou expresi v buňkách glioblastomu (Saha et al., 2018). Nevýhoda oxidu titaničitého je, že vysoce poškozují hematoencefalickou bariéru a tím může způsobovat zánět v nervové tkáni.

Analýza TEM naznačila vyvolání autofagie buněk T98G při vystavení nanočásticím TiO₂. Aby se tato myšlenka potvrdila, proběhl další experiment. Ve druhém experimentu byly buňky T98G vystaveny koncentraci 20 µg/ml TiO₂ nanočástic po dobu 72 hodin. Po 72 hodinách byly nanočástice odstraněny, byla izolována RNA pomocí Trizolu a testovala se exprese genu BECLIN 1 pomocí metody RT-PCR. Byla prokázána mírná aktivace genů LC3 a ATG3. Gen LC3 kóduje protein, který je důležitý pro tvorbu autofagozomu. ATG3 kóduje 3 související proteiny, které jsou taktéž pro autofagii potřebné.

Z tohoto výzkumu vyplývá, že použití nanočástic TiO₂ při léčbě glioblastomu si zaslouží pozornost a další výzkum, protože tyto nanočástice pravděpodobně snižují rezistenci na protirakovinná léčiva a snižují schopnost tvorby metastáz (Fuster et al., 2021).



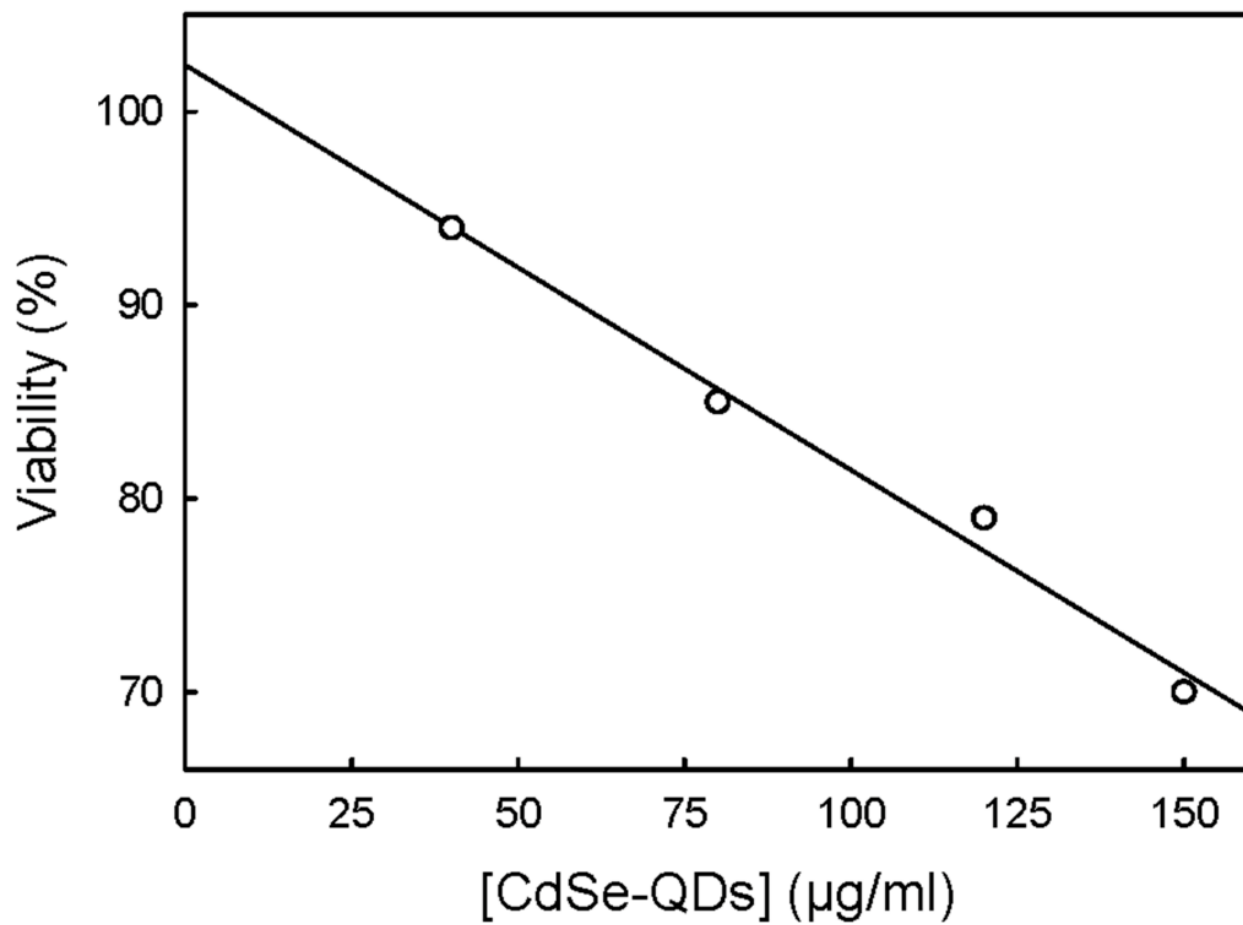
Obrázek 5: Vizualizace buněk T98G pomocí TEM; Bílé šipky označují shluky TiO₂ nanočástice v oblastech cytoplazmatické autofagie (Fuster et al., 2021).

4.4 Využití kvantových teček pro snižování životaschopnosti

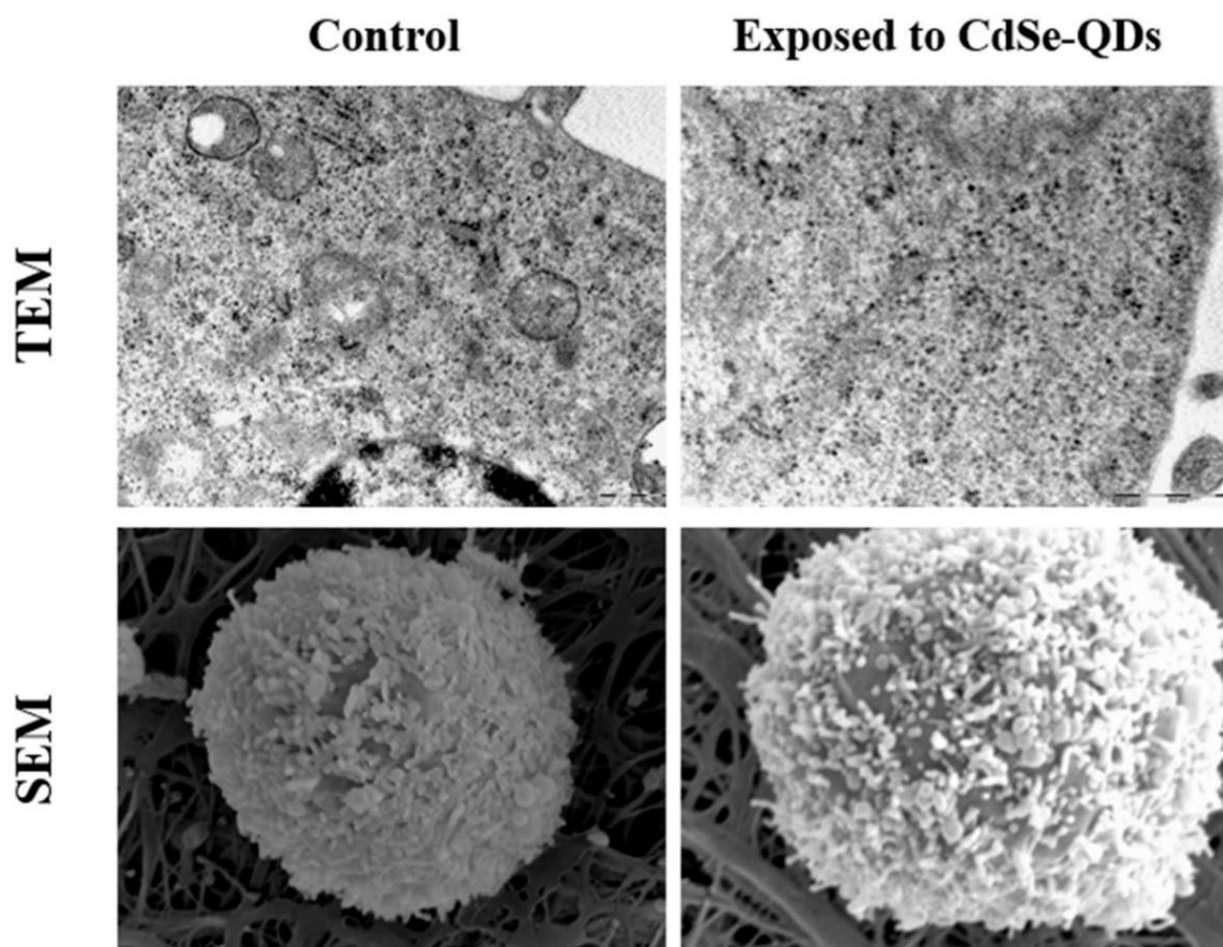
Kvantové tečky patří do skupiny nanočástic, které mají všechny tři rozměry na úrovni nanometru (*Mo, Hu et al., 2017*). Tento experiment z roku 2022 sledoval účinek kvantových teček kadmia a selenu na lidské buňky T98G. Z nanočástic selenidu kademnatého (CdSe) byla ve fyziologickém roztoku s fosfátovým pufrem připravena zásobní suspenze 400 µg/ml. Po kultivaci byly buňky naočkovány do kultivačních nádob v kompletním médiu. Druhý den experimentu bylo médium odstraněno a na 72 hodin bylo přidáno médium obsahující CdSe nanočástice (*Zhao et. al., 2015*).

Buňky glioblastomu T98G byly vystaveny nanočásticím CdSe o koncentraci v rozmezí 40 až 150 µg/ml po dobu 72 hodin. Nejvyšší použitá koncentrace nanočástic snížila životaschopnost T98G o 30 %. Snižování životaschopnosti po inkubaci buněk s vysokými koncentracemi CdSe je vidět na obrázku 6. Buňky T98G ovlivněné 40 µg/ml CdSe byly následně analyzovány TEM, jak je vidět na obrázku 7. Analýza neprokázala navázané kvantové tečky na cytoplazmatickou membránu buněk. Tento výsledek byl následovně několikrát potvrzen v několika na sobě nezávislých experimentech se dvěma různými kulturami.

Experiment prokázal, že kvantové tečky CdSe jsou schopny změnit řadu biologických drah. K jedné z nejvýznamnějších změn docházelo v dráze receptoru zajišťujícího uvolnění hormonu gonadotropinu. Hormon gonadotropin určuje sexuální vývoj, vývoj pohlavních buněk a reprodukční funkci. Neuroglie se na této regulaci podílí. Nanočástice CdSe dysregulují tuto hormonální dráhu a mohou měnit reprodukční výkon (*Fuster et al., 2022*).



Obrázek 6: Účinky kvantových teček selenidu kadmátého na životaschopnosti buněk T98G glioblastomových buněk (*Fuster et al.,2022*)



Obrázek 7: Buňky lidského glioblastomu T98G, na kterých bylo použito CdSe-QDs a jsou vizualizované pomocí transmisní elektronové mikroskopie (*Fuster et al., 2022*).

5 Seznam použité literatury

1. AISHA, P.; JONES, M.; BROWN, S. et al. Benign vs Malignant Tumors. JAMA ONCOLOGY. 2020, September, 6(9), 1488-1488. DOI: 10.1001/jamaoncol.2020.2592
2. AJLAN, A.; RECHT, L.; SMITH, J. et al. Supratentorial low-grade diffuse astrocytoma: medical management. In: Seminars in Oncology. WB Saunders, 2014. p. 446-457. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2014.05.013
3. AKERET, K.; WELLER, M.; KRAYENBÜHL, N.. The anatomy of neuroepithelial tumours. Brain, 2023, awad138. DOI: 10.1093/brain/awad138
4. BANSAL, K.; ENGELHARD, H. H.; THOMPSON, E. et al. Gene therapy for brain tumors. Current oncology reports, 2000, 2: 463-472. DOI: 10.1007/s11912-000-0107-4
5. BARANI, I. J.; LARSON, D. A.; MILLER, R. et al. Radiation therapy of glioblastoma. Current understanding and treatment of gliomas, 2015, 49-73. DOI: 10.1016/B978-0-12-800872-5.00003-8
6. BLEEHEN, N. M.; STENNING, S. P.; CLARK, A. et al. A Medical Research Council trial of two radiotherapy doses in the treatment of grades 3 and 4 astrocytoma. British journal of cancer, 1991, 64.4: 769-774. DOI: 10.1038/bjc.1991.416
7. BORNHORST, M.; FRAPPAZ, D.; PACKER, R. J. et al. Pilocytic astrocytomas. Handbook of clinical neurology, 2016, 134: 329-344. DOI: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00019-4
8. BRODAL, P.; JOHNSON, S.; WILLIAMS, D. et al. The central nervous system. oxford university Press, 2010. DOI: 10.1093/acprof:oso/9780195165609.001.0001
9. BUTT, A.; VERKHRATSKY, A.; WALKER, R. et al. Neuroglia: Realising their true potential. Brain and Neuroscience Advances, 2018, 2: 2398212818817495. DOI: 10.1177/2398212818817495
10. CAMPEN, C. J.; PORTER, B. E.; KIM, Jennifer et al. Subependymal giant cell astrocytoma (SEGA) treatment update. Current treatment options in neurology, 2011, 13: 380-385. DOI: 10.1007/s11940-011-0132-z
11. COLLINS, V. P.; GIANNINI, C.; JONES, D. TW et al. Pilocytic astrocytoma: pathology, molecular mechanisms and markers. Acta neuropathologica, 2015, 129: 775-788. DOI: 10.1007/s00401-015-1410-7

12. CORROYER-DULMONT, A.; ALLEMAND, R.; BOUTET, C. et al. Imaging modalities to assess oxygen status in glioblastoma. *Frontiers in Medicine*, 2015, 2: 57. DOI: 10.3389/fmed.2015.00057
13. CSERHATI, M.; SANDERS, L. The wonderfully designed cell cycle. *CREATION* . 2019, 41(4), 16-18. DOI: N/A
14. CULVER, K. W.; AUERBACH, J. M.; KOTIN, R. M. et al. In vivo gene transfer with retroviral vector-producer cells for treatment of experimental brain tumors. *Science*, 1992, 256.5063: 1550-1552. DOI: 10.1126/science.256.5063.1550
15. DEBANNE, D.; POULOPOULOS, CHh.; THOMAS, M. B. et al. Axon physiology. *Physiological reviews*, 2011, 91.2: 555-602. DOI: 10.1152/physrev.00013.2010
16. DELANEY, G.; BARTON, M. B.; EGAN, G. F. et al. The role of radiotherapy in cancer treatment: estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 2005, 104.6: 1129-1137. DOI: 10.1002/cncr.21324
17. DUNDAR, T. T.; AYDIN, M. A.; GULSEN, F. et al. Glioblastoma stem cells and comparison of isolation methods. *Journal of Clinical Medicine Research*, 2019, 11.6: 415. DOI: 10.14740/jocmr3770
18. ELOUSROUTI, L. T.; GHAFFAR, H.; MALIK, S. et al. Subependymal giant cell astrocytoma (SEGA): a case report and review of the literature. *Journal of Medical Case Reports*, 2016, 10: 1-4. DOI: 10.1186/s13256-015-0762-1
19. EOLI, M.; SILANI, V.; BARANI, I. J. et al. Methylation of O 6-methylguanine DNA methyltransferase and loss of heterozygosity on 19q and/or 17p are overlapping features of secondary glioblastomas with prolonged survival. *Clinical Cancer Research*, 2007, 13.9: 2606-2613. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2672
20. FIALA, J. C.; HARRIS, K. M.; JACKSON, D.arcy A. et al. Dendrite structure. *Dendrites*, 1999, 2: 1-11. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80564-4
21. FUSTER, E.; GONZÁLEZ-COROMINAS, A.; MARTÍNEZ-REKALDE, A. et al. A Transcriptomic Analysis of T98G Human Glioblastoma Cells after Exposure to Cadmium-Selenium Quantum Dots Mainly Reveals Alterations in Neuroinflammation Processes and Hypothalamus Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23.4: 2267. DOI: 10.3390/ijms23042267

22. FUSTER, E.; LÓPEZ-MILÁN, B.; ROCA, C. et al. Titanium dioxide, but not zinc oxide, nanoparticles cause severe transcriptomic alterations in T98G human glioblastoma cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22.4: 2084. DOI: 10.3390/ijms22042084
23. GARMAN, R. H. Histology of the central nervous system. *Toxicologic pathology*, 2011, 39.1: 22-35. DOI: 10.1177/0192623310383333
24. GERSTNER, E. R.; PAJTLER, K. W.; WICK, Wolfgang et al. Ependymoma. In: *Seminars in neurology*. Thieme Medical Publishers, 2018. p. 104-111. DOI: 10.1055/s-0038-1667160
25. GIANNINI, C.; BUCKNER, J. C.; JENKINS, R.t B. et al. Pleomorphic xanthoastrocytoma: what do we really know about it?. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 1999, 85.9: 2033-2045. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19990501)85:9<2033::AID-CNCR2>3.0.CO;2-8
26. GOLDBERG, J. L.; YANG, Z.; KUKLIN, A. F. et al. How does an axon grow?. *Genes & development*, 2003, 17.8: 941-958. DOI: 10.1101/gad.1067003
27. GONZALESONZALEZ, H.; HAGERLINGGagerling, C.; WERBERB, Z., et al. (2018). Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes & development*, 32(19-20), 1267-1284. doi: DOI:10.1101/gad.314617.118
28. GRIMM, S. A.; CHAMBERLAIN, M.arc C.; INAN, Salim et al. Anaplastic astrocytoma. *CNS oncology*, 2016, 5.3: 145-157. DOI: 10.2217/cns-2016-0017
29. GROSS, A.; HEINZMANN, J.; MOCKEL, D. et al. Technologies for single-cell isolation. *International journal of molecular sciences*, 2015, 16.8: 16897-16919. DOI: 10.3390/ijms160816897
30. GRUNNET, M.; SORENSEN, J. B.; MAIWALD, U. et al. Carcinoembryonic antigen (CEA) as tumor marker in lung cancer. *Lung cancer*, 2012, 76.2: 138-143. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.10.017
31. HASSELBLATT, M.; PREUSCHMANN, A.; ROSE, Ch. et al. Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype: a dissolving diagnosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 2018, 77.6: 422-425. DOI: 10.1093/jnen/nly026
32. HILL, Ch.; HUNTER, St. B.; BRAT, D.I J. et al. Genetic Markers in Glioblastoma: Prognostic Significance and Future Therapeutic Implications: On: Impact of Genotype Morphology on the Prognosis of Glioblastoma. Schmidt MC Antweiler S, Urban N, et al.: *J Neuropathol Exp Neurol*: 2002; 61: 321–328. *Advances in anatomic pathology*, 2003, 10.4: 212-217. DOI: 10.1097/01.PAP.0000062025.24118.21

33. HORBINSKI, C.; LITTRELL, K.; MINH, M. et al. What do we know about IDH1/2 mutations so far, and how do we use it?. *Acta neuropathologica*, 2013, 125: 621-636. DOI: 10.1007/s00401-013-1082-9
34. CHANDANA, S. R.; MOVVA, S.; ARORA, M. et al. Primary brain tumors in adults. *American family physician*, 77(10), 1423-1430. DOI: 10.1177/0192623310383333
35. CHOI, J.; KIM, G.; CHO, S. B. et al. Radiosensitizing high-Z metal nanoparticles for enhanced radiotherapy of glioblastoma multiforme. *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1), 1-23. DOI: 10.1186/s12951-020-00635-9
36. IJZERMAN-KOREVAAR, M.; BAKKERS, J.; VANDERWAL, J. et al. Prevalence of symptoms in glioma patients throughout the disease trajectory: a systematic review. *Journal of neuro-oncology*, 2018, 140: 485-496. DOI: 10.1007/s11060-018-02990-4
37. JAN, Y.; JAN, L. Y.; ZHANG, F. et al. Dendrites. *Genes & development*, 2001, 15.20: 2627-2641. DOI: 10.1101/gad.927801
38. JANISZEWSKA, M.; BAJEK, A.; HOLT, B. T. et al. Imp2 controls oxidative phosphorylation and is crucial for preserving glioblastoma cancer stem cells. *Genes & development*, 2012, 26.17: 1926-1944. DOI: 10.1101/gad.194746.112
39. JIANG, H.; LIU, G.; SHU, L. et al. Resveratrol-induced apoptotic death in human U251 glioma cells. *Molecular cancer therapeutics*, 2005, 4.4: 554-561. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-04-0231
40. JIANG, H.; ZHANG, Liping; XU, Qing et al. Combination treatment with resveratrol and sulforaphane induces apoptosis in human U251 glioma cells. *Neurochemical research*, 2010, 35: 152-161. DOI: 10.1007/s11064-009-0076-2
41. JOSEPH, J. V.; SMITH, E. R.; GARCIA, A. et al. Three-dimensional culture models to study glioblastoma—Current trends and future perspectives. *Current Opinion in Pharmacology*, 2021, 61: 91-97. DOI: 10.1016/j.coph.2021.05.002
42. KARSCHNIA, P.; LANGE, J.; MÜLLER, A. et al. Leptomeningeal dissemination of low-grade neuroepithelial CNS tumors in adults: a 15year experience. *Neuro-Oncology Practice*, 2020, 7.1: 118-126. DOI: 10.1093/nop/npy043
43. KERKOVSKY, A.; NOVAKOVA, A.; SVOBODA, T. et al. Diffusion tensor imaging—soucasne možnosti MR zobrazeni bile hmoty mozku. *Ceska a slovenska neurologie a neurochirurgie*, 2010, 73.106: 136-142. DOI: 10.1016/j.coph.2021.05.002

44. KILLELA, P. J.; PUROW, B. W.; FINOCCHIARO, G. et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110.15: 6021-6026. DOI: 10.1073/pnas.1303607110
45. KITTNAR, O. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada, 2011. ISBN isbn978-80-247-3068-4.
46. KLENER, Pavel. *Základy klinické onkologie*. Praha: Galén, c2011. ISBN isbn978-80-7262-716-5.
47. KUNCIC, Z.; LACOMBE, S.; MARIN, A. et al. Nanoparticle radio-enhancement: principles, progress and application to cancer treatment. *Physics in Medicine & Biology*, 2018, 63.2: 02TR01. DOI: 10.1088/1361-6560/aa9c20
48. KUUSELA, P.; HAGLUND, C.; ROBERTS, P. J. et al. Comparison of a new tumour marker CA 242 with CA 19-9, CA 50 and carcinoembryonic antigen (CEA) in digestive tract diseases. *British journal of cancer*, 1991, 63.4: 636-640. DOI: 10.1038/bjc.1991.146
49. KYMPLOVÁ, J.; VLACHOVÁ, Š.; ZAJÍČKOVÁ, K. et al. Katalog metod v biofyzice. Multimediální podpora výuky klinických a zdravotnických oborů::oborů: Portál 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy; ISSN 1803-6619., 2013. DOI: 10.13140/RG.2.2.17916.82564
50. LEARN WITH ABELearn With Abe. USA: Written By Abraham Arzola, 2009. DOI: N/A
51. LI, J.; WANG, W.; WANG, J. et al. Viral gene therapy for glioblastoma multiforme: a promising hope for the current dilemma. *Frontiers in Oncology*, 11, 678226. DOI: 10.3389/fonc.2021.678226
52. LOWE, SCOTT, W.; LIN, A. W., et al. (2000). Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, 21(3), 485-495. doi: DOI:10.1093/carcin/21.3.485
53. MCMILLAN, B.; SMITH, A.; JONES, S. et al. *Velký ilustrovaný Atlas Lidského Těla*. Praha: Svojtka&Co., 2009. ISBN 989-80-256-0152-5. DOI: N/A
54. MILLS, K. L.; TAMNES, Ch. K.; SMITH, J. et al. Methods and considerations for longitudinal structural brain imaging analysis across development. *Developmental cognitive neuroscience*, 2014, 9: 172-190. DOI: 10.1016/j.dcn.2014.03.008
55. MO, D.; WANG, L.; CHEN, W. et al. Cadmium-containing quantum dots: properties, applications, and toxicity. *Applied microbiology and biotechnology*, 2017, 101.7: 2713-2733. DOI: 10.1007/s00253-017-8220-1

56. MUZIO, M. R.; CASCELLA, M.; FERRARI, G. et al. Histology, axon. 2020. DOI: N/A
57. NELSON, A. D.; JENKINS, P. M.; SMITH, E. et al. Axonal membranes and their domains: assembly and function of the axon initial segment and node of Ranvier. *Frontiers in cellular neuroscience*, 2017, 11: 136. DOI: 10.3389/fncel.2017.00136
58. Neuron. In: *Neuronové síť* . Praha: Gurney: Neural Nets Kröse, Smagt: An Introduction to Neural Networks. DOI: N/A
59. NOCERA, G.; JACOB, C.; ROSSI, A. et al. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2020, 77: 3977-3989. DOI: 10.1007/s00018-020-03496-0
60. PACELLA, G.; ROSSI, L.; GIORDANO, L. et al. Imaging of ganglioneuroma: a literature review and a rare case of cystic presentation in an adolescent girl. *Diagnostics*, 2023, 13.13: 2190. DOI: 10.3390/diagnostics13132190
61. PERKINS, G. L.; ANDERSON, J. M.; WILLIAMS, E. et al. Serum tumor markers. *American family physician*, 2003, 68.6: 1075-1082. DOI: 10.1046/j.1525-1438.2003.13038.x
62. RUSHING, E. J.; JOHNSON, M. L.; SMITH, D. et al. Subependymoma revisited: clinicopathological evaluation of 83 cases. *Journal of neuro-oncology*, 2007, 85: 297-305. DOI: 10.1007/s11060-007-9429-2
63. SAFAEE, Mi.BERGERS, Ga.; GARCIA, A. et al. Choroid plexus papillomas: advances in molecular biology and understanding of tumorigenesis. *Neuro-oncology*, 2013, 15.3: 255-267. DOI: 10.1093/neuonc/nos324
64. SAHA, S.; PATIL, S.; CHATTERJEE, P. et al. Autophagy in health and disease: A comprehensive review. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 2018, 104: 485-495. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.064
65. SAKKA, L.; COLL, G.; CHAZAL, J. et al. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases*, 2011, 128.6: 309-316. DOI: 10.1016/j.anorl.2011.03.002
66. SHAIKH, N.; AHMAD, T.; KHAN, Z. S. et al. Pleomorphic xanthoastrocytoma: a brief review. *CNS oncology*, 2019, 8.3: CNS39. DOI: 10.2217/cns-2018-0014
67. SHARMA, S.; AGRAWAL, M.; MISHRA, A. K. Tumor markers in clinical practice: General principles and guidelines. *Indian journal of medical and paediatric oncology*, 2009, 30.01: 1-8. DOI: 10.4103/0971-5851.56390

68. SHINOJIMA, N.; SATO, J.; NAKA, T. et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer research*, 2003, 63.20: 6962-6970. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-0208
69. SIDIROPOULOU, K.; PISSADAKI, E. K.; POIRAZI, P. et al. Inside the brain of a neuron. *EMBO reports*, 2006, 7.9: 886-892. DOI: 10.1038/sj.embor.7400784
70. SILANI, V.; MAIER, J. A.; MORTON, P. D. et al. Human neuronal cell viability demonstrated in culture after cryopreservation. *Brain research*, 1988, 473.1: 169-174. DOI: 10.1016/0006-8993(88)90251-0
71. SIMMONS, M. L.; JONES, P.; THOMAS, D. et al. Analysis of complex relationships between age, p53, epidermal growth factor receptor, and survival in glioblastoma patients. *Cancer research*, 2001, 61.3: 1122-1128. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-00-2567
72. SMOLL, N. R.; SCHALLER, K.; GAUTSCHI, O. P. et al. The cure fraction of glioblastoma multiforme. *Neuroepidemiology*, 2012, 39.1: 63-69. DOI: 10.1159/000339881
73. Smoll, N. R.; Schaller, K.; Gautschi, O. P., et al. (2013). Long-term survival of patients with glioblastoma multiforme (GBM). *Journal of Clinical Neuroscience*, 20(5), 670-675. doi: DOI:10.1016/j.jocn.2012.07.006
74. STASSART, R. M.; MOYAERTS, D.; BORGERS, M. et al. The axon-myelin unit in development and degenerative disease. *Frontiers in neuroscience*, 2018, 12: 368527. DOI: 10.3389/fnins.2018.00527
75. STUMMER, W.; MOLINA, E. S.; VARGAS, R. K. et al. Fluorescence imaging/agents in tumor resection. *Neurosurgery Clinics*, 2017, 28.4: 569-583. DOI: 10.1016/j.nec.2017.06.008
76. STUMPO, V.; GARCIA, C.; WANG, Y. et al. Feasibility of glioblastoma tissue response mapping with physiologic BOLD imaging using precise oxygen and carbon dioxide challenge. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 2022, 1-16. DOI: 10.1007/s10334-022-00912-3
77. STUPP, R.; MASON, W. P.; HEGI, M. E. et al. Anaplastic astrocytoma in adults. *Critical reviews in oncology/hematology*, 2007, 63.1: 72-80. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.03.004
78. THAKKAR, J. P.; DOBROLEWSKI, N.; FINK, A. L. et al. Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 2014, 23.10: 1985-1996. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0275

79. VACEK, Z.; KOSTÁK, V.; PRŮCHA, J. Histologie a histologická technika. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1995. DOI: N/A
80. VOLOVITZ, I.; SHALEV, B.; ARBIV, C. et al. A non-aggressive, highly efficient, enzymatic method for dissociation of human brain-tumors and brain-tissues to viable single-cells. *BMC neuroscience*, 2016, 17: 1-10. DOI: 10.1186/s12868-016-0268-z
81. WISHART, D. S.; TANG, P.; FONG, J. et al. The human cerebrospinal fluid metabolome. *Journal of Chromatography B*, 2008, 871.2: 164-173. DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.05.001
82. WOLFF, J. E. A.; BÖKER, D. K.; SEBES J. I. Choroid plexus tumours. *British journal of cancer*, 2002, 87.10: 1086-1091. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600576
83. XIE, Y.; BERGER, M. S.; PRADOS, M. et al. The human glioblastoma cell culture resource: validated cell models representing all molecular subtypes. *EBioMedicine*, 2015, 2.10: 1351-1363. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.08.021
84. YOUNG, R. J.; KNOPP, E. A.; LECHNER, S. M. et al. Brain MRI: tumor evaluation. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2006, 24.4: 709-724. DOI: 10.1002/jmri.20683
85. ZAKARIA, Je.; PRABHU, V. C.; RAJPUT, A. H. et al. Cortical mapping in the resection of malignant cerebral gliomas. *Exon Publications*, 2017, 263-280. DOI: N/A
86. ZAKY, W.; AHMED, A.; MOHAMED, S. et al. Ganglioglioma in children and young adults: single institution experience and review of the literature. *Journal of neuro-oncology*, 2018, 139: 739-747. DOI: 10.1007/s11060-018-2922-3
87. ZHAO, Y.; LIU, X.; HUANG, Ch.. et al. Translocation and neurotoxicity of CdTe quantum dots in RMEs motor neurons in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 283: 480-489. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.09.052

6 Příloha – Kazuistika pacientky s glioblastomem

Tato kazuistika pojednává o pacientce, které byl diagnostikován GBM. Cílem této kazuistiky je podrobně popsat první příznaky onemocnění, komplexní diagnózu a průběh léčby. Dále je v závěru kazuistiky stručně zmíněn dopad onemocnění na život pacientky od zjištění diagnózy.

6.1 Úvod

Žena, 64 let, narozena 20. 1. 1957, trvalým bydlištěm Jeseníky. Pacientka aktivní, komunikativní, milující život, v důchodu pracující na příležitostných brigádách. V Jeseníku pacientka žila se svým manželem a třemi dětmi. V únoru roku 2021 jí byl diagnostikován glioblastom, na který dne 21. 11. 2021 v nemocnici Jeseník umírá.

6.2 Anamnéza

Ve svých 30 letech začala pacientka trpět depresí, která byla pravděpodobně způsobena rodinnými problémy. Tento stav byl léčen medikací naordinovanou psychiatrem. O deset let později, ve svých 40 letech, začala pacientka trpět silnými migrénami. Praktický lékař, pacientce předepsal léky na migrénu, které užívala až do konce života. Jiné relevantní anamnestické údaje nejsou známy.

6.3 Diagnóza

V listopadu roku 2020 začala pacientka pociťovat bolest v pravém třísele, které však nevěnovala přílišnou pozornost. Postupně se objevily problémy s chůzí a komunikací. V únoru 2021 byla pacientka přivedena k lékaři, kvůli zhoršujícím se symptomům. Postupně pacientka ztrácela schopnost souvisle mluvit, měla problém s vyjadřováním a nepoužívala celé věty. Manžel pacientky kontaktoval lékaře s podezřením na mozkovou mrtvici. Lékař na pohotovosti po vyšetření pacientky došel k závěru, že trpí Alzheimerovou chorobou a odeslal pacientku, bez doporučení a léků domů. Kvůli zhoršujícím se symptomům bylo po opětovné návštěvě lékaře pacientce doporučeno podrobit se MRI vyšetření, které proběhlo dne 28. 3. 2021 v Olomouci. Zde byl pacientce diagnostikován glioblastom. Následně byla naplánována operace, která proběhla dne 22. 4. 2021, při níž byl nádor úspěšně odebrán. Operace probíhala bez jakýchkoliv komplikací.

Po operaci se stav pacientky výrazně zlepšil. Pacientka nadále docházela do Olomouce na pravidelné kontroly. Po několika kontrolách lékaři na snímcích opět zjistili přítomnost GBM a naplánovali druhou operaci. Druhá operace proběhla 7. 7. 2021, opět bez jakýchkoliv komplikací. Po operaci pacientka plně spolupracovala. Lékaři následně pacientku přemístili do FN Ostrava v souvislosti plánovanou další léčbou, která však nebyla optimálně koordinována.

V září 2021 se její zdravotní stav natolik zhoršil, že nedokázala vykonávat běžné aktivity. Příbuzní zpozorovali její opětovné podivné chování, které vyvrcholilo tím, že pacientka upadla na schodech doma a byla hospitalizována. Byla hospitalizována v nemocnici v Jeseníku a druhý den byla převezena do nemocnice v Olomouci. Po pár dnech byla pacientka převezena zpět do nemocnice v Jeseníku, kde po čtrnácti dnech, 21. 11. 2021 v 13:15 umírá.

6.4 Léčba

Léčba pacientky byla naplánována s důrazem na chirurgické zákroky jako primární terapeutickou metodu. První chirurgický zákrok provedený k odstranění nádoru proběhl bez komplikací. Avšak, ačkoliv byla pacientce přislíbena radioterapie jako součást jejího léčebného plánu, tato část terapie se nikdy neuskutečnila. Pacientka nedostala žádnou žádanku či pozvánku na tento léčebný postup.

Po odstranění nádoru byla pacientka pravidelně sledována na onkologickém oddělení, kam docházela na kontroly a podstupovala MRI vyšetření k monitorování stavu mozku. Navzdory všem opatřením se však nádor opět objevil, což vedlo k druhému chirurgickému zákroku.

Během léčby a po operacích pacientka užívala řadu léků, včetně předepsaných léků na migrény, deprese a další léky související s ostatními zdravotními potížemi. Tato farmakoterapie byla doplněna o antikoagulační léčbu k prevenci trombózy, antibiotika k léčbě infekce a analgetika ke zvládnutí bolesti.

Přestože léčba GBM je obecně komplexní a vyžaduje multidisciplinární přístup, pacientka nedostala příležitost využít další léčebné možnosti, které by mohly přinést úlevu nebo prodloužit její život. V pozdějších fázích onemocnění, kdy už nebylo možné dosáhnout úplného uzdravení, lékaři doporučili paliativní péči. Cílem této péče bylo minimalizovat bolest a nepohodlí spojené s onemocněním, a poskytnout pacientce podporu a péči v posledních fázích

života. Rodina pacientky hrála klíčovou roli v podpoře jejího duševního a emocionálního zdraví, pravidelně ji navštěvovala v nemocnici a poskytovala jí podporu v této obtížné době.

Je třeba zdůraznit důležitost multidisciplinárního přístupu a důkladného sledování pacientů s GBM, aby se maximalizovala šance na úspěšnou léčbu a zlepšila kvalita jejich života.

6.5 Diskuse a závěr

Pacientka vykazovala typické symptomy glioblastomu (GBM), včetně bolestí hlavy a migrén, s nimiž se léčila od svých 40 let. Vzhledem k výskytu deprese je nutné zvážit, zda byly tyto symptomy zapříčiněny samotným onemocněním GBM nebo zda měly jiné příčiny, například rodinné faktory.

Změna osobnosti a psychické změny, které u pacientky nastaly, jsou typické pro GBM a byly pozorovány i v tomto případě. Těchto symptomů si všimla rodina a byly důvodem pro návštěvu lékaře. Navíc pacientka trpěla motorickými problémy, které jsou dalším běžným symptomem GBM. Postup lékařů v diagnostice a léčbě byl obecně adekvátní, s výjimkou nedostatečné koordinace ohledně plánované radioterapie.

Existuje také zmínka o možnosti experimentální léčby homeopatiky, která by mohla být zkoumána jako alternativa nebo doplněk k tradiční léčbě. Tato možnost by mohla přinést pacientce určitou míru úlevy a prodloužit její život. Celkově je důležité podotknout, že GBM je agresivní typ nádoru, u kterého je klíčová rychlá diagnóza a okamžitý chirurgický zákrok. Po chirurgickém odstranění je důležité pokračovat v léčbě radioterapií k prevenci relapsu nádoru.

Tento případ poskytuje důležitý pohled na významné aspekty diagnostiky a léčby GBM a zdůrazňuje potřebu pečlivého sledování pacientů a koordinace mezi odborníky pro dosažení optimálních výsledků léčby této agresivní formy nádoru mozku. Náhledy lékařských zpráv jsou součástí kazuistiky pod textem.



Pacient: [redacted]

Bytem: [redacted]

Hospitalizace na odd.: NCH-36a od 07.07.21 do 11.07.2021 08:42

Propouštěcí zpráva

NO: Pacientka vyšetřována na interně Jesník, pro změnu chování, bradypschií. Neurotop negat CT: expanze cystická F I.sin s otokem - GMB ev meta

MRI 28.3.2021 vč. navig: mozku potvrzuje nález viz výše v.s GBM ev meta F I.sin; cystický tumor s ring sing a značným edémem přilehlé tkáně; 2. drobné ložisko gyrus frontalis medialis

Operace: 22.4. 2021 - Craniotomie, exstirpatio tumoris lobi F I.sin.

Histologický nález: Sarkom pleiomorfni nediferencovaný.

Pacientka sledována na onkologické klinice FNOL - proveden staging choroby. Doplněno PET/CT (28.5. 2021), kde nález vychytávání radiofarmaka F I.sin. Na MRI mozku s kontrastem z 3.6. 2021 (navigační sekvence) nález postkontrastně se nehomogeně sytící (ring sign) ložisko F I.sin., parasagitálně, velikostí 25x19 mm.

Vzhledem k histologickému nález, velikosti a lokalizaci TU pacientku indikujeme k exstirpaci recid. TU lobi F I.sin. Subj. cítí se dobře, bez poruchy hybnosti, cefalei či veget. projevu, spíše se cítí lépe jak před operací.

Plán léčby: Indikována rekraniotomie a extirpace tumoru

Pacient poučen, rozumí, souhlasí.

OA: Vředová choroba gastroduodena, thyreopatie - t.č. eufunkce, anxiózně depresivní porucha

Operace: ortopedické 2x **FA:** Sertralin 50 mg tbl po 1-0-0, Lagosa tbl po. 1-0-1, Fortecortin 4 mg

1-1-0, helicid 20 mg tbl po. 1-0-0 **AA:** granátové jablko **RA:** nevýznamná **SA:** SD **EA:** Covid 19 negat

Abusus: negat

Status somaticus:

Subj: viz výše. Obj: bez zn. ikteru, či cyanózy, pulzace karotid symetrická, náplň krčních žil nezvětšená, dýchání čisté, alv., bez vdf., břicho prohmatné, nebolestivé, bez H+S megalie. DKK bez otoků, Hommans negat.

Neurostatus: rána klidná, bolesti mírné, KK bez paréz, PK komp, pac. kontaktní, zlepšení PM tempa, KK bez paréz, Karnofsky skóre. 1, PS WHO: Gr. II

Terapie: Dne 7.7. 2021 provedena exstirpacve recidivy TU lobi F I.sin. z zekraniotomie. Po výkonu pacientka v dobrém stavu, rána klidná, pacientka plně kontaktní, spolupracující, KK bez nez paréz.

Histologický nález: zatím nedodán.

Doporučení: stehy ex. 12. pooperační den, klinická kontrola na naší ambulanci dne 3.8. 2021 v 10:00 hod.

Medikace: Sertralin 50 mg tbl po 1-0-0, Lagosa tbl po. 1-0-1, Fortecortin 4 mg 1/2-1/2-0 do 16.7.

2021 od 17.7. 2021 do 24.7. 2021 1/2-0-0 tbl., od 24.7. 2021 do kontroly 1/4-0-0, Helicid 20 mg tbl po. 1-0-0

Závěr: TU lobi F I.sin recid.

Datum tisku: 11.7.2021 8:43:08

Přednosta neurochirurgické kliniky

vedoucí lékař odd 36A

ošetřující lékař

Obrázek 8: Lékařská propouštěcí zpráva po první operaci 7.7.2021

Propouštěcí zpráva

Ze dne: 22.11.2021

Dat. nar.: 20.1.1957

Bydliště:

Hospitalizace od: 13.10.2021 12:23 do: 21.11.2021 13:15 JEN_LDN-ODD

Přijal(a):

OA:

Pacientka přeložena z chir. odd, kam po opakovaných intervencích pro mozkový tumor-
dubiosní prognosa, symptomatická terapie

Vstp HYE CHGD, thyreopatie, anxiosne-depresivní sy, TU mozku FP vlevo, opak výkony
na NCH FNOL naposledy 7.7.2021 extirpace recidivy TU front laloku vlevo z
rekraniotomie, histol. gliosarcom IV.st, v péči Doc.Dr. Kality, při přípravě k RT
doplněno MRI /19.9.21/ kde stp.opak.operacich, nově postkontrastně se sytící
multilobulární tu, parasagitálně F.l.sin., významný edém perifokálně. Vzhledem ke
klinickému stavu, MRI nálezu a histologii tu bez indikace k NCH terapii- dále
symptom. terapie, paliativní terapie.

AA:

Alergie: granátové jablko,

FA:

FORTECORTIN, TBL NOB, 4MG, , 1-1-0, OST, SERTRALIN ACTAVIS, TBL FLM, 50MG, , 1-0-0,
OST, LAGOSA, TBL OBD, , 1-0-1, OST, HELICID, CPS ETD, 20MG, , 1-0-1, OST

EA:

očkována 2ma dávkami na covid- 15.7.2021a 3.9.2021

Návyk:

0

SPA:

žije s rodinou

NO:

Pac. přeložena z chir. odd, info bliže překladová zpráva:

Nemocná přeložena na chir odd. z NCHK, kde na základě MRI a celkového stavu operace
kontraindikována - pac určena k paliativní symptomaické léčbě.

Během týdenní hospitalizace je stav nemocné setrvalý -vigilní ale bez zn kognice, -
na cílené dotazy nereaguje ani mimoslovně. KP komp -peirferie dobře prokrvená,
eupnoická, defekace pravidelně moč derivována cestou PMK

- dnes po domluvě překlad k paliativní péči na LDN

Vyšetření při
příjmu:

Tlak S/D [mmHg]: 150/95, Pulz [1/min]: 66, Teplota [°C]: 36.5

Pac při vědomí, velmi omezeně spolupracující v rámci velmi závažného onemocnění
mozku, rozumí snad jen jen v rámci posunků, přítomna těžká fatická porucha a
pravostranná hemiplegie, hydratace dobrá, habitus-nadváha

Hlava: zornice izo, reagující na osvit, spojivky bledší, jazyk plazí mírně do leva.

Krk: žíly bez kongesce. Hrudník: Srdce-AS prav, TF 66/min., TK 150/95, ozvy ohran bez
šelestu, Plíce-dýchání čisté skl., sat. O2 94%. Břicho: palp. nebol., perist.

+poklep dif. bub. Hepar a lien nezv. Opot nelze. DKK: lýtka volná, bez otoků,

Orientačně neurologicky: jazyk plazí mírně do leva, zornice izo, reag. na osvit,
pravostranná hemiplegie

Provedená
vyšetření:

Výsledky za hospitalizaci:

Krevní obrazy:

B_HB: 141(max); 124(min); 135 g/l [120 ... 160], B_HCT: 0,442(max); 0,370(min);
0,414 l [0.35 ... 0.47], B_LKC: 7,3(min); 9,7; 10,7(max) 10⁹/l [4 ... 10], B_ERC:
5,06(max); 4,39(min); 4,84 10¹²/l [3.8 ... 5.2], ERC(B)_MCV: 87,4(max); 84,3(min);
85,5 fl [82 ... 98], ERC(B)_MCH: 27,9; 28,2(max); 27,9(min) pg [28 ... 34], ERC(B)
_MCHC: 319(min); 335(max); 326 g/l [320 ... 360], ERC(B)_RDWSD: 14,3(min); 14,6;
15,2(max) % [10 ... 15.2], B_PLT: 187; 170(min); 197(max) 10⁹/l [150 ... 400], PLT
(B)_MPV: 10(min); 10,2; 10,6(max) fl [7.8 ... 12.8], PLT(B)_PDWSD: 12; 12(min); 13
(max) fl [15 ... 17], LKC(B)_NEUSEG: 0,71(min); 0,79; 0,82(max) l [0.47 ... 0.7],
LKC(B)_LYMFO: 0,23(max); 0,15; 0,12(min) l [0.2 ... 0.45], LKC(B)_MONO: 0,05; 0,05;
0,05 l [0.02 ... 0.1], LKC(B)_EOS: 0,01; 0,01(max); 0,00(min) l [0 ... 0.05], LKC
(B)_BAS: 0,00; 0,00(min); 0,01(max) l [0 ... 0.01], B_NEU: 5,14(min); 7,67; 8,76
(max) 10⁹/l [2 ... 7], B_LYMFO: 1,7(max); 1,5; 1,3(min) 10⁹/l [0.8 ... 4],
B_MONO: 0,35(min); 0,52; 0,53(max) 10⁹/l [0.8 ... 1.2], B_EOS: 0,12(max); 0,03;
0,00(min) 10⁹/l [0 ... 0.5], B_BAS: 0,03(min); 0,04; 0,05(max) 10⁹/l [0 ... 0.2]
B_GRANIM: 0,10; 0,11(max); 0,07(min) 10⁹/l [0 ... 0.06], LKC(B)_GRANIM: 0,014
(max); 0,011; 0,007(min) l [0 ... 0.006]

Imunohematologie:

REPI_OTHERA01: COVID certifikát:

Propouštěcí zpráva

Dat. nar.: 20.1.1957

1

BIOCHEMIE:

S_UREA: 13,0 mmol/l [3.5 ... 7.2], S_CREA: 57,5 µmol/l [45 ... 84], S_URAT: 214 µmol/l [155 ... 357], GFK/GFO: 1,560 ml/s [1.4 ... 2], S_NA: 146,5 mmol/l [135 ... 144], S_K: 4,35 mmol/l [3.6 ... 4.6], S_CL: 110 mmol/l [95 ... 106], S_CA: 2,18 mmol/l [2.15 ... 2.57], S_MG: 0,95 mmol/l [0.77 ... 1.03], S_PROTEIN: 65,4 g/l [66 ... 88], S_ALB: 34,7 g/l [35 ... 52], S_BILCON: 2,3 µmol/l [0 ... 4], S_BIL: 8,2 µmol/l [1.7 ... 21], S_ALT: 2,96 µkat/l [0 ... 0.52], S_AST: 0,72 µkat/l [0 ... 0.52], S_ALP: 5,59 µkat/l [0.58 ... 1.75], S_GGT: 7,50 µkat/l [0 ... 0.63], S_CHOL: 6,50 mmol/l [3 ... 5.2], S_LDL: 4,54 mmol/l [0 ... 3.34], S_TRIG: 1,30 mmol/l [0.85 ... 2.3], S_HDL: 1,24 mmol/l [1.1 ... 5], S_CK: 0,65 µkat/l [0.4 ... 2.42], S_GLC: 4,20 mmol/l [3.9 ... 5.6], P_LAK: 1,57 mmol/l [0.2 ... 2.2], S_CRP: 10,3; 41,7(max); 9,5(min); 12,9 mg/l [0 ... 5]

MOČ CHEMICKY + SEDIMENT:

U_pHU: 7; 6; 6(min); 9(max); 8 l [5 ... 6], U_BilKU: 1(min); 2; 2; 2; 2(max) arb,j, [0 ... 0], U_GluU: 0; 0; 0; 0; 0 arb,j, [0 ... 0], U_KetU: 0; 0; 0; 0(min); 1(max) arb,j, [0 ... 0], U_UBGU: 0; 0; 0; 0; 0 arb,j, [0 ... 0], U_BilU: 0; 0; 1(max); 0; 0(min) arb,j, [0 ... 0], U_KrevU: 2; 3; 3; 2(min); 3(max) arb,j, [0 ... 0], U_ERYU: 15(min); 226(max); 50; 50 p/µl [0 ... 5], U_LeukoU: 100; zastíněno; 484(max); 100 (min); plné pole, U_HyalV: 1 p/µl [0 ... 2], U_EpitelP: 20(max); 15; 10(min) p/µl [0 ... 20], U_EpitelK: 2(min); 25(max) p/µl [0 ... 10], U_BakterieU: +++; +; +++; ++, U_HlenU: +; ++; ++; +, U_FosfatyU: ++, U_DrtU: ++

Záznam do zdravotní dokumentace, 13.10.2021 12:53, LDN, [redacted]

EKG 13.10.2021: sin. r.ofr. 62/min., PQ 0,16, QRS 0,11, osa srdeční +45st., přechodní zona V3, bez ischemických změn

Testování pacientky při přijetí- Bartelův test základních všedních činností- ADL- dosaženo 5.b.- vysoká závislost na JŠ.péči

Hodnocení rizik- s rizikem pro vznik dekubitu, s rizikem pádu

Průběh:

Pacientka s nádorovým onemocněním CNS byla přeložena k paliativní péči- viz NO. Pacientka imobilní, zprvu monimálně komunikující, později již nekomunikující. Poskytována KOP, umožněny návštěvy rodiny- bez omezení. Pac. s PMK, léčena pro opakované uroinfekty. Nepříznivý stav se postupně dále zhošuje, 21.11.21 v 13.15 pacientka zmirá.

Podávaná léčba:

FORTECORTIN, SERTRALIN ACTAVIS, LAGOSA, HELICID, Fraxiparin, Amoksiklav, Ciplox, Almiral, inf.podpora

Diagnózy:

C711 Gliosarkom mozku IV. stupně, / histolog. se sarkomatosní komponentou nediferenovaného včetněobuněčného/pleomorfního sarkomu- progrese
I509 Selhání srdce NS
N390 Infekce močového ústrojí neurčené lokalizace
G810 Chabá hemiplegie l.dx.
F920 Depresivní porucha chování

Určeno pro:

OL, onkolog.ambulance

Dne: 22.11.2021 09:20 [redacted]

primář oddělení

lékař

Obrázek 10: Úmrtí - lékařská zpráva; s KO a biochemickým laboratorním vyšetřením; Část 2