

# Esfolingolípidos y cáncer de vejiga: identificando potenciales blancos terapéuticos en su metabolismo y señalización

Alejandro Mercado C.<sup>(1)</sup>, Iván Gallegos M.<sup>(2)</sup> Fernando Marchant G.<sup>(1)</sup>, Diego Reyes O.<sup>(1)</sup>, Enrique Castellón V.<sup>(3)</sup>

*<sup>(1)</sup>Servicio de Urología, HCUCH.*

*<sup>(2)</sup>Servicio de Anatomía Patológica, HCUCH.*

*<sup>(3)</sup>Laboratorio de Andrología Celular y Molecular, Programa de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.*

## SUMMARY

Bladder cancer is mostly diagnosed at non-muscle invasive stages. Despite treatment, more than 50% of the cases recur and 10-15% progress to muscle-invasive stages. Available therapies to reduce recurrence and progression are suboptimal. Identification of new potential therapeutic targets is needed. Lipids are not only structural molecules of the membranes. There are numerous examples of lipids mediating actions within the cells. Specifically, sphingolipids like ceramide, sphingosine and sphingosine-1-phosphate (S1P) have been described to be involved in the control of cell growth, proliferation and migration, all of which has been linked to cancer. The pro-apoptotic effects of ceramide and sphingosine are opposed by S1P. Therefore, the fate of the cell can be modulated by changing the ratio of these sphingolipids (the rheostat model). S1P promotes cell proliferation, growth, survival, migration, invasion and resistance to drugs and radiation, in part mediated by S1P membrane receptors (S1PR1-5). Over expression of S1P producing enzymes and increased S1P levels has been described in many cancers. No descriptions have been done in human samples of bladder cancer. However, few reports using bladder cancer cell lines suggest that the metabolic and signaling pathway of S1P can be a potential target for the treatment of bladder cancer.

## INTRODUCCIÓN

Durante muchos años hubo ideas preconcebidas sobre papeles exclusivos para los lípidos en el metabolismo energético y en la estructura de membrana, restringiendo la exploración de sus

roles en la regulación de las funciones celulares. Esto se debía probablemente a las dificultades técnicas que existían para el trabajo con lípidos, sus enzimas y sitios de acción. En los últimos años ha crecido mucho el interés por los “lípidos bioactivos”, concepto que se refiere a cambios en los

lípidos celulares que dan lugar a consecuencias biológicamente funcionales. El primer informe sobre lípidos bioactivos fue la descripción de la proteína quinasa C (PKC) y la liberación de calcio por diacilglicerol (DAG) y el inositol-1, 4,5,-trifosfato (Ins (1,4,5), P3)<sup>(1)</sup>. Desde entonces, otros estudios han demostrado que otros lípidos como eicosanoides (prostaglandinas y leucotrienos), ácido fosfatídico, monoacilgliceroles, la anandamida (ligandos candidatos para receptores cannabinoides), ácido liso-fosfatídico y factor activador de plaquetas (PAF; acetyl-gliceril-éter-fosforilcolina) también pueden participar en la regulación de funciones celulares<sup>(2)</sup>.

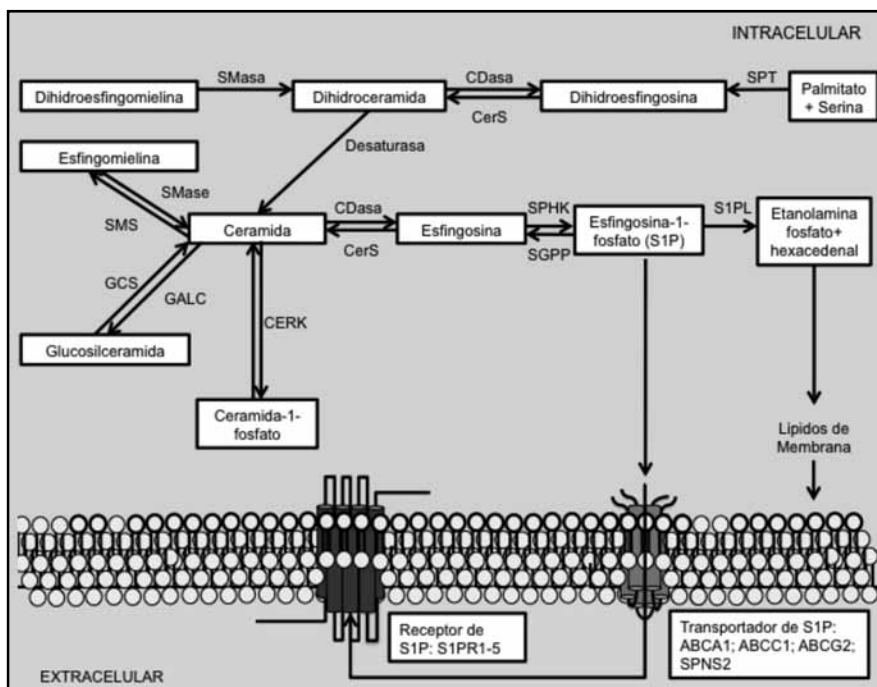
### ESFINGOLÍPIDOS Y CÁNCER

Los esfingolípidos son lípidos derivados de la esfingosina, un amino alcohol alifático presente en membranas plasmáticas de eucariontes. Este grupo de lípidos representa otro interesante ejemplo de lípidos bioactivos. Se ha puesto mucho interés sobre ellos, dado que se ha demostrado que ejercen efectos pleiotrópicos sobre proteínas quinasas y otros

objetivos, regulando el citoesqueleto de actina, el ciclo celular y el proceso de apoptosis<sup>(2)</sup>. A la fecha, hay más de 20.000 referencias publicadas en PubMed sobre esfingolípidos, vinculándolas con el cáncer y otras patologías. Específicamente en cáncer, una revisión reciente ha resumido la evidencia sobre la regulación de la expresión génica en cáncer por esfingolípidos, describiendo que se pueden regular un vasto conjunto de genes relacionados con la proliferación celular, la apoptosis, la metástasis tumoral y la resistencia a fármacos<sup>(3)</sup>. Con la evidencia disponible, los esfingolípidos y su metabolismo aparecen como un área de investigación en la cual se podrían identificar blancos terapéuticos para el tratamiento del cáncer.

### METABOLISMO DE LOS ESFINGOLÍPIDOS

El metabolismo de los esfingolípidos muestra una interconexión compleja que tiene como eje a la ceramida (Figura 1). La ceramida es un esfingolípidio que puede ser sintetizado de novo (a partir de serina y palmitato) o ser producto de la descomposición de la esfingomielina y otros glicoesfingolípidos



**Figura 1.** Diagrama del metabolismo de esfingolípidos

- SPT = serina palmitoiltransferasa
- CDasa = ceramidasa
- CerS = ceramida sintasa
- SMasa = esfingomielinasa
- SMS = esfingomielina sintasa
- GCS = glucosilceramida sintasa
- GALC = galactosilceramidasa
- CERK = ceramida quinasa
- SPHK = esfingosina quinasa
- SPP = esfingosina-1-fosfato fosfatasa
- S1PL = esfingosina-1-fosfato liasa

complejos. La ceramida puede ser degradada por diferentes ceramidasa, dando lugar a la formación de la esfingosina. Esta tiene dos destinos posibles: ser reciclada en la vía de los esfingolípidos hacia ceramida o ser fosforilada por esfingouquinasa (dos isoformas, SPHK1 o SPHK2). El producto fosforilado, esfingosina-1-fosfato (S1P) puede ser desfosforilada por S1P-fosfatasa o degradada irreversiblemente por la S1P-liasa, el único punto de salida de la vía metabólica de los esfingolípidos<sup>(4)</sup>.

### **ACCIONES FISIOLÓGICAS DE LA CERAMIDA Y ESFINGOSINA**

La ceramida tiene varios blancos intracelulares que median un efecto proapoptótico, incluyendo proteínas fosfatasa PP1 y PP2A<sup>(5)</sup>, la catépsina D<sup>(6)</sup> y la proteína quinasa C $\xi$  (PKC $\xi$ )<sup>(7,8)</sup>. Del mismo modo, la esfingosina tiene efectos proapoptóticos mediados por la inhibición de la PKC $\alpha$ <sup>(9)</sup>, la inhibición de quinasas dependientes de calmodulina<sup>(10)</sup> y de la fosforilación de la proteína 14-3-3<sup>(11)</sup>. Estímulos de apoptosis (Fas, TNF y la interleucina-1), estrés ambiental (radiación UV, privación de factores de crecimiento y suero) y fármacos quimioterapéuticos (etopósido, doxorubicina, adriamicina) son capaces de inducir acumulación celular de ceramida y esfingosina, gatillando mecanismos de apoptosis<sup>(12)</sup>.

### **ACCIONES FISIOLÓGICAS DE LA ESFINGOSINA-1-FOSFATO (S1P)**

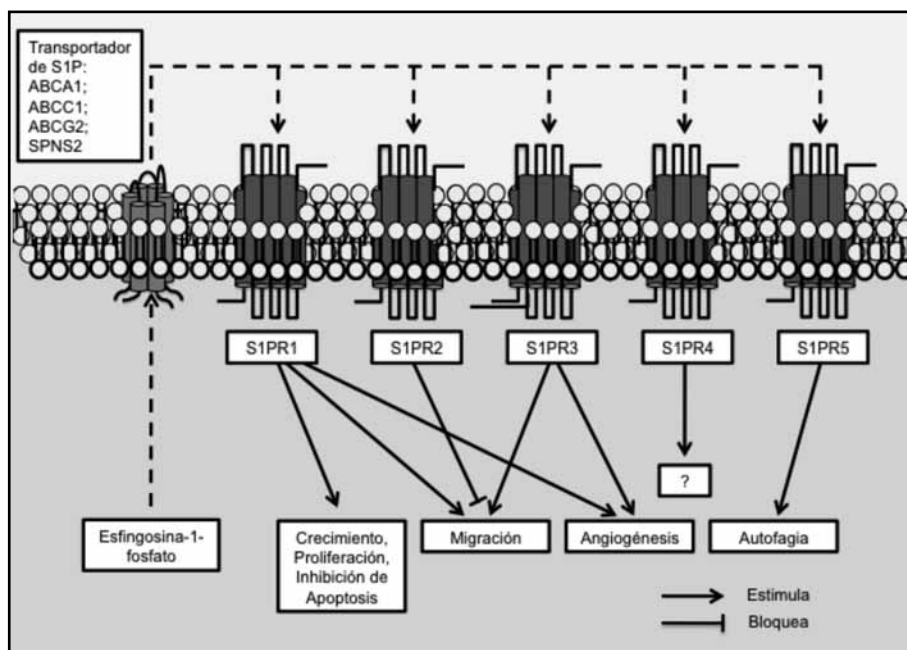
Contrariamente a la ceramida y esfingosina, S1P tiene efectos antiapoptóticos y prosupervivencia celular. Los blancos intracelulares de S1P son poco conocidos, pero se sabe que inhibe las histona-desacetilasas HDAC1 y HDAC2 dentro de complejos represores presentes en los promotores de los genes que codifican p21 y c-fos<sup>(13)</sup>, permite el reclutamiento y la fosforilación de complejo I $\kappa$ B, seguido por la activación del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), actor clave en la regulación de la proliferación celular y la supervivencia en células can-

cerosas<sup>(14)</sup> y estabiliza a la prohibitina 2 (PHB2) en mitocondrias, una proteína altamente conservada que regula el ensamblaje del complejo citocromoc oxidasa y la respiración mitocondrial. Al depletar la célula de S1P o PHB2 se reportó disfunción mitocondrial, reducción de la vida y proliferación celular<sup>(15,16)</sup>.

Más conocida es la acción de S1P sobre receptores de membrana de S1P (S1PR). Hay 5 tipos de S1PR (numerados del 1 al 5) que se pueden asociar a diferentes proteínas G. Para activar los receptores presentes en la membrana plasmática, S1P debe ser transportado al medio extracelular por proteínas transportadoras de la familia ABC, tales como ABCA1 (proteína reguladora de flujo de colesterol; CERP), ABCC1 (proteína asociada a la multi-resistencia a drogas; MRP1) y ABCG2 (proteína de resistencia del cáncer de mama; BCRP). Otro transportador de S1P es el homólogo 2 de la proteína Spinster (SPNS2)<sup>(4,17,18)</sup>. S1PRs están ubicuamente, pero diferencialmente expresados en todas las células. El repertorio específico de S1PR que se expresa en una célula, junto con su acoplamiento a diferentes proteínas G heterotriméricas, determinará la acción fisiológica específica de S1P. En general se describen acciones relacionadas a carcinogénesis (proliferación, migración, angiogénesis, autofagia) para los receptores S1PR1, 3 y 5. Efectos contrarios se describen para S1PR2. Las acciones de S1PR4 son poco conocidas (Figura 2).

### **EL MODELO DEL REÓSTATO CERAMIDA-ESFINGOSINA-S1P: ¿ES POSIBLE MODIFICAR EL DESTINO DE UNA CÉLULA?**

La complejidad de las interconexiones bioquímicas en el metabolismo de los esfingolípidos permite a la célula coordinar las respuestas celulares mediante la regulación de interconversiones de esfingolípidos. En la mayoría de las células, la esfingomielina (SM) está presente en un orden de magnitud más alto que los de la ceramida; por lo tanto, pequeños



**Figura 2.** Receptores de esfingosina-1-fosfato (S1P).

S1P requiere transportadores para ser alcanzado el medio extracelular y ahí unirse a los diferentes receptores. S1PR1 media el crecimiento, la proliferación y la inhibición de la apoptosis. S1PR2 bloquea la migración celular; S1PR3 media migración celular y angiogénesis (adaptación a la hipoxia); S1PR5 promueve la autofagia, proceso importante para la supervivencia de células cancerosas. Efectos mediados por S1PR4 no se conocen.

cambios en SM pueden resultar en cambios profundos en ceramida. Por otra parte, la ceramida se detecta en concentraciones que son un orden de magnitud mayor que la esfingosina, de manera que la hidrólisis del 3-10% de la ceramida recién generada puede doblar los niveles de esfingosina. Por último, la fosforilación de 1-3% de la esfingosina puede doblar los niveles de S1P<sup>(19)</sup>.

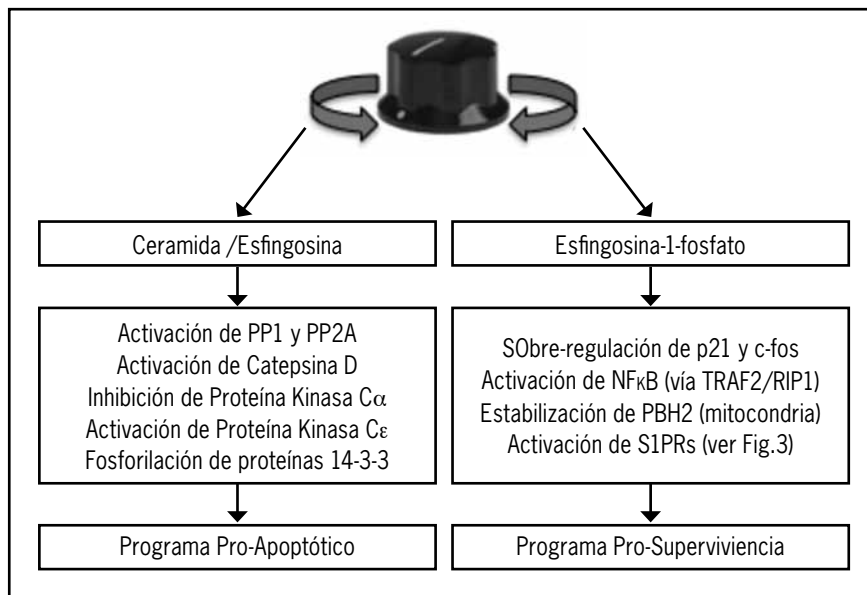
Es probable que los niveles fisiológicos de lípidos bioactivos dicten sus mecanismos de acción. Lípidos traza tales como S1P (nanomolar en concentración) interactúan con los receptores de muy alta afinidad capaces de detectar sus bajos niveles. Lípidos que se encuentran en concentración intermedia como la ceramida y DAG actúan sobre receptores de afinidad intermedia. Por el contrario, es difícil pensar que los lípidos abundantes como la SM puedan tener objetivos específicos, porque la afinidad de la interacción sería demasiado baja. Sin embargo, estos lípidos pueden cambiar las propiedades generales de la membrana y la subestructura cuando sus niveles son modificados<sup>(4)</sup>.

Frente a los efectos opuestos de ceramida/esfingosina versus S1P se ha planteado un modelo llama-

do de “reóstato” (Figura 3). Un reóstato es un elemento de un circuito eléctrico que permite variar la resistencia del circuito, girando un eje. El modelo de reóstato de ceramida-esfingosina-S1P hace referencia a la posibilidad que tendría la célula de “girar” el reóstato hacia un estado proapoptótico (incrementando nivel de ceramida y esfingosina) o hacia un estado de supervivencia celular, que incluye resistencia a apoptosis, a quimioterapia y radioterapia (incrementando los niveles de S1P), definiendo el destino celular. La posibilidad de modular el reóstato aparece como un interesante blanco terapéutico para el tratamiento del cáncer.

Hay muchos ejemplos en los que el reóstato ceramida-esfingosina-S1P es funcional en la supervivencia celular del cáncer, apoptosis, resistencia a quimioterapia y radioterapia *in vitro*. Más específicamente, varios informes sobre la desregulación de la vía de S1P en el cáncer han sido publicados<sup>(4)</sup>.

La principal fuente de S1P son las plaquetas y los glóbulos rojos. Su concentración en plasma es alta y varía desde 0,2 hasta 0,9  $\mu\text{M}$  y se encuentra estrechamente asociado a albúmina y lipoproteínas, en particular HDL. Contrariamente, los niveles



**Figura 3.** Modelo de reóstato ceramida/esfingosina/s1P.

La posición relativa del reóstato determina el destino de la célula hacia muerte o supervivencia.

tisulares de S1P son bajos, varía de 0,5 a 75 pmol/mg<sup>(20,21)</sup>. Los cambios en estos niveles podrían estar relacionados con diferentes condiciones patológicas, incluyendo el cáncer. Por ejemplo, en un modelo murino de tumorigénesis intestinal, la concentración de S1P en los tumores fue mayor en comparación a los tejidos sanos circundantes<sup>(22)</sup>.

La primera observación que sugirió la participación de S1P en el cáncer fue la transformación de fibroblastos NIH3T3 como resultado de la sobreexpresión de SPHK1, determinando proliferación independiente de suero, aumento de la formación de colonias y del crecimiento in vitro y la formación de fibrosarcomas al inyectar los fibroblastos modificados en ratones inmunocomprometidos<sup>(11)</sup>. Desde entonces la sobreexpresión de SPHK1 ha sido reportada en varios tipos de cáncer (gastrointestinal, hígado, mama, pulmón, astrocitoma, glioblastoma, mieloma múltiple, leucemia mieloide aguda y crónica, próstata, ovario, útero y riñón) en comparación con su homólogo tejido normal, correlacionándose además con el grado tumoral y la supervivencia de los pacientes<sup>(20,23,24)</sup>.

Experimentos in vitro han demostrado que al silenciar la expresión de SPHK1 utilizando siRNA se

inhibe la proliferación celular, aumentando la proporción ceramida/S1P y apoptosis en líneas tumorales de próstata<sup>(25-27)</sup>, páncreas<sup>(28)</sup> y leucemia<sup>(29)</sup>. De acuerdo con esta prueba, la pérdida de SPHK1 en la línea celular de cáncer de mama MCF-7 activó la vía intrínseca de muerte celular programada<sup>(30)</sup>. Por el contrario, la sobreexpresión de SPHK1 bloqueó los mecanismos de apoptosis y produjo quimiorresistencia<sup>(25,29)</sup>. En efecto, líneas celulares de cáncer resistentes a agentes quimioterápicos tienen una alta expresión de SPHK1. Esto ha sido observado en líneas tumorales de próstata (PC3 y LNCaP) resistentes a camptotecina<sup>(25)</sup>, células pancreáticas resistentes a gemcitabina<sup>(28)</sup> y células de leucemia mieloide crónica (LMC) resistentes a imatinib<sup>(29,31)</sup>. Además, las células de LMC sensibles a imatinib y daunorubicina tienen una relación de ceramida/S1P mayor que sus contrapartes resistentes a dichos agentes quimioterápicos<sup>(29,31)</sup>. Por otra parte, la eficacia de los fármacos quimioterápicos se ha correlacionado con el grado de inhibición de SPHK1 en todos estos modelos. Interesantemente se ha descrito que fármacos quimioterápicos y la radiación-γ inducen la proteólisis de SPHK1 dependiente de p53, por lo que la eficacia de estos agentes podría estar relacionada con su capacidad para disminuir la actividad global de SPHK1<sup>(32,33)</sup>. Sin embargo,

parece que la capacidad de las células para sobrevivir a la quimioterapia, la radiación y los inhibidores de SPHK1 se rige por un nivel umbral de actividad de SPHK1. Por lo tanto, los agentes quimioterapéuticos, radiación- $\gamma$  e inhibidores de SPHK1 no necesariamente son capaces de reducir por sí solos la actividad total de SPHK1 por debajo del umbral y por lo tanto, hay células neoplásicas que pueden sobrevivir a pesar de los tratamientos. Las combinaciones de agentes terapéuticos parecen ser necesarias en estos casos<sup>(34)</sup>.

Ensayos *in vivo* también apoyan el rol de SPHK1 en la tumorigénesis y como sensor quimioterapéutico. En modelos murinos, la inoculación de líneas celulares de cáncer de mama y de próstata que sobreexpresaban SPHK1 en la almohadilla grasa de la mama<sup>(35)</sup> u ortotópicamente en próstata<sup>(25,26)</sup>, respectivamente, provocó el crecimiento de tumores de mayor tamaño que cuando se inyectaron células con niveles endógenos de la misma enzima. Los tumores con sobreexpresión de SPHK1 también presentaron mayor vascularización<sup>(35)</sup>, mayor resistencia a docetaxel y una menor relación ceramida/S1P<sup>(25,26)</sup>. A la inversa, en un modelo de melanoma murino, el antagonismo farmacológico de los receptores de S1P por FTY720 (Fingolimod) inhibió la angiogénesis y la vascularización tumoral<sup>(36)</sup>.

Basado en esta evidencia, S1P, enzimas y receptores relacionados con su metabolismo y señalización aparecen como potenciales blancos terapéuticos. Anti-anticuerpos, agonistas S1P S1PR funcional / antagonistas (por ejemplo, FTY720, KRP-203, JTE-013 y VPC-23019) y los inhibidores de SPHK surgen como posibles tratamientos o tratamientos adyuvantes en el cáncer<sup>(18)</sup>. FTY720 (Fingolimod) fue autorizado recientemente por la FDA como Gilenya<sup>™</sup> y está siendo utilizada en ensayos clínicos para enfermedades inmunológicas (ej. esclerosis múltiple), pero todavía no en cáncer<sup>(18)</sup>.

## IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA DEL CÁNCER DE VEJIGA

El cáncer de vejiga es el cáncer más frecuente de la vía urinaria (sin considerar el cáncer de próstata). Ocupa el noveno puesto en el *ranking* de incidencias de cáncer, siendo cerca de cuatro veces más frecuente en hombres que mujeres<sup>(37)</sup>.

Chile no cuenta con registros de incidencia de cáncer, pero se reportan aproximadamente 400 muertes anuales por cáncer de vejiga, con una tasa de mortalidad de 2.5 por 100.000 y 1.0 por 100.000 en hombres y mujeres, respectivamente<sup>(38)</sup>. Con estas cifras, la importancia del cáncer de vejiga en salud pública es muchas veces subestimada y relegada por cánceres de mayor prevalencia o mortalidad. Sin embargo, desde su diagnóstico hasta la muerte, el cáncer de vejiga es el cáncer de mayor costo económico por paciente entre todos los cánceres<sup>(39,40)</sup>. Esto se debe a su alta tasa de recurrencia, que determina la necesidad de estrictos regímenes de seguimiento con cistoscopia e imágenes, además de cirugías y tratamientos complementarios en repetidas ocasiones. Si se agrega a los costos económicos el costo emocional y el impacto en la calidad de vida que determina en los pacientes el vivir bajo una constante amenaza de recurrencia, este cáncer adquiere mayor relevancia como problema de salud pública a nivel nacional.

## CARACTERÍSTICAS DEL CÁNCER DE VEJIGA

Más de un 90% de los cánceres de vejiga son del tipo urotelial, es decir, se originan en el epitelio que reviste la cavidad vesical. Entre un 75 y 80% de éstos se diagnostican como tumores “no músculo-invasores” (tumores papilares o Ta, que invaden lámina propia o T1, carcinoma *in situ* o CIS). Los tumores papilares o que infiltran la lámina propia pueden ser tratados exitosamente mediante una resección endoscópica transuretral (RTU), pero más de un 50% recurrirá y entre

un 10 y 15% progresará a enfermedad “músculo-invasora”<sup>(41)</sup>.

Desafortunadamente no existe un método preciso para determinar el riesgo de recurrencia o progresión y su estimación se hace sobre una serie de variables como el número de tumores, tamaño tumoral, grado histológico, recurrencias previas, categoría T del tumor (clasificación TNM) y la presencia de CIS. En base a estas variables los pacientes pueden ser clasificados en categorías de bajo, intermedio o alto riesgo de recurrencia o progresión. Según el riesgo a los pacientes se les puede ofrecer seguimiento, terapias complementarias (quimioterapia intravesical o instilación vesical de bacilo de Calmette-Guerin (BCG)) o nuevas cirugías (RTU o cistectomía radical)<sup>(41)</sup>.

Para reducir el riesgo de recurrencia hoy en día sólo existen dos alternativas comprobadas: la instilación postoperatoria (post RTU) inmediata de quimioterapia intravesical y la terapia de instilación intravesical de BCG en esquema de mantenimiento<sup>(41-43)</sup>. La terapia con BCG también ha demostrado disminuir el riesgo de progresión<sup>(44,45)</sup>. Sin embargo, a pesar de estas terapias, las recurrencias y progresión del cáncer de vejiga siguen siendo un problema clínico muy importante que genera la necesidad de buscar nuevos blancos y alternativas de tratamiento.

### **ESFINGOSINA-1-FOSFATO Y CÁNCER DE VEJIGA**

La optimización de las terapias adyuvantes intravesicales en cáncer de vejiga nomúsculo invasor es un objetivo fundamental si se pretende reducir las tasas de recurrencia y progresión en los pacientes afectados, con los beneficios concomitantes sobre su calidad de vida y la reducción de los costos del seguimiento.

Poco se sabe sobre el papel de esfingolípidos específicamente en el cáncer de vejiga. Wu *et al*<sup>(46)</sup> reportó que en la línea celular de cáncer de vejiga T24 la estimulación con VEGF produjo la activación secuencial de PKC, SPHK1, Ras, Raf y ERK1/2, lo que condujo a la estimulación de la síntesis de DNA. La inhibición farmacológica de SPHK1 redujo en un 50 a 90% los niveles de ERK1/2 fosforilado (forma activa de la proteína).

Otro estudio mostró que la adición exógena de S1P no alteró el crecimiento de células de cáncer de vejiga J82 y sólo aumentó modestamente su motilidad<sup>(47)</sup>. Sin embargo, en este estudio no se midieron los niveles basales de S1P en las células J82. Dado que estas células derivan de un cáncer de vejiga mal diferenciado<sup>(48)</sup>, hipotéticamente podría tener una vía de S1P ya saturada, explicando esto por qué la adición de más S1P no pudo producir ningún efecto aditivo. Por otra parte, este estudio tampoco exploró el efecto de la reducción de S1P sobre el crecimiento celular y la motilidad de J82.

Más interesantes son las observaciones formuladas por Azuma *et al*<sup>(49)</sup> cuando describió la inducción de apoptosis en células humanas de cáncer de vejiga (T24, UMC3 y HT1997) *in vitro e in vivo* causada por el tratamiento con FTY720. También se observó una reducción significativa en el crecimiento de tumores en ratones a los que se les inoculó subcutáneamente células T24 o UMUC3 simultáneamente con la administración de FTY720.

Estos hechos sugieren que en cáncer de vejiga el metabolismo de los esfingolípidos puede ser un blanco para tratar o modular positivamente el efecto de los tratamientos actualmente disponibles.

### **CONCLUSIÓN**

El metabolismo y la señalización de los esfingolípidos es foco de atención de muchos grupos de inves-

tigación en diversos tipos de cáncer. Los resultados disponibles sugieren que algunas de las enzimas y receptores involucrados en la interconversión de ceramida/esfingosina a esfingosina-1-fosfato y su señalización pueden ser blancos terapéuticos para el tratamiento de distintos cánceres.

Los autores de esta revisión recientemente se han adjudicado un fondo de investigación de la Oficina de Apoyo a la Investigación Clínica del Hospital Clínico de la Universidad de Chile con el objetivo de poder explorar mediante inmunohistoquímica

la expresión de enzimas y receptores involucrados en el metabolismo de esfingosina-1-fosfato en biopsias de cáncer de vejiga de estirpe urotelial (carcinoma de células uroteliales) y en su contraparte de tejido urotelial normal, con el fin de poder identificar patrones de expresión que puedan sugerir que la manipulación del reóstato en este tipo de cáncer pueda ser un blanco terapéutico al que se pueda apuntar a futuro, con el fin de sentar las bases para mejorar los resultados de las terapias adyuvantes y disminuir la recurrencia y progresión del cáncer de vejiga.

## REFERENCIAS

1. Nishizuka, Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 1992;258:607-14.
2. Hannun YA, Obeid LM. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:139-50.
3. Patwardhan GA, Liu YY. Sphingolipids and expression regulation of genes in cancer. *Prog Lipid Res* 2011;50:104-14.
4. Pyne NJ, Pyne S. Sphingosine 1-phosphate and cancer. *Nat Rev Cancer* 2010;10:489-503.
5. Ogretmen B, Hannun YA. Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment. *Nat Rev Cancer* 2004;4:604-16.
6. Heinrich M, Wickel M, Winoto-Morbach S, Schneider-Brachert W, Weber T, Brunner J *et al.* Ceramide as an activator lipid of cathepsin D. *Adv Exp Med Biol* 2000;477:305-15.
7. Wang G, Silva J, Krishnamurthy K, Tran E, Condie BG, Bieberich E. Direct binding to ceramide activates protein kinase Czeta before the formation of a pro-apoptotic complex with PAR-4 in differentiating stem cells. *J Biol Chem* 2005;280:26415-24.
8. Fox TE, Houck KL, O'Neill SM, Nagarajan M, Stover TC, Pomianowski PT *et al.* Ceramide recruits and activates protein kinase C zeta (PKC zeta) within structured membrane microdomains. *J Biol Chem* 2007;282:12450-7.
9. Smith ER, Merrill AH, Obeid LM, Hannun YA. Effects of sphingosine and other sphingolipids on protein kinase C. *Methods Enzymol* 2000;312:361-73.
10. Cu villier O. Sphingosine in apoptosis signaling. *Biochim Biophys Acta* 2002;1585:153-62.
11. Xia P, Gamble JR, Wang L, Pitson SM, Moretti PA, Wattenberg BW *et al.* An oncogenic role of sphingosine kinase. *Curr Biol* 2000;10:1527-30.
12. Woodcock J. Sphingosine and ceramide signalling in apoptosis. *IUBMB Life* 2006;58:462-6.
13. Hait NC, Allegood J, Maceyka M, Strub GM, Harikumar KB, Singh SK *et al.* Regulation of histone acetylation in the nucleus by sphingosine-1-phosphate. *Science* 2009;325:1254-7.



14. Alvarez SE, Harikumar KB, Hait NC, Allegood J, Strub GM, Kim EY *et al.* Sphingosine-1-phosphate is a missing cofactor for the E3 ubiquitin ligase TRAF2. *Nature* 2010;465:1084-8.
15. Strub GM, Paillard M, Liang J, Gomez L, Allegood JC, Hait NC *et al.* Sphingosine-1-phosphate produced by sphingosine kinase 2 in mitochondria interacts with prohibitin 2 to regulate complex IV assembly and respiration. *FASEB J* 2011;25:600-12.
16. Sievers C, Billig G, Gottschalk K, Rudel T. Prohibitins are required for cancer cell proliferation and adhesion. *PLoS One* 2010;5:e12735.
17. Fletcher JI, Haber M, Henderson MJ, Norris MD. ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps. *Nat Rev Cancer* 2010;10:147-56.
18. Pyne S, Pyne NJ. Translational aspects of sphingosine 1-phosphate biology. *Trends Mol Med* 2011;17:463-72.
19. Bielawski J, Szulc ZM, Hannun YA, Bielawska A. Simultaneous quantitative analysis of bioactive sphingolipids by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Methods* 2006;39:82-91.
20. Takabe K, Paugh SW, Milstien S, Spiegel S. "Inside-out" signaling of sphingosine-1-phosphate: therapeutic targets. *Pharmacol Rev* 2008;60:181-95.
21. Takuwa N, Du W, Kaneko E, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa Y. Tumor-suppressive sphingosine-1-phosphate receptor-2 counteracting tumor-promoting sphingosine-1-phosphate receptor-1 and sphingosine kinase 1 – Jekyll hidden behind Hyde. *Am J Cancer Res* 2011;1:460-81.
22. Oskouian B, Saba J. Sphingosine-1-phosphate metabolism and intestinal tumorigenesis: lipid signaling strikes again. *Cell Cycle* 2007;6:522-7.
23. Vadas M, Xia P, McCaughan G, Gamble J. The role of sphingosine kinase 1 in cancer: oncogene or non-oncogene addiction? *Biochim Biophys Acta* 2008;1781:442-7.
24. Cuvillier O, Ader I, Bouquerel P, Brizuela L, Malavaud B, Mazerolles C *et al.* Activation of sphingosine kinase-1 in cancer: implications for therapeutic targeting. *Curr Mol Pharmacol* 2010;3:53-65.
25. Pchejetski D, Golzio M, Bonhoure E, Calvet C, Doumerc N, Garcia V *et al.* Sphingosine kinase-1 as a chemotherapy sensor in prostate adenocarcinoma cell and mouse models. *Cancer Res* 2005;65:11667-75.
26. Pchejetski D, Doumerc N, Golzio M, Naymark M, Teissié J, Kohama T *et al.* Chemosensitizing effects of sphingosine kinase-1 inhibition in prostate cancer cell and animal models. *Mol Cancer Ther* 2008;7:1836-45.
27. Akao Y, Banno Y, Nakagawa Y, Hasegawa N, Kim TJ, Murate T *et al.* High expression of sphingosine kinase 1 and S1P receptors in chemotherapy-resistant prostate cancer PC3 cells and their camptothecin-induced up-regulation. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;342:1284-90.
28. Guillermet-Guibert J, Davenne L, Pchejetski D, Saint-Laurent N, Brizuela L, Guilbeau-Frugier C *et al.* Targeting the sphingolipid metabolism to defeat pancreatic cancer cell resistance to the chemotherapeutic gemcitabine drug. *Mol Cancer Ther* 2009;8:809-20.
29. Baran Y, Salas A, Senkal CE, Gunduz U, Bielawski J, Obeid LM *et al.* Alterations of ceramide/sphingosine 1-phosphate rheostat involved in the regulation of resistance to imatinib-induced apoptosis in K562 human chronic myeloid leukemia cells. *J Biol Chem* 2007;282:10922-34.

30. Taha TA, Kitatani K, El-Alwani M, Bielawski J, Hannun YA, Obeid LM. Loss of sphingosine kinase-1 activates the intrinsic pathway of programmed cell death: modulation of sphingolipid levels and the induction of apoptosis. *FASEB J* 2006;20:482-4.
31. Sobue S, Nemoto S, Murakami M, Ito H, Kimura A, Gao S *et al.* Implications of sphingosine kinase 1 expression level for the cellular sphingolipid rheostat: relevance as a marker for daunorubicin sensitivity of leukemia cells. *Int J Hematol* 2008;87:266-75.
32. Taha TA, Osta W, Kozhaya L, Bielawski J, Johnson KR, Gillanders WE *et al.* Down-regulation of sphingosine kinase-1 by DNA damage: dependence on proteases and p53. *J Biol Chem* 2004;279:20546-54.
33. Heffernan-Stroud LA, Helke KL, Jenkins RW, De Costa AM, Hannun YA, Obeid LM. Defining a role for sphingosine kinase 1 in p53-dependent tumors. *Oncogene* 2012;31:1166-75.
34. Nava VE, Cuvillier O, Edsall LC, Kimura K, Milstien S, Gelmann EP *et al.* Sphingosine enhances apoptosis of radiation-resistant prostate cancer cells. *Cancer Res* 2000;60:4468-74.
35. Nava VE, Hobson JP, Murthy S, Milstien S, Spiegel S. Sphingosine kinase type 1 promotes estrogen-dependent tumorigenesis of breast cancer MCF-7 cells. *Exp Cell Res* 2002;281:115-27.
36. La Montagne K, Littlewood-Evans A, Schnell C, O'Reilly T, Wyder L, Sanchez T *et al.* Antagonism of sphingosine-1-phosphate receptors by FTY720 inhibits angiogenesis and tumor vascularization. *Cancer Res* 2006;66:221-31.
37. Ploeg M, Aben KK, Kiemeny L. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World J Urol* 2009;27:289-93.
38. MINSAL. Defunciones por algunas causas específicas de muerte, según sexo y por region, 2009. Gobierno de Chile 2009. Disponible en: [http://deis.minsal.cl/vitales/vitales2009/def\\_especifica\\_region.htm](http://deis.minsal.cl/vitales/vitales2009/def_especifica_region.htm).
39. Bosanquet N, Sikora K. The economics of cancer care in the UK. *Lancet Oncol* 2004;5:568-74.
40. Sievert KD, Amend B, Nagele U, Schilling D, Bedke J, Horstmann M *et al.* Economic aspects of bladder cancer: what are the benefits and costs? *World J Urol* 2009;27:295-300.
41. Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Böhle A, Palou J. Guidelines on Non-Muscle Invasive Bladder Cancer (TaT1 and CIS). European Association of Urology Guidelines 2011. Disponible en: <http://www.uroweb.org/guidelines/online-guidelines>.
42. Sylvester RJ, Oosterlinck W, van der Meijden AP. A single immediate postoperative instillation of chemotherapy decreases the risk of recurrence in patients with stage TaT1 bladder cancer: a meta-analysis of published results of randomized clinical trials. *Eur Urol* 2004;171:(6 pt 1):2186-90.
43. Sylvester RJ, Brausi MA, Kirkels WJ, Hoeltl W, Calais Da Silva F, Powell PH *et al.* Long-term efficacy results of EORTC Genito-Urinary Group randomized phase 3 study 30911 comparing intravesical instillations of epirubicin, bacillus Calmette-Guérin, and bacillus Calmette-Guérin plus isoniazida in patients with intermediate- and high-risk stage TaT1 urothelial carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2010;57:766-73.
44. Sylvester RJ, van der Meijden AP, Lamm DL. Intravesical bacillus Calmette-Guérin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol* 2002;168:1964-70.

45. Böhle A, Bock PR. Intravesical bacillus Calmette-Guérin versus mitomycin C in superficial bladder cancer: formal meta-analysis of comparative studies on tumour progresión. *Urology* 2004;63:682-7.
46. Wu W, Shu X, Hovsepyan H, Mosteller RD, Broek D. VEGF receptor expression and signaling in human bladder tumors. *Oncogene* 2003;22:3361-70.
47. Rumenapp U, Lümmen G, Virchow S, Hanske J, Meyer zu Heringdorf D, Jakobs KH. Sphingolipid receptor signaling and function in human bladder carcinoma cells: inhibition of LPA- but enhancement of thrombin-stimulated cell motility. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000;361:1-11.
48. O'Toole C, Price ZH, Ohnuki Y, Unsgaard B. Ultrastructure, karyology and immunology of a cell line originated from a human transitional-cell carcinoma. *Br J Cancer* 1978;38:64-76.
49. Azuma H, Takahara S, Horie S, Muto S, Otsuki Y, Katsuoka Y. Induction of apoptosis in human bladder cancer cells in vitro and in vivo caused by FTY720 treatment. *J Urol* 2003;169:2372-7.

#### **CORRESPONDENCIA**



Dr. Alejandro Mercado Campero  
Servicio de Urología, Hospital Clínico  
Universidad de Chile  
Santos Dumont 999, Independencia, Santiago  
Fono: 2978 8503  
E-mail: amercadoc@gmail.com