



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL FI DE GRAU

EFFECTES DE LA INFLAMACIÓ ASSOCIADA A LA OBESITAT SOBRE LA DINÀMICA MITOCONDRIAL A CÀNCER DE MAMA

Joan Sebastià Contestí Rubert

Grau de Bioquímica

Facultat de Ciències

Any Acadèmic 2019-20

EFFECTES DE LA INFLAMACIÓ ASSOCIADA A LA OBESITAT SOBRE LA DINÀMICA MITOCONDRIAL A CÀNCER DE MAMA

Joan Sebastià Contestí Rubert

Treball de Fi de Grau

Facultat de Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any Acadèmic 2019-20

Paraules clau del treball:

Dinàmica mitocondrial, obesitat, inflamació, càncer de mama.

Nom Tutor/Tutora del Treball Jorge Sastre Serra

Nom Tutor/Tutora (si escau)

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Agraïments

Per tu papà, per ensenyar-me a lluitar per les coses, per fer de jo qui sóc. Sempre viuràs dintre meu. Mimi.

Per voltros mamà, Aina i Guillem, per sempre donar-me suport i ajudar-me a créixer com a persona.

Per tu Joan Roig, per facilitar el meu camí per aquest meravellós grau universitari que tal vegada no hauria estat el mateix sense la teva ajuda.

Pels meus grans amics i resta de familiars, per acompanyar-me en aquest camí que és la vida i omplir-me de felicitat.

Per altra banda, gràcies a tu, Jordi Sastre, per exercir tan bé el teu paper com a tutor del meu TFG. M'he sentit molt segur i còmode treballant al teu costat malgrat les adversitats per la situació del COVID-19.

Gràcies també per ser com ets Jordi, has motivat i alegrat molt el meu recorregut per aquest grau, i segur que també el de molts companys meus.

Índex

1. Resum	7
2. Objectiu del TFG	7
3. Mètodes i tècniques	8
4. Desenvolupament de l'estudi	9
4.1. Epidemiologia del càncer de mama	9
4.2. L'obesitat i el risc de desenvolupar càncer de mama	11
4.3. L'obesitat i l'estat inflamatori crònic	12
4.3.1. Vies de senyalització afectades per la obesitat i inflamació i la seva relació amb el càncer de mama	14
4.4. Relacions entre els mitocondris i el càncer de mama	20
4.5. Relacions entre els mitocondris i l'estat inflamatori degut a l'obesitat	22
4.6. Dinàmica mitocondrial	25
4.7. Dinàmica mitocondrial, obesitat, inflamació i càncer de mama	29
5. Recapitulació	32
6. Bibliografia	32

1. Resum

El càncer de mama és el càncer més comú en el sexe femení i també el que presenta una major taxa de mortalitat. Existeixen tota una sèrie de factors que poden augmentar-ne el risc, essent un dels més destacats l'obesitat. En casos d'ingesta excessiva de nutrients el teixit adipós pot patir tota una sèrie de transformacions mitjançant hipertròfia i hiperplàsia que acabaran induint un estat d'inflamació crònica als adipòcits. Aquests, juntament amb els macròfags que són reclutats, secreten una sèrie de citoquines proinflamatòries que poden tenir importants efectes sobre cèl·lules de teixits allunyats, així com també sobre els seus mitocondris. Els mitocondris són uns orgànuls energètics altament dinàmics que regulen la seva morfologia mitjançant els processos de fusió i fissió mitocondrials. L'efecte de citoquines i hormones com els estrògens o la leptina sobre la dinàmica mitocondrial de cèl·lules de càncer de mama serà un augment tant de la fusió com de la fissió mitocondrials, interpretant així que l'equilibri entre els dos processos és de vital importància per permetre la proliferació cel·lular i per tant el desenvolupament tumoral.

2. Objectiu del TFG

L'objectiu d'aquest treball de fi de grau és estudiar l'efecte que poden tenir algunes citoquines proinflamatòries pròpies de l'estat inflamatori associat a l'obesitat sobre la dinàmica mitocondrial de cèl·lules de càncer de mama.

En un principi la idea era obtenir resultats experimentals del tema en qüestió però, degut a la situació que ens ha tocat viure amb la pandèmia mundial del COVID-19, el TFG s'ha adaptat en forma de recerca bibliogràfica.

3. Mètodes i tècniques

La metodologia seguida per a la realització d'aquest treball s'ha basat en la recerca bibliogràfica en bases de dades científiques i fonts de informació fiables. A partir d'aquestes s'ha cercat informació des d'un nivell més general fins al més específic possible.

La principal base de dades utilitzada ha estat Pubmed, tot i que també s'ha extret alguns articles científics de Google Scholar. Les paraules clau en la recerca a Pubmed han estat "*mitochondrial dynamics*" i "*breast cancer*", obtenint un total de 102 resultats. A partir d'aquí s'ha acotat la recerca seleccionant tan sols aquells articles que tenen accés gratuït, reduint així el nombre a 65. A continuació, en base a la lectura del títol o abstract dels articles resultants 58 han estat descartats, quedant per tant un total de 7 articles vàlids.

Finalment, a aquestes 7 referències s'han sumat 27 nous articles que no formen part de la recerca inicial, tractant temes més amplis, i 6 pàgines web oficials amb informació fiable, com en són exemples la OMS o la AECC (Associació Espanyola Contra el càncer).

D'aquesta manera, el nombre total de referències utilitzades són 40, de les quals 6 són pàgines web.

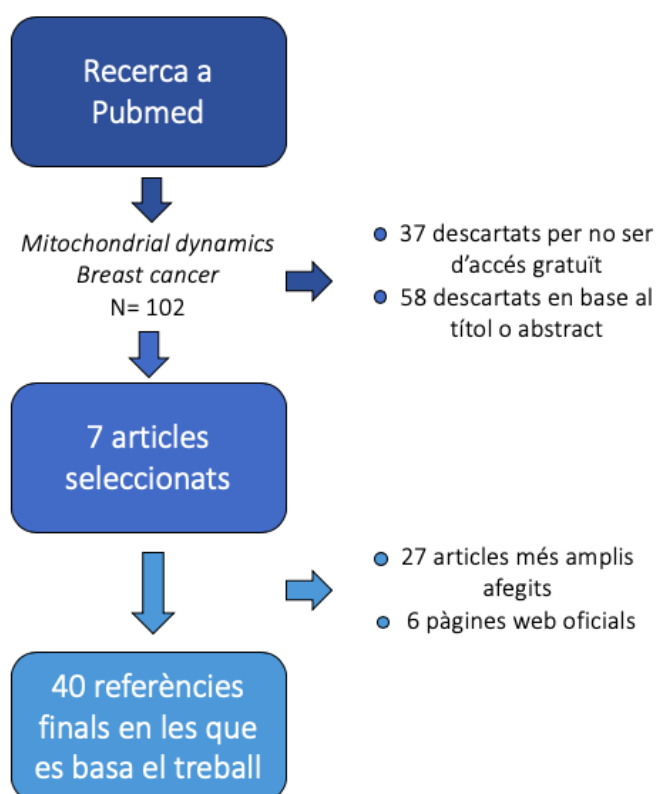


Figura 1. Esquema del procés de selecció de les referències utilitzades per aquest treball.

4. Desenvolupament de l'estudi

4.1. Epidemiologia del càncer de mama

El càncer és la segona causa de morts a nivell mundial: aproximadament 1 de cada 6 són degudes a aquesta patologia. Segons la OMS la suma total de morts l'any 2018 s'eleva a 9,6 milions, mostrant un lleuger augment respecte els estudis realitzats els anys anteriors¹.

Dins els diferents tipus de càncer un dels més destacats és el de mama, essent el més present en el sexe femení amb més de 2 milions de casos arreu del món cada any. A més de ser el més comú en dones, també és aquell amb major mortalitat, calculant-ne un total de 627.000 durant l'any 2018, el 15% del total de morts per càncer en dones².

Pel que fa a les taxes de incidència arreu del món (Fig. 2), sembla que aquelles regions amb major nombre de diagnòstics per cada 100.000 dones són Austràlia i Nova Zelanda amb una mitjana de 94,2 casos, seguits per països de l'Europa occidental (Països Baixos, França o Bèlgica, que destaca amb la major taxa a nivell global) amb 92,6 casos, i el Nord d'Europa (Suècia, Finlàndia, Dinamarca...) amb 90,1 casos. Contràriament, regions com l'Est i Centre d'Àfrica o el Sud de l'Àsia Central sobresurten per les seves baixes incidències de 29,9, 27,9 i 25,9 casos respectivament³.

Per altra banda, en termes de mortalitat (Fig. 2) la tendència no sembla ser la mateixa, destacant en aquest cas regions com la Melanèsia (on Fiji té les taxes de mortalitat més altes a nivell mundial), amb 25,5 morts per cada 100.000 dones, o la Micronèsia i Polinèsia, amb 19,1 morts³.

Relacionant aquestes dues taxes, al 2015 es publicà un estudi a la revista *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* on s'estudiaven les tendències que havien seguit la incidència i mortalitat en països arreu del món en períodes de 5 anys.

Així, s'observà com les dades més recents mostraven una important augment de la incidència, concretament en 22 dels 39 països estudiats, mentre que la mortalitat semblava seguir la tendència contrària, disminuint el nombre de morts en 34 dels 57 països analitzats⁴.

Aquests índexs i tendència creixent de la incidència poden estar estretament relacionats amb l'estil de vida característic d'aquestes regions. D'aquesta manera, s'observa com en la majoria de casos es tracta de països amb un índex de desenvolupament humà (IDH) elevat, on existeix una major prevalença a la majoria de factors de risc que poden induir el càncer de mama: inactivitat física, obesitat, menor descendència i a major edat, ingesta d'alcohol, edat primerenca de la menarquia i tardana de la menopausa, ingesta exògena d'hormones...^{3,5}.

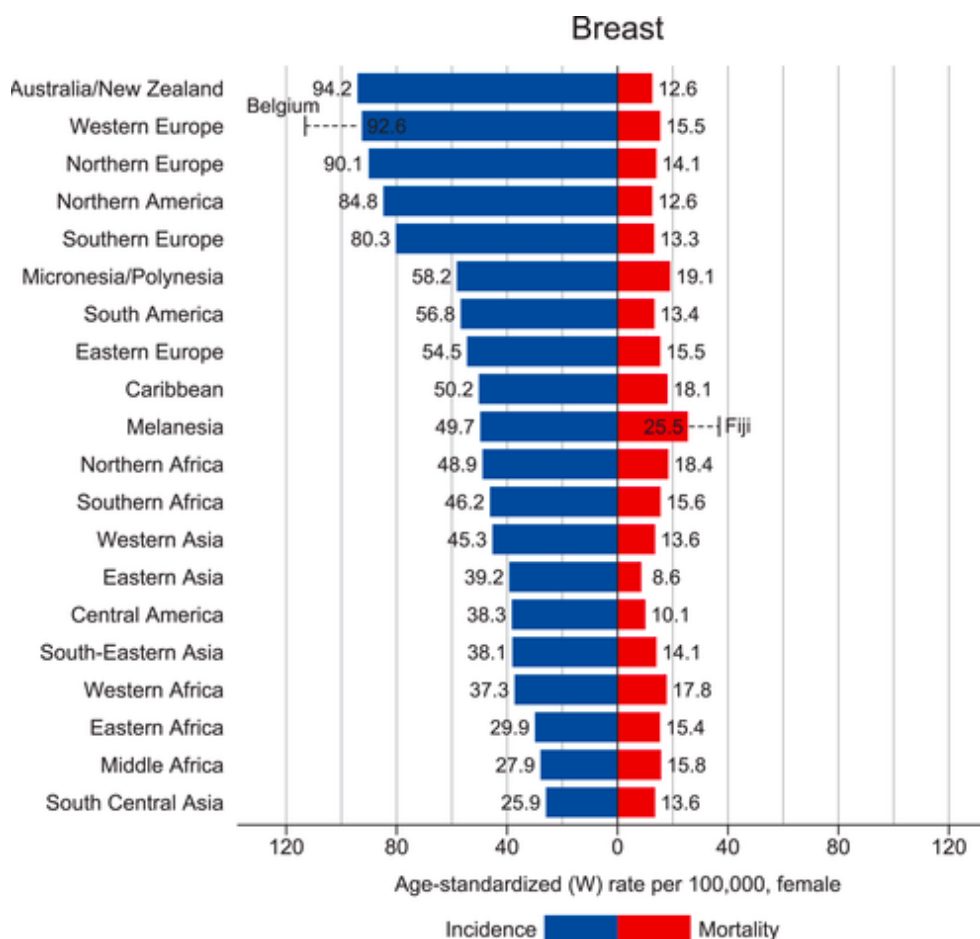


Figura 2. Representació gràfica de les taxes de incidència (color blau) i mortalitat (color vermell) per cada 100.000 dones en diferents regions a nivell mundial. Extret de: *Bray, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA. Cancer J. Clin. 68, 394–424 (2018).*

Si ens centram en el territori espanyol, segons la AECC (Associació Espanyola Contra el Càncer) l'any 2019 es diagnosticaren 33.315 nous casos de càncer de mama, representant el 30% del total de tumors cancerígens en dones.

La incidència l'any 2018 fou de 139 casos per 100.000 habitants, considerant-se relativament baixa, per sota de molts altres països europeus, Estats Units o Canadà.

Per altra banda, la taxa de mortalitat a Espanya també sembla ser de les més baixes amb 28 morts per cada 100000 habitants, el 17% d'entre tots els càncers.

Tot i això, no cal perdre de vista que la taxa d'incidència durant els darrers anys sembla haver augmentat lleugerament, mentre que la de mortalitat ha disminuït, degut probablement a les noves tècniques de detecció precoç i tractaments^{6,7}.

Finalment, si es desglossen en comunitats autònomes els 33.315 casos de càncer de mama diagnosticats l'any 2019 s'obtenen els següents resultats (Fig. 3), on es pot veure que les Illes Balears es situen per la part baixa de la gràfica amb tan sols 735 casos del total⁷.

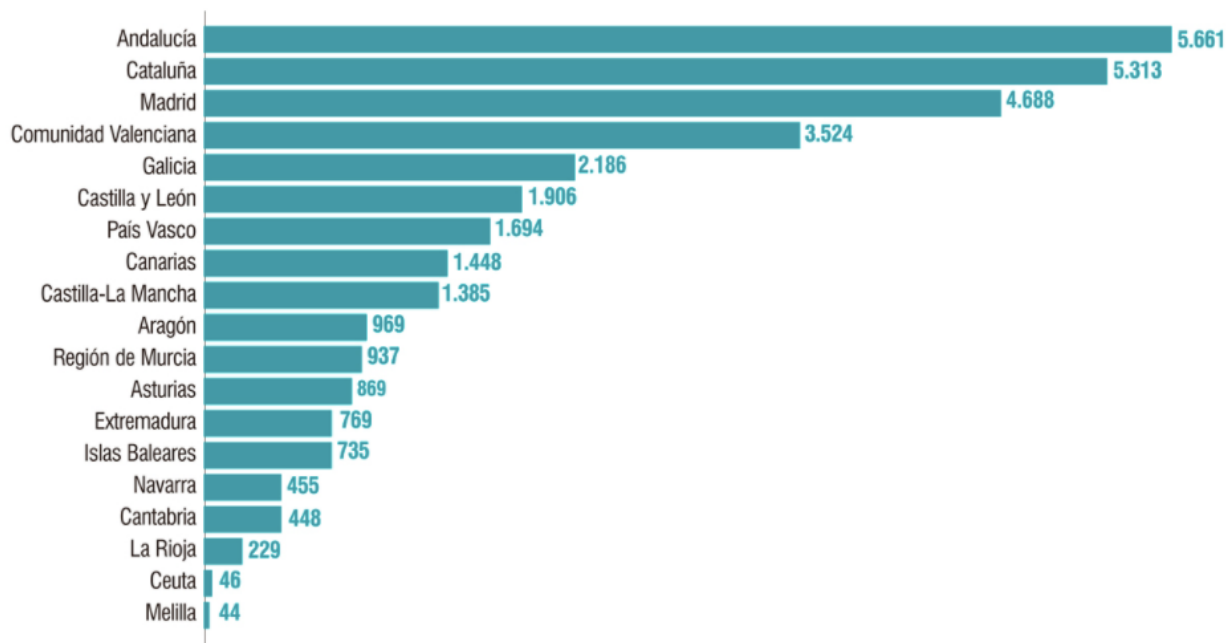


Figura 3. Representació gràfica del nombre de casos de càncer de mama per comunitat autònoma a Espanya l'any 2019. Extret i adaptat de: *Càncer de mama en cifras: Resultados sobre toda España, para el año 2019. Observatorio AECC (2020).*

4.2. L'obesitat i el risc de desenvolupar càncer de mama

El sobrepès i l'obesitat es defineixen com una acumulació anormal o excessiva de grassa que pot ser perjudicial per la salut. Una persona es considera obesa quan el seu índex de massa corporal (IMC) és igual o superior a 30 kg/m², mentre que es tractarà de sobrepès si és igual o superior a 25 kg/m².

L'obesitat, juntament amb el sobrepès, afecta al voltant d'una tercera part de la població mundial i es considera un important factor de risc pel desenvolupament de diverses patologies, com cardiopaties, accidents cerebrovasculars, diabetis o alguns càncers⁸.

Pel que fa al càncer de mama, l'impacte de l'obesitat sobre aquest difereix segons l'estat de la menopausa i els subtipus del receptor d'esteroides, podent ser deguda a una alteració en l'expressió del receptor d'estrògens (ER), del receptor de progesterona (PR) o del receptor 2 del factor de creixement epidèrmic humà (HER2).

Els estudis realitzats fins al moment mostren una clara correlació entre un elevat IMC i el risc de patir un càncer de mama després de la menopausa, mentre que en el període premenopàusic les evidències encara no semblen ser tan clares⁹.

Tot i això, dues metaanàlisi basades en dones premenopàusiques van mostrar una associació inversa entre l'IMC i el fet de ser ER+: l'obesitat sembla ser més habitual en pacients premenopàusics amb tumors ER- / PR- que amb tumors ER+ / PR+. Aquesta observació està corroborada per la majoria d'estudis, tot i que encara queda molt per descobrir⁹.

Pel que fa a l'evidència científica en casos d'obesitat postmenopàusica, sembla que el risc de desenvolupar càncer de mama és aproximadament un 30% major quan s'associa a un estat d'obesitat, incrementant el risc cada 5 kg/m² d'IMC.

En aquest cas, la relació entre l'obesitat i l'IMC sembla ser més clara en tumors ER+ / PR+ i no en ER- / PR-, al contrari d'allò vist anteriorment en dones premenopàusiques⁹.

Una combinació d'aquests anàlisis realitzats abans i després de la menopausa seria l'estudi d'observació prospectiva realitzat pel doctor Bernard Rosner et al. entre els anys 1980 i 2012. En aquest hi participaren 74.177 dones, resultant un total 4.965 càncers de mama invasius. La investigació es basà en estudiar si el risc de desenvolupar un carcinoma de mama augmentava o disminuïa així com variava el pes de les pacients al llarg dels anys. Les conclusions a les que s'arribà foren que la pèrdua de pes > 5 kg passats els 18 anys estava associada inversament al risc de patir càncer de mama postmenopausa, mentre que l'augment de pes a la mateixa edat o passada la menopausa s'associava positivament amb el risc de sofrir aquesta patologia després de la menopausa¹⁰.

4.3. L'obesitat i l'estat inflamatori crònic

El teixit adipós és un conjunt heterogeni de teixits connectius propi dels animals vertebrats, format per adipòcits, preadipòcits, cèl·lules endotelials, fibroblasts, perícits, i cèl·lules de sistema immune com mastòcits, macròfags o limfòcits T.

Fins fa poc es pensava que aquest només tenia una funció d'emmagatzemament d'energia en forma de triglicèrids, però el seu rol canvià, considerant-se ara el principal òrgan endocrí del nostre organisme. D'aquesta manera, exercirà les seves funcions tant a nivell autocrí, com endocrí i paracrí sobre la resta d'òrgans, secretant una gran varietat d'enzims, factors de creixement, hormones, citoquines i interleuquines. Totes aquestes induiran l'activació de receptors específics de membrana de les cèl·lules diana, complint així funcions com el creixement, la quimiotaxi o la proliferació cel·lular¹¹.

Les citoquines implicades en la modulació de les respostes fisiològiques del teixit adipós tenen per nom adipoquines, destacant-ne algunes de més rellevants com la leptina, l'adiponectina, la interleucina 6 (IL-6), el factor de necrosi tumoral alfa (TNF α), la resistina o la proteïna quimiotraient de monòcits 1 (MCP-1)¹¹.

La inflamació associada a l'obesitat esdevé quan existeix un excés de nutrients, acumulant-se d'aquesta manera teixit adipós a nivell subcutani. Aquest excés energètic induïx en un principi la proliferació i diferenciació dels preadipòcits, procés conegut com hiperplàsia, seguit a continuació per un creixement (augment de tamany) d'aquests dipòsits per hipertròfia.

Per tant, en condicions de obesitat es produeix una remodelació de l'estructura del teixit adipós mitjançant hiperplàsia i principalment hipertròfia, essent aquests canvis un dels principals detonants de la posterior desregulació i estat inflamatori del teixit¹¹.

Quan s'està expandint el teixit adipós, els vasos sanguinis que permeten irrigar les cèl·lules de O₂ i nutrients pateixen un procés adaptatiu d'angiogènesi, però moltes vegades la capacitat de creixement és major que la de generar nous vasos. Això implica que alguns d'aquests vasos quedin amb poca i nul·la irrigació, induint així una situació d'hipòxia o falta de nutrients.

Com a conseqüència, s'ha vist que això suposarà un important canvi en el perfil de secreció de citoquines, activant-se algunes vies de senyalització metabòlica com la c-Jun N-terminal (JNK), el factor nuclear Kappa β (NF- $\kappa\beta$) o la proteïna quinasa C (PKC). El resultat serà un augment dels nivells de citoquines proinflamatòries com la IL-6, leptina, factor inhibidor de la migració de macròfags (MIF) o PAL-1, i mentre que els nivells de citoquines antiinflamatòries disminuiran notablement, destacant principalment l'adiponectina^{11,12}.

Paral·lelament, la poca arribada d'oxigen a les cèl·lules també pot acabar conduint a la mort dels adipòcits perifèrics, que se traduirà en un augment de la reacció inflamatòria¹¹.

Lligat a tot això, encara que els adipòcits són els elements clau en les adaptacions degudes a l'obesitat, també cal destacar el paper fundamental dels macròfags presents en el teixit adipós. En individus amb normopes aquests són poc presents, mentre que en casos d'obesitat la seva presència en el teixit adipós augmenta de forma molt considerable, secretant aquests també moltes hormones que contribuiran a l'estat inflamatori.

Els macròfags del teixit adipós es poden classificar en dos fenotips: els macròfags activats per la via clàssica (M1) i els activats per la via alternativa (M2). Els primers són productors de citoquines proinflamatòries, contribuint així al desenvolupament de la resistència a la insulina, mentre que els segons (M2) intervenen en el manteniment de l'homeòstasi tissular, produint en aquest cas citoquines antiinflamatòries.

Serà en estats de sobrealimentació i obesitat quan es desenvoluparà el fenomen conegut com canvi fenotípic (phenotypic switch) dels macròfags, on canvia totalment la polarització d'aquests, transformant-se d'un estat antiinflamatori o M2 a la forma totalment contrària (M1), contribuint així al desenvolupament de l'estat inflamatori crònic^{11,13}.

A la següent imatge (Fig. 4) es resumeixen de forma visual tots aquests processos adaptatius del teixit adipós que acabaran suposant el seu estat de inflamació crònica, d'interès per la posterior recerca del nostre treball.

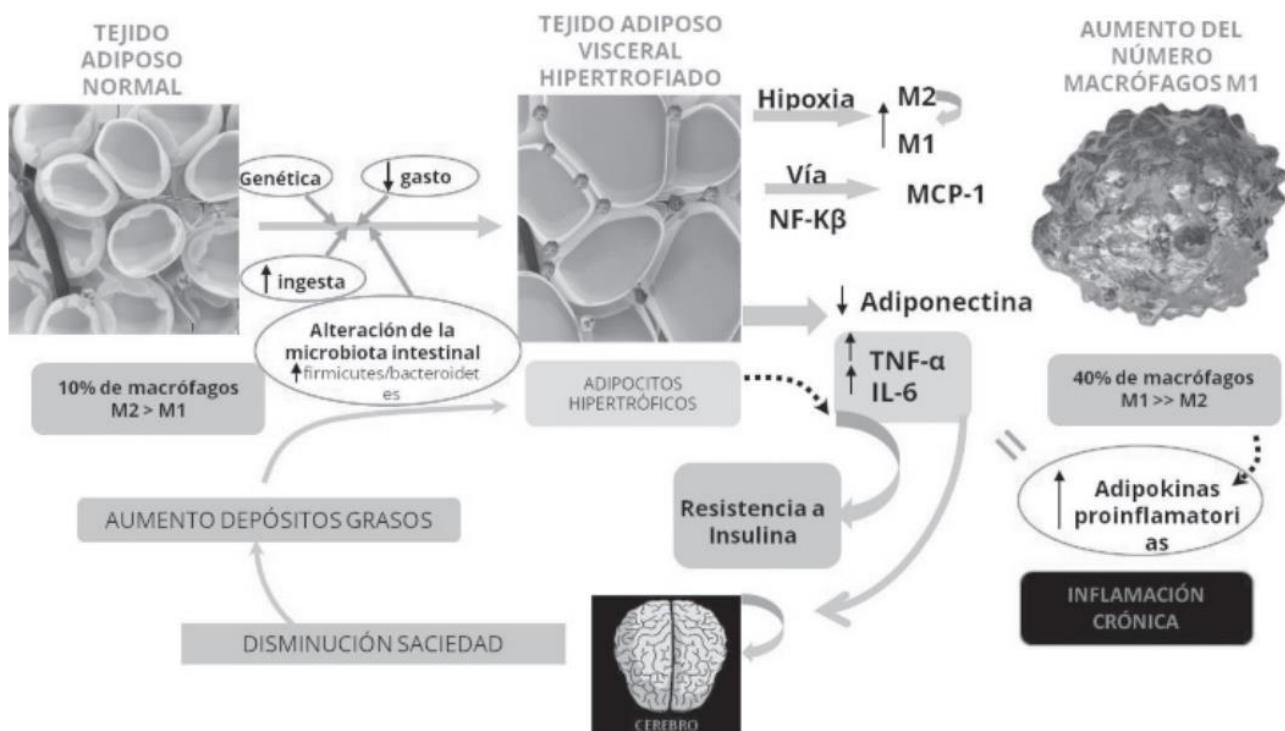


Figura 4. Representació esquemàtica dels canvis en el teixit adipós que induïxen l'estat d'inflamació crònica. Extret de: Izaola, O., De Luis, D., Sajoux, I., Domingo, J. C. & Vidal, M. *Inflamación y obesidad (lipoinflamación)*. *Nutr Hosp* 31, 2352–2358 (2015).

4.3.1. Vies de senyalització afectades per la obesitat i inflamació i la seva relació amb el càncer de mama

Com hem vist anteriorment, degut al desenvolupament de l'estat inflamatori dels adipòcits algunes citoquines veuen augmentada la seva expressió, mentre que d'altres la veuen disminuïda.

Aquella hormona que més veurà disminuïda la seva secreció serà l'adiponectina, citoquina que en situació de normopès és la més produïda, amb una important acció antiinflamatòria, millorant la sensibilitat a la insulina en el fetge, múscul i adipòcits^{12,14}. En casos d'obesitat i davant l'expansió del teixit adipós, s'observa per tant una important depressió de la seva síntesi així com també resistència a la seva acció, disminuint significativament els nivells d'expressió dels seus receptors de membrana AdipoR1 i AdipoR2¹⁵.

Per altra banda, hormones proinflamatòries com la leptina, IL-6, TNF α , IL-1, PAL-1 o els estrògens veuran augmentada la seva síntesi, essent algunes d'aquestes (com la IL-6 o el TNF α) les principals causants de la inhibició de la secreció d'adiponectina^{14,15}.

Pel que fa a les vies de senyalització d'aquestes citoquines proinflamàtòries, totes elles mediaran la seva acció mitjançant la unió als seus receptors específics, situats a la membrana cel·lular (leptin receptor o LEPR, IL-1R, IL-6R, TNFR...). Una vegada donada la unió, podran seguir diferents cascades de senyalització com la JAK / STAT, la MAPK o la PI3K, que totes elles conduiran a la síntesi de proteïnes reactants de fase aguda, factors de transcripció proinflamatoris (com NF- κ B, AP-1...), o fins i tot més citoquines, generant així una retroalimentació positiva¹⁶.

Aquesta seria un resum de les rutes de senyalització que seguirien les citoquines proinflamàtòries sobre les cèl·lules a nivell general, però s'ha vist que aquestes també poden tenir molta relació amb el desenvolupament d'altres patologies, entre les quals hi trobam el càncer de mama⁹.

Així, anem a estudiar el paper i les rutes que segueixen la leptina, la IL-6 i els estrògens en cèl·lules de càncer de mama.

Estrògens

Els estrògens són un tipus d'hormones esteroïdals principalment secretades pels ovaris i placenta de les dones. Es tracta d'una denominació comuna que engloba substàncies que funcionen com a hormones sexuals femenines, destacant l'estrone, l'estradiol o l'estriol. Aquestes actuen sobre diversos grups de cèl·lules de l'organisme, principalment relacionats amb l'activitat sexual, tot i que també interaccionen amb el cervell i estan implicades en funcions neurotransmisores i endocrines.

La relació entre els nivells d'estrògens i el risc de patir càncer de mama ha estat sempre un tema molt estudiat, determinant que els nivells augmentats d'aquests suposen un important factor de risc per desenvolupar la patologia, especialment en dones postmenopausa. Llavors, tots aquells factors que puguin provocar una major presència o secreció d'estrògens seran considerats potenciadors de la malaltia¹⁷.

Alguns dels principals factors de risc seran per tant l'edat o l'IMC. Les dones premenopausiques sintetitzen principalment estrògens als ovaris, mentre que en dones postmenopausa la síntesi és duita a terme en llocs perifèrics. És aquí on es troba la connexió amb l'obesitat, observant com en dones amb un IMC elevat la biosíntesi d'estrògens es dona principalment en el teixit adipós, secretant-ne fins a deu vegades per sobre dels nivells normals en circulació.

El mediador principal de la síntesi d'estrògens passat la menopausa és l'aromatasa, complexe enzimàtic que es troba en el teixit adipós de la mama i al mateix teixit tumoral, que s'encarrega de convertir els andrògens en estrògens. El control dels nivells d'aromatasa serà per tant molt important, observant que citoquines com la IL-6 o el TNF α (molt secretades pels adipòcits en casos d'inflamació crònica) poden actuar de manera tant autocrina com paracrina augmentant-ne la seva síntesi.

Lavors, aquest seria un altre lligam molt important de la relació entre l'obesitat i el risc de desenvolupar càncer de mama, ja que degut a aquestes citoquines s'acabarien segregant més estrògens, suposant un major perill davant la patologia. És per aquest mateix fet que s'està valorant la utilització d'inhibidors de l'aromatasa per tal de pal·liar la malaltia¹⁷.

El tipus de receptors d'estrògens és també un tema molt estudiat, ja que alguns semblen tenir més presència davant casos de càncer de mama. Així, aquells receptors més expressats seran els de tipus ER, PR o els HER-2.

Els ER poden tenir dues formes diferents: $ER\alpha$ i $ER\beta$, essent normalment els primers més presents en tumors malignes ja que són uns grans promotors de la proliferació cel·lular, mentre que la presència dels ER β en càncer de mama serà majoritàriament en tumors benignes. Per altra banda, també existiran dues isoformes del PR: PR-A i PR-B.

Existeix un vincle important entre la ratio $ER\alpha/ER\beta$, PR-A/PR-B i l'obesitat. Així, en la majoria d'estudis, alguns ja anomenats, s'observa que en dones obeses postmenopausa la majoria de tumors són $ER\alpha+$ i PR⁺^{9,17}.

Pel que fa a les vies de senyalització que poden seguir els estrògens, en aquest cas cal parlar de 4 possibles mecanismes de regulació dels receptors, tal i com es pot observar a la següent representació (Fig. 5).

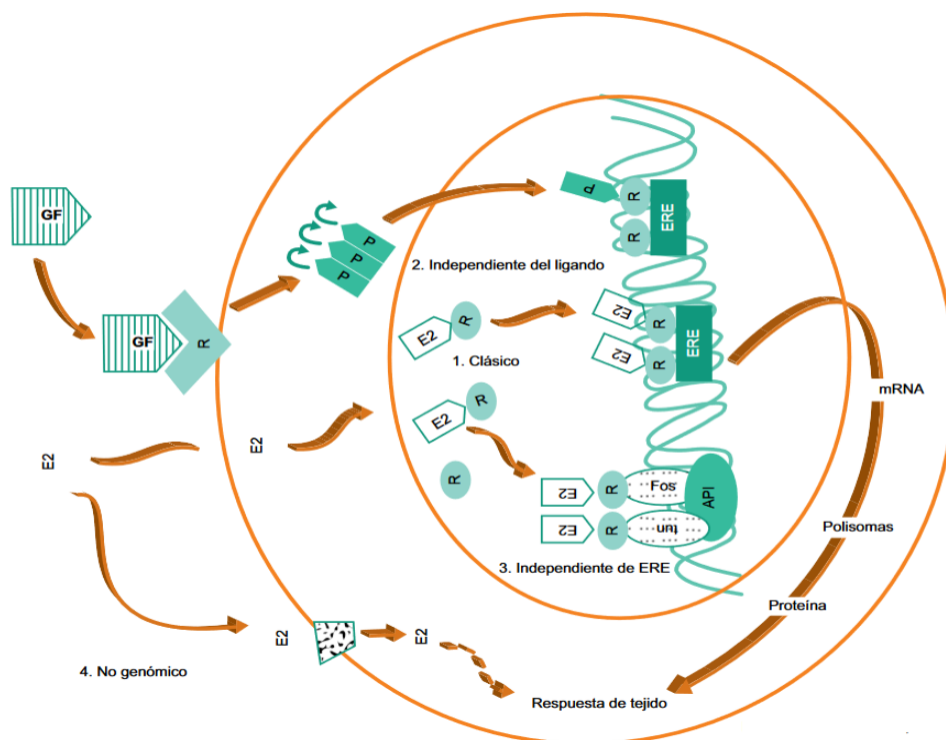


Figura 5. Possibles mecanismes d'actuació que poden seguir els estrògens i els seus receptors. Extret de: Ramírez, Y. & Zieba, P. *Receptor de Estrògenos – ChemEvol.* (2019).

Els 4 possibles mecanismes representats a la Figura 6 són:

- 1- El mecanisme clàssic, basat en l'activació del receptor mitjançant la unió del seu lligand (estrògens), induint posteriorment la interacció del complex lligand/receptor amb el DNA, per tal d'activar la transcripció de certs gens.
- 2- Un mecanisme independent de lligand, on vàries quinases provinents de factors de creixement activaran el receptor d'estrògens i les seves proteïnes correguladores.
- 3- Un mecanisme independent de la unió del complex lligand/receptor a l'element de resposta específic. Aquest serà substituït per altres factors de transcripció, com AP-1, fos o SP-1.
- 4- La senyalització no genòmica, activant-se altres cascades de senyalització per mitjà del receptor d'estrògens GPR30, unit a la membrana¹⁸.

Leptina

La leptina és una hormona produïda pel teixit adipós, codificada pel gen Ob i que té per funció mantenir l'homeòstasi energètica mitjançant un mecanisme de retroalimentació a nivell de l'hipotàlem. Ajuda al control del creixement del teixit adipós i la proliferació cel·lular, també al teixit mamari.

A més, és considerada el mediador més important del vincle entre l'obesitat i el càncer de mama, promovent la iniciació, el desenvolupament i la metastasi del tumor cancerigen. La leptina augmenta el risc de càncer de mama mitjançant converses creuades amb altres molècules de senyalització, com bé són $E\alpha$, factors de inflamació o factors de creixement, com n'és un exemple Notch¹⁹.

Pel que fa a les vies de senyalització que pot seguir, tal i com es pot observar a la representació esquemàtica de sota (Fig. 6), després d'interaccionar amb el receptor de membrana LEPR, pot seguir principalment tres rutes: la JAK / STAT, la MAPK i la PI3K.

- Ruta JAK / STAT: La unió de la leptina al seu receptor condueix al reclutament i unió citoplasmàtica al LEPR de les quinases JAK2 (Janus tirosin kinases), que se transfosforilen entre si per després fosforilar certs residus tirosina del receptor. Són aquestes mateixes fosforilacions les que abasteixen un lloc d'anclatge als factors de transcripció STAT, en aquest cas STAT3, que una vegada fosforilats dimeritzen per poder translocar-se al nucli i així promoure la transcripció de gens que impliquen la proliferació cel·lular com c-jun, c-myc, junB, Bcl-2, Erg-1...¹⁹.
- Ruta MAPK: La leptina pot desencadenar la cascada MAPK de dues maneres diferents: a través de la fosforilació de ERK per les JAK2, o per mitjà dels mateixos receptors LEPR²⁰.

Això acaba conduint a l'activació de les MAPK, que tenen un paper molt important en l'activació de ERK 1 i 2, JNK i p38, així com també l'activació de factors de transcripció que promouen la proliferació cel·lular, com els anomenats anteriorment (c-jun, c-myc, c-fos, Erg-1...)¹⁹.

- Ruta PI3K: Es basa en la fosforilació, en residus de tirosina dels IRS-1 (Insulin recetor substrat) per part dels mateixos receptors de la leptina. Aquests IRS-1 fosforilats activen subseqüentment PI3K i Akt, que acaben induint a gens de la proliferació, migració i invasió de cèl·lules de càncer de mama mitjançant la regulació de l'acetil-CoA acetiltransferasa 2 (ACAT2)¹⁹,²⁰.

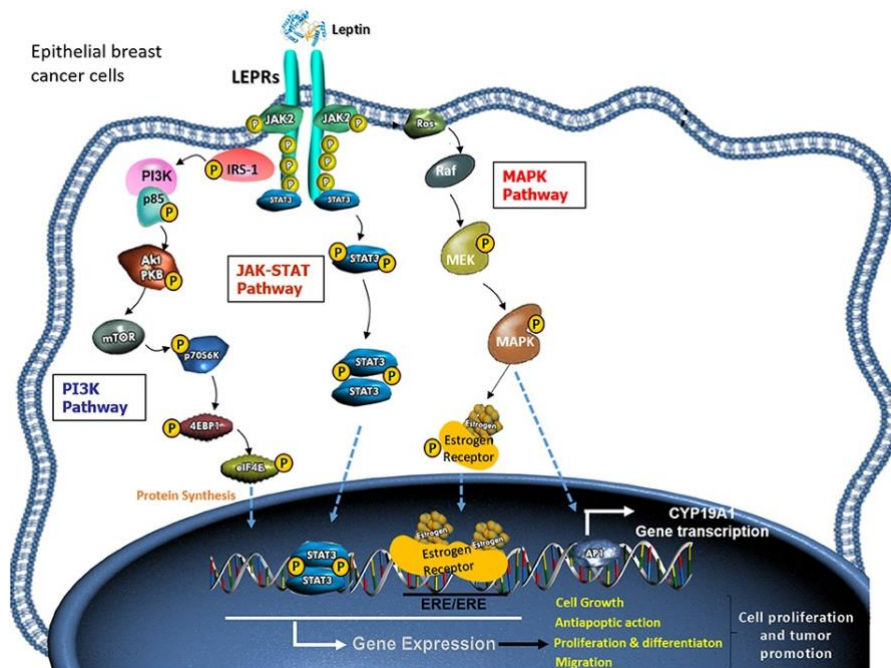


Figura 6. Vies de senyalització que medien els efectes de la leptina a les cèl·lules de càncer de mama. Extret i adaptat de: Atoum, M. F., Alzoughool, F. & Al-Hourani, H. *Linkage Between Obesity Leptin and Breast Cancer. Breast Cancer: Basic and Clinical Research* 14, (2020).

Interleuquina 6

La IL-6 és un glicopèptid petit secretat tant per cèl·lules del sistema immune (cèl·lules T, B, monòcits...), com per altres que no ho són, destacant els adipòcits. No obstant això, la seva secreció no és limitada aquí, ja que en nombrosos càncers, entre els quals s'hi troba el de mama, també són alliberades aquestes citocines per part de cèl·lules tumorals, suposant importants conseqüències negatives com l'expansió i diferenciació d'aquestes mateixes cèl·lules tumorals²¹.

A nivell general, la IL-6 s'encarrega de modular diversos processos immunològics i fisiològics del cos a través de reaccions específiques amb l'antigen o generant proteïnes reactants de fase aguda. També tendran un paper important en l'hematopoesi o en el manteniment del metabolisme cel·lular.

L'obesitat en aquest cas pot ser també un important factor de risc pel desenvolupament de càncer de mama ja que al voltant del 30% de la IL-6 circulant és secretada pel teixit adipós en estat d'inflamació crònica. Aquesta, com s'ha vist, podrà suposar grans problemes, com la radioresistència del tumor cancerigen, l'augment de la seva agressivitat mitjançant una transició epiteli-mesènquima (EMT) o l'activació d'enzims com l'aromatasa, que potencien els nivells d'estrògens en circulació^{17,21}.

Pel que fa a les vies de senyalització de la IL-6, cal destacar que aquesta pot començar la senyalització mitjançant dues vies diferenciades: la senyalització clàssica i la senyalització trans (Fig. 7). La clàssica serà aquella que seguiran normalment els leucòcits o les cèl·lules del fetge promovent una resposta antiinflamatòria, mentre que la trans serà la seguida en els nostre cas, promovent una resposta proinflamatòria.

La senyalització trans està mediada per una forma soluble del receptor de IL-6 (sIL-6R), que pot provenir o bé de la proteòlisi d'un receptor de membrana de IL-6 (mIL-6R) a mans de la proteïna ADAM10 o ADAM17, o bé de la traducció i splicing alternatiu d'un RNAm de IL-6R. Aquest receptor en forma soluble forma un complexe amb la IL-6 per després interactuar amb qualsevol cèl·lula que expressi el glucopèptid 130 (gp130), essencial per poder iniciar la senyalització intracel·lular²¹.

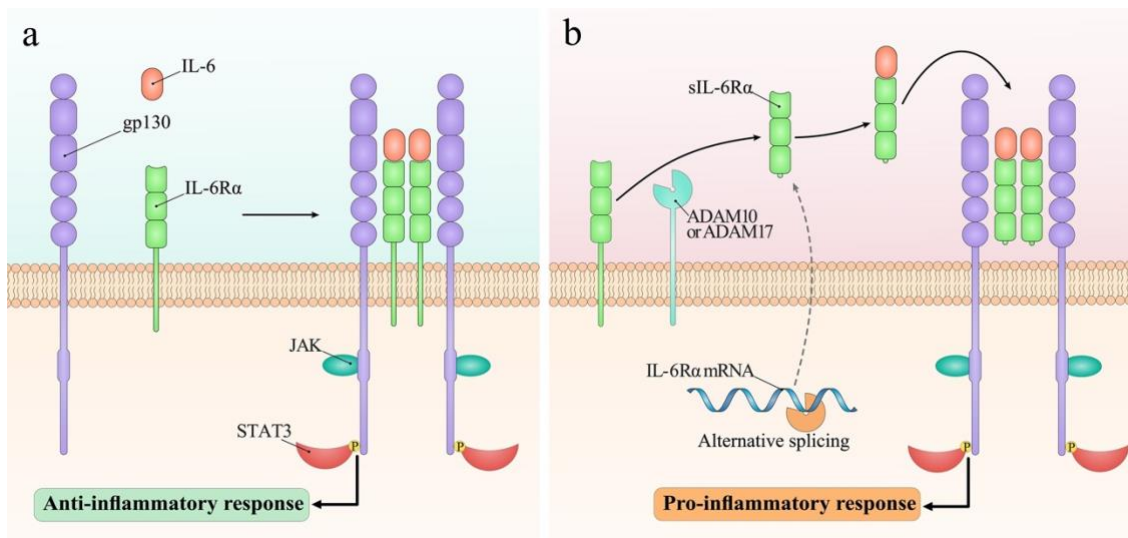


Figura 7. Diferents vies de senyalització estimulades per la IL-6. (a) senyalització clàssica, (b) senyalització trans. Extret de: *Masjedi, A. et al. The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. Biomed. Pharmacother. 108, 1415–1424 (2018).*

Una vegada arribats a aquest punt, les rutes de senyalització que pot seguir la IL-6 són bastant semblants a les ja explicades per la leptina, principalment les JAK / STAT, MAPK i PI3K. Totes aquestes conduiran a la regulació i activació de gens per la proliferació, supervivència, angiogènesi, invasió i migració de cèl·lules tumorals de càncer de mama²¹.

4.4. Relacions entre els mitocondris i el càncer de mama

Els mitocondris són uns orgànuls cel·lulars de doble membrana encarregats de sintetitzar la major part de l'energia necessària per l'activitat cel·lular. Aquesta energia serà produïda en forma d'adenosina trifosfat (ATP, la moneda energètica de la cèl·lula) mitjançant la fosforilació oxidativa, procés metabòlic molt eficient duit a terme en la membrana mitocondrial interna on destaca la cadena transportadora d'electrons i ATP sintasa, encarregada de transformar el pool de protons en ATP. Tot i això, no cal perdre de vista altres funcions molt importants en que els mitocondris també es veuen forçament implicats, com són la producció d'espècies reactives d'oxigen (ROS) mitjançant el mateix procés de fosforilació oxidativa, l'homeòstasi del calci, la síntesi del grup hemo o la regulació de la mort cel·lular programada de la cèl·lula.

Al llarg dels anys molts estudis s'han centrat en estudiar el funcionament i canvis en els mitocondris enfront la progressió de diverses patologies, entre les que es troba el càncer de mama. Així, s'observa com davant la proliferació i creixement tumoral els mitocondris patiran una sèrie de canvis per tal d'afavorir aquests processos, fenomen que podríem descriure com a plasticitat mitocondrial.

Seràn molts els canvis que es podran dur a terme i a més no seran per res homogenis, ja que el càncer de mama pot considerar-se com una malaltia metabòlica heterogènia, on les cèl·lules tumorals triaran el programa metabòlic més òptim per sostenir la progressió del tumor²².

Flexibilitat metabòlica

Si ens centram en primer lloc en la flexibilitat metabòlica, cal destacar que en estat fisiològic els dos principals mecanismes per produir energia en la cèl·lula són la glucòlisi i la fosforilació oxidativa. La glucòlisi és duita terme en el citosol i genera un total de dues molècules d'ATP, tot i que també es sintetitza piruvat, que en presència d'oxigen entra al mitocondri per oxidar-se i produeix 36 molècules d'ATP. Es tracta d'un procés poc eficient però per contra molt ràpid, podent ser de gran utilitat en cèl·lules canceroses de mama per produir ATP amb gran rapidesa i així poder sintetitzar molts components cel·lulars necessaris per créixer i promoure el desenvolupament tumoral.

La fosforilació oxidativa és el segon mecanisme i també el majoritari en estat fisiològic, generant un 70% de l'energia total. Aquest, tal i com s'ha explicat abans, és duit a terme en la membrana mitocondrial interna i és molt eficient, tot i que també serà més lent i costós²².

Davant una situació de càncer de mama, la prevalença entre un mecanisme o l'altre ha estat un tema molt estudiat, amb un gran avenç dels coneixements al llarg dels anys.

D'aquesta manera, el pare d'aquests estudis podria considerar-se que fou el doctor Otto Warburg, que afirmà que les cèl·lules de càncer de mama, a diferència de les cèl·lules normals, se sotmeten preferentment a glucòlisi en presència d'un entorn ric en oxigen. Aquest fenomen, que te per nom efecte Warburg, atribueix aquest canvi metabòlic a la "lesió respiratòria" mitocondrial i considera que serà l'alteració metabòlica l'origen de les cèl·lules de càncer de mama i la responsable de l'aparició de tumors malignes^{22,23}.

No obstant això, estudis més recents sobre el metabolisme dels tumors cancerígens han canviat el punt de vista sobre el paper de la glucòlisi i la fosforilació oxidativa en el càncer de mama. Abans la fosforilació oxidativa es pensava que era inexistent degut a la suposada disfunció mitocondrial, promovent-se molt més la glucòlisi. A més, només era considerada com a promotora de la mort cel·lular mitjançant l'activació de Bax i Bak, protegint-se de la seva acció mitjançant el canvi metabòlic.

Actualment s'ha demostrat que les cèl·lules de càncer de mama tenen mitocondris funcionals, i aquests poden tenir funcions molt importants en l'inici i progressió del càncer. Així, en el creixement tumoral, la fosforilació oxidativa no tindrà un paper tan centrat en la producció d'ATP sinó que s'encarregarà principalment de la síntesi de de metabòlits necessaris per la seva proliferació. Un exemple podria ser la producció de l'aminoàcid aspartat (precursor de la síntesi de purina i pirimidina) en la cadena transportadora d'electrons²².

Per altra banda, també és de vital importància conèixer les adaptacions mitocondrials que es duen a terme per tal de permetre la metàstasi del tumor de càncer de mama.

La metàstasi és un procés complex i multifactorial on les cèl·lules cancerígenes han de superar diversos obstacles com la intravasació, la supervivència en el sistema circulatori i la extravasació en un lloc llunyà a l'inicial. Una de les maneres amb que aquestes superen aquests obstacles és alterant el seu metabolisme.

Així, les cèl·lules de càncer de mama metastàtiques no basen la satisfacció dels seus requeriments energètics en una única via metabòlica com la glucòlisi o la fosforilació oxidativa, sinó que socorren a múltiples vies en paral·lel depenent de les seves necessitats adaptatives, per després, una vegada establertes al nou teixit, triar un programa metabòlic preferent depenent del lloc específic on hagi disseminat.

A més, també cal destacar el paper i l'augment de l'expressió de PGC-1 α en cèl·lules metastàtiques de mama, factor de regulació transcripcional que promou la biogènesi mitocondrial activant diversos factors de transcripció. Aquest PGC1 α sembla tenir també un patró específic, essent molt més present en cèl·lules canceroses que metassitzen al pulmó o a l'os^{22,23}.

Un important regulador entre la glucòlisi la respiració mitocondrial pot ser el conegut supressor tumoral p53, que actuaria a través de la modulació de proteïnes implicades en el control del metabolisme mitocondrial. Per tal de promoure la fosforilació oxidativa pot estimular la producció de NADH i FADH₂, o pot regular el complex citocrom C oxidasa (COX), mentre que per tal de desencadenar la glucòlisi pot augmentar la síntesi dels transportadors GLUT1, GLUT2 i GLUT4, entre d'altres mecanismes²².

Altres modificacions

Altres modificacions que cal destacar serien la regulació retrògrada mitocondrial (MRR), mutacions en el DNA mitocondrial (mtDNA) o la dinàmica mitocondrial, tema en que ens centrarem més endavant.

La regulació retrògrada mitocondrial (MRR) seria aquella via de comunicació a través de la qual es transmet informació al nucli sobre l'estat dels mitocondris. Es basaria en l'arribada al nucli d'enzims metabòlics mitocondrials, que poden induir canvis en el DNA nuclear a través de processos com la metilació o l'acetilació d'histones. Un exemple d'aquest fenomen podria ser el complex mitocondrial piruvat descarboxilasa (PDC), que al traslladar-se al nucli pot produir acetil-CoA o acetilar histones, contribuint així a la disfunció mitocondrial²².

Per altra banda, un altre fenomen que pot observar-se en el càncer de mama són defectes en el genoma mitocondrial, ja descrits en altres tipus de càncers. Aquestes mutacions o variants genètiques del mtDNA solen ser constants una vegada la patologia és present, mentre que la seva existència com a causants del càncer de mama no és un tema que de moment s'hagi pogut demostrar^{22,24}.

4.5. Relacions entre els mitocondris i l'estat inflamatori degut a l'obesitat

Existeixen un gran nombre d'evidències científiques que relacionen la disfunció mitocondrial (mal funcionament dels mitocondris que comporta tota una sèrie repercussions negatives, com la producció disminuïda d'ATP) amb l'estat inflamatori dels adipòcits i l'obesitat. La majoria d'estudis recolzen el fet de que la disfunció mitocondrial és una conseqüència de l'excés nutritiu i la regulació duita a terme per les citoquines secretades en estat inflamatori, tot i que d'altres proposaran que la disfunció és la causa del posterior estat inflamatori.

La següent imatge (Fig. 8) representa el funcionament mitocondrial depenent del tipus de dieta que segueixi un individu i els efectes negatius que en poden derivar.

Així, s'observa com en condicions de normalitat i amb una dieta calòrica restringida els mitocondris cel·lulars funcionen de forma eficient, tenint un paper molt important en vies metabòliques com la fosforilació oxidativa, que inclou la β -oxidació dels àcids grassos, el cicle dels àcids tricarbòxics (TAC) o la cadena transportadora d'electrons.

Ara bé, quan les condicions energètiques no són tan equilibrades (dieta hipercalòrica) el funcionament mitocondrial no serà tan eficient. Així, davant l'elevada quantitat de nutrients algunes vies metabòliques es poden veure desbordades, com la cadena respiratòria o el TAC, provocant una elevada formació de ROS. Aquest fenomen condueix a l'estrès oxidatiu, i seria, en aquests casos, el principal detonador de la disfunció mitocondrial.

Una de les principals conseqüències d'aquesta disfunció serà, tal i com es descriu a la imatge, un augment de l'apoptosi cel·lular, ja que els mitocondris són els principals encarregats de regular aquesta acció. Llavors, depenent de les cèl·lules en que ens centrem, l'apoptosi podrà induir el desenvolupament d'unes patologies o d'altres: l'apoptosi dels adipòcits afavoreix la síndrome metabòlica, mentre que en les cèl·lules mare es promouria l'envelliment²⁵.

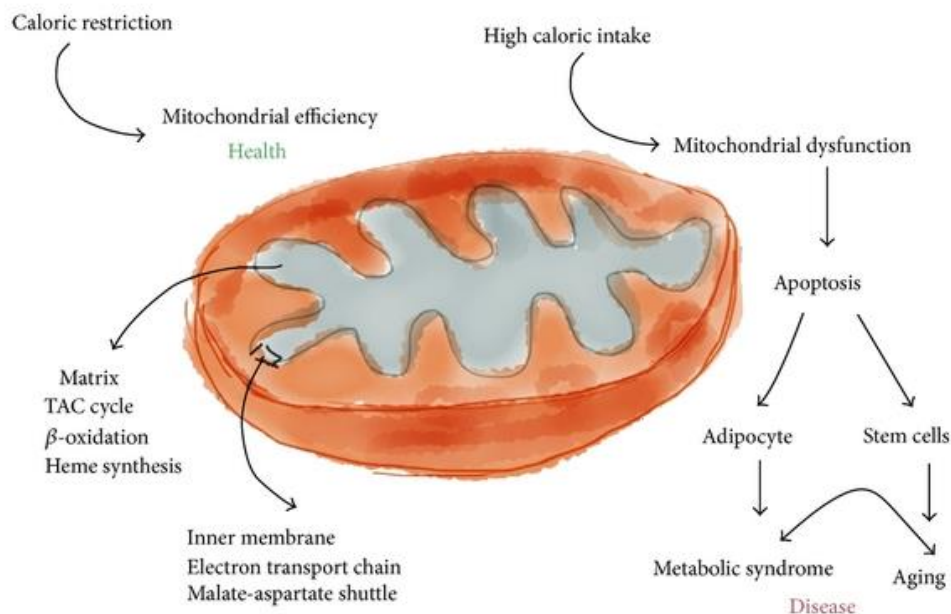


Figura 8. Funcionament mitocondrial depenent del tipus de dieta calòrica que es segueixi. Extret de: Hernández-Aguilera, A. et al. *Mitochondrial Dysfunction: A Basic Mechanism in Inflammation-Related Non-Communicable Diseases and Therapeutic Opportunities. Mediators Inflamm.* 2013, 135698 (2013).

Si ens centrem en l'estrès oxidatiu, la generació de ROS pot suposar un desequilibri del funcionament normal dels mitocondris, podent parlar llavors del principal mecanisme que tendran aquests per reduir la generació de radicals superòxid: les proteïnes desacoblants de protons UCP, com per exemple la UCP1. Aquestes veuran augmentada la seva síntesi per les mateixes ROS o per àcids grassos lliures (NEFAs) i s'encarregaran de dissipar el gradient de protons, permetent el pas d'aquests a través seu i no per l'ATP sintasa. D'aquesta manera, tot i que es redueix la producció d'energia en forma d'ATP també es disminuirà l'estrès oxidatiu, podent tornar a la normalitat el funcionament mitocondrial²⁵.

Un altre relació important entre els mitocondris i l'obesitat seria el desenvolupament de diabetis mellitus tipus 2 (DMT2), on els principals trastorn metabòlics de la patologia són la menor secreció de insulina a les cèl·lules β , així com la resistència a la seva acció en teixits perifèrics. En aquesta malaltia la disfunció mitocondrial tindrà un pes molt rellevant, ja que en situacions d'elevada quantitat de glúcids i lípids en circulació aquests podran entrar a la cèl·lula i saturar les vies oxidatives de les mitocòndries, generant ROS i intermediaris lipídics, com ceramides o diacilglicerol (DAG). Tot i que en aquests casos també augmenta la síntesi de UCP, moltes vegades no serà suficient, conduint a l'estrès oxidatiu i disfunció mitocondrial. Així, a nivell de les cèl·lules β tant els intermediaris lipídics com la mateixa UCP2 contribuiran a la disminució de la secreció de insulina, mentre que a nivell de teixits perifèrics les ceramides, DAG i ROS afectaran a la via de senyalització de la insulina, generant així resistència a aquesta^{26,27}.

Pel que fa a les citoquines secretades pels adipòcits en estat inflamatori, s'ha vist que algunes de les anteriorment citades poden tenir efectes sobre el funcionament i propietats dels mitocondris. Nosaltres ens centrarem principalment en la leptina, els estrògens, l'adiponectina i la MCP-1.

Un estudi realitzat a les pròpies Illes Balears pel Grup Multidisciplinari d'Oncologia Translacional de la institució IUNICS demostra que la leptina pot millorar la qualitat i funció mitocondrials en cèl·lules de càncer de mama MCF-7. Alguns dels resultats més destacats són que la leptina va millorar l'eficiència bioenergètica mitocondrial evitant la producció de ROS, aportà beneficis per al creixement i la supervivència cel·lular, així com també s'observà una regulació a l'alça per a gens i proteïnes relacionades amb la biogènesi i la dinàmica mitocondrial (en la que ens centrarem més endavant)²⁸.

Els estrògens també han estat objecte de molts estudis on s'analitza quin paper tenen sobre els mitocondris, observant com aquests són de gran importància per la preservació i regulació de l'estructura i funció dels mitocondris. D'aquesta manera, alguns dels efectes més rellevants poden ser la síntesi d'enzims per tal de disminuir la presència i el paper de ROS, l'augment del consum d'oxigen per la respiració mitocondrial, o l'augment de la biogènesi mitocondrial²⁹.

La regulació la biogènesi mitocondrial implica les accions coordinades tant de mtDNA com de productes gènics codificats en el nucli, com són NRF-1, NRF-2, Tfam o PGC-1. Els estrògens tenen un paper important en la regulació de la transcripció del factor NRF-1, podent augmentar així els nivells de mtDNA i per tant la biogènesi mitocondrial²⁹.

L'adiponectina, com ja s'ha estudiat en apartats anteriors, és una citoquina antiinflamatòria que presenta una relació inversa amb l'IMC i que en casos d'obesitat veu disminuïda la seva síntesi. La causa de la disminució d'aquesta síntesi serà amb allò que es centraran aquests estudis, defensant que en estat normal la funció mitocondrial està força vinculada a la síntesi d'adiponectina, llavors quan es presenti un cas de disfunció mitocondrial aquesta podrà ser la responsable de la seva menor secreció.

D'aquesta manera, es teoritza que a partir de la disfunció mitocondrial disminuiria la síntesi d'adiponectina i això acabaria induint la inflamació del teixit adipós i l'obesitat³⁰.

En quant a la proteïna quimioattractant de monòcits 1 (MCP-1), és una citocina secretada majoritàriament pels macròfags i cèl·lules endotelials que actua com a factor quimiotàctic, ajudant per tant al desenvolupament de l'estat inflamatori dels adipòcits. En aquest cas, els estudis relacionaran la disfunció mitocondrial amb un augment de l'expressió de MCP-1 en els adipòcits, augmentant així la quimiotaxi dels macròfag. El seu argument per tant es basarà en que la disfunció mitocondrial és el detonant de l'estat inflamatori posterior³⁰.

4.6. Dinàmica mitocondrial

La nostra visió sobre la morfologia i funció dels mitocondris ha anat evolucionat molt al llarg dels anys, abans considerant-se estructures estàtiques, rígides i aïllades. A dies d'ara, es descriu als mitocondris com estructures altament dinàmiques, que constantment migren per tota la cèl·lula i que poden modular la seva morfologia mitjançant els processos de fusió i fissió mitocondrials. L'equilibri entre aquests dos esdeveniments oposats regula el nombre, la mida i la posició dels mitocondris dins el citoplasma i és conegut amb el nom de dinàmica mitocondrial.

La fusió mitocondrial consisteix en la unió de dos mitocondris en un sol, mentre que la fissió mitocondrial seria la divisió d'un mitocondri en dos de fills. La desregulació d'aquests processos pot resultar dues morfologies diferents: una xarxa fragmentada que es caracteritza per tenir un gran nombre de mitocondris petits i esfèrics, o bé una xarxa hiperfusada formada per mitocondris molt allargats, connectats entre si³¹.

Aquestes transicions dinàmiques i equilibrades no només són necessàries per assegurar la funció mitocondrial sinó també per respondre les necessitats cel·lulars, adaptant la xarxa a l'estat metabòlic de la cèl·lula i a la disponibilitat de nutrients. A més, els diferents estats morfològics estaran associats també a les condicions patològiques, tot i que ja ens centrarem en això posteriorment³¹.

Les principals proteïnes que componen la maquinària dels processos de fusió i fissió són proteïnes GTPasa que pertanyen a la família de les dinamines. Aquests mecanoenzims poden oligomeritzar i canviar de conformació per tal de impulsar la remodelació mitocondrial (hidròlisi de GTP), i un Knock out (KO) en les GTPases resultarà en la majoria de casos letal, presentant defectes mitocondrials dràstics durant el desenvolupament embrionari^{31,32}.

Anem a explicar de forma més detallada els mecanismes de la fusió i fissió mitocondrials representats a la següent imatge (Fig. 9).

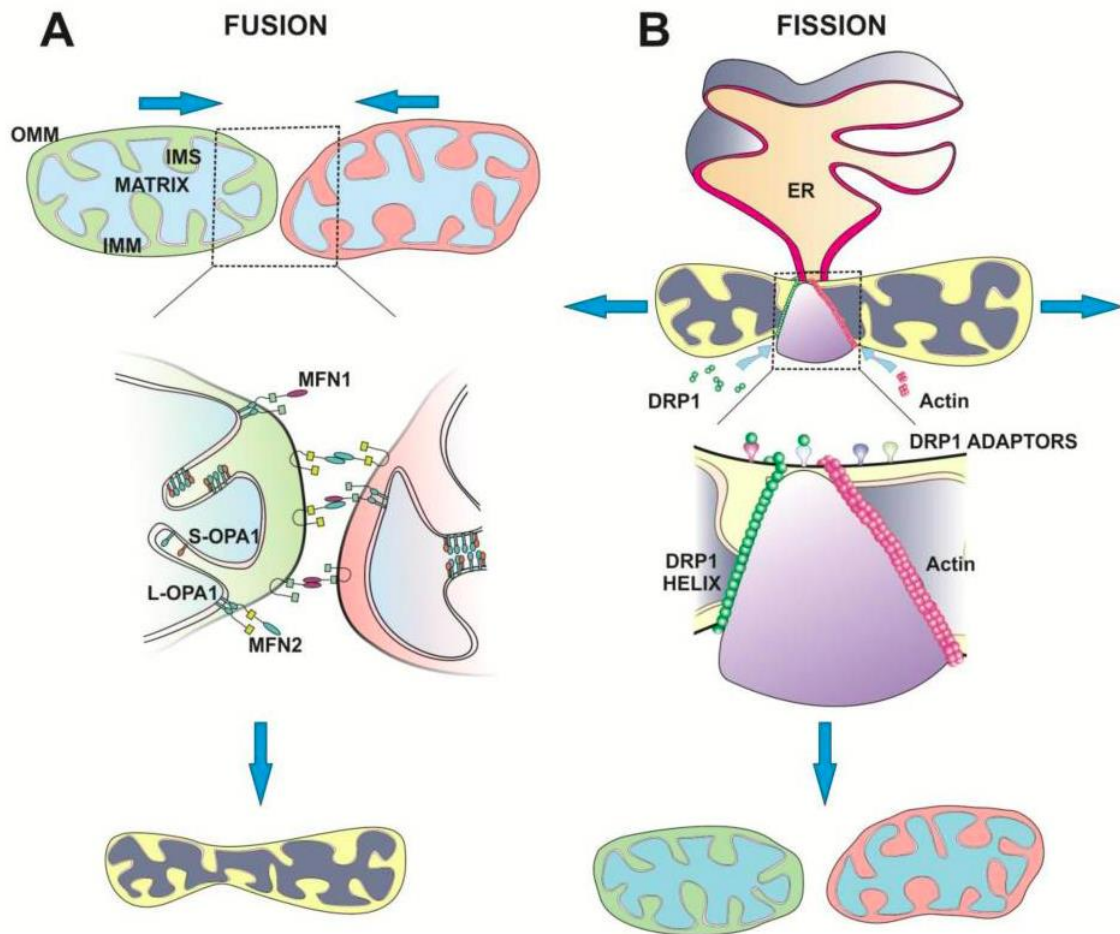


Figura 9. Visió general dels processos de la dinàmica mitocondrial. A) fusió mitocondrial, B) fissió mitocondrial. Extret de: Trotta, A. P. & Chipuk, J. E. Mitochondrial dynamics as regulators of cancer biology. *Cellular and Molecular Life Sciences* 74, 1999–2017 (2017).

Fusió mitocondrial

A nivell general, la fusió mitocondrial consta de tres passes: l'enllaç de dos mitocondris en posició trans, l'apropament d'aquests, augmentant així la superfície de contacte i disminuint la distància entre les membranes mitocondrials externes (OMM), i finalment la fusió de les membranes mitjançant canvis conformationals induïts per la hidròlisi GTP³¹.

Com que els mitocondris tenen dues membranes, cal diferenciar el procés de fusió de la membrana mitocondrial externa (OMM) del de la membrana mitocondrial interna (IMM), on intervindran diferents proteïnes GTPasa.

En la fusió de la OMM les proteïnes que tendran un paper més rellevant seran les mitofusines, distingint la mitofusina 1 (Mfn1) i la mitofusina 2 (Mfn2). Aquestes proteïnes comparteixen un 80% de similitud de seqüència en humans, però els seus nivells d'expressió varien notablement depenent del teixit en qüestió. D'aquesta manera, s'observa com Mfn1 presenta uns nivells similars a tots els teixits, mentre que Mfn2 s'expressa principalment en el múscul esquelètic, cervell i cor. A més, sembla que el paper de les mitofusines no serà exactament el mateix, comprovant que la Mfn2 no només està involucrada en la fusió dels mitocondris, sinó que també és un regulador clau del lligam entre mitocondris i reticle endoplasmàtic (RE)^{31,32}.

L'orientació d'aquestes proteïnes en la OMM consisteix en els dominis amino (N) i carboxil (C) terminals a la cara citosòlica per tal de facilitar la seva interacció amb altres mitofusines de mitocondris adjacents, mentre que el domini transmembrana es troba incrustat a la OMM i a l'espai intermembrana (IMS)³¹.

En el domini N terminal és on se troba el domini GTPasa, i serà aquest l'encarregat d'unir les OMM de dos mitocondris entre si, proporcionant la potència necessària per la fusió mitjançant la seva hidròlisi.

Si bé la unió entre les mitofusines de dos mitocondris adjacents poden ser de qualsevol tipus, s'ha observat com la formació de dímers homotípics és menys eficient que la de dímers heterotípics (Mfn1:Mfn2). El motiu de l'eficàcia de les interaccions heterotípiques pot estar relacionada amb la funció addicional que juga Mfn2 en la fusió del mitocondri al RE^{31,32}.

Per altra banda, en la fusió de la IMM aquelles proteïnes que seran més importants seran les OPA1. Aquestes són unes proteïnes complexes que es troben inserides en la IMM presentant una orientació semblant a la de les Mfn, amb un domini transmembrana i els dominis carboxil i amino terminal (amb la GTPasa) a l'IMS.

L'OPA1 consta almenys de dos focus per la seva fragmentació proteolítica, generant fragments més curts i solubles. Sobre aquests actuaran les metal·loproteases de la IMM OMA1 i YME1L, produint així almenys 5 fragments possibles, 2 amb un pes molecular major anomenats L-OPA1 i 3 menors anomenats S-OPA1. L'abundància de les diferents isoformes és específica del context cel·lular i afecta a la regulació de la dinàmica mitocondrial³¹.

El paper concret de L-OPA1 i S-OPA1 és un tema que encara no s'ha acabat de definir del tot, però sí que s'ha vist que pot tenir relació amb el fosfolípid de membrana cardiolipina (CL). La CL és essencial pel muntatge i estabilitat de complexos proteics que faciliten el contacte i fusió mitocondrials. Així, S-OPA1 s'ha definit com a facilitador de la unió entre L-OPA1 i CL, essent necessaris els 3 per la fusió mitocondrial³¹.

A més, per permetre la unió entre la IMM i la OMM serà necessària la interacció entre OPA1 i les Mfn1 i Mfn2 de la OMM. En aquest cas, gràcies a l'activitat GTPasa de OPA1 es podran formar ponts entre les dues membranes, barrejant-se els lípids i formant finalment una única membrana^{31,32}.

Fissió mitocondrial

La fissió mitocondrial és un procés complex on destaca el paper de la GTPasa Drp1, encarregada de la constricció de les membranes mitocondrials per tal de donar lloc a dos nous mitocondris.

La Drp1 està composta per quatre dominis: el domini GTPasa amino terminal, un domini mitjà, un de variable i el domini GED (GTPasa effector domain) a l'extrem carboxil. Es tracta d'una proteïna citosòlica que durant la fissió mitocondrial és reclutada dinàmicament a l'OMM, on oligomeritza formant una espècie d'anell al voltant del mitocondri. Una vegada envoltat, l'anell de Drp1 va estrenyent la membrana mitjançant l'activitat hidrolítica del GTP fins finalment aconseguir l'escissió mitocondrial, formant dos nous mitocondris³¹⁻³³.

Com que Drp1 no té un domini per unir-se directament als fosfolípids de la OMM el seu reclutament dependrà de proteïnes adaptadores. Una de les més destacades i estudiades és la proteïna de membrana Fis1, que es troba ancorada a la OMM per un domini transmembrana C-terminal mentre que la resta de proteïna es troba al citosol, per on interacciona amb Drp1. Malgrat això, estudis recents han posat en dubte la intervenció de Fis1 en la fissió mitocondrial en condicions basals^{31,33}.

Control metabòlic de la fusió i fissió mitocondrials

La dinàmica mitocondrial i la bioenergètica es troben altament relacionades, induint-se morfologies mitocondrials específiques depenent de l'estat energètic de la cèl·lula.

Així, s'observa com en condicions en que la fosforilació oxidativa té un paper important els mitocondris tenen tendència a fusionar-se, formant una xarxa mitocondrial allargada. Aquest fenomen també es dona en altres condicions associades a l'augment de la producció d'ATP, i tal vegada s'explica perquè d'aquesta manera els mitocondris són més eficients, tant per generar molta energia com per distribuir-la a llargues distàncies.

Uns dels sensors més importants de les condicions metabòliques cel·lulars són les proteases de la IMM OMA1 (proteasa depenent del potencial de membrana) i YME1L (proteasa depenent d'ATP). Aquestes modularan la seva acció segons de l'estat energètic, promovent la fusió quan existeixen uns elevats nivells d'ATP mitocondrial i inhibint-la en el cas contrari³⁴.

Pel que fa a la fissió mitocondrial, al ser el procés contrari de la fusió també es desenvoluparà en situacions metabòliques contràries. D'aquesta manera, els mitocondris fissionats tenen una fosforilació oxidativa poc eficient, induint-se per tant aquest procés en condicions de poca síntesi energètica per part dels mitocondris.

El mecanisme regulador més destacat de la fissió mitocondrial és la fosforilació de la GTPasa Drp1, aconseguint així que s'activi o inhibeixi depenent del residu en que es dugui a terme. En aquests processos es veuran implicats moltes quinases, així com també moltes vies senyalització activades per esdeveniments metabòlics³⁴.

4.6.1. Dinàmica mitocondrial, obesitat, inflamació i càncer de mama

Les cèl·lules de càncer de mama presenten tota una sèrie de mecanismes per tal de sobreviure en condicions poc favorables pel seu desenvolupament. Molts d'aquests mecanismes es basen en la morfologia dels seus mitocondris, destacant la tríada formada per la biogènesi mitocondrial, l'autofàgia (en aquest cas mitofàgia) i la dinàmica mitocondrial.

Pel que fa a la dinàmica mitocondrial, generalment els mitocondris de cèl·lules cancerígenes de mama es mostren més fragmentats, veient-se més promoguda la fissió mitocondrial per tal de permetre el seu creixement. D'aquesta manera, alguns dels principals reguladors de la fissió en aquests casos seran els nivells augmentats de la GTPasa Drp1 i la disminució dels nivells de les mitofusines^{22,35-37}.

Són ja nombrosos estudis els que relacionen l'elevació dels nivells de Drp1 en cèl·lules de càncer de mama per tal de permetre la progressió del tumor, així com també la seva migració i invasió a altres teixit per metastasi. La regulació general de Drp1 s'associa a la capacitat oxidativa mitocondrial. Aquesta, al trobar-se reduïda en les cèl·lules de càncer de mama, promourà la major expressió Drp1 i per tant tendència cap a la fissió mitocondrial^{35,36}.

Si ens centram en resultats experimentals, en l'estudi de Zhao J. et al. s'observà com el fet de silenciar aquesta GTPasa mitjançant inhibidors específics (Mdivi-1) acaba suposant una disminució de les capacitats metastàtiques del tumor. Per altra banda, un dels residus en que és més estudiada l'activació de Drp1 per fosforilació és la Ser-616. En aquesta es centrà una part d'aquest mateix estudi també, en que es comprovà que les línies cel·lulars metastàtiques MDA-MB-231 i MDA-MB-436 tenien nivells 5 vegades més alts de pS616-Drp1 que la línia MCF-7, no metastàtica³⁵.

Les Mfn1 i Mfn2 són les proteïnes més importants de la fusió de la OMM. Llavors, el nivell d'expressió d'aquestes pot tenir també relació amb el creixement, invasió i migració tumoral de càncer de mama. En aquest cas, la sobreexpressió d'aquestes GTPases en línies cel·lulars metastàtiques resulta perjudicial pel seu desenvolupament³⁵, mentre que la pèrdua de Mfn2 millora la progressió i creixement tumoral³⁷. L'explicació d'aquest fenomen es pot basar en la relació que te la Mfn2 amb les vies de senyalització mTORC2 i Akt-pS473, promotores de la proliferació, supervivència o migració cel·lular. La Mfn2 inhibeix específicament aquestes dues vies, per tant la seva menor expressió suposarà positiu pel tumor cancerigen³⁷.

L'estat metabòlic de l'organisme és un altre factor molt important per la morfologia mitocondrial. Així, en la mateixa línia d'allò estudiat fins ara s'observa com en un entorn ric en nutrients les cèl·lules de càncer de mama mantenen els seus mitocondris en estat fragmentat, mentre que en estat de fam i poques fonts energètiques els mitocondris es mostren allargats i concatenats.

L'estudi de Xing et al. fou un dels encarregats de demostrar aquest fenomen, aconseguint aquests mateixos resultats en les línies cel·lulars MDA-MB-231 i MCF-7 cultivades en medis de baixa o elevada glucosa (Fig. 10)²².

L'allargament mitocondrial en condicions de baixa glucosa és regulat mitjançant l'activació de la PKA, que inactiva per fosforilació la proteïna Drp1 promovent així el procés de fusió. A més, en aquests casos s'observa un important canvi de l'obtenció d'ATP per glucòlisi cap a la fosforilació oxidativa als mitocondris i un augment de la supervivència cel·lular²².

Per contra, en condicions d'alta glucosa en el medi alguns dels fenòmens més destacats que s'observen són l'augment de la fissió mitocondrial gràcies als nivells augmentats de Drp1, una major mitofàgia i per tant disminució del nombre de mitocondris, i l'increment de la biogènesi mitocondrial per tal de compensar la reducció del nombre mitocondrial per mitofàgia²².

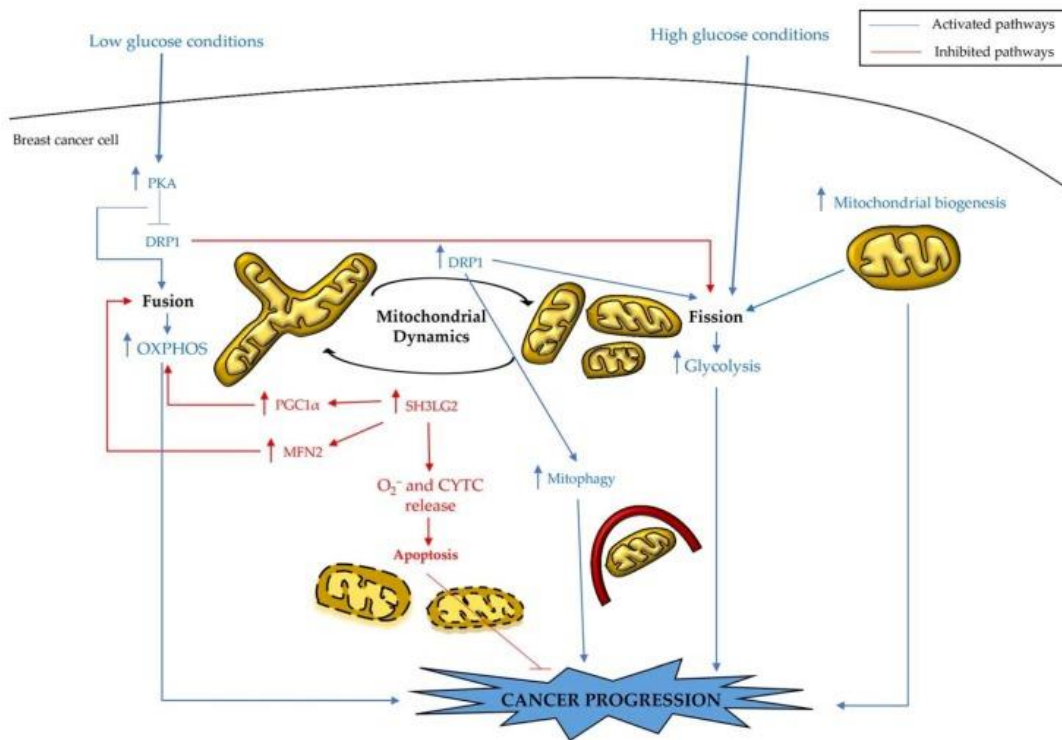


Figura 10. Alteracions de la morfologia mitocondrial depenent de l'estat metabòlic de la cèl·lula de càncer de mama. Extret de: *Avagliano, A. et al. Mitochondrial Flexibility of Breast Cancers: A Growth Advantage and a Therapeutic Opportunity. Cells 8, 401 (2019).*

L'obesitat i la resistència a la insulina produeixen nombroses alteracions sobre els adipòcits, afectant també a la morfologia dels seus mitocondris. Si ens centrem en la dinàmica mitocondrial s'observa com, així passava en el càncer de mama, el teixit adipós blanc manifesta una major tendència cap a la fissió mitocondrial per sobre de la fusió.

En aquest cas les proteïnes encarregats d'induir un major pes de la fissió mitocondrial seran les proteases OMA1 i YME1L (pròpies de la fusió), que veuen disminuïda la seva expressió, mentre que la GTPasa Drp1, que la veu augmentada^{38,39}.

A més, l'estat d'obesitat podrà suposar canvis en la dinàmica mitocondrial de molts altres òrgans com el múscul esquelètic, el fetge o el pàncrees, consistint també en un augment de la fissió mitocondrial i disminució de la fusió³⁸.

Si ens centrem en les citoquines secretades pels adipòcits en l'estat inflamatori propi de l'obesitat, s'ha observat com algunes poden induir canvis a cèl·lules de teixits llunyans que afectaran la dinàmica dels seus mitocondris. Aquest fenomen tal vegada és present en tumors de càncer de mama, essent un tema d'estudi en vies de creixement en el que s'està treballant per exemple en la nostra pròpia universitat. Així, ja s'han extret una sèrie de resultats sobre els efectes que poden tenir els estrògens o la leptina sobre la dinàmica mitocondrial de línies cel·lulars de càncer de mama^{28,40}.

Pel que fa als estrògens, Sastre J. et al. van descobrir patrons bastant comuns en l'expressió d'alguns gens de la fusió i fissió mitocondrials en les línies cel·lulars MDA-MB-231, T47D i MCF-7. En les dues primeres línies cel·lulars existeix una major proporció de Er β , mentre que les MCF-7 consten majoritàriament de Er α , estudiant-se també si es manifestaven diferències en la dinàmica mitocondrial depenent del tipus de receptor d'estrògens. Els resultats conclogueren que en la majoria de casos els gens de la fusió mitocondrial Mfn1, Mfn2 i OPA1 veien augmentada significativament la seva expressió degut al tractament amb estrògens. Per altra banda, els gens de la fissió mitocondrial diferien una mica depenent de la línia cel·lular (especialment Fis1), però en general també es notificà un augment, principalment del gen Drp1⁴⁰.

En el cas de la leptina, l'estudi realitzat per la institució IUNICS (anteriorment citat) denotà també notables canvis en l'expressió de gens i proteïnes de la dinàmica mitocondrial en la línia cel·lular MCF-7. Així, els gens propis de la fusió mitocondrial OPA1 i Mfn2 augmentaren notablement la seva expressió, mentre que Drp1 i Fis1, propis de la fissió, també tingueren el mateix efecte davant el tractament amb leptina²⁸.

L'explicació d'aquest fenomen d'augment tant de la fusió com de la fissió mitocondrial sota un tractament amb citoquines com estrògens o leptina es pot sostenir en la necessitat d'assolir un equilibri entre dos processos, igual de importants. Així, mentre la fissió mitocondrial promou la disminució del nombre de mitocondris danyats per mitofàgia i l'augment de la síntesi de nous per biogènesi mitocondrial, la fusió permetria que aquests mitocondris puguin satisfer les necessitats energètiques de la cèl·lula mitjançant la fosforilació oxidativa, ja que fusionats són quan funcionen de forma més eficient. Llavors, el conjunt format pels cicles de fusió i fissió augmentats, la mitofàgia i la biogènesi mitocondrial ajudarien a la supervivència de les cèl·lules en un entorn poc favorable, mantenint els mitocondris adaptats i eliminant els defectuosos per mitofàgia.

5. Recapitulació

Algunes de les citoquines secretades pels adipòcits en l'estat inflamatori associat a la obesitat poden tenir importants efectes sobre les cèl·lules de càncer de mama i concretament sobre la dinàmica dels seus mitocondris. Així, mentre que en el càncer de mama es sol veure potenciada la fissió mitocondrial per sobre de la fusió, quan sobre aquestes cèl·lules intervenen citoquines com la leptina o els estrògens la dinàmica pot canviar notablement, augmentant en aquests casos tant la fusió com la fissió mitocondrial. L'explicació d'aquest fenomen es pot basar en que allò realment important és mantenir un equilibri entre els dos processos, on la fissió mitocondrial promou la mitofàgia dels mitocondris defectuosos i la biogènesi de nous, mentre que la fusió permet que aquests tinguin el major rendiment energètic possible. El fi de tots aquests processos és mantenir els mitocondris i les cèl·lules adaptades a les condicions canviants que les envolten, permetent llavors el desenvolupament, progressió i fins i tot metàstasi del tumor de càncer de mama. Conèixer la base d'aquests mecanismes és de vital importància, ja que serà allò que ens permetrà descobrir dianes terapèutiques sobre les que actuar i així lluitar contra aquesta cruel malaltia que envolta les nostres societats.

6. Bibliografia

1. World Health Organization: Cancer. (2018). Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. (Accessed: 16th April 2020)
2. WHO | Breast cancer. (2018). Available at: <https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/breast-cancer/en/>. (Accessed: 16th April 2020)
3. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* **68**, 394–424 (2018).
4. DeSantis, C. E. *et al.* International variation in female breast cancer incidence and mortality rates. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **24**, 1495–1506 (2015).
5. Colditz, G. A. Epidemiology and prevention of breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* **14**, 768–772 (2005).
6. Pronóstico Cáncer de Mama: Supervivencia y Mortalidad | AECC. Available at: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-mama/mas-informacion/evolucion-cancer-mama>. (Accessed: 17th April 2020)
7. Cáncer de mama en cifras: Resultados sobre toda España, para el año 2019. *Observatorio AECC* (2020). Available at: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjojODM1MDY4YzEtZTZQ3OS00YjUyLTliYjgtYjk3MzMDMxOTY3M2MzIiwidCI6ImJjYTNjYjYjLTJlYyNGMjNDNhYS05MTgxLWY2N2YxYzI3OTAyOSIsImMiOj9>. (Accessed: 17th April 2020)
8. Obesidad y sobrepeso. *WHO* (2020). Available at: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. (Accessed: 18th April 2020)

9. Garcia-Estevez, L. & Moreno-Bueno, G. Updating the role of obesity and cholesterol in breast cancer. *Breast Cancer Research* **21**, 35 (2019).
10. Rosner, B. *et al.* Weight and weight changes in early adulthood and later breast cancer risk. *Int. J. Cancer* **140**, 2003–2014 (2017).
11. Izaola, O., De Luis, D., Sajoux, I., Domingo, J. C. & Vidal, M. Inflamación y obesidad (lipoinflamación). *Nutr Hosp* **31**, 2352–2358 (2015).
12. Kolb, R., Sutterwala, F. S. & Zhang, W. Obesity and cancer: inflammation bridges the two. *Current Opinion in Pharmacology* **29**, 77–89 (2016).
13. Chylikova, J., Dvorackova, J., Tauber, Z. & Kamarad, V. M1/M2 macrophage polarization in human obese adipose tissue. *Biomed. Pap.* **162**, 79–82 (2018).
14. Divella, R., De Luca, R., Abbate, I., Naglieri, E. & Daniele, A. Obesity and cancer: The role of adipose tissue and adipo-cytokines-induced chronic inflammation. *Journal of Cancer* **7**, 2346–2359 (2016).
15. Nigro, E. *et al.* New Insight into Adiponectin Role in Obesity and Obesity-Related Diseases. *Biomed Res. Int.* **2014**, (2014).
16. Krüger, K., Mooren, F. C., Eder, K. & Ringseis, R. Immune and Inflammatory Signaling Pathways in Exercise and Obesity. *Am. J. Lifestyle Med.* **10**, 268–279 (2016).
17. Cleary, M. P. & Grossmann, M. E. Minireview: Obesity and breast cancer: The estrogen connection. *Endocrinology* **150**, 2537–2542 (2009).
18. Ramírez, Y. & Zieba, P. Receptor de Estrógenos – ChemEvol. (2019). Available at: <http://www3.uah.es/chemevol/index.php/2019/12/05/receptor-de-estrogenos/>. (Accessed: 8th May 2020)
19. Atoum, M. F., Alzoughool, F. & Al-Hourani, H. Linkage Between Obesity Leptin and Breast Cancer. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research* **14**, (2020).
20. Guerra Hernández, B. *et al.* SEÑALIZACIÓN INTRACELULAR ACTIVADA POR LEPTINA Y SU MODULACIÓN POR EL EJERCICIO FÍSICO (I) CORRESPONDENCIA.
21. Masjedi, A. *et al.* The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. *Biomed. Pharmacother.* **108**, 1415–1424 (2018).
22. Avagliano, A. *et al.* Mitochondrial Flexibility of Breast Cancers: A Growth Advantage and a Therapeutic Opportunity. *Cells* **8**, 401 (2019).
23. Gandhi, N. & Das, G. Metabolic Reprogramming in Breast Cancer and Its Therapeutic Implications. *Cells* **8**, 89 (2019).
24. Alberto, J. & Torres, T. *Mutación en el ADN mitocondrial y su relación con el cáncer de mama.* *Rev Esp Méd Quir* **18**, (2013).
25. Hernández-Aguilera, A. *et al.* Mitochondrial Dysfunction: A Basic Mechanism in Inflammation-Related Non-Communicable Diseases and Therapeutic Opportunities. *Mediators Inflamm.* **2013**, 135698 (2013).
26. Alex Ma, Z., Zhao, Z. & Turk, J. Mitochondrial Dysfunction and β -Cell Failure in Type 2 Diabetes Mellitus. **2012**, 5 (2012).
27. Poitout, V. *et al.* Glucolipototoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **1801**, 289–298 (2010).
28. Blanquer-Rosselló, M. M., Santandreu, F. M., Oliver, J., Roca, P. & Valle, A. Leptin Modulates Mitochondrial Function, Dynamics and Biogenesis in MCF-7 Cells. *J. Cell. Biochem.* **116**, 2039–2048 (2015).

29. Klinge, C. M. Estrogenic control of mitochondrial function and biogenesis. *J. Cell. Biochem.* **105**, 1342–1351 (2008).
30. Woo, C. Y., Jang, J. E., Lee, S. E., Koh, E. H. & Lee, K. U. Mitochondrial dysfunction in adipocytes as a primary cause of adipose tissue inflammation. *Diabetes Metab. J.* **43**, 247–256 (2019).
31. Tilkani, L., Nagashima, S., Paupe, V. & Prudent, J. Mitochondrial dynamics: Overview of molecular mechanisms. *Essays in Biochemistry* **62**, 341–360 (2018).
32. Trotta, A. P. & Chipuk, J. E. Mitochondrial dynamics as regulators of cancer biology. *Cellular and Molecular Life Sciences* **74**, 1999–2017 (2017).
33. Scott, I. & Youle, R. J. Mitochondrial fission and fusion. *Essays Biochem.* **47**, 85–98 (2010).
34. Mishra, P. & Chan, D. C. Metabolic regulation of mitochondrial dynamics. *J. Cell Biol.* **212**, 379–387 (2016).
35. Zhao, J. *et al.* Mitochondrial dynamics regulates migration and invasion of breast cancer cells. *Oncogene* **32**, 4814–4824 (2013).
36. Zou, P. *et al.* Coordinated Upregulation of Mitochondrial Biogenesis and Autophagy in Breast Cancer Cells: The Role of Dynamin Related Protein-1 and Implication for Breast Cancer Treatment. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, (2016).
37. Xu, K. *et al.* MFN2 suppresses cancer progression through inhibition of mTORC2/Akt signaling. *Sci. Rep.* **7**, (2017).
38. Lahera, V., de las Heras, N., López-Farré, A., Manucha, W. & Ferder, L. Role of Mitochondrial Dysfunction in Hypertension and Obesity. *Current Hypertension Reports* **19**, 1–9 (2017).
39. de Mello, A. H., Costa, A. B., Engel, J. D. G. & Rezin, G. T. Mitochondrial dysfunction in obesity. *Life Sciences* **192**, 26–32 (2018).
40. Sastre-Serra, J., Nadal-Serrano, M., Pons, D. G., Roca, P. & Oliver, J. The over-expression of ERbeta modifies estradiol effects on mitochondrial dynamics in breast cancer cell line. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **45**, 1509–1515 (2013).