

## Ingrés d'Acadèmics corresponents

# EL DOLÇ CAMÍ DE LES CEL·LULES TUMORALS

**Ramon Bartrons i Bach**

Acadèmic corresponent.

### INTRODUCCIÓ

Els primers estudis sobre metabolisme de cèl·lules tumorals varen ser publicats pel bioquímic alemany Otto Warburg en el llibre «*El metabolisme dels tumors*» on plantejava la possible relació entre l'origen dels tumors i els canvis metabòlics de les cèl·lules tumorals (1). Warburg va posar a punt un manòmetre que li permetia mesurar el consum d'oxigen de cèl·lules i talls de teixits. Amb aquest nou mètode va poder demostrar que les cèl·lules tumorals tenien una ràpida i intensa glicòlisi, en la qual la glucosa s'oxidava fins a lactat, encara que hi hagués oxigen abundant en el medi. Aquest fet, anomenat "*efecte Warburg*", és característic de cèl·lules proliferants i transformades. Warburg considerava que el càncer es produïa com a conseqüència de defectes en la respiració mitocondrial, que forçaven la cèl·lula a canviar a una forma més primitiva d'obtenció d'energia, la glicòlisi (1). Posteriorment, altres investigadors van qüestionar aquesta hipòtesi. Alguns tumors no tenen defectes en la respiració i, a més, aquesta exerceix un efecte regulador de la glicòlisi (2). L'*efecte Warburg* es va anar oblidant pel protagonisme que anava tenint la biologia molecular, donant pas a la idea predominant de que el càncer era una malaltia produïda per mutació de gens relacionats amb proliferació.

### EL FENOTIP GLICOLÍTIC

El ressorgiment del paper de la bioenergètica en el càncer s'inicià a començaments dels anys 90's quan els radiòlegs van mostrar que la tomografia d'emissió del positró (PET) podia detectar la majoria de tumors i metàstasis. Aquesta tècnica ha posat de relleu l'avidesa de les cèl·lules canceroses per la glucosa. La majoria de tumors presenten una captació de glucosa que és força superior a la dels teixits normals i hi ha una correlació directa entre l'agressivitat del tumor i la taxa d'utilització de glucosa (3).

La majoria de cèl·lules tumorals, de manera semblant a les proliferants, presenten un metabolisme energètic marcadament modificat en comparació a les cèl·lules diferenciades. En concret, s'ha observat de forma consistent el canvi d'un metabolisme basat en la respiració a un altre eminentment glicolític, tal com havia descrit Warburg (1,3-5). Diversos gens glicolítics o relacionats amb la glicòlisi es troben sobreexpressats sistemàticament en molts

tipus de càncer i formen part d'una característica comuna que es pot utilitzar per diagnosticar la malignitat d'un tumor i la seva possible resposta terapèutica (3). Aquestes dades han fet considerar el fenotip glicolític i l'avidesa de glucosa com un signe distintiu de la cèl·lula tumoral.

### QUINS AVANTATGES TENEN LES CÈL·LULES AMB FENOTIP GLICOLÍTIC ?

El fenotip glicolític té avantatges selectius per la proliferació i supervivència de les cèl·lules, el què explicaria per què aquesta estratègia metabòlica es troba en la majoria de tumors. El fenotip glicolític dóna a la cèl·lula la capacitat per captar quantitats de glucosa un ordre de magnitud superior a la cèl·lula normal, degut a l'augment de transportadors de glucosa (Glut) (5). A més, la sobreexpressió d'isoenzims glicolítics específics permet obtenir un alt flux d'oxidació de glucosa a lactat i generar metabòlits fosforilats, assegurant concentracions d'ATP i intermediaris biosintètics compatibles amb les exigències de la ràpida proliferació de les cèl·lules tumorals (3-5). La condició necessària per poder mantenir aquest alt flux és que hi hagi suficient aport de glucosa i que les cèl·lules puguin desprendre lactat. Encara que el rendiment en la producció d'ATP per la glicòlisi és baix, si el flux glicolític és prou alt, el percentatge d'ATP generat per la glicòlisi pot arribar a superar el de la respiració mitocondrial (5). D'altra banda, l'acidesa, generada pel gradient en la concentració de lactat, pot afectar a les cèl·lules dels teixits veïns. S'ha demostrat que l'exposició perllongada de les cèl·lules normals a un microambient àcid induïx apoptosi (mort cel·lular programada), contràriament al que succeeix en les cèl·lules tumorals (3). Aquesta estratègia es considera que proporciona un avantatge de creixement a la cèl·lula tumoral, tot i que les fa en gran mesura dependents de la disponibilitat de glucosa per la seva supervivència.

A més d'ATP i nucleòtids, la cèl·lula proliferant necessita macromolècules com àcids grassos, lípids, proteïnes i nucleòtids (5). Per aconseguir-ho, la cèl·lula capta del medi dos nutrients abundants, glucosa i glutamina, i els transforma en energia i precursors biosintètics. La glutamina, així, apareix com el segon substrat principal de les cèl·lules tumorals, facilitant l'aport de nitrogen per a la biosíntesi d'aminoàcids i nucleòtids.

## COM PODEM EXPLICAR L'AVIDESA DE GLUCOSA DE LES CÈL·LULES TUMORALS?

Actualment, comencem a conèixer els factors i vies responsables de l'aparició d'aquest dolç fenotip que succeeix en les cèl·lules tumorals. S'han estudiat molts gens que hi són implicats: oncogens, com RAS i c-MYC, o gens supressors, com p53, i pVHL (von Hippel-Lindau), a més d'altres factors, com HIF (Hypoxia Inducible Factor) o factors de creixement. Encara que el canvi al fenotip glicolític no fos un requisit imprescindible per a la transformació maligna, la gran majoria d'estudis indiquen que és un fenomen important, associat a un avantatge de supervivència per a la cèl·lula en l'entorn tumoral.

Un dels descobriments importants en l'explicació de l'aparició del fenotip glicolític el va fer el grup de Greg Semenza (6), caracteritzant el factor induïble per hipòxia (HIF), que exerceix una funció essencial en el manteniment de l'homeòstasi respiratòria en situacions de baixa pressió parcial d'oxigen. HIF controla l'expressió de molts gens, induint canvis fisiològics que permeten a les cèl·lules sobreviure en condicions d'hipòxia. Aquests gens estan involucrats en el transport d'oxigen, angiogènesi, captació de glucosa, glicòlisi, senyalització per factors de creixement, apoptosi, invasió i metàstasi (6). HIF es troba freqüentment sobreexpressat en els càncers humans i és un element clau per explicar el fenotip glicolític. En les cèl·lules canceroses, HIF induïx sobreexpressió de transportadors de glucosa i augment d'activitat d'isoenzims glicolítics que afavoreixen el fenotip glicolític.

### LA FRU-2,6-P<sub>2</sub> I LA REGULACIÓ DE LA GLICÒLISI

El nostre grup de recerca ha estat estudiant durant els darrers anys els gens i enzims responsables de la síntesi i degradació d'un metabòlit regulador de la glicòlisi, la Fructosa 2,6-bisfosfat (Fru-2,6-P<sub>2</sub>), descobert a començaments dels anys 80's en el laboratori del Professor Henry G. Hers (7). Aquest metabòlit és el més potent activador al·lostèric de la Fosfofructocinasa (PFK-1), enzim regulador de la via. Els canvis en la concentració d'aquest metabòlit modulen l'activitat de l'enzim i el flux glicolític (7) (Figura 1). La concentració de la Fru-2,6-P<sub>2</sub> depèn de l'activitat d'un grup d'enzims bifuncionals homodimèrics, anomenats 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa (PFK-2/FBPasa-2), que catalitzen la síntesi i degradació de la Fru-2,6-P<sub>2</sub> (4,7-9). Aquests isoenzims mostren diferències en la seva distribució en cèl·lules i teixits, en les propietats cinètiques i en resposta als efectors al·lostèrics, hormonals, i factors de creixement (8).

Els diferents isoenzims són el resultat de quatre gens (PFKFB1-4) (8). El gen més abundant en les cèl·lules canceroses és el PFKFB3 que es troba, també, en totes les cèl·lules proliferants (4). L'alta activitat cinasa d'aquest isoenzim pot explicar l'alta concentració de Fru-2,6-P<sub>2</sub> que es troba en les cèl·lules tumorals i, al seu torn, les altes taxes de glicòlisi. L'expressió del gen PFKFB3 es pot activar per insulina i factors de creixement, HIF, LPS i adenosina o progesterona (4). La inducció del gen PFKFB3 té un efecte potenciador del fenotip glicolític en les cèl·lules tumorals.

Un altre gen important en la regulació del fenotip glicolític és el gen supresor tumoral TP53, responsable de la síntesi de la proteïna

p53. En resposta a estrès cel·lular, activació de determinats oncogens o dany en el DNA, la proteïna p53 s'estabilitza i activa l'expressió de nombrosos gens. Aquests gens diana indueixen una gran varietat de respostes cel·lulars, incloent l'aturada del cicle cel·lular, la reparació del DNA, la senescència o l'apoptosi (10). Un dels gens induïts per p53 es va clonar i caracteritzar per la Dra. Karen Vousden i el nostre grup, i es va anomenar TIGAR (*TP53-Induced Glycolysis and Apoptosis Regulator*) (11). És un nou isoenzim de la família de gens PFKFBs que comparteix similituds estructurals i funcionals amb els isoenzims PFK-2/FBPasa-2, amb una particularitat important: no té el domini cinasa. Així, l'enzim TIGAR té només activitat Fru-2,6-P<sub>2</sub> bisfosfatasa i catalitza la hidròlisi de la Fru-2,6-P<sub>2</sub>, frenant la glicòlisi i redirigint l'oxidació de glucosa cap a la via de les pentoses fosfat, fonamental per a produir NADPH, energia en forma de poder reductor (Figura 1). Una conseqüència de la derivació de l'oxidació de glucosa cap a les pentoses-fosfat i l'augment consecutiu de generació de NADPH és l'augment del glutatió reduït (GSH), substrat reductor necessari per la reconversió de les espècies reactives de l'oxigen (ROS). L'expressió del gen TIGAR protegeix les cèl·lules enfront els ROS i l'apoptosi induïda pels danys oxidatius en el DNA. D'aquesta manera, la inducció de TIGAR, a través de p53, pot donar estabilitat genòmica (10,11). A més, l'activació de la via de les pentoses permet dirigir l'esquelet carbonat de la glucosa cap a la síntesi de nucleòtids, essencials per la reparació de lesions i síntesi del DNA. Un altre efecte important de p53 és el d'estimular la respiració, induint l'expressió d'un gen de la cadena respiratòria mitocondrial, la citocrom C oxidasa (COX) (10). Durant l'oncogènesi, aquests passos queden alterats, ja que en les cèl·lules transformades solen acumular-se defectes en la via de p53, deixant d'incloure TIGAR i COX, i afavorint el fenotip glicolític.

### IMPLICACIONS TERAPÈUTIQUES

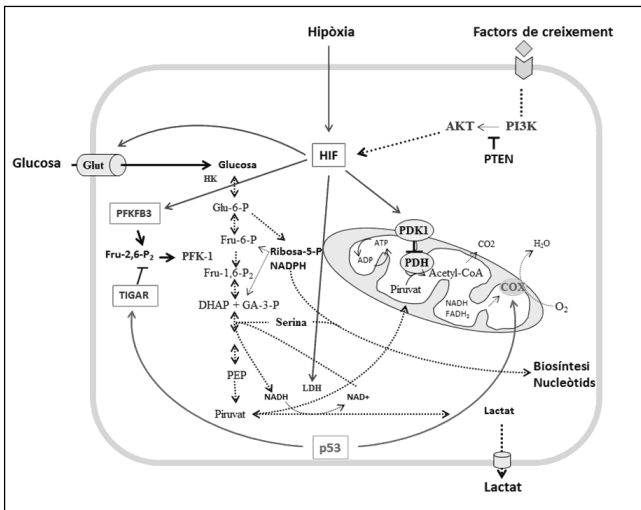
La dependència de les cèl·lules canceroses del consum de glucosa ha permès dissenyar diferents propostes terapèutiques. Des del punt de vista farmacològic, les drogues capaces de pertorbar el metabolisme, específicament la glicòlisi, han esdevingut cada vegada més interessants. En relació als gens estudiats pel nostre grup, hem pogut demostrar que bloquejant l'expressió del gen PFKFB3 disminueix la glicòlisi, la proliferació cel·lular i el creixement independent d'ancoratge (12). Igualment, el grup de Jason Chesney ha desenvolupat un inhibidor de la PFKFB3 que suprimeix el flux glicolític i té un efecte citostàtic per les cèl·lules neoplàstiques i tumors (9). També, recentment, hem demostrat que el bloqueig del gen TIGAR converteix a les cèl·lules de Glioblastoma més sensibles a radioteràpia (13).

És evident que la glicòlisi de les cèl·lules canceroses és un fenomen complex en el qual aquesta i altres vies metabòliques es reprogramen per tal de millorar l'obtenció d'energia i la síntesi de biomolècules, necessàries per la proliferació cel·lular. La comprensió de la regulació dels gens i isoenzims glicolítics ha de tenir, ben segur, implicacions en el diagnòstic, pronòstic i desenvolupament de teràpies més selectives contra el càncer.

**REFERÈNCIES**

1. Warburg O. On the origin of cancer cells. Science 1956; 123: 309-14.
2. Chance B. Was Warburg right? Or was it that simple?. Cancer Biol Ther 2005; 4: 125-6.
3. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis?. Nat Rev Cancer 2004; 4: 891-9.
4. Bartrons R, Caro J. Hypoxia, glucose metabolism and the Warburg's effect. J Bioenerg Biomembr 2007; 39: 223-9.
5. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 2009; 324: 1029-33.
6. Semenza GL. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine. Cell 2012; 148: 399-08.
7. Rider M, Bartrons R. Fructose 2,6-bisphosphate: the last milestone of the 20th century in metabolic control. Biochem. J. 2010; Classic papers, doi:10.1042/BJ20091921, 1-6.
8. Okar DA, Manzano A, Navarro A, Riera L, Bartrons R, Lange AJ. PFK-2/FBPase-2:

- maker and breaker of the essential biofactor fructose-2,6-bisphosphate. Trends Biochem Sci 2001; 26: 30-5.
9. Chesney J. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase and tumor cell glycolysis. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2006; 9: 535-9.
10. Vousden KH, Prives C. Blinded by the Light: The Growing Complexity of p53. Cell 2009; 137: 413-31.
11. Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MN, Nakano K, Bartrons R, Gottlieb E, Vousden KH. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. Cell 2006; 126: 107-20.
12. Calvo MN, Bartrons R, Castaño E, Perales JC, Navarro A, Manzano A. PFKFB3 gene silencing decreases glycolysis, induces cell-cycle delay and inhibits anchorage-independent growth in HeLa cells. FEBS Lett 2006; 580: 3308-14.
13. Peña MA, Calvo MN, Villalonga R, Martínez F, Giménez P, Navarro À, Tortosa A, Bartrons R, Manzano A. TP53 induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR) knockdown results in radiosensitization of glioma cells. Radiother Oncol 2011; 101: 132-9.



**Figura 1. Efecte Warburg.** En les cèl·lules canceroses hi ha un augment de l'oxidació de glucosa fins a lactat, encara que hi hagi concentracions d'oxigen adequades. L'activació d'AKT per factors de creixement indueix transportadors de glucosa (Glut) i estableix HIF (Hypoxia Inducible Factor). El factor induïble per hipòxia (HIF) indueix gens d'isoenzims glicolítics (PFKFB3, HK-2, M2-PK, LDH-A, etc.) que faciliten un alt flux en aquesta via metabòlica. L'isoenzim PFKFB3 incrementa la Fructosa 2,6-P<sub>2</sub> i estimula la Fosfofructocinasa (PFK-1), enzim modulador de la via. HIF també indueix l'enzim mitocondrial Piruvat Deshidrogenasa Cinasa (PDK1), que fosforila la Piruvat deshidrogenasa (PDH) i inhibeix l'entrada de piruvat al cicle de Krebs. Contràriament, p53 estimula la respiració induint Citocrom C oxidasa (COX) i frena la glicòlisi a través de la inducció de TIGAR, que disminueix la Fructosa 2,6-P<sub>2</sub> i desvia l'oxidació de glucosa cap a la via de les pentoses, produint NADPH (poder reductor) i Riboses 5-fosfat.

**RAMON BARTRONS I BACH**

- Nascut a Prats de Lluçanès (Osona) el 3-01-1953
  - Llicenciat en Medicina i Cirurgia (UB, 1977) i Doctor (UB, 1981).
  - Especialista en Anàlisi Clínics.
  - Estada Postdoctoral (1981-1983) al International Institute of Cellular and Molecular Pathology de la Universitat de Lovaina a Brussel·les.
  - Professor Ajudant (1977-1980), Professor Encarregat (1980), Professor Adjunt contractat (1981-1983), Professor Titular (1984-1988) i Catedràtic de Bioquímica i Biologia Molecular (1988-) de la Facultat de Medicina de la UB.
  - Degà en funcions (1995-1998) de la Facultat d'Odontologia i Director del Departament de Ciències Fisiològiques II (2005-) de la Facultat de Medicina de la UB.
  - President (1995-2000) de la Societat Catalana de Biologia i Membre Numerari de l' Institut d'Estudis Catalans (2000)
  - Acadèmic electe corresponent RAMC (2011).
  - Ingress corresponent: 16-06-2012.
- Resposta: Dr. Josep Carreras i Barnés.

