

Desgaste muscular en caquexia asociada a neoplasia: mecanismos proteolíticos implicados

Rodrigo Moore-Carrasco¹, Mauricio Poblete-Bustamante², Oscar González-Guerra³, Lilianet Guajardo-Palavecino¹, Iván Palomo-González¹

¹Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunohematología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile. ²Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Talca, Chile. ³Hospital San Agustín, Collipulli, Chile

RESUMEN

La caquexia asociada a neoplasia es un síndrome caracterizado por una notable pérdida de peso, anorexia, astenia y anemia. De hecho, un alto porcentaje de pacientes que mueren con un cáncer avanzado presentan caquexia. El estado caquético está invariablemente asociado con la presencia y crecimiento del tumor, el cual produce un estado de malnutrición debido a la inducción de anorexia. Por otro lado, las alteraciones metabólicas y la competencia por los nutrientes entre tumor y huésped conllevan al paciente a un acelerado estado de desgaste. Si bien es cierto que este desgaste acelerado causado por la anorexia y las alteraciones metabólicas que produce el hipermetabolismo, explican gran parte de los eventos presentes en este síndrome, no podemos dejar de lado las alteraciones moleculares. En este sentido, cobran gran importancia los sistemas proteolíticos; tanto en modelos animales portadores de tumor como en pacientes con cáncer se observa un aumento en la expresión y actividad de los sistemas proteolíticos lisosomales como no lisosomales, con especial énfasis en el sistema proteolítico dependiente de ATP y ubiquitina, proteasoma.

Palabras clave: Caquexia, cáncer, proteasas

SUMMARY

Muscle waste in cancer cachexia, proteolytic mechanism

The cachexia associated to neoplasm is a syndrome characterized by a remarkable loss of weight, anorexia, loss of muscle mass and anemia. In fact, a high percentage of patients who die of advanced cancer show cachexia. The cachexia condition is associated with the presence and the growth of tumor that produces a condition of malnutrition as a consequence of anorexia. On the other hand, the metabolic disorders and the competence for nutrients between tumoral and normal cells induce an accelerated condition of wear out of patients. Though, it is certain that this accelerated wear out is caused by anorexia and the metabolic disorders that produce the hypermetabolism, all together explain to a great extent the events present in this syndrome however, the molecular disfunctions cannot be left aside. In this sense the proteolytic system is of great importance, in animal models with developed tumors as in patients with cancer, it is observed an increase in the expression and activity of the proteolyses system; both, lysosomal and non lysosomal, in particular the proteolytic system dependent of ATP and ubiquitin "proteasome".

key words: Cachexia, cancer, proteases

Solicitud de sobretiros: Prof. Dr. Rodrigo Moore Carrasco, Depto. Bioquímica Clínica e Inmunohematología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Av. Lircay s/n, Talca, Chile. Casilla 747, Fono: 56-71-200491, Fax: 56-71-200488, E-mail: rmoore@utalca.cl

Recibido: el 10 de diciembre de 2007. **Aceptado para publicación:** el 13 de enero de 2008.

Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb071837.pdf>

INTRODUCCIÓN

La caquexia es un síndrome frecuentemente asociado al crecimiento tumoral, así como también a otros estados patológicos como son sepsis, SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida), diabetes, entre otros (**Figura 1**).

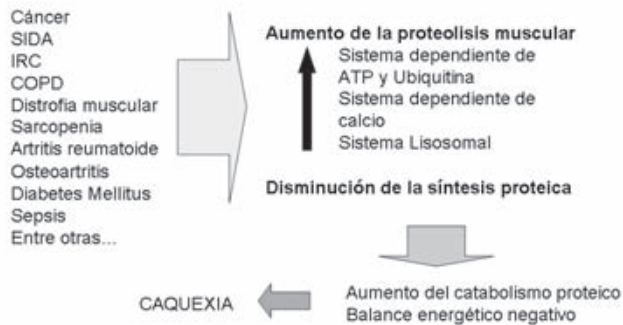


Figura 1. Desarrollo de la caquexia. Muestra la evolución del síndrome de la caquexia en las distintas enfermedades que la presentan, los mecanismos proteolíticos relacionados y la aparición del estado patológico. SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida. IRC: Insuficiencia renal crónica. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

La caquexia se caracteriza por una importante y progresiva pérdida de peso corporal debida principalmente a la desaparición de las reservas de grasa y a la disminución de masa muscular. Está acompañada también de anorexia, náuseas, astenia, debilidad, alteración de la homeostasis hormonal e inmunodepresión (1) (**Figura 2**).



Figura 2. Alteraciones presentes en la caquexia. Se muestran las alteraciones que acompañan al síndrome de la caquexia.

Una pérdida de peso superior al 30% se considera irreversible (2); esto ha motivado

amplios estudios para dilucidar la etiopatología de la caquexia. Otro hecho importante es que los pacientes que presentan este síndrome tienen una peor respuesta a la quimioterapia (3) y a la cirugía (4). La caquexia es responsable del 22% de las muertes en enfermos con cáncer; de hecho, el grado de caquexia está inversamente correlacionado con el tiempo de supervivencia del paciente, y siempre implica un pronóstico desfavorable (5). De los pacientes con cáncer, de un 16 a un 73% presentan los síntomas de la caquexia (6).

Entender la etiopatogenia de este síndrome es muy complejo, pero podemos caracterizarlo por un desgaste que padecen algunos tejidos como son el músculo esquelético y el tejido adiposo. Teniendo en cuenta lo anterior, podemos diferenciar dos componentes básicos entre las causas que conducen al estado caquéctico: como primer punto tenemos la disminución de la ingesta observada en los pacientes con cáncer, y por otro lado las alteraciones de carácter bioquímico y fisiológico que padecen estos pacientes por la presencia del tumor. Las alteraciones de los factores humorales y tumorales se consideran la causa de la pérdida de las reservas de grasa y del tejido muscular (7).

La presencia y crecimiento del tumor están asociados invariablemente a un estado de malnutrición debido a la inducción de anorexia o disminución de la ingesta, lo que conduce a un estado de malnutrición. Se han encontrado múltiples factores que intervienen y favorecen la pérdida de peso en los pacientes con cáncer, pero ninguno de éstos es capaz de explicar la etiología de este síndrome. Uno de estos factores puede ser una obstrucción mecánica del tracto gastrointestinal, que conlleva a una absorción deficiente de los nutrientes (8). Otro factor muy importante y frecuente es la anorexia, que provoca una menor ingesta. Debemos tener en cuenta que el crecimiento tumoral compite con el huésped por los nutrientes, lo que lleva al paciente a un acelerado estado de inanición, que provoca a su vez graves perturbaciones metabólicas en el individuo (9,10).

MECANISMOS IMPLICADOS EN LA CAQUEXIA

Aunque la malnutrición y la competencia metabólica que se establecen entre el tumor y el huésped están implicadas en la caquexia, se han de tener en cuenta diferentes factores circulantes liberados por el tumor directamente y/o generados por la reacción del huésped frente al tumor, y que desarrollan un papel crucial. Algunos de los efectos sistémicos que se observan en individuos con cáncer han sido atribuidos a factores lipolíticos y proteolíticos circulantes producidos o inducidos por el tumor (11). Además, el estado hormonal del huésped puede tener un papel importante, ya que se han descrito niveles elevados de hormonas catabólicas, niveles bajos de insulina y resistencia a la insulina en tejidos periféricos (Figura 3).

La proteólisis intracelular cumple una importante función, ya que muchos aspectos fisiológicos y del desarrollo celular están controlados por la degradación de proteínas específicas. En el caso concreto del músculo esquelético, las proteínas están sometidas a un recambio continuo, que es el resultado del balance entre la tasa de síntesis y degradación proteica.

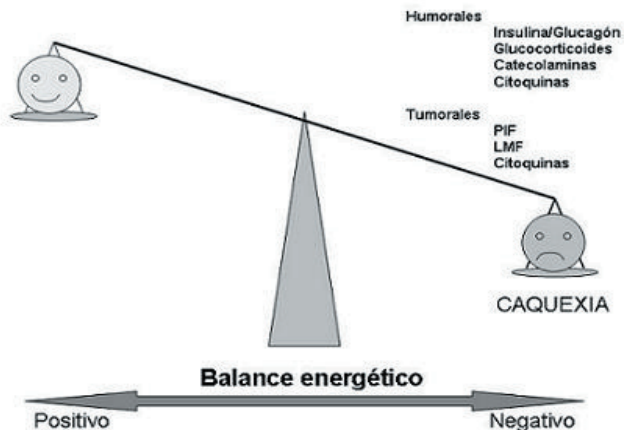


Figura 3. Mediadores de la caquexia. Desbalance energético producido en el organismo. Aumentan los metabolitos humorales (insulina/glucagón, glucocorticoides, catecolaminas, citoquinas) como los tumorales (PIF, LIF, citoquinas). PIF: Factor inductor de proteólisis, LIF: Factor inhibidor de leucemia.

La regulación de la proteólisis muscular juega un papel muy importante en la homeosta-

sis energética, el control de la masa muscular y el crecimiento corporal, así como en diferentes situaciones fisiológicas y patológicas (Figura 1).

Mientras que la biosíntesis de proteínas es un proceso bastante conocido, al menos en términos generales, el catabolismo de las proteínas no está tan claro. A pesar de todo, los conocimientos sobre los mecanismos de la proteólisis intracelular han experimentado un gran avance durante los últimos años. Actualmente es bien conocido que las células de los mamíferos tienen diferentes sistemas proteolíticos que se utilizan para diferentes funciones fisiológicas.

Sistema proteolítico dependiente de calcio

Las calpaínas o proteinasas neutras activadas por calcio (CANPs) son proenzimas reguladas, al menos *in vitro*, por su unión al calcio y modificaciones autoproteolíticas. Además, la identificación de dos proteínas reguladoras, un inhibidor y un estimulador, indica que estas proteasas forman parte de un complejo sistema proteolítico ampliamente distribuido entre las células eucariotas. Las calpaínas son enzimas intracelulares, la mayoría de las cuales son citosólicas, y entre un 7 y un 30 % están asociadas a estructuras de membrana (12).

La actividad de las calpaínas ha sido estudiada en diferentes patologías musculares; en este sentido, se han encontrado elevados niveles de calpaínas en músculo cardíaco asociados a cardiomiopatías y a hipertensión (13).

Aunque las funciones exactas de las calpaínas todavía no se conocen, parece ser que están relacionadas con la proteólisis específica en acontecimientos que pueden alterar la estructura y el metabolismo intracelular (14). En el músculo de ratas portadoras del tumor Yoshida AH-130, se presenta una clara inducción de la expresión de m-calpaína, mientras que la expresión de la calpaína 3, que es específica del músculo, disminuye; este fenómeno se trataría de un mecanismo contrarregulador de la proteólisis muscular (15,16).

Sistema proteolítico dependiente de ATP y ubiquitina

La ubiquitina se encuentra implicada en un listado casi inacabable de procesos celulares. Ausente en procariotas, esta proteína de 76 aminoácidos está presente en todos los eucariotas estudiados, tanto en forma libre como unida a una gran variedad de proteínas citoplasmáticas, nucleares y de membrana. Se ha postulado que el sistema proteolítico dependiente de ubiquitina sería una de las principales vías por la cual se degradarían selectivamente las proteínas intracelulares. Todas las funciones celulares en las que participa las realiza a través de su asociación con un complejo sistema multienzimático (“sistema de la ubiquitina” o “sistema ubiquitina/ATP-dependiente”), que se encarga de unir o desunir moléculas de ubiquitina a una gran variedad de sustratos proteicos. Las características más relevantes de esta proteína son su gran conservación a lo largo de la escala evolutiva, su gran abundancia y su gran estabilidad estructural. Se ha demostrado que la ubiquitinización juega un importante papel en el metabolismo de tres tipos relevantes de macromoléculas: proteínas, RNA y DNA (17).

La ubiquitina es una proteína de pequeño tamaño, con un peso molecular de 8.5 kDa. Su estructura cristalina, así como el análisis por resonancia magnética nuclear (18,19), revelan una conformación globular compacta, constituida por cinco láminas β y una hélice α de tres vueltas y media. Contiene un núcleo hidrofóbico y un gran número de puentes de hidrógeno, lo que explica su gran estabilidad frente a los cambios de temperatura (es estable por debajo de los 80°C) y de pH (permanece plegada entre pH 1-13) (20), así como su resistencia a la degradación proteica aún manteniendo un estrecho contacto con las proteasas de su sistema. Uno de los puntos más característicos de la estructura de la ubiquitina es que su extremo C-terminal (Arg₇₄-Gly₇₅-Gly₇₆) sobresale de la estructura globular formando un apéndice de gran movilidad. A través de este extremo interactúa con las enzimas de su sistema (E1,E2,E3), así como con las proteínas diana.

La ubiquitina es una de las proteínas más

abundantes en la célula junto con la actina, la tubulina y las histonas; se ha estimado que, dependiendo del tipo celular, existen del orden de 8×10^7 a 2×10^8 moléculas de ubiquitina por célula (21,22). La ubiquitina se encuentra en un equilibrio dinámico entre la forma libre y las formas conjugadas, sea con histonas, con proteínas de alto peso molecular, o con enzimas de activación o conjugación de su sistema (22).

Ésta es, sin duda, la función más estudiada y conocida de la ubiquitina (23-25). El sistema de la ubiquitina ejerce un importante papel tanto en la degradación de la mayor parte de las proteínas celulares, como en el proceso selectivo y presentación de antígenos por el complejo MHC de clase I.

En la célula, la ubiquitina se puede encontrar libre o bien conjugada mediante una unión covalente entre su extremo C-terminal y el grupo ϵ -amino de los residuos de lisina de las proteínas. Para que tenga lugar la degradación de proteínas por este sistema, es necesaria la unión covalente de la ubiquitina a los sustratos proteicos. Las proteínas conjugadas con múltiples ubiquitinas son las que tienen una mayor probabilidad de ser degradadas por este sistema. La conjugación de la ubiquitina a los sustratos proteicos es un proceso que tiene lugar en sucesivas reacciones en las que están implicados diferentes enzimas del sistema de la ubiquitina y que requiere de la presencia de ATP.

La primera reacción consiste en la activación de la ubiquitina, reacción catalizada por la enzima E1 o “enzima activadora de la ubiquitina”. Es una reacción dependiente de ATP en la que se forma adenilato de ubiquitina, seguida de la transferencia del extremo C-terminal de la ubiquitina a un residuo cisteína de la enzima E1 mediante un enlace tioéster. E1 está asociada a los tres componentes principales del citoesqueleto. La distribución variable de E1 en las líneas celulares estudiadas y la aparente distribución en el citoesqueleto sugieren que esta enzima y el sistema dependiente de ubiquitina tienen funciones pleiotrópicas (26).

La ubiquitina activada es transferida de la enzima E1 a un residuo específico de cisteína de una de las diferentes enzimas E2 (“enzimas conjugadoras o transportadoras de la ubiquitina”) mediante un enlace tioéster. Finalmente, estas enzimas E2 transfieren la ubiquitina al sustrato proteico, y se forma así una proteína conjugada ramificada en la que el extremo C-terminal del residuo de glicina-76 de la ubiquitina se une mediante un enlace isopeptídico a residuos de lisina internos de la proteína diana.

Algunas de las reacciones de conjugación ubiquitina-proteína requieren de la presencia de un tercer tipo de enzimas llamadas E3 o ubiquitina-ligasas, que ayudan al reconocimiento de los sustratos susceptibles de ser ubiquitinizados (27,28). En estos casos, la unión de la ubiquitina a las proteínas diana tiene lugar en dos etapas: primero el sustrato proteico se une a un lugar específico de E3, y después la ubiquitina activada es transferida de E2 a la proteína. Se ha sugerido que, para facilitar esta transferencia, es probable que E3 tenga un lugar de unión a E2. Debido a la alta estabilidad de los lugares de unión del sustrato proteico, E3 parece ejercer un importante papel en la selección de las proteínas que han de ser degradadas.

Las proteínas ubiquitinizadas pueden ser degradadas por el llamado complejo proteasoma 26S (1500 kDa) dependiente de ATP (29,30), o bien la ubiquitina puede liberarse de la proteína diana por acción de ciertas hidrolasas (31), con lo que se generaría ubiquitina libre, que podría ser reutilizada en un nuevo ciclo de conjugación. El proteasoma 26S funciona como una proteasa dependiente de ATP, y está implicado en la degradación de proteínas anormales, proteínas reguladoras de vida corta y de antígenos de presentación (32).

Estudios electroforéticos e inmunoquímicos han permitido demostrar que el gran complejo 26S degrada sustratos multiubiquitinizados de una forma dependiente de ATP, tiene una actividad ATP-asa que le suministra la energía necesaria para la proteólisis, y presenta una actividad isopepti-

dasa que genera ubiquitina libre dependiente de Mg^{2+}/ATP . El proteasoma 26S no se detecta sólo en el citoplasma, sino también en el núcleo, lo que sugiere que este sistema proteolítico controla tanto las proteínas citosólicas como las nucleares. El complejo 26S parece ser el responsable de la proliferación y diferenciación de las células a través de la eliminación selectiva de varias proteínas reguladoras implicadas en la progresión del ciclo celular. Se han obtenido evidencias que demuestran que el proteasoma es el responsable de la proteólisis del sistema de la ubiquitina. Es interesante destacar que no siempre la ubiquitinización es esencial para el reconocimiento de los sustratos por el proteasoma, y existen evidencias que así lo demuestran (33).

El último paso en el mecanismo proteolítico de la ubiquitina consiste en la regeneración de la ubiquitina libre y su reutilización, en un proceso llevado a cabo por las hidrolasas C-terminales de la ubiquitina o isopeptidasas. Para poder reciclar la ubiquitina después de la degradación proteica, se requiere la actividad de estas enzimas, que actúan sobre los puentes isopeptídicos de la ubiquitina con la proteína conjugada y dan lugar a la escisión de la ubiquitina de los péptidos pequeños. Estas enzimas también son necesarias para la conjugación reversible de proteínas con ubiquitina, para eliminar la ubiquitina de las proteínas conjugadas “incorrectamente”; en este caso, estas enzimas tendrían una posible función correctora (31).

Respecto al funcionamiento de la proteólisis asociada a la ubiquitina, hay todavía varios puntos por resolver. Uno de ellos sería la existencia de un *pool* de proteínas conjugadas con ubiquitina que son metabólicamente estables y no son degradadas, lo cual sugiere que la proteólisis no es la única función del sistema de la ubiquitina. Se han detectado conjugados estables con ubiquitina de las siguientes proteínas: las histonas H2A y H2B (34), la actina, el receptor de PDGF (35), y el receptor de la hormona del crecimiento, y estas ubiquitinizaciones pueden ser reversibles. De manera análoga a la fosforilación de las pro-

teínas, la ubiquitinización reversible podría tener un importante papel modulando la función de las proteínas marcadas.

Existen tres vías principales por las cuales una proteína que ha de ser degradada es reconocida y ubiquitinizada: 1) que esté mal plegada o presente daños en su estructura; 2) que sea ubiquitinizada en función de las señales que presente, es decir, que esté programada genéticamente; 3) que sufra modificaciones inducibles como la fosforilación (36).

La regulación de la conjugación de la ubiquitina se lleva a cabo a través de mecanismos post-traduccionales. Se ha especulado que la actividad de las diferentes enzimas del sistema ubiquitina podría estar regulada por fosforilación. Por otro lado, parece ser que el control del sistema de la ubiquitina podría estar directamente regulado en el ámbito de los sustratos proteicos; de hecho, diferentes autores sugieren que ha de existir una serie de mecanismos responsables de los cambios moleculares que transforman a las proteínas en sustratos del sistema de la ubiquitina. Por ejemplo, el estrés, el calor, análogos de aminoácidos, etanol y metales pesados, pueden afectar la estructura de las proteínas, y conducir a la exposición de lugares de reconocimiento críticos de éstas para E2 o E3. Estos cambios, que transforman las proteínas normales en sustratos de la conjugación de la ubiquitina, pueden ser debidos a diferentes mecanismos; por ejemplo, en el caso de las ciclinas tiene lugar a través de fosforilaciones (37). Actualmente se sabe que la mayoría de las proteínas citosólicas tienen un extremo N-terminal acetilado, y son degradadas por el sistema de la ubiquitina, y que las proteínas del músculo caquético lo hacen por este sistema (38).

Un punto interesante es el mecanismo mediante el cual las proteínas son reconocidas por el sistema de la ubiquitina. Uno de los primeros modelos propuestos sobre el reconocimiento de sustratos en la degradación proteica se basa en el residuo aminoacídico en posición N-terminal. La “regla N-terminal” (*N-end rule*) propone que la

vida media de las proteínas *in vivo* está en función de tipo de residuo N-terminal (39). Por tanto, los 20 aminoácidos se pueden clasificar como “estabilizadores” o “desestabilizadores” respecto a la vida media que confieren a la proteína cuando están situados en éste. Rogers y colaboradores observaron que todas las proteínas de vida corta contenían regiones ricas en prolina (P), ácido glutámico (E), serina (S) y treonina (T). Por tanto, estas secuencias, llamadas PEST, constituyen una señal que marca a ciertas proteínas para que sean degradadas rápidamente (40). Treinta de las 32 proteínas de vida corta estudiadas contenían una o más secuencias PEST (41). La regla N-terminal puede estar implicada solamente en un número limitado de sustratos proteicos, ya que pocas proteínas son marcadas para la conjugación y su degradación por esta vía.

El desgaste muscular que se produce en situaciones caquéticas tales como el cáncer, las infecciones crónicas o los traumatismos, parece estar relacionado con un aumento en la degradación de proteínas, sin apenas cambios en el patrón de síntesis, lo que lleva a la aparición de un claro balance nitrogenado negativo a nivel del tejido muscular (**Figura 1**). La aparente selectividad del sistema dependiente de ubiquitina lo hace un candidato considerable para explicar el desgaste muscular (42,43). Posteriormente este papel ha sido confirmado para diversos estados patológicos (9).

García-Martínez y colaboradores han determinado un aumento en las proteínas conjugadas a la ubiquitina en ratas portadoras del hepatoma ascítico Yoshida AH-130 (15). También ha demostrado un incremento de algunos de los genes relacionados con este sistema proteolítico en el mismo modelo tumoral inductor de caquexia (44). Esta activación del sistema proteolítico dependiente de ubiquitina y ATP ha sido demostrada en el modelo de incubación de músculo esquelético *in vitro* (45). Dejong y colaboradores han determinado un aumento en la expresión de uno de los transcritos codificantes para la ubiquitina en

pacientes con cáncer de páncreas (46). Bossola demostró un incremento en la expresión del mRNA de la ubiquitina, así como que este parámetro no se correlaciona con el estado nutricional del paciente, y que la activación de la expresión de la ubiquitina precede a los síntomas clínicos de la caquexia (47).

La activación de este sistema parece no estar relacionada con la concentración de glucocorticoides en plasma, ya que un antagonista del receptor de glucocorticoides (RU38486) no logra revertir la activación de este sistema (48). En cambio, en situación de ayuno los glucocorticoides sí que son capaces de activar este sistema proteolítico (49). La activación de este sistema proteolítico es revertida por la administración de clenbuterol, un agonista β_2 -adrenérgico (50).

El TNF- α tiene un papel muy importante en la activación del sistema de la ubiquitina. El tratamiento con anticuerpos anti-TNF- α revierte el incremento de los niveles de expresión de la ubiquitina y C8 (una de las subunidades del proteasoma), en el músculo esquelético de ratas portadoras de tumor (51). En ratones *knockout* para el receptor de TNF- α de tipo I, la implantación del carcinoma pulmonar de Lewis no produce niveles altos de expresión de los genes involucrados en el sistema proteolítico dependiente de ubiquitina y ATP, lo que indica que la activación de este sistema en presencia de tumor es debido en parte a la unión del TNF- α a su receptor de tipo I (52). En ratones portadores del carcinoma pulmonar de Lewis, la sobreexpresión del receptor soluble de tipo I no logra revertir los efectos producidos por el tumor (53). Además, la administración de TNF- α incrementa la expresión de la ubiquitina en el músculo de ratas sanas (54). Llovera y colaboradores han demostrado que el TNF- α puede actuar directamente sobre la activación del sistema proteolítico dependiente de ubiquitina y ATP (55).

Otras citoquinas, como el IFN- γ y la IL-1 administradas intravenosamente, producen un incremento de la expresión de los genes de la ubiquitina, mientras que IL-6 y LIF (factor inhibidor

de leucemia) no producen ningún cambio en la expresión de los genes de este sistema proteolítico (52). Otros estudios indican que IL-1 no parece estar involucrada en la activación de la proteólisis en ratas portadoras de tumor (50).

Hay trabajos que apuntan a que, en situaciones catabólicas, hay una mayor degradación por parte del sistema dependiente de ubiquitina de la fracción miofibrilar del músculo. En este sentido, Helliwell y colaboradores encontraron que la atrofia de las fibras musculares observada en pacientes en estado crítico estaba asociada con la pérdida de filamentos de miosina y con la presencia de ubiquitina y enzimas lisosomales (56).

Se ha demostrado que el músculo soleus tiene un *pool* de ubiquitina libre y de conjugados intracelulares más grande que el de otros músculos mixtos (extensor digitorum longus, plantaris y gastrocnemius), lo que sugiere que estos valores han de ser específicos del tipo muscular. En cambio, el porcentaje de conjugación (ubiquitina conjugada/ubiquitina conjugada + ubiquitina libre) es similar en los cuatro músculos; esto implica que éste es más específico del tejido muscular que del tipo de músculo (57). Estas diferencias en el *pool* de ubiquitina están correlacionadas inmunohistoquímicamente con la composición del tipo de fibras musculares que componen los diferentes tipos de músculos; por ejemplo, el músculo soleus está compuesto casi exclusivamente de fibras oxidativas, mientras que los otros tres músculos están formados por una mezcla de fibras oxidativas y glucolíticas. Por tanto, las fibras oxidativas contienen un mayor *pool* de conjugados y de ubiquitina libre que las fibras glucolíticas. Estos datos están de acuerdo con las observaciones realizadas por Li y Goldberg, quienes demostraron que las fibras oxidativas presentan una tasa de recambio proteico un 50% más grande que las fibras glucolíticas (58). Por tanto, el elevado *pool* absoluto de conjugados de ubiquitina observado en las fibras oxidativas se correlaciona con su elevada tasa de degradación proteica.

En resumen, existen diferentes evidencias que

apuntan a un importante papel de la ubiquitina en la regulación del recambio proteico muscular: a) la incrementada conjugación en el interior de las fibras oxidativas; b) la aumentada localización de conjugados de ubiquitina tanto en las bandas Z como en regiones de degeneración local; y c) el aumento en los niveles de conjugados de ubiquitina así como la expresión de los genes relacionados con este sistema en situaciones catabólicas acompañadas de caquexia.

Tratamiento de la caquexia

En los últimos 20 años, la caquexia ha provocado un creciente interés tanto en la medicina clínica como en la investigación básica. La anorexia y las profundas alteraciones que caracterizan este síndrome han definido el desarrollo de diferentes estrategias terapéuticas basadas en estos dos factores (59).

Hoy existen variadas estrategias, entre éstas podemos mencionar los fármacos progestágenos, cannabinoides, ciproheptadina, insulina y corticoides cuyo objetivo es combatir la anorexia farmacológicamente; por otra parte, tenemos la estrategia nutricional con variados complementos para nutrición enteral o parenteral total, y estos complementos son ricos en aminoácidos de cadena ramificada.

En la lucha contra las alteraciones metabólicas se han creado un gran número de estrategias terapéuticas, entre éstas podemos nombrar las dirigidas a neutralizar el efecto de las citoquinas procaquéticas. Otro grupo importante de estrategias se basan en la mediación hormonal, dado que la caquexia porta en sí un profundo desequilibrio hormonal. Otras estrategias emergentes son las que intentan anular alteraciones moleculares, entre éstas podemos nombrar los inhibidores de factores de transcripción, inhibidores del proteasoma, entre otros. Esta revisión no pretende profundizar en las estrategias terapéuticas de la caquexia, sino centrarse en los mecanismos proteolíticos implicados en este síndrome.

DISCUSIÓN

Las estrategias nutricionales no son suficientes para revertir el síndrome caquético. De hecho, algunos pacientes con nutrición parenteral total están sujetos a una gran baja de peso; por lo tanto, enfatiza el rol de las anormalidades metabólicas en la caquexia inducida por cáncer. Por esta razón, algunos acercamientos terapéuticos basados en el aumento de la ingesta de comida han sido combinados con estrategias farmacológicas para contrarrestar estas anormalidades metabólicas. Otro importante problema asociado con el diseño de una terapia ideal, es que aún no han sido bien definidos los mediadores de este síndrome. Los factores tumorales y humorales (principalmente citoquinas) deberían estar relacionados, pero se hace muy complicado desarrollar una droga que inhiba este complejo desorden metabólico. Además, algunos mediadores propuestos en este síndrome, también juegan un rol crucial en la regulación del peso corporal que, a su vez, contrarresta el estado de obesidad. Por el momento, TNF es sobreexpresado en el tejido adiposo durante la obesidad (59). En conclusión, el futuro desarrollo de tratamiento del síndrome caquético combinaría diferentes acercamientos farmacológicos para revertir eficientemente los cambios metabólicos asociados con el tumor y, al mismo tiempo, aminorar la anorexia de los pacientes.

REFERENCIAS

1. **Tisdale M.** Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(11):862-71.
2. **Studley HO.** Percentage of weight loss: a basic indicator of surgical risk in patients with chronic peptic ulcer. *J Am Med Assoc* 1936; 106:458-61.
3. **Van Eys J.** Effects of nutritional status in response to therapy. *Cancer Res* 1982; 42:S747-53.
4. **De Wys Wd, Begg C, Lavin PT, Band PR, Bennet JM, Bertino JR, et al.** Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. *Am J Med* 1980; 69:491-97.
5. **Kolter DP.** Cachexia. *Ann Intern Med* 2000; 133:622-634.
6. **Nixon DW, Heymsfield SB, Cohen AE, Kutner MH, Anslay J, Lawson DH. et al.** Protein-calorie undernu-

- trition in hospitalized cancer patients. *Am J Med* 1980; 68:683-690.
7. **Argiles JM, Moore-Carrasco R, Busquets S, López-Soriano FJ.** Catabolic mediators as targets for cancer cachexia. *Drug Discov Today* 2003 Sep 15; 8(18):838-44.
 8. **Schein PS, Macdonald JS, Waters C, Haidak D.** Nutritional complications of cancer and its treatment. *Semin Oncol* 1975; 2:337-47.
 9. **Argilés JM and López-Soriano FJ.** Catabolic proinflammatory cytokines. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998; 1:245-251.
 10. **Argilés JM and López-Soriano FJ.** The enzymatic activities of branched-chain amino acid catabolism in tumour-bearing rats. *Cancer Lett* 1992; 61:239-42.
 11. **Beck SA, Tisdale MJ.** Production of lipolytic and proteolytic factors by a murine tumor-producing cachexia in the host. *Cancer Res* 1987; 47:5919-23.
 12. **Samis JA and Elce JS.** Immunogold electron-microscopic localization of calpain I in human erythrocytes. *Tromb Haemost* 1989; 61:250-53.
 13. **Spalla M, Tsang W, Kuo TH, Giacomelli F, Wiener J.** Purification and characterization of two distinct Ca²⁺-activated proteinases from hearts of hypertensive rats. *Biochim Biophys Acta* 1985; 830:258-66.
 14. **Moyen C, Goudenege S, Poussard S, Sassi AH, Brustis JJ, Cottin P.** Involvement of micro calpain (CAPN 1) in muscle cell differentiation. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(4):728-43.
 15. **Busquets S, Alvarez B, Llovera M, Agell N, López-Soriano FJ, Argilés JM.** Branched-chain amino acids inhibit proteolysis in rat skeletal muscle: mechanisms involved. *J Cell Physiol* 2000; 184:380-84.
 16. **Costelli P, Reffo P, Penna F, Autelli R, Bonelli G, Baccino FM.** Ca²⁺-dependent proteolysis in muscle wasting. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37:2134-46.
 17. **Schlesinger MJ.** The ubiquitin system and the heat shock response. En: *Schlesinger, Santoro, Garaci, Ed. Stress Proteins.* Berlín Heidelberg: editorial Springer-Verlag, 1990; 81-88
 18. **Vijay-Kumar S, Bugg CE, Cook WJ.** Structure of ubiquitin refined at 1.8 Å resolution. *J Mol Biol* 1987; 194:531-44.
 19. **Weber P, Brown S, Mueller L.** ¹H-NMR resonance assignments and secondary structure identification of human ubiquitin. *Biochemistry* 1987; 26:7282-90.
 20. **Cary PD, King DS, Crane-Robinson C, Bradbury EM, Rabbini L, Goodwin G, et al.** Structural studies on two high-mobility-group proteins from calf thymus HMG-14 and HMG-20 (ubiquitin) and their interaction with DNA. *Eur J Biochem* 1980; 112:577-80.
 21. **Haas AL and Bright PM.** The immunochemical detection and quantitation of intracellular ubiquitin-protein conjugates. *J Biol Chem.* 1985; 260:12464-73.
 22. **Carlson N and Rechsteiner M.** Microinjection of ubiquitin: intracellular distribution and metabolism in HeLa cells maintained under normal physiological function. *J Cell Biol* 1987; 104:537-46.
 23. **Rechsteiner M.** Ubiquitin-mediated pathways for intracellular proteolysis. *Annu Rev Cell Biol* 1987; 3:1-30.
 24. **Jentsch S.** The ubiquitin-conjugation system. *Annu Rev Genet* 1992; 26:179-207.
 25. **VarshaVsky A.** The N-end rule. *Cell* 1992; 69:725-35.
 26. **Trausch JS, Grenfell SJ.** Handley-Gearhart PM, Ciechanover A, Schwart AL. Immunofluorescent localization of the ubiquitin-activating enzyme, E1, to the nucleus and cytoskeleton. *Am J Physiol* 1993; 264:C93-C102.
 27. **Ciechanover A and Schwartz AL.** How are substrates recognized by the ubiquitin-mediated proteolytic system? *Trends Biochem Sci* 1989; 14:483-8.
 28. **Tysdale.** Molecular pathways leading to cancer cachexia. *Physiology* 2005; 20:340-48.
 29. **Goldberg AL and Rock KL.** Proteolysis, proteasomes and antigen presentation. *Nature* 1992; 357:375-9.
 30. **Rivett AJ.** Proteasomes: multicatalytic proteinase complexes. *Biochem J* 1993; 291:1-10.
 31. **Matsui S, Sandberg AA, Negoro S, Sean BK, Goldstein G.** Isopeptidase: a novel eukaryotic enzyme that cleaves isopeptide bonds. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:1535-9.
 32. **Peters JM.** Proteasomes: protein degradation machines of the cell. *Trends Biochem Sci* 1994; 19:377-82.
 33. **Driscoll J and Goldberg AL.** The proteasome (multicatalytic protease) is a component of the 1,500-kDa proteolytic complex which degrades ubiquitin-conjugated proteins. *J Biol Chem* 1990; 265:4789-92.
 34. **Goldkn OPF. I.L., Busch, H.** Remarkable similarities of peptide fingerprints of histone 2A and nonhistone chromosomal protein A24. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 65:951-60.
 35. **Yarden Y, Escobedo JA, Kuang WJ, Yang-Feng TL, Daniel TO, Tremble PM, et al.** Structure of the receptor for platelet-derived growth factor helps define a family of closely related growth factor receptors. *Nature* 1986; 323:226-32.
 36. **Wilkinson KD.** Ubiquitin-dependent signaling: the role of ubiquitination in the response of cells to their environment. *J Nutr* 1999; 129:1933-6.
 37. **Glotzer M, Murray AW and Kirschner MW.** Cyclin is degraded by the ubiquitin pathway. *Nature* 1991; 349:132-8.
 38. **Hasselgren PO, Fischer JE.** Muscle cachexia: current concepts of intracellular mechanisms and molecular regulation. *Ann Surg* 2001; 233:9-17.

39. **Bachmair A, Finley D and Varsha Vsky A.** In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* 1986; 234:179-86.
40. **Rogers S, Wells R and Rechsteiner M.** Amino acid sequences common to rapidly degraded proteins: the PEST hypothesis. *Science* 1986; 234:364-8.
41. **Rechsteiner M.** PEST sequences are signals for rapid intracellular proteolysis. *Semin Cell Biol* 1990; 1:433-40.
42. **Furuno K and Goldberg AL.** The activation of protein degradation in muscle by Ca²⁺ or muscle injury does not involve a lysosomal mechanism. *Biochem J* 1986; 237:859-64.
43. **Han HQ, Furuno QF, Goldberg AL.** The activation of the ATP-dependent proteolytic system in skeletal muscle during denervation atrophy and fasting. *Federation Proc* 1988; 2:A564.
44. **Llovera M, García-Martínez C, Agell N, Marzabal M, López-Soriano FJ and Argilés JM.** Ubiquitin gene expression is increased in skeletal muscle of tumour-bearing rats. *FEBS Lett* 1994; 338:311-8.
45. **Llovera M, García-Martínez C, Agell N, López-Soriano FJ and Argilés JM.** Muscle wasting associated with cachexia is linked to an important activation of the ATP-dependent ubiquitin-mediated proteolysis. *Int J Cancer* 1995; 61:138-41.
46. **Dejong CH, Busquets S, Moses AG, Schrauwen P, Ross JA, Argiles JM, Fearon KC.** Systemic inflammation correlates with increased expression of skeletal muscle ubiquitin but not uncoupling proteins in cancer cachexia. *Oncol Rep* 2005; 14:257-63.
47. **Bossola M, Muscaritoli M, Costelli P, Bellantone R, Pacelli F, Busquets S, et al.** Increased muscle ubiquitin mRNA levels in gastric cancer patients. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280:R1518-1523.
48. **Llovera M, García-Martínez C, Costelli P, Agell N, Carbó N, López-Soriano FJ, et al.** Muscle hypercatabolism during cancer cachexia is not reversed by the glucocorticoid receptor antagonist RU38486. *Cancer Lett* 1996; 99:7-14.
49. **Wing SS and Goldberg AL.** Glucocorticoids activate the ATP-ubiquitin-dependent proteolytic system in skeletal muscle during fasting. *Am J Physiol* 1993; 264: E668-676.
50. **Costelli P, Llovera M, Carbó N, García-Martínez C, López-Soriano FJ, Argilés JM.** Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) is unable to reverse cachexia in rats bearing an ascites hepatoma (Yoshida AH-130). *Cancer Lett* 1995; 95:33-8.
51. **Llovera M, Carbó N, García-Martínez C, Costelli P, Tessitore L, Baccino FM, et al.** Anti-TNF treatment reverts increased muscle ubiquitin gene expression in tumour-bearing rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221:653-5.
52. **Llovera M, García-Martínez C, López-Soriano J, Carbó N, Agell N, López-Soriano FJ, et al.** Role of TNF receptor 1 in protein turnover during cancer cachexia using gene knockout mice. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 142:183-9.
53. **Llovera M, García-Martínez C, López-Soriano J, Agell N, López-Soriano FJ, García I, et al.** Protein turnover in skeletal muscle of tumour-bearing transgenic mice overexpressing the soluble TNF receptor-1. *Cancer Lett* 1998; 130:19-27.
54. **García-Martínez C, Llovera M, Agell N, López-Soriano FJ, Argilés JM.** Ubiquitin gene expression in skeletal muscle is increased by tumour necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 201:682-6.
55. **Llovera M, García-Martínez C, Agell N, López-Soriano FJ and Argilés JM.** TNF can directly induce the expression of ubiquitin-dependent proteolytic system in rat soleus muscles. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 230:238-41.
56. **Helliwell TR, Wilkinson A, Griffithst RD, Mccllelland P, Palmer Tea, Bone JM.** Muscle fiber atrophy in critically ill patients is associated with the loss of myosin filaments and the presence of lysosomal enzymes and ubiquitin. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998; 24:507-17.
57. **Riley DA, Bain JLW, Ellis S, Haas AL.** Quantitation and immunocytochemical localization of ubiquitin conjugates within rat red and white skeletal muscles. *J Histochem Cytochem* 1988; 36:621-32.
58. **Li JB and Goldberg AL.** Effects of food deprivation on protein synthesis and degradation in rat skeletal muscles. *Am J Physiol* 1976; 231:441-4.
59. **Argilés JM, Almendro V, Busquets S, López-Soriano FJ.** The pharmacological treatment of cachexia. *Curr Drug Targets* 2004; 5:265-77.
60. **Argilés JM, López-Soriano J, Busquets S, López-Soriano FJ.** Journey from caquexia to obesity by TNF. *FASEB J* 1997; 11:743-51.