



Sección de Biología
Universidad de La Laguna

**Revisión bibliográfica sobre el papel del metabolismo
en el cáncer**

**Review of the role of cellular metabolism on human
cancer**

Trabajo de Fin de Grado

DANIEL BARRETO AFONSO

Tutorizado por Guido Santos Rosales.

Grado en Biología. Junio 2022

Agradecimientos

A mi abuelo Carlos. No tengo palabras para agradecerte una vida de trabajo por y para tu familia. Muchísimas gracias por celebrar los éxitos de tus nietos como si fueran tuyos. Eres un espejo en el que mirarme y mi mayor orgullo. Te quiero muchísimo, abuelo. Este trabajo va por ti.

Índice

Resumen.....	4
Abstract	4
Introducción	4
Objetivos	6
El metabolismo del cáncer.	6
El efecto Warburg	6
¿Por qué cambiar a un metabolismo menos eficiente energéticamente?	8
¿Qué requerimientos tiene una célula para proliferar?	9
Regulación metabólica.	10
¿Qué provoca el cambio de fosforilación oxidativa a glicólisis aeróbica?	11
Las señales de identidad del cáncer.....	16
Insensibilidad a señales inhibitorias del crecimiento.....	16
Evitar la apoptosis.	17
Potencial proliferativo casi ilimitado.....	18
Inestabilidad genómica y mutacional.	18
Reprogramación de la energía metabólica.	19
Captación desregulada de glucosa y aminoácidos.....	20
Empleo de modos oportunistas de adquisición de nutrientes.	21
Intermediarios glicolíticos o del ciclo de Krebs para la síntesis y producción de NADPH.....	22
Aumento en la demanda de nitrógeno.	25
Alteraciones en la regulación de genes por metabolitos.....	27
Interacciones metabólicas con el microentorno.....	28
Empleo del metabolismo para tratar el cáncer.....	29
Conclusiones	31
Conclusions	31
Bibliografía	32

Resumen

Alrededor de los años cincuenta se describieron por primera vez las diferencias metabólicas entre una célula cancerígena y una célula sana. A raíz de este descubrimiento han sido muchos los autores que han tratado de profundizar aún más en estas características. Se han descrito exitosamente algunas de las cualidades más importantes de los cánceres, aunque existen diferencias entre los distintos tipos, e incluso dentro de las propias masas. Para que una masa tumoral se torne maligna ha de evadir ciertas barreras fisiológicas y metabólicas que han establecido las células sanas, como por ejemplo la apoptosis, y adquirir una serie de características que le permitan eventualmente invadir exitosamente otros tejidos. Recientemente estas diferencias metabólicas han tratado de emplearse como posibles objetivos terapéuticos para tratar el cáncer, aunque los resultados obtenidos hasta ahora no han sido lo suficientemente exitosos o se encuentran en estadios muy tempranos del ensayo clínico.

Abstract

Around 1950's differences between the metabolic routes of a cancerous and a normal cell came alight. Since this finding, many scientist have tried to fathom this acquired features. Some of the most important features acquired by cancer cells have already been described, even though there are still some differences between types of cancer or even inside the same growth. In order for a tumour to grow malignant, it must evade some physiological and metabolical barriers (such as apoptosis) and acquire eventually some features that allow them to successfully invade other tissues. This metabolic differences have recently been scouted as a therapeutic target, even though the trials have not been successfully enough or they are in early-state on their clinical trials.

Introducción

Aunque antes de 1950 se asumiera que las células cancerígenas se comportaban metabólicamente igual que las células sanas, esta premisa era incorrecta. Los trabajos de Otto Warburg (Warburg, 1956), demostraron la existencia de diferencias entre ambos tipos de células. Apreció un aumento en la producción y excreción de lactato al medio por este tipo de células (Vaupel et al., 2019). Este descubrimiento provocó que muchos grupos de trabajo trataran de explicar el motivo del como efecto Warburg. A principios del siglo XX, en base a observaciones llevadas a cabo en combatientes que habían sido expuestos a gas mostaza durante la Primera Guerra Mundial, comenzaron a desarrollarse los primeros medicamentos anti-cancerígenos. A pesar de esto, los primeros tratamientos

efectivos para el cáncer no surgieron hasta la década de los 60, especialmente para la leucemia infantil. Fue en esta década cuando se describió que los medicamentos empleados para tratar el cáncer no mataban un número concreto de células, sino una fracción concreta, de manera que cuanto más grande fuera el tumor, menor probabilidad de éxito habría en el tratamiento. Uno de los medicamentos más extendidos y con una mayor tasa de éxito fue el compuesto conocido como VAMP (vincristina, ametopterina, 6-mercaptopurina y prednisona). No fue hasta 1990 que empezó a apreciarse una disminución relevante en la mortalidad. Esta ha seguido disminuyendo cada año, hasta que incluso en 2007 se dobló la tasa de supervivencia con respecto a los datos de 2005. (DeVita & Chu, 2008).

En los datos recabados en el año 2012 se establecieron los casos detectados de cáncer y las muertes producidas por este. Se calcula que surgieron alrededor de 14 millones nuevos casos de cáncer y unas 8 millones de muertes. En este caso, el cáncer más frecuente y con una mayor mortalidad fue el de pulmón, probablemente por el elevado número de fumadores que existen, (1.8 millones de casos y 1.6 millones de muertes), seguido del cáncer de mama como más frecuente (aunque el quinto en el ranking de mortalidad) con un total de 1.7 millones de casos y alrededor del medio millón de fallecidos. En tercer lugar, se sitúa el cáncer de colon con 1.4 millones de casos y casi 700000 muertes. (Ferlay et al., 2015)

Sin embargo, a pesar de todos los avances conseguidos con la quimioterapia, son escasos los avances logrados en el campo del metabolismo cancerígeno. Para que existan avances significativos en este ámbito es necesario conocer en profundidad la compleja naturaleza de las redes metabólicas y cómo cada cáncer es capaz de adaptarse para suplir sus necesidades. Buscar un tratamiento inhibitorio de enzimas metabólicas abre a su vez una serie de problemas nuevos, ya que es frecuente que las enzimas metabólicas, ya sea por su complejidad estructural o fisiológica son más difíciles de regular que las proteínas quinasas, que son el objetivo más común de las terapias dirigidas. (Jones & Schulze, 2012).

A pesar de las complicaciones que presenta el desarrollo de nuevas sustancias inhibitorias del metabolismo, es un campo prometedor debido a su complejidad y su falta de explotación. Es cierto que actualmente los inhibidores desarrollados no tienen una eficacia lo suficientemente importante, pero el desarrollo de nuevos fármacos combinados con las terapias actuales permitirá eventualmente una mejora significativa en la prognosis de los pacientes.

Objetivos

En este trabajo se hará un análisis de la evolución de los hechos e incógnitas que rodean el metabolismo del cáncer, desde la descripción del efecto Warburg, pasando por los requerimientos energéticos de una célula tumoral, el uso que hacen estas células de sus metabolitos, las distintas señas de identidad del cáncer, así como las terapias metabólicas actuales, su estado de desarrollo y las distintas perspectivas de futuro respecto a este tema.

El metabolismo del cáncer.

El efecto Warburg

A raíz de haber observado un aumento en la secreción de lactato por parte de las células cancerosas (Warburg, 1956), Warburg infirió que las células cancerígenas presentaban algún tipo de deficiencia estructural que les impedía llevar a cabo la respiración celular con normalidad.

Descartando la fermentación aeróbica por su alta dependencia de factores exógenos, a Warburg solo le quedó confiar en que la respiración de las células cancerígenas se encuentra dañada. Pero esta afirmación daba lugar a una pregunta a la que trató de dar respuesta. ¿Qué causa el daño en la respiración de las células? Basándose en otros trabajos, Warburg dedujo que, si el problema en la respiración de la célula cancerosa es que se produce muy poco ATP, podría estar causado por dos motivos: que la consumición de oxígeno se encuentre mermada o, si la consumición de oxígeno es normal, el problema se encontraría entonces en el punto de conexión entre la respiración y el proceso de síntesis del ATP. (Warburg, 1956)

A pesar de que las células cancerígenas recurran a la fermentación para la obtención de energía, siguen necesitando parte de la energía que les aporta la respiración. La respiración celular es un elemento clave para el mantenimiento de la estructura de la célula. Si la respiración es inhibida por completo, la propia estructura de la célula colapsa. Esta premisa es apoyada por el hecho de que los organismos unicelulares más simples, como las levaduras, emplean la fermentación como su fuente principal de ATP, pero requieren una cierta energía proveniente de la respiración.

Retomando de nuevo los trabajos de Lynen, Warburg puntualizó una serie de circunstancias bajo las cuales los mecanismos de respiración celular se ven mermados. Por ejemplo, si se exponen las células de tejido embrionario a un déficit de oxígeno y luego se establecen de nuevo unas condiciones normales de oxígeno, aproximadamente

el 50% de las células del tejido pierden casi por completo la capacidad de llevar a cabo la respiración. Sin embargo, este no es el único método por el cual la respiración puede verse afectada. Warburg postuló en su momento una serie de sustancias tóxicas que mermaban la respiración de las células independientemente de que las células se encontraran en medios con concentraciones normales de oxígeno, como por ejemplo el ácido sulfhídrico y algunos de sus derivados (tiourea o tioacetamida) o el uretano.

A pesar de la existencia de estas sustancias, Warburg las descartó como causa más frecuente. Aceptó que la mayoría de las deficiencias respiratorias en el cáncer tenían su origen en una serie de privaciones intermitentes de oxígeno. Sentenció además que las lesiones en las células debían ser acumulativas, debido al hecho de que son irreversibles. Una exposición prolongada a una sustancia tóxica (o un periodo largo en ausencia de oxígeno), resulta menos lesiva que una serie de exposiciones breves a esa misma sustancia (o la privación intermitente de oxígeno). (Warburg, 1956)

El hecho de que las células cancerígenas sean incapaces de llevar a cabo la respiración no explica por qué se produce un aumento tan drástico de su actividad fermentadora. No existe ningún agente químico o genético que induzca un aumento de la fermentación, de manera que la única forma de aumentar la importancia de este proceso es con tiempo y un número alto de divisiones mitóticas. Apoyándose en los trabajos de Dean Burk, Warburg dedujo el motivo de la existencia del periodo de latencia del cáncer. Warburg relacionó este periodo con el periodo durante el cual las células cuya respiración se ha visto dañada se dividen. Estableció también que el motor que empuja a las células a recurrir fermentación es la falta de energía bajo la cual funcionan las células tras perder su función respiratoria. Se produce una selección de fenotipos: las células con menor capacidad fermentativa acaban muriendo mientras que las más capaces se dividen.

Fruto de las evidencias que Warburg encontró durante su investigación, le surgió otra pregunta relacionada con la estructura. ¿A qué se debe que cuando una célula se vuelve cancerosa pierda su diferenciación? A primera vista, parecería que realmente no importa de qué ruta metabólica obtenga una célula su energía. Tanto si una célula respira como si fermenta, el resultado que obtiene no deja de ser ATP. Sin embargo, los requerimientos estructurales de una célula fermentadora son mucho menores que los que tiene una célula que sigue conservando su capacidad respiratoria. Principalmente porque la respiración se lleva a cabo dentro de las mitocondrias mientras que la fermentación se lleva a cabo por enzimas libres localizadas libres en el citoplasma (en su mayoría).

Retomando el ejemplo de las levaduras, es lógico el hecho de que las células cancerígenas tiendan a desdiferenciarse para maximizar su producción fermentadora.

A raíz de esta observación, Warburg se fijó en una consecuencia de esta reprogramación de su estructura. Si una muestra de células cancerígenas junto a células sanas es irradiada con rayos X suceden dos cosas: las células cancerígenas pierden el pequeño reducto de respiración que poseían y acaban muriendo. Por otra parte, algunas de las células sanas morirán, mientras que otras podrán suplir su pérdida de capacidad respiratoria y sobrevivir, convirtiéndose después de un cierto tiempo y número de divisiones en células cancerígenas. Ambos eventos suceden por de dañar el mecanismo respiratorio de las células: si un mecanismo ya dañado recibe más daño, la célula acaba muriendo y dañar un mecanismo aún sano tiene un efecto carcinógeno. (Warburg, 1956)

¿Por qué cambiar a un metabolismo menos eficiente energéticamente?

Son muchos los autores que a partir del trabajo de Warburg trataron de profundizar en los requerimientos y las características metabólicas de las células cancerígenas. Con el tiempo, se descubrió que su premisa era errónea: las estructuras respiratorias de las células no se encuentran dañadas. Acertó describiendo que las células cancerígenas cambiaban su metabolismo y adoptaban la glicólisis aeróbica como fuente principal de ATP. Al igual que él, muchos autores han tratado de comprender el motivo que subyace a este hecho. ¿Por qué cambiar un tipo de metabolismo más eficiente energéticamente por otro? En términos de rendimiento energético, el metabolismo que convierte la glucosa en lactato rinde solamente 2 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa mientras que la fosforilación oxidativa rinde hasta 36 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa.

Al igual que las células quiescentes, las células en un estado proliferativo presentan unas proporciones concretas de ATP/ADP y NADH/NAD⁺. Pequeños cambios en la proporción de ATP/ADP pueden llegar a impedir el crecimiento celular. Existen evidencias de que, bajo concentraciones deficientes de ATP, la célula puede llegar a entrar en apoptosis, aunque la célula cuenta con una serie de mecanismos para evitar esto. El mejor y más estudiado viene regulado por la actividad de las enzimas adenilato quinasas. Estas enzimas, promueven la síntesis de una molécula de ATP (y otra de AMP) a partir de 2 moléculas de ADP para mantener estable la proporción ATP/ADP.

El hecho de que el metabolismo de la célula cambie a uno menos eficiente energéticamente solo acepta dos posibles explicaciones: el ATP no es un factor limitante en su proliferación o una célula proliferativa necesita algo más que pura energía. (Vander Heiden et al., 2009)

¿Qué requerimientos tiene una célula para proliferar?

Entonces, si la célula realmente necesita algo más que energía, ¿qué es lo que necesita exactamente para proliferar? A pesar de que se emplea la hidrólisis del ATP como fuente de energía libre para las reacciones bioquímicas, la síntesis de ciertas moléculas esenciales para la proliferación celular requiere algo más que energía. Una célula no puede permitirse destinar el grueso de su glucosa a la obtención de ATP.

Las dos moléculas cuyo catabolismo es más apreciable en condiciones de cultivo en células de mamíferos son la glucosa y la glutamina. Esto implica que estas dos moléculas aportan a la célula la mayoría del carbono, nitrógeno, poder reductor y energía libre que necesitan para poder mantener su crecimiento y proliferar.

Factores de crecimiento de la célula se encargan de regular la actividad de la piruvato quinasa. La influencia de estos factores en la enzima puede inducir el empleo de metabolitos de glucosa en otras rutas bioquímicas. Otra enzima especialmente importante en el metabolismo de células cancerígenas es la lactato deshidrogenasa, pues esta enzima juega un papel en la conversión de glucosa y glutamina en lactato. La inhibición de esta enzima causa una ralentización en la proliferación celular. (Vander Heiden et al., 2009)

La mayoría de los átomos de carbono necesarios para la síntesis de ácidos grasos proviene de la glucosa. La glucosa se transforma en piruvato y una vez dentro de la matriz mitocondrial, este se transforma en acetil-CoA. Esta acetil-CoA se emplea para la formación de citrato en el ciclo de Krebs. Una vez el citrato se ha formado, es excretado de nuevo al citoplasma donde, mediante la acción de la enzima ATP citrato liasa, es convertido de nuevo a acetil-CoA y esta se emplea como fuente de carbono para las cadenas lipídicas en crecimiento. A pesar del papel central de la glucosa en la síntesis de ácidos grasos, la glutamina también se encarga de mantener la producción de citrato en la matriz mitocondrial, pero transfiriendo carbono en forma de oxalacetato.

En base a estos hechos, parece que además de ser un metabolismo menos eficiente energéticamente hablando, también es un metabolismo que no emplea del todo bien sus recursos. Si el papel de la glucosa en las células proliferativas es esencialmente el suministro de intermediarios de carbono para otras rutas, ¿no es ineficiente el hecho de que este tipo de células excreten tanto lactato? Parecería que deshacerse constantemente de moléculas en cuya estructura hay 3 átomos de carbono no es óptimo. Sin embargo, se ha sugerido que quizás este método es eficiente porque permite a las células una incorporación más eficiente del carbono a su biomasa y una proliferación más rápida.

Se ha desarrollado en las células en división un proceso de selección positiva: las células capaces de convertir la glucosa y la glutamina en biomasa de una forma más eficiente proliferarán más rápido. El lactato expulsado por las células al medio puede ser reciclado de nuevo mediante el ciclo de Cori. Existen también procesos análogos para reciclar la alanina del metabolismo de la glutamina. Algunos estudios proponen que, dentro de la misma masa tumoral, existe heterogeneidad metabólica y que algunas de las células, usan el exceso de lactato como su sustrato. (Vander Heiden et al., 2009)

Regulación metabólica.

Habiéndose descrito los requerimientos de una célula proliferativa es igual de importante conocer los mecanismos que regulan las “decisiones” que toma una célula.

Una de las rutas que regulan el metabolismo de las células cancerígenas más estudiadas y conocidas tiene que ver con la enzima fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K). Esencialmente, la ruta de la PI3K regula la captación y la utilización de la glucosa. Esta ruta regula la expresión de los transportadores de glucosa, aumenta la captura de glucosa a través de la hexoquinasa y estimula la actividad de la fosfofructoquinasa.

Además de esto, las células cancerosas tienden a expresar con mayor frecuencia la isoforma M2 de la enzima piruvato quinasa (PKM2) por un motivo relacionado con su regulación: esta enzima es regulada por proteínas fosforiladas por tirosina. La señalización por fosfotirosinas regula negativamente la actividad de la isoforma M2, siendo inducida en un estado de baja actividad. Esta forma de regular la PKM2 podría ser una especie de interruptor que permite una proliferación óptima.

¿No es aun así llamativo el hecho de que la PKM2 sea tan importante como regulador si su actividad es inferior a la de la isoforma M1 (PKM1)? Es precisamente su perfil de baja actividad el que le permite desviar parte del flujo de carbono proveniente de la glucosa a la biosíntesis de otros metabolitos, en lugar de que se consuma completamente en su catabolismo para la formación de ATP.

Otro elemento crucial en la regulación metabólica de células tumorales lo juega el gen p53. Se trata de un gen supresor de tumores que altera la utilización de la glucosa. La expresión del gen p53 induce que se exprese el gen TIGAR. Las consecuencias de la expresión del gen TIGAR son un aumento en la inhibición de la fosfofructoquinasa, pasando por una reorientación del flujo de glucosa hacia la ruta de las pentosas fosfato, hasta un aumento de la producción de NADPH. Se especula que estos cambios obedecen a un sistema de defensa de la célula frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS). (Vander Heiden et al., 2009). Estudios llevados a cabo en levaduras han demostrado que

la fosforilación oxidativa se detiene drásticamente durante la fase S para daños en el ADN debidos a las ROS. (Chen et al., 2007)

¿Qué provoca el cambio de fosforilación oxidativa a glicólisis aeróbica?

Desde que Warburg propuso su hipótesis, muchos han intentado responder a la pregunta sobre cuál es el mecanismo que induce el cambio. Una de las propuestas para responder a esta pregunta es que las condiciones pobres de oxígeno podrían ejercer una selección negativa, garantizando la supervivencia de las células fermentadoras.

Sin embargo, esta premisa carece de sentido en ciertos tipos de cáncer en los que la exposición al oxígeno es normal. Por ejemplo, las células de la leucemia son altamente glucolíticas, al igual que las células de los cánceres de pulmón. A pesar de que la hipoxia del cáncer es una característica importante en su biología, no hay evidencias que apoyen la premisa de que es la causante del cambio en el metabolismo.

El metabolismo del cáncer se ha entendido clásicamente como un conjunto de enzimas que permiten a las células adaptarse a las demandas bioenergéticas del tumor, capaces de corregirse a sí mismas y capaces a su vez de mantener la homeostasis dentro de una célula. Sin embargo, las evidencias actuales señalan al metabolismo como un sistema dinámico, programado para satisfacer las necesidades de la célula en función de la parte del ciclo celular en la que se encuentre, las condiciones del medio, su concentración interna de metabolitos... (Vander Heiden et al., 2009)

Ha quedado claro el hecho de que las células tumorales presentan unas características metabólicas especiales, que les permiten sobrevivir en ambientes hostiles y ser capaces de replicarse casi infinitamente. El cambio metabólico más interesante es el aumento de su actividad glicolítica.

Una de las hipótesis que han cobrado un mayor peso para explicar este aumento es el hecho de que los genes de la mayoría de las enzimas que regulan el metabolismo, así como de transportadores de moléculas, están altamente expresados y, por tanto, la síntesis de proteínas también se encuentra altamente inducida. Por ejemplo, en el hepatoma AS-30D de ratas, la expresión de todas las enzimas glicolíticas se encuentra aumentada. (Marín-Hernández et al., 2006)

Se ha especulado que el mecanismo principal para aumentar la glicólisis en células cancerosas es a través de la hiperregulación mediada por la activación del factor inducible por hipoxia 1 (HIF1). Esta molécula se trata de un factor de transcripción formado por 2 subunidades (HIF-1 α y HIF-1 β). Bajo condiciones aeróbicas, la subunidad alfa se encuentra constantemente siendo degradada. Sin embargo, en anaerobiosis, se convierte

en una unidad altamente estable, aunque ciertas moléculas pueden inducir que la subunidad alfa se vuelva estable a pesar de que las condiciones de oxígeno sean normales.

La degradación de la subunidad alfa viene dada por la acción de la proteína von Hippel-Lindau. Esta proteína se une a la subunidad alfa e induce su degradación en el proteosoma. Se ha encontrado que en muchos tumores esta proteína se encuentra mutada, disminuyendo su función y volviéndola ineficaz. La subunidad alfa de HIF-1 solamente se encuentra presente en tumores malignos.(Guppy et al., 2002; Robey et al., 2005)

La expresión de HIF-1 induce un aumento en la expresión de HK, PFK-1, PFK-2, ALD, GADPH, fosfoglicerato quinasa, enolasa, PK y lactato deshidrogenasa (LDH). El aumento en la expresión de estas enzimas lleva consigo un aumento en el flujo glicolítico. Las líneas tumorales capaces de adquirir la capacidad de invadir otros tejidos presentan niveles altos de HIF-1 α , enzimas glicolíticas sobreexpresadas y una alta actividad glicolítica. Los tumores incapaces de invadir otros tejidos presentan una alta actividad glicolítica solamente en condiciones de hipoxia. (Moreno-Sánchez et al., 2007)

La unidad alfa de HIF-1 aumenta también la expresión de la quinasa encargada de fosforilar el complejo piruvato deshidrogenasa (PDH). Al fosforilar esta enzima, su actividad se ve inhibida, lo que provoca un descenso drástico de la oxidación del piruvato en el ciclo de Krebs, favoreciendo así la formación de lactato a partir del piruvato.

Se han observado también cambios en la expresión de las isoformas de algunas enzimas glicolíticas. El cambio en la expresión de estas isoformas forma parte también de los mecanismos que emplean las células cancerosas para aumentar el flujo glicolítico.

Uno de los elementos que forman parte de la glicólisis que más se han estudiado es el aumento en la expresión de los genes de los transportadores de glucosa (GLUT). Existen 12 isoformas del transportador GLUT, siendo cada una propia de uno o varios tejidos. En líneas tumorales se ha observado que se produce un aumento en la predominancia de GLUT1. Sin embargo, no es la única isoforma cuya expresión aumenta cuando la célula se vuelve maligna: el transportador GLUT5 se manifiesta en los glóbulos rojos de ciertas leucemias humanas y GLUT3 es detectado en cánceres de pulmón, de ovario y cánceres del tracto digestivo.(Medina & Owen, 2002; Wood & Trayhurn, 2003)

A pesar de esto, los estudios acerca del tema solamente han revelado una sobreexpresión de los transportadores, no necesariamente un aumento también en su actividad. Se especula que esta incógnita es fruto de lo complicado que resultaría llevar a cabo el ensayo para medir la actividad de los transportadores.

Otro elemento clave en el metabolismo tumoral son las isoformas de las hexoquinasas. Presentan cuatro isoformas distintas (HK-I, HK-II, HK-III y HK-IV) y al igual que los transportadores, presentan diferencias en su expresión y la localización en los tejidos y en sus características cinéticas.

(Lowry et al., 1983) trataron de medir la actividad de las hexoquinasas en tumores cerebrales humanos. Para ello, emplearon gliomas, meduloblastomas y schwannomas pertenecientes a pacientes terminales. Obtuvieron que la actividad de las hexoquinasas se había reducido notablemente, llegando a ser un 78% menor que la actividad de las hexoquinasas en tejidos sanos. Otros autores discreparon de esta afirmación y sus estudios han referido que la actividad de las hexoquinasas en astrocitomas y gliomas humanos es, por lo menos, igual a la actividad de estas enzimas en los tejidos sanos, si no mayor.

Se ha observado que la hexoquinasa con una mayor expresión en tumores es la HK-II. Se ha especulado que el sitio de unión de esta enzima se encuentra en las porinas presentes en la membrana externa de las mitocondrias. Esta afirmación tiene sentido si se aprecia que esta unión protege a la hexoquinasa de las enzimas degradadoras y que, además, permite a la hexoquinasa acceder al ATP de nueva síntesis, fruto de la ATP sintasa. Sin embargo, esta unión no explica por qué podría resultar ventajoso para la célula el hecho de que la hexoquinasa se una a la porina. Para entender esta ventaja hay que hablar del papel de la proteína Bax. Esta proteína induce la apoptosis, uniéndose a las porinas para crear un canal a través del cual libera citocromo C cuando las condiciones son adversas. Por lo tanto, la unión de la hexoquinasa a la porina podría funcionar como una barrera evitando la actividad de la proteína Bax. (Pastorino et al., 2002)

También se ha especulado que la unión a la mitocondria podría suponer para la HK-II una manera de evadir la inhibición a la que la somete la glucosa-6-fosfato (G6P). Los ensayos de laboratorio llevados a cabo para probar esta hipótesis no han conseguido demostrar que haya una diferencia importante entre la sensibilidad a la G6P de una hexoquinasa unida a la mitocondria y una hexoquinasa que se encuentre libre.

Finalmente, otra de las enzimas claves en el metabolismo de las células tumorales son las dos formas de la fosfofructoquinasa (PFK). Concretamente, la PFK-1 está compuesta por 3 subunidades (L, M y C) y cada una de las subunidades presenta unas propiedades cinéticas distintas. Por ejemplo, la subunidad C es menos sensible a la inhibición por el fosfoenolpiruvato, que suele ser un inhibidor alostérico de PFK-1. Las propiedades cinéticas de la PFK-1 dependerán de las proporciones de las distintas

subunidades. Se ha observado que la PFK-1 que aparece en tumores es menos sensible a la inhibición por parte del ATP y del citrato que la presente en células sanas.

También se ha observado en este grupo de enzimas un aumento en su actividad. Ha sido bien estudiado en ciertas líneas celulares de cánceres humanos y en muchas masas tumorales malignas de roedores que la actividad de la enzima se incrementa hasta 56 veces. A pesar de esto, en algunos cánceres humanos también se ha apreciado que la actividad de la enzima es ligeramente inferior a la propia de los tejidos sanos.

La PFK-2 también presenta cierto número de isoformas en los tejidos de mamíferos. La expresión de esta enzima viene codificada por 4 genes que se manifiestan en función del tejido y del estado de desarrollo de este. Esta enzima tiene actividad quinasa y fosfatasa con la cual regula los niveles celulares de fructosa-2,6-bisfosfato (F2,6BP), que actúa como activador de la PFK-1. (Moreno-Sánchez et al., 2007)

El gen *Pfkfb3* es el encargado de codificar las dos isoformas de la PFK-2. Cuando este gen se sobreexpresa (es inducido por el HIF-1 α), se produce un aumento en la concentración citosólica de F2,6BP. Se especula que este mecanismo sirve para inducir un aumento del flujo glicolítico en las células tumorales a través de inducir a la PFK-1 a sobreponerse a la inhibición del ATP y el citrato.

Ha sido descrito en hepatomas de Ehrlich que una gran parte del piruvato mitocondrial es descarboxilado a través de la enzima E1-piruvato deshidrogenasa (E1-PDH) hasta formar una molécula de acetaldehído. El acetaldehído obtenido se une a otra molécula de acetaldehído dando lugar a una molécula de acetoína, que actúa como inhibidor competitivo de la PDH. Se piensa que las células tumorales son capaces de mantener unos niveles altos de acetaldehído gracias a la sobreexpresión de una isoforma de la acetaldehído deshidrogenasa que presenta una afinidad menor por su sustrato, produciendo un aumento en la concentración de acetaldehído. Se ha barajado la posibilidad de que un aumento en la concentración de acetoína pueda afectar negativamente a la fosforilación oxidativa, pero no ha sido probado.

Se ha observado que la contribución de ATP proveniente de la fosforilación oxidativa y la glicólisis en células tumorales completamente funcionales es similar respecto al aporte de ATP en células tumorales con un sistema oxidativo ligeramente deficiente. Ciertos gliomas de humanos y roedores son susceptibles a la influencia de inhibidores respiratorios, lo que indica la existencia de mitocondrias funcionales.

Por ejemplo, en el hepatoma AS-30D el mecanismo oxidativo es completamente funcional (existe una oxidación activa del piruvato, el ciclo de Krebs es completamente

funcional y existe un suministro de NADH suficiente para mantener la integridad del proceso).

Originalmente, Weinhouse afirmó que ciertas líneas tumorales presentaban proporciones elevadas de respiración, aunque no se supiera exactamente si esta respiración estaba asociada a la fosforilación oxidativa. Esta premisa ha sido comprobada en líneas AS-30D y HeLa gracias al empleo de oligomicina. Esta sustancia inhibe la acción de la ATP sintasa e indicó a los investigadores que alrededor del 90% del ratio de respiración era sensible a este macróido. Sin embargo, la consumición de ese 10% de oxígeno celular restante no tenía relación con la fosforilación oxidativa.

Otra prueba que apoya la premisa de que las células cancerígenas presentan mitocondrias funcionales viene dada por la presencia de proteínas mitocondriales con una mayor actividad y afinidad por su sustrato. Por ejemplo, la enzima málica asociada a los tumores presenta una actividad hasta 20 veces mayor que en células sanas. El motivo de esto aún no ha quedado claro, pero se especula que elimina el exceso de malato.

Teniendo en cuenta estos hechos, habría que reconsiderar la forma en la que se ha entendido el cáncer metabólicamente hablando desde hace mucho tiempo. Evidentemente la glicólisis juega un papel importante en su metabolismo, ya sea obteniendo ATP o intermediarios metabólicos para otras rutas biosintéticas, pero la aproximación a un sistema tan complejo como es el de una célula cancerígena no debería ser tan absolutista. De hecho, lo idóneo sería que cada masa tumoral fuera evaluada independientemente para conocer sus “inclinaciones” metabólicas. (Moreno-Sánchez et al., 2007)

No solo sería preciso evaluar las esas inclinaciones metabólicas, sino conocer el aporte de nutrientes que recibe el tumor. Se ha descrito una correlación entre la falta de efectividad de quimio y la radioterapia y el desarrollo de un medio hipóxico y ácido alrededor del tumor. El desarrollo del medio hipóxico viene dado por el propio crecimiento del tumor que puede impedir la correcta difusión del oxígeno.

Este gradiente en la concentración del oxígeno ha sido observado en cierto número de cánceres humanos y ha producido una pérdida de eficacia en el tratamiento. La presencia de oxígeno es imprescindible para la efectividad de ambas terapias.

La mayoría de tumores macizos son incapaces de crecer sin recibir cierto suministro de sangre. Que un tumor se vuelva invasivo y sea capaz de metastatizar requiere la formación de nuevo tejido vascular. La presencia de ambientes hipóxicos en un tumor favorece su supervivencia y resistencia frente a los tratamientos.

Las señas de identidad del cáncer.

Como ha quedado claro, las células cancerígenas presentan una serie de deficiencias en sus circuitos reguladores encargados de controlar la homeostasis y la proliferación celular. A raíz de esta observación, han surgido una serie de preguntas a las que ciertos autores han tratado de dar respuesta: ¿Cuántos de estos mecanismos es necesario que fallen para que se produzca el cambio de una célula sana a una célula tumoral?; ¿Es siempre el mismo mecanismo el que induce la malignidad de una célula?; ¿Estos mecanismos son autónomos o dependen de señales externas?

Los autores Douglas Hanahan y Robert A. Weinberg condensaron y catalogaron las diferencias esenciales en la fisiología normal de una célula que inducen que se vuelva maligna. Establecieron que toda célula cancerosa debía contar con estas características:

Insensibilidad a señales inhibitorias del crecimiento.

Este tipo de señales pueden presentarse como señales inhibitorias solubles, pueden aparecer inmóviles en la matriz extracelular o estar presentes en la superficie de células vecinas. Estas señales inducen la inhibición de la proliferación y el crecimiento por dos mecanismos: los inhibidores pueden inducir una salida de la célula del ciclo proliferativo a un estado de quiescencia transitorio o pueden hacer que las células entren en un estado post mitótico en el que pierdan definitivamente su capacidad proliferativa.

Uno de los mecanismos más importantes que tiene una célula para regular su proliferación es la ruta de la proteína retinoblastoma (pRb). En condiciones normales en las que se encuentra hipofosforilada, esta proteína (junto a las proteínas p107 y p130), bloquea la proliferación gracias a la alteración de la función del factor de transcripción E2F, quien controla la expresión de genes clave para el paso de la fase G1 a la fase S.

A pesar de esto, las células cuentan con mecanismos que evitan precisamente la activación por fosforilación de esta proteína. Concretamente, la molécula más estudiada y conocida que juegue esta papel es la TGFβ. Esta molécula induce la síntesis de las proteínas p21 y p15^{INK4B}, que bloquean a su vez el complejo CDX de ciclinas, responsable de la fosforilación de pRb. (Datto et al., 1997)

El mecanismo de protección llevado a cabo por TGFβ, no es ineludible. Algunas células reducen su respuesta frente a TGFβ debido a una desregulación de sus receptores, mientras que otras pueden inducir disfunciones en los receptores, el locus que codifica para la proteína p15^{INK4B} puede haber desaparecido, las ciclinas sobre las que actúa la proteína p15^{INK4B} pueden llegar a volverse insensibles...

Es frecuente también que ciertas células tumorales induzcan un aumento en la expresión de proteínas de adhesión que favorezcan la incorporación de señales de crecimiento. Este fenómeno es necesario para que una célula se vuelva tumoral porque, incluso en tejidos sanos, las células requieren de la activación de varios mecanismos simultáneamente para inducir el cambio de fase y la proliferación.

Otro de los mecanismos más estudiados tiene como protagonista al gen *C-myc*. Concretamente y durante el desarrollo normal de una célula, la actividad inductora del crecimiento de Myc, en asociación con otro factor (Max), puede ser sustituido por complejos formados por Max y cierto grupo de factores de transcripción Mad; el complejo Mad-Max es capaz de provocar la diferenciación de las células. Sin embargo, tal y como se ha observado en muchas masas tumorales, un aumento en la expresión de la proteína Myc, puede provocar un cambio en el equilibrio Myc-Max y Mad-Max, provocando la proliferación y evitando la diferenciación. (Foley & Eisenman, 1999).

Evitar la apoptosis.

La maquinaria para llevar a cabo la apoptosis se encuentra presente en virtualmente todos los tipos de células. Esta maquinaria puede dividirse en dos componentes principalmente: los sensores y los efectores. Los sensores son los encargados de percibir las condiciones en las que se encuentra la célula y que rigen si la célula debe vivir o morir. Estos sensores pueden ser receptores de superficie que, en función de la señal que se una, devuelvan una información u otra.

Por ejemplo, las señales IGF-1/IGF-2 se unen a su receptor IGF1-R e inducen la supervivencia de la célula. Por el contrario, la unión del ligando FAS con su receptor, induce la apoptosis.

Muchas de las señales que inducen la apoptosis acaban convergiendo en la mitocondria, induciendo que esta libere al citoplasma citocromo C. Ciertos miembros de la familia de genes Bcl-2, concretamente los que inducen la apoptosis (Bax, Bak, Bid, Bim), en respuesta a este citocromo C, inducen la muerte de la mitocondria. Más allá de eso, el gen supresor de tumores p-53, es capaz de inducir la apoptosis a través de la sobre expresión del gen Bax en respuesta a daños en el ADN. Los efectores de la apoptosis incluyen un grupo de proteasas denominadas caspasas. La 8 y la 9 ejercen su acción en respuesta a la activación del receptor de FAS y a la liberación de citocromo C. (Thornberry & Lazebnik, 1998)

La inactivación del gen p-53 provocó en las células una rápida proliferación y una tasa baja de apoptosis. De hecho, la inactivación funcional de la proteína p-53 se ha

observado en más del 50% de cánceres humanos. De igual forma, los factores exógenos que inducen la supervivencia de las células son especialmente importantes. Por ejemplo, en tumores en los islotes pancreáticos de ratones, si el gen que codifica para el receptor del factor IGF-2 se encuentra inactivado, tanto el crecimiento del tumor como su progresión se ven altamente reducidos, observándose pequeñas agrupaciones benignas y una apoptosis elevada.

Potencial proliferativo casi ilimitado.

Los trabajos de Hayflick demostraron en su momento que las células en cultivo tienen un potencial replicativo finito. Una vez las células llevan a cabo cierto número de divisiones, entran en un estado de senescencia. Sin embargo, la senescencia de cierto tipo de células, como los fibroblastos humanos, puede romperse si se deshabilitan la proteína pRb y la proteína p-53. Una vez esto sucede las células continúan multiplicándose hasta que entran de nuevo en un segundo estado, denominado crisis. Este estado se caracteriza por un aumento masivo en la muerte celular, desorden cariotípico y, a veces, la aparición de una célula con la capacidad de multiplicarse sin límite. (Hanahan & Weinberg, 2000)

Sin embargo, este proceso no es el más frecuente en células in vivo. Las células sanas, sufren la progresiva erosión de sus telómeros y eventualmente pierden la habilidad de protegerlos. Los extremos desprotegidos de los cromosomas se unen entre sí, desembocando en un desorden del cariotipo e, inevitablemente, en la muerte de la célula.

A pesar de que esto suceda en las células sanas, la conservación de los telómeros es un hecho evidenciable en casi cualquier tipo de célula maligna. Se estima que entre un 85 y un 90% de los cánceres evitan este colapso gracias a la sobreexpresión de la enzima telomerasa. El resto de los cánceres estudiados recurren a un mecanismo, denominado ALT, que mantiene los telómeros a través de la recombinación fruto de intercambios de información entre cromosomas. Ambos mecanismos aparecen también en las células sanas, pero se encuentran fuertemente inhibidos.

El papel de la telomerasa en la adquisición de esta capacidad es algo innegable. Estudios en laboratorio han demostrado que su suministro a células que se supone que deberían haber entrado en crisis evita este estadio y permite la proliferación ilimitada. (Halvorsen et al., 1999)

Se ha especulado acerca de que el proceso de senescencia quizás obedezca a un mecanismo de protección celular. Si esto es correcto, sobreponerse a este mecanismo es esencial en el paso de una célula sana a una célula cancerosa.

Inestabilidad genómica y mutacional.

Podría decirse que la adquisición de todas las características esenciales de un cáncer requiere una sucesión de alteraciones en el genoma de la célula. Sin embargo, la aparición de fenotipos aberrantes no requiere siempre una mutación que dispare estos mecanismos. En ocasiones, es suficiente la regulación genética a través de la metilación del ADN o cambios en la conformación de las histonas.

Con el fin de obtener las versiones aberrantes de los genes necesarios para la conversión a célula tumoral, las células suelen aumentar su ratio de mutaciones (Negrini et al., 2010). Muchas veces las células se tornan más sensibles a los agentes mutagénicos.

Que las mutaciones sucedan con más frecuencia no implica que se acumulen. Para acumularlas y evitar la apoptosis, la célula compromete también los mecanismos de protección que se activan cuando se produce un daño en el material genético.

Muchas afecciones han sido observadas en los mecanismos encargados de mantener la integridad del ADN. Estos defectos tienen lugar en los genes cuyos productos se encargan de identificar daños en el ADN y activar los mecanismos de reparación, en los mecanismos que reparan directamente el ADN y en las moléculas encargadas de detectar e inactivar agentes mutagénicos antes de que se produzca daño en el ADN.

A pesar de que los distintos tipos celulares recurran a diversos mecanismos para inducir ese aumento en la tasa de mutaciones y para evitar mecanismos de protección del ADN, solamente ha podido observarse que es una característica común a la mayoría de tumores, no que todos sigan el mismo mecanismo. (Hanahan & Weinberg, 2011)

Reprogramación de la energía metabólica.

Ha quedado claro que lo más frecuente es que cuando la célula está en condiciones aerobias, la glucosa que incorpore a su metabolismo se acabe convirtiendo en piruvato y este sea asimilado posteriormente a la mitocondria; también ha quedado claro que, en condiciones anaerobias, se produce un aumento de la glicólisis y la cantidad de piruvato que deriva a la mitocondria se ve reducida.

Recientemente la relación entre un aumento en el flujo glicolítico y una mayor expresión de oncogenes ha sido demostrada. Aunque este tipo metabolismo sea menos rentable energéticamente hablando, ha surgido la hipótesis de que la glicólisis pasa de funcionar como la mayor fuente de aporte energético para convertirse en una ruta de la que desviar metabolitos a otras rutas biosintéticas de la célula.

Se ha encontrado que algunos tumores expresan dos subpoblaciones, cada una de ellas con un tipo de metabolismo distinto. Una de las subpoblaciones sigue la ruta

metabólica propuesta en su momento por Warburg, mientras que la otra subpoblación emplea el lactato como su fuente de energía principal.

A pesar de esta evidencia, aún no ha podido establecerse que la simbiosis intratumoral observada en algunos cánceres sea algo general. Curiosamente, esta simbiosis no es algo que hayan desarrollado las células cancerosas para beneficiarse entre sí. Esto ocurre también en células sanas, como por ejemplo en las células musculares.

Captación desregulada de glucosa y aminoácidos.

En las células de mamíferos, los dos nutrientes más importantes que sostienen la supervivencia de una célula y su capacidad biosintética son la glucosa y la glutamina. Ambos son capaces de mantener la demanda de potencial reductor de la célula. La glutamina, además, es la molécula que mantiene el aporte mayoritario de nitrógeno reducido para la biosíntesis.

La gran demanda de glutamina por parte de las células tumorales fue descrita en la década de los 50 por parte del fisiólogo Harry Eagle, quien describió que células cancerosas que crecen en un medio de cultivo requieren entre 10 y 100 veces más concentración molar de glutamina que del resto de aminoácidos.

¿Pero qué provoca este aumento en la incorporación de nutrientes del medio? La respuesta a esta pregunta radica en la presencia de los factores de crecimiento.

En ausencia total de factores de crecimiento células como las hematopoyéticas o las neuronas, dejan de consumir glucosa activamente, incluso llegando al punto de no consumir la suficiente glucosa como para mantener su metabolismo basal. (Pavlova & Thompson, 2016)

Algunas células que no se encuentran expuestas a factores de crecimiento pueden sobreponerse a los efectos de su ausencia a base de aumentar la expresión de transportadores de glucosa (GLUT) y de la hexoquinasa (HK). Por esto las modificaciones genéticas de las células son tan importantes para que proliferen.

Estos no son los únicos métodos con los que cuenta la célula para garantizar una mayor captación de glucosa. La aplicación exógena de la forma activa de las enzimas Akt, estimula la glicólisis, reestablece el potencial de las mitocondrias y los niveles de ATP en células a deprivadas de factores de crecimiento. (Pavlova & Thompson, 2016)

Otra señal oncogénica, la del gen *Ras*, induce también un aumento en la expresión del ARNm que codifica para el transportador GLUT1 y aumenta el consumo de glucosa celular. Todas estas señales tienen como fin facilitar el acceso a glucosa de la célula.

El gen *c-myc* induce un aumento en la utilización de la glutamina. Este gen provoca una sobreexpresión de los transportadores de glutamina ASCT2 y SN2, además de un aumento en la expresión de enzimas como la glutaminasa (GLS1), fosforribosil pirofosfato sintetasa (PRPS2) y carbamoil-fosfato sintetasa 2 (CAD), que favorecen la captación de glutamina en los transportadores a base de transformar la glutamina incorporada en glutamato. Esta transformación de glutamina en glutamato provoca la activación de rutas anapleróticas y la incorporación de cisteína. (Mannava et al., 2008)

Si una célula tratara de proliferar en condiciones en las que el aporte de nutrientes no es suficiente, los resultados serían nefastos. Para evitar este desenlace, los oncogenes aberrantes o los genes supresores de tumores que hayan perdido su función inducen un aumento en la captación de nutrientes permitiendo así una proliferación descontrolada.

Empleo de modos oportunistas de adquisición de nutrientes.

Para suavizar los efectos negativos que tienen las condiciones adversas en la proliferación celular, algunas células tumorales promueven la expresión de alelos mutantes de los genes *Ras* y *c-Src*. La expresión de estos genes permite a las células obtener aminoácidos libres a partir de la degradación lisosomal de proteínas de la matriz extracelular. La expresión de estos genes también favorece la macropinocitosis a partir de la remodelación del citoesqueleto de actina. Los macropinosomas penetran en la célula y se fusionan con los lisosomas, donde las enzimas proteolíticas degradan las proteínas.

Otro gen con un papel importante en la captación de nutrientes del medio es el gen *mTORC1*. La inhibición de este gen permite a la célula incorporar proteínas extracelulares y favorece su proliferación y desarrollo, aunque la disponibilidad de aminoácidos esenciales no sea la idónea. En condiciones en las que la concentración de nutrientes es normal este gen reprime esta actividad.

Un proceso frecuente que usan las células para incorporar aminoácidos libres es la entosis: la célula cancerosa envuelve y lisa células completas. Se ha observado que aquellos tumores que presentan alelos mutantes del gen *KRAS* son más susceptibles de entocitar a sus vecinas. Esto podría llegar a suponer una ventaja dentro del propio tumor, dando como resultado un fenotipo más agresivo en el que las mutantes a las no mutantes. (Pavlova & Thompson, 2016)

Una de las consecuencias del aumento de la captación de nutrientes del medio es la aparición de zonas hipóxicas. Estas zonas hipóxicas pueden impedir el correcto funcionamiento de algunas rutas biosintéticas. Por ejemplo, un ambiente pobre en oxígeno compromete la introducción de enlaces dobles en la síntesis ácidos grasos

catalizada por la enzima steaoril-CoA desaturasa (SCD1). Para suplir este déficit las células capturan ácidos grasos insaturados ya sintetizados en forma de lisofosfolípidos.

Este proceso no es empleado universalmente por todos los cánceres. Algunas células recurren a la captación de ácidos grasos de masas lipídicas más complejas. Se ha observado un aumento en la expresión de la lipoproteína lipasa y de la monoacilglicerol lipasa (MAGL) en varios tipos de cáncer, relacionando su expresión con su invasividad.

En condiciones más extremas las células cancerosas recurren también a la macroautofagia. En cultivo, la autofagia permite a estas células mantenerse viables durante semanas. Este método no permite a la célula crear nueva biomasa ya que no puede sostener la proliferación. (Pavlova & Thompson, 2016)

Intermediarios glicolíticos o del ciclo de Krebs para la síntesis y producción de NADPH.

Una célula sana con unas condiciones favorables y en estado quiescente emplea la glucosa que incorpora a su metabolismo para la generación de acetil-CoA mitocondrial, la cual luego es oxidada en el ciclo de Krebs. Los electrones extraídos en este proceso son llevados a través del NAD^+/NADH y el FAD/FADH_2 hasta la cadena de transporte electrónico para crear un gradiente electroquímico con el que sintetizar ATP.

En estadio proliferativo una célula debe transformar los nutrientes en una variedad de intermediarios biosintéticos (acetil-CoA, unidades del ciclo del folato, S-adenosilmetiosina, intermediarios glicolíticos y del ciclo de Krebs...). Además de esto, muchas de las reacciones que tienen lugar en una célula requieren poder reductor por lo que una célula proliferativa debe desviar una parte de sus sustratos carbonatados para la producción de NADPH. (Lunt & Vander Heiden, 2011).

Como se ha comentado anteriormente, Warburg trabajó asumiendo el hecho de que la mayoría de la glucosa empleada por una célula era para la formación de ATP. Esta malinterpretación de la información fue lo que llevó a la conclusión de que la respiración tenía un fallo irreversible. Como también ha quedado claro esta premisa ha sido rebatida y estudios recientes han demostrado la importancia de la respiración en estas células. Sin ir más lejos, la manipulación controlada del ADN mitocondrial ha resultado en un fenotipo menos propenso a la tumorigénico en células in vitro e in vivo.

El hecho de que las células cancerígenas empleen el metabolismo de glucosa como su fuente de precursores biosintéticos y equivalentes de reducción responde a un motivo. Si las células desviarán el piruvato obtenido a la fosforilación oxidativa, el aumento en la concentración de NADH y ATP evitaría la captación activa de más glucosa.

Si el exceso de piruvato es convertido en lactato, este mecanismo de feedback negativo se ve anulado y la célula puede continuar captando continuamente glucosa del medio.

Los intermediarios glicolíticos que pueden ser desviados a otras rutas metabólicas son diversos. En primer lugar, la glucosa-6-fosfato puede ser parcialmente oxidada en la ruta de las pentosas fosfato (PPP) para generar NADPH y ribosa-5-fosfato (que posteriormente será empleada en la síntesis de nucleótidos). Dos de las enzimas importantes en la ruta de las pentosas fosfato (la transcetolasa y la transaldolasa) se encuentran frecuentemente sobreexpresadas en el cáncer.

Posteriormente, la fructosa-6-fosfato puede ser empleada también en la biosíntesis de hexosamina. La ruta de síntesis de hexosamina provee a la célula con sustratos para la formación de moléculas glicosiladas, además de para la formación de heparán sulfato y ácido hialurónico y para potenciar la señalización regulada por receptor y la integridad de ciertas proteínas, entre las que se incluye *c-myc*.

El siguiente intermediario glicolítico empleado en la biosíntesis de macromoléculas es la dihidroxiacetona fosfato (DHAP). DHAP es convertida a glicerol-3-fosfato a través de la acción de la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (GPD1), lo que se emplea en la síntesis de fosfolípidos.

Uno de los mecanismos reguladores del crecimiento más estudiados que deriva metabolitos de la ruta glicolítica es el uso del 3-fosfoglicerato. Esta molécula se emplea para la síntesis de serina, glicina y es un medio de obtención de grupos donadores de radicales metilo y NADPH. Ciertos estudios aseguran que las células cancerígenas emplean aproximadamente el 50% del carbono derivado del metabolismo de la glucosa en la biosíntesis de serina y su consiguiente metabolismo. (Locasale et al., 2011)

La importancia de la serina en el metabolismo del cáncer radica en el destino de su carbono γ . Este carbono puede ser transferido a una molécula carrier, el tetrahidrofolato (THF). Esta molécula, acaba originando un pool de especies de un átomo de carbono derivados del THF. Estas especies son frecuentemente empleadas como sustrato para la biosíntesis de purinas, timidina o para la producción de S-adenosilmetionina.

El metabolismo de moléculas de un átomo de carbono juega un papel esencial en el cáncer. De hecho, la enzima metileno tetrahidrofolato deshidrogenasa ha sido descrita como una de las enzimas más sobreexpresadas en células cancerígenas, lo que sugiere que alteraciones en esta ruta metabólica son seleccionadas universalmente en los tumores.

Con el fin de regular la desviación de metabolitos intermediarios de la glicólisis las células cancerígenas han desarrollado un mecanismo relacionado con la piruvato

quinasa (PK). La mayoría de los tejidos, a excepción del hígado y los riñones, expresan la PKM (muscular). Existen dos isoformas de esta enzima, fruto de variaciones de splicing. A pesar de que la PKM1 sea más eficiente en la obtención de piruvato, la mayoría de las células proliferativas y, esencialmente, todas las cancerosas expresan la PKM2. El hecho de que se manifieste con más frecuencia la PKM2 es una forma de que las células se aseguren tener una cantidad suficiente de metabolitos para la biosíntesis.

Un diverso número de oncogenes son los que rigen y regulan las adaptaciones metabólicas de las células proliferativas. Por ejemplo, el gen *c-myc* induce simultáneamente un aumento de la expresión de PDK1, de lactato deshidrogenasa A (LDH-A) y del transportador monocarboxilato (MCT1). La actividad de estas moléculas facilita la liberación de lactato a la matriz extracelular. (Pavlova & Thompson, 2016)

Es frecuente que las células cuando están proliferando, acumulen un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS). Hay quienes relacionan un aumento en la concentración de ROS y la senescencia, ya que esta se relaciona con un profundo e irreparable daño del ADN. A pesar de que una concentración elevada de ROS es contraproducente, es necesario mantener sus niveles en cierto umbral, ya que sirven de mecanismo señalizador y facilitan el mantenimiento del estado tumoral.

Un aumento en la concentración de ROS afecta también a la composición lipídica de las membranas celulares. Probablemente una de las biomoléculas más necesarias durante la proliferación de un grupo de células son los lípidos. Un aumento en la capacidad biosintética de lípidos no solo permite la creación de nuevas membranas lipídicas, sino que permite la recomposición de las ya existentes para protegerse del daño producido por el estrés oxidativo. Se ha encontrado que 3 de los componentes más importantes en la biosíntesis de ácidos grasos (ATP citrato liasa (ACLY), acetil-CoA carboxilasa (ACC) y la ácido graso sintasa (FASN)), se encuentran sobreexpresadas en las células tumorales y que su inhibición reduce el crecimiento de los tumores.

Más estudios avalan la importancia de la composición lipídica de las membranas de las células. Ciertos autores observaron que la inhibición de la síntesis de colesterol restauraba la estructura acinar normal de las glándulas mamarias, sugiriendo que la composición y fluidez de las membranas podría tener un papel importante en la arquitectura del tejido. (Pavlova & Thompson, 2016)

A parte del papel como suministrador principal de citrato, el ciclo de Krebs aporta metabolitos intermedios empleados en la biosíntesis de aminoácidos no esenciales. Sin embargo, esta capacidad para producir intermediarios para la síntesis de aminoácidos

depende directamente de la aportación anaplerótica de glutamina. Es tan importante este aporte que en células mutadas en el gen *c-myc* la privación de glutamina induce un colapso del ciclo y la muerte de la célula (este proceso puede evitarse gracias a la administración de una forma permeable a membranas de α -cetoglutarato).

La oxidación de este α -cetoglutarato para formar oxalacetato no solo permite a la célula mantener la síntesis de citrato, sino que el oxalacetato resultante puede convertirse en malato que, posteriormente, puede volver a ser oxidado (gracias a la actividad de la enzima málica ME1) hasta piruvato en una reacción que produce NADPH.

El α -cetoglutarato derivado de la glutamina no es el único sustrato anaplerótico que puede explotar una célula cancerígena. Trabajos rastreando el destino metabólico de átomos de carbono en modelos de glioblastoma en ratones han demostrado que la mayoría de los carbonos presentes en los sustratos anapleróticos provienen de la glucosa. Esta entrada de carbonos en el ciclo de Krebs tiene lugar gracias a la carboxilación del piruvato, obteniendo oxalacetato a través de la acción de la piruvato carboxilasa (PC).

Finalmente, estudios recientes avalan el hecho de que ciertas células tumorales son capaces de emplear el acetato extracelular como fuente de acetyl-CoA para la biosíntesis. El acetato importado es transformado en acetyl-CoA a través de la enzima acetyl-CoA sintetasa 2 (ACSS2). Se ha observado en varias líneas celulares cancerosas una sobreexpresión de esta enzima. Esta sobreexpresión podría teóricamente permitirles reciclar el acetato obtenido de la desacetilación de histonas y otro tipo de proteínas.

Aumento en la demanda de nitrógeno.

Como se ha comentado anteriormente un aumento en la expresión de los genes *c-myc* y EF2 provoca en la célula un aumento en la incorporación de glutamina. La importancia de este aminoácido no esencial es que presenta en su estructura dos átomos de nitrógeno reducido. El grupo amida de la glutamina juega un papel esencial como donante de nitrógeno para la biosíntesis de purina y pirimidina. Más allá de eso, la formación del anillo de purina emplea aspartato, un aminoácido obtenido a partir de la transaminación del oxalacetato y el ácido glutámico, ambos catabolitos de la glutamina.

Se ha demostrado que los niveles de glutamina limitan la progresión de la célula a través de su ciclo y que su privación induce un estancamiento en la fase S del ciclo.

De nuevo el gen *c-myc* tiene un papel importante en la regulación de la síntesis de nucleótidos. Entre los objetivos a los que regula se encuentra la enzima fosforribosil pirofosfato sintetasa 2 (PRPS2), que cataliza uno de los primeros pasos en la biosíntesis de purina. También ejerce su efecto sobre la carbamoil fosfato sintetasa II (CAD), que

inicia la cascada de formación del anillo de pirimidina. Otras enzimas relacionadas con la biosíntesis de nucleótidos objetivo del gen *c-myc* son la timidilato sintetasa (TS) y la inosina monofosfato deshidrogenasa 1 (IMPDH1) y 2 (IMPDH2).

Otro papel importante de este gen involucra casi directamente a la glutamina. *C-myc* provoca un aumento en la expresión de la glutaminasa, una enzima que cataliza la deamidación de glutamina a glutamato. Este glutamato sirve como donante de nitrógeno en la mayoría de las reacciones de biosíntesis de aminoácidos no esenciales mediante una transaminación. La síntesis de asparagina a partir de aspartato está catalizada por la enzima asparagina sintetasa y requiere el nitrógeno del grupo amida de la glutamina.

Podría parecer que tratar de privar a una masa tumoral de su suministro de glutamina podría afectar negativamente a su crecimiento, pero existen ciertas líneas celulares que son capaces de sintetizar glutamina. Esto se basa en que en algunos tipos de cáncer la glutamina sintetasa (GS) se encuentra sobreexpresada, aunque el modo en el que se activa sigue sin conocerse.

Aparte de la glutamina otros aminoácidos como la arginina pueden servir como sustrato para una gran variedad de compuestos nitrogenados. De hecho, dos enzimas relacionadas con el catabolismo de la arginina se encuentran frecuentemente silenciadas epigenéticamente en melanomas, carcinoma renal y carcinoma hepatocelular. Estas dos enzimas son la argininosuccinato liasa (ASL) y la argininosuccinato sintasa (ASS1). Su silenciamiento se relaciona con una prognosis pobre y resistencia a la quimioterapia.

A pesar de que estas enzimas participen en la síntesis de arginina de novo, se encuentran silenciadas. ¿Por qué entonces iba una célula a suprimir la maquinaria que le permitiría no depender del suplemento exógeno de esta molécula? Se ha barajado la hipótesis de que un silenciamiento de estas enzimas permite a la célula acumular en su interior niveles mayores de ornitina, que es posteriormente empleado en la síntesis de poliaminas. Un aumento en el nivel citosólico de las poliaminas ha sido observado en las células en estado proliferativo y su presencia se ha relacionado con una mayor inhibición de la apoptosis y un aumento de la invasividad del tumor. Otra de las hipótesis barajadas es que una inhibición de ASS1 produce un aumento de la concentración citosólica de aspartato, que puede posteriormente emplearse en la biosíntesis de nucleótidos.

Otro de los mecanismos de control del gen *c-myc* tiene que ver con el metabolismo de la prolina. La prolina puede ser producida a partir de glutamato o a partir de ornitina derivado de arginina a través de su intermediario común, pirrolina-5-carboxilato. La expresión de la principal enzima de la síntesis de prolina, la pirrolina-5-carboxilato

reductasa (PYCR1) se ve aumentada por la acción de *c-myc*. Simultáneamente, la enzima encargada de la degradación de la prolina, la prolina oxidasa (POX), ve su expresión inhibida por la acción de *c-myc*. Se ha demostrado que una expresión normal de POX inhibe el crecimiento del tumor y bloquea las células en la fase G2 de su ciclo.

Alteraciones en la regulación de genes por metabolitos.

Las redes metabólicas de una célula transmiten la información acerca del estado metabólico a un gran número de enzimas reguladoras. Un metabolito clave en este mecanismo es la acetil-CoA, ya que es el sustrato obligado de las enzimas encargadas de la acetilación de histonas y otro tipo de proteínas.

Proteínas Akt activas producen un aumento en el pool extramitocondrial de acetil-CoA a través de la activación de la ATP citrato liasa (ACLY), que cataliza la conversión de citrato citosólico a acetil-CoA y oxalacetato. De hecho, estudios han revelado que la inhibición de ACLY provoca que la acetilación de histonas inducida por oncogenes se bloquee. (Pavlova & Thompson, 2016)

A pesar de la importancia de la acetil-CoA, algunas enzimas como la acetiltransferasa p300 de histona emplean crotonil-CoA.

La acetilación no es el único método de modificación de histonas que tiene una célula, existen otras reacciones de modificación. En este caso, el sustrato más frecuente es la S-adenosilmetionina (SAM) y actúa como donante de grupos metilo.

Cierto número de modificaciones postraduccionales son llevadas a cabo por deoxigenasas dependientes de α -cetoglutarato. Entre estas deoxigenasas aparecen una familia de demetilinas de ADN, la familia Jumonji C de demetilinas de histonas, demetilinas de ARN FTO y ALKBH5 y una familia de prolil hidroxilasas (PHD) que, entre otras cosas, regulan los niveles de HIF1 α en respuesta a los niveles de oxígeno.

Todas estas enzimas son sensibles a los niveles citoplasmáticos de α -cetoglutarato y pueden llegar a ser inhibidas mediante un mecanismo de feedback negativo por un aumento en la concentración de succinato o de fumarato. (Pavlova & Thompson, 2016)

La regulación por feedback negativo no es el único mecanismo que gobierna la actividad de las deoxigenasas dependientes de α -cetoglutarato. Otro grupo de alteraciones genéticas que modulan la actividad de estas enzimas son las mutaciones que ocurren en las dos isoformas de la isocitrato dehidrogenasa (IDH1 e IDH2). En gliomas pequeños y otro tipo de tumores estas mutaciones son consideradas iniciadores de la lesión.

La característica carcinogénica de estas enzimas recae en su sustrato. La forma salvaje de la IDH convierte el isocitrato en α -cetoglutarato en el ciclo de Krebs. Sin

embargo, su forma mutada presenta una mayor afinidad por el α -cetoglutarato como sustrato. En este caso cataliza la conversión de α -cetoglutarato a 2-hidroxiglutarato (2-HG), un inhibidor competitivo de las deoxigenasas dependientes de α -cetoglutarato.

Interacciones metabólicas con el microentorno.

La formación de un tumor no solo afecta a las células que forman parte de él. Se ha observado que una serie de células genéticamente estables han comenzado a expresar cambios fenotípicos por estar cerca de un tumor. Esto sucede porque las células cancerosas inducen cambios en la composición de metabolitos del medio circundante.

Por ejemplo, como resultado de su metabolismo los niveles de lactato aumentan en el medio. Este aumento provoca que el ambiente se vuelva más permisivo inmunológicamente hablando, inhibiendo la actividad dendrítica y la activación de linfocitos T. Este lactato, además, induce un cambio en el estado de los macrófagos circundantes. Entran en un estado denominado M2, que juega un papel clave en la inmunosupresión. Un aumento en la producción de lactato también estimula la producción de ácido hialurónico por parte de los fibroblastos, lo que se especula que puede estar relacionado con un aumento en la invasividad. La secreción de lactato al medio es llevada a cabo con un cotransporte de protones, lo que produce un aumento aún mayor en la acidez del medio. Como consecuencia de esta acidificación, las metaloproteasas de la matriz (MPPs) y las catepsinas promueven la degradación de la matriz extracelular y, en consecuencia, la invasividad del tumor.

De nuevo, sucede que este mecanismo no es el único al que pueden recurrir las células cancerosas para acidificar el medio y suavizar la acción del sistema inmune. Se ha observado que muchas masas tumorales inducen un aumento en la expresión de las enzimas indoleamina-2,3-dioxigenasa (IDO1) y de la triptófano-2,3-dioxigenasa (TDO2). Ambas enzimas participan en la conversión de triptófano en quinurenina. La privación de triptófano, se induce la apoptosis en las células T. (Fallarino et al., 2006)

Una vez la célula ha obtenido la quinurenina, esta actúa como ligando del receptor de hidrocarburos de arilos (AhR). La unión entre ambos elementos induce en las células T una serie de cambios en su fenotipo, reduciendo su respuesta inmune antitumoral. Simultáneamente, la quinurenina mediante la unión con el AhR promueve la degradación de la matriz y un aumento de la invasividad.

Las interacciones existentes entre las masas tumorales y su microambiente provocan un mecanismo que favorece la aparición de fenotipos más agresivos.

Empleo del metabolismo para tratar el cáncer.

Como ya he comentado, el aumento en la incorporación a su metabolismo de glucosa y glutamina por parte de las células tumorales es un hecho. Sin embargo, ese aumento no ha sido explotado como posible objetivo terapéutico debido al efecto citotóxico sobre las células sanas. (Ahluwalia et al., 1990)

Con lo que hay publicado y lo que he leído he llegado a la conclusión de que las terapias metabólicas no podrán sustituir el efecto citotóxico de la quimioterapia, pero sí podrán reforzar y mejorar en un futuro los efectos de las terapias actuales.

Basándome en que la alta mortalidad del cáncer suele ser fruto de la metástasis (Mb, 1996), creo que el objetivo primordial de las terapias debería ser evitar o al menos ralentizar la metástasis del tumor. Sin embargo, conseguir que esto se produzca requiere de una infraestructura médica de la que no todo el mundo puede disponer. Para poder evitar que un tumor metastatice es necesario detectar los tumores con antelación suficiente, pero la mayoría de los síntomas que producen los cánceres se aprecian cuando ya se han desarrollado lo suficiente como para evitar que se propaguen.

Además de un mayor control en la salud de las personas, evitar esto requiere un análisis personalizado de cada tumor. Evidentemente, sería estúpido tratar de igual forma un cáncer que recurre a la glicólisis aeróbica que aquel que sigue empleando la fosforilación oxidativa. Entonces en función del metabolismo al que recurra el tumor, se recurrirá a unas estrategias u otras para atajarlo. Las posibles soluciones que se me han ocurrido son aplicables a los tumores que exhiben el fenotipo descrito por Warburg.

Creo que una de las claves reside en la piruvato quinasa. Antes comenté que en la mayoría de cánceres, la isoforma más expresada es la PKM2 porque es menos activa y esto permite una mayor acumulación de intermediarios metabólicos para luego ser desviados a otras rutas biosintéticas. Propiciar un aumento en la expresión de la isoforma más activa, evitaría que la célula tuviera una disponibilidad tan alta de metabolitos intermedios. ¿Impediría esto por completo la proliferación y la metástasis? No, pero combinado con quimio y radioterapia el efecto sobre las células podría ser interesante.

Otra fuente interesante de trabajo podría ser las metilaciones y acetilaciones que sufren los oncogenes. Trabajos relativamente recientes han desarrollado pequeñas moléculas inhibitoras de la fosfoglicerato deshidrogenasa. Esta enzima es clave en aquellos tumores que emplean la serina como fuente de restos metilo y los trabajos concluyeron exitosamente, pues los cultivos in vitro redujeron la proliferación de las

células inhibiendo esta enzima. (Mullarky et al., 2016). El problema de estas sustancias es que son inútiles si la célula no emplea la serina como fuente de restos metilo.

La acidificación del medio es una característica de las células cancerosas que llevan a cabo la glicólisis aeróbica, pero el hecho de que acidifiquen su medio no implica que soporten la acidificación de su citoplasma. Trabajos con la metformina (un medicamento para la diabetes) y el inhibidor del transportador MCT-1 AZD3965 han bloqueado exitosamente la progresión mediada por lactato de ciertos tipos de tumores. (Belouèche-Babari et al., 2017, p. 1) (Benjamin et al., 2018)

Bien es cierto que la capacidad adaptativa de una célula es muy alta, pero si la concentración de nutrientes no es idónea, la proliferación de las células sufre un retraso. Estudios que relacionan el empleo de la metformina y el ayuno intermitente han demostrado su eficacia reduciendo la plasticidad metabólica del cáncer. (Park et al., 2020) También se ha empleado la reducción en la ingesta de glutamina para reducir el impacto del cáncer, pero actualmente y no existen inhibidores potentes de las enzimas del metabolismo de la glutamina. (Cluntun et al., 2017)

A pesar de lo prometedor de este campo, tiene cierto número de inconvenientes también. La robustez metabólica de una célula hace que los inhibidores que se desarrollen sean potentes. Si una ruta metabólica es inhibida “a medias” la célula será capaz de suplir esa deficiencia y mantener una actividad casi total.

Otro punto en contra de este tipo de terapias es la complejidad que presentan a la hora de ser aplicadas. Es evidente que se pueden desarrollar una gama amplísima de inhibidores de enzimas, de transportadores, factores de transcripción..., pero asegurar que estas sustancias van a actuar solamente en las células cancerosas es casi imposible, porque la mayoría aún mantiene contacto con células sanas a las que el tratamiento puede afectar. Un ejemplo de esto es el empleo de antifolatos como el metotrexato. Esta molécula, al igual que las que se han empleado para atacar la obtención de restos metilo, presenta muchos efectos secundarios en las células sanas que rodean el tumor, además de que éstas son capaces de desarrollar resistencias. (Newman & Maddocks, 2017)

Por encima de esto, existe la imposibilidad de evaluar ciertos aspectos del cáncer. Anteriormente comenté que, aunque una proteína o transportador esté sobreexpresado, no implica que su actividad sea necesariamente mayor. La imposibilidad de evaluar correctamente esta actividad supone un problema a la hora de identificar los elementos realmente claves del metabolismo del cáncer. Es evidente que los transportadores GLUT son sobreexpresados en muchos tipos de cáncer, ¿pero es tan importante si su actividad

no es significativamente mayor? Quizás otros elementos del metabolismo que pasen más desapercibidos porque no se sobreexpresen, influyan más notoriamente en el cáncer.

El metabolismo del cáncer es un tema muy vasto e inexplorado. Evidentemente el conocimiento que tenemos es cada vez mayor, pero la mayoría de moléculas que se han desarrollado hasta el momento están en estadios clínicos muy tempranos, aunque siguen siendo muy prometedores. (Luengo et al., 2017).

En mi opinión, el desarrollo de estos fármacos permitirá en el futuro una mejora en la prognosis de la mayoría de los cánceres, aunque debe ir de la mano con un estudio personalizado de cada tumor, ya que sería contraproducente tratar un cáncer “fermentador” como si fuera un cáncer “respirador” de la misma forma que es contraproducente tratar una enfermedad vírica con antibióticos.

Conclusiones

A pesar de que en los últimos años el diagnóstico de los pacientes de cáncer haya mejorado notablemente, aún queda un largo camino por recorrer hasta conseguir reducir el impacto de esta enfermedad. El papel del metabolismo en este hito debe ser central, porque ofrece una fuente de oportunidades completamente nuevas y prometedoras. Aunque su explotación requiera tiempo, conocimientos y muchos recursos, es algo en lo que vale la pena trabajar. Una mejora en la comprensión de las redes metabólicas del cáncer supondrá un gran avance a la hora de tratarlo. Pero para comprender estas redes es necesario un cambio en el enfoque de los estudios: una célula es una estructura completamente dinámica y en constante cambio y adaptación y cuando se torna maligna tiene que enfrentarse por encima a unas condiciones adversas. No se puede pretender entender cómo funciona si no se trabaja con el conjunto de metabolitos y rutas que influyen en este dinamismo.

Conclusions

Even though the diagnosis of cancer patients has improved in recent years, there's still a long way until we get to reduce the impact of this sickness. The role of metabolism in this achievement must be central, because it offers a huge pool of new and promising chances. Although it's exploitation requires time, knowledge and resources, it's something worth to work with. An improvement in comprehension of this metabolic networks will be a huge advance for treatment. But in order to understand this networks a change of work style is required: a cell is a dynamic structure, and it's always changing and adapting and when it turns malignant it has to face adverse conditions. You can't

pretend to understand how it really works if you don't work with the whole pack of metabolites and routes that govern this dinamism.

Bibliografía

- Ahluwalia, G. S., Grem, J. L., Hao, Z., & Cooney, D. A. (1990). Metabolism and action of amino acid analog anti-cancer agents. *Pharmacology & Therapeutics*, *46*(2), 243-271. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(90\)90094-i](https://doi.org/10.1016/0163-7258(90)90094-i)
- Beloueché-Babari, M., Wantuch, S., Casals Galobart, T., Koniordou, M., Parkes, H. G., Arunan, V., Chung, Y.-L., Eykyn, T. R., Smith, P. D., & Leach, M. O. (2017). MCT1 Inhibitor AZD3965 Increases Mitochondrial Metabolism, Facilitating Combination Therapy and Noninvasive Magnetic Resonance Spectroscopy. *Cancer Research*, *77*(21), 5913-5924. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2686>
- Benjamin, D., Robay, D., Hindupur, S. K., Pohlmann, J., Colombi, M., El-Shemerly, M. Y., Maira, S.-M., Moroni, C., Lane, H. A., & Hall, M. N. (2018). Dual Inhibition of the Lactate Transporters MCT1 and MCT4 Is Synthetic Lethal with Metformin due to NAD⁺ Depletion in Cancer Cells. *Cell Reports*, *25*(11), 3047-3058.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.043>
- Chen, Z., Odstrcil, E. A., Tu, B. P., & McKnight, S. L. (2007). Restriction of DNA Replication to the Reductive Phase of the Metabolic Cycle Protects Genome Integrity. *Science*, *316*(5833), 1916-1919. <https://doi.org/10.1126/science.1140958>
- Cluntun, A. A., Lukey, M. J., Cerione, R. A., & Locasale, J. W. (2017). Glutamine Metabolism in Cancer: Understanding the Heterogeneity. *Trends in Cancer*, *3*(3), 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.01.005>
- Datto, M. B., Hu, P. P., Kowalik, T. F., Yingling, J., & Wang, X. F. (1997). The viral oncoprotein E1A blocks transforming growth factor beta-mediated induction of p21/WAF1/Cip1 and p15/INK4B. *Molecular and Cellular Biology*, *17*(4), 2030-2037. <https://doi.org/10.1128/MCB.17.4.2030>
- DeVita, V. T., Jr., & Chu, E. (2008). A History of Cancer Chemotherapy. *Cancer Research*, *68*(21), 8643-8653. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-6611>
- Fallarino, F., Grohmann, U., You, S., McGrath, B. C., Cavener, D. R., Vacca, C., Orabona, C., Bianchi, R., Belladonna, M. L., Volpi, C., Santamaria, P., Fioretti, M. C., & Puccetti, P. (2006). The Combined Effects of Tryptophan Starvation and Tryptophan Catabolites Down-Regulate T Cell Receptor ζ -Chain and Induce a Regulatory Phenotype in Naive T Cells. *The Journal of Immunology*, *176*(11), 6752-6761. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.11.6752>
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D. M., Forman, D., & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, *136*(5), E359-E386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>
- Foley, K. P., & Eisenman, R. N. (1999). Two MAD tails: What the recent knockouts of Mad1 and Mxi1 tell us about the MYC/MAX/MAD network. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1423*(3), M37-47. [https://doi.org/10.1016/s0304-419x\(99\)00012-8](https://doi.org/10.1016/s0304-419x(99)00012-8)
- Guppy, M., Leedman, P., Zu, X., & Russell, V. (2002). Contribution by different fuels and metabolic pathways to the total ATP turnover of proliferating MCF-7 breast cancer cells. *The Biochemical Journal*, *364*(Pt 1), 309-315. <https://doi.org/10.1042/bj3640309>
- Halvorsen, T. L., Leibowitz, G., & Levine, F. (1999). Telomerase activity is sufficient to allow transformed cells to escape from crisis. *Molecular and Cellular Biology*, *19*(3), 1864-1870. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.3.1864>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, *100*(1), 57-70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, *144*(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Jones, N. P., & Schulze, A. (2012). Targeting cancer metabolism—Aiming at a tumour's sweet-spot. *Drug Discovery Today*, *17*(5-6), 232-241. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.12.017>
- Locasale, J. W., Grassian, A. R., Melman, T., Lyssiotis, C. A., Mattaini, K. R., Bass, A. J., Heffron, G., Metallo, C. M., Muranen, T., Sharfi, H., Sasaki, A. T., Anastasiou, D., Mullarky, E., Vokes, N. I., Sasaki, M., Beroukhi, R., Stephanopoulos, G., Ligon, A. H., Meyerson, M., ... Vander Heiden, M. G. (2011). Phosphoglycerate dehydrogenase diverts glycolytic flux and contributes to oncogenesis. *Nature Genetics*, *43*(9), 869-874. <https://doi.org/10.1038/ng.890>
- Lowry, O. H., Berger, S. J., Carter, J. G., Chi, M. M.-Y., Manchester, J. K., Knor, J., & Pusateri, M. E. (1983). Diversity of Metabolic Patterns in Human Brain Tumors: Enzymes of Energy

- Metabolism and Related Metabolites and Cofactors. *Journal of Neurochemistry*, 41(4), 994-1010. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1983.tb09043.x>
- Luengo, A., Gui, D. Y., & Vander Heiden, M. G. (2017). Targeting Metabolism for Cancer Therapy. *Cell Chemical Biology*, 24(9), 1161-1180. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.08.028>
- Lunt, S. Y., & Vander Heiden, M. G. (2011). Aerobic glycolysis: Meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27, 441-464. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154237>
- Mannava, S., Grachtchouk, V., Wheeler, L. J., Im, M., Zhuang, D., Slavina, E. G., Mathews, C. K., Shewach, D. S., & Nikiforov, M. A. (2008). Direct role of nucleotide metabolism in C-MYC-dependent proliferation of melanoma cells. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 7(15), 2392-2400. <https://doi.org/10.4161/cc.6390>
- Marín-Hernández, A., Rodríguez-Enríquez, S., Vital-González, P. A., Flores-Rodríguez, F. L., Macías-Silva, M., Sosa-Garrocho, M., & Moreno-Sánchez, R. (2006). Determining and understanding the control of glycolysis in fast-growth tumor cells. Flux control by an over-expressed but strongly product-inhibited hexokinase. *The FEBS Journal*, 273(9), 1975-1988. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05214.x>
- Mb, S. (1996). The war on cancer. *Lancet (London, England)*, 347(9012). [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)91015-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)91015-6)
- Medina, R. A., & Owen, G. I. (2002). Glucose transporters: Expression, regulation and cancer. *Biological Research*, 35(1), 9-26. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602002000100004>
- Moreno-Sánchez, R., Rodríguez-Enríquez, S., Marín-Hernández, A., & Saavedra, E. (2007). Energy metabolism in tumor cells. *The FEBS Journal*, 274(6), 1393-1418. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05686.x>
- Mullarky, E., Lucki, N. C., Beheshti Zavareh, R., Anglin, J. L., Gomes, A. P., Nicolay, B. N., Wong, J. C. Y., Christen, S., Takahashi, H., Singh, P. K., Blenis, J., Warren, J. D., Fendt, S.-M., Asara, J. M., DeNicola, G. M., Lyssiotis, C. A., Lairson, L. L., & Cantley, L. C. (2016). Identification of a small molecule inhibitor of 3-phosphoglycerate dehydrogenase to target serine biosynthesis in cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(7), 1778-1783. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521548113>
- Negrini, S., Gorgoulis, V. G., & Halazonetis, T. D. (2010). Genomic instability—An evolving hallmark of cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(3), 220-228. <https://doi.org/10.1038/nrm2858>
- Newman, A. C., & Maddocks, O. D. K. (2017). One-carbon metabolism in cancer. *British Journal of Cancer*, 116(12), 1499-1504. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.118>
- Park, J. H., Pyun, W. Y., & Park, H. W. (2020). Cancer Metabolism: Phenotype, Signaling and Therapeutic Targets. *Cells*, 9(10), E2308. <https://doi.org/10.3390/cells9102308>
- Pastorino, J. G., Shulga, N., & Hoek, J. B. (2002). Mitochondrial Binding of Hexokinase II Inhibits Bax-induced Cytochrome c Release and Apoptosis*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(9), 7610-7618. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109950200>
- Pavlova, N. N., & Thompson, C. B. (2016). The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metabolism*, 23(1), 27-47. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.12.006>
- Robey, I. F., Lien, A. D., Welsh, S. J., Baggett, B. K., & Gillies, R. J. (2005). Hypoxia-Inducible Factor-1 α and the Glycolytic Phenotype in Tumors. *Neoplasia*, 7(4), 324-330. <https://doi.org/10.1593/neo.04430>
- Thornberry, N. A., & Lazebnik, Y. (1998). Caspases: Enemies within. *Science (New York, N.Y.)*, 281(5381), 1312-1316. <https://doi.org/10.1126/science.281.5381.1312>
- Vander Heiden, M. G., Cantley, L. C., & Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5930), 1029-1033. <https://doi.org/10.1126/science.1160809>
- Vaupel, P., Schmidberger, H., & Mayer, A. (2019). The Warburg effect: Essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression. *International Journal of Radiation Biology*, 95(7), 912-919. <https://doi.org/10.1080/09553002.2019.1589653>
- Warburg, O. (1956). On the origin of cancer cells. *Science (New York, N.Y.)*, 123(3191), 309-314. <https://doi.org/10.1126/science.123.3191.309>
- Wood, I. S., & Trayhurn, P. (2003). Glucose transporters (GLUT and SGLT): Expanded families of sugar transport proteins. *The British Journal of Nutrition*, 89(1), 3-9. <https://doi.org/10.1079/BJN2002763>

