



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultad de Ciencias

Memoria del Trabajo de Final de Grado

El metabolismo energético de la célula tumoral. Nuevas estrategias terapéuticas.

Doralicia Casares de la Rosa

Grado de Bioquímica

Año académico 2014-15

DNI del alumno: 43230498C

Trabajo tutelado por: Adamo Valle Gómez

Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud

Se autoriza a la Universidad a incluir mi trabajo en su Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea con finalidades exclusivamente académicas y de investigación.

Palabras clave del trabajo

Cáncer, metabolismo, terapia, Warburg, glucólisis aeróbica

Índice

■ Resumen	4
■ Introducción	4
■ Objetivos	8
■ Materiales y métodos	9
■ Resultados	10
○ Análisis de la relevancia histórica del estudio del metabolismo en la investigación oncológica	10
○ Análisis de las distintas hipótesis sobre el efecto Warburg y su relevancia en la investigación oncológica	12
■ Disfunción mitocondrial	14
■ Estabilización del factor inducible por hipoxia (HIF)	15
■ Aumento de la biosíntesis de macromoléculas	18
■ Formación de un microambiente favorable para el desarrollo del tumor	19
■ Efecto Warburg reverso	20
○ Análisis del desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en el metabolismo del cáncer como diana de acción	22
■ Vía glucolítica	23
■ Vía de las pentosas fosfato	25
■ Actividad mitocondrial	25
■ Metabolismo de aminoácidos	26
■ Metabolismo de lípidos	26
■ Efecto Warburg reverso	27
■ Conclusión	28
■ Bibliografía	29

Resumen

El perfil metabólico de la célula tumoral presenta diferencias muy significativas respecto a una célula normal: es básicamente glucolítico, incluso en condiciones aeróbicas, en contraposición al metabolismo oxidativo de la célula sana. Este hecho tan significativo fue descubierto por Otto Warburg durante la segunda década del siglo XX y durante muchos años ha sido dejado de lado en las investigaciones sobre el cáncer, a favor del estudio de la biología molecular, que ha hecho centrar la mayor parte de las investigaciones en las bases genéticas del cáncer (oncogenes y supresores tumorales).

Sin embargo, desde principios del siglo XXI, el estudio del metabolismo del cáncer ha sufrido un despegue que ha llevado al planteamiento de multitud de hipótesis para explicar este fenómeno y ha supuesto la posibilidad de explotar las características diferenciales del tumor como posibles dianas terapéuticas. En este trabajo se recogerán las diferentes hipótesis planteadas hasta ahora y se revisarán las moléculas que se encuentran ya en estudio como posibles agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer.

Introducción

El metabolismo de una célula diferenciada en condiciones normales es básicamente oxidativo, conduciendo la glucosa a través de la glucólisis a la formación de piruvato, que podrá transformarse en acetil-CoA y entrar en la mitocondria para producir NADH que será utilizado posteriormente para obtener la máxima cantidad de ATP a través de la cadena respiratoria y la ATP sintasa (1,2). Este proceso, que tiene lugar en presencia de oxígeno, rinde 36 moléculas de ATP (2). Cuando el oxígeno no está disponible, la célula cambia su metabolismo oxidativo por el fermentativo, produciendo lactato y siendo menos eficiente energéticamente, ya que se producen 2 moléculas netas de ATP por cada molécula de glucosa (1). Normalmente, en presencia de oxígeno, la célula lleva a cabo el denominado efecto Pasteur, que consiste en inhibir la fermentación de la glucosa (3). Paradójicamente, las células tumorales, que deberían presentar un requerimiento mayor de energía para poder mantener su elevada tasa de replicación, a pesar de que presentan una mayor captación de glucosa (3), incluso superior a sus necesidades (4), se caracterizan por llevar a cabo la transformación de la glucosa en lactato, aun en presencia de oxígeno (5). Se ha visto que si las células llevan a cabo la respiración, su crecimiento es menor que si llevan a cabo el metabolismo glucolítico, por lo que este último debe suponer una ventaja para la célula tumoral (6). Esta vía alternativa utilizada por las células cancerígenas se conoce como glucólisis aeróbica, aunque también recibe el nombre de “efecto Warburg” por su descubridor, Otto Warburg, científico alemán y ganador de un Premio Nobel en 1931 que ya describió este proceso en los años 20 (1,7). El efecto Warburg es una marca propia de

muchos tipos de cánceres, no obstante, la energía obtenida mediante la glucólisis aeróbica nunca excede del 50% del total de energía obtenida por la célula; la otra mitad de la energía se obtiene de la respiración (8).

La influencia científica del padre de Warburg, indujo al científico a dedicarse a la investigación desde edades muy tempranas, lo cual lo llevó a convertirse en uno de los primeros científicos que realizó investigaciones sobre el metabolismo del cáncer. Su primer descubrimiento en este campo, en 1924, fue la ausencia de inhibición en la producción de lactato en presencia de oxígeno en finas porciones de carcinomas (9), lo cual lo llevó a concluir que las células llevaban a cabo la glucólisis incluso en condiciones aeróbicas. Este descubrimiento tuvo una gran acogida y fue el centro de muchas investigaciones de la época, algunas de ellas confirmando los resultados de Warburg de que existía un cambio del metabolismo oxidativo al glucolítico en el cáncer (10). El propio Warburg y su equipo pudieron determinar en 1927 elevadas cantidades de lactato en sangre en estudios con tumores de rata, comparando las concentraciones del mismo en las arterias y venas; el tumor captaba 70mg de glucosa de cada 100cm³ de sangre y la transformaba en 46mg de ácido láctico, por lo que los 24mg restantes se utilizaban para llevar a cabo la respiración (11). En términos de energía celular, Warburg determinó que mientras que una célula normal producía 36 ATP a partir de una molécula de glucosa en condiciones de normoxia, una célula tumoral producía 56 ATP a partir de 11 glucosas, una de las cuales seguiría la cadena respiratoria dando 36 ATP y las otras diez serían convertidas en lactato, dando 20 ATP. Por otro lado, si esa célula tumoral se sometía a una situación de anoxia, produciría 26 ATP a partir de la transformación de 13 glucosas en lactato (12).

Dado que a pesar de aumentar la disponibilidad de oxígeno para las células tumorales, la concentración de lactato seguía siendo igual de elevada, Warburg pensó que la causa de que se diera este proceso era un daño irreversible en la cadena respiratoria mitocondrial, pero que no podía ser tan potente como para que las células murieran (5,12). Con estas ideas presentes, Warburg desarrolló la hipótesis de que este daño podía deberse a una reducción del consumo de oxígeno o un desacoplamiento entre la respiración y la formación de ATP (5), ya que la cadena respiratoria era más susceptible de modificación que la glucólisis (12). Sin embargo, además del daño en la respiración, también tenía que darse un aumento en la fermentación como consecuencia del déficit energético al que la célula se vería sometida. Este proceso no podía producirse de manera directa sino tras muchas divisiones celulares, y todo el tiempo en el que este proceso se llevara a cabo, sería el periodo de latencia previo al cáncer (5). Además, Warburg propuso una explicación para la dediferenciación que se produce en las células tumorales; esta dediferenciación derivaría del daño en la mitocondria y se basaría en que para la producción de ATP mediante la respiración mitocondrial es necesaria una mayor infraestructura celular que para su producción mediante glucólisis, resultando en muchos casos en la muerte celular y, en otros, en la adaptación de las células a un metabolismo glucolítico (5).

La hipótesis de Warburg de que el aumento de la glucólisis aeróbica se diera como consecuencia de un daño en la mitocondria no fue considerada de gran importancia durante mucho tiempo, incluso después de su muerte, ya que la morfología y las reacciones químicas eran un tema más significativo para la investigación biológica (13). Además, en ocasiones, su hipótesis del daño mitocondrial no se consideró totalmente cierta debido a que los defectos en la mitocondria son poco frecuentes en células tumorales (14).

Las células en división tienen tres principales requerimientos: generación de ATP, elevada biosíntesis de macromoléculas y mantenimiento del estado redox. Las células cancerígenas presentan cambios en su metabolismo para cumplir con estos requerimientos, ya que su proliferación es mayor y deben poder evitar los puntos de control que inhibirían su división (15). Existen seis alteraciones fisiológicas en las células tumorales que definen el fenotipo maligno: autosuficiencia de señales de crecimiento, insensibilidad a la inhibición del crecimiento, potencial de replicación ilimitado, angiogénesis, invasión y metástasis (4). La proliferación celular incontrolada de células sanas se evita por un déficit de factores promotores del crecimiento al cual las células tumorales no son sensibles debido a fallos (principalmente mutaciones genéticas) en los receptores de estos factores (2), es decir, que las células tumorales pueden crecer independientemente de su presencia. Como en el cáncer la disponibilidad de glucosa es ilimitada, la glucólisis produce mayores cantidades de ATP que la fosforilación oxidativa, lo cual es ventajoso para la célula (15). Tanto las células normales como las tumorales pueden experimentar la glucólisis aeróbica, pero la principal diferencia metabólica entre ambos tipos de células es que, en condiciones de falta de nutrientes, las células normales se vuelven quiescentes, mientras que las células tumorales cuyo crecimiento está estimulado, promueven la acumulación de biomasa y captación de nutrientes, ya que presentan una especie de “adicción” al “efecto Warburg” en cuanto a la síntesis de ATP (12).

A lo largo de los casi cien años que han pasado desde que Warburg enunciara su hipótesis, las teorías para explicar el motivo por el que las células tumorales llevan a cabo este peculiar metabolismo han sido muchas. En los últimos años, el interés por el estudio del metabolismo del cáncer ha ido creciendo a causa de la utilización de la técnica de imagen PET (*Positron Emission Tomography*) como prueba diagnóstica y pronóstica del cáncer (3,4,6,8). Esta prueba, introducida a principios de los años noventa (16), aprovecha la capacidad de muchos tumores de captar grandes cantidades de glucosa utilizando un análogo de la glucosa, el trazador ¹⁸fluorodeoxiglucosa (FDG), para determinar la localización del tumor, ya que es más ávidamente captado por las células cancerígenas que por las células sanas del organismo (3), aunque también puede detectar cánceres diseminados (16). La técnica permite un diagnóstico temprano ya que detecta pequeños cambios en el consumo de la glucosa por las células y una determinación del estadio de desarrollo en el que se encuentra el tumor para abordar la enfermedad con el mejor tratamiento posible, además de permitir realizar un seguimiento a los pacientes que se encuentran en tratamiento oncológico o que ya lo han terminado (16). Sin embargo, un 30% de los tumores son negativos para esta

prueba, por lo que es evidente que los tumores recurren a otros metabolitos (ácidos grasos, aminoácidos o lactato) como fuente de combustible, demostrando que poseen una flexibilidad metabólica en determinadas circunstancias (15) y que incluso pueden recurrir a la fosforilación oxidativa para satisfacer sus necesidades (17).

La pregunta, por tanto, sigue siendo por qué muchas células cancerígenas llevan a cabo un metabolismo menos eficiente, primero por su menor síntesis de ATP y segundo por su elevada producción de protones y otras sustancias que se excretan al espacio extracelular y que causan toxicidad, y por qué se selecciona la proliferación de estas células frente a los fenotipos más eficientes (3). Multitud de estudios bioquímicos y moleculares sugieren diferentes explicaciones para la aparición de este perfil metabólico durante la formación del cáncer, y algunos de los mecanismos que proponen incluyen la disfunción mitocondrial, la adaptación a la hipoxia, la prevalencia de los oncogenes y la expresión anormal de ciertas enzimas del metabolismo glucolítico (18). La razón que parece más obvia para la activación de la glucólisis en las células cancerígenas es la hipoxia a la que se ven sometidas las células en proliferación, que produce un mal funcionamiento mitocondrial, lo cual sería letal para una célula normal (4). Sin embargo, se ha visto que tras devolver el aporte de oxígeno, las células tumorales utilizan todavía la glucólisis manteniendo la cadena respiratoria inhibida (4), por lo que la hipoxia por sí sola no podría explicar la aparición del cáncer (14). Algunos autores proponen que el cambio hacia el metabolismo fermentativo es un mecanismo de adaptación a la hipoxia intermitente cuando la célula tiene ya una lesión pre-maligna y que sirve para favorecer la formación del tumor (3), sin embargo, otros creen que las células cancerígenas ya realizan glucólisis aeróbica previamente a la exposición a la hipoxia, por lo que no es un factor que promueva el cambio de metabolismo (2). Lo que está claro es que el cambio hacia este perfil glucolítico proporciona una ventaja a la célula tumoral y, según los estudios que se están realizando sobre el tema, favorece la supervivencia y proliferación de la célula por muchos motivos y mediante múltiples mecanismos.

En una situación de hipoxia, con las mitocondrias disfuncionales, la glucólisis compensa la disfunción mitocondrial (4), pero debe proporcionar más ventajas si este fenotipo se mantiene aún en presencia de oxígeno. El metabolismo glucolítico provee a la célula de una ventaja proliferativa y además facilita la invasión y la angiogénesis, ya que altera su ambiente de manera que sea perjudicial para las células vecinas pero no para las células del tumor (3,14), e incluso lo protege del ataque del sistema inmune (8). También favorece una síntesis de ATP más rápida (17) y una mayor biosíntesis de macromoléculas, como los ácidos nucleicos, fosfolípidos, ácidos grasos, colesterol y porfirinas por parte del tumor (8), para acumular biomasa en lugar de producir energía, lo cual le permite crecer de forma más rápida y lo protege de la inducción de la apoptosis por posibles mutaciones que pudieran causar las especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas en la cadena respiratoria mitocondrial (1). Por último, proporciona una mayor supervivencia en situaciones en que el oxígeno es limitado, ya que las enzimas glucolíticas no dependen directamente de la concentración de oxígeno disponible (8,19). Por estos motivos se ha observado que, cuanto

mayor efecto Warburg muestran las células tumorales, mayor es la supervivencia del tumor (8) y que, además, la presencia de este metabolismo característico aumenta la resistencia del tumor a diferentes agentes anticancerígenos (20).

La glucólisis aeróbica puede activarse por varios caminos que se explicarán detalladamente a lo largo de este trabajo. Actualmente, muchos estudios han proporcionado conocimientos sobre el importante papel de genes mitocondriales y nucleares que provocarían la oncogénesis mediante mutaciones en una serie de proteínas relacionadas con la reducción de la respiración celular (12). Además, también se resalta en algunos casos el papel fundamental de las características del entorno del tumor en la aparición del efecto Warburg por lo que éste fenómeno podría ser dependiente del contexto y estar gobernado en algunos casos por cambios genéticos y en otros por el ambiente (6). Algunos tumores cambiarían su tipo de metabolismo en función de la situación externa en la que se encontraran aunque, en general, se ha observado que los microambientes tumorales son bastante heterogéneos (17).

Esta característica única que presentan las células cancerígenas lleva años induciendo a los científicos a idear un método para atacar al tumor a nivel de su metabolismo, y muchas investigaciones se están llevando ya a cabo para diseñar moléculas que permitan utilizar como blanco alguno de los genes o proteínas alteradas que se encuentran en las diferentes variantes de la enfermedad. No es extraño pensar que la inhibición de los puntos anormales o la retirada de estos errores podría inducir la muerte de las células y, consiguientemente, la curación de los muchos pacientes que se encuentran afectados hoy en día por esta dolencia. Aunque estemos lejos de encontrar la panacea para el cáncer, la abundante bibliografía sobre este tema es prometedora en vistas a una cura futura de la enfermedad con el metabolismo de la célula tumoral como punto central de ataque.

Objetivos

Debido a la evidencia de la existencia de un cambio del metabolismo en las células cancerígenas que les es favorable para su rápida proliferación (efecto Warburg), y la posible utilización de éste como diana terapéutica, se plantean tres objetivos para este trabajo:

- Valorar la situación del estudio del metabolismo del cáncer en la comunidad científica a lo largo de los años y compararlo con el interés hacia el estudio de la biología molecular en función del número de artículos publicados.
- Analizar las hipótesis que se barajan como posibles explicaciones del efecto Warburg y evaluar cuáles han tenido mayor relevancia hasta la fecha.
- Estudiar la tendencia al estudio de las terapias basadas en el efecto Warburg y analizar las propuestas que existen como posibles tratamientos dirigidos a atacar este rasgo peculiar de las células tumorales.

Materiales y métodos

Para la recopilación de información para la elaboración de este trabajo todas las búsquedas bibliográficas se realizaron en la base de datos PubMed. Se usaron diferentes combinaciones de palabras mediante los comandos de búsqueda que nos facilita esta base de datos para poder obtener un número más fiable de publicaciones respecto al tema que tratamos, siempre eliminando las revisiones para cuantificar únicamente los artículos de investigación.

Para evaluar el interés de la comunidad científica hacia la relación entre el metabolismo de las células tumorales y la aparición del cáncer o la relación entre la biología molecular y el cáncer, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica mediante la cual podemos comparar el número de artículos que se han publicado hasta el final del 2014 de estas dos áreas de estudio oncológicas. Para englobar todos los artículos de investigación que tratan sobre el metabolismo del cáncer se utilizó la siguiente combinación de palabras: "Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR ("aerobic glycolysis" AND "cancer") NOT ("review"[Publication type]). Este comando engloba todas las publicaciones que hablan sobre el efecto Warburg, el metabolismo del cáncer o el concepto sinónimo "glucólisis aeróbica". Para analizar el interés por la biología molecular del cáncer se realizó una segunda búsqueda sobre este tema con las palabras clave "oncogene" OR "tumor suppressor" NOT ("Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR "aerobic glycolysis") NOT ("review"[Publication type]). Así tenemos en cuenta todos los artículos que hablen sobre oncogenes o supresores tumorales sin hablar del metabolismo del cáncer, el efecto Warburg o la glucólisis aeróbica.

Adicionalmente, para ver cuál de las teorías propuestas para explicar el efecto Warburg tiene más peso entre los científicos, se realizaron una serie de búsquedas con las palabras clave recogidas en la **Tabla 1** para valorar los resultados en número de artículos obtenidos, eliminando las *reviews* y recogiendo todos los artículos hasta el 2014, de manera que se pueda ver cuál tiene más relevancia en el estudio del metabolismo del cáncer.

Tabla 1. Palabras clave para el análisis de la relevancia de las teorías que explicarían el efecto Warburg.

Teoría	Palabras clave
Disfunción mitocondrial	((Warburg effect) OR (cancer metabolism) OR (aerobic glycolysis)) AND (mitochondrial dysfunction OR respiration impairment OR respiration injury) NOT ("review"[Publication type])
Estabilización de HIF	((“Warburg effect”) OR (cancer metabolism) OR (“aerobic glycolysis” AND “cancer”)) AND (HIF stabilization) NOT ("review"[Publication type])
Aumento de la biosíntesis de macromoléculas	((“Warburg effect”) OR (“cancer metabolism”) OR (“aerobic glycolysis” AND “cancer”)) AND (biosynthesis OR anabolism) NOT ("review"[Publication type])
Formación de un microambiente favorable para el desarrollo del tumor	((“Warburg effect”) OR (“cancer metabolism”) OR (“aerobic glycolysis” AND “cancer”)) AND (microenvironment OR lactate) NOT ("review"[Publication type])
Efecto Warburg reverso	((“Warburg effect”) OR (“cancer metabolism”) OR (“aerobic glycolysis” AND “cancer”)) AND (“reverse Warburg effect”) NOT ("review"[Publication type])

Estas últimas búsquedas debían incluir el concepto del efecto Warburg y sus posibles sinónimos, además de algunas palabras que definieran la teoría en concreto y que fueron seleccionadas viendo qué conceptos definían mejor cada una de las hipótesis.

Por último, con el fin de analizar qué estudios se están llevando a cabo en cuanto al tratamiento del cáncer teniendo en cuenta el efecto Warburg, se realizó una búsqueda con los siguientes comandos: ("Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR ("aerobic glycolysis" AND "cancer")) AND ("therapy" OR "treatment") NOT ("review" [Publication type]).

A partir de ciertos artículos de estas búsquedas, se hizo una selección de los que tenían un mayor interés para el trabajo tras la lectura de los *abstract* y se amplió ésta mediante la bibliografía de algunos de ellos y la búsqueda de algunas revisiones.

Resultados

Análisis de la relevancia histórica del estudio del metabolismo en la investigación oncológica

El primer objetivo que se planteó en este trabajo consistía en valorar la situación del estudio del metabolismo del cáncer en la comunidad científica a lo largo de los años y compararlo con el interés hacia el estudio de la biología molecular en función del número de artículos publicados. Para ello se realizaron dos búsquedas bibliográficas independientes sobre estas dos áreas y se realizó un análisis de los datos obtenidos.

Por un lado, en la búsqueda sobre el metabolismo del cáncer con las palabras clave "Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR ("aerobic glycolysis" AND "cancer") NOT ("review"[Publication type]) se obtuvieron un total de 1254 artículos desde el 1945, año en el que aparecen los primeros artículos, hasta el final del 2014. Debemos considerar en estos resultados que los descubrimientos de Warburg fueron anteriores, en los años 20, pero que aparentemente no están reflejados en esta base de datos. Por otro lado, en la búsqueda sobre biología molecular con los comandos "oncogene" OR "tumor suppressor" NOT ("Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR "aerobic glycolysis") NOT ("review"[Publication type]) se obtuvo un número de artículos considerablemente mayor, que ascendió hasta 242717 siendo el primero de ellos del año 1969.

Juntando los resultados obtenidos de estas dos búsquedas, se puede comparar la tendencia al estudio del metabolismo del cáncer en contraposición a la tendencia a investigar la relación de esta enfermedad con la biología molecular (**Figura 1**). Si bien el estudio del metabolismo del cáncer (según refleja la base de datos PubMed) comenzó antes, en 1945, su crecimiento no ha sido tan grande como el del campo de la biología molecular, que desde su

surgimiento en 1969 se ha impulsado para obtener muchísimas más publicaciones en la actualidad, con un crecimiento muy destacable durante las décadas de los 80 y 90. Sin embargo, en los últimos años, el metabolismo del cáncer está empezando a despuntar y a ganar interés en contra del descenso de publicaciones sobre biología molecular y cáncer que se está viendo recientemente, por lo que es evidente que la curiosidad por los cambios metabólicos del cáncer ha resurgido.

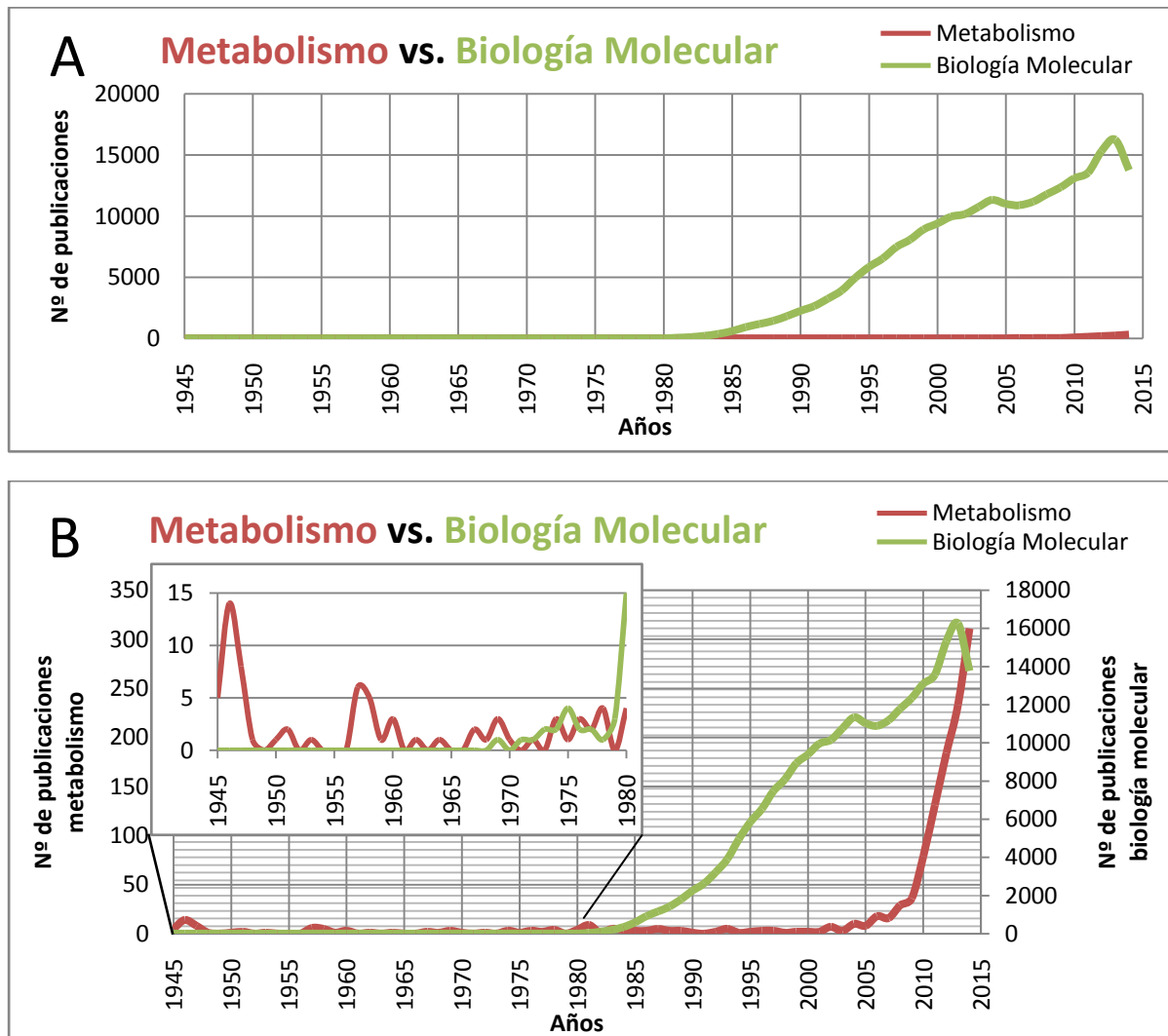


Figura 1. Evolución histórica del interés sobre el metabolismo del cáncer y sobre la biología molecular respecto al cáncer. Con los resultados de las búsquedas "Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR ("aerobic glycolysis" AND "cancer") NOT ("review"[Publication type]) para el metabolismo (en rojo) y "oncogene" OR "tumor suppressor" NOT ("Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR "aerobic glycolysis") NOT ("review"[Publication type]) para la biología molecular (en verde) podemos hacernos una idea del interés por estos dos puntos respecto al cáncer. **A)** Se puede observar la gran diferencia en número de publicaciones que hay entre el metabolismo del cáncer y la biología molecular en la actualidad: el metabolismo cuenta con unos centenares de publicaciones anuales mientras que la biología molecular ha llegado a alcanzar más de 15000 en algunos años. **B)** Se observa con mayor detalle la tendencia de ambos campos gracias a la representación mediante dos escalas en los ejes, una para cada uno, lo que nos permite apreciar las diferencias con mayor claridad. Desde la primera publicación registrada, el estudio del metabolismo del cáncer fue muy irregular hasta hace prácticamente una década. La relación del cáncer con la biología molecular sufrió un crecimiento exponencial durante la década de los 80 y 90 que se mantuvo durante los primeros años del siglo XXI. Sin embargo, en los últimos años se aprecia una caída considerable del interés por la relación entre la biología molecular y el cáncer y un incremento notable del número de publicaciones en cuanto al metabolismo del cáncer.

Análisis de las distintas hipótesis sobre el efecto Warburg y su relevancia en la investigación oncológica.

En la literatura ya existen muchas hipótesis que intentan explicar el efecto Warburg, aunque no ha sido posible todavía establecer cuál de todas esas ideas es más probable que sea la explicación para el fenómeno o si es un conjunto de varias de ellas lo que lo explicaría (6). Para analizar cuál de las hipótesis de las que se hablará más adelante presenta una mayor relevancia, se realizaron diferentes búsquedas bibliográficas mediante las palabras clave especificadas en la [Tabla 1](#).

Con los resultados de estas búsquedas se elaboraron las gráficas de la [Figura 2](#) en las cuales se representa el número total de artículos en PubMed ([2A](#)) y el número de artículos de cada una de las teorías a lo largo de los años ([2B](#)). Con ellas se puede comparar la evolución histórica que ha sufrido cada una de estas hipótesis y evaluar cuál es la que produce un mayor interés en la comunidad científica. Las teorías que se consultaron fueron las siguientes: la disfunción mitocondrial, la estabilización de HIF (factor inducible por hipoxia), el aumento de la biosíntesis, la formación de un microambiente favorable para el tumor y el efecto Warburg reverso.

La primera teoría que aparece en la bibliografía es la de la disfunción mitocondrial, que surgió en el 1940, estuvo estancada durante treinta años y que volvió a cobrar interés en la década de los 70. Esta hipótesis es también la que cuenta con un mayor número total de publicaciones (1327 hasta el fin del 2014). En los últimos años la teoría de la disfunción mitocondrial ha quedado un poco relegada ante la teoría de que el efecto Warburg se diera para propiciar un aumento de la biosíntesis, llegando esta última a obtener un número de publicaciones anuales mayor que la primera recientemente y habiendo conseguido hasta el 2014 un total de 1041 artículos a pesar de haber aparecido unos años después, en 1945. Es curioso observar, además, que esta hipótesis presenta algunos picos de mayor actividad investigadora entre los años 40 y 60. Debemos tener en cuenta que, aunque la hipótesis del aumento de la biosíntesis de macromoléculas tiene más peso actualmente, la disfunción mitocondrial tiene un mayor número de artículos totales dado que es la más antigua: la que propuso el propio Warburg en los años 20, aunque en estas búsquedas no quedan reflejadas las publicaciones del científico de aquella época. La hipótesis que propone que la célula utiliza la glucólisis aeróbica para la formación de un microambiente favorable para el tumor es la siguiente que surge en el tiempo, a mediados de la década de los 60, seguida de la de la estabilización de HIF ya en los años 90 y, por último, la del efecto Warburg reverso, que cuenta con tan solo una treintena de artículos a causa de que fue propuesta en el 2009. Estas últimas tres hipótesis cuentan con un número considerablemente más bajo de publicaciones aunque su tendencia es positiva al igual que las que tienen una mayor cantidad de artículos.

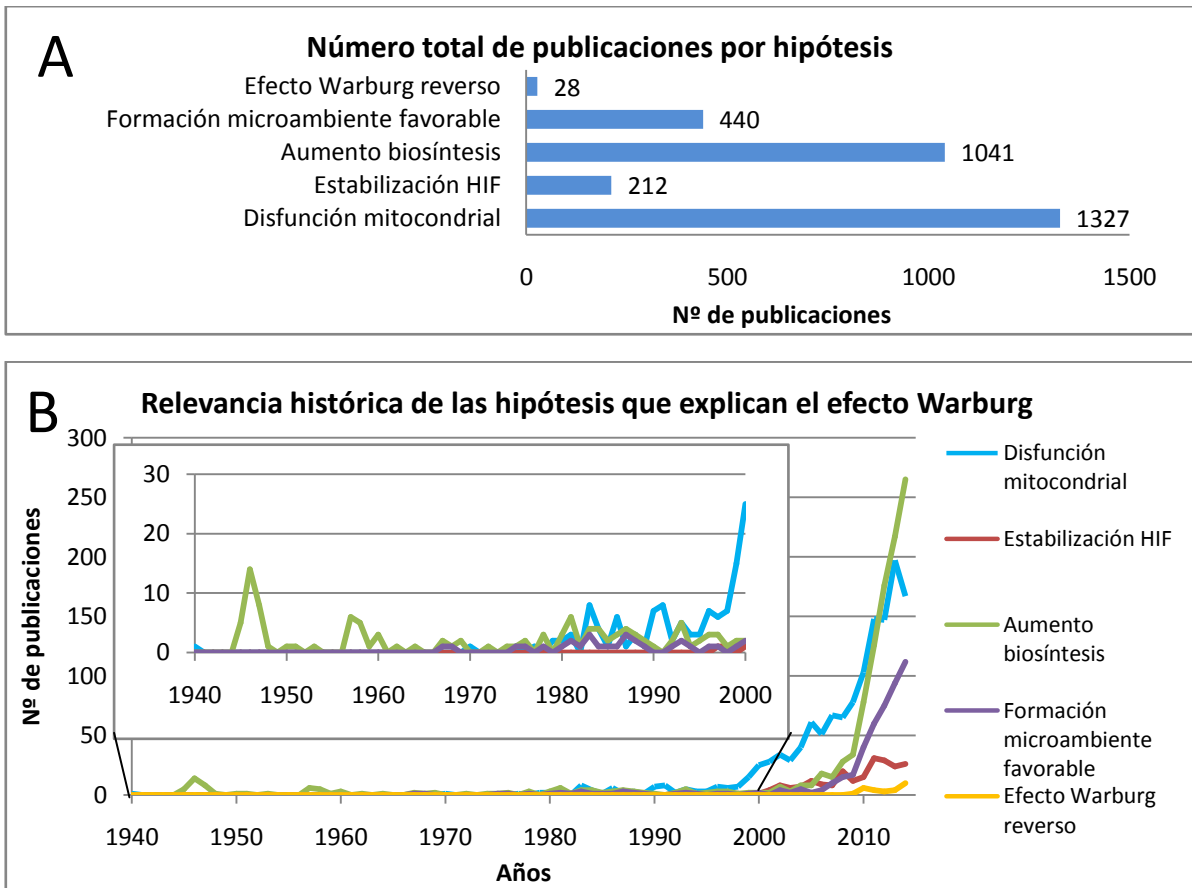


Figura 2. Relevancia de las hipótesis propuestas para explicar el efecto Warburg. **A)** En número total de publicaciones, la teoría más relevante es la de la disfunción mitocondrial, seguida de cerca por la del aumento de la biosíntesis. Con un número considerablemente menor de publicaciones tenemos la formación del microambiente favorable para el crecimiento tumoral y la estabilización del HIF. Por último, por ser la más reciente, tenemos la hipótesis del efecto Warburg reverso. **B)** El gráfico representa el número de artículos publicados por año en la base de datos PubMed de cada una de las cinco teorías propuestas en este trabajo. Se observa la evolución del interés investigador por cada una de estas hipótesis y puede comprobarse que la primera teoría de la que hay constancia es la de la disfunción mitocondrial, propuesta por Warburg, seguida del aumento de la biosíntesis, la formación de un ambiente favorable para el tumor, la estabilización de HIF y, por último, el efecto Warburg reverso. Las búsquedas realizadas están indicadas en la [Tabla 1](#).

Todas las teorías propuestas ponen de manifiesto que existe un elevado número de genes y enzimas alterados que son la causa primera de las alteraciones y que indican que existe una interrelación entre la genética y la modificación del metabolismo. Las mutaciones en los genes que codifican para supresores tumorales y oncogenes pueden dar lugar al desarrollo de la enfermedad ya que promueven un cambio hacia un programa celular embrionario que produzca un cambio de metabolismo que favorezca el crecimiento, como es el efecto Warburg (2). Una función de las vías oncogénicas es hacer que las células tengan una captación de nutrientes autónoma y un programa de proliferación activo, mientras que los supresores tumorales pretenden que no se utilicen los nutrientes para el anabolismo (2). Por estos motivos, la existencia de estos genes apoya la hipótesis de Warburg de que en las células cancerígenas el daño mitocondrial debía ser paralelo a la potenciación glucolítica (17). A lo largo de las siguientes páginas se detallarán estas teorías y los mecanismos por los que hasta el momento se cree que se promueve la glucólisis en la célula tumoral, algunos de los cuales se reúnen en la [Figura 3](#).

Disfunción mitocondrial

La disfunción mitocondrial fue la primera causa a la que Warburg le atribuyó la aparición de la glucólisis aeróbica (5), aunque no pudo elucidar el motivo de este mal funcionamiento y no ha sido hasta hace poco tiempo que se han podido establecer algunas relaciones entre la disfunción mitocondrial y la aparición del efecto Warburg (14). La disfunción mitocondrial puede darse por muchas causas, entre las cuales se encuentra la mutación del DNA mitocondrial (mtDNA), la disfunción del transporte de electrones en la cadena respiratoria, la expresión aberrante de enzimas del metabolismo oxidativo y una baja disponibilidad de oxígeno (20). Todos estos procesos conducen a una disminución de la producción de energía en la mitocondria, aunque hay que tener en cuenta que la actividad mitocondrial no comprende únicamente la síntesis de ATP, sino que incluye la producción de especies reactivas de oxígeno, la regulación de la homeostasis del calcio intracelular y la regulación de la apoptosis (4), por lo que está claro que no es un único factor el que induce el surgimiento del efecto Warburg.

El primer factor que relaciona la disfunción mitocondrial con el incremento de la glucólisis es el **factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1)** (14). La estabilización de este factor tiene lugar principalmente en situaciones de hipoxia, pero cada vez existen más evidencias del papel de la mitocondria en su actividad, y se ha descubierto que su estabilización también puede darse en presencia de mutaciones de enzimas mitocondriales codificadas por el DNA nuclear como la succinato deshidrogenasa (SDH) y fumarato hidratasa (FH), ya que se produce una acumulación de intermediarios del ciclo de Krebs. Estas enzimas tienen función conocida como supresores tumorales en condiciones normales (14,17); la primera cataliza la oxidación de succinato para producir fumarato, y la segunda la conversión de fumarato a malato en el ciclo de Krebs (17). La inactivación de estas enzimas en el cáncer por mutaciones lleva a esa acumulación de intermediarios y estos metabolitos dan lugar a una serie de cambios que implican la estabilización de HIF-1 por la inhibición de la enzima inhibidora de HIF-1 (14). La respuesta que se produce es una disminución del consumo de oxígeno y de la producción de ATP en la cadena respiratoria (4), por lo que disminuye el ATP sintetizado mediante fosforilación oxidativa y se promueve la glucólisis aun en condiciones aeróbicas.

Otro posible motivo por el que la mitocondria no funciona con normalidad en el cáncer se ha atribuido a un **error de la subunidad β -F1-ATPasa**, la subunidad catalítica de la ATP sintasa, que se encuentra inhibida (4), por lo que no se produce ATP, y el desacoplamiento entre la cadena respiratoria y la síntesis de ATP mediante **UCPs** (*uncoupling proteins*). Este desacoplamiento implica una menor producción de ATP (21) y produce un cambio de la oxidación del piruvato, por la oxidación sin producción de ATP de la glutamina o los ácidos grasos, lo cual mantiene la glucólisis como la mayor fuente de energía de la célula (14).

La **desaparición del supresor tumoral p53** es patente en muchos cánceres debido a mutaciones de su gen y también puede inducir la disfunción mitocondrial. Este supresor tumoral tiene funciones conocidas como promotor de la apoptosis y reparador de daños en

el material genético y se está empezando a elucidar su papel en la regulación del metabolismo (15). El p53, además de promover el flujo glucolítico y la vía de las pentosas fosfato, es capaz de disminuir la actividad mitocondrial (17), impidiendo la inducción de la subunidad SCO2 de la citocromo c oxidasa de manera que se inhibe la actividad de la cadena respiratoria y disminuye la síntesis de ATP a nivel mitocondrial (4,6,14).

En la aparición de la disfunción mitocondrial también influyen las **especies reactivas de oxígeno (ROS)**. La producción excesiva de ROS puede tener lugar durante la hipoxia o la reoxigenación y esto puede causar daños en proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, en especial, por su proximidad, en el mtDNA (4) y en la cadena de transporte electrónico (20), lo cual produce una disminución de la síntesis de ATP en este orgánulo (14). Cerca de un 2% del oxígeno utilizado en la respiración se convierte en anión superóxido, la principal especie reactiva de oxígeno (4). Las ROS pueden tener diferentes efectos sobre la proliferación y la supervivencia de la célula. En niveles bajos, producen un beneficio al tumor activando las vías de proliferación; en niveles intermedios produce la expresión de moléculas que permitan una respuesta al estrés oxidativo, como HIF-1; y en niveles muy elevados producen daño oxidativo, que induce la senescencia celular y la apoptosis (15).

Estos factores apoyan la teoría de que la disfunción mitocondrial podría ser la causa de una disminución de la fosforilación oxidativa y de un aumento de la glucólisis como el que se produce en el cáncer para compensar el déficit de ATP, pero esta disminución debería ir acompañada de otros cambios en la célula, por lo que la hipótesis no puede explicar totalmente la aparición del efecto Warburg.

Estabilización del factor inducible por hipoxia (HIF)

La **hipoxia** es un factor de gran importancia y relevancia en la formación del cáncer. Conforme el tumor va aumentando su tamaño, el aporte sanguíneo disminuye por el engrosamiento de la capa epitelial que separa al tumor de su medio (3); situación en la que las células normales suelen morir, pero en la que las células tumorales sobreviven gracias a la estabilización del factor inducible por hipoxia (4). HIF es un factor de transcripción heterodimérico compuesto por HIF-1 α , HIF-2 α , subunidades que responden a la concentración de oxígeno, y HIF-1 β , que se expresa de forma constitutiva. La subunidad HIF-1 α actúa como factor limitante dada su corta vida y su continua degradación por el proteosoma (14). La estabilización HIF-1 en las células tumorales tiene un papel fundamental en la respuesta a la hipoxia producida durante el crecimiento del tumor y en la emergencia del fenotipo glucolítico. Su función principal es la de estimular la captación de la glucosa y la glucólisis y disminuir el metabolismo mitocondrial (17).

En presencia de oxígeno, HIF-1 se encuentra hidroxilado y es marcado por la proteína VHL (von Hippel Lindau), que codifica para una ubiquitina ligasa que lo marca para su degradación, por lo que la **pérdida de la proteína VHL** también es un factor estabilizador de HIF-1 (15). Los tumores que han perdido la proteína VHL, muestran un acoplamiento entre

HIF-1 y los niveles de oxígeno, por lo que HIF-1 no sería suficiente para explicar el efecto Warburg en las células tumorales (6). Otros factores que estabilizan HIF-1 son la **activación de oncogenes** (7), como la vía PI3K (15), la **acumulación de intermediarios del ciclo de Krebs** debido a mutaciones en los enzimas que regulan su síntesis (2,4), como la acumulación de succinato y piruvato que inhiben la HIF-1 α prolihidroxilasa de forma que se estabiliza HIF-1 α (4), o la **ausencia de ciertas proteínas** como la LKB1, que esta mutada en el cáncer, de manera que no se da la activación de la vía de las AMPK y esto da lugar a la activación de mTOR (*mammalian target of rapamycin*) y HIF-1 para aumentar la tasa glucolítica (15).

La función de HIF-1 es inducir la expresión de genes diana de supervivencia uniéndose a sus elementos de respuesta a la hipoxia (HREs) (7). Algunos de estos genes son los que codifican para transportadores de glucosa, factores angiogénicos o enzimas como la hexoquinasa II (HK II) (3,15), por lo que podemos decir que favorece la glucólisis. Son varios los mecanismos por los que HIF-1 lleva a cabo un papel promotor de la formación de tumores. A continuación se recogen algunos de los más destacados:

- **Activa la hexoquinasa II (HK II).** La HK II es la isoforma tumoral de la hexoquinasa y tiene una Km menor que su isoforma normal, la HK IV (8), por lo que su actividad está incrementada y permite la entrada de grandes cantidades de glucosa-6-fosfato a la vía de las pentosas fosfato para aumentar los niveles de NADPH (14,22). Esta mayor actividad se debe al elevado aporte de ATP recibido gracias a su unión a la membrana externa mitocondrial por la proteína VDAC (*voltage dependent anion channel*) junto con la cual también juega un papel fundamental en la inhibición de la apoptosis y, por tanto, en la supervivencia tumoral (8,14,17), ya que evita la unión de factores proapoptóticos a VDAC (14). El gen de la HK II está amplificado en las células cancerígenas que presentan el efecto Warburg (8) y cuanto mayor sea esta sobreexpresión, más agresivos y metastásicos son los cánceres (14).
- **Incrementa la actividad de la isoforma M2 de la piruvato quinasa (PKM2).** La PK es la enzima encargada de producir piruvato y ATP a partir de fosfoenolpiruvato y ADP y en el cáncer se encuentra predominantemente la isoforma M2 (14). La PKM2 tiene menor actividad que la isoforma normal M1, por lo que se dará una formación menor de piruvato (23). La ventaja que otorga la isoforma enzimática PKM2 a la célula tumoral es la capacidad de producir los metabolitos necesarios para aumentar la síntesis de macromoléculas y poder reductor (por ejemplo en la vía de las pentosas fosfato). Además, la translocación de la PKM2 al núcleo en su forma monomérica tiene acciones junto a factores de transcripción para actuar fosforilando histonas y regulando la expresión de genes de proliferación y oncogenes como la ciclina D1 y MYC (24). Estos oncogenes promueven la proliferación y la glucólisis aeróbica (24,25) e inhiben el metabolismo mitocondrial (17,25), favoreciendo así el efecto Warburg y la progresión del cáncer.
- **Activación de la piruvato deshidrogenasa quinasa (PDK-1).** La activación de la PDK inhibe el paso de piruvato hacia la mitocondria debido a que esta enzima se encarga de

la inhibición de la piruvato deshidrogenasa (PDH), disminuyendo así el ciclo de Krebs y la cadena respiratoria mitocondrial y promoviendo la síntesis de ATP mediante la glucólisis en el citoplasma (4).

- **Activa la bomba Na^+/H^+** que modula el pH intracelular y la actividad de enzimas glucolíticos, como la hexoquinasa, y transportadores de glucosa (en especial GLUT1 y GLUT3), lo cual permite una captación incrementada de glucosa (3,14).
- **Facilita la adhesión celular** a células endoteliales mediante la expresión de ligandos de selectinas y ayudando a la unión a fibronectina para favorecer la angiogénesis y la metástasis (14).
- **Promueve la apoptosis** estabilizando p53 y otras proteínas pro-apoptóticas, aunque se da un balance que todavía no está muy claro entre estos factores y proteínas anti-apoptóticas que regularán la estimulación o supresión de la muerte celular (4).
- **Estimula la angiogénesis vía VEGF** cuando la hipoxia se alarga por periodos largos, aunque la formación de nuevos vasos sanguíneos en muchas ocasiones no soluciona la hipoxia y solo permite el desarrollo de las células que tengan un metabolismo glucolítico más marcado (3,6).

La estabilización de HIF produce un gran número de cambios que favorecen la activación de la glucólisis aeróbica en el cáncer, pero también requeriría de una serie de alteraciones complementarias para que pudiera explicar la aparición del efecto Warburg en el tumor, por lo que, de nuevo, esta hipótesis podría solo explicar en parte el metabolismo característico del cáncer.

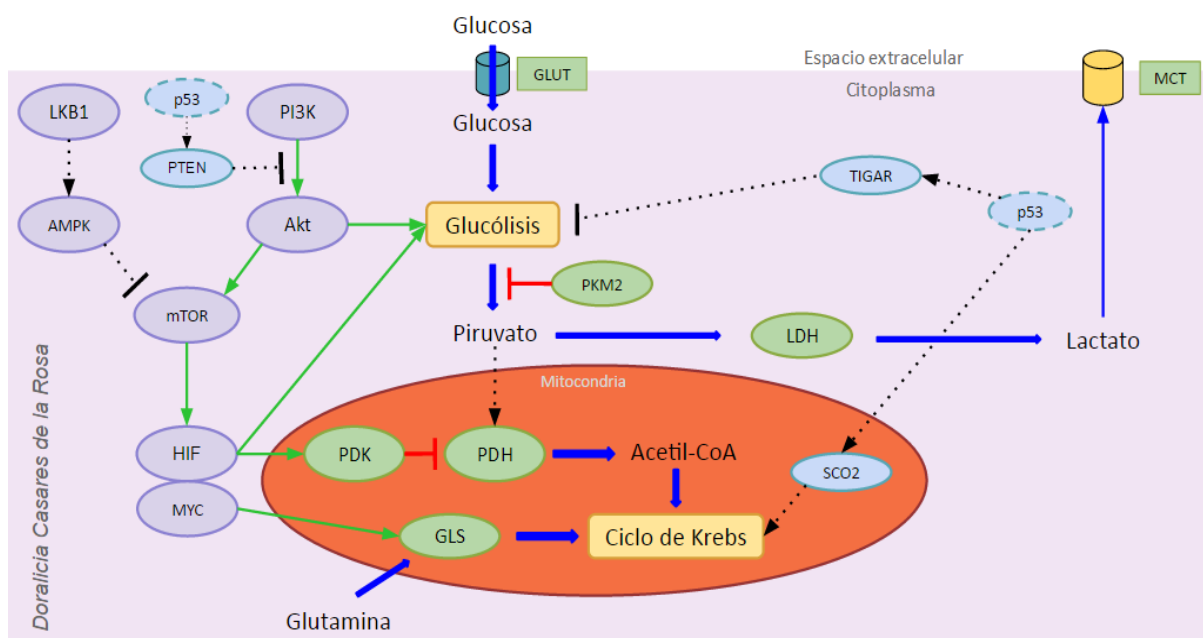


Figura 3. Mecanismos moleculares que producen la aparición del efecto Warburg. En verde se representan algunas enzimas clave del metabolismo de la célula tumoral y los transportadores de membrana. En lila se pueden ver las moléculas que participan en las vías de señalización productoras de la glucólisis aeróbica. El azul se puede ver el papel que juega la ausencia de p53, uno de los supresores tumorales más importantes, en el cáncer. Las flechas punteadas indican mecanismos de control alterados. Como se puede observar, estas vías de señalización conducen especialmente a la activación de la vía glucolítica y la inhibición de la actividad mitocondrial. La información correspondiente a cada una de las moléculas señalizadoras de esta imagen puede encontrarse en el texto.

Aumento de la biosíntesis de macromoléculas

El cambio del metabolismo del cáncer se pensó como un modo de que la célula cubriera sus requerimientos proliferativos más allá de la necesidad de ATP (22). En el cáncer, ciertas enzimas se expresan de forma especial, y esto permite una mejor redirección de los intermediarios de la glucólisis hacia la vía de las pentosas fosfato y la biosíntesis de nucleótidos y aminoácidos (2). Pero no solo es la glucosa la que tiene un papel relevante en el metabolismo del cáncer. Ciertos tumores dependen de la fosforilación oxidativa, el metabolismo de la glutamina o la síntesis *de novo* de ácidos grasos (17), por lo que se demuestra que existe un juego dentro del metabolismo para adaptarse a cada situación.

Para que la célula pueda proliferar, la glucosa no puede dedicarse únicamente a la síntesis de ATP, ya que se elevaría el ratio ATP/ADP y se detendría la vía glucolítica desembocando en una disminución de acetil-CoA y NADPH (2). La glucólisis aeróbica supone en este sentido una ventaja para el tumor, ya que no lleva a cabo una utilización total de la glucosa y sus intermediarios pueden utilizarse para la biosíntesis de macromoléculas mediante la vía de las pentosas fosfato (19). Se ha podido observar que enzimas como la **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH)** (enzima que inicia la vía de las pentosas fosfato) o la **transcetoalasa (TK)** se encuentran sobreexpresadas en el cáncer (14). Un aumento de la vía de las pentosas fosfato generará más energía a nivel del gliceraldehído-3-fosfato y permitirá producir pentosa-5-fosfato y NADPH para el crecimiento y proliferación celular y para la disminución del estrés oxidativo (26).

Por otro lado, las células tumorales pueden utilizar la **glutamina** como combustible metabólico, ya que es el aminoácido más abundante en el plasma y puede proporcionar grandes cantidades de energía y precursores biosintéticos (19). La glutamina sirve a la célula como fuente de carbono, nitrógeno o como precursora del glutatión mediante la mayor producción de NADPH, dando soporte a la proliferación celular por la mayor biosíntesis de lípidos, proteínas y nucleótidos (27). La glutamina es transformada por la **glutaminasa** en glutamato mediante desaminación y posteriormente en α -cetoglutarato (27). La actividad de la glutaminasa está regulada en función del ciclo celular y es mayor de lo normal en células cancerígenas (17). La relevancia del glutamato producido reside en los tres caminos que puede seguir una vez sintetizado: formación de glutatión reducido, entrada al ciclo de Krebs para dar lugar a α -cetoglutarato (como vía anaplerótica) o producción de NADPH (15).

La **glutaminolisis** está aumentada en la célula tumoral y produce un aumento de la energía disponible y de los intermediarios del ciclo de Krebs, como vía anaplerótica (27), además de inducir la autofagia mediante el amoníaco producido durante su degradación para generar energía (10). En la activación de la glutaminolisis tiene gran importancia la GTPasa Rho (que activa la glutaminasa, enzima que lleva a cabo la transformación de la glutamina en glutamato (28)) y la actividad incrementada del oncogén MYC, que además de la glutaminolisis también aumenta la actividad de la vía glucolítica y da lugar a una mayor proliferación (17), lo que le confiere malignidad al tumor (10). En colaboración con HIF-1,

MYC activa los transportadores de glucosa, enzimas glucolíticas como la PKM2, la biogénesis y función mitocondrial y, en especial, el metabolismo de la glutamina (15). En células que poseen activado el oncogen MYC se ha visto que la retirada de glutamina produce una pérdida de los intermediarios del ciclo de Krebs que produce la muerte celular, ya que no se puede generar ATP (2).

Existen otras vías anapleróticas que se encuentran activas en el cáncer. La carboxilación del piruvato mediante la **piruvato carboxilasa (PC)** es la principal vía anaplerótica de la célula y cataliza la conversión de piruvato a oxalacetato con gasto de ATP. Existe una correlación de la PC con la vía de señalización Wnt del desarrollo embrionario, expresada en muchos cánceres, ya que esta vía inhibe la citocromo oxidasa (COX) y activa la producción de lactato a la vez que la piruvato carboxilasa. El oxalacetato producido tiene como función principal la reposición de intermediarios del ciclo de Krebs, pero se plantean otros posibles papeles para esta enzima en la revisión de Ochoa-Ruiz *et al.* (17).

Así, queda claro que la glucosa y la glutamina proporcionan mayor cantidad de carbono, nitrógeno, energía libre y equivalentes de reducción para el crecimiento y la división celular (2). La mayor parte de estos combustibles se transforman en lactato y alanina que suelen excretarse como productos de desecho y permiten la formación de NADPH durante su producción (2,6). La excreción de lactato permitiría a la célula incorporar con mayor velocidad carbono a la biomasa a pesar de que su salida de la célula implica la pérdida de tres átomos de carbono que podrían usarse para la síntesis de ATP o de macromoléculas (2), mientras que la producción de equivalentes de reducción permite la síntesis de grandes cantidades de ácidos grasos, sobre todo en ciertos tumores en los que la enzima encargada de este paso, la **ácido graso sintasa (FASN)**, se encuentra sobreexpresada. La FASN cataliza la síntesis de las cadenas precursoras de ácidos grasos a partir del acetil-CoA y malonil-CoA y normalmente se encuentra expresada en niveles bajos en la mayoría de tejidos (29). Su mayor expresión está relacionada con cánceres con peor pronóstico ya que también produce resistencia a una serie de agentes quimioterapéuticos y su expresión tiene gran peso para la supervivencia celular (30).

En conclusión, las células en proliferación requieren grandes cantidades de macromoléculas (nucleótidos, ácidos grasos, lípidos de membrana y proteínas) para continuar con su reproducción pero un incremento de la biosíntesis tampoco explicaría por sí solo la aparición del cáncer, ya que no da una explicación a la elevada producción de lactato que llevan a cabo las células tumorales (6).

Formación de un microambiente favorable para el desarrollo del tumor

Como ya se ha comentado con anterioridad, conforme la masa tumoral va creciendo, el oxígeno que llega a las células se va reduciendo porque el aporte sanguíneo es menor debido al engrosamiento de la capa epitelial que separa al tumor de su medio (3). En esta

situación, las células cancerígenas tienen la capacidad de metabolizar la glucosa a lactato mediante la glucólisis y este lactato confiere unas ventajas al tumor ya que acidifica el medio para favorecer su proliferación (1,14). Para llevar a cabo el control del flujo entre la glucólisis y la fosforilación oxidativa, tienen gran relevancia dos enzimas: el complejo enzimático de la piruvato deshidrogenasa (PDH) y la lactato deshidrogenasa (LDH) (4). Cuando el oxígeno es escaso, se activa el HIF y este factor induce la expresión de la PDK (piruvato deshidrogenasa quinasa) y LDH. Así, se inhibe la PDH, impidiendo el paso de piruvato a la mitocondria (lo cual inhibe la respiración celular) y se redirige este sustrato hacia la síntesis de lactato por la LDH (7).

El aumento de la tasa glucolítica implica adaptaciones celulares que eviten la muerte por apoptosis debido a la acidificación del citoplasma, como la presencia de transportadores para mantener el pH intracelular (3). El lactato se transporta al exterior celular mediante transportadores de la familia de los transportadores de monocarboxilato (MCT), ligados al transporte de protones (22). La acidificación extracelular es tóxica para las células vecinas y selecciona los fenotipos resistentes a la acidez (19). Además, protege al tumor del sistema inmune y tiene un papel paracrino activando enzimas glucolíticos (14) y promoviendo la migración y la angiogénesis vía factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (22). El pH del exterior de la célula puede llegar a valores de 6-6.5, respecto al pH normal que sería de 7.5, lo cual evita que las células T lleven a cabo su función (19). Para la activación de la angiogénesis promovida por el lactato, se cree que sería necesaria la cooperación de distintas células con el fin de crear ese microambiente que rodeara al tumor (6). No obstante, algunos de los productos generados por la célula también pueden ser tóxicos para ella misma, aunque existen enzimas que prevendrían los efectos nocivos de estas sustancias, como las hidrolasas NUDIX, que eliminan nucleótidos trifosfato no canónicos que podrían unirse al DNA y causar mutaciones que condujeran al mal funcionamiento celular o a su muerte (6). Por último, los niveles de lactato pueden servir como indicadores de la agresividad de un cáncer y para el pronóstico de la supervivencia (22). Una tasa glucolítica elevada (gran producción de lactato) es indicadora de un tumor más invasivo (3).

Con todos estos datos, podemos ver la gran importancia que tendría el ambiente que rodea al tumor para el desarrollo de la patología, aunque por otro lado, la mejora de las condiciones ambientales del tumor tampoco podría ser la única causa que explicara la aparición del metabolismo glucolítico.

Efecto Warburg reverso

Una de las teorías más recientes para dar una explicación al interesante fenómeno que es el efecto Warburg es la del “efecto Warburg reverso”, descrita por Pavlides *et al.* en el 2009 (31). Esta teoría daría un giro a las explicaciones que hasta ahora se han venido dando para la aparición del fenómeno, ya que no sería la célula tumoral, sino los fibroblastos asociados a ella, los que llevarían a cabo la glucólisis aeróbica (Figura 4). Las células epiteliales tumorales

inducirían el efecto Warburg a los fibroblastos del estroma produciéndoles estrés oxidativo y estos secretarían lactato y piruvato que servirían a la célula tumoral llevar a cabo la respiración mitocondrial y la fosforilación oxidativa y que incluso favorecerían la angiogénesis (31). Para responder a su demanda metabólica, la célula tumoral aumentaría la cantidad de mitocondrias y de moléculas antioxidantes disponibles (32).

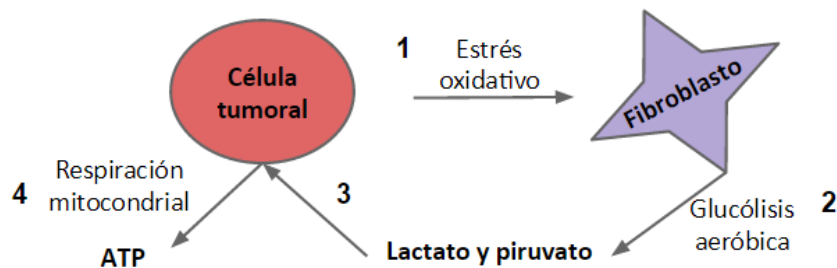


Figura 4. Acontecimientos que explican el efecto Warburg reverso. Las células tumorales producen estrés oxidativo (1) que induce en los fibroblastos la glucólisis aeróbica que da lugar a lactato y piruvato (2). Estos metabolitos se introducen en la célula tumoral (3) en la cual son utilizados para la síntesis de ATP mediante la respiración mitocondrial y la fosforilación oxidativa (4).

Aunque no queda totalmente claro el modo en el que las células tumorales inducen el estrés oxidativo a los fibroblastos, algunos estudios ya han podido demostrar que la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por parte del tumor juega un papel importante en este punto, haciendo que los fibroblastos presenten menor actividad mitocondrial, mayor captación de glucosa, mayor producción de ROS (que induzcan más daños en el DNA) (33) y que se dé una activación de la autofagia, la cual proveería de mayor cantidad de nutrientes a las células tumorales a las que están asociados (31,33). De esta manera, el efecto Warburg reverso sería un fenómeno que tendría lugar en el estroma y que produciría un acoplamiento entre los fibroblastos y las células tumorales, que vivirían como “parásitos” (33), pero que seguiría estando de acuerdo con la hipótesis de Warburg de que los tumores presentan un metabolismo glucolítico (31).

Existen datos también que indican que el PET sería una técnica muy útil para la visualización del efecto Warburg reverso, ya que son los fibroblastos asociados al tumor los que presentan una mayor captación de glucosa tras la disfunción mitocondrial, que puede ser causada por la pérdida de la caveolina (Cav-1) en los fibroblastos; hecho probado, en este caso concreto, en un co-cultivo con células de cáncer de mama de la línea MCF7 (33). La pérdida de esta proteína puede darse por degradación lisosomal en respuesta al estrés oxidativo y dar lugar al aumento de la autofagia en los fibroblastos. Así, la positividad de la prueba PET sería un indicador de la pérdida de esta proteína y, por tanto, de la presencia de un ambiente tumoral nocivo (33).

Esta teoría, a pesar de dar un giro a las explicaciones que hasta ahora se daban al fenómeno, daría una explicación de la importancia del ambiente que rodea al tumor para el desarrollo del mismo, ya que sería éste el que promovería la proliferación celular.

Análisis del desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en el metabolismo del cáncer como diana de acción

Debido a la existencia de un amplio número de puntos modificables para atacar el metabolismo del cáncer, el último objetivo de este trabajo fue estudiar las posibilidades existentes para llevar a cabo estas modificaciones en vistas a la destrucción de la enfermedad. Para ello, primero se realizó un estudio del número de publicaciones que pueden consultarse en la base de datos PubMed y se elaboró la **Figura 5** en la que se puede observar el número de publicaciones anual que aparecen al realizar la búsqueda con las palabras clave ("Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR ("aerobic glycolysis" AND "cancer")) AND ("therapy" OR "treatment") NOT ("review" [Publication type]). Se obtuvo un resultado de 447 artículos hasta el final del 2014 de los cuales 411 han sido publicados en la última década, lo cual remarca el creciente interés por el tema que ya se podía ver en las búsquedas realizadas previamente. Con anterioridad a esta última década hay un número reducido de publicaciones científicas que centraran sus esfuerzos en encontrar una cura para el cáncer atacando el metabolismo glucolítico de la célula cancerígena, aunque los primeros artículos datan de la década de los 40. Se puede observar que, paralelamente al incremento en el número de publicaciones sobre el efecto Warburg en la última década que se observaba en la **Figura 1**, existe un incremento de publicaciones respecto a la terapia del cáncer enfocada hacia dianas del metabolismo tumoral en la **Figura 5**.

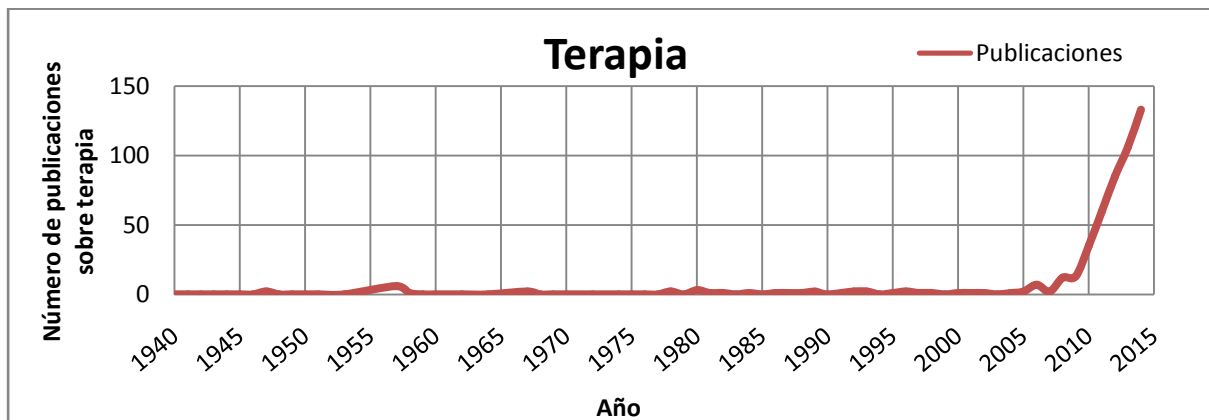


Figura 5. Estudios sobre terapia relacionada con el metabolismo del cáncer. Con la representación de la búsqueda ("Warburg effect" OR "cancer metabolism" OR ("aerobic glycolysis" AND "cancer")) AND ("therapy" OR "treatment") NOT ("review" [Publication type]) se puede observar una tendencia al crecimiento exponencial del número de publicaciones que estudian posibles dianas terapéuticas en el metabolismo del cáncer en los últimos diez años, paralela al interés en crecimiento observado anteriormente por el efecto Warburg.

En segundo lugar, sabiendo que la investigación en vistas a desarrollar un tratamiento para esta enfermedad está centrándose en los últimos años en atacar estos rasgos diferenciales que comparten muchas células tumorales, el siguiente paso era recopilar cuáles eran las posibilidades existentes hasta el momento para atacarlos. Ya existen un amplio número de estudios que intentan encontrar una molécula que frene la aparición del cáncer yendo contra algunos de estos elementos clave que hemos ido viendo, y muchos de ellos

pretenden encontrar un modo de inhibir la glucólisis aeróbica como posible estrategia terapéutica. Una buena revisión sobre diferentes moléculas y dianas terapéuticas estudiadas es la de Kroemer y Pouyssegur, del año 2008 (34), pero debido al elevado número de ellas, en este trabajo se han reducido a unas pocas que parece que tienen mayor interés por parte de los científicos, ya que son las que se nombran en más ocasiones en la bibliografía manejada. Estas estrategias terapéuticas se han agrupado en las diferentes vías metabólicas o de señalización que pueden ser abordadas y se han reunido en la [Figura 6](#).

Vía glucolítica

El primer punto regulable en la vía glucolítica es la **entrada de la glucosa a la célula**. Como se ha comentado con anterioridad, algunos transportadores de glucosa están expresados en mayor número en el cáncer y no es de extrañar que esto suponga un tentador punto de control para modificar la disponibilidad de glucosa en la célula tumoral. Para ello, hay diversos estudios que intentan encontrar la mejor molécula con este fin, y una de las más estudiadas es la **2-desoxiglucosa** (2-DG), un análogo de la glucosa que compite con ésta para entrar en la célula y que una vez dentro se fosforila al igual que la glucosa inhibiendo la glucólisis, ya que no puede ser metabolizado reduciendo la proliferación celular, e incrementando la apoptosis (14). Por su elevada entrada a las células tumorales, su forma marcada con radioactividad 18-F-desoxiglucosa (18-FDG) es usada para la técnica PET (35).

Después de la entrada de la glucosa a la célula, la **inhibición de la glucólisis** sería el siguiente paso lógico a estudiar, y con este fin también se han llevado a cabo multitud de ensayos. Ya se ha visto que la 2-DG puede inhibir la glucólisis una vez dentro de la célula, pero existen otras moléculas en estudio que también tienen esta función cuando se administran sobre células tumorales. La administración de **3-bromopiruvato** (3BrPA), un análogo del ácido pirúvico, dio lugar a la inhibición de la glucólisis en tumores hepáticos de conejo, aunque también inhibía la síntesis de ATP, a la vez que tenía capacidad de inducir la muerte celular (36). Su aplicación *in vivo* inyectando la sustancia a animales a los que se les había implantado un tumor, resultó en la muerte de un 70% de las células sin causar efectos secundarios (37), demostrando la capacidad de esta sustancia para eliminar las células tumorales. Su acción tiene lugar inhibiendo la actividad de la **hexoquinasa II**, lo cual lleva a una inhibición de la glucólisis y un aumento de la muerte celular debido a la reducción de la concentración de ATP, suprimiendo también la problemática de la resistencia a la quimioterapia (20). Los efectos citotóxicos de esta molécula fueron más potentes en células en hipoxia (en las que se producía la disminución de la producción de lactato) o con daño mitocondrial (20). Aunque es posible usar tanto la 2-DG como el 3-BrPA para la inhibición de la glucólisis, ha quedado demostrado que, a igual dosis, la 2-DG causa una disminución mayor del consumo de glucosa que el 3-BrPA (35).

Las fosfofructoquinasas (PFK) serían otra diana para la inhibición de la glucólisis en la célula tumoral, ya que se encuentran sobreexpresadas y poseen una regulación diferente en el

cáncer (14). En especial, existe la posibilidad de inhibir la PFK-1, que cataliza la transformación de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bifosfato con gasto de ATP (18), y esto promueve el flujo glucolítico, favoreciendo el efecto Warburg (17). El modo de inhibir esta enzima promotora de la glucólisis estaría relacionado con la enzima que lleva a cabo su activación: la **6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa** (PFKFB), productora de la fructosa-2,6-bifosfato. En el cáncer, la isoforma que se expresa de esta enzima es la PFKFB3 (28), cuya función es la de activar a la PFK-1, que promovería la glucólisis (17). La molécula ensayada como posible tratamiento es la 3-(3-piridinil)-1-(4-piridinil)-2-propen-1-ona (3-PO), que suprime el flujo glucolítico y actúa como agente citostático. En presencia de 3-PO, se inhibe la PFKFB3, disminuye la captación de glucosa y disminuye la concentración de fructosa-2,6-bifosfato, lactato, ATP, NAD⁺ y NADH, lo cual también produce una disminución de la proliferación tumoral (38).

Debido a la prevalencia de la isoforma M2 de la piruvato quinasa en el cáncer, la **PKM2**, ésta también se ha convertido en un posible blanco para la inhibición de la glucólisis aeróbica. No obstante, dado que su activación ralentiza la glucólisis, las investigaciones siguen en marcha sin un resultado claro. Uno de los posibles inhibidores de la PKM2 sería un análogo de la somatostatina, TT-232. Esta molécula interacciona con receptores de la membrana celular y es internalizada y acumulada en el citosol donde interacciona con la enzima PKM2 para translocarla al núcleo para inducir la muerte celular independiente de caspasas por la formación de un complejo de muerte (23).

Por último, para detener la glucólisis aeróbica, la **inhibición de HIF** vía la proteína VHL sería otro camino que deberíamos tener en consideración debido a la multitud de acciones que presenta el HIF en la célula tumoral. VHL es la proteína que suele degradar HIF en condiciones de normoxia y no se encuentra expresada en muchos cánceres debido a la hipermetilación del promotor de su gen (14). Por este motivo, la inhibición de factores que metilen este promotor, podrían activar la transcripción de VHL y, por tanto, producir la inhibición de HIF-1 en el cáncer. En este sentido, hay estudios que han dado ya con moléculas que podrían llevar a cabo esta función, como es el caso de la 5-aza-2-deoxycytidine (5-aza-dCyd), ensayada en células de cáncer renal *in vitro* y en modelos animales, que ha permitido inhibir la hipermetilación en ambos casos, aunque en los modelos animales en una menor proporción (39). Se observó que, al volver a expresarse VHL, se modulaba la expresión de HIF y los genes regulados por éste, como los transportadores de glucosa, aunque no se pudo atribuir este hecho únicamente a la utilización de la molécula en cuestión debido a que la disminución de los transportadores de glucosa después del tratamiento también se daba en las células tumorales en las que el promotor de VHL no se encontraba metilado (39). Por otro lado, la **inhibición de la vía de señalización PI3K**, que también es activadora de glucólisis, sería otro punto a tener en cuenta como posible diana terapéutica. En muchos casos, lo que se está probando son pequeñas moléculas que puedan inhibir el centro activo de PI3K para impedir la activación

de las siguientes moléculas de la vía de señalización y la consiguiente activación de la glucólisis impulsada por ésta (40).

En general, la inhibición de la glucólisis ha obtenido buenos resultados sobre todo en aquellos tumores cuyas células tienen defectos mitocondriales y se encuentran en situación de hipoxia (18), y aunque queda mucho por perfeccionar, los resultados hasta el momento parecen prometedores. Varias de estas moléculas ya han obtenido éxitos por sí solas o en combinación con otras terapias tanto *in vitro* como *in vivo*, sin embargo, la inhibición de la glucólisis no podría ser un método por sí solo para la desaparición del cáncer, y se han probado combinaciones con otras terapias como revisan Pelicano *et al.* (18).

Vía de las pentosas fosfato

La inhibición de la vía de las pentosas fosfato es a día de hoy otro objetivo de estudio dado que es una vía que no está sobreexpresada en las células normales pero sí en las tumorales (17). Ya que la función de la vía de las pentosas fosfato es la formación de NADPH, la inhibición de determinadas enzimas causa citotoxicidad, estrés oxidativo y sensibilidad a las radiaciones y la quimioterapia (18). Se han propuesto enzimas como la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) o la transcetolasa (TK) como posibles dianas para la terapia.

Por un lado, la inhibición de la **G6PDH** ha tenido resultado con la molécula 6-aminocotinamida (6-AN), análogo de NADP, y se ha demostrado que ayuda a la sensibilización de las células a ciertos agentes usados en la quimioterapia (41). Por otro lado, la inhibición de la **TK** también se ha podido probar mediante análogos de la tiamina (vitamina B1), que es cofactor de esta enzima (18). Un análogo de la tiamina es la oxitiamina (OT) cuya aplicación dio lugar a una reducción de la proliferación celular induciendo una retención de las células en la fase G1 del ciclo celular debido a una reducción de la síntesis de nucleótidos (42). Los análogos de la tiamina también tuvieron efecto sobre otras enzimas como G6PDH o la α -cetoglutarato deshidrogenasa, aunque en una medida mucho menor a la obtenida para la TK (43).

Actividad mitocondrial

Incrementar la actividad mitocondrial para aumentar la fosforilación oxidativa sería otro objetivo posible para la terapia del cáncer. La inhibición de la **lactato deshidrogenasa A** (LDH-A) sería un modo de llevar a cabo este propósito según proponen Fantin *et al.* (44). Esta inhibición provoca un aumento de la muerte celular por un aumento de NADH y especies reactivas de oxígeno. El NADH disminuye el flujo glucolítico y activa el complejo I de la cadena respiratoria, por lo que se produce una menor cantidad de lactato (28). El oxamato, un análogo del piruvato, disminuye la actividad de la LDH inhibiendo la transformación del piruvato a lactato, por lo que podría ser un útil agente terapéutico. Esta sustancia proporciona una mayor sensibilidad a terapias como el taxol, agente usado en la

terapia del cáncer de mama promoviendo la muerte celular por apoptosis (45). La presencia del lactato, sobre todo en el espacio extracelular es muy beneficiosa para el tumor, por lo que los **transportadores de lactato** al exterior de la célula (MCT) también podrían ser una diana para posibles terapias (22). Un conocido inhibidor de los MCT, en especial de MCT1 es el α -ciano-4-OH-cinamato, como se indica en la revisión de Kroemer *et al.* (34).

Además, existe una molécula de la que se ha discutido durante largo tiempo y que podría suponer una solución para esta enfermedad dados sus buenos resultados. Esta molécula es el dicloroacetato (DCA), que, con su pequeño tamaño actúa como modulador metabólico y que ya es usada en el tratamiento oral de algunas enfermedades mitocondriales para la disminución de la acidosis láctica (46). Bonnet *et al.* propusieron en 2007 que esta molécula podría revertir el metabolismo de la célula tumoral desde la glucólisis hacia la oxidación de la glucosa en la cadena respiratoria mitocondrial (46). El DCA tiene la capacidad de inducir la apoptosis y disminuir el crecimiento celular inhibiendo la **piruvato deshidrogenasa quinasa** (PDK), lo cual hace que se recupere la actividad de la cadena respiratoria por el incremento en la producción de NADH y que aumente la tasa de fosforilación oxidativa, y disminuye la cantidad de piruvato desviado hacia la síntesis de lactato por la glucólisis aeróbica (46). El aumento del flujo de electrones en la cadena respiratoria causa la liberación del citocromo c, por lo que aumenta la apoptosis, y también incrementa la cantidad de ROS. Estos acontecimientos causan la activación de las caspasas mediante la elevación de la concentración de K⁺ en el citoplasma (46). Así, la utilización del DCA, además de cambiar el metabolismo de la célula tumoral actuaría también a favor de destruir el tumor.

Metabolismo de aminoácidos

Además de la glucólisis y la vía de las pentosas fosfato, también se ha resaltado el papel fundamental de la glutaminólisis en la progresión del cáncer, por lo que la disminución de la actividad de la **glutaminasa** también sería de interés para la terapia del cáncer. La inhibición de la **GTPasa Rho**, que activa normalmente a la glutaminasa, sería una posibilidad, y ya existe una molécula, la 968, que se ha demostrado que puede inhibir esta GTPasa (47).

Metabolismo de lípidos

La importancia de la ácido graso sintasa (FASN) en el metabolismo de la célula tumoral reside en su potenciación del crecimiento y supervivencia. Por ello, la **inhibición de FASN** ya ha demostrado tener poder anticancerígeno mediante la utilización de diversos inhibidores, como la cerulenina, compuesto aislado de *Cephalosporium caerulen* (30), aunque su limitación viene determinada por los efectos secundarios que produce, como grandes pérdidas de peso, por lo que su utilización todavía no ha podido ampliarse más (29).

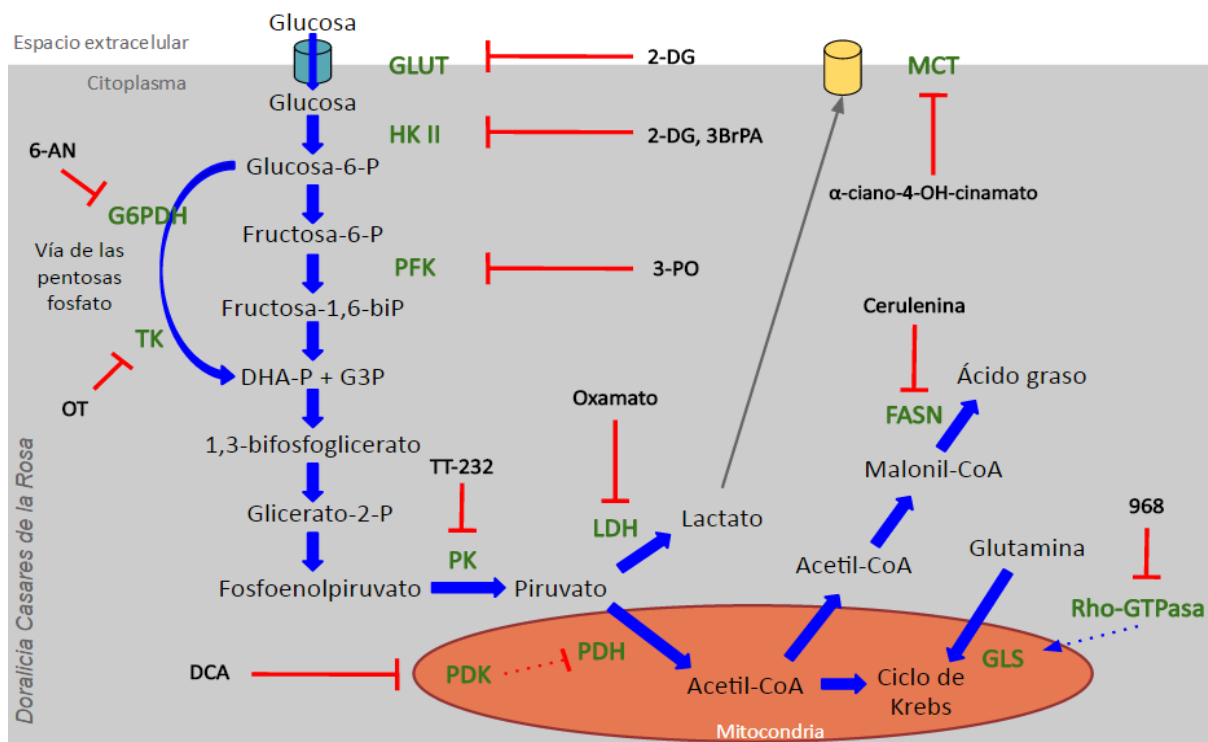


Figura 6. Conjunto de algunas posibles dianas terapéuticas en la célula tumoral y las moléculas que actuarían sobre ellas. Existen multitud de dianas posibles en estudio para el tratamiento del cáncer. En el diagrama se muestran las más investigadas o más prometedoras. Para mayor información sobre el mecanismo de actuación de estas moléculas y las consecuencias que se derivan de su aplicación, consultar el texto.

Efecto Warburg reverso

Por último, dado que la teoría del efecto Warburg reverso es la más recientemente propuesta para explicar la glucólisis aeróbica en el cáncer, las terapias basadas en su inhibición son de las que menos resultados existen, pero no por ello son menos interesantes. Si aceptáramos como válida la teoría del efecto Warburg reverso podrían utilizarse inhibidores del transporte de lactato como agentes terapéuticos en el cáncer. Estos inhibidores, cuya función sería desacoplar la producción de lactato por los fibroblastos de la consumición de éste por la célula tumoral, llevarían a cabo dos funciones a la vez: harían morir a los fibroblastos por una acidosis intracelular y a las células epiteliales tumorales por inanición (31). Adicionalmente, hay investigaciones que afirman que la inhibición de la glucólisis aeróbica con los inhibidores convencionales bloquea los efectos beneficiosos para el cáncer que produce el déficit de caveolina en los fibroblastos del estroma que llevan a cabo el efecto Warburg (48). Sin embargo, los conocimientos sobre este fenómeno son todavía escasos y no existen muchas investigaciones al respecto.

Aunque todas estas moléculas que se han comentado son potencialmente beneficiosas para la destrucción del tumor, todavía no pueden ser usadas con seguridad para el tratamiento de pacientes. Lo que se persigue con la creación de moléculas capaces de modificar el perfil metabólico que presentan las células tumorales es poder realizar un tratamiento que sea efectivo en la eliminación del tumor pero que no cause daños a las células sanas del

organismo y para ello ha sido esencial el conocimiento del cáncer que se ha ido obteniendo en los últimos años sobre los mecanismos moleculares que dan lugar a la enfermedad y los genes y vías responsables de su aparición. Todavía queda mucho por investigar en el amplio campo del cáncer, pero los descubrimientos hechos hasta ahora son muy prometedores en vistas al futuro.

Conclusión

Como se ha visto en este trabajo, el metabolismo de las células tumorales posee una serie de características que le dan a la célula una capacidad de supervivencia y de proliferación mayor, aprovechando los nutrientes de todo el organismo para su propio beneficio.

Otto Warburg fue uno de los primeros en descubrir esos cambios en el metabolismo del cáncer en los años 20. Observó que la célula tumoral llevaba a cabo la glucólisis aeróbica (o efecto Warburg) a pesar de encontrarse en condiciones de normoxia y achacó esta diferencia metabólica de las células tumorales a un fallo en la mitocondria. Como vimos en la [Figura 1](#), el estudio de la glucólisis aeróbica ha sido ignorado durante muchos años, dando lugar a un número mínimo de publicaciones, sobre todo tras el desarrollo de las técnicas de biología molecular en los años 70, que han dado lugar a un crecimiento muy acusado del estudio del cáncer desde este campo.

Sin embargo, hace poco más de una década, el estudio del metabolismo del cáncer ha resurgido y ha alcanzado un número considerablemente elevado de publicaciones que intentan explicar la causa del efecto Warburg. Esta gran cantidad de estudios ha proporcionado un enorme conocimiento sobre las bases moleculares del metabolismo que han dado lugar a la propuesta de diferentes hipótesis que podrían explicar por qué la célula realiza la glucólisis cuando tiene oxígeno disponible si esta vía es menos eficiente energéticamente. Entre estas teorías, en el trabajo se han destacado cinco: que la célula tenga una disfunción mitocondrial, que se dé la estabilización del factor inducible por hipoxia, que se deriven los carbonos no utilizados en la formación de ATP para la síntesis de macromoléculas para el crecimiento, que se forme un microambiente que favorezca la supervivencia y la proliferación tumoral y, por último, la más reciente, que no sean las células tumorales, sino sus fibroblastos asociados los que realicen la glucólisis aeróbica para alimentar al tumor con los metabolitos obtenidos. No se ha podido establecer cuál de estas hipótesis es más correcta, no obstante, se ha podido ver una diferencia en la cantidad de estudios que se realizan sobre cada una de ellas, como queda reflejado en la [Figura 2](#).

Una vez conocidas todas estas diferencias metabólicas, lo lógico es pensar en encontrar un modo de eliminar el tumor atacando estas nuevas dianas y está claro que el crecimiento de investigaciones sobre la terapia del cáncer atacando su metabolismo ha crecido mucho

(Figura 5) y de forma paralela a la investigación en general del metabolismo del cáncer (Figura 1). Así, se han establecido diferentes moléculas (Figura 6) que son capaces de cambiar la actividad de enzimas o vías de señalización alteradas en el cáncer y que ya han dado resultados esperanzadores en base a los estudios *in vitro* como *in vivo* en modelos animales. Por ello, es importante apuntar a que en un futuro posiblemente se realizarán ensayos clínicos con humanos con fármacos de este tipo.

Todavía queda mucho estudio en este campo, pero los avances obtenidos recientemente empiezan a dilucidar qué mecanismos dan lugar al desarrollo del tumor y que estrategias podríamos utilizar para destruirlo a nivel de su metabolismo.

Bibliografía

1. Ngo DC, Ververis K, Tortorella SM, Karagiannis TC. Introduction to the molecular basis of cancer metabolism and the Warburg effect. *Mol Biol Rep*. 2015 Feb 12;
2. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*. 2009 May 22;324(5930):1029–33.
3. Gatenby R a, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer*. 2004 Nov;4(11):891–9.
4. Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? *Trends Cell Biol*. 2008 Apr;18(4):165–73.
5. Warburg O. On the Origin of Cancer Cells. *Science* (80-). 1956;123(3191):309–14.
6. Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell*. 2008 Sep 5;134(5):703–7.
7. Shaw RJ. Glucose metabolism and cancer. *Curr Opin Cell Biol*. 2006 Dec;18(6):598–608.
8. Pedersen PL. Warburg, me and Hexokinase 2: Multiple discoveries of key molecular events underlying one of cancers' most common phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., elevated glycolysis in the presence of oxygen. *J Bioenerg Biomembr*. 2007 Jun;39(3):211–22.
9. Warburg O. The metabolism of carcinoma cells [Internet]. *Biochem Z*. 1924 [cited 2015 Apr 28]. p. 148–63. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/jcanres/9/1/148.full.pdf>
10. Ferreira LMR. Cancer metabolism: the Warburg effect today. *Exp Mol Pathol*. Elsevier Inc.; 2010 Dec;89(3):372–80.
11. Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body. *J Gen Physiol*. 1927 Mar 7;8(6):519–30.

12. Koppenol WH, Bounds PL, Dang C V. Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism. *Nat Rev Cancer*. Nature Publishing Group; 2011 May;11(5):325–37.
13. Pokorný J, Foletti A, Kobilková J, Jandová A, Vrba J, Nedbalová M, et al. Biophysical insights into cancer transformation and treatment. *ScientificWorldJournal*. 2013 Jan;2013:195028.
14. Upadhyay M, Samal J, Kandpal M, Singh OV, Vivekanandan P. The Warburg effect: Insights from the past decade. *Pharmacol Ther*. Elsevier Inc.; 2013 Mar;137(3):318–30.
15. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer*. 2011 Feb;11(2):85–95.
16. Gallamini A, Zwarthoed C, Borra A. Positron Emission Tomography (PET) in Oncology. *Cancers (Basel)*. 2014 Jan;6(4):1821–89.
17. Ochoa-Ruiz E. Anaplerosis in cancer: Another step beyond the warburg effect. *Am J Mol Biol*. Scientific Research Publishing; 2012 Oct 31;02(04):291–303.
18. Pelicano H, Martin DS, Xu R-H, Huang P. Glycolysis inhibition for anticancer treatment. *Oncogene*. 2006 Aug 7;25(34):4633–46.
19. Choi SYC, Collins CC, Gout PW, Wang Y. Cancer-generated lactic acid: a regulatory, immunosuppressive metabolite? *J Pathol*. 2013 Aug;230(4):350–5.
20. Xu R-H, Pelicano H, Zhou Y, Carew JS, Feng L, Bhalla KN, et al. Inhibition of glycolysis in cancer cells: a novel strategy to overcome drug resistance associated with mitochondrial respiratory defect and hypoxia. *Cancer Res*. 2005 Jan 15;65(2):613–21.
21. Fosslie E. Cancer morphogenesis: role of mitochondrial failure. *Ann Clin Lab Sci*. 2008 Jan;38(4):307–29.
22. Luc R, Tortorella SM, Ververis K, Karagiannis TC. Lactate as an insidious metabolite due to the Warburg effect. *Mol Biol Rep*. 2015 Feb 11;
23. Steták A, Veress R, Ovádi J, Csermely P, Kéri G, Ullrich A. Nuclear translocation of the tumor marker pyruvate kinase M2 induces programmed cell death. *Cancer Res*. 2007 Feb 15;67(4):1602–8.
24. Yang W, Lu Z. Nuclear PKM2 regulates the Warburg effect. *Cell Cycle*. 2013 Oct 1;12(19):3154–8.
25. Sakamaki T, Casimiro MC, Ju X, Quong AA, Katiyar S, Liu M, et al. Cyclin D1 determines mitochondrial function in vivo. *Mol Cell Biol*. 2006 Jul;26(14):5449–69.
26. Chen Z, Lu W, Garcia-Prieto C, Huang P. The Warburg effect and its cancer therapeutic implications. *J Bioenerg Biomembr*. 2007 Jun;39(3):267–74.
27. Kim MH, Kim H. Oncogenes and tumor suppressors regulate glutamine metabolism in cancer cells. *J cancer Prev*. 2013 Sep;18(3):221–6.

28. Dang C V, Hamaker M, Sun P, Le A, Gao P. Therapeutic targeting of cancer cell metabolism. *J Mol Med (Berl)*. 2011 Mar;89(3):205–12.
29. Flavin R, Peluso S, Nguyen PL, Loda M. Fatty acid synthase as a potential therapeutic target in cancer. *Future Oncol*. 2010 Apr;6(4):551–62.
30. Zhao Y, Butler EB, Tan M. Targeting cellular metabolism to improve cancer therapeutics. *Cell Death Dis*. 2013 Jan;4:e532.
31. Pavlides S, Whitaker-Menezes D, Castello-Cros R, Flomenberg N, Witkiewicz AK, Frank PG, et al. The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle*. 2009 Dec;8(23):3984–4001.
32. Gonzalez CD, Alvarez S, Ropolo A, Rosenzvit C, Bagnes MFG, Vaccaro MI. Autophagy, Warburg, and Warburg reverse effects in human cancer. *Biomed Res Int*. 2014 Jan;2014:926729.
33. Martinez-Outschoorn UE, Lin Z, Trimmer C, Flomenberg N, Wang C, Pavlides S, et al. Cancer cells metabolically “fertilize” the tumor microenvironment with hydrogen peroxide, driving the Warburg effect: implications for PET imaging of human tumors. *Cell Cycle*. 2011 Aug 1;10(15):2504–20.
34. Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer’s Achilles’ heel. *Cancer Cell*. 2008 Jun;13(6):472–82.
35. Ihlund LS, Hernlund E, Khan O, Shoshan MC. 3-Bromopyruvate as inhibitor of tumour cell energy metabolism and chemopotentiator of platinum drugs. *Mol Oncol*. 2008 Jun;2(1):94–101.
36. Ko YH, Pedersen PL, Geschwind JF. Glucose catabolism in the rabbit VX2 tumor model for liver cancer: characterization and targeting hexokinase. *Cancer Lett*. 2001 Nov 8;173(1):83–91.
37. Geschwind J-FH, Ko YH, Torbenson MS, Magee C, Pedersen PL. Novel therapy for liver cancer: direct intraarterial injection of a potent inhibitor of ATP production. *Cancer Res*. 2002 Jul 15;62(14):3909–13.
38. Clem B, Telang S, Clem A, Yalcin A, Meier J, Simmons A, et al. Small-molecule inhibition of 6-phosphofructo-2-kinase activity suppresses glycolytic flux and tumor growth. *Mol Cancer Ther*. 2008 Jan;7(1):110–20.
39. Alleman WG, Tabios RL, Chandramouli GVR, Aprelikova ON, Torres-Cabala C, Mendoza A, et al. The in vitro and in vivo effects of re-expressing methylated von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in clear cell renal carcinoma with 5-aza-2'-deoxycytidine. *Clin Cancer Res*. 2004 Oct 15;10(20):7011–21.
40. Stephens L, Williams R, Hawkins P. Phosphoinositide 3-kinases as drug targets in cancer. *Curr Opin Pharmacol*. 2005 Aug;5(4):357–65.
41. Budihardjo II, Walker DL, Svingen PA, Buckwalter CA, Desnoyers S, Eckdahl S, et al. 6-Aminonicotinamide sensitizes human tumor cell lines to cisplatin. *Clin Cancer Res*. 1998 Jan;4(1):117–30.

42. Raïs B, Comin B, Puigjaner J, Brandes JL, Creppy E, Saboureau D, et al. Oxythiamine and dehydroepiandrosterone induce a G1 phase cycle arrest in Ehrlich's tumor cells through inhibition of the pentose cycle. *FEBS Lett.* 1999 Jul 30;456(1):113–8.
43. Thomas AA, Le Huerou Y, De Meese J, Gunawardana I, Kaplan T, Romoff TT, et al. Synthesis, in vitro and in vivo activity of thiamine antagonist transketolase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008 Mar 15;18(6):2206–10.
44. Fantin VR, St-Pierre J, Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell.* 2006 Jun;9(6):425–34.
45. Zhou M, Zhao Y, Ding Y, Liu H, Liu Z, Fodstad O, et al. Warburg effect in chemosensitivity: targeting lactate dehydrogenase-A re-sensitizes taxol-resistant cancer cells to taxol. *Mol Cancer.* 2010 Jan;9:33.
46. Bonnet S, Archer SL, Allalunis-Turner J, Haromy A, Beaulieu C, Thompson R, et al. A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. *Cancer Cell.* 2007 Jan;11(1):37–51.
47. Wang J-B, Erickson JW, Fuji R, Ramachandran S, Gao P, Dinavahi R, et al. Targeting mitochondrial glutaminase activity inhibits oncogenic transformation. *Cancer Cell.* 2010 Sep 14;18(3):207–19.
48. Bonuccelli G, Whitaker-Menezes D, Castello-Cros R, Pavlides S, Pestell RG, Fatatis A, et al. The reverse Warburg effect: glycolysis inhibitors prevent the tumor promoting effects of caveolin-1 deficient cancer associated fibroblasts. *Cell Cycle.* 2010 May 15;9(10):1960–71.