

INIBIÇÃO DA GLICÓLISE COMO ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER

Fernanda Silva Galdino¹
Shirley Maria Torreyas Dall'Agnol²
Katiúcia Auxiliadora Tavares Caminha³
Maria Aparecida Tavares Fialho Bezerra⁴
Rodolfo de Abreu Carolino⁵

RESUMO

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura utilizando artigos científicos publicados nas bases de dados online: PubMed, SciELO e BVS, utilizando como descritores: *warburg effect* and *cancer* and *glycolysis* and *lactate*. Como critério de inclusão os seguintes filtros foram aplicados: texto completo em inglês e português, publicados entre os anos de 2008 e 2019. Para promover a inibição da glicólise, foi utilizado inicialmente a molécula de 2-deoxiglicose, como um inibidor competitivo da via, pois, devido a sua estrutura semelhante a molécula de glicose, também é fosforilada pela hexoquinase. Apesar de diminuir a produção de ATP na célula tumoral e inibir sua proliferação, a inibição causada pela 2-DG é apenas parcial, limitando sua ação como monoterapia. Outro agente estudado é o 3-Bromopiruvato, que atua como um agente análogo ao piruvato e como agente alquilante. Estudos sugerem que o 3-Bromopiruvato entra na célula cancerígena por meio dos canais MCTs, que são responsáveis pelo efluxo de lactato, causando a inibição da hexoquinase, bloqueando, assim, a glicólise. A lonidamina aparenta exercer uma ação indireta e inibitória sobre a hexoquinase, uma pesquisa utilizando 600 μM de lonidamina em uma linhagem de câncer de próstata demonstrou a diminuição da atividade da enzima, após a administração. O desenvolvimento de agentes terapêuticos que atuem utilizando esse princípio não tem apresentados resultados promissores por conta da toxicidade apresentada pelos fármacos e pela plasticidade características das células cancerígenas, evidenciando a necessidade no aumento de pesquisas que busquem desenvolver mecanismo que melhorem a seletividade celular.

Palavras-chave: Glicólise, Efeito Warburg, Câncer, Terapia.

INTRODUÇÃO

Câncer é definido como uma doença originada pela divisão e multiplicação desordenada de células teciduais. Sendo essa divisão, causada por alterações no DNA celular que promovem a desregulação dos fatores indutores de crescimento e dos fatores inibidores de crescimento ou

¹ Graduanda do Curso de Farmácia da Faculdade Santa Maria - FSM, galdinofernanda02@gmail.com;

² Mestre em Ciências da Educação pela Universidad Autonoma de Asunción – PY, shirleytorreyas@hotmail.com;

³ Graduada em Contabilidade pelo Centro Universitário de João Pessoa - UNIPÊ, Katiuci.kt@gmail.com;

⁴ Especialista em Educação Física pela Universidade Federal da Paraíba - UFPB, apa.tavares@bol.com.br;

⁵ Professor orientador: Mestre em Odontologia, Faculdade Santa Maria-FSM, rodolfoorg@yahoo.com.br;

indutores de apoptose. O desequilíbrio entre esses fatores provoca o crescimento desordenado celular, podendo gerar a proliferação de células que possuem a capacidade de invadir outros tecidos e o potencial de formar tumores (DAYTON; JACKSON; HEIDEN, 2016).

Para prosseguir com a sua proliferação, as células cancerígenas necessitam alterar os processos bioquímicos, presentes em células normais, para promover mecanismos como a angiogênese, invasão de outros tecidos, multiplicação, evasão do controle de crescimento e de morte celular e inibição da resposta imune. Assim, para realizar esses processos, o metabolismo da célula tumoral passa por uma reprogramação metabólica, alterando etapas do processo metabólico normal para suprir sua demanda energética. E, são essas alterações um dos mecanismos utilizados para diferenciar a célula saudável da célula cancerígena (ELIA et al, 2015).

Fisiologicamente, o metabolismo celular é realizado por meio de reações anabólicas e catabólicas, com o propósito de produzir energia e substratos fundamentais para o funcionamento das funções celulares. A rota central do processo de produção energética, utilizando a quebra anaeróbica da glicose, denomina-se glicólise. Nessa rota, a glicose passa por 10 reações, catalisadas por enzimas específicas, que culminam na formação de duas moléculas de ATP, duas moléculas de piruvato, duas moléculas de NADH e duas moléculas de água, para cada molécula de glicose utilizada. (NELSON, COX, 2014).

Apesar de ser um processo rápido para a produção de ATP, em condições onde o oxigênio está disponível para a célula, a glicólise é priorizada para gerar moléculas como o piruvato, que é direcionado para o ciclo do ácido cítrico e, em seguida, para a fosforilação oxidativa, possuindo um maior rendimento energético (KALYANARAMAN, 2017).

Entretanto, em 1920 Otto Warburg elucidou o mecanismo de produção energética das células tumorais, demonstrando a preferência dessas células pela utilização da via glicolítica, mesmo em condições onde há disponibilidade de oxigênio (KOPPENOL, BOUNDS, DANG, 2011). Através da pesquisa desse mecanismo, Hanahan e Weinberg, no ano de 2011, reconheceram as alterações no metabolismo da glicose como sendo uma etapa prioritária para o processo neoplásico maligno (HANAHAN, WEINBERG, 2011).

Ao considerar o processo de glicólise aeróbica como uma característica fundamental para o crescimento tumoral, o estudo de mecanismos que possam provocar inibição de enzimas reguladoras desse processo metabólico torna-se uma alternativa na busca de opções terapêuticas mais eficazes para o combate ao câncer. Por esse motivo, o presente

estudo busca apresentar, por meio de uma revisão da literatura, as substâncias atualmente estudadas que promovem a inibição do crescimento tumoral através da inibição metabólica.

METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura utilizando artigos científicos publicados nas bases de dados online: PubMed, SciELO e BVS, utilizando como descritores: *warburg effect* and *cancer* and *glycolysis* and *lactate*. Como critério de inclusão os seguintes filtros foram aplicados: texto completo em inglês e português, publicados entre os anos de 2008 e 2019. Após o emprego desses critérios, encontrou-se 20 artigos dos quais foram selecionados 17 que atendiam ao objetivo do estudo.

DESENVOLVIMENTO

Otto Warburg iniciou seus estudos sobre as diferenças entre a respiração celular de células normais e células tumorais, por meio da medição do consumo de oxigênio na atividade respiratória de tecidos hepáticos e renais saudáveis de ratos e de tecidos tumorais. Através desses experimentos, notou-se poucas diferenças entre as quantidades de oxigênio consumidas nos tecidos saudáveis, em comparação com os tecidos tumorais (DAYTON et al, 2016).

Entretanto, ao medir a quantidade de lactato produzida, para mensurar a taxa de fermentação, foi observado que, em condições onde não havia disponibilidade de oxigênio, ambos os tecidos produziam quantidades semelhantes de lactato. Porém, quando colocado em condição aeróbica, os tecidos saudáveis reduziram a quantidade de lactato produzida enquanto que, nos tecidos tumorais, essa quantidade continuou aumentada (DAYTON et al, 2016).

A descoberta desse mecanismo possibilitou o desenvolvimento de estudos posteriores onde foi evidenciado o fato de que, nas células tumorais, o piruvato produzido ao final da glicólise é direcionado para fermentação e produção de lactato, mesmo em condições aeróbicas, contrariando, assim, o fluxo metabólico normal das células saudáveis (KALYANARAMAN, 2017). Tendo em vista que, em células normais, apenas em condições onde não há presença de oxigênio o piruvato é direcionado para a fermentação e, já em condições aeróbicas normais, a molécula de piruvato é incorporada ao ciclo do ácido cítrico para, posteriormente, ser metabolizada em CO₂ e H₂O na fosforilação oxidativa para a geração de maiores quantidades de ATP. Essa mudança metabólica encontrada nas células tumorais tornou-se um dos primeiros

marcadores bioquímicos do câncer e ficou denominada como glicólise aeróbica ou efeito Warburg (VANDER HEIDEN, CANTLEY, THOMPSON, 2009).

Além da alteração na utilização do piruvato, as células cancerígenas também apresentam alteração metabólicas em relação a quantidade de glicose consumida. Pois, o processo de glicólise nessas células possui uma velocidade de atividade elevada, em relação as células normais, podendo estar aumentado em até 10 vezes (NELSON, COX, 2014). O consumo aumentado da glicose é facilitado por meio do aumento da expressão de transportadores de membrana GLUT, além disso, a expressão dos oncogenes AKT, MYC e HIF, responsáveis pela regulação tumoral, causam um aumento exponencial das enzimas limitantes de velocidade na glicólise, elevando a atividade dessa via (MARIE, OBA SHINJO, 2011).

Por ser um processo que, originalmente, possui pouco rendimento de ATP, a preferência da célula cancerígena pela via glicolítica, em detrimento de outras rotas metabólicas mais rentáveis em ATP se torna uma questão. Ao descrever o efeito da glicólise aeróbica presente nas células tumorais, Warburg sugeriu que a preferência por essa rota metabólica se dava por conta de possíveis defeitos na mitocôndria das células tumorais dificultando, assim, a fosforilação oxidativa e direcionando a célula para compensar a demanda energética utilizando a glicólise (KALYANARAMAN, 2017).

Porém, estudos posteriores indicaram que esta hipótese estava incorreta, demonstrando que a célula cancerígena executa a glicólise aeróbica por conta da necessidade de utilização das substâncias intermediárias produzidas durante a glicólise, como NADPH, ribose-6-fosfato, aminoácidos e lipídios que são necessários para a proliferação (MARIE, OBA SHINJO, 2011).

Além disso, o lactato produzido nesse processo promove uma vantagem adaptativa para a célula cancerígena com a criação de um mecanismo que, por meio de um transportador de membrana MCT1, transporta lactato para o meio extracelular permitindo que outras células tumorais captem essa substância e utilizem como fonte energética e a acidez gerada pelo aumento da concentração de lactato extracelular induz a angiogenese para a área tumoral (COURTNEY et al, 2015). O entendimento do importante papel exercido pelo metabolismo de glicose na célula cancerígena possibilitou o estudo de a gentes terapêuticos que atuem nesse metabolismo, com o intuito de diminuir e impedir o crescimento tumoral (SHAFAEI et al, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a via glicolítica, três enzimas catalisam reações consideradas irreversíveis e limitadoras de velocidade da via. A hexoquinase é a enzima responsável por catalisar a primeira reação irreversível da glicólise, essa enzima promove a adição de um grupo fosfato na posição 6 da cadeia carbônica da molécula de glicose que, por conta dessa modificação na sua estrutura, é impedida de sair da célula e segue para as outras etapas da via glicolítica (NELSON, COX, 2014). A hexoquinase configura-se, então, como uma enzima fundamental para a glicólise, além disso, foi observado que sua expressão nas células cancerígenas é aumentada, em comparação as células normais. Por esse motivo, uma das primeiras terapias de inibição glicolítica utilizou esta enzima como alvo terapêutico (BHATTACHARYA, OMAR, SOONG, 2015).

Para promover a inibição da glicólise, foi utilizado inicialmente a molécula de 2-deoxiglicose, como um inibidor competitivo da via, pois, devido a sua estrutura semelhante a molécula de glicose, também é fosforilada pela hexoquinase. Porém, ao contrário da glicose, após a fosforilação, a 2-deoxiglicose não pode mais ser metabolizada pelas enzimas posteriores, bloqueando, assim, a via glicolítica. Apesar de diminuir a produção de ATP na célula tumoral e inibir sua proliferação, a inibição causada pela 2-DG é apenas parcial, limitando sua ação como monoterapia. Além disso, foi observado que essa substância provoca efeitos tóxicos nas células saudáveis, pois estas possuem a enzima hexoquinase, demonstrando a necessidade de pesquisas que aprimorem a ação dessa substância (KALYANARAMAN, 2017).

Outro agente estudado é o 3-Bromopiruvato, que atua como um agente análogo ao piruvato e como agente alquilante. Nos experimentos *in vivo* utilizando ratos, o 3-BP apresentou uma alta atividade anticâncer em tumores hepáticos, com 70% de diminuição tumoral após uma única administração e, após quatro semanas de tratamento, os tumores de 100% da população de ratos foram erradicados, o estudo não relatou a ocorrência de efeitos colaterais nos animais utilizados (SUDHAKAR, 2009).

Apesar de ainda não possuir seu mecanismo de ação totalmente elucidado, estudos sugerem que o 3-Bromopiruvato entra na célula cancerígena por meio dos canais MCTs, que são responsáveis pelo efluxo de lactato, quando no interior da célula, essa molécula causa a inibição da hexoquinase, bloqueando, assim, a glicólise. Além disso, também é sugerido como mecanismo de ação do 3-BP, a inibição de um transportador de fosfato mitocondrial, que atua na fosforilação oxidativa, bloqueando a produção mitocondrial de ATP (LIS et al, 2016).

Em 1970 a lonidamina foi introduzida no mercado farmacêutico como um agente antiespermatogênico, porém, posteriormente foi observado sua moderada atividade antineoplásica, quando utilizada em monoterapia, mas quando combinada com agentes

quimioterápicos como o vemurafenib, anthracyclines e radioterapia notou-se um aumento na resposta terapêutica, sem gerar danos nos tecidos saudáveis (NATH et al, 2016).

Apesar de ainda não totalmente elucidado, as evidências sugerem que a lonidamina atua inibindo o efluxo de lactato pelos canais MCT e também a captação mitocondrial do piruvato, por meio dos carreadores MPC. Além disso, é sugerido que o bloqueio da respiração mitocondrial ocorre, também, por meio do bloqueio da cadeia transportadora de elétrons nos complexos II, I e no processo de redução exercido pela ubiquinona. A nível de glicólise, apesar de ainda não esclarecido, alguns estudos sugerem que a lonidamina aparenta exercer uma ação indireta e inibitória sobre a hexoquinase, uma pesquisa utilizando 600 μM de lonidamina em uma linhagem de câncer de próstata demonstrou a diminuição da atividade da enzima, após a administração (CERVANTES-MADRID, DUENAS-GONZALEZ, 2015).

Em relação à toxicidade apresentada, nos testes *in vivo* utilizando a administração de 400 mg/m^2 de lonidamina por via intravenosa e 1200 mg/m^2 por via oral, duas vezes ao dia, em cachorros, resultou no aumento da enzima alanina amino transferase, o que representa toxicidade pancreática e hepática aguda. Nos testes clínicos, onde a lonidamina foi administrada oralmente, de forma crônica, em pacientes para o tratamento de hiperplasia benigna de próstata, também foi observado o aumento das enzimas ALT e AST (NATH et al, 2016).

As outras duas enzimas que executam reações irreversíveis na glicólise e que podem configura-se como possíveis alvos de inibição são: a fosfofrutoquinase, que utiliza uma molécula de ATP para converter a frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato, e a piruvato quinase sendo responsável por catalisar a transferência de um grupo fosfato do fosfoenolpiruvato para uma molécula de ADP, formando o piruvato. A molécula PFKFB3 – 3-(3-pyridinyl)-1-(4-pyridinyl)-2-propen-1-one (3PO), é estudada como inibidora da fosfofrutoquinase, possuindo a capacidade de bloquear o fluxo glicolítico e retardar o crescimento tumoral em linhagens de adenocarcinoma (SCATENA et al, 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as alterações metabólicas geradas pelo câncer, a via glicolítica apresenta-se como um promissor alvo para a intervenção terapêutica. Por ser uma rota energética essencial para a sobrevivência da célula neoplásica e para sua proliferação, o desenvolvimento de fármacos que possuam a capacidade de modular ou inibir a atividade dessa via traz novas alternativas para o tratamento dessas neoplasias.

Porém, apesar de mostra-se como uma alternativa promissora para o tratamento do câncer, a pesquisa e o desenvolvimento de agentes terapêuticos que atuem utilizando esse princípio não tem apresentados resultados promissores por conta da toxicidade apresentada pelos fármacos e pela plasticidade características das células cancerígenas. Dessa forma, faz se necessário o aumento de pesquisas que busquem desenvolver mecanismo que melhorem a seletividade celular e que também atuem com a inibição de outras rotas metabólicas, como por exemplo, a fosforilação oxidativa.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, M.; AMELIO, I.; ANTONOV, A.; CUTRUZZOLA, F.; MELINO, G. Serine and glycine metabolism in cancer. *Trends in Biochemical Sciences*, v. 39, n. 4, 2014.

BHATTACHARYA, B.; OMAR, M.F.M.; SOONG, R. The Warburg effect and drug resistance. *British Journal of Pharmacology*, v. 173, p. 970–979, 2016.

CERVANTES-MADRID, D.; DUENAS-GONZALEZ, A. Antitumor effects of a drug combination targeting glycolysis, glutaminolysis and de novo synthesis of fatty acids. *Oncol Rep*, v.34, n.3, p.1533–1542, 2015.

COURTNAY, R.; NGO, D. C.; MALIK, N.; VERVERIS, K.; TORTORELLA, S. M.; KARAGIANNIS, T. C. Cancer metabolism and the Warburg effect: the role of HIF-1 and PI3K. *Molecular Biology Reports*, v.42, n.4, p.841–851, 2015.

DAYTON, T. L.; JACKS, T.; VANDER HEIDEN, M. G. PKM2, cancer metabolism, and the road ahead. *EMBO Reports*, v.17, n.12, p. 1721–1730, 2016.

ELIA, I.; SCHMIEDER, R.; CHRISTEN, S.; FENDT, S.M. (2015). Organ-Specific Cancer Metabolism and Its Potential for Therapy. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 321–353, 2015.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, v.144, n. 5, p.646–674, 2011.

KALYANARAMAN, B. Teaching the basics of cancer metabolism: Developing antitumor strategies by exploiting the differences between normal and cancer cell metabolism. *Redox Biology*, v.12, p.833–842, 2017.

KOPPENOL, W.H.; BOUNDS, P.L.; DANG, C.V. Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism, *Nat. Rev. Cancer*, v.11, n. 5, p. 325–337, 2011.

LIS, P.; JURKIEWICZ, P.; CAL-BAKOWSKA, M.; KO, Y.H.; PEDERSEN, P.L.; GOFFEAU, A.; UŁASZEWSKI, S. Screening the yeast genome for energetic metabolism pathways involved in a phenotypic response to the anti-cancer agent 3-bromopyruvate. *Oncotarget*, v. 7, n. 9, 2016.

MARIE, S.K.N.; OBA-SHINJO, S.M. Metabolism and Brain Cancer. *Clinics*, v.66, p.33-43, 2011.

NATH, K; GUO, L; NANCOLAS, B; NELSON, D.S; SHESTOV, A.A.; LEE, S.C.; ROMAN, J.; ZHOU, Z.; LEEPER, D.B.; HALESTRAP, A.P.; BLAIR, I.A.; GLICKSON, J.D. Mechanism of Antineoplastic Activity of Lonidamine. *Biochim Biophys Acta*, v.1866, n.2, p.151–162, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. Porto Alegre: Artmed, 2011. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

SCATENA, R.; BOTTONI, P.; PONTOGLIO, A.; MASTROTOTARO, L.; Bruno GIARDINA, B. Glycolytic enzyme inhibitors in cancer treatment. *Expert Opin. Investig. Drugs*, v. 17, n. 10, 2008.

SHAFABEE, A.; DASTYAR, D.Z.; ISLAMIAN, J.P.; HATAMIAN, M. Inhibition of tumor energy pathways for targeted esophagus cancer therapy. *Metabolism*, v. 64, n. 10, p.1193–1198, 2015.

SUDHAKAR, A. History of cancer, ancient and modern treatments. *J. Cancer Sci. Ther*, v.1, p.1–7, 2009.

VANDER HEIDEN, M.G; CANTLEY, L.C; THOMPSON, C.B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation, *Science*, v. 324, p.1029–1033, 2009.