

Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

“Detección del perfil de metabolitos de células cancerígenas con el fenotipo Warburg identificadas con la ayuda del modelo de *Saccharomyces cerevisiae*”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Química Clínica Diagnóstica.

Presenta

IBQ. Domínguez García Alejandro.

Dirigido por:

Dr. Luis Alberto Madrigal Pérez.

Querétaro, Qro. a 12 de octubre del 2026

REPOSITORIO INSTITUCIONAL DGBSDI-UAQ

La presente obra está bajo la licencia:
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es

CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada , brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios . Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales .

SinDerivadas — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una excepción o limitación aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como publicidad, privacidad, o derechos morales pueden limitar la forma en que utilice el material.

Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Química Clínica Diagnóstica

“Detección del perfil de metabolitos de células cancerígenas con el fenotipo Warburg identificadas con la ayuda del modelo de *Saccharomyces cerevisiae*”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Química Clínica Diagnóstica.

Presenta
IBQ. Domínguez García Alejandro.

Dirigido por:
Dr. Luis Alberto Madrigal Pérez.

Dr. Luis Alberto Madrigal Pérez.
Presidente
Dra. Karla Isabel Lira De León.
Secretario
Dr. Gerardo Manuel Nava Morales.
Vocal
M. en I.M. David Gustavo García Gutiérrez.
Suplente
Dr. Raúl Salas Coronado.
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro. México
Fecha: octubre del 2026

DEDICATORIAS

A mi madre, por todo su amor incondicional. De niño nunca destaqué: no fui el mejor de la clase y más de una vez me regañó por mis calificaciones. Aun así, jamás me hizo sentir que se había rendido conmigo; al contrario, siempre vio en mí una esperanza de ser más y quería que yo lo viera. Me enseñó lo importante que era creer en mí mismo, aunque los demás no lo hicieran, algo que por poco se me olvida en ciertos días de esta etapa. Gracias por estar en mis recuerdos y decírmelo al oído cuando más lo necesité. No alcanzaste a leer esta tesis, pero cada página lleva algo de tu esencia.

A mi abuelita, por preocuparse por mí, por nunca dejar de preguntar cómo me iba en Querétaro y si me hacía falta algo. Con los años entendí que esa era su manera de cuidarme después de que la vida nos llevó a vivir lejos. Y ahora, aún más lejos, espero que pueda ver esto y celebrar el logro que me ayudó a conseguir.

A mi tío, por creer en mí y por apoyarme en cada momento. Por los consejos que, entre pláticas casuales, con el tiempo cobraron sentido y se convirtieron en un gran aporte para mejorar cada día como persona.

A mi hermana, por ser mi lugar seguro, por ser con quien no tengo que aparentar nada, por darme la confianza de ser simplemente yo, como cuando éramos niños. Muchas veces necesité esos momentos para recargar pilas y seguir adelante. Gracias por cada risa, por cada abrazo y por animarme cada vez que podías.

A mi novia, por recordarme que seguir adelante valía la pena, por no dejarme rendirme y por hacerme ver todas las cosas buenas de lo que estaba haciendo por mí durante este periodo, por estar cada día escuchándome y buscando la forma de hacerme sonreír.

A mi familia, a mis amigos y a cada persona que me tendió la mano, tengan la seguridad de que veo y aprecio cada uno de sus gestos para mejorar mi vida en diferentes aspectos. Nada de esto habría sido posible sin ustedes a mi alrededor.

A mis profesores de licenciatura, en especial a la maestra Yohana, por alimentar en mí el amor por esta carrera.

Y, por último, a mí. Por seguir creyendo en mí sin importar qué pasara, por terminar lo que algún día parecía imposible y por entender que todavía hay mucho por aprender.

Alex: al final todo valió la pena y aún sigues siendo de los favoritos de Dios. Lo logramos.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría (CVU 2047177), en el marco de la convocatoria Becas Nacionales para Estudios de Posgrado 2024-2.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Química, por la formación académica de calidad, el respaldo institucional y los recursos que hicieron posible este proyecto, desarrollado en el programa de Maestría en Química Clínica Diagnóstica.

De manera especial, al Dr. Luis Alberto Madrigal Pérez, director de esta tesis, por su dirección académica, su asesoría metodológica, su acompañamiento constante y por los recursos que hicieron posible este proyecto. Sus observaciones y su exigencia fortalecieron el rigor científico de este trabajo y mi formación como investigador.

A la Dra. Karla Isabel Lira De León, por su disposición, por sus observaciones, por sus recomendaciones, por su acompañamiento constante y por los recursos que hicieron posible este proyecto. Su apoyo y su coordinación durante este tiempo fueron fundamentales para completar este logro.

Al Dr. Gerardo Manuel Nava Morales, al M. en I.M. David Gustavo García Gutiérrez y al Dr. Raúl Salas Coronado, miembros de mi comité, por su tiempo, sus valiosas aportaciones académicas, su revisión cuidadosa de este trabajo y por los recursos que hicieron posible este proyecto.

Al Dr. Juan Vázquez Martínez, por su colaboración en el análisis de las muestras por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, parte esencial de este proyecto.

A la M.C.T.A. Erika Beatriz Álvarez Hidalgo, mi tutora, por escucharme y por buscar en cada ocasión la forma de mejorar mi estancia durante estos dos años.

Al QFB. Jorge Jesús Núñez Ramírez, por su apoyo en el laboratorio con técnicas que aún no dominaba.

A mis profesores y al personal administrativo de la Maestría en Química Clínica Diagnóstica, por su apoyo y por la calidad del trabajo que brindaron durante mi formación.

Índice

Abreviaturas y siglas 7

Resumen 9

Abstract 10

1. Introducción 12

1.1. Planteamiento del problema 13

1.2. Justificación 15

2. Antecedentes 17

2.1. El cáncer y su origen metabólico 17

2.2. Efecto Warburg de células cancerígenas y su principal metabolismo descrito 19

2.3. Metabolismo extendido de células cancerígenas bajo el efecto Warburg ... 21

2.3.1. Comportamiento del metabolismo de células cancerígenas durante el efecto Warburg 24

2.3.2. Metabolitos de células cancerígenas bajo el efecto Warburg utilizados como biomarcadores para determinar en *S. cerevisiae* 41

2.4. Aplicaciones de *S. cerevisiae* a lo largo de la historia 41

2.5. Reprogramación metabólica de células cancerígenas 42

2.6. Vía SNF1/AMPK y la pérdida de su función favorecen el metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg 43

2.7. Poliposis hamartomatosa de Peutz-Jeghers 45

2.8. *Saccharomyces cerevisiae snf1*Δ 46

2.9. Deleción del gen *SNF1* como posible causante del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg en *Saccharomyces cerevisiae* 46

2.10. Retos actuales para el análisis del metabolismo de células cancerosas bajo el efecto Warburg 48

2.11. Modelo del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg en *S. cerevisiae* 49

2.12. El cáncer de hígado como referencia para el perfil de metabolitos 50

3. Objetivos 51

3.1. Objetivo general 51

3.2. Objetivos específicos 51

3.3. Objetivos profesionalizantes 51

4. Metodología 53

4.1. Metodología para generar el modelo del perfil de metabolitos de células cancerosas 53

4.1.1. Pregunta de investigación 53

4.1.2. Criterios de inclusión 53

4.1.3. Criterios de exclusión 54

4.1.4. Fuentes de datos 54

4.1.5. Selección de estudios 55

4.1.6. Extracción de datos 56

4.2. Metodología para determinar el perfil de metabolitos representativos del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg en la cepa mutante en el gen *SNF1* de *S. cerevisiae* 56

4.2.1. Material biológico 56

4.2.2. Determinación de la velocidad de crecimiento 57

4.2.3. Respiración mitocondrial 57

4.2.4. Flujo glucolítico 59

4.2.5. Análisis del medio extracelular por GC-MS 60

4.3. Metodología para analizar la asociación entre el perfil de metabolitos de *S. cerevisiae snf1*Δ y el modelo de metabolitos del cáncer de hígado 62

4.3.1. Criterio de dirección del cambio 62

4.3.2. Comparación entre perfiles 62

5. Resultados 63

5.1 Modelo del perfil de metabolitos de células cancerosas bajo el efecto Warburg generado a partir de la literatura 63

5.1.2. Alcance y solapamiento de los metabolitos identificados 69

5.1.3. Rutas metabólicas alteradas en el carcinoma hepatocelular 70

5.1.4. Metabolitos más frecuentes propuestos como biomarcadores en la literatura 75

5.1.5. Integración del perfil de metabolitos con las características metabólicas del cáncer 77

5.1.6. Modelo metabólico expandido del efecto Warburg a partir de la literatura 80

5.2. Modelo del perfil de metabolitos representativos del efecto Warburg de células cancerosas en la cepa de *S. cerevisiae snf1Δ* 85

5.2.1. Concentraciones elevadas de glucosa aumentan la velocidad de crecimiento de *S. cerevisiae snf1Δ* 85

5.2.2. Aumento del flujo glucolítico en la cepa *snf1*∆ de *S. cerevisiae* 88

5.2.3. Diferencias en el consumo de oxígeno para respiración mitocondrial basal, ligada a ATP y máxima 89

5.2.4. Perfil de metabolitos del medio extracelular de *S. cerevisiae snf1Δ* a 5.5 mM de glucosa 94

5.3. Asociación entre el perfil de metabolitos del efecto Warburg y el perfil metabólico de *S. cerevisiae snf1Δ* 97

6. Discusión de resultados 99

6.1. Modelo metabólico expandido del efecto Warburg en cáncer de hígado: ¿qué tan confiable es lo que aporta la revisión? 99

6.1.1. Flujo glucolítico y ciclo de Krebs: las señales más cercanas al efecto Warburg 100

6.1.2. L-serina y glicina: una división entre la biosíntesis y la posible defensa antioxidante 101

6.1.3. Lípidos: ¿el tumor como consumidor o productor/acumulador? 101

6.1.4. Aminoácidos aromáticos y ácidos biliares: un hígado que pierde su función 102

6.2. Fenotipos del efecto Warburg dependientes de la glucosa 103

6.3. Perfil extracelular de *snf1Δ* y lo que refleja el medio 105

6.3.1. Productos de glucolisis y ciclo de Krebs 105

6.3.2. Aminoácidos y ácidos grasos 106

6.3.3. El destino del carbono distingue al efecto Warburg 107

6.4. Concordancias y discordancias entre el perfil de la levadura y el cáncer de hígado 108

6.4.1. Grado de coincidencia y similitud Warburg 108

6.4.2. Diferencias: ácido palmítico y los metabolitos no concluyentes 109

6.4.3. ¿Es un comportamiento Warburg? 110

7. Conclusión 110

8. Bibliografía 111

9.- Anexos 138

9.1. Disposición de residuos 138

9.2. Análisis Turnitin 139

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg..... 23
Figura 2. Diagrama de flujo PRISMA 64
Figura 3. Clasificación de calidad metodológica..... 67
Figura 4. Clasificación combinada de calidad metodológica y aportación de evidencias. 68
Figura 5. Diagrama *Upset plot* de superposición de metabolitos en ≥2 estudios. . 71
Figura 6. Frecuencia de reporte de metabolitos por ruta metabólica. 73
Figura 7. Top 30 metabolitos séricos más frecuentes y consistentes reportados como biomarcadores..... 76
Figura 8. Integración del perfil de metabolitos a las características metabólicas del cáncer de hígado frente a controles sanos. 79
Figura 9. Modelo metabólico extendido a partir de la revisión sistemática de metabolómica sérica en cáncer de hígado.. 93
Figura 10. Comparación de la constante de crecimiento entre la cepa silvestre (*WT*) y la cepa mutante *snf1Δ*. 87
Figura 11. Comparación de la disminución del pH. 89
Figura 12. Comparación del consumo de oxígeno. 91
Figura 13. Comparación del consumo de oxígeno ligado a ATP. 92
Figura 14. Comparación del consumo de oxígeno máximo. 94
Figura 15. Perfil de metabolitos del medio extracelular de *S. cerevisiae snf1Δ* frente a la cepa *WT* crecidas a 5.5 mM de glucosa. 95
Figura 16. Cambios en los metabolitos del medio extracelular agrupados por ruta metabólica y naturaleza química. 96
Figura 17. Comparación de la dirección del cambio entre la revisión sistemática en cáncer de hígado y la cromatografía de medio extracelular de *S. cerevisiae snf1Δ* a 5.5 mM de glucosa. 98

Índice de cuadros

Cuadro 1. Metabolitos propuestos como potenciales biomarcadores en diferentes tipos de cáncer. 40
Cuadro 2. Equivalencias de las concentraciones de glucosa. 86

Abreviaturas y siglas

Sigla	Significado
AA	Antimicina A
ACC	Acetil-CoA carboxilasa
ACLY	ATP citrato liasa
ADA	Asociación Americana de Diabetes (*American Diabetes Assosiation*)
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	ADN complementario
ADP	Adenosín difosfato
AMPK	Proteína cinasa activada por adenosín monofosfato
ATP	Adenosín trifosfato
CaMKK	Cinasa dependiente de calcio/calmodulina
CCCP	Cianuro de carbonilo 3-clorofenilhidrazona
CDK4	Cinasa dependiente de ciclina 4
CDK6	Cinasa dependiente de ciclina 6
CTE	Cadena transportadora de electrones
DO600	Densidad óptica a 600 nm
DOI	Identificador de objeto digital (*Digital Object Identifier*)
ECAR	Velocidad de acidificación extracelular (*extracelular acidification rate*)
ENO1	Enolasa 1
ESCC	cáncer de células escamosas de esófago
ESI	Ionización por electroespray (*electrospray ionization*)
F6P	Frutosa-6-fosfato
FASN	Sintasa de ácidos grasos
FC	Cambio relativo (*fold change*)
G6P	Glucosa-6-fosfato
G6PD	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
GAPDH	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
GLUT1	Transportador de glucosa 1
GLUT2	Transportador de glucosa 2
HCC	Carcinoma hepatocelular
HIF-1α	Factor 1α inducible por hipoxia
HK	Hexocinasa
HK2	Hexocinasa 2
HMDB	Base de datos de metaboloma humano (*human metabolome database*)
KEGG	*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*

LC-MS/MS	Cromatografía liquida acoplada a espectrometría de masas en tándem
LDH	Lactato deshidrogenasa
LBK1	Cinasa hepática B1
LysoPC	Lisofosfatidilcolina
MeSH	*Medical Subject Headings*
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
NAD	Dinucleótido de nicotinamida y adenina
NES	Señal de exportación nuclear (*Nuclear Export Signal*)
NR	No reportado
OMS	Organización mundial de la salud
PDH	Piruvato deshidrogenasa
PET	Tomografía por emisión de positrones
PICO	Paciente, intervención, comparación y resultados
PK	Piruvato cinasa
PPP	Ruta de las pentosas fosfato
PRISMA	*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*
PVDF	Fluoruro de polivinilideno
RMN	Resonancia magnetica nuclear
ROS	Especies reactivas de oxigeno
SC	Medio sintetico completo
snf1Δ	Cepa con deleción del gen *SNF1*
TAK1	Cinasa 1 activada por TGF-β
TPI	triosa fosfato isomerasa
WT	Cepa silvestre (*wild type*)
YPD	Extracto de levadura, peptona y dextrosa (*yeast extract, peptone, dextrose*)

Resumen

Cerca del 80 % de los tipos de cáncer humano comparten el efecto Warburg, una reprogramación metabólica que sostiene las demandas energéticas y biosintéticas en etapas tempranas de la carcinogénesis. Su estudio en células cancerosas resulta complejo, porque la acumulación de mutaciones introduce ruido experimental. La deleción del gen *SNF1*, homólogo de AMPK, podría inducir este fenotipo en *Saccharomyces cerevisiae*, lo que convierte a esta levadura en un modelo alternativo. El objetivo fue identificar el perfil de metabolitos representativos de células cancerosas bajo el efecto Warburg utilizando *S. cerevisiae* como modelo. Para cumplirlo, se construyó un modelo del perfil de metabolitos mediante una revisión sistemática de metabolómica sérica en pacientes con cáncer de hígado frente a controles aparentemente sanos. Se eligió este cáncer por la similitud de sus rutas metabólicas centrales con las de la levadura (glucólisis, lipogénesis *de novo* y vía SNF1/AMPK), y porque contaba con un número de estudios suficiente y abordable en el tiempo disponible. Después, se evaluaron en la cepa *snf1Δ* tres fenotipos del efecto Warburg y el perfil de metabolitos en su medio extracelular a 5.5 mM de glucosa mediante GC-MS, y se comparó la dirección del cambio de los metabolitos compartidos. La revisión de 19 estudios identificó 559 metabolitos únicos, 82 de ellos reportados en 2 o más estudios. La cepa *snf1Δ* mostró mayor velocidad de crecimiento a partir de 15 mM de glucosa, mayor flujo glucolítico y menor respiración mitocondrial ligada a la síntesis de ATP que la cepa silvestre. De los 5 metabolitos con dirección definida en la revisión y valor numérico en ambos modelos, cuatro coincidieron con *snf1Δ*: el aumento del ácido láctico y la L-serina, y la disminución de la glicina y del glicerol; el ácido succínico coincidió como evidencia complementaria y el ácido palmítico fue discordante. El ácido láctico, la L-serina y la glicina constituyen el núcleo compartido del perfil de metabolitos del efecto Warburg, lo que posiciona a *S. cerevisiae snf1Δ* como un modelo útil para su estudio. Sin embargo, este estudio evidencia la necesidad de criterios homogéneos para cuantificar metabolitos por cromatografía, cuya ausencia limitó el análisis cuantitativo.

Palabras clave: cáncer, *Saccharomyces cerevisiae, SNF1,* modelo metabólico, efecto Warburg.

Abstract

Approximately 80% of human cancer types share the Warburg effect, a metabolic reprogramming that supports energetic and biosynthetic demands during the early stages of carcinogenesis. Studying it in cancer cells is complex because the accumulation of mutations introduces experimental noise. Deletion of the *SNF1* gene, the AMPK homolog, could induce this phenotype in *Saccharomyces cerevisiae*, making this yeast an alternative model. The aim of this research was to identify the representative metabolite profile of cancer cells under the Warburg effect using *S. cerevisiae* as a model. To this end, a metabolite profile model was built through a systematic review of serum metabolomics studies in patients with liver cancer compared with apparently healthy controls. This cancer type was chosen because of the similarity of its central metabolic pathways to those of yeast (glycolysis, *de novo* lipogenesis and the SNF1/AMPK pathway), and because it offered a sufficient and manageable number of studies for the available time. Then, three Warburg effect phenotypes and the metabolite profile of the extracellular medium at 5.5 mM glucose were evaluated in the *snf1Δ* strain by GC-MS, and the direction of change of shared metabolites was compared. The review of 19 studies identified 559 unique metabolites, 82 of which were reported in two or more studies. The *snf1Δ* strain showed a higher growth rate from 15 mM glucose onward, higher glycolytic flux and lower ATP-linked mitochondrial respiration than the wild-type strain. Of the five metabolites with a defined direction in the review and numerical values in both models, four matched *snf1Δ*: increased lactic acid and L-serine, and decreased glycine and glycerol; succinic acid matched as complementary evidence, and palmitic acid was discordant. Lactic acid, L-serine and glycine form the shared core of the Warburg effect metabolite profile, positioning *S. cerevisiae snf1Δ* as a useful model for its study. However, this study highlights the need for standardized criteria for the chromatographic quantification of metabolites, the absence of which limited the quantitative analysis.

Keywords: cancer, *Saccharomyces cerevisiae*, *SNF1*, metabolic model, Warburg effect.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual declaro y doy reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentada en el documento.



IBQ. Alejandro Domínguez García
Autor

1. Introducción

La naturaleza posee mecanismos presentes en diferentes organismos con la finalidad de garantizar su supervivencia, evolución y adaptación, los cuales pueden ser tan similares como diferentes entre sí. El efecto Warburg es un mecanismo utilizado por la célula para tener una mayor velocidad de generación de energía (Vaupel y Multhoff, 2021). Durante el efecto Warburg la célula sufre un recambio metabólico para potenciar la producción de energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) de acuerdo con las condiciones ambientales, este recambio puede ocasionar la transición de respiración mitocondrial a fermentación como principal ruta de producción de energía, aumentando en el proceso la velocidad de producción de ATP por unidad de tiempo (bajo rendimiento de formación de ATP con alta velocidad) (Vander Heiden *et al*., 2009). La plasticidad metabólica del efecto Warburg de células en proliferación también acelera el flujo glucolítico, el metabolismo de L-glutamina, la síntesis de lípidos, entre otros (Vander Heiden *et al*., 2009).

¿Para qué y cómo surge este aumento en la actividad de estas rutas metabólicas?, ¿cómo se relacionan con la proliferación acelerada? y, sobre todo, ¿cómo este metabolismo favorece el éxito del cáncer sobre el organismo?, son preguntas que se han buscado responder desde el aumento de muertes ocasionadas por el cáncer. El efecto Warburg se encuentra presente en el 80 % de los diferentes tipos de cáncer humano (Correa-Romero *et al*., 2023). De aquí deriva la importancia de saber qué está pasando en este tipo de metabolismo y cómo es que la actividad de las rutas metabólicas cambia y en qué momento, hasta tal punto de mantener y satisfacer todas las demandas energéticas y biosintéticas del cáncer. Algunas de las herramientas emergentes y candidatas a contribuir con grandes nuevos descubrimientos sobre este metabolismo son las ciencias ómicas (Bafiti y Katsila, 2022). Sin embargo, los organismos ideales para usarse como modelos metabólicos son limitados; un modelo metabólico de una célula cancerosa arrastra un gran número de alteraciones en su funcionamiento, algunas alteraciones pueden ser

útiles para la supervivencia y progresión tumoral, mientras que otras simplemente son mutaciones aleatorias en el ácido desoxirribonucleico (ADN) causadas por el tipo de metabolismo aberrante que expresan (Roy y Saikia, 2016). Estas mutaciones desvían el metabolismo en diferentes direcciones, provocando alteraciones en la función de cientos de genes aleatorios y expresando fenotipos diversos, lo que convierte a una célula cancerosa en un modelo complejo y, por ende, no apto para comprender la naturaleza del efecto Warburg.

Recientemente, se ha reportado que la deleción del gen *SNF1* en *S. cerevisiae* podría inducir el efecto Warburg, lo que la convertiría en un modelo metabólico distinto para estudiar este fenómeno (Carrillo-Garmendia *et al*., 2022). Sin embargo, la evidencia que respalde la cepa con la deleción del gen *SNF1* (*snf1*∆) como modelo metabólico del efecto Warburg aún no es suficiente. En este estudio se utilizó principalmente la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), una de las técnicas más empleadas en metabolómica, además de ensayos fenotípicos, para evaluar el efecto Warburg en *S. cerevisiae snf1*∆ y su interacción con condiciones ambientales de glucosa similares a las condiciones presentes en el cuerpo humano, la ciencia ómica clave para ayudar a satisfacer esta necesidad es la metabolómica, debido a que los metabolitos son el punto donde interaccionan el genoma y el medio ambiente, además de que se presenta una importante visión general de la adaptación y la respuesta del organismo bajo las diversas condiciones (Bafiti y Katsila, 2022). Con ello se buscó sentar las bases para utilizar la cepa mutante en el gen *SNF1* de *S. cerevisiae* como modelo metabólico útil para estudiar el efecto Warburg.

1.1. Planteamiento del problema

Entender el metabolismo complejo del efecto Warburg podría aportar una serie de respuestas clave para comprender una de las enfermedades de mayor mortalidad en el planeta en los dos últimos siglos; sin embargo, no es una tarea sencilla. Los

modelos metabólicos utilizados hasta la fecha para analizar el efecto Warburg son principalmente modelos de células cancerosas extraídas del organismo para su estudio (Graham y Sottoriva, 2017). Al encontrarse activo el metabolismo del cáncer en líneas celulares destinadas para el análisis del efecto Warburg, se presentan muchas alteraciones (producidas por errores durante la replicación constante del ácido desoxirribonucleico [ADN], por especies reactivas de oxígeno [ROS, por sus siglas en inglés], por la ruptura de una o ambas cadenas de ADN, etc.) que dificultan poder comprender con mayor precisión lo que ocurre en el metabolismo, debido a que las mutaciones del ADN producen modificaciones en las proteínas que se expresan, cada proteína modificada puede aumentar, perder o cambiar su función, provocando en la célula funciones alteradas y una gran cantidad de ruido experimental y sesgos a la hora de comprender qué está pasando realmente en el metabolismo del efecto Warburg (Roy y Saikia, 2016), lo que las convierte en un modelo metabólico complejo desde su base para el estudio de este fenotipo.

Durante mucho tiempo se mantuvo el paradigma de que el cáncer era causado por mutaciones genéticas que dañan el ADN y, a su vez, afectan el correcto funcionamiento mitocondrial de la célula (Vaupel y Multhoff, 2021). Las células cancerosas poseen mutaciones que pueden resultar en una expresión desregulada de oncogenes y genes supresores de tumores; sin embargo, existen aún más cambios en el ADN que alteran la expresión de cientos de genes de forma aleatoria (Roy y Saikia, 2016). Bajo esta perspectiva, se deja de lado la causa de las mutaciones, y su origen puede provenir de un efecto metabólico previo. Con un nuevo modelo metabólico en *S. cerevisiae* se podría evitar el sesgo que generan las mutaciones que son producidas con el tiempo por el tipo de metabolismo aberrante del cáncer y, analizar incluso el inicio del recambio metabólico que no se ha encontrado en la actualidad en los modelos de células de mamífero, lo que haría de *S. cerevisiae* un organismo modelo ideal para analizar el metabolismo del efecto Warburg sin todas las alteraciones que sí están presentes en células cancerosas, además de su potencial para estudiar cuáles mecanismos utiliza la célula y cómo son activados para realizar las modificaciones ya bien conocidas (en genes

supresores de tumores y protooncogenes) necesarias para garantizar su supervivencia y progresión.

En el grupo de trabajo se apoya la percepción de que esta enfermedad se debe a una alteración metabólica que impulsa a la célula a realizar un recambio metabólico, en el que dicho cambio sería el causante de las mutaciones en el ADN y no al revés. Por ello, proponer un modelo metabólico libre de todas las mutaciones acumuladas con el tiempo, presente en los modelos de células cancerosas, que nos permita comprender con claridad cómo funciona el metabolismo bajo el efecto Warburg, debería ser una prioridad para generar nuevo conocimiento en áreas importantes del cáncer, con nuevos enfoques metabólicos de la enfermedad.

1.2. Justificación

El cáncer es considerado como la segunda causa de muerte a nivel mundial, después de las enfermedades cardíacas, cifras obtenidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) muestran que tan solo en el año 2022 se le atribuyen a esta enfermedad cerca de 10 millones de defunciones, estas cifras son alarmantes debido a que una de cada seis muertes registradas en el mundo fue causada por el cáncer (Correa-Romero *et al*., 2023). Y debido a que la reprogramación metabólica conferida por el efecto Warburg se ha descrito como una de las características distintivas en diferentes tipos de cáncer (80 % en cáncer humano) (Correa-Romero *et al*., 2023). Sería un excelente candidato que nos ayude a dilucidar que está pasando en la enfermedad. Adicionalmente, existe un gran número de investigaciones que han realizado pruebas metabolómicas en pacientes con cáncer que no han sido analizadas desde la nueva perspectiva metabólica del efecto Warburg como parte central del cáncer. Incluso, actualmente, algunos metabolitos y proteínas relacionados con el efecto Warburg son utilizados como biomarcadores, por lo que, dilucidar el perfil de metabolitos del efecto Warburg tendría repercusiones importantes en el diagnóstico de diferentes tipos de cáncer (Nava y Madrigal Perez, 2022). Por lo anterior, estudiar el perfil de metabolitos en *S.*

cerevisiae ayudaría a: 1) plantear nuevos ensayos clínicos con nuevos metabolitos candidatos que favorezcan el establecimiento de valores umbral y técnicas de laboratorio para la estandarización que ayuden al pronóstico, detección y tratamiento de la enfermedad; y 2) dilucidar conocimiento clave que apoye la determinación del momento en que una célula desarrolla el efecto Warburg. De esta forma, medir los metabolitos que participan en las rutas clave durante el efecto Warburg en células cancerígenas los vuelve excelentes candidatos a marcadores que predispongan a dicho efecto, por lo que, de encontrar que en la cepa *snf1*Δ existe un patrón metabólico similar al observado en el efecto Warburg de células de mamífero, se podría utilizar a *S. cerevisiae* como modelo para el estudio de una característica importante del cáncer y, posteriormente, utilizando la capacidad de todas las ciencias ómicas, obtener la mayor información posible del metabolismo durante diferentes etapas de desarrollo del efecto Warburg, que nos ayude a detectar cada vez más marcadores candidatos en cada etapa, con la finalidad de una detección temprana de la enfermedad (posiblemente incluso antes de las modificaciones genéticas que son características del cáncer), opciones de tratamiento, pronóstico o incluso nuevas medidas de prevención.

2. Antecedentes

2.1. El cáncer y su origen metabólico

El cáncer es un conjunto de enfermedades, una célula cancerosa puede provenir de cualquier tipo de célula en el organismo, la célula necesita adquirir un conjunto de características que provocarán nuevas capacidades de supervivencia y adaptabilidad, haciendo del cáncer una subversión de la homeostasis tisular normal, provocando que las células escapen y no logren una identidad adecuada, desencadenando además proliferaciones descontroladas (Brunner y Finley, 2023). Durante bastante tiempo se mantuvo la idea de un origen genético para estas enfermedades; sin embargo, actualmente la comunidad científica se inclina cada vez más por un origen metabólico. La teoría del origen genético del cáncer sostenía que las mutaciones en el ADN alteran el funcionamiento adecuado de las células, transformándolas en células cancerosas (Brunner y Finley, 2023). Avances en la secuenciación genética permitieron la identificación de alteraciones genómicas recurrentes, capaces de transformar células normales e impulsar el crecimiento tumoral; si bien es cierto que las mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores pueden ser suficientes para perjudicar las vías normales de desarrollo y, alimentar la proliferación aberrante, también es un hecho que esas mutaciones se pueden albergar en tejido humano normal, soportando múltiples mutaciones oncogénicas y dividiéndose sin dar lugar a ninguna patología obvia (Brunner y Finley, 2023).

Estas observaciones sugieren que las mutaciones oncogénicas no son del todo suficientes para desencadenar la tumorogénesis (Brunner y Finley, 2023). De hecho, no se encontraron esos tipos de mutaciones en 73 tipos de cáncer durante secuenciaciones extensas en 210 muestras de la enfermedad (Greenman *et al*., 2007). Del mismo modo, una muestra de tejido de un paciente con glioblastoma no presentó mutaciones en las vías p53, PI3K y RB1 (Parsons *et al*., 2008). Y de acuerdo con la teoría de mutaciones somáticas, las células cancerosas sin mutaciones no deberían existir (T. N. Seyfried y Chinopoulos, 2021).

Bajo la premisa del origen genético del cáncer, existen preguntas que surgen espontáneamente: ¿cuál es la procedencia de dichas mutaciones?, ¿qué es lo que las está causando?… “La realidad se basa en hechos replicables, mientras que la interpretación de los hechos se basa en teorías creíbles” (T. N. Seyfried y Chinopoulos, 2021). La teoría somática (origen genético del cáncer) presenta ciertas inconsistencias como a) células cancerosas sin las mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores, b) células normales con las mutaciones que “impulsan” el cáncer y, c) diferencias significativas en el surgimiento de la enfermedad en diferentes organismos (T. N. Seyfried y Chinopoulos, 2021). Nunca se ha documentado que un chimpancé presente cáncer de mama, a pesar de tener un 98 % de identidad en la secuencia de genes y proteínas con los humanos (Varki y Varki, 2015). Del mismo modo, animales mamíferos de gran tamaño como las ballenas, las jirafas o los elefantes, que tienen un mayor número de células, parecen ser más resistentes al cáncer y, por estadística, un número mayor de células tendría más probabilidad de presentar mutaciones aleatorias; sin embargo, la incidencia de la enfermedad es igual o menor que en los seres humanos; a esto se le denominó la “paradoja de Peto” (Caulin y Maley, 2011). Todo esto nos ayuda a considerar que, las mutaciones aleatorias no son, por mucho, responsables de todos los tipos de cáncer. Sugiriendo que los factores ambientales en los que vivimos los seres humanos son, en gran medida, importantes para el desarrollo de la enfermedad, como la dieta y el estilo de vida (T. N. Seyfried y Chinopoulos, 2021).

Por otro lado, la teoría metabólica mitocondrial, junto con experimentos elegantes, han sugerido la necesidad de contemplar un origen diferente, la evidencia más contundente es proveniente de la transferencia del núcleo o el citoplasma de una célula cancerosa a una célula normal y, los resultados han llevado a reconsiderar tomar en cuenta un origen metabólico para el cáncer; se crearon dos tipos de células, una célula normal que contiene un núcleo dañado, proveniente de una célula cancerosa, presentando un crecimiento normal; mientras que la otra, es una célula con el citoplasma de una célula cancerosa (y el núcleo intacto, sin mutaciones), que presentó un crecimiento desregulado (T. Seyfried, 2012; T. N. Seyfried, 2015). Además, mediante la teoría metabólica mitocondrial se pueden

explicar mejor las características del cáncer que con la teoría de las mutaciones somáticas (T. N. Seyfried y Chinopoulos, 2021).

Según la teoría metabólica mitocondrial, el origen metabólico del cáncer se atribuiría a una interrupción gradual de la síntesis de ATP, lo que provoca que la fosforilación oxidativa deje de producir suficiente ATP, conduciendo a la célula a producir ATP mediante la fosforilación a nivel de sustrato en el ciclo de Krebs (T. N. Seyfried y Chinopoulos, 2021). La fosforilación oxidativa, sin un correcto funcionamiento, conduce a una acumulación de ROS, que, por su naturaleza mutagénica, serían las causantes de la mayoría de los cambios genómicos (Bartesaghi *et al*., 2015; Hammond *et al*., 2003; Klaunig *et al*., 2010; Newman y Gregory, 2019; Valle *et al*., 2010). Lo que se traduce en que las mutaciones somáticas son un efecto posterior, en lugar de ser la causa (T. N. Seyfried y Chinopoulos, 2021). El exceso de ROS provocadas por la disfunción en la cadena transportadora de electrones (CTE) es cancerígeno y mutagénico, causando daño significativo a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos en mitocondria y núcleo (Y. Zhu *et al*., 2018). De manera interesante, las mutaciones en el gen supresor de tumores *p53,* junto con la inestabilidad genómica, han sido relacionadas directamente con la deficiencia de la fosforilación oxidativa y la producción mitocondrial de ROS en células madre cancerosas (Bartesaghi *et al*., 2015).

Todo esto deja la mente con un pensamiento, esta y todas las demás mutaciones son eventos posteriores al daño metabólico (además del recordatorio de células cancerosas sin mutaciones, células normales con el citoplasma/núcleo de una célula cancerosa). Por lo que, estudiar el metabolismo del cáncer suena como el siguiente paso y, curiosamente, existe un metabolismo compartido en el 80 % de los diferentes tipos de cáncer humano, es el candidato ideal: el efecto Warburg.

2.2. Efecto Warburg de células cancerígenas y su principal metabolismo descrito

El efecto Warburg es un fenómeno descrito por el científico Otto Warburg, quien observó por primera vez que las células cancerosas, incluso en presencia de oxígeno, prefieren obtener la mayor parte de su energía mediante la glucólisis en el citosol, como resultado de una reprogramación metabólica (Vaupel y Multhoff, 2021).

Las células bajo el efecto Warburg necesitan alta disponibilidad de energía, que no puede ser satisfecha utilizando únicamente la respiración mitocondrial, por esto, las células cancerosas también utilizan la fermentación, incluso en presencia de oxígeno, denominada “fermentación aeróbica” (Vander Heiden *et al*., 2009). Al aumentar así la producción de energía en el menor tiempo posible, las células cancerosas satisfacen sus demandas para mantener una alta proliferación y una velocidad de crecimiento acelerada, recayendo en diferentes rutas metabólicas (Vander Heiden *et al*., 2009).

Se observa un aumento importante en el metabolismo de la glucosa, en el que se favorecen diferentes aspectos, como la biosíntesis de biomoléculas igualmente necesarias para la proliferación y el crecimiento celular acelerados (*New Clarity on the Warburg Effect - NCI*, 2021). El flujo aumentado de glucosa mantiene igualmente la síntesis de equivalentes de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) mediante la acción continua de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), lo que favorece la fermentación de glucosa a ácido láctico y apoya la proliferación acelerada mediante la propia biosíntesis de NAD+ (*New Clarity on the Warburg Effect - NCI*, 2021).

El NAD+ actúa como transportador de electrones, un papel indispensable en muchos procesos celulares, como la síntesis de moléculas de biomasa, incluidos lípidos, nucleótidos y algunos aminoácidos. Normalmente, la CTE se encarga de oxidar los NADH en células normales de mamíferos, donde la producción de NAD+ se encuentra acoplada a la síntesis de ATP; la generación de ATP mediante la glucólisis es excesiva y esas cantidades de ATP pueden imponer un límite superior a la capacidad oxidativa que presentan las mitocondrias (*New Clarity on the Warburg Effect - NCI*, 2021). Dejando ver que además de glucosa, se necesita una

alta demanda de NAD+ para satisfacer los requerimientos de biomoléculas, la necesidad excesiva de NAD+ podría ser un factor que impulse la reprogramación metabólica y el uso de la fermentación aeróbica (*New Clarity on the Warburg Effect - NCI*, 2021). Esto se complementa con lo observado en células cancerosas, incluso en presencia de oxígeno y mitocondrias en pleno funcionamiento, se aumentó el consumo de glucosa y la síntesis de ácido láctico (Lin *et al*., 2020).

Por lo tanto, la glucólisis y la respiración mitocondrial son cruciales en las células cancerosas que presentan el efecto Warburg (Lin *et al*., 2020). Sin embargo, no solo esas rutas se ven aumentadas, sino que también lo están otras rutas que intervienen en el efecto Warburg para sintetizar equivalentes de NADPH, precursores de aminoácidos, nucleótidos y lípidos (Lin *et al*., 2020). Actualmente existen nuevas aportaciones sobre metabolismos alterados presentes en células cancerosas bajo el efecto Warburg.

2.3. Metabolismo extendido de células cancerígenas bajo el efecto Warburg

Además de los fenotipos comunes que sirven como criterios para determinar si un tejido presenta el efecto Warburg, como la producción constante de ácido láctico, el flujo glucolítico y la acidificación extracelular (H. Sun *et al*., 2019). En los últimos años se han incorporado nuevos conocimientos, especialmente sobre rutas metabólicas que se plantea que deberían incluirse en la definición del efecto Warburg. El efecto Warburg ha sido ampliamente reconocido como una característica metabólica bien establecida de las células cancerosas (Lu, J. *et al*., 2015). Sin embargo, la definición del efecto Warburg únicamente como una glucólisis acelerada y una producción constante de ácido láctico, por sí sola, puede no representar de manera integral todo el metabolismo celular alterado del cáncer (Masci *et al*., 2024). Alteraciones del metabolismo, como la desregulación de la glucólisis, el metabolismo lipídico, la glutaminólisis (Masci *et al*., 2024), síntesis de aminoácidos de cadena ramificada (L-valina, L-isoleucina y L-leucina), biosíntesis de L-prolina (Nava y Madrigal Perez, 2022), y biosíntesis de L-serina (Pollari *et al*.,

2011) son ahora características bien reconocidas del cáncer y, por lo tanto, deberían ser características metabólicas bien integradas al efecto Warburg (Figura 1).

Comprender la interacción entre las diferentes rutas metabólicas es crucial para desarrollar estrategias eficaces para combatir el cáncer (Masci *et al*., 2024). A continuación, se presentan las descripciones de las rutas mencionadas y se exponen las posibles explicaciones de su alteración en los últimos años.

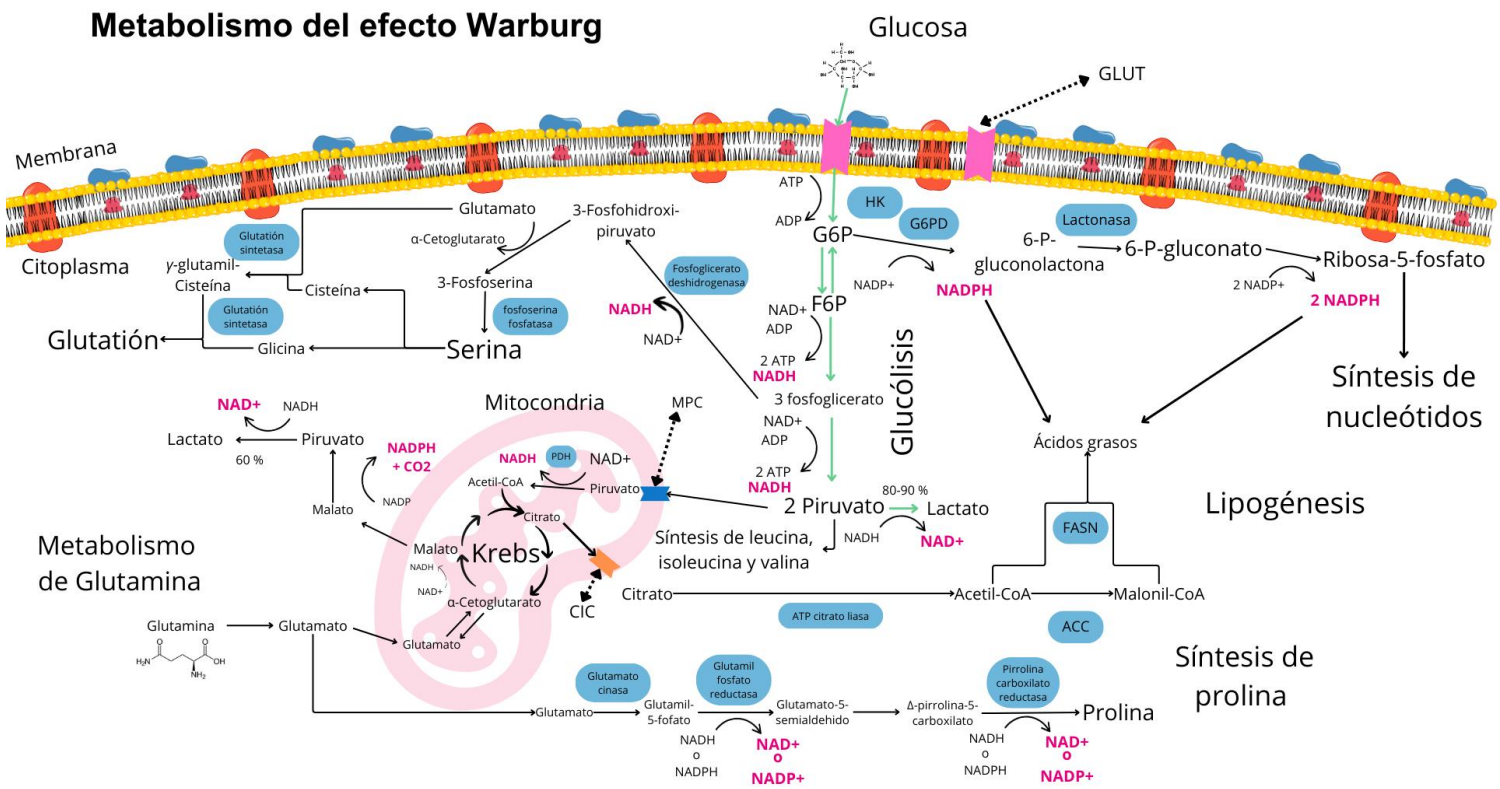


Figura 1. Diagrama del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg. La glucosa y la L-glutamina son las principales fuentes de carbono, nitrógeno y energía en las células cancerosas. Estos dos sustratos mantienen la mayoría de las rutas alteradas, glucólisis, PPP, síntesis de L-serina, síntesis de ácido láctico, síntesis de aminoácidos de cadena ramificada, ciclo de Krebs, glutaminólisis, síntesis de ácidos grasos y síntesis de L-prolina. Flechas verdes indican rutas clásicas del efecto Warburg; las flechas negras rutas recientemente propuestas, líneas punteadas para indicar nombre de transportadores. Enzimas en burbujas azules; productos de NAD(P)+/NAD(P)H en rosa.

2.3.1. Comportamiento del metabolismo de células cancerígenas durante el efecto Warburg

2.3.1.1. Glucólisis

Hace casi un siglo se observó el recambio metabólico que marcó el inicio de la definición del efecto Warburg: el cambio de la respiración mitocondrial a la fermentación como principal fuente de energía, incluso en presencia de oxígeno (Vaupel y Multhoff, 2021). Este recambio ha mantenido intrigada a la comunidad científica y en busca de una explicación, se ha mencionado que la glucólisis es una ruta muy eficiente para generar energía si hablamos en términos de velocidad, que podría ser incluso más rápida que la fosforilación oxidativa, su limitante se encuentra en la cantidad de moléculas de glucosa que requiere para producir las mismas concentraciones de ATP, mientras que en fosforilación oxidativa se sintetizan aproximadamente 32 moléculas de ATP a partir de una molécula de glucosa, en glucólisis únicamente se sintetizan 2 ATP (Figura 1). Sin embargo, con una concentración elevada de moléculas de glucosa disponibles, la glucólisis genera los mismos 32 ATP utilizando 16 glucosas, lo que se traduce en una obtención aumentada de energía a pesar de la baja eficiencia (H. Sun *et al*., 2019). Las células cancerígenas bajo el efecto Warburg se encargan de satisfacer esta alta demanda de moléculas de glucosa dentro de sí mismas, expresando más cantidad de transportadores de glucosa en la membrana, provocando un aumento en la incorporación de este sustrato dentro de la célula, de hecho, una característica que define a las células de cáncer de tiroides es su fuerte capacidad para absorber altas cantidades de glucosa en comparación con el tejido tiroideo normal (Matsuzu *et al*., 2005; Schönberger *et al*., 2002). La acumulación del transportador de glucosa 1 (GLUT1), un transportador de glucosa, se ha descrito en muchos cánceres, incluidos el cáncer de cuello uterino (Rudlowski *et al*., 2003), el carcinoma de ovario (Cantuaria *et al*., 2001), el carcinoma colorrectal (Haber *et al*., 1998), el carcinoma gástrico (Kawamura *et al*., 2001), el melanoma y el linfoma en tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés) (Gambhir, 2002). La parte limitante de la glucólisis es la obtención de glucosa, por lo que, su aumento también

aceleraría el flujo glucolítico. Otro uso clínico de la rápida incorporación de la glucosa al interior de la célula, es que utilizando una molécula de glucosa con un radioisótopo (^{18}F-Fluorodeoxiglucosa) se provoca un aumento de la concentración de este metabolito dentro de la célula, que el área clínica utiliza para diagnosticar y localizar células cancerosas bajo el efecto Warburg, se puede detectar la acumulación mediante la radiación emitida utilizando la técnica PET (Ferda *et al*., 2022). Lo anterior nos deja ver una parte de la increíble capacidad que puede presentar el área clínica diagnóstica cuando se conoce un aspecto importante del metabolismo; y nos mantiene en mente cuáles serían todas las posibles aplicaciones que podrían derivarse de un conocimiento profundo del metabolismo del efecto Warburg.

Sin embargo, aún estamos muy lejos de conocer a fondo el metabolismo de las células cancerígenas bajo el efecto Warburg, y aún más lejos de conocer la causa de dicho recambio metabólico. El aumento de la captación de glucosa podría deberse a la alta actividad de la glucólisis, que a su vez podría deberse a un evento previo en el metabolismo celular que hace que el metabolismo de la glucosa se convierta en la ruta principal. Se han propuesto diversas hipótesis sobre las causas de este recambio (H. Sun *et al*., 2019). a) Inicialmente se pensó que las células cancerosas presentaban mitocondrias disfuncionales, lo cual más tarde se demostró ser incorrecto (Fantin *et al*., 2006; Moreno-Sánchez *et al*., 2007; Weinhouse, 1976). b) La elevada necesidad de ATP lleva a seleccionar la glucólisis para apoyar la rápida proliferación celular en el cáncer; sin embargo, este punto de vista es cuestionado, ya que se ha demostrado que el ATP no es un factor limitante de la velocidad de proliferación del cáncer (Locasale y Cantley, 2011), y además se utiliza la proliferación como causa, no como resultado, de un metabolismo alterado. c) Actividades mitocondriales reducidas ocasionado por la hipoxia, que provoca un aumento en la generación de ROS (Murphy, 2008) y la producción de óxido nítrico (Brown y Borutaite, 2004); sin embargo, se tiene conocimiento de que las células cancerosas presentan actividades respiratorias en diferentes tipos de cáncer y se informan incluso altos niveles de tales actividades en algunos cánceres (Viale

et al., 2015; Wallace, 2012), además de que se ha observado el recambio metabólico incluso con mitocondrias en pleno funcionamiento y condiciones óptimas de oxígeno. d) Las células cancerosas carecen de NAD+, por lo tanto, utilizan la conversión de ácido pirúvico en ácido láctico para la regeneración de NAD+ (Vander Heiden *et al*., 2009); cada una de las hipótesis puede tener sus puntos a favor y en contra. Lo que se sabe actualmente es que el efecto Warburg es una característica común de todas las células proliferantes, incluidas las células cancerosas y las células madre neuronales, pero que pueden tener causas diferentes para presentar este fenotipo (H. Sun *et al*., 2019). Lo que nos deja con la posibilidad latente de que un evento metabólico previo sea realmente el causante del recambio de todo el metabolismo y que este, a su vez, sea el responsable de otorgar nuevas características a las células cancerosas.

La glucólisis acelerada puede considerarse la consecuencia más significativa de la reprogramación metabólica asociada al efecto Warburg (Ediriweera y Jayasena, 2023). De aquí radica la importancia de considerar el flujo glucolítico, que se midió en esta investigación. Además, se tomó en cuenta el ácido pirúvico, al ser el producto final de la glucólisis (Figura 1) también sufre un aumento de su producción. No obstante, antes de llegar al ácido pirúvico, existen dos rutas que son satisfechas por intermediarios de la glucólisis, que expondremos antes de mencionar los siguientes flujos del ácido pirúvico, estamos hablando de la ruta de las pentosas fosfato (PPP) y de la síntesis de L-serina, que también se han observado activadas en el cáncer (Pollari *et al*., 2011; Timm *et al*., 2015). Y, al mismo tiempo, se destaca la importancia del ácido pirúvico en muestras de cáncer, proponiéndolo como un biomarcador potencial.

2.3.1.2. Metabolitos clave de glucólisis en muestras de cáncer

El ácido pirúvico y la glucosa son metabolitos que pueden ser medidos en muestras de pacientes con cáncer, y se ha utilizado la metabolómica para determinar ambos metabolitos, el ácido pirúvico actualmente es propuesto como un metabolito

candidato a biomarcador para pacientes con cáncer colorrectal, fue medido en muestras de plasma y heces (Cuadro 1), y en ambos tipos de muestras tuvo un aumento significativo respecto con sus controles sanos (Y. Sun *et al*., 2024). Además, como dato interesante, este metabolito también se ha propuesto como marcador de progresión, debido a que se observó un aumento gradual de pacientes sanos a adenoma y de adenoma a cáncer colorrectal (Y. Sun *et al*., 2024). De hecho, en un estudio de cáncer colorrectal (n = 60) y en voluntarios sanos (n = 60), también se observó un aumento del ácido pirúvico en muestras séricas (Nishiumi *et al*., 2012). Por su parte, la glucosa, al ser el sustrato, depende más de la disminución significativa que ya se ha observado en muestras de plasma de 28 pacientes con tumor de células gigantes (TCG) óseo comparado con 26 controles (Cuadro 1), posicionando a la glucosa también como un posible biomarcador para el diagnóstico de tumores (W. Wang *et al*., 2019). Incluso en el cáncer de colon, la concentración de glucosa en sangre también fue menor (Hirayama *et al*., 2009). Esto es importante en el área clínica diagnóstica, al detectar una disminución de la glucosa sanguínea (un análisis esencial del área) que por lo general es constante (disminución ocasionada por la alta incorporación de estas moléculas al interior de las células bajo el efecto Warburg para alimentar diferentes rutas) y podría contribuir al diagnóstico de cáncer en un paciente.

2.3.1.3. Ruta de las pentosas fosfato

Para producir dos células hijas viables en la mitosis, una célula en proliferación debe replicar todo su material genético, lo que implica un alto consumo de nucleótidos. La glucosa también se utiliza para generar esta biomasa, la PPP se mantiene altamente activa durante el efecto Warburg, en esta ruta se sintetizan los precursores necesarios para la síntesis de nucleótidos, además de que en esta ruta también se sintetizan gran cantidad de acarreadores de electrones NADPH (Figura 1) que después son importantes para justificar la síntesis elevada de ácidos grasos

(Hay, 2016; Nava y Madrigal Perez, 2022) y L-prolina (Nava y Madrigal Perez, 2022) que se encuentra descrita más adelante.

Si la glucosa-6-fosfato (G6P) no entra en PPP, continua por glucólisis hasta ser transformada en 3-fosfoglicerato (Figura 1), tiene la posibilidad de continuar (llegar a ácido pirúvico) o salir de glucólisis, si sale, este intermediario es utilizado para sintetizar 3-Fosfohidroxipiruvato (reacción que también sintetiza NADH), que después con ayuda de un ácido L-glutámico (proveniente de la L-glutamina) se transforma en 3-fosfoserina, el precursor inmediato para la síntesis de L-serina, que es útil en este metabolismo para controlar las ROS.

2.3.1.4. Metabolitos clave de la vía de las pentosas fosfato en muestras de cáncer

De manera interesante, se han realizado cuantificaciones del primer metabolito que ingresa a PPP, estamos hablando de la 6-fosfogluconolactona, que se observó activa en un modelo de cáncer murino EL4, determinando la actividad de esta ruta, debido a que esta reacción es irreversible y la síntesis de este metabolito tiene que pasar por el resto de la ruta (Timm *et al*., 2015). En 75 muestras de tejido esofágico, incluidas 15 de cáncer de células escamosas de esófago (ESCC, por sus siglas en inglés) TNM estadio I, 15 de ESCC TNM estadio II, 15 de ESCC TNM estadio III, 15 de ESCC TNM estadio IV y 15 de tejido normal adyacente al tumor, se observó un aumento de la PPP (T. Yang *et al*., 2022). Además, metabolitos como el ácido L-glutámico (donante de nitrógeno en la síntesis de nucleótidos) en muestras séricas de adenocarcinoma ductal pancreático y en plasma de TCG óseo han mostrado niveles disminuidos (cuadro 1**)** en comparación con controles sanos (W. Wang *et al*., 2019). La L-metionina (que participa en la metilación de nucleótidos) en muestras de plasma de pacientes con TCG óseo se ha observado disminuida y se presenta como un potencial biomarcador para el diagnóstico (W. Wang *et al*., 2019). La glicina y la L-serina (útiles en la síntesis de purinas) se han observado aumentadas y disminuidas, respectivamente, en muestras de plasma de pacientes con cáncer de endometrio en comparación con las de pacientes sanos (Dossus *et*

al., 2021). Si bien estos metabolitos no pertenecen directamente a la PPP, son buenos candidatos para medir, por su participación posterior en la síntesis de nucleótidos, que requiere la actividad de la PPP para sintetizar precursores que también sean útiles.

2.3.1.5. Síntesis de L-serina

La L-serina es sintetizada utilizando los carbonos de la glucosa y el nitrógeno proveniente de la L-glutamina (Figura 1); mediante la fosfoserina fosfatasa, la 3-fosfoserina pasa a L-serina, que es un precursor inmediato de la glicina y casi inmediato (necesita dos reacciones) de la L-cisteína. Ambos aminoácidos son indispensables para la síntesis de glutatión, una molécula que, por su capacidad antioxidante, podría ser utilizada por la célula bajo el efecto Warburg para mantener el control de las ROS, evitando que aumenten demasiado y que la célula sufra un daño irreversible que la obligue a entrar en apoptosis. De manera interesante, en células de cáncer de mama metastásicas se ha reportado un aumento de las enzimas necesarias para la biosíntesis de L-serina (Pollari *et al*., 2011). La enzima fosfoglicerato deshidrogenasa (la primera enzima en la vía para sintetizar L-serina) se ha observado activa durante la metástasis de los ganglios linfáticos en pacientes con cáncer de páncreas y de células pequeñas de pulmón y, del mismo modo, altos niveles de la enzima se han vinculado con una menor supervivencia en pacientes con metástasis hepática derivada del cáncer de mama (H. M. Kim *et al*., 2014; Z. Song *et al*., 2018). La enzima serina hidroximetiltransferasa 2 (cataliza el paso de L-serina a glicina), es utilizada como marcador de pronóstico en pacientes con metástasis hepática derivada de cáncer de mama (H. M. Kim *et al*., 2014). La inhibición de la primera enzima en la síntesis de L-serina redujo la metástasis cerebral derivada de cáncer de mama en modelos murinos (Ngo *et al*., 2020). Se observa que, en la reprogramación metabólica del efecto Warburg, la L-serina desempeña un papel activo (Fang *et al*., 2019).

2.3.1.6. Metabolitos clave de la síntesis de L-serina en muestras de cáncer

La glicina y L-serina son aminoácidos que actualmente se proponen como posibles biomarcadores para el diagnóstico de cáncer de endometrio (Cuadro 1), estas moléculas se han observado aumentadas y disminuidas respectivamente en muestras de plasma con respecto a controles sanos (Dossus *et al*., 2021). El ácido L-glutámico (donante de nitrógeno en la síntesis de L-serina) en muestras séricas de adenocarcinoma ductal pancreático y en plasma de TCG óseo, se ha observado disminuido, proponiendo este aminoácido como un posible biomarcador. Medir estos metabolitos nos brinda información de qué tan activa está la ruta de síntesis de L-serina.

Retomando la posibilidad de que el 3-fosfoglicerato no se dirija a la síntesis de L-serina y continúe por glucólisis, el producto final de esta ruta, el ácido pirúvico (Figura 1), ahora tendría la capacidad de dirigirse a diferentes posibles rutas; la primera en ser descrita será la ruta que consume más ácido pirúvico, la síntesis de ácido láctico, una ruta esencial para mantener los niveles redox de la célula bajo el efecto Warburg.

2.3.1.7. Síntesis de ácido láctico

Durante el efecto Warburg se lleva a cabo una fermentación aeróbica, se produce la síntesis de ácido láctico a partir del ácido pirúvico proveniente de la glucosa, de hecho, se ha demostrado que el 90 % del carbono de la glucosa se utiliza para formar ácido láctico y L-alanina, y el 10 % restante se utiliza para la síntesis de ácidos grasos, la glicerogénesis, la glicosilación, la biosíntesis de nucleótidos y la oxidación del ácido pirúvico (Nava y Madrigal Perez, 2022). De hecho, se ha demostrado este intercambio significativo de ácido pirúvico a ácido láctico en un linfoma murino *in vivo* (Kettunen *et al*., 2010). La síntesis de ácido láctico fue mayor en células de cáncer de cuello uterino (Walenta *et al*., 2000), en glioma pontino

(Yamasaki *et al*., 2011), cáncer de colon (Cai *et al*., 2020), cáncer de tiroides, cáncer gástrico (Jung *et al*., 2014). Y la expresión del transportador monocarboxilatos 1 (MCT1), encargado del intercambio extracelular de ácido láctico, aumentó en células de cáncer de cuello uterino y de carcinoma hepatocelular (De Saedeleer *et al*., 2014; Fan *et al*., 2018). Esto nos habla de lo importante que es para la célula cancerosa sintetizar ácido láctico, se han desarrollado teorías que estipulan que la alta producción de ácido láctico se debe a que la célula necesita esta síntesis por la naturaleza de la reacción, la enzima LDH necesita NADH como cofactor para llevar a cabo la reacción, por lo que se cree que esta elevada síntesis de ácido láctico es para mantener las condiciones redox dentro de la célula, esto se explica mejor al tener en cuenta que varias de las rutas de biosíntesis utilizan moléculas NAD(P)+ como cofactores para sus reacciones, sintetizando NAD(P)H, y tomando en cuenta que la replicación constante necesita alta demandas biosintéticas, se puede asumir que la síntesis de NAD(P)H es proporcional, por lo que la célula cancerígena bajo el efecto Warburg podría optar por tener una síntesis igualmente elevada de cofactores NAD+ (Figura 1). Debido a ese alto consumo de glucosa para mantener el equilibrio de estos transportadores de electrones, de hecho, se han realizado esfuerzos para utilizar el [1-^{13}C]ácido pirúvico como sonda para determinar la presencia de cáncer, al transformarse en ácido láctico (Albers *et al*., 2008; Day *et al*., 2007; Golman *et al*., 2006). Lo que sugiere que el [1-^{13}C]ácido pirúvico hiperpolarizado incluso podría usarse clínicamente para el monitoreo de la terapia de la misma manera que se ha usado la ^{18}fluorodesoxiglucosa en PET (Brindle, 2008). Por otro lado, el ácido pirúvico restante puede presentar diferentes opciones de flujo, como segunda opción, vamos a describir su recorrido para sintetizar aminoácidos de cadena ramificada.

2.3.1.8. Ácido láctico como un metabolito clave en cáncer

El ácido láctico puede ser expulsado de la célula y, como consecuencia, acidifica el medio extracelular (disminuyendo el pH), como se observó en células de cáncer de

mama (S. C. Gupta *et al*., 2014). Asimismo, se ha observado un aumento de las concentraciones de ácido láctico en sangre en pacientes con tumores (Bergers y Fendt, 2021). Además, el ácido láctico se ha propuesto como un biomarcador diagnóstico para TCG óseo (Cuadro 1), este metabolito se observó disminuido en muestras de plasma de 28 pacientes comparado con 26 controles (W. Wang *et al*., 2019). Por estas razones, en esta investigación se midió la acidificación del medio extracelular como indicador del flujo glucolítico.

2.3.1.9. Síntesis de aminoácidos de cadena ramificada

Como segunda opción, el ácido pirúvico sintetizado puede ser utilizado para sintetizar aminoácidos de cadena ramificada (L-valina, L-isoleucina y L-leucina) (Figura 1), siendo propuestos como una ruta alterada en el efecto Warburg (Nava y Madrigal Perez, 2022). Aún se desconoce la razón de esta alteración; sin embargo, una idea expuesta determina que estos aminoácidos de cadena ramificada son sintetizados a partir de precursores como los α-cetoácidos de cadena ramificada de otros tejidos (Nava y Madrigal Perez, 2022). Respaldada por hallazgos en células de adenocarcinoma ductal pancreático en las que los α-cetoácidos de cadena ramificada contribuyeron con más del 60 % de los aminoácidos de cadena ramificada y aproximadamente el 40 % de la síntesis de proteínas (Z. Zhu *et al*., 2020).

2.3.1.10. Aminoácidos de cadena ramificada como marcadores clave en cáncer

Actualmente, los tres aminoácidos de cadena ramificada son propuestos como posibles biomarcadores para diagnosticar cáncer de próstata en un estudio realizado en el Reino Unido con 4952 pacientes (casi el 50 % eran casos); se determinó un aumento en estos tres metabolitos con respecto a sus controles (Adams *et al*., 2019). Del mismo modo, los 3 se determinan como posibles

biomarcadores para el diagnóstico TCG óseo, al encontrarse significativamente aumentados en muestras de plasma de casos frente a controles (W. Wang *et al*., 2019). Por su parte, la L-isoleucina se encuentra disminuida en muestras séricas de pacientes con adenocarcinoma ductal pancreático comparado con controles sanos (Zhao *et al*., 2023). Estos resultados reflejan la alteración de esta ruta en células cancerosas, que podría utilizar una parte del ácido pirúvico. Como tercera opción, el ácido pirúvico podría ingresar a la mitocondria para ser transformado en acetil-CoA e ingresar al ciclo de Krebs.

2.3.1.11. Ciclo de Krebs

El complejo de la piruvato deshidrogenasa es el encargado de sintetizar acetil-CoA a partir de ácido pirúvico (Figura 1), en forma de este metabolito los carbonos restantes de glucosa son incorporados al ciclo de Krebs, el ácido oxalacético se condensa con el acetil-CoA y sintetizan ácido cítrico, este primer intermediario podría continuar por las siguientes reacciones del ciclo, sin embargo, se ha observado un incremento en la síntesis de ácidos grasos en el metabolismo Warburg, el ácido cítrico es el intermediario que sale del ciclo de Krebs en dirección al citoplasma donde se encuentra con la enzima ATP citrato liasa (ACLY), cortando el flujo del ciclo. Para mantener conectadas las diferentes rutas metabólicas, la célula necesita mantener activo el ciclo de Krebs. La L-glutamina es el sustrato que mantiene las reacciones anapleróticas; en forma de ácido L-glutámico, ingresa a la mitocondria y se transforma en α-cetoglutarato (α-KG), el intermediario del ciclo de Krebs que mantiene activa la ruta. Dado que tanto glucosa como la L-glutamina pueden contribuir a los metabolitos del ciclo de Krebs, se ha observado que el cambio en el uso de una u otra fuente puede para mantener las reacciones anapleróticas, le brinda un cambio a la célula cancerígenas para mejorar su invasividad, cuando el metabolismo de L-glutamina es aquel que alimenta la mayor parte de los intermediarios del ciclo de Krebs las células se vuelven más invasivas, mientras que cuando el ciclo de Krebs se mantiene por medio de la glucosa, las

células cancerosas bajan la invasividad (L. Yang *et al*., 2014). Por esta razón, es importante tener en cuenta los intermediarios clave del ciclo de Krebs, como el ácido cítrico, el α-KG y el ácido acético. Este último es un metabolito precursor de acetil-CoA (que ingresa a ciclo de Krebs), proveniente de los productos de fermentación que pueden ser utilizados por las células bajo el efecto Warburg como fuentes de energía y biosíntesis cuando los nutrientes son limitados. Los tres metabolitos son polares, por lo que se consideraron buenos candidatos para conocer qué rutas se encuentran activas.

2.3.1.12. Metabolitos clave del ciclo de Krebs en muestras de cáncer

El ácido pirúvico actualmente se está considerando un posible biomarcador en muestras de plasma y heces para diagnosticar el cáncer colorrectal y la progresión de la enfermedad (Cuadro 1), este metabolito se ha visto aumentado en pacientes con la enfermedad con respecto a individuos sanos (Y. Sun *et al*., 2024). Otro metabolito presentado como posible biomarcador es el ácido succínico; este metabolito se encontró disminuido en muestras séricas de adenocarcinoma ductal pancreático de pacientes enfermos en comparación con sanos, mientras que el ácido acetoacético (precursor de acetil-CoA) se observó aumentado en el mismo estudio (Zhao *et al*., 2023). Además de estos metabolitos, se propone determinar el ácido cítrico, un intermediario del ciclo de Krebs y precursor de la síntesis de lípidos.

2.3.1.13. Síntesis de ácidos grasos

Al retomar la salida del ácido cítrico del ciclo de Krebs hacia el citoplasma, se consolida aún más la importancia de este metabolito, ya que el ácido cítrico es el intermediario clave para mantener la síntesis de ácidos grasos. Una vez que el ácido cítrico sale, reacciona con la enzima ACLY, que lo convierte en acetil-CoA citosólico (Figura 1). Posteriormente, se transforma en malonil-CoA mediante la acetil-CoA

carboxilasa (ACC). Después, la sintasa de ácidos grasos (FASN) utiliza acetil-CoA y malonil-CoA para iniciar la síntesis de ácidos grasos. Esta es una ruta que se ha observado regulada al alza en diferentes tipos de cáncer, se ha observado la enzima FASN acumulada en el carcinoma endometrial (Sebastiani *et al*., 2004), cáncer de mama (Kuhajda *et al*., 1994), cáncer de ovario (Gansler *et al*., 1997), carcinoma de pulmón de células no pequeñas(Visca *et al*., 2004) y cáncer colorrectal (Rashid *et al*., 1997). Incluso el aumento de esta enzima en sangre se utiliza para el pronóstico en pacientes con cáncer de mama y de próstata (Kuhajda, 2006). Se ha reportado un aumento de esta enzima en el suero de pacientes con cáncer colorrectal (Long *et al*., 2014), de mama, de próstata y de ovario (Y. Wang *et al*., 2001). También se ha informado de la acumulación de la enzima ACLY en cáncer de pulmón (Migita *et al*., 2008), colon (Wen *et al*., 2019), mama (Y. Chen *et al*., 2020) y próstata (Q. Zhang *et al*., 2019).

De manera interesante, la reprogramación del metabolismo de los lípidos es ahora una característica establecida del metabolismo del cáncer (Bacci *et al*., 2021). Además, se ha demostrado que el metabolismo de los lípidos es fundamental para la tumorigénesis (Menendez y Lupu, 2007) y no solo se ha observado un aumento de la síntesis de ácidos grasos, sino también una acumulación de lípidos libres y almacenados en gotas lipídicas en las células cancerosas. Abriendo la pauta para que los papeles de los lípidos en el cáncer se extiendan mucho más allá de sus papeles típicamente atribuidos en la biogénesis de la membrana y la producción de energía (Beloribi-Djefaflia *et al*., 2016). Por esta razón, se han postulado distintas funciones de los lípidos, una de ellas es la capacidad de mantener el ambiente redox, al funcionar como moléculas aceptoras de electrones (M. Liu *et al*., 2020). En la síntesis de los lípidos por cada dos átomos de carbono se le incorporan a la molécula cuatro electrones, las células bajo el efecto Warburg podrían depender de la constante síntesis de lípidos para esta función, y de acuerdo con el principio de máxima economía, una célula que requiere grandes cantidades de energía no sintetizaría moléculas energéticas para mantenerlas almacenadas, a menos que esa no sea su principal función dentro del efecto Warburg.

2.3.1.14. Metabolitos clave en la síntesis de lípidos en muestras de cáncer

En un estudio realizado a 1251 individuos (422 con cáncer colorrectal, 399 con adenoma colorrectal y 430 controles) se midieron metabolitos en muestras de plasma y heces, encontrando diferencias constantes entre las cohortes, y se establecieron 17 metabolitos candidatos que diagnostican el cáncer colorrectal (Y. Sun *et al*., 2024). Entre los más destacados en cuanto a su incremento de concentración se encuentra el ácido oleico; por ello, en esta investigación se prestó especial atención a este metabolito. Además, se observó también un aumento en los ácidos grasos con 22 carbonos y cinco dobles enlaces en su estructura (22:5), al igual que en el ácido graso (22:3), de igual forma, también se observó una disminución en el ácido dodecanoico y en el ácido cáprico (Y. Sun *et al*., 2024). Ambos comportamientos, de aumento y de disminución, se tuvieron en cuenta al analizar los resultados de esta investigación, al igual que los metabolitos propuestos como biomarcadores. En muestras de plasma de pacientes con cáncer colorrectal se determinó un aumento significativo de ácido esteárico y fosfatidilinositol (20:4/20:4), y una disminución de ácido dodecanoico, fosfatidilinositol (18:0/22:6) y ácido cáprico con respecto a muestras de individuos sanos (Cuadro 1), estos metabolitos fueron propuestos como posibles biomarcadores de diagnóstico y progresión (Y. Sun *et al*., 2024). El glicerol (un metabolito indispensable para la acumulación de lípidos en forma de triglicéridos) se ha observado en niveles elevados en muestras de plasma de pacientes TCG óseo en comparación con sujetos aparentemente sanos (W. Wang *et al*., 2019). Además de los ácidos grasos, la L-prolina podría desempeñar la misma función de aceptor final de electrones, debido a su naturaleza de síntesis.

2.3.1.15. Síntesis de L-prolina

El sustrato principal para la síntesis de L-prolina es el ácido L-glutámico, que a su vez proviene del metabolismo de la L-glutamina (Figura 1), el ácido L-glutámico pasa a glutamil-5-fosfato mediante la enzima glutamato cinasa, después mediante las enzimas glutamil fosfato reductasa y pirrolina-5-carboxilato reductasa, el glutamil-5-fosfato pasa a glutamato-5-semialdehido (que mediante una ciclación no enzimática pasa a ∆-pirrolina-5-carboxilato) y L-prolina respectivamente, un aspecto importante de estas dos enzimas es la capacidad de utilizar como cofactores moléculas NADH o NADPH, brindándole una capacidad a la célula de mantener el equilibrio redox, depositando los electrones y pasando a su forma oxidada de nuevo, listo para utilizarse como cofactores en las elevadas reacciones biosintéticas. Por esta razón, la L-prolina podría estar actuando como aceptor final de electrones alternativo durante el efecto Warburg. Se ha observado un incremento en la actividad de la ruta en células tumorales, por lo que se podría esperar que estas liberen L-prolina (M. Liu *et al*., 2020). Incluso se ha observado un aumento de los niveles de este metabolito en muestras de plasma de pacientes con cáncer de pulmón (n=200), cáncer colorrectal (n=199), cáncer de mama (n=198) y cáncer gástrico (n=199) (Scalise *et al*., 2018). Los niveles de hidroxiprolina fueron más altos en el colon (n = 16) y el estómago (n= 12) en tejidos tumorales que sus contrapartes normales (Hirayama *et al*., 2009). En muestras de orina de pacientes con cáncer gástrico (n=159), el nivel de L-prolina fue mayor que en los controles (n=134) (Y. Chen *et al*., 2016). En muestras de tejido humano de cáncer de colon, estómago, páncreas, hígado y riñón (n=92), los niveles de expresión de la prolina oxidasa (enzima de la membrana interna mitocondrial involucrada en la degradación del aminoácido) fueron mucho más bajos en los tejidos tumorales que en sus contrapartes de tejido normal (p <0.05), y su expresión se relacionó con la detención del ciclo celular e impulsa a la célula a entrar en apoptosis (Y. Liu *et al*., 2009). Esto nos indica que la síntesis de la L-prolina es de suma importancia para las células cancerosas, por esto, se tomó en cuenta este metabolito para el proyecto.

2.3.1.16. L-prolina como un metabolito clave en muestras de cáncer

La L-prolina actualmente es un metabolito que se ha encontrado disminuido en muestras séricas de pacientes con adenocarcinoma ductal pancreático frente a controles sanos (Cuadro 1), la diferencia significativa de este metabolito entre casos y controles lo propuso como un posible biomarcador para diagnosticar este tipo de cáncer (Zhao *et al*., 2023). Anteriormente mencionamos que la L-prolina era sintetizada a partir de ácido L-glutámico (otro metabolito propuesto como biomarcador diagnóstico); sin embargo, no todo el ácido L-glutámico es utilizado por esta ruta o mantiene activo únicamente el ciclo de Krebs, una parte de esos carbonos provenientes de la L-glutamina se utiliza para sintetizar un metabolito del que ya hemos hablado, indispensable para la síntesis de cofactores NAD+, el ácido láctico.

2.3.1.17. Glutaminólisis

Como hemos mencionado anteriormente, además de la glucosa, las células cancerígenas bajo el efecto Warburg dependen de la L-glutamina y la utilizan como otra fuente primaria de energía y como componente básico para la biosíntesis. La mayoría de las células en proliferación dependen de un suministro continuo de L-glutamina para mantener la integridad de los intermediarios del ciclo de Krebs (DeBerardinis *et al*., 2007). Además, la L-glutamina podría estar vinculada a la síntesis de lípidos, proteínas y nucleótidos (Nava y Madrigal Perez, 2022). La L-glutamina es uno de los aminoácidos más abundantes en el torrente sanguíneo y contribuye a todas las rutas biosintéticas durante el efecto Warburg, actuando como donante esencial de nitrógeno para la síntesis de nucleótidos y otros aminoácidos (Figura 1), así como precursora de la síntesis de proteínas y glutatión (Bose *et al*., 2021). La L-glutamina que ingresa a la célula cancerígena bajo el efecto Warburg se acumula y después es transformada en ácido L-glutámico mediante la enzima glutaminasa; en forma de este metabolito es donde observamos cómo se reparte

entre las diferentes rutas: una fracción ingresa a la mitocondria y es transformada en α-KG; este intermediario del ciclo de Krebs mantiene activa esta ruta (L. Yang *et al*., 2014). De hecho, se ha identificado una acumulación de glutaminasa en cáncer de mama, esófago, cabeza y cuello, sangre, colon, ovario y timo (Saha *et al*., 2019). En células de cáncer de ovario se ha encontrado que el 40 % de la L-glutamina se encarga de mantener los intermediarios del ciclo de Krebs, y contribuye con más del 50 % del ácido pirúvico y más del 50 % del ácido L-glutámico de la célula cancerosa (L. Yang *et al*., 2014). A raíz del alto consumo de este metabolito, se ha encontrado disminución de los niveles de L-glutamina en muestras de plasma en pacientes con cáncer de pulmón (n=200), gástrico (n=199), colorrectal (n=199), y mama (n=198) (Miyagi *et al*., 2011), carcinoma oral de células escamosas (n=100) (A. Gupta *et al*., 2015), y en plasma (al igual que en suero) en carcinoma papilar de tiroides (Huang *et al*., 2019). Los niveles séricos de L-glutamina también se encontraron disminuidos en pacientes con cáncer gástrico (n=30) en comparación con los de controles sanos (H. Song *et al*., 2012). Lo que nos permite observar el alto consumo de este metabolito.

Una parte de la L-glutamina se utiliza para satisfacer las necesidades biosintéticas de la célula bajo el efecto Warburg, mientras que la otra parte se utiliza para mantener el ambiente redox mediante la glutaminólisis. Mediante el ciclo de Krebs, el α-KG se transforma en ácido málico, el ácido málico sale de la mitocondria y es transformado en gran parte del ácido pirúvico en la célula (L. Yang *et al*., 2014). Se utiliza para sintetizar ácido láctico y NAD+, completando la glutaminólisis (conversión de L-glutamina a ácido láctico) (Nava y Madrigal Perez, 2022). Por esta razón, se prestó especial atención a la L-glutamina y al ácido L-glutámico (metabolito propuesto para el diagnóstico de diferentes tipos de cáncer). Por ello, determinar en la levadura un perfil de metabolitos similar al observado en células cancerosas fue un resultado excelente que justifica la presencia de este efecto.

Cuadro 1. Metabolitos propuestos como potenciales biomarcadores en diferentes tipos de cáncer.

Tipo de cancer	Muestra biologica utilizada	País	Experimentacion utilizada	Conjunto de datos	Grupos de estudio	Estadio	Tamaño de muestra	Edad media	H/M	Metabolitos alterados	AUC	Sens. (%)	Espec. (%)	Exactitud (%)	Referencia
Cáncer colorrectal	Plasma	NR	cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) no dirigida	Descubrimiento	Cáncer colorrectal vs sanos	0=3, I=21, II=17, III=36 Y IV=18	230	61.90± 11.49 / 43.76± 11.60	116 /114	Aumentados: 7 metabolitos (FAHFA (22:5/22:3), ACar (9:1), pseudouridina, PI (20:4/20:4), ácido esteárico, 3β,6α-dihidroxi-α-ionol 9-[apiosil-(1->6)-glucósido], piruvato) y disminuidos: 10 metabolitos (ganoderiol B, L-acetilcarnitina, ácido dodecanoico, PI (18:0/22:6), alixina, ácido úrico, poliporusterona F, sulfato de DHEA, SHexCer (d29:1) y ácido cáprico)	0,927	80,2%	93,6%	NR	(Sun et al., 2024)
	Heces	NR	cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) no dirigida	Descubrimiento	Cáncer colorrectal vs sanos	0=3, I=21, II=17, III=36 Y IV=19	230	61.90± 11.49 / 43.76± 11.61	117 /114	Aumentados: 7 metabolitos (FAHFA (22:5/22:3), ACar (9:1), pseudouridina, PI (20:4/20:4), ácido esteárico, 3β,6α-dihidroxi-α-ionol 9-[apiosil-(1->6)-glucósido], piruvato) y disminuidos: 10 metabolitos (ganoderiol B, L-acetilcarnitina, ácido dodecanoico, PI (18:0/22:6), alixina, ácido úrico, poliporusterona F, sulfato de DHEA, SHexCer (d29:1) y ácido cáprico)	0.916	83.50%	86.70%	NR	(Sun et al., 2024)
	Plasma	NR	cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) no dirigida	Descubrimiento	Cáncer colorrectal vs Adenoma colorrectal	0=3, I=21, II=17, III=36 Y IV=18	254	61.90± 11.49 / 54.56± 11.37	153 / 101	Aumentados: 7 metabolitos (FAHFA (22:5/22:3), ACar (9:1), pseudouridina, PI (20:4/20:4), ácido esteárico, 3β,6α-dihidroxi-α-ionol 9-[apiosil-(1->6)-glucósido], piruvato) y disminuidos: 10 metabolitos (ganoderiol B, L-acetilcarnitina, ácido dodecanoico, PI (18:0/22:6), alixina, ácido úrico, poliporusterona F, sulfato de DHEA, SHexCer (d29:1) y ácido cáprico)	0,928	89,0%	88,7%	NR	(Sun et al., 2024)
	Sérica	NR	cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) no dirigida	Descubrimiento	Cáncer colorrectal vs sanos	NR	148	61.61 ± 9.86 / 61.52 ± 6.81	96 / 52	Aumentados: 3 metabolitos (ácido hexadecanodioico, ácido 4-dodecilbencenosulfónico y ácido formilantranílico) y disminuidos: 1 metabolito (ácido 2-pirocatecuico)	>0.7	>60%	>78%	NR	(C. Zhang et al., 2021)
Adenocarcinoma ductal pancreático	Sérica	NR	cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) no dirigida	Descubrimiento	Adenocarcinoma ductal pancreático vs sanos	NR	128	61,2 ± 6.96 / 60,35 ± 6,19	79 / 49	Aumentados: 7 metabolitos (ácido palmítico, ácido mirístico, ácido linoleico, ácido adrenico, ácido araquidónico y lípidos) y disminuidos: 7 metabolito (triptófano, glutamato, isoleucina, prolina, creatina, taurina y succinato)	0,830	88.90%	NR	NR	(Zhao et al., 2023)
Cáncer de pulmón de células no pequeñas	Plasma	NR	cromatografía líquida-espectrometría de masas dirigida	NR	cáncer de pulmón de células no pequeñas vs sanos	III=1, IV=18	29	69 (41 - 81) / 35	NR	Aumentados: 1 metabolito (ácido 3-hidroxiantranílico (3-HAA) (p = 0,028)) y disminuidos: 2 metabolito (triptófano (p = 0,002) y ácido xanturénico (p = 0,032))	NR	NR	NR	NR	(Karayama et al., 2021)
Cáncer de próstata letal	Sérica	NR	espectrometría de masas	NR	Cáncer de próstata letal vs sanos	I=53, II=30	692	66 (61–69) / 66 (61–69)	682 / 0	Aumentados: 4 metabolitos (colina (P = 0,003), carnitina (P = 0,03), PAGln (P = 0,002) y sulfato de p-cresol (P = 0,01)) y disminuidos: 0 metabolitos	NR	NR	NR	NR	(Reichard et al., 2022)
Cáncer de próstata	Sérica	Reino Unido	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)	Descubrimiento	Cáncer de próstata vs sanos	NR	4952	63 (59–67) / 63 (59–66)	4952 / 0	Aumentados: 4 metabolitos (Fosfolipidos de IDL (P=0.00092), leucina (P=0.00027), isoleucina (P=0.00008), tirosina (P=0.00003), valina (P=0,00139) y albumina (P=0.00065)) y disminuidos: 0 metabolitos	NR	NR	NR	NR	(Adams et al., 2019)
Cáncer de endometrio	Plasma	Reino Unido	cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) con un Agilent UPLC 1290 acoplado a un espectrómetro de masas QTRAP 4000 SCIEX.	Descubrimiento	Cáncer de endometrio vs sanos	I=761, II=42	1706	63.0 (7.9) / 54,7 (7,5)	0 / 1706	Aumentados: 2 metabolitos (esfingomielina [SM] C18:0 (valor P = 0,006), glicina (P = 0,03)) y disminuidos: 2 metabolitos (serina (valor P=0.03), carnitina libre (valor P=0.07))	NR	NR	NR	NR	(Dossus et al., 2021)
Tumor de células gigantes (TCG) óseo	Plasma	NR	Resonancia magnética nuclear (RMN)	Descubrimiento	Tumor de células gigantes (TCG) óseo vs sano	I=5, II= 13 III=10	54	40.6 ± 11.3 / 38.0 ± 11.5	19 / 35	Aumentados: 9 metabolitos (lactato(valor P = 0.01), acetoacetato (P = 0.018), 3-hidroxibutirato (P=0.041), Leucina (P=0.030), glutamato (P=0.039), glicerol (P=0.037), valina (P=0.032), isoleucina (P=0.046) y acetona (P=0.026)) y disminuidos: 2 metabolitos (triglicéridos L2, L3, L5 y L7 (P=0.017), metionina (P=0.015), lisina (P=0.004), acetato (P=0.035), ácido fórmico (P=0.001), glucosa (P=0.018))	NR	NR	NR	NR	(Wang et al., 2019)

Metabolitos reportados como potenciales biomarcadores en estudios de metabolómica en diferentes tipos de cáncer frente a controles aparentemente sanos. Para cada estudio se presentan el tipo de muestra biológica, la plataforma analítica, las características de la población estudiada, los metabolitos que aumentaron o disminuyeron en los pacientes y, cuando se reportó, el desempeño diagnóstico del panel de metabolitos. Elaboración propia con datos de los estudios citados en la columna de referencias.

2.3.2. Metabolitos de células cancerígenas bajo el efecto Warburg utilizados como biomarcadores para determinar en *S. cerevisiae*

Los metabolitos planteados anteriormente fueron los marcadores utilizados para fundamentar la presencia del efecto Warburg en células de *S. cerevisiae,* observar el metabolismo a través de esa ventana de metabolitos otorga una idea general de lo que está ocurriendo en la célula y cuáles son las rutas metabólicas más activas, cumpliendo así con un objetivo final de esta investigación. Otro aspecto interesante para tener en consideración para futuras investigaciones del macroproyecto al que pertenece esta investigación es el recambio que ocurre en *S. cerevisiae;* la reprogramación metabólica en este modelo podría ayudar a dilucidar nuevos aspectos que ayuden a comprender la reprogramación de células cancerosas con mayor detalle.

2.4. Aplicaciones de *S. cerevisiae* a lo largo de la historia

S. cerevisiae es el modelo por excelencia que se tiene actualmente, es y será ampliamente utilizado por la comunidad científica debido a sus grandes capacidades, se han realizado numerosos descubrimientos que posteriormente son validados en células humanas. De hecho, se han utilizado células de *S. cerevisiae* para ayudar a determinar que, en células de cáncer murino EL4, la PPP se encontraba activa a partir del metabolismo de la glucosa (Timm *et al*., 2015). Susan

Lindquist describió que la levadura *S. cerevisiae* desempeña un papel único en el arsenal contra la neurodegeneración. *S. cerevisiae*, es el organismo eucariota mejor comprendido y fácil de analizar, que proporcionó información sobre los mecanismos autónomos de la neurodegeneración celular a escala de todo el interactoma (Khurana y Lindquist, 2010).

2.5. Reprogramación metabólica de células cancerígenas

Para mejorar su prevalencia, crecimiento y proliferación, las células cancerosas presentan características como el escape a la muerte celular, la señalización de síntesis de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis), la invasión promovida, metástasis (Lin *et al*., 2020), capacidad migratoria y evasión del sistema inmunológico (*Transición epitelio mesénquima*, s. f.). La adquisición de estas características en células cancerosas podría estar impulsada por la reprogramación metabólica, que induciría la expresión de factores de transcripción como *c-Myc*, *p53* y el factor 1α inducible por hipoxia (HIF-1α), factores que se estudian en el cáncer, pero con un enfoque aún oncogénico (S. Gupta *et al*., 2017). No hay que olvidar que estas alteraciones podrían ser el resultado del recambio metabólico, se necesita analizar el conocimiento de interacciones complejas entre distintas vías de señalización como Notch, Akt, fosfoinositol-3-cinasa (PI3K), PTEN, diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR, por sus siglas en inglés) (Masui *et al*., 2015), y la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) (Koczula *et al*., 2016). Para determinar su función desde el enfoque de la teoría metabólica mitocondrial.

En específico, cada factor transcripcional impulsa diferentes rutas, y podrían estar regulados por alteraciones en el metabolismo, *c-Myc* estimula la biosíntesis de nucleótidos, glucólisis y glutaminólisis, *p53* inhibe glucólisis y limita la glutaminólisis debido a que induce el regulador TIGAR, inhibe la fosfoglicerato mutasa (PGM), aumenta la expresión de *SCO2* (altera el consumo de oxígeno y regula el complejo citocromo c oxidasa) y al final inhibe los transportadores GLUT1 y GLUT2 (Lin *et al*., 2020). Por su parte, el factor transcripcional conocido como HIF-1α altera

metabolismo de glucosa al ser activadas la gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH), GLUT1, las hexocinasas 1 y 2 (HK1 y HK2), factor de motilidad autocrina (AMF/GPI), enolasa 1 (ENO1), triosa fosfato isomerasa (TPI), piruvato cinasa (PK), 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa-3 (PFKFB3), fosfofructocinasa hepática (PFKL), fosfoglicerato cinasa 1 (PGK1) y la lactato deshidrogenasa A (LDHA) (Lin *et al*., 2020). Conocer las regulaciones de estos factores podría ayudar a determinar cuáles son los mecanismos por los cuales el metabolismo alterado brinda las nuevas características que va a adquirir cada célula tumoral, y ayudar a establecer en que proporción esta reprogramación del metabolismo depende tanto de las alteraciones internas como de las condiciones ambientales en el entorno (microambiente) y, estos factores transcripcionales podrían en un futuro ser buscados en el nuevo modelo metabólico del efecto Warburg en *S. cerevisiae snf1*Δ mediante sus homólogos, y determinar mejor su papel en la enfermedad.

2.6. Vía SNF1/AMPK y la pérdida de su función favorecen el metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg

Primero el gen *SNF1,* es un regulador energético que presenta una gran diversidad de funciones dentro de la célula, funciones como la adaptación a la limitación de glucosa, procesos de desarrollo celular, meiosis, mitosis, respuesta celular al estrés ambiental por iones de sodio, choque térmico, pH alcalino, estrés oxidativo, estrés genotóxico, control transcripcional y actividad de enzimas metabólicas; *SNF1* permite mantener la homeostasis energética en respuesta a diferentes alteraciones ambientales (Hedbacker y Carlson, 2008). La proteína cinasa *SNF1*, es el miembro fundador de la familia SNF1/AMPK. Se identificó genéticamente en *S. cerevisiae* al recuperar la mutación *snf1*Δ en una búsqueda de mutantes incapaces de utilizar sacarosa (Carlson *et al*., 1981).

Tan solo 13 años después se clonó un DNA complementario (ADNc) que codificaba para una subunidad catalítica de AMPK y se identificó como el gen ortólogo en mamíferos de *SNF1*, con el paso del tiempo y con diferentes investigaciones

posteriores, se ha demostrado que la vía SNF1/AMPK está notablemente conservada entre los eucariotas (Hedbacker y Carlson, 2008). La actividad catalítica de *SNF1* es regulada por tres enzimas cinasas río arriba, Sak1p, Elm1p y Tos3p, que son las encargadas de activar a *SNF1*, mientras que para AMPK, las cinasas activadoras son la cinasa hepática B1 (LKB1), cinasa dependiente de calcio/calmodulina (CaMKK) y la cinasa 1 activada por TGF-β (TAK1); la conservación de la cascada de cinasas SNF1/AMPK se respalda en cierta manera debido a que las 6 cinasas río arriba son capaces de activar a *SNF1 in vivo* e *in vitro*, independientemente de si son provenientes de *S. cerevisiae* o de célula de mamífero (Hedbacker y Carlson, 2008). Por lo tanto, la conservación de la ruta nos lleva a preguntarnos si una alteración similar en la vía, como una deleción, podrá producir los mismos cambios en el metabolismo de ambas especies eucariotas.

La ablación genética de la función de AMPK en células cancerosas de ratón sugiere que la pérdida de AMPK fomenta la progresión del tumor y acelera el cambio metabólico hacia el efecto Warburg, en parte mediante la regulación de las vías metabólicas celulares que apoyan el crecimiento y la proliferación (Faubert *et al*., 2013). Se detectó que la pérdida de la función de AMPK aumentó el consumo de glucosa, la producción de ácido láctico y la velocidad de acidificación extracelular (ECAR, por sus siglas en inglés) (Faubert *et al*., 2013), que como ya describimos anteriormente son fenotipos comunes que son criterios para determinar si un tejido tiene el efecto Warburg (H. Sun *et al*., 2019). Además, se mostró que el ECAR aumentó en líneas celulares de carcinoma de pulmón y de colon con pérdida de la función de AMPK (Faubert *et al*., 2013). Por lo tanto, determinar fenotipos homólogos en la cepa *S. cerevisiae snf1*∆ nos ayudaría a contar con mayor sustento para demostrar la presencia del efecto Warburg en esta cepa. Sin embargo, el aumento de estos fenotipos específicos no es el único efecto visible con la pérdida de la función del gen AMPK en células de mamífero; de manera interesante, existe el síndrome de Peutz-Jeghers que es causado por una mutación que afecta el gen AMPK de forma indirecta en seres humanos, que provoca, entre sus principales efectos, poliposis.

2.7. Poliposis hamartomatosa de Peutz-Jeghers

Este síndrome es un trastorno hereditario poco frecuente, caracterizado por la presencia de pólipos hamartomatosos gastrointestinales, ocasionados por una mutación del gen serina-treonina cinasa 11 (STK11), que está ubicado en el cromosoma 19p, este trastorno autosómico dominante presenta una incidencia estimada de 1:50.000 a 1:200.000 casos con antecedentes familiares significativos (Pandit *et al*., 2024). Donde aproximadamente el 50 % de los casos son hereditarios y el 50 % restante son esporádicos, resultantes de una mutación espontánea. Los pólipos se desarrollan con frecuencia en el yeyuno (90 %), íleon (80 %), colorrectal (50 %) y estómago (25 %). Los pacientes presentan un riesgo 15 veces mayor de desarrollar cáncer intestinal y extraintestinal en comparación con la población general (Pandit *et al*., 2024).

Mediante una exploración de las funciones específicas de LKB1 (codificada por *STK11*), se observó que esta enzima regula la AMPK, así como las cinasas relacionadas con AMPK, al fosforilarlas (Trelford y Shepherd, 2025). De hecho, la mayoría de las células de mamíferos dependen de LKB1 para activar AMPK durante el estrés oxidativo y metabólico, lo que regula una amplia gama de procesos celulares como la división celular, metabolismo, crecimiento, polaridad, gasto de energía, transcripción, reparación de ADN y apoptosis (Trelford y Shepherd, 2025). De manera interesante, se ha observado en muchas muestras de pacientes y modelos animales que la pérdida de la señalización LKB1-AMPK altera el crecimiento celular y los mecanismos de reparación, desencadenando el desarrollo del cáncer. Además, utilizaron compuestos farmacológicos orientados a reactivar AMPK, como cafestol y β-ionona, que interrumpieron dicha progresión tumoral (Feng *et al*., 2024; Hou *et al*., 2023). Así, de ser similar, la pérdida de la función de *SNF1* en *S. cerevisiae* provocaría efectos similares a los de la pérdida de la función del gen AMPK en células de mamíferos. Dando un preámbulo de por qué la deleción del gen *SNF1* funciona para modelar el efecto Warburg en *S. cerevisiae.*

2.8. *Saccharomyces cerevisiae snf1*Δ

S. cerevisiae es uno de los organismos mejor estudiados a nivel mundial hasta la fecha, fue el primer organismo en proporcionar la secuencia completa del genoma eucariota, además de ser el único organismo para el cual existe una colección completa de cepas mutantes por deleción (Giaever y Nislow, 2014). La cepa utilizada en esta investigación es una de las más de 21000 cepas mutantes que portan eliminaciones precisas de principio a fin de aproximadamente 6000 marcos de lectura abiertos (Giaever y Nislow, 2014). En específico, la cepa de *S. cerevisiae* BY4741 *snf1*Δ es la cepa que presenta una deleción del gen *SNF1* al ser reemplazado por el gen marcador *KanMX4* que confiere resistencia al antibiótico geneticina G-418 (Giaever y Nislow, 2014). Este antibiótico se utilizó durante toda la experimentación (200 µg/mL) para asegurar que la cepa utilizada en los análisis conservara la deleción y perdida de la función del gen *SNF1.*

2.9. Deleción del gen *SNF1* como posible causante del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg en *Saccharomyces cerevisiae*

De forma interesante, se ha demostrado que el gen *SNF1* comparte funciones conservadas evolutivamente con AMPK en eucariotas, ocasionando un fenotipo sobre el metabolismo de glucosa y lípidos que puede ser similar en ambos reguladores energéticos (Coccetti *et al*., 2018). *SNF1* se encarga de fosforilar a Mig1p (un represor transcripcional) en cuatro sitios activos cuando hay niveles bajos de glucosa, lo que activa una señal de exportación nuclear (NES, por sus siglas en inglés) y favorece su translocación desde el núcleo hacia el citoplasma (Coccetti *et al*., 2018). Al activarse Mig1p controla la expresión de los transportadores de glucosa de alta afinidad (*HXT2, HXT4*) cuando los niveles de glucosa bajan, en *S. cerevisiae* (Coccetti *et al*., 2018). Además de su participación en la regulación

transcripcional con los represores (Mig1p, Cat8p y Sip4p) *SNF1* también regula directamente enzimas metabólicas, una de estas regulaciones es la de la enzima ACC, esta regulación le ayuda a compensar el agotamiento en las reservas acetil-CoA en la célula debido a la conversión de carbono en ácidos grasos (Coccetti *et al*., 2018). La pérdida del gen *SNF1* en *S. cerevisiae* provoca la acumulación de ácidos grasos, la vía de síntesis activa ocasiona una auxotrofía del mio-inositol provocada por el desbordamiento de carbono utilizado en la vía, haciendo de *S. cerevisiae* un modelo para estudiar aspectos fundamentales para validar la complejidad de la regulación celular (Coccetti *et al*., 2018). Los principales efectos que provocan una alteración metabólica son causados en respuesta a factores de estrés y la limitación de la glucosa. La función principal de *SNF1* es la integración de señales en respuesta a la disponibilidad de nutrientes, así como la regulación de la endocitosis de los transportadores de hexosas, manteniendo una alta actividad del flujo de glucosa y, por ende, también de la producción de energía (Coccetti *et al*., 2018). Ambos son aspectos fundamentales del efecto Warburg.

La forma de producción de energía de los organismos se ha clasificado en distintos tipos de producción de ATP o de moléculas con propiedades similares (enlaces de alta energía). Para la mayoría de las células cancerosas que comparten el efecto Warburg se presentan la fermentación aeróbica y una alta absorción de glucosa (Nava y Madrigal Perez, 2022). En el caso de *S. cerevisiae* adapta su metabolismo dependiendo de la accesibilidad de carbohidratos, concentraciones mayores de 0.08 mM de glucosa disponible adapta la forma de producción de ATP, realizando un recambio metabólico para producir energía por medio de fermentación, el uso de concentraciones de 0.005 % y 5 % de glucosa aumentó la transcripción de los transportadores de hexosas *HXT2*, *HXT4* y *HXT1*, *HXT4,* respectivamente (Carrillo-Garmendia *et al*., 2022). Se ha demostrado que la regulación de los genes *SNF1* y *HXK2* tiene un efecto en los niveles de transcripción de los transportadores de hexosas y, en consecuencia, a los niveles de disponibilidad de glucosa, lo que provoca un efecto sobre el crecimiento exponencial y la respiración mitocondrial (Carrillo-Garmendia *et al*., 2022). Se deja ver que, sin estas regulaciones, el

organismo presenta alteraciones similares a las provocadas por el recambio metabólico del efecto Warburg.

Los mecanismos de regulación que poseen las células están encargados de hacer coincidir el metabolismo, el crecimiento y la progresión del ciclo celular (Coccetti *et al*., 2018). En los últimos años, investigaciones de *SNF1* han mostrado roles no convencionales que ejerce sobre el metabolismo de *S. cerevisiae,* tales como la regulación de la endocitosis en respuesta a glucosa, fosforilando la α-arrestina Rod1p, que regula la endocitosis del transportador Jen1p (de ácido láctico) en limitación y presencia de glucosa (Coccetti *et al*., 2018). De igual manera regula los transportadores *HXT1*, *HXT3* y *HXT6* de hexosas, funcionando como activador y represor del tráfico celular, indicando que *SNF1* conserva funciones fisiológicas importantes (Coccetti *et al*., 2018). De forma interesante, se encontró en cultivos de *snf1*∆ una reducción de la expresión de genes específicos de la fase G1, *SNF1* se encarga de dirigir la regulación de la proliferación celular, su localización en el sitio de división provoca un defecto en la alineación correcta del huso mitótico, retrasando la transición de la metafase al anafase, mostrando que *SNF1* actúa en paralelo con la vía Kar9p y Dyn1p responsables de la alineación del huso mitótico. Esto hace perceptible la dependencia de la función mitocondrial en células *snf1*∆ (Coccetti *et al*., 2018). Al no estar presente, *SNF1* no ejerce su regulación sobre la proliferación celular (una característica desregulada importante en el desarrollo del cáncer). Sin embargo, esta regulación es una de muchas que existen, y entender cómo funciona cada una representa muchos retos por delante, además de los mencionados anteriormente.

2.10. Retos actuales para el análisis del metabolismo de células cancerosas bajo el efecto Warburg

Durante mucho tiempo, el campo dedicado a entender cómo funciona el metabolismo del cáncer se mantuvo a la espera de nuevos avances en biología

molecular y genética, avances que ahora están impulsando un nuevo auge en el conocimiento sobre su funcionamiento (Bose *et al*., 2021). Con los nuevos conocimientos y técnicas, también se generan nuevos desafíos para comprender qué es lo que está pasando dentro de las células cancerosas, en la actualidad se está comenzando a comprender que los fenotipos metabólicos del cáncer presentan heterogeneidad, esto quiere decir que los fenotipos metabólicos se diferencian en función del tejido del que proviene cada célula, del ambiente tumoral que se genere y de las diferentes mutaciones que se presenten (Bose *et al*., 2021). Otro desafío a tomar en cuenta es la extrapolación de los estudios en ratones hacia ensayos clínicos, además de que se considera que la flexibilidad metabólica y mutaciones de los tumores pueden superar los conocimientos de inhibidores metabólicos para su futura aplicación (Bose *et al*., 2021). La extrapolación de los resultados también es un reto que debe considerarse al proponer a *S. cerevisiae snf1*∆ como modelo para estudiar el metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg. Por ello, en esta investigación se comenzaron a sentar las bases para dicho modelo; una de nuestras estrategias consistió en medir los metabolitos clave expuestos anteriormente que indiquen si está presente el efecto Warburg bajo condiciones de glucosa a las que podrían estar expuestas las células cancerosas de mamífero.

2.11. Modelo del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg en *S. cerevisiae*

En la cepa de *S. cerevisiae snf1*∆ se evaluaron las rutas metabólicas que determinan la presencia del efecto Warburg en la célula. Esto incluyó tanto las rutas ya bien establecidas, como la glucólisis (flujo glucolítico) y producción de ácido láctico, así como las nuevas rutas postuladas a formar parte de la definición actualizada del efecto Warburg, como lo son glutaminólisis, síntesis de ácidos grasos, síntesis de L-prolina y síntesis de L-serina. *S. cerevisiae* es apta para modelar estas rutas, debido a que son rutas centrales que se mantienen en ambos organismos; estas rutas fueron validadas mediante los ensayos de fenotipos

comunes que ya están establecidos como criterios para determinar si una célula presenta el efecto Warburg (flujo glucolítico y ECAR) (H. Sun *et al*., 2019).

2.12. El cáncer de hígado como referencia para el perfil de metabolitos

El efecto Warburg se ha descrito en la mayoría de los tipos de cáncer; sin embargo, los fenotipos metabólicos de las células cancerosas dependen del tejido del que provienen, el medio ambiente tumoral y las mutaciones que presentan (Bose *et al*., 2021). Por ello, un modelo de referencia del perfil de metabolitos construido a partir de todos los tipos de cáncer mezclaría señales de tejidos con metabolismos distintos y, además, no era un abordaje viable en el tiempo disponible para este trabajo. Fue necesario elegir un tipo de cáncer que cumpliera dos condiciones: compartir con *S. cerevisiae* las rutas metabólicas que se pretendieron evaluar y contar con un número suficiente de estudios de metabolómica sérica frente a controles aparentemente sanos. El cáncer de hígado reúne ambas.

En primer lugar, el hígado sintetiza ácidos grasos mediante lipogénesis *de novo,* una de las principales fuentes de la grasa hepática, además de que es un sitio preferente también para la glucólisis (Postic y Girard, 2008). Compartiendo así con la levadura 2 de las rutas que definen el efecto Warburg y la similitud de la glucólisis entre ambos organismos va más allá de la secuencia de reacciones: 22 de 25 genes glucolíticos humanos tienen sus ortólogos en *S. cerevisiae,* y una sustitución completa de la vía de la levadura por la glucólisis humana produjo cepas capaces de crecer con glucosa como única fuente de carbono, a pesar de las diferencias estructurales, cinéticas y regulatorias en las enzimas de ambas especies (Boonekamp *et al*., 2022).

En segundo lugar, la vía SNF1/AMPK conecta ambos sistemas. Como se describió anteriormente, *SNF1* es el homólogo de AMPK, y una baja activación de AMPK en el tejido tumoral se asocia con características clinicopatológicas agresivas y con un peor pronóstico (Zheng *et al*., 2013). Esta alteración se asemeja a la de la cepa *snf1Δ*, en la que la pérdida de la función del gen *SNF1* provoca la presencia del efecto Warburg.

Por estas razones, el perfil de metabolitos en el suero de pacientes con cáncer de hígado se eligió como referencia para construir el modelo del efecto Warburg y compararlo con el modelo de *S. cerevisiae snf1Δ*.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Identificar el perfil de metabolitos de células cancerígenas con el fenotipo Warburg utilizando el modelo de *Saccharomyces cerevisiae*.

3.2. Objetivos específicos

1. Generar un modelo del perfil de metabolitos de células cancerosas bajo el efecto Warburg a partir de información de la literatura.
2. Determinar el perfil de metabolitos representativos del efecto Warburg de células cancerosas en la cepa mutante en el gen *SNF1* de *S. cerevisiae*.
3. Analizar las asociaciones entre el perfil de metabolitos característicos del efecto Warburg y el fenotipo metabólico de la cepa mutante en el gen *SNF1* de *S. cerevisiae*.

3.3. Objetivos profesionalizantes

1. Adquirir habilidades en la interpretación de resultados para proponer nuevas estrategias de prevención, tratamiento y seguimiento de las enfermedades como el cáncer, mediante la comprensión detallada de los análisis estadísticos.

2. Desarrollar competencias en el diseño y la implementación de protocolos de análisis clínico para la detección, el pronóstico y el seguimiento de enfermedades enfocado a cáncer, que ayuden a observar si se ha diseñado de forma correcta la futura aplicación y extrapolación de los resultados adquiridos, con la finalidad de aplicar los nuevos conocimientos en seres humanos con el tiempo.
3. Desarrollar habilidades y competencias para el emprendimiento y la creación de proyectos e investigaciones innovadoras. Mediante la ampliación y profundización en el conocimiento de la industria del diagnóstico clínico, para generar nuevas oportunidades de aplicación con los conocimientos adquiridos en ingeniería bioquímica, bioquímica clínica diagnóstica y biotecnología a lo largo de la formación como profesionista, buscando su implementación en cada posible área de la salud (*one health*).

4. Metodología

4.1. Metodología para generar el modelo del perfil de metabolitos de células cancerosas

Para generar el perfil de metabolitos principal a partir de la literatura se utilizó la metodología *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) para revisiones sistemáticas, comprende diferentes componentes, pero sin duda el principal es la estrategia de paciente, intervención, comparación y resultados (PICO, por sus siglas en inglés), que orientó nuestra revisión sistemática, quedando de la siguiente manera: pacientes=personas con cáncer, intervención=no aplica, comparación=personas aparentemente sanas y resultados= metabolitos en muestras de suero. La estrategia PICO nos permitió delimitar el objetivo de búsqueda de la revisión.

4.1.1. Pregunta de investigación

La revisión sistemática de la literatura se centró en recopilar todos los estudios que proponen paneles de metabolitos para el diagnóstico de cualquier tipo de cáncer y en comparar las muestras de pacientes con cáncer con las de sujetos aparentemente sanos. Por lo tanto, la pregunta de investigación asignada a esta revisión sistemática es la siguiente: ¿Cuál es el perfil de metabolitos asociados al efecto Warburg en muestras de suero de pacientes con cáncer, en comparación con sujetos aparentemente sanos?

Determinar la pregunta de investigación permitió definir los criterios de inclusión y exclusión que debía cumplir cada artículo.

4.1.2. Criterios de inclusión

Esta revisión de la literatura incluyó estudios que proponían un panel diferencial de metabolitos en pacientes con cáncer. Los criterios de inclusión que debía cumplir cada artículo fueron:

- Artículos con determinación de metabolitos.
- Artículos con muestras de suero.
- Artículos con pacientes diagnosticados de cáncer.
- Artículos con controles aparentemente sanos para la comparación.
- Artículos publicados en idioma inglés.

4.1.3. Criterios de exclusión

Por otro lado, se realizó la exclusión de los artículos que contenían criterios como:

- Artículos sin grupo control de pacientes aparentemente sanos.
- Artículos donde se utilizaron muestras de tejido, plasma o diferentes a suero.
- Artículos con información insuficiente.
- Artículos que son revisiones sistemáticas, metaanálisis, libros o editoriales.
- Artículos escritos en un idioma diferente al inglés.

Una vez determinado PICO y los criterios de inclusión y exclusión, el siguiente paso fue determinar en cuáles bases de datos se realizaría la búsqueda de los artículos científicos.

4.1.4. Fuentes de datos

La búsqueda bibliográfica se realizó en dos bases de datos: PubMed y Europe PMC. La estrategia de búsqueda se construyó utilizando los términos Medical Subject Headings (MeSH), se utilizaron descriptores y sinónimos de "*Biomarkers, Tumor*", "*Metabolomic*" y "*Diagnosis*", lo que resultó en el siguiente algoritmo de búsqueda para PubMed:

(*"Neoplasms"[Mesh] OR cancer*[tiab] OR neoplasm*[tiab] OR tumor*[tiab] OR carcinoma*[tiab]) AND ("Serum"[Mesh] OR serum[tiab]) AND ("Metabolomics"[Mesh] OR metabolomic*[tiab] OR metabonom*[tiab] OR "metabolic profiling"[tiab] OR "metabolite profiling"[tiab]) AND (healthy control*[tiab] OR healthy subject*[tiab] OR control group*[tiab] OR control subject*[tiab] OR non-cancer*[tiab]*).

Mientras que para la base de datos Europe PMC se desarrolló el siguiente algoritmo:

(*TITLE_ABS:cancer** *OR TITLE_ABS:neoplasm** *OR TITLE_ABS:tumor** *OR TITLE_ABS:carcinoma**) *AND (TITLE_ABS:serum) AND (TITLE_ABS:metabolomic** *OR TITLE_ABS:metabonom** *OR TITLE_ABS:"metabolic profiling" OR TITLE_ABS:"metabolite profiling") AND (TITLE_ABS:"healthy control*" OR TITLE_ABS:"healthy subject*" OR TITLE_ABS:"control group*" OR TITLE_ABS:"control subject*" OR TITLE_ABS:"non-cancer"*).

La búsqueda se realizó en el mes de febrero del 2026 para PubMed y en el mes de marzo del 2026 para Europe PMC, los valores obtenidos fueron 477 artículos científicos (concentrados entre los años 2005 y 2026) y 153 resultados (concentrados entre los años 2009 y 2026) respectivamente. Después de registrar todos los artículos obtenidos con cada uno de los algoritmos, el paso a seguir fue realizar el cribado.

4.1.5. Selección de estudios

De manera simultánea e independiente, dos curadores revisaron los artículos obtenidos tras las búsquedas en las bases de datos para seleccionar aquellos que cumplían con los criterios de inclusión/exclusión mediante una lectura inicial del título y del resumen. Debido a que el número de artículos relevantes obtenido (293) no permitía su análisis completo en el tiempo disponible para este trabajo, los artículos se agruparon por tipo de cáncer y se seleccionaron los estudios de cáncer de hígado, por la similitud de sus rutas metabólicas centrales con las de *S. cerevisiae* (sección 2.12) y por contar con un número de estudios suficiente para construir el modelo. Estos artículos se leyeron en texto completo para confirmar su elegibilidad.

4.1.6. Extracción de datos

Para los artículos relevantes se extrajeron los datos y se clasificaron en tablas según su característica, la tabla de recolección de datos para la revisión cuenta con una distribución por bloques y columnas tales como la identificación del artículo (primer autor | año de publicación | título del artículo | identificador de objeto digital (DOI, por sus siglas en inglés) | país), diseño del estudio (tipo de estudio | tipo de cáncer | subtipo histológico | número total de sujetos | número de pacientes con cáncer | número de controles | edad | estatus clínico), tipo de muestra biológica (condiciones de ayuno | condiciones de centrifugación | temperatura de almacenaje | tiempo hasta el análisis), metodología metabolómica (tipo de metabolómica | método de análisis | tipo de columna | dimensiones de la columna | fase móvil A y B | condiciones del gradiente | flujo | modo de ionización | analizador de masas | m/z rango | resolución ms | uso de estándares | gas acarreador | tipo de resonancia magnética nuclear (RMN) | etc.), procesamiento y análisis de datos (software para análisis | transformación de datos | análisis estadísticos | análisis multivariante), identificación de metabolitos (nombre del metabolito | nombre estandarizado | clase del metabolito | ruta metabólica | identificador en *Human Metabolome Database* (HMDB) o Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) | dirección del cambio | cambio relativo (*fold change*, FC) | *p-value* | asociación clínica | biomarcador propuesto). Los datos faltantes se indicaron como «No reportado» (NR). Una vez terminada la recolección de datos, se realizaron los análisis cualitativos para cumplir el primer objetivo.

4.2. Metodología para determinar el perfil de metabolitos representativos del metabolismo de células cancerígenas bajo el efecto Warburg en la cepa mutante en el gen *SNF1* de *S. cerevisiae*

4.2.1. Material biológico

Se emplearon las cepas de *S. cerevisiae*, BY4741 (cepa silvestre [*WT*], MaTα; *his3Δ1; leu2Δ0; lys2Δ0; ura3Δ0*), y su mutante en el gen *SNF1 (snf1*∆*,* MATα; *his3Δ1; leu2Δ0; lys2Δ0; ura3Δ0*; YDR477w:kanMX4). Las cepas se conservaron en

medio de extracto de levadura, peptona y dextrosa (YPD, por sus siglas en inglés) al 2 % (1 % de extracto de levadura, 2 % de peptona de caseína y 2 % de glucosa) y el medio de la cepa mutante se suplementó con 200 µg/mL de geneticina G-418 (Sigma-Aldrich). Por otro lado, la disposición de todos los residuos generados se realizó siguiendo la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 (Anexo 9.1). Con las cepas recuperadas se realizó el primer análisis fenotípico: la determinación de la velocidad de crecimiento en cada tratamiento.

4.2.2. Determinación de la velocidad de crecimiento

Se crecieron las cepas de levadura en 3 mL de medio mínimo (SC) (0.18 % base nitrogenada sin aminoácidos, 0.5 % sulfato de amonio, 0.2 % KH_2PO_4, 1 % *Drop-out mix* sin uracilo y 400 µg/mL de uracilo), durante toda la noche en agitación de 150 revoluciones por minuto (rpm) a 30 ºC. Posteriormente se midió la absorbancia a 600 nm para determinar el volumen de células necesario para poder inocular cada cepa a una densidad óptica de 600 nm (DO_{600}) inicial ~ 0.01, en un pozo (estándar de 96 pozos) que contenía 150 µL de medio SC suplementado con 1, 3, 5.5, 15, 30, 55, 100, 277.5 mM de glucosa. La microplaca se llevó a incubación a 30 ºC, y se midió la absorbancia a 600 nm cada hora durante 24 horas, utilizando el equipo Multiskan Go, los resultados obtenidos se analizaron en el paquete estadístico GraphPad Prism Windows v. 8. 0. 1. (GraphPad Software, La Jolla California, USA) (Olivares-Marín *et al*., 2018). Se crearon las curvas de crecimiento con las que se determinó el promedio de la velocidad de crecimiento, ya que se realizaron por triplicado. Por otro lado, la disposición de los residuos se realizó siguiendo la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 (Anexo 9.1).

4.2.3. Respiración mitocondrial

Las cepas *WT* y *snf1*∆ crecidas en 3 mL de medio YPD 2 % se inocularon en 5 mL de medio mínimo (SC) contenido en un tubo cónico de 15 mL. En dos tubos cónicos vacíos de 15 mL se recolectaron las células por centrifugación a 5000 *x g* durante 3 minutos. Posteriormente se añadió la fuente de carbono oxidable (0.5 mL de glucosa

al 1 M) con ayuda de una micropipeta. La cámara se mantuvo en todo momento con agitación constante, se midió el porcentaje de consumo de oxígeno durante 5 minutos para así determinar la respiración basal (Nava *et al*., 2024). Sin embargo, este no fue el único tipo de respiración determinado.

4.2.3.1. Respiración ligada a ATP

Transcurridos los primeros 5 min de medición para respiración basal se agregó (con ayuda de una micropipeta) oligomicina con la finalidad de obtener la concentración final de 0.01 mM en la cámara del oxímetro, y se registró el consumo de oxígeno durante 5 min más (Nava *et al*., 2024). Después de inhibida la ATP sintasa se añadió un desacoplador para medir respiración máxima.

4.2.3.2. Capacidad de respiración máxima

Posteriormente, se suplementó con el desacoplador cianuro de carbonilo 3-clorofenilhidrazona (CCCP) para obtener una concentración de 0.015 mM en la cámara del oxímetro mediante el uso de una micropipeta, y se midió el consumo de oxígeno por 5 minutos (Nava *et al*., 2024). La última medición que se realizó fue respiración no específica, incorporando inhibidores de la CTE.

4.2.3.3. Respiración no específica

Se agregaron dos inhibidores de la CTE, 2-tenoiltrifluoroacetona (TTFA) y antimicina A (AA) a una concentración final en la cámara del oxímetro de 1 mM y 2 µM respectivamente, se midió la concentración del oxígeno durante 5 minutos más (Nava *et al*., 2024).

Cada análisis se realizó por triplicado y se lavó la cámara del oxímetro 3 veces con etanol al 70 % y 3 veces con agua desionizada antes de cada uso. Obtenidos los valores se procesaron y analizaron con ayuda del paquete estadístico.

4.2.3.4. Tratamiento de los datos

Los datos fueron comparados mediante el consumo de oxígeno; se trazó el porcentaje de oxígeno contra el tiempo y así se obtuvo cada pendiente para la respiración basal (con la fuente de carbono), respiración ligada a ATP (con oligomicina), respiración máxima (mediante CCCP) y respiración no específica (con el uso de TTFA y AA), utilizando regresión lineal en el paquete estadístico GraphPad Prism Windows v. 8.0.1. (GraphPad Software, La Jolla, California, USA) (Nava *et al*., 2024). Para descartar el consumo de oxígeno por fuentes distintas de las mitocondrias, se restó el valor de la pendiente obtenido con la mezcla de los dos inhibidores de la respiración (AA y TTFA) a las pendientes obtenidas con el sustrato de carbono oxidable, la oligomicina y el CCCP (Nava *et al*., 2024). Debido a la solubilidad del oxígeno (237 µM para un *buffer* de medio mitocondrial equilibrado con oxígeno al 20.9 % a 25°C) los valores se multiplicaron por 237 µM (Nava *et al*., 2024). Una vez finalizado el segundo ensayo fenotípico se procedió al tercer y último de los ensayos fenotípicos.

4.2.4. Flujo glucolítico

Las cepas *WT* y *snf1*∆ crecidas en 3 mL de medio YPD 2 % durante toda la noche a 30 °C y 200 rpm se utilizaron para inocular tubos cónicos de 15 mL con 5 mL de medio mínimo suplementado con 1, 3, 5.5, 15, 30, 55, 100, 277.5 mM de glucosa. En la fase logarítmica (OD_{600}~0,6), las células fueron recolectadas mediante centrifugación a 5000 *x g* durante 3 min, se hicieron tres ciclos de lavado con agua desionizada estéril, obteniendo el *pellet* celular que fue suspendido en 1 mL de agua desionizada estéril e incubado en ayuno por un periodo de 3 h (Martinez-Ortiz *et al*., 2019). Posteriormente, 0.5 mL de las células se agregaron a 23 mL de agua desionizada contenida en un matraz Erlenmeyer de 25 mL. El ensayo inició agregando 0.5 mL de glucosa al 1 M y se midió el pH durante un tiempo de 5 min con el equipo potenciómetro Orion Versa Star Pro (Thermo Scientific).

4.2.4.1. Análisis estadístico

Se determinó si los valores obtenidos eran paramétricos o no, se realizaron las pruebas Shapiro-Wilk y Levene, que otorgan información necesaria para determinar esa información, en cuanto al uso posterior de pruebas y por resultar ser datos paramétricos, se realizó *t-S*tudent, para comparar cada flujo glucolítico entre las cepas. Los datos obtenidos fueron analizados en el paquete estadístico GraphPad Prism Windows v. 8. 0. 1. (GraphPad Software, La Jolla California, USA) (Martinez-Ortiz *et al*., 2019). Con este tercer ensayo fenotípico se completaron las tres mediciones útiles para determinar la presencia del efecto Warburg en *S. cerevisiae.* Las concentraciones elegidas fueron 1, 5.5 y 277.5 mM en las que se realizó la determinación de los metabolitos.

4.2.5. Análisis del medio extracelular por GC-MS

4.2.5.1. Preparación de la muestra

Las cepas de *S. cerevisiae snf1*∆ y *WT* se crecieron en 10 mL de medio mínimo (SC) con glucosa a 1, 5.5 y 277.5 mM de glucosa, se dejaron incubando durante toda la noche a una temperatura de 30°C. El sobrenadante se recolectó con ayuda de una jeringa de 15 mL estéril después de centrifugar las células a 5000 *x g* durante 5 min, posteriormente se colocó un filtro estéril de fluoruro de polivinilideno (PVDF) de 0.45 µm en la boquilla de la jeringa y se filtró el sobrenadante. El medio filtrado se colocó en tubos cónicos de 50 mL y se congeló a -80°C durante toda la noche. Al siguiente día, los tubos con el medio extracelular filtrado y congelado fueron llevados a retirarles el agua mediante liofilización por un periodo de al menos 7 h. El liofilizado se envió al laboratorio donde fue analizado mediante GC-MS.

4.2.5.2. Procedimiento para el ensayo

Para el análisis por GC.MS, 50 mg de cada liofilizado se derivatizaron con 80 µL de N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida con 1 % de trimetilclorosilano (BSTFA + 1 %

TMCS; Sigma-Aldrich) y 20 µL de piridina, a 85 °C durante 25 min. Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadieron 100 µL de isooctano (Sigma-Aldrich) y cada muestra derivatizada se transfirió a un vial de 2 mL para su inyección.

El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases 8860 acoplado a un detector selectivo de masas 5977 (Agilent Technologies). Se inyectó 1 µL de muestra mediante un inyector automático en modo *split* pulsado, con el inyector a 270 °C, una relación de división de 5:1, un flujo de división de 6 mL/min y un pulso de presión de 25 psi durante 0.5 min. La separación se efectuó en una columna capilar Agilent HP-5ms Ultra Inert (30 m × 250 µm × 0.25 µm), con helio como gas acarreador a flujo constante a 1 mL/min. El programa del horno inició a 50 °C durante 6 min; aumentó a 6 °C/min hasta 120 °C, donde se mantuvo 1 min; después, a 12 °C/min hasta 240 °C, donde se mantuvo 1 min, y finalmente a 15 °C/min hasta 300 °C, donde se mantuvo 15 min para un tiempo total de corrida de 48.67 min. La línea de transferencia se mantuvo a 260 °C, la fuente de iones a 230 °C y el cuadrupolo, a 150 °C. Los espectros de masas se adquirieron por ionización electrónica a 70 eV, en modo de barrido completo (*m/z* 40 a 550), con un retraso de solvente de 12 min.

4.2.5.3. Procesamiento de datos

Los tiempos de retención y los espectros de masas de cada componente se obtuvieron mediante deconvolución con el programa AMDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System*), y los metabolitos se anotaron por comparación de sus espectros con la base de datos de referencia NIST MS Search 2.0 (*National Institute of Standards and Technology*). Las áreas relativas de los picos deconvolucionados se utilizaron para calcular, en cada réplica biológica, el log2 (FC) de cada metabolito de *snf1Δ* frente a *WT*.

4.3. Metodología para analizar la asociación entre el perfil de metabolitos de *S. cerevisiae snf1*∆ y el modelo de metabolitos del cáncer de hígado

Después de obtener los perfiles de metabolitos provenientes de la literatura (revisión sistemática con PubMed y Europe PMC) y *S. cerevisiae* (GC-MS), se procedió a identificar las asociaciones entre ambos perfiles de metabolitos representativos del efecto Warburg.

4.3.1. Criterio de dirección del cambio

Debido a la heterogeneidad de las plataformas analíticas y de la forma de reportar los resultados entre los estudios incluidos en la revisión sistemática, además de que el suero y el medio de cultivo son compartimentos biológicos distintos, la asociación entre ambos perfiles se realizó de forma cualitativa, con base en la dirección del cambio y no en su magnitud. En la revisión sistemática, la dirección de cada metabolito fue asignada a partir de la totalidad de sus reportes, se consideraron aumentos y disminuciones cuando al menos el 75 % de los reportes coincidió en un mismo sentido, no concluyentes cuando hubo un empate o cuando ninguna dirección llegó a ese umbral. En *S. cerevisiae*, la dirección se determinó a partir del log2 (FC) de *snf1Δ* frente a *WT* calculado en cada réplica biológica.

4.3.2. Comparación entre perfiles

Se compararon los metabolitos detectados en ambos modelos. Un metabolito se clasificó como concordante cuando su dirección en *snf1Δ* coincidió con la de la revisión sistemática, discordante cuando fue opuesta y no concluyente cuando alguna de las 2 fuentes no presentaba una dirección definida. Los metabolitos con

valor de log2 (FC) en ambas fuentes se representaron gráficamente de forma independiente, mientras que aquellos que en la revisión solo contaban con la dirección del cambio se consideraron evidencia complementaria.

5. Resultados

5.1 Modelo del perfil de metabolitos de células cancerosas bajo el efecto Warburg generado a partir de la literatura

El primer gran reto fue realizar la búsqueda bibliográfica en dos bases de datos de acceso abierto (PubMed y Europe PMC) y obtener la mayor cantidad de datos de cada artículo científico relevante incluido. En total se revisaron inicialmente 477 artículos provenientes de la base de datos PubMed (Figura 2), se cribaron utilizando el título y resumen de cada uno y se seleccionaron aquellos que sí contaban con los criterios de inclusión y exclusión, el resultado fue una selección de 292 artículos catalogados como relevantes. Posteriormente, se realizó la recolección en la base de datos Europe PMC, se cotejaron con todos los artículos aceptados y rechazados de la base de datos PubMed, dando como resultado 1 artículo agregado a la lista de relevantes. Dado que la cantidad de artículos obtenidos (293 artículos) hacía complejo tener un análisis en tiempo y forma para la ejecución de esta tesis, se decidió hacer un análisis por tejidos, para determinar si había algún tipo de cáncer que nos pudiera dar información robusta y con un número de artículos manejable.

Se decidió utilizar el cáncer de hígado porque presenta características similares con *S. cerevisiae*. El hígado es el principal sitio de lipogénesis *de novo* en mamíferos (Postic y Girard, 2008), y comparte con *S. cerevisiae* las rutas metabólicas centrales más relevantes para este estudio: glucólisis, síntesis *de novo* de ácidos grasos (Boonekamp *et al*., 2022). Esta convergencia además no es superficial: la glucólisis de *S. cerevisiae* es funcionalmente homóloga a la humana hasta el nivel de cinética enzimática, como demuestra su complementación completa con enzimas glucolíticas humanas (van Rossum *et al*., 2016). Precisamente en el carcinoma hepatocelular (HCC) se ha documentado de forma consistente la supresión de la

señalización LKB1→AMPK: su pérdida de función es suficiente para inducir el fenotipo Warburg (mayor consumo de glucosa, producción de ácido láctico y acidificación extracelular) en modelos celulares y murinos (Faubert *et al*., 2013; Shaw *et al*., 2014). Esta alteración en el HCC replica lo que ocurre en la cepa *snf1*Δ, donde la pérdida de *SNF1* elimina la regulación de ACC y genera acumulación lipídica y un cambio metabólico hacia la fermentación (Coccetti *et al*., 2018). Posteriormente, se procedió a la lectura completa de los artículos sobre cáncer de hígado y a la recolección de datos. Debido a que no todas las investigaciones presentan el mismo rigor científico, es importante determinar cuál es su calidad metodológica.

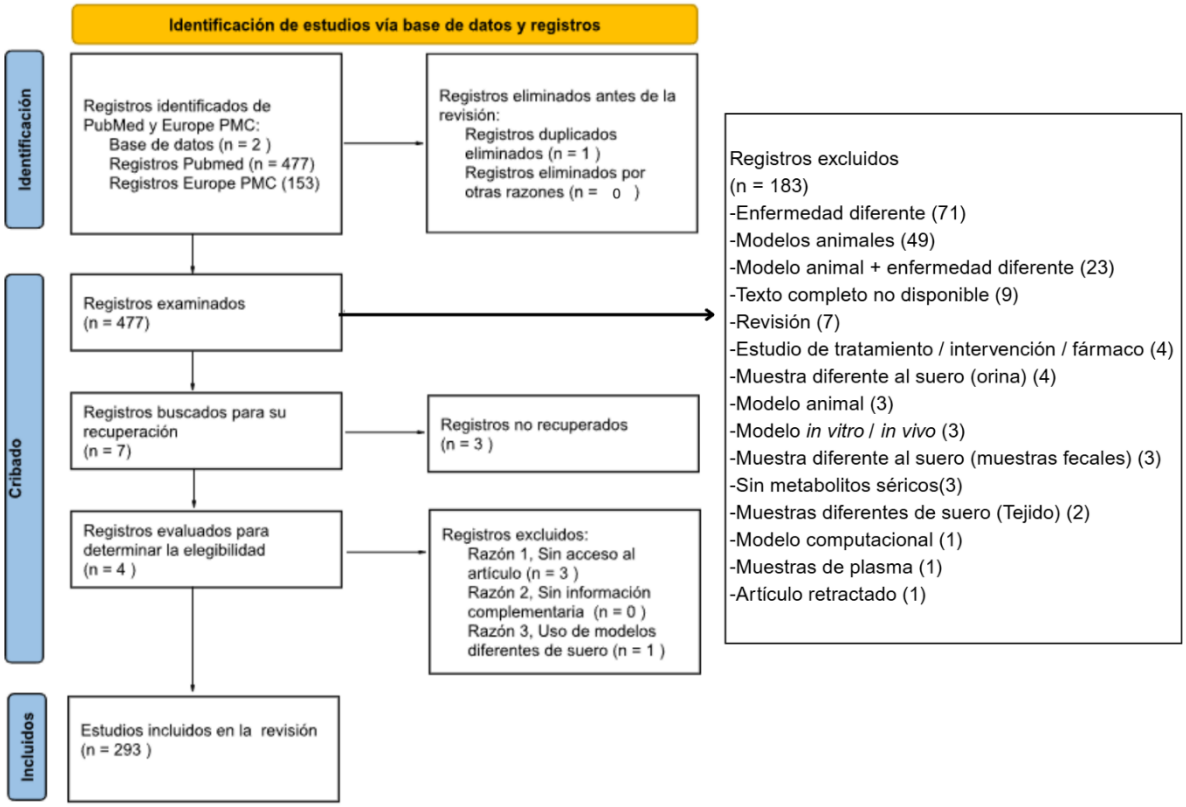


Figura 2. Diagrama de flujo PRISMA. Identificación y cribado de estudios. Describe el proceso de identificación, cribado e inclusión de estudios para la revisión sistemática. La búsqueda bibliográfica se realizó en dos bases de datos: PubMed (n = 477 registros, años 2005–2026) y Europe PMC (n = 153 registros, años 2009–

2026), con un total de dos bases de datos consultadas. Antes del cribado se eliminaron 184 registros: uno por duplicado y 183 por otras razones. De los 477 registros examinados, 183 fueron excluidos durante el cribado por título y resumen; los 294 restantes fueron buscados para su recuperación, de los cuales 3 no pudieron recuperarse, quedando 291 artículos evaluados para determinar su elegibilidad. De manera simultánea e independiente, dos evaluadores revisaron los 477 registros de PubMed e identificaron 292 artículos relevantes; la búsqueda en Europe PMC aportó 1 artículo adicional no recuperado previamente, sumando 293 artículos candidatos. Tras la lectura completa y la aplicación estricta de los criterios de inclusión —determinación de metabolitos en suero, grupo control de sujetos aparentemente sanos y publicación en inglés— y exclusión de 4 registros (3 sin acceso al artículo completo y 1 por uso de muestra diferente a suero), se incluyeron finalmente 19 estudios de metabolómica sérica en cáncer hepático frente a controles sanos.

5.1.1. Calidad metodológica de los estudios incluidos

Antes de extraer inferencias a partir de los conjuntos de metabolitos identificados, se evaluó la solidez metodológica de cada uno de los 19 estudios integrados (Figura 3), mediante un sistema de puntuación adaptado del marco GRADE para metabolómica observacional, representado con un máximo posible de 18 puntos distribuidos entre siete criterios: diseño del estudio (máx. 3 pts.), tamaño de muestra (máx. 3 pts.), plataforma analítica (máx. 3 pts.), controles pre-analíticos (máx. 2 pts.), rigor estadístico (máx. 2 pts.), cobertura de metabolitos (máx. 2 pts.) y consistencia con la literatura (máx. 3 pts.). Se eligió el formato de matriz de puntos en lugar del *forest plot* convencional porque en metabolómica los FC no son comparables entre estudios que miden metabolitos distintos, esto provoca que metodológicamente sea inadecuado ese tipo de representación para esta revisión.

De los 19 estudios evaluados, cuatro alcanzaron la categoría de alta calidad (14–18 pts.): Jee *et al*. 2018 obtuvo la puntuación más alta (16/18) al reunir diseño prospectivo, muestra amplia, plataforma combinada dirigida y no dirigida, corrección estadística y análisis multivariado; Chen *et al*. 2011a (15/18, DOI: 10.1074/mcp.M110.004945) destacó por su rigor metodológico y su alta consistencia con la literatura; Liu *et al*. 2022 y Kim *et al*. 2019 completaron este grupo con 14 puntos cada uno. Ocho estudios se ubicaron en la categoría moderada-alta (11–13 pts.) y cinco en la moderada (8–10 pts.). Los dos estudios de menor puntuación fueron Chen *et al*. 2011b (5/18, DOI: 10.1007/s00216-011-5245-3) un trabajo piloto con información metodológica mínima, y Martín-Sierra *et al*. 2020 (5/18), con información mínima, sin cuantificación del *fold change* ni valores de *p* reportados. Los criterios que presentaron mayor déficit fueron el diseño del estudio y el tamaño de la muestra, con cinco y cuatro estudios, respectivamente, que obtuvieron cero puntos. En contraste, el criterio más frecuentemente satisfecho fue el de plataforma analítica, en el que la mayoría de los grupos empleó aproximaciones no dirigidas de última generación. Es importante señalar que estas puntuaciones tuvieron un carácter orientativo para determinar el peso interpretativo de cada estudio y no constituyeron criterios de exclusión; todos los estudios incluidos contribuyeron al análisis.

Esta perspectiva se amplió al incorporar al puntaje metodológico tres componentes adicionales que cuantifican la aportación de evidencia metabolómica concreta: cobertura de metabolitos (0–3 pts., escalada de 1 punto por cada 30 metabolitos únicos reportados), evidencia de biomarcadores formalmente propuestos (0–3 pts.) y consistencia con la literatura (0–3 pts.), con un máximo combinado de 27 puntos. Bajo este nuevo sistema ampliado, dos estudios alcanzaron la categoría alta (≥ 20 pts.): Jee 2018 y Chen 2011a, ambos con 22/27, distinguidos por su solidez metodológica, su cobertura metabólica y su alto solapamiento con el resto de la literatura. Once estudios se ubicaron en el rango moderado-alto (15–19 pts.). Se presentó un hallazgo de interés: el desplazamiento de Lewinska *et al*. 2021 del puesto 13 (Figura 3) al puesto 8 (Figura 4), impulsado por su contribución excepcional de 172 fosfolípidos de la clase fosfatidilcolinas y fosfatidiletanolaminas,

la serie "*lipidomics*" más extensa del conjunto y los biomarcadores formalmente propuestos a partir de ella; este ascenso refleja que la relevancia de un estudio para la construcción del modelo metabolómico no depende únicamente del rigor de diseño, también de cuánto amplía la cobertura del espacio metabólico explorado.

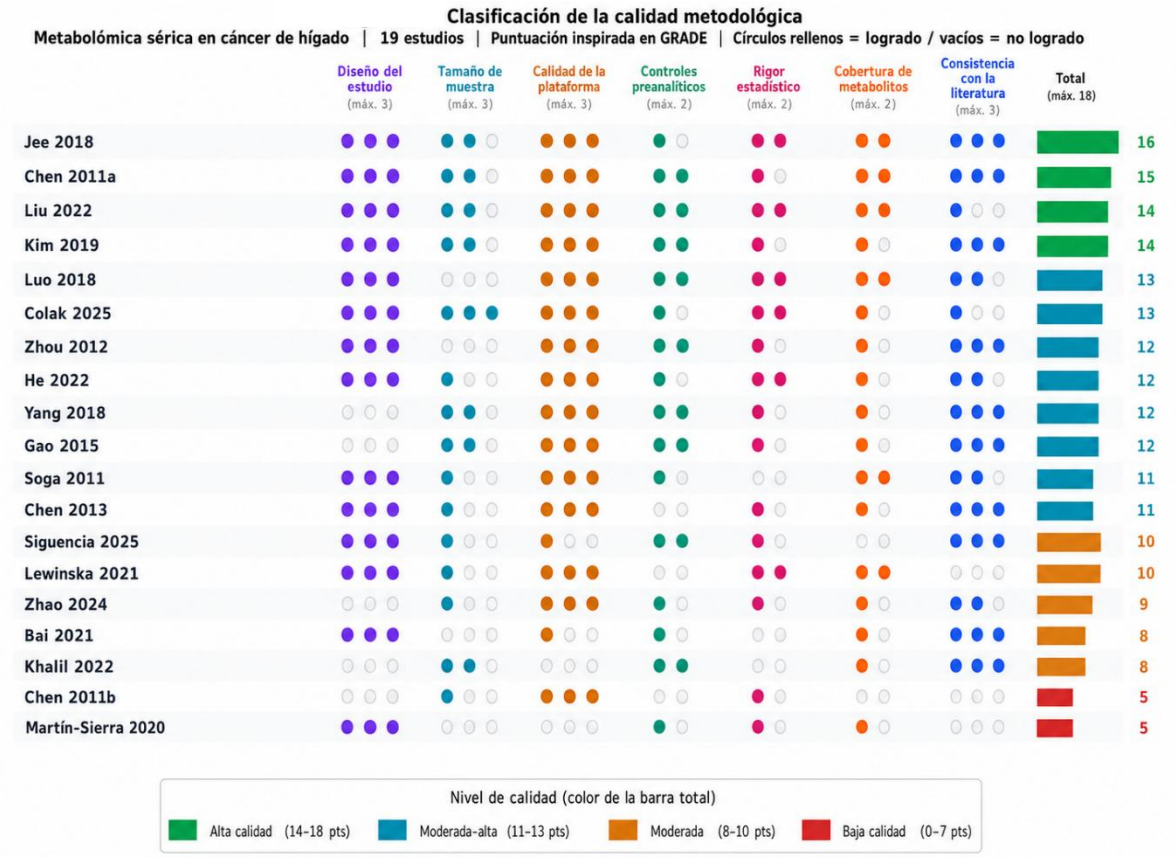


Figura 3. Clasificación de calidad metodológica. Clasificación de los 19 estudios de metabolómica sérica incluidos en la revisión sistemática. Cada estudio es evaluado en siete criterios adaptados del marco GRADE para investigación observacional en metabolómica. Para cada criterio, los círculos rellenos indican puntos obtenidos y los círculos vacíos indican puntos no obtenidos hasta el máximo posible. El diseño del estudio se puntuó de 0 a 3 (cohorte prospectiva = 3, cohorte retrospectiva o casos y controles = 2, no reportado = 0); el tamaño muestral de 0 a 3 (≥300 sujetos en total = 3, ≥100 = 2, ≥30 = 1, <30 = 0); la calidad de plataforma de 0 a 3 (no dirigida combinada con dirigida o pseudodirigida = 3, no dirigida sola = 2, dirigida sola = 1, no reportado = 0); los controles preanalíticos de 0 a 2 (ayuno nocturno +1,

almacenamiento a −80 °C +1); el rigor estadístico de 0 a 2 (corrección por pruebas múltiples incluyendo FDR o Bonferroni +1, análisis multivariante incluyendo análisis de componentes principales (PCA) o análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) +1; la cobertura de metabolitos de 0 a 2 (≥30 metabolitos reportados = 2, ≥10 = 1); y la consistencia con la literatura de 0 a 3, reflejando la proporción de metabolitos reportados que aparecen en al menos otro estudio incluido (≥50 % = 3, ≥25 % = 2, ≥10 % = 1). La puntuación total máxima alcanzable es de 18 puntos. De los 19 estudios, 4 fueron clasificados como de alta calidad (14–18 puntos), 8 como de calidad moderada-alta (11–13 puntos), 5 como moderada (8–10 puntos) y 2 como de baja calidad (<8 puntos).

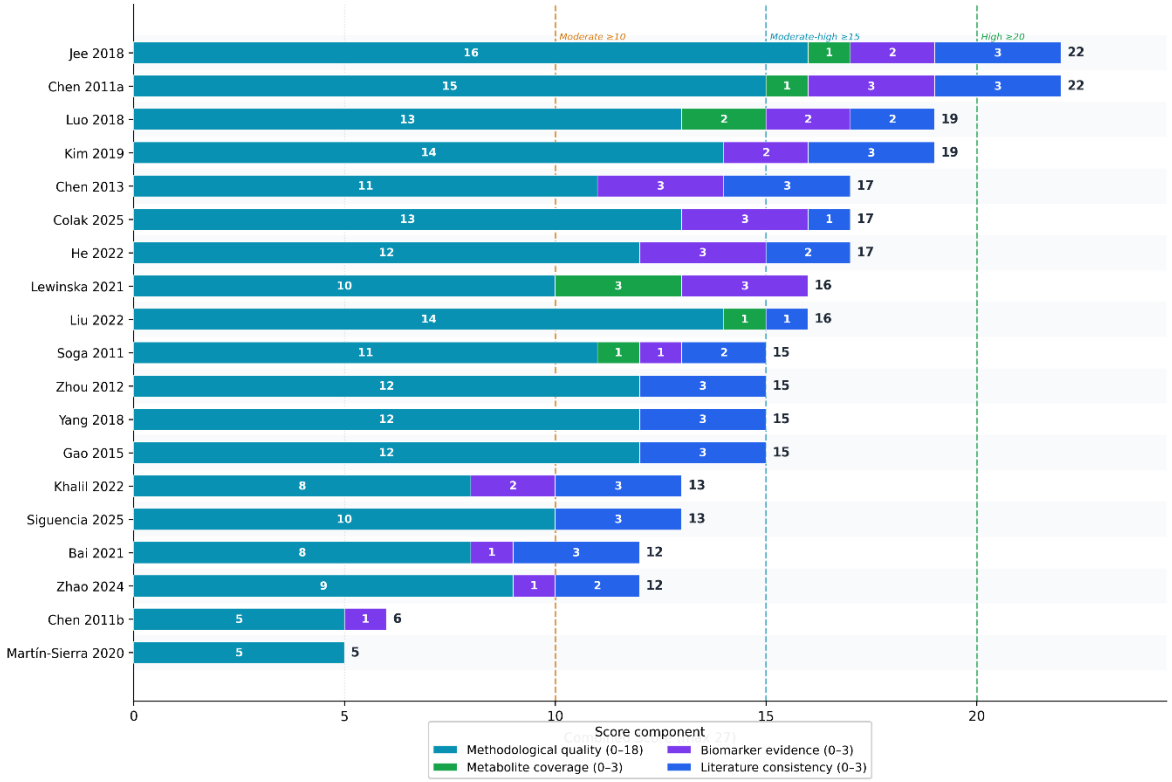


Figura 4. Clasificación combinada de calidad metodológica y aportación de evidencias. De los 19 estudios incluidos en la revisión sistemática, la puntuación total máxima es de 27 puntos, integrados por cuatro componentes representados como barras horizontales apiladas: calidad metodológica (azul, 0–18 puntos); derivada de la Figura 3, cobertura de metabolitos (verde, 0–3 puntos); escalada como 1 punto por cada 30 metabolitos únicos reportados, hasta un máximo de 3, evidencia de biomarcadores (morado, 0–3 puntos); ≥10 biomarcadores propuestos

= 3, ≥5 = 2, ≥1 = 1, ninguno = 0, y consistencia con la literatura ([color], 0–3 puntos); proporción de metabolitos reportados que también fueron encontrados en otros estudios. Los números dentro de cada segmento coloreado indican la puntuación individual de cada componente. Las líneas verticales discontinuas marcan los umbrales de puntuación en 10 para moderada, 15 para moderada-alta y 20 para alta.

Estas puntuaciones tienen como finalidad orientar el peso interpretativo asignado a cada estudio en la discusión y no constituyen criterios formales de exclusión metodológica. Por ello, el análisis de los metabolitos se realizó utilizando todos los datos, en la discusión es donde contendrá más peso para interpretar los datos.

5.1.2. Alcance y solapamiento de los metabolitos identificados

Tras la extracción de datos de los 19 estudios incluidos, se obtuvo una base de datos con 742 registros, correspondientes a determinaciones individuales de metabolitos en los estudios, que representaron un total de 559 metabolitos únicos. La diferencia entre el número de registros y el de metabolitos únicos indica que un mismo compuesto puede haber sido cuantificado por más de un grupo de investigación de forma independiente. Los porcentajes de regulación al alza o a la baja que se reportan en esta sección y en las subsiguientes se calcularon sobre el número de registros, es decir, sobre las filas de la base de datos y no sobre el número de estudios independientes; de este modo, si un estudio midió el mismo metabolito en dos cohortes distintas, ambas mediciones contribuyeron por separado al cómputo. Este criterio se adoptó para preservar la información cuantitativa disponible y se indica aquí para orientar la interpretación correcta de los porcentajes.

El primer análisis realizado fue un *Upset plot* (Figura 5), que permite identificar con precisión qué metabolitos concretos fueron detectados simultáneamente y cuál fue la combinación exacta de estudios que los reportaron. De los 559 metabolitos únicos

identificados, 82 (15 %) fueron reportados de manera independiente en dos o más estudios, son los que constituyen el subconjunto con evidencia reproducible. El diagrama muestra las 20 intersecciones de mayor tamaño de un total de 63 intersecciones. El estudio que más contribuyó al conjunto reproducible fue Luo *et al*. 2018, con 30 de los 82 metabolitos (n = 30), seguido de Chen 2011a (n = 29) y Jee 2018 (n = 26). En el extremo opuesto, Siguencia 2025, Martín-Sierra 2020 y Chen 2011b aportaron uno o dos metabolitos al conjunto compartido. La intersección de mayor tamaño del diagrama representa siete metabolitos reportados exclusivamente por Jee 2018 y Luo 2018— corresponde a siete lisofosofatidilcolinas (LysoPC): LysoPC(15:0), LysoPC(16:1), LysoPC(18:3), LysoPC(20:3), LysoPC(20:5), LysoPC(22:5) y el dipéptido Phe-Phe. Las intersecciones que daremos mayor valor en el modelo de referencia son aquellas que emergen de tres o más estudios. Después de conocer los metabolitos más reportados en 2 o más estudios, la siguiente fuente de información fue determinar cuáles son las rutas metabólicas a las pertenecen junto con el resto de los metabolitos.

5.1.3. Rutas metabólicas alteradas en el carcinoma hepatocelular

Con el inventario de metabolitos reproducibles establecido, el análisis se orientó a determinar qué rutas metabólicas concentraban las alteraciones más frecuentes y consistentes en todos los estudios (Figura 6). Se muestra la frecuencia de reporte de cada ruta metabólica, incluyendo únicamente aquellas identificadas en dos o más estudios independientes; en total, se reportaron 50 rutas. La longitud de cada barra refleja el número total de registros de esa ruta, no el de metabolitos únicos, lo que da mayor peso a las rutas cuyos componentes fueron cuantificados repetidamente

en múltiples cohortes. El color indica la dirección dominante del cambio y, en las rutas con señal mixta, se muestran los porcentajes de registros al alza y a la baja.

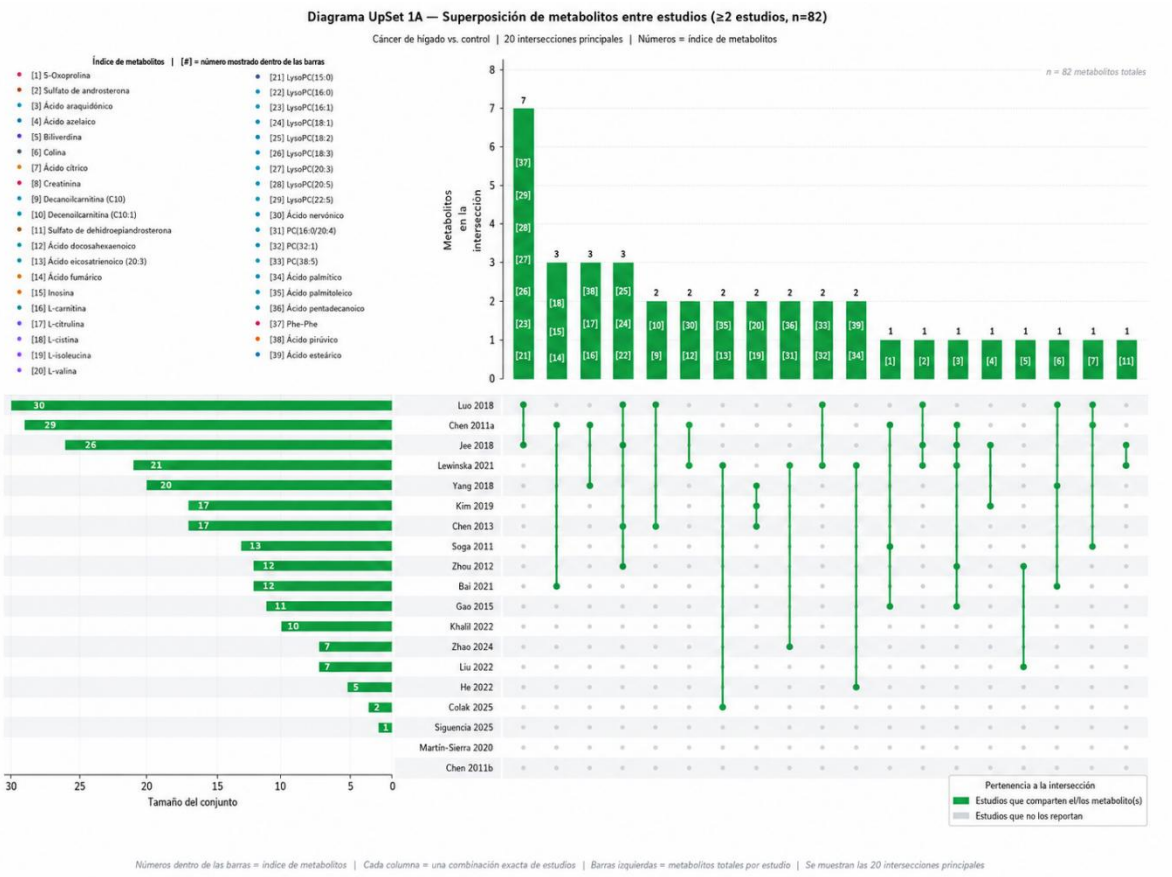


Figura 5. Diagrama *Upset plot* de superposición de metabolitos en ≥2 estudios**.** Los metabolitos detectados en ≥2 estudios fueron utilizados para su construcción, este diagrama *UpSet* muestra la estructura de intersección de 82 metabolitos reportados en al menos dos de los 19 estudios incluidos. Cada columna en la matriz de puntos (panel inferior derecho) representa una combinación exacta de estudios en forma de intersección, ordenada de izquierda a derecha según el tamaño decreciente de la intersección. Los puntos verdes rellenos conectados por una línea vertical indican los estudios que forman dicha intersección; los puntos grises indican los estudios que no reportaron esos metabolitos. El panel superior derecho muestra el número de metabolitos pertenecientes a cada intersección como barras verticales, con los números del índice de metabolitos indicados dentro de cada barra. Las barras horizontales de la izquierda indican el número total de los 82 metabolitos reportados

en los estudios. Aquí se muestran solo las 20 intersecciones principales de las 63 intersecciones obtenidas. Los estudios están ordenados de menor a mayor tamaño del conjunto, de abajo hacia arriba, y el índice de metabolitos se proporciona en el panel superior izquierdo.

La ruta más representada fue el metabolismo de glicerofosfolípidos y biosíntesis de fosfatidilcolinas (n = 69 registros, 49 % ↑ / 51 % ↓) con un patrón mixto (Figura 6). Seguida de la síntesis de triglicéridos y del metabolismo de glicerolípidos ocuparon el segundo lugar (n = 60 registros, 92 % ↑), con una señal casi unánime de elevación. El remodelamiento de fosfatidilcolinas (n = 51 registros, 98 % ↓) presentó la señal direccional más homogénea entre las rutas de alta frecuencia, con la gran mayoría de registros indicando una disminución de lisofosfatidilcolinas en el suero de pacientes con cáncer hepático.

La biosíntesis y circulación enterohepática de ácidos biliares se ubicó en el quinto lugar por frecuencia (n = 45 registros), con uno de los patrones direccionales más consistentes de todo el análisis, con el 93 % de los registros indicando su elevación. Los ácidos biliares conjugados, como el ácido glicocólico, el ácido taurocólico, el ácido tauroquenodeoxicólico y el ácido glicochenodeoxicólico, fueron los más frecuentemente detectados en este grupo, con medianas de *fold change* de 35.0, 24.1, 19.3 y 3.6, respectivamente.

El ciclo de Krebs mostró un incremento unánime en sus intermediarios (n = 13 registros, 100 % ↑). Esta observación es consistente con el modelo de anaplerosis por L-glutamina, en el que la L-glutamina actúa como sustrato que alimenta el ciclo a partir del α-KG, de forma independiente del flujo glucolítico, elevando los intermediarios del ciclo en suero como consecuencia del anaplerismo activo.

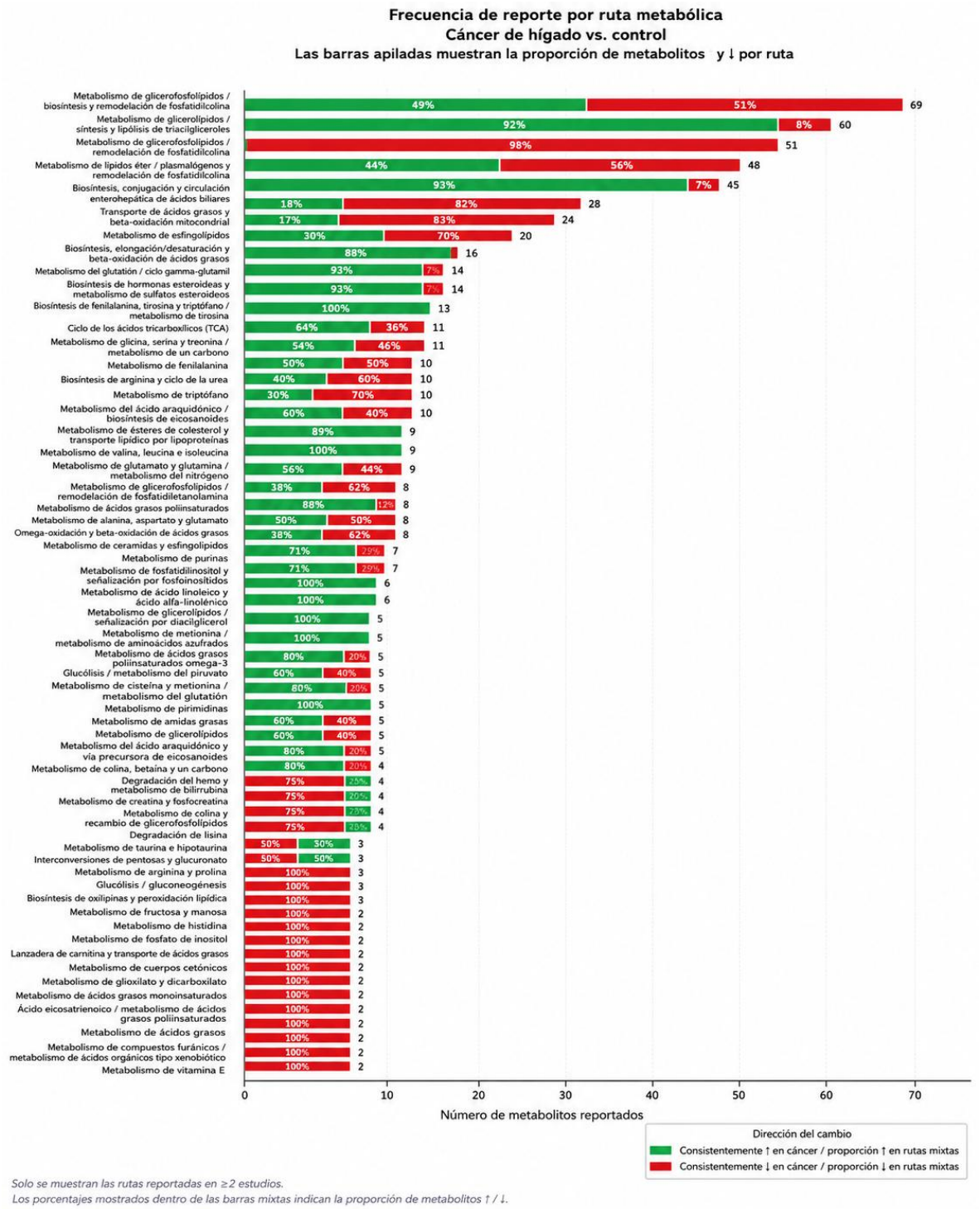


Figura 6. Frecuencia de reporte de metabolitos por ruta metabólica. Realizado en 19 estudios de metabolómica sérica en cáncer de hígado frente a controles sanos. Cada barra horizontal representa una ruta metabólica y el número total de registros de metabolitos reportados en todos los estudios incluidos; solo se muestran las rutas detectadas en dos o más estudios independientes. La longitud de la barra refleja el

número total de registros, no el número de metabolitos únicos, por lo que considera los metabolitos medidos por múltiples estudios. Las barras están codificadas por color para indicar la dirección dominante del cambio: el verde representa metabolitos consistentemente elevados (↑) en cáncer o la proporción aumentada en rutas mixtas, y el rojo representa metabolitos consistentemente disminuidos (↓) o la proporción disminuida; los porcentajes dentro de las barras mixtas indican la proporción de registros aumentados y disminuidos calculada respecto al número total de reportes. Las rutas están ordenadas de mayor a menor frecuencia de reporte. Por ejemplo, la ruta de metabolismo de glicerofosfolípidos / biosíntesis y remodelación de fosfatidilcolina fue la más representada con n=69 registros, 49 % ↑ / 51 % ↓, seguida por el metabolismo de glicerolípidos / síntesis de triacilgliceroles n=60, 92 % ↑ y el metabolismo de glicerofosfolípidos / remodelación de fosfatidilcolina n=51, 98 % ↓.

El transporte de ácidos grasos y la β-oxidación mitocondrial (n = 28 registros, 82 % ↓) presentaron una disminución consistente de acilcarnitinas de cadena media como la octanoilcarnitina (C8), decanoilcarnitina (C10) y decenoilcarnitina (C10:1). El metabolismo de esfingolípidos (n = 24 registros, 83 % ↓), el ciclo de glutatión y los dipéptidos γ-glutamil (n = 16 registros, 88 % ↑), y el metabolismo de aminoácidos aromáticos L-fenilalanina, L-tirosina y L-triptófano (n = 14 registros, 93 % ↑) completaron el conjunto de rutas con mayor frecuencia de reporte y mayor consistencia direccional (Figura 6). Las rutas de éter-lípidos y plasmalógenos (n = 48 registros, 44 % ↑ / 56 % ↓) mostraron un patrón mixto, cuya cobertura dependió sustancialmente de Lewinska *et al*. 2021, el único estudio que los cuantificó con resolución suficiente, si bien sus datos son válidos para describir la diversidad del lipidoma, no se pueden interpretar como evidencia replicada en ausencia de confirmación por grupos independientes. A partir de aquí, resalta la importancia de determinar si los metabolitos fueron reportados como biomarcadores en diferentes estudios independientes.

5.1.4. Metabolitos más frecuentes propuestos como biomarcadores en la literatura

Para identificar qué metabolitos concretos presentan las mejores propiedades como candidatos diagnósticos, se seleccionaron los 30 candidatos más destacados como representación (Figura 7). Se utilizaron tres paneles: el número de estudios que reportaron los metabolitos (Figura 7A), la mediana del *fold change* (Figura 7B) y la clase metabólica con soporte formal de biomarcador (Figura 7C).

El metabolito con mayor reporte en toda la colección fue la L-tirosina, reportada como elevada en el suero de pacientes con cáncer hepático en 8 estudios independientes, con una consistencia del 100 % y una mediana de *fold change* de 1.82. En segundo lugar, se ubicó el ácido glicocólico, reportado como elevado por 7 estudios, con una consistencia del 100 % y una mediana de *fold change* de 35, la más alta entre los metabolitos con señal unidireccional en este *ranking*. El tercer puesto correspondió al L-triptófano, también reportado en 7 estudios, pero con dirección mixta (43 % de registros al alza y 57 % a la baja), lo que indica una heterogeneidad biológica real dentro del conjunto de cohortes estudiadas. El ácido taurocólico presentó una mediana de *fold change* de 24.1, calculada a partir de cinco estudios (el valor de *fold change* de 473 reportado en Khalil 2022 se excluyó de este cálculo de la mediana por ser un valor atípico extremo de esa cohorte específica).

En el grupo de aminoácidos, la L-fenilalanina (6 estudios, 83 % ↑), el ácido L-glutámico (6 estudios, 83 % ↑), la L-serina (5 estudios, 80 % ↑) y la L-ornitina (4 estudios, 75 % ↑) se posicionaron como candidatos sólidos. En el extremo de los metabolitos consistentemente disminuidos, el LysoPC(16:0) y el LysoPC(18:1) fueron los más reproducibles (4 estudios cada uno, 100 % ↓, medianas de *fold change* de 0.41 y 0.43, respectivamente). El ácido láctico (3 estudios, 100 % ↑, mediana de *fold change* = 2.70) también se incluyó en este *top*. Respecto al ácido araquidónico (5 estudios, dirección mixta), el *fold change* de 91.8 asociado a este metabolito proviene exclusivamente del estudio de Zhou 2012; ese valor corresponde a un único estudio y no debería tomarse como representativo del conjunto de la evidencia. Cuatro de esas categorías se utilizaron para integrar el

conocimiento establecido sobre el metabolismo del cáncer (*hallmarks*) con los datos de la revisión sistemática.

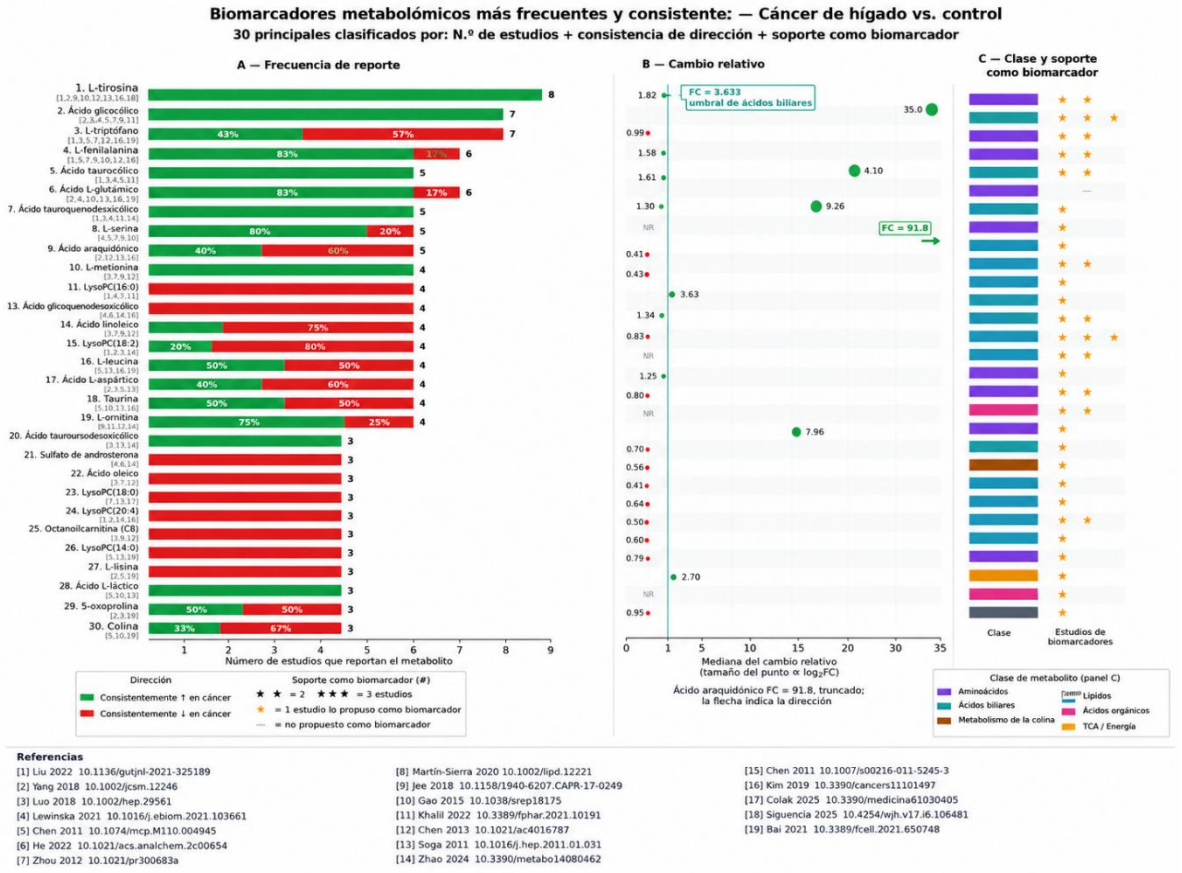


Figura 7. Top 30 metabolitos séricos más frecuentes y consistentes reportados como biomarcadores. Estos metabolitos fueron comparados en cáncer de hígado frente a controles aparentemente sanos. Los metabolitos se clasificaron mediante la consistencia direccional y el estatus formal como biomarcador con el número de estudios que proponen el metabolito como biomarcador diagnóstico. El Panel A muestra el número de estudios independientes que reportan cada metabolito mediante barras horizontales; las barras verdes indican elevación consistente en todos los estudios que lo reportaron, las barras rojas indican disminución consistente y las barras divididas verde-rojo indican direccionalidad mixta, con porcentajes que reflejan la proporción de registros aumentados y disminuidos, calculada respecto al número total de reportes. Los números de referencia entre corchetes ubicados sobre el nombre de cada metabolito corresponden a la lista de estudios situada en la parte inferior de la figura. La línea vertical verde en el Panel

B marca FC = 3.633, el cambio relativo mínimo observado entre los ácidos biliares, el ácido glicoquenodesoxicólico fue utilizado como referencia del umbral. El Panel B muestra la mediana del cambio relativo derivada de los estudios que proporcionaron datos cuantitativos, donde el tamaño del punto es proporcional al log_2FC absoluto y la línea vertical discontinua marca el FC = 1. El Panel C muestra la clase de metabolito mediante color y el soporte como biomarcador mediante una clasificación por estrellas, ★ = 1 estudio lo propuso como biomarcador, ★★ = 2, ★★★ = 3; — = no propuesto formalmente. La lista completa de referencias con DOI se presenta en la parte inferior de la figura.

5.1.5. Integración del perfil de metabolitos con las características metabólicas del cáncer

Los metabolitos se organizaron en cuatro *hallmarks* de reprogramación metabólica del cáncer para ofrecer una visión integrada del perfil obtenido: efecto Warburg, lipogénesis *de novo*, reprogramación de aminoácidos y ciclo de Krebs/redox. Dentro de cada *hallmark*, los metabolitos se ordenaron por *score* compuesto de menor a mayor, con el de mayor puntuación en la parte inferior del bloque (Figura 8).

El *hallmark* del efecto Warburg (n = 5 metabolitos) estuvo encabezado por la L-serina y el ácido láctico. El ácido láctico (3 estudios, 100 % ↑, *fold change* = 2.70) constituye el producto terminal de la fermentación en el cáncer, y su elevación consistente en suero es coherente con el incremento del ácido pirúvico (2 estudios, 100 % ↑), precursor inmediato del ácido láctico, y su coelevación refuerza la señal de actividad glucolítica aumentada. La glicina, con señal predominantemente disminuida (75 % ↓ en tres estudios), y la N,N-dimetilglicina, con patrón mixto, completaron este *hallmark*.

El *hallmark* de lipogénesis *de novo* (n = 20 metabolitos) presentó un patrón interesante que merece precisión: las lisofosfatidilcolinas séricas se encontraron consistentemente disminuidas, el LysoPC(16:0) y el LysoPC(18:1) mostraron las

medianas de *fold change* más bajas del *hallmark* (0.41 y 0.43, respectivamente). Los ácidos grasos poliinsaturados, el ácido linoleico y el ácido oleico también tendieron a la baja. El ácido araquidónico, con su *fold change* extremo proveniente de un único estudio, presenta una dirección incierta al evaluarse con el conjunto completo de registros, que en su mayoría muestran una disminución.

El *hallmark* de reprogramación de aminoácidos (n ≈ 19 metabolitos) fue uno de los más amplio del análisis y presentó los *scores* más elevados. La L-tirosina lideró el bloque con el *score* absoluto más alto de toda la colección, seguida por el L-triptófano, con dirección mixta, y la L-fenilalanina, con 83 % de registros al alza. La L-metionina (4 estudios, 100 % ↑) y la L-ornitina (4 estudios, 75 % ↑) se sumaron al patrón general de aminoácidos acumulados en suero. Los aminoácidos de cadena ramificada, leucina, L-isoleucina y L-valina, mostraron una señal mixta.

El *hallmark* Krebs/Redox (n ≈ 9 metabolitos) mostró un aumento consistente de los intermediarios del ciclo de Krebs, como ácido cítrico, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico y ácido cis-aconítico, detectados como elevados en 2 o 3 estudios cada uno, lo cual es coherente con la hipótesis de anaplerosis por glutaminólisis. En contraste directo, las acilcarnitinas de cadena media, octanoilcarnitina C8 (3 estudios, 100 % ↓, *fold change* mediana = 0.50), decenoilcarnitina C10:1 y decanoilcarnitina C10 (2 estudios cada una, 100 % ↓), fueron sistemáticamente menores en el suero de pacientes con cáncer hepático. Este conjunto de 53 metabolitos organizados en cuatro *hallmarks* constituye el modelo de referencia del perfil metabolómico del efecto Warburg generado a partir de la literatura. No obstante, un listado ordenado por puntuación no es suficiente para mostrar en qué punto de una red metabólica se ubica cada alteración ni cómo estas se podrían conectar entre sí, por lo que el siguiente paso fue proyectar estos hallazgos sobre el modelo metabólico propuesto al inicio de este trabajo.



Figura 8. Integración del perfil de metabolitos a las características metabólicas del cáncer de hígado frente a controles sanos. Un total de 53 metabolitos únicos reportados en dos o más estudios independientes fueron clasificados en cuatro *hallmarks* metabólicos y se muestran en tres paneles integrados. El Panel A muestra el número de estudios independientes que reportan cada metabolito en barras horizontales; las barras verdes indican regulación positiva consistente, las barras rojas indican regulación negativa consistente y las barras divididas verde-rojo indican direccionalidad mixta entre estudios, con porcentajes que indican la proporción de reportes aumentados y disminuidos, calculada respecto al número total de registros. El Panel B muestra la mediana del cambio relativo *fold change*

derivada de los estudios que proporcionaron datos cuantitativos, donde el tamaño del punto refleja la magnitud absoluta en escala $\log_2$ y la línea discontinua marca el *fold change* = 1. El Panel C indica el *hallmark* metabólico mediante una barra codificada por color y el número de estudios que propusieron formalmente el metabolito como biomarcador diagnóstico ★ = 1 estudio, ★★ = 2, ★★★ = 3; — = no propuesto. Dentro de cada *hallmark*, los metabolitos están clasificados mediante una puntuación compuesta que integra cuatro componentes mostrados en el encabezado de cada *hallmark*: número de estudios que reportaron el metabolito (rango 2–8), consistencia direccional (0.5 si es mixta, 1.0 si es uniforme), estatus como biomarcador (0 o 0.5) y calidad del estudio (0–3), calculada como el promedio de la puntuación de calidad metodológica de los estudios que reportan el metabolito, normalizado a una escala de 0–3 (calidad promedio / 18 × 3), la puntuación compuesta resultante varía de 4.3 a 11.6 entre todos los metabolitos.

5.1.6. Modelo metabólico expandido del efecto Warburg a partir de la literatura

Anteriormente se representó el conocimiento sobre el metabolismo del efecto Warburg disponible antes de realizar la revisión sistemática (Figura 1). Tomando como referencia esa base se construyó un modelo expandido (Figura 9), en el que se incorporaron los metabolitos que cumplieran dos condiciones. La primera fue contar con 3 o más reportes entre los 19 estudios incluidos. La segunda fue presentar una dirección de cambio homogénea, o en su defecto una señal mixta en la que al menos el 75 % de los reportes coincidieran en un mismo sentido. Aquellos metabolitos que cumplieron con ambos requisitos y que no figuraban en el modelo inicial se presentaron con óvalos rellenos, en verde si los metabolitos estaban aumentados en suero de pacientes y en rojo si se encontraban disminuidos. Los metabolitos que ya formaban parte del modelo inicial conservaron únicamente el

contorno de color. De esta forma la figura permite distinguir a simple vista lo que la revisión sistemática aportó como nueva evidencia.

La mayor parte de las nuevas incorporaciones correspondió al metabolismo de aminoácidos. La L-tirosina no aparecía en el modelo inicial y fue reportada al alza en hasta 9 ocasiones por 8 estudios independientes de forma homogénea. Su precursor, la L-fenilalanina, se encontró aumentada en 5 de 6 reportes (83 %), quedando conectados en el modelo como una misma rama alterada. En esa misma dirección se ubica la L-metionina, elevada en los cuatro reportes que la mencionan, al igual que la L-ornitina elevada en 3 de 4 reportes (75 %). La L-serina, elevada en cuatro 4 de 5 reportes (80 %), se integró a partir del fosfoglicerato. La glicina, subproducto directo, se comportó de forma opuesta, con 3 de 4 reportes que la describieron disminuida. Por último, la L-lisina completó este grupo como el único aminoácido con una disminución en la totalidad de sus reportes.

Fuera del metabolismo central, la revisión sistemática incorporó una ruta metabólica que el modelo inicial no contemplaba y que deriva del colesterol. Seis ácidos biliares conjugados se presentaron elevados en todos los reportes, y se representaron como un único bloque derivado de la vía del colesterol. Por otro lado, a partir de esa misma ruta se ramifica una tendencia invertida: el sulfato de androsterona disminuyó en los 6 reportes provenientes de 3 estudios, y el sulfato de dehidroepiandrosterona también disminuyó en sus 3 reportes de 2 estudios. Esta coexistencia en ambas señales muestra que el colesterol se redistribuye hacia la síntesis de ácidos biliares mientras que disminuyen los esteroides sulfatados. Cabe mencionar que esta interpretación requiere un análisis posterior de confirmación.

El recuadro asociado a la lipogénesis agrupa un comportamiento esperado de una vía previamente descrita como activa en el cáncer. LysoPC (16:0) y (18:1) disminuyeron en 5 reportes cada una, LysoPC (18:0) y (20:4) en 4 reportes, LysoPC (14:0) y (22:6) en 3, mientras que LysoPC (18:2) disminuyó en 4 de 5 reportes. Los ácidos oleico y linoleico, y la octanoilcarnitina, disminuyeron en 3 reportes. Todos los lípidos del recuadro se encontraron disminuidos en suero de pacientes, un resultado cuya explicación se retoma en la discusión.

Entre los metabolitos del modelo inicial, la revisión sistemática confirmó el aumento de los ácidos láctico, cítrico y málico, elevados en 3 reportes, así como el ácido L-glutámico, elevado en 5 de 6 reportes (83 %). El ácido pirúvico y la L-prolina se encontraron aumentados de forma homogénea en 2 ocasiones, por lo que no alcanzaron el umbral de inclusión y permanecen por confirmar.

Este modelo integra, además, una capa de transportadores mediante la cual cada metabolito alcanzaría el medio extracelular, obtenidos de la base de datos Uniprot. De esta forma se asoció cada metabolito con un transportador y esta capa convierte el modelo en algo más que un inventario de metabolitos alterados. Propone la vía por la cual cada alteración intracelular se traduciría en una señal medible fuera de la célula, que es justamente el comportamiento que se analizó en *S. cerevisiae.*

El efecto Warburg y la nueva evidencia

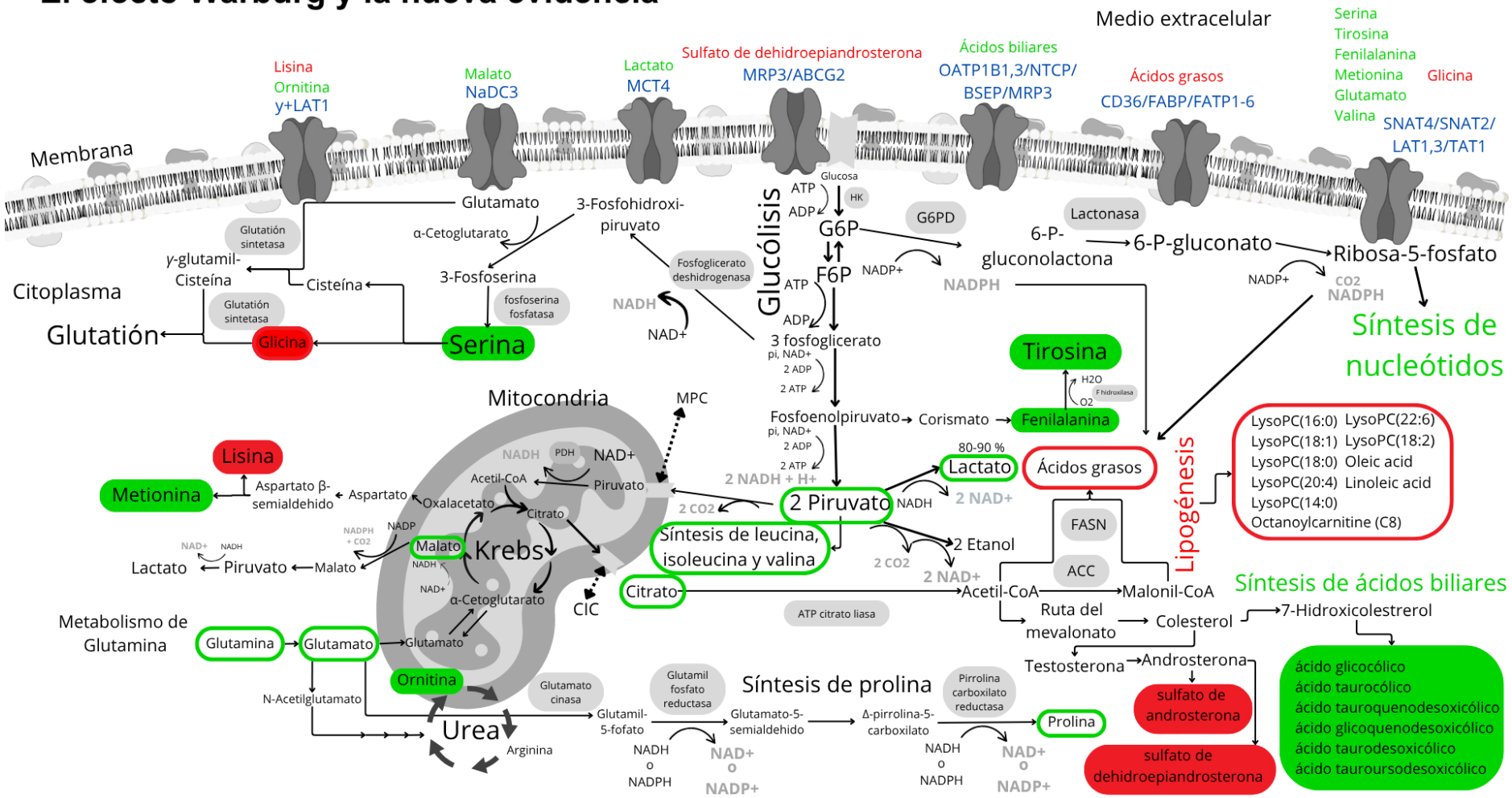


Figura 9. Modelo metabólico extendido a partir de la revisión sistemática de metabolómica sérica en cáncer de hígado. Los óvalos con relleno corresponden a metabolitos incorporados a partir de la revisión sistemática (≥ 3 reportes y ≥ 75 % de homogeneidad) que no formaban parte del modelo inicial (Figura 1). Los óvalos solo con contorno corresponden a metabolitos ya contemplados en el modelo inicial. El color verde indica aumento y el rojo disminución en suero de pacientes con cáncer frente a controles sanos. En azul se indican los transportadores asociados a cada metabolito obtenidos de Uniprot.

El modelo descansa y está basado en la frecuencia y la dirección de los reportes, no sobre la magnitud de los cambios, y esa decisión se debe a la naturaleza de los datos disponibles. Aquellos metabolitos que cuentan con el dato de *fold change* provinieron de apenas 10 de los 19 artículos incluidos en la revisión sistemática. El uso de estándares explica buena parte de esta limitación. Ocho estudios no reportaron ningún tipo de estándar, siete emplearon exclusivamente estándares internos y solo cuatro recurrieron a estándares externos o curva de calibración, mientras que solamente uno de ellos combinó estándares internos y externos. El estándar interno corrige la variación del proceso analítico, pero sin calibración externa no permite traducir la señal instrumental a una concentración comparable. A ello se suma la gran diversidad de plataformas, que abarcó LC-MS en distintas configuraciones, GC-TOFMS, CE-TOFMS, RMN y MALDI-TOF. Cada plataforma tiene su propia cobertura, sensibilidad y forma de expresar resultados.

La consecuencia práctica fue que los análisis multivariados planteados en la metodología no pudieron realizarse. Estos métodos requieren una matriz de datos numéricos comparables entre estudios, la evidencia disponible no la ofrece del todo. La metabolómica sérica de cáncer de hígado aporta, en su estado actual, información sobre qué metabolitos cambian y en qué sentido, pero a su vez presenta información escasa y poco homogénea sobre cuánto cambian. Por esa razón, el modelo debe leerse e interpretarse como un mapa de tendencias y no como un perfil cuantitativo. Utilizando esa misma lógica de tendencias, se realizó su comparación con el metabolismo de la cepa *S. cerevisiae snf1Δ*.

5.2. Modelo del perfil de metabolitos representativos del efecto Warburg de células cancerosas en la cepa de *S. cerevisiae snf1Δ*

Antes de realizar el análisis del medio extracelular de *S. cerevisiae* para obtener los metabolitos, se decidió hacer una determinación para confirmar en qué concentraciones de glucosa la cepa *snf1*Δ expresa rasgos del fenotipo Warburg. Para determinar la mejor respuesta, se midieron 3 fenotipos bien documentados del efecto Warburg en *S. cerevisiae*: velocidad de crecimiento aumentada, flujo glucolítico elevado y producción de ATP mediante fermentación por glucólisis.

5.2.1. Concentraciones elevadas de glucosa aumentan la velocidad de crecimiento de *S. cerevisiae snf1Δ*

La proliferación acelerada es una de las características más visibles del efecto Warburg. Si la pérdida del gen *SNF1* reproduce este rasgo en *S. cerevisiae*, entonces la cepa *snf1Δ* debería crecer más rápido que la cepa *WT*, aunque no necesariamente en cualquier concentración de glucosa. Para identificar el intervalo, se colocaron diferentes concentraciones de glucosa (Cuadro 2) que van desde la hipoglucemia y normoglucemia hasta la hiperglucemia en el cuerpo humano, de acuerdo con la guía de la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) 2025. La velocidad de crecimiento presentó un patrón dependiente de la concentración de glucosa en cuerpo humano (Figura 10), en concentraciones hipoglucémicas y normales en cuerpo humano la cepa *snf1*Δ presenta una disminución de la velocidad de crecimiento con respecto a la cepa *WT*; sin embargo, en cuanto el fenotipo cambia a un estado de hiperglucemia el comportamiento resultante es completamente el opuesto, la cepa *snf1*Δ es ahora la que presenta un aumento en la velocidad de crecimiento, y dicho aumento se mantiene a lo largo de todas las concentraciones de hiperglucemia que se utilizaron.

Cuadro 2. Equivalencias de las concentraciones de glucosa.

Equivalentes de concentración de glucosa		
mM	%	mg/dL
1	0.018	18
3	0.054	54
5.5	0.100	99
15	0.270	270
30	0.540	540
55	1.000	991
100	1.802	1802
277.5	5.000	5000

Cuadro de equivalencias de las concentraciones de glucosa. La primera columna son las concentraciones que se utilizaron en este proyecto, la columna dos son sus equivalentes en porcentaje y la columna 3 son los equivalentes en las unidades más utilizadas por el área de la salud. Las filas en color azul cielo son las concentraciones de glucosa correspondientes a un estado de hipoglucemia en cuerpo humano, la fila con azul turquesa es la concentración normal de glucosa en cuerpo humano de acuerdo con la ADA 2025 y por último las filas con color azul rey son las concentraciones de glucosa consideradas elevadas en cuerpo humano >100 mg/dL.

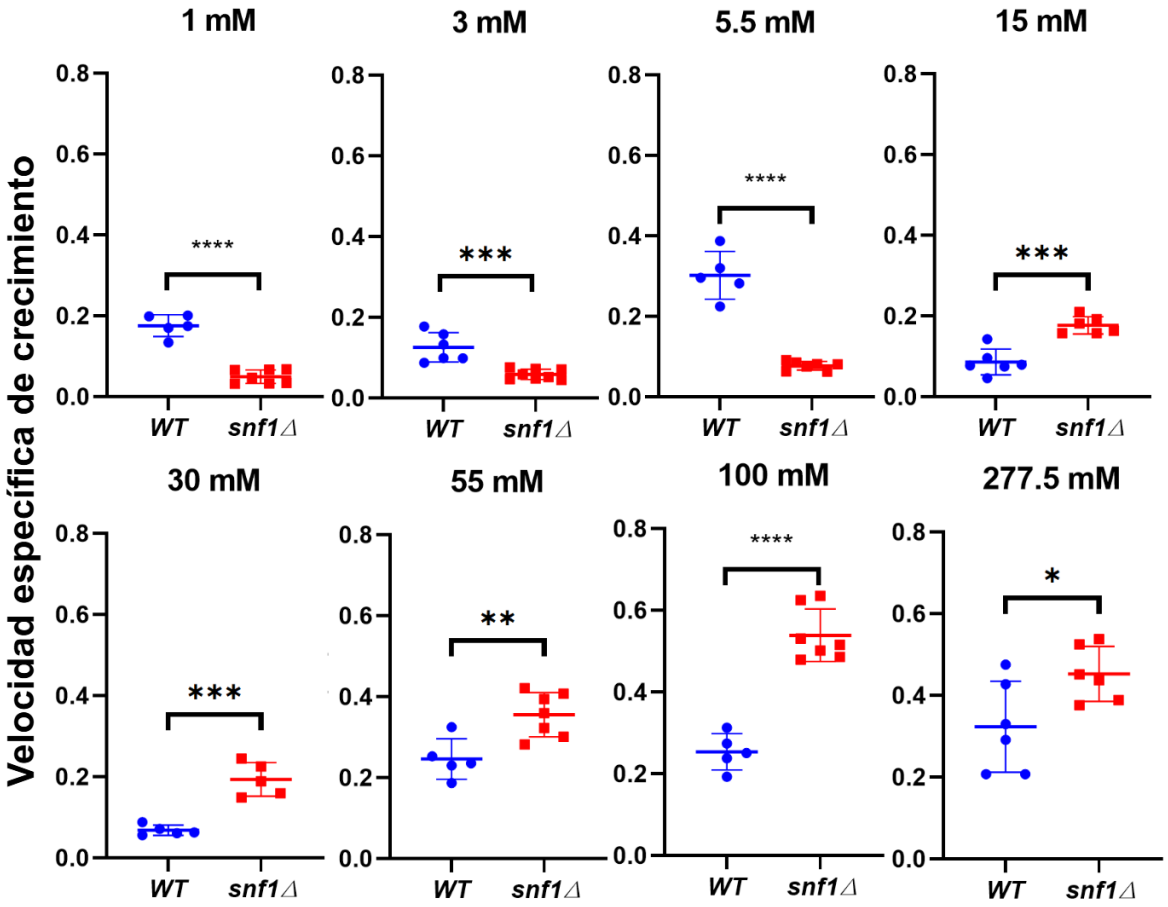


Figura 10. Comparación de la constante de crecimiento entre la cepa silvestre (*WT*) y la cepa mutante *snf1Δ*. Comparación de la constante de crecimiento entre la cepa silvestre (*WT*) y la cepa mutante *snf1Δ* en presencia de diferentes concentraciones de glucosa (1, 3, 5.5, 15, 30, 55, 100 y 277.5 mM). Los valores se representan como media ± desviación estándar (n = 8). El análisis estadístico se realizó mediante prueba *t-student* no pareada. Se observaron diferencias significativas a bajas concentraciones de glucosa (1, 3 y 5.5 mM), donde la cepa *WT* mostró una mayor velocidad de crecimiento en comparación con *snf1Δ*. En contraste, a concentraciones más altas de glucosa (15–277.5 mM) la cepa *snf1Δ* presentó valores de K significativamente superiores a los de la cepa *WT.* Los niveles de significancia estadística se indican en la gráfica (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.006$, ****$p < 0.001$).

5.2.2. Aumento del flujo glucolítico en la cepa *snf1*Δ de *S. cerevisiae*

El segundo rasgo evaluado del efecto Warburg en la cepa *snf1*Δ de *S. cerevisiae* fue la medición del flujo glucolítico, que generalmente se encuentra elevado en células cancerosas bajo el efecto. Con este ensayo se busca responder si la cepa degrada la glucosa más rápido que la cepa *WT* y en qué concentraciones se acentúa esa diferencia, esa información también orienta la selección de las condiciones para el análisis de cromatografía. De manera breve, se crecieron las células en medio mínimo (SC) suplementado con las diferentes concentraciones de glucosa (Cuadro 2), posteriormente se lavaron y dejaron en ayuno 3 h, concluido el tiempo se procedió a medir el pH durante 5 min después de agregar 0.5 mL de glucosa al 1 M, curiosamente, se presentó un patrón que se mantiene en la mayoría de los tratamientos (Figura 11), dicho patrón es un aumento del flujo glucolítico por parte de la cepa *snf1*Δ con respecto al control.

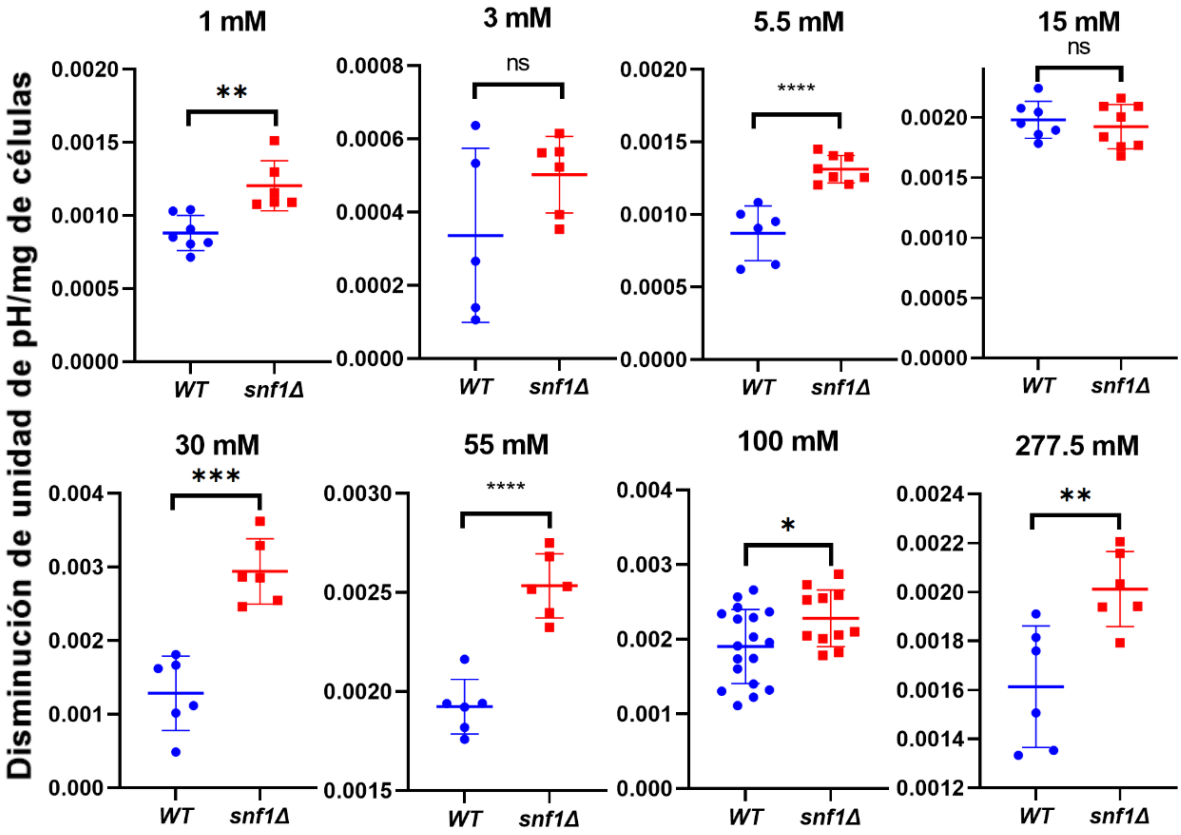


Figura 11. Comparación de la disminución del pH. Comparación de la disminución del pH (Disminución de unidad de pH / mg de células) entre la cepa silvestre *WT* y la cepa mutante *snf1Δ* crecidas en diferentes concentraciones de glucosa (1, 3, 5.5, 15, 30, 55, 100 y 277.5 mM). Los valores se representan como media ± desviación estándar (n = 10). El análisis estadístico se realizó mediante prueba *t-Student* no pareada. Los niveles de significancia estadística se indican en la gráfica (**p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.006, *****p* < 0.001).

5.2.3. Diferencias en el consumo de oxígeno para respiración mitocondrial basal, ligada a ATP y máxima

La tercera característica evaluada fue la dependencia de la respiración mitocondrial. Una célula con efecto Warburg obtiene gran parte de su ATP vía glucolítica aun en presencia de oxígeno, por lo que se espera que destine menos oxígeno a la

fosforilación oxidativa que una célula con metabolismo respiratorio. Este ensayo fenotípico se realizó creciendo células de la cepa *snf1*Δ y *WT* de *S. cerevisiae* bajo los diferentes tratamientos, se lavaron y se llevaron a medir el consumo de oxígeno después de agregar 0.5 mL de glucosa al 1 M. Este experimento brinda información valiosa sobre la actividad de la mitocondria bajo las diferentes concentraciones de glucosa. La primera medición obtenida es la respiración basal (Figura 12), donde se aprecia una disminución de la respiración basal de la cepa *snf1*Δ con respecto a su contraparte *WT,* este patrón se mantiene en la mayoría de las concentraciones utilizadas, con excepción de la última y la más grande (277.5 mM) donde hubo un aumento. Un resultado que nos indica que la cepa *snf1*Δ en concentraciones elevadas aún mantiene una respiración basal, un fenotipo opuesto al que normalmente presenta este organismo en concentraciones elevadas de glucosa, donde la fermentación cambia a ser la principal forma de producción de energía (efecto Crabtree) e inhibe la respiración mitocondrial.

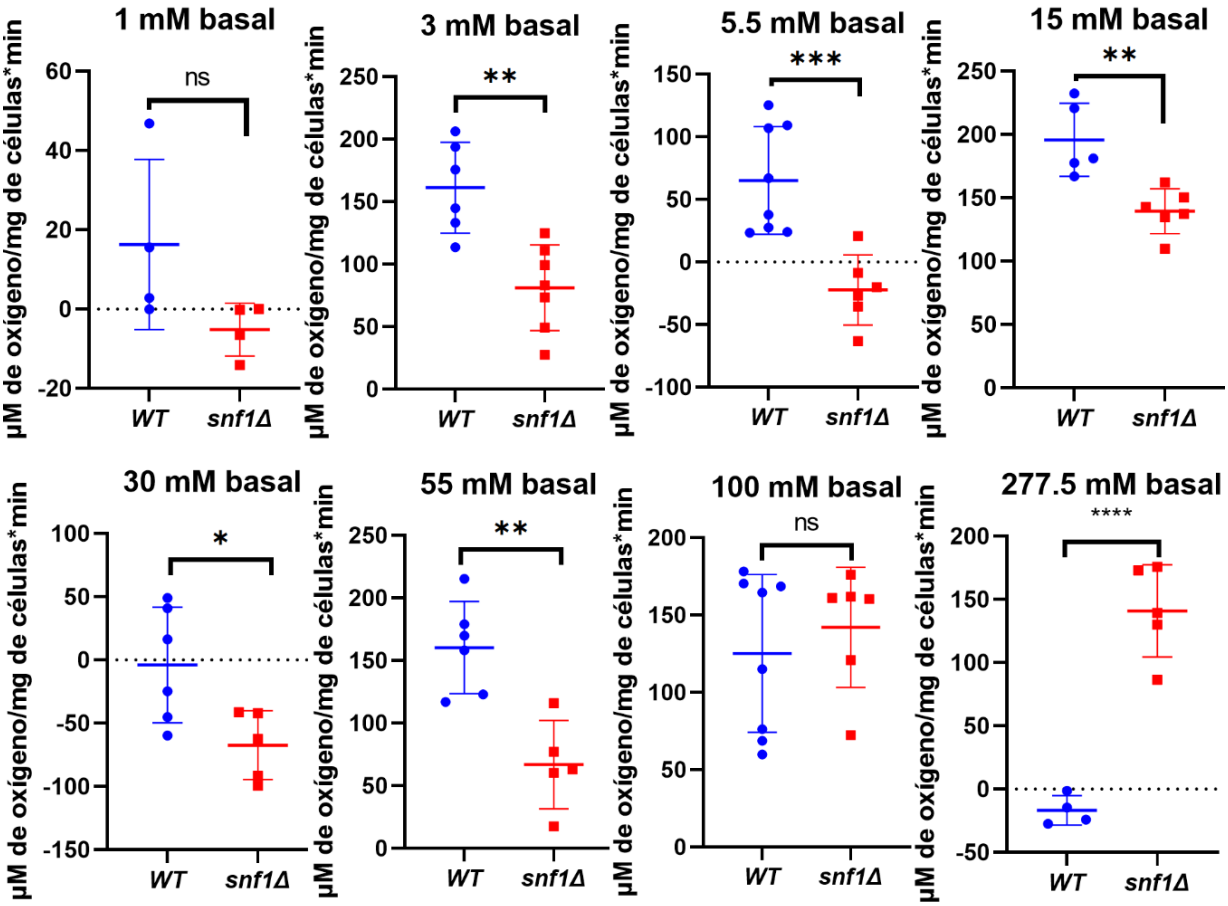


Figura 12. Comparación del consumo de oxígeno. Comparación del consumo de oxígeno (µM de oxígeno/mg de células*min) entre la cepa silvestre (*WT*) y la cepa mutante *snf1Δ* crecidas en diferentes concentraciones de glucosa (1, 3, 5.5, 15, 30, 55, 100 y 277.5 mM). Los valores se representan como media ± desviación estándar (n = 10). El análisis estadístico se realizó mediante prueba *t-tudent* no pareada para el consumo de oxígeno mediante respiración basal. Los niveles de significancia estadística se indican en la gráfica (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.006$, ****$p < 0.001$).

Por otro lado, el patrón de resultados obtenidos en la respiración ligada a ATP resulta ser un poco más intrigante, presentando una disminución del oxígeno que se dirige hacia la síntesis de energía en la cepa *snf1Δ* con respecto a la cepa *WT* (Figura 13), este patrón se mantuvo en todas las concentraciones utilizadas que marcaron diferencia significativa, por lo que es evidente que la cantidad de oxígeno

utilizado para la síntesis de ATP en la cepa *snf1Δ* es menor que en la cepa *WT* en general.

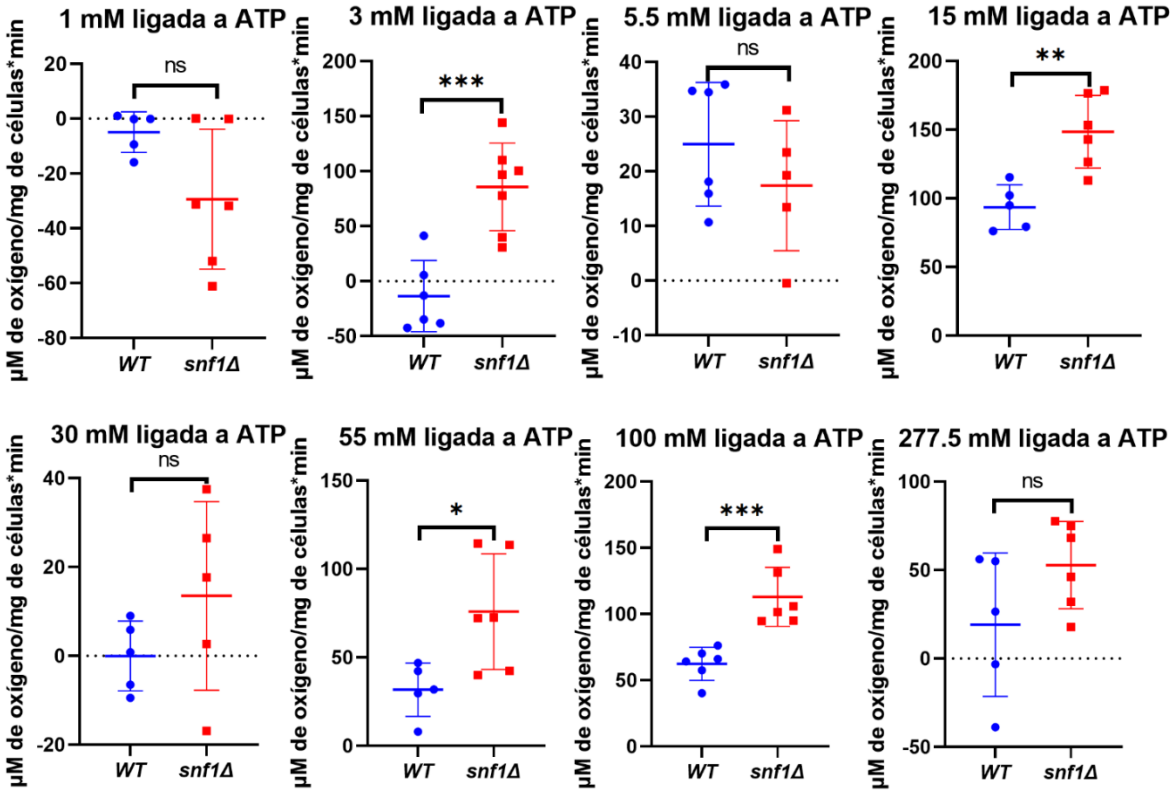


Figura 13. Comparación del consumo de oxígeno ligado a ATP. Comparación del consumo de oxígeno ligado a ATP (µM de oxígeno/mg de células*min) entre la cepa silvestre (*WT*) y la cepa mutante *snf1Δ* crecidas en diferentes concentraciones de glucosa (1, 3, 5.5, 15, 30, 55, 100 y 277.5 mM). Los valores se representan como media ± desviación estándar (n = 10). El análisis estadístico se realizó mediante prueba *t-student* no pareada para el consumo de oxígeno mediante respiración ligada a ATP. Los niveles de significancia estadística se indican en la gráfica (**p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.006, *****p* < 0.001).

El comportamiento de la respiración máxima se volvió un poco más complejo debido a que *snf1Δ* presentó una disminución del consumo de oxígeno en las concentraciones 1, 3 y 15 mM (Figura 14) que son dos concentraciones bajas y la primera de las concentraciones elevadas de glucosa comparado con la cepa *WT*,

mientras que presenta un aumento en las concentraciones 55, 100 y 277.5 mM, las más altas.

Los 3 ensayos coincidieron en que los rasgos compatibles con el efecto Warburg en la cepa de levadura se acentúan conforme aumenta la concentración de glucosa: una ventaja en la velocidad de crecimiento, la acidificación y el comportamiento particular de la respiración se hicieron más evidentes a concentraciones elevadas. Con base en ello, se seleccionaron 3 concentraciones para el análisis del medio extracelular: 1 mM (hipoglucemia), 5.5 mM (normoglucemia) y 277.5 mM (hiperglucemia), en las que se encontraron las mayores diferencias entre cepas.

De estas tres condiciones, en este trabajo se presentan únicamente los resultados obtenidos a 5.5 mM. La razón es la comparación que se persigue en el tercer objetivo: los estudios integrados en la revisión sistemática utilizan suero de pacientes frente a controles sanos cuya glucemia es inferior a 100 mg/dL. La condición de 5.5 mM es la que permite una equivalencia y, por ende, una comparación más directa con los datos de la revisión. Sin embargo, esta decisión contiene un costo que se pretende hacer explícito: bajo esa condición no se expresa el fenotipo con mayor intensidad, pero sí es comparable con la fisiología humana.

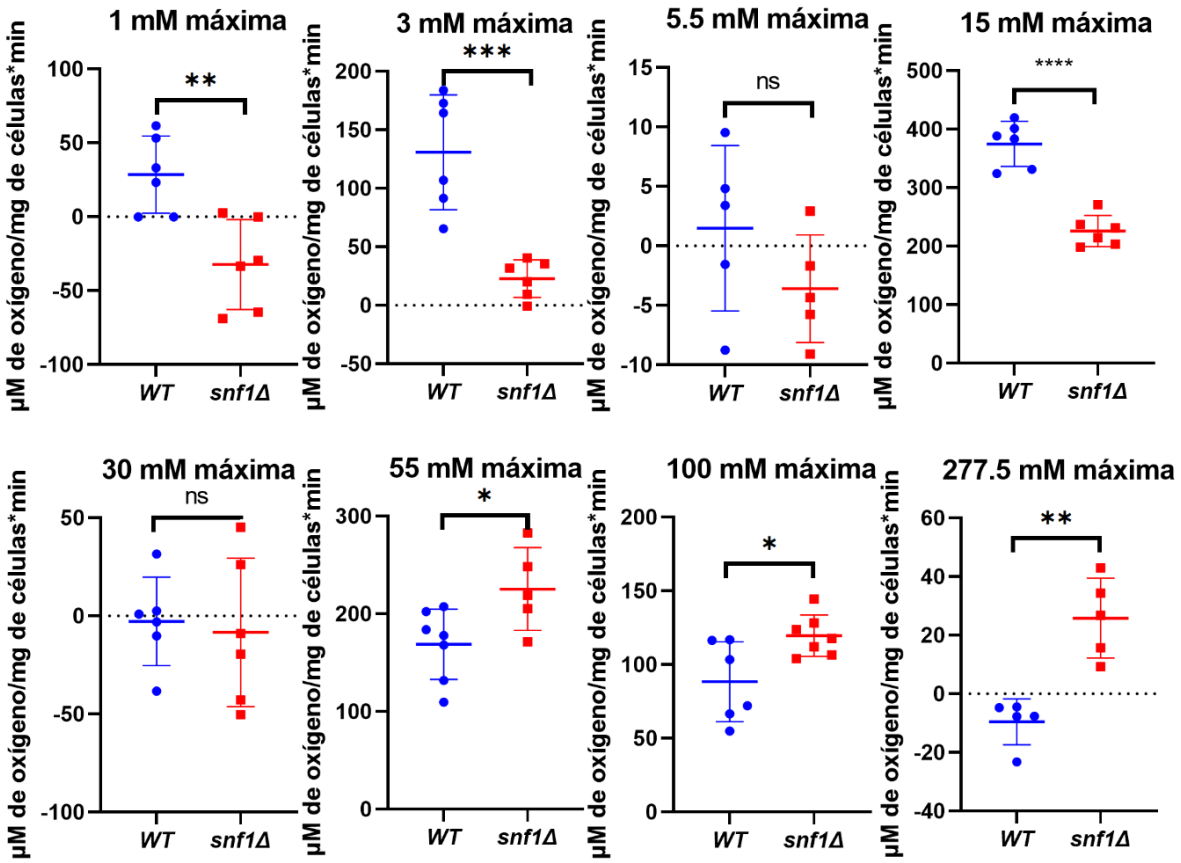


Figura 14. Comparación del consumo de oxígeno máximo. Comparación del consumo de oxígeno máximo (µM de oxígeno/mg de células*min) entre la cepa silvestre (*WT*) y la cepa mutante *snf1Δ* crecidas en diferentes concentraciones de glucosa (1, 3, 5.5, 15, 30, 55, 100 y 277.5 mM). Los valores se representan como media ± desviación estándar (n = 10). El análisis estadístico se realizó mediante prueba *t-student* no pareada para el consumo de oxígeno mediante respiración máxima. Los niveles de significancia estadística se indican en la gráfica (**p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.006, *****p* < 0.001).

5.2.4. Perfil de metabolitos del medio extracelular de *S. cerevisiae snf1Δ* a 5.5 mM de glucosa

El efecto Warburg se conoce principalmente por lo que la célula intercambia con su entorno: consume glucosa en exceso y libera productos de fermentación e

intermediarios que no se oxidan por completo. Gracias a esto, una vez establecida la condición de trabajo, el siguiente paso que realizamos fue caracterizar el medio extracelular de *snf1Δ* y compararlo con la *WT*. Nuestro propósito aquí es identificar qué metabolitos representativos del efecto Warburg cambian con la pérdida del gen *SNF1* y en qué dirección lo hacen.

El análisis por GC-MS identificó 34 señales en el conjunto de muestras, correspondientes a 32 compuestos (L-isoleucina y L-treonina, en diferentes tiempos de retención, se trataron como isómeros). A la concentración de 5.5 mM se detectaron 13 señales en ambas cepas. Cinco se detectaron solo en *snf1Δ,* 1 solo en la cepa *WT* y 10 no se detectaron a esta concentración (Figura 15). Los cambios entre las cepas se expresan como el log2 (FC) de *snf1Δ/WT,* calculado por réplica. Dado que el número de réplicas (n=3) incluye réplicas en las que el metabolito estuvo ausente, los resultados se presentan de forma descriptiva como media ± desviación estándar.

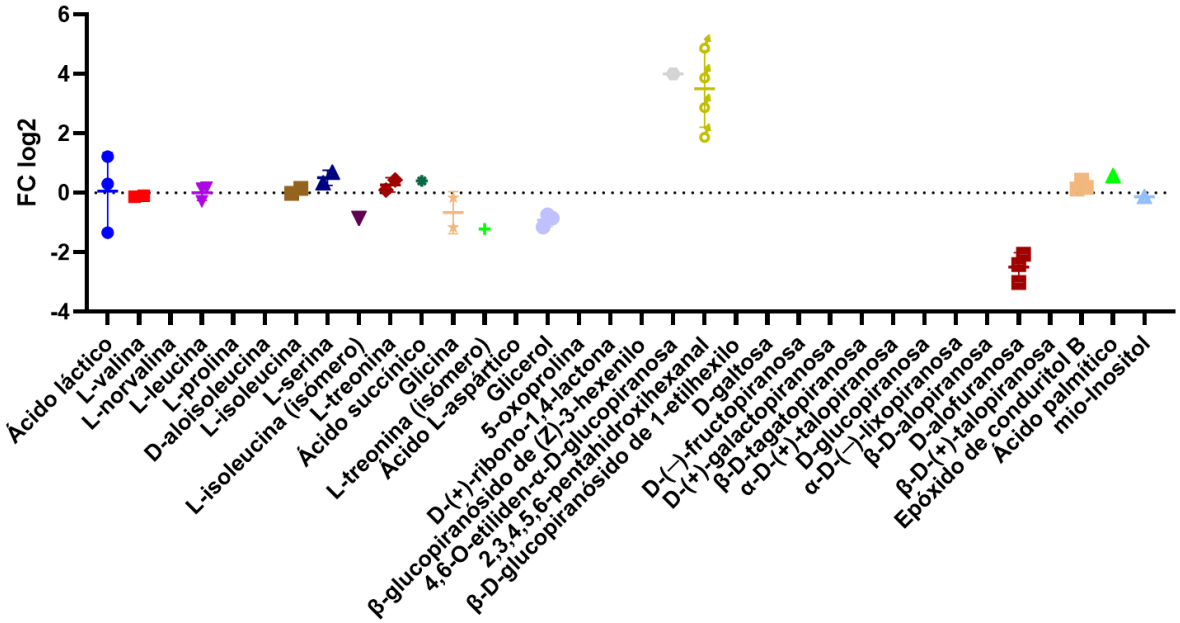


Figura 15. Perfil de metabolitos del medio extracelular de *S. cerevisiae snf1Δ* frente a la cepa *WT* crecidas a 5.5 mM de glucosa. Cada punto representa el log2 (*snf1Δ/WT*) de una réplica biológica; los datos se presentan con media y desviación estándar. Los compuestos sin valor corresponden a metabolitos detectados solo en una cepa o no detectados en esta concentración.

En la agrupación de los datos por ruta y naturaleza química (Figura 16), se observa consistencia entre los grupos. El ácido láctico (Figura 16a) presentó la mayor dispersión del conjunto, aumentando en 2 réplicas y disminuyendo en la tercera. Del ciclo de Krebs (Figura 16b) solo se cuantificó el ácido succínico con un aumento en una única réplica. Entre los aminoácidos (Figura 16c), la L-serina fue el que aumentó de forma más contundente y la glicina el que más disminuyó. La L-treonina mostró un aumento moderado, mientras los aminoácidos de cadena ramificada permanecieron prácticamente sin cambio (Figura 16c). El ácido palmítico aumentó en la única réplica cuantificable (Figura 16d). Entre los polioles (Figura 16e), el glicerol disminuyó en las 3 réplicas, y el mio-inositol disminuyó ligeramente tras excluir dos réplicas con valores extremos. La D-alofuranosa (Figura 16f) presentó la disminución más pronunciada y reproducible de todo el análisis, y el epóxido de conduritol B (Figura 16g) aumentó de forma constante pero discreta. Con este perfil definido, el siguiente paso fue contrastarlo con el modelo derivado de la revisión sistemática.

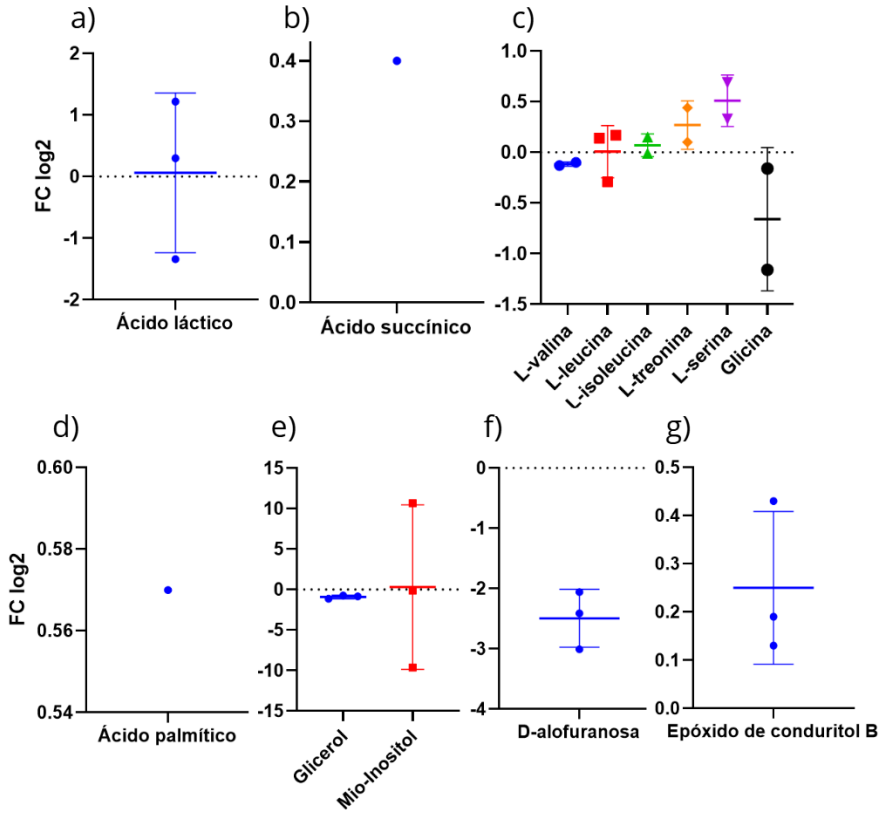


Figura 16. Cambios en los metabolitos del medio extracelular agrupados por ruta metabólica y naturaleza química. Cambios en los metabolitos, a) ácido láctico, b) ciclo de Krebs, c) aminoácidos, d) ácidos grasos, e) polioles, f) otros carbohidratos y g) otros no clasificados. Cada punto representa una réplica biológica y se muestra la media con su desviación estándar.

5.3. Asociación entre el perfil de metabolitos del efecto Warburg y el perfil metabólico de *S. cerevisiae snf1Δ*

La capacidad de utilizar a *S. cerevisiae snf1Δ* como modelo depende de qué tanto reproduce, en su medio extracelular, las alteraciones que el cáncer de hígado imprime en el suero de pacientes. Responder a esa pregunta exige una comparación coherente con la naturaleza de los datos. Como se estableció anteriormente, la evidencia de la revisión sistemática permite conocer con solidez únicamente la dirección de los cambios, pero no su magnitud en términos comparables. Por esta razón, la asociación entre ambos perfiles se realizó de forma cualitativa y sin análisis multivariados.

La dirección de cada metabolito en la revisión sistemática se determinó a partir de la totalidad de sus reportes, y se tomaron en cuenta aquellos metabolitos que contaban con el valor log2 (FC), siete7 de estos metabolitos con valor numérico en ambas fuentes (Figura 17) son útiles para realizar esta asociación entre ambos perfiles. Entre los metabolitos representados, el ácido láctico mostró una tendencia general consistente en ambos perfiles (Figura 17a). Los 3 reportes de la revisión sistemática lo describen como aumentado en suero de pacientes, 2 reportes con valor numérico y uno sin valor numérico, y en la cepa *snf1Δ* aumentó en 2 de las 3 réplicas. En los aminoácidos, la L-serina coincidió en dirección (Figura 17c), aumentando en cuatro de 5 reportes de la revisión (3 reportes sin dato numérico) y en 2 réplicas del perfil de la levadura. La glicina también fue concordante (Figura 17d), aunque en sentido opuesto, disminuida en 3 de cuatro reportes y en ambas

réplicas de la cromatografía. La L-leucina (Figura 17b), en cambio, no permite una conclusión debido a que sus cuatro reportes en la revisión se repartieron por igual entre aumento y disminución, y en la levadura aumentó en 2 réplicas y disminuyó en una, de modo que en ambas fuentes su comportamiento es dividido.

El glicerol disminuyó en 2 reportes de la revisión sistemática y en 3 de las réplicas de la levadura (Figura 17f). Mientras que el mio-inositol, con un reporte en cada dirección en la revisión sistemática y en la levadura quedó como no concluyente (Figura 17g). El ácido palmítico fue el único metabolito con una discordancia clara entre modelos: los 2 reportes de la revisión lo describieron disminuido en el suero de pacientes, mientras que en la cepa *snf1Δ* se encontró aumentado (Figura 17e).

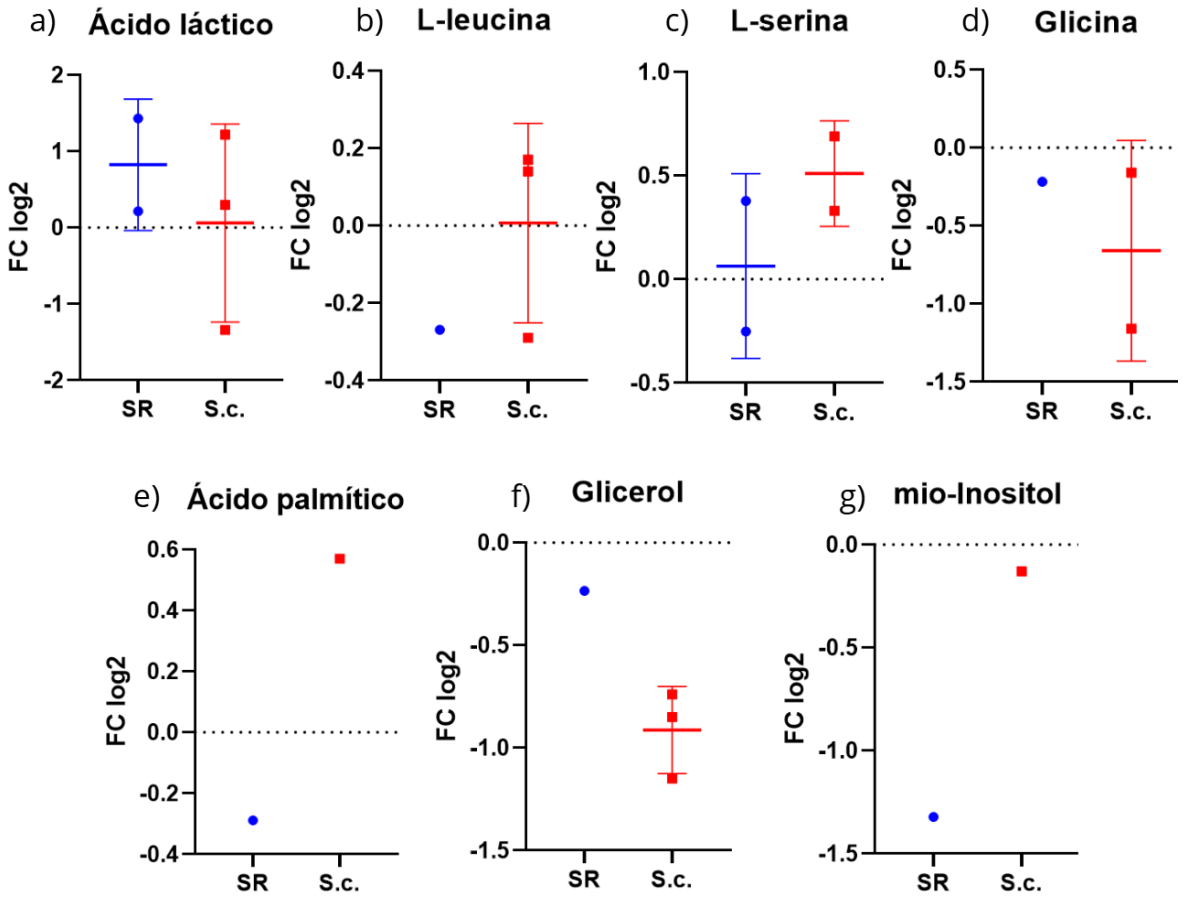


Figura 17. Comparación de la dirección del cambio entre la revisión sistemática en cáncer de hígado y la cromatografía de medio extracelular de *S. cerevisiae snf1Δ* a 5.5 mM de glucosa. Cada punto representa el log2 (FC) del metabolito en un reporte con dato numérico en la revisión y una repetición de la cromatografía de la levadura

respectivamente. Las líneas indican media y desviación estándar. Por la heterogeneidad metodológica entre estudios y por tratarse de compartimentos biológicos distintos entre modelos, la comparación se interpreta únicamente en términos de dirección del cambio.

Otros cuatro metabolitos compartidos carecían de dato numérico en la revisión sistemática, pero sus reportes de dirección permitieron extender la comparación, el ácido succínico se describió aumentado en los 2 reportes que lo mencionan y aumentó de igual manera en la levadura (datos no mostrados), la L-treonina coincidió en dirección, elevada en su único reporte y en ambas réplicas de la levadura, aunque solo un reporte representa una evidencia mínima. La L-valina y la L-isoleucina se reportaron aumentadas en 2 de 3 ocasiones, pero, al encontrarse por debajo del umbral establecido (>75 %), se consideraron no concluyentes.

En conjunto, 4 metabolitos mostraron concordancia en la dirección (ácido láctico, L-serina, glicina y glicerol); uno fue discordante (ácido palmítico) y los demás no fueron concluyentes. Algo que cabe destacar es que la concordancia fue más frecuente precisamente en los metabolitos vinculados al efecto Warburg. Estos resultados indican que la cepa *snf1Δ* reproduce la dirección de varias alteraciones centrales del efecto Warburg descritas en el cáncer de hígado, pero no en la totalidad del perfil. Está abierta la cuestión de por qué algunos metabolitos como el ácido palmítico o el propio ácido láctico en un organismo que fermenta hacia etanol se comportan como lo hacen en esa cepa de *S. cerevisiae*.

6. Discusión de resultados

6.1. Modelo metabólico expandido del efecto Warburg en cáncer de hígado: ¿qué tan confiable es lo que aporta la revisión?

Nuestro modelo expandido se construyó a partir de una comparación entre el suero de pacientes con cáncer y controles aparentemente sanos, con la premisa: lo que cambia en la circulación puede reflejar, al menos en cierta parte, lo que ocurre dentro de una célula tumoral. Los propios estudios incluidos nos permiten ver que cuando el tumor se desarrolla en el hígado, un órgano que regula buena parte del metabolismo sistémico, la señal sérica combina la reprogramación metabólica de la célula tumoral con una pérdida de funciones hepáticas impuesta por el crecimiento del tumor y con la respuesta de todo el organismo a la enfermedad. Bajo esta perspectiva se plantea examinar el modelo.

6.1.1. Flujo glucolítico y ciclo de Krebs: las señales más cercanas al efecto Warburg

El ácido láctico, el ácido pirúvico y los intermediarios del ciclo de Krebs forman este primer bloque que se relaciona de manera directa con la glucólisis tumoral. El aumento sérico del ácido láctico y ácido pirúvico registrado de entre 1.16 y 1.43 veces respecto a los controles, puede explicarse por el mayor consumo energético del tejido tumoral a través de la glucólisis (Bai *et al*., 2021; T. Chen *et al*., 2011; Q.-J. Yang *et al*., 2018). Para el ácido pirúvico podría existir una explicación complementaria: la baja actividad de la isoforma M2 de la piruvato cinasa podría generar un cuello de botella en la glucólisis, de modo que una fracción importante de este metabolito vendría de fuentes alternas, como la lanzadera de ácido cítrico o la conversión a partir de ácido málico proveniente de la L-glutamina (Gao *et al*., 2015).

Los intermediarios del ciclo de Krebs apuntan en la misma dirección. El aumento del ácido succínico podría inhibir a la prolil hidroxilasa del HIF-1α, favoreciendo la expresión de enzimas glucolíticas (Gao *et al*., 2015). El aumento del ácido cítrico se ha relacionado con un ciclo de Krebs truncado, en el que el ácido cítrico se exporta al citosol para sostener la lipogénesis *de novo* (Gao *et al*., 2015; Q.-J. Yang *et al*., 2018). El ácido málico elevado en la misma proporción que el ácido láctico (Bai *et*

al., 2021), se interpreta como un producto de ese ciclo truncado y como fuente del ácido pirúvico (Gao *et al*., 2015). En conjunto, estos cambios en metabolitos clave son coherentes con un tumor que prefiere la glucólisis y orienta el ciclo de Krebs hacia la producción de precursores biosintéticos, un rasgo central de la definición contemporánea y expandida del efecto Warburg.

6.1.2. L-serina y glicina: una división entre la biosíntesis y la posible defensa antioxidante

La L-serina y la glicina mostraron direcciones distintas entre estudios, y los estudios ofrecen explicaciones que dependen de esa dirección. Cuando ambas aumentan, el incremento de L-serina ha sido atribuido a la desviación de intermediarios glucolíticos hacia vías anabólicas, y el aumento de la glicina a su propia demanda como precursor del glutatión frente al estrés oxidativo (Gao *et al*., 2015). Cuando ambos aminoácidos disminuyen, la baja de la L-serina se ha relacionado con su consumo para donar unidades de carbono para la síntesis de L-metionina (T. Chen *et al*., 2011). Mientras que la glicina es un aminoácido que se incorpora a los γ-glutamil dipéptidos formados durante la síntesis de glutatión, cuyos niveles aumentan en los pacientes frente a controles aparentemente sanos, mientras que desciende cuando avanza la enfermedad, a medida que se reduce la capacidad de producir glutatión (Soga *et al*., 2011). La dirección de estos aminoácidos en el suero dependería del balance entre su producción a partir de la glucólisis y su consumo en la defensa antioxidante, un balance que podría cambiar dependiendo de la etapa y las condiciones del tumor.

6.1.3. Lípidos: ¿el tumor como consumidor o productor/acumulador?

La disminución de las lisofosfatidilcolinas es el hallazgo lipídico más consistente de esta revisión, y admite dos explicaciones compatibles. La primera es un recambio

acelerado de la fosfatidilcolina de la membrana asociado a la proliferación tumoral (Jee *et al*., 2018; Zhou *et al*., 2012). La segunda es la conversión en ácido lisofosfatídico por las autotaxinas (S. Chen *et al*., 2013). Por otro lado, la disminución de los ácidos grasos libres se podría explicar por dos vertientes: la primera es que el tumor podría funcionar como sumidero de ácidos grasos circulantes (Lewinska *et al*., 2021), de manera que los lípidos séricos pueden disminuir aunque la lipogénesis esté activa dentro de la célula tumoral. Mientras que la segunda vertiente es precisamente la falta de salida de los ácidos grasos libres que se están formando mediante la lipogénesis, y su acumulación dentro de las células en forma de gotas lipídicas (T. N. Seyfried *et al*., 2025). Su acumulación dentro de la célula tumoral podría provocar el agotamiento de sus reservas en el torrente sanguíneo, causando así la disminución de los lípidos en las muestras séricas de pacientes con cáncer frente a controles aparentemente sanos.

6.1.4. Aminoácidos aromáticos y ácidos biliares: un hígado que pierde su función

Dos de los bloques incorporados por la revisión reflejan más que la reprogramación de la célula tumoral, reflejan las funciones hepáticas que el tumor compromete. El aumento de la L-tirosina, el metabolito con la tendencia más consistente de la revisión, puede explicarse por la interrupción de la vía oxidativa intrahepática, que es responsable de degradar más del 98 % de este aminoácido cuando el tejido hepático está íntegro (Siguencia *et al*., 2025). El aumento de la L-metionina se ha relacionado con la menor expresión de la metionina adenosiltransferasa en tejido hepático tumoral (D. J. Kim *et al*., 2019).

El aumento de los ácidos biliares conjugados se ha atribuido de igual manera al daño hepático que se producen al desarrollarse el tumor (T. Chen *et al*., 2011; Khalil *et al*., 2022; Luo *et al*., 2018). En el caso particular del ácido tauroursodesoxicólico, elevado antes del diagnóstico, propone un papel compensatorio frente a la apoptosis inducida por estrés (Jee *et al*., 2018). La disminución de los esteroides sulfatados, en cambio, carece de una explicación concreta en las fuentes; solo se

ha descrito su correlación negativa con marcadores de función hepática (Luo *et al*., 2018). La posible relación entre ambas tendencias de aumento de síntesis de ácidos biliares y la disminución de esteroides sulfatados mediante la vía del colesterol descrita en los resultados no fue abordada por ningún estudio incluido y debería considerarse una hipótesis para comprender más su papel en el daño hepático del tumor.

En conjunto, el modelo expandido abarca 3 niveles de información. El primero corresponde a la reprogramación metabólica de la célula tumoral: el flujo glucolítico, el ciclo de Krebs truncado, el eje L-serina-glicina, y la disminución de lípidos circulantes. El segundo refleja las funciones hepáticas que el tumor compromete, como la degradación de aminoácidos aromáticos y el manejo de los ácidos biliares. El tercero depende del estado de la enfermedad, y explica hasta cierto punto parte de la variabilidad de los aminoácidos ramificados, así como de la L-serina y la glicina. El suero integra varias fuentes y no permite separarlas con facilidad. Esa es precisamente la ventaja del modelo en levadura, es un organismo unicelular sin órganos que compensen o modifiquen su metabolismo, por lo tanto, lo que aparezca en medio extracelular dependerá solo del metabolismo del efecto Warburg. Si alguna de las alteraciones del primer nivel reaparece en la levadura, sería completamente razonable atribuirla a la reprogramación metabólica de la célula.

6.2. Fenotipos del efecto Warburg dependientes de la glucosa

El efecto Warburg se reconoce desde antes de poder crear perfiles de metabolitos, por un conjunto de rasgos fenotípicos: una proliferación sostenida por la disponibilidad de glucosa, un flujo glucolítico elevado y una producción de ATP que depende más de la glucólisis que de la fosforilación oxidativa. Estos 3 rasgos se evaluaron en la levadura con el propósito de establecer si su metabolismo reproduce el de una célula con cáncer y en qué condiciones de glucosa lo hace.

En células cancerosas, la velocidad de proliferación responde a la cantidad de glucosa que tiene disponible. Concentraciones de 25 y 50 mM aumentaron la proliferación de líneas de cáncer pancreático respecto a 5.5 mM (L. Han *et al*., 2011). En líneas de cáncer endometrial, 25 mM de glucosa incrementó la proliferación, una mayor captación de glucosa, activación de la glucólisis y de las vías AKT/mTOR/S6 y de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), mientras que 1 mM detuvo el ciclo celular en G1 e indujo apoptosis (J. Han *et al*., 2015). En esta última condición, la falta de glucosa activó a AMPK y disminuyó las cinasas dependientes de ciclina 4 y 6 (CDK4 y CDK6), lo que sugiere al sensor energético como el freno de la proliferación en el contexto donde la glucosa es poca (J. Han *et al*., 2015).

La cepa *snf1Δ* mostró un comportamiento equivalente. La constante de crecimiento fue menor que la de la cepa *WT* a 1, 3 y 5.5 mM de glucosa y mayor en todas las concentraciones a partir de 15 mM. La ausencia del gen *SNF1*, homólogo de AMPK, podría dejar a la levadura sin el mecanismo que le permitiría adaptarse a la escasez de glucosa en la misma magnitud que su contraparte silvestre, pero permitiéndole aprovechar con mayor eficiencia la glucosa abundante, produciendo así la dependencia de la glucosa que caracteriza la proliferación de las células cancerosas con efecto Warburg.

Bajo este efecto la conversión de la glucosa en ácido láctico es de tal magnitud que el medio extracelular se ve alterado en el pH, de modo que la velocidad de acidificación del medio constituye una medida directa del flujo glucolítico que se presenta en paralelo con la producción de ácido láctico (Pike Winer y Wu, 2014). La cepa *snf1Δ* acidificó el medio con mayor rapidez que su contraparte *WT* en 6 de las 8 concentraciones que fueron evaluadas, incluida la condición equivalente a la normoglucemia (5.5 mM). Un resultado que concuerdan con el fenotipo presente en células cancerosas bajo el efecto Warburg.

Para el tercer rasgo referente al origen del ATP, una célula cancerosa presenta una elevada actividad glucolítica que se acompaña de una menor contribución de la respiración a la producción de energía (Leznev *et al*., 2013). En fibroblastos

transformados, la respiración basal fue menor y la respiración ligada a la síntesis de ATP descendió al 54 % de la observada en fibroblastos no transformados; esto se atribuyó a dos causas: la competencia entre la glucólisis y la respiración mitocondrial por el adenosín difosfato (ADP) y el fosfato inorgánico, y una menor expresión de la subunidad beta de la ATP sintasa (Leznev *et al*., 2013). En pocas palabras, una célula tumoral no apaga su mitocondria, solo deja de usarla como fuente principal de síntesis de ATP, pero conserva su capacidad para otras funciones.
La cepa *snf1Δ* reprodujo este patrón de respiración mitocondrial, presento una menor respiración basal en 5 de las 8 concentraciones de glucosa medidas (solo una con fenotipo opuesto), al igual que redujo la respiración ligada a ATP en 4 de las 8 concentraciones evaluadas (las otras 4 sin diferencia). Por lo tanto, el tercer rasgo presente en células cancerosas bajo el efecto Warburg también se encuentra presente en la cepa de *S. cerevisiae snf1Δ.*

6.3. Perfil extracelular de *snf1Δ* y lo que refleja el medio

En una célula con efecto Warburg, la glucosa no solo se fermenta, sino que también se desvía hacia la producción de aquellos precursores que se exigen en la proliferación (Vander Heiden *et al*., 2009). El perfil del medio extracelular de *snf1Δ* frente a la cepa *WT* permite examinar hacia dónde se dirige el carbono a partir de los valores obtenidos a 5.5 mM de glucosa. Tomando en cuenta que cada cambio se interpreta como el balance neto entre lo que la cepa liberó y lo que tomó del medio.

6.3.1. Productos de glucolisis y ciclo de Krebs

El ácido láctico aumentó en 2 de las 3 réplicas de *snf1Δ.* En las células con efecto Warburg, la glucosa se fermenta a ácido láctico aun en presencia de oxígeno, la reducción del ácido pirúvico a ácido láctico sostiene el flujo glucolítico, y ese ácido

láctico se secreta al medio (DeBerardinis *et al*., 2007). En *S. cerevisiae*, en cambio, los productos de fermentación son el etanol y el ácido acético, y la cepa *snf1Δ* produce ambos en mayor cantidad cuando la glucosa es abundante (Nicastro *et al*., 2015). La tendencia del aumento de ácido láctico en el modelo es, por tanto, coherente con un flujo glucolítico elevado, pero con el producto de fermentación incorrecto para la cepa. hay que tomar con extrema delicadeza este resultado y determinar si realmente el modelo tiene la capacidad de producir ácido láctico o si ocurrió una contaminación del medio o en su defecto un arrastre del metabolito en la cromatografía por análisis previos. El ácido succínico también aumentó en el medio extracelular de *snf1Δ*. En células cancerosas, la acumulación de ácido succínico inhibe a las prolil hidroxilasas, estabiliza a HIF-1α en normoxia y refuerza la transcripción de genes glucolíticos (Selak *et al*., 2005). Esto establece una relación directa del efecto Warburg en la levadura.

6.3.2. Aminoácidos y ácidos grasos

La L-serina fue el aminoácido que aumentó de forma más clara en el medio de *snf1Δ.* En células cancerosas, el 3-fosfoglicerato glucolítico se desvía hacia la síntesis de L-serina a través de la fosfoglicerato deshidrogenasa (Ngo *et al*., 2020). A su vez, la L-serina es precursora de la glicina que se encontró disminuida en el modelo. Las células cancerosas en proliferación consumen glicina e incorporan su carbono y nitrógeno en el anillo de purinas, y la velocidad de ese consumo se relaciona con la propia proliferación y que además distingue a una célula transformada de una en proliferación no transformada (Jain *et al*., 2012). La mayor captación de glicina por *snf1Δ* concuerda con ese mismo comportamiento.

El resto de los aminoácidos mostró cambios de menor magnitud. La disminución de la L-valina y el aumento de la L-leucina en 2 de 3 réplicas, así como el comportamiento dividido de la L-isoleucina son difíciles de comprender, los 3 aminoácidos son de cadena ramificada y se encuentran completamente divididos. Esto requiere más atención en un futuro y comprender si los aminoácidos de cadena

ramificada se están sintetizando o si se están ocupando como combustible del ciclo de Krebs.

Por otro lado, el ácido palmítico se vio aumentado en el modelo de levadura. La lipogénesis puede convertirse en una vía de disposición del exceso de electrones (M. Liu *et al*., 2020b). *SNF1* ejerce una inhibición sobre ACC en la levadura, y su pérdida provoca la acumulación de ácidos grasos (Shirra *et al*., 2001), y presenta niveles hasta 8 veces mayores de malonil-CoA citoplasmático que su contraparte silvestre (M. Zhang *et al*., 2013). El ácido palmítico en esta lectura del medio extracelular de *snf1Δ* sería el reflejo de una lipogénesis activa. Sin embargo, esta interpretación debe tomarse como una hipótesis, ya que no se ha demostrado la liberación de ácidos grasos al medio, y el aumento fue observado en una sola réplica.

El glicerol, el mio-inositol, la D-alofuranosa y el epóxido de conduritol B no forman parte de rutas que definen el efecto Warburg. Sus cambios se pueden atribuir al metabolismo propio de la levadura, aunque el glicerol podría vincularse al comportamiento de acumular ácidos grasos.

6.3.3. El destino del carbono distingue al efecto Warburg

En conjunto, el medio extracelular de *snf1Δ* describe una célula que, además de fermentar, desvía el carbono glucolítico hacia la síntesis de L-serina y de ácidos grasos, utiliza algunos aminoácidos para alimentar el ciclo de Krebs y lo utiliza para sintetizar otros y así mantener la proliferación. La siguiente sección contrasta este perfil directamente con el que la revisión sistemática describió en el suero de pacientes con cáncer de hígado.

6.4. Concordancias y discordancias entre el perfil de la levadura y el cáncer de hígado

Las secciones anteriores discutieron por separado el perfil sérico del cáncer de hígado y el perfil extracelular de *snf1Δ.* Esta sección los coloca directamente uno frente al otro para responder 3 preguntas: cuánto se parecen, en qué difieren y si las coincidencias corresponden a un comportamiento tipo Warburg. Cabe mencionar que esta comparación se limita a la dirección del cambio, ya que las magnitudes no se mostraron equiparables entre el suero de un paciente y el medio de cultivo de una levadura, además de que los datos son inesperadamente escasos e insuficientes para realizar análisis multivariado.

6.4.1. Grado de coincidencia y similitud Warburg

Los 7 metabolitos comparables son el ácido láctico, la L-serina, la glicina, el glicerol, el ácido palmítico, la L-leucina y el mio-inositol. Esta selección es reducida, pero no es aleatoria, se concentra en el producto final de la fermentación, los aminoácidos y los lípidos, es decir, en el bloque de metabolitos del modelo que corresponde al efecto Warburg. Los bloques que reflejan las funciones hepáticas comprometidas por el cáncer, como los ácidos biliares conjugados, los esteroides sulfatados o los aminoácidos aromáticos, no tienen equivalente en nuestro modelo unicelular y no se detectaron en *snf1Δ.* Esa ausencia no debilita la comparación, al contrario, indica que el modelo capta precisamente la parte del perfil sérico que puede ser atribuido a la célula cancerosa y no al órgano.

Cinco de los siete metabolitos tuvieron una dirección definida en la revisión sistemática, cuatro de ellos cambiaron en el mismo sentido en *snf1Δ*: aumento de ácido láctico y L-serina, y disminución de glicina y glicerol. Dos metabolitos más, el ácido succínico y la L-treonina, se reportaron aumentados en la revisión con 2 y 1 reportes respectivamente, pero sin valor numérico, quedando fuera de la

comparación directa, pero estando en el radar para futuros análisis, ya que en la levadura se encontraron igualmente aumentados en una y dos réplicas respectivamente.

Estas coincidencias reproducen los aspectos que definen el efecto Warburg. En ambos perfiles aumenta el ácido láctico, producto final de la fermentación. En ambos aumenta la L-serina, el aminoácido que se sintetiza directamente a partir de un intermediario de la glucólisis, y disminuye la glicina, el aminoácido que una célula en proliferación consume. El eje L-serina-glicina es el hallazgo más informativo de la comparación, debido a que son dos direcciones opuestas que coinciden a la vez en suero y medio extracelular. El ácido succínico (sin dato numérico en la revisión) amplía esta coincidencia hacia el ciclo de Krebs, su aumento en ambos perfiles es coherente con un ciclo que permanece activo y se reorienta a la biosíntesis. La L-treonina (sin dato numérico en la revisión), en cambio, coincide en dirección, pero no se ha identificado un vínculo directo con el efecto Warburg aún que nos permita darle el mismo peso en esta comparación.

6.4.2. Diferencias: ácido palmítico y los metabolitos no concluyentes

El ácido palmítico fue el único metabolito discordante: disminuyó en el suero de pacientes con cáncer de hígado y aumentó en el medio extracelular. Esta diferencia no contradice necesariamente el modelo, porque en ambos sistemas se podría estar observando la lipogénesis activa desde lugares distintos, manifestándose como una disminución en un compartimento y como un aumento en el otro. La L-leucina y el mio-inositol no permiten establecer coincidencia ni diferencia. En la revisión, sus reportes se dividieron por igual entre aumentos y disminuciones, y en la levadura sus cambios fueron variables entre réplicas. Ambos sistemas coinciden en no mostrar una tendencia definida para estos 2 metabolitos y, por lo tanto, no son concluyentes.

6.4.3. ¿Es un comportamiento Warburg?

La respuesta es afirmativa. El perfil de *snf1Δ* comparte con el suero de los pacientes de la revisión aquellos rasgos que se identifican como propios de una célula cancerosa: la tendencia al aumento del producto de fermentación, la acumulación de un intermediario del ciclo de Krebs, la síntesis de L-serina a partir del flujo glucolítico y el consumo de glicina. Para esto hay que sumarle los fenotipos de la sección 6.2: mayor velocidad de crecimiento, aumento el flujo glucolítico y una menor fracción de la respiración mitocondrial destinada a la síntesis de ATP. Ninguno de estos elementos basta por sí solo, pero su presencia simultánea en un organismo que solo difiere de la cepa silvestre por la pérdida del gen *SNF1* ayuda a demostrar una reorganización metabólica del tipo Warburg.

Esta comparación tiene, además, un valor que va más allá de una simple afirmación. Aquellos metabolitos que coinciden entre ambos perfiles son los que más podrían atribuirse a la reprogramación con mayor confianza, porque aparecen tanto en el suero de pacientes como en un sistema sin hígado, sin respuesta sistémica a alteraciones y sin enfermedades de base. El ácido láctico, la L-serina y la glicina constituyen, en este sentido, el núcleo compartido del perfil Warburg identificado en esta investigación (al que el ácido succínico se suma como evidencia complementaria). Con esto se cierra el recorrido planteado por el objetivo general: el modelo construido a partir de la literatura definió qué buscar, la cepa *snf1Δ* mostró los fenotipos y las tendencias metabólicas esperadas, y la comparación entre ambos señaló qué parte de ese perfil pertenece al efecto Warburg.

7. Conclusión

La cepa *S. cerevisiae snf1Δ* reproduce una parte del perfil de metabolitos de las células con fenotipo Warburg. Además de presentar mayor proliferación, mayor flujo

glucolítico, y menor respiración ligada a la síntesis de ATP que la cepa silvestre, comparte con el suero de pacientes con cáncer de hígado el aumento del ácido láctico y de la L-serina, así como una disminución de glicina, con el ácido succínico como evidencia complementaria. Estos metabolitos, que corresponden la reprogramación de una célula cancerosa y no a la función hepática o a una respuesta sistémica del paciente, constituyen el perfil de metabolitos del efecto Warburg identificado en esta investigación, y señalan a *snf1Δ* como un modelo útil para su estudio.

8. Bibliografía

Adams, C. D., Richmond, R., Ferreira, D. L. S., Spiller, W., Tan, V., Zheng, J., Würtz, P., Donovan, J., Hamdy, F., Neal, D., Lane, J. A., Smith, G. D., Relton, C., Eeles, R. A., Haiman, C. A., Kote-Jarai, Z. S., Schumacher, F. R., Al Olama, A. A., Benlloch, S., … Martin, R. M. (2019). Circulating Metabolic Biomarkers of Screen-Detected Prostate Cancer in the ProtecT Study. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, *28*(1), 208-216. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-18-0079

Albers, M. J., Bok, R., Chen, A. P., Cunningham, C. H., Zierhut, M. L., Zhang, V. Y., Kohler, S. J., Tropp, J., Hurd, R. E., Yen, Y.-F., Nelson, S. J., Vigneron, D. B., & Kurhanewicz, J. (2008). Hyperpolarized 13C Lactate, Pyruvate, and Alanine: Noninvasive Biomarkers for Prostate Cancer Detection and Grading. *Cancer Research*, *68*(20), 8607-8615. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0749

Bacci, M., Lorito, N., Smiriglia, A., & Morandi, A. (2021). Fat and Furious: Lipid Metabolism in Antitumoral Therapy Response and Resistance. *Trends in Cancer*, *7*(3), 198-213. https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.10.004

Bafiti, V., & Katsila, T. (2022). Pharmacometabolomics-Based Translational Biomarkers: How to Navigate the Data Ocean. *Omics: A Journal of Integrative Biology*, *26*(10), 542-551. https://doi.org/10.1089/omi.2022.0097

Bai, C., Wang, H., Dong, D., Li, T., Yu, Z., Guo, J., Zhou, W., Li, D., Yan, R., Wang, L., Wang, Z., Li, Y., & Ren, L. (2021). Urea as a By-Product of Ammonia Metabolism Can Be a Potential Serum Biomarker of Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *9*, 650748. https://doi.org/10.3389/fcell.2021.650748

Bartesaghi, S., Graziano, V., Galavotti, S., Henriquez, N. V., Betts, J., Saxena, J., Minieri, V., A, D., Karlsson, A., Martins, L. M., Capasso, M., Nicotera, P., Brandner, S., De Laurenzi, V., & Salomoni, P. (2015). Inhibition of oxidative metabolism leads to p53 genetic inactivation and transformation in neural stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(4), 1059-1064. https://doi.org/10.1073/pnas.1413165112

Beloribi-Djefaflia, S., Vasseur, S., & Guillaumond, F. (2016). Lipid metabolic reprogramming in cancer cells. *Oncogenesis*, *5*(1), e189-e189. https://doi.org/10.1038/oncsis.2015.49

Bergers, G., & Fendt, S.-M. (2021). The metabolism of cancer cells during metastasis. *Nature reviews. Cancer*, *21*(3), 162-180. https://doi.org/10.1038/s41568-020-00320-2

Boonekamp, F. J., Knibbe, E., Vieira-Lara, M. A., Wijsman, M., Luttik, M. A. H., Eunen, K. van, Ridder, M. den, Bron, R., Suarez, A. M. A., Rijn, P. van, Wolters, J. C., Pabst, M., Daran, J.-M., Bakker, B. M., & Daran-Lapujade, P. (2022). Full humanization of the glycolytic pathway in Saccharomyces cerevisiae. *Cell Reports*, *39*(13). https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111010

Bose, S., Zhang, C., & Le, A. (2021). Glucose Metabolism in Cancer: The Warburg Effect and Beyond. En A. Le (Ed.), *The Heterogeneity of Cancer Metabolism* (pp. 3-15). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-65768-0_1

Brindle, K. (2008). New approaches for imaging tumour responses to treatment. *Nature Reviews Cancer*, *8*(2), 94-107. https://doi.org/10.1038/nrc2289

Brown, G. C., & Borutaite, V. (2004). Inhibition of mitochondrial respiratory complex I by nitric oxide, peroxynitrite and S-nitrosothiols. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, EBEC 2004*, *1658*(1), 44-49. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2004.03.016

Brunner, J. S., & Finley, L. W. S. (2023). Metabolic determinants of tumor initiation. *Nature reviews. Endocrinology*, *19*(3), 134-150. https://doi.org/10.1038/s41574-022-00773-5

Cai, Y., Rattray, N. J. W., Zhang, Q., Mironova, V., Santos-Neto, A., Muca, E., Vollmar, A. K. R., Hsu, K.-S., Rattray, Z., Cross, J. R., Zhang, Y., Paty, P. B., Khan, S. A., & Johnson, C. H. (2020). Tumor Tissue-Specific Biomarkers of Colorectal Cancer by Anatomic Location and Stage. *Metabolites*, *10*(6), 257. https://doi.org/10.3390/metabo10060257

Cantuaria, G., Fagotti, A., Ferrandina, G., Magalhaes, A., Nadji, M., Angioli, R., Penalver, M., Mancuso, S., & Scambia, G. (2001). GLUT-1 expression in ovarian carcinoma: Association with survival and response to chemotherapy. *Cancer*, *92*(5), 1144-1150. https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010901)92:5%3C1144::aid-cncr1432%3E3.0.co;2-t

Carlson, M., Osmond, B. C., & Botstein, D. (1981). Mutants of yeast defective in sucrose utilization. *Genetics*, *98*(1), 25-40. https://doi.org/10.1093/genetics/98.1.25

Carrillo-Garmendia, A., Martinez-Ortiz, C., Martinez-Garfias, J. G., Suarez-Sandoval, S. E., González-Hernández, J. C., Nava, G. M., Dufoo-Hurtado, M. D., & Madrigal-Perez, L. A. (2022). Snf1p/Hxk2p/Mig1p pathway regulates hexose transporters transcript levels, affecting the exponential growth and mitochondrial respiration of Saccharomyces cerevisiae. *Fungal Genetics and Biology: FG & B*, *161*, 103701. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2022.103701

Caulin, A. F., & Maley, C. C. (2011). Peto's Paradox: Evolution's Prescription for Cancer Prevention. *Trends in ecology & evolution*, *26*(4), 175-182. https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.01.002

Chen, S., Kong, H., Lu, X., Li, Y., Yin, P., Zeng, Z., & Xu, G. (2013). Pseudotargeted metabolomics method and its application in serum biomarker discovery for hepatocellular carcinoma based on ultra high-performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, *85*(17), 8326-8333. https://doi.org/10.1021/ac4016787

Chen, T., Xie, G., Wang, X., Fan, J., Qiu, Y., Zheng, X., Qi, X., Cao, Y., Su, M., Wang, X., Xu, L. X., Yen, Y., Liu, P., & Jia, W. (2011). Serum and Urine Metabolite

Profiling Reveals Potential Biomarkers of Human Hepatocellular Carcinoma. *Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, *10*(7), M110.004945. https://doi.org/10.1074/mcp.M110.004945

Chen, Y., Li, K., Gong, D., Zhang, J., Li, Q., Zhao, G., & Lin, P. (2020). ACLY: A biomarker of recurrence in breast cancer. *Pathology, Research and Practice*, *216*(9), 153076. https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.153076

Chen, Y., Zhang, J., Guo, L., Liu, L., Wen, J., Xu, L., Yan, M., Li, Z., Zhang, X., Nan, P., Jiang, J., Ji, J., Zhang, J., Cai, W., Zhuang, H., Wang, Y., Zhu, Z., & Yu, Y. (2016). A characteristic biosignature for discrimination of gastric cancer from healthy population by high throughput GC-MS analysis. *Oncotarget*, *7*(52), 87496-87510. https://doi.org/10.18632/oncotarget.11754

Coccetti, P., Nicastro, R., & Tripodi, F. (2018). Conventional and emerging roles of the energy sensor Snf1/AMPK in Saccharomyces cerevisiae. *Microbial Cell (Graz, Austria)*, *5*(11), 482-494. https://doi.org/10.15698/mic2018.11.655

Correa-Romero, B. F., Olivares-Marin, I. K., Regalado-Gonzalez, C., Nava, G. M., & Madrigal-Perez, L. A. (2023). The role of the SNF1 signaling pathway in the growth of Saccharomyces cerevisiae in different carbon and nitrogen sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, *54*(2), 1083. https://doi.org/10.1007/s42770-023-00954-y

Day, S. E., Kettunen, M. I., Gallagher, F. A., Hu, D.-E., Lerche, M., Wolber, J., Golman, K., Ardenkjaer-Larsen, J. H., & Brindle, K. M. (2007). Detecting tumor response to treatment using hyperpolarized 13C magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Nature Medicine*, *13*(11), 1382-1387. https://doi.org/10.1038/nm1650

De Saedeleer, C. J., Porporato, P. E., Copetti, T., Pérez-Escuredo, J., Payen, V. L., Brisson, L., Feron, O., & Sonveaux, P. (2014). Glucose deprivation increases monocarboxylate transporter 1 (MCT1) expression and MCT1-dependent tumor cell migration. *Oncogene*, *33*(31), 4060-4068. https://doi.org/10.1038/onc.2013.454

DeBerardinis, R. J., Mancuso, A., Daikhin, E., Nissim, I., Yudkoff, M., Wehrli, S., & Thompson, C. B. (2007). Beyond aerobic glycolysis: Transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(49), 19345-19350. https://doi.org/10.1073/pnas.0709747104

Dossus, L., Kouloura, E., Biessy, C., Viallon, V., Siskos, A. P., Dimou, N., Rinaldi, S., Merritt, M. A., Allen, N., Fortner, R., Kaaks, R., Weiderpass, E., Gram, I. T., Rothwell, J. A., Lécuyer, L., Severi, G., Schulze, M. B., Nøst, T. H., Crous-Bou, M., … Keun, H. C. (2021). Prospective analysis of circulating metabolites and endometrial cancer risk. *Gynecologic Oncology*, *162*(2), 475-481. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2021.06.001

Ediriweera, M. K., & Jayasena, S. (2023). The Role of Reprogrammed Glucose Metabolism in Cancer. *Metabolites*, *13*(3), Article 3. https://doi.org/10.3390/metabo13030345

Fan, Q., Yang, L., Zhang, X., Ma, Y., Li, Y., Dong, L., Zong, Z., Hua, X., Su, D., Li, H., & Liu, J. (2018). Autophagy promotes metastasis and glycolysis by upregulating MCT1 expression and Wnt/β-catenin signaling pathway activation in hepatocellular carcinoma cells. *Journal of Experimental &*

Clinical Cancer Research: CR, *37*(1), 9. https://doi.org/10.1186/s13046-018-0673-y

Fang, E., Wang, X., Yang, F., Hu, A., Wang, J., Li, D., Song, H., Hong, M., Guo, Y., Liu, Y., Li, H., Huang, K., Zheng, L., & Tong, Q. (2019). Therapeutic Targeting of MZF1-AS1/PARP1/E2F1 Axis Inhibits Proline Synthesis and Neuroblastoma Progression. *Advanced Science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, *6*(19), 1900581. https://doi.org/10.1002/advs.201900581

Fantin, V. R., St-Pierre, J., & Leder, P. (2006). Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell*, *9*(6), 425-434. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.04.023

Faubert, B., Boily, G., Izreig, S., Griss, T., Samborska, B., Dong, Z., Dupuy, F., Chambers, C., Fuerth, B. J., Viollet, B., Mamer, O. A., Avizonis, D., DeBerardinis, R. J., Siegel, P. M., & Jones, R. G. (2013). AMPK is a negative regulator of the Warburg effect and suppresses tumor growth in vivo. *Cell Metabolism*, *17*(1), 113-124. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.001

Feng, Y., Yang, J., Wang, Y., Wang, X., Ma, Q., Li, Y., Zhang, X., Wang, S., Zhang, Q., Mi, F., Wang, Y., Zhong, D., & Yin, J. (2024). Cafestol inhibits colon cancer cell proliferation and tumor growth in xenograft mice by activating LKB1/AMPK/ULK1-dependent autophagy. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *129*, 109623. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2024.109623

Ferda, J., Ferdová, E., Vítovec, M., Glanc, D., & Mírka, H. (2022). The imaging of the hypoxic microenvironment in tumorous tissue using PET/CT and

PET/MRI. *European Journal of Radiology*, *154*. https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2022.110458

Gambhir, S. S. (2002). Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. *Nature Reviews Cancer*, *2*(9), 683-693. https://doi.org/10.1038/nrc882

Gansler, T. S., Hardman, W., Hunt, D. A., Schaffel, S., & Hennigar, R. A. (1997). Increased expression of fatty acid synthase (OA-519) in ovarian neoplasms predicts shorter survival. *Human Pathology*, *28*(6), 686-692. https://doi.org/10.1016/S0046-8177(97)90177-5

Gao, R., Cheng, J., Fan, C., Shi, X., Cao, Y., Sun, B., Ding, H., Hu, C., Dong, F., & Yan, X. (2015). Serum Metabolomics to Identify the Liver Disease-Specific Biomarkers for the Progression of Hepatitis to Hepatocellular Carcinoma. *Scientific Reports*, *5*, 18175. https://doi.org/10.1038/srep18175

Giaever, G., & Nislow, C. (2014). The yeast deletion collection: A decade of functional genomics. *Genetics*, *197*(2), 451-465. https://doi.org/10.1534/genetics.114.161620

Golman, K., Zandt, R. in't, Lerche, M., Pehrson, R., & Ardenkjaer-Larsen, J. H. (2006). Metabolic Imaging by Hyperpolarized 13C Magnetic Resonance Imaging for In vivo Tumor Diagnosis. *Cancer Research*, *66*(22), 10855-10860. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2564

Graham, T. A., & Sottoriva, A. (2017). Measuring cancer evolution from the genome. *The Journal of Pathology*, *241*(2), 183-191. https://doi.org/10.1002/path.4821

Greenman, C., Stephens, P., Smith, R., Dalgliesh, G. L., Hunter, C., Bignell, G., Davies, H., Teague, J., Butler, A., Stevens, C., Edkins, S., O'Meara, S.,

Vastrik, I., Schmidt, E. E., Avis, T., Barthorpe, S., Bhamra, G., Buck, G., Choudhury, B., … Stratton, M. R. (2007). Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. *Nature*, *446*(7132), 153-158. https://doi.org/10.1038/nature05610

Gupta, A., Gupta, S., & Mahdi, A. A. (2015). 1H NMR-derived serum metabolomics of leukoplakia and squamous cell carcinoma. *Clinica Chimica Acta*, *441*, 47-55. https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.12.003

Gupta, S. C., Singh, R., Pochampally, R., Watabe, K., & Mo, Y.-Y. (2014). Acidosis promotes invasiveness of breast cancer cells through ROS-AKT-NF-κB pathway. *Oncotarget*, *5*(23), 12070-12082. https://doi.org/10.18632/oncotarget.2514

Gupta, S., Roy, A., & Dwarakanath, B. S. (2017). Metabolic Cooperation and Competition in the Tumor Microenvironment: Implications for Therapy. *Frontiers in Oncology*, *7*, 68. https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00068

Haber, R. S., Rathan, A., Weiser, K. R., Pritsker, A., Itzkowitz, S. H., Bodian, C., Slater, G., Weiss, A., & Burstein, D. E. (1998). GLUT1 glucose transporter expression in colorectal carcinoma: A marker for poor prognosis. *Cancer*, *83*(1), 34-40. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19980701)83:1%3C34::aid-cncr5%3E3.0.co;2-e

Hammond, E. M., Dorie, M. J., & Giaccia, A. J. (2003). ATR/ATM targets are phosphorylated by ATR in response to hypoxia and ATM in response to reoxygenation. *The Journal of Biological Chemistry*, *278*(14), 12207-12213. https://doi.org/10.1074/jbc.M212360200

Han, J., Zhang, L., Guo, H., Wysham, W. Z., Roque, D. R., Willson, A. K., Sheng, X., Zhou, C., & Bae-Jump, V. L. (2015). Glucose promotes cell proliferation, glucose uptake and invasion in endometrial cancer cells via AMPK/mTOR/S6 and MAPK signaling. *Gynecologic Oncology*, *138*(3), 668-675. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.06.036

Han, L., Ma, Q., Li, J., Liu, H., Li, W., Ma, G., Xu, Q., Zhou, S., & Wu, E. (2011). High Glucose Promotes Pancreatic Cancer Cell Proliferation via the Induction of EGF Expression and Transactivation of EGFR. *PLoS ONE*, *6*(11), e27074. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027074

Hay, N. (2016). Reprogramming glucose metabolism in cancer: Can it be exploited for cancer therapy? *Nature Reviews Cancer*, *16*(10), 635-649. https://doi.org/10.1038/nrc.2016.77

Hedbacker, K., & Carlson, M. (2008). SNF1/AMPK pathways in yeast. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, *13*, 2408-2420. https://doi.org/10.2741/2854

Hirayama, A., Kami, K., Sugimoto, M., Sugawara, M., Toki, N., Onozuka, H., Kinoshita, T., Saito, N., Ochiai, A., Tomita, M., Esumi, H., & Soga, T. (2009). Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Research*, *69*(11), 4918-4925. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4806

Hou, T., Wang, Y., Dan, W., Wei, Y., Liu, B., Que, T., Lei, Y., Yu, B., Zeng, J., Fan, Y., & Li, L. (2023). β-Ionone represses renal cell carcinoma progression through

activating LKB1/AMPK-triggered autophagy. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, *37*(6), e23331. https://doi.org/10.1002/jbt.23331

Huang, F.-Q., Li, J., Jiang, L., Wang, F.-X., Alolga, R. N., Wang, M.-J., Min, W.-J., Ma, G., Zhao, Y.-J., Wang, S.-L., Yu, Y., Chen, X., Zhu, D., Zhu, J., Wang, G., Xia, T., Sang, J.-F., Lai, M.-D., Li, P., … Qi, L.-W. (2019). Serum-plasma matched metabolomics for comprehensive characterization of benign thyroid nodule and papillary thyroid carcinoma. *International Journal of Cancer*, *144*(4), 868-876. https://doi.org/10.1002/ijc.31925

Jain, M., Nilsson, R., Sharma, S., Madhusudhan, N., Kitami, T., Souza, A. L., Kafri, R., Kirschner, M. W., Clish, C. B., & Mootha, V. K. (2012). Metabolite Profiling Identifies a Key Role for Glycine in Rapid Cancer Cell Proliferation. *Science (New York, N.Y.)*, *336*(6084), 1040-1044. https://doi.org/10.1126/science.1218595

Jee, S. H., Kim, M., Kim, M., Yoo, H. J., Kim, H., Jung, K. J., Hong, S., & Lee, J. H. (2018). Metabolomics Profiles of Hepatocellular Carcinoma in a Korean Prospective Cohort: The Korean Cancer Prevention Study-II. *Cancer Prevention Research*, *11*(5), 303-312. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-17-0249

Jung, J., Jung, Y., Bang, E. J., Cho, S., Jang, Y.-J., Kwak, J.-M., Ryu, D. H., Park, S., & Hwang, G.-S. (2014). Noninvasive diagnosis and evaluation of curative surgery for gastric cancer by using NMR-based metabolomic profiling. *Annals of Surgical Oncology*, *21 Suppl 4*, S736-742. https://doi.org/10.1245/s10434-014-3886-0

Kawamura, T., Kusakabe, T., Sugino, T., Watanabe, K., Fukuda, T., Nashimoto, A., Honma, K., & Suzuki, T. (2001). Expression of glucose transporter-1 in human gastric carcinoma: Association with tumor aggressiveness, metastasis, and patient survival. *Cancer*, *92*(3), 634-641. https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010801)92:3%3C634::aid-cncr1364%3E3.0.co;2-x

Kettunen, M. I., Hu, D., Witney, T. H., McLaughlin, R., Gallagher, F. A., Bohndiek, S. E., Day, S. E., & Brindle, K. M. (2010). Magnetization transfer measurements of exchange between hyperpolarized [1-13C]pyruvate and [1-13C]lactate in a murine lymphoma. *Magnetic Resonance in Medicine*, *63*(4), 872-880. https://doi.org/10.1002/mrm.22276

Khalil, A., ElSheashaey, A., Abdelsameea, E., Obada, M., Bayomy F.F., M., & El-Said, H. (2022). Value of Bile Acids in Diagnosing Hepatitis C Virus-Induced Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma. *British Journal of Biomedical Science*, *79*, 10191. https://doi.org/10.3389/bjbs.2021.10191

Khurana, V., & Lindquist, S. (2010). Modelling neurodegeneration in Saccharomyces cerevisiae: Why cook with baker's yeast? *Nature Reviews. Neuroscience*, *11*(6), 436-449. https://doi.org/10.1038/nrn2809

Kim, D. J., Cho, E. J., Yu, K.-S., Jang, I.-J., Yoon, J.-H., Park, T., & Cho, J.-Y. (2019). Comprehensive Metabolomic Search for Biomarkers to Differentiate Early Stage Hepatocellular Carcinoma from Cirrhosis. *Cancers*, *11*(10), 1497. https://doi.org/10.3390/cancers11101497

Kim, H. M., Jung, W. H., & Koo, J. S. (2014). Site-specific metabolic phenotypes in metastatic breast cancer. *Journal of Translational Medicine*, *12*, 354. https://doi.org/10.1186/s12967-014-0354-3

Klaunig, J. E., Kamendulis, L. M., & Hocevar, B. A. (2010). Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. *Toxicologic Pathology*, *38*(1), 96-109. https://doi.org/10.1177/0192623309356453

Koczula, K. M., Ludwig, C., Hayden, R., Cronin, L., Pratt, G., Parry, H., Tennant, D., Drayson, M., Bunce, C. M., Khanim, F. L., & Günther, U. L. (2016). Metabolic plasticity in CLL: Adaptation to the hypoxic niche. *Leukemia*, *30*(1), 65-73. https://doi.org/10.1038/leu.2015.187

Kuhajda, F. P. (2006). Fatty Acid Synthase and Cancer: New Application of an Old Pathway. *Cancer Research*, *66*(12), 5977-5980. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4673

Kuhajda, F. P., Jenner, K., Wood, F. D., Hennigar, R. A., Jacobs, L. B., Dick, J. D., & Pasternack, G. R. (1994). Fatty acid synthesis: A potential selective target for antineoplastic therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *91*(14), 6379-6383. https://doi.org/10.1073/pnas.91.14.6379

Lewinska, M., Santos-Laso, A., Arretxe, E., Alonso, C., Zhuravleva, E., Jimenez-Agüero, R., Eizaguirre, E., Pareja, M. J., Romero-Gómez, M., Jimenez, M. A., Suppli, M. P., Knop, F. K., Oversoe, S. K., Villadsen, G. E., Decaens, T., Carrilho, F. J., de Oliveira, C. P., Sangro, B., Macias, R. I. R., … Andersen, J. B. (2021). The altered serum lipidome and its diagnostic potential for Non-Alcoholic Fatty Liver (NAFL)-associated hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine*, *73*, 103661. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103661

Leznev, E. I., Popova, I. I., Lavrovskaja, V. P., & Evtodienko, Y. V. (2013). Comparison of oxygen consumption rates in minimally transformed

BALB/3T3 and virus-transformed 3T3B-SV40 cells. *Biochemistry (Moscow)*, *78*(8), 904-908. https://doi.org/10.1134/S0006297913080063

Lin, X., Xiao, Z., Chen, T., Liang, S. H., & Guo, H. (2020). Glucose Metabolism on Tumor Plasticity, Diagnosis, and Treatment. *Frontiers in Oncology*, *10*, 317. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00317

Liu, M., Wang, Y., Yang, C., Ruan, Y., Bai, C., Chu, Q., Cui, Y., Chen, C., Ying, G., & Li, B. (2020a). Inhibiting both proline biosynthesis and lipogenesis synergistically suppresses tumor growth. *The Journal of Experimental Medicine*, *217*(3), e20191226. https://doi.org/10.1084/jem.20191226

Liu, M., Wang, Y., Yang, C., Ruan, Y., Bai, C., Chu, Q., Cui, Y., Chen, C., Ying, G., & Li, B. (2020b). Inhibiting both proline biosynthesis and lipogenesis synergistically suppresses tumor growth. *The Journal of Experimental Medicine*, *217*(3), e20191226. https://doi.org/10.1084/jem.20191226

Liu, Y., Borchert, G. L., Donald, S. P., Diwan, B. A., Anver, M., & Phang, J. M. (2009). Proline Oxidase Functions as a Mitochondrial Tumor Suppressor in Human Cancers. *Cancer Research*, *69*(16), 6414-6422. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1223

Locasale, J. W., & Cantley, L. C. (2011). Metabolic Flux and the Regulation of Mammalian Cell Growth. *Cell Metabolism*, *14*(4), 443-451. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.07.014

Long, Q., Yi, Y., Qiu, J., Xu, C., & Huang, P. (2014). Fatty acid synthase (FASN) levels in serum of colorectal cancer patients: Correlation with clinical outcomes. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for*

Oncodevelopmental Biology and Medicine, *35*(4), 3855-3859. https://doi.org/10.1007/s13277-013-1510-8

Lu, J., M, T., & Q, C. (2015). The Warburg effect in tumor progression: Mitochondrial oxidative metabolism as an anti-metastasis mechanism. *Cancer Letters*, *356*(2 Pt A). https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.04.001

Luo, P., Yin, P., Hua, R., Tan, Y., Li, Z., Qiu, G., Yin, Z., Xie, X., Wang, X., Chen, W., Zhou, L., Wang, X., Li, Y., Chen, H., Gao, L., Lu, X., Wu, T., Wang, H., Niu, J., & Xu, G. (2018). A Large-scale, multicenter serum metabolite biomarker identification study for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, *67*(2), 662-675. https://doi.org/10.1002/hep.29561

Martinez-Ortiz, C., Carrillo-Garmendia, A., Correa-Romero, B. F., Canizal-García, M., González-Hernández, J. C., Regalado-Gonzalez, C., Olivares-Marin, I. K., & Madrigal-Perez, L. A. (2019). SNF1 controls the glycolytic flux and mitochondrial respiration. *Yeast (Chichester, England)*, *36*(8), 487-494. https://doi.org/10.1002/yea.3399

Masci, D., Puxeddu, M., Silvestri, R., & Regina, G. L. (2024). Metabolic Rewiring in Cancer: Small Molecule Inhibitors in Colorectal Cancer Therapy. *Molecules*, *29*(9), 2110. https://doi.org/10.3390/molecules29092110

Masui, K., Tanaka, K., Ikegami, S., Villa, G. R., Yang, H., Yong, W. H., Cloughesy, T. F., Yamagata, K., Arai, N., Cavenee, W. K., & Mischel, P. S. (2015). Glucose-dependent acetylation of Rictor promotes targeted cancer therapy resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(30), 9406-9411. https://doi.org/10.1073/pnas.1511759112

Matsuzu, K., Segade, F., Wong, M., Clark, O. H., Perrier, N. D., & Bowden, D. W. (2005). Glucose Transporters in the Thyroid. *Thyroid*®, *15*(6), 545-550. https://doi.org/10.1089/thy.2005.15.545

Menendez, J. A., & Lupu, R. (2007). Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. *Nature Reviews Cancer*, *7*(10), 763-777. https://doi.org/10.1038/nrc2222

Migita, T., Narita, T., Nomura, K., Miyagi, E., Inazuka, F., Matsuura, M., Ushijima, M., Mashima, T., Seimiya, H., Satoh, Y., Okumura, S., Nakagawa, K., & Ishikawa, Y. (2008). ATP citrate lyase: Activation and therapeutic implications in non-small cell lung cancer. *Cancer Research*, *68*(20), 8547-8554. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1235

Miyagi, Y., Higashiyama, M., Gochi, A., Akaike, M., Ishikawa, T., Miura, T., Saruki, N., Bando, E., Kimura, H., Imamura, F., Moriyama, M., Ikeda, I., Chiba, A., Oshita, F., Imaizumi, A., Yamamoto, H., Miyano, H., Horimoto, K., Tochikubo, O., … Okamoto, N. (2011). Plasma Free Amino Acid Profiling of Five Types of Cancer Patients and Its Application for Early Detection. *PLOS ONE*, *6*(9), e24143. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024143

Moreno-Sánchez, R., Rodríguez-Enríquez, S., Marín-Hernández, A., & Saavedra, E. (2007). Energy metabolism in tumor cells. *The FEBS Journal*, *274*(6), 1393-1418. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05686.x

Murphy, M. P. (2008). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, *417*(1), 1-13. https://doi.org/10.1042/BJ20081386

Nava, G. M., Carrillo-Garmendia, A., González-Hernández, J. C., & Madrigal-Perez, L. A. (2024). Mitochondrial Respiration Quantification in Yeast Whole Cells.

Journal of Visualized Experiments: JoVE, (213). https://doi.org/10.3791/67186

Nava, G. M., & Madrigal Perez, L. A. (2022). Metabolic profile of the Warburg effect as a tool for molecular prognosis and diagnosis of cancer. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, *22*(4), Article 4. https://doi.org/10.1080/14737159.2022.2065196

New Clarity on the Warburg Effect—NCI. (2021, enero 13). [cgvBlogPost]. (nciglobal,ncienterprise). https://www.cancer.gov/research/key-initiatives/ras/news-events/dialogue-blog/2021/vander-heiden-warburg-effect

Newman, D. L., & Gregory, S. L. (2019). Co-Operation between Aneuploidy and Metabolic Changes in Driving Tumorigenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(18), 4611. https://doi.org/10.3390/ijms20184611

Ngo, B., Kim, E., Osorio-Vasquez, V., Doll, S., Bustraan, S., Liang, R. J., Luengo, A., Davidson, S. M., Ali, A., Ferraro, G. B., Fischer, G. M., Eskandari, R., Kang, D. S., Ni, J., Plasger, A., Rajasekhar, V. K., Kastenhuber, E. R., Bacha, S., Sriram, R. K., … Pacold, M. E. (2020). Limited Environmental Serine and Glycine Confer Brain Metastasis Sensitivity to PHGDH Inhibition. *Cancer Discovery*, *10*(9), 1352-1373. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-1228

Nicastro, R., Tripodi, F., Guzzi, C., Reghellin, V., Khoomrung, S., Capusoni, C., Compagno, C., Airoldi, C., Nielsen, J., Alberghina, L., & Coccetti, P. (2015). Enhanced amino acid utilization sustains growth of cells lacking Snf1/AMPK. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1853*(7), 1615-1625. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.03.014

Nishiumi, S., Kobayashi, T., Ikeda, A., Yoshie, T., Kibi, M., Izumi, Y., Okuno, T., Hayashi, N., Kawano, S., Takenawa, T., Azuma, T., & Yoshida, M. (2012). A Novel Serum Metabolomics-Based Diagnostic Approach for Colorectal Cancer. *PLoS ONE*, *7*(7), e40459. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040459

Pandit, N., Neupane, D., & Deo, K. B. (2024). Peutz-Jeghers syndrome: A case series. *International Journal of Surgery Case Reports*, *122*, 110117. https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2024.110117

Parsons, D. W., Jones, S., Zhang, X., Lin, J. C.-H., Leary, R. J., Angenendt, P., Mankoo, P., Carter, H., Siu, I.-M., Gallia, G. L., Olivi, A., McLendon, R., Rasheed, B. A., Keir, S., Nikolskaya, T., Nikolsky, Y., Busam, D. A., Tekleab, H., Diaz, L. A., … Kinzler, K. W. (2008). An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science (New York, N.Y.)*, *321*(5897), 1807-1812. https://doi.org/10.1126/science.1164382

Pike Winer, L. S., & Wu, M. (2014). Rapid Analysis of Glycolytic and Oxidative Substrate Flux of Cancer Cells in a Microplate. *PLoS ONE*, *9*(10), e109916. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109916

Pollari, S., Käkönen, S.-M., Edgren, H., Wolf, M., Kohonen, P., Sara, H., Guise, T., Nees, M., & Kallioniemi, O. (2011). Enhanced serine production by bone metastatic breast cancer cells stimulates osteoclastogenesis. *Breast Cancer Research and Treatment*, *125*(2), 421-430. https://doi.org/10.1007/s10549-010-0848-5

Postic, C., & Girard, J. (2008). Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: Lessons from genetically engineered mice.

The Journal of Clinical Investigation, *118*(3), 829-838. https://doi.org/10.1172/JCI34275

Rashid, A., Pizer, E. S., Moga, M., Milgraum, L. Z., Zahurak, M., Pasternack, G. R., Kuhajda, F. P., & Hamilton, S. R. (1997). Elevated expression of fatty acid synthase and fatty acid synthetic activity in colorectal neoplasia. *The American Journal of Pathology*, *150*(1), 201-208. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1858511/

Roy, P. S., & Saikia, B. J. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian Journal of Cancer*, *53*(3), 441-442. https://doi.org/10.4103/0019-509X.200658

Rudlowski, C., Becker, A. J., Schroder, W., Rath, W., Büttner, R., & Moser, M. (2003). GLUT1 messenger RNA and protein induction relates to the malignant transformation of cervical cancer. *American Journal of Clinical Pathology*, *120*(5), 691-698. https://doi.org/10.1309/4KYN-QM58-62JW-2GD7

Saha, S. K., Islam, S. M. R., Abdullah-AL-Wadud, M., Islam, S., Ali, F., & Park, K. S. (2019). Multiomics Analysis Reveals that GLS and GLS2 Differentially Modulate the Clinical Outcomes of Cancer. *Journal of Clinical Medicine*, *8*(3), Article 3. https://doi.org/10.3390/jcm8030355

Scalise, M., Pochini, L., Console, L., Losso, M. A., & Indiveri, C. (2018). The Human SLC1A5 (ASCT2) Amino Acid Transporter: From Function to Structure and Role in Cell Biology. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *6*. https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00096

Schönberger, J., Rüschoff, J., Grimm, D., Marienhagen, J., Rümmele, P., Meyringer, R., Kossmehl, P., Hofstaedter, F., & Eilles, C. (2002). Glucose Transporter 1 Gene Expression is Related to Thyroid Neoplasms with an Unfavorable

Prognosis: An Immunohistochemical Study. *Thyroid*®, *12*(9), 747-754. https://doi.org/10.1089/105072502760339307

Sebastiani, V., Visca, P., Botti, C., Santeusanio, G., Galati, G. M., Piccini, V., Capezzone de Joannon, B., Di Tondo, U., & Alo, P. L. (2004). Fatty acid synthase is a marker of increased risk of recurrence in endometrial carcinoma. *Gynecologic Oncology*, *92*(1), 101-105. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2003.10.027

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2003). *NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, PROTECCIÓN AMBIENTAL - SALUD AMBIENTAL - RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICOINFECCIOSOS - CLASIFICACIÓN Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO*.

Selak, M. A., Armour, S. M., MacKenzie, E. D., Boulahbel, H., Watson, D. G., Mansfield, K. D., Pan, Y., Simon, M. C., Thompson, C. B., & Gottlieb, E. (2005). Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-alpha prolyl hydroxylase. *Cancer Cell*, *7*(1), 77-85. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.11.022

Seyfried, T. (2012). *Cancer as a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer*. John Wiley & Sons.

Seyfried, T. N. (2015). Cancer as a mitochondrial metabolic disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *3*, 43. https://doi.org/10.3389/fcell.2015.00043

Seyfried, T. N., & Chinopoulos, C. (2021). Can the Mitochondrial Metabolic Theory Explain Better the Origin and Management of Cancer than Can the Somatic

Mutation Theory? *Metabolites*, *11*(9), 572. https://doi.org/10.3390/metabo11090572

Seyfried, T. N., Lee, D. C., Duraj, T., Ta, N. L., Mukherjee, P., Kiebish, M., Arismendi-Morillo, G., & Chinopoulos, C. (2025). The Warburg hypothesis and the emergence of the mitochondrial metabolic theory of cancer. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *57*(2-3), 57-83. https://doi.org/10.1007/s10863-025-10059-w

Shirra, M. K., Patton-Vogt, J., Ulrich, A., Liuta-Tehlivets, O., Kohlwein, S. D., Henry, S. A., & Arndt, K. M. (2001). Inhibition of Acetyl Coenzyme A Carboxylase Activity Restores Expression of the INO1 Gene in a snf1 Mutant Strain of Saccharomyces cerevisiae. *Molecular and Cellular Biology*, *21*(17), 5710-5722. https://doi.org/10.1128/MCB.21.17.5710-5722.2001

Siguencia, F., Matsuda, M., Pandyarajan, V., Tanaka, S., Smith, S. M., Bresee, C., Seki, E., Rosser, C. J., & Furuya, H. (2025). Diagnostic performance of Liver FibraChek Dx©, a blood-based test for the non-invasive detection of liver cirrhosis and cancer. *World Journal of Hepatology*, *17*(6), 106481. https://doi.org/10.4254/wjh.v17.i6.106481

Soga, T., Sugimoto, M., Honma, M., Mori, M., Igarashi, K., Kashikura, K., Ikeda, S., Hirayama, A., Yamamoto, T., Yoshida, H., Otsuka, M., Tsuji, S., Yatomi, Y., Sakuragawa, T., Watanabe, H., Nihei, K., Saito, T., Kawata, S., Suzuki, H., … Suematsu, M. (2011). Serum metabolomics reveals γ-glutamyl dipeptides as biomarkers for discrimination among different forms of liver disease. *Journal of Hepatology*, *55*(4), 896-905. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.01.031

Song, H., Peng, J.-S., Dong-Sheng, Y., Yang, Z.-L., Liu, H.-L., Zeng, Y.-K., Shi, X.-P., & Lu, B.-Y. (2012). Serum metabolic profiling of human gastric cancer based on gas chromatography/mass spectrometry. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, *45*(1), 78-85. https://doi.org/10.1590/s0100-879x2011007500158

Song, Z., Feng, C., Lu, Y., Lin, Y., & Dong, C. (2018). PHGDH is an independent prognosis marker and contributes cell proliferation, migration and invasion in human pancreatic cancer. *Gene*, *642*, 43-50. https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.11.014

Sun, H., Chen, L., Cao, S., Liang, Y., & Xu, Y. (2019). Warburg Effects in Cancer and Normal Proliferating Cells: Two Tales of the Same Name. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, *17*(3), 273-286. https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.12.006

Sun, Y., Zhang, X., Hang, D., Lau, H. C.-H., Du, J., Liu, C., Xie, M., Pan, Y., Wang, L., Liang, C., Zhou, X., Chen, D., Rong, J., Zhao, Z., Cheung, A. H.-K., Wu, Y., Gou, H., Wong, C. C., Du, L., … Yu, J. (2024). Integrative plasma and fecal metabolomics identify functional metabolites in adenoma-colorectal cancer progression and as early diagnostic biomarkers. *Cancer Cell*, *42*(8), 1386-1400.e8. https://doi.org/10.1016/j.ccell.2024.07.005

Timm, K. N., Hartl, J., Keller, M. A., Hu, D.-E., Kettunen, M. I., Rodrigues, T. B., Ralser, M., & Brindle, K. M. (2015). Hyperpolarized [U-2H, U-13C]Glucose reports on glycolytic and pentose phosphate pathway activity in EL4 tumors

and glycolytic activity in yeast cells. *Magnetic Resonance in Medicine*, *74*(6), 1543-1547. https://doi.org/10.1002/mrm.25561

Transición epitelio mesénquima: De lo molecular a lo fisiológico. (s. f.). Recuperado 12 de octubre de 2024, de https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/UMED/58-4%20(2017-IV)/231053787009/

Trelford, C. B., & Shepherd, T. G. (2025). Insights into targeting LKB1 in tumorigenesis. *Genes & Diseases*, *12*(2), 101402. https://doi.org/10.1016/j.gendis.2024.101402

Valle, A., Oliver, J., & Roca, P. (2010). Role of uncoupling proteins in cancer. *Cancers*, *2*(2), 567-591. https://doi.org/10.3390/cancers2020567

Vander Heiden, M. G., Cantley, L. C., & Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science (New York, N.Y.)*, *324*(5930), Article 5930. https://doi.org/10.1126/science.1160809

Varki, N. M., & Varki, A. (2015). On the apparent rarity of epithelial cancers in captive chimpanzees. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *370*(1673), 20140225. https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0225

Vaupel, P., & Multhoff, G. (2021). Revisiting the Warburg effect: Historical dogma versus current understanding. *The Journal of Physiology*, *599*(6), Article 6. https://doi.org/10.1113/JP278810

Viale, A., Corti, D., & Draetta, G. F. (2015). Tumors and Mitochondrial Respiration: A Neglected Connection. *Cancer Research*, *75*(18), 3687-3691. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0491

Visca, P., Sebastiani, V., Botti, C., Diodoro, M. G., Lasagni, R. P., Romagnoli, F., Brenna, A., Joannon, B. C. D., Donnorso, R. P., Lombardi, G., & Alo, P. L. (2004). Fatty Acid Synthase (FAS) is a Marker of Increased Risk of Recurrence in Lung Carcinoma. *Anticancer Research*, *24*(6), 4169-4174. https://ar.iiarjournals.org/content/24/6/4169

Walenta, S., Wetterling, M., Lehrke, M., Schwickert, G., Sundfør, K., Rofstad, E. K., & Mueller-Klieser, W. (2000). High lactate levels predict likelihood of metastases, tumor recurrence, and restricted patient survival in human cervical cancers. *Cancer Research*, *60*(4), 916-921.

Wallace, D. C. (2012). Mitochondria and cancer. *Nature Reviews Cancer*, *12*(10), 685-698. https://doi.org/10.1038/nrc3365

Wang, W., Liu, X., Wu, J., Kang, X., Xie, Q., Sheng, J., Xu, W., Liu, D., & Zheng, W. (2019). Plasma metabolite profiling reveals potential biomarkers of giant cell tumor of bone by using NMR-based metabolic profiles. *Medicine*, *98*(40), e17445. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000017445

Wang, Y., Kuhajda, F. P., Sokoll, L. J., & Chan, D. W. (2001). Two-site ELISA for the quantitative determination of fatty acid synthase. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, *304*(1-2), 107-115. https://doi.org/10.1016/s0009-8981(00)00404-6

Weinhouse, S. (1976). The Warburg hypothesis fifty years later. *Zeitschrift Fur Krebsforschung Und Klinische Onkologie. Cancer Research and Clinical Oncology*, *87*(2), 115-126. https://doi.org/10.1007/BF00284370

Wen, J., Min, X., Shen, M., Hua, Q., Han, Y., Zhao, L., Liu, L., Huang, G., Liu, J., & Zhao, X. (2019). ACLY facilitates colon cancer cell metastasis by CTNNB1.

Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR, *38*(1), 401. https://doi.org/10.1186/s13046-019-1391-9

Yamasaki, F., Kurisu, K., Kajiwara, Y., Watanabe, Y., Takayasu, T., Akiyama, Y., Saito, T., Hanaya, R., & Sugiyama, K. (2011). Magnetic resonance spectroscopic detection of lactate is predictive of a poor prognosis in patients with diffuse intrinsic pontine glioma. *Neuro-Oncology*, *13*(7), 791-801. https://doi.org/10.1093/neuonc/nor038

Yang, L., Moss, T., Mangala, L. S., Marini, J., Zhao, H., Wahlig, S., Armaiz-Pena, G., Jiang, D., Achreja, A., Win, J., Roopaimoole, R., Rodriguez-Aguayo, C., Mercado-Uribe, I., Lopez-Berestein, G., Liu, J., Tsukamoto, T., Sood, A. K., Ram, P. T., & Nagrath, D. (2014). Metabolic shifts toward glutamine regulate tumor growth, invasion and bioenergetics in ovarian cancer. *Molecular Systems Biology*, *10*(5), 728. https://doi.org/10.1002/msb.20134892

Yang, Q.-J., Zhao, J.-R., Hao, J., Li, B., Huo, Y., Han, Y.-L., Wan, L.-L., Li, J., Huang, J., Lu, J., Yang, G.-J., & Guo, C. (2018). Serum and urine metabolomics study reveals a distinct diagnostic model for cancer cachexia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *9*(1), 71-85. https://doi.org/10.1002/jcsm.12246

Yang, T., Hui, R., Nouws, J., Sauler, M., Zeng, T., & Wu, Q. (2022). Untargeted metabolomics analysis of esophageal squamous cell cancer progression. *Journal of Translational Medicine*, *20*(1), 127. https://doi.org/10.1186/s12967-022-03311-z

Zhang, M., Galdieri, L., & Vancura, A. (2013). The Yeast AMPK Homolog SNF1 Regulates Acetyl Coenzyme A Homeostasis and Histone Acetylation.

Molecular and Cellular Biology, *33*(23), 4701-4717. https://doi.org/10.1128/MCB.00198-13

Zhang, Q., Yin, X., Pan, Z., Cao, Y., Han, S., Gao, G., Gao, Z., Pan, Z., & Feng, W. (2019). Identification of potential diagnostic and prognostic biomarkers for prostate cancer. *Oncology Letters*, *18*(4), 4237-4245. https://doi.org/10.3892/ol.2019.10765

Zhao, R., Ren, S., Li, C., Guo, K., Lu, Z., Tian, L., He, J., Zhang, K., Cao, Y., Liu, S., Li, D., & Wang, Z. (2023). Biomarkers for pancreatic cancer based on tissue and serum metabolomics analysis in a multicenter study. *Cancer Medicine*, *12*(4), 5158-5171. https://doi.org/10.1002/cam4.5296

Zheng, L., Yang, W., Wu, F., Wang, C., Yu, L., Tang, L., Qiu, B., Li, Y., Guo, L., Wu, M., Feng, G., Zou, D., & Wang, H. (2013). Prognostic significance of AMPK activation and therapeutic effects of metformin in hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *19*(19), 5372-5380. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0203

Zhou, L., Ding, L., Yin, P., Lu, X., Wang, X., Niu, J., Gao, P., & Xu, G. (2012). Serum metabolic profiling study of hepatocellular carcinoma infected with hepatitis B or hepatitis C virus by using liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Proteome Research*, *11*(11), 5433-5442. https://doi.org/10.1021/pr300683a

Zhu, Y., Dean, A. E., Horikoshi, N., Heer, C., Spitz, D. R., & Gius, D. (2018). Emerging evidence for targeting mitochondrial metabolic dysfunction in

cancer therapy. *The Journal of Clinical Investigation*, *128*(9), 3682-3691. https://doi.org/10.1172/JCI120844

Zhu, Z., Achreja, A., Meurs, N., Animasahun, O., Owen, S., Mittal, A., Parikh, P., Lo, T.-W., Franco-Barraza, J., Shi, J., Gunchick, V., Sherman, M. H., Cukierman, E., Pickering, A. M., Maitra, A., Sahai, V., Morgan, M. A., Nagrath, S., Lawrence, T. S., & Nagrath, D. (2020). Tumour-reprogrammed stromal BCAT1 fuels branched-chain ketoacid dependency in stromal-rich PDAC tumours. *Nature Metabolism*, *2*(8), 775-792. https://doi.org/10.1038/s42255-020-0226-5

9.- Anexos

9.1. Disposición de residuos

Una vez terminadas las mediciones de los experimentos realizados, todos los materiales de laboratorio se lavaron correctamente con agua y jabón, mientras que aquellos que tuvieron contacto con *S. cerevisiae snf1*Δ y *WT* se esterilizaron antes de ser desechados o lavados, según fueran materiales desechables o no desechables respectivamente, de acuerdo con las especificaciones establecidas en la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2003).

La esterilización se realizó con ayuda de una autoclave, los materiales desechables (placas Petri de plástico, puntas de micropipeta, placas de 96 pocillos, etc.), los materiales reutilizables (tubos cónicos de 15 y 50 mL, vasos de precipitados, matraces Erlenmeyer, microtubos de 1.5 mL, cajas Petri de vidrio, etc.) que tuvieron contacto con las levaduras, al igual que todos los medios de cultivo utilizados se esterilizaron a una presión mínima de 15 psi por un tiempo mínimo de 15 min. Posteriormente, los medios estériles se vertieron en una tarja y los materiales se lavaron, al terminar su lavado aquellos materiales que no eran desechables se recogieron y almacenaron en óptimas condiciones, mientras que los materiales que eran desechables se confinaron en bolsas de plástico para ser desechados.

Además, se limpió constantemente el área de trabajo con etanol al 70 % al inicio y al final de cada experimento, para evitar la contaminación de los espacios de trabajo y, por consiguiente, evitar la contaminación entre los experimentos y de las personas u objetos que tuvieran contacto con estas áreas de trabajo.

9.2. Análisis Turnitin

tesis MQCD Alejandro Domínguez García.docx

Universidad Autónoma de Querétaro

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::7696:636440184

Fecha de entrega
8 oct 2026, 8:40 p.m. GMT-6

Fecha de descarga
8 oct 2026, 9:00 p.m. GMT-6

Nombre del archivo
tesis MQCD Alejandro Domínguez García.docx

Tamaño del archivo
8.3 MB

143 páginas

35.971 palabras

199.243 caracteres

19% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía

Exclusiones

- N.º de fuentes excluidas

Fuentes principales

8% Fuentes de Internet
3% Publicaciones
15% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

Caracteres reemplazados
218 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.