

# Mitochondrie, nový cíl protirakovinné terapie

Na mitochondrie rakovinných buněk nahlížíme jako na důležité centrum metabolismu nádorové buňky, a tudíž i jako na cíl protinádorové terapie. Látka MitoTam proti rakovině prsu by mohla ukázat cestu.

text **KATEŘINA ROHLENOVÁ, JAKUB ROHLENA, JIŘÍ NEUŽIL**

**NEJZNÁMĚJŠÍ FUNKCÍ** buněčných organel - mitochondrií - je produkce energie v procesu mitochondriálního dýchání (oxidativní fosforylace). Tento relativně komplikovaný systém zajišťuje přenos energie uskladněné v chemických vazbách buňkou přijatých živin (primárně cukry, aminokyseliny a mastné kyseliny) do využitelné formy, sloučeniny zvané adenosintrifosfát (ATP). Proces se skládá ze dvou částí, a to z dýchacího řetězce transportujícího elektrony přes membránu a z mitochondriální ATP-syntázy (**obr. 1**). Dýchací řetězec přebírá elektrony ze složek centrální metabolické dráhy známé jako Krebsův cyklus a postupně je převádí na kyslík za vzniku vody. Jednotlivé kroky probíhají na čtyřech proteinových komplexech (I až IV). Při tom elektrony zajišťují aktivní přenos protonů přes vnitřní mitochondriální membránu, což vytváří elektrochemický gradient (membránový potenciál). Ten pohání ATP-syntázu, jakousi miniaturní molekulární turbínu „roztočenou“ protony a produkující ATP.

**TRADOVANÝ OMYL O RAKOVINNÝCH BUŇKÁCH**  
Zatímco mitochondriální dýchání vyžaduje kyslík a v jeho přítomnosti je silně upřednostněno (díky vyšší flexibilitě využití živin i efektivitě produkce ATP), při nepřítomnosti kyslíku musí buňka vyrábět energii v procesu glykolýzy v cytoplasmě. Glykolýza je sice na kyslíku nezávislá, ale je méně efektivní (v procesu glykolýzy vzniká méně molekul ATP), a v přítomnosti kyslíku je proto normálně potlačena. Navíc pro glykolýzu lze jako zdroj živin využít pouze glukózu, což může být limitující.

Rakovinné buňky byly tradičně, avšak mylně považovány za neschopné mitochondriálního dýchání, a role mitochondrií v rakovině byla proto dlouho opomíjena. Může za to dnes již téměř sto let stará práce německého biochemika Otto Warburga, pionýra výzkumu oxidativní fosforylace (získal

Nobelovu cenu za objev prvního enzymu dýchacího řetězce). Warburg pozoroval, že rostoucí nádorové buňky mají vysoce aktivní glykolýzu i v přítomnosti kyslíku, což později ve známém článku pro časopis Science z roku 1956 nesprávně interpretoval jako důkaz nefunkčnosti mitochondrií v rakovinných buňkách. Tato pozorování spolu s významnými objevy genů s onkogenním či naopak protinádorovým účinkem odklonila na dlouhou dobu zájem rakovinného výzkumu daleko od mitochondrií.

V současné době se ukazuje, že navzdory Warburgově teorii má většina nádorů funkční mitochondrie zachovány. Ačkoliv glykolýza je relativně neefektivní způsob získávání energie, je několikanásobně rychlejší než mitochondriální dýchání a v přítomnosti glukózy zajišťují podobné konečné množství energie. Zdánlivě plynulé při využití glykolýzy lze vysvětlit zvýšenými nároky rychle rostoucích buněk nádoru na zásobování stavebními kameny nezbytnými pro biosyntézu.

Proč tedy nádorové buňky, nucené se rychle a efektivně množit v nepříznivých podmínkách boje s imunitním systémem a za nedostatku živin při nedokonalém prokrvení nádorů, zachovávají i funkční mitochondrie?

Zprvě buňky s funkčními mitochondriemi jsou méně citlivé k nedostatku glukózy, což ve špatně prokrvených nádorech může být zásadní pro přežití. Zadrhé mitochondrie nejsou pouze producenty energie (což by bylo nahraditelné glykolýzou), ale podílejí se též na biosyntéze určitých stavebních kamenů, a právě tato biosyntetická funkce se zdá glykolýzou nenahraditelná.

Nedávné studie jasně dokazují, že mitochondriální dýchání je nezbytnou podmínkou, aby rakovinná buňka byla schopna vytvořit nádor, a že nádorové buňky odolné k běžné léčbě se vyznačují závislostí na mitochondriálním dýchání. Na mitochondrie rakovinných buněk tedy můžeme nahlížet jako na důležité centrum metabolismu nádorové buňky. Je tedy pak možné využít

mitochondrie rakovinných buněk jako cíl protinádorové terapie?

## ATRAKTIVNÍ CÍL

Když cílíme na jednotlivé onkogeny a signální dráhy, rakovinná buňka tento útok může „obejít“. Zato poškození mitochondrií rakovinných buněk je těžko napravitelné. Protinádorové terapie čelí i dalšímu problému: jak zabít pouze buňky nádoru a nepoškodit zdravé buňky v těle. Terapie cílená na mitochondriální funkci může zasáhnout široké spektrum

**Mgr. KATEŘINA ROHLENOVÁ, Ph.D.**, (\*1985) vystudovala Přírodovědeckou fakultu UK v Praze.

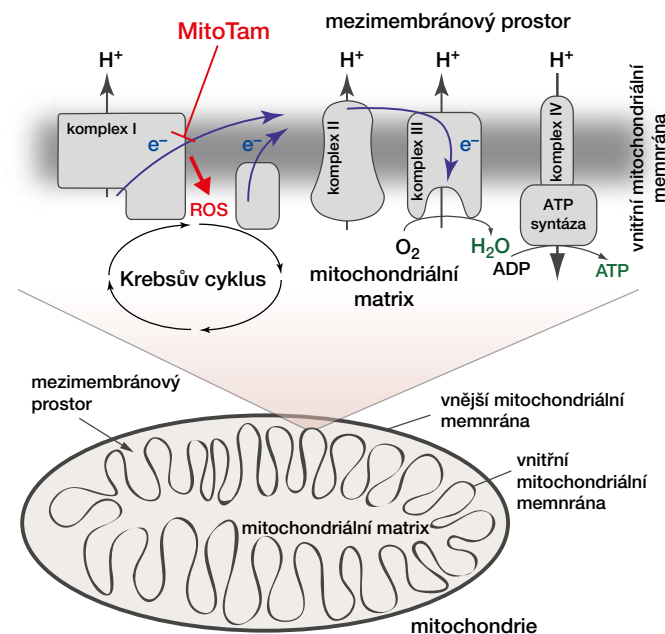
V Biotechnologickém ústavu AV ČR se zabývá onkogenem HER2 a jeho vlivem na mitochondriální bioenergetiku. Studium nové protirakovinné látky MitoTam bylo hlavní náplní její doktorské práce.

**Mgr. JAKUB ROHLENA, Ph.D.**, (\*1972) vystudoval Přírodovědeckou fakultu UK, doktorát získal na Univerzitě v Utrechtu.

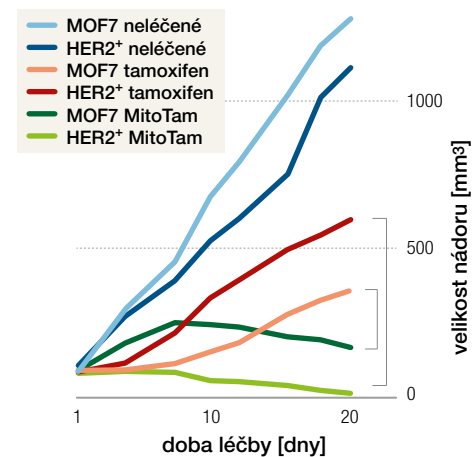
V Biotechnologickém ústavu AV ČR zkoumá mechanismy spojující mitochondriální respiraci a buněčnou smrt.

**Prof. Ing. JIŘÍ NEUŽIL, CSc.**, (\*1958) vystudoval VŠCHT v Praze.

V Biotechnologickém ústavu AV ČR vede laboratoř molekulární terapie a zabývá se navrhováním a vývojem nových protirakovinných látek.



**1. OXIDATIVNÍ fosforylace se nachází na vnitřní mitochondriální membráně. Modré šipky naznačují pohyb elektronů (e-) v dýchacím řetězci, černé šipky transport protonů (H+) přes membránu. Vzniklý elektrochemický gradient je využit ATP-syntázou k produkci ATP. Koncové produkty systému jsou vyznačeny zeleně. MitoTam blokuje tok elektronů na úrovni komplexu I, což vede k jejich předčasné reakci s kyslíkem za vzniku kyslíkových radikálů (ROS).**



**3. IMUNODEFICIENTNÍ** nahé myši byly injikovány buňkami MCF7 a buňkami MCF7 s vysokou hladinou HER2. Poté, co se u myši vytvořily nádory, byla zvířata rozdělena do tří skupin – neléčené, léčené tamoxifenem a léčené MitoTajem. Poté jsme monitorovali velikost nádorů. MitoTam byl výrazně účinnější v potlačování růstu nádorů než tamoxifen, přestože byl podáván v osmkrát nižší dávce.

pozorovali výrazné zvýšení produkce reaktivních forem kyslíku (tzv. kyslíkových radikálů). Ty jsou ve vysokých dávkách pro buňku nebezpečné, neboť mohou poškodit důležité funkce a způsobit její smrt. Nejvýznamnějším producentem kyslíkových radikálů v buňce je dýchací řetězec. Zablokování komplexu I dýchacího řetězce látkou MitoTam způsobuje, že elektrony proudící řetězcem předčasně unikají a spojují se s kyslíkem za vzniku kyslíkového radikálu.

Mechanismus účinku MitoTamu je tedy závislý na fungujícím dýchacím řetězci v rakovinné buňce, což je jedna z nutných vlastností, aby rakovinná buňka byla schopná vytvořit nádor. Naopak tento mechanismus nezávisí na přítomnosti konkrétních onkogenů. MitoTam je proto účinný nejen u různých typů rakoviny prsu, ale je velmi pravděpodobně použitelný i pro další druhy nádorů.

Dle našich výsledků má látka MitoTam velmi dobrou perspektivu pro využití v klinické praxi. Díky podpoře soukromého investora vstoupil MitoTam do oficiálního preklinického testování, kde se u experimentálních zvířat hodnotila možná toxicita a nežádoucí účinky. A opět s dobrými výsledky. V současné době probíhá příprava první fáze série klinických testů, kde se ukáže, zda MitoTam může pomoci pacientům. ●

## K dalšímu čtení...

Rohlenova K. et al.: *Selective Disruption of Respiratory Supercomplexes as a New Strategy to Suppress Her2high Breast Cancer*. Antioxid. Redox Signal. 26, 84–103, 2017/1.  
Koppenol W. H. et al.: *Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism*. Nat. Rev. Cancer 11, 325–337, 2011/5.

rakovinných typů a výběrovost zásahu je zaručena odlišnými vlastnostmi mitochondrií ve zdravých buňkách a v nádoru.

Jedním z rozdílů je vyšší elektrochemický potenciál na vnitřní mitochondriální membráně rakovinných buněk a právě ten jsme využili při navrhování protirakovinných látek cílených do mitochondrií pomocí trifenylofosfoniové kotvy.

Tamoxifen je jedním z nejčastěji předepisovaných léků na rakovinu prsu. Patří do skupiny antagonistů estrogenového receptoru a je užíván při rakovině prsu vyvolané zvýšenou aktivitou estrogenové signální dráhy. Značné procento pacientek se však po čase stává k tamoxifenu rezistentní. Důvodem jsou změny v signalizaci rakovinných buněk vyvolané selektivním tlakem na estrogenovou dráhu a následnou aktivací jiných signálních drah. Molekulární mechanismy, které způsobují rezistenci k tamoxifenu, jsou různé. Jedním z častých důvodů rezistence je zvýšení hladiny exprese onkogenu *HER2*.

Ačkoliv hlavním mechanismem účinku tamoxifenu je jeho antiestrogenní aktivita v buněčném jádře, ukázalo se, že ve vysokých dávkách je tamoxifen schopný blokovat komplex I dýchacího řetězce. To nás přivedlo k myšlence, že pokud bychom tamoxifen dokázali přivést přímo do mitochondrie, mohli bychom jeho efekt zesílit.

Připravili jsme proto derivát tamoxifenu s připojenou trifenylofosfoniovou skupinou (**obr. 2**), která zajišťuje cílení do mitochondrií na základě jejich elektrochemického potenciálu. MitoTam, jak jsme

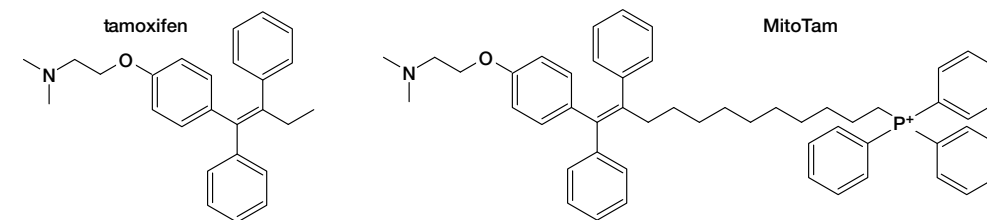
novou látku pojmenovali, se proto rychle akumuluje v mitochondriích na vnitřní mitochondriální membráně.

Porovnáním účinku tamoxifenu a MitoTamu na buněčných liniích rakoviny prsu jsme zjistili, že MitoTam má až o řád vyšší protirakovinný účinek a, což je důležité, nepůsobí na nerakovinné buňky. Pokračovali jsme proto dál a účinky otestovali in vivo, u laboratorních myši MitoTamu s experimentálními nádory.

Nejdříve jsme použili model tzv. nahých myši. Tyto myši mají nefunkční imunitní systém, proto je možné v nich vyvolat nádor vytvořený z lidských rakovinných buněk. V tomto modelu jsme porovnali schopnost tamoxifenu a MitoTamu potlačit růst nádorů lidské rakoviny prsu linie MCF7 a buněk MCF7, ve kterých jsme zvýšili hladinu onkogenu *HER2* (**obr. 3**). V obou případech byl MitoTam v boji proti nádorům účinnější než tamoxifen. V případě *HER2*-pozitivních nádorů, kde byl tamoxifen téměř neúčinný, vedlo podání MitoTamu u několika zvířat dokonce k úplnému vymizení nádorů. Účinky MitoTamu jsme později potvrdili i v myších se spontánními nádory rakoviny prsu, které simulují přirozený postupný vznik nádoru v prostředí s funkčním imunitním systémem. Laboratorní testy tedy ukázaly, že MitoTam je velmi účinný v potlačování růstu nádorů, navíc laboratorní zvířata léčbu velmi dobře snášela.

## LÁTKA SE ŠIROKÝM ZÁBĚREM

Nyní zbývalo zjistit, jaký je mechanismus účinku. Po podání MitoTamu jsme



**2. MITOTAM** má, na rozdíl od tamoxifenu, připojenou trifenylofosfoniovou skupinu, která zajišťuje cílení do mitochondrií buněk.