

# Metabolizam stanica raka

---

Dugeč, Josipa

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:880915>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**METABOLIZAM STANICA RAKA**

**ZAVRŠNI RAD**

**JOSIPA DUGEČ**

**Matični broj: 382**

**Split, rujan 2020.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE**

**METABOLIZAM STANICA RAKA**

**ZAVRŠNI RAD**

**JOSIPA DUGEČ**

**Matični broj: 382**

**Split, rujan 2020.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE STUDY IN CHEMISTRY**

**CANCER CELLS METABOLISM**

**BACHELOR THESIS**

**JOSIPA DUJEČ**

**Parent number: 382**

**Split, September 2020.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu

Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu

Preddiplomski studij kemije

**Znanstveno područje:** prirodne znanosti

**Znanstveno polje:** kemija

**Tema rada** je prihvaćena na 28. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Mila Radan

### METABOLIZAM STANICA RAKA

Josipa Dugeč, 382

#### Sažetak:

Rak se povijesno smatrao kao poremećaj širenja malignih stanica, međutim novija istraživanja i dokazi sugeriraju da ga treba smatrati metaboličkom bolešću. Rastući tumori preusmjeravaju svoje metaboličke programe kako bi zadovoljili i čak premašili bioenergetske i biosintetske potrebe neprekidnog rasta stanica. Invazija tumorskih stanica u okolna tkiva i njihovo širenje (metastaze) na udaljene organe glavni je uzrok smrtnosti većine bolesnika s karcinomom. Metabolički profil koji se može opaziti u stanicama karcinoma uključuje povećanu glikolizu, povećanu potrošnju glukoze i glutamina, pojačano lučenje laktata te poremećaj rada metaboličkih enzima. Stanice raka ne zahtijevaju potrošnju kisika u svrhu dobivanja energije kao što je to slučaj kod normalnih stanica. Umjesto toga, stanice raka se koriste glukozom 5-10 puta više u odnosu na normalnu stanicu za primarnu proizvodnju energije. Bez jasnog razumijevanja načina na koji nastaje rak, postaje teško formulirati uspješnu strategiju za učinkovito dugoročno upravljanje i prevenciju bolesti. Neuspjeh u jasnom definiranju podrijetla raka u velikoj je mjeri odgovoran za neuspjeh značajnog smanjenja stope smrtnosti. Metabolizam karcinoma dobiva sve veću pažnju te je veoma zanimljiv znanstvenicima u istraživanjima protutumorskih terapeutika. Ovim radom dan je kratki prikaz razlika u metabolizmu stanica raka u odnosu na normalnu stanicu te način na koji bi se u budućnosti mogla ciljati meta tumorskog metabolizma kako bi se razvila moguća prikladna protutumorska terapija.

**Ključne riječi:** tumor, glikoliza, glutamin, glukoza, laktat

**Rad sadrži:** 22 stranice, 8 slika, 3 tablice, 25 literaturni referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Prof. dr. sc. Mladen Miloš-predsjednik
2. Dr. sc. Ivana Carev-član
3. Izv. prof. dr. sc. Mila Radan- mentor

**Datum obrane:** 21.09.2020.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.**

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

## **BACHELOR THESIS**

**University of Split**

**Faculty of Chemistry and Technology Split**

**Undergraduate study in Chemistry**

**Scientific area:** Natural Sciences

**Scientific field:** Chemistry

**Thesis subject** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 20.

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Mila Radan

### **CANCER CELLS METABOLISM**

Josipa Dugeč, 382

#### **Abstract**

Cancer has historically been considered spreading disorder, however recent research and evidence suggest that it should be considered a metabolic disease. Growing tumors redirect their metabolic programs, to meet and even exceed the bioenergetic and biosynthetic needs of continuous cell growth. Invasion of tumor cells into surrounding tissue and their spread (metastasis) to distant organs is a major cause of mortality in most cancer patients. The metabolic profile that can be observed in cancer cells includes increased glycolysis, increased consumption of glucose and glutamine, increased lactate secretion, and impaired use of metabolic enzyme metabolism. Cancer cells do not require oxygen, consumption for purpose of obtaining energy as is the case with normal cells. Instead cancer cells use glucose 5-10 times more than a normal cell for primary energy production. Without a clear understanding of how cancer develops, it becomes difficult to formulate a successful strategy for effective long-term management and prevention. Failure to clearly define the origin of cancer is largely responsible for the failure to significantly reduce the death rate from the disease. Cancer metabolism is gaining increasing attention and is of great interest to scientists in research for antitumor therapy. This paper provides a brief overview of the differences in cancer cell metabolism relative to normal cells and way in which the target of tumor metabolism could be targeted in the future in order to develop a possible appropriate antitumor therapy.

**Keywords:** tumor, glycolysis, glutamine, glucose, lactate

**Thesis contains:** 22 pages, 8 figures, 3 tables, 25 references

**Original in** Croatian

**Defense committee:**

1. Mladen Miloš, PhD, full prof. –chair person
2. Ivana Carev, PhD, - member
3. Mila Radan, PhD, associate prof.- supervisor

**Defense date:** 21. 09. 2020.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

*Ovaj rad izrađen je na Kemijsko-tehnološkom fakultetu, na Zavodu za biokemiju  
pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Mile Radan.*

*Srdačno zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Mili Radan na velikoj pomoći pri izradi završnog rada, savjetima i strpljivosti.*

*Hvala svim mojim prijateljima i kolegama koji su mi uljepšali studentske dane.*

*I najveće zahvale mojoj obitelji koji su mi omogućili studiranje i bili podrška tijekom cijelog dosadašnjeg školovanja.*



## SAŽETAK

Rak se povijesno smatrao kao poremećaj širenja malignih stanica, međutim novija istraživanja i dokazi sugeriraju da ga treba smatrati metaboličkom bolešću. Rastući tumori preusmjeravaju svoje metaboličke programe kako bi zadovoljili i čak premašili bioenergetske i biosintetske potrebe neprekidnog rasta stanica. Invazija tumorskih stanica u okolna tkiva i njihovo širenje (metastaze) na udaljene organe glavni je uzrok smrtnosti većine bolesnika s karcinomom. Metabolički profil koji se može opaziti u stanicama karcinom uključuje povećanu glikolizu, povećanu potrošnju glukoze i glutamina, pojačano lučenje laktata te poremećaj rada metaboličkih enzima. Stanice raka ne zahtijevaju potrošnju kisika u svrhu dobivanja energije kao što je to slučaj kod normalnih stanica. Umjesto toga, stanice raka se koriste glukozom 5-10 puta više u odnosu na normalnu stanicu za primarnu proizvodnju energije.

Bez jasnog razumijevanja načina na koji nastaje rak, postaje teško formulirati uspješnu strategiju za učinkovito dugoročno upravljanje i prevenciju. Neuspjeh u jasnom definiranju podrijetla raka u velikoj je mjeri odgovoran za neuspjeh značajnog smanjenja stope smrti od bolesti. Metabolizam karcinoma dobiva sve veću pažnju te je veoma zanimljiv znanstvenicima u istraživanjima protutumorskih terapeutika.

Ovim radom dan je kratki prikaz razlika u metabolizmu stanica raka u odnosu na normalnu stanicu te način na koji bi se u budućnosti mogla ciljati meta tumorskog metabolizma kako bi se razvila moguća prikladna protutumorska terapija.

**Ključne riječi:** tumor, glikoliza, glutamin, glukoza, laktat.

## **SUMMARY**

Cancer has historically been considered a spreading disorder, however recent research and evidence suggest that it should be considered a metabolic disease. Growing tumors redirect their metabolic programs to meet and even exceed the bioenergetic and biosynthetic needs of continuous cell growth. Invasion of tumor cells into surrounding tissues and their spread (metastasis) to distant organs is a major cause of mortality in most cancer patients. The metabolic profile that can be observed in cancer cells includes increased glycolysis, increased consumption of glucose and glutamine, increased lactate secretion, and impaired use of metabolic enzyme metabolism. Cancer cells do not require oxygen consumption for the purpose of obtaining energy as is the case with normal cells. Instead, cancer cells use glucose 5-10 times more than a normal cell for primary energy production.

Without a clear understanding of how cancer develops, it becomes difficult to formulate a successful strategy for effective long-term management and prevention. Failure to clearly define the origin of cancer is largely responsible for the failure to significantly reduce the death rate from the disease. Cancer metabolism is gaining increasing attention and is of great interest to scientists in research for antitumor therapy.

This paper provides a brief overview of the differences in cancer cell metabolism relative to normal cells and the way in which the target of tumor metabolism could be targeted in the future in order to develop a possible appropriate antitumor therapy.

**Key words:** tumor, glycolysis, glutamine, glucose, lactate.

## **KRATICE:**

ATP- adenzin trifosfat

TCA- trikarboksilna kiselina

OXPHOS- oksidacijska fosforilacija

HK- heksokinaza

GAPDH- gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza

PFK- fosfofruktokinaza

PK- piruvat kinaza

F-2,6-BP- fruktoza-2,6-bisfosfat

BPTES- BIS-2-(5-fenilacetamido-1,2,4-tiadiazol-2-il) etil sulfid

PET- pozitronska emisijska tomografija

ACL- ATP-citrat liaza

NADPH- nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

ROS- razina oksidacijskog stresa

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. KLASIFIKACIJA MALIGNIH TUMORA .....	3
2.1. Određivanje općeg stadija proširenosti bolesti .....	4
3. ETIOLOGIJA ZLOĆUDNIH TUMORA.....	5
4. METABOLIČKI PUTEVI U STANICAMA RAKA .....	8
4.1.Glikoliza .....	9
4.2 Glutamin .....	12
5. ONKOGENI .....	14
5.1. Put fosfatidil inozitol-3-kinaze (PI3K) .....	15
5.2. Faktor indukcije hipoksije (HIF).....	16
6. SUPRESORI TUMORA ILI ANTIONKOGENI .....	16
6.1. Supresor tumora p53 .....	17
7. SMANJIVANJE RAZINE OKSIDACIJSKOG STRESA (ROS-a).....	18
8. INHIBICIJA GLIKOLIZE: STRATEGIJE I LJEKOVI .....	19
9. ZAKLJUČAK .....	20
10. LITERATURA .....	21

## 1. UVOD

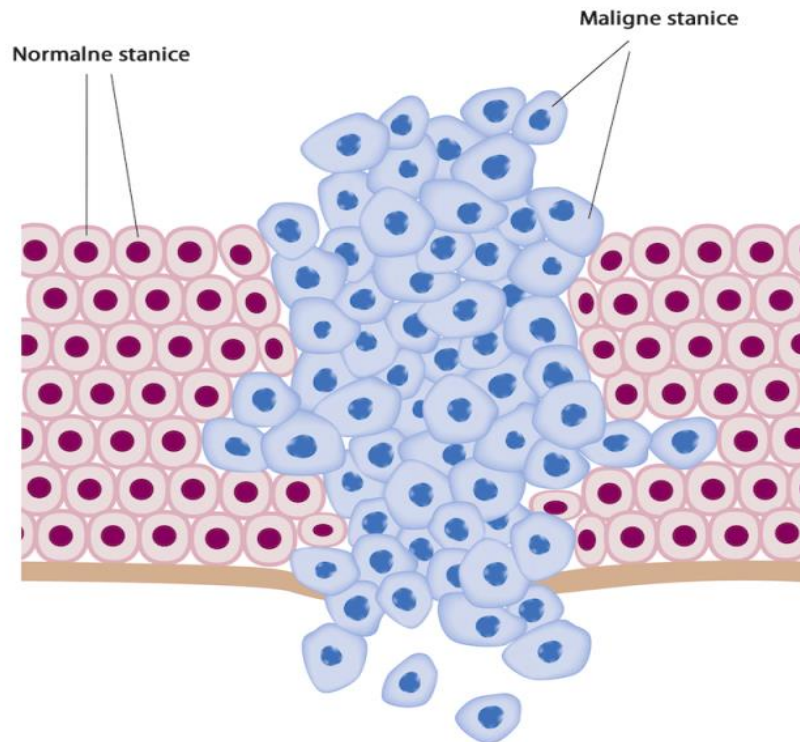
Tumori predstavljaju nepravilan i progresivan rast stanica. Mogu se podijeliti na: benigne odnosno dobroćudne (adenomi, papilomi, polipi) i maligne odnosno zloćudne tumore (karcinom, sarkom, limfom, leukemija). Razvoj malignog tumora, odnosno karcinogeneza, se može opisati u 4 stadija: inicijacija, promocija, progresija te metastaziranje. Stanice tumora imaju poremećenu regulaciju stanične diobe što uzrokuje proliferaciju stanica i rast novotvorenina. Organeli koji nose glavnu ulogu za preusmjeravanje metabolizma koji karakterizira stanice raka su mitohondriji. Mitohondriji u tumorskim stanicama sadrže mutiranu DNA i promijenjene strukture enzima i proteina. Upravo te promjene dovode do povećanja proizvodnje slobodnih radikala te narušavaju normalnu proizvodnju energije. [1]

Tumori zahtijevaju metabolite za proizvodnju ATP, generiranje biomase te održavanje redoks ravnoteže. U normalnim tkivima, najveći dio piruvata dobivenog glikolizom ulazi u ciklus trikarboksilne kiseline (TCA) i oksidira se pomoću oksidativne fosforilacije (OXPHOS). Suprotno tome, kod tumora se piruvat uglavnom pretvara u mliječnu kiselinu, a energija se proizvodi anaerobno. ATP se može brzo sintetizirati glikolizom, ali energetski prinos glikolize je znatno manji u odnosu na OXPHOS. [2]

Metabolički balans u tumorima se uspostavlja mehanizmom oksidacijskog stresa koji inducira autofagiju, porast stope glikolize, mitohondrijsku disfunkciju te oslobađanje katabolita iz tumorskih stanica. Vidljiva metabolička heterogenost između stanica tumora i tkiva domaćina može se uočiti u prisutnosti veće razine 2-deoksiglukoze u stanicama tumora u odnosu na normalnu stanicu. Dublje i opsežnije razumijevanje metaboličkih razlika između stanica raka i normalnih stanica i upotreba tih razlika u terapijske svrhe mogu poboljšati ishode liječenja. [3]

Ključ razumijevanja mehanizama koji utječu na promjene metabolizma u tumorima nalazi se u otkriću da su onkogeni i tumor-supresorski geni koji se stalno aktiviraju ili inaktiviraju važni regulatori metabolizma. Onkogeni su geni koji uzrokuju nekontroliran rast i diobu stanica dok tumor-supresorski geni predstavljaju skupinu gena koji priječe zloćudnu preobrazbu stanice na različitim razinama. Unatoč heterogenosti, koja karakterizira većinu tumora, promjene na brojnim onkogenima i tumor-supresorskim genima potiču zajednički metabolički fenotip. Te promjene uključuju povećanje glikolize, glutaminolitičkog protoka, metabolizma aminokiselina i lipida te indukciju pentoza-fosfatnog puta te osiguravaju

stanicama raka energiju i metabolite koji potiču kontinuiranu tumorsku genezu. Metaboličko reprogramiranje tumorskih stanica predstavlja moguću metu za suzbijanje rasta tumorskih stanica. Važni promotri metaboličkih promjena u stanicama raka su onkogeni među kojima su najznačajniji c-MYC, HIF1 i PI3K/AKT dok molekula kao što su p53 antagonizira te promjene i djeluju kao glavni supresor tumora. [1]



**Slika 1: Razlika normalnih i malignih stanica [4]**

## 2. KLASIFIKACIJA MALIGNIH TUMORA

Najprihvaćenija i danas najčešće primjenjivana klasifikacija zloćudnih tumora je TNM-sustav klasifikacije predložen od strane Union of International Cancer Control (UICC) 1968. godine. [5]

TNM-sustav klasifikacije se i dalje nadopunjuje i razvija, a uzima u obzir stanje prije liječenja te se primjenjuje za procjenu primarnog tumora (T), stanje regionalnih limfnih čvorova (N) te prisutnosti udaljenih metastaza (M). [5]

**Tablica 1: TNM-sustav klasifikacije zloćudnih tumora [6]**

<b>PRIMARNI TUMORI (T)</b>
T0 nema znakova tumora
T1 mali tumor koji ne urasta u tkivo
T2 srednje velik tumor koji lagano urasta u okolno tkivo
T3 velik tumor koji dijelom urasta u okolno tkivo
T4 vrlo velik tumor koji snažno urasta u okolno tkivo
<b>METASTAZE LIMFNIH ČVOROVA (N)</b>
N0 nema metastaza u regionalnim limfnim čvorovima
N1 regionalne, vrlo bliske, pokretne metastaze limfnih čvorova
N2 regionalne, nepokretne metastaze limfnih čvorova
N3 opsežne, nepokretne metastaze limfnih čvorova
<b>UDALJENE METASTAZE (M)</b>
M0 nema metastaza
M1 prisutne metastaze u udaljenim organima

## 2.1 Određivanje općeg stadija proširenosti bolesti

Na temelju TNM-sustava određuje se i opći stadij proširenosti bolesti te se bolesnici svrstavaju u jedan od pet stadija bolesti. [4]

**Tablica 2: Stadiji proširenosti tumora**

<b>Stadij 0</b> - bolesnici s karcinomom <i>in situ</i>
<b>Stadij I</b> - bolesnici s tumorom ograničenim na organ u kojem je tumor nastao
<b>Stadij II</b> - bolesnici s tumorom koji se proširio izvan organa u kojem je nastao
<b>Stadij III</b> - bolesnici s tumorom koji se proširio izvan organa u kojem je nastao i metastazirao u regionalne limfne čvorove
<b>Stadij IV</b> - bolesnici s tumorom koji je metastazirao u udaljene organe

Iako je TNM-sustav klasifikacije zloćudnih tumora najrašireniji, ne koristi se kod svih tumora. Tako se primjerice stupanj proširenosti tumora mozga i produžene moždine određuje prema tipu i stupnju diferenciranosti stanica od kojih su nastali dok za procjenu proširenosti limfoma koristi se tzv. Ann Arbor sustav. [4]



### 3. ETIOLOGIJA ZLOĆUDNIH TUMORA

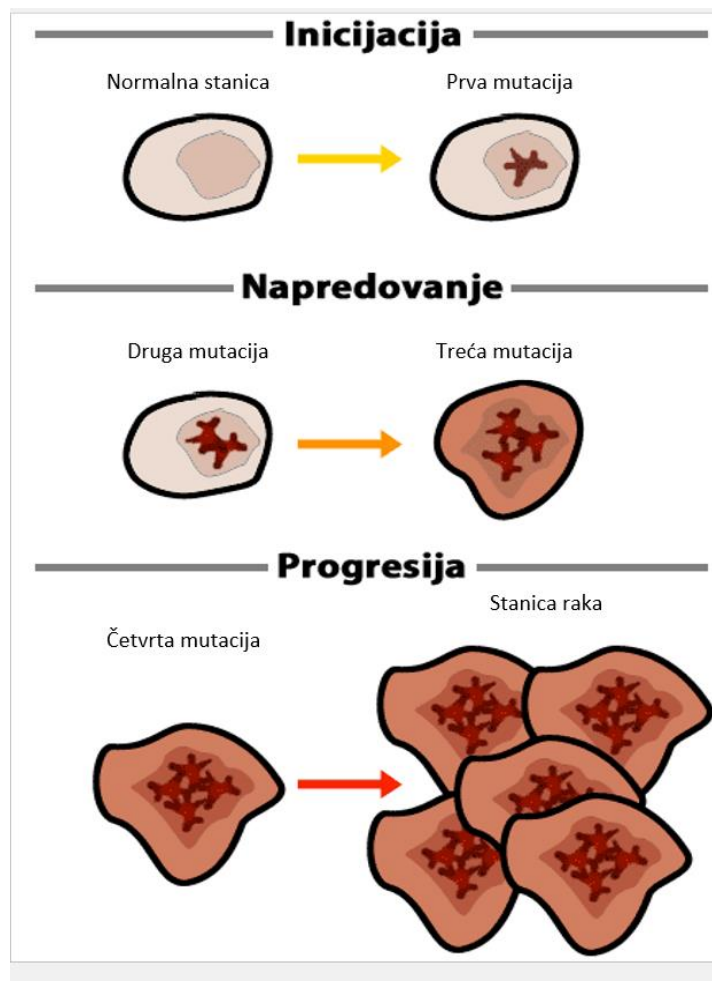
Karcinogeneza, razvoj malignog tumora, obuhvaća tri odnosno četiri stadija:

- Inicijacija
- Promocija
- Progresija
- Metastaziranje

Stanice raka se razvijaju iz normalnih stanica u kompleksnom procesu koji se naziva transformacija, a javlja se kao posljedica promjena u regulacijskim genima koji kontroliraju procese stanične proliferacije, diferencijacije i preživljavanja. [7]

Prvi korak tog procesa je inicijacija (poticanje ili nastajanje) pri čemu promjena u staničnom genskom materijalu upućuje stanicu da postane kancerogena. Promjenu u staničnom genskom materijalu izaziva neka tvar zvana kancerogen, a to može biti kemikalija, virus, zračenje ili Sunčevo zračenje. U sljedećem koraku koji se naziva promocija (razvijanje), stanica koja je bila potaknuta postaje kancerogena. Međutim, promocija nema učinka na stanice koje nisu prošle korak inicijacije. [7]

Progresija se smatra procesom u kojem dolazi do rasta primarnog tumora, nakon čega slijedi metastaziranje u kojem stanice karcinoma napuštaju primarni tumor te se šire na udaljene organe. Maligne se stanice mogu prepoznati već u fazi inicijacije po osjetljivim fenotipskim promjenama kao što je povećanje aktivnosti enzima  $\gamma$ -glutamyl-transferaze (GGT). [4]



**Slika 2. Karcinogeneza [8]**

Na molekularnom nivou karcinogeneza je višestupanjski proces koji nastaje progresivnom akumulacijom genetskih oštećenja, pri čemu se smatra da je akumulacija somatskih mutacija, a ne redosljed njihova pojavljivanja, odgovoran za razvoj maligne bolesti. [4]

Proces karcinogeneze se odvija pod utjecajem karcinogenih čimbenika (inicijatora) koji se mogu svrstati u dvije skupine:

- Potpuni karcinogeni čimbenici
- Nepotpuni karcinogeni čimbenici

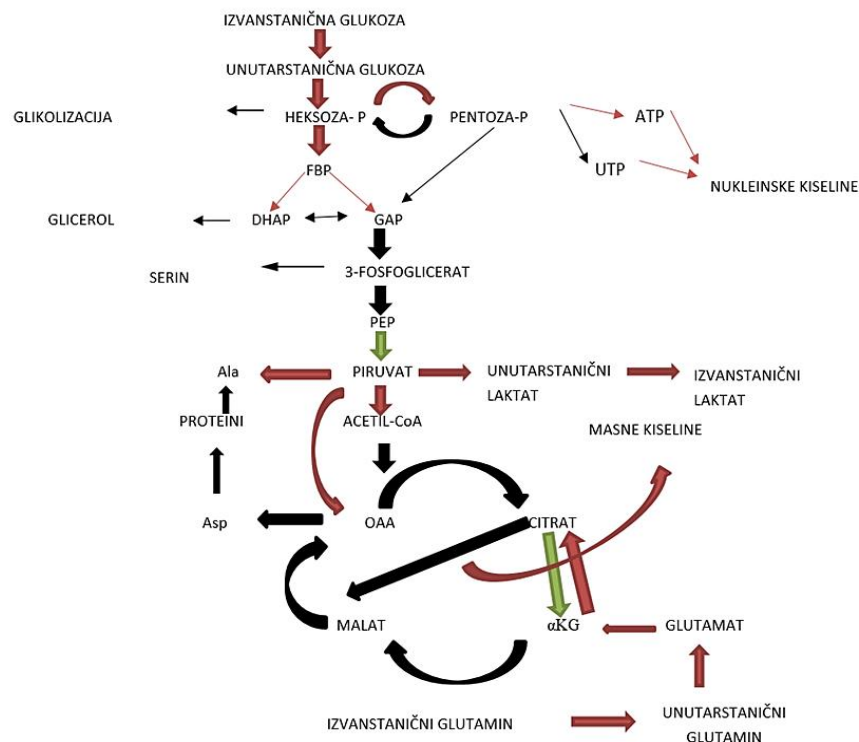
Potpuni karcinogeni čimbenici (inicijatori) mogu dovesti do razvoja svih stadija zloćudnih tumora (inicijacija, promocija, progresija), dok nepotpuni uzrokuju samo jedan od navedenih stadija. [4]

**Tablica 3. Karcinogeni čimbenici [6]**

<b>Tvar</b>	<b>Specifični tumor</b>
<b>Lijekovi</b>	
alkilirajući agensi	koštana srž, mokraćni mjehur
Fenacetin	Bubreg
imunosupresivni lijekovi	retikuloendotelni sustav
Estrogeni	endometrij, cerviks, dojka
<b>Profesionalna izloženost</b>	
arsen, azbest, kadmij, krom, nikal	Pluća
aromatski amini	mokraćni mjehur
Guma	mokraćni mjehur, leukemija
<b>Način života</b>	jednjak, debelo crijevo, želudac

## 4. METABOLIČKI PUTOVI U STANICAMA RAKA

Stanice raka imaju razne kvalitativne i kvantitativne razlike u odnosu prema normalnim stanicama, a te razlike nastaju kao posljedica promjenjenog metabolizma. Metabolički profil stanica raka aktivira se prijenosom oksidacijske fosforilacije na aerobnu glikolizu. Prekomjerna ekspresija glikolitičkih enzima i transportera glukoze upućuje na abnormalan rad pojedinih stanica. Iako glikoliza u znatnoj mjeri zadovoljava potrebe metabolizma raka, proizvodi znatno manje ATP u odnosu na oksidacijsku fosforilaciju. Ta zbivanja izravno utječu na promjene procesa stanične smrti normalnih stanica i stanica raka. Enzimi koji imaju važnu ulogu u regulaciji ravnoteže između stanične smrti i normalnog rasta i razvoja stanica su: heksokinaza (HK) i gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza (GAPDH). [7]



Slika 3. Metabolizam raka [9]

Shema prikazuje središnji metabolizam ugljika. Metaboličke reakcije koje su brže u tumorima prikazane su crvenom bojom, a one sporije označene su zelenom bojom.

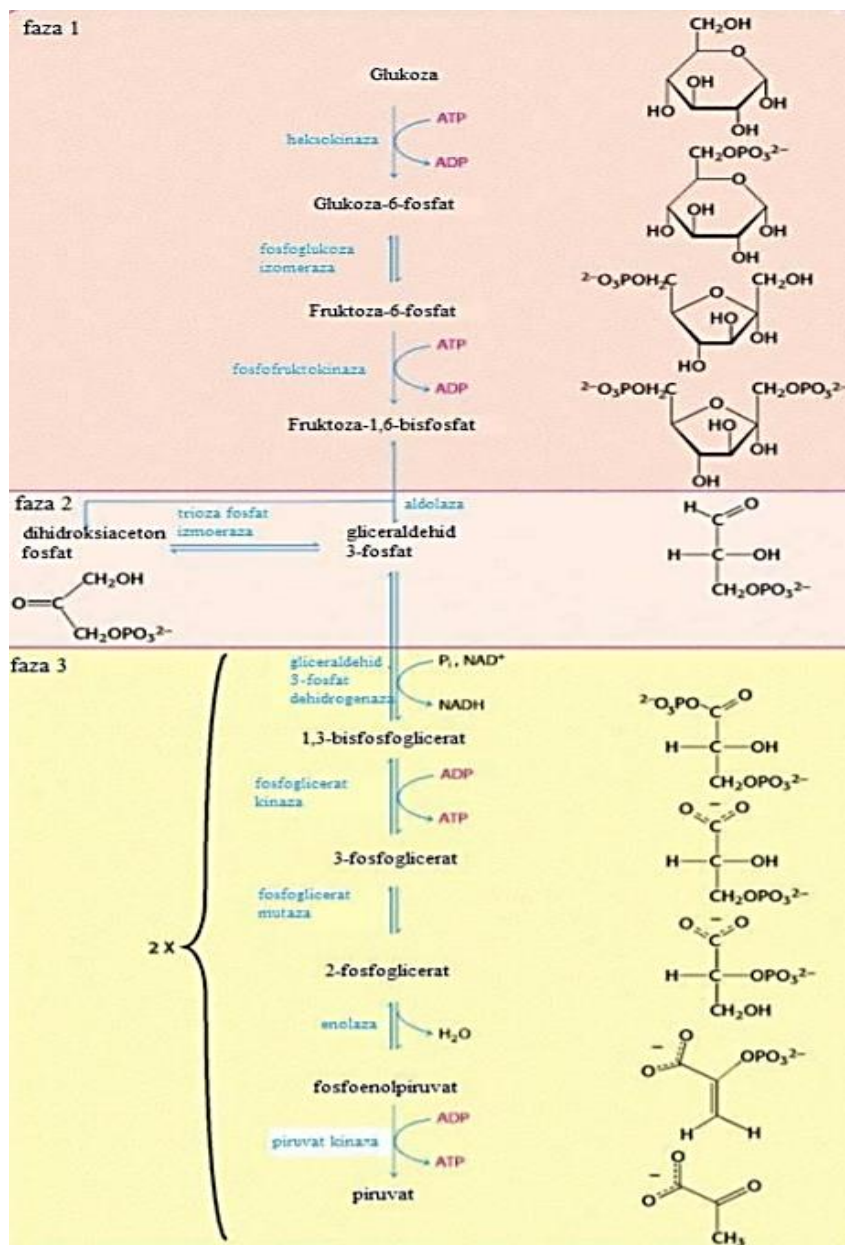
## 4.1 Glikoliza

Glukoza općenito predstavlja osnovno gorivo za većinu stanica. Procesom glikolize nastaju dvije molekule piruvata i dvije molekule ATP po svakoj metaboliziranoj molekuli glukoze. Osim što je glavni metabolički put razgradnje glukoze, glikoliza je glavni metabolički put razgradnje fruktoze, galaktoze i drugih ugljikohidrata iz hrane. Odvija se u 10 koraka, a od iznimmog su značaja tri ireverzibilne reakcije koje kontroliraju enzimi: heksokinaza, fosfofruktokinaza (PFK) i piruvat kinaza (PK) Te reakcije predstavljaju glavna kontrolna mjesta u glikolitičkom putu. [9]

Stanice raka izbjegavaju mehanizme koji normalno reguliraju glikolitički put koristeći više različitih strategija. Razine mnogih različitih glikolitičkih enzima induciraju se u tumorima. Osim toga, stanice raka narušavaju mehanizme povratnih informacija koji alosterički inhibiraju korake kontrole glikolize. [9]

Kao primjer može se izdvojiti enzim fosfofruktokinaza koji predstavlja glavnu kontrolnu točku glikolitičkog puta sisavaca. Visoke koncentracije ATP inhibiraju taj enzim odnosno smanjuje se afinitet enzima za fruktoza-6-fosfat. Drugim riječima, glikoliza se pojačava kada se energijski naboj smanji. Inhibicijski učinak ATP utišava enzim fruktoza-2,6-bisfosfat (F-2,6-BP) koji djeluje kao snažni aktivator fosfofruktokinaze pri visokim koncentracijama glukoze. Stoga se glikoliza ubrzava kada glukoze ima mnogo. Povećan unos glukoze u stanicu pomoću transportera GLUT1, GLUT2, GLUT3 i GLUT4, glavna je značajka po kojem se tumorske stanice razlikuju od normalnih. [10]

Prvi korak glikolize, fosforilacija glukoze u glukoza-6-fosfat, najvažniji je korak jer glukoza ostaje u stanici, ne izlazi van pomoću transportera te se nastala glukoza-6-fosfat iskorištava u putu pentoza-fosfata. Tumorske stanice prvi korak glikolize aktiviraju na način da povećavaju unos glukoze i povećavaju ekprimiranje heksokinaze, enzima koji aktivira glikolitički proces. [11]



Slika 4: Glikoliza [12]

Izozim piruvat kinaze (PKM2) glavni je katalizator trećeg koraka glikolize u kojem se fruktoza-6-fosfat prevodi u fruktoza-1,6-bisfosfat. Aktivira se s fruktoza-1,6-bisfosfatom (katalitičkim produktom fosfofruktokinaze) i serinom. Međutim visoke razine fruktoza-1,6-bisfosfata i serina ukazuju na to da nema potrebe za vraćanjem fruktoza-6-fosfata natrag u put

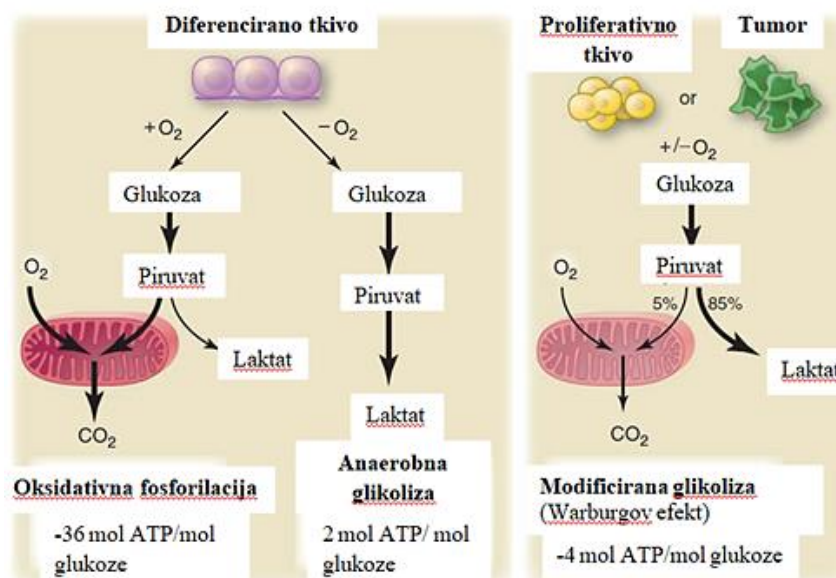
pentoza fosfata za skretanje drugih metabolita na biosintezu serina i stoga se glikoliza može normalno odvijati da bi se generirao ATP. Važno je da aktivnost PKM2 inhibira reaktivne kisikove vrste (ROS) kroz oksidaciju cisteina 358 i time regulira redoks stanje stanice. Ova inhibicija PKM2 mogla bi potencijalno usmjeriti metabolite k biosintezi serina i putevima metabolizma jednog ugljika, te povećati protok glukoze u oksidativnom putu pentoza fosfata za borbu protiv oksidativnog stresa. [5]

Novija istraživanja i tehnologije omogućile su detaljniju analizu metabolizma stanica raka i bolje razumijevanje načina na koje tumorske stanice primjenjuju glikolizu, čija je brzina značajno veća i u aerobnim uvjetima u odnosu na normalnu stanicu. [13]

#### 4.1.1 Warburgov efekt ili modificirana glikoliza

Tijekom prve polovice 20. stoljeća, proučavajući metabolizam tkiva napadnutih rakom, njemački znanstvenik Otto Warburg, uočio je povećano uzimanje glukoze, pojačana glikolizu i smanjenu mitohondrijsku funkciju. U normalnim tkivima, najveći dio piruvata dobivenog glikolizom ulazi u ciklus trikarboksilne kiseline i oksidira se pomoću oksidativne fosforilacije. Suprotno tome, kod tumora se piruvat uglavnom pretvara u mliječnu kiselinu, a energija se proizvodi anaerobno. [14]

Promjena metabolizma u kojoj se piruvat pretvara u laktat, umjesto da se oksidira, dogodila se u tumorima čak i kad je bilo dovoljno kisika da podrži funkciju mitohondrija. Pretvorba većine piruvata u laktat fermentacijom, čak i kad je prisutan kisik, naziva se aerobnom glikolizom ili Warburgovim učinkom. [15]



**Slika 5: Usporedba glikolitičkog puta u normalnim stanicama i proliferativnim/tumorskim stanicama u uvjetima nedostatne i dostatne količine kisika [16]**

## 4.2 Glutamin

Neke stanice raka također pokreću TCA ciklus prema obrascu koji ih razlikuje od većine ne-transformiranih stanica. U nekim stanicama raka, piruvat iz procesa glikolize ulazi u skraćeni TCA ciklus koji završava kad se citrat prebaci iz mitohondrijskog matriksa u citosol. Citrat se u citosolu razlaže ATP citratnom liazom (ACL) na oksaloacetat i acetil-CoA koji se može upotrijebiti za sintezu masnih kiselina. Inhibicija ACL smanjuje rast tumora. Ovaj skraćeni TCA ciklus rezultira istjecanjem metabolita iz TCA ciklusa (katapleroza) koji se mora uravnotežiti dotokom metabolita (anapleroza). [1]

U mnogim stanicama raka glutamin ispunjava tu ulogu: pretvara se u glutamat, a zatim u  $\alpha$ -ketoglutarat, intermedijer TCA. Kako bi zadovoljili potrebe za glutaminom, neke stanice raka drastično povećavaju potrošnju glutamina kroz indukciju transportera glutamina. Stanice karcinoma također induciraju enzime koji metaboliziraju glutamin, poput glutaminaze, koji pretvaraju glutamin u glutamat (glutaminaza 1 i glutaminaza C) i glutamat transaminaze koji pretvara glutamat u  $\alpha$ -ketoglutarat. [1]

Inhibitor transaminaze, aminoooksioctena kiselina, ima citotoksični učinak i specifično djeluje na stanice raka, s malim učinkom na zdrave stanice. [1]



Ukratko, u tumorskim stanicama postoji veći protok glukoze kroz većinu metaboličkih putova u usporedbi s normalnim stanicama. Više glukoze u tumorskim stanicama prenosi se u metaboličke intermedijare, laktat, citrat i sintazu masnih kiselina za razliku od normalnih stanica kod kojih se glukoza prevodi u piruvat u glikolitičkom putu te se najviše energije stvara oksidativnom fosforilacijom. [17]

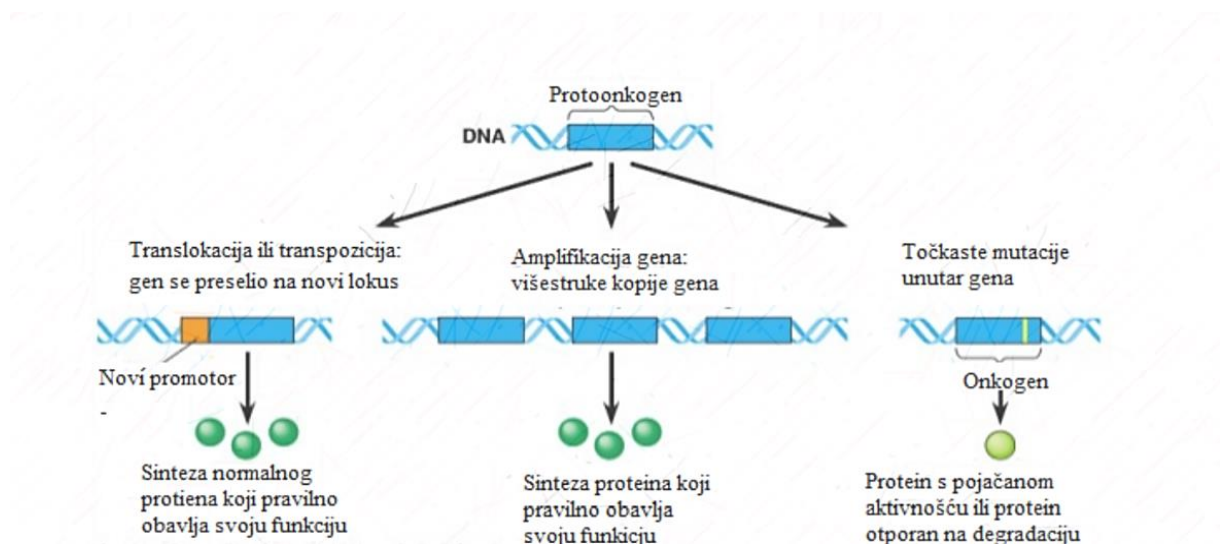
## 5. ONKOGENI

Ključ razumijevanja mehanizama koji utječu na promjene metabolizma u tumorima nalazi se u otkriću da su onkogeni i supresori tumora koji se stalno aktiviraju ili inaktiviraju u tumorima važni regulatori metabolizma. [1]

Onkogeni su geni koji svojom mutacijom uzrokuju nekontrolirani rast i diobu stanica te dovode do nastanka tumora. Onkogeni zaustavljaju pojedine korake stanične diferencijacije te inhibiraju stanično sazrijevanje tako da određenu stanicu potiču na proliferaciju. [18]

Aktivacija onkogeni odvija se putem umnažanja gena, translokacijom gena i točkastim mutacijama. [18]

Navedene promjene ovise o tipu i vrsti tumora.



**Slika 6: Aktivacija onkogeni [19]**

U tumorima, više onkogenih mutacija vjerojatno surađuju međusobno kako bi se dobio fenotip u kojem stanice apsorbiraju hranjive tvari kako bi zadovoljile ili čak premašile bioenergetske potrebe rasta i proliferacije stanica. [10]

## **5.1 Put fosfatidil inozitol-3-kinaze (PI3K)**

U ne-transformiranim stanicama, put fosfatidil inozitol-3-kinaze (PI3K) aktivira se kao odgovor na signale rasta. U velikom dijelu svih karcinoma, put PI3K konstitutivno se aktivira mutacijom ili pojačanjem, što rezultira konstitutivnom aktivacijom protein kinaza B (AKT) i metaboličkim programom koji potiče rast. Ta aktivacija povećava brzinu glikolitika, dijelom povećanjem GLUT1 ekspresije i translokacijom GLUT1 u plazma membranu. Stoga, aktiviranje puta fosfatidil-inozitol-3-kinaze može biti moćan mehanizam za izmjenu metabolizma tumorskih stanica. [1]

## **5.2 Faktor indukcije hipoksije (HIF)**

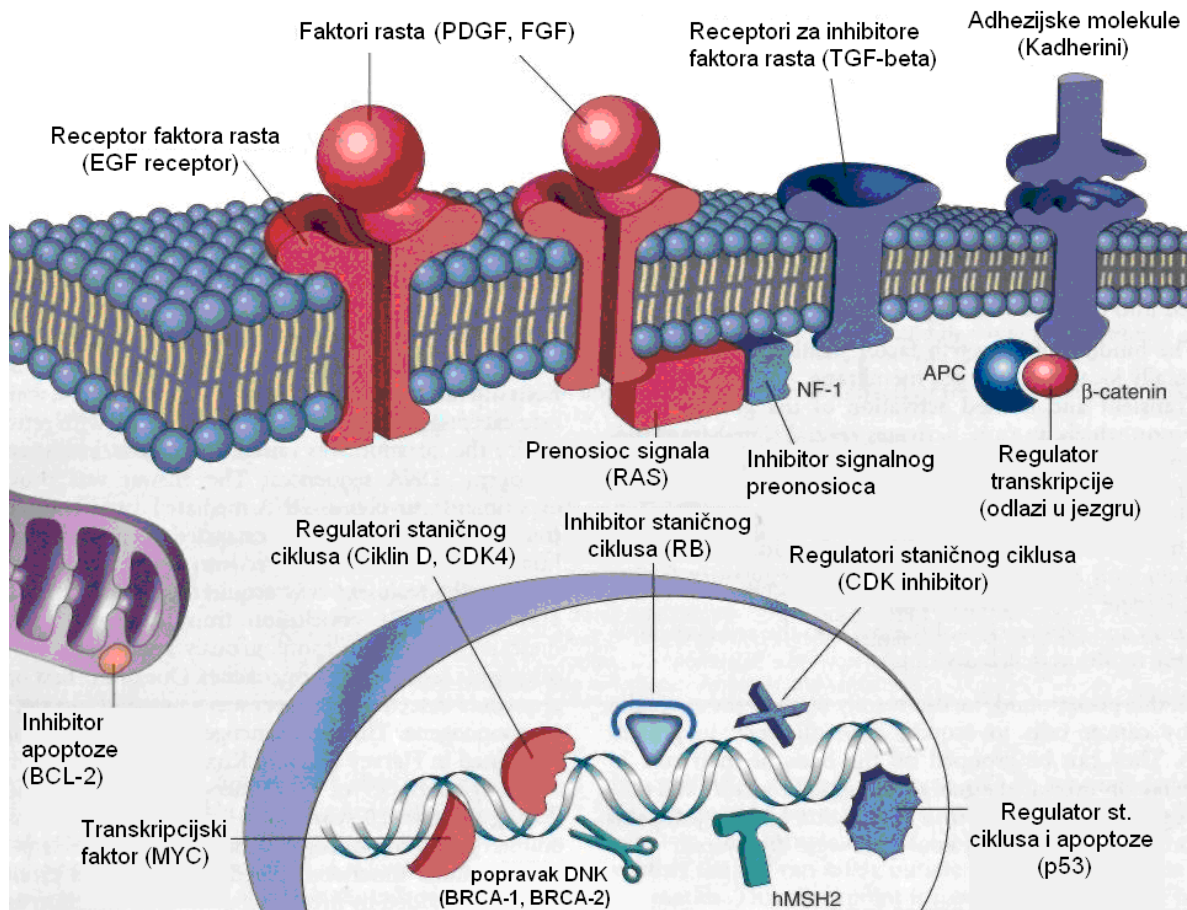
Hipoksija je stanje koje je uvijek prisutno u tumorskom okruženju zbog brzog rasta tumorskih stanica koje nisu dovoljno opskrbljene kisikom. Ovo stanje može utjecati na proizvodnju faktora indukcije hipoksije (HIF), transkripcijskog faktora zavojnice koji je uključen u karcinogenezu i rast tumora regulacijom gena koji sudjeluju u angiogenezi, glikolitičkom metabolizmu i drugim biološkim mehanizmima. [20]

Faktor indukcije hipoksije-1 (HIF-1) transkripcijski faktor osjetljiv na kisik, heterodimer je sastavljen od konstitutivno eksprimiranih  $\beta$  podjedinica i  $\alpha$  podjedinica osjetljivih na kisik. U dobro oksigeniranim stanicama, HIF-1 $\alpha$  je hidroksiliran, što olakšava njegovu sveprisutnost i razgradnju proteasomom. U hipoksičnim uvjetima HIF-1 se stabilizira i aktivira. Tijekom tumorigeneze mogu se razviti lokalizirane hipoksične regije u kojima je HIF-1 stabiliziran. [20]

To rezultira ekspresijom HIF-1 ciljnih gena, poput faktora angiogeneze koji povećavaju isporuku kisika u hipoksična tkiva. Hipoksični tumori koji najjače induciraju HIF-1 i glikolizu imaju tendenciju da budu više invazivni i metastatski od onih s normalnom razinom kisika. Nadalje, visok HIF-1 povezan je s višom smrtnošću. Dakle, hipoksija koju doživljavaju tumori potiče ekspresiju HIF-1, koja zauzvrat koordinira prijelaz u aerobni glikolitički fenotip. [20]

## 6. SUPRESORI TUMORA ILI ANTIONKOGENI

Tumor supresorski geni ili antionkogeni su geni čiji gubitak funkcije rezultira razvitkom tumora. Funkcija antionkogena je kodiranje proteina koji imaju ključnu ulogu u regulaciji staničnog ciklusa i diferencijaciji stanice. [21]

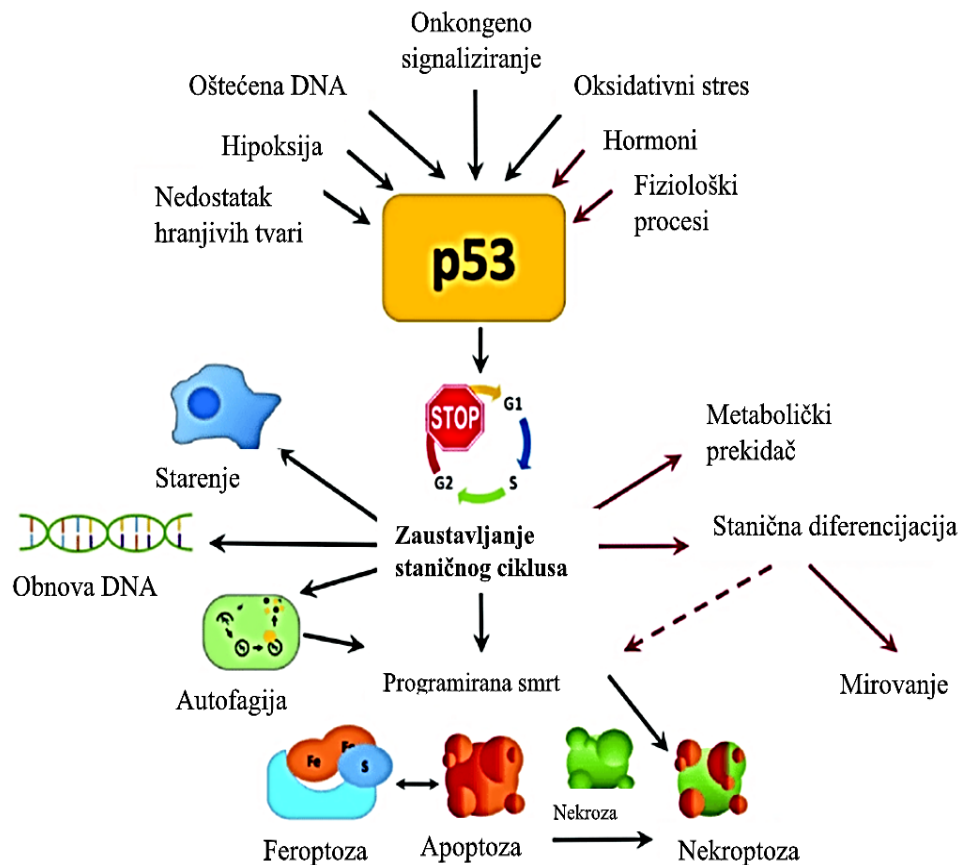


Slika 7: Stanična lokalizacija i funkcija najznačajnijih skupina protoonkogeni.

Protoonkogeni su obojeni crvenom bojom. [22]

## 6.1 Supresor tumora p53

Supresor tumora p53 također se preispituje iz metaboličke perspektive. Smatralo se da uloga p53 u orkestriranju zaustavljanja staničnog ciklusa, apoptoze ili starenja u odgovoru na oštećenje DNA ili stanični stres objašnjava njegovu ulogu kao supresor tumora. Kao takav, dobio je naziv „čuvar genoma“. [23]



Slika 8: Uloga p53 kao supresor tumora [24]

## **7. SMANJENJE RAZINE OKSIDACIJSKOG STRESA (ROS-a)**

Upotreba aerobne glikolize omogućuje stanicama da troše manje energije na stvaranje i održavanje mitohondrija te štiti tumorske stanice od ROS-a koje bi nastale provođenjem oksidacijske fosforilacije u uvjetima ograničenog kisika. [22]

Pored toga, i glukoza i glutamin koje konzumiraju stanice raka mogu se metabolizirati da bi se stvorio NADPH, koji je neophodan kofaktor za nadopunu najvažnijeg staničnog antioksidansa glutaciona. Zato smanjenje razine ROS-a predstavlja prednost koju daje metabolički fenotip Warburgova efekta. [22]

## 8. INHIBICIJA GLIKOLIZE: STRATEGIJE I LJEKOVI

Inhibicija glikolize u tumorskim stanicama može se iskoristiti za razvoj preventivnih lijekova i kemoterapeutika. Redukcija glikolitičkog kapaciteta tumorskih stanica onemogućava staničnu proliferaciju, širenje u ostala tkiva odnosno metastaziranje. Naspram toga, nekoliko istraživanja pokazalo je kako aktivacija glikolize štiti stanicu od stanične smrti inducirane vodikovim peroksidom, te da su stanice raka podložnije takvoj vrsti stanične smrti od normalnih stanica. [5]

Inhibicija glikolitičkog puta odvija se pomoću nekoliko strategija među kojima je najistaknutija inhibicija glikolize putem redukcije nivoa glukoze u krvi koristeći inzulin. Ako su stanice osiromašene glukozom, glikoliza ne može napredovati jer nema potrebnog goriva. Druga poznata strategija je inhibicija glikolitičkih enzima koji kataliziraju tri glavne ireverzibilne reakcije glikolize i predstavljaju glavna kontrolna mjesta glikolize. [25]

Prvi enzim koji katalizira pretvorbu glukoze u glukoza-6-fosfat je heksokinaza. Lijekovi koji inhibiraju heksokinazu su: lonidamine, derivat indazol-3-karboksilne kiseline, 3-bromopiruvat, analog piruvata, te 2-deoksiglukoza, analog glukoze. Iako inhibiraju heksokinazu, neki od tih lijekova uzrokuju akumulaciju produkta fosforilacije koji organizam ne može metabolizirati te imaju toksični učinak na organizam. [5]

Enzim fosfofruktokinaza je vrlo osjetljiv na vrlo male promjene pH u fiziološkom rasponu pri čemu viši pH povećava aktivnost enzima. Dokazano je da stanice raka imaju nizak unutarstanični pH koji omogućava aktivaciju fosfofruktokinaze-1. Aktivacija  $H^+$  pumpi, koje vodikove ione izbacuju iz stanice, se pokazala kao važna karika u povećanju unutarstanične pH vrijednosti, stoga ne čudi da inhibicija takvih pumpi može imati kemoterapijski učinak. [5]

Nedavna istraživanja i radovi potvrdili su kako inhibicija enzima laktat-dehidrogenaze reducira glikolitički put stanica raka te da ima antitumorski efekt u animalnim stanicama. Naposljetku, glikolitički kapacitet stanice se može umanjiti smanjenjem visoke stanične razine superoksidnog iona i vodikova peroksida, a to se postiže korištenjem antioksidanata kao što su enzim katalaza i molekule PX-478. Na taj način zaustavila bi se aktivacija HIF-1 i time bi se smanjio glikolitički kapacitet. [25]

## 9. ZAKLJUČAK

Povijesno gledano rak se smatrao poremećajem proliferacije, ali novija istraživanja pokazuju kako bi ga trebalo promatrati kao metaboličku bolest. Mnogi čimbenici kao što su lijekovi, kemijske tvari i način života utječu na razvoj i širenje raka. Istraživanja metabolizma raka koji uključuje povećanu upotrebu glukoze i glutamina, ubrzan rad glikolize, povećanu proizvodnju laktata i konformacijske promjene enzima, doprinose razvoju različitih strategija i lijekova koji imaju antitumorski učinak na stanice raka.

Dakle, inhibicija glikolize odnosno enzima heksokinaze, fosfofruktokinaze, te izozima piruvat kinaze PKM2 mogla bi postati podloga za otkrivanje uzroka raka i terapijskih mogućnosti.



## 10. LITERATURA

- [1] H.A. Coller, Cellular and Molecular Biology of Disease, The American Journal of Pathology, 184 (2014) 4-17
- [2] R. J. DeBerardinis, N. Sayed, D. Ditsworth, C. B. Thompson, Metabolism and tumor cell growth, 18 (2008) 54-61
- [3] R. A. Gatenby, R. J Gillies , Why do Cancer Cells Have High Aerobic Glycolysis?, Cancer, 4 (2004) 891-899
- [4] <http://www.onkologija.hr/sto-je-rak/> , pristup 28.8.2020.
- [5] M. Kraševac, Metabolizam tumorskih stanica, Završni rad, 2014., Osijek, Odjel za kemiju
- [6] M. Sirotković-Skerlev, Patogenetski koraci u razvitku tumorske bolesti, Novosti u dijagnostici i liječenju solidnih tumora. Zagreb (2012) 1–6
- [7] B. Štraus, Genomske promjene i karcinogeneza, Biochemia Medica, 5 (1995) 11-21
- [8] <http://kucniklekar.com/kako-nastaje-rak/>, pristup 20.8.2020.
- [9] E. Racker, M. Spector, Warburg Effect Revisited: Merger of Biochemistry and Molecular Biology, Science, 213(1981) 303-307
- [10] T. N. Seyfried, L. M. Shelton, Cancer as a metabolic disease, Carcinogenesis, 35 (2014) 515–527
- [11] J. M. Breg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, Biokemija (2013) 425-440
- [12] <https://www.bionet-skola.com/w/Glikoliza>, pristup 20.8.2020.
- [13] M. López-Lázaro, Why and How Cancer Cells Activate Glycolysis in the Presence of Oxygen?, Anti-Cancer Agents in Medical Chemistry, 8 (2008) 305-312
- [14] V. Gogvadze, B. Zhivotovsky, S. Orrenius, The Warburg Effect and Mitochondrial Stability in Cancer Cells, Molecular Aspects of Medicine, 31(2009) 60-74

- [15] J.W. Kim, C.V. Dang, Cancer's Molecular Sweet Tooth and the Warburg Effect, *Cancer Research*, 66(2006) 8927-8930
- [16] <https://veterina.com.hr/?p=8175>, pristup 25.8.2020.
- [17] H.-N. Kung, J.R. Marks, J.-T. Chi, Glutamine Synthetase Is a Genetic Determinant of Cell Type-Specific Glutamine Independence in Breast Epithelia, *Plos Genetics*, 11(2011) 1200-1324
- [18] A.J. Levine, A.M. Puzio-Kuter, The Control of the Metabolic Switch in Cancers by Oncogenes and Tumor Suppressor Genes, *Science*, 330 (2010) 1340-1344
- [19] <http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/pogl17.html> , pristup 24.8.2020.
- [20] R. Bartrons, J. Caro, Hypoxia, Glucose Metabolism and the Warburg's Effect, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 39 (2007) 223-229
- [21] V. Jurić, Tumor supresorski geni i mehanizmi popravka oštećene DNA u stanicama tumora, Završni rad, 2017., Zagreb, Prirodoslovno-matematički fakultet
- [22] ] M. López-Lázaro, Why and How Cancer Cells Activate Glycolysis in the Presence of Oxygen?, *Anti-Cancer Agents in Medical Chemistry*, 8 (2008) 305-312
- [23] S. Matoba, J.G. Kang, W.D. Patino, A. Wragg, M. Boehm, O. Gavrilova, P.J. Hurley, F. Bunz, P.M. Hwang, p53 Regulates Mitochondrial Respiration, *Science*, 312(2006) 1650-1653
- [24] [https://www.researchgate.net/figure/p53-canonical-and-non-canonical-tumor-suppressor-roles-of-p53-p53-is-activated-by-a\\_fig1\\_325657277](https://www.researchgate.net/figure/p53-canonical-and-non-canonical-tumor-suppressor-roles-of-p53-p53-is-activated-by-a_fig1_325657277), pristup 20.8.2020.
- [25] H. Kondoh, Cellular Life Span and the Warburg Effect, *Experimental Cell Research*, 314 (2008) 1923-1928