

## ❖ CAMBIOS METABÓLICOS DE LA CÉLULA TUMORAL

**Dra. Marcela S. Villaverde\*\***

**Lic. María Florencia Arbe\*\*\***

**\*Investigador Adjunto CONICET**

**\*\*Becario Doctoral CONICET**

**#Unidad de Transferencia Genética, Área Investigación**

### Índice

- **Características**
- **Los cambios en el metabolismo otorgan ciertas ventajas**
- **Genes supresores y oncogenes relacionados con la reprogramación metabólica**
- **El metabolismo como blanco terapéutico**
- **Referencias bibliográficas**

La progresión de la célula maligna requiere de un metabolismo adaptado a sus necesidades. Sin el sustento del metabolismo bioenergético, difícilmente podría suceder el crecimiento neoplásico. La actividad metabólica se encarga de obtener y almacenar energía, convertir nutrientes en precursores, sintetizar y degradar biomoléculas.

La alteración metabólica más característica que presentan los tumores se conoce como Efecto Warburg, en referencia al químico alemán Otto Warburg quien observó, por primera vez, que la captación de glucosa y la glucólisis, en prácticamente cualquier tipo de tumor, sucede 10 veces más rápido que en los tejidos no tumorales. El lactato aparecía como el producto final de este glucolisis independientemente de la disponibilidad de oxígeno (Warburg O, 1924).

Este descubrimiento casi centenario es hoy el fundamento del uso de un análogo marcado de la glucosa (2-fluor18-desoxiglucosa, FDG), captado a través de sus transportadores y su acumulación en las células tumorales puede detectarse mediante tomografía por emisión de positrones (Mankof , 2007, Goel R, 2017).

La gran demanda tumoral de glucosa no es sólo porque es un combustible excelente sino también porque es un precursor extremadamente versátil: puede

ser utilizada para la síntesis de polisacáridos complejos destinados al espacio extracelular, puede ser almacenada (en forma de polisacárido o de sacarosa); puede ser oxidada a un compuesto de tres carbonos (piruvato) vía glucólisis para generar ATP e intermediarios metabólicos, o puede ser oxidada por la vía de las pentosas fosfato (PPP, de sus siglas en inglés *pentosephosphatepathway*) para obtener ribosa 5-fosfato utilizada en la síntesis de ácidos nucleicos y NADPH para los procesos biosintéticos reductores.

En la glucólisis se degrada secuencialmente una molécula de glucosa dando dos moléculas de piruvato, 2 ATP y 2 NADH. La glucólisis es una ruta central, casi universal, del catabolismo de la glucosa. En ciertos tejidos y algunos tipos celulares (eritrocitos, médula renal, cerebro y espermatozoides, por ejemplo), es la única fuente de energía metabólica. En cambio, en los organismos o tejidos aeróbicos, cuando el oxígeno es suficiente, la glucólisis solo constituye el primer paso en su degradación. En presencia de oxígeno, el piruvato forma parte de la acetil-coenzima A, y posteriormente se oxida de manera completa a nivel mitocondrial en el ciclo de Krebs (de aquí en adelante TCA, del inglés *tricarboxilicacid*) acoplado a la fosforilación oxidativa generando ATP. La oxidación completa de la glucosa a CO<sub>2</sub> rinde de 30 a 32 ATP en comparación al escaso rendimiento de 2 ATP durante la glucólisis, por lo tanto, para obtener la misma cantidad de energía se requiere consumir 15 veces más glucosa. En las células tumorales, tal como ha sido mencionado el destino del piruvato es principalmente su reducción a **lactato** por la enzima lactato deshidrogenasa A (LDHA). El mismo Otto Warburg postula en 1956, que el cáncer es una consecuencia de una disfunción mitocondrial. Este postulado fue muy discutido y criticado, sin embargo, en el interior mitocondrial de la célula tumoral, el TCA puede considerarse truncado y hasta desacoplado con la fosforilación oxidativa.

Si el piruvato no ingresa a la mitocondria, el esqueleto carbonado de la glucosa no abastece el TCA de las células tumorales. Es aquí donde la glutamina, a través de la glutaminólisis resulta un nutriente crucial para la proliferación y supervivencia tumoral (De Berardinis, 2007). De esta manera, siendo el aminoácido más abundante en plasma, complementa a la glucosa en la plataforma metabólica que acompaña el crecimiento tumoral a nivel celular.

- **LOS CAMBIOS EN EL METABOLISMO OTORGAN CIERTAS VENTAJAS**

La glucólisis exacerbada puede constituir en varios aspectos una ventaja en el crecimiento del tumor. Un incremento en la producción y exportación de lactato aumenta la proliferación y la capacidad invasiva de las células tumorales, e impide el correcto funcionamiento del sistema inmune (Bonuccelli, 2010, Hirschhaeuser, 2011). El lactato también puede servir de nutriente para las células del microambiente que acompañan el crecimiento tumoral.

Por otro lado, la glucólisis se produce por completo en el citosol y no requiere de oxígeno. De esta manera, al evitarse la fosforilación oxidativa, la célula tumoral se encuentra adaptada a la hipoxia que suele suceder al crecimiento maligno.

Además, la disfunción del TCA favorece el rol anabólico mitocondrial, permitiendo que sus intermediarios se usen como precursores de macromoléculas. En este sentido, la exportación del acetil-CoA desde la matriz mitocondrial al citoplasma permite que sea utilizado para la síntesis de ácidos grasos, colesterol, e isoprenoides. En efecto, la enzima sintasa de ácidos grasos (FASN, que sintetiza los ácidos grasos de cadena larga, está “up” regulada o activada en muchos tipos de tumores malignos (Wang, 2005).

La vía de las pentosas fosfato se encuentra sobre activada en diversos tipos tumorales. A través de la fase no oxidativa de esta vía, las células tumorales disponen de precursores para sintetizar RNA, DNA y coenzimas, mientras que por la vía oxidativa se obtiene NADPH que colabora en el potencial reductor celular sumamente necesario para restablecer las defensas antioxidantes a través de la reducción del glutatión, tioredoxinas y la activación de la catalasa.

- **GENES SUPRESORES Y ONCOGENES RELACIONADOS CON LA REPROGRAMACIÓN METABÓLICA**

Los cambios en el metabolismo de la célula tumoral están mediados por conocidos oncogenes y supresores tumorales. Las vías de proliferación celular, MAPKs y PI3K/Akt, involucradas en otros aspectos de la oncogénesis, también impactan a nivel metabólico. Akt, constitutivamente activo en muchos tumores directa o indirectamente por activación de PI3K o la falta del supresor tumoral PTEN, ha sido descrito como uno de los mediadores del efecto Warburg (Vivanco, 2002). En este contexto, juega un rol muy importante mTORC1 uno de los 2 complejos proteicos que conforman la proteína (serin- treonina kinasa) mTOR (de sus siglas

en inglés “mammalian target of rapamycin”) ya que promueve la síntesis de lípidos, proteínas y nucleótidos, como también inhibe la autofagia (Saxton, 2017)

La actividad de mTOR se encuentra regulada por la enzima AMPK, el sensor por excelencia del nivel energético celular. La falta de nutrientes y la fosforilación mediada por el supresor tumoral LKB1 (del inglés Liverkinase b1) activan AMPK, y esta enzima inactiva a mTOR, disminuyendo el gasto energético en síntesis de macromoléculas y posibilitando la autofagia que permita recuperar nutrientes (Luo. Z, 2010).

Uno de los principales potenciadores de la glucólisis (también regulado indirectamente por mTOR) es el factor inducible por hipoxia (**HIF**), un factor de transcripción que se induce por estrés hipóxico, pero también por estrés oncogénico, inflamatorio, metabólico, y oxidativo. En la degradación de HIF interviene un supresor tumoral, VHL. La ausencia de VHL mantiene activo a HIF y esta activación se relaciona con la oncogénesis del carcinoma celular renal de células claras (Martínez-Sáez, 2017).

HIF1 “up” regula el transportador GLUT1, la hexoquinasa (HK) y LDHA, así como el transportador monocarboxilato 4 (MCT4) que exporta lactato fuera de la célula (Pouyssegur, 2006; Semenza, 2007). HIF también aumenta la expresión de la isoforma embrionaria de la enzima piruvato kinasa, PKM2, favoreciendo la acumulación de intermediarios de la glucólisis que luego se desvían hacia la síntesis de distintas macro moléculas.

El oncogen MYC minuciosamente regulado en la célula normal se encuentra ampliamente desregulado en las células tumorales. MYC aumenta no sólo la glucólisis, sino que su sobreexpresión se relaciona con la adicción de las células tumorales a la glutamina.

Por otro lado, p53 reprime la expresión del transportador GLUT1 al unirse a su promotor. Por lo tanto, la falta de este gen supresor puede generar un aumento del transportador de glucosa favoreciendo al efecto Warburg. También en este sentido, p53 activa TIGAR que es un inhibidor de la glucólisis. Sin embargo, el rol de p53 es muy amplio y en algunos casos contradictorio (Puzio-Kuter, 2011).

A nivel del SNC, existen evidencias que demuestran que las enzimas metabólicas IDH1 e IDH2 tienen un rol muy importante en vías alternativas de oxidación reducción siendo IDH1 la principal productora de NADPH en estas células. El metabolismo reductor ayuda a mantener un *pool* de precursores biosintéticos para sostener el rápido crecimiento tumoral (Icard, 2012).

En melanoma, el oncogen BRAF se encuentra directamente relacionado con los cambios en el metabolismo celular. Tanto es así que, la sensibilidad a inhibidores

de BRAFV600E parece depender del estado glucolítico y más aún, el desarrollo de resistencia a esta terapia se relaciona con adaptaciones metabólicas (Handerman, 2017).

- **EL METABOLISMO COMO BLANCO TERAPÉUTICO**

El conocimiento de las vías metabólicas alternativas, por las cuales se hace factible el crecimiento tumoral, hacen del metabolismo un interesante blanco terapéutico, ya sea para el desarrollo de nuevos fármacos como así también para sensibilizar, o impedir la resistencia, a otras terapias. En este aspecto, han surgido “novedosos” y resurgido “viejos” fármacos. Algunos de ellos ya cuentan con la aprobación de la FDA, pero la gran mayoría aún se halla en el marco de protocolos clínicos y preclínicos.

Entre los “novedosos” se encuentran los inhibidores de la enzima IDH12 mutada. Estas mutaciones se han visto relacionadas a la oncogénesis de gliomas y leucemias por lo que se han desarrollado inhibidores específicos como el GP-120 y el GP-122 (Mondesir, 2016).

Hace unos algunos años que existe un interés particular en la regulación de mTOR. El desarrollo de sus inhibidores lleva varias generaciones y algunos de ellos cuentan actualmente con la aprobación de la FDA para su aplicación en la clínica oncológica como Everolimus, RAD001, (Novartis) para el tratamiento de Carcinoma Renal de Células Claras (Xie J, 2016). Sin embargo, es el principio de un largo camino, ya que la regulación de mTOR es muy compleja y sus funciones no han podido bloquearse por completo.

Entre los fármacos que resurgen con nuevas aplicaciones se encuentra la metformina (MET), hipoglucemiante oral que a nivel del metabolismo celular inhibe la fosforilación oxidativa y activa indirectamente a la enzima AMPK modulando negativamente a mTOR. MET, demostró tener efectos antitumorales *in vitro* y hay un amplio número de protocolos clínicos destinados a evaluar su potencial uso en prevención, adyuvancia y tratamiento de diversas neoplasias (Pierotti, 2013; Queiroz EA, 2014, <https://clinicaltrials.gov/>).

Otra estrategia que se propone es dirigir el piruvato hacia la mitocondria con el fin de favorecer el catabolismo mitocondrial e impidiendo su conversión a lactato. En este sentido, el dicloroacetato (DCA) otra ‘vieja’ droga genérica que puede administrarse por vía oral, aumenta el flujo mitocondrial del piruvato al inhibir a la enzima piruvato deshidrogenasa kinasa (PDK) (Michelakis., 2008). Este mecanismo revierte la resistencia a la apoptosis y disminuye el crecimiento tumoral

tanto *in vitro* como *in vivo* acompañado de una toxicidad relativamente baja (Michelakis, 2008, Sutendra, 2013).

Los fármacos mencionados aquí son solo algunos ejemplos relevantes. La lista es muy extensa ya que la complejidad del metabolismo y sus potenciales moduladores ofrece un amplio campo de investigación básica y clínica.

## Referencias

- Arbe MF, Glikin GC, Finocchiaro LME, Villaverde MS. Glucose 6-phosphate dehydrogenase inhibition sensitizes melanoma cells to metformin treatment". *Biocell* 40 (S1), 96 (2016).
- Fischer, K., Hoffmann, P., Voelkl, S., Meidenbauer, N., Ammer, J., et al. (2007). Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood* 109, 3812–3819.
- Goel R, Subramaniam RM, Wachsmann W. PET/Computed Tomography Scanning and Precision Medicine: Cancer. *PET lin.* 2017 Oct;12(4):373-391. doi: 10.1016/j.cpet.2017.05.001. Epub 2017 Jul 28. Review.
- Hardeman KN, Peng C, Paudel BB, et al. Dependence on Glycolysis Sensitizes BRAF-mutated Melanomas For Increased Response To Targeted BRAF Inhibition. *Scientific Reports*.2017;7: 42604..
- Koukourakis, M.I., Giatromanolaki, A., Harris, A.L., and Sivridis, E. (2006). Comparison of metabolic pathways between cancer cells and stromal cells in colorectal carcinomas: a metabolic survival role for tumor-associated stroma. *Cancer Res.* 66, 632–637.
- Lehninger Principios de Bioquímica 5ª Edición.
- Lopez-Rios, F., Sanchez-Arago, M., Garcia-Garcia, E., Ortega, A.D., Berrendero, J.R. et al (2007). Loss of the mitochondrial bioenergetic capacity underlies the glucose avidity of carcinomas. *Cancer Res.* 67, 9013–9017.
- Luo Z, Zang M, Guo W. AMPK as a metabolic tumor suppressor: control of metabolism and cell growth. *Future oncology* (London, England). 2010;6(3):457-470.
- Mankoff, D.A., Eary, J.F., Link, J.M., Muzi, M., Rajendran, J.G., Spence, A.M., and Krohn, K.A. (2007). Tumor-specific positron emission tomography

imaging in patients: (18F) fluorodeoxyglucose and beyond. *Clin. Cancer Res.* 13, 3460–3469.

- Martínez-Sáez O, GajateBorau P, Alonso-Gordoa T, Molina-Cerrillo J, Grande E. Targeting HIF-2  $\alpha$  in clear cell renal cell carcinoma: A promising therapeutic strategy. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017 Mar; 111:117-123. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.01.013. Epub 2017 Jan 28. Review.
- Mazurek, S., Boschek, C.B., Hugo, F., and Eigenbrodt, E. (2005). Pyruvate kinase type M2 and its role in tumor growth and spreading. *Sem Cancer Biol.* 15, 300–308.
- Michelakis ED (2008). DCA as a potential metabolic-targeting therapy for cancer. *Br J Cancer* 99, 989 – 994
- Mondesir J, Willekens C, Touat M, de Botton S. IDH1 and IDH2 mutations as novel therapeutic targets: current perspectives. *Journal of Blood Medicine.* 2016; 7:171-180.
- Pierotti MA (2013). Targeting metabolism for cancer treatment and prevention: metformin, an old drug with multi-faceted effects. *Oncogene.* 32(12):1475-87. Review.
- Pouyssegur, J., Dayan, F., and Mazure, N.M. (2006). Hypoxia signaling in cancer and approaches to enforce tumour regression. *Nature* 441, 437–443.
- Puzio-Kuter AM. The Role of p53 in Metabolic Regulation. Levine AJ, ed. *Genes & Cancer.* 2011;2(4):385-391.
- Queiroz EA, Puukila S, Eichler R, Sampaio SC, Forsyth HL, Lees SJ, Barbosa AM, Dekker RF, Fortes ZB, Khaper N. (2014). Metformin Induces Apoptosis and Cell Cycle Arrest Mediated by Oxidative Stress, AMPK and FOXO3a in MCF-7 Breast Cancer Cells. *PLoS One.* May 23;9(5)
- Saxton RA, Sabatini DM. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell.* 2017;168(6):960-976.
- Semenza, G.L. (2007). Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) pathway. *Sci. STKE* 2007, cm8.
- Stine ZE, Walton ZE, Altman BJ, Hsieh AL, Dang CV. MYC, Metabolism, and Cancer. *Cancer discovery.* 2015;5(10):1024-1039.
- Sutendra G, Michelakis ED. PDK as a novel therapeutic target in oncology. *Front Oncol.* (2013) Mar 7; 3:38.
- Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:489–501.

- Wang, H.Q., Altomare, D.A., Skele, K.L., Poulikakos, P.I., Kuhajda, F.P., Di Cristofano, A., and Testa, J.R. (2005). Positive feedback regulation between AKT activation and fatty acid synthase expression in ovarian carcinoma cells. *Oncogene* 24, 3574–3582.
- Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science*. 1956 Feb 24;123(3191):309-14.
- Warburg, O., Posener, K., and Negelein, E. (1924). U"ber den Stoffwechsel der Tumoren. *Biochem. Z.* 152, 319–344.
- Xie J, Wang X, Proud CG. mTOR inhibitors in cancer therapy. *F1000Research*. 2016; 5: F1000 Faculty Rev-2078.
- Yang W, Lu Z. Regulation and function of pyruvate kinase M2 in cancer. *Cancer letters*. 2013;339(2):153-158.