

Análisis metabólico en tiempo real para investigación del cáncer

Tecnología Agilent Seahorse XF



La reprogramación metabólica es uno de los rasgos del cáncer y un impulsor fundamental del resto de ellos

Aprovechar las vulnerabilidades metabólicas para definir dianas terapéuticas

El cáncer es un conjunto diverso de enfermedades vinculadas a cambios genéticos que afectan al funcionamiento de las células normales; la reprogramación metabólica está convirtiéndose en un objetivo esencial de la intervención terapéutica. Las células cancerosas dependen, en gran medida, de las vías metabólicas para generar la energía necesaria para numerosos procesos oncogénicos (como proliferación rápida, supervivencia, invasión y metástasis), y reprograman su metabolismo celular para favorecer estos procesos.

En la actualidad, los investigadores utilizan herramientas de análisis metabólico junto con otros ensayos celulares para profundizar en el conocimiento de la biología del cáncer. La investigación de la naturaleza dinámica del metabolismo celular y de la forma en la que las células cancerosas reprograman su metabolismo para adaptarse y sobrevivir empleando medidas funcionales en tiempo real puede servir para descubrir vulnerabilidades metabólicas. Estas vulnerabilidades metabólicas pueden aprovecharse para establecer dianas terapéuticas.

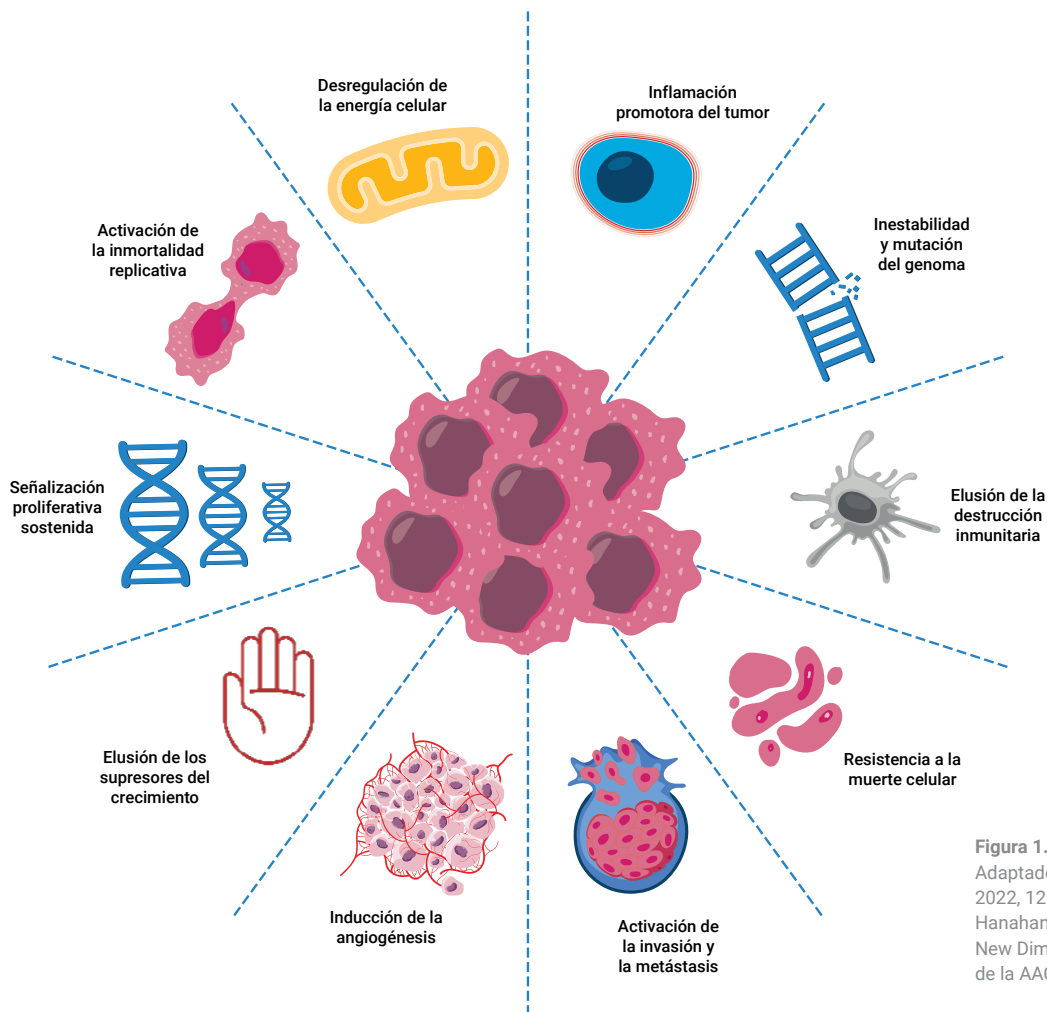


Figura 1. Los rasgos del cáncer. Adaptado de Cancer Discovery, 2022, 12(1), 31-46, Douglas Hanahan, Hallmarks of Cancer: New Dimensions, con permiso de la AACR.

Soluciones Seahorse XF para investigación del cáncer

Obtener medidas funcionales en tiempo real

La plataforma Agilent Seahorse XF proporciona medidas funcionales de dos vías metabólicas principales (glucólisis y fosforilación oxidativa) a partir de células vivas en tiempo real. Esta tecnología permite llevar a cabo una evaluación fenotípica de la respuesta de las células cancerosas a diferentes sustratos o inhibidores metabólicos.

Última generación
en herramientas de análisis de datos

Cálculo en tiempo real
de resultados

Kits, medios y reactivos
validados

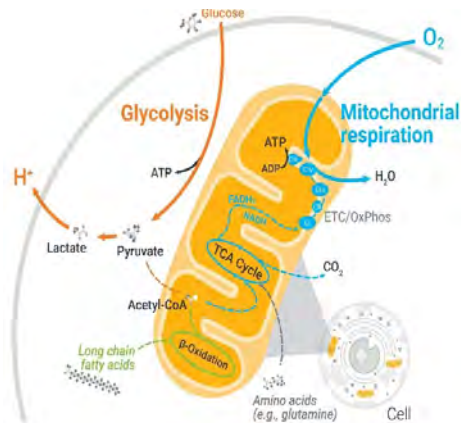
Cartucho de sensores de pH y O₂
sin marcadores

Puertos de inyección más relevantes
para modulación en tiempo real

Análisis de células vivas
con opciones de placas 2D y 3D

Descubra por qué los científicos dedicados a la investigación del cáncer están usando la tecnología de análisis celular Seahorse XF para estudiar:

- Fenotipado metabólico para modelos de enfermedad
- Dependencias, plasticidad y vulnerabilidades del sustrato del cáncer en el microentorno tumoral (TME)
- Señalización o compuestos intermediarios de las vías, identificación/validación de dianas, mecanismo de acción y bloqueo de puntos de control
- Inmunoncología y aptitud de las células inmunitarias frente al agotamiento

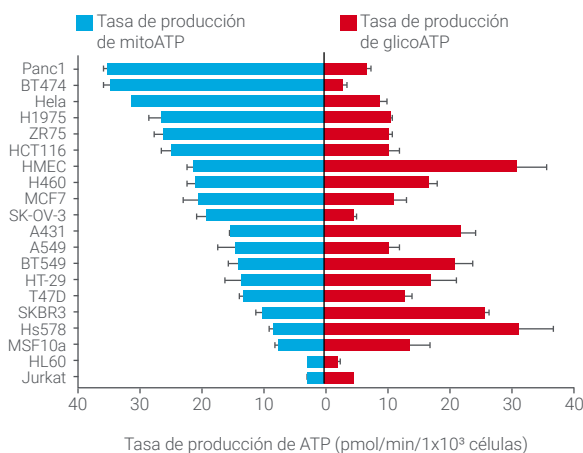


Las dependencias y las estrategias de adaptación de las células cancerosas van más allá de la glucólisis

Definir la variabilidad de los fenotipos metabólicos que indiquen vulnerabilidades de las células cancerosas

El cáncer es una enfermedad metabólica, a menudo caracterizada por un "efecto Warburg" con un aumento de la glucólisis. Sin embargo, los fenotipos metabólicos son enormemente variables y pueden servir como factores de predicción críticos de la proliferación, las vulnerabilidades y la resistencia a los tratamientos de las células cancerosas. El análisis celular con tecnología Seahorse XF permite obtener una medida directa del metabolismo funcional de las células vivas, que sirve para detectar vulnerabilidades que puedan afectar a la progresión y la proliferación de las células cancerosas.

Los fenotipos metabólicos y las vulnerabilidades de las células cancerosas son muy diversos



Las células cancerosas han desarrollado diferentes estrategias para la producción de energía celular, con importantes implicaciones para la estrategia terapéutica. La medición de las tasas de producción de ATP en un panel de 20 estirpes celulares cancerosas con el ensayo de tasa de ATP en tiempo real de Agilent Seahorse XF revela una amplia gama de fenotipos energéticos, desde predominantemente oxidativos (Figura 2, arriba) a predominantemente glucolíticos (Figura 2, abajo).

Figura 2: De Romero et al. Bioenergetic profiling of cancer cell lines: quantifying the impact of glycolysis on cell proliferation, Póster de Agilent Technologies, AACR, 2018.

Las células de cáncer de mama invasivo con receptores de estrógenos positivos se caracterizan por un fenotipo metabólico más oxidativo

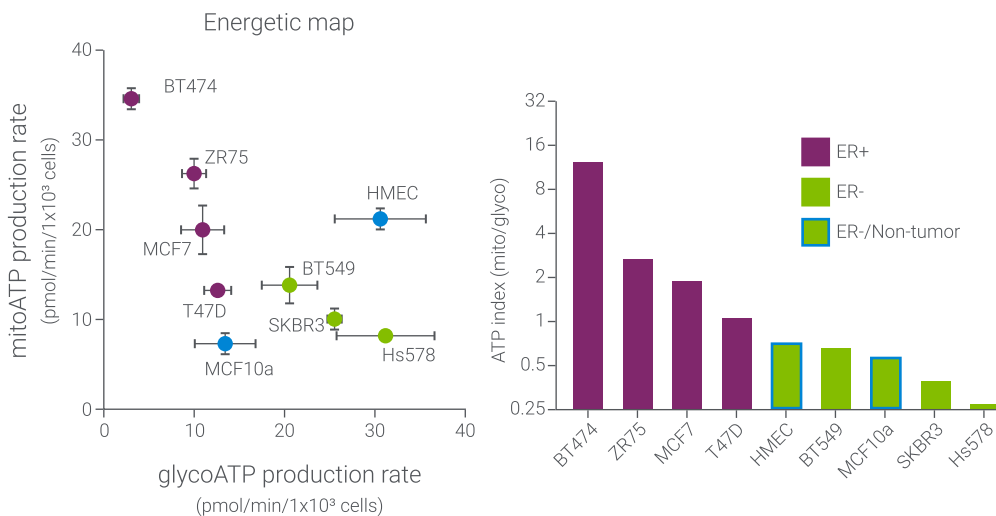


Figura 3: De Romero, N. et al. Bioenergetic profiling of cancer cell lines: quantifying the impact of glycolysis on cell proliferation, Póster de Agilent Technologies, AACR, 2018.

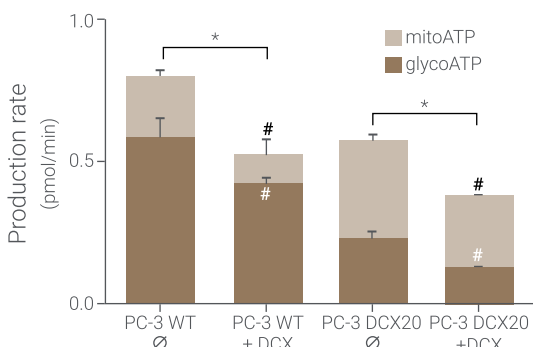
El mapa energético de la Figura 3 muestra la distribución de la tasa de producción de mitoATP frente a la tasa de producción de glicoATP en siete estirpes celulares de cáncer y dos estirpes celulares mamarias normales. El análisis del índice metabólico (tasa de producción de mitoATP/tasa de producción de glicoATP) muestra que las líneas celulares de cáncer de mama con receptores de estrógenos positivos (ER+) tienen un índice metabólico más elevado.

Medición de los cambios dinámicos en el metabolismo de las células cancerosas

Los cambios rápidos en el metabolismo son una estrategia esencial de quimiorresistencia

La proliferación de las células cancerosas es un proceso rápido y dinámico que exige una importante cantidad de energía bioquímica. Por este motivo, las células cancerosas manifiestan alteraciones metabólicas que pueden estar basadas en una de las dos vías metabólicas principales o en ambas: la glucólisis o la fosforilación oxidativa. La capacidad de cambiar de una vía a otra es una estrategia clave que favorece la adaptación de las células cancerosas. La tecnología Seahorse XF permite obtener medidas simultáneas de las dos vías metabólicas principales en células vivas y en tiempo real.

Las células cancerosas aprovechan con rapidez el metabolismo para adaptarse y sobrevivir gracias a su plasticidad metabólica



Las células de cáncer de próstata (PC-3) utilizan predominantemente glucólisis para la generación de ATP. Sin embargo, Catapano et al, demostraron que el linaje resistente a fármacos, PC-3_DCX20, establecido a partir de un tratamiento a largo plazo con docetaxel (DCX), muestra una mayor dependencia de la fosforilación oxidativa para la generación de ATP (Figura 4), lo que demuestra plasticidad metabólica.

Figura 4. Adaptado de Catapano, J., et al. (2022) Acquired drug resistance interferes with the susceptibility of prostate cancer cells to metabolic stress. *Cell Mol Biol Lett*, 27(1), 100, bajo licencia creative commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

La tecnología Seahorse XF revela posibles dianas terapéuticas para cánceres resistentes a la quimioterapia

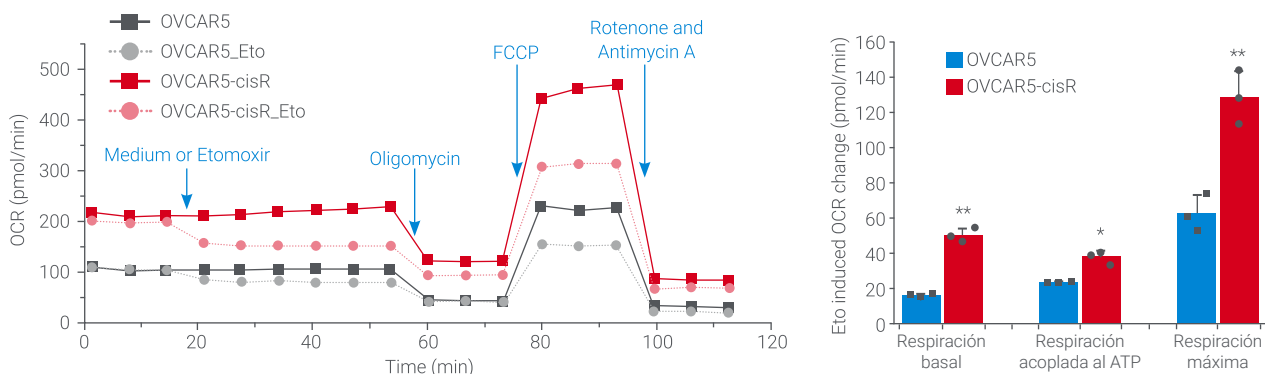


Figura 5. Adaptado de Tan, Y., et al. (2022) Metabolic reprogramming from glycolysis to fatty acid uptake and beta-oxidation in platinum-resistant cancer cells. *Nat Commun*, 13 (4554), bajo licencia creative commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Tan et al. (Figura 5) identificaron un cambio metabólico estable hacia un metabolismo energético dependiente de la oxidación de ácidos grasos (FAO) en células de cáncer de ovario resistentes al cisplatino. Se utilizaron ensayos Seahorse XF para demostrar que la FAO aumenta significativamente en las células de cáncer de ovario resistentes al cisplatino en comparación con sus homólogas parentales. Su estudio apunta a la vía FAO como posible estrategia terapéutica para los cánceres resistentes al cisplatino.

Aprovechamiento de las dependencias de sustrato de las células cancerosas con terapia combinada

Las células cancerosas pueden alterar el metabolismo de los lípidos o los aminoácidos, o bien desplazar el equilibrio entre los procesos anabólicos y catabólicos para adaptarse a las condiciones nutricionales del microentorno tumoral (TME). Estos procesos pueden analizarse directamente mediante medidas metabólicas.

Descubra cómo pueden ayudarle la tecnología de análisis celular y las soluciones de fenotipado metabólico de Agilent a obtener información sobre:

- las dependencias celulares, incluidos los combustibles y el microentorno;
- las vulnerabilidades metabólicas, para facilitar la identificación de dianas quimiomodulables;
- el desarrollo de fármacos antineoplásicos y la mejora de la eficacia de estos.

Las vulnerabilidades metabólicas pueden servir para hallar dianas terapéuticas en casos de quimiorresistencia

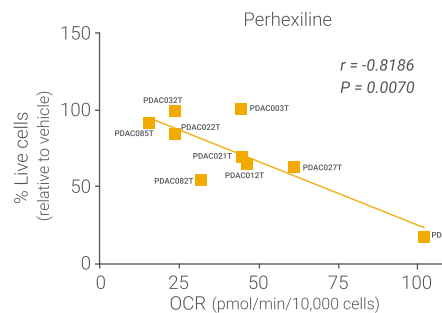
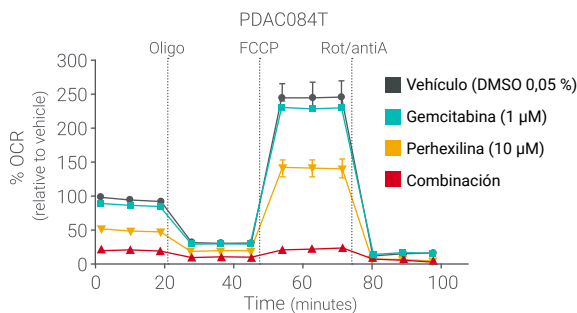


Figura 6. Adaptado de Reyes-Castellanos, G. et al. (2023) Combining the anti-anginal drug perhexiline with chemotherapy induces complete pancreatic cancer regression in vivo. *iScience*, 26, 106899.

Reyes-Castellanos et al. (Figura 6) utilizaron ensayos Seahorse XF para demostrar que la respiración mitocondrial en células del adenocarcinoma ductal pancreático (ACDP) depende principalmente de la FAO, lo que revela una posible vulnerabilidad metabólica del cáncer de páncreas. Demostraron que la tasa basal de consumo de oxígeno (OCR) servía como biomarcador de la respuesta de las células del ACDP a la perhexilina, un inhibidor de la FAO. La combinación del tratamiento de perhexilina con la gemcitabina de quimioterapia mejorada provocaba una crisis energética en las células del ACDP e inducía la regresión completa del cáncer de páncreas en un xenoinjerto de ACDP.

La tecnología Agilent Seahorse XF permite diferenciar los mecanismos de dos inhibidores de la captación de lactato y fármacos antitumorales en células enteras y mitocondrias aisladas

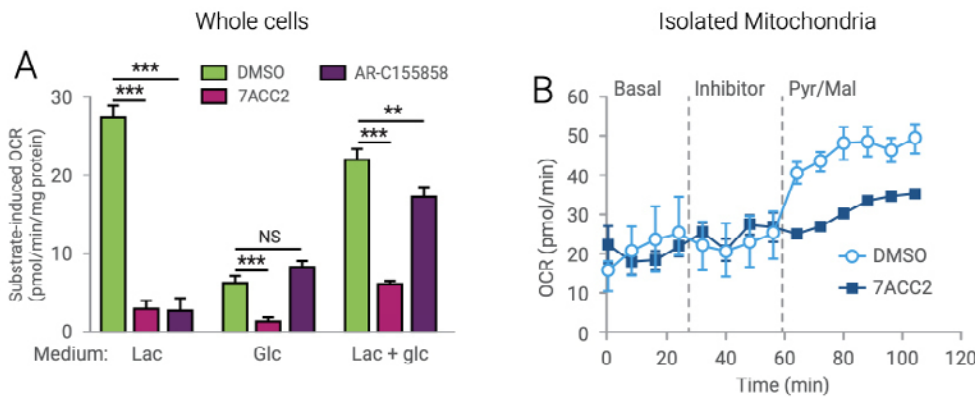


Figura 7A, 7B: Adaptado de Corbet, C., et al. (2018) Interruption of lactate uptake by inhibiting mitochondrial pyruvate transport unravels direct antitumor and radiosensitizing effects. *Nat Commun*, 9 (1): 1208, bajo licencia creative commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

En primer lugar, el analizador Seahorse XF permitió determinar que, a diferencia del inhibidor de lactato AR-C155858, el compuesto 7ACC2 desempeña la misión de bloquear el uso del lactato y, a la vez, evitar el metabolismo oxidativo de la glucosa (Figura 7A, células cervicouterinas enteras y cancerosas). Utilizando mitocondrias aisladas, el analizador Seahorse XF mostró que el compuesto 7ACC2 actúa para inhibir la captación de lactato mediante la inhibición del transportador mitocondrial de piruvato, lo que constituye un mecanismo novedoso (Figura 7B, mitocondria aislada).

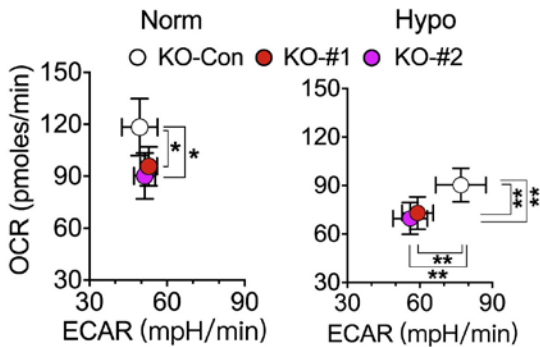
Descubra cómo los investigadores modelan el microentorno tumoral

El microentorno tumoral (TME) es un entorno hipóxico y ácido único que puede favorecer la progresión del cáncer. Los investigadores tienen la gran oportunidad de producir tratamientos eficaces pues tienen en cuenta la mayor cantidad posible de elementos del TME.

La tecnología Seahorse XF puede utilizarse para modelar el TME:

- Los analizadores Agilent Seahorse XFe24 y XF Pro son compatibles con el uso de estudios de hipoxia.
- El analizador Seahorse XF Pro ofrece la opción de usar una microplaca para esferoides 3D.

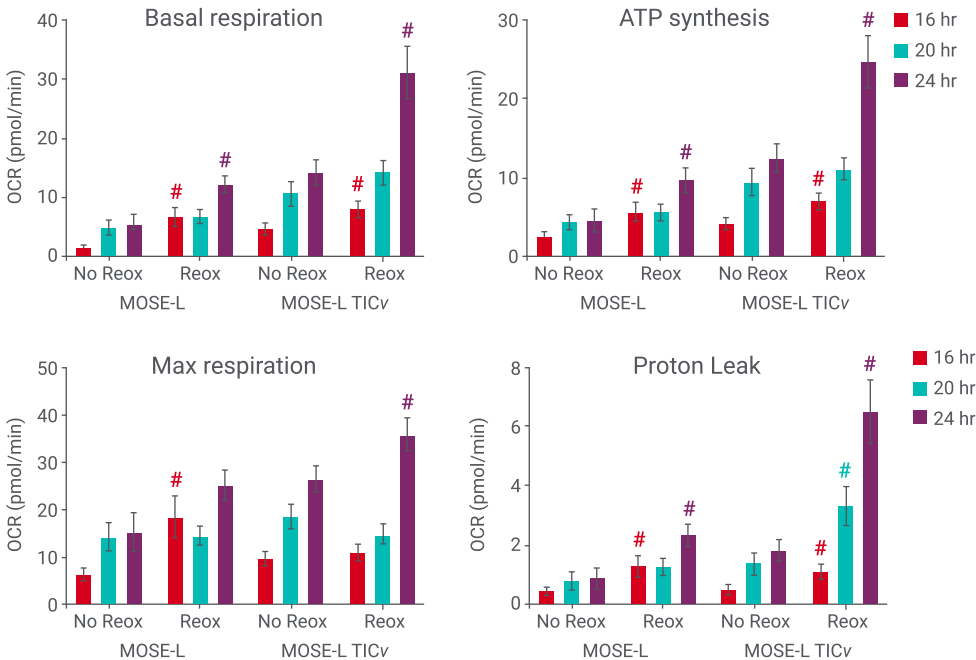
Descubrir cómo las células cancerosas adaptan su metabolismo a la hipoxia



Se utilizó tecnología Seahorse XF en una publicación de Yang et al. (Figura 8), para generar conocimientos sobre el papel del UQCC3 mitocondrial en la adaptación de las células del carcinoma hepatocelular (CHC) a la hipoxia. Demostraron que el UQCC3 forma un circuito de retroalimentación positiva con las especies reactivas del oxígeno en las células hipóxicas del CHC, que mantiene la estructura y la función mitocondriales, y estabiliza la expresión de HIF-1α potenciando la glucólisis.

Figura 8. De Yang, Y., et al. (2020) Mitochondrial UQCC3 Modulates Hypoxia Adaptation by Orchestrating OXPHOS and Glycolysis in Hepatocellular Carcinoma. Cell Reports, 33 (5), 108340.

Analizar las adaptaciones metabólicas de los esferoides tumorales a los cambios en las condiciones del cultivo

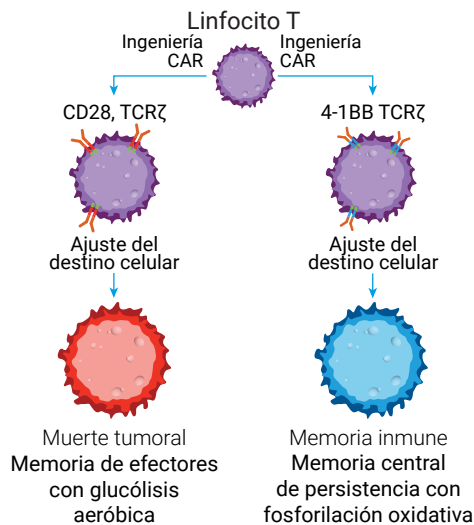


Grieco et al. (Figura 9) utilizaron ensayos Seahorse XF durante sus estudios sobre la plasticidad mitocondrial en esferoides de cáncer de ovario tras la adhesión. Demostraron que la adhesión invertía la fragmentación mitocondrial y aumentaba significativamente la OCR tanto en los esferoides MOSE-L de crecimiento lento como en los esferoides MOSE-LTICv más agresivos, especialmente tras la reoxigenación.

Figura 9. De Grieco, J.P., et al. (2023) Mitochondrial plasticity supports proliferative outgrowth and invasion of ovarian cancer spheroids during adhesion. Front. Oncol., 12:1043670, bajo licencia creative commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Impulsar nuevas oportunidades terapéuticas en inmuno-oncología con metabolismo

Descubrir estrategias para influir en las vías y controlar la respuesta de las células inmunitarias para impulsar el desarrollo de terapias celulares



El objetivo de las terapias basadas en células inmunitarias es mejorar el rendimiento de las células inmunitarias nativas ampliándolas o modificándolas para alterar las vías de señalización pertinentes de forma que cambie la función celular. La tecnología Seahorse XF permite obtener medidas cruciales de células vivas en tiempo real que sirven para conocer el desenlace funcional de las estrategias de modulación. Descubra cómo se puede “funcionalizar” la modulación de la respuesta de las células inmunitarias a través de la señalización, el bloqueo de puntos de control o la intervención en las vías por medio de cambios en la programación metabólica.

El diseño del constructo CAR puede mejorar la aptitud de las células inmunitarias mediante la modulación del metabolismo

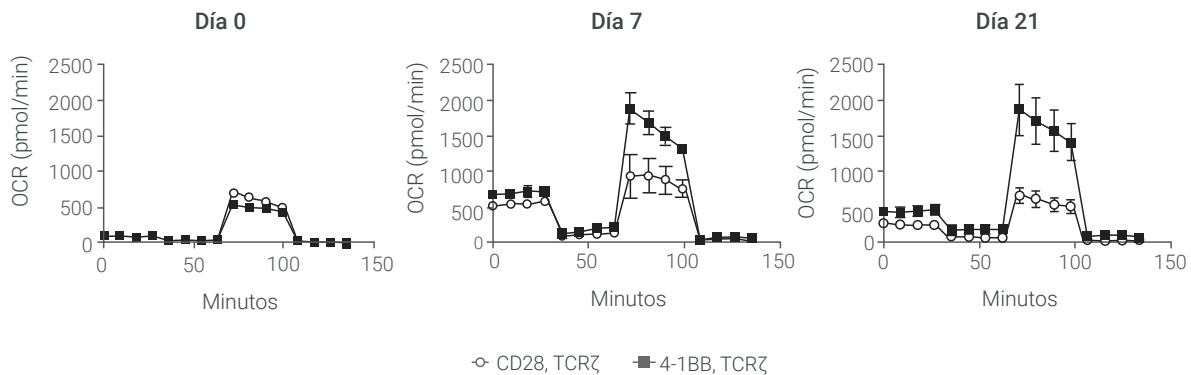


Figura 10. Adaptado de Kawalekar, O., et al. (2016) Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells. *Immunity*, 44(2), 380–90.

Kawalekar et al. utilizaron los ensayos Seahorse XF para demostrar que la elección del dominio de señalización de CAR determina el fenotipo bioenergético de las células CAR T CD8⁺ después de la estimulación con antígenos. Durante un periodo de 21 días, las células CAR-T que contenían el dominio co-estimulante de señalización 4-1BB evolucionaron hasta mostrar una SRC mayor, lo que culminó en una mejor persistencia in vitro y una mayor diferenciación de la memoria central con relación a las células CAR-T que contenían el dominio co-estimulante de señalización CD28.

Controlar los cambios metabólicos en las células tumorales para caracterizar mejor el microentorno tumoral y aprovechar las terapias de puntos de control

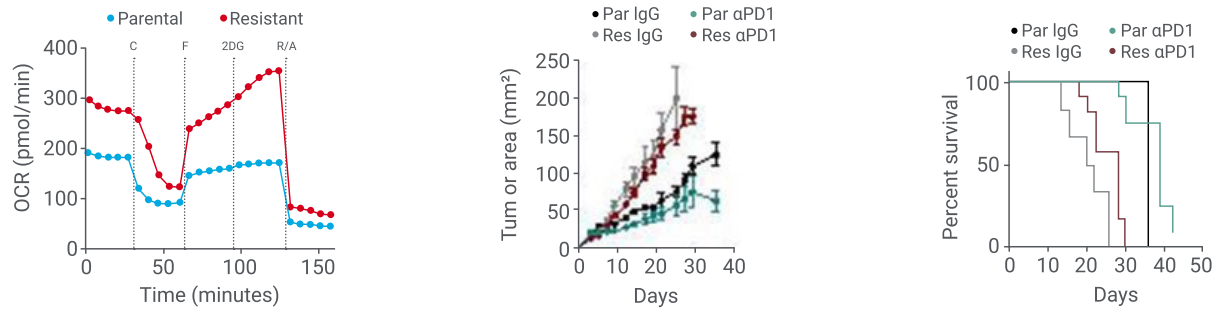


Figura 11. Adaptado de Zandberg, D. et al. La hipoxia tumoral se asocia con la resistencia al bloqueo de la vía PD-1 en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. *J Immunother Cancer* 2021, 9(5), e002088.

Los ensayos Seahorse XF se utilizaron en los estudios de Zandberg et al. (Figura 11) para demostrar que el metabolismo oxidativo aumenta a medida que los tumores se vuelven resistentes al bloqueo anti-PD-1. Demostraron que el estado metabólico del TME puede ser predictivo de la respuesta tumoral a la terapia anti-PD-1.

Evaluar el impacto de la aptitud metabólica en la función de las células inmunitarias

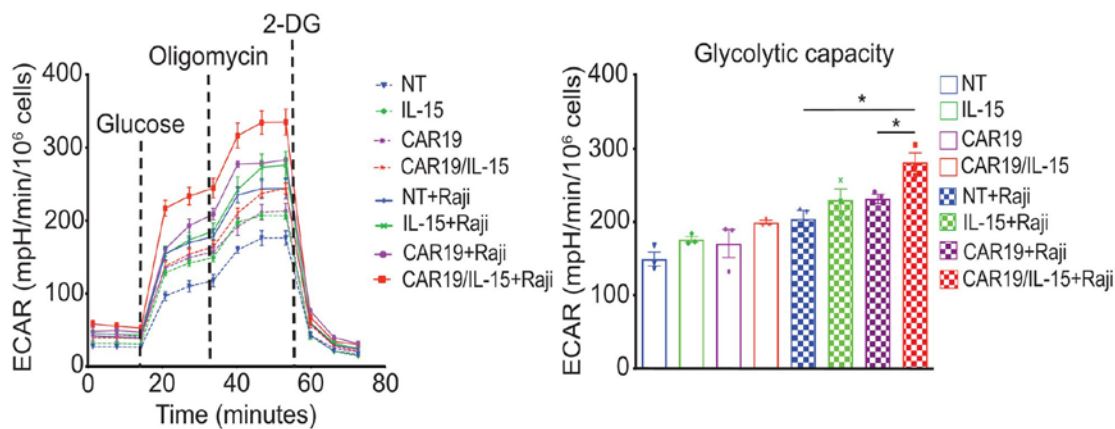


Figura 12. Adaptado de Li, L. et al. Loss of metabolic fitness drives tumor resistance after CAR-NK cell therapy and can be overcome by cytokine engineering. *Science Advances* 2023, 9, eadd6997

Li et al. (Figura 12) utilizaron ensayos Seahorse XF para demostrar que la ingeniería en células CAR19 NK para expresar interleucina 15 (IL-15) produce una mayor aptitud metabólica con una mejor actividad glucolítica en comparación con los controles. Su estudio demostró que los efectos antitumorales de las células CAR NK pueden mejorarse aumentando su aptitud metabólica.

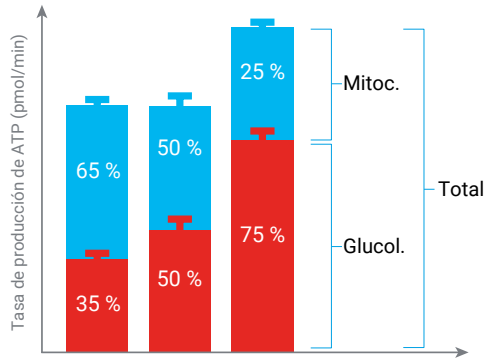


El kit de análisis metabólico de células T de Agilent Seahorse XF se recomienda para mediciones fiables y precisas de las actividades glucolítica y mitocondrial en poblaciones de células T y NK. Puede obtener más información [aquí](#).

Ensayos Seahorse XF para medir el metabolismo del cáncer

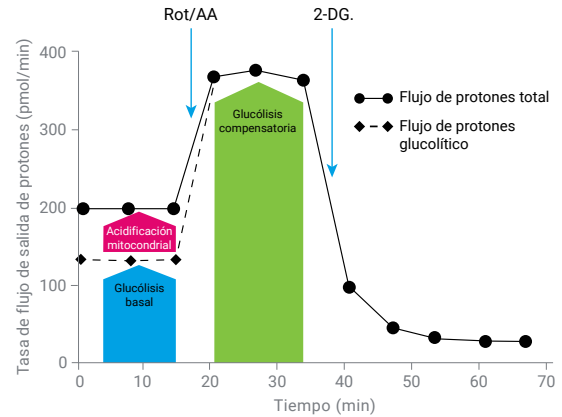
Kit de ensayo de tasa de ATP en tiempo real Agilent Seahorse XF

- Para analizadores Agilent Seahorse XF Pro y XFe: número de referencia 103592-100
- Para analizadores Agilent Seahorse XF HS Mini y XFp: número de referencia 103591-100



Kit de ensayo de tasa glucolítica Agilent Seahorse XF

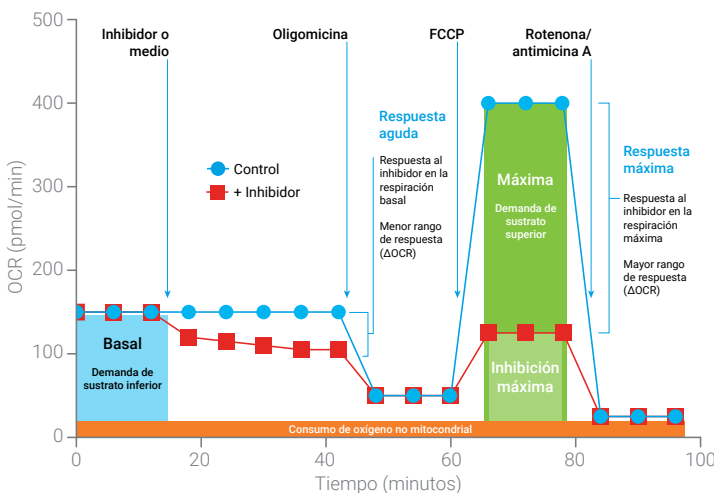
- Para analizadores Seahorse XF Pro y XFe: número de referencia 103344-100
- Para analizadores Seahorse XF HS Mini/XFp: número de referencia 103346-100



Estudie las vulnerabilidades, la plasticidad y el fenotipado metabólico de las células cancerosas mediante medidas simultáneas de la fosforilación oxidativa y la glucólisis para obtener una panorámica más completa de qué es lo que impulsa la función de las células. Esta información es ahora cuantitativa con los kits de ensayo de tasa glucolítica y tasa de ATP en tiempo real Seahorse XF.

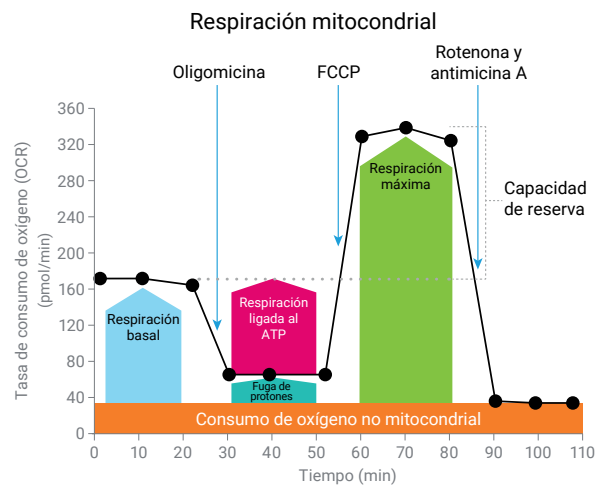
Kits de pruebas de estrés oxidativo de sustrato Agilent Seahorse XF

- Kit de pruebas de estrés oxidativo de ácidos grasos de cadena larga Seahorse XF: número de referencia 103672-100
- Kit de pruebas de estrés oxidativo de piruvato/glucosa Seahorse XF: número de referencia 103673-100
- Kit de pruebas de estrés oxidativo de glutamina Seahorse XF: número de referencia 103674-1



Kit de pruebas de estrés mitocondrial Agilent Seahorse XF

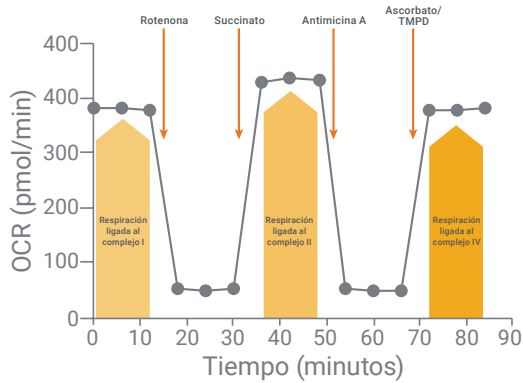
- Para analizadores Seahorse XF Pro y XFe: número de referencia 103015-100
- Para analizadores Seahorse XF HS Mini y XFp: número de referencia 103010-100



Investigue cómo las células cancerosas alteran o cambian la oxidación de los sustratos mitocondriales para aumentar la proliferación, sobrevivir en el TME o responder a intervenciones genéticas o farmacéuticas.

Permeabilizador de membrana plasmática Agilent Seahorse XF

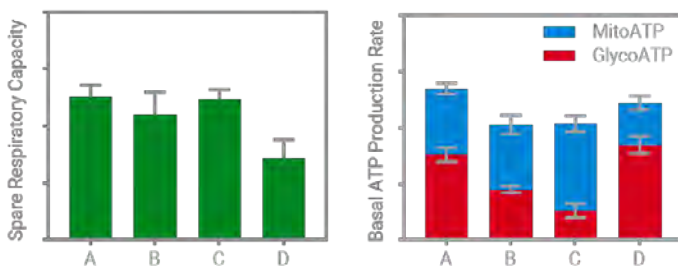
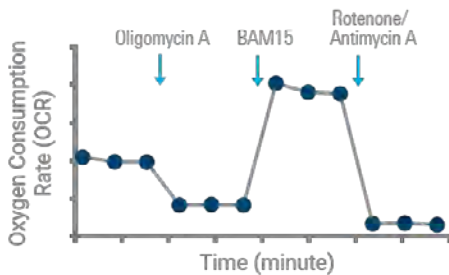
– Referencia: 102504-100



Realice los mismos ensayos que llevaría a cabo en mitocondrias aisladas, sin necesidad de aislarlas. Este reactivo exclusivo permeabiliza la membrana plasmática de células intactas en cultivo sin dañar las membranas mitocondriales. Esto permite el control experimental del suministro de sustrato a las mitocondrias y la caracterización detallada de componentes clave en la función mitocondrial, como transportadores, enzimas y complejos de la cadena respiratoria.

Kit de análisis metabólico de células T Agilent Seahorse XF: Ensayos personalizados para el desarrollo de terapias celulares

Con reactivos optimizados para diferentes poblaciones de células T y NK, estos ensayos proporcionan parámetros bioenergéticos eficaces vinculados a atributos esenciales para las propiedades antitumorales: persistencia de las células y aptitud metabólica.



- Adecuado para la evaluación del diseño de constructos, estrategias de ingeniería, selección de materias primas o acondicionamiento metabólico durante la expansión celular in vitro
- Apto para su uso en la evaluación de la capacidad de las células T y NK para mantener la aptitud metabólica en microentornos tumorales
- Incluye BAM15, un desacoplador mejorado para conseguir unas medidas más uniformes y exactas de la función mitocondrial de las células T y NK
- Proporciona una visión completa del metabolismo de las células T y NK, incluida la cuantificación simultánea de la actividad, la capacidad bioenergética y los efectos glucolíticos y mitocondriales
- Validado para perfiles metabólicos de células T y NK

Explore los kits de ensayo Agilent Seahorse XF [aquí](#).

Para obtener más información visite:

www.agilent.com/lifesciences/store

Tienda en línea:

www.agilent.com/lifesciences/store

Encuentre un centro local de ventas y asistencia en su país:

www.agilent.com/lifesciences/contactus

España

901 11 68 90

customercare_spain@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Asia-Pacífico

inquiry_lsca@agilent.com

**Solo para uso de investigación.
No usar en procedimientos de diagnóstico.**

RA45355.4045486111

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
Publicado en EE. UU., 27 de marzo de 2024
5994-7275ES

