

# Uusi suundi kasvajate energiametabolismi uuringutes

Tuuli Käämbre<sup>1, 5</sup>, Andre Koit<sup>1</sup>, Igor Ševtšuk<sup>1</sup>, Vladimir Tšekulajev<sup>1</sup>, Kersti Tepp<sup>1</sup>, Natalja Timohhina<sup>1</sup>, Jelena Bogovskaja<sup>3</sup>, Vahur Valvere<sup>3, 4</sup>, Valdur Saks<sup>1, 2</sup>

Genoomika kiire arengu käigus on selgunud, et selle valdkonna meetoditega ei ole võimalik erinevaid metabolismihäireid terviklikult kirjeldada ning täiendavalt on vaja kasutusele võtta teisi meetodeid rakuenergeetikast ning proteoomikast. Äärmiselt huvitavaks kujuneb selline süsteemsem käsitlus ulatuslike patoloogiliste muutustega maliigses koes. Eelmise sajandi alguses kirjeldas Otto Warburg efekti, kus tuumorirakkudes toimus eelistatult glükolüüs isegi normoksiatingimustes. Tema esmane arvamus, et just see asjaolu ongi raku maliigsuse allikas, lükati järgnevatel aastatel uute avastuste valguses ümber. Lisaks ulatuslikele rakuenergeetilistele ümberkorraldustele maliigse raku sees (nt kärbitud Krebsi-tsükkel, hingamisahela superkompleksid) on viimastel aastatel erinevate vähipaikmete juures korduvalt tõestatud ka kahe kompartmendi olemasolu, kus maliigne rakk allutab ümbritseva strooma enda jaoks vajalikke metaboliite tootma. Maliigsuse täpsem olemus, paremad ravimisihtmärgid ning -strateegiad võivad peituda just kasvajate süsteemsemate uuringute tulemustes.

Kuigi tänapäeva nn postgenoomsel ajastul on paljude organismide geenijärjestused juba kindlaks tehtud, on see omakorda tõstatanud uusi ja senisest tunduvalt keerulisemaid probleeme. Hoolimata sellest et me oskame kirjeldada raku üksikuid struktuurseid komponente, ei ole me veel ikkagi võimelised mõistma ja kvantitatiivselt kirjeldama nii üksikut rakku kui ka tervet organismi ning ka mitmete haiguste patogeneesi mehhanisme. Praegu on paljusid patoloogilisi seisundeid uuritud genoomi tasemel, kuid see ei võimalda mõista patoloogiliste muutuste korral kõiki sündmusi raku metabolismis. Edasiarendamist vajavad siin raku energeetika ja proteoomika valdkonnad. Üheks põhimõtteliseks kitsaskohaks on, et puudub süsteemne käsitlus, mille käigus peaksid tihedat koostööd tegema füsioloogid, bioloogid, biofüüsikud, meedikud ja matemaatikud. Pahaloomulised kasvajad on äärmiselt heterogeensed ja keerulised bioloogilised süsteemid ning seetõttu on kompleksne käsitlus nende mõistmiseks kriitilise tähtsusega. Bioenergeetilised muutused maliigsetes rakkudes on viimastel aastatel maailmas väga aktuaalne ja kiiresti arenev teema. Ammu on teada, et selliseid rakke

iseloomustab ka nende ebanormaalne energiametabolism.

## Kasvajate energiametabolismi tüübid

Paljude vähitüüpide korral toimub rakkudes metaboolne nihe oksüdatiivselt fosforüülimiselt glükolüüsi suunas ning seda nimetatakse Warburgi efektiks ning aeroobsetes tingimustes toodetakse neis rakkudes suurel hulgal laktaati. Brandi (1) andmetel kaitseb suure glükolüütilise aktiivsusega fenotüüp prolifereruvaid rakke oksüdatiivse stressi eest. Pedersen koos kaasautoritega (2–5) on oletanud, et heksokinaas (HK) II seostumine pingest sõltuva anioonkanaliga (*voltage dependent anion channel*, VDAC) on võtmesündmuseks, et terve, oksüdatiivse energiametabolismiga rakk lülituks ümber kantserogeneesi rajale. Meie eelnevad uuringud näitavad, et südame fenotüübiga hiire HL-1 tüüpi rakkudes, mis on saadud hiire südame koja kasvajakudest ning milles mitokondrid moodustavad ebaregulaarse, dünaamilise, filamendilaadse võrgustiku ning esineb HK II suurenunud avaldumus, lülitub oksüdatiivse fosforüülimise kontroll mitokondriaalse kreaatiinkinaasi (MtCK) toodetud ADP pealt

Eesti Arst 2013; 92(5):261–267

Saabunud toimetusse: 22.01.2013  
Avaldamiseks vastu võetud: 08.03.2013  
Avaldatud internetis: 31.05.2013

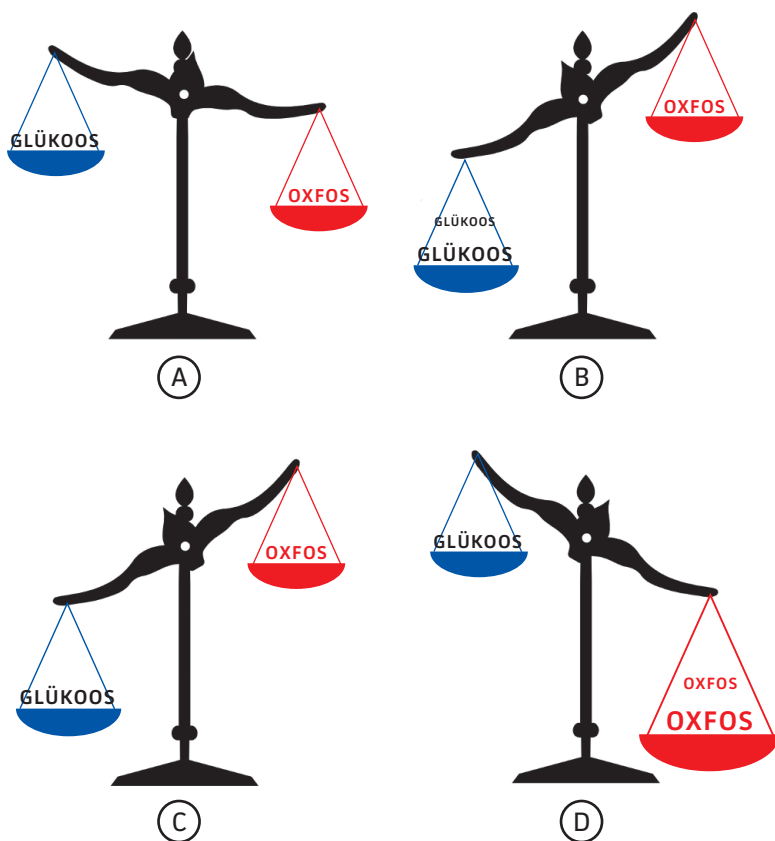
<sup>1</sup> Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudi bioenergeetika laboratoorium, <sup>2</sup> Grenoble'i Joseph Fourier' Ülikooli fundamentaalse ja rakendusliku bioenergeetika laboratoorium, <sup>3</sup> PERHi onkoloogia- ja hematoloogiakliinik, <sup>4</sup> Vähiuuringute Tehnoloogia Arenduskeskus, <sup>5</sup> Tallinna Ülikooli matemaatika ja loodusteaduse instituut

Kirjavahetajaautor:  
Tuuli Käämbre  
tuuli.kaambre@kbfi.ee

Võtmesõnad:  
metaboolse kontrolli analüüs, mitokondri, hingamisahel, rinnavähk, kolorektaalvähk, Warburgi efekt

ümber tsütosooli ADP-le (6, 7). Kasvajate metaboolne fenotüüp, mida iseloomustab lahtisidestatud mitokondriaalne hingamine ja suurenenud oksüdatiivne stress, muudab selle ravimiarenduse jaoks atraktiivseks mudeliks (8).

On andmeid, et rakkude oksüdatiivse fosforüülimise staatust on võimalik kasutada kasvaja pahaloomulisuse hindamisel, s.t väga agressiivsete kasvajate korral võib rakkudes mitokondrite aktiivsus olla maha surutud. Pikka aega arvati, et glükolüüs on maliigsete rakkude jaoks universaalne mehhanism, mis seletab kogu nende energeetilise metabolismi olemuse. Juba pool sajandit tagasi tekkisid kahtlused, et see ei ole nii (9), ja mitmed hiljutised uuringud on seda ka kinnitanud (10, 11). Vaatamata viimastel aastatel toimunud intensiivsele teadustööle pole siiani selge, kuidas muutub kasvajakarake energiainet metabolismi kantserogeneesi eri staadiumites. Erineva paikmega kasvajaid iseloomustab äärmiselt erinev energiavahetuse viis (vt joonis 1).



**Joonis 1.** Erinevalt normaalsest rakust (A) võib vähirakkudes metaboolse remodelleerimise tõttu esineda mitmesuguseid energeetiliste protsesside muutusi (B–D). Maliigne rakk võib olla ülimalt glükolüütiline (B), puuduliku oksüdatiivse fosforüülimisega (C) või hoopis suurenenud oksüdatiivse fosforüülimisega (D). Joonis tehtud 31. allika alusel.

Järjest enam leiab kinnitust hüpotees, et kasvajates esineb mitu kompartmenti, mis on omavahel seotud ja tõenäoliselt muudavad maliigse raku eriti hästi oludega kohanevaks. Järjest enam on kirjanduses ilmunud viiteid, et maliigsete rakkude kõrval asuvad makrofaagide aktiveeritud stroomarakud, milles toimub aktiivne glükolüüs ja need n-ö toidavad kasvajakarake substraatidega, mida tuumor kasutab oksüdatiivse fosforüülimise jaoks. Seda nähtust nimetatakse Warburgi pöördefektiks (10, 12–14). Sellise ainevahetusega kasvajate hulka kuulub ka rinnavähk ning arvatavasti on Warburgi pöördefektiga iseloomustatav energiainet metabolismi rinna pahaloomuliste kasvajate üldine omadus.

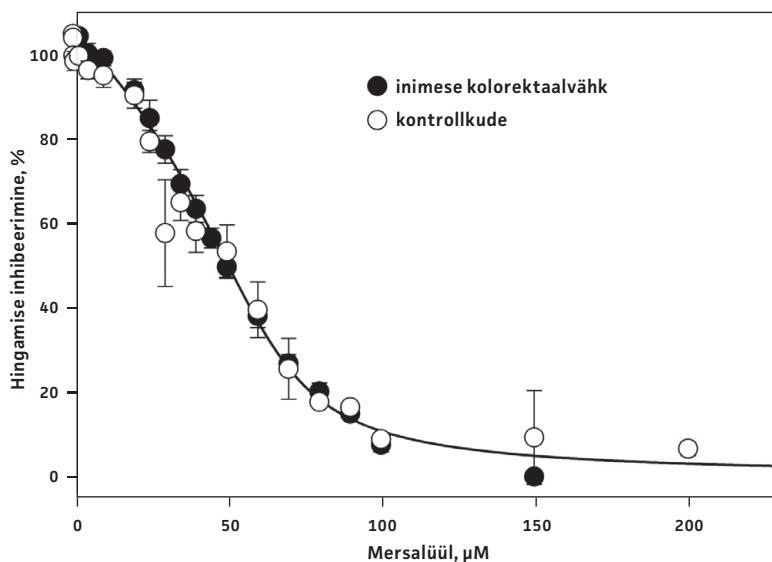
## Metaboolse kontrolli analüüsi meetodi kasutamine kasvajate energiainet metabolismi uurimisel

Tänapäeval on oluline välja selgitada, millised on need mehhanismid, mis kontrollivad kasvajate energiainet metabolismi ja kuidas need on omavahel seotud. Reaalselt on võimalik rakkude metaboolsete protsesside kineetikat iseloomustada matemaatilise modelleerimise abil ning konstrueerida mudeleid, mis ensüümkiineetika ja metaboliitide transpordi kohta saadud eksperimentaalsete andmete alusel võimaldavad kirjeldada kogu süsteemi käitumist molekulaarsel tasemel. Kokkuvõttes sisaldavad saadud mudelid kümneid kiirus-, tasakaalu- ja difusioonikonstante, mille õigsus ei tarvitse olla täismahus täielikult kontrollitav. Sellekohased töid ilmus juba üle kümne aastat tagasi (15, 16) ning praeguseks on see käsitlusviis teinud läbi märkimisväärse arengu (17).

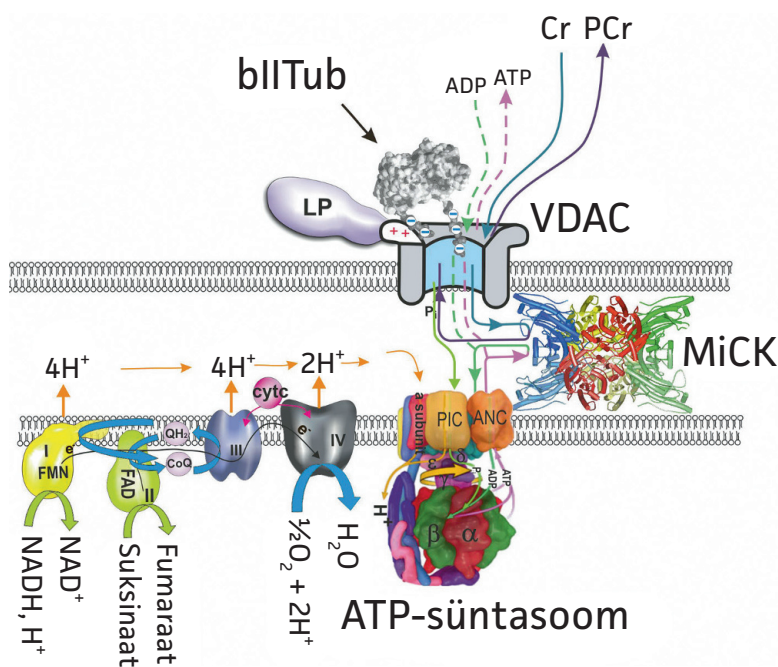
Sisendparameetrite suure hulga tõttu on võimalik konstrueerida erinevaid, sisuliselt alternatiivsetest kontseptsioonidest lähtuvaid mudeleid, mis võrdväärselt kirjeldavad süsteemi käitumist. Nende mudelite sisuline kontroll on võimalik, kui nende alusel saab kavandada uusi reaalselt teostatavaid mudelite sobivust hindavaid katseid, mis paraku ei osutu alati siiski võimalikuks. Sedalaadi piirangutest mudelite hindamisel on võimalik üle saada, kui kasutada metaboolse kontrolli analüüsi meetodit (MKA). Tegemist on eksperimentaalse meetodiga, mistõttu selle abil saadud info on objektiivne ning seda rakendades on võimalik reaalses ja sobivald piiritletud tingimustes saada usal-

dusvärseid empiirilisi andmeid. See matemaatilise modelleerimise meetod enneta nn sisulist modelleerimist ning mõlemad on olnud pikka aega rööbiti kasutusel (18, 19). Meetodi abil käsitletakse keerukat süsteemi koosnevana sõltumatute elementide jadast, mida sisuliselt käsitatakse mustade kastidena, mille sisemist struktuuri ignoreeritakse. Selle meetodi puhul määratakse eksperimentaalselt teatud summaarset parameetrit, kõne all oleval juhul rakkude hapnikutarbimise kiirust, ning hinnatakse iga sõltumatu muutuja osakaalu selles protsessis (20, 21). Eksperimentaalselt kasutatakse vastava struktuuriüksuse (muutuja) järkjärgulist, osalist, soovitatavalt pöördumatut, kuid selektiivset inhibeerimist mingi keemilise ühendi poolt (vt joonis 2) ning määratakse mõõdetava parameetri (hapnikutarbimise kiiruse) tundlikkus selle konkreetse elemendi blokeerimise suhtes (metaboolse kontrolli koefitsient). Seega määratakse reaktsioonide jada üldist aktiivsust piiravad staadiumid ning elementide suhteline n-ö osakaal protsessis. Selline sisuliselt formaalne käsitlusviis võib osutada väga efektiivseks näiteks uute ravimite otsingul, et leida patoloogiliste protsesside “tundlikke” punkte.

Varem on selliselt kasvajauid uurinud dr R. Rossignol kaastöötajatega, määrates oksüdatiivse fosforüülimise kontrollikoefitsiente roti isoleeritud mitokondrites, nii et selle tulemusel on võimalik identifitseerida vähiteraapia jaoks olulisi märklaud-ensüüme rakkude metabolismi radades (22, 23). Selle meetodi puhul tiiritakse uuritava metabolismiraja komplekse astmeliselt, kasutades nende komplekside jaoks spetsiifilisi pöördumatuid inhibiitoreid. Samuti on seda meetodit kasutatud muutuste väljaselgitamiseks rakkude energiametaboolismis lihaste patoloogiliste seisundite puhul (24, 25). Meie kasutasime metaboolse kontrolli analüüsi meetodit rinnavähi energiametaboolismi uurimiseks. See uuring on esimeseks omalaadseks, kus kasutatakse skineeritud kiudude meetodit rinnavähi kliinilise materjali uurimiseks. Selgus, et kuigi rinnavähki peetakse puhtalt glükolüütilise metabolismiga kasvajak, on selline arusaamine tulnud peamiselt sellest, et uuringuteks kasutatakse rakukultuure, mis ei pruugi peegeldada vähirakkude omadusi koes endas. Seda nähtust on tabavalt nimetatud kultuurišokiks (26)



**Joonis 2.** Anorgaanilise fosfaadi kanali mersalüülga inhibeerimise kõver. Kontrollikoefitsiendid arvutatakse kõverast Smalli võrrandi abil (32) või graafilise meetodiga, kasutades kõvera algtpõusu ja inhibiitori kontsentratsiooni, kus reaktsioon on täielikult pidurdunud. Siin erinevust kasvaja ja terve jämesoole (kontroll) koe vahel pole, seega tõenäoliselt ei mängi fosfori transportija rolli kolorektaalvähi tekkes.

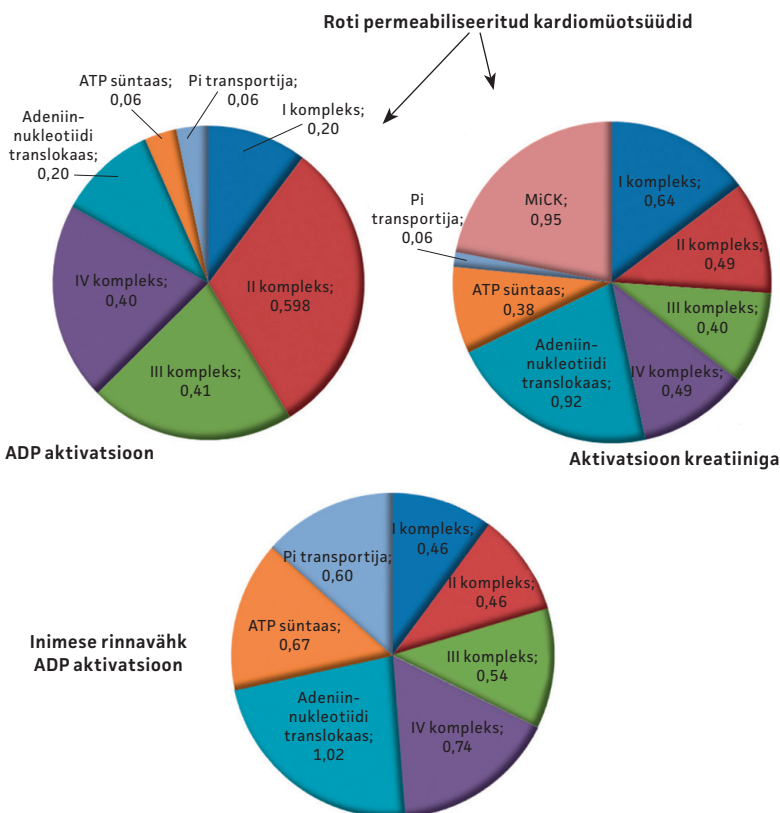


**Joonis 3.** Hapnikutarbimise regulatsioon superkompleksis. Mitokondriaalne interaktosoom (MI), millesse kuuluvad ATP süntasoom (koosneb ATP süntasist, fosfori kandjast (PIC) ning adeniinnukleotiidi translokaasist (ANC)), mitokondriaalne kreatiinkinaas (MiCK), pingest sõltuv anioonkanal (VDAC) ning selle läbitavuse võimalikud regulaatorvalgud tubuliin (bIIITub) ja võimalik linker-valk (LP). Südamerakkudes asub oktameerne MiCK mitokondri membraanide vahelises ruumis ning seostub kontaktaladel nii sise- kui ka välismembraaniga. Ei ole selge, kas teda esineb ka maliigsetes rakkudes. VDAC läbitavust erinevatele metaboliitidele (ATP, ADP, AMP, fosfokreatiin, kreatiin (Cr)) reguleerib tubuliini heterodimeer, võimalik, et selles osaleb seni identifitseerimata LP. MI üheks võimalikuks komponendiks on ka hingamisahel.

ning sellest tulenevalt on oluline uurida vähirakke nende naturaalses ümbruses, kus on säilinud koele iseloomulikud omadused, kontaktid rakuorganellide ja tsütoskeleti vahel. Võimaluse selleks annab skineeritud permeabiliseeritud kiudude meetod, kus bioloogilist preparaati töödeldakse saponiiniga, mis muudab rakkude välismembraani läbitavaks rakust väljastpoolt sisseviidavatele ainetele. Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudi bioenergeetika laboratooriumis esitatud kontseptsiooni kohaselt toimub energiaproduksioon ja selle regulatsioon südamerakkudes mitokondriaalse interaktsiooni (MI) raamides, mis ühendab hingamisahela komponendid, ATP süntaasist, adeniinnukleotiidi transportijast (ANT) ja anorgaanilise fosfaadi transportijast (PIC) koosneva ATP süntaasoomi ning mitokondri välismembraanis asuva ja selle läbitavust reguleeriva poriinkanali

(VDAC) (vt joonis 3). Sarnase bioloogilise struktuuri olemasolu on tõenäoline ka kasvajakudedes, kus energiatootmiseks kasutatakse oksüdatiivset fosforüülimist. Reaalselt tähendab metaboolse kontrolli analüüs siin rakkude bioenergeetika jaoks oluliste komponentide osalist inhibeerimist koos kontrollikoefitsientide määramisega hingamisahela I (inhibiitoriks rotenoon), II (antimütsiin), IV (NaCN) kompleksi, ANT (karboksüatraktülosiid), PIC (mersalüül) ja ATP süntaasi (oligomütsiin) jaoks. Selline komplekt osutub esialgu piisavaks maliigsete rakkude metaboolse remodelleerimise hindamiseks ning võimaldab täpsustada edaspidiseid uurimissuundi. Seepärast kasutasimegi sama strateegiat rinnavähi kliinilise materjali analüüsil, kusjuures selgus, et rinna kontrollkoos hapnikutarbimist peaaegu ei esinenud, küll aga võis seda sedastada tuumori koes (12). Selgus, et võrdluses normaalse oksüdatiivse koe (nagu näiteks südamelihase) ning samuti koost isoleeritud mitokondritega on rinnavähi energiaülekanne süsteem väga tundlik ning saadud voo kontrollikoefitsiendid väga suured (vt joonis 4). Suured voo kontrollikoefitsiendid esinevad südamelihases, kus energiametabolism toimub kreatiinkinaasi raja kaudu. Mittetöötava kreatiinkinaasi puhul on MI kontrollikoefitsientide summa südamerakkudes ligikaudu 1, mis tähendab, et seal on tegemist lineaarse energeetilise süsteemiga. Kui mingi mõõdetud metabolismiraja voo kontrolli koefitsientide summa on rohkem kui 1, on tegemist keerulisema ülesehitusega energiaülekanne süsteemiga. Tõenäoliselt on südamerakkudes füsioloogilistes tingimustes, kus kreatiin aktiveerib MI, raku energiaülekanne reguleeritud väga efektiivselt. Selles regulatsioonis on oluline osa täita mitokondriaalsel kreatiinkinaasil, adeniinnukleotiidi translokaasil ja tsütokroom c oksüdaasil. Seda näitab ka tehtud analüüs, mille käigus leiti, et südamerakkudes on voo kontrollikoefitsientide summa 4,31. Voo suurema kontrollikoefitsiendiga süsteemides esineb nn kanaliseerimist, erinevate ensüümide funktsionaalset sidestatud, protsesside hargnemisi või suuri valgukomplekse, mida nimetatakse superkompleksideks.

## Energiavoo kontrollikoefitsiendid



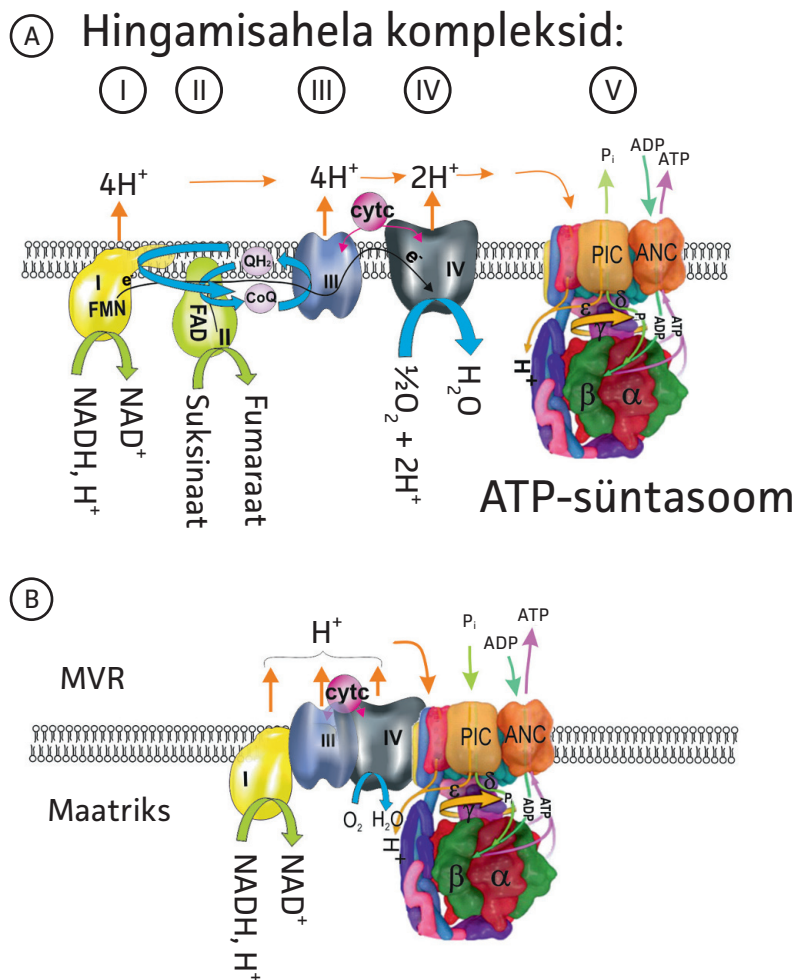
**Joonis 4.** Metaboolse kontrolli analüüsi tulemused südamelihase ja rinnavähi rakkudes. Südamelihases on voo kontrollikoefitsiendid mõõdetud hingamist aktiveerides kas ADP lisamisega või füsioloogilistes tingimustes, kus kreatiini mõjul hakkab tööle kreatiinkinaas. Rinnavähipreparaatide puhul on kasutatud ADP aktivatsiooni, kuna seal tõenäoliselt puudub mitokondriaalne kreatiinkinaas või pole see aktiivne (12, 33). Ringi pindala moodustab süsteemi koefitsientide summa (100%), erinevad sektorid näitavad süsteemi tundlikkust erinevate komponentide mõjukuse suhtes.

**Hingamisahel maliigsetes rakkudes**  
Rinnavähi bioloogilise materjali uurimisel selgus, et selle rakkude hingamisahela



(hingamisahela kohta vt joonis 5a) kõiki komplekse iseloomustavad suured kontrollikoefitsiendid. Samuti on nende metaboolse kontrolli koefitsientide summa 4,49. See viib otsesele järeldusele, et maliigsetes rakkudes on hingamisahel teisiti organiseeritud, kui me oleme seda harjunud vaatama tervete rakkude puhul ning tegemist ei ole lihtsa lineaarse süsteemiga. Sellise süsteemi tekkimiseks on mitu võimalust, millest üks on valguliste superkomplekside moodustumine hingamisahelas ja mida on täheldatud näiteks skeletilihastes. Selle protsessi käigus moodustavad suure valgukompleksi hingamisahela I, III ja IV kompleksid (vt joonis 5b). Sellise superkompleksi teke võib olla üheks põhjuseks, miks vähirakud ei ole võimelised apoptoosiks. Rakusurmaks vajalik valk tsütokroom c on seotud selle superkompleksi sisemusse ning ta ei saa moodustada apoptoosi teostumiseks vajalikku kompleksi – apoptosoomi. Teiseks võimalikuks apoptoosi puudumise põhjuseks on ebanormaalse ehitusega hingamisahel vähirakkudes.

Klassikalise arusaama kohaselt seisnevad mitokondriaalsed protsessid peamiselt püruvaadi või rasvhapete oksüdatsioonitsitraaditsükli ning hingamisahelasse kuuluva nelja kompleksi poolt, mille tulemusena vabanevad keskkonda CO<sub>2</sub> ja H<sub>2</sub>O ning suurel hulgal ATPd. Need kaks süsteemi on omavahel tihedalt ning mõnevõrra ka harmooniliselt seotud, kuid kasvajakoes võib vaadelda nende harjumuspäraste protsesside kulgemises olulisi muutusi. Eelkirjeldatud Warburgi mehhanismi tõttu muudetakse suur osa püruvaadist enne mitokondrisse jõudmist juba tsütosoolis laktaadiks (selle käigus toodetakse ligi 16 korda vähem ATPd kui mitokondrist oleks võimalik saada). Siiski siseneb mitokondrisse jõudev püruvaat (või rasvhappejääk) atsetüül-CoA-na tsitraaditsükliks, kuid ei läbi seda enamasti täies ulatuses, vaid väljub sellest juba esimese kolmandiku läbimisel ehk pärast tsitraadiks muundamist (tegemist on nn kärbitud Krebse-tsükliga, *truncated Krebs cycle*) (27). Ühest küljest põhjendatakse seda oksüdatiivse stressi mõjul vähenenud akonitaasi (katalüüsib tsitraadi muundamist edasi isotsitraadiks) aktiivsusega (28), kuid teisalt võib seda seletada maliigse raku suurenenud vajadusega rasvhapete järele (nt membraanideks prolifererumise protsessis) (27). Rasvhapete neogeneesiks



**Joonis 5. A.** Hingamisahela kompleksid. I kompleks: NADH – koensüüm Q reduktaas; II kompleks: suksinaat – koensüüm Q reduktaas; III kompleks: tsütokroom c reduktaas; IV kompleks: tsütokroom c oksüdaas, mõnikord peetakse hingamisahela V kompleksiks ATP-süntaasi. **B.** I, III ja IV kompleksid on moodustanud superkompleksi, kuhu on seotud ka tsütokroom c (cyt c). MVR – mitokondri membraanide vaheline ruum.

suunatakse mitokondrisse kuhjув tsitraat vastava antiporterite kaudu tsütosooli, kus vastav süntees ka aset leiab.

Kuna tsitraaditsükkel on maliigset protsessist kahjustunud, siis mõjutab see eelduslikult ka hingamisahela tööd. Hingamisahelas toimub elektroni ülekandmine ning see elektron võib ahelasse siseneda kas I (substraadiks NADH) või II (substraadiks suksinaat) kompleksi kaudu. Mõnede vähipaikmete korral on näidatud, et tavapäraselt hingamisahela moodustavast viiest kompleksist võivad nii I, II, III või ka IV ja V olla funktsionaalselt kahjustunud, kusjuures kahjustuste eripära on seostatav kasvaja maliigsusega (29). Kui hingamisahela kas I või II kompleksi aktiivsus on allareguleeritud ja tsitraaditsükkel minetanud oma klassikalise toimimismustri, aga mitokondri on

siiski säilitanud rolli maliigse raku tinglikus homeöstaasis, siis võib see üheselt viidata laiaulatuslikele ümberkorraldustele pahaloomuliste rakkude mitokondrite harjumuspärasel töös. Selliste ümberkorralduste parem kirjeldamine, süstematiseerimine ning valideerimine võib oluliselt aidata kaasa muu hulgas kantserogeneesi, ravimiefektide (sealhulgas kõrvalmõjude) ning konkreetse patsiendi maliigse haiguse eripära paremale mõistmisele.

## Rakuenergeetikast lähtuvad uued võimalused kliinilises onkoloogias

Suurimaks rakuenergeetikaga seotud väljakutseks onkoloogias on leida farmakoloogiliselt aktiivseid aineid, mis ründavad spetsiifiliselt vähirakke. Perspektiivikaks peetakse võimalust muuta mitokondri välismembraani regulatsiooni maliigsetes rakkudes, kus on ülekaalus glükolüüs, samuti glükolüüsi otsest inhibeerimist. Universaalsemaid viise kasvajarakkude vastu toimimiseks pakuvad raku metaboolse reprogrammeerimise inhibeerimine, samuti glutaminolüüsi, oksüdatiivse fosforüülimise või Krebse tsükli ensüümide inhibeerimine. Teiseks perspektiivikaks võimaluseks on vähirakkude suunamine apoptoosi, kasutades selleks võimaluseks apoptoosi aktiveerumise esilekutsumist või reaktiivsete hapnikuosakeste hulga suurendamist. Rakuenergeetika võib olla võimaluseks leida uusi biomarkereid pahaloomuliste kasvaja rakkude diagnostika jaoks (30). Osa neist ainetest võib olla seotud selliste onkogeenidega nagu c-Myc, KLF4 ja Oct1. Näiteks c-Myc defitsiit võib viidata mitokondriaalse hingamise vähenemisele ning selgelt välja kujunenud Warburgi efekti olemasolule maliigsetes rakkudes. KLF4 puudulikkus stimuleerib samuti glükolüüsi, kuid sealjuures ei muutu rakkude hapnikutarbimine. Erinevalt kahest eelmisest suurendab Oct1 puudulikkus oksüdatiivse fosforüülimise efektiivsust ning vähenenud või peaaegu puuduvat glükolüütilist aktiivsust maliigsetes rakkudes. Seda laadi muutused mõjutavad aminohapete ja rasvhapete metabolismi ning tänu sellele võivad osutada onkoloogilisteks biomarkeriteks isoleutsiin,  $\alpha$ -aminoadipiinhape ja  $\gamma$ -aminoisovõihape. Peale nende on üheks paljulubavaks biomarkeri kandidaadiks monokarbonsülaadi transportija MCT-4, mis võimaldab hinnata rinnavähipatsientide prognoosi (10).

Kasvajate bioenergeetiline iseloomustamine annab kindlasti uut infot kantserogeneesi kohta fundamentaalteaduslikust aspektist, kuid võib tulevikus luua eeldused edukama ravitulemuse saamiseks, võimaldades oluliselt täpsemalt hinnata haiguse prognoosi ning uutest prognostilistest markeritest lähtudes individualiseerida ravi. Süsteemibioloogiline käsitlus võib anda ootamatuid, kuid vähiravi seisukohalt suure praktilise väärtusega tulemusi.

## TÄNUAVALDUS

Artikliga seotud tööd on tehtud Eesti Teadusfondi (grant nr 8987), Haridus- ja Teadusministeeriumi (grant nr SF0180114Bs08) ning riikliku programmi „Tervishoiutehnoloogiad“ (grant nr 3.2.1001-11.0027) toel.

## AUTORITE HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autorid kinnitavad, et neil puudub huvikonflikt seoses uuringuga.

## SUMMARY

### New developments in studies of tumor energy metabolism

Tuuli Käämbre<sup>1,5</sup>, Andre Koit<sup>1</sup>, Igor Ševtšuk<sup>1</sup>, Vladimir Tšekulajev<sup>1</sup>, Kersti Tepp<sup>1</sup>, Natalja Timohhina<sup>1</sup>, Jelena Bogovskaja<sup>3</sup>, Vahur Valvere<sup>3,4</sup>, Valdur Saks<sup>1,2</sup>

During the development of genomic methods it has become evident that they are not able to yield sufficient results for completely describing metabolic pathologies and therefore additional methods from cellular energetics and proteomics have to be applied. Such systematic approach has led to quite surprising results in samples from the tumorous tissue. Otto Warburg was the first to describe high glycolytic rate in malignant cells even under normoxia, however, his hypothesis about this being the main cause of malignancy was discredited with the emergence of new discoveries in following years. In addition to widespread reorganization in the cellular energetics of cancerous cells (e.g. truncated Krebs cycle, respiratory chain supercomplexes), it has been shown that the malignant tissue can make the surrounding stroma to produce metabolites needed by tumour cells. It is believed that an intrinsic understanding of malignancy, as well as of possible drug targets and better treatment strategies can be gained from such systematic approach in tumour biology.

<sup>1</sup> Laboratory of Bioenergetics, National Institute of Chemical Physics and Biophysics, Tallinn, Estonia

<sup>2</sup> Laboratory of Fundamental and Applied Bioenergetics, Joseph Fourier University, Grenoble, France

<sup>3</sup> Oncology and Hematology Clinic at the North Estonia Medical Centre, Tallinn, Estonia

<sup>4</sup> Competence Centre for Cancer Research, Tallinn, Estonia

<sup>5</sup> Institute of Mathematics and Natural Sciences, Tallinn University, Tallinn, Estonia

Correspondence to: Tuuli Käämbre  
tuuli.kaambre@kbfi.ee

**Keywords:** metabolic control analysis, mitochondria, respiratory chain, breast and colorectal cancer.

KIRJANDUS/REFERENCES

1. Brand K. Aerobic glycolysis by proliferating cells: protection against oxidative stress at the expense of energy yield. *J Bioenerg Biomembr* 1997;29:355–64.
2. Pedersen PL. Warburg, me and hexokinase 2: multiple discoveries of key molecular events underlying one of cancers' most common phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., elevated glycolysis in the presence of oxygen. *J Bioenerg Biomembr* 2007;39:211–22.
3. Pedersen PL, Mathupala S, Rempel A, et al. Mitochondrial bound type II hexokinase: a key player in the growth and survival of many cancers and an ideal prospect for therapeutic intervention. *Biochim Biophys Acta* 2002;1555:14–20.
4. Mathupala SP, Ko YH, Pedersen PL. Hexokinase-2 bound to mitochondria: cancer's stygian link to the "Warburg Effect" and a pivotal target for effective therapy. *Semin Cancer Biol* 2009;19:17–24.
5. Nakashima RA, Scott LJ, Pedersen PL. The role of mitochondrial hexokinase binding in the abnormal energy metabolism of tumor cell lines. *Ann NY Acad Sci* 1986;488:438–50.
6. Anmann T, Guzun R, Beraud N, et al. Different kinetics of the regulation of respiration in permeabilized cardiomyocytes and in HL-1 cardiac cells. Importance of cell structure/organization for respiration regulation. *Biochim Biophys Acta* 2006;1757:1597–606.
7. Beraud N, Pelloux S, Usson Y, et al. Mitochondrial dynamics in heart cells: very low amplitude high frequency fluctuations in adult cardiomyocytes and flow motion in non beating HL-1 cells. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 2009;41:195–214.
8. Skildum A, Dornfeld K, Wallace K. Mitochondrial amplification selectively increases doxorubicin sensitivity in breast cancer cells with acquired antiestrogen resistance. *Breast Cancer Res Treat* 2010;129:785–97.
9. Weinhouse S. On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 1956;124:267–9.
10. Witkiewicz AK, Whitaker-Menezes D, Dasgupta A, et al. Using the "reverse Warburg effect" to identify high-risk breast cancer patients: stromal MCT4 predicts poor clinical outcome in triple-negative breast cancers. *Cell Cycle* 2012;11:1108–17.
11. Rossignol R. The expanding universe of mitochondrial research. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:2–3.
12. Kaambre T, Chekulayev V, Shevchuk I, et al. Metabolic control analysis of cellular respiration in situ in intraoperational samples of human breast cancer. *J Bioenerg Biomembr* 2012;44:539–58.
13. Martinez-Outschoorn UE, Lin Z, Trimmer C, et al. Cancer cells metabolically "fertilize" the tumor microenvironment with hydrogen peroxide, driving the Warburg effect: implications for PET imaging of human tumors. *Cell Cycle* 2011;10:2504–20.
14. Martinez-Outschoorn UE, Pavlides S, Howell A, et al. Stromal-epithelial metabolic coupling in cancer: integrating autophagy and metabolism in the tumor microenvironment. *Int J Biochem Cell Biol* 2011;43:1045–51.
15. Aliiev MK, Saks VA. Mathematical modeling of intracellular transport processes and the creatine kinase systems: a probability approach. *Mol Cell Biochem* 1994;133-134:333–46.
16. Korzeniewski B. Is it possible to predict any properties of oxidative phosphorylation in a theoretical way? *Mol Cell Biochem* 1998;184:345–58.
17. Saks V, Kaambre T, Guzun R, et al. The creatine kinase phosphotransfer network: thermodynamic and kinetic considerations, the impact of the mitochondrial outer membrane and modelling approaches. *Subcell Biochem* 2007;46:27–65.
18. Heinrich R, Rapoport TA. A linear steady-state treatment of enzymatic chains. Critique of the crossover theorem and a general procedure to identify interaction sites with an effector. *Eur J Biochem* 1974;42:97–105.
19. Kacser H, Burns JA. The control of flux. *Symp Soc Exp Biol* 1973;27:65–104.
20. Gellerich FN, Kunz WS, Bohnensack R. Estimation of flux control coefficients from inhibitor titrations by non-linear regression. *FEBS Lett* 1990;274:167–70.
21. Fell D. Understanding the control of metabolism. Snell K, ed. London, Miami: Portland Press; 1997.
22. Rossignol R, Letellier T, Malgat M, et al. Tissue variation in the control of oxidative phosphorylation: implication for mitochondrial diseases. *Biochem J* 2000;347 Pt 1:45–53.
23. Rossignol R, Malgat M, Mazat JP, et al. Threshold effect and tissue specificity. Implication for mitochondrial cytopathies. *J Biol Chem* 1999;274:33426–32.
24. Kuznetsov AV, Clark JF, Winkler K, et al. Increase of flux control of cytochrome c oxidase in copper-deficient mottled brindled mice. *J Biol Chem* 1996;271:283–8.
25. Kuznetsov AV, Winkler K, Kirches E, et al. Application of inhibitor titrations for the detection of oxidative phosphorylation defects in saponin-skinned muscle fibers of patients with mitochondrial diseases. *Biochim Biophys Acta* 1997;1360:142–50.
26. Jose C, Rossignol R. Rationale for mitochondria-targeting strategies in cancer bioenergetic therapies. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:123–9.
27. Parlo RA, Coleman PS. Enhanced rate of citrate export from cholesterol-rich hepatoma mitochondria. The truncated Krebs cycle and other metabolic ramifications of mitochondrial membrane cholesterol. *J Biol Chem* 1984;259:9997–10003.
28. Mazurek S, Boschek CB, Eigenbrodt E. The role of phosphometabolites in cell proliferation, energy metabolism, and tumor therapy. *J Bioenerg Biomembr* 1997;29:315–30.
29. Simonnet H, Demont J, Pfeiffer K, et al. Mitochondrial complex I is deficient in renal oncocytomas. *Carcinogenesis* 2003;24:1461–6.
30. Bellance N, Pabst L, Allen G, et al. Oncosecretomics coupled to bioenergetics identifies alpha-amino adipic acid, isoleucine and GABA as potential biomarkers of cancer: Differential expression of c-Myc, Oct1 and KLF4 coordinates metabolic changes. *Biochim Biophys Acta* 2012;1817:2060–71.
31. Bellance N, Benard G, Furt F, et al. Bioenergetics of lung tumors: alteration of mitochondrial biogenesis and respiratory capacity. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41:2566–77.
32. Small JR. Flux control coefficients determined by inhibitor titration: the design and analysis of experiments to minimize errors. *Biochem J* 1993;296(Pt2):423–33.
33. Tepp K, Shevchuk I, Chekulayev V, et al. High efficiency of energy flux controls within mitochondrial interactosome in cardiac intracellular energetic units. *Biochim Biophys Acta* 2011;1807:1549–61.