

Câncer de mama: Reprogramação do metabolismo tumoral.

Breast Cancer: tumoral metabolism reprogramming

Marina Oliveira Amorim¹, Marina Mageste Vieira², Igor Visconte Gonçalves³, Paula Rhana⁴, Andréia Laura Prates Rodrigues⁵

RESUMO

O câncer de mama é a neoplasia de maior incidência em mulheres de todo o mundo, cuja mortalidade se deve principalmente ao desenvolvimento de metástases (condição patológica em que as células tumorais conseguem atravessar a matriz extracelular e se estabelecer em outros tecidos). Devido à importância epidemiológica dessa doença, estudos têm sido realizados em busca de uma melhor compreensão dos processos que atuam na carcinogênese e/ou tumorigênese e que, conseqüentemente, levam ao desenvolvimento de novas formas de diagnóstico e tratamento que sejam cada vez mais efetivos. Para manter a alta taxa de proliferação e desenvolver um perfil agressivo, características que são observadas em células tumorais, diversas alterações no metabolismo celular se tornam necessárias. O metabolismo tumoral começou a ser descrito por Otto Warburg em 1920, onde afirma que células cancerosas metabolizam glicose de forma diferente das células normais através da glicólise aeróbica. Dados recentes mostram que as alterações também ocorrem no metabolismo lipídico, apontando para uma reprogramação celular. A possibilidade de novos alvos farmacológicos inseriu o metabolismo como alvo das pesquisas recentes. Entretanto, e apesar do avanço, 90 anos depois da descoberta feita por Warburg, os estudos ainda não conseguiram esclarecer por completo como o metabolismo tumoral funciona, demonstrando assim a necessidade de mais pesquisas. Tendo em vista este cenário, essa revisão tem como objetivo documentar e discutir os principais resultados obtidos até o momento, como apontar e sugerir áreas de investigação.

Palavras-chave: Neoplasias da Mama, Metabolismo, Metabolismo Celular, Reprogramação Metabólica.

¹ Universidade FUMEC (Estudante de Biomedicina), Belo Horizonte, MG- Brasil.

² Universidade FUMEC (Estudante de Biomedicina), Belo Horizonte, MG- Brasil.

³ Universidade Federal de Minas Gerais (Biomédico), Belo Horizonte, MG- Brasil.

⁴ Universidade Federal de Minas Gerais (Biomédica), Belo Horizonte, MG- Brasil.

⁵ Dra. Universidade FUMEC (Professora Adjunta), Belo Horizonte, MG- Brasil.

Instituição:

Universidade FUMEC- Faculdade de Ciências Humanas, Sociais e da Saúde

* Autor Correspondente:

Andréia Laura Prates Rodrigues.
E-mail: alaura@fumec.br

Recebido em: 02/06/2017.

Aprovado em: 27/04/2018.

ABSTRACT

Breast cancer is the most prevalent neoplasm in women worldwide, whose mortality is mainly due to the development of metastasis (pathological condition in which cancer cells can cross the extracellular matrix and settle in other tissues). Due to the epidemiological importance of this disease, studies have been carried out in order to better understand the processes involved in carcinogenesis and/or tumorigenesis and, consequently, allow the development of new forms of diagnosis and treatment that are increasingly effective. To maintain the high proliferation rate and develop an aggressive profile, features that are observed in tumor cells, several changes in cellular metabolism become necessary. Tumor metabolism began to be described by Otto Warburg in 1920, where he states that cancer cells metabolize glucose differently from normal cells through aerobic glycolysis. Recent data show that changes also occur in lipid metabolism, pointing to cellular reprogramming. The possibility of new pharmacological targets, inserted the metabolism as a target of recent research. However, despite the breakthrough, 90 years after Warburg discovery, studies have not yet been able to fully clarify how tumor metabolism works, demonstrating the need for more research. In view of this scenario, this review aims to document the main results obtained so far and to discuss those aspects that are not yet well understood.

Keywords: Breast Neoplasms, Metabolism, Cell Metabolism, Metabolic Reprogramming.

INTRODUÇÃO

Câncer é a denominação dada a um conjunto de doenças que apresentam um crescimento aumentado e desordenado de células, e são apresentadas como principais causas de morte em todo o mundo.¹ O aparecimento dos tumores pode ocorrer em várias partes do corpo e está associado à um acúmulo de fatores que alteram o DNA (fatores carcinogênicos), que culminam em falhas na expressão de diferentes proteínas importantes para supressão tumoral, reparo do DNA e regulação do ciclo celular, conhecidas como proto-oncogenes, genes de supressão tumoral e genes de reparo do DNA.^{2,3} Ainda, alterações genéticas que predisõem o desenvolvimento de câncer podem ser herdadas dos pais ou adquiridas ao longo da vida. Já as variáveis epigenéticas, como sobrepeso, consumo de álcool, atividade física, exposição à radiação UV e infecções, são outras possíveis causas que estão intimamente relacionadas com aparecimento de neoplasias.⁴

O câncer de mama é a quinta maior causa de morte por câncer e a principal entre as mulheres em todo o mundo, correspondendo a 522 mil mortes ao ano.⁵ No Brasil, foi responsável por 57.960 novos casos em 2016, sendo que 51% destes ocorreram apenas na região sudeste. Apresenta causas multifatoriais, sendo a idade, o histórico familiar e alterações endócrinas os principais fatores de risco.⁶ A alta taxa de mortalidade está associada ao aparecimento de metástases, condição patológica onde as células tumorais apresentam

características mais agressivas, conseguindo atravessar a matriz extracelular e alcançar a circulação sanguínea e/ou linfática, formando novos tumores. Esse estágio metastático da doença apresenta as piores respostas aos medicamentos.⁷

Uma melhor compreensão dos mecanismos celulares e moleculares que originam a metástase é vital para o desenvolvimento de novas terapias mais efetivas. Para iniciar o processo de metástase, é necessário que as células tumorais adquiram nutrientes específicos do sangue, de forma a viabilizar a migração, invasão e sobrevivência celular. Para isso, diversos estudos são feitos em todo mundo, visando identificar quais são as alterações que ocorrem de uma célula normal para uma tumoral e como elas atuam para a formação de um ambiente propício para o desenvolvimento de um tumor, e, em alguns casos, para o aumento do perfil de agressividade dessas células.⁹

Um tumor sólido se apresenta como um sistema complexo, com a presença de diversos microambientes distintos entre si, que contém áreas de hipóxia, de baixo pH, de necrose e com privação de nutrientes. Em resposta a esses fatores, e para atender a demanda das diferentes células tumorais, o metabolismo celular sofrerá várias modificações.¹⁰

O metabolismo celular é um conjunto de reações que ocorrem com o objetivo de sintetizar biomoléculas (anabolismo) ou degradá-las (catabolismo), havendo para isso o consumo ou a produção de energia metabólica em forma de ATP. O anabolismo ocorrerá quando a célula estiver rica em ATP e substrato; já o catabolismo ocorre pela necessidade de

ATP ou glicose (por exemplo, entre as refeições e no jejum). O metabolismo é constituído de diversos caminhos (vias) que permitirão a manutenção do funcionamento celular, e a ativação dessas vias dependerá da disponibilidade e necessidade de nutrientes e energia do corpo e da célula.¹¹

Em organismos multicelulares, a maioria das células é exposta a um fornecimento constante de nutrientes e dispõe de sistemas de controle para prevenção da proliferação exacerbada de células, para situações em que a disponibilidade de nutrientes excede os níveis necessários para a divisão celular. Entretanto, as mutações genéticas presentes nas células tumorais alteram funcionalmente as vias metabólicas e de sinalização, e com isso, driblam esse controle, fazendo com que as células cancerosas consigam absorver nutrientes para atender as demandas energéticas e ter um crescimento celular exagerado e independente de nutrientes.¹²

Carboidratos e lipídeos são nutrientes celulares utilizados para a produção de ATP. A definição do nutriente e da via metabólica a ser utilizada dependerá do tipo de célula, da disponibilidade de oxigênio, da demanda energética e de outras moléculas. Por exemplo, a glicose é o principal carboidrato utilizado pelo organismo para gerar energia rapidamente e ao entrar na célula, dependendo do local e da necessidade, pode ser armazenado ou degradado (figura 1).¹¹

A via glicolítica é de extrema importância para o corpo e tem como produto duas moléculas de ATP, duas de piruvato e, além disso, diversas outras moléculas (também conhecidas como blocos de construção) que são essenciais para a produção de outras moléculas celulares, como o RNA, o DNA, lactose, triglicerídeos e lipídeos. A glicólise é a via para produção de ATP mais rápida do metabolismo celular e independe de oxigênio para ocorrer. Entretanto, extrai apenas parte da energia contida na molécula de glicose. O controle dessa via ocorre em três pontos, sendo o principal realizado pela enzima fosfofrutocinase (PKC). O controle dessa enzima é sensível a níveis de glicose 6P, ATP e também aos hormônios da síntese e degradação. Para que degradação da glicose seja completa (CO₂ e H₂O como produtos finais) e toda energia extraída (entre 30 a 32 moléculas de ATP), outras duas vias metabólicas, o ciclo do ácido cítrico e a cadeia de transporte de elétrons, assim como o oxigênio, são necessários. Já na ausência de oxigênio, o piruvato será

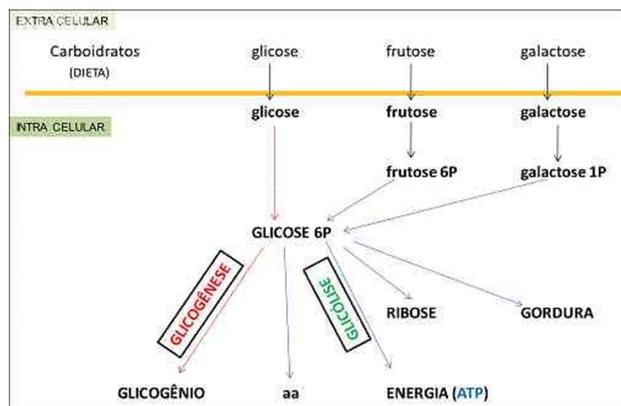


Figura 1. Destino dos carboidratos dentro da célula. - Os carboidratos simples (monossacarídeos), ao passarem para o meio intracelular, terão vários destinos: a. síntese de glicogênio, b. síntese de aminoácidos, c. produção de energia, d. via pentose fosfato e síntese de gordura. A definição dos caminhos dependerá da condição e necessidade energética e de nutrientes da célula e do corpo.

convertido em lactato. A definição pela via parcial ou total dependerá do quão rápido a célula precisa de energia e da presença de oxigênio (figura 2).¹³

De forma surpreendente, Otto Warburg constatou que, mesmo em presença de oxigênio, células cancerosas metabolizavam glicose de forma distinta das células normais, produzindo grandes quantidades de lactato e outros produtos do metabolismo anaeróbico; por isso, referiu-se a esse metabolismo como glicólise aeróbica.^{14,15} Na tentativa de explicar esses resultados, Warburg hipotetizou que as células cancerosas tinham um defeito nas mitocôndrias, o que levava à diminuição da respiração aeróbica e uma dependência subsequente do metabolismo glicolítico. Entretanto, trabalhos posteriores mostraram que a função mitocondrial não é prejudicada na maioria das células cancerosas, sugerindo a existência de outra explicação para a preferência da glicólise aeróbica em células tumorais.¹⁶

Para que ocorra o estabelecimento e progressão do tumor, além das alterações metabólicas, as células tumorais demonstram a ativação e/ou inativação de algumas vias de sinalização molecular com o intuito de se adaptar às condições adversas presentes no ambiente e, ainda assim, estimular o crescimento e proliferação dessas células. Entre as vias que se encontram frequentemente alteradas, vamos destacar a via da PI3K (fosfatidilinosital-3-cinase)¹⁷. Essa via é ativada por mutações nos genes de supressão tumoral, enviando sinais que culminam na proliferação e crescimento das células alteradas; além disso, estudos recentes demonstraram

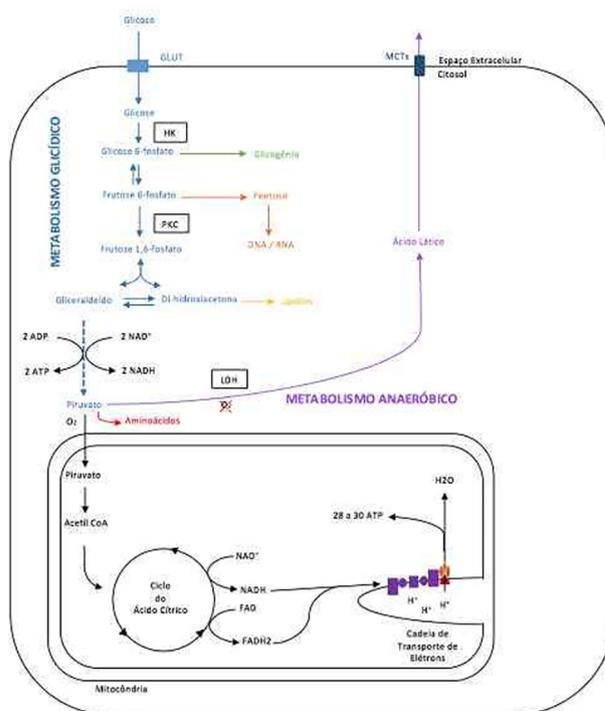


Figura 2. Metabolismo Glicídico. - A degradação da glicose e outros carboidratos simples (frutose e galactose) em piruvato (glicólise) ocorre no citosol da célula com participação das enzimas hexocinase (HK) e fosfofrutocinase (PKC). Para ser totalmente degradada e produzir toda energia (30 a 32 ATP), duas outras vias são necessárias: o Ciclo do ácido cítrico e Fosforilação Oxidativa. Assim como blocos de construção para outras sínteses (aminoácidos, pentoses, lipídeos).

que essa via de sinalização é capaz de promover alterações no metabolismo celular¹⁸.

Além das alterações na via glicolítica, células cancerígenas também podem apresentar um metabolismo lipídico aumentado quando comparado às células normais, podendo ter estas vias reprogramadas.¹⁹ Além da geração de um maior número de moléculas de ATP, se comparado com a via glicolítica (processo mitocondrial de beta-oxidação), os ácidos graxos são de suma importância na construção de membranas biológicas à partir de fosfolípidios e glicolipídios. Ainda, os ácidos graxos podem ser utilizados na síntese de hormônios e mensageiros intracelulares, estruturas determinantes para o funcionamento homeostático da célula.¹¹ Pesquisas recentes identificaram que as células cancerígenas aproveitaram do alto potencial energético dessas moléculas para os processos de crescimento, proliferação e agressividade celular, além de conferir resistência ao mecanismo de ação de algumas drogas.²⁰

A descoberta de que o câncer é uma doença genética levantou a proposta de que as mutações que ocorrem no DNA, antes e durante a progressão do tumor, implicam também no metabolismo celular. Todo este cenário acabou por resultar em um aumento no número de pesquisas que vem sendo realizadas nesta área, bem como na busca por novos fármacos.²⁰ A partir daí vem-se identificando alterações metabólicas, denominadas reprogramação metabólica, que dão suporte ao processo tumorigênico.²¹

Apesar do grande destaque que as pesquisas nessa área vêm recebendo, e ainda que alterações do metabolismo sejam consideradas uma característica marcante de células do câncer²², avanços se fazem necessários na compressão da influência de diferentes vias metabólicas na sobrevida, proliferação e agressividade das células tumorais. O efeito Warburg, por exemplo, tem sido documentado há mais de noventa anos e extensivamente estudado nos últimos dez anos, com inúmeras publicações e, ainda assim, não está bem esclarecido. Outro ponto importante é o aumento da síntese intracelular de lipídeos em células tumorais. Tendo em vista este cenário, essa revisão tem como objetivo documentar os principais resultados obtidos até o momento e discutir aqueles aspectos que ainda não são bem compreendidos e apontar perspectivas.

METABOLISMO GLICÍDICO

Diversos estudos têm demonstrado que o metabolismo energético das células tumorais se encontra alterado. Essas células apresentam grande dependência do metabolismo glicolítico, uma vez que essa via bioenergética produz energia rápida e metabólitos capazes de suportar altas taxas de crescimento e proliferação apresentado pelo tumor (Figura 2).

Por exemplo, Li e colaboradores²³ verificaram uma maior atividade glicolítica em células tumorais, em um estudo que compara as diferenças metabólicas e os mecanismos moleculares envolvidos entre diferentes tipos de carcinoma prostático. Assim como Kondaveeti, Reed e White²⁴, que verificaram em linhagens tumorais de mama, que o aumento da glicólise aeróbia, da expressão de transportadores GLUT e de enzimas relacionadas com a glicólise foi induzido pela carcinogênese.

Estudos mostram que as células glicolíticas são susceptíveis à morte celular quando sujeitas a baixa disponibilidade de glicose ou à falta dela. No entanto,

algumas células cancerosas, incluindo as glicolíticas, podem, de forma eficiente, adquirir maior tolerância à depleção de glicose, levando a sua sobrevivência (resistência) e agressividade. A ativação das vias de sinalização e das vias metabólicas compensatórias é apontada como uma explicação para a resistência aumentada à inanição de glicose, característica apresentada pelas células tumorais.²⁵ Nesse sentido, Palorini e colaboradores²⁵ verificaram que a sinalização da quinase A (PKA), enzima envolvida no controle do ciclo celular, proliferação, diferenciação, migração celular e metabolismo, é fundamental para o desenvolvimento da resistência de células cancerígenas à inanição de glicose. Demonstraram ainda que a inibição da PKA resultou no aumento da taxa de morte celular pela ativação da autofagia. Com isso, concluíram que a autofagia e os mecanismos ativados pela PKA são importantes para o crescimento celular em um ambiente em que haja privação de glicose.

Durante o crescimento, a glicose é utilizada para gerar energia (ATP), bem como para produzir biomassa (lipídeos, aminoácidos e nucleotídeos). Para produzir duas células filhas viáveis na mitose, uma célula em proliferação deve replicar todo seu conteúdo celular, impondo uma exigência de biomassa e ATP.¹¹ A velocidade de crescimento do tumor resultará em um aumento exacerbado dessa exigência e da velocidade de produção dessas moléculas, fatores que irão guiar quais as vias metabólicas devem ser ativadas. A partir daí, pode-se entender o porquê, apesar de gerar mais ATP, o metabolismo aeróbico contraria as necessidades para uma proliferação rápida das células tumorais. Isso explica em parte, os achados por Warburg, em que mesmo na presença de oxigênio, uma célula tumoral degrada a glicose até piruvato (glicólise aeróbica) e simultaneamente o converte em ácido láctico (metabolismo anaeróbico).²⁶ Ainda nesse sentido, Heiden, Cantley e Thompson²⁶ relatam que, considerando o tempo necessário para a formação de ATP e biomassa a partir de uma molécula de glicose, é mais eficaz utilizar o metabolismo anaeróbico do que o aeróbico.

Fortalecendo essa hipótese, Moraes-Santos e colaboradores²⁷ identificaram a remodelação do metabolismo das células cancerígenas através da acidificação extracelular, que é resultante da extrusão do lactato produzido no metabolismo anaeróbico intracelular. Verificaram que o silenciamento de estruturas responsáveis pela extrusão de lactato das células (MCT1 e MCT4), em diferentes linhagens de câncer de mama, resultava em uma diminuição na agressividade tumoral (invasão, proliferação e migração). Ainda com essas estruturas, Miranda-Gonçalves e colaboradores²⁸ conseguiram verificar o aumento da expressão de MCT1 em condições de hipóxia, e afirmaram que este transportador é importante para a manutenção de um perfil celular mais agressivo.

Buscando uma melhor compreensão sobre a relação da produção de lactato e agressividade, Rizwan e colaboradores²⁹ investigaram, em modelos de câncer de mama altamente agressivos, a relação entre a concentração de lactato e a enzima lactato desidrogenase (LDH), responsável pela produção do mesmo. Verificaram que os níveis de lactato estão mais baixos em tumores de mama menos agressivos (KD9) do que quando comparados com aqueles considerados mais agressivos (NC ou 4T1). E ainda identificaram uma redução no tamanho do tumor e um atraso na formação das metástases, além de alterações no metabolismo devido ao silenciamento da LDH.

Por outro lado, diferentemente do que vinha sendo postulado pela teoria de Warburg, estudos recentes têm demonstrado que existe uma classe de tumores que utilizam o metabolismo aeróbico, ou seja, a fosforilação oxidativa mitocondrial para a produção de ATP.³⁰ Com isso, a produção de energia através do metabolismo mitocondrial tumoral também passou a ser alvo de diversas investigações.

O aumento da agressividade tumoral e a diminuição da eficiência de alguns tratamentos têm sido relacionados a baixos níveis de oxigênio. Esse ambiente de hipóxia em células tumorais é resultado de uma vascularização incompatível com a velocidade de proliferação estabelecida pelo processo de formação do tumor.³¹

Smolková e colaboradores³² avaliaram as adaptações do metabolismo mitocondrial em diferentes microambientes tumorais (com baixas taxas de glicose e em condições de hipóxia) e identificaram um aumento no sistema mitocondrial após 6 dias de cultivo celular em um ambiente hipoglicêmico. Já em condições de hipóxia, associada ou não a redução da glicose, as células tumorais apresentaram uma redução na capacidade de fosforilação oxidativa, demonstrando que o microambiente tumoral muitas vezes é quem dita o remodelamento do metabolismo celular. Somado a isso, pesquisadores identificaram que a proteína supressora de tumor LKB1, responsável pela ativação da enzima quinase ativada por adenosina monofosfato, é ativada quando os níveis de energia celular estão baixos.²⁶

Outro ponto que tem sido associado ao metabolismo e demanda energética é a transição epitélio-mesenquimal que ocorre no processo da tumorigênese. Kondaveeti, Reed e White²⁴ demonstraram que essa transição induz múltiplas mudanças metabólicas, incluindo a glicólise aeróbia aumentada e uma expressão aumentada de enzimas, assim como transportadores específicos de glicose (por exemplo, o transportador de glicose GLUT3).

Pensando na possibilidade de novos alvos terapêuticos, diferentes inibidores da via glicolítica têm sido investigados, objetivando reduzir ou inibir a progressão do tumor.³³ A metformina, por exemplo, é um fármaco que é bastante utilizado no tratamento de diabetes do tipo II e que atua reduzindo os níveis de glicose no sangue, além de sensibilizar os receptores de insulina³⁴. A insulina possui papel fundamental na regulação do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, mas também atua como um importante fator de crescimento, estimulando a mitose e a migração celular, e inibindo a apoptose. Os efeitos metabólicos da insulina são mediados pela via de PI3K/Akt, enquanto seus efeitos mitogênicos envolvem a ativação das vias Ras e MAPK^{17,35}.

Diferentes estudos apontam que o uso da metformina levou a uma redução no consumo de glicose e, consequentemente, houve uma diminuição na taxa de crescimento tumoral; porém, a concentração utilizada desse fármaco pode causar citotoxicidade celular.^{34,36} Esse resultado foi relacionado à reprogramação das células tumorais, onde é observada a troca da glicólise aeróbica pela respiração oxidativa, potencializando o efeito citotóxico da metformina através da liberação de espécies reativas de oxigênio.

Segundo Choi e Lim³⁶, o efeito citotóxico causado pela administração desse fármaco pode ser minimizado com o uso de dicloroacetato (DCA), um composto que atua na enzima piruvato desidrogenase e estimula o metabolismo oxidativo.

Outro medicamento que tem sido estudado é o resveratrol, fármaco capaz de interagir com diferentes atividades biológicas (como crescimento, sobrevivência, apoptose e até mesmo processos pró-inflamatórios) e que tem sido associado com efeitos anti-carcinogênicos. Foi identificada uma redução na viabilidade das células tumorais de mama (MCF-7) devido à redução no consumo de glicose e na produção de ATP. Este efeito foi, segundo os autores, provavelmente, resultante da inibição pelo resveratrol da principal enzima da via glicolítica, a fosfofrutocinase (PKC).³³

METABOLISMO LIPÍDICO

Outro aspecto recente, e que vem sendo bem estudado dentro da reprogramação metabólica, são as alterações metabólicas lipídicas que as células tumorais apresentam. Em contraste com as células normais que satisfazem suas demandas lipídicas a partir da circulação ou do meio extracelular, células cancerosas obtêm através da síntese interna de lipídeos (síntese de novo) (figura 3). Os ácidos graxos (lipídeos) tem papel central na sustentando a renovação celular e mitogênese, pois, dependendo do tipo celular tumoral, a síntese de novo chega até 95%, mesmo com disponibilidade de lipídios extracelular. Esta conversão lipogênica, ou seja, aumento da síntese de ocorre com a transformação das células normais em tumorais e se expande ainda mais à medida que as células tumorais se tornam mais malignas. Sugere-se que a ativação da síntese de FA é necessária para a tumorigênese e para a sobrevivência das células tumorais, e que as enzimas

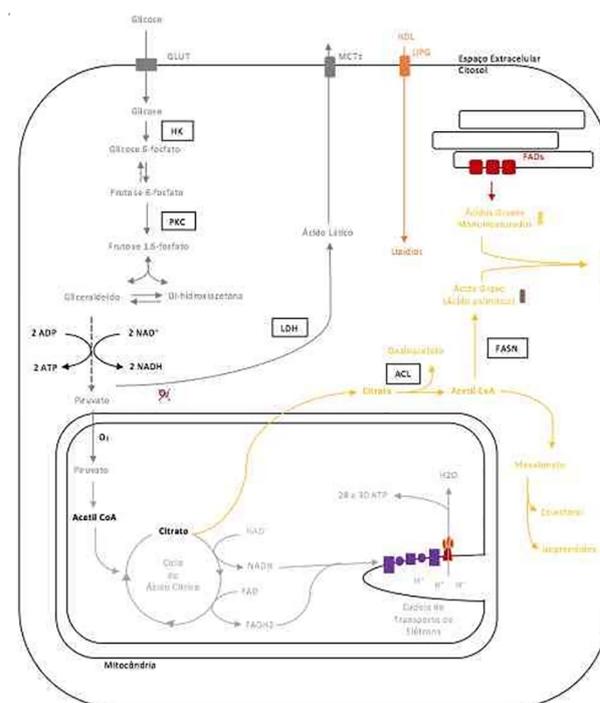


Figura 3. Metabolismo Lipídico. - A síntese de ácido graxo, síntese de novo, ocorre no citosol da célula e tem como substrato o acetil-CoA cujos carbonos podem vir dos carboidratos (glicose, frutose ou galactose), sendo a ácido graxo sintase (FASN) a principal enzima desta via. A FASN tem como produto principal o ácido graxo saturado de 16 carbonos (ácido palmítico). O aumento da cadeia e as insaturações ocorrerão no retículo endoplasmático (RE) pela ação das desaturases.

envolvidas nesta síntese seriam alvos terapêuticos racionais para o tratamento do câncer.²⁰

Experimentos com carbono marcado mostraram que células tumorais incorporam carbonos vindos da glicose e do acetato em ácidos graxos, evidenciando que as células podem satisfazer a necessidade de lipídeos com a síntese de novo, enquanto que as normais suprem a maior parte da demanda dos lipídeos a partir da dieta. Mais evidências vieram com a observação de que a expressão da principal enzima da síntese lipídica, a ácido graxo sintase (FASN), encontra-se aumentada em células tumorais de mama, independente da concentração circulante de lipídeos. Alguns autores argumentam que isso garante ao tumor uma menor dependência dos nutrientes externos a célula e uma sobrevivência em ambientes menos vascularizados.²²

Foi observado que a ativação da síntese de ácidos graxos em células tumorais também pode ser resultante da indução transcricional, pois muitas enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos (como a proteína ligante de elementos regulatórios por esteroide – SREBPs e a fosfatidilcolina - PC) estão sob o controle transcricional. A SREBP é encontrada na isoforma 1 e 2, e é controlada por moléculas que atuam também no controle da via pentose fosfato, sugerindo uma sincronia entre cascatas em que um único sinal controla diferentes vias metabólicas.²² Dentro desse controle transcricional estão também os fatores de transcrição da família FoxA, que atuam como reguladores do desenvolvimento e da função tecidual e que têm sido relacionados à mobilização de lipídios extracelulares. A ação desses fatores depende da atividade da lipase endotelial (LIPG), que é responsável pela hidrólise dos fosfolipídios extracelulares da HDL para posterior incorporação pela célula, a fim de prover precursores lipídicos para o metabolismo celular. A diminuição da proliferação de células de mama, pela depleção dessa enzima, levou os autores a afirmarem que o crescimento de células cancerígenas de mama é dependente de fonte exógena de lipídeos.³⁷

Por outro lado, Zhu et al.³⁸ identificou a superexpressão de um fator de transcrição capaz de regular a expressão de enzimas intimamente relacionados com a biossíntese de ácidos graxos (lipogênese) e colesterol, tais como ácido graxo sintase (FASN), acetil-CoA carboxilase 1 (ACC1), 3-hidroxi-2-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Já Wu e colaboradores³⁹, utilizando linhagens tumorais diferentes, realizaram o *knockdown* da enzima remodeladora de cromatina (BRG1), que está relacionada à replicação, proliferação, reparo e controle do crescimento celular. O estudo verificou uma redução da síntese de ácidos graxos pela redução na síntese das enzimas FASN e ACC. Surpreendentemente, os níveis de mRNA de FASN e ACC não foram reduzidos pelo *knockdown* de BRG1 na linhagem normal (MCF-10A). A partir daí, especula-se a existência de diferentes mecanismos de atuação dessa enzima em linhagens não metastáticas e metastáticas, o que fortalece a teoria de que o uso de ácidos graxos é necessário para a proliferação de células de câncer de mama.

O aumento da lipogênese traz a necessidade de enzimas modificadoras de lipídeos, as desaturases, para evitar toxicidade celular. Essas enzimas têm sido relacionadas à síndrome metabólica, proliferação e sobrevivência do câncer. Pesquisas demonstraram que o aumento da expressão dessas enzimas em células tumorais de mama, é correlacionado negativamente com a sobrevida. A diminuição da sua expressão resultou na inibição da proliferação, da formação do tumor e

da apoptose, além de um estacionamento do ciclo celular. Mais importante, o uso de inibidores de desaturases se mostrou mais eficaz na inibição do câncer de mama do que o uso de inibidores das enzimas de síntese. Uma possível explicação para esses achados envolve a AMPK, que é responsável pela fosforilação de enzimas que participam da síntese.²²

Ainda investigando as desaturases, Peck e colaboradores²² identificaram que a concentração de lipídeos saturados e monoinsaturados é muito superior na célula tumoral do que na célula normal, e que isso refletirá nas propriedades da membrana como, por exemplo, a resistência dos tumores aos fármacos.

Segundo Antalis e colaboradores⁴⁰, o uso de ácidos graxos e colesterol circulante para biossíntese de lipídios pode ser usado para estimular a migração. A migração, assim como a proliferação, é um processo que demanda muita energia. Esses autores verificaram a presença de maiores quantidades de gotículas de lipídios no citoplasma das linhagens de tumor de mama mais agressivas (MDA-MB-231, MDA-MB-436). Em consonância a esses achados, Slebe e colaboradores³⁷ demonstraram que a migração de células de câncer depende do uso de lipídios exógenos.

Esses últimos resultados demonstram que, componentes do microambiente tumoral, células e substâncias, possuem papel importante no suporte e transformação das células de câncer de mama. Para verificar a importância do suprimento de ácidos graxos para células de câncer, Lopes-Coelho e colaboradores²⁰ avaliaram o papel de fibroblastos associados ao câncer (CAFs) e demonstraram que houve uma maior atividade da enzima FASN na linhagem celular metastática (MDA-MB-231) após exposição ao meio de cultura condicionado por CAFs. O aumento dos níveis de proteína transportadora de lipídios (FATP) nas células de câncer, após exposição ao meio de cultura condicionado, também foi verificado, sugerindo um maior transporte de lipídios entre fibroblastos e células cancerígenas. Um dos dados mais relevantes do estudo foi à observação de uma maior taxa de proliferação celular quando as células foram expostas ao ácido palmítico/oleico e ao meio de cultura condicionado por CAFs, confirmando a importância dos lipídios na proliferação celular.

Além da influência de CAFs sobre o crescimento de células cancerígenas, estudos realizados nos últimos anos têm apontado que o hormônio leptina, secretado por adipócitos, influencia em quase todos os estágios da gênese tumoral. Níveis elevados de leptina ocasionaram a ativação de múltiplas vias envolvendo a proliferação, invasão e migração de células de câncer. Blanquer-Rosselló e colaboradores⁴¹ observaram que a adição de leptina ao meio de cultura da linhagem MCF-7 resultou em aumento da taxa de consumo de oxigênio, mostrando uma dependência do metabolismo oxidativo mitocondrial para manter os níveis de ATP celular. Além disso, verificou-se que o tratamento com leptina aumentou os níveis de algumas enzimas que estão envolvidas no catabolismo de lipídios (ácido graxo translocase, carnitina palmitoiltransferase I - CPT1 e receptor alfa de peroxissomo - PPAR-Alfa). Strong e colaboradores⁴² verificaram que utilizarão utilizar células MCF-7 em leptina secretada por células estromais adiposas provenientes de mulheres obesas (obASC), um aumento da proliferação dessas células e uma maior expressão do componente relacionado a metástase tumoral (EMT). Experimentos realizados *in vivo* com o

knockdown de leptina mostraram uma redução significativa do volume tumoral e o número de lesões metastáticas.

Li e colaboradores⁴³ verificaram uma menor expressão de uma proteína do metabolismo aeróbico, o complexo I NADH-Desidrogenase (NDUFB9) que atua como supressor de proliferação em células mais metastáticas, do que quando comparado às linhagens menos metastáticas. Além disso, verificou-se que o *knockdown* dessa proteína, NDUFB9, em células MDA-MB-231 resultou em maior proliferação, migração e invasão. Alterações metabólicas também foram observadas a partir da deficiência da subunidade NDUFB9, tais como aumento da produção de espécies de oxigênio reativo mitocondrial (mtROS) e diminuição dos níveis de DNA mitocondrial (mtDNA). Sabe-se que o aumento de mtROS está relacionado ao desenvolvimento do câncer e da estimulação ao componente de transição epitelial-mesenquimal (EMT), que é essencial na metástase tumoral.

DISCUSSÃO

O metabolismo serve para a célula e para o corpo como suporte na realização de todas suas funções, sendo dividido em vias anabólicas e catabólicas que serão acionadas por moléculas ou hormônios de forma a atender diferentes demandas. Além disso, diferentes vias podem ser utilizadas para gerar a mesma molécula, permitindo com isso, adaptações a diferentes situações e demandas do corpo e da célula.

Portanto, era de se esperar que uma célula transformada (tumoral), apresentasse toda uma remodelação da maquinaria metabólica (enzimas) visando atender a demanda energética e de nutrientes. As pesquisas vêm confirmando a veracidade desse pressuposto e apontando para uma remodelação metabólica. A identificação do aumento da síntese dos transportadores de glicose (GLUT), das principais enzimas da via glicolítica (PKC e HK), assim como, do transportador de lactato (MCT), são exemplos dessa reprogramação. Ainda no metabolismo glicídico, mesmo na presença de oxigênio, temos o aumento da produção de ácido láctico para atender, na velocidade exigida, a demanda tumoral de energia e blocos de construção.

Da mesma forma, para suprir a demanda dos principais constituintes das membranas, no metabolismo lipídico, observa-se um aumento da expressão das principais enzimas que participam da síntese de novo (Figura 4). Apesar de recente, o avanço nessa área tem sido rápido e expressivo. Entretanto, a capacidade de adaptação das células tumorais pode ser um grande dificultador, inclusive podendo interferir na resposta de fármacos. A alteração verificada no metabolismo lipídico, onde as células tumorais passaram a captar FA após a inibição da síntese de novo, é um bom exemplo.

Outro exemplo é o uso da metformina, que diminui a glicose sanguínea e aumentar a sensibilidade dos receptores de insulina. O uso deste medicamento partiu do conhecimento de que os tumores utilizam a glicose de forma aumentada, mas esqueceram de que ao aumentar a resposta à insulina pelas células, também haverá a ativação de todas as vias de síntese. Dessa forma, irá ativar a via de síntese de ácidos graxos e favorecer a tumorigênese. Demonstrando, de forma clara, que essa área é muito complexa e requer um número maior de estudos com intervenções em alvos mais específicos. A inibição da síntese de novo foi mais eficiente com a inibição das desaturasas do que das enzimas da síntese.

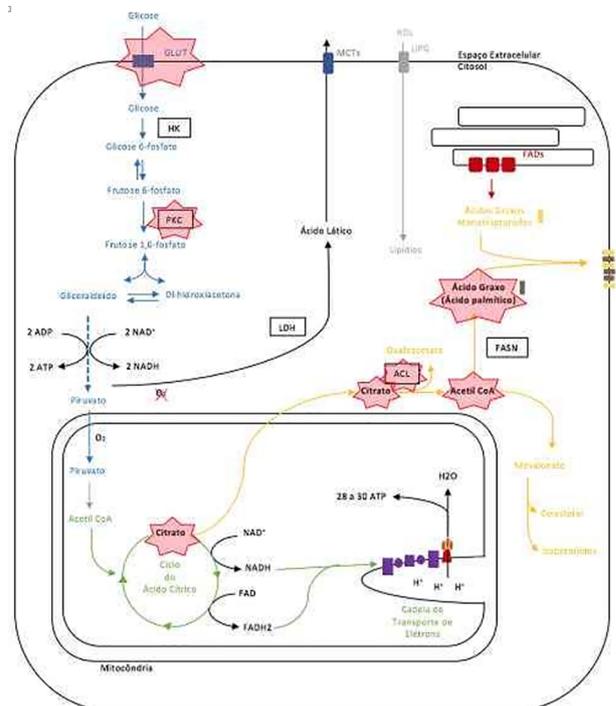


Figura 4. Metabolismo tumoral. -

O metabolismo glicídico e lipídico sofrerá alterações nos substratos, produtos e enzimas (destaque vermelho) destas vias.

Isso porque, segundo os autores, o inibidor das desaturasas também inibe enzimas que também atua na via glicolítica.

Portanto, a busca por fármacos que tenham como alvo, pontos que interligam diferentes vias assim como, a associação de inibidores das diferentes vias, deve ser investigado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dos estudos realizados nessa área, apesar de contribuir significativamente para o avanço do conhecimento, demonstram claramente a necessidade de um melhor entendimento sobre os mecanismos por trás deste fenótipo que utilizam como alvo as mais diferentes estruturas que compõe este metabolismo, bem como o desenvolvimento de novas formas de diagnóstico e tratamento.

Estudos com alvo no status de energia, dando importância para o processo carcinogênico, pode ser um ponto de verificação importante para prevenir a transformação maligna em alguns tipos de tumores. Células tumorais, em adição à alteração do metabolismo glicídico, frequentemente mostram alterações no metabolismo lipídico. Apesar do perfil lipogênico da célula estar bem delimitado, a ativação da síntese de novo ainda não está bem esclarecida.

Outro ponto importante é a participação do ácido araquidônico, que também se encontra aumentado nas células tumorais, apesar do seu mecanismo ainda não ter sido esclarecido. Da mesma forma, a correlação encontrada entre o aumento na síntese *de novo* com alterações metabólicas em células T ainda não é bem compreendida, apesar de apontar para um envolvimento do sistema imune.

Ainda existem poucas informações sobre a utilização de fármacos que possuem como alvo as alterações presentes no metabolismo celular, o que indica a necessidade da realização de mais pesquisas nesta área. Nesse sentido, pesquisas

que ataquem pontos em comum de diferentes vias (como por exemplo, o piruvato, o acetil CoA, a glicose 6P e o citrato) se fazem necessárias.

AGRADECIMENTOS:

Gostaríamos de agradecer ao Professor Ênio Cardillo Vieira e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Instituto Nacional de Câncer – INCA. O que é o câncer? Disponível em: URL: http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322. Acesso em 25 Mar 2017.
- Kim S. New and emerging factors in tumorigenesis: an overview. *Cancer Manag Res* 2015; 7.
- World Health Organization. Cancer. Disponível em: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Acesso em 25 Mar 2017.
- National Cancer Institute-NCI, 2015. Risk Factors for Cancer. Disponível em: URL: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk>. Acesso em 25 Mar 2017.
- GLOBOCAN, 2012. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence Worldwide in 2012. Disponível em: URL: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx. Acesso em 25 Mar 2017.
- Instituto Nacional do Câncer - INCA. Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em: URL: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/sintese-de-resultados-comentarios.asp>. Acesso em 25 Mar 2017.
- Kimbung S, Loman N, Hedenfalk I. Clinical and molecular complexity of breast cancer metastases. *Semin Cancer Biol* 2015.
- Tochhawng L, Deng S, Pervaiz S, Yap CT. Redox regulation of cancer cell migration and invasion. *Mitochondrion* 2013; 13(3):246–53. doi: 10.1016/j.mito.2012.08.002
- Lu J, Tan M, Cai Q. The Warburg effect in tumor progression: mitochondrial oxidative metabolism as an anti-metastasis mechanism. *Cancer Lett* 2015; 356(2A):156–64. doi: 10.1016/j.canlet.2014.04.001.
- Mori N, Wildes F, Takagi T, Glunde K, Bhujwala ZM. The Tumor Microenvironment Modulates Choline and Lipid Metabolism. *Front Oncol* 2016; 6:262. doi: 10.3389/fonc.2016.00262.
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Bioquímica*. 7a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell* 2008; 134(5):703–7. doi: 10.1016/j.cell.2008.08.021.
- Deberardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab* 2008; 7(1):11–20.
- Warburg O, Posener K, Negelein E. Ueber den stoffwechsel der tumoren. *BiochemischeZeitschrift*. 1924;152(1):319–344.
- Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body. *The Journal of general physiology*. 1927;8(6):519–530.
- Liberti MV, Locasale JW. The Warburg Effect: How does it Benefit Cancer Cells? *Trends BiochemSci* 2016; 41(3): 211–218.
- Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews* 2011; 11: 85–95.
- Plas DR, Thompson CB. Aktdependent transformation: there is more to growth than just surviving. *Oncogene* 2005; 24: 7435–7442.
- Beloribi-Djefaffia S, Vasseur S, Guillaumond F. Lipid metabolic reprogramming in cancer cells. *Oncogenesis* 2016; 5(189). doi: 10.1038/oncsis.2015.49.
- Lopes-Coelho F, André S, Félix A, Serpa J. Breast cancer metabolic cross-talk: Fibroblasts are hubs and breast cancer cells are gatherers of lipids. *Mol Cell Endocrinol* 2017; pii: S0303-7207(17)30044-8. doi: 10.1016/j.mce.2017.01.031.
- Morandi A, Chiarugi P. Metabolic implication of tumor: stroma crosstalk in breast cancer. *J Mol Med* 2014; 92:117–126. doi: 10.1007/s00109-014-1124-7.
- Peck B, Schulze A. Lipid Desaturation-the next step in targeting lipogenesis in cancer? *FEBS* 2016; 283: 2767–78.
- Li W, Cohen A, Sun Y, Squires J, Braas D, Graeber TG, et al. The Role of CD44 in Glucose Metabolism in Prostatic Small Cell Neuroendocrine Carcinoma. *Mol Cancer Res* 2016; 14(4):344–53. doi: 10.1158/1541-7786.
- Kondaveeti Y, Reed IKG, White BA. Epithelial–mesenchymal transition induces similar metabolic alterations in two independent breast cancer cell lines. *CancerLetters* 2015; 364:44–58.
- Palorini R, Votta G, Pirola Y, De Vitto H, De Palma S, Airoidi C, et al. Protein Kinase A Activation Promotes Cancer Cell Resistance to Glucose Starvation and Anoikis. *PLoS Genet* 2016; 12(3): e1005931. doi:10.1371/journal.pgen.1005931.
- Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009; 324(5930):1029–33. doi: 10.1126/science.1160809.
- Morais-Santos F, Granja S, Miranda-Gonçalves V, Moreira AHJ, Queirós S, Vilaça JL, et al. Targeting lactate transport suppresses in vivo breast tumour growth. *Oncotarget* 2015; 6(22):19177–89.
- Miranda-Gonçalves V, Granja S, Martinho O, Honavar M, Pojo M, Costa BM, et al. Hypoxia-mediated upregulation of MCT1 expression supports the glycolytic phenotype of glioblastomas. *Oncotarget* 2016, 7(29):46335–53.
- Rizwan A, Serganova I, Khanin R, Karabeber H, Ni X, Thakur S, et al. Relationships between LDH-A, Lactate and Metastases in 4T1 Breast Tumors. *Clin Cancer Res* 2013; 19(18):5158–69. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-3300.
- Moreno-Sánchez R, Rodríguez-Enríquez S, Marín-Hernández A, Saavedra E. Energy metabolism in tumor cells. *FEBS J* 2007; 274(6):1393–418.
- Vaupel P, Harrison L. Tumor hypoxia: causative factors, compensatory mechanisms, and cellular response. *Oncologist* 2004; 9 Suppl 5:4–9.

32. Smolková K, Bellance N, Scandurra F, Génot E, Gnaiger E, Plecítá-Hlavatá L, et al. Mitochondrial bioenergetic adaptations of breast cancer cells to aglycemia and hypoxia. *J BioenergBiomembr* 2010; 42:55–67. doi: 10.1007/s10863-009-9267-x.
33. Gomez LS, Zancan P, Marcondes MC, Ramos-Santos L, Meyer-Fernandes JR, Sola-Penna M, et al. Resveratrol decreases breast cancer cell viability and glucose metabolism by inhibiting 6-phosphofructo-1-kinase. *Biochimie* 2013; 95(6):1336-43. doi: 10.1016/j.biochi.2013.02.013.
34. Marini C, Ravera S, Buschiazzo A, Bianchi G, Orengo AM, Bruno S, et al. Discovery of a novel glucose metabolism in cancer: The role of endoplasmic reticulum beyond glycolysis and pentose phosphate shunt. *Sci Rep* 2016; 6:25092. doi: 10.1038/srep25092.
35. Rose DP, Vona-Davis L. The cellular and molecular mechanisms by which insulin influences breast cancer risk and progression. *Endocrine-Related Cancer* 2012; 19: R225–R241. doi: 10.1530/ERC-12-0203.
36. Choi YW, Lim IK. Sensitization of metformin-cytotoxicity by dichloroacetate via reprogramming glucose metabolism in cancer cells. *Cancer Lett* 2014; 346(2):300-8. doi: 10.1016/j.canlet.2014.01.015.
37. Slebe F, Rojo F, Vinaixa M, García-Rocha M, Testoni G, Guiu M, et al. FoxA and LIPG endothelial lipase control the uptake of extracellular lipids for breast cancer growth. *Nature Communications* 2016; 7:11199. doi: 10.1038/ncomms11199.
38. Zhu Z, Zhao X, Zhao L, Yang H, Liu L, Li J, et al. p54nrb/NONO regulates lipid metabolism and breast cancer growth through SREBP-1A. *Oncogene* 2015; 1–12.
39. Wu Q, Madany P, Dobson JR, Schnabl JM, Sharma S, Smith TC, et al. The BRG1 chromatin remodeling enzyme links cancer cell metabolism and proliferation. *Oncotarget* 2016; 7(25): 38270-81.
40. Antalis CJ, Uchida A, Buhman KK, Siddiqui RA. Migration of MDA-MB-231 breast cancer cells depends on the availability of exogenous lipids and cholesterol esterification. *ClinExpMetastasis* 2011; 28:733–741. doi: 10.1007/s10585-011-9405-9.
41. Blanquer-Rosselló Mdel M, Oliver J, Sastre-Serra J, Valle A, Roca P. Leptin regulates energy metabolism in MCF-7 breast cancer cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2016; 72:18-26. doi: 10.1016/j.biocel.2016.01.002.
42. Strong AL, Ohlstein JF, Biagas BA, Rhodes LV, Pei DT, Tucker HA, et al. Leptin produced by obese adipose stromal/stem cells enhances proliferation and metastasis of estrogen receptor positive breast cancers. *BreastCancer Res* 2015; 17:112. doi: 10.1186/s13058-015-0622-z.
43. Li L-D, Sun H-F, Liu X-X, Gao S-P, Jiang H-L, Hu X, et al. Down-regulation of NDUFB9 promotes breast cancer cell proliferation, metastasis by mediating mitochondrial metabolism. *PLoS ONE* 2015; 10(12): e0144441. doi:10.1371/journal.pone.0144441.