



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: METABOLISMO Y CÁNCER.**

Autor: Rubén Jarillo González.

Fecha: 19 de Julio de 2019.

Tutor: María Almudena Porrás Gallo.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.

Índice

Resumen.....	3
Introducción	3
• Cáncer y sus consecuencias en el metabolismo	3
• Antecedentes en el estudio del metabolismo tumoral: Efecto Warburg	5
• Interacción del cáncer con su entorno. El efecto Warburg inverso.....	7
• Ejemplo de la reprogramación en el metabolismo: PKM2	9
• Metabolismo de glutamina y su importancia en el cáncer	10
• El papel de la serina en el metabolismo reprogramado y su implicación en la ruta del folato.....	12
Objetivos	14
Material y métodos.....	14
Resultados y discusión	14
1. Papel de PKM2 en la adaptación metabólica en las células tumorales:	14
1.1. PKM2 como enzima citosólica y su regulación en cáncer	14
1.2. PKM2 como regulador transcripcional.....	15
1.3. PKM2 como regulador de señales extracelulares	17
2. Modificación de otras rutas metabólicas importantes en cáncer: metabolismo de glutamina, serina y ruta del folato	17
2.1 Adicción a la glutamina en el cáncer	17
2.2 Serina y ruta del folato en el metabolismo del cáncer	18
Conclusiones	20
Bibliografía	20

Resumen

El cáncer es un grupo de enfermedades cuyas características principales son: señalización proliferativa incontrolada, resistencia a la apoptosis, angiogénesis, adquisición de inmortalidad replicativa, invasión activa y metástasis, y evasión de los supresores de crecimiento. Esto resulta en un crecimiento incontrolado de células anormales que se extiende más allá de sus límites habituales. En consecuencia, la célula tumoral aumenta su demanda energética y necesita alterar su metabolismo resultando en el llamado metabolismo reprogramado.

En la década de 1920, Otto Warburg descubrió que las células tumorales convertían de manera excesiva la glucosa en lactato independientemente de la disponibilidad de oxígeno. Esto da comienzo al estudio del metabolismo del cáncer y entre sus descubrimientos, nos centraremos en la implicación de la enzima glucolítica, piruvato quinasa y más concretamente en su isoforma PKM2 y de las rutas metabólicas de glutamina y serina en esta patología.

Los objetivos de este trabajo son conocer cómo en esta enfermedad se adapta el metabolismo celular para sobrevivir en nuestro organismo, y para ello, se ha realizado una revisión bibliográfica de aquellos estudios más importantes.

Se analizará en detalle la implicación de PKM2, la cual, no solo es importante por su actividad metabólica, sino que además, actúa como regulador transcripcional y como mediador extracelular. Por otro lado, la glutamina adquiere un papel fundamental en este metabolismo alterado, desarrollándose una adicción por este aminoácido. Finalmente, la serina está implicada en la síntesis de nucleótidos, importante en esta patología por su rapidez de división. Por lo tanto, se concluye que la reprogramación metabólica es vital para la célula tumoral al conseguir diferentes ventajas selectivas que le permiten sobrevivir en nuestro organismo.

Introducción

• **Cáncer y sus consecuencias en el metabolismo**

Según la OMS, podemos definir el cáncer de la siguiente forma: Cáncer es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo **(1)**. Las características que definen a esta enfermedad son conocidas como características distintivas (o **Hallmarks**), y son 6 según **Hanahan y Weinberg (2)**: señalización proliferativa incontrolada, resistencia a la apoptosis, angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos), adquisición de inmortalidad replicativa, invasión activa y metástasis, y evasión de los supresores de crecimiento. En 2011, los mismos autores extendieron esta lista para incluir la reprogramación metabólica como una característica distintiva emergente y como una diana potencial.

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo **(1)**, alcanzando en 2015 un total de **8,8 millones** de defunciones. Los cánceres más mortales, en orden son: cáncer de pulmón (1,76 millones de muertes), cáncer colorrectal (862000 muertes), cáncer de estómago (783000 muertes), cáncer de hígado (782000 muertes) y cáncer de mama (627000 muertes).

Su evolución es común y suele comenzar con una lesión precancerosa y finalizar con un tumor maligno. Para que se genere esta progresión, debe de haber una alteración celular resultado de una interacción entre los factores genéticos, epigenéticos y diferentes agentes externos, denominados carcinógenos, divididos en 3 tipos por la OMS **(1)**:

1. **Carcinógenos físicos**, como las radiaciones ultravioleta e ionizantes.
2. **Carcinógenos químicos**, como los componentes del humo del tabaco o el arsénico (Contaminante en el agua de bebida).

3. **Carcinógenos biológicos**, como algunos virus, bacterias o parásitos.

Cuando una célula empieza a crecer en tamaño, detiene su crecimiento a través de la **inhibición por contacto (3)**. Si hubiese un defecto o mutación en una célula, la maquinaria celular la eliminaría a través de la muerte celular programada o **“apoptosis”** y de esta forma, la célula mutada se reemplazaría por una célula sana y nueva. Al cabo de un día ocurren cientos de mutaciones, por lo que, teniendo en cuenta la **cantidad** de células en nuestro organismo y la gran suma de células nuevas que se forman, estas mutaciones no suelen adquirir una gran importancia.

Sin embargo, en algunas situaciones, una célula con diferentes mutaciones puede hacerse resistente a la apoptosis y/o causar que tenga un crecimiento más rápido. Las células que se formen a partir de ésta contendrán las mismas mutaciones, resultando en una masa de células anormales, llamado **“neoplasma”**. Hay que añadir que para que esto ocurra se necesitan de una gran suma de mutaciones en diferentes genes y que permitan las condiciones necesarias que hemos visto. Se consideran benignas a estas células neoplásicas en tanto en cuanto permanezcan en esa masa y no crezcan fuera de control. Bajo estas condiciones, las células tienen una información genética dañada y pueden adquirir la capacidad de invadir tejidos cercanos o incluso alejados. Estas células invasoras se consideran ahora cancerosas y la colección de estas células forma un **tumor**. Estas células cancerosas no se inhibe su crecimiento por contacto, son rápidas dividiéndose, desarrollan una resistencia a la muerte, escapan de puntos de control celulares del ciclo celular y consumen una gran cantidad de nutrientes.

Finalmente, estas células pueden pasar a los vasos sanguíneos, diseminarse por el organismo y migrar a otros órganos lejanos para invadirlos, fenómeno denominado **metástasis**. Estas células metastásicas tendrán diferentes mutaciones para adaptarse a su nueva localización y tampoco responderá de la misma manera a la quimioterapia. Algunas rutas metabólicas **(4)** al inicio del tumor se vuelven esenciales para soportar la deficiencia en nutrientes, mientras que para las células metastásicas hay rutas metabólicas que son más importantes que en esas primeras etapas del tumor.

Para satisfacer las crecientes demandas energéticas **(3)**, las células cancerosas se esfuerzan en adquirir nutrientes adicionales. Con cada división, la célula tumoral debe reunir componentes celulares esenciales como ADN y fosfolípidos, entre otros. Para ello, sus características metabólicas son diferentes comparadas con las células normales y necesitan de una reprogramación metabólica.

Se considera al **metabolismo reprogramado (4)** como un sello de distinción del cáncer, como hemos visto antes, siendo éste la alteración de rutas metabólicas en células cancerígenas si las comparamos frente a las rutas metabólicas de células normales. Se ha llegado a la conclusión de que la reprogramación del metabolismo mejora la aptitud celular, proporcionando una ventaja selectiva durante la tumorigénesis que ayuda a la célula a sobrevivir a condiciones de estrés y a proliferar hasta niveles patológicos.

Derivado de este metabolismo reprogramado, surgen los **oncometabolitos (4)**, término que se refiere a aquellos metabolitos cuya abundancia se incrementa de forma significativa en un tumor, habiendo un mecanismo que conecte una mutación en ese tumor con esa acumulación. Ejemplos de estos oncometabolitos **(4)** son:

- **D-2-hidroxioglutarato**, una forma reducida del α -cetoglutarato, que alcanza concentraciones milimolares gracias a mutaciones en la **Isocitrato Deshidrogenasa-1 o 2** en algunos tipos de tumores, y su repercusión reside en interferir en las funciones de las dioxigenasas que necesitan α -cetoglutarato como cosustrato.
- **Fumarato y succinato**, los cuales, a pesar de ser intermediarios del ciclo de Krebs, en algunos tumores pueden alcanzar concentraciones masivas como consecuencia de la

pérdida de función del complejo **fumarato hidratasa** o **succinato deshidrogenasa** como consecuencia de mutaciones. Ambos metabolitos interfieren con la actividad de las dioxigenasas, incluso el fumarato puede formar enlaces covalentes con grupos sulfidrilo con glutatión, proteínas y péptidos, alterando su función.

- **Antecedentes en el estudio del metabolismo tumoral: Efecto Warburg**

En los años 20, **Otto Warburg (5)** observó que, mientras el consumo de glucosa en células no alteradas está limitado por los metabolitos de gran capacidad energética producidos en presencia de oxígeno, fenómeno conocido como **efecto Pasteur**, las células tumorales se comportaban diferente. Warburg encontró que estas células eran capaces de mantener un elevado ritmo de glucólisis, convirtiendo glucosa en lactato a gran velocidad y cantidad, incluso en presencia de oxígeno. Este fenómeno fue denominado como **“glucólisis aeróbica”** o **Efecto Warburg** en la década de los 70 por **Efraim Racker (6)**, quien desarrolló sus propias teorías sobre el origen de este efecto, desde los desequilibrios en el PH intracelular hasta los defectos en la actividad ATPasa.

En 1929, un bioquímico inglés, **Herbert Crabtree (6)**, extendió el trabajo de Warburg descubriendo que la magnitud de la respiración en los tumores era variable. Concluyó que no solo las células tumorales exhiben la “glucólisis aeróbica”, sino que también existe una variabilidad en la fermentación, probablemente debido a influencias ambientales o genéticas.

DeBerardinis et al., (2) incubaron células con glucosa marcada con carbono-13, obteniendo niveles elevados de metabolitos glucolíticos, respaldando la hipótesis de Warburg. **Fantin et al.**, observaron que si inhibían el enzima **Lactato Deshidrogenasa** impidiendo la conversión de piruvato en lactato, reducían la tumorigenicidad, demostrando que la tumorigenicidad dependía de la energía proveniente de la glucólisis.

Warburg más tarde propuso que la causa de que las células tumorales dependiesen de la “glucólisis aeróbica” radicaba en una disfunción en la mitocondria de la célula **(6)**. Sin embargo, numerosos estudios posteriores demostraron que cada tipo de tumor tenía diferentes alteraciones bioenergéticas **(2)**. En 1967, **Weinhouse** encontró que las células de hepatoma de rata de lento crecimiento eran oxidativas (es decir, usaban principalmente el metabolismo mitocondrial), mientras que los hepatomas más proliferativos eran glucolíticos, demostrando que el efecto Warburg no es consistente en todos los tumores y consecuentemente el fenómeno de la “glucólisis aeróbica” esté bajo entredicho por muchos grupos de investigación que reportan tener líneas celulares con la función mitocondrial activa.

En 2004, **Zu y Guppy** descubrieron que el ATP proveniente de la glucólisis en varios tipos de cánceres contribuye sólo al 17% del total del ATP generado. De hecho, el ATP generado a través de la glucólisis era muy dependiente del tipo celular y puede ser tan bajo como el 0,31% en fibrosarcoma o tan alto como el 64% en hepatoma, siendo el resto del ATP generado proveniente de la fosforilación oxidativa mitocondrial.

Sin embargo, ¿en qué beneficia el efecto Warburg a las células cancerígenas? Comparado con la respiración mitocondrial, la “glucólisis aeróbica” es una forma muy ineficiente de generar ATP **(6)**, mientras que en la “glucólisis aeróbica” se producen **2 ATP** por molécula de glucosa, durante la fosforilación oxidativa se producen **36 ATP** por molécula de glucosa **(7)**. No obstante, esta producción ineficiente de ATP solo es un problema si los recursos escasean, cosa que no ocurre en las células proliferativas de mamíferos, las cuales están expuestas a una fuente continua de nutrientes gracias a los vasos sanguíneos. No importa cuánto se estimulen para dividirse, las células que utilizan la “glucólisis aeróbica” muestran proporciones altas de **ATP/ADP** y de **NADH/NAD⁺**. Una forma que tienen las células para formar ATP cuando el metabolismo de glucosa está comprometido

es a través de la **Adenilato Quinasa**, enzima que convierte dos ADP en ATP y AMP, ayudando a mantener un ratio ATP/ADP viable, pero la acumulación de AMP activa la **AMPK** (proteína quinasa AMP-dependiente), activación dependiente de la proteína supresora de tumores **LKB1** (o quinasa hepática B1) y su activación conlleva la fosforilación de muchas dianas para mejorar la obtención de energía en la célula.

Se ha propuesto al efecto Warburg **(6)** como un mecanismo de adaptación para suministrar los requerimientos metabólicos durante la proliferación incontrolada. El incremento del consumo de glucosa es debido a su uso como una fuente de carbono para procesos anabólicos como la síntesis de novo de nucleótidos, lípidos, proteínas y puede ser dirigido a múltiples vías que emanan desde la glucólisis **(Figura 1)**. Un ejemplo de esto sería el desvío del flujo glucolítico hacia la biosíntesis de novo de serina mediante el enzima **Fosfoglicerato Deshidrogenasa**.

Otro mecanismo propuesto sobre las funciones biosintéticas del efecto Warburg es la regeneración del NAD^+ desde NADH en el paso desde piruvato a lactato. Esta regeneración producida gracias al **Gliceraldehido-fosfato Deshidrogenasa** que permite mantener la glucólisis activa.

Otros investigadores **(6)** han propuesto que esta vía ineficiente de crear ATP aparece a causa de preservar las vías anabólicas. Se produce una compensación limitando el uso de la mitocondria a fin de que se mantenga una alta expresión de enzimas biosintéticas ante la poca disponibilidad de proteínas que se pueden crear. Por otro lado, el volumen físico disponible por célula puede limitar el número de mitocondrias y la energía y biomasa que excede de la capacidad mitocondrial necesita ser producida a través de la glucólisis aeróbica. Sin embargo, hay grandes limitaciones para esta función propuesta para el efecto Warburg. Primero, durante la glucólisis aeróbica, la mayoría del carbono no es retenido y además es excretado como lactato. De hecho, la ecuación general de una molécula de glucosa convertida en dos de lactato sin una ganancia ni pérdida general de NAD^+ y NADH no deja espacio para biomasa. La producción de biomasa es mutuamente excluyente con la generación de lactato y no es posible la regeneración de NAD^+ solo con lactato para la biosíntesis.

Actualmente, se ha desarrollado una técnica que nos permite aprovechar la capacidad de las células tumorales de captar glucosa para localizar un tumor, esta técnica se denomina **tomografía por emisión de positrones (PET) (2)**. La tomografía por emisión de positrones utiliza una glucosa marcada por un radioisótopo trazador, **18-Fluorodesoxiglucosa** (^{18}F -FDG), que permite localizar zonas donde haya una captación masiva de glucosa. La ^{18}F -FDG es transportada dentro de la célula por transportadores de glucosa (GLUTs) y termina siendo fosforilada por la **Hexoquinasa (HK)** en **18-Fluorodesoxiglucosa-6-fosfato**. Una vez dentro de la célula, el metabolito ^{18}F -FDG-6-P no puede ser metabolizado y debido a su grupo fosfato queda atrapada dentro de la célula. De esta forma permite identificar la presencia de tumores sólidos y ver si un tratamiento es eficaz ya que en estas células tumorales hay una sobreexpresión de GLUTs que implica una mayor captación de glucosa.

El aumento de la captación de glucosa ha sido asociado con el efecto Warburg. Sin embargo, que haya un aumento de la captación de glucosa no demuestra que haya un aumento de la glucólisis y una reducción del metabolismo mitocondrial. De hecho, una señal fuerte en el PET no quiere decir que la glucosa sea metabolizada, solo que es captada en esa zona. Además, no todos los cánceres son tan fácilmente detectables por PET y es un problema común en esta técnica que se sobreestime el tamaño actual del tumor. Una explicación para este problema puede ser porque el **microambiente del tumor** es glucolítico, fenómeno conocido como **efecto Warburg inverso**.

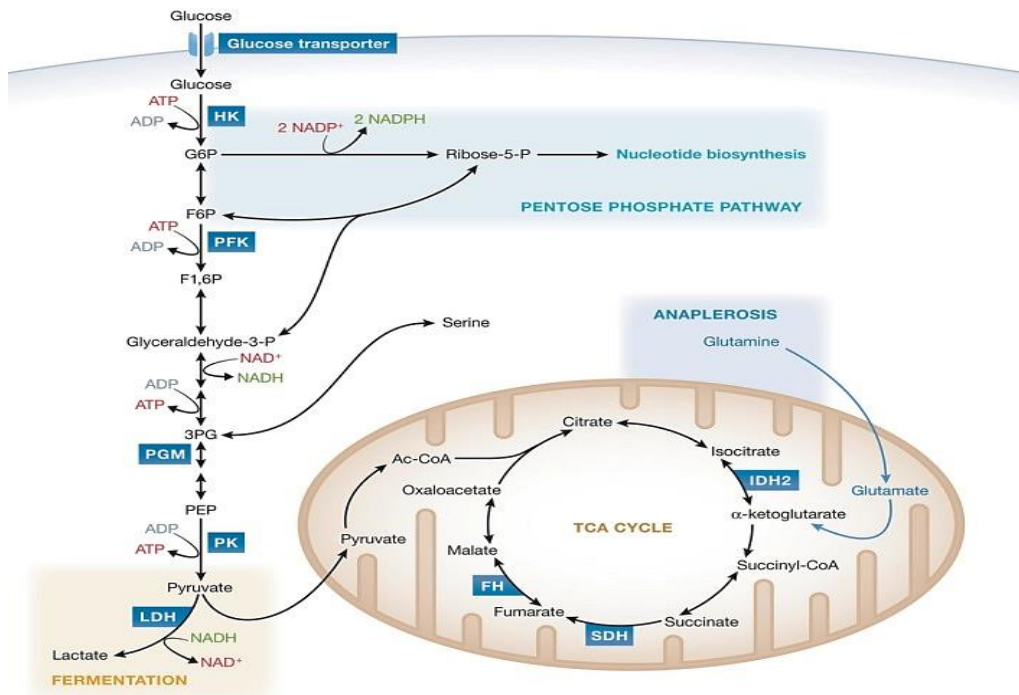


Figura 1: Esquema de la glucólisis, ciclo de Krebs, ruta de las pentosas fosfato y fermentación láctica en una célula normal.(8)

• Interacción del cáncer con su entorno. El efecto Warburg inverso

Postulado por primera vez por **Pavlidis et al. (2)** en 2009, el efecto Warburg inverso describe como el estrés oxidativo en los **fibroblastos asociados al cáncer (CAFs)** induce mitofagia y autofagia. Se piensa que el estrés oxidativo es producido por la secreción de peróxido de hidrogeno liberado por las células cancerígenas (**Figura 2**). Los fibroblastos experimentan entonces catabolismo celular, que resulta en una pérdida de la función mitocondrial y termina en un cambio desde el metabolismo aeróbico a la glucólisis, resultando en un aumento de la producción de lactato por los CAFs, que es transportado al espacio extracelular por el **transportador de monocarboxilato-4 (MCT4)**. Este lactato termina en la célula tumoral gracias al MCT1 y lo utiliza como combustible del metabolismo oxidativo. Las células cancerígenas (**3**) actúan como parásitos metabólicos en tanto que ellos obtienen nutrientes desde las células hospedadoras induciéndolas procesos catabólicos.

El efecto Warburg (**2**) no es una condición universal en los cánceres y de forma similar pasa con el efecto Warburg inverso. **Yoshida et al.**, en 2015, observaron que en los tumores que expresan niveles elevados de MCT4 no presentan el efecto Warburg inverso. El microambiente del cáncer está en continuo cambio y lo que hacen o pueden hacer las células tumorales varía según el fenotipo metabólico incluso con la misma masa tumoral.

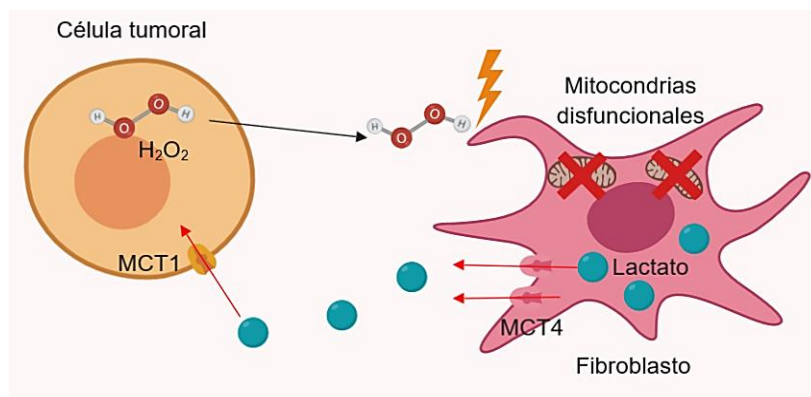


Figura 2: Interacción de una célula tumoral con fibroblastos asociados al cáncer.

En 1889, se propuso la hipótesis **semilla y tierra** (“seed and soil”) **(3)**, en la cual, se propone que el cáncer actúa como una semilla: crece mejor cerca de un órgano que proporcione “tierra fértil” para su crecimiento. Las vías que suelen afectarse en algunos tumores, como es el caso de las **células tumorales activadas por estroma (9)**, suelen asociarse con la biosíntesis de esteroides o de ácidos grasos insaturados, habiendo también cambios en la glucólisis y gluconeogénesis. De hecho, las señales de la matriz extracelular y de las células del **estroma** incrementan el flujo hacia la glucólisis y la vía de las pentosas fosfato, incluso el estroma, a veces, induce respuestas genómicas y metabólicas que fortalecen la progresión de tumores como el pancreático.

Los CAFs pueden liberar también alanina, además de ácido láctico, consecuencia de una degradación de proteínas inducida por autofagia en estas células. La alanina es captada por la célula tumoral para convertirla en piruvato en la mitocondria para producir energía y lípidos esenciales. En cáncer de mama, los CAFs liberan **quinurenina**, metabolito promotor de tumores que surge de la degradación del triptófano, cuya síntesis está incrementada en respuesta a mediadores lipídicos derivados de tumores (**prostaglandina E2**). En estos tumores, perfiles transcripcionales de fibroblastos deficientes en caveolina-1 revelan una sobreexpresión de genes cetogénicos promoviendo la formación de **cuerpos cetónicos**. Estos cuerpos cetónicos pueden usarse como fuente de energía por las células tumorales y promueven su crecimiento.

Se ha observado en algunos tumores **(9)** que, las condiciones de privación de nutrientes fortalecen el intercambio metabólico estromal-epitelial. Bajo restricción de glutamina, los CAFs sobreviven y experimentan una reprogramación metabólica que conlleva una mayor síntesis de glutamina. Bajo inanición de aminoácidos y piruvato, los CAFs mejoran la conservación de estos metabolitos dentro de vesículas extracelulares. El suministro de estos metabolitos encerrados en vesículas extracelulares es independiente de **K-RAS** (gen que controla el crecimiento, maduración y muerte celular, que puede estar alterado en algunos tipos de cáncer), sugiriendo que el remodelado metabólico de los CAFs sea un rasgo común del cáncer.

Por consiguiente, el microambiente tumoral se convierte en la fuente de nutrientes principal para las células tumorales y está compuesto por macromoléculas, tales como colágeno, ácido hialurónico, fibronectina, albúmina, lípidos, etc. Para aprovecharse de este microambiente y optimizar el uso de las macromoléculas, las células tumorales utilizan la **macropinocitosis**, proceso endocítico no selectivo, para captar componentes extracelulares e internalizarlos en vesículas. Los productos derivados de la degradación en las vesículas pasan al citosol como nutrientes listos para usarse.

Las células tumorales también pueden tomar nutrientes de la circulación sanguínea como pueden ser acetato y los cuerpos cetónicos, siendo ambos fuente de carbono para producir energía y biomasa. La **acil-CoA sintetasa 2** promueve la captación de acetato y produce el acetil-CoA necesario para la síntesis de ácidos grasos. Por otro lado, los cuerpos cetónicos, **acetona**, **acetoacetato** y **β -hidroxibutirato (β -OHB)**, de forma normal, son sintetizados en hígado cuando no hay glucosa para facilitar la biomasa y energía a los órganos. Su metabolismo conocido como **cetolisis** consiste en la oxidación del β -OHB para formar acetil-CoA, reacción catalizada por la **3-oxoacil-CoA transferasa 1 (OXCT1)**. En el carcinoma hepatocelular puede aparecer sobreexpresada OXCT1 debido a la privación de nutrientes, sugiriendo que metabolizan estos nutrientes en condiciones de necesidad.

Para finalizar, nos falta por hablar de los aminoácidos **(10)**, que son la fuente de carbono más consumida por las células proliferativas, como las tumorales. Como consecuencia, se liberan al microambiente tumoral los productos del metabolismo de aminoácidos, como es el amonio. Sin embargo, **Spinelli et al. (9)**, recientemente demostraron que el tumor recicla el amonio para maximizar el uso de nitrógeno, mediante la síntesis de glutamato a partir de α -cetoglutarato.

- **Ejemplo de la reprogramación en el metabolismo: PKM2**

La **piruvato quinasa (PK) (11)** es la enzima responsable de catalizar el último paso de la **glucólisis**, siendo **PKM2** la isoforma que se expresa mayoritariamente en las células tumorales y una de las enzimas sobre la cual centraremos este trabajo. Entendemos **isoforma** como las distintas formas de una proteína generada por genes relacionados, o por el mismo gen a través de un corte y empalme alternativo o maduración diferencial, que provoca diferencias en algunos aminoácidos de esas proteínas pero que no cambian su actividad principal.

En primer lugar, para entender la importancia de esta enzima dentro del metabolismo del cáncer hay que explicar la reacción que cataliza. Como hemos visto, la piruvato quinasa **(8)** cataliza el último e irreversible paso de la glucólisis, la conversión de **fosfoenolpiruvato (PEP)** en **piruvato** a través de la transferencia del grupo fosfato del PEP al ADP, formando una molécula de ATP y con la ayuda de cofactores como son el Mg^{2+} y K^+ **(Figura 3)**.

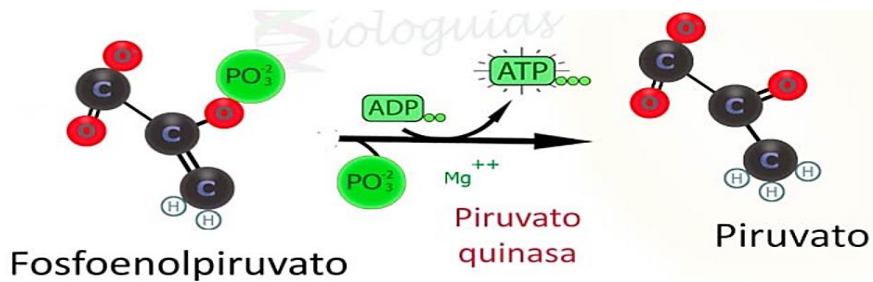


Figura 3: Conversión del fosfoenolpiruvato en piruvato gracias a la piruvato quinasa. Fuente: <https://www.biologuias.com/catabolismo/glucolisis-regulacion/>

En mamíferos, hay 4 isoenzimas de la piruvato quinasa codificadas por 2 genes **(8,11)**, el gen **PKLR** y **PKM**. El gen **PKLR** codifica para **PKL**, expresada, sobretodo, en hígado, y en algunas células del páncreas, intestino y riñón; también codifica para **PKR**, que se expresa en eritrocitos. Por otro lado, el gen **PKM** codifica para dos isoformas, **PKM1** y **PKM2**, solo diferenciadas por un **corte y empalme** alternativo y exclusivo **(Figura 4)** de exones mutuamente exclusivos que son idénticos en longitud, pero que codifican una región de 56 aminoácidos que difiere en 22 residuos. El **ORF (Open Reading Frame o marco de lectura abierto)** entero está compuesto por 12 exones donde la inclusión del exón 9 generará la transcripción de PKM1 mientras que el exón 10 es específico de PKM2.

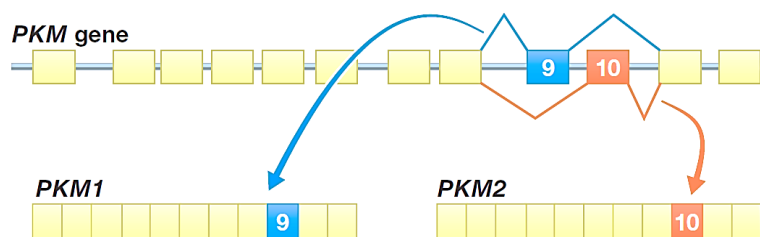


Figura 4: Imagen que ilustra el corte y empalme producido en el gen PKM para producir los genes PKM1 o PKM2. (8)

Debido a esas pequeñas diferencias, PKM1 es una enzima tetramérica activa por defecto mientras que en PKM2 los 22 aminoácidos diferentes crean una región de unión a **fructosa-1,6-bifosfato (FBP)**, que hace a esta isoforma dependiente de esta molécula para formar el tetrámero activo. El tetrámero **(12)** se forma por la unión de dos dímeros orquestado por el dominio C-terminal de cada monómero, y a su vez cada monómero se une a otro monómero para formar el dímero.

PKM2 no solo se activa por **FBP(8)**, sino que tiene muchos efectores alostéricos incluyendo **serina** y **SAICAR** (Succinil aminoimidazol carboxamida ribótido, intermediario de la síntesis de novo de purinas) **(Figura 5)**, ambos estimulan la actividad enzimática de PKM2. Por otro lado, se ha visto que la **fenilalanina** inhibe la actividad de PKM1 y 2, deprimiendo su actividad enzimática a través de

un mecanismo que produce un cambio conformacional en el tetrámero y de esa forma reducen su afinidad por PEP, pero manteniendo su forma de tetrámero. Por otro lado, todas las isoformas de la piruvato quinasa son inhibidas por **alanina** y **ATP**, y a su vez, PKR y PKM2 son ambas inhibidas por la **hormona tiroidea T3**, la cual, estabiliza la forma monomérica de PKM2 (**11**), pudiendo contrarrestarse si se une a FBP. La alanina se une en un lugar diferente a FBP en PKM2, produciendo la disociación de PKM2 en su dímero que tiene menos actividad.

Además, PKM2 (**8**) es inhibida de forma exclusiva por mecanismos encontrados en células proliferativas. Se trata de la fosforilación por **tirosina quinasas** que se unen a PKM2 y como consecuencia de su fosforilación en el residuo de **tirosina-105**, disminuye su actividad. Del mismo modo, la acetilación de la **lisina 305** reduce su actividad y la convierte en una diana para una degradación lisosomal. También, la oxidación en el residuo de **cisteína 358** aminora la actividad PKM2 y le hace sensible al estrés oxidativo asociado normalmente a la proliferación celular. Finalmente, se está investigando la molécula **shikonina (11)**, naftoquinona aislada de la planta **Lithospermum erythrorhizon**, que ha demostrado ser un inhibidor de PKM2, puede usarse para el tratamiento contra el cáncer.

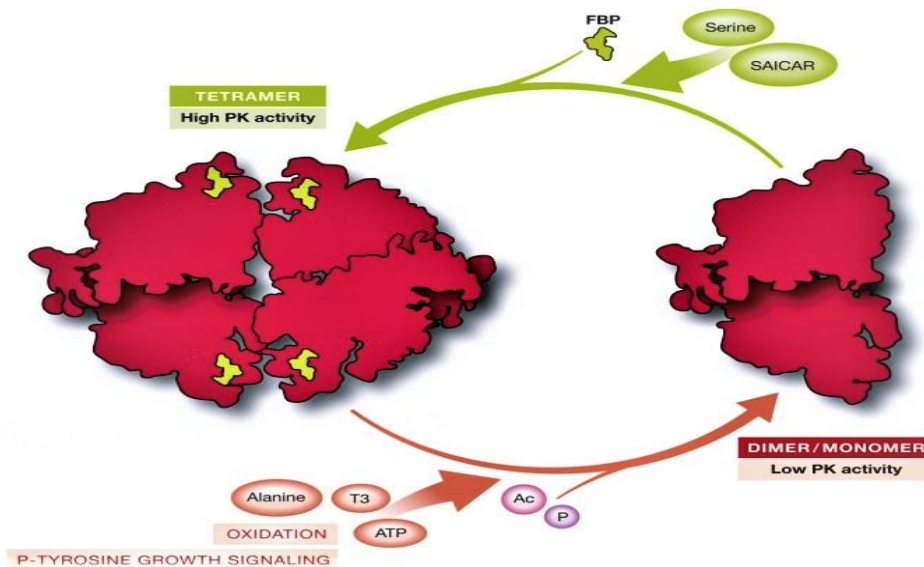


Figura 5: Regulación alostérica de la actividad de PKM2.(8)

No obstante, ¿qué tiene que ver todo esto con el cáncer? Se han hecho estudios (**12**) observando la abundancia relativa de PKM1 y PKM2 en tejidos normales y tumorales, demostrando que hay un cambio de PKM1 a PKM2 en muchos tipos de cáncer. Además, el cambio del corte y empalme del ARNm de PKM1 a PKM2 se ve inducido por el oncogén **c-Myc**, sugiriendo que a las células tumorales les beneficia este cambio para sus necesidades metabólicas. Se ha propuesto que la baja actividad enzimática de la piruvato quinasa (**8**) desvía los intermediarios glucolíticos hacia vías de biosíntesis tales como la vía de las pentosas fosfato o la síntesis de serina. Asimismo, la serina puede unirse a PKM2, activándola y resultando en una disminución de la síntesis de serina, entrando en un bucle de retroalimentación negativa.

• Metabolismo de glutamina y su importancia en el cáncer

La glutamina (**13**) constituye aproximadamente el **4,7%** de todos los aminoácidos del proteoma humano. Además, la biosíntesis de aminoácidos no esenciales depende en gran medida de la glutamina. De esta forma, la desaminación de la glutamina por diversas enzimas produce glutamato, el cual puede ser transformado en prolina. También el glutamato dona su grupo amino para la biosíntesis de alanina, serina, glicina y aspartato.

En primer lugar, hablaremos sobre las vías metabólicas donde interviene la glutamina. Primero, destacaremos la síntesis de glutamina (**Figura 6**), a través de la **glutamina sintetasa**, utilizando como sustrato el glutamato. Por otro lado, tenemos el proceso contrario, la **glutaminólisis (3)**, reacción catalizada por la enzima **glutaminasa** y que da lugar a la conversión de glutamina en glutamato. Éste a su vez, reacciona con piruvato, transfiriéndole su grupo amino y formando alanina y α -cetoglutarato, reacción catalizada por la **alanina aminotransferasa (GPT)** y juega un importante papel en el **ciclo glucosa-alanina (14)** que es requerido para mantener la gluconeogénesis en el hígado. En algunas células tumorales **GPT2** combina el aumento del flujo glucolítico con el aumento del catabolismo de glutamina para cubrir las necesidades metabólicas de la célula.

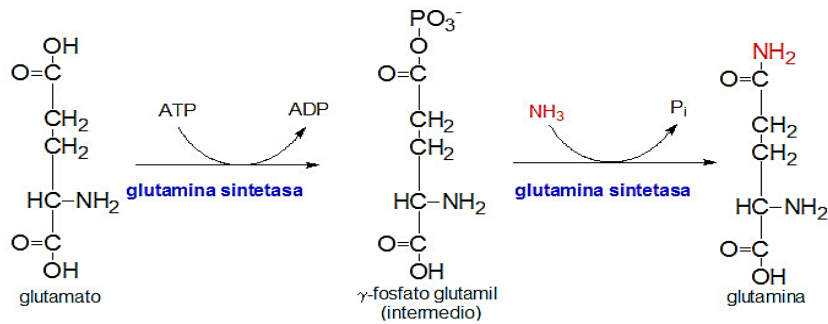


Figura 6: Conversión del Glutamato en Glutamina a través de la glutamina sintetasa.

De manera análoga, la glutamina ayuda a la producción de aspartato utilizando la isoforma citosólica de la **aspartato aminotransferasa (GOT1)**. Se vio en algunos estudios que las células proliferativas que tienen inhibida la cadena transportadora de electrones requieren una gran producción de aspartato. Por otro lado, la GOT2 mitocondrial actúa en conjunto con la GOT1, como parte de la **lanzadera malato-aspartato**, necesaria para lanzar electrones dentro de la mitocondria que se usan en la cadena de transporte de electrones y restaurar el NAD^+ requerido para el flujo glucolítico.

Otra aminotransferasa que utiliza el glutamato formado a partir de la glutamina es la **fosfoserina aminotransferasa (PSAT)**, requerida para la síntesis de novo de serina. La serina juega un variado número de papeles, desde la síntesis de proteínas y nucleótidos hasta actuar como activador alostérico de diferentes enzimas, como PKM2. Además, la serina es el precursor de muchos metabolitos como son esfingolípidos, glicina y folato, importantes para el crecimiento celular.

Por otro lado, no solo se utiliza la glutamina para la síntesis de aminoácidos, sino también para la síntesis de las bases nitrogenadas (**13**). Para la síntesis de purinas, el primer paso es el consumo de dos nitrógenos de dos glutaminas para formar **inositol monofosfato (IMP)**, el cual dará lugar a **adenosil monofosfato (AMP)** y **guanosil monofosfato (GMP)**, este último con la ayuda de un tercer nitrógeno de otra glutamina. Para la formación de bases pirimidínicas, el primer paso consta de la condensación del nitrógeno derivado de la glutamina con bicarbonato y ATP para generar carbamoil fosfato, y finalmente, una segunda glutamina es consumida para la síntesis de **citidina trifosfato (CTP)** desde **uridina trifosfato (UTP)**. Estas reacciones utilizan el nitrógeno γ de la glutamina, es decir, el nitrógeno del grupo amida terminal.

Finalmente, las células tumorales aprovechan este aminoácido de diferentes formas (**14**):

- Glutamina como fuente de carbono: en algunas condiciones, como la hipoxia o cuando la respiración mitocondrial está dañada, la carboxilación del α -cetoglutarato (formado a partir de glutamina) que da lugar a citrato, está aumentado y se encamina a la lipogénesis.

- Homeostasis redox: Un aumento de la oxidación de glutamina puede conllevar a un aumento en la producción de **especies reactivas del oxígeno** (ROS). Sin embargo, la glutamina es uno de los precursores del **glutati3n**, tripéptido formado por glutamato, cisteína y glicina que neutraliza los radicales de peróxido. Además, también regula la homeostasis de las ROS a través de la producción de NADPH vía **glutamato deshidrogenasa** (GLUD), así como usando la **enzima málica 1**.
 - Regulación de **mTOR**: La vía de mTOR, que puede ser regulada por glutamina, coordina una amplia variedad de señales ambientales para regular el crecimiento celular y la homeostasis. La disponibilidad de aminoácidos estimula la actividad de mTOR y esta disponibilidad depende de los transportadores de aminoácidos, aunque pueden entrar en la célula por macropinocitosis (como hemos visto).
 - Autofagia: La autofagia puede ser antitumoral (limitando el estrés oxidativo y por la inestabilidad cromos3mica) y protumoral (proporcionando nutrientes y suprimiendo vías de estrés). Muchos procesos en los que interviene la glutamina suprimen la autofagia, como puede ser la regulación de mTOR o la eliminación de ROS. En otro contexto, la glutamina promueve la autofagia gracias al amonio producido en su catabolismo.
- **El papel de la serina en el metabolismo reprogramado y su implicaci3n en la ruta del folato**

La serina es un aminoácido no esencial que est3 implicado en muchas reacciones metab3licas importantes para el crecimiento celular, como es la **ruta del folato**, tambi3n conocida como **metabolismo de un carbono o del metilo activo (15)**. Esta v3a es universal y sirve para activar y transferir una unidad de carbono en procesos biosint3ticos que incluyen la s3ntesis de purinas, timidina y la remetilaci3n de homocisteína. Esto es posible gracias a la capacidad del folato de actuar como un transportador de una unidad de carbono. Debido a su importancia en la s3ntesis de ácidos nucleicos, el bloqueo de esta ruta con fármacos como el **metotrexato**, bloquea la progresi3n tumoral. En esta ruta se incluye la conversi3n de serina a glicina, (**Figura 7**)(16) catalizado por la **serina hidroximetiltransferasa** SHMT1 (citoplasmática) y la SHMT2 (mitocondrial). El carb3n escindido de la serina es transferido al **tetrahidrofolato** (THF) formando metilen-THF. Asimismo, se puede dar la reacci3n contraria para producir serina con el coste de una unidad de carbono.

A partir del metilen-THF se forma el **10-formil-THF (15)**, la forma m3s oxidada del folato y es la forma que se requiere para la s3ntesis de **purinas**. Durante la s3ntesis de purinas, se incorporan dos unidades de 10-formil-THF para formar la estructura de purina. Las enzimas que realizan esta operaci3n forman un complejo fuera de la mitocondria y se le denomina el **purinosoma**.

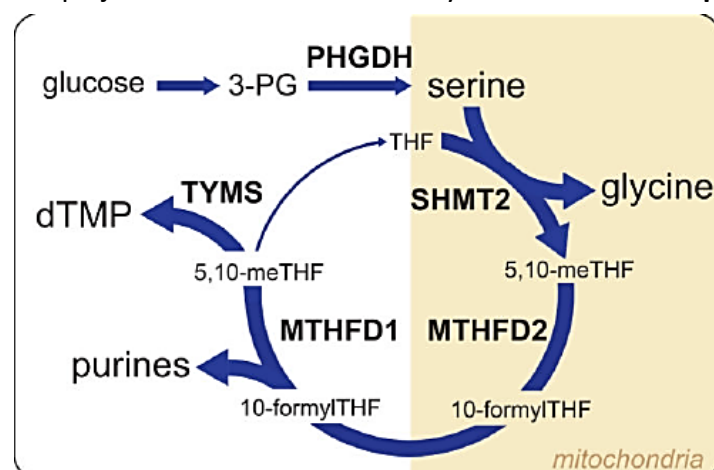


Figura 7: Metabolismo de Serina y su implicaci3n en el metabolismo del metilo activo. (15)

Por otra parte, se puede sintetizar serina a partir del 3-fosfoglicerato (3-PG) **(16)** gracias a la enzima transaminasa **PSAT1** y al glutamato, donador del grupo amino (como hemos visto). La serina modula la disponibilidad de 3-PG para su propia síntesis, ya que es un activador de la enzima glucolítica PKM2. También se puede generar glicina mediante procesos lisosomales, en los cuales se destruyen proteínas extra- o intracelulares y donde quedan libres los aminoácidos.

A las células tumorales les interesa aprovecharse de este metabolismo por diferentes razones: síntesis de nucleótidos, metilación del ADN y producción de NADH/NADPH. Del mismo modo, la serina extracelular tiene un importante papel ayudando en la proliferación de las células tumorales actuando como provisión de unidades de carbono.

Objetivos

- Conocer el papel de PKM2 en la adaptación metabólica de las células tumorales.
- Comprender el beneficio que supone la modificación de otras rutas metabólicas importantes en el cáncer como son: el metabolismo de glutamina, serina y ruta del folato.

Material y métodos

Para apoyar los conocimientos de este trabajo y poder cumplir estos objetivos, se ha realizado una revisión bibliográfica de diferentes estudios sobre el cáncer y sobre las diferentes vías metabólicas que pueden ser modificadas en esta enfermedad, que han sido publicados y revisados en la página conocida como **Pubmed**. Como criterios de inclusión he tenido en cuenta que los trabajos publicados en dicha web fuesen lo más actualizados posible.

Resultados y discusión

1. Papel de PKM2 en la adaptación metabólica en las células tumorales:

1.1. PKM2 como enzima citosólica y su regulación en cáncer

Como ya hemos comentado anteriormente, la actividad enzimática de **PKM2 (11)** está determinada por la configuración de la enzima en un tetrámero, dímero o monómero. **PKM1** existe de forma natural como un tetrámero, lo que permite una unión óptima al sustrato **fosfoenolpiruvato (PEP)**. Por otro lado, PKM2 requiere la unión de un activador, el cual desencadene la máxima actividad piruvato quinasa. El activador principal es la **fructosa-1,6-bifosfato (FBP)**, molécula que se une en una localización diferente al sustrato, promoviendo y estabilizando la formación del tetrámero al mismo tiempo que aumenta la afinidad por PEP, logrando unos parámetros cinéticos parecidos a los de PKM1.

En la célula tumoral, hay un incremento de PKM2, resultando en una disminución de la actividad piruvato quinasa total en estas células, permitiendo que intermediarios glucolíticos sean canalizados en la producción de otros metabolitos como son **serina** o **glicina**. Este incremento en la síntesis de serina y glicina es crítico para la célula tumoral, no es casualidad que la serina sea uno de los activadores de PKM2, desencadenando una **retroalimentación negativa** para disminuir su propia síntesis cuando hay una gran cantidad de este metabolito. Esta sobreexpresión se debe al oncogén **c-Myc (17)**, que codifica para una proteína llamada **MYC (18)**. MYC es un factor de transcripción que dimeriza con la proteína **MAX** para unirse al ADN y regular la expresión de diferentes genes. De esta forma, MYC (17) activa la transcripción de **ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas 1, A1 y A2 (hnRNPs)**, las cuales se unen y reprimen el **exón 9** del gen **PKM**. Como resultado obtenemos la inhibición de la expresión de PKM1, obligando a la célula a expresar solo PKM2.

Por otro lado, tenemos la **diana en mamíferos de rapamicina** o **mTOR**, que se ha demostrado que es un factor clave en el **efecto Warburg**, así como un inductor de la expresión de PKM2 y otras enzimas glucolíticas bajo condiciones de normoxia. **Sun et al.** demostraron que PKM2 es una enzima crucial en el efecto Warburg, debido a mTOR, en donde las cascadas de **HIF-1 α** (factor inducible por hipoxia) y **MYC-hnRNPs** son las causantes de la regulación de mTOR sobre PKM2.

Además, a parte de la regulación a nivel de su gen, PKM2 alberga múltiples residuos de aminoácidos (19) que son capaces de ser modificados post-traduccionalmente (**Figura 8**). La fosforilación de la **tirosina 105 (Y105)** interrumpe la unión a FBP para inhibir la conformación de tetrámero, disminuyendo así su actividad enzimática. Esta fosforilación es regulada negativamente por el enzima **tirosina fosfatasa 1B (PTP1B)**, donde una menor actividad de PTP1B resulta en un aumento en la fosforilación de la Y105. La fosforilación de la **treonina 454** inhibe la actividad

enzimática de PKM2 y, similar al caso anterior, se promueve el consumo de glucosa en la célula y hay un incremento en la producción de lactato y en la proliferación celular. La oxidación de la **cisteína 358** también bloquea la formación del tetrámero, promoviendo el crecimiento tumoral. Sin embargo, la fosforilación del residuo de **treonina 365** por **JNK1** (proteína quinasa c-Jun N-terminal) resulta en un aumento de la actividad de PKM2, aumentando la afinidad de PKM2 con sus sustratos PEP y ADP. No obstante, JNK1 está inhibida en el cáncer manteniendo a PKM2 con baja actividad.

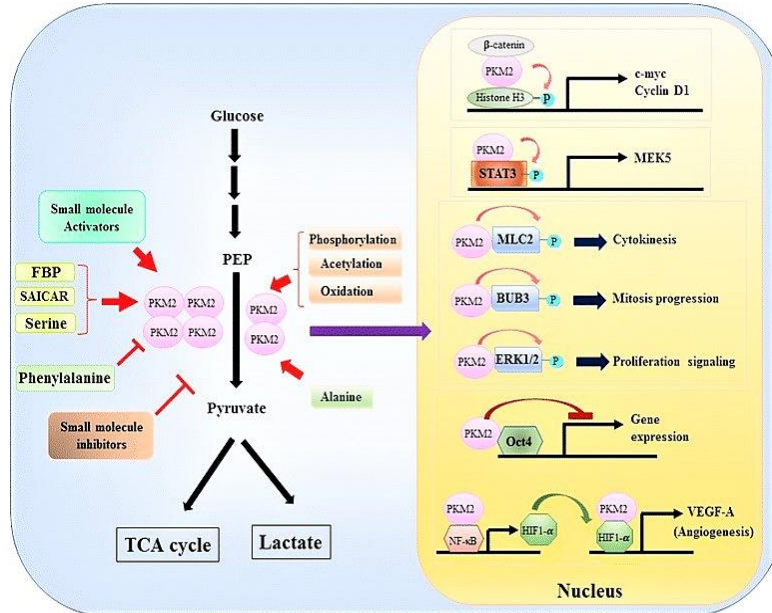


Figura 8: Regulación de PKM2 como enzima citosólica y como regulador transcripcional.(12)

De esta forma, podemos observar que una reducción de la actividad de PKM2 vía modificaciones postraduccionales mantiene el fenotipo del efecto Warburg y aumenta la proliferación tumoral. Se ha propuesto que de esta forma se estimula que los intermediarios glucolíticos vayan a vías biosintéticas como la síntesis de nucleótidos o de aminoácidos. Por otro lado, se ha visto que el PEP que no es utilizado al no estar activa la enzima, transfiere su grupo fosfato a la **histidina 11** de la enzima **fosfoglicerato mutasa 1** (PGAM1) por mecanismos aún desconocidos y que resulta en un incremento de la glucólisis y del uso de estos intermediarios en vías biosintéticas.

En definitiva, al cáncer le interesa mantener una sobreexpresión de esta isoforma ya que tiene muchos puntos donde poder regular su actividad. Al ser su estado normal de menor actividad que su isoforma más común, PKM1, puede tener activa esta enzima cuando es necesaria y de esta forma ahorra nutrientes que le son escasos. El cáncer necesita tener todo controlado para sobrevivir y mantener su ritmo de crecimiento y PKM2 se lo permite.

1.2. PKM2 como regulador transcripcional

Se ha sugerido que PKM2 además desarrolla funciones de regulación de la expresión de genes actuando como un transactivador de proteínas junto con **HIF-1α** y **β-catenina** (Figura 8) (8) o desplegando una actividad **proteína quinasa**. Esta actividad la realiza utilizando su sustrato PEP como un donador de grupos fosfato sobre una larga lista de proteínas, entre las que se incluye: el **transductor de señal y activador de la transcripción 3** (o Stat3), la **histona H3**, la **cadena ligera de la miosina 2** (o MLC2), la **proteína del punto de control de la mitosis** (o Bub3) y la **quinasa regulada por señales extracelulares** (o ERK1/2). No obstante, hay algunos estudios recientes que no encuentran evidencias de que PKM2 actúe como una proteína quinasa dependiente de PEP y lo atribuyen a una contaminación con proteínas quinasas dependientes de ATP.

Primero comenzaremos comentando su actuación conjunta con HIF-1 α y β -catenina. PKM2 se traslada al núcleo (**19**) después de ser activada por las fosforilaciones en la **serina 37** y la **serina 202** por **ERK1/2** y **Akt** (proteína quinasa B) respectivamente. La fosforilación en la serina 37 es importante para su traslado al núcleo pero se necesita que se desfosforile por **Cdc25a** (proteína del ciclo de división celular 25 homólogo A) dentro del núcleo para su unión con β -catenina. Algunas evidencias indican (**20**) que es la forma monomérica de PKM2 la que se transporta al núcleo, sugiriendo que cualquier modificación postraducciona que favorezca esta conformación permitirá su translocación al núcleo.

PKM2 mejora la unión y reclutamiento de **p300** por HIF-1 α (**17**), el cual, es un coactivador transcripcional que regula la actividad de esta proteína. De hecho, HIF-1 α crea un bucle de **retroalimentación positiva** al activar la transcripción del gen **PKM2**. La interacción de HIF-1 α y PKM2 es mayor en células tumorales en condiciones de hipoxia (**21**) (debido a que se estimula la acumulación de HIF-1 α). Recientemente, se ha observado que PKM2 impide la acumulación excesiva de HIF-1 α para favorecer la actividad transcripcional del **VEGF** (factor de crecimiento del endotelio vascular) (**Figura 8**) y su secreción, ya que esta acumulación excesiva lo impide. Gracias a esta actuación, se estimula la **angiogénesis tumoral**, desarrollándose más vasos sanguíneos en el tumor y favoreciendo la tumorigenicidad.

Por otro lado, PKM2 se enlaza a través de su **lisina 433** con la **treonina 333** fosforilada por **c-SRC** de la β -catenina (**17**). Esta interacción es imprescindible para que sean reclutadas al promotor de la **ciclina D1** (CCND1) y que concluye con la liberación del promotor de la **histona desacetilasa 3**, se produzca la acetilación de la histona H3 y la expresión de la ciclina D1. La expresión de la ciclina D1 es crítico para la transición de la **fase G1** a la **S** en el ciclo celular (**22**), fase donde se comienza la **replicación del ADN**.

En las células activadas con **EGFR** (receptor del factor de crecimiento epidérmico), **ERK2** se une directamente a PKM2 y fosforila su serina 37, llevándolo al reclutamiento de la **peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1** (PIN1). PIN 1 ayuda a la unión de PKM2 a la **importina $\alpha 5$** , facilitando su translocación al núcleo. Por otro lado, la sumoilación por la **SUMO-E3 ligasa** así como la acetilación por la **acetil transferasa p300** previene la unión de PKM2 a FBP y promueve la translocación al núcleo (**11**).

Se han encontrado mecanismos que regulan la actuación de PKM2 en el núcleo, y entre ellos podemos destacar la **O-glucosil-N-Acetilación (23)**. Esta modificación postraducciona actúa sobre la función metabólica y nuclear de PKM2, con el fin de incrementar en la célula el efecto Warburg. Por un lado, reduce la actividad piruvato quinasa mientras que por otro lado, la O-glucosil-N-acetilación en la **treonina 405** y **serina 406** directamente desestabiliza el tetrámero para que se transporte al núcleo.

Además, PKM2 desarrolla la capacidad de actuar como una proteína quinasa. Con esta función consigue regular el ciclo celular a través de la fosforilación de reguladores importantes en el ciclo celular (**11**), incluyendo Bub3 y la cadena ligera de miosina 2 (MLC2), desarrollando de esta manera la **citoquinesis** (separación del citoplasma durante la división celular). Sin embargo, las proteínas más importantes sobre las que actúa son **Stat3** e **histona H3**. La fosforilación de Stat3 en la **tirosina 705** por PKM2 provoca la transcripción de **MEK-5** (proteína quinasa de especificad dual activada por mitógenos o MAP2K5). Por otro lado, la fosforilación de la histona H3 (**20**) por PKM2 desencadena la disociación de la histona desacetilasa 3 del promotor, y como ya hemos visto, se produce la acetilación de la histona H3 y la transcripción del gen. Esta última actuación (**17**) es clave para la estimulación del **EGF** (factor de crecimiento epidérmico).

1.3. PKM2 como regulador de señales extracelulares

Se ha observado que PKM2 puede actuar fuera de la célula tumoral (12). **Buschow et al.** fueron los primeros en detectar a PKM2 en los exosomas de linfocitos B y la identificaron como una proteína asociada al complejo principal de histocompatibilidad. Estudios recientes avalan que los exosomas realizan una especie de comunicación al liberar diferentes componentes desde la célula huésped hasta la célula receptora, siendo PKM2 un posible mediador en esta comunicación.

Por otro lado, PKM2 se libera libre a la circulación sanguínea en su forma de dímero (17), pudiendo usarse como un marcador tumoral. Esta PKM2 promueve la **angiogénesis** incrementando la proliferación, migración y adhesión a la matriz del endotelio vascular. La angiogénesis es crítica para la reparación de heridas (24), de esta forma, PKM2 puede regenerar tejidos. De hecho, se ha observado que los neutrófilos liberan PKM2 para cerrar una herida en un tejido.

Se ha visto que en el **cáncer de colon** se secreta PKM2 como mediador autocrino activando las vías **PI3K/Akt** y **Wnt/ β -catenina** que promueven la **migración celular** (12). Sin embargo, los investigadores se preguntan si actúa de forma similar la PKM2 empaquetada en exosomas y la PKM2 libre. La PKM2 extracelular libre no puede atravesar la membrana plasmática. Por lo tanto, activa rutas intracelulares desde la superficie celular a través de receptores de factores de crecimiento. Mientras tanto, la PKM2 empaquetada puede ser endocitada y su liberación puede afectar al metabolismo y la expresión de genes por mecanismos intracelulares.

2. Modificación de otras rutas metabólicas importantes en cáncer: metabolismo de glutamina, serina y ruta del folato

2.1 Adición a la glutamina en el cáncer

Muchas células tumorales no pueden sobrevivir en ausencia de glutamina, exhibiendo un fenómeno conocido como **“adicción a la glutamina”** (25). Esta adicción puede deberse a diferentes procesos, como pueden ser la regulación del metabolismo por oncogenes como **MYC** o **KRAS**, desviando la obtención de macromoléculas en la célula exclusivamente al metabolismo de glutamina y, de esta forma, sin ella, la célula no obtiene la energía necesaria para sobrevivir.

El oncogén **c-MYC** (25) codifica una proteína que se une y transactiva 11 genes encargados de la síntesis de nucleótidos. De los 5 pasos enzimáticos en la síntesis de nucleótidos que utilizan glutamina, 3 de ellos, **amidofosforribosiltransferasa**, **carbamoilfosfato sintetasa 2** y **CTP sintetasa** están regulados directamente por MYC. La proteína MYC es básicamente una cremallera formada por una **hélice-lazo-hélice** que dimeriza con otra proteína de estructura similar llamada **MAX**, ejerciendo ambas los efectos activadores o represores transcripcionales. Además, se ha observado una relación entre los niveles del oncogén **MYC** con el aumento de la glutaminólisis a través de modificaciones transcripcionales. Se ha demostrado que la proteína MYC se une y activa transcripcionalmente a 2 transportadores de glutamina de alta afinidad: **SLC 38A5** (o SN2) y **SLC1A5** (o ASCT2), que son los transportadores requeridos para la activación de mTORC1 dependiente de glutamina, como ya veremos más abajo.

MYC desencadena la dependencia celular en la glutamina exógena como fuente de carbono para el mantenimiento del potencial de la membrana mitocondrial y la síntesis de macromoléculas. Por lo tanto, la escasez de glutamina en las células transformadas por MYC lleva a una reducción en los niveles de metabolitos del ciclo de Krebs independientemente de la disponibilidad extracelular de glucosa. MYC, como ya vimos, favorece la formación de PKM2 y de esta forma favorece la formación de lactato a través de glucosa, es por eso por lo que ahora la célula depende de la glutamina para la formación de metabolitos del ciclo de Krebs.

Otra forma de inducir dependencia de la célula tumoral al metabolismo de la glutamina es mediante las transformaciones dirigidas por el oncogén **KRAS** (26). **KRAS** mutado puede incrementar

la dependencia en aminotransferasas a través de la desregulación de **GLUD** y conlleva al incremento en la producción de **NADPH** para regular la formación de **glutati6n** y controlar los niveles de las **ROS**.

Por otro lado, los metabolitos derivados de la glutamina regulan modificaciones y procesos epigenéticos, como por ejemplo, **α -cetoglutarato**, que actúa como cofactor de la **histona desmetilasa que contiene dominios Jumonji (27)**. Además, para regular la expresi6n de genes vía mecanismos epigenéticos, estudios recientes han se~alado que la glutamina extracelular activa el factor de transcripci6n **STAT3** que promueve la proliferaci6n tumoral. Por otro lado, la glutamina intracelular indirectamente activa a **mTORC1** (diana en mamíferos del complejo de rapamicina 1), encargado de activar la traducci6n de proteínas e inhibir la autofagia en respuesta a los niveles de aminoácidos (25). En presencia de suficientes aminoácidos, se activa una se~al a través del factor de crecimiento similar a insulina (**IGF**)-**PI3K-Akt** o a través de una se~al extracelular de **ERK-proteína quinasa ribosomal p90-RSK**, para activar mTORC1. Se ha visto que se necesita glutamina para que se consiga la máxima activaci6n de mTORC1 por razones aún desconocidas.

Aunque la glutamina es un contribuidor clave para la disponibilidad de aminoácidos no esenciales, se ha descubierto recientemente que una porci6n de la glutamina se transporta fuera de la célula para intercambiarse por aminoácidos esenciales (25). Estos aminoácidos activan directamente mTORC1 para iniciar la traducci6n de proteínas y el crecimiento celular. Por lo tanto, la toma de glutamina y su posterior liberaci6n sirve tanto como una se~al para mTORC1 como para aumentar la disponibilidad de aminoácidos esenciales, promoviendo de esta forma la traducci6n de proteínas (**Figura 9**).

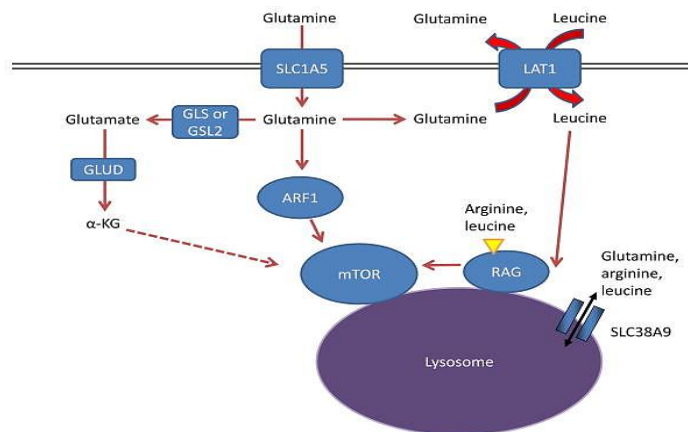


Figura 9: Regulaci6n de mTOR por la glutamina. (26)

2.2 Serina y ruta del folato en el metabolismo del c6ncer

El metabolismo de serina es beneficioso para las células tumorales al favorecer la sntesis de **nucle6tidos**, incrementar la producci6n de **NADH** y **ATP** o al proporcionar una mayor capacidad de producci6n de **NADPH** mitocondrial para limitar la producci6n de las **ROS**. Es por esta raz6n que es un punto clave en el estudio de la regulaci6n del metabolismo por parte del c6ncer.

En primer lugar, se han observado células tumorales que expresan niveles elevados de **fosfoglicerato deshidrogenasa** (PHGDH), enzima que sintetiza serina de novo desde el **fosfoglicerato** (como hemos visto en la introducci6n). Estas células muestran un incremento en la sntesis de novo de serina y son menos dependientes de la serina ex6gena para crecer, pudiendo sobrevivir aunque en el organismo no haya serina (28). La reducci6n o inhibici6n de PHGDH en las células tumorales que sobreexpresan esta enzima disminuye su crecimiento y supervivencia. Se investig6 el destino de una serina marcada con ^{13}C en las células a las que se les haba inhibido PHGDH. Se observ6 que esta serina marcada se acumulaba en la célula y no se dirigi6 a la sntesis de nucle6tidos. Análisis más detallados han demostrado, que la p6rdida de la enzima citos6lica **SHMT1** (serina hidroximetil transferasa) restaura la incorporaci6n de serina en la sntesis de

nucleótidos a pesar de la inhibición de PHGDH. Esta enzima convierte la serina en glicina formando, como consecuencia, el **5,10-metilen-tetrahidrofolato**. Cuando la enzima PHGDH deja de sintetizar serina, el enzima SHMT1 realiza la reacción contraria para sintetizar serina, dejando a la célula sin 5,10-metilen-tetrahidrofolato requerido para la síntesis de nucleótidos, de esta forma, su inhibición es beneficiosa para la célula tumoral.

SHMT1, Timidilato sintasa (TYMS) y dihidrofolato reductasa experimentan varias transformaciones por el **pequeño modificador parecido a ubiquitina (SUMO)** durante la **fase S** del ciclo celular, resultando en la translocación nuclear de estas enzimas para proveer **desoxitimidina trifosfato (dTTP)** durante la **replicación del ADN**. La pérdida de SHMT1 conlleva un incremento en la **S-adenosilmetionina** a expensas de la síntesis de **Timidilato**, resultando en un aumento de la incorporación de **uracilo** en el ADN. Este defecto en la síntesis de ADN conlleva a una inestabilidad genómica y podría de esta forma ayudar al desarrollo del cáncer.

Durante las **fases S y G2/M** del ciclo celular o durante una deficiencia en folato (**28**), el enzima **C-1-tetrahidrofolato sintetasa (MTHFD1)** aumenta en el núcleo para preservar la síntesis de Timidilato a expensas de la remetilación de la homocisteína en el citosol. La pérdida de función selectiva del MTHFD1 conlleva a la disminución de la síntesis de Timidilato y un incremento en la incorporación de **uracilo** en el ADN. Muchos estudios han asociado la amplificación o incremento en la expresión de las enzimas del ciclo del folato con el desarrollo del cáncer.

De manera análoga a los casos antes vistos, se ha observado la actuación de proteínas propias de células tumorales, varias ya vistas, en la regulación del metabolismo de serina o en la ruta del metilo activo, entre ellos estarían (**28**)(Figura 10):

- **MYC**: induce enzimas de la síntesis de serina, como es el caso de PHGDH. Las células que sobreexpresan la proteína MYC dependen de que se active la síntesis de novo de serina para sobrevivir en caso de que haya una carencia de nutrientes.
- **HER2**: receptor de tirosina quinasa, se ha vinculado a la expresión del gen *PHGDH*. La región promotora de *PHGDH* está regulada por la **proteína de especificidad 1 (SP1)** y el **factor de transcripción nuclear Y (NFY)**, incrementados ambos en las células tumorales.
- **H3K9**: histona H3 lisina 9 metiltransferasa G9A está sobreexpresada en algunos cánceres y desemboca en el aumento de la expresión de enzimas de la síntesis de serina y su metabolismo, como PHGDH o SHMT2, a través de la metilación en el correspondiente loci del gen, en respuesta a la falta de serina.
- **KRAS**: proteína que actúa en otra rutas metabólicas, además está asociada con una mayor expresión en las enzimas del metabolismo del folato, incluyendo MTHFD2.

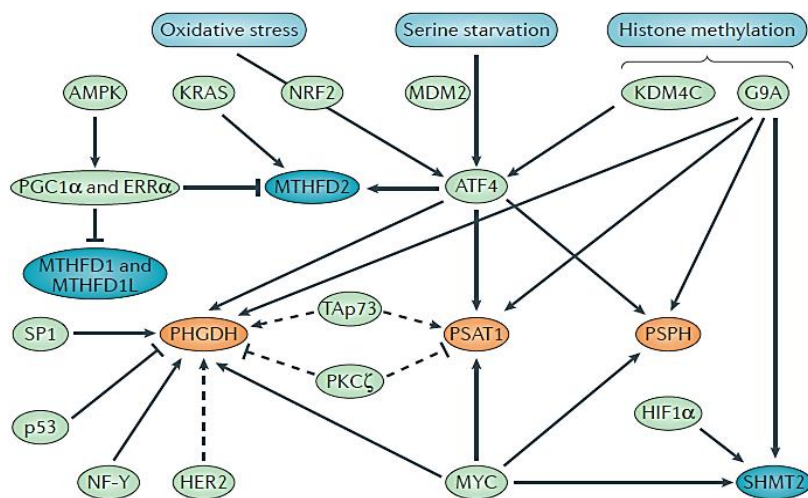


Figura 10: Regulación del metabolismo de serina. (28)

Conclusiones

- 1) La enzima PKM2 juega un papel fundamental en el desarrollo del cáncer, actuando como una enzima versátil fácil de regular, permitiendo a la célula controlar el consumo de glucosa y su derivación a rutas biosintéticas. También actúa como un regulador transcripcional junto con HIF-1 α y β -catenina o directamente actuando como proteína quinasa fosforilando proteínas clave en la regulación de la transcripción de genes. El último papel de PKM2 es como mediador extracelular, promoviendo la angiogénesis y la migración celular.
- 2) La ruta del metabolismo de glutamina es modificada para facilitar la síntesis de macromoléculas, dado que a la célula le interesa mantener un ritmo elevado de uso de este aminoácido, resultando en una adicción por esta molécula.
- 3) En las células tumorales, se modifica el metabolismo de serina y el ciclo del metilo activo para conseguir una mayor síntesis de nucleótidos y para producir mutaciones en el ADN.

Podemos concluir que el metabolismo reprogramado es vital para la célula tumoral, gracias a él, la célula consigue diferentes ventajas selectivas que la permiten sobrevivir a un medio que le es hostil. Ejemplos de estas ventajas serían: la regulación de la expresión de genes, la activación de la angiogénesis a través de señales extracelulares, la mejora de la migración celular, etc.

Bibliografía

1. WHO. Cancer @ Wwww.Who.Int. 2018.
2. Potter M, Newport E, Morten KJ. The Warburg effect: 80 years on. *Biochem Soc Trans.* 2016 Oct 19;44(5):1499–505.
3. Kalyanaraman B. Teaching the basics of cancer metabolism: Developing antitumor strategies by exploiting the differences between normal and cancer cell metabolism. Vol. 12, *Redox Biology.* Elsevier B.V.; 2017. p. 833–42.
4. DeBerardinis RJ, Chandel NS. Fundamentals of cancer metabolism. *Sci Adv.* 2016;2(5): e1600200.
5. Danhier P, Bański P, Payen VL, Grasso D, Ippolito L, Sonveaux P, et al. Cancer metabolism in space and time: Beyond the Warburg effect. *Biochem Biophys Acta - Bioenerg.* 2017;1858(8):556–72.
6. Liberti M V, Locasale JW, Biology C, Biology C. Review- The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem Sci.* 2017;41(3):211–8.
7. Matthew G. Vander Heiden, Lewis C. Cantley, Craig B. Thompson. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science (80-).* 2009;324(may):1029–1033.
8. Dayton TL, Jacks T, Vander Heiden MG. PKM2, cancer metabolism, and the road ahead. *EMBO Rep.* 2016;17(12):1721–30.
9. Gouirand V, Guillaumond F, Vasseur S. Influence of the Tumor Microenvironment on Cancer Cells Metabolic Reprogramming. *Front Oncol.* 2018 Apr 19;8.
10. Schwörer S, Vardhana SA, Thompson CB. Cancer Metabolism Drives a Stromal Regenerative Response. *Cell Metab.* 2019;29(3):576–91.
11. Alves-Filho JC, Pålsson-McDermott EM. Pyruvate kinase M2: A potential target for regulating inflammation. *Front Immunol.* 2016;7(APR):1–7.
12. Hsu MC, Hung WC. Pyruvate kinase M2 fuels multiple aspects of cancer cells: From cellular metabolism, transcriptional regulation to extracellular signaling. *Mol Cancer.* 2018;17(1):1–9.
13. Zhang J, Pavlova NN, Thompson CB. Cancer cell metabolism: the essential role of the nonessential amino acid, glutamine. *EMBO J.* 2017;36(10):1302–15.
14. Still ER, Yuneva MO. Hopefully devoted to Q: Targeting glutamine addiction in cancer. *Br J Cancer.* 2017;116(11):1375–81.

15. Ducker GS, Rabinowitz JD. One-carbon metabolism in cancer and health. *Cell Metab.* 2017;25(1).
16. Newman AC, Maddocks ODK. One-carbon metabolism in cancer. *Br J Cancer.* 2017;116(12):1499–504.
17. Dong G, Mao Q, Xia W, Xu Y, Wang J, Xu L, et al. PKM2 and cancer: The function of PKM2 beyond glycolysis (Review). *Oncol Lett.* 2016;11(3):1980–6.
18. Stine ZE., Walton ZE., Altman BJ., Hsieh AL., Dang C V. MYC, Metabolism, and Cancer Zachary. Vol. 5, *Cancer Discovery.* 2015. 1024–1039 p.
19. Wiese EK, Hitosugi T. Tyrosine Kinase Signaling in Cancer Metabolism: PKM2 Paradox in the Warburg Effect. *Front Cell Dev Biol.* 2018;6(July):1–8.
20. Yang W, Lu Z. Nuclear PKM2 regulates the Warburg effect. *Cell Cycle.* 2013;12(19):3154–8.
21. Azoitei N, Becher A, Steinestel K, Rouhi A, Diepold K, Genze F, et al. PKM2 promotes tumor angiogenesis by regulating HIF-1 α through NF- κ B activation. *Mol Cancer.* 2016;15(1):1–15.
22. Yang W, Xia Y, Ji H, Zheng Y, Liang J, Huang W, et al. Nuclear PKM2 regulates beta-catenin upon EGFR activation. *Nature.* 2011;480(7375):118–22.
23. Wang Y, Liu J, Jin X, Zhang D, Li D, Hao F, et al. O- GlcNAcylation destabilizes the active tetrameric PKM2 to promote the Warburg effect. *Proc Natl Acad Sci.* 2017;114(52):13732–7.
24. Riaz N, Wolden SL, Gelblum DY, Eric J. PKM2 released by neutrophils at wound site facilitates early wound healing by promoting angiogenesis. 2016;118(24):6072–8.
25. Wise DR, Thompson CB. Glutamine Addiction: A New Therapeutic Target in Cancer. *Trends Biochem Sci.* 2011;35(8):427–33.
26. Altman BJ, Stine ZE, Dang C V. From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(10):619–34.
27. Cluntun AA, Lukey MJ, Cerione RA, Locasale JW, Biology C, Arabia S, et al. Glutamine metabolism in cancer: Understanding the heterogeneity. *Trends Cancer.* 2018;3(3):169–80.
28. Yang M, Vousden KH. Serine and one-carbon metabolism in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(10):650–62.