

STRATEGIE ODŻYWCZE KOMÓREK NOWOTWOROWYCH – PRZEGLĄD WYBRANYCH TYPÓW NOWOTWORÓW Z UWZGLĘDNIENIEM ZMIAN W POZIOMIE I WZORZE EKSPRESJI TRANSPORTERÓW GLUKOZY

NUTRITIONAL STRATEGIES OF TUMOR CELLS – REVIEW OF SELECTED CANCER TYPES INVOLVING CHANGES OF EXPRESSION LEVEL AND PATTERN OF GLUCOSE TRANSPORTERS

Kornelia Gajek^{1*}, Benita Wiatrak², Aleksandra Ślęzak², Marek Ussowicz¹

¹ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,
Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej,
50-556 Wrocław, ul. Borowska 213

² Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Katedra i Zakład Podstaw
Nauk Medycznych, 50-556 Wrocław, ul. Borowska 211

*e-mail: kornelia_gajek@hotmail.com

STRESZCZENIE

Zaburzona równowaga pomiędzy proliferacją a dojrzewaniem i różnicowaniem komórek nowotworowych powoduje szybki wzrost guza, prowadząc do zwiększenia zapotrzebowania na składniki odżywcze, m.in. glukozę i tlen. Pierwszą odpowiedzią komórek nowotworowych na niewystarczającą ilość składników odżywczych jest zmiana metabolizmu na beztlenowy (efekt Warburga). Glukoza niezbędna do przeprowadzenia tego procesu dostarczana jest za pomocą transporterów – najczęściej białek GLUT1 i SGLT1. Zmiana poziomu i wzoru ekspresji transporterów glukozy w komórkach nowotworowych w porównaniu z komórkami odpowiednich tkanek prawidłowych świadczy o adaptacji, do której doszło w obrębie guza. Dotychczasowe badania pozwoliły ustalić, w których rodzajach nowotworów dochodzi do zmian w ekspresji białek GLUT1 i SGLT1 oraz pokazały, że zmiany te mogą mieć bezpośredni związek z zaawansowaniem choroby i rokowaniem dla pacjentów. Niniejsza praca ma charakter przeglądowy i stanowi zestawienie zmian w poziomie ekspresji transporterów glukozy w niektórych typach nowotworów. Określenie poziomu ekspresji tych białek w komórkach nowotworowych może mieć kluczowe znaczenie dla spersonalizowanej terapii przeciwnowotworowej.

Słowa kluczowe: GLUT1, SGLT1, hipoksja, komórki nowotworowe, transport glukozy

ABSTRACT

Due to imbalance between proliferation, differentiation and maturation, cancer cells grow rapidly and require elevated levels of oxygen and glucose. The main strategy of cancer cells is to prevent starvation is the anaerobic adaptation of cellular metabolism known as the Warburg's effect. Increased glucose uptake is maintained by

alterating the level and the pattern of glucose transporters expression, mainly GLUT1 and SGLT1. In many cancer types, these proteins are present despite their absence in healthy tissue. Previous researches revealed cancer types in which GLUT1 and SGLT1 expression are altered. There is a strong direct correlation between their expression pattern, cancer stage and prognosis for the patient. This review provides an overview of changes in the level of glucose transporters expression in some cancer types. Determination of glucose transporters expression levels in cancer cells could be crucial for personalized cancer treatment.

Keywords: GLUT1, SGLT1, hypoxia, cancer cells, glucose transport

1. Wstęp

Komórki nowotworowe charakteryzują się wysokim stopniem proliferacji, zaburzeniami procesów różnicowania i dojrzewania wskutek zmian regulacji zarówno na poziomie komórkowym, jak i tkanekowym w obrębie nowotworu. Następstwem wysokiego tempa proliferacji jest upośledzenie dostępu komórek nowotworowych do substancji odżywczych, w tym glukozy oraz tlenu, co skutkuje przestawieniem metabolizmu komórkowego na beztlenowy. Głównym procesem prowadzącym do wytworzenia ATP jest wtedy glikoliza, a pirogronian powstały z tego procesu przekształcany jest po części w kwas mlekowy na drodze fermentacji mleczanowej i wydalany poza komórkę. Zjawisko to jest znane jako efekt Warburga i zostało opisane w 1956 roku przez niemieckiego biochemika Otto Warburga. Efekt ten jest powszechny w komórkach proliferujących, w tym nowotworowych, i występuje w nich nawet w przypadku prawidłowego natlenowania tkanki, zarówno prawidłowej, jak i nowotworowej [1]. Dzieje się tak, ponieważ dla tkanek charakteryzujących się szybkim tempem proliferacji, priorytetem jest nie uzyskanie dużej ilości ATP, a wytworzenie substancji budulcowych (nukleotydów, aminokwasów i lipidów) do produkcji komórek potomnych. Głównym substratem do produkcji biomasy jest właśnie pochodzący z glikolizy pirogronian przekształcany dalej w acetylo-koenzym A [2].

Odpowiedzią tkankową nowotworu na zwiększone zapotrzebowanie składników odżywczych jest również proces angiogenezy, czyli tworzenia nowych naczyń krwionośnych, z już istniejących (w odróżnieniu od waskulogenezy). Wykształcenie nowych naczyń w obrębie nowotworu umożliwia lepsze utlenowanie i odżywienie komórek oraz sprzyja powstawaniu przerzutów. Angiogeneza może być stymulowana przez wiele różnych czynników (dotychczas zidentyfikowano ok. 30), m.in. czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) i czynnik wzrostu fibroblastów FGF (ang. *fibroblast growth factor*) [3].

Niniejsze opracowanie ma na celu omówienie podstawowych strategii dostarczania komórkom nowotworowym składników odżywczych (glukozy) na drodze transportu przez błonowego i angiogenezy w różnych typach nowotworów litych oraz przegląd wybranych typów nowotworów pod względem zmian w poziomie i wzorze ekspresji białek transportujących glukozę. Przeprowadzone do tej pory liczne badania wskazują, że w przyszłości określenie tych zmian względem odpowiadających nowotworowi komórek tkanki prawidłowej może ułatwić dobór zindywidualizowanej, skutecznej terapii przeciwnowotworowej, wspierając tym samym rozwój nowoczesnej medycyny spersonalizowanej.

2. Angiogeneza

Powstawanie naczyń krwionośnych jest jednym z wielu fizjologicznych procesów, wpływających na homeostazę organizmu. Jednocześnie jest ono zjawiskiem towarzyszącym przebiegom licznych schorzeń. Proces ten jest regulowany przez układ czynników stymulujących lub hamujących – anty-angiogennych (antyangiostatyna, endostatyna) [4]. Kluczowa jest równowaga obu czynników, ponieważ nadmierna inhibicja może prowadzić do zakrzepic, wylewów czy trudnego gojenia się ran. Nieprawidłowe pobudzenie zaś pojawia się w otyłości, ślepcie, uogólnionych zapaleniach czy chorobach naczyń. Fizjologicznie w neowaskulogenezie, czyli w tworzeniu nowych naczyń krwionośnych, uczestniczą nabłonkowe komórki progenitorowe, a przebiega ona np. w miesięcznym cyklu reprodukcyjnym kobiety bądź po urazach i jest procesem wysoce zorganizowanym. Patologiczna neowaskularyzacja opiera się na wykorzystaniu naczyń już istniejących i czynników je modulujących,

bywa zmienna i nieregularna [4, 5, 6]. Rozpoczyna się po uszkodzeniu ściany naczynia, wymaga aktywacji, proliferacji i migracji komórek endotelialnych. Następnie komórki gromadzą się w tubularne struktury, na których powstaną naczynia. Dojrzewające kapilary tworzą rozbudowaną sieć, w przyszłości łączącą się z żyłami czy tętnicami [7, 8]. Naukowców jednak obecnie najbardziej interesuje pojawienie się angiogenezy w przebiegu choroby nowotworowej. Rozwijający się guz, zwiększa swoje zapotrzebowanie na tlen i składniki odżywcze. Komórki nabierają fenotypu angiogenego, czyli uzyskują zdolność do produkcji czynników proangiogenych [4, 6]. Do takich czynników należy VEGF, naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu. Stymuluje on podziały komórkowe, proliferację i migrację komórek śródbłonka. Obniżenie poziomu tlenu aktywuje HIF – czynnik indukowany hipoksją (ang. *hypoxia-inducible factor*), który wzmacnia ekspresję VEGF [6, 9]. Kolejnym stymulatorem są bFGF – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (modulator przemian naczyniowych) oraz angiopoetyna (wpływa na adhezję i przeżycie komórek śródbłonka) [5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13]. TGF- β (transformujący czynnik wzrostu beta, ang. *transforming growth factor β*) uważany jest za istotny czynnik angiogenezy (szczególnie jej końcowych etapów) lub inhibitora inicjacji całego procesu, a także śródbłonkowej migracji i proliferacji [8, 9, 13]. Nowopowstałe naczynia w obrębie nowotworu mają obniżoną funkcjonalność i wykazują wiele defektów morfologicznych (kształt, rozmiar – bywają kręte, rozdęte i niedojrzałe). Przepływ krwi przez nie jest wolniejszy, dodatkowo posiadają liczne pory, co ułatwia przepuszczalność i wpływa na wzrost ciśnienia wewnątrz guzów. W ten sposób guz zapewnia sobie dostęp do tlenu, glukozy, przepływu metabolitów, ale także powiększa swoją objętość.

Prawdziwym zagrożeniem jest postępujące wraz ze wzrostem ilości naczyń i nasilenia procesu angiogenezy, prawdopodobieństwo pojawienia się przerzutów [7, 10]. Ocenę nasilenia procesu neoangiogenezy można dokonać bezpośrednio lub pośrednio. Do metod bezpośrednich zaliczamy ocenę histopatologiczną z immunohistochemiczną detekcją antygenów specyficznych dla śródbłonka naczyń (CD34, CD31, czynnik von Willebranda, sialomucyna). Wskaźnikiem angiogenezy jest mikrounaczynienie MVD (ang. *microvessel density*), które mierzone jest z wykorzystaniem tomografii komputerowej lub rezonansu magnetycznego z zastosowaniem środków kontrastowych [4, 10, 12]. Do określania stopnia angiogenezy można wykorzystać także przeciwciała specyficznie wiążące cząsteczki powierzchniowe CD. Najnowsze badania sugerują dużą rolę CD105-endogliny, której nadprodukcja odbywa się w naczyniach objętych waskularyzacją [10]. Do metod pośrednich należy zbadanie poziomu cytokin (VEGF, bFGF) oraz identyfikacja ich receptorów (VEGFR-1/FLT-1, VEGFR-2/FLK-1) [10].

3. Transport glukozy przez błonę komórkową

Glukoza jest najbardziej powszechnym źródłem energii dla komórek, a także substratem dla wielu procesów biochemicznych. Może być wytwarzana w procesie glukoneogenezy, zachodzącym głównie w komórkach wątroby lub pobierana z otoczenia przez większość typów komórek organizmu. Błona lipidowa otaczająca komórki jest zupełnie nieprzepuszczalna dla hydrofilowych cząsteczek glukozy i niezbędna jest obecność transbłonowych białek transportowych. Białka transportowe odpowiadające za przemieszczanie się glukozy w poprzek błony komórkowej dzielą się, w zależności od mechanizmu transportu, na białka nośnikowe i przenośniki drugiego rzędu. Białka nośnikowe odpowiadają za transport ułatwiony zgodnie z gradientem stężeń, łącząc się z wybraną cząsteczką po jednej stronie błony i uwalniając ją po drugiej stronie. Transport taki nie wymaga żadnego nakładu energii i jest możliwy tylko dzięki zmianie konformacji białka nośnikowego. Białka przenośnikowe drugiego rzędu przenoszą wybrane cząsteczki wbrew gradientowi stężeń, wykorzystując zjawisko kotransportu – energię do tego procesu czerpią transportując równoległe inną cząsteczkę, zgodnie z jej gradientem stężeń. W zależności od kierunku transportowanych cząsteczek, można wyróżnić symport (obydwie cząsteczki są przenoszone w tę samą stronę) i antyport (cząsteczki są przenoszone w kierunkach przeciwnych).

Białka transportujące glukozę należą do nadrodziny nośników substancji rozpuszczalnych SLCs (ang. *solute carriers*), wśród których można wyodrębnić 52 rodziny białek regulujących transport przezbłonowy m.in. jonów nieorganicznych, nukleotydów, aminokwasów, neuroprzekazników, cukrów, zasad purynowych i cząsteczek leków [14]. Za transport glukozy odpowiadają białka należące do dwóch rodzin nośników – SLC2A i SLC5A. SLC2A to rodzina 14 zidentyfikowanych do tej pory białek nośnikowych odpowiedzialnych za transport ułatwiony takich substancji, jak glukoza (GLUT1-6,

GLUT8, GLUT10-11, ang. *glucose transporter*), fruktoza (GLUT2, GLUT5, GLUT11), czy inozytol (HMIT, ang. *H⁺/myoinositol transporter*) [15, 16, 17]. SLC5A to rodzina 12 białek błonowych (SLC5A1–SCL5A12), wśród których są kotransportery sodowe odpowiedzialne za transport glukozy (SGLT1 i SGLT2, ang. *sodium-glucose linked transporter*), mio-inozytolu (SMIT, ang. *Sodium/myo-inositol cotransporter*) i anionów (NIS, ang. *sodium/iodide symporter*) w poprzek błony, kanał sodowy aktywowany glukożą (SGLT3), czy Na⁺/Cl⁻ – kotransporter choliny (CHT, ang. *choline transporter*) [17, 18].

4. Podstawy molekularne białek GLUT1 i SGLT1

U ludzi sekwencja genu SLC2A1 odpowiedzialna za kodowanie białka GLUT1 położona jest na krótkim ramieniu chromosomu 1, w *locus* 1p35-31.3. Jest to pojedynczy gen długości 33kb, zawierający 10 egzonów. Sekwencja genu SLC5A1 kodująca białko SGLT1 w genomie ludzkim znajduje się na długim ramieniu chromosomu 22, w *locus* 22q12.3. Również jest to pojedynczy gen o długości 67kb, złożony z 15 egzonów. Ekspresja genów kodujących GLUT1 i SGLT1 jest tkankowo specyficzna i dodatkowo podlega regulacji w odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiska komórek. Na podstawie badań u myszy i szczurów uznaje się, że białko GLUT1 jest najpowszechniejszym transporterem glukozy, występującym w większości tkanek [19], jednakże jego występowanie w prawidłowych tkankach ogranicza się jedynie do błony erytrocytów, gdzie stanowi 3–5% wszystkich białek błonowych oraz nabłonka endotelialnego i epitelialnego bariery krew-mózg [20, 21]. Białko SGLT1 występuje w największych ilościach w enterocytach jelita cienkiego i w komórkach S3 kanalików bliższych w nerkach [16]. Bardziej czułe metody, takie jak PCR i hybrydyzacja umożliwiające identyfikację miejsca startu transkrypcji (ang. *RNase protection assay*), wykazały obecność SGLT1 również w tchawicy, sercu, jelicie grubym i jądrach [17, 22].

5. Struktura cząsteczek transporterów glukozy

Ze względu na to, iż transportery glukozy są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania wszystkich komórek żywych, sekwencje aminokwasowe tych białek wykazują wysoki stopień konserwacji międzygatunkowej. Jednocześnie, w obrębie każdego gatunku zauważa się wysoki procent podobieństwa sekwencji pomiędzy poszczególnymi grupami transporterów. U ludzi, w przypadku białek z rodziny SGLT homologia sekwencji sięga 57–71%, a w białkach GLUT – 14–63% [16, 20].

5.1. Transporter GLUT1

Ze względu na podobieństwo sekwencji aminokwasowej i elementy charakterystyczne, białka z rodziny GLUT podzielono na 3 klasy. GLUT1 należy do klasy I, w obrębie której homologia sekwencji sięga 48–63% [20]. Produkt ludzkiego genu SLC2A1, czyli transporter GLUT1 to białko długości 492 aminokwasów, o masie cząsteczkowej ~54kDa. Zbudowane jest z 12 transmembranowych α -helis, połączonych ze sobą krótkimi odcinkami wystającymi ponad błonę komórkową i tworzących kanał w poprzek niej. Odcinki N- i C-końcowe skierowane są do wnętrza komórki. Charakterystyczna jest obecność dwóch dużych pętli pomiędzy I i II, a także VI i VII odcinkiem transbłonowym. W pętli pierwszej, skierowanej na zewnątrz komórki, w pozycji 45 znajduje się asparagina, która ulega N-glikozylacji. Modyfikacja ta wpływa na stabilizację białka i w połączeniu z O-glikozylacją, której również podlega GLUT1, umożliwia osiągnięcie pełnej aktywności transportowej [15, 23]. Inne charakterystyczne motywy sekwencji, występujące w białku GLUT1 i determinujące jego funkcjonalność, to sekwencje RXGRR o dodatnim ładunku, położone w obrębie 2 i 8 pętli, które umożliwiają prawidłowe wbudowanie białka w błonę komórkową [21, 24]. W regionie C-końcowym znajduje się motyw DSQV rozpoznawany przez domenę PDZ białka GIPC (ang. *Ga interacting protein*, C-terminus), które po związaniu do GLUT1 kieruje transporter do błony komórkowej i chroni go przed degradacją w lizosomach [25]. Położona w pętli 7 sekwencja QLS odpowiada z kolei za specyficzność substratową białka GLUT1, zwiększając jego powinowactwo do glukozy i ograniczając praktycznie całkowicie zdolność do transportowania fruktozy [26].

5.2. Transporter SGLT1

Kotransporter SGLT1 jest produktem genu SLC5A1. U ludzi jest to monomeryczne białko długości 664 aminokwasów i masie molowej 73kDa. W strukturze drugorzędowej wyróżnia się 14 α -helis transbłonowych, tak jak w przypadku GLUT1, połączonych pętlami wystającymi ponad błonę komórkową zarówno do wnętrza komórki jak i do przestrzeni międzykomórkowej. N-koniec białka SGLT1 wystaje poza komórkę, a C-koniec jest zakotwiczony w błonie, tworząc ostatnią, 14-stą helisę. W pętli łączącej helisy VI i VII znajduje się miejsce N-glikozytacji, jednakże sama modyfikacja nie jest niezbędna do uzyskania przez białko SGLT1 aktywności. W domenie C-końcowej znajdują się dwa miejsca wiązania cukrów - po jednym na zewnętrznej i wewnętrznej stronie komórki. Domena C-końcowa, obejmująca 5 ostatnich helis transbłonowych, zaangażowana jest również bezpośrednio w proces przenoszenia cukrów w poprzek błony komórkowej [18, 27]. Sekwencja aminokwasowa białka SGLT1 zawiera także miejsca fosforylacji dla kinaz proteinowych: 5 miejsc dla kinazy C i jedno dla kinazy A, które pełnią istotną rolę w regulacji mechanizmu transportu [28].

6. Funkcje białek GLUT1 i SGLT1

Białka GLUT1 i SGLT1 uczestniczą w różnych mechanizmach transportu glukozy w celu utrzymania homeostazy glukozowej w organizmie. Białko GLUT1 odpowiada za podstawowe zaopatrzenie komórek w glukozę na drodze transportu ułatwionego, wykorzystującego gradient stężeń transportowanej substancji. Stała powinowactwa dla glukozy wynosi $\sim 3\text{mM}$, a sam transport może być blokowany floretyną i cytochalazyną-B. Przenoszenie glukozy w poprzek błony komórkowej odbywa się poprzez związanie jej do miejsca wiązania w białku GLUT1, następnie dochodzi do zmian konformacyjnych tego białka, przemieszczenia glukozy wewnątrz kanału białkowego i uwolnienia cząsteczki glukozy po drugiej stronie błony. Pozostałymi substratami dla GLUT1 są galaktoza, mannoza i glukozamina, ale ich transport zachodzi z mniejszą wydajnością niż w przypadku glukozy [29]. Brak funkcjonalnego transportera GLUT1 skutkuje powstaniem zespołu niedoboru białka GLUT1 (GLUT1-DS) i wywołuje m.in. lekooporne napady padaczkowe, opóźnienie rozwoju psychoruchowego, małogłowie, ataksję i objawy spastyczne.

Kotransporter glukozowo-sodowy SGLT1, występujący w błonie komórkowej nabłonka jelita cienkiego i kanalików nerkowych, kontaktuje się bezpośrednio ze światłem tych przewodów. Odpowiada za absorpcję glukozy z jelita cienkiego i reabsorpcję z kanalików nerkowych, transportując jednocześnie dwie cząsteczki jonów sodowych i jedną cząsteczkę glukozy na każdy cykl. Charakteryzuje się wysokim powinowactwem do substratu i niską wydajnością transportu. Glukoza jest transportowana do komórki wbrew gradientowi jej stężenia, a energia do tego procesu pochodzi od energetycznie korzystnego napływu jonów Na^+ do komórki zgodnie z gradientem stężeń i potencjałem błonowym. Kotransport ten jest całkowicie odwracalny, a jego kierunek zależy jedynie od gradientu stężeń sodu i glukozy [18]. Jony sodowe napływające do komórki są następnie wypompowywane do przestrzeni międzykomórkowej za pomocą pompy $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATP}$ -azowej występującej w błonie podstawno-bocznej komórek nabłonkowych, tworząc tym samym gradient w poprzek błony komórkowej i potencjał błonowy. W błonie podstawno-bocznej występują również przenośniki glukozy z rodziny GLUT, które zgodnie z gradientem stężenia, transportują nagromadzoną w komórkach nabłonkowych glukozę do przestrzeni międzykomórkowej i dalej w głąb śródbłonka. Razem z cukrem, do komórki przenoszona zostaje również woda (260 cząsteczek wody na każdy cykl transportu), przez co białko SGLT1 ma duże znaczenie w procesie absorpcji wody z jelita, natomiast w kanalikach nerkowych udział transportera SGLT1 w reabsorpcji wody z moczu pierwotnego jest minimalny [18]. Poza glukozą, białko SGLT1 wykazuje również wysokie powinowactwo do galaktozy, przez co odgrywa ważną rolę w jej absorpcji z jelita cienkiego [20]. Transport glukozy przez SGLT1 może być hamowany floryzyną. Niedobór białka SGLT1 skutkuje rozwinięciem zespołu złego wchłaniania glukozy i galaktozy, w wyniku którego u noworodków dochodzi do ciężkich biegunek. Bez odpowiedniego postępowania choroba jest śmiertelna, a leczenie polega na eliminacji z diety produktów zawierających glukozę i galaktozę.

7. Metabolizm glukozy w komórkach nowotworowych

Glukoza, po wejściu do komórki, wchodzi w cykl przemian mających na celu uwolnienie energii w postaci ATP. Pierwszym etapem jest proces glikolizy, prowadzący do rozłożenia glukozy do dwóch cząsteczek pirogronianu z jednoczesnym wytworzeniem dwóch cząsteczek ATP. Etap ten zachodzi beztlenowo. W komórkach normalnych, w warunkach prawidłowego wysycenia tlenem (normoksji) komórka kieruje pirogronian do dalszych przemian. W mitochondriach zachodzi proces przekształcania pirogronianu do acetylo-CoA, który wchodzi następnie w reakcje cyklu kwasu cytrynowego i fosforylacji oksydacyjnej. Łącznie, w procesie całkowitego utleniania glukozy, powstają 32 cząsteczki ATP [30]. W przypadku komórek nowotworowych, ich zwiększone tempo wzrostu sprawia, że w obrębie nowotworu, części z nich zaczyna brakować podstawowych substancji życiowych, m.in. tlenu (hipoksja) i glukozy. Odpowiedzią na zwiększone zapotrzebowanie tych składników jest angiogeneza, jednakże tempo tego procesu jest niewystarczające do zaspokojenia potrzeb energetycznych szybko rosnącego guza. Aby komórki nowotworowe mogły dalej rosnąć i proliferować, przekształcają swój metabolizm z tlenowego na beztlenowy. Jako główne źródło ATP wykorzystywana jest wtedy glikoliza, a pirogronian powstały z tego procesu przekształcany jest po części w kwas mlekowy na drodze fermentacji mleczanowej i wydalany poza komórkę.

Odpowiedzią komórek nowotworowych na zwiększone zapotrzebowanie glukozy jest m.in. zwiększona ekspresja błonowych transporterów glukozy. Ekspresja białek z rodziny SGLT i GLUT w komórkach prawidłowych charakteryzuje się silną specyficznością tkankową. Dotyczy to zarówno rodzaju danego transportera w określonej tkance, jak i jego ilości. W tkankach nowotworowych dochodzi nie tylko do nadekspresji tych transporterów, które naturalnie występują w tkance, z której dany nowotwór się wywodzi, ale również stwierdza się obecność białek transportowych, które nie występują w ogóle w prawidłowych tkankach. Nadekspresję białka GLUT1 zaobserwowano w przypadku nowotworów wątroby, trzustki, piersi, przelyku, mózgu, nerek, płuc, jelita grubego, jajników i szyjki macicy [31]. Podwyższony poziom SGLT1 natomiast występował w nowotworach pierwotnych jelita grubego, prostaty oraz głowy i szyi, a także w przerzutach płuc, trzustki, głowy i szyi [32, 33, 34]. Obecność tych białek jest ściśle związana z komórkami w stanie hipoksji, zwłaszcza w obrębie rdzenia guza. W większości przypadków, nadekspresja białek SGLT1 i GLUT1 koreluje ze stadiem zaawansowania nowotworu (propagacja wzrostu guza, większe zdolności to tworzenia przerzutów) i gorszym rokowaniem dla pacjenta. Zwiększony poziom transporterów glukozy w komórkach nowotworowych sprawia, że napływa do nich nawet 20–30 razy więcej glukozy, niż do komórek prawidłowych [35].

Mechanizmy prowadzące do zwiększenia ilości białek odpowiedzialnych za transport glukozy, szczególnie białek SGLT1 i GLUT1, nie zostały jeszcze do końca poznane. Jednym z najlepiej zbadanych procesów regulujących poziom ekspresji białka GLUT1 w komórkach nowotworowych jest działanie czynnika transkrypcyjnego HIF-1. W stanie hipoksji, wzrasta stężenie podjednostki HIF-1 α , która łącząc się z konstytutywnie występującą podjednostką HIF-1 β tworzy aktywny czynnik transkrypcji. Wpływ HIF-1 na poziom ekspresji GLUT1 wynika z obecności elementów odpowiedzi na hipoksję (ang. *hypoxia-response elements*) w obrębie sekwencji promotorowej GLUT1 [36]. Innym mechanizmem, który prawdopodobnie również prowadzi do nadekspresji białka GLUT1, jest aktywacja szlaku sygnalizacyjnego z udziałem kinazy mTOR i aktywacją kaskady PI3K/AKT [37]. Istnieją także doniesienia o wpływie onkogenów na regulację ekspresji GLUT1. Wymienia się tutaj mutacje w obrębie takich proto-onkogenów, jak: KRAS i BRAF [38]; *c-Fos* [39]; *v-src* [40]; *m-myc* [41].

Niewiele natomiast wiadomo na temat regulacji ekspresji białka SGLT1 w komórkach nowotworowych. Jednym z mechanizmów prowadzących do zwiększenia ilości SGLT1 w nowotworach jest jego oddziaływanie z receptorem nabłonkowego czynnika wzrostu EGFR (ang. *epidermal growth factor receptor*). EGFR jest transbłonową glikoproteiną zbudowaną z trzech domen: zewnątrzkomórkowej domeny wiążącej ligand, hydrofobowego regionu transbłonowego i wewnątrzkomórkowej domeny o aktywności kinazy tyrozynowej. Po związaniu liganda dochodzi do autofosforylacji domeny wewnątrzkomórkowej i przekazania sygnału na szlak aktywujący kinazę PI3/Akt, kinazę MAP (ang. *mitogen-activated protein*), Jak/Stat i kinazę C oraz regulacji kanałów jonowych. W komórkach nowotworowych, przekazywanie sygnału poprzez EGFR prowadzi do progresji nowotworu: proliferacji komórek, angiogenezy, metastazy i ochrony przed apoptozą [42]. Niezależnie od aktywności autofosforylacyjnej domeny kinazy tyrozynowej EGFR, oddziałuje ona również z białkiem SGLT1 stabilizując

je i chroniąc przed degradacją proteosomalną. W nowotworach pochodzenia nabłonkowego, w których dochodzi bardzo często do nadekspresji EGFR, dochodzi również do zwiększenia poziomu białka SGLT1, które dzięki stabilizacji przez EGFR umożliwia zaspokojenie zwiększonego zapotrzebowania komórek nowotworowych na glukozę, chroniąc je w ten sposób przed autofagową śmiercią komórki [43, 44].

8. Transportery glukozy w wybranych typach nowotworów

8.1. Rak sutka

Badania immunohistochemiczne przeprowadzone w latach 90-tych ubiegłego wieku na 12 nowotworach pierwotnych i 8 przerzutach do węzłów chłonnych, wskazywały wyraźną, aczkolwiek zróżnicowaną ekspresję GLUT1. Poszczególne przypadki różniły się pomiędzy sobą zarówno poziomem, jak i intensywnością ekspresji GLUT1 [45]. Analiza immunohistochemiczna przeprowadzona przez Younesa i wsp. wykazała, że ekspresja białka GLUT1 występuje w blisko 45% przypadków nowotworów wywodzących się z różnych tkanek, w porównaniu z tkankami zdrowymi lub zmianami łagodnymi [46]. Ten sam zespół przeprowadził analizę 118 przypadków nowotworów piersi identyfikując obecność GLUT1 w 42% zmian złośliwych [47]. Wyniki te nasunęły sugestię, że pozostałe, negatywne pod względem GLUT1 przypadki nowotworów mogą wykazywać ekspresję izoform tych transporterów, a poziom ekspresji GLUT1 może korelować ze zwiększoną agresywnością nowotworu.

Badania przeprowadzone przez Kanga i wsp. na 100 przypadkach inwazyjnego raka przewodowego IDC (ang. *invasive ductal carcinoma*) wykazały ekspresję białka GLUT1 w 47% próbek, w porównaniu z brakiem ekspresji w tkankach prawidłowych. W komórkach reaktywnych immunohistochemicznie, białko GLUT1 widoczne było w błonie komórek nowotworowych, a największe skupiska tych komórek występowały w centrum rejonów nekrotycznych i naciekających guza. Poziom ekspresji GLUT1 różnił się pomiędzy poszczególnymi przypadkami. Analizy wykazały, że ekspresja GLUT1 była odwrotnie skorelowana z ekspresją receptora estrogenowego (61,1% ekspresji GLUT1 w przypadkach ER⁻) i progesteronowego (63,3% ekspresji GLUT1 w przypadkach PR⁻). Zaobserwowano również korelację pomiędzy ekspresją GLUT1 a stopniem jądrowym (ang. *nuclear grade*) – największy poziom ekspresji (63,6%) występował w 3 stopniu [48].

Analiza histologiczna kolejnych 523 przypadków inwazyjnego raka piersi [49] potwierdziła te korelacje, jednocześnie wykazując związek pomiędzy zwiększoną ekspresją GLUT1 a obecnością cytokeratyn 5/6 i EGFR, a także wysokim poziomem ekspresji białka p53. Dodatkowo wykazano również, że wyższy poziom GLUT1 występuje w przypadku inwazyjnego raka przewodowego w porównaniu z inwazyjnym rakiem zrazikowym ILC (ang. *invasive lobular carcinoma*). Dane te wskazują na to, że ekspresja GLUT1 jest charakterystyczna również dla raka gruczołu piersiowego typu bazalnego (ang. *basal-like breast cancer*). Inne badania wykazały dodatkowo korelację pomiędzy ekspresją GLUT1 a fenotypem potrójnie negatywnym raka piersi [50]. Pomimo iż w większości przypadków badań prowadzonych nad ekspresją GLUT1 w raku gruczołu piersiowego dane dotyczące przeżywalności nie były istotne statystycznie, obserwuje się tendencję związaną ze zwiększoną agresywnością nowotworu i krótszą przeżywalnością pacjentek w przypadku podwyższonej ekspresji białka GLUT1 w badanych przypadkach.

Badania nad rakiem sutka wykazały, że transporter GLUT1 w komórkach nowotworowych może występować dodatkowo w błonach retikulum endoplazmatycznego, umożliwiając przepływ glukozy pomiędzy poszczególnymi kompartmentami komórki [51]. W przypadku nowotworów o wysokim stężeniu błonowego transportera, komórki zawierające najwyższy poziom GLUT1 są zazwyczaj położone w centrum guza, a ich błony komórkowe odpowiadają za oddziaływania międzykomórkowe, rzadziej kontaktując się ze zrębem guza [52]. W odróżnieniu do GLUT1 brak jest danych opublikowanych na temat występowania SGLT1 w raku sutka. Jedyne informacje o białku SGLT1 dotyczą linii komórkowych ludzkiego gruczolaka piersi (MCF7), oraz ludzkiego raka sutka (MDA – MB 231). W pracy Weihua i wsp. przedstawili wyniki badań świadczące o tym, że oddziaływanie EGFR z SGLT1 było zależne od aktywności kinazy EGFR [43].

8.2. Rak trzustki

Agresywnym nowotworem o złym rokowaniu jest rak trzustki – ok. 20% osób dotkniętych tą chorobą przeżywa powyżej 1 roku od diagnozy.

W pracy Casneuf określano znaczenie prognostyczne białka SGLT1 w raku trzustki. Ustalono, że w tkankach prawidłowych brak jest ekspresji transportera SGLT1 oraz że wysoki poziom białka Bcl-2 (które uczestniczy w karcynogenezie ludzkiego raka trzustki) koreluje z wyższym stężeniem białka SGLT1. Jednocześnie przy wysokim poziomie ekspresji transportera SGLT1 zaobserwowano występowanie dłuższego okresu bezobjawowego przebiegu choroby [32]. Zostały przeprowadzone eksperymenty *in vivo* na mysich nowotworach raka trzustki oraz analizy immunohistochemiczne białka SGLT2, które udowodniły, że inhibitory SGLT2 blokują wychwyt glukozy, co ma istotny wpływ na spowolnienie wzrostu nowotworu [53].

Udowodniono, że w wielu nowotworach złośliwych obserwowany jest wpływ nadekspresji GLUT1, jednak dopiero w ostatnim czasie przebadano wpływ tego transportera w raku trzustki. Lu w swoich badaniach poddał analizie 53 próbki różnych tkanek nowotworu trzustki, udowadniając związek między nadekspresją GLUT1, a złym rokowaniem oraz cechami patologiczno-klinicznymi guza tj. wielkością nowotworu, stopniem zaawansowania i przerzutami do węzłów chłonnych [54].

Według aktualnego stanu wiedzy słusznym wydaje się badanie stężenia białka SGLT1 – którego wzrost może sugerować konieczność dalszej diagnostyki. Natomiast analiza GLUT1 może stanowić prognostyczny wskaźnik w raku trzustki.

8.3. Rak jelita grubego

Rak jelita grubego jest jednym z najbardziej złośliwych nowotworów, często występującym w krajach wysokorozwiniętych. U około 1/3 pacjentów dochodzi do powstania przerzutów (np. do wątroby), które mogą być przyczyną śmierci chorego [55].

W badaniach Guo i wsp. przeprowadzili analizę ekspresji transportera SGLT1 w tkance nowotworowej oraz prawidłowej jelita grubego. Wykazali, że ekspresja białka SGLT1 wzrasta z 7,2% w tkance prawidłowej do 55,3% w tkance nowotworowej. Ponadto w wyższych stadiach zaawansowania choroby rośnie ekspresja białka SGLT1. Autorzy zaobserwowali również wzrost ekspresji EGFR z 21,4% w komórkach prawidłowych do 44,7% w komórkach nowotworowych i korelację ekspresji białek EGFR oraz SGLT1 [56].

W pracy Habera i wsp. został omówiony wpływ nadekspresji transportera GLUT1 w nowotworze jelita grubego. Na podstawie analizy immunohistochemicznej zauważono, że białko GLUT1 nie występuje w tkance prawidłowej, natomiast obserwowano ekspresję tego transportera w tkance patologicznej [57]. Ryzyko śmierci z wysokim poziomem ekspresji transportera GLUT1 było 2,3 razy większe niż przy niskim poziomie [57]. W pięcioletnim przeżyciu u pacjentów po leczeniu operacyjnym lepsze rokowania obserwowane były w przypadkach z niskim poziomem ekspresji GLUT1 [58].

8.4. Rak jajnika

Okolo 70% nowotworów jajnika wykrywanych jest w zaawansowanych stadiach ze względu na brak specyficznych objawów i trudności diagnostyczne, przez co nowotwór ten charakteryzuje się wysoką śmiertelnością.

W analizie immunohistochemicznej Lai i wsp. udowodnili, że wysoki poziom SGLT1 jest niezależnym niekorzystnym czynnikiem prognostycznym [59]. Rokowanie było lepsze w przypadkach z niskim poziomem białka, natomiast nadekspresja białka SGLT1, wiązała się z krótszym okresem remisji i krótszym przeżyciem [59].

Zespół Tsukioka wykonał analizę immunohistochemiczną ekspresji białek GLUT1, GLUT3 i GLUT4 w nabłonku raka jajnika. U 98,7% źle rokujących pacjentek w błonie komórkowej i cytoplazmie występował transporter GLUT1 oraz w 84,4% przypadków występowało białko GLUT4 (w cytoplazmie i jądrze komórkowym) [60]. Nie stwierdzono zależności między transporterem GLUT3 a stadium choroby. W pracy udowodniono, że poziom ekspresji białka GLUT4 jest zależny od rodzaju gruczolakoraka.

Z dotychczasowych badań nad transporterami SGLT1 oraz GLUT1 i GLUT4 można przypuszczać, że mogą one być biomarkerami oraz mieć wpływ na wybór bardziej agresywnej terapii w leczeniu nabłonkowego raka jajnika.

8.5. Rak szyjki macicy

Od 90 do 98% przypadków zachorowań na raka szyjki macicy spowodowanych jest infekcją wirusem brodawczaka ludzkiego typu HPV-16 i HPV-18 [61]. Rocznie diagnozowanych jest około 500 tys. nowych zachorowań, a 200 tys. kobiet umiera z powodu złośliwego raka szyjki macicy. Zaledwie w 72% przypadków z nowotworem szyjki macicy przeżywalność wynosi 5 lat od diagnozy. W Polsce stanowi on 7,7% wszystkich nowotworów u kobiet, a jest szczególnie istotny ze względu na wysoką wartość badań przesiewowych w jego leczeniu [61].

W badaniach przeprowadzonych przez Pereza i wsp. na 239 przypadkach raka szyjki macicy, sprawdzano korelację pomiędzy ekspresją białek MAP17 i SGLT1 po leczeniu cisplatyną w połączeniu z radioterapią, a przeżywalnością pacjentów. Wykazano, że stanowią one dobry czynnik prognostyczny – wyższe poziomy MAP17 i SGLT1 świadczą o pozytywnej odpowiedzi na zastosowane leczenie [62].

8.6. Rak prostaty

Prawdopodobieństwo zachorowania mężczyzny na raka stercza w ciągu życia wynosi ok. 30%. Nowotwór ten jest wolno rozwijającą się chorobą – szacuje się, że tylko 1 na 11 histologicznie wykrytych nowotworów rozwinię się do postaci klinicznej. W Polsce ok. 5% zgonów mężczyzn wywołanych nowotworami spowodowanych jest przez raka stercza [63].

Pomimo tego, że prawidłowy nabłonek gruczołu prostaty nie bierze udziału w metabolizmie glukozy, w przypadku zaawansowanego procesu nowotworowego odnotowano jej zwiększony napływ do komórek. Badania prowadzone w wielu różnych ośrodkach dowiodły, że w komórkach raka prostaty występują zarówno transportery GLUT1, jak i SGLT1.

W badaniach Efferta przeprowadzono oznaczenie ekspresji transporterów glukozy na 3 liniach komórkowych ludzkiego nowotworu prostaty o trzech stopniach zróżnicowania za pomocą techniki RISH. Wykazano związek pomiędzy transporterem GLUT1 a rozwojem guza – komórki słabiej zróżnicowane (DU145, PC3) mają wyższą ekspresję niż hormonalno-wrażliwe (LNCaP) [64]. Na 195 przebadanych immunohistochemicznie przypadków raka prostaty, 47% wykazywało silną ekspresję cytoplazmatyczną transportera GLUT1 [51]. Natomiast badania przeprowadzone przez Jans wskazują na to, że u pacjentów, u których odnotowano zwiększoną ekspresję GLUT1 w komórkach nowotworowych, szybciej następowała wznowa choroby, nawet po radykalnej prostatektomii [65].

Ze wzrostem stopnia złośliwości nowotworu wzrasta ekspresja transportera SGLT1 oraz zmienia się jego lokalizacja w komórce (z błonowo-cytoplazmatycznej w łagodnych zmianach do błony jądrowej w komórkach nowotworowych). W prawidłowej tkance gruczołu prostaty SGLT1 występuje w bardzo małej ilości jedynie w nabłonku przewodów. W łagodnych zmianach hiperplastycznych pojawiają się nieciągłe warstwy komórek podstawnych i zrębu charakteryzujące się wysoką ekspresją SGLT1. Stężenie SGLT1 wzrasta w przypadku tkanek o charakterze przednowotworowym PIN (ang. *Prostatic Intraepithelial Neoplasm*). We wszystkich badanych przypadkach raka prostaty (n=44) obserwowano silną ekspresję SGLT1, zarówno w komórkach rdzenia, jak i nabłonka przewodów [66]. Wysoka ekspresja SGLT1 w komórkach raka gruczołu prostaty jest dodatkowo wzmacniana poprzez oddziaływanie tego białka z domeną autofosforylacyjną receptora EGFR. Prowadzi to zarówno do uzupełnienia zwiększonego zapotrzebowania komórek nowotworowych na glukozę, a także do uniewrażliwienia ich na terapię inhibitorami kinazy tyrozynowej, stosowane w przypadku innych typów nowotworów charakteryzujących się zwiększoną ekspresją EGFR [44].

8.7. Nowotwory płaskonabłonkowe jamy ustnej

W krajach rozwijających się trzecim najczęściej występującym nowotworem jest rak jamy ustnej. Na świecie jest to szósty nowotwór pod względem częstości występowania. W 40–50% przypadków osoby ze zdiagnozowanym rakiem jamy ustnej żyją ok. 5 lat.

Badania *in vitro* na liniach komórkowych wyprowadzonych z nowotworów głowy i szyi takich jak: Ca9-22, HOC313, HO-1-N-1, HSC-2 wykazały obecność transportera SGLT1 [67]. Wysoki poziom ekspresji SGLT1 obecny był w 20–30% przypadków nowotworu jamy ustnej. Hanabata wykazał, iż zwiększony poziom EGFR zwiększa ekspresję transportera SGLT1. Dobrze poznanym zagadnieniem jest wpływ nadekspresji EGFR w nowotworach głowy i szyi, którą obserwuje się w 80% przypadków i wiąże się z opornością na chemioterapię oraz radioterapię, bardziej zaawansowanym stadium guza, występowaniem przerzutów oraz gorszym rokowaniem [67].

8.8. Nowotwory mózgu

Prace nad ekspresją transporterów GLUT w nowotworach mózgu trwają od ponad 20 lat i już na początku lat 90. XX wieku potwierdzono ekspresję białka GLUT w nowotworach mózgu [68]. Ekspresja transportera GLUT3 ograniczona jest do komórek nerwowych, natomiast GLUT1 ogranicza się do komórek śródbłonna [69]. W fizjologicznie prawidłowych komórkach glejowych nie zauważono ekspresji transportera GLUT, jednak w próbkach nowotworu gleju zaobserwowano ekspresję GLUT1 oraz GLUT3 [69]. Jednocześnie wyższa ekspresja GLUT3 oznaczała większą złośliwość, gorsze rokowanie i krótszy czas przeżycia pacjentów [69, 70].

8.9. Rak płuc

Rak płuc charakteryzuje się wysoką śmiertelnością niezależnie od płci chorego. U mężczyzn od drugiej połowy lat osiemdziesiątych XX wieku jest także najczęściej występującym nowotworem, natomiast u kobiet jest on trzecim pod względem częstości występowania (po raku piersi i jelita grubego). W 2008 roku zostało zdiagnozowanych 1,6 miliona nowych przypadków, a przyczyną śmierci był u 1,4 miliona pacjentów [71].

Dwa zespoły badawcze z Hiroshima University przeprowadziły badania nad transporterami SGLT i GLUT w nowotworach płuc. Badania nad GLUT1 wykonano na 105 próbkach (w tym po 35 z pierwotnego nowotworu płuca oraz niepatologicznej tkanki płuc, 25 normalnych tkanek wątroby i 10 przerzutowych nowotworów wątroby). Analogicznie jak w przypadku większości innych nowotworów ekspresja transportera GLUT1 była znacznie wyższa w tkankach pierwotnych guzów płuc niż w tkankach prawidłowych. Natomiast w przerzutach do wątroby nie zaobserwowano różnic w poziomie ekspresji GLUT1 [72]. Przeprowadzono również analizy ekspresji SGLT1 i SGLT2. W tych badaniach wykorzystano 96 próbek (w tym po 35 z pierwotnego nowotworu płuca oraz fizjologicznie prawidłowych tkanek, 10 zmian przerzutowych do wątroby i 16 przerzutów do węzłów chłonnych). Nie odnotowano istotnych różnic w poziomie ekspresji obu białek pomiędzy próbkami pierwotnego nowotworu płuca a tkankami prawidłowymi [34]. Ekspresja SGLT1 w przerzutowych próbkach nie różniła się od tkanek pierwotnych nowotworu natomiast poziom ekspresji SGLT2 był znacznie wyższy w próbkach przerzutowych wątroby i węzłów chłonnych [34].

Praca Masin i wsp. ukazuje wyniki eksperymentów w warunkach *in vitro* na liniach komórkowych pochodzących z ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuca. W pracy wykazano, że hamując ekspresję GLUT3 zmniejszany jest import glukozy i proliferacja mezenchymalnych komórek nowotworowych płuc. Ponadto stwierdzono, że wyższa ekspresja GLUT3 jest skorelowana z gorszym rokowaniem [73].

Rozwój leków hamujących ekspresję transportera GLUT3 może przyczynić się do opracowania skutecznej ukierunkowanej terapii leczenia chorych na raka płuc.

8.10. Neuroblastoma

Jednym z najbardziej agresywnych nowotworów dziecięcych, w przypadku którego przeżywalność nie przekracza 50% jest neuroblastoma [74]. Trudności w leczeniu wynikają ze znaczących różnic biologicznych nowotworu u niemowląt i starszych dzieci. W wieku niemowlęcym jest najczęściej występującym nowotworem i wtedy zazwyczaj wystarcza chemioterapia, w późniejszym wieku dziecka wymagane jest agresywniejsze leczenie [75].

Dotychczasowe badania nad GLUT1 w nowotworach neuroblastoma NB (nowotwór złośliwy wieku

dziecięcego) i ganglioneuroblastoma GNB (zmiany o charakterze łagodnym) przeprowadzone były na liniach komórkowych [76, 77] oraz na łącznie 143 przypadkach klinicznych [78, 79]. Badania prowadzone były na poziomie molekularnym (określany był poziom ekspresji mRNA GLUT1) oraz immunohistochemicznym. Wysoki poziom ekspresji GLUT1 obecny był w około 50% przypadków guzów neuroblastycznych, ale tylko w przypadku neuroblastoma i gruczołowych ganglioneuroblastoma (brak w ganglioneuroma i mieszanym ganglioneuroblastoma) i związany był ze złym rokowaniem dla pacjentów. Badania immunocytochemiczne potwierdziły silną ekspresję błonową GLUT1 w komórkach zlokalizowanych w obrębie rdzenia guza, w regionach nekrotycznych guza (51% przypadków nGNB i NB). Jednocześnie w 30% przypadków nGNB i NB wykazano silną ekspresję GLUT1 w dobrze unaczynionych obszarach nowotworu. Dane te pozwoliły na stwierdzenie, że ekspresja GLUT1 w przypadku guzów neuroblastycznych koreluje ze zwiększoną agresywnością nowotworu i złym rokowaniem, a wysoki poziom GLUT1 w komórkach nowotworowych jest niezależnym czynnikiem prognostycznym pozwalającym na zakwalifikowanie konkretnego przypadku do neuroblastomy wysokiego ryzyka [78, 79].

LITERATURA

- [1] J.W. Kim, C.V. Dang: *Cancer's molecular sweet tooth and the warburg effect*, Cancer Research, vol. 66(18), 2006, s. 8927–8930.
- [2] M.G. Vander Heiden, L.C. Cantley, C.B. Thompson: *Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation*, Science, vol. 324(5930), 2009, s. 1029–1033.
- [3] P. Sadlecki, M. Walentowicz-Sadlecka, M. Grabiec: *Rola angiogenezy w rozwoju nowotworów*, Przegląd Menopauzalny, vol. 14(1), 2010, s. 28–31.
- [4] A. Banyś, L. Bułaś, E. Długosz, B. Szulc-Musiał, A. Jankowski: *Angiogeneza w chorobie nowotworowej*, Patofizjologia, vol. 65(4), 2009, s. 247–250.
- [5] P. Jarosz, B. Woźniak: *Angiogeneza w chorobach nowotworowych*, Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie, vol. 4, 2012, s. 498–507.
- [6] K.M. Cook, D. Phil, W.D. Figg, D. Pharm: *Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects*, CA: A Cancer Journal for Clinicians, vol. 60(4), 2010, s. 222–243.
- [7] A.F. Karamysheva: *Mechanisms of Angiogenesis*, Biochemistry, vol. 73(7), 2008, s. 751–762.
- [8] R. Oklu, T.G. Walker, S. Wicky, R. Hesketh: *Angiogenesis and current antiangiogenic strategies for the treatment of cancer*, Journal of Vascular and Interventional Radiology, vol. 21(12), 2010, s. 1791–1805.
- [9] P. Carmeliet: *Angiogenesis in health and disease*, Nature Medicine, vol. 9(6), 2003, s. 653–660.
- [10] A. Kurzyk: *Angiogeneza - możliwości, problemy, perspektywy*, Postępy Biochemii, vol. 61(1), 2015, s. 25–34.
- [11] T.M. Zielonka: *Angiogeneza - Część I. Mechanizm powstawania nowych naczyń krwionośnych*, Alergia Astma Immunologia, vol. 8(4), 2003, s. 169–174.
- [12] J. Skóra, J. Biegus, A. Pupka, P. Barć, J. Sikora, P. Szyber: *Molekularne podstawy angiogenezy*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online), vol. 60, 2006, s. 410–415.
- [13] J. Gibbons: *Angiogenesis: Emerging Roles for the TGFβ Superfamily*, Pathways Magazine, vol. 11, 2010, s. 14–16.
- [14] P.J. Höglund, K.J.V. Nordström, H.B. Schiöth, R. Fredriksson: *The solute carrier families have a remarkably long evolutionary history with the majority of the human families present before divergence of Bilaterian species*, Molecular Biology and Evolution, vol. 28(4), 2011, s. 1531–1541.
- [15] H. Joost, G.I. Bell, J.D. Best, M.J. Birnbaum, M.J. Charron, Y.T. Chen, H. Doege, D.E. James, H.F. Lodish, K.H. Moley, J.F. Moley, M. Mueckler, S. Rogers, A. Schürmann, S. Seino, B. Thorens: *Nomenclature of the GLUT/SLC2A family of sugar/polyol transport facilitators*, American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism, vol. 282(4), 2002, s. E974–E976.
- [16] I.S. Wood, P. Trayhurn: *Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins*, British Journal of Nutrition, vol. 89(1), 2003, s. 3–9.
- [17] L. Szablewski: *Expression of glucose transporters in cancers*, Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer, vol. 1835(2), 2013, s. 164–169.
- [18] E.M. Wright: *Surprising Versatility of Na⁺-Glucose Cotransporters: SLC5*, Physiology, vol. 19(6), 2004, s. 370–376.
- [19] M. Mueckler: *Facilitative glucose transporters*, European Journal of Biochemistry, vol. 219(3), 1994, s. 713–725.
- [20] F.-Q. Zhao, A.F. Keating: *Functional properties and genomics of glucose transporters*, Current Genomics, vol. 8(2), 2007, s. 113–128.
- [21] P. Józwiak, A. Lipińska: *Rola transportera glukozy 1 (GLUT1) w diagnostyce i terapii nowotworów*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online), vol. 66, 2012, s. 165–174.
- [22] E.M. Wright, D.D.F. Loo, B.A. Hirayama: *Biology of human sodium glucose transporters*, Physiological Reviews, vol. 91, 2011, s. 733–794.

- [23] N. Samih, S. Hovsepian, F. Notel, M. Prorok, H. Zattara-Cannoni, S. Mathieu, D. Lombardo, G. Fayet, A. El-Battari: *The impact of N- and O-glycosylation on the functions of Glut-1 transporter in human thyroid anaplastic cells*, *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects*, vol. 1621(1), 2003, s. 92–101.
- [24] M.C. Maiden, E.O. Davis, S.A. Baldwin, D.C. Moore, P.J. Henderson: *Mammalian and bacterial sugar transport proteins are homologous*, *Nature*, vol. 325(6105), 1987, s. 641–643.
- [25] H.L. Wieman, S.R. Horn, S.R. Jacobs, B.J. Altman, S. Kornbluth, J.C. Rathmell: *An essential role for the Glut1 PDZ-binding motif in growth factor regulation of Glut1 degradation and trafficking*, *Biochemical Journal*, vol. 418(2), 2009, s. 345–367.
- [26] M.J. Seatter, S. a. De La Rue, L.M. Porter, G.W. Gould: *QLS motif in transmembrane helix VII of the glucose transporter family interacts with the C-1 position of D-glucose and is involved in substrate selection at the exofacial binding site*, *Biochemistry*, vol. 37(5), 1998, s. 1322–1326.
- [27] E.M. Wright, E. Turk: *The sodium/glucose cotransport family SLC5*, *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, vol. 447(5), 2004, s. 510–518.
- [28] E.M. Wright, J.R. Hirsch, D.D. Loo, G. a Zampighi: *Regulation of Na⁺/glucose cotransporters*, *Journal of Experimental Biology*, vol. 200(Pt 2), 1997, s. 287–293.
- [29] M. Uldry, M. Ibberson, M. Hosokawa, B. Thorens: *GLUT2 is a high affinity glucosamine transporter*, *FEBS Letters*, vol. 524(1–3), 2002, s. 199–203.
- [30] J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer: *Biochemia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007.
- [31] R.A. Medina, G.I. Owen: *Glucose transporters: expression, regulation and cancer*, *Biological Research*, vol. 35(1), 2002, s. 9–26.
- [32] V.F. Casneuf, P. Fonteyne, N. Van Damme, P. Demetter, P. Pauwels, B. de Hemptinne, M. De Vos, C. Van de Wiele, M. Peeters: *Expression of SGLT1, Bcl-2 and p53 in primary pancreatic cancer related to survival*, *Cancer Investigation*, vol. 26(8), 2008, s. 852–859.
- [33] B.M. Helmke, C. Reisser, M. Idzko, G. Dyckhoff, C. Herold-Mende, M. Idzko: *Expression of SGLT-1 in preneoplastic and neoplastic lesions of the head and neck*, *Oral Oncology*, vol. 40(1), 2004, s. 28–35.
- [34] N. Ishikawa, T. Oguri, T. Isobe, K. Fujitaka, N. Kohno: *SGLT Gene Expression in Primary Lung Cancers and Their Metastatic Lesions*, *Japanese Journal of Cancer Research*, vol. 92(8), 2001, s. 874–879.
- [35] V. Ganapathy, M. Thangaraju, P.D. Prasad: *Nutrient transporters in cancer: Relevance to Warburg hypothesis and beyond*, *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 121(1), 2009, s. 29–40.
- [36] G.L. Semenza: *Targeting HIF-1 for cancer therapy*, *Nature Reviews Cancer*, vol. 3(10), 2003, s. 721–732.
- [37] A. Silva, A. Gírio, I. Cebola, C.I. Santos, F. Antunes, J.T. Barata: *Intracellular reactive oxygen species are essential for PI3K/Akt/mTOR-dependent IL-7-mediated viability of T-cell acute lymphoblastic leukemia cells*, *Leukemia*, vol. 25(6), 2011, s. 960–967.
- [38] J. Yun, C. Rago, I. Cheong, R. Pagliarini, P. Angenendt, H. Rajagopalan, K. Schmidt, J.K. V Willson, S. Markowitz, S. Zhou, L.A. Diaz, V.E. Velculescu, C. Lengauer, K.W. Kinzler, B. Vogelstein, N. Papadopoulos: *Glucose deprivation contributes to the development of KRAS pathway mutations in tumor cells*, *Science*, vol. 325(5947), 2009, s. 1555–1559.
- [39] T. Santalucía, M. Christmann, M.H. Yacoub, N.J. Brand: *Hypertrophic agonists induce the binding of c-Fos to an AP-1 site in cardiac myocytes: implications for the expression of GLUT1*, *Cardiovascular Research*, vol. 59(3), 2003, s. 639–648.
- [40] T. Murakami, T. Nishiyama, T. Shirotani, Y. Shinohara, M. Kan, K. Ishii, F. Kanai, S. Nakazuru, Y. Ebina: *Identification of two enhancer elements in the gene encoding the type 1 glucose transporter from the mouse which are responsive to serum, growth factor, and oncogenes*, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 267(13), 1992, s. 9300–9306.
- [41] R.C. Osthus, H. Shim, S. Kim, Q. Li, R. Reddy, M. Mukherjee, Y. Xu, D. Wonsey, L.A. Lee, C. V Dang: *Deregulation of glucose transporter 1 and glycolytic gene expression by c-Myc*, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 275(29), 2000, s. 21797–21800.
- [42] N. Normanno, A. De Luca, C. Bianco, L. Strizzi, M. Mancino, M.R. Maiello, A. Carotenuto, G. De Feo, F. Caponigro, D.S. Salomon: *Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer*, *Gene*, vol. 366(1), 2006, s. 2–16.
- [43] Z. Weihua, R. Tsan, W.C. Huang, Q. Wu, C.H. Chiu, I.J. Fidler, M.C. Hung: *Survival of cancer cells is maintained by EGFR independent of its kinase activity*, *Cancer Cell*, vol. 13(5), 2008, s. 385–393.
- [44] J. Ren, L.R. Bollu, F. Su, G. Gao, L. Xu, W.-C. Huang, M.-C. Hung, Z. Weihua: *EGFR-SGLT1 interaction does not respond to EGFR modulators, but inhibition of SGLT1 sensitizes prostate cancer cells to EGFR tyrosine kinase inhibitors*, *The Prostate*, vol. 73(13), 2013, s. 1453–1461.
- [45] R.S. Brown, R.L. Wahl: *Overexpression of Glut-1 glucose transporter in human breast cancer An immunohistochemical study*, *Cancer*, vol. 72(10), 1993, s. 2979–2985.
- [46] M. Younes, L. V. Lechago, J.R. Somoano, M. Mosharaf, J. Lechago: *Wide expression of the human erythrocyte glucose transporter Glut1 in human cancers*, *Cancer Research*, vol. 56(5), 1996, s. 1164–1167.
- [47] M. Younes, R.W. Brown, D.R. Mody, L. Fernandez, R. Laucirica: *GLUT1 expression in human breast carcinoma: correlation with known prognostic markers*, *Anticancer Research*, vol. 15(6B), 1995, s. 2895–2898.
- [48] S.S. Kang, Y.K. Chun, M.H. Hur, H.K. Lee, Y.J. Kim, S.R. Hong, J.H. Lee, S.G. Lee, Y.K. Park: *Clinical significance of glucose transporter 1 (GLUT1) expression in human breast carcinoma*, *Japanese Journal of Cancer Research*, vol. 93(10), 2002, s. 1123–1128.
- [49] Y.R. Hussein, S. Bandyopadhyay, A. Semaan, Q. Ahmed, B. Albashiti, T. Jazaerly, Z. Nahleh, R. Ali-Fehmi: *Glut-1 Expression Correlates with Basal-like Breast Cancer*, *Translational Oncology*, vol. 4(6), 2011, s. 321–327.

- [50] S.M. Jang, H. Han, K.-S. Jang, Y.J. Jun, S.-H. Jang, K.-W. Min, M.S. Chung, S.S. Paik: *The Glycolytic Phenotype is Correlated with Aggressiveness and Poor Prognosis in Invasive Ductal Carcinomas*, Journal of Breast Cancer, vol. 15(2), 2012, s. 172–180.
- [51] K.C. Carvalho, I.W. Cunha, R.M. Rocha, F.R. Ayala, M.M. Cajaiba, M.D. Begnami, R.S. Vilela, G.R. Paiva, R.G. Andrade, F. a Soares: *GLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker*, Clinical Science, vol. 66(6), 2011, s. 965–972.
- [52] A. Godoy, K. Salazar, C. Figueroa, G.J. Smith, M. de los Angeles Garcia, F.J. Nualart: *Nutritional channels in breast cancer*, Journal of Cellular and Molecular Medicine, vol. 13(9 B), 2009, s. 3973–3984.
- [53] C. Scafoglio, B.A. Hirayama, V. Kepe, J. Liu, C. Ghezzi, N. Satyamurthy, N.A. Moatamed, J. Huang, H. Koepsell, J.R. Barrio, E.M. Wright: *Functional expression of sodium-glucose transporters in cancer*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 112(30), 2015, s. E4111–E4119.
- [54] K. Lu, J. Yang, D. Li, S. He, D. Zhu, L. Zhang, X. Zhang, X. Chen, B. Zhang, J. Zhou: *Expression and clinical significance of glucose transporter-1 in pancreatic cancer*, Oncology Letters, vol. 12(1), 2016, s. 243–249.
- [55] M.S. Wideł, M. Wideł: *Mechanizmy przerzutowania i molekularne markery progresji nowotworów złośliwych. I. Rak jelita grubego*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online), vol. 60, 2006, s. 453–470.
- [56] G.F. Guo, Y.C. Cai, B. Zhang, R.H. Xu, H.J. Qiu, L.P. Xia, W.Q. Jiang, P.L. Hu, X.X. Chen, F.F. Zhou, F. Wang: *Overexpression of SGLT1 and EGFR in colorectal cancer showing a correlation with the prognosis*, Medical Oncology, vol. 28(suppl. 1), 2011, s. S197–S203.
- [57] R.S. Haber, A. Rathan, K.R. Weiser, A. Pritsker, S.H. Itzkowitz, C. Bodian, G. Slater, A. Weiss, D.E. Burstein: *GLUT1 glucose transporter expression in colorectal carcinoma*, Cancer, vol. 83(1), 1998, s. 34–40.
- [58] A. Furudoi, S. Tanaka, K. Haruma, M. Yoshihara, K. Sumii, G. Kajiyama, F. Shimamoto: *Clinical significance of human erythrocyte glucose transporter 1 expression at the deepest invasive site of advanced colorectal carcinoma*, Oncology, vol. 60(2), 2001, s. 162–169.
- [59] B. Lai, Y. Xiao, H. Pu, Q. Cao, H. Jing, X. Liu: *Overexpression of SGLT1 is correlated with tumor development and poor prognosis of ovarian carcinoma*, Archives of Gynecology and Obstetrics, vol. 285(5), 2012, s. 1455–1461.
- [60] M. Tsukioka, Y. Matsumoto, M. Noriyuki, C. Yoshida, H. Nobeyama, H. Yoshida, T. Yasui, T. Sumi, K. Honda, O. Ishiko: *Expression of glucose transporters in epithelial ovarian carcinoma: correlation with clinical characteristics and tumor angiogenesis*, Oncology Reports, vol. 18(2), 2007, s. 361–367.
- [61] G.E. Bedkowska, S. Ławicki, M. Szmitkowski: *Molecular markers of carcinogenesis in the diagnostics of cervical cancer*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online), vol. 63, 2009, s. 99–105.
- [62] M. Perez, J.M. Praena-Fernandez, B. Felipe-Abrio, M. a. Lopez-Garcia, A. Lucena-Cacace, A. Garcia, M. Leonart, G. Roncador, J.J. Marin, A. Carnero: *MAP17 and SGLT1 Protein Expression Levels as Prognostic Markers for Cervical Tumor Patient Survival*, PLoS ONE, vol. 8(2), 2013, s. 1–10.
- [63] R. Dadej, P. Cieśliński, Z. Kwias: *Rak stercza*, Współczesna Onkologia, vol. 6(2), 2002, s. 108–116.
- [64] P. Effert, J. Beniers, Y. Tamimi, S. Handt, G. Jakse: *Expression of glucose transporter 1 (Glut-1) in cell lines and clinical specimens from human prostate adenocarcinoma*, Anticancer Research, vol. 24(5A), 2004, s. 3057–3063.
- [65] J. Jans, J.H. Van Dijk, S. Van Schelven, P. Van Der Groep, S.H. Willems, T.N. Jonges, P.J. Van Diest, J.L.H.R. Bosch: *Expression and localization of hypoxia proteins in prostate cancer: prognostic implications after radical prostatectomy*, Cancer, vol. 75(4), 2010, s. 786–792.
- [66] A. Blessing, L. Xu, G. Gao, L.R. Bollu, J. Ren, H. Li, X. Wu, F. Su, W.-C. Huang, M.-C. Hung, L. Huo, G.S. Palapattu, Z. Weihua: *Sodium/Glucose Co-transporter 1 Expression Increases in Human Diseased Prostate*, Journal of Cancer Science & Therapy, vol. 4(9), 2012, s. 306–312.
- [67] Y. Hanabata, Y. Nakajima, K.I. Morita, K. Kayamori, K. Omura: *Coexpression of SGLT1 and EGFR is associated with tumor differentiation in oral squamous cell carcinoma*, Odontology, vol. 100(2), 2012, s. 156–163.
- [68] T. Nishioka, Y. Oda, Y. Seino, T. Yamamoto, N. Inagaki, H. Yano, H. Imura, R. Shigemoto, H. Kikuchi: *Distribution of the glucose transporters in human brain tumors*, Cancer Research, vol. 52, 1992, s. 3972–3979.
- [69] R.J. Boado, K.L. Black, W.M. Pardridge: *Gene expression of GLUT3 and GLUT1 glucose transporters in human brain tumors*, Molecular Brain Research, vol. 27(1), 1994, s. 51–57.
- [70] W.A. Flavahan, Q. Wu, M. Hitomi, N. Rahim, Y. Kim, A.E. Sloan, R.J. Weil, I. Nakano, J.N. Sarkaria, B.W. Stringer, B.W. Day, M. Li, J.D. Lathia, J.N. Rich, A.B. Hjelmeland: *Brain tumor initiating cells adapt to restricted nutrition through preferential glucose uptake*, Nature Neuroscience, vol. 16(10), 2013, s. 1373–1382.
- [71] J. Lortet-Tieulent, I. Soerjomataram, J. Ferlay, M. Rutherford, E. Weiderpass, F. Bray: *International trends in lung cancer incidence by histological subtype: Adenocarcinoma stabilizing in men but still increasing in women*, Lung Cancer, vol. 84(1), 2014, s. 13–22.
- [72] T. Kurata, T. Oguri, T. Isobe, S. Ishioka, M. Yamakido: *Differential expression of facilitative glucose transporter (GLUT) genes in primary lung cancers and their liver metastases*, Japanese Journal of Cancer Research, vol. 90(11), 1999, s. 1238–1243.
- [73] M. Masin, J. Vazquez, S. Rossi, S. Groeneveld, N. Samson, P.C. Schwalie, B. Deplancke, L.E. Frawley, J. Gouttenoire, D. Moradpour, T.G. Oliver, E. Meylan: *GLUT3 is induced during epithelial-mesenchymal transition and promotes tumor cell proliferation in non-small cell lung cancer*, Cancer & Metabolism, vol. 2(1), 2014, s. 11.
- [74] K. Matsushita, K. Uchida, S. Saigusa, S. Ide, K. Hashimoto, Y. Koike, K. Otake, M. Inoue, K. Tanaka, M. Kusunoki: *Glycolysis inhibitors as a potential therapeutic option to treat aggressive neuroblastoma expressing GLUT1*, Journal of Pediatric Surgery, vol. 47(7), 2012, s. 1323–1330.

- [75] E. Adamkiewicz-Drożyńska: *Czynniki prognostyczne i nowe możliwości leczenia neuroblastoma*, Współczesna Onkologia, vol. 4(2), 2000, s. 72–75.
- [76] V.C. Russo, K. Kobayashi, S. Najdovska, N.L. Baker, G.A. Werther: *Neuronal protection from glucose deprivation via modulation of glucose transport and inhibition of apoptosis: a role for the insulin-like growth factor system*, Brain Research, vol. 1009(1–2), 2004, s. 40–53.
- [77] B. Fang, J. Jia: *Human neuroblastoma cells transfected with two Chinese presenilin 1 mutations are sensitized to trophic factor withdrawal and protected by insulin-like growth factor-1*, Chinese Medical Journal, vol. 121(10), 2008, s. 910–915.
- [78] K. Matsushita, K. Uchida, S. Saigusa, S. Ide, K. Hashimoto, Y. Koike, K. Otake, M. Inoue, K. Tanaka, M. Kusunoki: *Glycolysis inhibitors as a potential therapeutic option to treat aggressive neuroblastoma expressing GLUT1*, Journal of Pediatric Surgery, vol. 47(7), 2012, s. 1323–1330.
- [79] P. Ramani, A. Headford, M.T. May: *GLUT1 protein expression correlates with unfavourable histologic category and high risk in patients with neuroblastic tumours*, Virchows Archiv, vol. 462(2), 2013, s. 203–209.

otrzymano / submitted: 23.03.2017
poprawiono / revised 30.05.2017
zaakceptowano / accepted: 01.06.2017