

Resumen por Mauricio Lema Medina
Nombre del profesor: José M. Cuezva
Título del curso: Máster Oncología Molecular CNIO - 2012-2014
Fecha: 09.09.2012

METABOLISMO, MITOCONDRIA Y CÁNCER

Nivel de complejidad: 4/5
Calidad y claridad del expositor: 5/5
Lecturas suplementarias necesarias: No (a juicio de quien resume)

Mitocondria

La mitocondria es un orgánulo intracelular de doble membrana que es importante para la **provisión de energía celular** y en la **muerte celular (apoptosis)**. Tiene su propio genoma de 16 kB que codifica 13 péptidos, incluidos los necesarios para traducir proteínas. Sin embargo, el grueso de los componentes de la mitocondria están codificados por el DNA nuclear (más del 90%). Las mitocondrias de cada órgano son distintas, y aún en un mismo órgano puede haber expresiones distintas de actividad mitocondrial (ie, el hepatocito embrionario tiene pocas mitocondrias, en tanto que el adulto está lleno de ellas).

Expresión génica del DNA mitocondrial

El principal factor de transcripción del DNA mitocondrial es el NRF-1 con su coactivador PGC1 alfa.

GENERALIDADES DEL METABOLISMO ENERGÉTICO

Glicólisis

Uno de los sustratos energéticos más importantes es la glucosa que es metabolizada una vez entra a la célula por una serie de enzimas citoplasmáticas que la convierten en piruvato. Ese proceso se denomina glicólisis (o ciclo de Embden-Meyerhoff, o glicólisis anaerobia). Al principio se consideró que la única función de la glicólisis era producir 2 ATPs y proveer los piruvatos que iban a participar en la mitocondria para la generación de gran cantidad de **energía** por medio de reacciones subsiguientes. Más recientemente, sin embargo, se ha establecido que la glicólisis es una fuente importante de precursores para la **biosíntesis** de proteínas, ácidos nucleicos, etc. Ambas funciones son antagónicas, hasta cierto punto. Una célula se dedica a una u otra. En esta clase se explica con detenimiento este concepto.

Regulación de la glicólisis

La glicólisis se divide en 2 partes, la primera va hasta la división de la hexosa a dos triosas, se consumen 2 ATPs por acción de las 2 enzimas que la controlan: la hexokinasa y la fosfofructokinasa. En la segunda parte las dos triosas van a incorporar fósforo inorgánico a una triosa que lo transfiere a su vez a ADPs (recuperando los gastados en la fase inicial). En este proceso actúa la gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH) que consume dos NAD⁺ (uno por cada triosa). Posteriormente, la piruvato kinasa provee los 2 ATPs netos que genera la glicólisis. En condiciones anaerobias (sin oxígeno) o sin mitocondria funcional, los piruvato se convierte en lactato por acción de la lactato deshidrogenasa (LDH) con el fin de reducir los NADH a NAD necesarios para continuar con el proceso de la glicólisis.

Isoenzimas glicolíticas en cáncer

Existen varias formas de enzimas glicolíticas regulatorias. Las formas que predominan en el tejido embrionario son reemplazadas al nacer por las versiones “normales”. Se ha observado que en cáncer las formas embrionarias de la hexokinasa, fosfofructokinasa, la forma N2 de la piruvato kinasa y la variedad anaerobia (A) de la LDH predominan.

Entra el piruvato a la mitocondria

En presencia de oxígeno y de mitocondria funcional, el piruvato es actuado por la piruvato deshidrogenasa (ya en la mitocondria) perdiendo un CO₂, creando un NADH+H y convirtiéndose en el radical acetyl de la Acetil-CoenzimaA.

Ciclo del ácido tricarboxílico (o ciclo de Krebs)

Los Acetil-CoA se unen al oxaloacetato formando el ácido cítrico, que posteriormente libera los carbonos que quedaban de la glucosa como CO₂ por acción de dos deshidrogenasas: la isocitrato deshidrogenasa y la alfa ketarato deshidrogenasa. Estas dos reacciones enzimáticas liberan cantidades enormes de electrones en la forma de NADH+H. El resto del ciclo de Krebs busca regenerar el oxaloacetato, esencial para su continuación.

Respiración

Los protones creados por las deshidrogenasas mitocondriales son bombeados afuera de la membrana interna mitocondrial por los complejos de la cadena respiratoria. Estos protones regresan al interior de la membrana por intermedio de la **Protón ATP sintasa** ubicada en la membrana mitocondrial. La Protón ATP sintasa es un motor que incorpora P a ADP formando ATP. En total, se forman 36 ATPs por cada molécula de glucosa (y se crea en el proceso CO₂ y Agua).

Regulación a corto plazo del metabolismo energético

Como todo proceso importante en la biología, hay regulación estrecha de todas estas vías. La regulación la ejercen las moléculas que importan desde el punto de vista energético: ATP y NADH. Es así que la fosfofructoquinasa, piruvato kinasa, piruvato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y la alfa-ketarato deshidrogenasa se activan o inhiben según si necesidad de más energía, o no, respectivamente.

Regulación a largo plazo del metabolismo energético . Regulación de la prolina hidroxilasa

El HIF-1alfa es una proteína que en presencia de oxígeno es degradada. Cuando hay hipoxia, se convierte en un factor de transcripción involucrado en procesos de crecimiento y proliferación celular, angiogénesis, etc. Cuando hay oxígeno, el HIF-1alfa es actuado por la enzima prolina hidroxilasa que le confiere un radical Hidroxi a una prolina del HIF-1alfa. La presencia de la hidroxiprolina en el HIF-1alfa (P564) favorece su ubiquinación y destrucción por la vía proteosómica. En condiciones de hipoxia, la actividad prolina hidroxilasa disminuye por disminución de sustrato (el oxígeno incorporado en la hidroxilación es oxígeno molecular), inhibición por ROS (especies reactivas de oxígeno) generadas por una mitocondria con poco oxígeno (ver abajo), y ubiquinización inducida por la hipoxia.

EFECTO WARBURG

En los 1920's el bioquímico Otto Warburg demostró que los tumores consumen grandes cantidades de glucosa (en presencia de oxígeno). Algo así como que las mitocondrias fallan en los tumores. Este efecto fue olvidado hasta los 1990's en que los médicos nucleares lo redescubrieron (y es la base para el FDG-PET). Este fenómeno ha sido ampliamente demostrado, por varias técnicas. Una de las más interesantes es la **huella bioenergética** que se basa en la relación entre la expresión de la **Beta FI-ATP asa** que es la fracción catalítica de la Protón ATP sintasa mitocondrial y la gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa (**GAPDH**) que es una enzima glicolítica arriba mencionada. En forma consistente se ha observado que la huella bioenergética es 4-5 veces más baja en las células tumorales que en los controles normales del mismo paciente en cáncer de colon, mama, pulmón, etc. Otra demostración viene de la baja expresión del PGC1alfa en los tumores (recordemos que es el coactivador del factor de transcripción mitocondrial NRF-1). De hecho, se ha observado que una mayor expresión del PGC1alfa se asocia a menor carga tumoral. **La mitocondria (activa) es un supresor de tumores. Si lo pensamos bien, el efecto Warburg (inactivación mitocondrial no inducido por hipoxia) es una necesidad de cualquier célula proliferante (ie, cáncer, embrión), pues las fases S y M son altamente REDUCTIVAS que requieren del potencial biosintético de la glicólisis** (recordemos que cuando la glucosa es llevada por el ciclo del ácido tricarboxílico, se convierte en energía, CO₂ y agua, y no puede participar en la biosíntesis). Además, cuando la mitocondria está muy activa se generan ROS que son potencialmente mutagénicos, no deseables durante la proliferación.

Mecanismos del efecto Warburg

Se han implicado como mecanismos para el efecto Warburg la activación de oncogenes como el Myc, la inactivación de genes supresores de tumores como el p53, la adaptación a la hipoxia por la vía del HIF, etc.

Inactivación de la Protón ATP sintasa

Tal vez el mecanismo fundamental para el efecto Warburg tiene que ver con la **inactivación de la Protón ATP sintasa** que ocurre en la mayoría de los tumores estudiados. En leucemias se ha detectado el silenciamiento epigenético por metilación del promotor de la ATP sintasa. En carcinomas se ha visto que la transcripción está preservada pero no se traduce al bloquearse la circularización de su mRNA (esencial para su unión a los ribosomas) por acción de la G3BP1 (de la vía del ras). El G3BP1 actúa uniéndose al extremo 3' del mRNA de la Protón ATP sintasa, impidiendo su circularización. Más interesante aún es la inactivación de la ATP sintasa por la inhibición directa por acción de la IFI. La proteína IFI fue descrita en los 1960's y se consideraba que evitaba la hidrólisis del ATP a ADP por parte de la ATP sintasa. Estudios recientes han demostrado que su actividad es OPUESTA: la IFI inhibe la formación de ATP por la Protón ATP sintasa. Se ha visto que la expresión de la IFI es casi nula en células normales y está muy aumentada en cáncer de colon, mama y pulmón. **El IFI es el oncogén mitocondrial.**

Implicaciones de la inhibición de la Protón ATP sintasa?

Cuando la ATP sintasa está inactiva (o inactivada por la IFI) los electrones acumulados al interior de la mitocondria terminan escapando hacia fuera aumentando el potencial de membrana y generar ROS, que a su vez activan moléculas de señalización, factores de transcripción como NFκB configurando señales de proliferación y supervivencia celular.

Hallmarks of cancer

El metabolismo energético es un nuevo “hallmark of cancer” en virtud de lo que acabamos de ver.

Importancia del microambiente en la progresión tumoral

Si se inserta una célula tumoral en un blastocisto, no se genera tumor en el animal. Si se inserta en células somáticas, se generará tumor. En experimentos se ha establecido que el fenotipo glucolítico genera más tumores (más angiogénesis, invasión) y con supresión de la actividad mitocondrial (el 80% de los genes mitocondriales están reprimidos). El microambiente ayuda a seleccionar la célula que va a dar origen al tumor. Y esta célula que da origen al tumor va a tener la función mitocondrial reprimida.

LA MITOCONDRIA Y LA MUERTE CELULAR

La mitocondria puede ejecutar el plan de muerte celular con la liberación del citocromo c (que es esencial en la transferencia de electrones entre el complejo 3 y 4 de la cadena respiratoria). La citocromo c liberada activa las caspasas. La Protón ATP sintasa también es importante en el programa de muerte celular inducida por la mitocondria. Al inactivarse la protón ATP sintasa se genera gran cantidad de ROS que desencadena muerte celular. **Las mismas moléculas que participan en la generación de energía (Citocromo c, Protón ATP sintasa), participan en la muerte celular inducida por la mitocondria.**

EL METABOLISMO ENERGÉTICO COMO DIANA TERAPÉUTICA EN NEOPLASIAS

La huella bioenergética predice respuesta a quimioterapia y otros agentes

Los agentes citotóxicos como el FU causan muerte apoptótica. Pero acabamos de ver que la apoptosis requiere de participación mitocondrial. La huella bioenergética correlaciona DIRECTAMENTE con la respuesta a los citotóxicos convencionales. Los inhibidores de la glicólisis matan por vía necrótica (bromopiruvato, yodoacetato). La huella bioenergética correlaciona INVERSAMENTE con la respuesta a estos agentes.

El metabolismo energético como diana terapéutica oncológica

Si una célula tumoral tiene mucha actividad mitocondrial, esta podrá liberar gran cantidad de ROS en respuesta a citotóxicos. Si otra célula tumoral tiene poca actividad mitocondrial (es muy glucolítica) no va a producir ROS en respuesta a citotóxicos convencionales (quimiorrefractaria). Se pueden considerar los inhibidores de la glucólisis como la 2-Desoxiglucosa para potenciar la muerte por necrosis. Otra forma sería estimular la actividad mitocondrial con el uso de agentes como el dicloroacetato (ya en investigación clínica).