

# Metabolizam tumora

---

Hajpek, Helena

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:179755>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

# **Metabolizam tumora**

## **Tumor metabolism**

Helena Hajpek

Studijski program: Molekularna biologija (Molecular biology)

Mentor: izv.prof.dr.sc. Inga Urlić

**Zagreb, 2020.**

# SADRŽAJ

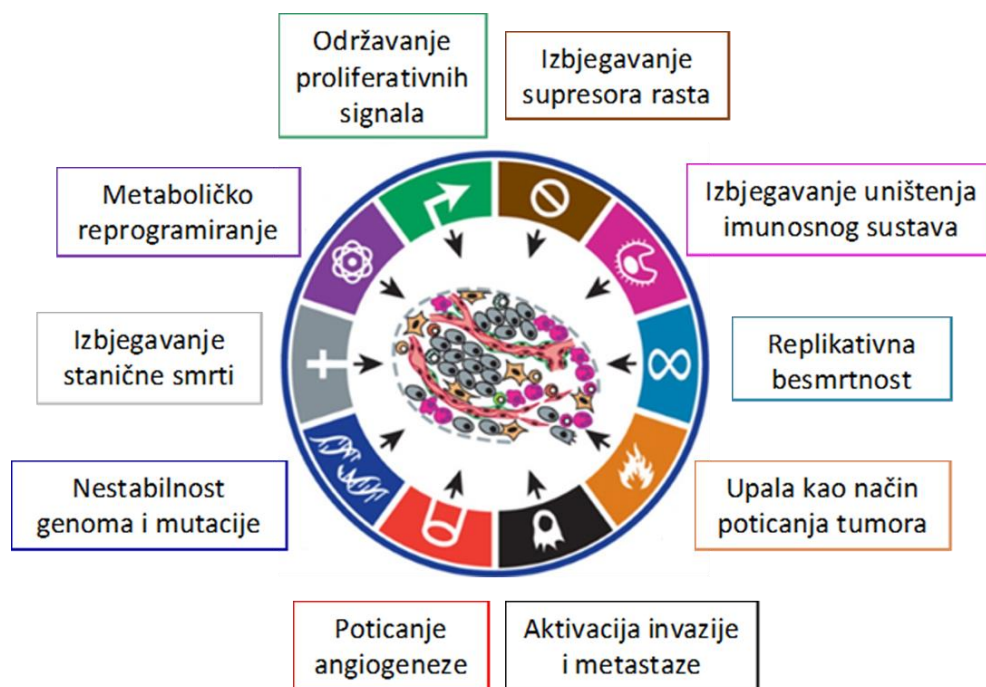
1. UVOD.....	1
2. DESET ZNAČAJKI TUMORSKIH STANICA.....	2
2.1. ODRŽAVANJE PROLIFERATIVNIH SIGNALA .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
2.2. IZBJEGAVANJE SUPRESORA RASTA .....	3
2.3. IZBJEGAVANJE STANIČNE SMRTI .....	3
2.4. REPLIKATIVNA BESMRTNOST.....	3
2.5. POTICANJE ANGIOGENEZE.....	3
2.6. AKTIVACIJA INVAZIJE I METASTAZE.....	4
2.7. NESTABILNOST GENOMA I MUTACIJE .....	4
2.8. UPALA KAO NAČIN POTICANJA TUMORA .....	4
2.9. IZBJEGAVANJE UNIŠTENJA OD STRANE IMUNOSNOG SUSTAVA.....	5
2.10. METABOLIČKO REPROGRAMIRANJE .....	5
3. METABOLIZAM TUMORA .....	6
3.1. WARBURGOV EFEKT .....	6
3.1.1. <i>Zakiseljenje okoliša</i> .....	10
3.2. BIOENERGETIKA I ALTERNATIVNI NAČIN DOBIVANJA METABOLITA.....	11
3.3. BIOSINTEZA MAKROMOLEKULA.....	15
4. TERAPIJE KOJE CILJAJU METABOLIZAM TUMORSKIH STANICA .	22
5. LITERATURA.....	23
6. SAŽETAK .....	32
7. SUMMARY .....	33

## 1. Uvod

Stanična dioba kompleksan je niz staničnih reakcija koje ovise o unutarnjim staničnim signalima kao i informacijama koje stanica dobiva od susjednih stanica. Ponekad takav događaj može izmaknuti kontroli. Takve stanice počnu nekontrolirano proliferirati, a novonastala masa stanica naziva se tumor ili neoplazija. Prema riječima patologa Wallacea H. Clarka tumori su populacija abnormalnih stanica sa svojstvom privremeno neograničenog rasta te sposobnošću rasta u tri različita tkiva – izvornom, mezenhimu neposredno uz mjesto nastanka i udaljenom mezenhimu. Ova definicija upućuje na agresivnu prirodu rasta, učestalu pojavu tumora kao benigne tvorbe, postupno povećanje autonomije i širenje u udaljena tkiva što se naziva metastaziranje (Clark, 1991). Tumori mogu biti i lokalizirani, mali te sadržavati slične stanice koje mogu funkcionirati kao normalne. Takvi tumori su benigni i ne pokazuju svojstva invazivnosti i širenja koja su karakteristika malignih tumora. Prema vrsti stanica iz kojih nastaju tumori se mogu svrstati u različite kategorije: karcinomi porijeklom iz epidermalnih stanica, sarkomi iz vezivnog tkiva, limfomi iz limfocita, melanomi iz melanocita i tako dalje. Sam proces nastajanja tumora – tumorigeneza te daljnji razvitak u maligni oblik odvija se u više koraka. Inicijacija tumora uključuje genetičku promjenu jedne stanice koja rezultira abnormalnom proliferacijom. Daljnjim nakupljanjem mutacija dolazi do progresije tumora, a stanice s mutacijama koje im omogućuju selektivnu prednost poput brzog rasta postaju dominantne. Promjene koje induciraju transformaciju stanice u tumorsku događaju se u genima uključenima u regulaciju proliferacije, diferencijacije i preživljavanja (Lodish i sur., 2000). Velika raznolikost i kompleksnost ovih promjena otežava mogućnost jednoznačnog karakteriziranja svake vrste tumorske nakupine. Opisivanje deset značajki tumorskih stanica način je sistematizacije ovih karakteristika. Kronična stanična proliferacija zahtjeva ne samo promjene u učestalosti dioba već i preusmjeravanje energije i metabolizma u sintezu strukturnih komponenata budućih stanica. Tako da je jedna od značajki reprogramirani metabolizam tumorskih stanica koji je stoga postao potencijalna meta antitumorskih terapija.

## 2. Deset značajki tumorskih stanica

Glavna odlika stanica koje su se progresivno razvijale prema neoplastičnom stanju višestruka je kompleksnost koja je posljedica stjecanja različitih sposobnosti. Iako jedinstven genetski otisak svakog raka onemogućava univerzalan pristup liječenju, postoje određeni obrasci koji su zajednički većini vrsta tumora. Na temelju saznanja koje postoje može se opisati 10 karakteristika koje predstavljaju okvir za razumijevanje svake od bolesti (slika 1.) (Hanahan i Weinberg, 2011).



**Slika 1.** Deset značajki tumorskih stanica. Prilagođeno prema Hanahan i Weinberg 2011.

### 2. 1. Održavanje proliferativnih signala

Održavanje proliferativnog signaliziranja i posljedična nemogućnost kontrole staničnog ciklusa jedna je od temeljnih karakteristika po kojoj se neoplastična stanica razlikuje od normalne. Pozadina ove karakteristike očituje se u proizvodnji faktora rasta i autokrinog signaliranja te povećanja broja receptorskih molekula koje mogu rezultirati kroničnom proliferacijom. Određene stanice idu i korak dalje te postaju potpuno neovisne od kontrole vezanjem liganda, a time i „gospodari vlastite sudbine“ (Hanahan i Weinberg, 2011). Mutacijama koje dovode do promjena u strukturi receptora, kao i nizvodnih komponenti signalnih puteva, omogućuje se konstitutivna aktivacija signalnih puteva koji dovode do proliferacije (Lemmon i Schlessinger, 2010).

## **2. 2. Izbjegavanje supresora rasta**

Proliferacija je u normalnoj stanici pod mehanizmima negativne kontrole koji omogućuju nadzor nad staničnim ciklusom. Stanice tumora uspješne su u izbjegavanju ovih mehanizama što im omogućuje beskonačnu proliferativnu aktivnost. Mnogi od ovih mehanizama ovisni su o djelovanju tumor-supresora, gena koji kodiraju za proteine koji odlučuju o tome hoće li stanica ići u proliferaciju ili će ući u apoptozu. Neki od najznačajnijih tumor-supresora kodiraju za proteine TP53 (engl. *tumor protein p53*), retinoblastoma protein (RB, engl. *retinoblastoma associated protein*) i transformirajući faktor rasta beta (TGF- $\beta$ , engl. *transforming growth factor  $\beta$* ) (Burkhart i Sage, 2008). U slučaju njihove poremećene aktivnosti tumorska stanica neće zaustaviti stanični ciklus, kako bi primjerice popravila oštećenje DNA, već će se nastaviti dijeliti.

## **2. 3. Izbjegavanje stanične smrti**

Tijekom rasta i razvoja održavanje homeostaze organizma uključuje apoptozu - mehanizam koji potiče programiranu staničnu smrt. Apoptoza je regulirana omjerom između proapoptotskih proteina kao što su primjerice Bak i Bax te antiapoptotskih proteina koji uključuju Bcl-2 i Bcl-XL. Cijela kompleksna mreža ovih signalnih puteva kulminira aktivacijom inače latentnih kaspaza 8 i 9. Smanjenjem proapoptotskih signala i povećanjem antiapoptotskih signala stanice tumora uspješno će izbjeći staničnu smrt. Te će kaspaze, potaknute vanjskim signalima ili narušenom funkcionalnošću stanice, ostati u svom latentnom stanju (Adams i Cory, 2007).

## **2. 4. Replikativna besmrtnost**

Većina normalnih stanica u tijelu prolazi kroz ograničen broj diobi. Prepreke neograničenoj proliferaciji stanica su faza starenja u kojoj stanice prestaju s diobama, ali su i dalje vijabilne, te faza krize, gdje dolazi do smrti dijela populacije stanica. Ponekad stanice zaobiđu ove prepreke i stječu sposobnost neograničene proliferacije, što se događa kod tumorskih stanica. U održavanju proliferativne sposobnosti centralnu ulogu igraju telomerase, enzimi koji sprječavaju skraćivanje telomera na 5' kraju (Blasco, 2005).

## **2. 5. Poticanje angiogeneze**

Stanice koje proliferiraju ovise o konstantnoj dopremi kisika i nutrijenata kao i uklanjanju otpadnih produkata metabolizma. Mreža krvnih žila koja okružuje tumorske stanice ima ključnu ulogu u ovome procesu (Folkman i Hanahan, 1991). Molekule aktivatori kao što je

vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF, engl. *vascular endothelial growth factor*) potiču nastajanje neovaskularnog sustava u procesu koji se naziva angiogeneza, a dodatna razina regulacije omogućena je postojanjem inhibitornih molekula, primjerice trombospondina 1 (TSP-1, engl. *thrombospondin-1*). Razine ekspresije ovih faktora ukazuju na agresivnost tumora (Folkman 1971; Baeriswyl i Christofori, 2009).

## **2. 6. Aktivacija invazije i metastaze**

Sposobnost stanica tumora da se prošire organizmom jedna je od karakteristika po kojoj ih se može razlikovati od normalnih stanica. Taj se proces naziva kaskada invazije-metastaze i odvija se u nekoliko koraka koji uključuju lokalnu invaziju nakon čega slijedi metastaziranje. Mehanizam metastaziranja sastoji se od ulaska u krvne žile (intravazacija), prijenosa kroz krvne žile te izlaska stanica iz lumena krvnih žila u parenhim udaljenih organa gdje dolazi do nastanka metastaza (Talmadge i Fidler, 2010).

## **2. 7. Nestabilnost genoma i mutacije**

U pozadini stjecanja fenotipskih i fizioloških osobina svih stanica nalazi se genom, a tako je i kod stanica tumora. Onkogeni su geni koji imaju potencijal da svojom mutacijom ili promjenom razine ekspresije doprinose razvoju tumora, a neki od primjera su *SRC*, *RAS* i *BCR/ABL*. U normalnim stanicama tijekom staničnog ciklusa različiti mehanizmi smanjuju stopu promjena u genomu, primjerice popravkom oštećenja i kontrolom ciklusa, te time smanjuju i njegovu nestabilnost. Tumor supresor TP53 važan je protein koji registrira oštećenje DNA molekule i zaustavlja stanični ciklus kako bi se oštećenje popravilo (Lane, 1992). Sve ostale karakteristike tumorskih stanica mogu se objasniti oštećenjem i promjenama u molekuli DNA što dovodi do deregulacije i neoplastičnoga stanja.

## **2. 8. Upala kao način poticanja tumora**

Prirodnoubilačke stanice (stanice NK, engl. *natural killer cells*), makrofazi, limfociti T i B nalaze se u gotovo svim oblicima neoplastičnih lezija kao predstavnici imunskog sustava. Upala je način na koji se organizam pokušava zaštititi od tumora pa je u području takve lezije uvelike prisutna antitumorska aktivnost posredovana imunskim odgovorima. Međutim, sama upala ima paradoksalni efekt; potiče razvitak i tumorigeničnost neoplastične lezije. Zajedno sa genomskom nestabilnošću i mutacijama, upala omogućava razvoj ostalih karakteristika kojima se definira neoplastično stanje (DeNardo i sur., 2010).

## **2. 9. Izbjegavanje uništenja od strane imunskog sustava**

Imunosni sustav konstantno nadzire tkiva organizma, a time ima i sposobnost uklanjanja nadolazećih stanica koje pokazuju potencijal razvitka tumora. Već postojeći tumori tijekom svog razvitka uspješno su izbjegli detekciju od strane imunskog sustava, što se može potvrditi povećanim brojem nastanka tumora kod imunokompromitiranih pojedinaca (Vajdic i van Leeuwen, 2009).

## **2. 10. Metaboličko reprogramiranje**

Metaboličke aktivnosti promijenjene su u stanicama tumora u odnosu na normalne – ove promjene podupiru stjecanje i održavanje malignih svojstava. Tumorske stanice metabolički su reprogramirane kako bi ispunile svoje bioenergetske i biosintetske zahtjeve (DeBerardinis i Chandel, 2016).



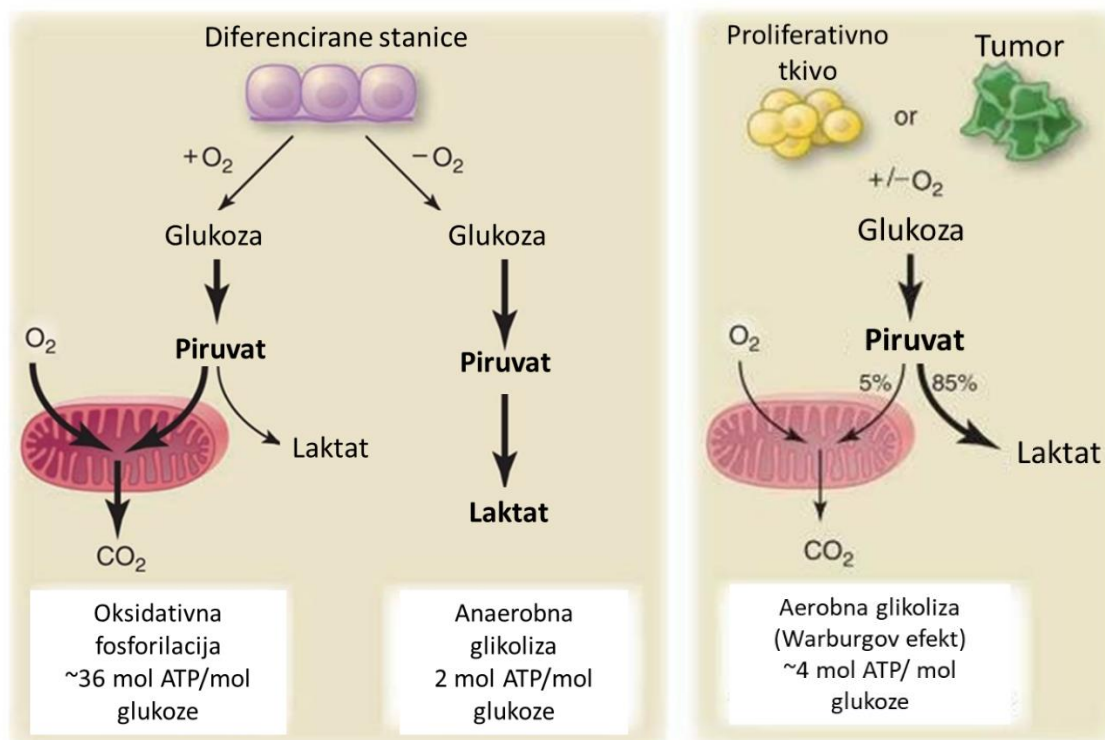
### 3. Metabolizam tumora

Metaboličko reprogramiranje podrazumijeva postojanje uobičajenih metaboličkih puteva u stanicama koji su pojačani ili suprimirani. Ono omogućuje stanicama prilagođavanje na stresne uvjete ili patološku proliferaciju, a malignim tumorima daje selektivnu prednost tijekom tumorigeneze (DeBerardinis i Chandel, 2011). Promjene se događaju s ciljem podržavanja anaboličkog rasta, a jedna je od glavnih karakteristika aerobna glikoliza. Ovaj fenomen rezultira povećanjem glikolitičkog toka, a tumorska stanica ima višestruku dobrobit od ovakve promjene. Među posljedicama ovog fenomena su i promjene koje se događaju u samom staničnom okolišu, uključujući i njegovo zakiseljenje. Zbog povećanja potrebe za strukturnim biomolekulama tijekom intenzivnih diobi, u okolišu koji je često siromašan nutrijentima i kisikom, proliferirajuće stanice razvile su i dodatne strategije uzimanja nutrijenata, ali i njihovog iskorištavanja u biosintetskim procesima.

#### 3.1. Warburgov efekt

Glikoliza je proces koji podrazumijeva dobivanje energije u obliku ATP-a oksidacijom ugljikovih veza molekule glukoze do dvije molekule piruvata. Veliki unos glukoze i njezina posljedična razgradnja glikolizom i fermentacijom do laktata glavna je odlika metabolizma tumora. Ovaj fenomen, koji se po istraživaču koji ga je prvi uočio i opisao zove Warburgovim efektom, događa se i u prisutnosti kisika i funkcionalnih mitohondrija (Warburg i sur., 1927). Povećana potrošnja glukoze kod stanica raka koristi se i u kliničke svrhe. Praćenjem unosa  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoksiglukoze ( $^{18}\text{F}$ -FDG, engl.  *$^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose*), radioaktivnog analoga glukoze, pozitronskom-emisijskom tomografijom (PET, engl. *positron emission tomography*) može se detektirati tumorsko tkivo što doprinosi dijagnostici malignih bolesti (Almuhaideb i sur., 2011).

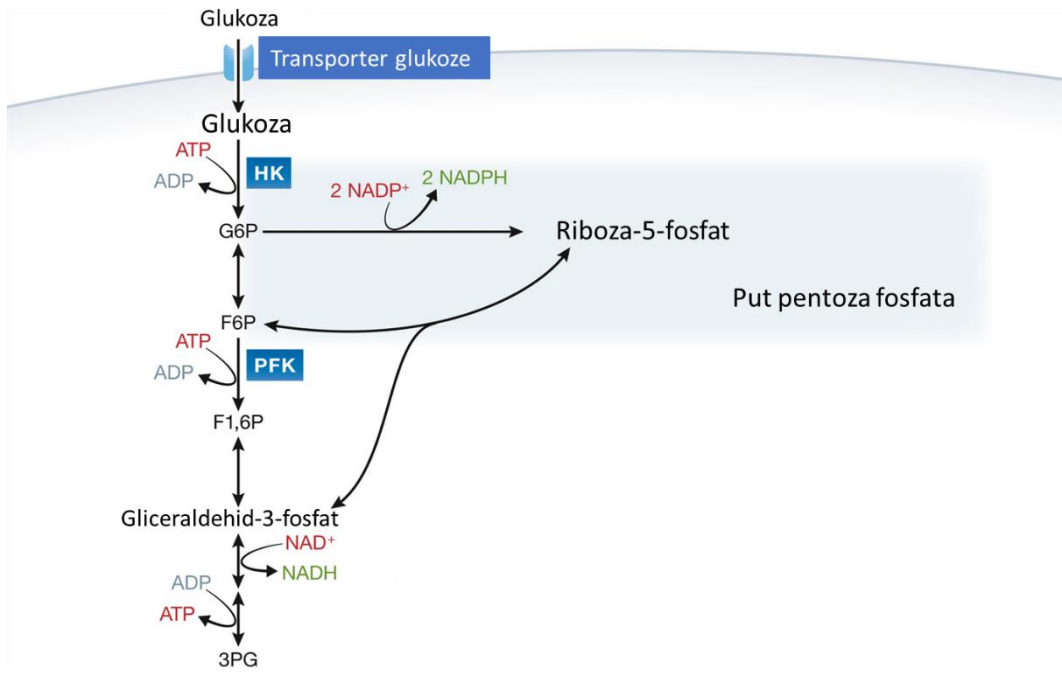
Korist koju tumor ima od provođenja aerobne glikolize nije još posve razjašnjena, ali postoji nekoliko mogućih objašnjenja ove pojave u kontekstima brze sinteze adenzin trifosfata (ATP, engl. *adenosine triphosphate*), biosinteze makromolekula, tumorskog mikrokoliša i staničnog signaliziranja (Liberti i sur., 2016). Aerobnom glikolizom svaki laktat koji je izlučen izvan stanice troši tri ugljika koja bi mogla biti iskorištena za proizvodnju ATP-a ili biosintetske procese (Lehninger i sur., 1993). Količina proizvedenog ATP-a kod aerobne glikolize je 4 molekule ATP-a po molekuli glukoze, dok se potpunom oksidacijom glukoze u mitohondrijima dobiva 36 molekula ATP-a, što govori o manjoj efikasnosti procesa aerobne glikolize (slika 2.) (Lehninger i sur., 1993; Vander Heiden i sur., 2009).



**Slika 2.** Usporedba proizvodnje ATP-a kroz oksidativnu fosforilaciju, anaerobnu glikolizu i aerobnu glikolizu. Prilagođeno prema Vander Heiden i sur. 2009.

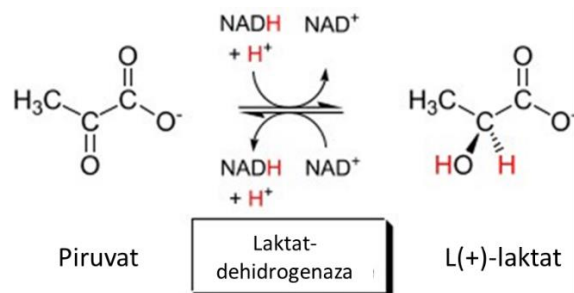
Mikrookoliš tumora ima ograničenu dostupnost nutrijenata i izvora energije, a aerobna glikoliza pruža selektivnu prednost u okolišu gdje stanice tumora kompetiraju sa ostalim stanicama za glukožu (Slavov i sur., 2014; Chang i sur., 2015). Istraživanja iz kinetike pokazala su da je proizvodnja laktata 10-100 puta brža kod aerobne glikolize, a po jedinici vremena potpunom oksidacijom glukoze i razgradnjom glukoze samo do laktata dobiva se usporediva količina ATP-a. Također, povećanjem potrebe za ATP-om povećava se glikoliza dok razina oksidativne fosforilacije ostaje jednaka (Shestov, 2014).

Povećani unos glukoze u stanicu omogućuje ne samo sintezu ATP-a već i generiranje intermedijera glikolitičkog puta. Dapače, proliferirajuće stanice imaju povećanu potrebu za stvaranjem biosintetskih prekursora kao i reducirajućih ekvivalenata u obliku nikotinamid adenin dinukleotid fosfata (NADPH, engl. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) koji se generira kroz oksidativnu granu puta pentoza fosfata (slika 3.). Intermedijeri glikolitičkog puta biosintetski su prekursori u reakcijama sinteze nukleotida, lipida i proteina, a povećana razina aerobne glikolize omogućava i veću sintezu NADPH (Vander Heiden i sur., 2009; Ward i Thompson, 2012).



**Slika 3.** Prikaz nekoliko uzastopnih koraka glikolize. NADPH se generira kroz oksidativnu granu puta pentoze fosfata, a NAD<sup>+</sup> reducira u reakciji nastanka 1,2-bisfosfoglicerata, iz kojeg se dobivaju 2 molekule 3-fosfoglicerata. G6P-glukoza-6-fosfat, engl. *glucose-6-phosphate*; F6P- fruktoza-6-fosfat, engl. *fructose-6-phosphate*; PFK- fosfofruktokinaza, engl. *phosphofruktokinase*; F1,6P- fruktoza-1,6-bisfosfat, engl. *fructose-1,6-bisphosphate*; 3PG- 3-fosfoglicerat, engl. *3-phosphoglycerate*. Prilagođeno prema Dayton i sur. 2016.

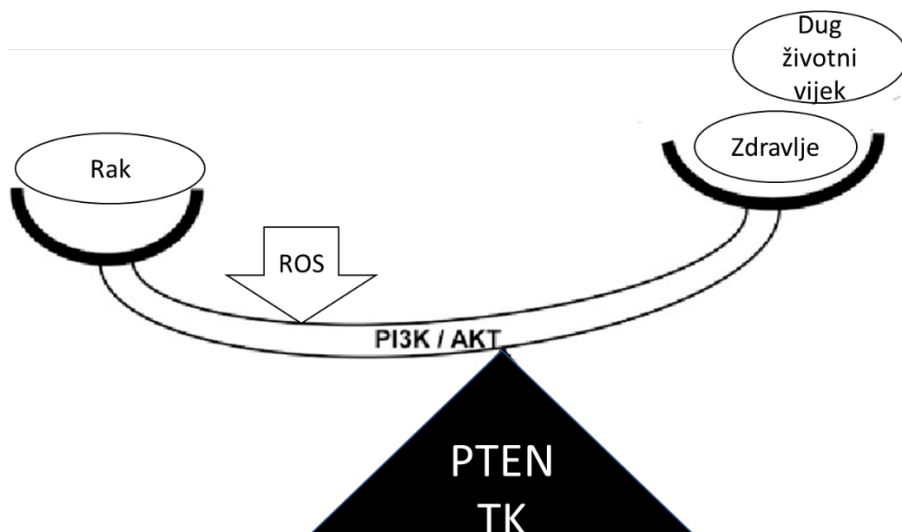
Jedna od funkcija Warburgova efekta bila bi i regeneracija nikotinamid adenin dinukleotida (NAD<sup>+</sup>, engl. *nicotinamide adenine dinucleotide*) koji je potreban kako bi se glikoliza neometano odvijala (slika 3.). Reakcija koju katalizira laktat dehidrogenaza (LD ili LDH, engl. *lactate dehydrogenase*) tako konzumira NADH i time se regenerira NAD<sup>+</sup> (slika 4.) (Vander Heiden i sur., 2009; Lunt i Vander Heiden, 2011).



**Slika 4.** Regeneracija NAD<sup>+</sup> koju katalizira laktat-dehidrogenaza. Prilagođeno prema Jeromin i Bertau 2005.

Ukoliko bi se većina piruvata oksidirala u mitohondriju došlo bi do povećane proizvodnje ATP-a i stvaranja NADH koji djeluju kao negativni regulatori metabolizma glukoze (Pavlova i Thompson, 2016). Warburgov efekt, prema tome, omogućava metaboličke uvjete koji bi bili povoljni za biosintezu novih makromolekula nužnih za staničnu proliferaciju (Lunt i Vander Heiden, 2011).

Metabolički uvjeti koji se stvaraju tijekom aerobne glikolize tumorskim stanicama omogućuju i signalnu funkciju. Promijenjeni metabolizam glukoze ima dva mehanizma kojima utječe na signalizaciju – utječe na stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS, engl. *reactive oxygen species*) i kromatinsko stanje (Chang i sur., 2013; Ho i sur., 2015). ROS-ovi mogu biti radikali, ioni ili molekule s visokom reaktivnošću zbog jednog nesporenog elektrona u vanjskoj elektronskoj ljusci. Postoji direktna poveznica između stvaranja ROS-ova u stanici i redoks potencijala mitohondrija. Redoks potencijal određen je omjerom  $NAD^+/NADH$ , koji je uključen u transport elektrona u oksidativnoj fosforilaciji pa utječe i na razinu ROS-ova stvorenih u mitohondriju. Što je taj omjer manji, proizvodnja ROS-ova je veća. Prevelika razina ROS-ova oštećuje membranu stanice kao i nukleinske kiseline, dok ROS-ovi u nešto povišenoj razini, koja je učestala kod tumorskih stanica, djeluju kao sekundarni glasnici u staničnoj signalizaciji (Locasale i Cantley, 2011). Oksidacija proteinskih fosfataza i tenzin homologa (PTEN, engl. *phosphatase and tensin homolog*) i tirozinskih kinaza (TK, engl. *tyrosine kinase*) ROS-ovima regulira signalne puteve kao što je PI3K/Akt koji su važni za staničnu proliferaciju, a premala razina ROS-ova ometa diobe (slika 5.) (Liou i Storz, 2010).



**Slika 5.** Oksidacija PTEN i TK ROS-ovima utječe na signalne puteve važne za proliferaciju, poput PI3K/AKT. Prilagođeno prema Kitagishi Y i Matsuda S 2013.

Osim kroz razinu ROS-ova, metabolizam glukoze kroz glikolitički tok reguliran je i acetilacijom kromatinskog stanja. Intermedijer Krebsovog ciklusa, acetil koenzim A (acetyl-CoA), substrat je u reakcijama acetilacije i tako ima direktan utjecaj na genom (Everts i sur., 2013). Povećanjem dostupnosti glukoze ili povećanjem aktivnosti enzima ATP-citrat liaze (ACLY, engl. *ATP citrate lyase*), uključenog u stvaranje acetila-CoA, povećava se razina acetilacije (Wellen i sur., 2009). Također redoks potencijal određen omjerom NAD<sup>+</sup>/NADH modulira aktivnost mnogih deacetilaza (Wellen i Thompson, 2012). Acetilacija i deacetilacija tako je pod utjecajem dostupnosti nutrijenata što je posljedica Warburgovog efekta.

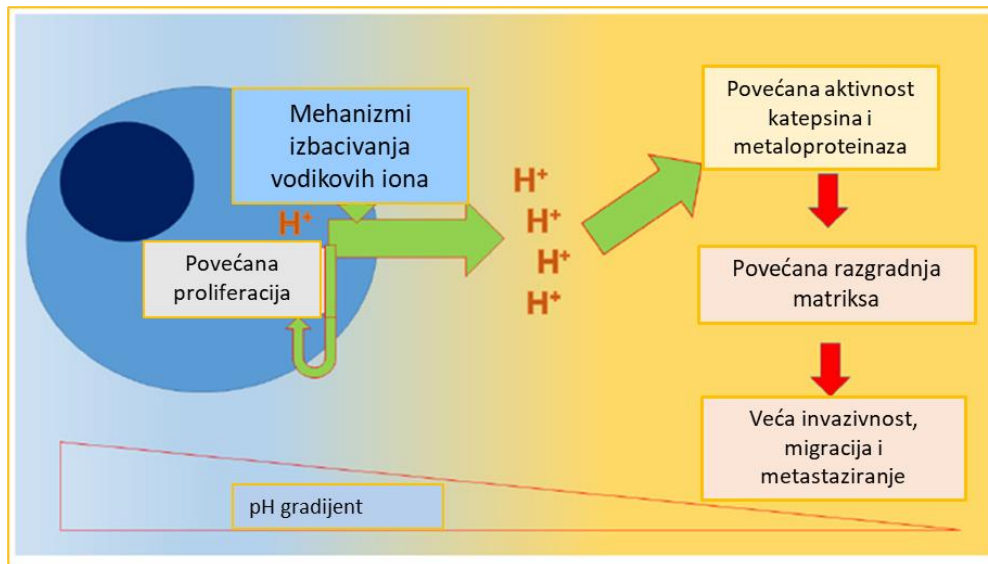
Osim prednosti koje Warburgov efekt pruža u vidu unutarstaničnog metabolizma, on omogućuje i selektivnu prednost u mnogostaničnom mikrookolišu na tri načina: smanjenjem dostupnosti glukoze, izlučivanjem laktata i smanjenjem pH (Liberti i sur., 2016). Prvo, u okolišu tumora prisutne su stanice imunskog sustava koji su pod utjecajem metaboličkih događanja u samom tumoru. Infiltrirajući tumorski limfociti (TIL, engl. *tumor infiltrating lymphocytes*) za ispunjenje svoje funkcije trebaju visoki unos glukoze, a stanice tumora kompetiraju za glukozu s limfocitima i smanjuju dostupnost glukoze (Cheng, 2015). Drugo, laktat kojeg izlučuju tumorske stanice utječe i na makrofage tako što se potiče njihova polarizacija u stanje M2 koje ima ulogu u imunosupresiji i zacjeljivanju rana (Colegio, 2014). Treći način, smanjenje pH, opisan je u sljedećem odlomku.

### **3. 1. 1. Zakiseljenje okoliša**

Okolno tkivo i ekstracelularni matriks koji okružuju tumor često imaju sniženi pH. Više je mogućih mehanizama kojima se on uspostavlja, ali smatra se da najveću ulogu ima izlučivanje laktata monokarboksilatnim transporterom 1 (MCT1, engl. *monocarboxylate transporter 1*) u kotransportu s H<sup>+</sup> ionom. Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> izmjenjivač (NHE, engl. *Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger*) i protonske pumpe (H<sup>+</sup>-ATP-aza, engl. *H<sup>+</sup> -ATPase*) još su neki od transportera uključenih u snižavanje pH (Kato i sur., 2013). Alternativni način zakiseljenja okoliša aktivnost je široko rasprostranjenog enzima karbonske anhidraze (CA, engl. *carbonic anhydrase*) koji hidratacijom CO<sub>2</sub>, nakupljenog putem pentoza fosfata, stvara H<sup>+</sup> ione (Swietach i sur., 2007).

Sniženi pH okoliša utječe na međustaničnu adheziju poticanjem razgradnje E-kadherina (engl. *E-cadherin*), kao i na stimulaciju metastatskog potencijala. Metaloproteinaze matriksa (MMP, engl. *matrix metalloproteinase*) i katepsini (CTP, engl. *cathepsin*) aktivirani su povećanom koncentracijom vodika što rezultira razgradnjom ekscelularnog matriksa i većom invazivnošću tumora (slika 6.)(Martinez-Zaguilan i sur., 1996; Rothberg i sur., 2013). Kiseli

ekstracelularni pH djeluje i na prijenos signala u samim tumorskim stanicama indukcijom ekspresije gena za metaloproteinazu matriksa MMP-9 i aktivacijom transkripcijskih faktora AP-1 (engl. *activator protein-1*) i NF- $\kappa$ B (engl. *nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells*) koji induciraju ekspresiju proteina VEGF-A uključenog u angiogenezu (Baeriswyl i Christofori, 2009; Kessenbrock i sur., 2010).

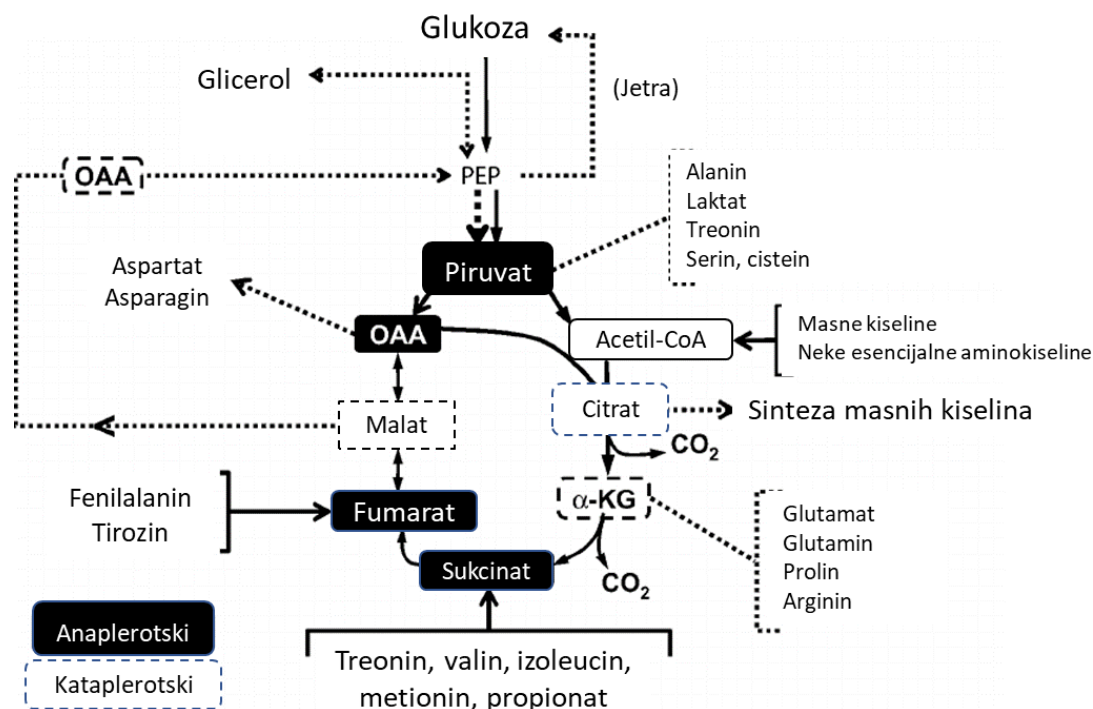


**Slika 6.** Shematski prikaz utjecaja kiselog okoliša tumorskih stanica na invazivnost, migraciju i metastaziranje tumora. Prilagođeno prema Koltai 2016.

### 3. 2. Bioenergetika i alternativni način dobivanja metabolita

Visoka razina unosa glukoze koju pokazuju tumorske stanice dovela je do krivog zaključka o glikolizi kao glavnom izvoru ATP-a (Warburg, 1956). Praćenjem staničnih procesa malignih stanica otkriveno je da većina tumora kao način generiranja ATP-a provodi procese koji se odvijaju u mitohondriju (Zu i Guppy, 2004). Spojevi ugljika, primjerice piruvat dobiven oksidacijom glukoze, u matriksu mitohondrija ulaze u daljni proces oksidacije koji se naziva Krebsov ciklus s konačnim dobitkom ATP-a i reducirajućih ekvivalenata NADH. NADH na unutarnjoj mitohondrijskoj membrani donor je elektrona u spontanom procesu oksidativne fosforilacije koja završava s neto dobitkom ATP-a. Načini na koji tumorske stanice snabdijevaju Krebsov ciklus raznoliki su (slika 7.). Glukoza, masne kiseline i aminokiseline mogu nizom reakcija biti pretvorene u substrate za Krebsov ciklus (DeBerardinis i Chandel, 2016). Glukoza se reakcijama glikolize pretvara u dvije molekule piruvata koje ulaze u mitohondrij u daljnje reakcije razgradnje. Masne kiseline razgrađuju se  $\beta$ -oksidacijom u mitohondriju do acetila-CoA koji je jedan od intermedijera Krebsova ciklusa. Aminokiselina glutamin konvertirana je enzimom glutaminazom (GLS, engl. *glutaminase*) u glutamat koji je

substrat za enzim glutamat dehidrogenazu (GLDH ili GDH, engl. *glutamate dehydrogenase*) ili transaminazu (engl. *transaminase*) aminokiselina generirajući  $\alpha$ -ketoglutarat koji je također jedan od intermedijera Krebsova ciklusa (Hensley, 2013). Oksidacijom razgranatih aminokiselina izoleucin, leucin i valin stvaraju se organske molekule, među kojima je i acetil-CoA, koje mogu biti izvor intermedijera pri čemu nastaju i substrati oksidativne fosforilacije NADH i flavin adenin dinukleotida (FADH<sub>2</sub>, engl. *flavin adenine dinukleotide*) (Mayers i sur., 2014).



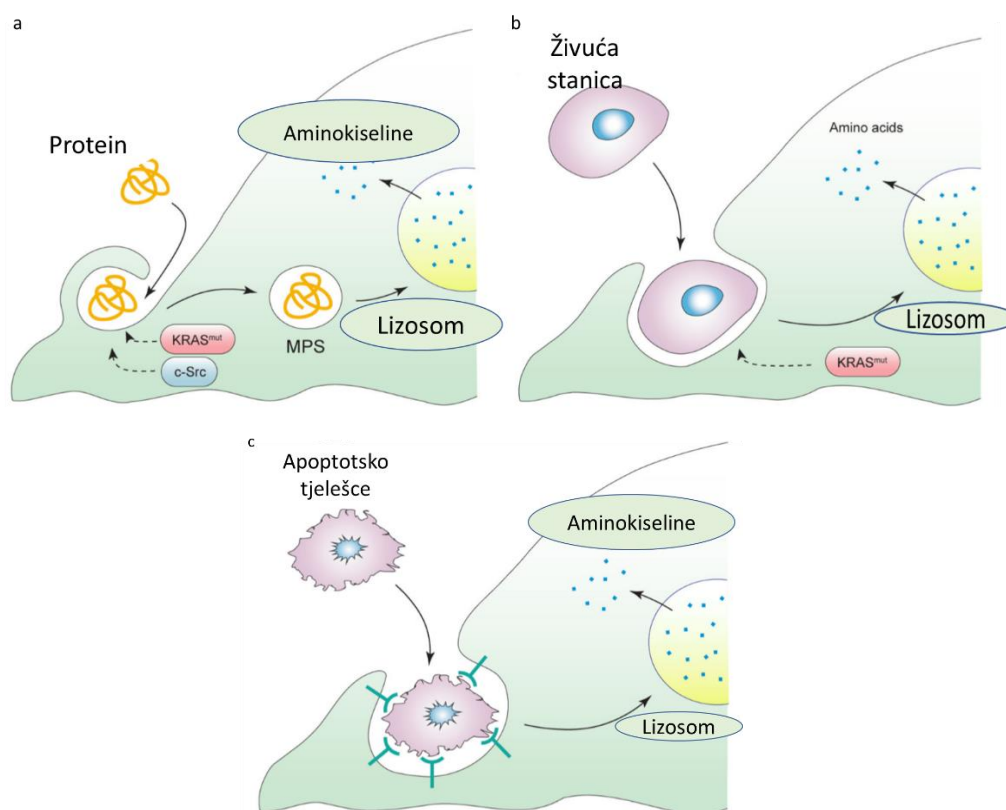
**Slika 7.** Različiti načini snabdijevanja Krebsovog ciklusa u tumorskim stanicama. OAA-oksaloacetat, engl. *oxaloacetate*; PEP-fosfoenolpiruvat, engl. *phosphoenolpyruvate*.

Prilagođeno prema Bequette i sur. 2006.

Što će tumorske stanice koristiti kao izvor nutrijenata uvelike ovisi o tumorskom mikrookolišu. Kako bi se nosili sa velikom potrošnjom tvari i često nedovoljnom dostupnošću nutrijenata i kisika putem krvožilnog sustava mnogi tumori razvili su mehanizme za održavanje funkcije mitohondrija nužnih za preživljavanje. Oksidativna fosforilacija se tako provodi u uvjetima koncentracije kisika od samo 0,5 % (hipoksija nastupa ispod 2 %) (Chandel i sur. 1997; Fan i sur., 2013). Različite mutacije omogućuju stanicama alternativne načine dobivanja nutrijenata (slika 8.). U normalnim stanicama iskorištavanje izvanstaničnih proteina kao što su serumski proteini nije uobičajeno. Sam proces unosa tih proteina događa se makropinocitozom gdje se invaginira stanična membrana i formira džep čijim uvrtnjem u stanicu nastaje vezikula



koja sadrži veliku količinu okolne tekućine. Stapanjem vezikule sa lizosomima dolazi do razgradnje sadržaja vezikule (Kerr i Teasdale, 2009). Mutantni proteini Ras i c-Src, koji potiču remodeliranje aktinskog citoskeleta povezanog s procesom makropinocitze, osiguravaju tumorskim stanicama mehanizam iskorištavanja izvanstaničnih proteina kao izvora aminokiselina (Commisso i sur., 2013). Na proces iskorištavanja aminokiselina represorski djeluje mTORC1 (engl. *mammalian target of rapamycin complex 1*). U slučaju nedostatka slobodnih aminokiselina i kisika mTOR kinaza (engl. *mTOR kinase*), koja je sastavni dio kompleksa mTORC1, biva inhibirana (Palm i sur., 2015). Osim samim proteinama, tumorske stanice mogu obnoviti slobodne aminokiseline i razgradnjom čitavih stanica procesom entoze, ali i fagocitozom i unošenjem apoptotskim tjelešaca koji također prolaze fazu lizosomalne razgradnje (Stolzinger i Grune, 2004; Krajcovic i sur., 2013). Stanice s mutiranim genom *KRAS* prije će provoditi entozu nego biti konzumirane u tom procesu (Sun i sur., 2014). Stanice time dobivaju selektivnu prednost kojom, ne samo da uspješno izbjegavaju smrt, već se rješavaju kompeticije u svome okruženju (Pavlova i Thompson, 2017).



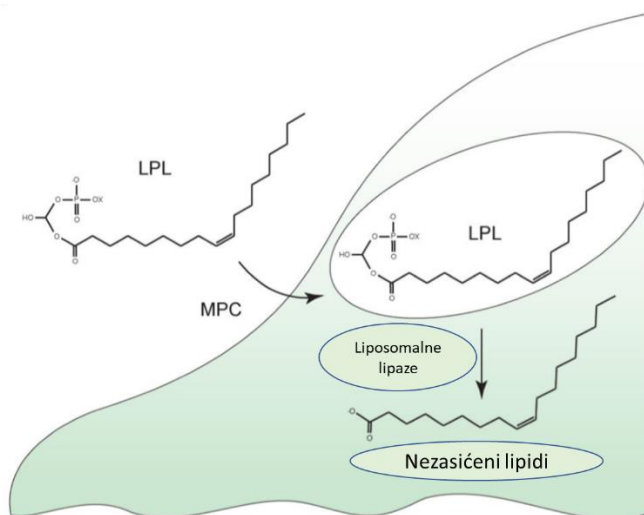
**Slika 8.** U nedostatku aminokiselina, tumorske ih stanice obnavljaju makropinocitozom ekstracelularnih proteina, pri čemu nastaje makropinosom (MPS, engl. *macropinosome*) (slika a), entozom živućih stanica (slika b) i fagocitozom apoptotskih tjelešaca (slika c).

Prilagođeno prema Pavlova i Thompson 2016.



U slučaju manjka nutrijenata nužno je održavanje spontanosti procesa održavanjem omjera ATP/ADP (engl. *adenosine diphosphate*) tako što se smanjuje iskorištavanje ATP-a (Laplante i Sabatini, 2012). Ukoliko energetska status i dalje nije povoljan, visoka koncentracija ADP-a aktivira adenilat kinazu (ADK, engl. *adenylate kinase*), koja je fosfotransferaza, pri čemu se puferira razina ATP, a osim jedne molekule ATP-a nastaje i AMP (engl. *adenosine monophosphate*) (Lanning i sur., 2014). Povećanje AMP-a aktivira AMP kinazu (AMPK, engl. *AMP-activated protein kinase*) koja potiče kataboličke procese kao što je razgradnja masnih kiselina (Hardie i sur., 2016). U uvjetima s manjkom hranjivih tvari može se potaknuti i makroautofagiju, odnosno proces gdje se vlastiti organeli okruže dvostrukom membranom i stapaju se potom s lizosomima koji sadrže lipaze i proteaze koje omogućuju oslobađanje slobodnih masnih kiselina i aminokiselina (Boya i sur., 2013). Važno je napomenuti da ovaj proces ne osigurava neto dobitak mase i ne rezultira proliferacijom već samo koristi već dostupne komponente (Pavlova i Thompson, 2016).

Uvjeti manjka opskrbe kisikom imaju mnogostruke učinke na stanicu u procesima u kojima je kisik uključen kao akceptor elektrona. Takva supresija enzima sterol-CoA desaturaze ometa uvođenje dvostrukih veza u dugačke lance zasićenih masnih kiselina i smanjuje njihovu koncentraciju. Alternativni način pribavljanja masnih kiselina uvođenje je lizofosfolipida iz vanjskog okoliša (slika 9.). Povećanjem ekspresije gena za lipoproteinske lipaze (LPL, engl. *lipoprotein lipase*) i monoacilglicerol lipaze (MGL, engl. *monoacylglycerol lipase*) kod nekih tumora povećava se oslobađanje masnih kiselina iz masnih kapljica. Masne stanice u okolnom tkivu mogu biti korištene u slučajevima manjka nutrijenata (Kamphorst i sur., 2013). Ekspresija FABP4 proteina (engl. *fatty acid-binding protein 4*) veže masne kiseline na površini metastatskih stanica raka jajnika i dopušta iskorištavanje aminokiselina iz adipocita abdominalne masnoće (Nieman et al., 2011).



**Slika 9.** U uvjetima manje opskrbe kisikom alternativni je način pribavljanja masnih kiselina makropinocitoza (MPC, engl. *macropinocytosis*) ekstracelularnih lizofosfolipida (LPL, engl. *lysophospholipids*). Prilagođeno prema Pavlova i Thompson 2016.

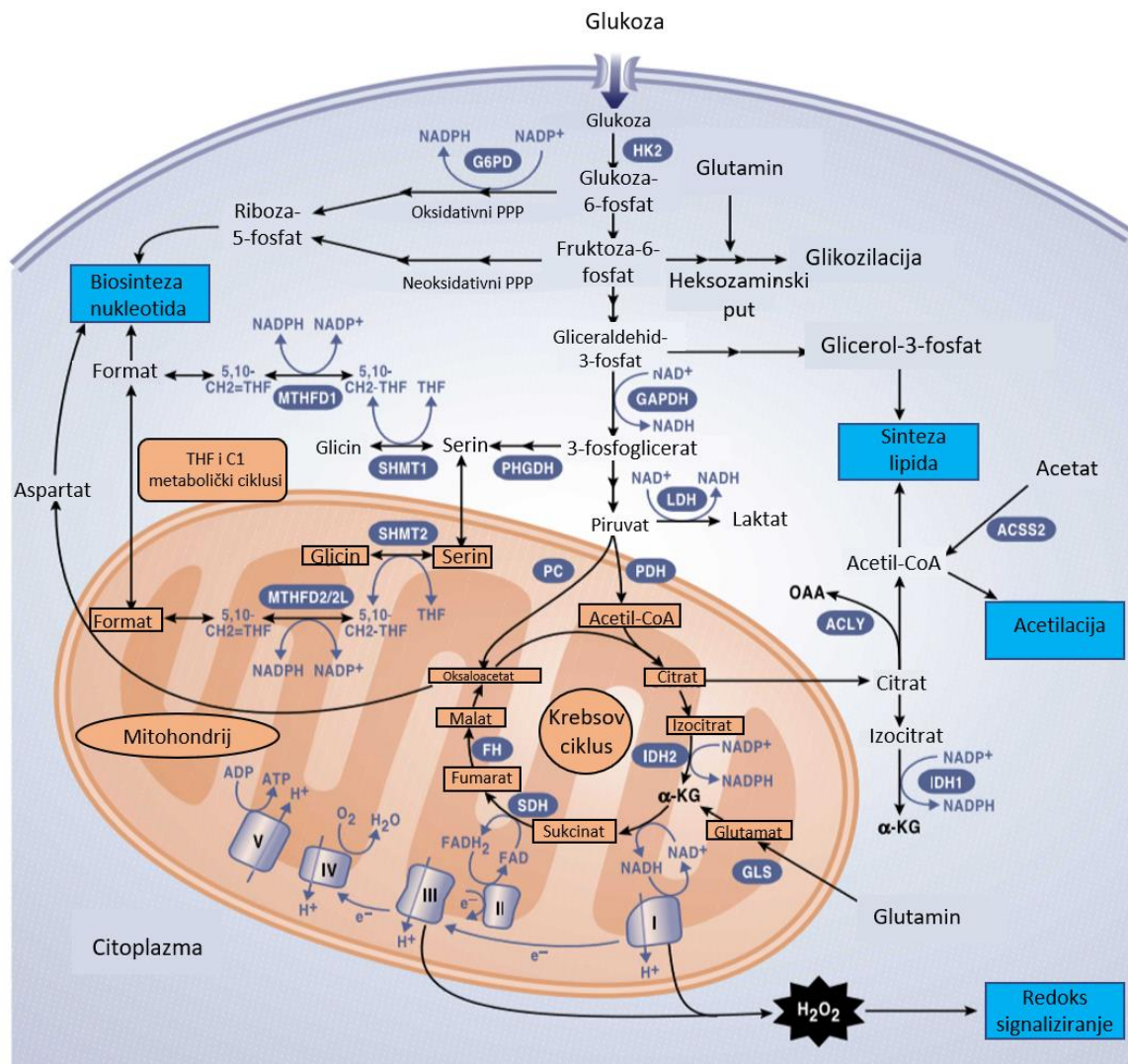
### 3. 3. Biosinteza makromolekula

Proliferacijom stanice mijenja se način na koji se nutrijenti iskorištavaju. Povećanje tumorske biomase podrazumijeva proizvodnju raznolikog seta makromolekula biosintetskim putevima (Pavlova i Thompson, 2016). Oni uključuju stjecanje nutrijenata, zatim njihovu pretvorbu u biosintetske intermedijere kroz glikolizu, put pentoza fosfata, Krebsov ciklus i sintezu neesencijalnih aminokiselina te na kraju, kroz reduktivan proces ovisan o ATP-u, sintezu kompleksnijih makromolekula (DeBerardinis i Chandel, 2016). Acetil-CoA, folat, S-adenozilmetionin, intermedijeri glikolitičkog ciklusa i ciklusa limunske kiseline neki su od prekursora koji se mogu koristiti u procesu reduktivne biosinteze.

Procesi biosinteze zahtijevaju i izvor reduktivnih jedinica u obliku elektronskih donora NADPH. Dio stečenih nutrijenata mora stoga biti iskorišten za stvaranje NADPH (slika 9.). Oni nastaju putevima drugačijim od stjecanja NADH koji se koristi za stvaranje ATP-a (Vander Heiden i sur., 2009; Lunt i Vander Heiden, 2011). Istraživanjem funkcije mitohondrija u tumorskim stanicama došlo se do zaključka da oni zadržavaju sposobnost provođenja Krebsova ciklusa i oksidativne fosforilacije, što je u suprotnosti s onime kako se tumačio Warburgov efekt u samim počecima (Tan i sur., 2015).

Štoviše, Warburgov efekt je također prisutan i kod genetički normalnih proliferirajućih stanica što govori u prilog tome da je ono reguliran proces i ima povoljan učinak na biosintezu (Brand i sur., 1986). Zoran primjer je preusmjerenje mnogih glikolitičkih intermedijera u

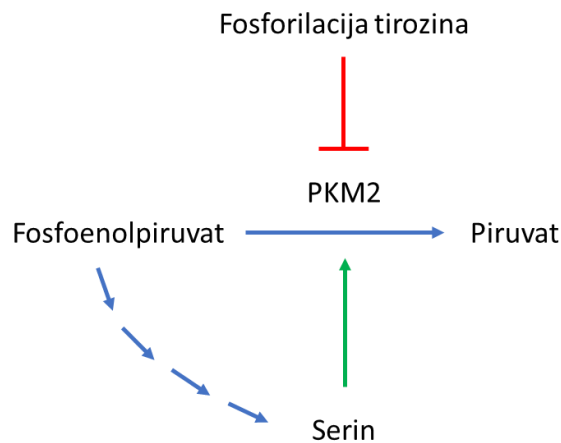
druge metaboličke puteve, koji se granaju iz puta glikolize, pri čemu nastaju biosintetski prekursori (slika 10.). Glukoza-6-fosfat prvi je intermedijer u glikolitičkom putu koji se oksidira u putu pentoze fosfata (PPP), jednoj od metaboličkih grana iz glikolitičkog puta, u NADPH i ribozu-5-fosfat. Ribozu-5-fosfat strukturna je komponenta nukleotida, i tako čini ishodište metaboličkog puta za njihovu sintezu (Lehninger i sur., 1993). Daljni glikolitički intermedijeri fruktoza-6-fosfat i dihidroxiaceton fosfat također su substrati u biosintetskim procesima uključenih primjerice u sintezu hijaluronske kiseline ili glicerol-3-fosfata, komponente fosfolipida (Itkonen i sur., 2013). 3-fosfoglicerat biosintetski je prekursor je iz kojeg divergira cijeli niz metaboličkih puteva (Lehninger i sur., 1993). Aminokiselina serin, koja je i substrat za sintezu aminokiseline glicina, prva je u redu produkata ovih puteva. Enzim 3-fosfoglicerat dehidogenaza (PHGDH, engl. *phosphoglycerate dehydrogenase*) u biosintetskom putu serina, koji određuje brzinu sinteze, često je povećano eksprimiran u melanomima i raku dojke (Possemato i sur., 2011). Istraživanje je pokazalo da i do 50 % reduciranog oblika ugljika koji ulazi u glikolitički ciklus može biti iskorišten za sintezu serina što govori o njegovoj važnosti u daljnjim metaboličkim koracima (Locasale i sur., 2011). U ciklusu folata jedan je od značajnijih substrata.  $\Gamma$  ugljikov atom može biti prebačen na molekulu tetrahidrofolata (THF, engl. *tetrahydrofolate*) koja tako postaje nositelj metilne skupine. Reakciju može katalizirati enzim serin hidroksimetiltransferaza 2 (SHMT2, engl. *serine hydroxymethyltransferase 2*) smještena u mitohondriju ili njegova izoforma u citosolu (SHMT1) čime se generira 5, 10-metilen-tetrahidrofolat (Tibbetts i Appling, 2010). U nizu oksidacijsko-redukcijskih reakcija stvara se set donora skupina s jednim ugljikovim atomom, primjerice metilne, koji postaju kofaktori u sintezi nukleotida i S-adenozilmetionin koji postaje najznačajniji donor metilne skupine u daljnjim reakcijama. Oksidacija tetrahidrofolatnih skupina, nositelja skupine s jednim ugljikovim atomom može biti odgovorno za stvaranje i do 50 % staničnog NADPH (Fan i sur., 2014). O značaju metabolizma tetrahidrofolata u tumorigenezi govori o tome da enzim metilen tetrahidrofolat dehidrogenaza 2 (MTHFD2, engl. *methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 2*), katalizator jedne od reakcije u ciklusu folata u mitohondriju, među tri je najčešća nadeksprimirana enzima u stanicama raka (Nilsson, 2014).



**Slika 10.** Preusmjeravanje glikolitičkih intermedijera u druge metaboličke puteve. HK- heksokinaza 2, engl. *hexokinase 2*; G6PD- glukoza-6-fosfat dehidrogenaza, engl. *glucose-6-phosphate dehydrogenase*; GAPDH-gliceraldehyd-3-fosfat dehidrogenaza engl. *glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*; ACS2- acetil-CoA sintetaza, engl. *acetyl-CoA synthetase 2*; IDH1 (IDH2)- izocitrat dehidrogenaza 1 (2), engl. *isocitrate dehydrogenase 1(2)*; PDH-piruvat dehidrogenaza, engl. *pyruvate dehydrogenase*; GLS-glutaminaza, engl. *glutaminase*; SDH-sukcinat dehidrogenaza, engl. *succinate dehydrogenase*; FH-fumarat hidrataza, engl. *fumarate hydratase*; PC-piruvat karboksilaza, engl. *pyruvate carboxylase*.

Prilagođeno prema DeBerardinis i Chandel 2016.

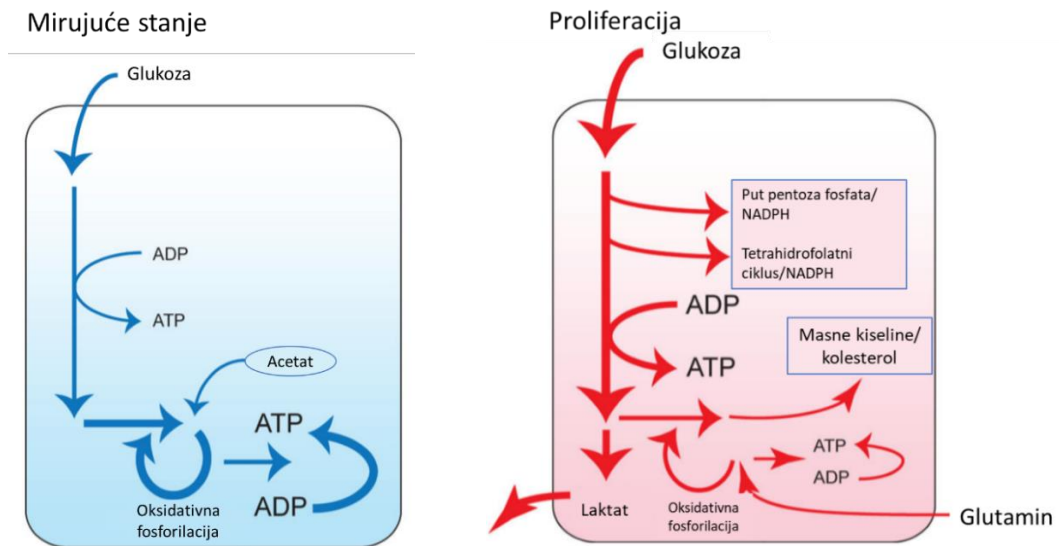
Zadnji korak glikolitičkog puta katalizira enzim piruvat kinaza (PK, engl. *pyruvate kinase*) koja u većini tkiva, a tako i kod tumorskih stanica, postoji u izoformi piruvat kinaza M (PKM, engl. *pyruvate kinase muscle isozyme*). Za varijantu enzima PKM2, iako manje efikasna od PKM1, postoji više mehanizama regulacije koji uključuju negativnu regulaciju fosforilacijom tirozina, pozitivnu alosteričku regulaciju serinom i drugim nusproduktima metabolizma glukoze (slika 11.) (Christofk i sur., 2008a; Chaneton i sur., 2012). Signalni putevi faktora rasta pojačavaju biosintetske procese inhibicijom enzima PKM2 čime dolazi do nakupljanja glikolitičkih intermedijera, a time i prekursora za sintezu serina (Ye i sur., 2012). Dovoljno visoka koncentracija slobodnog serina potom aktivira enzim PKM2 čime se povećava sinteza piruvata (Chaneton i sur., 2012).



**Slika 11.** Regulacija enzima PKM2.

U prilog važnosti glikolize u tumorskim stanicama govori i nadeksprimiranost većine enzima ovog metaboličkog puta, a i sama važnost regulacije PKM, koja će, ovisno o signalima, usmjeriti metabolite glukoze prema biosintetskim procesima ili u daljnju oksidaciju kroz Krebsov ciklus (slika 10.) (Altenberg i Greulich, 2004). Višak piruvata u mitohondriju, koji ne ulazi u Krebsov ciklus, pretvara se u citrat koji se može trikakarbonsilatnim nosačem prenijeti u citosol (slika 10.). Enzimskom se reakcijom potom stvara acetil-CoA i oksaloacetat. Acetil-CoA služi za *de novo* sintezu masnih kiselina i acetilaciju proteina, dok se oksaloacetat može pretvoriti u malat i preko malat-aspartat transportera (engl. *malate-aspartate shuttle*) prenijeti u mitohondrij. Tamo će služiti kao izvor intermedijera za Krebsov ciklus (anapleroza) (Pavlova i Thompson, 2016).

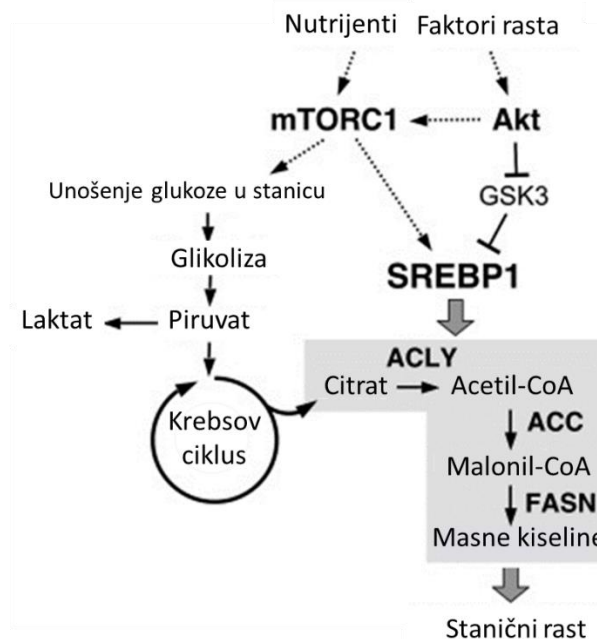
Mirujuće tumorske mase, za razliku od proliferirajućih stanica, pokazuju manju potrebu za nakupljanjem glikolitičkih intermedijera i veće potrebu za oksidativnom fosforilacijom (slika 12.). Manja potreba za biosintetskim prekursorima, kao i veća efikasnost proizvodnje ATP-a kroz mitohondrijske, potvrđuju teoriju o funkcionalnosti mitohondrija u tumorskim stanicama i zadržavanju njihove funkcije (LeBleu i sur., 2014; Viale i sur., 2014).



**Slika 12.** Razlika snabdijevanja energijom između tumorske stanice u mirujućem stanju i u proliferaciji. Prilagođeno prema Pavlova i Thompson 2016.

Signalni putevi potaknuti faktorima rasta također potiču biosintetske procese djelujući na povećano iskorištavanje intermedijera Krebsova ciklusa. Signalni put PI3K/Akt (engl. *phosphatidylinositol 3-kinase/ protein kinase B*) djelovanjem proteina Akt aktivira ATP-citrat liazu prisutnu u citosolu koja katalizira stvaranje acetil-CoA iz citrata, prekursora za sintezu masnih kiselina (slika 13.) (Berwick i sur., 2002). Sinteza masnih kiselina nije nužna samo zbog povećane potrebe za stvaranjem novih membranskih struktura novonastajućih stanica, već omogućuje i prilagodbu tijekom oksidativnog stresa. Tumorske stanice tako imaju sposobnost da promjene sastav svojih membrana u kojoj će fosfolipidi imati veći udio zasićenih masnih kiselina koje su otpornije na oksidativna oštećenja (Rysman i sur., 2010). Ključne korake u sintezi masnih kiselina kataliziraju acetil-CoA karboksilaza (ACC, engl. *acetyl-CoA carboxylase*) koja karboksilacijom acetila-CoA generira malonil-CoA kojega u daljnoj sintezi kao substrat koristi sintaza masnih kiselina (FASN, engl. *fatty acid synthase*) (Chajes i sur., 2006; Flavin i sur., 2010). Uz enzim koji je odgovoran za stvaranje acetila-CoA, ACLY, i ostali

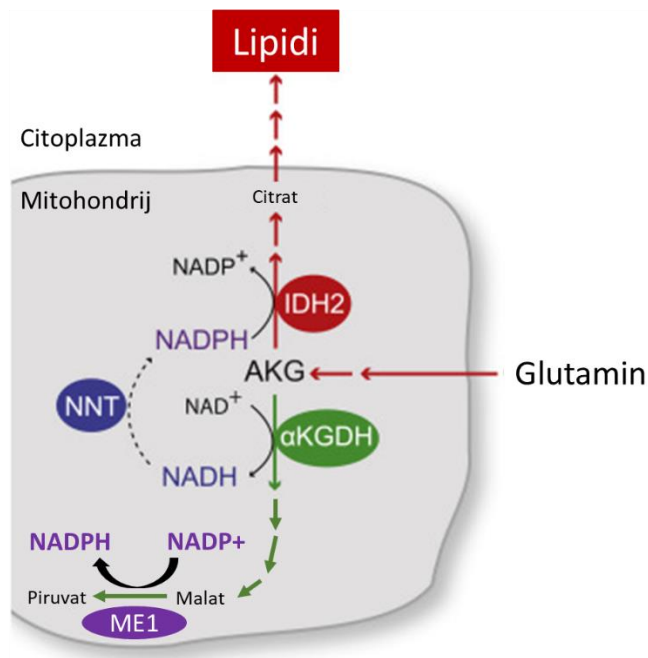
enzimi uključeni u daljnju sintezu masnih kiselina redovito su povećano eksprimirani u tumorskim stanicama (Milgraum i sur., 1997).



**Slika 13.** Prikaz signalnih puteva i enzima uključениh u sintezu masnih kiselina u tumorskim stanicama. GSK- kinaza glikogen-sintaze 3, engl. *glycogen synthase kinase*; SREBP1- sterolni regulacijski element-vežući protein 1, engl. *sterol regulatory element-binding protein 1*. Prilagođeno prema Porstmann T i sur. 2008.

Uz glikolizu, Krebsov ciklus također je izvor metaboličkih prekursora, primjerice za sintezu aminokiselina aspartata i asparagina (slika 7.) (Sullivan i sur., 2015). Kako bi proliferirajuće stanice zadržale sposobnost sinteze aminokiselina i ostalih makromolekula, nužno je održavanje ravnoteže između iskorištavanja biosintetskih prekursora i njihovog nadomještanja kroz anaplerotske reakcije. Mnoge proliferirajuće stanice tako glutaminolizom nadomještaju  $\alpha$ -ketoglutarat (slika 14.) (DeBerardinis i sur., 2007). Daljnjim reakcijama stvaraju se malat i citrat koji mogu biti iskorišteni u biosintezi. Citrat može poslužiti za sintezu lipida *de novo* dok se iz malata djelovanjem malatnog enzima 1 (ME1, engl. *malic enzyme 1*) stvara piruvat uz dobitak NADPH (Son i sur., 2013).





**Slika 14.** A-ketoglutarat, dobiven iz glutamina, intermedijer je za sintezu citrata iz kojeg nastaju lipidi te za sintezu malata iz kojeg se dobiva NADPH i piruvat. IDH2-izocitrat dehidrogenaza, engl. *isocitrate dehydrogenase*; NNT- nikotinamid nukleotid transhidrogenaza, engl. *nicotinamide nucleotide transhydrogenase*; αKGDH- α-ketoglutarat dehidrogenaza, engl. *α-ketoglutarate dehydrogenase*. Prilagođeno prema Mullen i sur. 2014.



#### 4. Terapije koje ciljaju metabolizam tumorskih stanica

Bez obzira na podrijetlo i vrstu tkiva iz kojeg nastaju, stanice tumora pokazuju promijenjene metaboličke funkcije pa se o tumorima može govoriti i kao o metaboličkoj bolesti (Seyfried i sur., 2010). Bolje razumijevanje mehanizma nastajanja i razvitka bolesti omogućili su specifično ciljanje i razvoj terapije prilikom liječenja. Povećana razina glikolize i posljedično izlučivanje laktata postali su meta za brojne antitumorske lijekove. Enzim heksokinaza (HK, engl. *hexokinase*) kao substrat koristi 2-deoksiglukoze, koja je analog glukoze, čime se stvara produkt 2-deoksiglukoza-6-fosfata koji ne može biti substrat za daljnje metaboličke reakcije. Nakupljanje ovoga produkta kompetitivno će inhibirati enzim i smanjiti iskorištavanje glukoze, jednog od najznačajnijih nutrijenata za tumorsku stanicu (Wick i sur., 1957). Zadnji korak glikolitičkog puta koji je kataliziran enzimom PK može također biti meta lijekova. Povećana aktivnost i ekspresija PK smanjuje razinu aerobne glikolize i tako usporavaju proliferaciju i rast tumora (Christofk i sur., 2008). Potencijalni lijekovi mogu za svoju metu koristiti i biosintetske procese. S obzirom da je uloga serina za ove procese višestruka, npr. sinteza glicina, fosfolipida i sudjelovanje u ciklusu folata, inhibicija enzima PHGDH ključnog za sintezu serina je toksična za stanice kod kojih on ima značajnu ulogu (Possemato i sur., 2011). Istražuju se i načini smanjenja sinteze tumoru potrebnih masnih kiselina *de novo*, a ciljani enzimi su ACLY, ACC i FASN čije se djelovanje pokušava inhibirati (Bauer i sur., 2005; Brusselmans i sur., 2005; Heuer i sur., 2017). Genetički usmjerene terapije na enzime ACLY smanjuju proliferaciju stanica tumora, a one usmjerene na ACC induciraju apoptozu (Bauer i sur., 2005.; Brusselmans i sur., 2005). Još neki od potencijalnih terapijskih meta su enzimi uključeni u glutaminolizu, održavanje homeostaze NAD<sup>+</sup>/NADH, stjecanje nukleotida i njihovu sintezu *de novo* (Luengo i sur., 2017).

Kako različiti tumori imaju različite metaboličke puteve tako i lijekovi koji se koriste za pojedine tumore trebaju biti što specifičniji da bi bili efikasniji u liječenju. Pri tome se posebnu pozornost daje sličnostima između metabolizma tumorske i zdrave stanice, što može dovesti do toga, da lijek, iako učinkovit protiv tumorskih, nanosi štetu i zdravim stanicama, što se prezentira u nuspojavama. Kako je ukupno, opće zdravlje krajnji cilj terapije, potrebni su što učinkovitiji lijekovi sa što manje nuspojava. Najbliže tome cilju se može doći otkrivanjem pojedinosti metabolizma ekskluzivnih za tumorske stanice.

## 5. Literatura

- Adams JM i Cory S 2007. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene* **26**, 1324-37. doi: 10.1038/sj.onc.1210220
- Almuhaideb A, Papathanasiou N i Bomanji J 2011. 18F-FDG PET/CT imaging in oncology. *Annals of Saudi Medicine* **31**, 3-13. doi:10.4103/0256-4947.75771
- Altenberg B i Greulich KO 2004. Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes. *Genomics* **84**, 1014-20. doi: 10.1016/j.ygeno.2004.08.010
- Baeriswyl V i Christofori G 2009. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biology* **19**, 329-37. doi:10.1016/j.semcancer.2009.05.003
- Bauer DE, Hatzivassiliou G, Zhao F, Andreadis C i Thompson CB 2005. ATP citrate lyase is an important component of cell growth and transformation. *Oncogene* **24**, 6314-22. doi:10.1038/sj.onc.1208773
- Bequette BJ, Sunny NE, El-Kadi SW i Owens SL 2006. *Journal of Animal Science* **84**, E50–E59. doi: 10.2527/2006.8413\_supplE50x
- Berwick DC, Hers I, Heesom KJ, Moule SK i Tavaré JM 2002. The identification of ATP-citrate lyase as a protein kinase B (Akt) substrate in primary adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry* **277**, 33895-900. doi: 10.1074/jbc.M204681200
- Blasco MA, 2005. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nature reviews. Genetics* **6**, 611-22. doi: 10.1038/nrg1656
- Boya P, Reggiori F i Codogno P 2013. Emerging regulation and functions of autophagy. *Nature Cell Biology* **15**, 713-20. doi: 10.1038/ncb2788
- Brand K, Leibold W, Lippa P, Schoerner C i Schulz A 1986. Metabolic alterations associated with proliferation of mitogen-activated lymphocytes and of lymphoblastoid cell lines: evaluation of glucose and glutamine metabolism. *Immunobiology* **173**, 23-34. doi: 10.1016/S0171-2985(86)80086-9
- Brusselmans K, De Schrijver E, Verhoeven G i Swinnen JV 2005. RNA interference-mediated silencing of the acetyl-CoA-carboxylase- $\alpha$  gene induces growth inhibition and apoptosis of prostate cancer cells. *Cancer Research* **65**, 6719-25. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0571

- Burkhardt DL i Sage J 2008. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nature Reviews Cancer* **8**, 671-82. doi:10.1038/nrc2399
- Chajes V, Cambot M, Moreau K, Lenoir GM i Joulin V 2006. Acetyl-CoA carboxylase alpha is essential to breast cancer cell survival. *Cancer Research* **66**, 5287-94. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1489
- Chandel NS, Budinger GR, Choe SH i Schumacker PT 1997. Cellular respiration during hypoxia. Role of cytochrome oxidase as the oxygen sensor in hepatocytes. *The Journal of Biological Chemistry* **272**, 18808-16. doi:10.1074/jbc.272.30.18808
- Chaneton B, Hillmann P, Zheng L, Martin AC, Maddocks OD, Chokkathukalam A i sur. 2012. Serine is a natural ligand and allosteric activator of pyruvate kinase M2. *Nature* **491**, 458-62. doi: 10.1038/nature11540
- Chang C-H, Curtis JD, Maggi Jr. LB, Faubert B, Villarino AV, O'Sullivan D i sur. 2013. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis. *Cell* **153**, 1239-51. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.016
- Chang C-H, Qiu J, O'Sullivan D, Buck MD, Noguchi T, Curtis JD i sur. 2015. Metabolic Competition in the Tumor Microenvironment Is a Driver of Cancer Progression. *Cell* **162**, 1229-41. doi:10.1016/j.cell.2015.08.016
- Christofk HR, Vander Heiden MG, Wu N, Asara JM i Cantley LC 2008a. Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein. *Nature* **452**, 181-6. doi: 10.1038/nature06667
- Christofk HR, Vander Heiden MG, Harris MH, Ramanathan A, Gerszten RE, Wei R i sur. 2008b. The M2 splice isoform of pyruvatekinase is important for cancer metabolism and tumor growth. *Nature* **452**, 230-3. doi: 10.1038/nature06734
- Clark WH 1991. Tumour progression and the nature of cancer. *British Journal of Cancer* **64**, 631-44. doi:10.1038/bjc.1991.375
- Colegio OR, Chu N-Q, Szabo AL, Chu T, Rhebergen AM, Jairam V i sur. 2014. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature* **513**, 559-63. doi: 10.1038/nature13490
- Commisso C, Davidson SM, Soydaner-Azeloglu RG, Parker SJ, Kamphorst JJ, Hackett S i sur. 2013. Macropinocytosis of protein is an amino acid supply route in Ras-transformed cells. *Nature* **497**, 633-7. doi: 10.1038/nature12138.

- Dayton TL, Jacks T i Vander Heiden MG 2016. PKM2, cancer metabolism, and the road ahead. *EMBO Reports* **17**, 1721-30. doi: 10.15252/embr.201643300
- DeBerardinis RJ, Mancuso A, Daikhin E, Nissim I, Yudkoff M, Wehrli S i sur. 2007. Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**, 19345-50. doi: 10.1073/pnas.0709747104
- DeBerardinis RJ i Chandel NS 2016. Fundamentals of cancer metabolism. *Science Advances* **2**:e1600200. doi:10.1126/sciadv.1600200
- DeNardo DG, Andreu P i Coussens LM 2010. Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro- versus anti-tumor immunity. *Cancer Metastasis Reviews* **29**, 309-16. doi:10.1007/s10555-010-9223-6
- Evertts AG, Zee BM, Dimaggio PA, Gonzales-Cope M, Collier HA i Garcia BA 2013. Quantitative dynamics of the link between cellular metabolism and histone acetylation. *Journal of Biological Chemistry* **288**, 12142-51. doi:10.1074/jbc.M112.428318
- Fan J, Kamphorst JJ, Mathew R, Chung MK, White E, Shlomi T i Rabinowitz JD 2013. Glutamine-driven oxidative phosphorylation is a major ATP source in transformed mammalian cells in both normoxia and hypoxia. *Molecular Systems Biology* **9**, 712. doi: 10.1038/msb.2013.65.
- Fan J, Ye J, Kamphorst JJ, Shlomi T, Thompson CB i Rabinowitz JD 2014. Quantitative flux analysis reveals folate-dependent NADPH production. *Nature* **510**, 298-302. doi: 10.1038/nature13236
- Flavin R, Peluso S, Nguyen PL i Loda M 2010. Fatty acid synthase as a potential therapeutic target in cancer. *Future Oncology* **6**, 551-62. doi: 10.2217/fon.10.11
- Folkman J 1971. Tumor angiogenesis therapeutic implications. *The New England Journal of Medicine*, **285**:1182-6 doi: 10.1056/NEJM197111182852108
- Folkman J i Hanahan D 1991. Switch to the angiogenic phenotype during tumorigenesis. *Princess Takamatsu Symposia* **22**, 339-47.
- Hanahan D i Weinberg RA 2011. Hallmarks of Cancer: The next generation. *Cell* **144**, 646-7. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013

- Hardie DG, Schaffer BE i Brunet A 2016. AMPK: An Energy-Sensing Pathway with Multiple Inputs and Outputs. *Trends in Cell Biology* **26**, 190-201. doi: 10.1016/j.tcb.2015.10.013
- Hensley CT, Wasti AT i DeBerardinis RJ 2013. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *The Journal of Clinical Investigation* **123**, 3678-84. doi: 10.1172/JCI69600
- Heuer TS, Ventura R, Mordec K, Lai J, Fridlib N, Buckley D i sur. 2017. FASN Inhibition and Taxane Treatment Combine to Enhance Anti-tumor Efficacy in Diverse Xenograft Tumor Models through Disruption of Tubulin Palmitoylation and Microtubule Organization and FASN Inhibition-Mediated Effects on Oncogenic Signaling and Gene Expression. *EBioMedicine* **16**, 51-62. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.12.012
- Ho P-C, Dautz Bihuniak J, Macintyre AN, Staron M, Liu X, Amezquita R i sur. 2015. Phosphoenolpyruvate Is a Metabolic Checkpoint of Anti-tumor T Cell Responses. *Cell* **162**, 1217-28. doi: 10.1016/j.cell.2015.08.012
- Itkonen HM, Minner S, Guldvik IJ, Sandmann MJ, Tsourlakis MC, Berge V i sur. 2013. O-GlcNAc transferase integrates metabolic pathways to regulate the stability of c-MYC in human prostate cancer cells. *Cancer Research* **73**, 5277-87. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0549
- Jeronim GE i Bertau M 2005. Bioorganikum: Praktikum der Biokatalyse. 2.izdanje. Weinheim: Wiley-VCH.
- Kamphorst JJ, Cross JR, Fan J, de Stanchina E, Mathew R, White EP i sur. 2013. Hypoxic and Ras-transformed cells support growth by scavenging unsaturated fatty acids from lysophospholipids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **110**, 8882-7. doi: 10.1073/pnas.1307237110
- Kato Y, Ozawa S, Miyamoto C, Maehata Y, Suzuki A, Maeda T i sur. 2013. Acidic extracellular microenvironment and cancer. *Cancer Cell International* **13**, 89. doi:10.1186/1475-2867-13-89
- Kerr MC i Teasdale RD 2009. Defining macropinocytosis. *Traffic* **10**, 364-71. doi:10.1111/j.1600-0854.2009.00878.x

- Kitagishi Y i Matsuda S 2013. Redox regulation of tumor suppressor PTEN in cancer and aging (Review). *International journal of molecular medicine* **31**, 511-5. doi: 10.3892/ijmm.2013.1235
- Koltai T 2016. Cancer: fundamentals behind pH targeting and the double-edged approach. *OncoTargets and therapy* **9**, 6343-60. doi: 10.2147/OTT.S115438
- Krajcovic M, Krishna S, Akkari L, Joyce JA i Overholtzer M 2013. mTOR regulates phagosome and entotic vacuole fission. *Molecular Biology of the Cell* **24**, 3736-45. doi:10.1091/mbc.E13-07-0408
- Lane DP 1992. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* **358**, 15-16. doi:10.1038/358015a0
- Lanning NJ, Looyenga BD, Kauffman AL, Niemi NM, Sudderth J, DeBerardinis RJ i sur. 2014. A mitochondrial RNAi screen defines cellular bioenergetic determinants and identifies an adenylate kinase as a key regulator of ATP levels. *Cell Reports* **7**, 907-17. doi: 10.1016/j.celrep.2014.03.065
- Laplante M i Sabatini DM 2012. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell* **149**, 274-93. doi: 10.1016/j.cell.2012.03.017
- LeBleu VS, O'Connell JT, Gonzalez Herrera KN, Wikman H, Pantel K, Haigis MC i sur. 2014. PGC-1alpha mediates mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation in cancer cells to promote metastasis. *Nature Cell Biology* **16**, 992-1003. doi: 10.1038/ncb3039
- Lehninger AL, Nelson DL i Cox MM (1993). *Principles of Biochemistry*, 2. izdanje, Worth Publishers, Inc., New York. Dostupno na: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/mrd.1080370421>
- Lemmon MA i Schlessinger J 2010. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* **141**, 1117-34. doi: 10.1016/j.cell.2010.06.011
- Liberti M i Locasale J 2016. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends in Biochemical Science* **41**, 211-18. doi:10.1016/j.tibs.2015.12.001
- Liou GY i Storz P 2010. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research* **44**, 5. doi:10.3109/10715761003667554
- Locasale JW i Cantley LC 2011. Metabolic flux and the regulation of mammalian cell growth. *Cell metabolism* **14**, 443-51. doi: 10.1016/j.cmet.2011.07.014

- Locasale JW, Grassian AR, Melman T, Lyssiotis CA, Mattaini KR, Bass AJ i sur. 2011. Phosphoglycerate dehydrogenase diverts glycolytic flux and contributes to oncogenesis. *Nature Genetics* **43**, 869-74. doi: 10.1038/ng.890
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaria P, Baltimore D i Darnell J (2000). *Molecular Cell Biology*, 4. izdanje, W.H.Freeman and Company, New York. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21590/>
- Luengo A, Gui DY i Vander Heiden MG 2017. Targeting Metabolism for Cancer Therapy, *Cell Chemical Biology* **24**, 1161-80. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.08.028
- Lunt SY i Vander Heiden MG 2011. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annual Review of Cell and Development Biology* **27**, 441-64. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154237
- Martinez-Zaguilan R, Seftor EA, Seftor RE, Chu YW, Gillies RJ i Hendrix MJ 1996. Acidic pH enhances the invasive behavior of human melanoma cells. *Clinical & Experimental Metastasis* **14**, 176-86. doi: 10.1007/BF00121214
- Mayers JR, Wu C, Clish CB, Kraft P, Torrence ME, Fiske BP i sur. 2014. Elevation of circulating branched-chain amino acids is an early event in human pancreatic adenocarcinoma development. *Nature Medicine* **20**, 1193-8. doi: 10.1038/nm.3686
- Milgraum LZ, Witters LA, Pasternack GR i Kuhajda FP 1997. Enzymes of the fatty acid synthesis pathway are highly expressed in in situ breast carcinoma. *Clinical Cancer Research* **3**, 2115-20.
- Mullen AR, Hu Z, Shi X, Jiang L, Boroughs LK, Kovacs Z i sur. 2014. Oxidation of alpha-ketoglutarate is required for reductive carboxylation in cancer cells with mitochondrial defects. *Cell reports* **7**, 1679-90. doi: 10.1016/j.celrep.2014.04.037
- Nieman KM, Kenny HA, Penicka CV, Ladanyi A, Buell-Gutbrod R, Zillhardt MR i sur. 2011. Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth. *Nature Medicine* **17**, 1498-503. doi: 10.1038/nm.2492
- Nilsson R, Jain M, Madhusudhan N, Sheppard NG, Strittmatter L, Kampf C i sur. 2014. Metabolic enzyme expression highlights a key role for MTHFD2 and the mitochondrial folate pathway in cancer. *Nature Communications* **5**, 3128. doi: 10.1038/ncomms4128.

- Palm W, Park Y, Wright K, Pavlova NN, Tuveson DA i Thompson CB 2015. The Utilization of Extracellular Proteins as Nutrients Is Suppressed by mTORC1. *Cell* **162**, 259-70. doi:10.1016/j.cell.2015.06.017
- Pavlova NN i Thompson CB 2016. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell metabolism* **23**, 27-47. doi: 10.1016/j.cmet.2015.12.006
- Porstmann T, Santos CR, Griffiths B, Cully M, Wu M, Leevers S i sur. 2008. SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. *Cell Metabolism* **8**, 224-36. doi: 10.1016/j.cmet.2008.07.007
- Possemato R, Marks KM, Shaul YD, Pacold ME, Kim D, Birsoy i sur. 2011. Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer. *Nature* **476**, 346-50. doi: 10/1038/nature10350
- Rothberg JM, Bailey KM, Wojtkowiak JW, Ben-Nun Y, Bogyo M, Weber E i sur. 2013. Acid-mediated tumor proteolysis: contribution of cysteine cathepsins. *Neoplasia* **15**, 1125-37. doi: 10.1593/neo.13946
- Rysman E, Brusselmans K, Scheys K, Timmermans L, Derua R, Munck S i sur. 2010. De novo lipogenesis protects cancer cells from free radicals and chemotherapeutics by promoting membrane lipid saturation. *Cancer Research* **70**, 8117-26. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3871
- Seyfried TN i Shelton LM 2010. Cancer as a Metabolic Disease. *Nutrition and Metabolism* **7**, 7. doi: 10.1186/1743-7075-7-7
- Shestov AA, Liu X, Ser Z, Cluntun AA, Hung YP, Huang L i sur. 2014. Quantitative determinants of aerobic glycolysis identify flux through the enzyme GAPDH as a limiting step. *eLife* **3**:e03342. doi: 10.7554/eLife.03342
- Slavov N, Budnik AB, Schwab D, Airoidi M i van Oudenaarden A 2014. Constant growth rate can be supported by decreasing energy flux and increasing aerobic glycolysis. *Cell reports* **7**, 705-14. doi: 10.1016/j.celrep.2014.03.057
- Son J, Lyssiotis CA, Ying H, Wang X, Hua S, Ligorio M i sur. 2013. Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway. *Nature* **496**, 101-5. doi: 10.1038/nature12040



- Stolzing A i Grune T 2004. Neuronal apoptotic bodies: phagocytosis and degradation by primary microglial cells. *The FASEB Journal* **18**, 743-5. doi:10.1096/fj.03-0374fje
- Sullivan LB, Gui DY, Hosios AM, Bush LN, Freinkman E i Vander Heiden MG 2015. Supporting Aspartate Biosynthesis Is an Essential Function of Respiration in Proliferating Cells. *Cell* **162**, 552-63. doi: 10.1016/j.cell.2015.07.017
- Sun Q, Luo T, Ren Y, Florey O, Shirasawa S, Sasazuki T, Robinson DN i Overholtzer M 2014. Competition between human cells by entosis. *Cell Research* **24**, 1299-310. doi: 10.1038/cr.2014.138
- Swietach P, Vaughan-Jones RD i Harris AL 2007. Regulation of tumor pH and the role of carbonic anhydrase 9. *Cancer Metastasis Reviews* **26**, 299-310. doi: 10.1007/s10555-007-9064-0
- Talmadage JE i Fidler IJ 2010. AACR Centennial Series: The biology of cancer metastasis: Historical Perspective. *Cancer Research* **70**, 5649-69. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1040
- Tan AS, Baty JW, Dong LF, Bezawork-Geleta A, Endaya B, Goodwin J i sur. 2015. Mitochondrial genome acquisition restores respiratory function and tumorigenic potential of cancer cells without mitochondrial DNA. *Cell Metabolism* **21**, 81-94. doi: 10.1016/j.cmet.2014.12.003
- Tibbetts AS i Appling DR 2010. Compartmentalization of Mammalian folate-mediated one-carbon metabolism. *Annual Review of Nutrition* **30**, 57-81. doi: 10.1146/annurev.nutr.012809.104810
- Vajdic CM i van Leeuwen MT 2009. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *International Journal of Cancer* **125**, 1747-54. doi:10.1002/ijc.24439
- Vander Heiden MG, Cantley LC i Thompson CB 2009. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science (New York, N.Y.)* **324**, 1029-33. doi:10.1126/science.1160809
- Viale A, Pettazoni P, Lyssiotis CA, Ying H, Sanchez N, Marchesini M i sur. 2014. Oncogene ablation-resistant pancreatic cancer cells depend on mitochondrial function. *Nature* **514**, 628-32. doi: 10.1038/nature13611

- Wang C, Guo K, Gao D, Kang X, Jiang K, Li Y i sur. 2011. Identification of transaldolase as a novel serum biomarker for hepatocellular carcinoma metastasis using xenografted mouse model and clinic samples. *Cancer Letters* **313**, 154-66. doi:10.1016/j.canlet.2011.08.031.
- Warburg O, Wind F i Negelein E 1927. The Metabolism of Tumors in the Body. *The Journal of General Physiology* **8**, 519-30. doi: 10.1085/jgp.8.6.519
- Warburg O 1956. On the origin of cancer cells. *Science* **123**, 309-14. doi:10.1126/science.123.3191.309
- Ward PS i Thompson CB 2012. Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even warburg did not anticipate. *Cancer cell* **21**, 297-308. doi: 10.1016/j.ccr.2012.02.014
- Wellen KE, Hatzivassiliou G, Sachdeva UM, Bui TV, Cross JR i Thompson CB 2009. ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. *Science* **324**, 1076-80. doi: 10.1126/science.1164097
- Wellen KE i Thompson CB 2012. A two-way street: reciprocal regulation of metabolism and signalling. *Nature reviews. Molecular cell biology* **13**, 270-6. doi: 10.1038/nrm3305
- Wick AN, Drury DR, Nakada HI i Wolfe JB 1957. Localization of the primary metabolic block produced by 2-deoxyglucose. *The Journal of Biological Chemistry* **224**, 963-9.
- Ye J, Mancuso A, Tong X, Ward PS, Fan J, Rabinowitz JD i sur. 2012. Pyruvate kinase M2 promotes de novo serine synthesis to sustain mTORC1 activity and cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**, 6904-9. doi: 10.1073/pnas.1204176109
- Zu XL i Guppy M 2004. Cancer metabolism: facts, fantasy, and fiction. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **313**, 459-65. doi:10.1016/j.bbrc.2003.11.136

## 6. Sažetak

Tumori nastaju transformacijom stanica u tumorske stanice, a u pozadini toga nalaze se geni uključeni u regulaciju proliferacije, diferencijacije i preživljavanja. Na taj se način razvija deset značajki, specifičnih obilježja koja nisu svojstvena zdravim stanicama, a koje tumoru omogućavaju selektivnu prednost pred njima. Osim što se razlikuju od zdravog tkiva, tumorske se nakupine razlikuju i međusobno.

Tumor, kao kompleksna tvorba nastala iz prvotno zdravog tkiva, uz ostale karakteristike dijeli s njime i zajedničke značajke metabolizma. Međutim, tumor razvija i neke svoje metaboličke osobitosti koje su predstavljene kroz ovaj seminarski rad. Među njima je temeljna značajka Warburgov efekt i njegove dobrobiti za tumor i tumorske stanice, a zatim i snabdijevanje energijom uz pomoć alternativnih načina dobivanja metabolita te osiguravanje sirovina za specifične potrebe tumora kroz vlastitu biosintezu. Dan je i kratak pregled mogućih terapija usmjerenih na korake i substrate tumorskog metabolizma. Jedan od puteva pronalaska i osmišljavanja što učinkovitije terapije sa što manje negativnih posljedica svakako je i istraživanje metaboličkih osobitosti tumora i terapija kojima su te osobitosti meta.

## **7. Summary**

Tumors are formed by the transformation of cells into tumor cells, in the background of which are genes involved in the regulation of proliferation, differentiation and survival. In this way, ten features are developed, specific traits that are not characteristic of healthy cells, and which give the tumor a selective advantage over them. In addition to differing from healthy tissue, tumor clusters also differ from each other.

The tumor, as a complex formation formed from originally healthy tissue, shares with it other common features and common features of metabolism. However, the tumor also develops some of its metabolic features which are presented through this seminar paper. Among them, the fundamental feature is the Warburg effect and its benefits for a tumor and tumor cells, and then the supply of energy through alternative methods of obtaining metabolites and providing raw materials for specific tumor needs through its own biosynthesis. A brief overview of possible therapies focused on the steps and substrates of tumor metabolism is also given. One of the ways to find and design the most effective therapy with as few negative consequences as possible is certainly the research of the metabolic characteristics of tumors and therapies that target these characteristics.