

Cáncer de colon: nuevos hallazgos moleculares y posible importancia clínica

Colon cancer: new molecular findings and their potential clinical relevance

Francisca María Santandreu Jaume

*Grupo Multidisciplinar de Oncología Traslacional,
Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut. Universitat de les Illes Balears*

Correspondencia

Francisca María Santandreu
Grupo Multidisciplinar de Oncología Traslacional
Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut,
Universitat de les Illes Balears.
Carretera de Valldemossa, km. 7,5.
Palma de Mallorca, 07122. Illes Balears
Tel. +34 971 22 83 21. Fax. +34 971 22 83 24. E-mail: cim@cofib.es

Recibido: 11 - I - 2013

Aceptado: 3 - II - 2013

doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.28.01.35

Resumen

Las células tumorales son capaces de adaptarse a condiciones desfavorables como la hipoxia, el estrés oxidativo y las defensas del huésped mediante intensos cambios en su metabolismo. Creciente evidencia apunta que la mitocondria es un elemento clave en el control del crecimiento aberrante de las células tumorales. En particular, el desacoplamiento mitocondrial mediado por transportadores de aniones localizados en la membrana interna mitocondrial puede ser un mecanismo crucial en la respuesta adaptativa del tumor. Curiosamente, el patrón de expresión de la proteína desacoplante 2 (UCP2) en las muestras de cáncer de colon se relaciona con el grado tumoral. Recientemente, diversos estudios muestran que la UCP2 en las células de cáncer de colon actúa como una defensa antioxidante, lo cual promueve la supervivencia de las células cancerosas. Además, la sobreexpresión de la UCP2 reduce la apoptosis inducida por fármacos antitumorales, promoviendo la quimiorresistencia. Estos hallazgos estimulan futuras investigaciones en relación al papel potencial de las proteínas desacoplantes en la tumorigénesis, pero también como un nuevo candidato para el diseño y desarrollo de estrategias terapéuticas más efectivas.

Palabras clave: Especies reactivas de oxígeno, mitocondrias, neoplasias del colon, proteína mitocondrial desacoplante 2, agentes antineoplásicos.

Abstract

Tumor cells are able to adapt to unfavorable conditions such as hypoxia, oxidative stress and host defense by intense changes in their metabolism. Emerging evidence indicates that mitochondrion is a key element in the control of aberrant growth of tumor cells. In particular, mitochondrial uncoupling mediated by mitochondrial inner membrane anion carriers may be a crucial mechanism in the adaptive response of tumor cells. Intriguingly, uncoupling protein-2 (UCP2) expression in colon cancer tissue samples correlates with the degree of neoplasia. Recently, several studies have shown that UCP2 acts as an antioxidant defense in colon cancer cells which promotes cancer cell survival. Furthermore, overexpression of UCP2 reduces the apoptotic response of cancer cells to anti-tumor drugs, promoting chemoresistance. These findings encourage future investigations regarding the potential role of uncoupling proteins in tumorigenesis, but also as a novel candidate to the design and development of more effective therapeutic strategies.

Key words: Reactive oxygen species, mitochondria, colonic neoplasms, mitochondrial uncoupling protein 2, antineoplastic agents.

Introducción

Después de muchos años en los que el metabolismo de la célula tumoral se ha mantenido en un segundo plano, últimamente los investigadores han vuelto a centrar su interés en el mismo ya que se ha visto su importante contribución tanto en la progresión tumoral como en la respuesta del tumor a la quimioterapia. Si bien en un prin-

cipio se pensó que los cambios metabólicos en la célula cancerosa eran una mera consecuencia de la progresión tumoral, se ha demostrado que también tienen un papel causal y que las alteraciones metabólicas retroalimentan los principales rasgos determinantes del cáncer: crecimiento aberrante, resistencia a la muerte celular programada o apoptosis, angiogénesis, evasión de la respuesta inmunitaria, invasión de tejidos y metástasis¹.

Las mitocondrias están involucradas directa e indirectamente en muchos aspectos de las alteraciones metabólicas observadas en las células tumorales. En las mitocondrias de las células tumorales se han descrito alteraciones funcionales y ultraestructurales importantes^{2,3} que podrían estar relacionadas con la dependencia que muestran las células cancerosas por la glucosa, y podrían contribuir a la adquisición de un mayor grado de malignidad⁴. Se ha descrito que los tumores tienen una menor tasa respiratoria, lo cual estaría de acuerdo con un menor número y tamaño de sus mitocondrias en comparación a las células normales⁵. Los niveles y actividad de los enzimas involucrados en la cadena respiratoria mitocondrial tales como la citocromo c oxidasa y adenosina trifosfato (ATP) sintetasa se encuentran disminuidos en diferentes tipos de tumores humanos en comparación con el tejido normal⁶. Además, se ha descrito que el potencial de membrana mitocondrial es más elevado en las células tumorales que en las células epiteliales no transformadas⁷.

La mayoría de tumores humanos presentan mutaciones en el ácido desoxirribonucleico (ADN) mitocondrial. Aunque estas mutaciones pueden surgir como resultado de la progresión tumoral, algunas podrían participar activamente en ésta a través de la estimulación cooperativa de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), la glucólisis aerobia y el crecimiento tumoral. Las disfunciones mitocondriales primarias tienen una repercusión directa sobre el metabolismo y la proliferación de las células cancerosas, así, se ha visto que las alteraciones genéticas en la enzima fumarato hidratasa (proteína localizada en la matriz mitocondrial) y en la enzima succinato deshidrogenasa (proteína presente en la membrana interna mitocondrial) podrían tener una implicación causal en el desarrollo del tumor⁸.

Reprogramación metabólica en el cáncer

Los tumores disponen de las mismas vías metabólicas básicas que se encuentran presentes en el tejido normal, no obstante, alteraciones en el microambiente tumoral que afectan a la disponibilidad de oxígeno y cambios en las propias células cancerosas ocasionan una reprogramación metabólica en el tumor⁹.

Por una parte, la falta de oxígeno es una condición común de los tumores sólidos que determina la forma en la que se genera la energía metabólica. La hipoxia en el tumor hace que el sustrato energético preferencial sea la glucosa frente al resto de sustratos (ácidos grasos, cuerpos cetónicos, carbohidratos, lactato y aminoácidos como la glutamina) cuyo metabolismo es dependiente del oxígeno. Al contrario de lo que ocurre en el tejido normal, la presencia de oxígeno no inhibe la glucólisis. Es más, en presencia de oxígeno las células cancerosas suelen preferir metabolizar el exceso de glucosa mediante la vía glucolítica, lo que está asociado

a una disminución de la respiración tumoral (efecto Crabtree). Las alteraciones metabólicas como la producción aumentada de lactato, inhibición del ciclo de los ácidos tricarboxílicos y potenciación de la glucólisis ocasionarían una pérdida neta de carbono que podría usarse en las reacciones anabólicas, lo cual es compensado en las células cancerosas incrementando mucho el consumo de glucosa en comparación a la célula normal¹.

Por otra parte, la activación de oncogenes y pérdida de supresores tumorales promueven también las alteraciones metabólicas en el tumor. Varios oncogenes se han relacionado con la glucólisis aerobia tumoral o efecto Warburg, entre ellos el oncogén homólogo del oncogén viral murino v-akt (AKT), que aumenta la captación y utilización de glucosa¹⁰, y la fosfoinositol 3 quinasa (PI3K), que actúa inhibiendo la beta-oxidación. Los eventos oncogénicos de mayor relevancia (como la inactivación de la proteína tumoral 53 (p53); activación constitutiva del factor inducible por hipoxia-1 y la activación constitutiva de vías sensibles a factores de crecimiento) podrían constituir la causa común de la reprogramación metabólica y de los rasgos determinantes del cáncer tales como el crecimiento autónomo, la resistencia a la apoptosis, proliferación ilimitada y la angiogénesis (**Figura 1**).

La reprogramación metabólica en la célula cancerosa, a su vez, le confiere ventajas proliferativas y adaptativas para su supervivencia, aportando sustratos para las vías biosintéticas, influyendo en la regulación de la apoptosis y retroalimentando la señalización implicada en el proceso pro-oncogénico⁹.

Cáncer y estrés oxidativo

Uno de los campos que ha suscitado más interés reciente en la investigación del cáncer es el estrés oxidativo. Múltiples estudios han mostrado la vinculación de las especies reactivas de oxígeno (ROS) con la proliferación de la célula tumoral, la inducción de la apoptosis y la eficacia de los fármacos anticancerosos.

Las ROS son subproductos del metabolismo celular y se producen mayoritariamente en las mitocondrias debido a la transferencia incompleta de electrones al oxígeno durante el proceso de fosforilación oxidativa. Aunque en un primer momento las ROS se consideraron agentes que causaban daño oxidativo aleatorio sobre macromoléculas celulares, hoy sabemos que actúan como mensajeros en la señalización celular que modula, entre otros procesos, la proliferación en el cáncer¹¹.

La aparente complejidad del estudio de las ROS en el cáncer se simplifica al entender que determinados niveles o concentraciones celulares de ROS son normales y compatibles con un adecuado funcionamiento celular y propios de la quiescencia de las células diferenciadas;

niveles por encima de los habituales conducirían a respuestas proliferativas anómalas y, por otro lado, niveles de ROS que superaran un cierto umbral provocarían la muerte celular⁸. La estimulación farmacológica de la producción de ROS y/o depleción de metabolitos protectores, como el glutatión y la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), pueden conducir a una situación de estrés oxidativo y a la inducción de apoptosis en las células tumorales¹². Se muestra un esquema en la **Figura 2**.

Se sabe que en las primeras etapas del cáncer, las células tumorales son más sensibles a la quimioterapia que las células normales, pero, conforme progresa la enfermedad, las células cancerosas pierden su sensibilidad preferencial a los mismos tratamientos. Una de las posibles causas que explicaría este fenómeno es la elevación de los sistemas antioxidantes en el tumor¹³. Las enzimas antioxidantes y los antioxidantes solubles como el glutatión protegen las células cancerosas de las ROS lo que contribuye a la quimiorresistencia frente a fármacos antitumorales¹⁴⁻¹⁶.

Cabe señalar que la depleción de glutatión por medio de L-butionin-(R,S)-sulfoximina (BSO) en tratamiento combinado con melfalán se ha usado ya en un limitado número de pacientes con tumores refractarios como estrategia terapéutica para poder mejorar la respuesta clínica¹⁷.

Alteraciones metabólicas en el cáncer de colon

Ciertos estudios apuntan a que las diferencias en el metabolismo energético entre la célula normal y la célula cancerosa pueden suponer una base bioquímica para mejorar los resultados terapéuticos en pacientes oncológicos¹⁸.

Aunque los mecanismos de proliferación e invasión de la célula cancerosa han sido ampliamente estudiados, muchos aspectos de su biología siguen siendo en la actualidad bastante desconocidos. Por ello, en el marco de un proyecto de investigación desarrollado en el Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud (Universitat de les Illes Balears), quisimos caracterizar la disfunción metabólica y profundizar en la influencia de las ROS en la proliferación de las células de cáncer de colon humano. El estudio *in vitro* del comportamiento de las líneas de adenocarcinoma colónico, como la línea HT-29, parece particularmente relevante en la investigación de los mecanismos moleculares de la tumorigénesis¹⁹. Aunque en un medio rico en glucosa exhiben un aspecto indiferenciado, estas células poseen algunas propiedades interesantes como la capacidad de desarrollar características fenotípicas de las células diferenciadas al ser cultivadas en un medio pobre en glucosa y en presencia de un sustrato alternativo²⁰.

En nuestro caso, usamos con éxito un cultivo en condiciones de bajo contenido en glucosa en presencia de inosina durante 72h para inducir la parada del ciclo celular y la expresión de características fenotípicas y morfológicas propias de la célula enterocítica diferenciada como es la expresión génica de villina, proteína estructural que forma parte de las microvellosidades intestinales. El análisis de los cambios que acompañan a la adquisición de un mayor grado de diferenciación celular y una menor tasa de proliferación indicó una reducción del estrés oxidativo mitocondrial. En nuestros estudios observamos que las células de cáncer de colon tenían un metabolismo energético mitocondrial alterado que se caracterizaba por una baja tasa de respiración celular en estado basal acompañado de una menor actividad de los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial y de la ATP sintetasa; paralela-

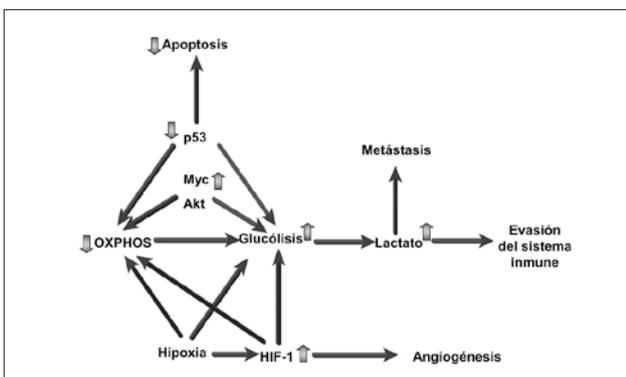


Figura 1. Las alteraciones metabólicas en el cáncer están causadas por el estrés ocasionado por la hipoxia así como por la activación de oncogenes y la pérdida de supresores tumorales. A su vez, la reprogramación metabólica estimula el propio crecimiento tumoral, la resistencia a la apoptosis, la angiogénesis, la evasión de la respuesta inmunitaria, la invasión de tejidos y la metástasis. OXPHOS, fosforilación oxidativa; HIF-1, factor inducible por hipoxia-1.

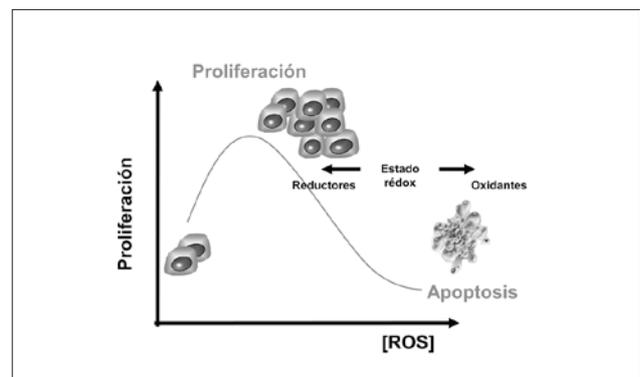


Figura 2. Interrelación entre los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares y la capacidad proliferativa de la célula tumoral. La intervención sobre el estado de oxidación-reducción de las células cancerosas, promoviendo la oxidación, constituye una herramienta potencial para suprimir el crecimiento tumoral.

mente se observó el incremento de la actividad glucolítica medida como lactato deshidrogenasa.

De hecho, uno de los resultados más interesantes de dichos estudios fue que las células intestinales con un mayor grado de diferenciación exhiben una mejor eficiencia energética mitocondrial, por lo que, sus mitocondrias liberan una menor cantidad de peróxido de hidrógeno y manifiestan un menor número de lesiones oxidativas en el ADN mitocondrial ²¹. De acuerdo con estos resultados, se ha demostrado que durante la progresión del cáncer colorrectal en humanos se manifiestan cambios en la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa tanto citosólica como mitocondrial, los cuales se acompañan de un incremento del daño oxidativo en las proteínas mitocondriales y la pérdida de actividad de los complejos de la cadena respiratoria, principalmente del complejo I ²².

Demostramos también que las células con mayor grado de diferenciación tienen una mayor resistencia a agentes tóxicos mitocondriales. Es importante señalar que estas células fueron más resistentes a la toxicidad por oxidantes y por agentes antitumorales como el cisplatino. Esta toxicidad diferencial es esencial en la búsqueda de una quimioterapia efectiva y con menos efectos adversos sobre el tejido normal. Sorprendentemente, las células menos diferenciadas expresaban una mayor cantidad de proteínas desacoplantes mitocondriales 2 y 5 (UCP2 y UCP5) pese a tener un número notablemente menor de mitocondrias y ser menos funcionales ²¹. Estos resultados están de acuerdo con el análisis inmunohistoquímico de UCP2 en muestras de adenocarcinoma de colon humano, en las que se sobreexpresa la UCP2 en comparación con las muestras de mucosa de colon normal ²⁴. Posteriormente, estos resultados han sido validados por otros laboratorios e incluso se ha demostrado su relevancia clínica en pacientes con cáncer de colon ya que los niveles de expresión de UCP2 se correlacionan con un mayor grado de malignidad y la metástasis ²⁵.

El desacoplamiento mitocondrial leve - que se encuentra mediado por una familia de proteínas desacoplantes mitocondriales - consiste en la disipación del gradiente electroquímico a través de la membrana interna, lo cual disminuye la producción de ATP. El desacoplamiento previene además la formación de ROS debida al enlentecimiento del transporte electrónico y cesión incompleta de electrones al oxígeno durante la respiración celular ²⁶. Si bien la función de las proteínas desacoplantes (UCPs) en el tejido normal es aún hoy objeto de controversia, es aún más enigmático su papel en el cáncer. ¿Por qué la célula haría el esfuerzo de sintetizar unas proteínas que disminuyen su eficiencia energética si no suponen ningún tipo de ventaja adicional para su supervivencia?

Nuestros experimentos han ayudado a dar luz a la relevancia biológica de estas proteínas en las células de

cáncer de colon. La expresión de las proteínas desacoplantes UCP2 y UCP5 en las células de cáncer de colon es proporcional al grado de disfunción del metabolismo oxidativo que acompaña a la mayor tasa de proliferación celular pero también a la elevación de los niveles intracelulares de ROS. Evidenciamos como su expresión en la célula se activa en respuesta a estímulos oxidantes como el peróxido de hidrógeno en paralelo a como lo hacen los sistemas antioxidantes enzimáticos y los antioxidantes solubles como el glutatión. Demostramos además que la inhibición de estas proteínas en mitocondrias aisladas de las células tumorales incrementa la producción mitocondrial de ROS.

Estas observaciones junto a que la expresión de las proteínas desacoplantes (UCPs) se correlaciona con los niveles de ROS intracelulares hacen pensar que las UCPs en las células de cáncer de colon actúan como un sensor de las especies reactivas de oxígeno en la mitocondria y constituyen un mecanismo de control negativo sobre la producción mitocondrial de ROS ²⁷. En concordancia, el uso de un inhibidor específico de la actividad desacoplante de la UCP2 como es la genipina (componente químico procedente del extracto de gardenia usado tradicionalmente en la medicina china para tratar los síntomas de la diabetes tipo 2), nos permitió confirmar que su actividad es relevante en el control de la producción de ROS, pero de forma aún más interesante, también poner de manifiesto que su actividad permite mantener la viabilidad de las células de cáncer de colon ²³.

Papel del desacoplamiento mitocondrial en la respuesta del cáncer de colon a la quimioterapia

Uno de los compartimentos celulares más atractivo para el desarrollo de nuevos fármacos anticancerosos es la mitocondria ²⁸, ya que constituye un punto estratégico por ser el nexo de unión entre el metabolismo energético, el estrés oxidativo y la apoptosis.

Nuestros experimentos revelaron que los fármacos anticancerosos como el cisplatino y el 5-fluorouracilo, a dosis clínicamente relevantes, ocasionan un impacto significativo sobre la estructura y función mitocondrial de las células de cáncer de colon. En concreto, el cisplatino establece interacciones con los componentes de la membrana interna mitocondrial que son determinantes para producir la parada del crecimiento celular. Dichas interacciones son la inhibición de los complejos respiratorios y de la actividad de la ATP sintetasa, que en conjunto y de forma coordinada con la disminución de los niveles de UCP2 ocasionan un rápido incremento en el potencial de membrana mitocondrial y en la producción de ROS de estos orgánulos. El cisplatino inhibe también los sistemas antioxidantes enzimáticos, impidiendo una adecuada detoxificación del exceso de ROS, hecho que se manifiesta en una rápida oxidación de las

macromoléculas celulares y mitocondriales (como el ADN mitocondrial y la cardiolipina).

Cabe destacar que nuestros resultados revelaron que la eficacia de agentes antitumorales que actúan por diferentes mecanismos de acción depende de la rapidez con la que provocan toxicidad oxidativa mitocondrial y desequilibran los sistemas de defensa antioxidante en las células de cáncer de colon. Así, la depleción del glutatión mediante el uso de L-butionin-(R,S)-sulfoximina (BSO), incrementó la muerte celular y la respuesta citotóxica al cisplatino. Por contra, un aumento de los antioxidantes solubles como la vitamina C y de antioxidantes precursores del glutatión, como la N-acetil-L-cisteína, incrementan la resistencia de las células de cáncer de colon frente a la muerte celular inducida por cisplatino ²³.

Uno de los hallazgos más significativos en nuestro laboratorio fue que la disminución de los niveles de proteína UCP2 participa en el mecanismo de acción del cisplatino y ayuda a amplificar el estrés oxidativo inducido por este fármaco citotóxico. De hecho, desacoplantes químicos bloquean la inhibición del crecimiento provocada por el cisplatino en las células de cáncer de colon ²³. Por otra parte, los experimentos que efectuamos con el 5-fluorouracilo, para el cual las líneas celulares HT-29 y SW-620 manifiestan resistencia, reforzarían el hecho de que los mayores niveles de proteínas mitocondriales UCP2 y UCP5 en las células de cáncer de colon estarían asociados a un estado de mayor quimiorresistencia, ya que los mecanismos implicados en la sensibilización por el antitumoral resveratrol conducen a un descenso significativo en los niveles de ambas isoformas ²⁹.

En la **Figura 3** se representa un esquema de las mitocondrias de las células de cáncer de colon y la interferencia de las proteínas desacoplantes en las señales oxidativas que participan en la acción de la quimioterapia.

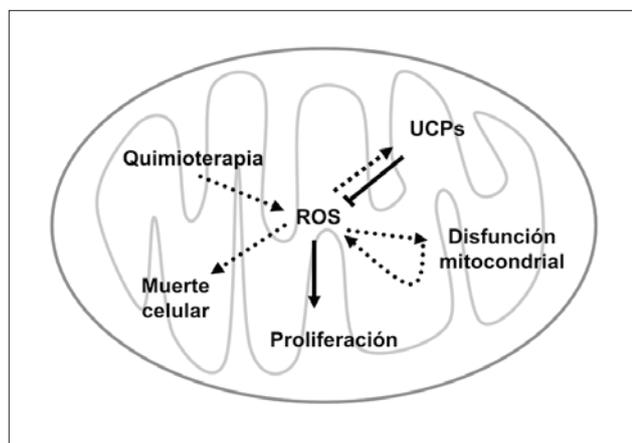


Figura 3. Representación esquemática del papel de las proteínas desacoplantes (UCPs) como mecanismo de regulación negativa sobre la producción mitocondrial de ROS en el cáncer de colon, y su intervención en la capacidad para eludir la apoptosis y mantener la viabilidad de las células cancerosas ante las señales oxidativas de muerte celular promovidas por la quimioterapia.

Recientemente, se ha descrito que el desacoplamiento mitocondrial podría jugar un importante papel en la adaptación de las células de cáncer de colon al microambiente hipóxico característico del tumor ³⁰. Se ha sugerido que la sobreexpresión de la UCP2 estaría implicada en la promoción de un cambio desde el metabolismo oxidativo al metabolismo glucolítico como parte de una estrategia metabólica asociada a la quimiorresistencia ^{31, 32}. Dando consistencia a estos resultados, se ha demostrado también que la UCP2 juega un importante papel en la resistencia a agentes antineoplásicos en otros tipos de células cancerosas ³³. Uno de los estudios más significativos que demuestra la relación entre los niveles de expresión de la UCP2 y la resistencia a agentes antineoplásicos fue realizado por Dardak et al., cuyos resultados indican la relevancia *in vivo* de la sobreexpresión de la UCP2 en la quimiorresistencia del cáncer de colon ³⁴. Además, estos autores describen que la sobreexpresión de UCP2 en células de cáncer de colon humano disminuiría la apoptosis por mecanismos que implican la modulación del supresor tumoral p53 ³⁴.

En un intento de identificar nuevos inhibidores selectivos para las proteínas desacoplantes, se ha descrito que algunos compuestos como los cromanos inhiben la UCP2 y sensibilizan las células HT-29 de cáncer de colon a fármacos antitumorales como la doxorubicina y cisplatino ³⁵.

Conclusiones

Desde un punto de vista farmacológico y en base a la disfunción metabólica en el tumor, se puede decir que el uso de suplementos antioxidantes sería contraproducente en el tratamiento del cáncer colorrectal. Así, las sustancias que promueven el incremento local de la oxidación en el tumor, ya sea por inducción de la generación de especies reactivas de oxígeno, o provocando la depleción de los antioxidantes localmente en el tejido tumoral, frenan el crecimiento de las células cancerosas y podrían tener una utilidad potencial como coadyuvantes asociados a los antineoplásicos convencionales. En el cáncer de colon, un tratamiento local del tumor basado en la inhibición de la proteína UCP2 parece ser que tendría potenciales beneficios terapéuticos al mitigar la capacidad antioxidante de las células tumorales y favorecer la respuesta a los agentes antineoplásicos.

Bibliografía

1. Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell*. 2008;134(5):703-7.
2. Cuezva JM, Krajewska M, de Heredia ML, Krajewski S, Santamaria G, Kim H, et al. The bioenergetic signature of cancer: a marker of tumor progression. *Cancer Res*. 2002;62(22):6674-81.
3. Oudard S, Boitier E, Miccoli L, Rousset S, Dutrillaux B, Poupon MF. Gliomas are driven by glycolysis: putative roles of hexokinase, oxidative phosphorylation and mitochondrial ultrastructure. *Anticancer Res*. 1997;17(3C):1903-11.
4. Amuthan G, Biswas G, Zhang SY, Klein-Szanto A, Vijayarathay C, Avadhani NG. Mitochondria-to-nucleus stress signaling induces phenotypic changes, tumor progression and cell invasion. *Embo J*. 2001;20(8):1910-20.
5. Pedersen PL. Tumor mitochondria and the bioenergetics of cancer cells. *Prog Exp Tumor Res*. 1978;22:190-274.
6. Isidoro A, Martínez M, Fernández PL, Ortega AD, Santamaria G, Chamorro M, et al. Alteration of the bioenergetic phenotype of mitochondria is a hallmark of breast, gastric, lung and oesophageal cancer. *Biochem J*. 2004;378(Pt 1):17-20.
7. Modica-Napolitano JS, Aprille JR. Basis for the selective cytotoxicity of rhodamine 123. *Cancer Res*. 1987;47(16):4361-5.
8. Rustin P. Mitochondria, from cell death to proliferation. *Nat Genet*. 2002;30(4):352-3.
9. Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell*. 2008;13(6):472-82.
10. Elstrom RL, Bauer DE, Buzzai M, Karnauskas R, Harris MH, Plas DR, et al. Akt stimulates aerobic glycolysis in cancer cells. *Cancer Res*. 2004;64(11):3892-9.
11. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol*. 2002;192(1):1-15.
12. Engel RH, Evens AM. Oxidative stress and apoptosis: a new treatment paradigm in cancer. *Front Biosci*. 2006;11:300-12.
13. Anderson CP, Reynolds CP. Synergistic cytotoxicity of buthionine sulfoximine (BSO) and intensive melphalan (L-PAM) for neuroblastoma cell lines established at relapse after myeloablative therapy. *Bone Marrow Transplant*. 2002;30(3):135-40.
14. Ramanathan B, Jan KY, Chen CH, Hour TC, Yu HJ, Pu YS. Resistance to paclitaxel is proportional to cellular total antioxidant capacity. *Cancer Res*. 2005;65(18):8455-60.
15. Troyano A, Fernández C, Sancho P, de Blas E, Aller P. Effect of glutathione depletion on antitumor drug toxicity (apoptosis and necrosis) in U-937 human promonocytic cells. The role of intracellular oxidation. *J Biol Chem*. 2001;276(50):47107-15.
16. Hardman WE, Muñoz J, Jr., Cameron IL. Role of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in omega 3 fatty acids induced suppression of breast cancer xenograft growth in mice. *Cancer Cell Int*. 2002;2(1):10.
17. O'Dwyer PJ, Hamilton TC, LaCreta FP, Gallo JM, Kilpatrick D, Halbherr T, et al. Phase I trial of buthionine sulfoximine in combination with melphalan in patients with cancer. *J Clin Oncol*. 1996;14(1):249-56.
18. Seyfried TN, Mukherjee P. Targeting energy metabolism in brain cancer: review and hypothesis. *Nutr Metab (Lond)*. 2005;2:30.
19. Lesuffleur T, Violette S, Vasile-Pandrea I, Dussaux E, Barbat A, Müller M, et al. Resistance to high concentrations of methotrexate and 5-fluorouracil of differentiated HT-29 colon-cancer cells is restricted to cells of enterocytic phenotype. *Int J Cancer*. 1998;76(3):383-92.
20. Guzman-Arangué A, Olmo N, Turnay J, Lecona E, Pérez-Ramos P, López de Silanes I, et al. Differentiation of human colon adenocarcinoma cells alters the expression and intracellular localization of annexins A1, A2, and A5. *J Cell Biochem*. 2005;94(1):178-93.
21. Santandreu FM, Oliver J, Roca P. Improvement of mitochondrial energy and oxidative balance during intestinal differentiation. *Mitochondrion*. 2011;11(1):89-96.
22. Navarro A, Moreno P, Boveris A. Estrés oxidativo y disfunción mitocondrial en la progresión del cáncer de colon y recto en humanos. *Antioxid Calidad Vida*. 2003;10:1-5.
23. Santandreu FM, Roca P, Oliver J. Uncoupling protein-2 knock-down mediates the cytotoxic effects of cisplatin. *Free Radic Biol Med*. 2010;49(4):658-66.
24. Horimoto M, Resnick MB, Konkin TA, Routhier J, Wands JR, Baffy G. Expression of uncoupling protein-2 in human colon cancer. *Clin Cancer Res*. 2004;10(18 Pt 1):6203-7.
25. Kuai XY, Ji ZY, Zhang HJ. Mitochondrial uncoupling protein 2 expression in colon cancer and its clinical significance. *World J Gastroenterol*. 2010;16(45):5773-8.
26. Skulachev VP. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1363(2):100-24.
27. Santandreu FM, Valle A, Fernández de Mattos S, Roca P, Oliver J. Hydrogen peroxide regulates the mitochondrial content of uncoupling protein 5 in colon cancer cells. *Cell Physiol Biochem*. 2009;24(5-6):379-90.
28. Modica-Napolitano JS, Singh KK. Mitochondria as targets for detection and treatment of cancer. *Expert Rev Mol Med*. 2002;4(9):1-19.
29. Santandreu FM, Valle A, Oliver J, Roca P. Resveratrol potentiates the cytotoxic oxidative stress induced by chemotherapy in human colon cancer cells. *Cell Physiol Biochem*. 2011;28(2):219-28.
30. Zhdanov AV, Dmitriev RI, Papkovsky DB. Bafilomycin A1 activates HIF-dependent signalling in human colon cancer cells via mitochondrial uncoupling. *Biosci Rep*. 2012;32(6):587-95.
31. Samudio I, Fiegl M, Andreeff M. Mitochondrial uncoupling and the Warburg effect: molecular basis for the reprogramming of cancer cell metabolism. *Cancer Res*. 2009;69(6):2163-6.
32. Harper ME, Antoniou A, Villalobos-Menuy E, Russo A, Trauger R, Vendemio M, et al. Characterization of a novel metabolic strategy used by drug-resistant tumor cells. *Faseb J*. 2002;16(12):1550-7.
33. Dalla Pozza E, Fiorini C, Dando I, Menegazzi M, Sgarbossa A, Costanzo C, et al. Role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cancer cell resistance to gemcitabine. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1823(10):1856-63.
34. Derdak Z, Mark NM, Beldi G, Robson SC, Wands JR, Baffy G. The mitochondrial uncoupling protein-2 promotes chemoresistance in cancer cells. *Cancer Res*. 2008;68(8):2813-9.
35. Rial E, Rodríguez-Sánchez L, Aller P, Guisado A, Mar González-Barroso M, Gallardo-Vara E, et al. Development of chromanes as novel inhibitors of the uncoupling proteins. *Chem Biol*. 2011;18(2):264-74.