

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Speciální chemicko-biologické obory
Molekulární biologie a biochemie organismů



Anna Legátová

Úloha mitochondriálního dýchacího řetězce v invazivitě a metastázování nádorových buněk a možnosti terapeutických zásahů

The role of mitochondrial respiratory chain in invasiveness and metastasis of cancer cells and possible therapeutic interventions

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.

Konzultant: doc. RNDr. Martin Kalous, CSc.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 25.4.2021

Podpis

Poděkování

Velké poděkování patří především panu docentu Brábkovi, mému školiteli, který mě ochotně a se vší vřelostí provedl psáním bakalářské práce. Dále pak panu docentu Kalousovi, mému konzultantovi, a i všem ostatním, kteří mě v psaní podporovali.

Abstrakt

Mitochondriální dýchací řetězec, jinak nazývaný jako elektron transportní řetězec (ETC), má důležitou roli v klíčových vlastnostech nádorových buněk, jako je nekontrolovaná proliferace, metabolický posun z oxidační fosforylace (OXPHOS) na aerobní glykolýzu nebo schopnost metastázování.

Tato práce shrnuje dosavadní poznatky o ETC a jeho vztahu k nádorům, a to především k invazivitě a tvorbě metastáz. Nejprve se zabývá tzv. Warburgovým efektem a komplexitou metabolismu v nádorovém mikroprostředí. Následně ukazuje, jaký má aktivita OXPHOS vliv na invazivitu a metastázování nádorových buněk, a také poukazuje na souvislost mezi invazivitou a zvýšenou hladinou mitochondriálních reaktivních forem kyslíku generovaných díky ETC. Závěr je věnován možnostem využití inhibitorů ETC v protinádorové terapii.

Klíčová slova: mitochondriální dýchací řetězec, oxidační fosforylace, nádory, invazivita, metastázy, terapie

Abstract

The mitochondrial respiratory chain, also called the electron transport chain (ETC), has a pivotal role in key features of cancer cells e.g., proliferation, the metabolic shift from oxidative phosphorylation (OXPHOS) to aerobic glycolysis, or the ability to form metastases.

This review summarizes current knowledge about ETC and its relationship to cancer, especially to invasiveness and metastases formation. Firstly, it deals with a process called the Warburg effect and with metabolic complexity in the tumor microenvironment. Then it shows how OXPHOS activity affects invasiveness of cancer cells and metastases formation, and it points out the connection between invasiveness and increased levels of ETC-generated reactive oxygen species. At the end, the review deals with possible use of ETC inhibitors in anticancer therapy.

Key words: mitochondrial respiration chain, oxidative phosphorylation, cancer, Warburg effect, invasiveness, metastasis, therapy

Seznam zkratek

ATP	adenosintrifosfát
CAFs	fibroblasty asociované s nádory
CAT	kolektivně-améboidní tranzice
CSCs	nádorové kmenové buňky
DPI	difenyleiodonium chlorid
ECM	extracelulární matrix
EMT	epiteliálně-mezenchymální tranzice
ETC	elektron transportní řetězec/mitochondriální dýchací řetězec
FADH ₂	flavinadenindinukleotid
HIF	„hypoxia-inducible factors“
MAT	mezenchymálně-améboidní tranzice
MDSCs	„myeloid-derived suppressor cells“
MET	mezenchymálně-epiteliální tranzice
mROS	mitochondriální reaktivní formy kyslíku
mtDNA	mitochondriální DNA
NAD ⁺	oxidovaná forma nikotinamidadenindinukleotidu
NADH	redukovaná forma nikotinamidadenindinukleotidu
ND6	podjednotka 6 komplexu I mitochondriálního dýchacího řetězce
OXPHOS	oxidační fosforylace
ROS	reaktivní formy kyslíku
TAMs	makrofágy asociované s nádory

Obsah

1. ÚVOD	1
2. DÝCHACÍ ŘETĚZEC A NÁDOROVÁ PROGRESE	2
2.1. DÝCHACÍ ŘETĚZEC	2
2.2. KOMPLEXITA METABOLISMU V NÁDOROVÉM MIKROPROSTŘEDÍ	3
2.2.1. Warburgův efekt	3
2.2.2. Warburgovské nádorové buňky	3
2.2.3. Warburgovské CAFs	5
2.2.4. Další buňky nádorového mikroprostředí	7
2.3. DÝCHACÍ ŘETĚZEC A OXPHOS U NÁDOROVÝCH BUNĚK	7
2.3.1. Mitochondriální ROS	8
3. MITOCHONDRIE VE VZTAHU K INVAZIVITĚ A METASTÁZOVÁNÍ	9
3.1. INVAZIVITA A METASTÁZOVÁNÍ	9
3.2. SOUVISLOST MEZI ZPŮSOBY INVAZIVITY A PLASTICITOU	10
3.2.1. Epiteliálně-mesenchymální tranzice	12
3.2.2. Kolektivně-améboidní tranzice	13
3.2.3. Mesenchymálně-améboidní tranzice	13
3.3. ÚLOHA DÝCHACÍHO ŘETĚZCE PŘI INVAZIVITĚ A METASTÁZOVÁNÍ	14
4. TERAPIE	19
4.1. INHIBITORY DÝCHACÍHO ŘETĚZCE	19
4.1.1. Cílení invazivity a metastázování	24
4.1.2. Cílení hypoxie	25
4.1.3. Cílení ROS	26
5. ZÁVĚR	27

1. Úvod

Jev, při kterém nádorové buňky mění metabolismus z oxidační fosforylace (OXPHOS) na aerobní glykolýzu i při dostatečné dostupnosti kyslíku, je vůbec nejstarším známým metabolickým znakem nádorových buněk. Prvně byl popsán Ottou Warburgem, podle kterého je dodnes i nazýván Warburgův efekt (Warburg, Wind and Negelein, 1927).

Warburgův efekt byl často spojován s defekty v elektronovém transportním řetězci (ETC) a tím pádem s dysfunkcí OXPHOS, což mělo vést k metabolickému posunu směrem k aerobní glykolýze. V dnešní době však víme, že mitochondriální funkce a především funkce OXPHOS je i pro řadu typů nádorových buněk zcela nezbytná (Morais *et al.*, 1994; LeBleu *et al.*, 2014). Kromě jiných vlastností nádorových buněk má OXPHOS velký vliv i na invazivitu a metastázování. Nicméně její role napříč jednotlivými typy nádorů není uniformní. Existují případy, kdy byla OXPHOS v souvislosti se zvýšenou invazivitou buněk částečně inhibována (Pelicano *et al.*, 2009), jiné zdroje pak naopak ukazují, že i nadměrná aktivita OXPHOS může vést k vysoké invazivitě a tvorbě metastáz (LeBleu *et al.*, 2014).

Zvýšená invazivita nádorových buněk a s ní spojená plasticita je jedním z významných faktorů, díky kterým nádorové buňky odolávají protinádorové terapii a způsobují tak relaps nádorového onemocnění. Následné metastázování je pak téměř vždy spojováno se špatnou prognózou. Udává se, že až 90% úmrtí spojených s pevnými nádory jsou zapříčiněny právě tvorbou metastáz. Z toho důvodu je v poslední době snaha vyvíjet léčiva, která zamezují nádorovým buňkám invadovat okolní tkáň a tvořit metastázy.

Jako jeden z možných terapeutických cílů se nabízí právě ETC. Inhibice OXPHOS zapříčiní metabolické změny v buňce, které mohou vést ke snížení metastatického potenciálu nádorových buněk. Rovněž mohou potlačovat proliferaci, mohou zapříčiňovat větší citlivost k jiným terapeutickým zásahům nebo dokonce nádorové buňky přivést k apoptóze (Schöckel *et al.*, 2015; Ashton *et al.*, 2016; Ju *et al.*, 2016).

Tato práce shrnuje doposud získané poznatky z oblasti OXPHOS a jejího vztahu k invazivitě a metastázování a zároveň se zabývá možným terapeutickým využitím inhibitorů ETC a jejich vlivem na agresivitu nádorových buněk.

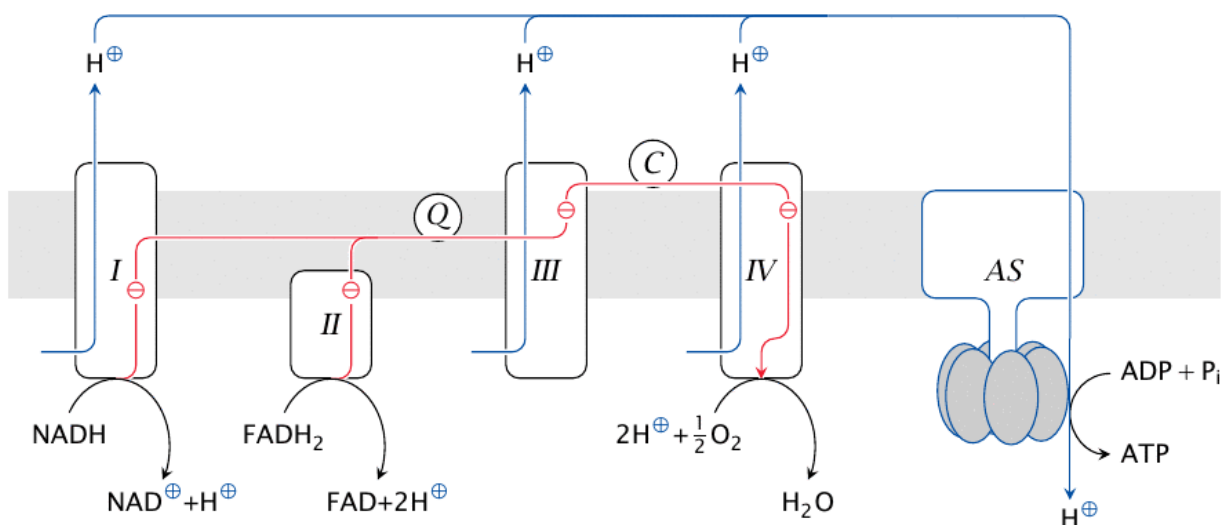
2. Dýchací řetězec a nádorová progresse

2.1. Dýchací řetězec

Mitochondriální dýchací řetězec (ETC) vykonává na molekulární úrovni jednu ze základních a životně nejdůležitějších funkcí – buněčné dýchání. Jednotlivé komplexy řetězce se u savců nachází ve vnitřní mitochondriální membráně, kde je za pomoci transportu elektronů tvořen protonový gradient nezbytný pro tvorbu adenosintrifosfátu (ATP).

Samotný ETC se skládá ze čtyř komplexů ukotvených v membráně označovaných jako komplex I, II, III a IV a ATP syntázy někdy označované jako komplex V. Mezi těmito komplexy je přesun elektronů dále zajištěn pomocí hydrofobního koenzymu Q nacházejícím se uvnitř mitochondriální membrány a cytochromu c, který je naopak hydrofilní a pohybuje se po vnější straně této membrány. Jednotlivé komponenty ETC pak mohou být uspořádány do tzv. superkomplexů, tj. vyšších strukturních a funkčních celků, které zajišťují lepší komunikaci mezi jednotlivými komplexy a optimalizaci toku elektronů mezi nimi.

Komplexy I a II přijímají elektrony z nikotinamidadenin nukleotidu (NADH) a flavinadenin nukleotidu (FADH_2) a následně je předávají intermembránovému koenzymu Q. Ten elektrony přenáší do komplexu III, dále se pak elektrony dostávají přes cytochrom c až k poslednímu komplexu, kde se slučují s atomem kyslíku. Přenos elektronů je v komplexech I, III a IV spojen s transportem protonů, díky kterému se na vnitřní mitochondriální membráně tvoří protonový gradient, ten poskytuje ATP syntáze dostatek volné energie na tvorbu ATP. Tento mechanismus je nazýván oxidační fosforylací (OXPHOS) (obr. 1) (vše shrnuto v (Lobo-Jarne and Ugalde, 2018)).



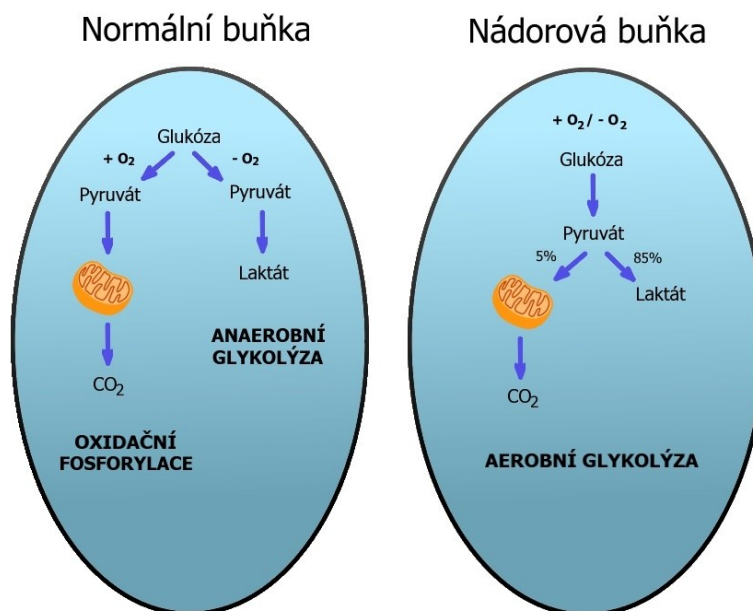
obr. 1 Stručný přehled funkce jednotlivých komplexů dýchacího řetězce (Palmer, 2014), I-IV – jednotlivé komplexy dýchacího řetězce, AS – ATP syntáza, C – cytochrom c; P_i – volný fosfát, Q – koenzym Q

2.2. Komplexita metabolismu v nádorovém mikroprostředí

2.2.1. Warburgův efekt

Živočišná buňka v klidovém stavu za aerobních podmínek přeměňuje glukózu na pyruvát, ze kterého se následně stává acetyl koenzym A. Ten pak vchází do Krebsova cyklu, kde vznikají redukované koenzymy $\text{NADH} + \text{H}^+$, které jsou zdrojem elektronů pro mitochondriální dýchací řetězec. Pokud buňka nemá dostatek kyslíku, z pyruvátu nevzniká acetyl koenzym A, nýbrž laktát.

Část nádorových buněk ale primárně nevyužívá jako hlavní zdroj energie OXPHOS, ale tzv. aerobní glykolýzu, kdy se tvoří laktát i za dostatečného množství kyslíku (obr. 2). Tento jev byl podle svého objevitele pojmenován jako Warburgův efekt a jedná se o nejstarší známý metabolický znak nádorových buněk (Warburg, Wind and Negelein, 1927).



obr. 2 Schématické znázornění rozdílu mezi oxidativní fosforylací a aerobní glykolýzou (upraveno podle (Wanandi et al., 2018))

Buňky využívající jako zdroj ATP oxidativní fosforylaci můžeme označit jako oxidativní nebo jako buňky s oxidativním metabolismem, naopak buňky, jejichž metabolismus získává energii převážně aerobní glykolýzou lze nazvat buňkami glykolytickými.

2.2.2. Warburgovské nádorové buňky

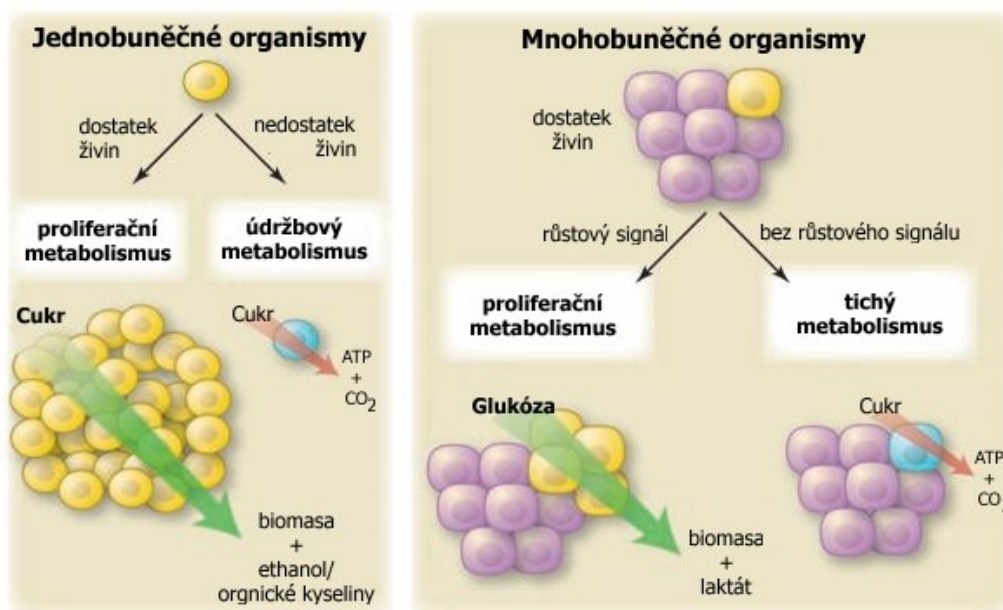
Využití Warburgova efektu je pro buňky z hlediska množství vyprodukovaného ATP podstatně méně efektivní. Udává se, že přes Krebsův cyklus a OXPHOS je buňka schopna

z jedné molekuly glukózy syntetizovat 30 až 32 molekul ATP, aerobní glykolýzou lze pak z jedné molekuly glukózy vytěžit pouze 2 molekuly ATP.

I přes to, že při reálných koncentracích glukózy je i nízká energetická účinnost glykolýzy pro buňku dostačující, stále zůstává otázkou, z jakého důvodu nádorové buňky přecházejí k „méně efektivnímu“ metabolismu. Tímto problémem se zabývali mimo jiné i biochemici Vander Heiden, Cantley a Thompson, kteří využili srovnání nádorových buněk s jednobuněčnými organismy.

Jednobuněčné organismy jsou naprogramovány tak, aby se, pokud mají dostatek živin, množily co nejvíce. V takovémto případě využívají fermentaci (mikrobiální ekvivalent aerobní glykolýzy), při které metabolizují glukózu na malé organické molekuly jako je ethanol. V případě nedostatku živin přestanou proliferovat, fermentovat a místo toho využijí oxidativního metabolismu, který vyprodukuje více ATP a umožní buňkám přežít.

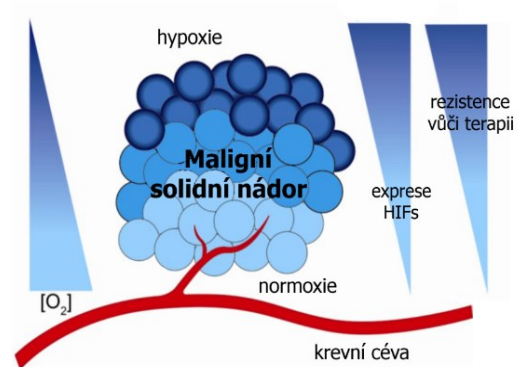
Podobně mohou fungovat i jednotlivé buňky mnohobuněčného organismu, nicméně v tomto případě není maximální proliferace jednotlivých buněk žádoucí (alespoň většinou, např. při embryonálním vývoji naopak vysoká proliferace buněk i v mnohobuněčném organismu žádoucí je). Proto je proliferace různými mechanismy zamezena. Buňky mnohobuněčného organismu nejsou tedy za „normálních podmínek“ stimulovány k proliferaci, ale naopak využívají oxidační fosforylaci k produkci velkého množství volné energie (obr. 3) (shrnuto v (Vander Heiden, Cantley and Thompson, 2009)).



obr. 3 Srovnání metabolismu v souvislosti s proliferací buněk jednobuněčných a mnohobuněčných organismů (upraveno podle (Vander Heiden, Cantley and Thompson, 2009))

Z toho vyplývá, že množství ATP při proliferaci v podmínkách, kdy má buňka dostatek živin, není limitujícím faktorem pro dělení. Ačkoliv si glykolytické buňky nevyrábí takové množství ATP jako buňky oxidativní, je jejich metabolismus příznivější pro rychlou proliferaci.

V solidních nádorech vlivem nekontrolovaného dělení dochází ke vzniku gradientu hladiny kyslíku. Buňky, které se nacházejí u krevních kapilár, mají kyslíku dostatek a stav, ve kterém se nachází, se nazývá normoxie. Naopak u buněk vzdálenějších od krevního řečiště je hladina kyslíku podstatně snižena a takovému stavu říkáme hypoxie (obr. 4) (Thomlinson and Gray, 1955). Přítomnost nádorové hypoxie je společným rysem většiny solidních nádorů.



obr. 4 Hypoxie solidního nádoru (upraveno podle (Thomas *et al.*, 2013))

Hypoxie zapříčiňuje změny v genové expresi a následné proteomické změny, které ovlivňují řadu buněčných i tkáňových mechanismů spojovaných s agresivním metastatickým fenotypem nádoru a rezistencí vůči nádorovým terapiím (Jing *et al.*, 2019).

HIFs (hypoxia-inducible factors) jsou transkripčními faktory, díky kterým dochází k přizpůsobení buněk nízké hladině kyslíku. Při hypoxii se tyto faktory rapidně stabilizují a jejich vlivem následně dochází k mnoha změnám jako například remodelace struktury tkání (Graham *et al.*, 1999).

2.2.3. Warburgovské CAFs

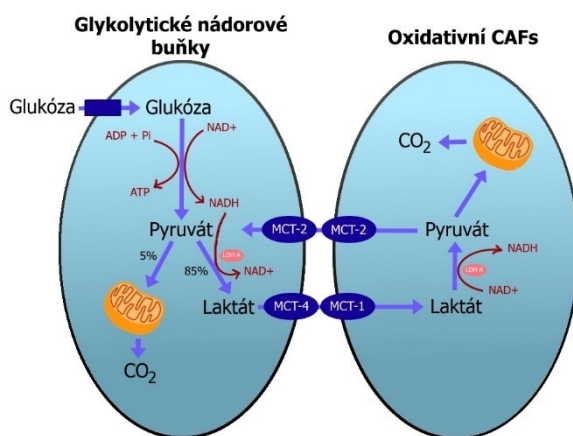
Fibroblasty asociované s nádory (cancer-associated fibroblasts) neboli CAFs, mají podstatnou úlohu v nádorové progresi. Přímým působením ovlivňují proliferaci buněk, zapříčiňují nádorovou iniciaci (Olumi *et al.*, 1999) a metastázování (Olaso *et al.*, 1997). Dále se podílejí na remodelaci mezibuněčné hmoty a angiogenezi v nádorovém mikroprostředí (Unterleuthner *et al.*, 2020).

Jak bylo zmíněno již dříve, nádorové buňky využívají k tvorbě ATP v porovnání s „normálními buňkami“ méně proces oxidací fosforylace. Ten je zčásti nahrazen aerobní glykolýzou. Tato změna je umožněna právě díky komunikaci a souhře mezi nádorovými buňkami a CAFs.

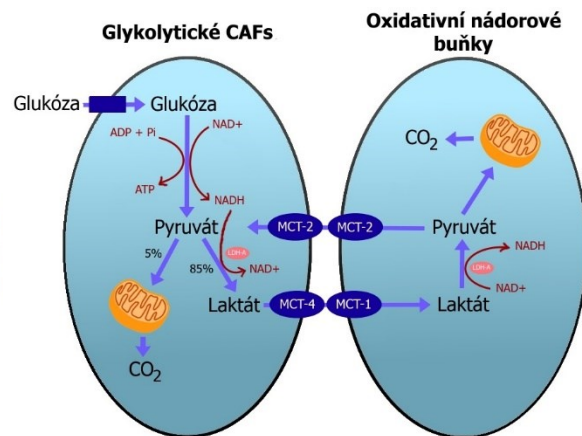
V populaci buněk jednoho nádoru je nesouměrná distribuce kyslíku, vyskytují se v ní regiony, ve kterých je kyslík v dostatečném množství, ale naopak i regiony s výraznější hypoxií (Thomlinson and Gray, 1955). Může tak docházet k různým typům metabolické kooperace, ohraničenými dvěma mezními situacemi.

V první situaci samotné nádorové buňky mají menší dostupnost kyslíku a fungují jako buňky glykolytické, produktem jejich metabolismu glukózy je laktát. Ten není v nádorech jen vedlejším odpadním produktem, ale je z nádorového mikroprostředí odebírán fibroblasty asociovanými s nádory, ve kterých slouží jako hlavní substrát pro oxidativní metabolismus (obr. 5) (Sonveaux *et al.*, 2008).

Druhá možnost je zcela opačná, nádorové buňky místo toho, aby samy využívaly dráhu aerobní glykolýzy, ji indukují v sousedních CAFs. Ty pak produkují odpadní laktát, který je zdrojem pro oxidační fosforylaci pro samotné nádorové buňky. Tento mechanismus lze nazvat jako „obrácený Warburgův efekt“ (reverse Warburg effect) (obr. 6) (Whitaker-Menezes *et al.*, 2011; Fiaschi *et al.*, 2012).



obr. 5 Schématické znázornění interakce glykolytických nádorových buněk s oxidativními CAFs (upraveno podle (Wanandi *et al.*, 2018)); P_i – volný fosfát



obr. 6 Schématické znázornění interakce oxidativních nádorových buněk s glykolytickými CAFs (upraveno podle (Wanandi *et al.*, 2018)); P_i – volný fosfát

CAFs mají původ ve fibroblastech, ale i v jiných buněčných typech jako jsou např. epiteliální buňky, buňky hladké svaloviny, adipocyty, fibrocyty a další. Zároveň konverze těchto buněk v CAFs může být způsobena různými stimuly. V důsledku toho jsou CAFs velmi heterogenní populací buněk, což přispívá k rezistenci vůči protinádorové léčbě (shrnuto v (Santi, Kugeratski and Zanivan, 2018)).

2.2.4. Další buňky nádorového mikroprostředí

Chování živočišných buněk v klidovém stavu je regulováno interakcemi s okolním prostředím, které buňkám dodávají jisté normalizující podněty. Nádorové buňky však získávají schopnost tyto podmínky obcházet, a naopak si mikroprostředí samy přetvářejí tak, aby rostoucímu nádoru vyhovovalo.

Nádorové mikroprostředí je kromě samotných nádorových buněk tvořeno i řadou typů buněk nenádorových, které výrazně ovlivňují progresi a invazivitu nádoru. Jedním z těchto typů buněk jsou již výše zmíněné CAFs (Unterleuthner *et al.*, 2020).

V místech vznikajícího nádoru se zpočátku vyskytují prozánětlivé makrofágy, které prvotně potlačují nádorový růst. Nádor však je schopný tyto buňky ovlivňovat tak, že v pozdějších fázích budou jeho vývoj naopak podporovat.

Makrofágy asociované s nádory (TAMs) v nádorovém mikroprostředí mohou napomáhat samotné nádorové progresi a zvyšovat aktivitu degradující extracelulární matrix. (Chen *et al.*, 2005). Nádor podporující TAMs se ve velkém shlukují v hypoxických oblastech nádorů, kde se právě díky hypoxickému prostředí mění jejich transkripční aktivita, což vede k jejich imunosupresivní, angiogenní a prometastatické funkci (Burke *et al.*, 2003).

K úniku imunitnímu systému využívá nádor tzv. MDSCs (myeloid-derived suppressor cells). Jedná se o imunosupresivní buňky vznikající díky aberantnímu vývoji myeloidních buněk spojenému s malignitou, které se infiltrují do vznikajících nádorů a jsou schopné inhibovat T-lymfocyty a tím pádem i imunitní odpověď vůči nádoru (Almand *et al.*, 2001). Bylo ukázáno, že díky aerobní glykolýze, kterou využívají nádorové buňky k tvorbě energie, dochází k podpoře vývoje MDSCs. Ty pak udržují imunosupresivní charakter nádorového mikroprostředí (Li *et al.*, 2018). Zároveň i samy MDSCs jsou buňkami převážně glykolytickými, což je chrání před nadměrným vznikem reaktivních forem kyslíku a případnou radikály indukovanou apoptózou a tím usnadňuje jejich expanzi (Jian *et al.*, 2017).

Výše uvedená fakta jsou jen ilustrativní ukázkou toho, jak jsou nádory schopné modulovat a ve svůj prospěch využívat jiné buňky a okolní mikroprostředí.

2.3. Dýchací řetězec a OXPHOS u nádorových buněk

Mitochondriální dýchací řetězec je důležitý kvůli oxidační fosforylaci – tvorbě protonového gradientu na vnitřní mitochondriální membráně, díky kterému je umožněna tvorba značného množství ATP. Nicméně generování gradientu není jediná schopnost ETC.

Výzkumy naznačují, že ETC a zejména pak jeho komplex I má také roli v regulaci proliferace buněk. Například tím, že komplexy ETC přijímají elektrony z NADH, ze kterého se pak stává jeho oxidovaná forma (NAD⁺), a podílí se tak na udržování poměru NAD⁺/NADH. Akceptory elektronů, jako je NAD⁺ jsou důležité pro syntézu aspartátu. Inhibice ETC vede ke snížení poměru NAD⁺/NADH, a tudíž i ke snížení dostupných akceptorů elektronů, což zhoršuje syntézu aspartátu a buněčnou proliferaci (Sullivan *et al.*, 2015).

Komplex I je zároveň důležitý i v indukci adaptivních mechanismů proti nádorové hypoxii díky stabilizaci transkripčního faktoru HIF1 α a zapříčinění metabolického posunu z OXPHOS k aerobní glykolýze (Calabrese *et al.*, 2013).

Nicméně i samotná OXPHOS je pro nádorové buňky a jejich charakteristické projevy velmi důležitá. Ačkoliv mají nádorové buňky většinou sníženou výkonnost OXPHOS a využívají jako zdroj energie především aerobní glykolýzu, pokusy, při kterých byla v nádorových buňkách za použití ethidium bromidu zničena mitochondriální DNA (mtDNA) a díky tomu potlačena aktivita oxidační fosforylace (tzv. stav ρ_0), ukázaly, že takto upravené buňky ztrácí jednu z typických vlastností nádorových buněk – růst bez ukotvení (Morais *et al.*, 1994). To lze vysvětlit nepatrnou hladinou mitochondriálních reaktivních forem kyslíku (Weinberg *et al.*, 2010) v důsledku zcela potlačené aktivity OXPHOS (viz níže). Také bylo ale ukázáno, že nádorové buňky ve stavu ρ_0 jsou schopny z okolních zdravých buněk získat mtDNA, která jim chybí, a částečně tak OXPHOS obnovit (Tan *et al.*, 2015). To naznačuje, že ačkoliv snížená aktivita OXPHOS podporuje progresi většiny nádorů a může se podílet i na schopnosti metastázování (Ishikawa *et al.*, 2008), zcela potlačená OXPHOS není ani pro nádorové buňky výhodná.

Navíc po navození stavu ρ_0 bylo pozorováno i plné obnovení OXPHOS, a to u cirkulujících nádorových buněk (Tan *et al.*, 2015). Některé invazivní buňky dokonce při pokusech využívaly transkripční aktivátory ke zvýšení OXPHOS a mitochondriální biogeneze (LeBleu *et al.*, 2014). To ukazuje, že existují i určité typy nádorů více závislé na OXPHOS, pro jejichž šíření je běžná nebo dokonce zvýšená OXPHOS nezbytná.

2.3.1. Mitochondriální ROS

V průběhu oxidační fosforylace vznikají jako přirozený vedlejší produkt reaktivní formy kyslíku (ROS), a to především činností komplexů I, II a III (Cadenas *et al.*, 1997; Quinlan *et al.*, 2012). Mitochondriální ROS (mROS) v buňce slouží jako důležité signalizační faktory například při adaptaci na hypoxické prostředí pomocí stabilizace HIF1 α nebo při ROS

dependentní aktivaci makrofágů (Wang, Malo and Hekimi, 2010). Ve větším množství jsou však ROS spíše škodlivým produktem, který může vést až k buněčné smrti.

Za běžných podmínek se v buňce vyskytují enzymy, které přeměňují ROS na méně reaktivní molekuly a tím jejich škodlivost eliminují. Pokud ale dojde ke zvýšení produkce ROS nebo naopak ke snížení účinnosti příslušných enzymů, může docházet k oxidativnímu poškození buněčných makromolekul reaktivními formami kyslíku a tím k ovlivnění jejich funkčnosti.

Neeliminované ROS mohou také lehce napadat a zapříčiňovat mutace v mitochondriální DNA (mtDNA), ve které jsou kódovány některé podjednotky mitochondriálního dýchacího řetězce. Mutace v těchto genech tak budou ovlivňovat funkci OXPHOS a tím mohou i nadále zvyšovat tvorbu ROS.

Je dokázáno, že v nádorových buňkách se mROS vyskytují ve větším množství než v buňkách v klidovém stavu (Aykin-Burns *et al.*, 2009), což je důležité pro některé projevy nádorových buněk jako je zástava zkracování telomer a na ní závislý neomezený replikační potenciál (Bell *et al.*, 2007), angiogeneze (Xia *et al.*, 2007) nebo schopnost růstu bez ukotvení (Weinberg *et al.*, 2010).

Mitochondriální ROS jsou tedy důležitými faktory pro fungování nádorových buněk, zároveň ale jejich zvýšená koncentrace může zapříčiňovat apoptózu stejně jako u buněk v klidovém stavu. Látky, které tímto způsobem zapříčiňují smrt nádorových buněk, jsou proto zvažovány v protinádorové léčbě (Park *et al.*, 2011).

3. Mitochondrie ve vztahu k invazivitě a metastázování

3.1. Invazivita a metastázování

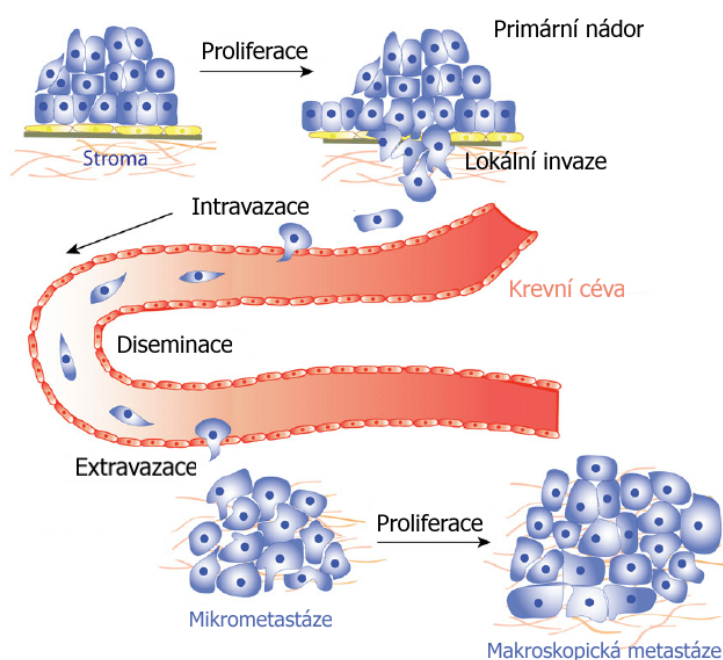
Metastázování je proces, při kterém se tvoří druhotná nádorová ložiska v jiných částech těla, než se nachází primární nádor. Těmto druhotným ložiskům říkáme sekundární nádory neboli metastázy. Tvorba metastáz je všeobecně spojována s těžším průběhem nádorového onemocnění a je zodpovědná za velkou část úmrtí spojených s rakovinou.

Jedná se o několikastupňový proces, který můžeme souhrnně označit pojmem invazivně-metastatická kaskáda.

Během invazivně-metastatické kaskády musí nejprve dojít k tzv. lokální invazi, což je proniknutí nádorových buněk z primární tkáně, a následně intravazaci, překonání endotelu cév a průnik do krevního nebo lymfatického řečiště, kudy jsou buňky rozváděny po těle. V krevním (popřípadě lymfatickém) řečišti musí nádorové buňky odolat obranným mechanismům těla a přežít bez stabilního kontaktu s mezibuněčnou hmotou. Přeživší nádorové buňky po nějaké

době přilínají na stěny cév, díky čemuž může docházet k extravazaci, tedy průniku buněk z cév do sekundární tkáně. Nádorové buňky sekundární tkáň následně kolonizují a zakládají v ní metastázy (shrnuto v (Seyfried and Huysentruyt, 2013)) a to buď hned, nebo až po stádiu dormance (obr. 7) (Price *et al.*, 2016).

Nádorové metastázy se netvoří náhodně, ale vznikají přednostně v určitých orgánech v závislosti na typu primárního nádoru. Existují dvě hypotézy, které vysvětlují, proč by tomu tak mohlo být. Podle původní hypotézy „seed and soil“ (semínko a půda) Stephena Pageta je místně specifické metastázování dáno prostředím orgánu, který buňky kolonizují, a jeho vzájemnou kompatibilitou s migrujícími nádorovými buňkami (Paget, 1889). Novější hypotéza Jamese Erwinga předpokládá, že (spíše než prostředí cílové tkáně) se na procesu usídlování cirkulárních nádorových buněk ve specifickém orgánu podílí čistě mechanické faktory jako například struktura cév. Aktuálnější důkazy ukazují, že v orgánově-specifické tvorbě metastáz budou mít roli oba faktory. Jak kompatibilita nádorové buňky se sekundárním orgánem, tak i množství biologických, chemických a fyziologických zábran (shrnuto v (Chambers, Groom and MacDonald, 2002)).



obr. 7 Invazivně-metastatická kaskáda (upraveno podle (Saxena and Christofori, 2013))

3.2. Souvislost mezi způsoby invazivity a plasticitou

Invazivita, tudíž schopnost nádorových buněk proniknout mimo tkáň, ve které se nachází primární nádor, je prvním a kritickým krokem metastatické kaskády. Nádorové buňky mohou

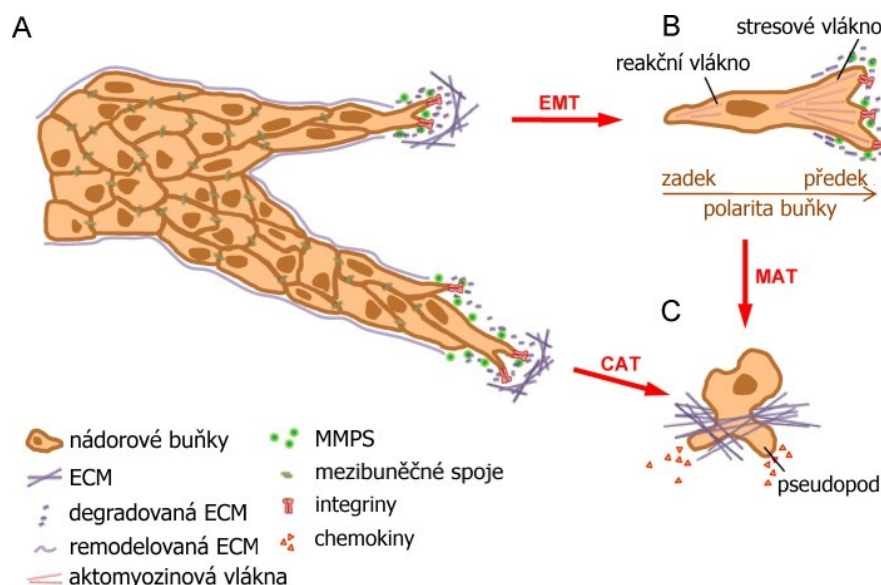
invadovat buď ve skupinách, které remodelují okolní extracelulární matrix (ECM) (Nabeshima *et al.*, 2000) a zachovávají si mezibuněčné spoje a polaritu, nebo individuálně. Doposud byly potvrzeny dva mechanismy, kterými může individuální invazivita probíhat – mezenchymální a améboidní.

Mezenchymální typ invazivity je založen na produkci proteáz (především matrixových metaloproteáz), které štěpí ECM a tím se podílí na její lepší dostupnosti pro invadující nádorové buňky (Das *et al.*, 2017).

Améboidní typ invazivity je rychlejší než mezenchymální. V améboidně invadujících buňkách je klíčovým mechanismem vysoce aktivní remodelace cytoskeletu zapříčiněná GTPázou RhoA a kinázou ROCK (Sahai and Marshall, 2003). Tato remodelace dodává nádorovým buňkám vysokou tvarovou přizpůsobivost, díky které jsou schopny se pohybovat existujícími mezerami v ECM.

Aby buňky primárního nádoru získaly vlastnosti potřebné k danému typu invaze, musí projít určitými procesy, které mění fenotyp nádorových buněk. Konkrétně se jedná o epiteliálně-mezenchymální tranzici (EMT) pro případ mezenchymální invaze a kolektivně-améboidní tranzici (CAT) v případě invaze améboidní (Hegerfeldt *et al.*, 2002). Dále je možný i přechod z mezenchymální invaze na invazi améboidní, takovému procesu se říká mezenchymálně-améboidní tranzice (MAT) (obr. 8) (Wolf *et al.*, 2003).

Přechody mezi typy invazivity (EMT, CAT, MAT a přechody k nim opačné) zapříčiňují plasticitu migrujících a invazivních buněk, díky které jsou buňky schopny unikát cílené terapii.

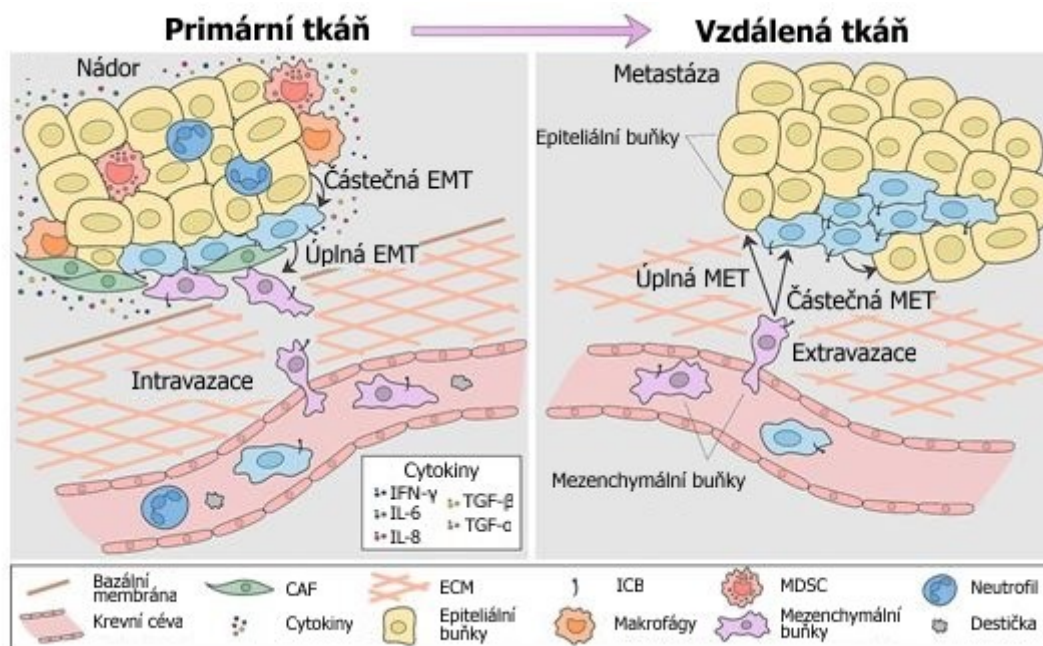


obr. 8 Plasticita a invaze nádorových buněk (upraveno podle (van Zijl, Krupitza and Mikulits, 2011)); ECM – extracelulární matrix; EMT – epiteliálně-mezenchymální tranzice; CAT – kolektivně-améboidní tranzice; MAT – mezenchymálně-améboidní tranzice; MMPS – matrixové metaloproteázy

3.2.1. Epiteliálně-mezenchymální tranzice

Mezenchymální invazivní nádorové buňky prodělávají proces epitheliálně mezenchymální tranzice. Jedná se o proces, kdy epitheliální nádorové buňky primárního nádoru přejímají charakteristiky buněk mezenchymálních, což umožňuje jejich pohyblivost. Dochází ke ztrátě interakcí mezi jednotlivými buňkami, ztrátě buněčné apiko-bazální polariry a získání předozadní polariry (Thiery, 2003). Nádorové buňky tak získávají invazivní fenotyp, disociují od primárního nádoru, dostávají se do krve a dochází k jejich diseminaci. Zároveň tyto buňky v průběhu EMT mohou přejímat vlastnosti kmenových buněk, čímž se z nich mohou stávat tzv. nádorové kmenové buňky, které jsou schopny založit nové ložisko v jiné tkáni (obr. 9) (Mani *et al.*, 2008).

Tranzice však může probíhat i obráceně. Tedy z buněk, které mají mezenchymální charakteristiky, se mohou stát buňky epitheliální. Nádorové buňky tak ztrácejí migratorní schopnosti a usídlují se v sekundárních tkáních. V takovém případě už nemluvíme o epitheliálně-mezenchymální tranzici, ale naopak o tranzici mezenchymálně-epitheliální (MET) (obr. 9).



obr. 9 Schématické znázornění reverzibilních procesů EMT a MET (upraveno podle (Lev, 2018))

Nádorové buňky nicméně nevykazují jen epitheliální nebo mezenchymální fenotyp, v procesu se mohou zastavit na řadě různých přechodných stavů s různými invazivními a metastatickými schopnostmi. Takový jev lze nazvat epitheliálně-mezenchymální plasticitou.

V závislosti na daném stavu se nádorové buňky nacházejí v různých mikroprostředích a mají i různé nádorové vlastnosti (Pastushenko *et al.*, 2018). To způsobuje heterogenitu nádorů, která může vést k rezistenci vůči nádorové terapii (Yu *et al.*, 2013).

Dokonce bylo pozorováno, že buňky, které se nachází v přechodovém stavu, mohou vykazovat podstatně větší agresivitu (Grosse-Wilde *et al.*, 2015).

V nádorových buňkách je pozorována úzká souvislost mezi EMT a mitochondriální disfunkcí. Epiteliálně mezenchymální tranzice v nádorových buňkách může být totiž zapříčiněna mimo jiné i defekty v ETC, které zvyšují hladinu mROS (He *et al.*, 2016).

Kvůli disfunkcím v ETC a díky nim zvýšené produkci mROS může docházet ke změnám mezibuněčných interakcí a interakcí buněk s ECM. V závislosti na těchto projevech byla také pozorována i zvýšená exprese proteinů, které ECM remodelují. To přispívá ke zvýšení mezenchymálního invazivního fenotypu nádorových buněk (He *et al.*, 2013). Myšlenku, že EMT a na ní závislá invazivita, může být způsobena změnami v ETC podporuje i fakt, že u vysoce invazivních buněk rakoviny prsu byla na rozdíl od méně invazivních nádorů pozorována snížená exprese podjednotek komplexu I (konkrétně GRIM-19 a NDUFS3) a tudíž snížená výkonnost komplexu I a OXPHOS a zvýšená produkce mROS (He *et al.*, 2013).

3.2.2. Kolektivně-améboidní tranzice

Tento typ tranzice je ve srovnání s EMT zatím podstatně méně prozkoumán. Jedná se opět o proces, kdy dochází k oddělení jednotlivých nádorových buněk od větších buněčných klastrů, které se ale tentokrát dále skrz ECM dostávají améboidním pohybem.

Ačkoliv doposud zveřejněné studie nezkoumaly přímou souvislost CAT s oxidační fosforylací, dalo by se předpokládat, že podobně jako u EMT by mohly i v tomto případě defekty v OXPHOS a s nimi spojená zvýšená tvorba mROS napomáhat změnám mezibuněčných interakcí a interakcí buněk s ECM (He *et al.*, 2013).

3.2.3. Mesenchymálně-améboidní tranzice

Byla popsána i možnost přechodu z mezenchymální invazivity na invazivitu améboidní a naopak. Tyto mechanismy tak dále rozšiřují plasticitu, která umožňuje nádorovým buňkám únik před protinádorovou léčbou, a jsou důvodem, proč například samotné inhibitory proteáz degradujících ECM nebudou mít na invazivitu nádorových buněk velký vliv. Invazivní buňky jsou totiž za pomoci MAT a k ní opačné AMT schopny přizpůsobit se okolním podmínkám (včetně podmínek navozených léčbou), aniž by ztratily svůj invazivní potenciál (Wolf *et al.*,

2003). Mezenchymálně-améboidní a améboidně-mezenchymální tranzice jsou závislé na Rac a Rho signalizaci. Zatímco Rac podporuje mezenchymální invazivitu a améboidní invazivitu potlačuje, Rho/ROCK signalizace naopak řídí invazi améboidním směrem. Podněty, které oslabují nebo naopak posilují jednu z cest (Rac nebo Rho), tak zapříčiňují tranzici z jednoho typu invazivity na druhý (Sanz-Moreno *et al.*, 2008; Taddei *et al.*, 2014).

3.3. Úloha dýchacího řetězce při invazivitě a metastázování

Mitochondriální dýchací řetězec hraje v nádorové progresi velkou roli. Je důležitý pro proliferaci nádorových buněk (Sullivan *et al.*, 2015), pro metabolický posun k aerobní glykolýze (Calabrese *et al.*, 2013), ale také pro invazivitu a metastázování nádorových buněk (Ishikawa *et al.*, 2008).

Jednotlivé zdroje se nicméně na přesné roli ETC v invazivitě a metastázování neshodují. Některé publikace uvádějí, že normální nebo dokonce zvýšená aktivita OXPHOS je pro invazivitu nádorových buněk esenciální (LeBleu *et al.*, 2014), jiné naopak ukazují, že zvýšená invazivita je spojená se sníženou OXPHOS (viz níže) (Simonnet, 2002).

Zřejmě nejzávažnější funkci v invazivitě a metastázování zastává největší a strukturně nejkomplikovanější komplex ETC – komplex I. Jeho snížená aktivita způsobuje nadbytečnou produkci mROS a zároveň nevyvážený poměr NAD⁺/NADH.

Existují studie, které ukazují, že oba tyto faktory (zvýšená hladina ROS i narušení hladiny NADH v mitochondriální matrix) mohou vést ke zvýšené invazivitě a metastázování nádorových buněk.

Bylo například zjištěno, že nonsense a missense mutace mtDNA v genu pro podjednotku 6 komplexu I (ND6), které zapříčiňují sníženou aktivitu komplexu I, zvyšují produkci mROS a následkem toho zvyšují metastatický potenciál nádorových buněk (Ishikawa *et al.*, 2008; Yuan *et al.*, 2015). Nebo že snížená exprese některých podjednotek komplexu I (tentokrát kódovaných v jaderné DNA) a s ní spojená nadprodukce mROS se podílí na epiteliálně-mesenchymální tranzici, která je opět důležitým krokem k tvorbě metastáz (He *et al.*, 2013).

Naopak snížená exprese jiných podjednotek komplexu I se spíše než na nadprodukci ROS v souvislosti se sníženou aktivitou komplexu I (NADH dehydrogenázy) může podílet na narušení rovnováhy NAD⁺/NADH v mitochondriální matrix. V nádorových buňkách může být hladina NADH oproti zdravým buňkám kvůli snížené aktivitě NADH dehydrogenázy

viditelně zvýšena (Yu and Heikal, 2009), a to opět může být důvodem zvýšené invazivity a metastatického potenciálu (Santidrian *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2015).

Nicméně jsou evidovány i případy, kdy inhibice komplexu I snižovala invazivitu a metastázování a měla tak zcela opačný účinek (Jeon *et al.*, 2016).

Komplex I mitochondriálního dýchacího řetězce je ve vztahu k invazivitě nádorových buněk sice nejvíce prozkoumán, není však jediný z komplexů ETC, který dokáže ovlivňovat metastatický potenciál. Podobnými způsoby, kvůli nadprodukci ROS, se na invazivitě a schopnosti metastázování podílejí i ostatní komplexy ETC včetně ATP syntázy (tab. 1) (Hung *et al.*, 2012; Seo *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019). A podobně jako u komplexu I, i u jiných komplexů jsou dosud získané poznatky o jejich roli v invazivitě nejednoznačné (Seo *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019).

Změny v ETC a jejich vliv na invazivitu a metastázování					
místo zásahu	předmět zásahu	vztah k ETC	vztah k invazivitě a metastázování	typ buněk	zdroj
ETC	zvýšená exprese transkripčního koaktivátoru PGC-1a	zvýšená výkonnost OXPHOS	důležitá pro invazivitu a metastázování	karcinom prsu	(LeBleu <i>et al.</i> , 2014)
	detekce aktivity OXPHOS (aktivita K I, K II a K IV)	zvýšená výkonnost OXPHOS	důležitá pro invazivitu a metastázování	karcinom prsu	(Whitaker-Menezes <i>et al.</i> , 2011)
	defekt v mitochondriální translaci	snížená výkonnost OXPHOS, nadprodukce ROS	zvýšená invazivita a migrace	karcinom prsu, plic, jater	(He <i>et al.</i> , 2016; Lee <i>et al.</i> , 2017)
	porušení ETC	snížená výkonnost OXPHOS,	zvýšená invazivita a migrace	karcinom prsu	(Pelicano <i>et al.</i> , 2009)

		nadprodukce ROS			
K I	inhibice komplexu I (rotenon)	snížení výkonnosti OXPHOS	snížená invazivita a metastázování	karcinom plic	(Jeon <i>et al.</i> , 2016)
	mutace v podjednotce ND6	snížená aktivita komplexu I, nadprodukce ROS	zvýšená invazivita a migrace	cybridy, plicní adenokarcinom	(Ishikawa <i>et al.</i> , 2008; Yuan <i>et al.</i> , 2015)
	snížená exprese podjednotky NDUFS3	snížená aktivita komplexu I, nadprodukce ROS	zvýšená invazivita a migrace	karcinom prsu	(He <i>et al.</i> , 2013)
	snížená exprese podjednotky GRIM-19	snížená aktivita komplexu I, nadprodukce ROS	zvýšená invazivita a migrace	karcinom prsu	(He <i>et al.</i> , 2013)
	snížená exprese podjednotky NDUFBP	snížená aktivita komplexu I, dysbalance v poměru NAD ⁺ /NADH	zvýšená invazivita a migrace	karcinom prsu	(Li <i>et al.</i> , 2015)
	snížená exprese podjednotky NDUFV1	snížená aktivita komplexu I, dysbalance v poměru NAD ⁺ /NADH	zvýšená invazivita a metastázování	karcinom prsu	(Santidrian <i>et al.</i> , 2013)
	exprese NADH dehydrogenázy Ndi1 ze <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	zvýšená aktivita komplexu I, stabilizace poměru NAD ⁺ /NADH	snížená invazivita a metastázování	karcinom prsu	(Santidrian <i>et al.</i> , 2013)

K II	snížená exprese podjednotek SDHA/B/C/D	snížená aktivita komplexu II, nadprodukce ROS	zvýšená invazivita a metastázování	hepatocelulární karcinom	(Li <i>et al.</i> , 2019)
	špatné složení podjednotky SDHB	snížená výkonnost OXPHOS, nadprodukce ROS	snížená invazivita a metastázování	adenokarcinom prostaty	(Seo <i>et al.</i> , 2016)
K III	inhibice komplexu III (antimycin A)	snížená výkonnost OXPHOS, nadprodukce ROS	zvýšená invazivita a migrace	karcinom prsu	(Hung <i>et al.</i> , 2012)
K IV	podjednotka COX7AR	nadprodukce ROS vedoucí k obohacení komplexu IV o podjednotku COX7AR	zvýšená invazivita	karcinom prsu	(Zhang <i>et al.</i> , 2016)
ATP syntáza	inhibice ATP syntázy (oligomycin)	snížená výkonnost OXPHOS, menší tvorba ATP, nadprodukce ROS	zvýšená invazivita a migrace	karcinom prsu	(Hung <i>et al.</i> , 2012)

tab. 1 Seznam dosavadních studií zaznamenávajících změny v ETC a jejich vliv na invazivitu a metastázování; ETC – elektron transportní řetězec, K I–IV – komplex I–IV, OXPHOS – oxidační fosforylace, ROS – reaktivní formy kyslíku, šedě vyznačené případy – přímá úměra mezi aktivitou OXPHOS a schopností invazivity a metastázování, bíle vyznačené případy – nepřímá úměra mezi aktivitou OXPHOS a schopností invazivity a metastázování

Tyto vzájemně protichůdné poznatky ukazují, že změny v mitochondriálním dýchacím řetězci mohou zastávat roli jak pro-, tak protinádorovou (tab. 1). Proč ale OXPHOS někdy invazivitu snižuje a jindy podporuje zatím není úplně objasněno.

Díky metabolické plasticitě jsou nádorové buňky schopny modulovat svou metabolickou činnost v závislosti na okolním mikroprostředí. Pokud se to vztáhne přímo na OXPHOS a glykolýzu, nejedná se pouze o dva výlučné způsoby, kterými buňka může získávat energii. Jedná se o škálu stavů, kdy buňky využívají některý z procesů více a jiný méně a jsou schopny aktivitu těchto drah přizpůsobit aktuálním podmínkám (Palorini *et al.*, 2013). Tyto podmínky mohou být vnější jako nedostatek kyslíku v tkáni (LeBleu *et al.*, 2014), interakce s okolními buňkami, s buňkami imunitního systému apod., nebo vnitřní jako genetická výbava daného jedince nebo přímo konkrétní mutace v DNA jednotlivých nádorů (Yuan *et al.*, 2015). Všechny tyto podmínky mohou hrát ve vývoji nádoru roli a mohou tak ovlivňovat i jeho metabolismus.

Částečně tedy lze přisoudit rozdílné vztahy OXPHOS k invazivitě jednotlivým typům nádoru a konkrétním místům jejich vzniku, například zatím nejčastější nálezy nádorových buněk více závislých na OXPHOS byly u karcinomů prsu (Whitaker-Menezes *et al.*, 2011; LeBleu *et al.*, 2014). Nicméně i stejné typy nádorů mohou vykazovat různé metabolické aktivity (Pelicano *et al.*, 2009; Whitaker-Menezes *et al.*, 2011). To by mohlo být odůvodněno přímo individuálním vývojem daných nádorů, který by mohl být ovlivněn nádorovým mikroprostředím, genetickou výbavou příslušného pacienta apod. Zároveň vzhledem k faktu, že v transformovaných buňkách bývá zvýšená mutageneze, mohly by se na tom, zda bude OXPHOS invazivitu nádoru snižovat či naopak, podílet přímo konkrétní mutace v DNA nádorových buněk (Ishikawa *et al.*, 2008; Yuan *et al.*, 2015).

Nicméně v současné době převažuje názor, že snížená aktivita OXPHOS (nikoliv zcela potlačená) se častěji podílí na horším průběhu nádorového onemocnění, který je spojován s metastázováním (Gaude and Frezza, 2016). To z velké části souvisí s tvorbou ROS. Pokud dochází k inhibici ETC, kdy se přestávají tvořit ROS, buňky ztrácí i metastatický potenciál. V opačném případě, je-li inhibice jen částečná nebo je ETC přetížený, může dojít ke zvýšení hladiny mROS a k ROS dependentní invazivitě (Pelicano *et al.*, 2009; Porporato *et al.*, 2014). Studie, které naopak dokazují zvýšenou aktivitu OXPHOS v souvislosti s vyšší invazivitou a tvorbou metastáz (LeBleu *et al.*, 2014), bývají spojovány spíše než s charakteristickými rysy se specifickými podskupinami nádorů (Gaude and Frezza, 2016).

Možnost, že by (spíše než defekty v OXPHOS) mohlo být metastázování primárně způsobeno indukcí aerobní glykolýzy, kvůli které se pak druhotně sníží aktivita OXPHOS, se

jeví jako nepravděpodobná (K. Ishikawa *et al.*, 2008). Z toho a z výše uvedeného seznamu evidencí (tab. 1) je patrné, že jsou to především změny v ETC, které ovlivňují invazivitu nádorových buněk i schopnost metastázování.

4. Terapie

4.1. Inhibitory dýchacího řetězce

Jedním z možných terapeutických cílů při léčbě nádorů je mitochondriální dýchací řetězec. Závažnější průběhy nádorových onemocnění bývají nejčastěji spojovány se sníženou aktivitou OXPHOS. Studie, které naopak popisují zvýšenou aktivitu OXPHOS v souvislosti se zvýšením invazivity a metastázováním buněk se týkají jen určitých typů nádorů (Gaude and Frezza, 2016), například nádory karcinomů prsu (LeBleu *et al.*, 2014), Hodgkinova lymfomu (Birkenmeier *et al.*, 2016) nebo akutní myeloidní leukémie (Lagadinou *et al.*, 2013). U karcinomů slinivky břišní nebo u chronické myeloidní leukémie byly navíc popsány vysoce invazivní a metastatické nádorové kmenové buňky (CSCs), které jsou na přímo OXPHOS závislé a tím pádem nadměrně citlivé vůči inhibitorům mitochondriální funkce (tab. 2) (Viale *et al.*, 2014; Kuntz *et al.*, 2017).

Nádorové podtypy se zvýšenou závislostí na OXPHOS			
typ buněk	mechanismus	výsledek	zdroj
CSCs slinivky břišní	inhibice OXPHOS oligomycinem v kombinaci s inhibicí proteinu KRAS	snížení OXPHOS, vymýcení SC, prevence relapsu	(Viale <i>et al.</i> , 2014)
	inhibice OXPHOS metforminem a oligomycinem	snížení OXPHOS, vymýcení CSCs, zastavení proliferace nekmenových nádorových buněk	(Lonardo <i>et al.</i> , 2013)
CSCs akutní myeloidní leukémie	inhibice translace mitochondriálních proteinů imatinibem a tigeckylinem	snížení OXPHOS, vymýcení CSCs	(Kuntz <i>et al.</i> , 2017)
	inhibice proteinu BCL-2	snížení OXPHOS, vymýcení CSCs	(Lagadinou <i>et al.</i> , 2013)

CSCs glioblastomu	detekce OXPHOS v souvislosti na spotřebě kyslíku	zvýšená OXPHOS	(Janiszewska <i>et al.</i> , 2012)
DLBCL – určité podtypy	analýza pomocí proteomiky, mitochondriální respirometrie a metabolomiky	detekce vysoké exprese OXPHOS v určitých typech buněk	(Caro <i>et al.</i> , 2012)
HGSOC – určité podtypy	analýza pomocí proteomiky, bioenergetiky a metabolicky	detekce vysoké exprese OXPHOS závislé na transkripčním koaktivátoru PGC-1 α	(Gentric <i>et al.</i> , 2019)
NSCLC – buňky se sníženou hladinou LKB1	inhibice OXPHOS fenforminem	snížení OXPHOS, vymýcení buněk se sníženou hladinou proteinu LKB1	(Shackelford <i>et al.</i> , 2013)
melanom – určité podtypy	zvýšená exprese podjednotky komplexu II a dalších komponent ETC	zvýšená OXPHOS, zvýšená invazivita	(Chattopadhyay <i>et al.</i> , 2019)
	nadměrná exprese PGC-1 α	zvýšená OXPHOS, méně citlivé na zvýšenou hladinu ROS	(Vazquez <i>et al.</i> , 2013)
karcinom prsu	vizualizace aktivity OXPHOS barvením histologických preparátů	detekce zvýšené OXPHOS v epiteliárních nádorových buňkách spojená s invazivitou	(Whitaker-Menezes <i>et al.</i> , 2011)
	inhibice transkripčního koaktivátoru PGC-1 α	snížení OXPHOS, potlačení invazivity	(LeBleu <i>et al.</i> , 2014)
	ztráta tumorsupresoru RB1	zvýšení OXPHOS, podpora v pokračování buněčného cyklu	(Jones <i>et al.</i> , 2016)

Hodkinův lymfom	vizualizace aktivity OXPHOS barvením histologických preparátů	detekce zvýšené exprese podjednotek ETC a zvýšená OXPHOS v nádorových buňkách	(Birkenmeier <i>et al.</i> , 2016)
--------------------	---	--	------------------------------------

tab. 2 Nádorové podtypy závislé na vysoké hladině OXPPOS; CSCs – nádorové kmenové buňky, DLBCL – difuzní velkobuněčný B lymfom, ETC – elektron transportní řetězec, HGSOc – karcinom ovarii v pokročilém stádiu; NSCLC – nemalobuněčný karcinom plic, OXPPOS – oxidační fosforylace, SC – nádorové buňky v klidovém (dormantním) stádiu – jsou schopné přežít terapeutické odstraňování nádoru

Právě díky nepostradatelné aktivitě OXPPOS je možné využít proti těmto typům nádorových buněk inhibitory ETC v protinádorové léčbě (tab. 2).

Existuje řada známých inhibitorů ETC včetně přírodních mitochondriálních jedů jako je např. rotenon, ne každý však může být použit jako léčivo. Je samozřejmě důležité, aby inhibitor nebo nějaký produkt jeho metabolismu nevyvolával v pacientech závažné vedlejší účinky, a zároveň je třeba, aby účinkoval v koncentracích, které jsou v nádorech dosažitelné (obr. 10). Seznam zatím nejvýznamnějších inhibitorů ETC, které mají potenciál v protinádorové léčbě, a jejich účinků na nádorové buňky je zaznamenán v tabulce níže (tab. 3).

Výběr klinicky významných inhibitorů ETC			
inhibitor	zasazený komplex ETC	mechanismus	zdroj
metformin	I	inhibice růstu, indukce buněčné smrti	(Wheaton <i>et al.</i> , 2014)
BAY87- 2243	I	inhibice růstu, v kombinaci s DKGM apoptóza	(Sica <i>et al.</i> , 2019)
CAI	I	inhibice růstu	(Ju <i>et al.</i> , 2016)
fenofibrát	I	inhibice růstu, indukce buněčné smrti	(Wilk <i>et al.</i> , 2015)
pyrivinium	I	inhibice růstu nádoru, možné zvyšování ROS, indukce buněčné smrti	(Harada <i>et al.</i> , 2012)
IACS- 010759	I	zastavení buněčného cyklu, apoptóza	(Molina <i>et al.</i> , 2018)

MitoTam	I	zvýšení produkce ROS, apoptóza	(Rohlenova <i>et al.</i> , 2017)
α TOS	II	zvýšení produkce ROS, oxidativní poškození, apoptóza	(Dong <i>et al.</i> , 2009)
lioniidamin	II	zvýšení produkce ROS, oxidativní poškození, apoptóza	(Guo <i>et al.</i> , 2016)
atovaquon	III	zmírnění hypoxie, zvýšení produkce ROS, inhibice proliferace CSCs a růstu nádoru, zvýšení citlivosti k radioterapii	(Ashton <i>et al.</i> , 2016; Fiorillo <i>et al.</i> , 2016)
oxid arsenitý	IV	zvýšená potřeba kyslíku, zvýšení citlivosti k radioterapii	(Diepart <i>et al.</i> , 2012)
fenformin	I; II	inhibice růstu nádoru, možné zvyšování ROS, indukce buněčné smrti, zvýšení citlivosti k chemoterapii	(Appleyard <i>et al.</i> , 2012; Masoud <i>et al.</i> , 2020)
mIBG	I, III	zmírnění hypoxie, zvýšení citlivosti k radioterapii při hyperglykémii	(Burd <i>et al.</i> , 2003)
VLX600	I, II, IV	inhibice růstu, posun k aerobní glykolýze	(Zhang <i>et al.</i> , 2014)
ME344	I, III	zastavení růstu, zvýšená produkce ROS, buněčná smrt	(Lim, Carey and McKenzie, 2015)

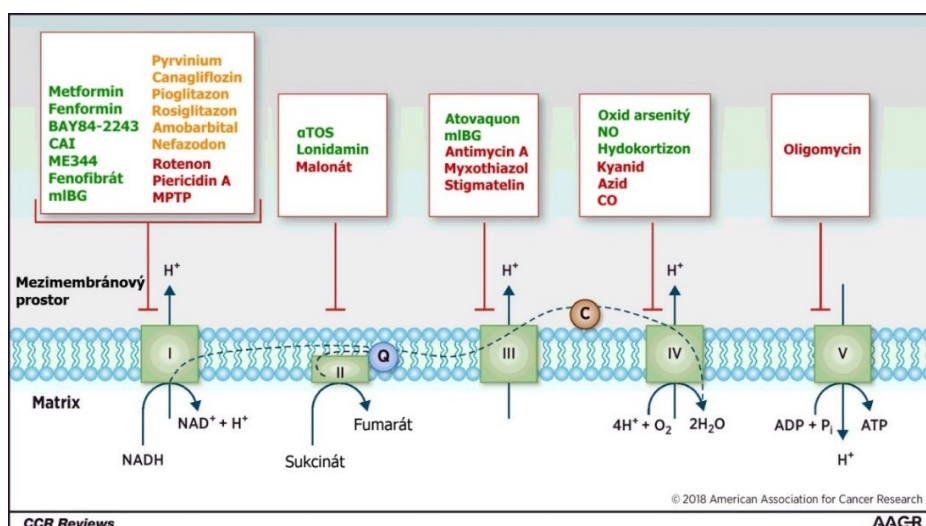
tab. 3 Seznam nejvýznamnějších inhibitorů ETC v souvislosti s léčbou rakoviny; α TOS - α -tokoferyl sukcinát, CAI – karboxyamidotriazol, CSCs – nádorové kmenové buňky, mIBG – meta-jodbenzylguanidin, ROS – reaktivní formy kyslíku

Jedním z důležitých inhibitorů ETC studovaných už *in vivo* je metformin. Jedná se o látku již používanou v klinické praxi především pro léčbu diabetu. Metformin inhibuje komplex I a díky tomu zapříčiňuje řadu metabolických procesů nepříznivých pro nádorové buňky a může být pro nádorové buňky cytotoxický. Nicméně koncentrace metforminu dosažitelná v nádorových buňkách nemusí být vždy k cytotoxickým účinkům dostatečná. V prostředí s dostatečným množstvím glukózy je metformin schopný pouze potlačovat buněčnou proliferaci, buněčnou smrt je pak schopný zapříčinit pouze v prostředí s nízkou dostupností glukózy (Wheaton *et al.*, 2014).

Jako možná účinnější náhražka metforminu je testován i jeho analog tzv. fenformin. U toho je sice zaznamenána větší účinnost, zároveň je ale také spojován s častějším vznikem nežádoucí laktátové acidózy (Appleyard *et al.*, 2012).

Další velmi silné inhibitory ETC jsou přirozeně se vyskytující izoflavinoidy, mezi které patří jeden z nejvíce prozkoumaných specifických inhibitorů komplexu I – rotenon. Rotenon je mitochondriální jed, který inhibicí komplexu I zvyšuje hladinu mROS v buňce, to je pak příčinou buněčné smrti vyvolané rotenonem (Li *et al.*, 2003).

Ke klinickým testům byl synteticky připraven analog isoflavinu ME344, též velmi silný inhibitor komplexu I a III. Díky inhibici za pomoci ME344 dochází k rychlému snížení mitochondriálního dýchání a snížení mitochondriálního membránového potenciálu, což vede k destabilizaci komplexů ETC, a dokonce i k jejich částečné degradaci. Podobně jako i u rotenonu pak dochází k zvýšené tvorbě mROS a k selektivní apoptóze nádorových buněk (Lim, Carey and McKenzie, 2015).



obr. 10 Inhibitory OXPPOS (upraveno podle (Ashton *et al.*, 2018)) – zeleně vyznačené inhibitory – inhibitory s terapeutickým potenciálem studované *in vivo* nebo v klinických studiích; oranžově vyznačené inhibitory – studované *in vitro*; červené – standartní mitochondriální jedy; αTOS - α-tokoferyl sukcinát; CAI – karboxamidotriazol; CO - oxid uhelnatý; mIBG, - meta-jodbenzylguanidin; MPTP - 1-methyl 4-fenyl 1,2,3,6 tetrahydropyridin; NO - oxid dusnatý. Pozn. jedná se pouze o výběr nejznámějších inhibitorů ETC

Nádorové buňky se za určitých podmínek mohou stát k inhibitorům ETC náchylnější, díky takovým podmínkám by pak mělo být možné cílit i nádory, na které by jinak inhibitory ETC neměly vážný účinek. Důležité na tom je, že takové podmínky jsme schopni uměle vytvořit. Například v případě výše zmíněného metforminu, o jehož účinku rozhoduje dostupnost glukózy (Wheaton *et al.*, 2014), lze hladinu glukózy uměle snížit, což donutí nádorové buňky

k metabolickému posunu z aerobní glykolýzy na OXPHOS, a to silně zvýší jejich citlivost k určitým inhibitorům ETC včetně metforminu. Podobný efekt může mít i tzv. forskolin, aktivátor signální dráhy, která stimuluje aktivitu OXPHOS (Seamon, Padgett and Daly, 1981; Palorini *et al.*, 2013), případně jiná protinádorová léčba, jako je například u melanomů léčba za pomoci inhibitorů BRAF, které také zapříčiňují zvýšenou OXPHOS a tím pádem i větší závislost nádorových buněk na této metabolické dráze (Haq *et al.*, 2013; Birsoy *et al.*, 2014).

Zároveň samy inhibitory ETC mohou zapříčiňovat citlivost k jiným druhům protinádorové léčby, a to hlavně k radioterapii. Mezi takové inhibitory patří např. oxid arsenitý nebo atovaquon (Diepart *et al.*, 2012; Ashton *et al.*, 2016).

4.1.1. Cílení invazivity a metastázování

Jelikož jsou nádorové metastázy nejčastější příčinou úmrtí spojeného s nádorovým onemocněním, je v poslední době snaha vyvíjet léčiva, která narušují schopnost nádorových buněk tvořit metastázy. Jak bylo výše ukázáno (tab. 1), invaze a tvorba metastáz u některých typů nádorů je závislá na OXPHOS, tudíž se inhibitory ETC nabízí jako možný prostředník cílené protimetastatické léčby.

U některých typů nádorů byla popsána zvýšená OXPHOS v CSCs, tedy v buňkách, které jsou schopné zakládat metastázy (tab. 2) (Janiszewska *et al.*, 2012; Viale *et al.*, 2014; Kuntz *et al.*, 2017). Inhibitory ETC, které zapříčiní selektivní vymýcení těchto buněk nebo potlačení schopností CSCs, tak mohou metastázování zamezit. Mezi takové inhibitory ETC by mohl patřit například difenyleneiodonium chlorid (DPI) nebo atovaquonon (Fiorillo *et al.*, 2016; Ozsvari *et al.*, 2017).

Dále existují i inhibitory ETC, které zabraňují metastázování díky jejich účinku na buňky primárního nádoru (a nejen na CSCs). Velmi dobrým příkladem je uměle syntetizovaný inhibitor komplexu I MitoTam (mitochondriálně cílený derivát tamoxifenu). Ten by mohl být velmi účinným prostředkem proti invazivitě nádorových buněk karcinomu prsu a zároveň by nemusel způsobovat žádné vedlejší účinky. Za pomoci zvýšené produkce ROS je schopný zabít nádorové buňky a podílet se na omezení invazivity a metastázování (Rohlenova *et al.*, 2017).

Opět také platí, že účinnost jednotlivých inhibitorů lze zvýšit kombinovanou léčbou s jinými látkami, jako je případ kombinované léčby forskolinem (inhibitorem komplexu I a II) a glossypolem (inhibitorem aldehyddehydrogenázy) (Park *et al.*, 2018), nebo metforminem (inhibitorem komplexu I) a 2-deoxyglukózou (2-DG, inhibitorem glykolýzy) (Kim *et al.*, 2016).

Inhibitory ETC zamezující invazivitu a metastázování nádorových buněk			
typ buněk	inhibitor ETC	v kombinované léčbě s:	zdroj
glioblastom	fenformin	glossypol	(Park <i>et al.</i> , 2018)
	metformin	2-DG	(Kim <i>et al.</i> , 2016)
karcinom prsu	MitoTam		(Rohlenova <i>et al.</i> , 2017)
nádorové buňky linií PC-3M and T24	NO		(Wang <i>et al.</i> , 2007)
CSCs	DPI		(Ozsvari <i>et al.</i> , 2017)
CSCs karcinomu slinivky břišní	metformin olygomycin		(Lonardo <i>et al.</i> , 2013)
CSCs karcinomu prsu	atovaquon		(Fiorillo <i>et al.</i> , 2016)

tab. 4 Ihibitory ETC omezující invazivitu a metastázování; 2-DG – 2-deoxyglukóza, CSCs – nádorové kmenové buňky, DPI – difenyleiiodonium chlorid, NO – oxid dusnatý

Jedna z nejnovějších publikací dále ukazuje možnost využití v protinádorové léčbě chelatační činidlo mitoDFO (deferoxamin cílený do mitochondrií). MitoDFO je schopný poškodit železo-sírné (Fe-S) klastry důležité pro výměnu elektronů v jednotlivých komplexech ETC, zapříčiňovat tím inhibici OXPPOS a díky tomu zvyšovat produkci ROS. To pak může vést k celkové disfunkci mitochondrií, zastavení buněčného cyklu, snížení invazivity nebo také k selektivní apoptóze nádorových buněk (Sandoval-Acuña *et al.*, 2021). Cílení železa v mitochondriích by tak mohla být další z možností, jak by se mohla terapeuticky snižovat agresivita nádorových buněk.

4.1.2. Cílení hypoxie

Inhibitory OXPPOS jsou velmi důležité pro potlačování nádorové hypoxie, která bývá spojována s rezistencí hypoxických buněk vůči léčbě, možností vzniku následného relapsu a také se zvýšením metastatického potenciálu nádorových buněk (Jing *et al.*, 2019). Jednou z možností, jak zvýšit dostupnost kyslíku v hypoxických místech, by mohlo být právě snížení aktivity OXPPOS spojené se sníženou spotřebou kyslíku. Pokud je OXPPOS částečně inhibována, zvýší se dostupnost kyslíku v tkáni a ten pak může pronikat i do původně hypoxických oblastí a tím hypoxii potlačovat (Gammon *et al.*, 2019). Mezi inhibitory, které by

se takovýmto způsobem potenciálně mohly podílet na snížení hypoxie, by z výše zmíněných (tab. 3) patřil například atovaquon nebo mIGB (Burd *et al.*, 2003; Ashton *et al.*, 2016).

To by mohla být strategie, která by byla funkční i u typů nádorů, které nejsou tolik závislé na vysoké aktivitě OXPHOS (tab. 2).

4.1.3. Cílení ROS

V nádorových buňkách bývá zvýšená hladina reaktivních forem kyslíku (Aykin-Burns *et al.*, 2009), ty jsou využívány jako důležité signalizační faktory. Bývají spojovány se zvýšenou invazivitou a zároveň jsou jedny z faktorů zodpovědné za rezistenci vůči léčbě (Okon *et al.*, 2015), z toho důvodu se nabízí jako další možný cíl protinádorové terapie.

Existují dva přístupy, kterými je možné s ROS pracovat. První možností je tlumit výskyt mROS v nádorových buňkách antioxidanty, což by mělo redukovat jejich signalizační potenciál, zamezovat oxidativnímu poškození vedoucímu k zhoubné transformaci, zamezovat ROS dependentnímu zvyšování invazivity a potlačovat ROS dependentní rezistenci (Okon *et al.*, 2015).

Druhou možností je naopak hladinu mROS v nádorových buňkách zvýšit, protože, ačkoliv jsou mROS pro nádorové buňky důležité, i u nich může zvýšená hladina ROS vyvolat apoptózu (Park *et al.*, 2011). Navíc tím, že v nádorových buňkách bývá hladina ROS oproti normálu zvýšená (Aykin-Burns *et al.*, 2009), je jednodušší uměle zvýšit koncentraci reaktivních forem kyslíku nad hranici, za kterou už se stávají pro buňky toxické. Takovým způsobem je pak možné v nádorových buňkách indukovat apoptózu.

Velká část inhibitorů ETC v nádorových buňkách narušuje rovnováhu mezi ROS a mechanismy zabraňujícími oxidativnímu poškození. Inhibitory snižují aktivitu komplexů ETC, zapříčiňují tak, že inhibované komplexy se více podílí na tvorbě ROS a ROS pak vedou nádorové buňky k apoptóze. Mezi konkrétní případy takových inhibitorů by patřil například fenformin, pyrivinium, α TOS, lionidamin nebo atovaquon (Dong *et al.*, 2009; Harada *et al.*, 2012; Shackelford *et al.*, 2013; Fiorillo *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2016).

5. Závěr

Zatímco u většiny nádorů je snížená OXPHOS asociována s horší prognózou, podporou invazivity a tvorby metastáz, u určitých nádorových podskupin bylo jasně ukázáno, že i zvýšená OXPHOS se může podílet na vyšší invazivitě a metastázování nádorových buněk (Pelicano *et al.*, 2009; LeBleu *et al.*, 2014). Částečnou roli v tom hraje typ daného nádoru a oblast těla, ve kterém se nádor nachází, dále by se na tom také mohl podílet například individuální vývoj nádoru a jeho genetické pozadí. Přesný důvod, proč by snížená OXPHOS někdy invazivitu podporovala a jindy snižovala, ale dosud není zcela objasněn.

Hlavním mechanismem, který spojuje ETC a invazivitu nádorových buněk, je produkce mROS. Zvýšená tvorba mROS spouští signalizační dráhy, které vedou ke zvýšení invazivity (Pelicano *et al.*, 2009; Hung *et al.*, 2012; He *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2019). Jsou dvě různé možnosti, kterými lze přistupovat k hladině ROS v terapii. Zatímco snížení hladiny ROS antioxidanty by mohlo ohrozit charakteristické nádorové ROS dependentní rysy, mezi které patří i invazivita nádorových buněk, naopak zvýšení ROS v buňce, které by mohlo být vyvoláno inhibitory ETC, indukuje v nádorových buňkách apoptózu.

Již dlouho je známo, že nádorové buňky mohou snižovat svou aktivitu OXPHOS a místo ní syntetizovat ATP pomocí méně účinné, však pro rychlou proliferaci vhodnější, aerobní glykolýzy (Warburg, Wind and Negelein, 1927). Nádorové buňky nicméně mohou aerobní glykolýzu indukovat nejen samy v sobě, ale i v sousedních CAFs, samy pak budou z prostředí odebírat laktát, který bude vznikat v asociovaných fibroblastech jako odpadní produkt, a budou jej používat jako zdroj své OXPHOS (Whitaker-Menezes *et al.*, 2011). Podtypy nádorů, které spoléhají spíše na OXPHOS, se tak stávají náchylnější k inhibitorům ETC a lze tak takové inhibitory využít v cílené protinádorové léčbě (Whitaker-Menezes *et al.*, 2011).

Náchylnost k inhibitorům OXPHOS se vyskytuje u řady podtypů jako je například karcinom prsu nebo Hodkimův lymfom a u některých typů nádorů jsou na OXPHOS závislé hlavně CSCs (LeBleu *et al.*, 2014; Viale *et al.*, 2014; Birkenmeier *et al.*, 2016; Kuntz *et al.*, 2017). Tato náchylnost k inhibitorům ETC bývá v poslední době studovaná jako možný cíl protinádorové léčby. Je testována řada inhibitorů ETC, mezi které patří například metformin, fenformin, α TOS, ME344 a další (tab. 3). Nádorové buňky nicméně vykazují vysokou plasticitu a jsou schopné regulovat svůj metabolismus v závislosti na prostředí. Z toho důvodu často unikají cílené léčbě a tvoří si na ni rezistenci. Je proto dobré léčbu kombinovat i s jinými látkami, které by zamezily metabolický posun nádorových buněk k aerobní glykolýze, čímž by se mohla snížit

závislost na OXPHOS. Mezi takové faktory by patřila například kombinovaná léčba s 2-DG (Kim *et al.*, 2016) nebo s inhibitory BRAF (Haq *et al.*, 2013; Birsoy *et al.*, 2014) apod.

Inhibitory OXPHOS jsou schopny zastavit růst nádoru, jsou schopny za pomoci zvýšené produkce mROS dovést nádorové buňky k apoptóze a zároveň se také podílejí na zvýšení citlivosti buněk k jiné protinádorové léčbě jako je radioterapie (Diepart *et al.*, 2012; Wheaton *et al.*, 2014; Ju *et al.*, 2016). Bylo ale i ukázáno, že u určitých typů nádorů lze inhibitory ETC využít proti invazivitě a metastázování (Kim *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2018). Přesná role OXPHOS a inhibitorů ETC v invazivitě a metastázování však stále není plně objasněna. Tomu, jak daný typ nádoru a jeho prostředí ovlivňuje metabolismus nádorových buněk a tím zapříčiňuje případnou závislost invazivity na OXPHOS, by se měly věnovat i budoucí studie. Zároveň by měly být detailněji zkoumány i jednotlivé inhibitory ETC, které by mohly mít v tomto směru klinické využití. Jedná se totiž o směr, kterým by mohlo být možné omezit množství úmrtí spojených s tvorbou nádorových metastáz.

6. Citovaná literatura

- Almand, B. *et al.* (2001) 'Increased Production of Immature Myeloid Cells in Cancer Patients: A Mechanism of Immunosuppression in Cancer', *The Journal of Immunology*, 166(1), pp. 678–689. doi: 10.4049/jimmunol.166.1.678.
- Appleyard, M. V. C. L. *et al.* (2012) 'Phenformin as prophylaxis and therapy in breast cancer xenografts', *British Journal of Cancer*, 106(6), pp. 1117–1122. doi: 10.1038/bjc.2012.56.
- Ashton, T. M. *et al.* (2016) 'The anti-malarial atovaquone increases radiosensitivity by alleviating tumour hypoxia', *Nature Communications*, 7(1), p. 12308. doi: 10.1038/ncomms12308.
- Ashton, T. M. *et al.* (2018) 'Oxidative Phosphorylation as an Emerging Target in Cancer Therapy', *Clinical Cancer Research*, 24(11), pp. 2482–2490. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3070.
- Aykin-Burns, N. *et al.* (2009) 'Increased levels of superoxide and H₂O₂ mediate the differential susceptibility of cancer cells versus normal cells to glucose deprivation', *Biochemical Journal*, 418(1), pp. 29–37. doi: 10.1042/BJ20081258.
- Bell, E. L. *et al.* (2007) 'Mitochondrial Reactive Oxygen Species Trigger Hypoxia-Inducible Factor-Dependent Extension of the Replicative Life Span during Hypoxia', *Molecular and Cellular Biology*, 27(16), pp. 5737–5745. doi: 10.1128/MCB.02265-06.
- Birkenmeier, K. *et al.* (2016) 'Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin lymphoma are highly dependent on oxidative phosphorylation: Specific bioenergetic adaptation of classical Hodgkin's lymphoma cells', *International Journal of Cancer*, 138(9), pp. 2231–2246. doi: 10.1002/ijc.29934.
- Birsoy, K. *et al.* (2014) 'Metabolic determinants of cancer cell sensitivity to glucose limitation and biguanides', *Nature*, 508(7494), pp. 108–112. doi: 10.1038/nature13110.
- Burd, R. *et al.* (2003) 'Tumor Oxygenation and Acidification are Increased in Melanoma Xenografts after Exposure to Hyperglycemia and meta-Iodo-benzylguanidine', *Radiation Research*, 159(3), p. 9. doi: [http://dx.doi.org/10.1667/0033-7587\(2003\)159\[0328:TOAAAI\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1667/0033-7587(2003)159[0328:TOAAAI]2.0.CO;2).
- Burke, B. *et al.* (2003) 'Hypoxia-Induced Gene Expression in Human Macrophages', *The American Journal of Pathology*, 163(4), pp. 1233–1243. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63483-9.
- Cadenas *et al.* (1997) 'Peroxide by NADH- c Reductase from', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 180(2), p. 10. doi: 10.1016/0003-9861(77)90035-2.
- Calabrese, C. *et al.* (2013) 'Respiratory complex I is essential to induce a Warburg profile in mitochondria-defective tumor cells', *Cancer & Metabolism*, 1(1), p. 11. doi: 10.1186/2049-3002-1-11.
- Caro, P. *et al.* (2012) 'Metabolic Signatures Uncover Distinct Targets in Molecular Subsets of Diffuse Large B-Cell Lymphoma', *Cancer Cell*, 22(4), p. 26. doi: 10.1016/j.ccr.2012.08.014.

- Chambers, A. F., Groom, A. C. and MacDonald, I. C. (2002) 'Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites', *Nature Reviews Cancer*, 2(8), pp. 563–572. doi: 10.1038/nrc865.*
- Chattopadhyay, C. *et al.* (2019) 'Elevated Endogenous SDHA Drives Pathological Metabolism in Highly Metastatic Uveal Melanoma', *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 60(13), p. 4187. doi: 10.1167/iovs.19-28082.
- Chen, J. J. W. *et al.* (2005) 'Tumor-Associated Macrophages: The Double-Edged Sword in Cancer Progression', *Journal of Clinical Oncology*, 23(5), p. 12. doi: 10.1200/JCO.2005.12.172.
- Das, A. *et al.* (2017) 'MMP proteolytic activity regulates cancer invasiveness by modulating integrins', *Scientific Reports*, 7(1), p. 14219. doi: 10.1038/s41598-017-14340-w.
- Diepart, C. *et al.* (2012) 'Arsenic Trioxide Treatment Decreases the Oxygen Consumption Rate of Tumor Cells and Radiosensitizes Solid Tumors', *Cancer Research*, 72(2), pp. 482–490. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1755.
- Dong, L.-F. *et al.* (2009) 'Suppression of Tumor Growth *In vivo* by the Mitocan α -tocopheryl Succinate Requires Respiratory Complex II', *Clinical Cancer Research*, 15(5), pp. 1593–1600. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2439.
- Fiaschi, T. *et al.* (2012) 'Reciprocal Metabolic Reprogramming through Lactate Shuttle Coordinately Influences Tumor-Stroma Interplay', *Cancer Research*, 72(19), pp. 5130–5140. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1949.
- Fiorillo, M. *et al.* (2016) 'Repurposing atovaquone: Targeting mitochondrial complex III and OXPHOS to eradicate cancer stem cells', *Oncotarget*, 7(23), pp. 34084–34099. doi: 10.18632/oncotarget.9122.
- Gammon, S. T. *et al.* (2019) 'Mechanism-Specific Pharmacodynamics of a Novel Complex-I Inhibitor Quantified by Imaging Reversal of Consumptive Hypoxia with [18F]FAZA PET *In Vivo*', *Cells*, 8(12), p. 1487. doi: 10.3390/cells8121487.
- Gaude, E. and Frezza, C. (2016) 'Tissue-specific and convergent metabolic transformation of cancer correlates with metastatic potential and patient survival', *Nature Communications*, 7(1), p. 13041. doi: 10.1038/ncomms13041.
- Gentric, G. *et al.* (2019) 'PML-Regulated Mitochondrial Metabolism Enhances Chemosensitivity in Human Ovarian Cancers', *Cell Metabolism*, 29(1), pp. 156-173.e10. doi: 10.1016/j.cmet.2018.09.002.
- Graham, C. H. *et al.* (1999) 'Hypoxia-mediated stimulation of carcinoma cell invasiveness via upregulation of urokinase receptor expression', *International Journal of Cancer*, 80(4), p. 7. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19990209)80:4<617::aid-ijc22>3.0.co;2-c.
- Grosse-Wilde, A. *et al.* (2015) 'Stemness of the hybrid Epithelial/Mesenchymal State in Breast Cancer and Its Association with Poor Survival', *PLoS ONE*. Edited by E. Ben-Jacob, 10(5), p. e0126522. doi: 10.1371/journal.pone.0126522.

- Guo, L. *et al.* (2016) 'Inhibition of Mitochondrial Complex II by the Anticancer Agent Lonidamine', *Journal of Biological Chemistry*, 291(1), pp. 42–57. doi: 10.1074/jbc.M115.697516.
- Haq, R. *et al.* (2013) 'Oncogenic BRAF Regulates Oxidative Metabolism via PGC1 α and MITF', *Cancer Cell*, 23(3), pp. 302–315. doi: 10.1016/j.ccr.2013.02.003.
- Harada, Y. *et al.* (2012) 'Pyrvinium pamoate inhibits proliferation of myeloma/erythroleukemia cells by suppressing mitochondrial respiratory complex I and STAT3', *Cancer Letters*, 319(1), pp. 83–88. doi: 10.1016/j.canlet.2011.12.034.
- He, K. *et al.* (2016) 'TUFM downregulation induces epithelial–mesenchymal transition and invasion in lung cancer cells via a mechanism involving AMPK-GSK3 β signaling', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(10), pp. 2105–2121. doi: 10.1007/s00018-015-2122-9.
- He, X. *et al.* (2013) 'Suppression of Mitochondrial Complex I Influences Cell Metastatic Properties', *PLoS ONE*. Edited by J. Cao, 8(4), p. e61677. doi: 10.1371/journal.pone.0061677.
- Hegerfeldt, Y. *et al.* (2002) 'Collective Cell Movement in Primary Melanoma Explants', *Cancer Research*, 62(7), p. 16.
- Hung, W.-Y. *et al.* (2012) 'Mitochondrial dysfunction promotes cell migration via reactive oxygen species-enhanced β 5-integrin expression in human gastric cancer SC-M1 cells', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1820(7), pp. 1102–1110. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.04.016.
- Ishikawa *et al.* (2008) 'ROS-Generating Mitochondrial DNA Mutations Can Regulate Tumor Cell Metastasis', *Science*, 320(5876), pp. 661–664. doi: 10.1126/science.1156906.
- Ishikawa, K. *et al.* (2008) 'Enhanced glycolysis induced by mtDNA mutations does not regulate metastasis', *FEBS Letters*, 582(23–24), pp. 3525–3530. doi: 10.1016/j.febslet.2008.09.024.
- Janiszewska, M. *et al.* (2012) 'Imp2 controls oxidative phosphorylation and is crucial for preserving glioblastoma cancer stem cells', *Genes & Development*, 26(17), pp. 1926–1944. doi: 10.1101/gad.188292.112.
- Jeon, J. H. *et al.* (2016) 'Migration and invasion of drug-resistant lung adenocarcinoma cells are dependent on mitochondrial activity', *Experimental & Molecular Medicine*, 48(12), pp. e277–e277. doi: 10.1038/emm.2016.129.
- Jian, S.-L. *et al.* (2017) 'Glycolysis regulates the expansion of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing hosts through prevention of ROS-mediated apoptosis', *Cell Death & Disease*, 8(5), pp. e2779–e2779. doi: 10.1038/cddis.2017.192.
- Jing, X. *et al.* (2019) 'Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment', *Molecular Cancer*, 18(1), p. 157. doi: 10.1186/s12943-019-1089-9.
- Jones, R. A. *et al.* (2016) 'RB1 deficiency in triple-negative breast cancer induces mitochondrial protein translation', *Journal of Clinical Investigation*, 126(10), pp. 3739–3757. doi: 10.1172/JCI81568.

- Ju, R. *et al.* (2016) 'Carboxyamidotriazole inhibits oxidative phosphorylation in cancer cells and exerts synergistic anti-cancer effect with glycolysis inhibition', *Cancer Letters*, 370(2), pp. 232–241. doi: 10.1016/j.canlet.2015.10.025.
- Kim, E. H. *et al.* (2016) 'Inhibition of glioblastoma tumorspheres by combined treatment with 2-deoxyglucose and metformin', *Neuro-Oncology*, p. now174. doi: 10.1093/neuonc/now174.
- Kuntz, E. M. *et al.* (2017) 'Targeting mitochondrial oxidative phosphorylation eradicates therapy-resistant chronic myeloid leukemia stem cells', *Nature Medicine*, 23(10), pp. 1234–1240. doi: 10.1038/nm.4399.
- Lagadinou, E. D. *et al.* (2013) 'BCL-2 Inhibition Targets Oxidative Phosphorylation and Selectively Eradicates Quiescent Human Leukemia Stem Cells', *Cell Stem Cell*, 12(3), pp. 329–341. doi: 10.1016/j.stem.2012.12.013.
- LeBleu, V. S. *et al.* (2014) 'PGC-1 α mediates mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation in cancer cells to promote metastasis', *Nature Cell Biology*, 16(10), pp. 992–1003, 1–15. doi: 10.1038/ncb3039.
- Lee, Y.-K. *et al.* (2017) 'Lactate-mediated mitoribosomal defects impair mitochondrial oxidative phosphorylation and promote hepatoma cell invasiveness', *Journal of Biological Chemistry*, 292(49), pp. 20208–20217. doi: 10.1074/jbc.M117.809012.
- Lev, S. (2018) 'Epithelial mesenchymal transition (EMT)', *Prof. Sima Lev*, 26 November. Available at: <https://www.sima-lev.net/metastasis/epithelial-mesenchymal-transition-emt/> (Accessed: 22 March 2021).
- Li, J. *et al.* (2019) 'SDHC-related deficiency of SDH complex activity promotes growth and metastasis of hepatocellular carcinoma via ROS/NF κ B signaling', *Cancer Letters*, 461, pp. 44–55. doi: 10.1016/j.canlet.2019.07.001.
- Li, L.-D. *et al.* (2015) 'Down-Regulation of NDUFB9 Promotes Breast Cancer Cell Proliferation, Metastasis by Mediating Mitochondrial Metabolism', *PLOS ONE*. Edited by X. Liu, 10(12), p. e0144441. doi: 10.1371/journal.pone.0144441.
- Li, N. *et al.* (2003) 'Mitochondrial Complex I Inhibitor Rotenone Induces Apoptosis through Enhancing Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production', *Journal of Biological Chemistry*, 278(10), pp. 8516–8525. doi: 10.1074/jbc.M210432200.
- Li, W. *et al.* (2018) 'Aerobic Glycolysis Controls Myeloid-Derived Suppressor Cells and Tumor Immunity via a Specific CEBPB Isoform in Triple-Negative Breast Cancer', *Cell Metabolism*, 28(1), pp. 87-103.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2018.04.022.
- Lim, S. C., Carey, K. T. and McKenzie, M. (2015) 'Anti-cancer analogues ME-143 and ME-344 exert toxicity by directly inhibiting mitochondrial NADH: ubiquinone oxidoreductase (Complex I)', *American Journal of Cancer Research*, 5(2), p. 18.
- Lobo-Jarne, T. and Ugalde, C. (2018) 'Respiratory chain supercomplexes: Structures, function and biogenesis', *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 76, pp. 179–190. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.021.*

- Lonardo, E. *et al.* (2013) ‘Metformin Targets the Metabolic Achilles Heel of Human Pancreatic Cancer Stem Cells’, *PLoS ONE*. Edited by A. B. Hjelmeland, 8(10), p. e76518. doi: 10.1371/journal.pone.0076518.
- Mani, S. A. *et al.* (2008) ‘The Epithelial-Mesenchymal Transition Generates Cells with Properties of Stem Cells’, *Cell*, 133(4), pp. 704–715. doi: 10.1016/j.cell.2008.03.027.
- Masoud, R. *et al.* (2020) ‘Targeting Mitochondrial Complex I Overcomes Chemoresistance in High OXPHOS Pancreatic Cancer’, *Cell Reports Medicine*, 1(8), p. 100143. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100143.
- Molina, J. R. *et al.* (2018) ‘An inhibitor of oxidative phosphorylation exploits cancer vulnerability’, *Nature Medicine*, 24(7), pp. 1036–1046. doi: 10.1038/s41591-018-0052-4.
- Morais, R. *et al.* (1994) ‘Tumor-forming Ability in Athymic Nude Mice of Human Cell Lines Devoid of Mitochondrial DNA’, *Cancer Research*, 54(14), p. 3889.
- Nabeshima, K. *et al.* (2000) ‘Front-Cell-specific Expression of Membrane-Type 1 Matrix Metalloproteinase and Gelatinase A during Cohort Migration of Colon Carcinoma Cells Induced by Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor’, *Cancer Research*, 60(13), p. 7.
- Okon, I. S. *et al.* (2015) ‘Gefitinib-mediated Reactive Oxygen Specie (ROS) Instigates Mitochondrial Dysfunction and Drug Resistance in Lung Cancer Cells’, *Journal of Biological Chemistry*, 290(14), pp. 9101–9110. doi: 10.1074/jbc.M114.631580.
- Olaso, E. *et al.* (1997) ‘Tumor-dependent activation of rodent hepatic stellate cells during experimental melanoma metastasis’, *Hepatology*, 26(3), pp. 634–642. doi: 10.1002/hep.510260315.
- Olumi, A. F. *et al.* (1999) ‘Carcinoma-associated Fibroblasts Direct Tumor Progression of Initiated Human Prostatic Epithelium’, *Cancer Research*, 59(19), p. 28. doi: 10.1186/bcr138.
- Ozsvari, B. *et al.* (2017) ‘Targeting flavin-containing enzymes eliminates cancer stem cells (CSCs), by inhibiting mitochondrial respiration: Vitamin B2 (Riboflavin) in cancer therapy’, *Aging*, 9(12), pp. 2610–2628. doi: 10.18632/aging.101351.
- Paget, S. (1889) ‘The distribution of secondary growths in cancer of the breast.’, *The Lancet*, 133(3421), pp. 571–573. doi: 10.1016/S0140-6736(00)49915-0.
- Palmer, M. (2014) ‘The respiratory chain’, *Metabolism lecture notes*. Available at: <http://watcut.uwaterloo.ca/webnotes/Metabolism/RespiratoryChain.html> (Accessed: 22 March 2021).
- Palorini, R. *et al.* (2013) ‘Mitochondrial Complex I Inhibitors and Forced Oxidative Phosphorylation Synergize in Inducing Cancer Cell Death’, *International Journal of Cell Biology*, 2013, pp. 1–14. doi: 10.1155/2013/243876.
- Park, J. *et al.* (2018) ‘Regulation of bioenergetics through dual inhibition of aldehyde dehydrogenase and mitochondrial complex I suppresses glioblastoma tumorspheres’, *Neuro-Oncology*, 20(7), pp. 954–965. doi: 10.1093/neuonc/nox243.

- Park, K.-R. *et al.* (2011) 'β-Caryophyllene oxide inhibits growth and induces apoptosis through the suppression of PI3K/AKT/mTOR/S6K1 pathways and ROS-mediated MAPKs activation', *Cancer Letters*, 312(2), pp. 178–188. doi: 10.1016/j.canlet.2011.08.001.
- Pastushenko, I. *et al.* (2018) 'Identification of the tumour transition states occurring during EMT', *Nature*, 556(7702), pp. 463–468. doi: 10.1038/s41586-018-0040-3.
- Pelicano, H. *et al.* (2009) 'Mitochondrial Dysfunction and Reactive Oxygen Species Imbalance Promote Breast Cancer Cell Motility through a CXCL14-Mediated Mechanism', *Cancer Research*, 69(6), pp. 2375–2383. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3359.
- Porporato, P. E. *et al.* (2014) 'A Mitochondrial Switch Promotes Tumor Metastasis', *Cell Reports*, 8(3), pp. 754–766. doi: 10.1016/j.celrep.2014.06.043.
- Price, T. T. *et al.* (2016) 'Dormant breast cancer micrometastases reside in specific bone marrow niches that regulate their transit to and from bone', *Science Translational Medicine*, 8(340), pp. 340ra73-340ra73. doi: 10.1126/scitranslmed.aad4059.
- Quinlan, C. L. *et al.* (2012) 'Mitochondrial Complex II Can Generate Reactive Oxygen Species at High Rates in Both the Forward and Reverse Reactions', *Journal of Biological Chemistry*, 287(32), pp. 27255–27264. doi: 10.1074/jbc.M112.374629.
- Rohlenova, K. *et al.* (2017) 'Selective Disruption of Respiratory Supercomplexes as a New Strategy to Suppress Her2^{high} Breast Cancer', *Antioxidants & Redox Signaling*, 26(2), pp. 84–103. doi: 10.1089/ars.2016.6677.
- Sahai, E. and Marshall, C. J. (2003) 'Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signalling and extracellular proteolysis', *Nature Cell Biology*, 5(8), pp. 711–719. doi: 10.1038/ncb1019.
- Sandoval-Acuña, C. *et al.* (2021) 'Targeting mitochondrial iron metabolism suppresses tumor growth and metastasis by inducing mitochondrial dysfunction and mitophagy', *Cancer Research*, p. canres.1628.2020. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1628.
- Santi, A., Kugeratski, F. G. and Zanivan, S. (2018) 'Cancer Associated Fibroblasts: The Architects of Stroma Remodeling', *Proteomics*, 18(5–6), p. 1700167. doi: 10.1002/pmic.201700167.*
- Santidrian, A. F. *et al.* (2013) 'Mitochondrial complex I activity and NAD⁺/NADH balance regulate breast cancer progression', *Journal of Clinical Investigation*, 123(3), pp. 1068–1081. doi: 10.1172/JCI64264.
- Sanz-Moreno, V. *et al.* (2008) 'Rac Activation and Inactivation Control Plasticity of Tumor Cell Movement', *Cell*, 135(3), pp. 510–523. doi: 10.1016/j.cell.2008.09.043.
- Saxena, M. and Christofori, G. (2013) 'Rebuilding cancer metastasis in the mouse', *Molecular Oncology*, 7(2), pp. 283–296. doi: 10.1016/j.molonc.2013.02.009.
- Schöckel, L. *et al.* (2015) 'Targeting mitochondrial complex I using BAY 87-2243 reduces melanoma tumor growth', *Cancer & Metabolism*, 3(1), p. 11. doi: 10.1186/s40170-015-0138-0.

Seamon, K. B., Padgett, W. and Daly, J. W. (1981) 'Forskolin: unique diterpene activator of adenylate cyclase in membranes and in intact cells.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(6), pp. 3363–3367. doi: 10.1073/pnas.78.6.3363.

Seo, J. H. *et al.* (2016) 'The Mitochondrial Unfoldase-Peptidase Complex ClpXP Controls Bioenergetics Stress and Metastasis', *PLoS Biology*. Edited by H. Christofk, 14(7), p. e1002507. doi: 10.1371/journal.pbio.1002507.

Seyfried, T. N. and Huysentruyt, L. C. (2013) 'On the Origin of Cancer Metastasis', *Critical ReviewsTM in Oncogenesis*, 18(1–2), p. 43. doi: 10.1615/critrevoncog.v18.i1-2.40.*

Shackelford, D. B. *et al.* (2013) 'LKB1 Inactivation Dictates Therapeutic Response of Non-Small Cell Lung Cancer to the Metabolism Drug Phenformin', *Cancer Cell*, 23(2), pp. 143–158. doi: 10.1016/j.ccr.2012.12.008.

Sica, V. *et al.* (2019) 'Lethal Poisoning of Cancer Cells by Respiratory Chain Inhibition plus Dimethyl α -Ketoglutarate', *Cell Reports*, 27(3), pp. 820–834.e9. doi: 10.1016/j.celrep.2019.03.058.

Simonnet, H. (2002) 'Low mitochondrial respiratory chain content correlates with tumor aggressiveness in renal cell carcinoma', *Carcinogenesis*, 23(5), pp. 759–768. doi: 10.1093/carcin/23.5.759.

Sonveaux, P. *et al.* (2008) 'Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice', *Journal of Clinical Investigation*, p. JCI36843. doi: 10.1172/JCI36843.

Sullivan, L. B. *et al.* (2015) 'Supporting aspartate biosynthesis is an essential function of respiration in proliferating cells', *Cell*, 162(3), p. 18. doi: 10.1016/j.cell.2015.07.017.

Taddei, M. *et al.* (2014) 'Mesenchymal to amoeboid transition is associated with stem-like features of melanoma cells', *Cell Communication and Signaling*, 12(1), p. 24. doi: 10.1186/1478-811X-12-24.

Tan, A. S. *et al.* (2015) 'Mitochondrial Genome Acquisition Restores Respiratory Function and Tumorigenic Potential of Cancer Cells without Mitochondrial DNA', *Cell Metabolism*, 21(1), pp. 81–94. doi: 10.1016/j.cmet.2014.12.003.

Thiery, J. P. (2003) 'Epithelial–mesenchymal transitions in development and pathologies', *Current Opinion in Cell Biology*, 15(6), pp. 740–746. doi: 10.1016/j.ceb.2003.10.006.

Thomlinson, R. H. and Gray, L. H. (1955) 'The Histological Structure of Some Human Lung Cancers and the Possible Implications for Radiotherapy', *British Journal of Cancer*, 9(4), pp. 539–549. doi: 10.1038/bjc.1955.55.

Unterleuthner, D. *et al.* (2020) 'Cancer-associated fibroblast-derived WNT2 increases tumor angiogenesis in colon cancer', *Angiogenesis*, 23(2), pp. 159–177. doi: 10.1007/s10456-019-09688-8.

Vander Heiden, M. G., Cantley, L. C. and Thompson, C. B. (2009) 'Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation', *Science*, 324(5930), pp. 1029–1033. doi: 10.1126/science.1160809.*

- Vazquez, F. *et al.* (2013) 'PGC1 α Expression Defines a Subset of Human Melanoma Tumors with Increased Mitochondrial Capacity and Resistance to Oxidative Stress', *Cancer Cell*, 23(3), pp. 287–301. doi: 10.1016/j.ccr.2012.11.020.
- Viale, A. *et al.* (2014) 'Oncogene ablation-resistant pancreatic cancer cells depend on mitochondrial function', *Nature*, 514(7524), pp. 628–632. doi: 10.1038/nature13611.
- Wanandi, S. I. *et al.* (2018) 'Metabolic Interplay between Tumour Cells and Cancer-Associated Fibroblasts (CAFs) under Hypoxia versus Normoxia', *Malaysian Journal of Medical Sciences*. Edited by Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta 10430, Indonesia, 25(3), pp. 7–16. doi: 10.21315/mjms2018.25.3.2.
- Wang, D., Malo, D. and Hekimi, S. (2010) 'Elevated Mitochondrial Reactive Oxygen Species Generation Affects the Immune Response via Hypoxia-Inducible Factor-1 α in Long-Lived *Mcl1*^{+/-} Mouse Mutants', *The Journal of Immunology*, 184(2), pp. 582–590. doi: 10.4049/jimmunol.0902352.
- Wang, F. *et al.* (2007) 'Inhibitory effects of nitric oxide on invasion of human cancer cells', *Cancer Letters*, 257(2), pp. 274–282. doi: 10.1016/j.canlet.2007.08.001.
- Warburg, O., Wind, F. and Negelein, E. (1927) 'The Metabolism of tumors in the body', *Journal of General Physiology*, 8(6), pp. 519–530. doi: 10.1085/jgp.8.6.519.
- Weinberg, F. *et al.* (2010) 'Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(19), pp. 8788–8793. doi: 10.1073/pnas.1003428107.
- Wheaton, W. W. *et al.* (2014) 'Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis', *eLife*, 3, p. e02242. doi: 10.7554/eLife.02242.
- Whitaker-Menezes, D. *et al.* (2011) 'Hyperactivation of oxidative mitochondrial metabolism in epithelial cancer cells in situ: Visualizing the therapeutic effects of metformin in tumor tissue', *Cell Cycle*, 10(23), pp. 4047–4064. doi: 10.4161/cc.10.23.18151.
- Wilk, A. *et al.* (2015) 'Molecular Mechanisms of Fenofibrate-Induced Metabolic Catastrophe and Glioblastoma Cell Death', *Molecular and Cellular Biology*, 35(1), pp. 182–198. doi: 10.1128/MCB.00562-14.
- Wolf, K. *et al.* (2003) 'Compensation mechanism in tumor cell migration', *Journal of Cell Biology*, 160(2), p. 24. doi: 10.1083/jcb.200209006.
- Xia, C. *et al.* (2007) 'Reactive Oxygen Species Regulate Angiogenesis and Tumor Growth through Vascular Endothelial Growth Factor', *Cancer Research*, 67(22), pp. 10823–10830. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0783.
- Yu, M. *et al.* (2013) 'Circulating Breast Tumor Cells Exhibit Dynamic Changes in Epithelial and Mesenchymal Composition', *Science*, 339(6119), pp. 580–584. doi: 10.1126/science.1228522.

Yu, Q. and Heikal, A. A. (2009) 'Two-photon autofluorescence dynamics imaging reveals sensitivity of intracellular NADH concentration and conformation to cell physiology at the single-cell level', *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 95(1), pp. 46–57. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2008.12.010.

Yuan, Y. *et al.* (2015) 'Nonsense and missense mutation of mitochondrial ND6 gene promotes cell migration and invasion in human lung adenocarcinoma', *BMC Cancer*, 15(1), p. 346. doi: 10.1186/s12885-015-1349-z.

Zhang, K. *et al.* (2016) 'COX7AR is a Stress-inducible Mitochondrial COX Subunit that Promotes Breast Cancer Malignancy', *Scientific Reports*, 6(1), p. 31742. doi: 10.1038/srep31742.

Zhang, X. *et al.* (2014) 'Induction of mitochondrial dysfunction as a strategy for targeting tumour cells in metabolically compromised microenvironments', *Nature Communications*, 5(1), p. 3295. doi: 10.1038/ncomms4295.

van Zijl, F., Krupitza, G. and Mikulits, W. (2011) 'Initial steps of metastasis: Cell invasion and endothelial transmigration', *Mutation Research*, 728(1–2), p. 29. doi: 10.1016/j.mrrev.2011.05.002.