



Apoptosis y cáncer

J.X. Comella, J. Boix, R.M. Soler,
M. Iglesias, N. Llecha, J. Egea.

Grup de Neurobiologia Molecular.

Dept. Ciències Mèdiques Bàsiques.

Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure 44.

25198 LLEIDA.

1. Introducción

El término apoptosis fue acuñado en 1972 por Kerr, Wyllie and Currie para describir un proceso morfológico de muerte celular que era claramente distinto a la necrosis. La apoptosis se caracteriza por un conjunto ordenado de cambios que se inician con una condensación y marginalización de la cromatina nuclear simultáneos a una densificación citoplasmática. Estos cambios prosiguen hacia una fragmentación nuclear, aparición de protusiones citoplasmáticas en la superficie celular y, finalmente, desintegración celular generando múltiples cuerpos apoptóticos envueltos en membrana citoplasmática. Estos cuerpos apoptóticos serán fagocitados por células especializadas (macrófagos) o, en algunos casos, por las células vecinas (1). Uno de los elementos bioquímicos centrales en el proceso apoptótico es la degradación inicial del DNA en fragmentos grandes de 50 a 300 kilopares de bases (2,3) que con posterioridad darán fragmentos oligonucleosomales (4,5). Esta degradación está mediada por una endonucleasa cuya identidad es todavía controvertida (6). La apoptosis afecta a determinadas células dentro de un

tejido (células aisladas) y nunca se observa reacción inflamatoria en este proceso. Todos estos cambios que definen el proceso apoptótico son claramente distintos de los que se producen en la muerte celular necrótica en la que esencialmente la célula muere por desintegración y en la que existe una exposición del contenido celular citoplasmático al espacio extracelular con la consiguiente reacción inflamatoria. Otra de las características definitorias de la necrosis es la afectación de grupos más o menos amplios de células (1).

La apoptosis se asocia con la muerte celular fisiológica más que con la muerte celular patológica. Así, por ejemplo, es claramente apoptótica la muerte morfogenética para eliminar determinados tejidos (membrana interdigital o la cola de ciertos animales) durante el desarrollo embrionario, la muerte fisiológica de células durante el desarrollo de los sistemas inmune (7) y nervioso (8) y la muerte como consecuencia del natural recambio celular de los tejidos (9,10). A pesar de todo existe muerte celular fisiológica sin morfología apoptótica (11). Además el proceso apoptótico también está al servicio de la eliminación de células potencialmente peligrosas como los linfocitos auto-reactivos, las células infectadas por virus o las células tumorales (12). A pesar de los muchos beneficios derivados de la apoptosis, las alteraciones en su control o su inicio pueden provocar y contribuyen a la génesis de un buen número de enfermedades que incluyen el SIDA y las enfermedades neurodegenerativas.

La palabra apoptosis proviene del griego y hace referencia a la caída de las hojas de los árboles en el otoño (13). En un sentido más estricto, nos referimos a la apoptosis como el reflejo morfológico del desarrollo de un programa de acontecimientos en los que tienen una función primordial determinados genes y que concluirán con la eliminación de la célula. La primera evidencia de este programa de muerte mediado por genes se obtuvo a partir de estudios en los que se mostraba que el proceso apoptótico podía ser impedido por drogas que bloqueaban los procesos macrosintéticos (transcripción y traducción), sugiriendo por tanto la necesidad de sintetizar proteínas implicadas en el proceso para que este pudiese llevarse a cabo (14,11,15). Con posterioridad se ha demostrado sin embargo, que en muchos casos esta síntesis de novo no es necesaria e incluso en algunos casos los bloqueantes de la transcripción o traducción son capaces por ellos mismos de desencadenar el proceso apoptótico. Estos resultados sugerirían que, al menos en esos casos, todos los elementos necesarios para llevar a cabo el proceso están sintetizados "por defecto" y lo que se controlaría sería su activación mediante modificaciones postraduccionales en la propia proteína (p.e. fosforilaciones) o por interacciones con inhibidores o antagonistas proteicos (interacción proteína-proteína) (10,16). Pruebas recientes en favor de esta hipótesis incluyen la

inducción de apoptosis por diferentes estímulos en células a las que se les ha extraído el núcleo. En estos citoplastos se puede inducir cambios citoplasmáticos típicos de la apoptosis sin necesidad (17). La síntesis macromolecular sería necesaria en aquellos casos en que las nuevas proteínas sintetizadas fuesen esenciales para activar o desreprimir la maquinaria encargada de llevar a cabo el proceso de apoptosis. La visión extrema en este sentido es la propuesta por M. Raff que sugiere que todas las células tenderían por defecto al suicidio y serían factores externos de comunicación intercelular los que mantendrían inactivado el proceso apoptótico (9). Esta visión parece confirmada al menos en el sistema nervioso en el que las neuronas para sobrevivir requieren la presencia continuada de factores neurotróficos (18). Sin embargo, esta puede ser una visión muy simplificada del proceso en otros sistemas.

Hasta la fecha los análisis más detallados mostrando la existencia de genes específicos que regulan el proceso apoptótico se han llevado a cabo en el laboratorio de Robert Horvitz en el Massachusetts Institute of Technology utilizando como modelo de experimentación *Caenorhabditis elegans* (19). Este organismo es un pequeño nematodo transparente en el que se puede monitorizar la evolución individual de todas células a lo largo del desarrollo embrionario. En este período, cada animal pierde de forma fisiológica 131 de las 1.090 células totales que lo constituyen (20). Además, se conocen detalladamente los mapas génicos del animal, con lo cual cualquier mutación que afecte a la muerte fisiológica de estas células puede ser analizada. A partir de estas consideraciones, el grupo de Horvitz ha aislado 14 mutaciones llamadas genéricamente ced (por Cell Death abnormal) que afectan al proceso de muerte. Entre éstas las más abundantes son aquellas que afectan a la eliminación de los cuerpos apoptóticos en etapas terminales del proceso (19). Sin embargo, existen otras mutaciones en las que la pérdida de función del gen impide por completo el inicio del proceso apoptótico (ced-3 y ced-4) (21,22) o bien lo incrementa enormemente (ced-9) (23). Análisis más detallados han determinado que ced-3 y ced-4 son expresados constitutivamente en la mayoría de células pero estas no entran en apoptosis por expresar simultáneamente ced-9 como elemento protector. Sólo en aquellos casos en que ced-3 y ced-4 se expresan en ausencia de ced-9 se puede observar el proceso de muerte.

Conocemos relativamente poco de ced-4 y bastante más de ced-3 y ced-9. ced-4 es un gen que codifica para una proteína de 63 kDa que no tiene homologías conocidas aunque tiene dominios de unión a calcio, sugiriendo una implicación de este ión en la regulación de su función y, por tanto, en la regulación de la apoptosis (24).

2. ced-3 y otras cisteína-proteasas en el proceso apoptótico

ced-3 codifica una cisteína proteasa citoplasmática dependiente de calcio y, tal como se ha descrito anteriormente, su funcionalidad es absolutamente imprescindible para que pueda llevarse a cabo el proceso de muerte programada en las células somáticas del nematodo Ellis y col., 1991). ced-3 tiene homología con otras cisteína proteasas entre las que se incluyen el enzima conversor de la interleucina 1b o ICE (por Interleukin-1b Converting Enzyme) (25,26,24), nedd-2/Ich-1 (25,26) y CPP32b/Yama (27,28). Son llamadas cisteína proteasas debido a la conservación estricta del pentapéptido QACRG (posiciones 361-365 en Ced-3) que contienen la cisteína imprescindible para su actividad funcional. La sobreexpresión de ICE en células de mamífero provoca su apoptosis (29,26,30) y se ha sugerido que estas mismas proteínas o similares son activas en células eucariotas superiores mediando el proceso apoptótico (en realidad hasta ahora ICE había sido implicada en la activación por de la interleucina 1b). Evidencias adicionales de la implicación de estas proteasas en el proceso apoptótico son la demostración experimental de que ciertas proteínas inhibidoras de la actividad cisteína-proteasa (como el gen vírico crm A) son capaces de antagonizar, no solamente los efectos de la sobreexpresión de ICE (30), sino la apoptosis endógena inducida en neuronas como consecuencia de privación de soporte neurotrófico *in vitro*, es decir, un fenómeno apoptótico que es similar del que ocurre de forma absolutamente fisiológica durante el desarrollo embrionario (31), la muerte por privación sérica en fibroblastos (32,26) y la muerte mediada por activación del receptor Fas o TNF (33). Otra de las líneas de investigación en este campo pretende demostrar cuales son los sustratos endógenos afectados por la activación de estas cisteína-proteasas. Los sustratos deben ser específicos si tenemos en cuenta que ICE tiene como diana de corte Asp (25,26). Esta especificidad es compartida por la granzima B (también llamada proteína celular citotóxica-1, fragmentina 2 o RNKP-1) (34,35). Ambas proteasas se inhiben funcionalmente por los mismos inhibidores (26). Estas observaciones son especialmente interesantes si tenemos en cuenta que granzima B es una serina-proteasa responsable de la apoptosis observada en las células diana del ataque de linfocitos T citotóxicos (34,35). En realidad, granzima B está contenida en los gránulos de secreción de estas células junto a otras proteínas entre las que se encuentra la perforina. Cuando el contenido de los gránulos es expulsado por exocitosis, la perforina crea poros en la membrana de las células atacadas y estos a su vez permiten el paso de granzima B al interior del citoplasma. La entrada de granzima B es suficiente y necesaria para la inducción de la apoptosis en las células (34,35). Se ha sugerido la posibilidad que ICE o, mas probablemente una proteasa relacionada, pudiesen ser

sustrato de granzima B. De hecho ICE se sintetiza como un precursor que es activado por proteólisis en residuos Asp. Se ha demostrado, sin embargo, que fisiológicamente ICE no es un sustrato de granzima B. Otro elemento interesante en este contexto es la conexión entre granzima B y p34cdc2. Se ha demostrado que la apoptosis inducida en las células diana del ataque de los linfocitos T citotóxicos requiere necesariamente la activación de esta quinasa asociada a ciclina (34). En circunstancias normales, p34cdc2 controla la progresión del ciclo celular entre G2-M abriendo la puerta a posibles conexiones entre los mecanismos que regulan la apoptosis y aquellos que controlan el ciclo celular.

La posibilidad que ICE sea el equivalente en mamíferos de ced-3 parece descartada porque los mutantes nulos de ICE se desarrollan normalmente y no parecen tener defectos claros en el proceso de apoptosis. Como ced-3 es imprescindible para el desarrollo del programa de muerte en el nematodo, parece claro que deben existir análogos de función en mamíferos. Existen en la actualidad varios candidatos y entre ellos, CPP32b/Yama y nedd-2/Ich-1.

Yama (derivado del nombre hindú para dios de la muerte)/CPP32b (derivado de Cysteine Protease Protein of molecular mass = 32 kDa) es un análogo estructural de ced-3 y de ICE con actividad cisteína proteasa con especificidad para Asp, inhibible por crmA. Un hecho importante en el proceso apoptótico de determinadas líneas celulares es la aparición de un fragmento proteico de 85 kDa producto de la degradación de la proteína nuclear de 116 kDa poli (ADP-ribosa) polimerasa. Este fragmento surge de un corte enzimático en un Asp del extremo carboxi-terminal y el responsable del corte es un enzima inhibible por crmA pero distinto de ICE (esta es incapaz de realizar este corte al menos *in vitro*) (36,37). Se ha sugerido que Yama/CPP32b pudiese realizar esta función dado que cumple todos los requisitos incluido el de cortar la poli (ADP-ribosa) polimerasa en Asp generando el fragmento de 85 kDa (28), sin embargo, su importancia funcional en sistema biológicos está por demostrar.

Ich-1 (derivado de ice and ced-3 homologue) / nedd-2 (derivado de mouse neuronal precursor cells-expressed, developmentally down-regulated genes (de 1 a 10)) fue aislado inicialmente a partir de un cerebro embrionario de ratón por ser un gen con elevada expresión durante las fases de muerte neuronal fisiológica y no era expresado por el cerebro adulto (nedd-2) (25). Su homólogo humano (ich-1) se aisló también a partir de una genoteca de expresión de cerebro humano embrionario (26). Este gen tiene homologías estructurales con ICE, ced-3 y CPP32b/Yama y además presenta actividad cisteína proteasa, pero a diferencia de las otras proteasas, su actividad no es

inhibible por *crm A*. Su sobreexpresión en células de mamífero provoca apoptosis inhibible por *Bcl-2*. Su patrón de expresión, elevada en determinados órganos (especialmente cerebro y riñón) durante las épocas embrionarias de muerte celular fisiológica, sugiere que tenga una función importante en el proceso apoptótico.

3. *bcl-2* y otros genes relacionados

Uno de los tumores hematológicos malignos más frecuente, el linfoma centrofolicular, se asocia con una translocación recíproca de tipo $t(14;18)(q32;q21)$. Esta translocación sitúa el enhancer de la cadena pesada de las inmunoglobulinas del cromosoma 14, en la región del gen *bcl-2* en el cromosoma 18 (38). El gen *bcl-2* (B-Cell Lymphoma / Leukaemia - 2) localizado en 18q21 codifica una proteína de 26 kDa que se ancla en las membranas de mitocondrias, retículo endoplásmico y membrana nuclear, a través de un dominio transmembranario situado en el extremo carboxi-terminal. En el caso del linfoma centrofolicular la desregulación por sobreexpresión comporta la expansión clonal de las células con la translocación produciendo un tumor de bajo grado de malignidad (39). Se cree que *bcl-2* contribuye a la oncogénesis previniendo la apoptosis inducida por multitud de estímulos tanto endógenos como exógenos. En este sentido se ha demostrado que la sobreexpresión de *bcl-2* es capaz de prevenir la apoptosis debida a ausencia de soporte trófico en las células del sistema inmune (40), nervioso (41,42) y es capaz de retrasar la apoptosis inducida por radiación, choque de calor y multitud de drogas antineoplásicas en distintos tipos celulares (43,44,45).

bcl-2 se expresa ampliamente en tejidos fetales pero en el adulto se restringe a células con una elevada capacidad de división (células de reserva) incluyendo las de las criptas epiteliales del intestino, la epidermis y progenitores de células hematopoyéticas. La expresión en estas localizaciones disminuye a medida que las células transitan a estadios de maduración superiores o bien en aquellas células que van a ser eliminadas o sufrir un proceso de selección. Otra localización típica con elevada expresión de *bcl-2* en animales adultos son las células postmitóticas de larga vida (p. e. las neuronas del sistema nervioso) (46). Los animales con ausencia funcional de *bcl-2* (mutantes nulos) son perfectamente viables hasta el nacimiento sin presentar anomalías de consideración. Sin embargo, estos animales mueren al cabo de 2-10 semanas como consecuencia de apoptosis fulminante en los nódulos linfáticos y por enfermedad poliquística renal. Otros tejidos que expresan *bcl-2*, como el sistema nervioso y la médula ósea aparecen sin trastornos importantes (47,48). Esto sugiere la redundancia de función por otros genes en estas

localizaciones (46). El gen *bcl-2* se ha conservado a lo largo de la evolución. Así, encontramos un homólogo (*ced-9*) en *C. elegans* que realiza una función de prevención de la muerte celular durante el desarrollo embrionario. *bcl-2* es capaz de reemplazar la función de *ced-9* en el desarrollo embrionario de *C. elegans* (12) y la sobreexpresión de *ced-9* es capaz de antagonizar la apoptosis debida a distintos estímulos en células eucariotas superiores de forma similar a la de *bcl-2* (23). La relación estructural y funcional entre *bcl-2* y *ced-9* ha permitido aislar nuevas moléculas de características similares (análogos de estructura o de función). Actualmente esta familia incluye a 11 genes distintos (ver tabla I). La homología estructural entre los distintos miembros de la familia se concentra en dos regiones llamadas BH1 y BH2 (por *Bcl-2* Homology) que a su vez son los responsables de los procesos de dimerización entre los distintos miembros y de la actividad antiapoptótica de *Bcl-2* (49). Otra región de homología es el extremo carboxi-terminal en el que existen secuencias de anclaje a membrana. La sustitución de los aminoácidos Gly 145 en el dominio BH1 y Trp 188 en el BH2 de *Bcl-2* elimina completamente su capacidad de protección. Es interesante destacar que estas mutaciones a su vez alteran la capacidad de *Bcl-2* de formar heterodímeros con ciertos miembros de la familia (*Bax*) sin afectar la capacidad de homodimerización. Por tanto, la capacidad antiapoptótica de *Bcl-2* pasa por dimerizar con *Bax* (50,51). El tercer miembro de la familia es *bcl-x*. Fue aislado realizando el rastreo de una librería de expresión con una sonda *bcl-2*. *bcl-x* genera tres transcritos por uso alternativo llamados *Bcl-XL*, *Bcl-Xb* y *Bcl-XS*. *Bcl-XL* exhibe una alta homología con *bcl-2*, tanto estructural como funcional. Así, cuando es sobreexpresado en una línea linfocitaria dependiente de IL-3 para su supervivencia, ésta se convierte en independiente de factor trófico (52). *Bcl-Xb* exhibe las mismas propiedades funcionales que *Bcl-XL* aunque le falta la parte de anclaje membranario en el extremo carboxi-terminal. *Bcl-XS* carece de una región interna de 63 aminoácidos que incluye las regiones de mayor homología con *bcl-2*. La transfección de células de mamífero con *Bcl-XS* es incapaz de impedir la muerte celular e incluso la facilita, inhibiendo el efecto antiapoptótico de *bcl-2* (52) probablemente por competición por sustratos comunes. En cualquier caso, no se ha podido demostrar la formación de heterodímeros entre *Bcl-XS* y *Bcl-2*. *Bcl-XL* es la forma mayoritaria de mRNA de *bcl-X* expresado durante el desarrollo embrionario y postnatal. En el adulto es especialmente abundante en el sistema nervioso, riñón, médula ósea y timo. A diferencia del mutante nulo para *bcl-2*, el mutante nulo para *bcl-x* no es capaz de sobrevivir más allá del día 13 embrionario. Los órganos más afectados son el sistema nervioso, en el que se observa muerte masiva de neuronas postmitóticas y las células hematopoyéti-

cas. En ambos casos, la muerte observada es de tipo apoptótico implicando directamente a este gen en la regulación de la muerte celular programada (53). Además, el fenotipo final resultante, muerte masiva, sugiere una mayor importancia para la forma larga (Bcl-XL) que impide la apoptosis, al menos durante el desarrollo embrionario normal. Al cuarto miembro de la familia se le denomina bax (bcl-2-associated X protein) y fue identificado por su capacidad para coprecipitar con Bcl-2 (54). Bax es una proteína de 21 kDa con un 21% de homología con Bcl-2 concentrada en los dominios BH1 y BH2 y que forma heterodímeros con Bcl-2 y homodímeros consigo mismo. La asociación entre Bcl-2 y Bax se produce de forma fisiológica en la células aún sin estímulos apoptóticos. Cuando Bcl-2 está en exceso predominan los homodímeros Bcl-2 y la célula está protegida. Cuando Bax está en exceso predominan los homodímeros de Bax y la célula es susceptible a la apoptosis. La sobreexpresión de bax inhibe la función de Bcl-2 y acelera la apoptosis inducida por señales de muerte. Sin embargo, la sobreexpresión per se no induce apoptosis. Sabemos que un mismo tipo celular puede tener variaciones con respecto a su susceptibilidad para resistir estímulos apoptóticos. El sistema de interacción Bcl-2: Bax representa un reostato propio de la célula que predetermina la respuesta de supervivencia o muerte frente a un estímulo tóxico. Sin embargo, la aparición de nuevos genes y nuevas interacciones entre ellos hacen esta visión demasiado simple. Así por ejemplo, Bax interacciona también con Bcl-XL y antagoniza el efecto de supervivencia de la misma de modo similar al que lo hace con Bcl-2. Ello contribuye a establecer un escenario de múltiples interacciones entre los miembros de la familia con resultados finales antagónicos (muerte-vida). Finalmente, se ha demostrado que el gen supresor de tumores p53 es un activador transcripcional positivo de bax (es decir, incrementa su expresión) (55), y un regulador transcripcional negativo de bcl-2 (es decir, disminuye su nivel de expresión) (56). Todo ello hace pensar que p53 pueda mediar sus efectos apoptóticos a través de este sistema. El quinto miembro de la familia se llama bad (probablemente sea el homólogo en ratón del bak humano (57,58 59). bad fue aislado con el sistema de dos híbridos y por clonaje de expresión debido a su capacidad para interaccionar con Bcl-2. Esta proteína puede unirse con Bcl-XL y es altamente homóloga a Bcl-2 en las regiones BH1 y BH2. Sin embargo no interacciona con Bcl-XS, Bax, Mcl-1, A1 o consigo misma. Bad se une más fuertemente a Bcl-XL que a Bcl-2 y es capaz de revertir el efecto protector de Bcl-XL pero no el de Bcl-2. Se ha demostrado que Bax es capaz de dimerizar con Bcl-XL. Este secuestro de Bax por parte Bcl-XL podría ser la forma en que Bcl-XL favorecería la prevención de la apoptosis. Cuando Bad forma dímeros con Bcl-XL, Bax queda desplazado de Bcl-XL y, en consecuencia, libre, aumentando así

la cantidad de Bax disponible para producir homodímeros Bax mediadores del proceso de muerte (60). Finalmente, otros genes relacionados incluyen mcl-1 y A1. Estos fueron aislados por hibridación sustractiva y ambos tienen notables similitudes con bcl-2 y bcl-x en especial en los dominios BH1 y BH2. Ambos son genes tempranos que se inducen de forma transitoria por señales de diferenciación o factores tróficos y tienen actividad anti-apoptótica (50). Su significación funcional está aún por demostrar.

TABLA I

ANÁLOGOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES:

Bcl-X_L
 Bcl-X_b
 MCL-1
 A1
 ced-9
 EBV-BHRF1
 ASFV-LMW5-HL

ANÁLOGOS ESTRUCTURALES CON FUNCIÓN ANTAGONISTA:

Bax
 Bcl-X_S
 Bad
 Bak

ANALOGÍA FUNCIONAL SIN ANALOGÍA ESTRUCTURAL

E1B 19K
 EBV-LMP1
 Bag-1

4. Apoptosis y terapia anticancerígena

Por todo lo mencionado hasta este ahora es posible que en la génesis de muchas neoplasias subyazcan alteraciones en los mecanismos de control de la apoptosis. Además, la posibilidad de regular la expresión de los genes mencionados ofrece enormes perspectivas terapéuticas. bcl-2 fue identificado como oncogén en linfomas centrofoliculares y se ha demostrado experimentalmente que la sobreexpresión de bcl-2 o de bcl-XL confiere resistencia a muchos de los agentes terapéuticos utilizados corrientemente. Es posible por tanto, que las alteraciones en la regulación de estos proto-oncogenes sean las

responsables de la resistencia a agentes anti-cancerígenos en neoplasias humanas. No hay que olvidar en este contexto que la visión clásica de que los agentes anti-tumorales o las radiaciones provocan muerte en las células tumorales debida a un daño metabólico irreversible, esta muy cuestionada. En la actualidad pensamos que los agentes quimioterapéuticos producen alteraciones metabólicas frente a las cuales la célula responde de forma específica con apoptosis. Este fenómeno se extiende de forma particular a aquellos agentes que inducen daño cromosómico. Este tipo de lesión cursa típicamente con apoptosis mediada por p53. Esta proteína está mutada funcionalmente en muchas de las neoplasias humanas que además acumulan multitud de otras mutaciones genómicas. Pensamos que la integridad de p53 es indispensable para que no se perpetúen células que han acumulado daño génico. Cuando p53 está activa actúa como detector de mutaciones e induce parada proliferativa en G1/G0 o la muerte apoptótica. En el futuro inmediato las estrategias terapéuticas en el tratamiento de las neoplasias deberán contemplar la posibilidad de alterar la regulación de las proteínas mencionadas para que se restablezca la respuesta apoptótica en aquellas células que la han perdido. Cabe pensar en tratamientos con oligonucleótidos antisentido contra bcl-2 o bcl-X en aquellos tumores en los que este gen esté sobreexpresado. De forma más genérica, existe la posibilidad de crear vectores de terapia génica en los cuales incorporar específicamente genes implicados en los fenómenos de supervivencia y muerte celular para facilitar el establecimiento o eliminación de células alteradas genéticamente *in vivo*. Quizás estos sean unos objetivos muy ambiciosos y difíciles de conseguir, sin embargo, el tipaje o clasificación de un determinado tumor en base a las alteraciones génicas que presente en los genes que controlan la apoptosis celular, deberá permitir una elección racional de la agresividad terapéutica a aplicar para conseguir la curación de la neoplasia.

Agradecimientos: La investigación del Grupo de Neurobiología Molecular de la UdL está financiada por El Fondo de Investigaciones Sanitarias (Ministerio de Sanidad y Consumo), Generalitat de Catalunya, Ayuntamiento de Lleida y Telemaratón de TV3.