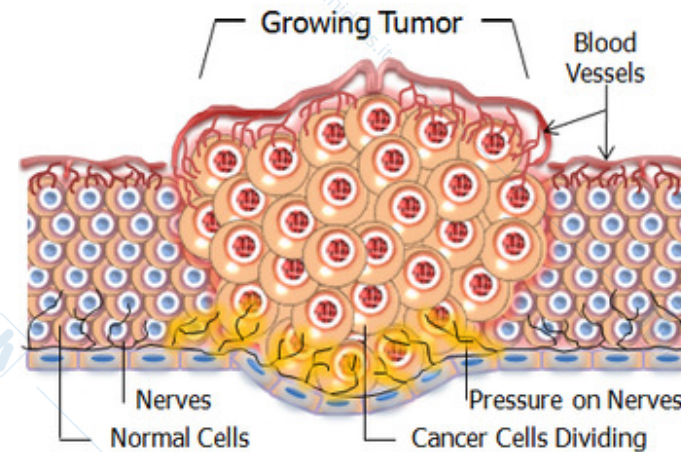
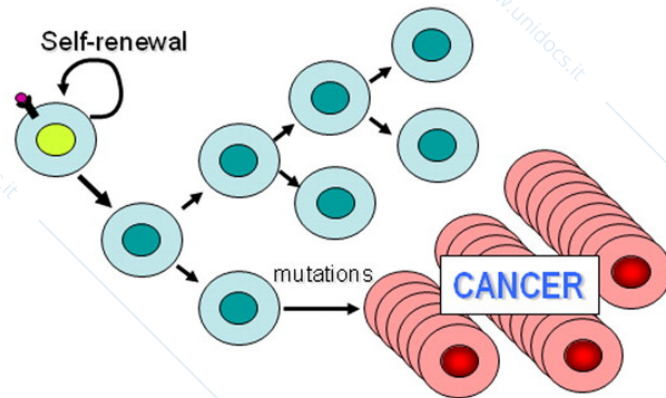


Caratteristiche di una cellula tumorale



Una cellula tumorale differisce da una cellula normale innanzitutto per la capacità di proliferare:

TEORIA DELLA SELEZIONE CLONALE: da una sola cellula si ottengono numerose copie della stessa, caratterizzate da possibili errori genetici (x) che, dopo n copie, aumentano in maniera esponenziale (x^n).

Quando i sistemi di controllo cellulari non riescono a controllare l'aumento delle alterazioni genetiche, la **neoplasia** diventa un evento ineluttabile. Da qui il concetto di **Tumore come PROCESSO MULTISTEP**.

Caratteristiche di una cellula tumorale

- Alterazioni genetiche ed epigenetiche
- Alterazioni biochimiche (glicolisi ed Effetto Warburg)

Una cellula tumorale è pur sempre una cellula:
essa deve metabolizzare i nutrienti necessari alla sua
sopravvivenza e alle sue “attività illecite”

Metabolismo CON il tumore

- In condizioni normali, nel digiuno si verifica un progressivo rallentamento del metabolismo.
- Al contrario, **nei pazienti con cancro il consumo di calorie rimane elevato e anche a fronte di una diminuita assunzione di cibo il metabolismo basale aumenta.**
- Nel digiuno la massa muscolare viene relativamente preservata a spese delle riserve di grasso.
- Viceversa, nelle forme tumorali si ha uguale perdita di tessuto adiposo e muscolare
- Si pensa che buona parte di queste alterazioni metaboliche siano dovute all'**effetto anoressizzante del TNF- α , insieme a IL-1 e IFN- γ** , prodotti dal tumore e dai macrofagi dell'ospite per distruggere il tumore

Alterazioni del metabolismo glucidico nei tumori

- Aumentata glicemia a digiuno
- Aumentata gluconeogenesi epatica
- Ridotta risposta all'insulina
- Ridotta capacità dei tessuti periferici di utilizzare glucosio

Alterazioni del metabolismo proteico nei tumori

- Aumentato catabolismo proteico muscolare
- Ridotta sintesi proteica muscolare
- Aumentata sintesi proteica epatica
- Riduzione aminoacidi plasmatici totali
- Aumento turnover proteico totale

Alterazioni del metabolismo lipidico nei tumori

- Aumento della lipolisi
- Diminuzione della lipogenesi
- Iperlipidemia
- Aumentato turnover degli FFA e del glicerolo
- Diminuzione della concentrazione serica della lipoprotein lipasi (LPL)

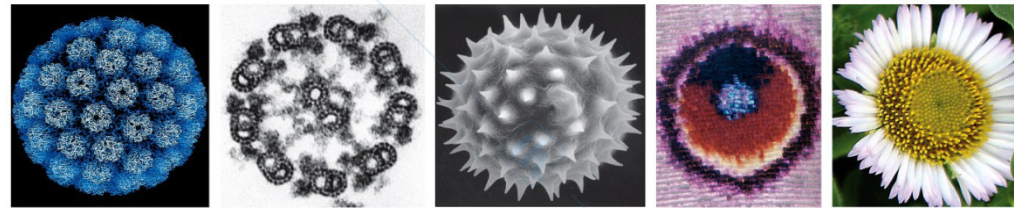
Alterazioni dell'equilibrio idroelettrolitico nei tumori

Presenti in caso di:

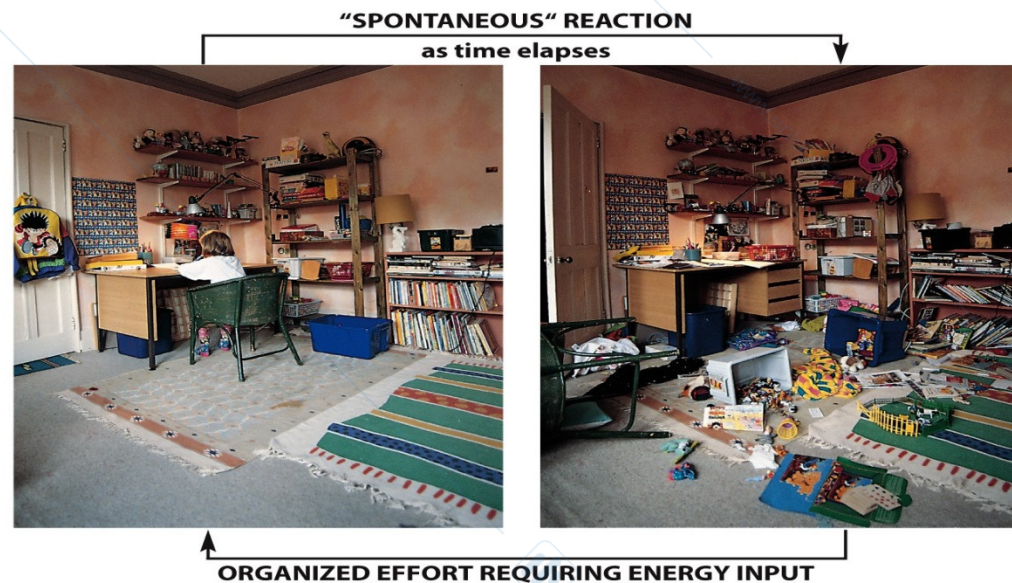
- Vomito
- Fistole enteriche
- Sindromi da alterata secrezione di ADH
- Sindromi da alterata secrezione di ACTH
- Massiva necrosi tumorale

Metabolismo di una cellula - energia

Gli organismi viventi generano **ordine** a tutti i livelli...



...ma questo richiede un uso continuo di **ENERGIA** !



Da una lezione di Dr. M.E. Miranda Banos

Gli esseri viventi usano continuamente:

- **Energia**
- **Materia**

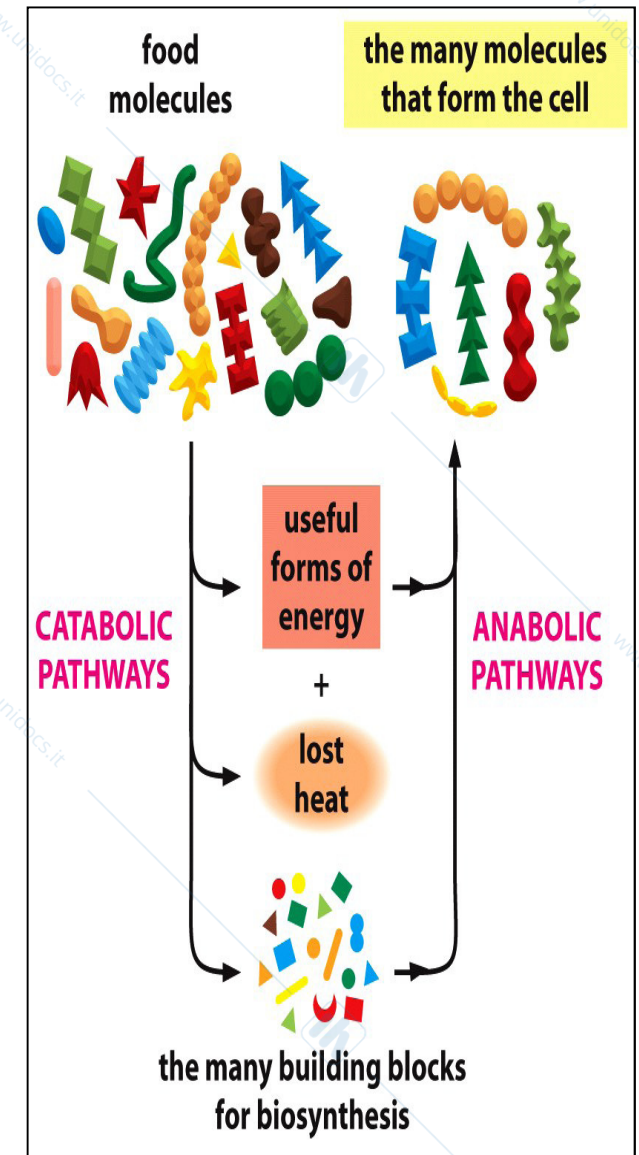
Per operare una immensa quantità di reazioni chimiche che sono alla base della loro esistenza.

Queste reazioni spesso vanno accelerate da enzimi specializzati: **catalizzatori**.

Si incatenano le une sulle altre per formare **vie metaboliche**.

L'insieme di queste reazioni viene chiamato **metabolismo**;

Esso comprende sia reazioni di demolizione di molecole allo scopo di ottenere energia e molecole più piccole (**catabolismo**), sia reazioni di genesi di molecole complesse partendo dalle sue unità e usando energia (**anabolismo** o **biosintesi**).



La vita di una tipica cellula animale somiglia alla nostra vita: estraiamo **energia dal cibo**, che si conserva in forma di **molecole cariche d'energia**, che poi si **consumano** nelle nostre attività giornaliere.

Nelle cellule, l'energia si ottiene dal cibo (zuccheri, grassi) grazie al catabolismo, ma non si usa tutta immediatamente: **si conserva in forma di legame chimico ad alta energia** all'interno di piccole molecole: i **trasportatori attivati**



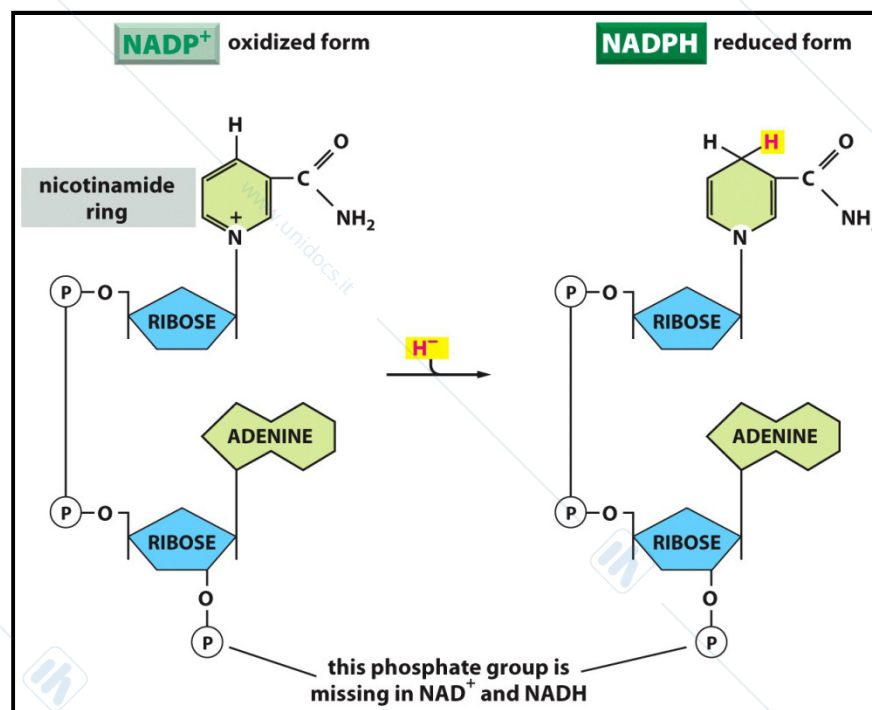
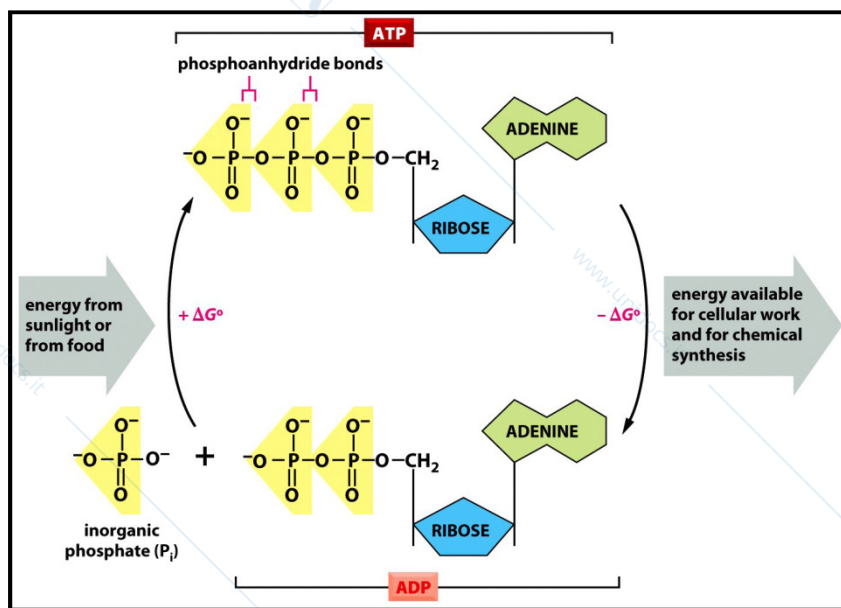
I trasportatori attivati più importanti sono tre:



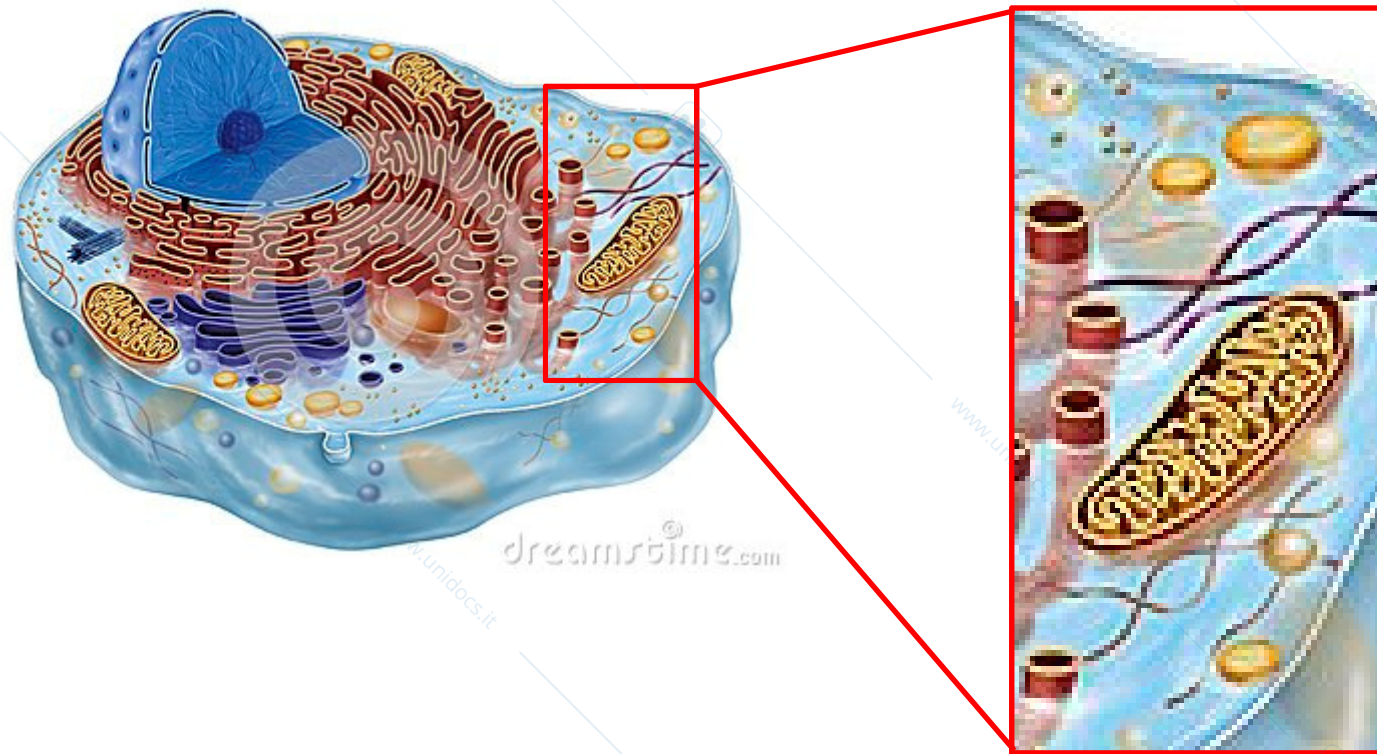
ATP: adenosina 5'-trifosfato

NADH/NAD⁺: nicotinammide adenina dinucleotide

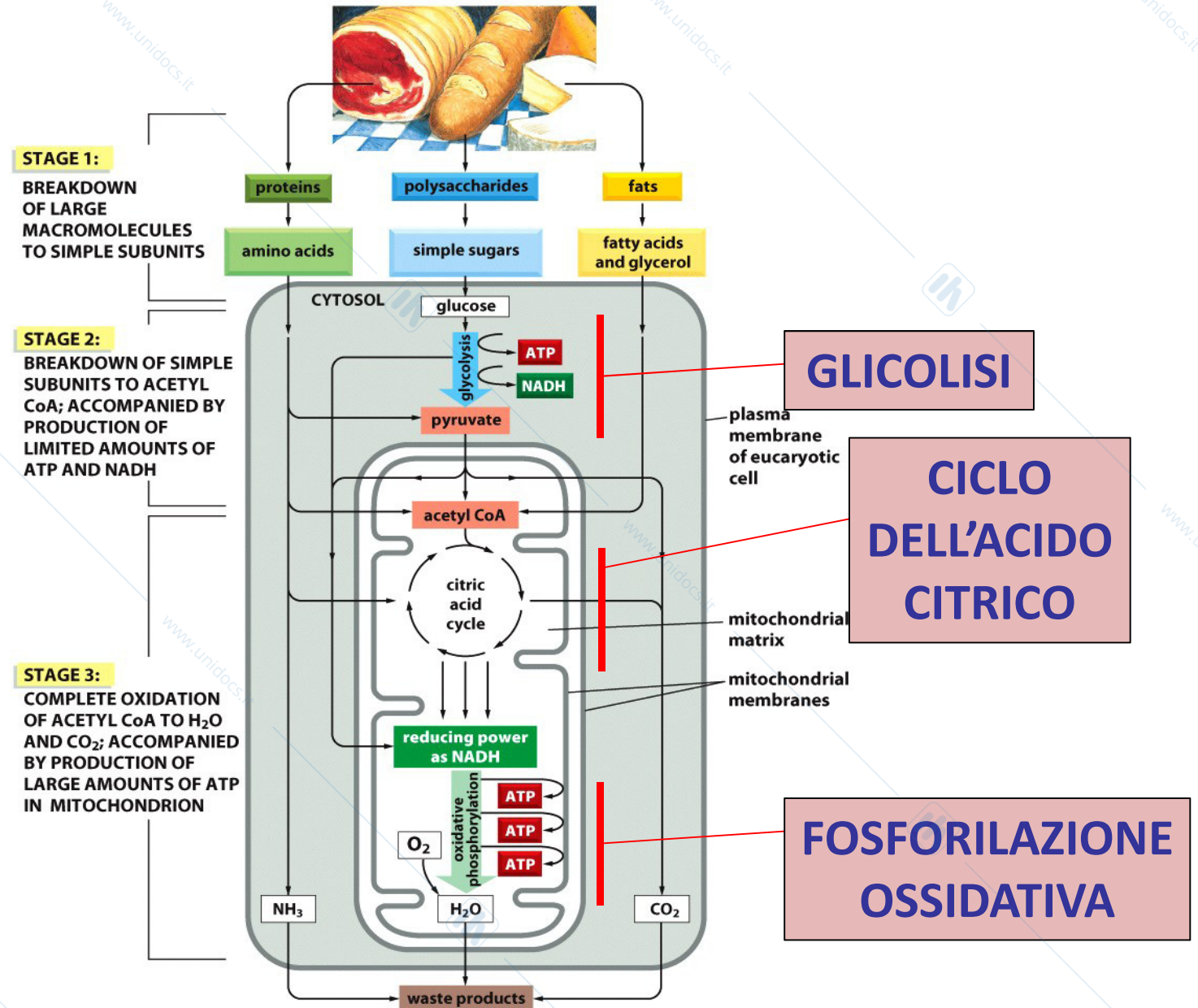
NADPH/NADP⁺: nicotinammide adenina dinucleotide fosfato



Metabolismo di una cellula – i distretti cellulari



Metabolismo di una cellula – glicolisi + fosforilazione ossidativa



Metabolismo di una cellula SANA: FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA

La **fosforilazione ossidativa** è il processo metabolico mediante il quale una molecola di **glucosio** viene scissa in due molecole di **piruvato** che, entrando nel ciclo di Krebs (o Tricarboxilic Acid Cycle - TCA), ha lo scopo di generare energia per la cellula. Il bilancio netto è di 36 molecole di **ATP** :



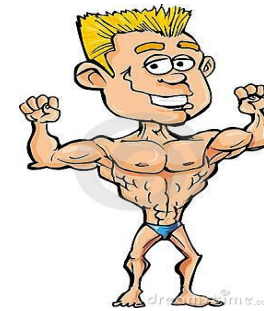
Ossidazione completa del glucosio

In assenza di ossigeno si possono avere:

- **FERMENTAZIONE ALCOLICA**
(lieviti, pane, birra...)



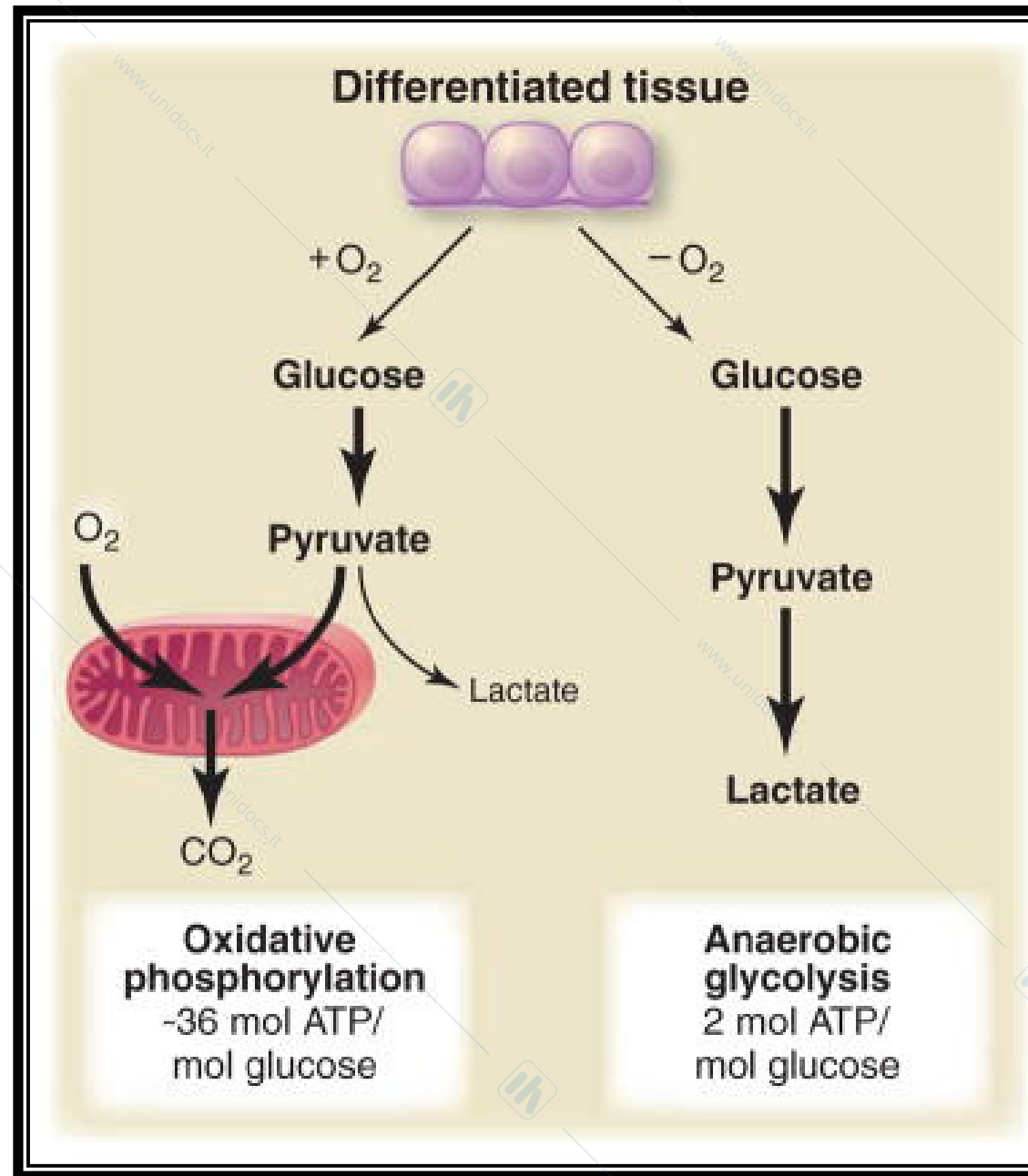
- **FERMENTAZIONE LATTICA**
(muscoli)



In assenza di ossigeno, la fosforilazione ossidativa viene sostituita dalla fermentazione lattica o **glicolisi anaerobia**.

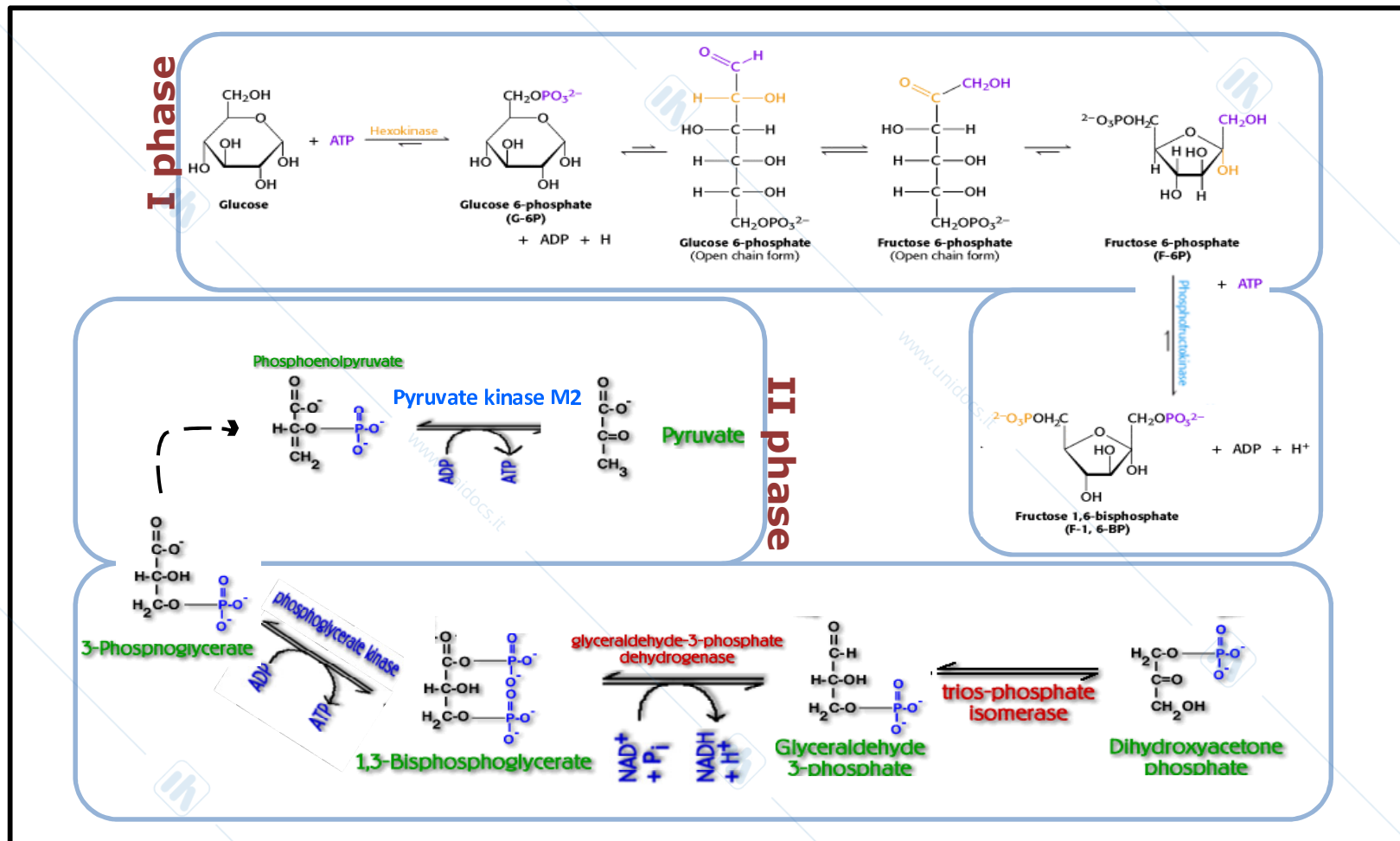
La **glicolisi anaerobia** è il processo metabolico mediante il quale una molecola di **glucosio** viene convertita in due molecole di **piruvato** che non entrano nel ciclo di Krebs, ma vengono convertite in **lattato**. Il bilancio netto è di 2 molecole di **ATP** :



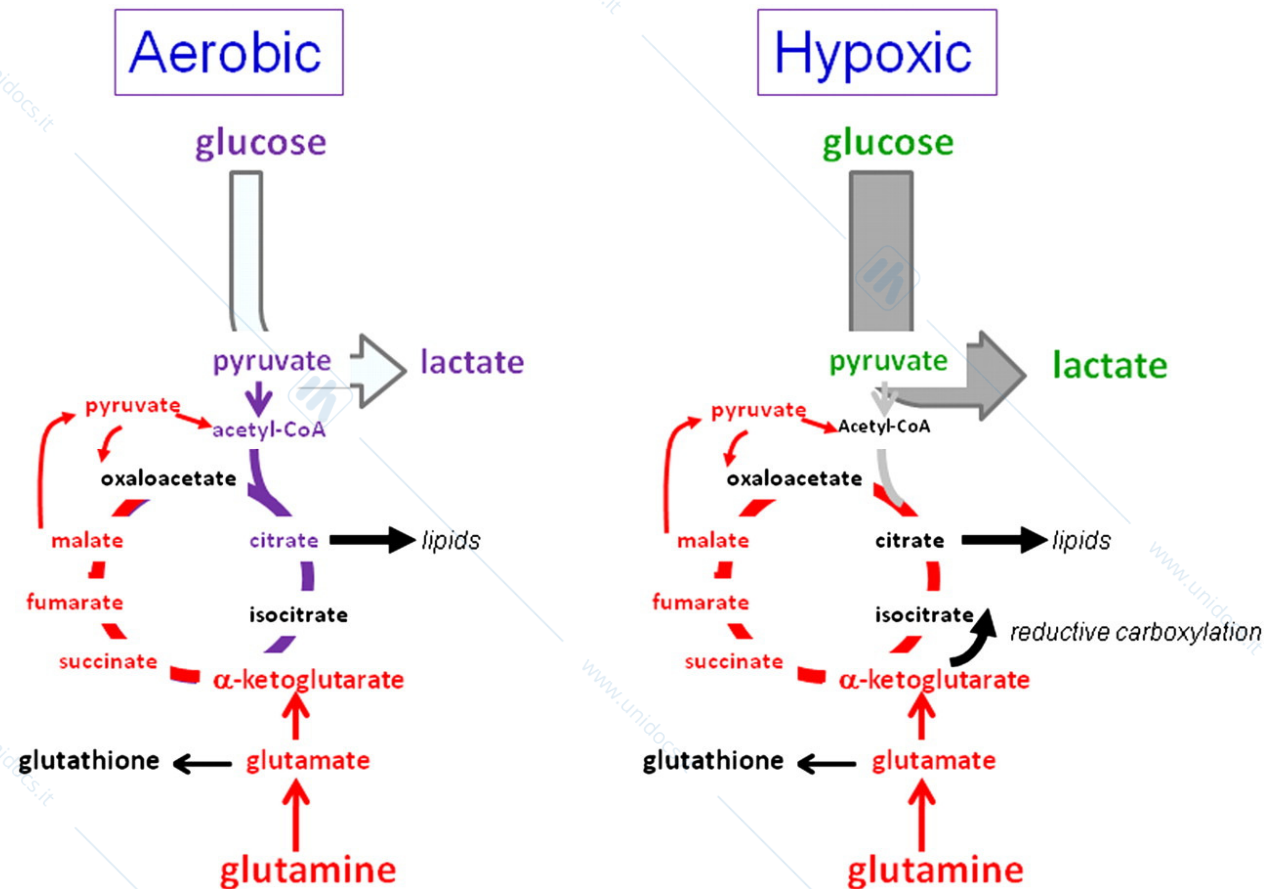


Glicolisi ed Effetto Warburg

La Glicolisi (via di Embden-Meyerhof) è il processo metabolico mediante il quale, in condizioni di anaerobiosi, una molecola di **glucosio** viene scissa in due molecole di **piruvato** al fine di generare 2 molecole di **ATP** e 2 molecole di **NADH**.



Hypoxia rewrites metabolism



While aerobic proliferating cells use glucose and glutamine for biomass production through the TCA cycle, hypoxic cells shunt glucose to lactate and rewire glutamine metabolism.

Glutamine can be used to drive the TCA cycle independently of glucose or contribute to lipid synthesis via reductive carboxylation of ketoglutarate generated from glutamine.

Dang C V Genes Dev. 2012;26:877-890



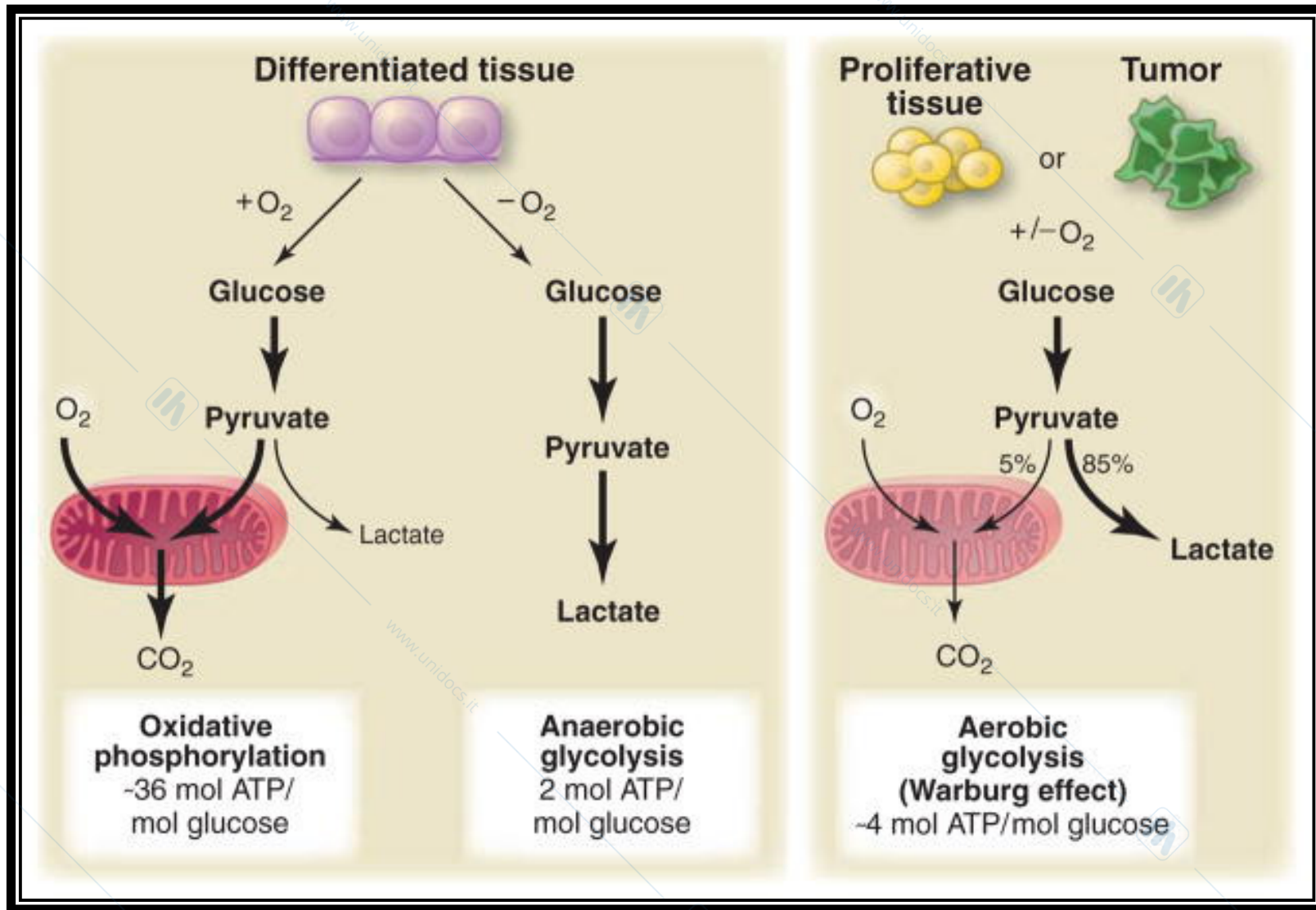
Copyright © 2012 by Cold Spring Harbor Laboratory Press

La glicolisi anaerobia non avviene solo in tessuti fortemente attivi dal punto di vista metabolico (epatociti, cellule pancreatiche, cellule muscolari sotto sforzo).

Cellule tumorali e altamente proliferanti producono la loro energia mediante il processo di glicolisi, anche in presenza di ossigeno.

“EFFETTO WARBURG”

Lo scopritore della glicolisi aerobia nei tumori **Otto Warburg** (1936) propose, alla base di questo fenomeno, un **difetto mitocondriale che provoca ridotta respirazione con conseguente incremento della glicolisi aerobia**.



Perché una cellula fortemente proliferante, e quindi presumibilmente legata alla necessità di produrre energia, scelga un processo sfavorito dal punto di vista metabolico?
(36 mol ATP vs 4 mol ATP)

Probabilmente, le cellule proliferanti hanno importanti richieste metaboliche che vanno oltre la produzione di ATP.

Infatti, **per produrre due cellule figlie alla mitosi, una cellula deve replicare tutti i suoi costituenti cellulari: ne consegue una importante richiesta di nucleotidi, amminoacidi e lipidi.**



Durante la crescita, il glucosio viene utilizzato per **generare biomassa** oltre ad ATP

Es. la sintesi di amminoacidi e nucleotidi consuma più equivalenti di carbonio e NADPH che di ATP

Per la sintesi di palmitato sono necessarie 7 molecole di ATP, 16 atomi di carbonio, 8 molecole di acetil-CoA, 14 molecole di NADPH

Una molecola di glucosio può generare fino a 36 molecole di ATP

Oppure

Fornire 6 atomi di carbonio per la sintesi di macromolecole

Per una cellula in proliferazione la maggior parte del glucosio non può essere indirizzato al catabolismo per la produzione di ATP.

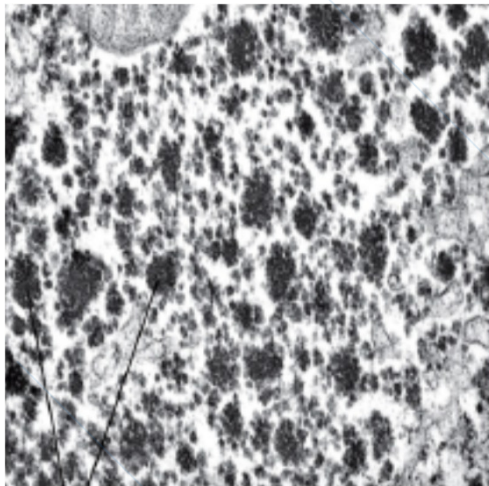
Alcune molecole di glucosio saranno indirizzate alla sintesi di precursori di macromolecole:

- **Acetil-CoA per gli acidi grassi**
- **intermedi della glicolisi per aa non essenziali**
- **ribosio per i nucleotidi**

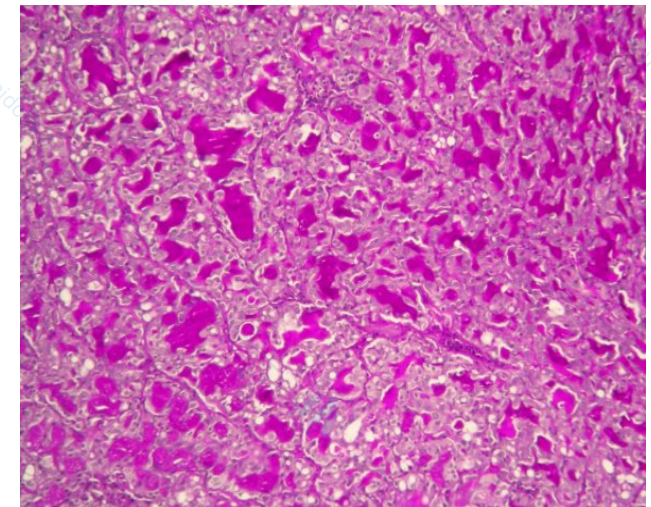
**UNA CELLULA TUMORALE ACCUMULA ENERGIA E BIOMASSA
CONTEMPORANEAMENTE**

UNA CELLULA TUMORALE AUMENTA L'UPTAKE DI GLUCOSIO

- Una cellula fortemente proliferante è metabolicamente costretta al continuo **accumulo di riserve**:
- **glicogeno e grassi** (negli animali), si possono usare per produrre energia in qualsiasi momento.
- Anche la biosintesi e demolizione del glicogeno è controllata a livello enzimatico da un metabolita chiave: il **glucosio 6-fosfato**, che è **in grado di attivare la glicogeno-sintasi e di inibire la glicogeno fosforilasi**
- Queste due vie sono regolate da ormoni: insulina, glucagone e adrenalina



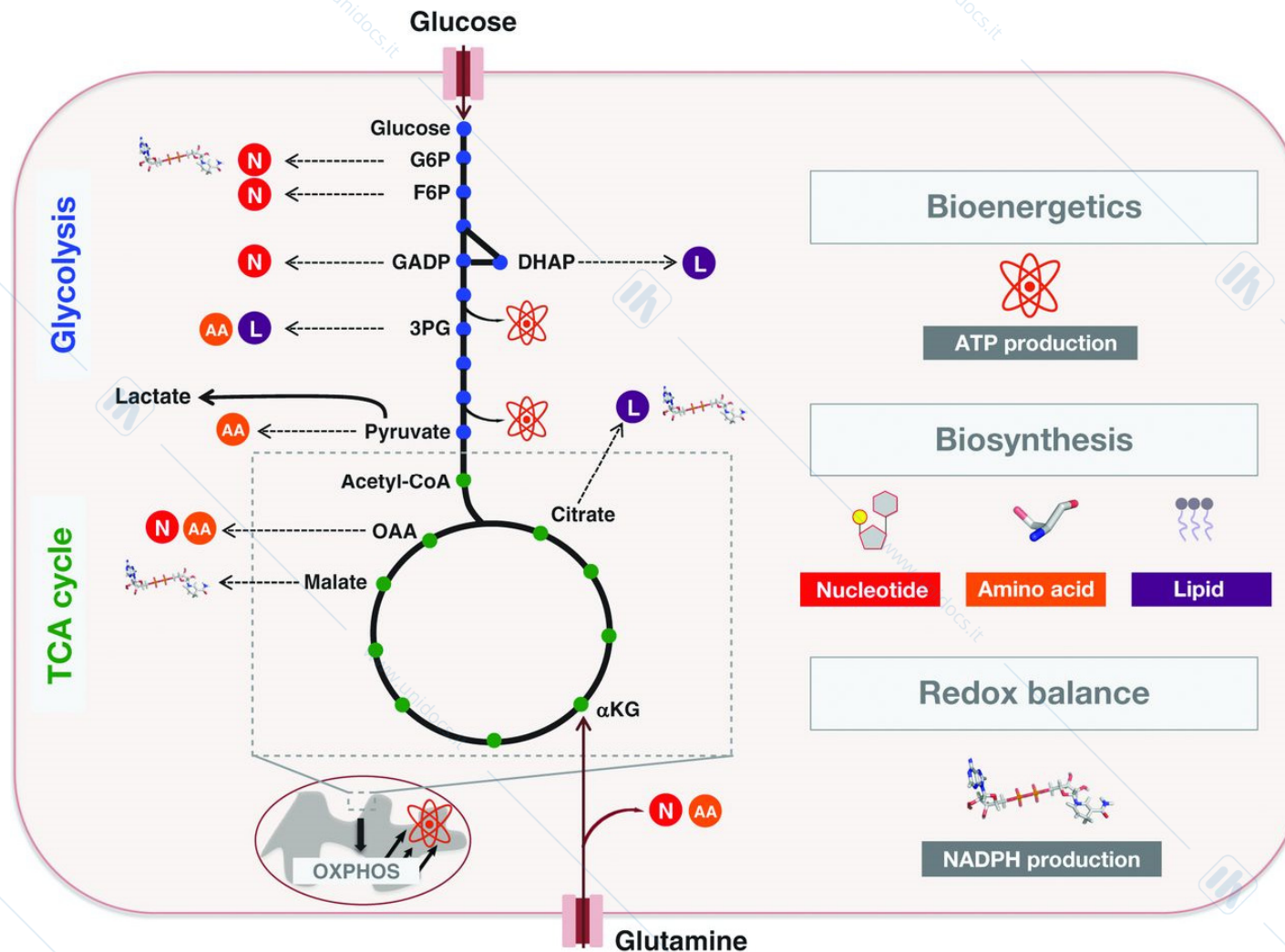
*Granuli di glicogeno
in un epatocita
normale*



*Tumore maligno delle
ghiandole salivari
(PAS staining)*

Gülsüm Ak et al. 2007

Glucose and glutamine fuel proliferation.



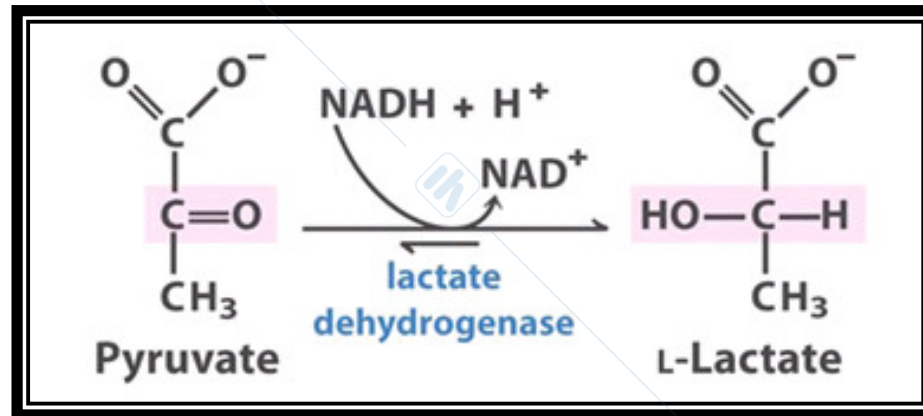
Cantor J R , and Sabatini D M Cancer Discovery
2012;2:881-898

©2012 by American Association for Cancer Research

AACR American Association
for Cancer Research

Gli enzimi che regolano la glicolisi aerobia

La conversione del piruvato in lattato coinvolge l'enzima **lattato deidrogenasi (LDH)**

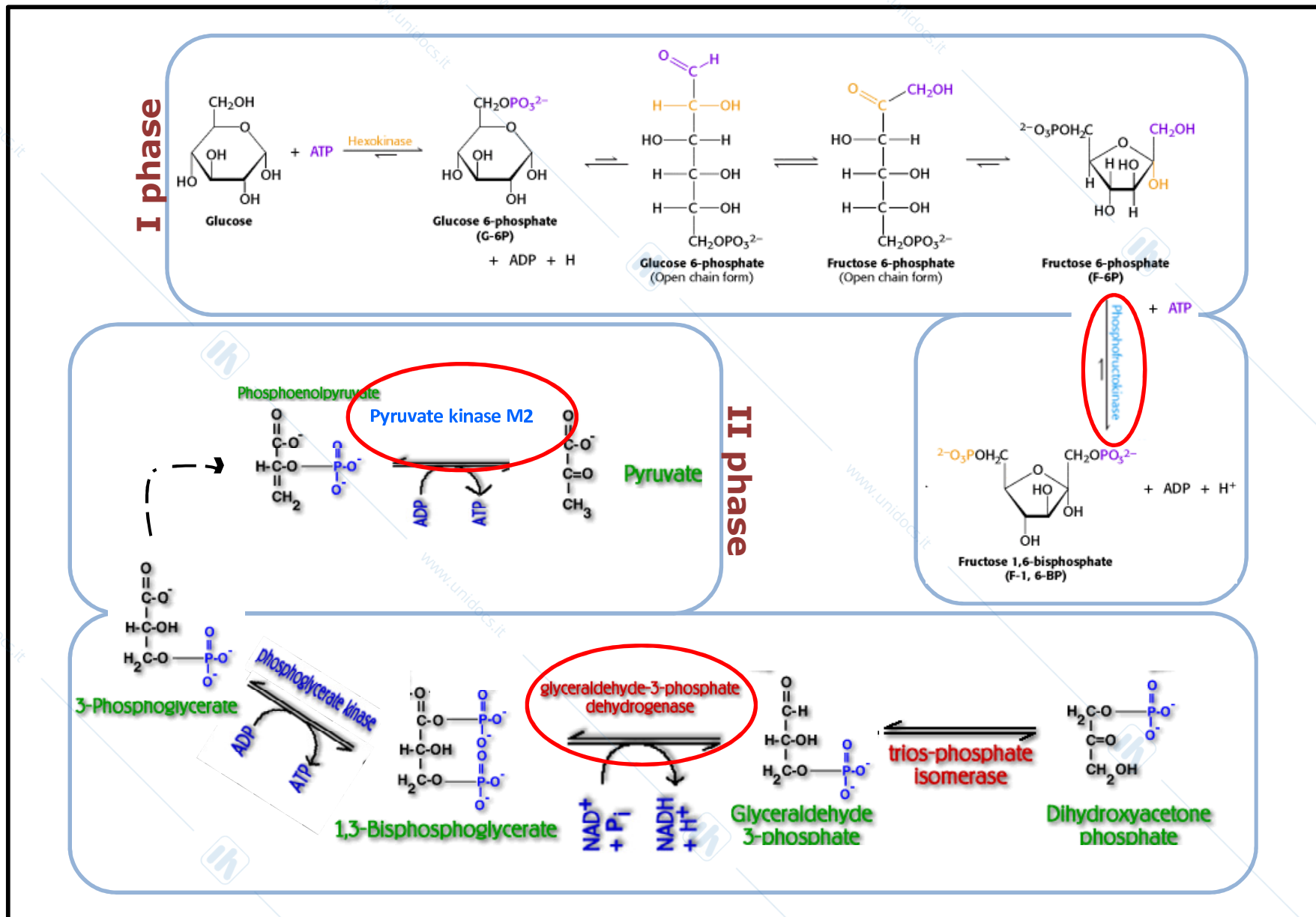


L'inibizione dell'attività dell' LDH riduce la proliferazione cellulare

Il **lattato prodotto** dalle cellule tumorali durante il processo descritto come Effetto Warburg **viene secreto**; paradossalmente così vengono eliminati 3 atomi di carbonio che potrebbero essere utilizzati per la produzione di ATP o biomassa.

MA... vi sono evidenze che il metabolismo cellulare all'interno del tumore possa essere eterogeneo e che altre cellule della massa neoplastica utilizzino l'eccesso di lattato generato .

Gli enzimi che regolano la glicolisi aerobia



Gli enzimi che regolano la glicolisi aerobia

Nelle cellule neoplastiche si trova sovra-espressione di altri enzimi che regolano la glicolisi aerobia:

- **fosfofrutto-kinasi 1 (PFK1)**
- **gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi (G3PDH)**
- **piruvato kinasi-M2 (PK-M2)**

In particolare, lo spegnimento della **PK-M2** nelle **cellule tumorali** e la sua sostituzione con la isoforma **M1**, determina la reversione dell'effetto **Warburg**; ne consegue una minore produzione di lattato e aumento del consumo di ossigeno.

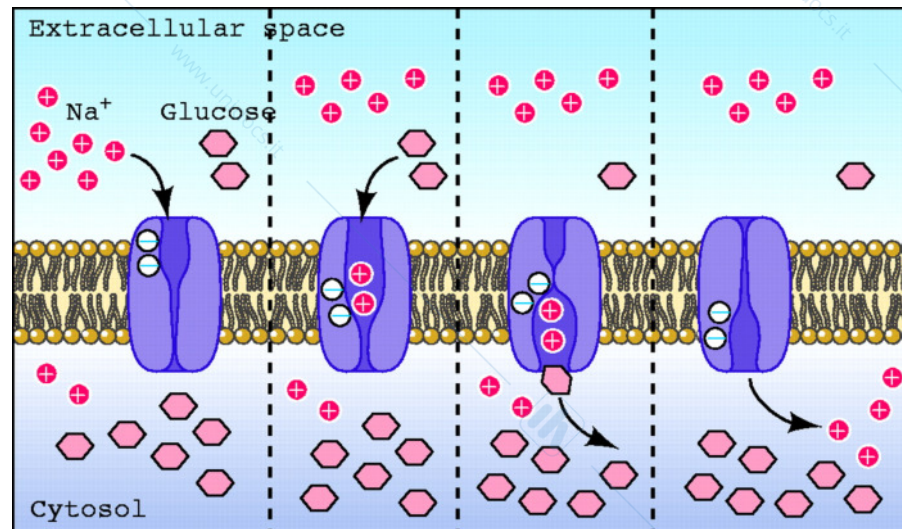
Queste cellule sono meno capaci di formare tumori in cavie animali.

GLUT-1

Per sostenere un tale bisogno di nutrienti, una cellula tumorale necessita di un maggiore apporto di glucosio nella via glicolitica.

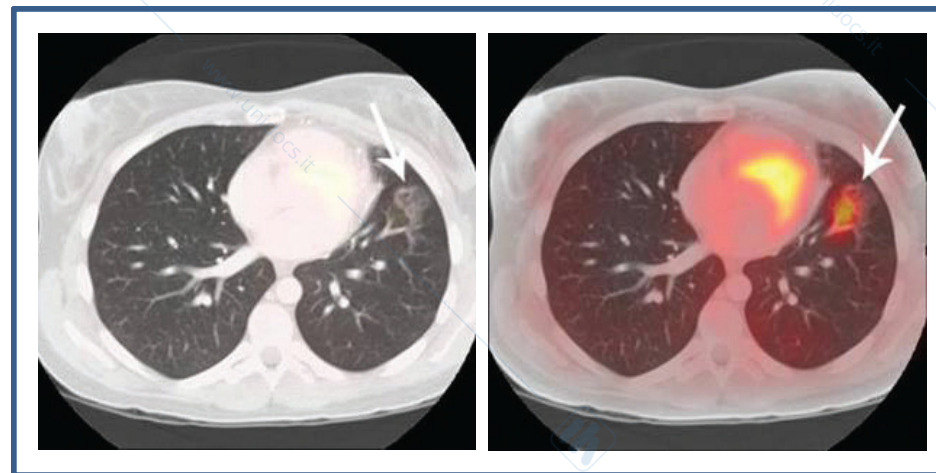
Infatti, Warburg postulò che una cellula tumorale era caratterizzata da un maggiore up-take di glucosio.

Le cellule tumorali aumentano l'espressione in membrana dei trasportatori a maggiore affinità per il glucosio (GLUT-1 e GLUT-4).



Questo fenotipo metabolico è alla base dell'imaging dei tumori divenuta un importante mezzo per la diagnosi ed il trattamento del cancro

- Il metabolismo del glucosio da parte dei tessuti viene indagata mediante l'assunzione di un analogo del glucosio (FDG), marcato con una piccola quantità di radioattivo (2 - ^{18}F - 2 - deoxyglucosio)
- La molecola radioattiva è un isotopo del Fluoro (^{18}F)
- l'analisi viene condotta mediante **tomografia ad emissione di positroni (PET)**



TAC

PET

Immagini di FDG-PET
analizzate mediante
tomografia
computerizzata.

Prima della terapia
l'FDG si trova nella
massa tumorale (T).

Dopo la terapia l'FDG
non è più presente
nella massa tumorale e
si trova localizzato nei
reni (K) e nella vescica
(B) poiché viene
eliminato con le urine.



Risulta chiaro a questo punto quanto importante sia mantenere sotto controllo l'apporto di glucosio che giornalmente forniamo al nostro organismo, sottoforma di regime alimentare.

E' infatti evidente la relazione tra OBESITA' e CANCRO, facendo della prima un vero e proprio fattore di rischio (Khandekar et al. 2011), al pari del diabete perché strettamente legato alla insulino-resistenza

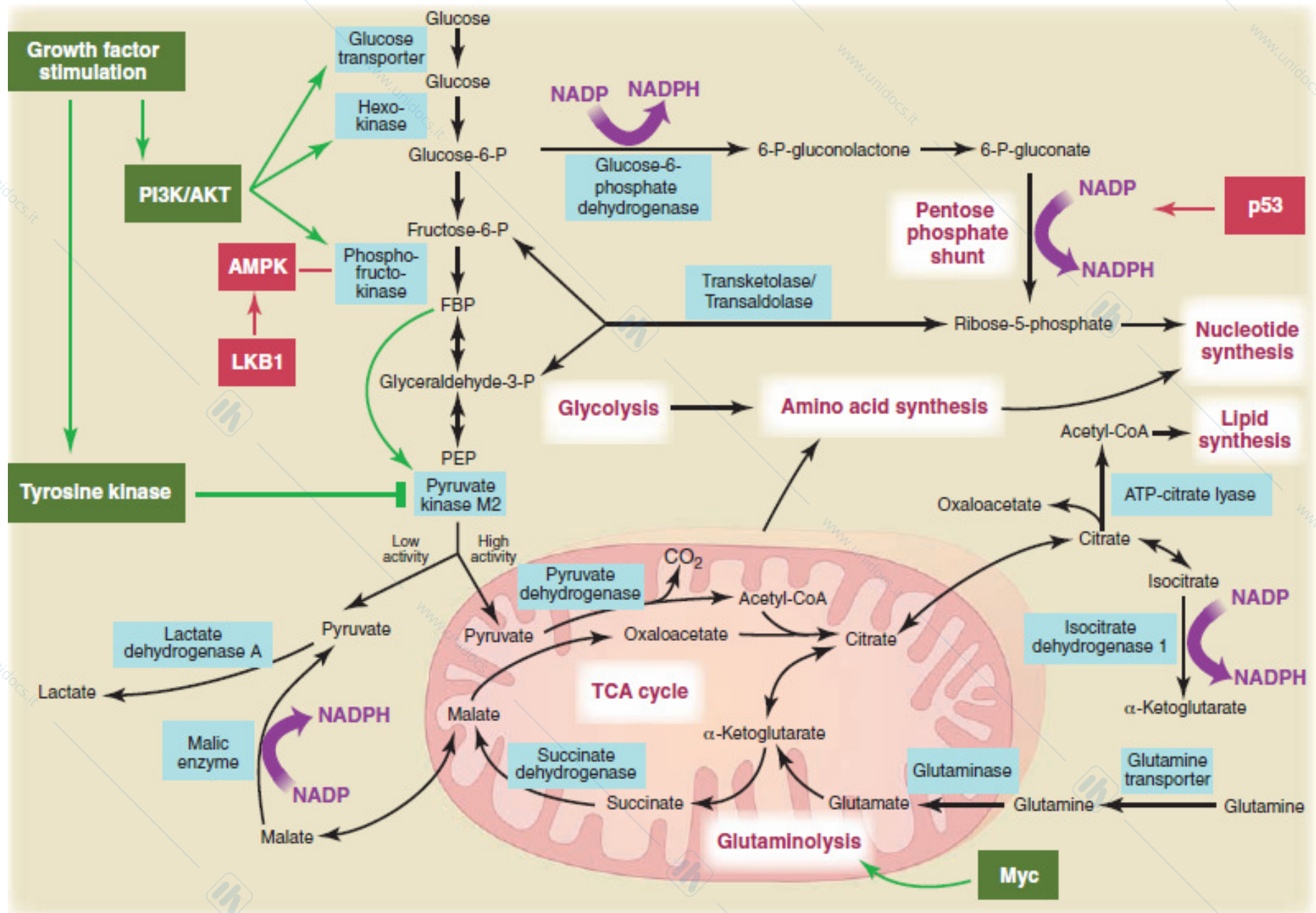
Quali sono le opportunità terapeutiche ?

Comprendere come funziona il metabolismo di una cellula tumorale e quale sia l'apporto del glucosio e della glutamina ci permette di indicarli come possibili target farmacologici, inducendoci a immaginare molecole di nuova generazione ad azione antitumorale

A complicare il tutto c'è la intricata rete di equilibri che costituiscono il bilancio energetico di una cellula tumorale e che sottendono alla delicata omeostasi cellulare.

Da qui, la difficoltà di identificare un singolo target farmacologico.

... La ricerca oncologica è un continuo WORK IN PROGRESS...



MG Heiden and LC Cantey (2009). "Understanding the Warburg effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation". *Science*. 324 : 1029–1033

Cachessia neoplastica

- Le alterazioni metaboliche e l'invasione locale e a distanza portano ad **alterazioni dell'intero organismo** che esitano nella condizione di cachessia neoplastica.
- **Cachessia neoplastica:** sindrome a cui vanno incontro i malati negli stadi terminali dei tumori maligni caratterizzata da progressiva perdita di grasso e di peso, profonda astenia, anoressia ed anemia.



Mediatori della cachessia neoplastica e loro effetti

- TNF- α
 - IL-1
 - IL-6
 - IFN- γ
 - LMF (Fattore mobilizzante i lipidi)
 - PMF (Fattore mobilizzante le proteine)
 - PIF (Fattore inducente la proteolisi)
-
- Riducono l'appetito
 - Stimolano il metabolismo basale
 - Stimolano l'uptake di glucosio
 - Stimolano la mobilizzazione di grassi e proteine dai depositi
 - Riducono l'attività della LPL adipocitaria
 - Facilitano il rilascio di aa dal muscolo

Cachessia neoplastica

Complessivamente caratterizzata da:

- alterazioni funzionali degli organi colpiti
- ulcerazioni
- emorragie
- anomalie ormonali
- alterazioni ematologiche
- alterazioni della coagulazione
- alterazioni del metabolismo del calcio
- depauperamento delle riserve dell'organismo
- deperimento fisico, progressiva perdita di peso, astenia
- riduzione delle difese
- infezioni

Cause di decesso dei pazienti neoplastici

- infezioni (circa il 30%)
- emorragie e fenomeni trombo-embolici
- insufficienze d'organo
- cachessia (1%)