



El complejo Ubiquitina-Proteasoma en la Caquexia

Doctor Carlos Camps
Servicio de Oncología Médica
Hospital General Universitario de Valencia



- **50% pacientes hospitalizados.** *BMJ 1994; 308: 945-8*
- **40 - 80% de los enfermos inician tratamientos Qt/Rt en estado de malnutrición.** *Baldwin et al 2001. Dietary advice for illness-related malnutrition in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2, CD002008*
- **Uno de cada 3 muertes por cancer estan relacionadas con la nutricion.** *Ovensen et al. The interrelationship of weight loss, dietary intake, and quality of life in ambulatory patients with cancer. Nutr Cancer 1993; 19: 159-67*

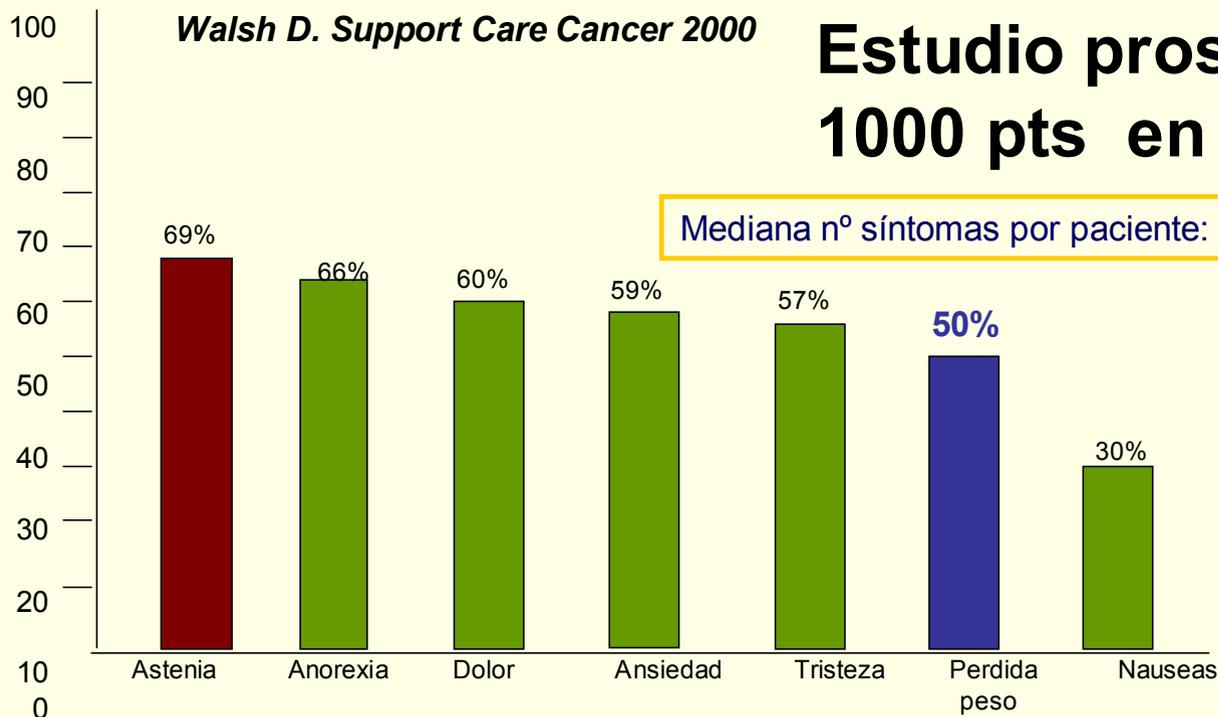
IMPORTANCIA DE LA MALNUTRICION



Walsh D. Support Care Cancer 2000

Estudio prospectivo: 1000 pts en tto paliativo

Mediana nº síntomas por paciente: 11



SINTOMAS EN LOS PACIENTES CON CANCER



ANOREXIA	64%	SACIEDAD PRECOZ	50%
>10% Dism.Peso	60%	NAUSEA	36%
SEQUEDAD BOCA	55%	CAMBIOS SABOR	28%
ESTREÑIMIENTO	51%	VOMITOS	23%
		DISFAGIA	18%

Donnelly, Sem Oncol, 1995

SINTOMAS MAS FRECUENTES EN CANCER AVANZADO



Tumor	Nº enf.	Pérdida de peso en los 6 meses previos (%)			Total
		1-5%	5-10%	>10%	
Ca. Gástrico	317	21%	31%	33%	85%
Ca. Páncreas*	111	29%	28%	26%	83%
Ca. Pulmón no micr.	590	25%	21%	15%	61%
Ca. Pulmón microc.	436	23%	20%	14%	57%
Ca. Próstata	78	28%	18%	10%	56%
Ca. Colon	307	26%	14%	14%	54%
LNH de alto grado	311	20%	13%	15%	48%
Sarcomas	189	21%	11%	7%	39%
L. A. no linfoblástica	129	27%	8%	4%	39%
Ca. Mama	289	22%	8%	6%	36%
LNH bajo grado	290	14%	8%	10%	10%

*Datos referidos a los 2 últimos meses

DeWys WD et al. Am J Med 1980;69:491-497

FRECUENCIA DE LA PÉRDIDA DE PESO SEGÚN EL TUMOR



- **Incidencia: 50% de los tumores en cualquier estadio de la enfermedad¹.**
- **La frecuencia varía según:**
- **El tumor primario: 30% linfomas-85% gástrico o pancreático²**
- **El estadio: 3% en pacientes que reciben quimioterapia adyuvante , 75-80% en pacientes en fase terminal ²⁻³**

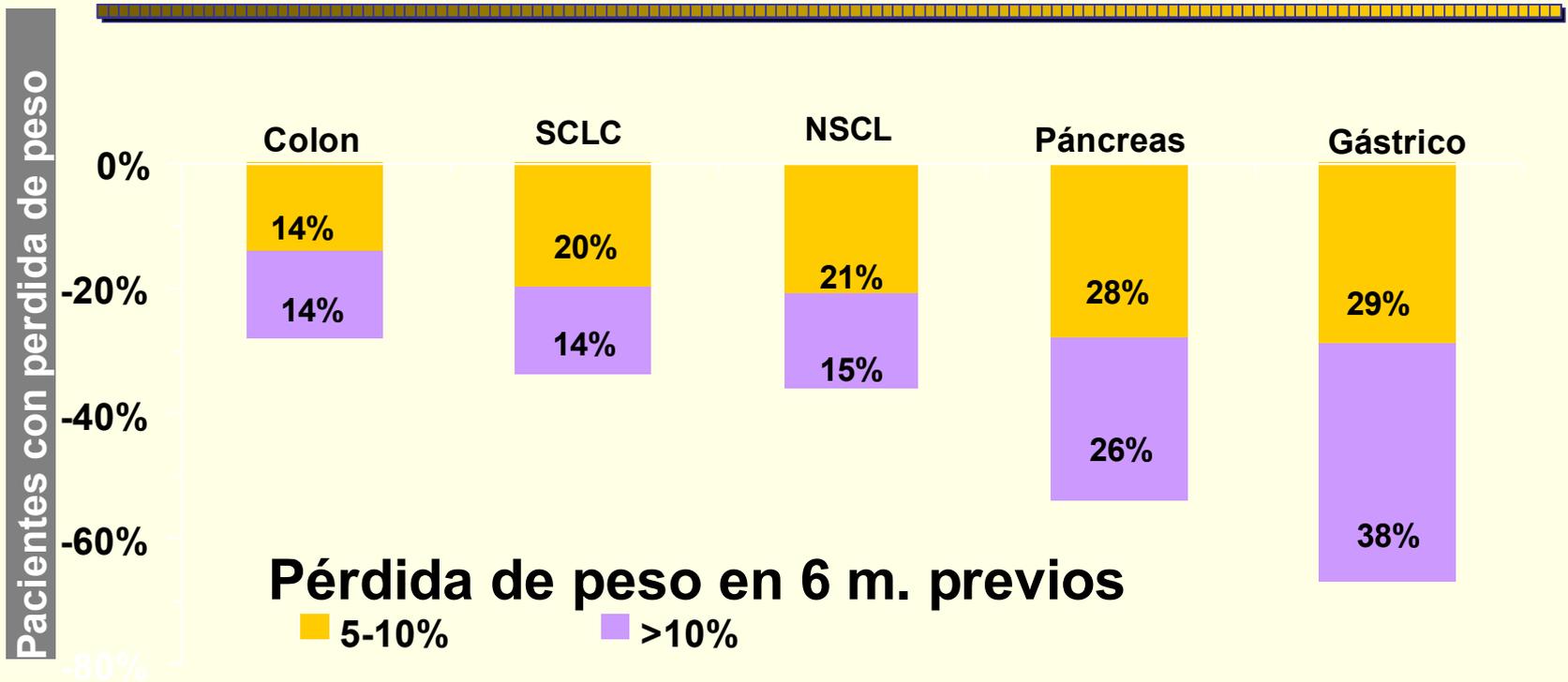
1-Dunlop R. Oxford University Press 1996

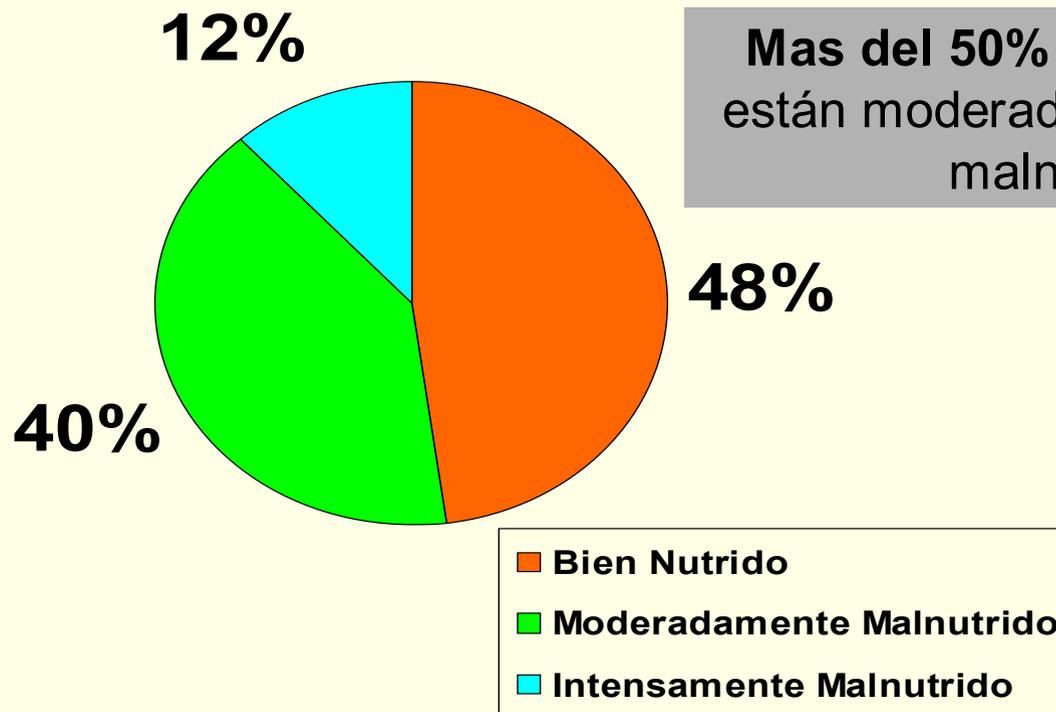
2-De Wys WD. Am J Med 1980

3-Bruera E. J Pain Symptom Manage 1988

Cáncer y pérdida de peso

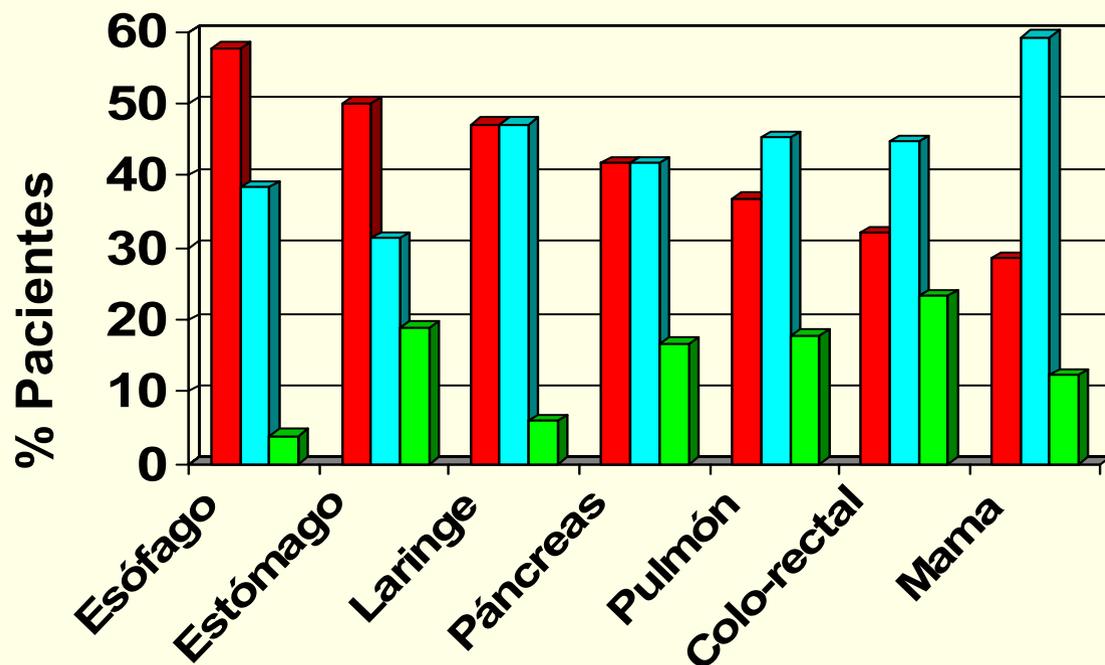
DeWys et al. 1980. Am J Med 69:491.





Mas del 50% de los pacientes están moderada o intensamente malnutridos.

Resultados NUPAC I: Prevalencia de la malnutrición en pacientes con cáncer avanzado en España

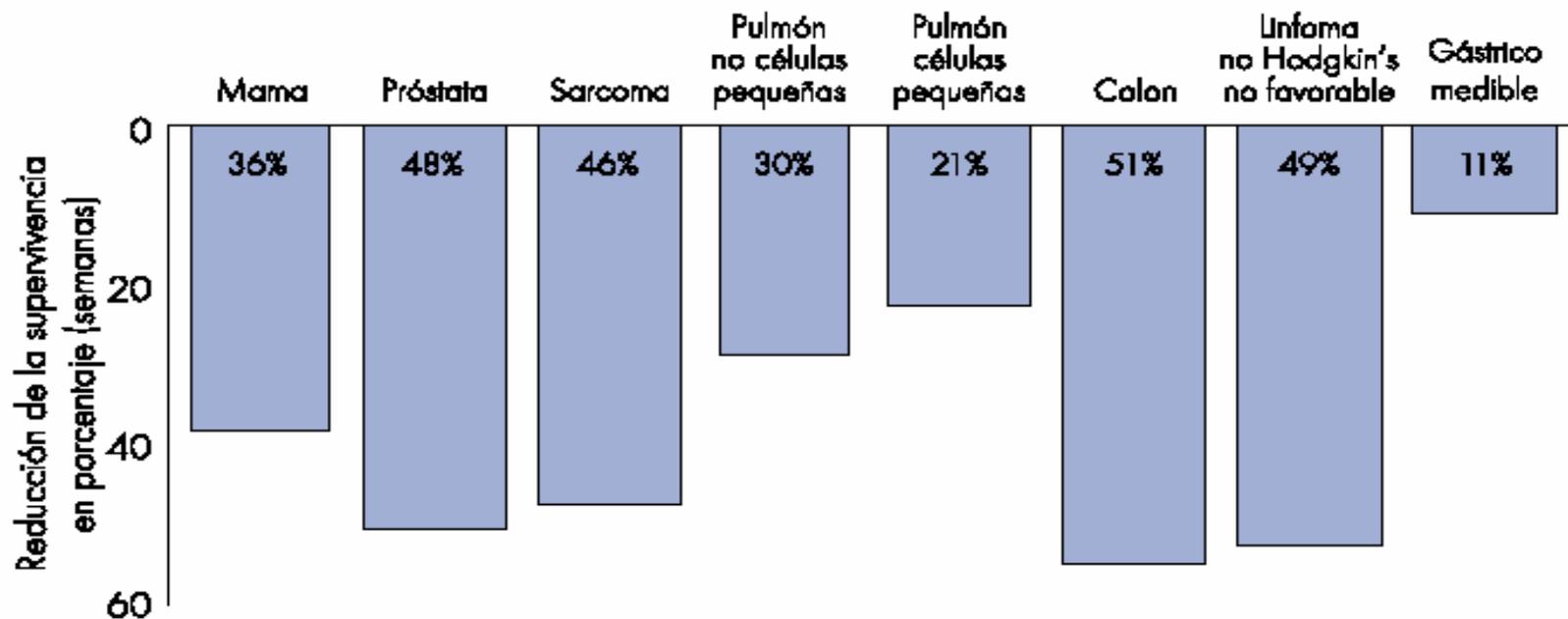


■ Disminución ■ Sin cambio ■ Aumento

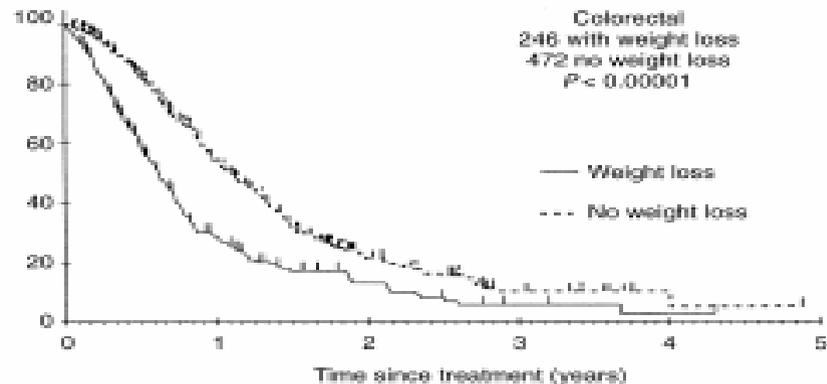
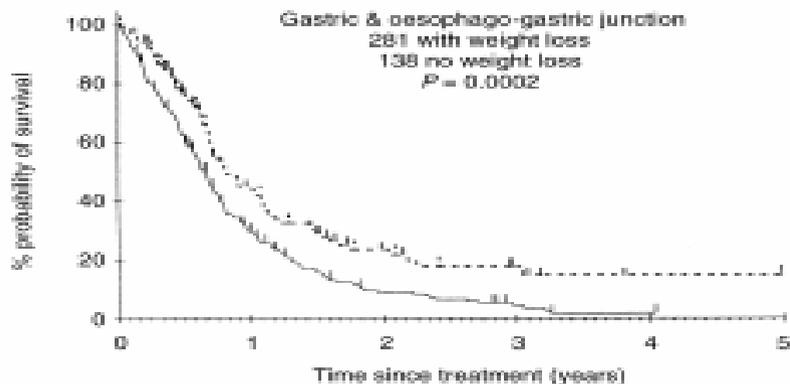
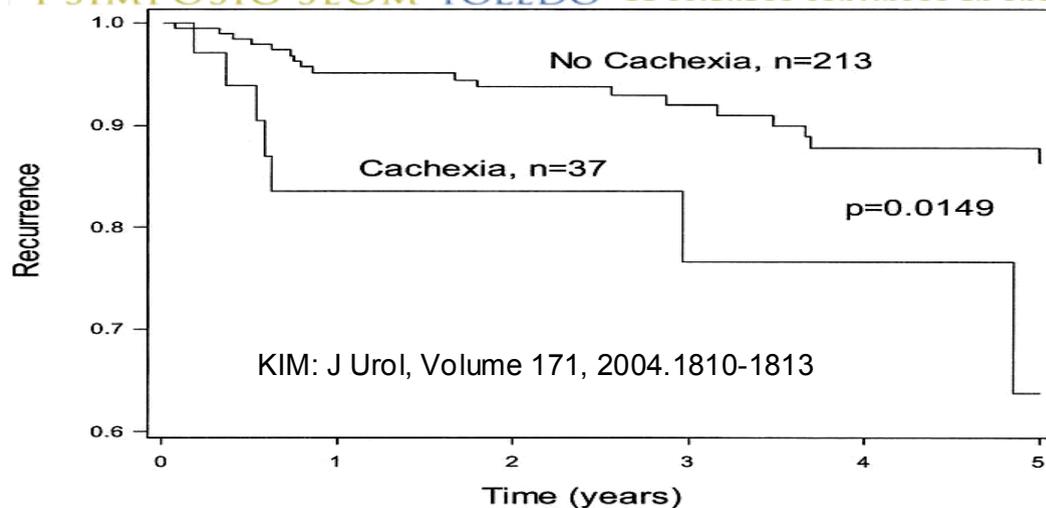
Resultados NUPAC I: Pérdida de peso



Impacto de la pérdida de peso en la supervivencia



De Wys. Am J Med 1980, 69: 491-7



Andreyev European J Cancer 1998,34,503-509.



NSCLC		Percepción		Preocupación	
		N	%	N	%
	Anhedonia	13	50*	3	11.5
	Disminución del apetito	13	50	8	30.8*
	Vómitos	12	46.2	7	26.9*
	Disminución del apetito	31	48.4	12	18.8
C. Colorrectal		Percepción		Preocupación	
		N	%	N	%
Pen	Anhedonia	5	19.2	2	7.7
	Disminución del apetito	10	38.5	1	3.8
	Vómitos	6	23.1	1	3.8
	Pérdida de peso	27	42.2	4	6.3
	Vómitos	25	39.1	10	15.6

Percepción síntomas y preocupación del enfermo: HGUV 2002



FISIOPATOLOGIA CAQUEXIA

Mecanismos de la Caquexia
asociada al Cáncer

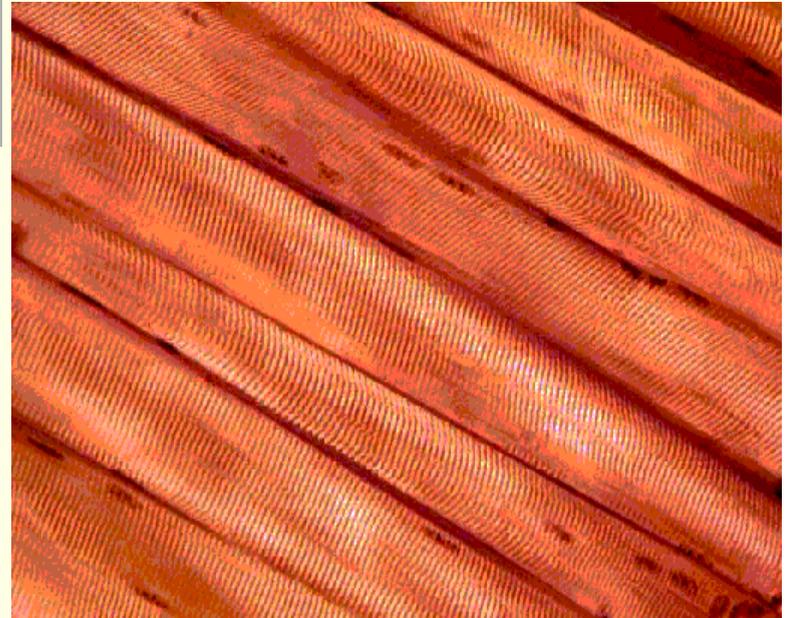
LA ANOREXIA NO LA JUSTIFICA



DEFINICIÓN

Kakos: malo
Hexia: condición

Cuadro clínico caracterizado por anorexia, pérdida de peso (*a expensas fundamentalmente de pérdida de **masa magra***), astenia y mal estado general, todo ello puede conducir a la muerte.



La Nutrición estándar no puede detener o revertir la pérdida de peso, ni aporta las proteínas y aa esenciales para minimizar o revertir el déficit nitrogenado.

Caquexia



- **Cambios en la composición corporal**
 - **Disminución masa muscular**
 - **Disminución depósitos grasos**
 - **Masa proteica visceral se mantiene, o aumenta**
(Haymesfield SB. Cancer 1985; 55: 238-249)
- **En anorexia nerviosa u otros ayunos, el peso visceral disminuye en paralelo con la disminución de los depósitos grasos y de la masa muscular**
- **La ingesta no se corresponde con el grado de malnutrición. Incluso puede existir Caquexia Sin Anorexia**

COMPOSICION CORPORAL Y CAQUEXIA



JM Argilés

■ Carbohidratos:

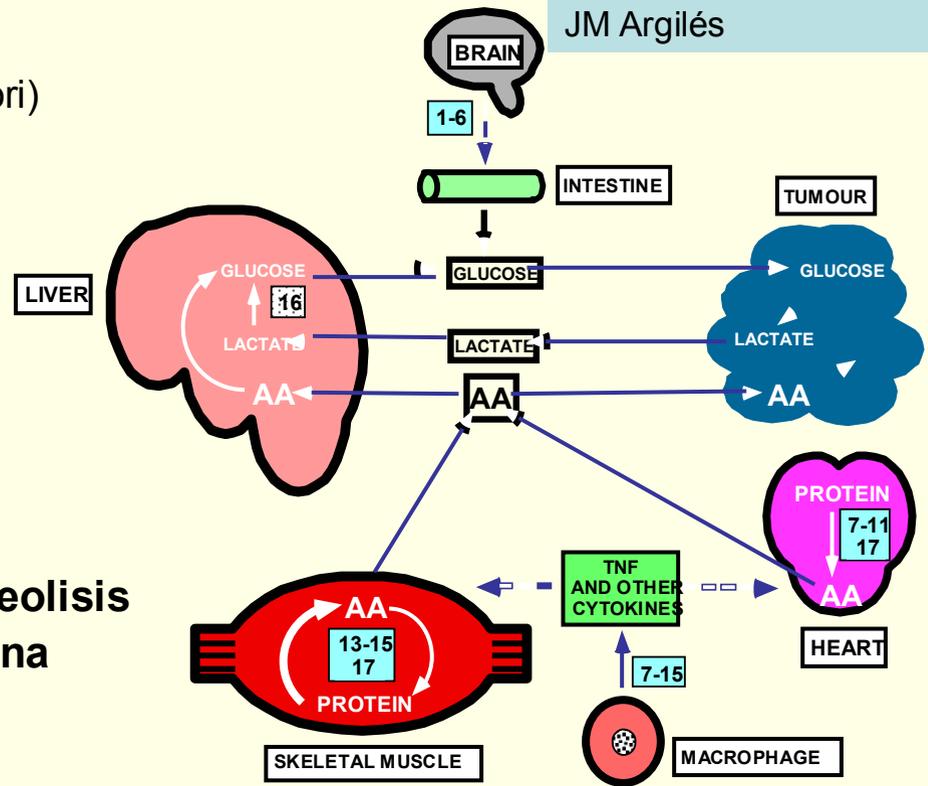
- Resistencia a la Insulina
- Ruta aerobica ineficiente (Ciclo de Cori)
- Neoglucogenesis

■ Grasas:

- Lipolisis.
- Lipid Mobilisation Factors (LMF)
- Déficit de Lipoprotein lipase (LpL)
- Pérdida de "white adipose"
- Incremento en triglicéridos circulantes

■ Proteínas

- Depleción de proteínas por Proteolisis
- Mobilizacion de proteínas. Alanina circulante
- Neoglucogenesis



ALTERACIONES METABOLICAS



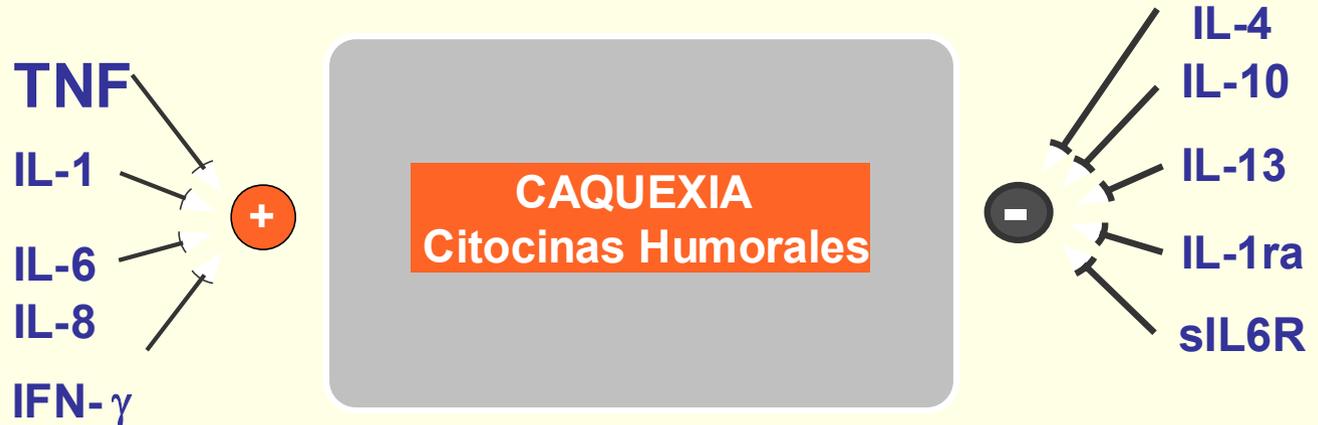
Alteración del control de los ciclos biológicos:

- **Neuropéptidos y diferentes citoquinas**
 - Neuropéptido Y (niveles de leptina altos lo bloquean)
- **Substancias del tumor originan y mantienen caquexia**
 - PIF (ca colon, proteolysis-inducing factor)
 - LMF (lipid mobilizing factor, provoca disminución en UCPs en grasa, musculo esquelético e hígado)
 - UPCs (mitochondrial uncoupling proteins)1,2,3(regulan termogénesis)

DESCONOCIMIENTO MECANISMOS y PAPEL real CITOQUINAS

Las citocinas tumorales juegan un papel de mayor importancia que las del huesped

Desarrollo de la Caquexia



- **TNF:** Niveles elevados en muchos cánceres. AC antiTNF
- **IL-6:** Estudios clínicos su acción indirecta sobre NF-kB.
- **IFN- γ :** Carece de efecto,
- **NF-kB:** Mediador nuclear de TNF y de otras citocinas. Modulador respuesta inmune-inflamatoria

Les une su acción sobre el Sistema Ubiquitina - Proteasoma



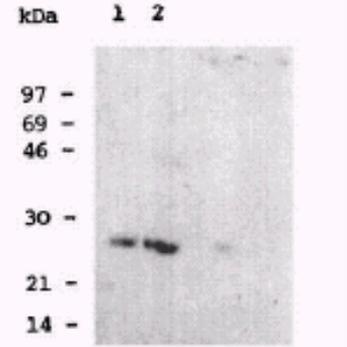
FACTORES TUMORALES

PIF: proteolysis inducing factor

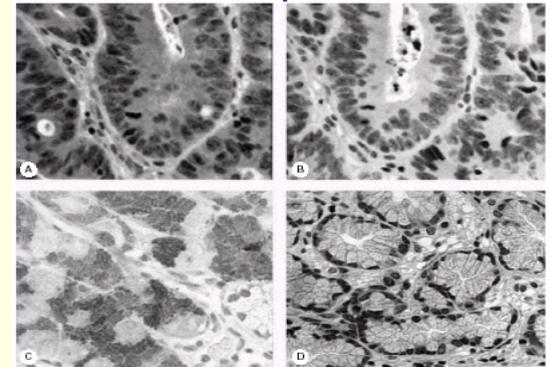
AIS: anaemia inducing factor

LMFs: lipid mobilising factors

- Multitud de citocinas implicadas, la vía final es la inhibición de la síntesis proteica y el aumento de la degradación por el PIF que activa la vía de la ubiquitina-proteasoma
- Citoquina identificada en 1996 en orina de pacientes caquéticos con adenocarcinoma (80% en pancreas).
- Nunca en desnutrición no tumoral



Imunohistoquímica tisular.



**Factor inductor de proteolisis (PIF):
asociacion específica con caquexia**



PIF

Músculo esquelético



15-HETE

PROTEASOMA +

PROTEOLISIS

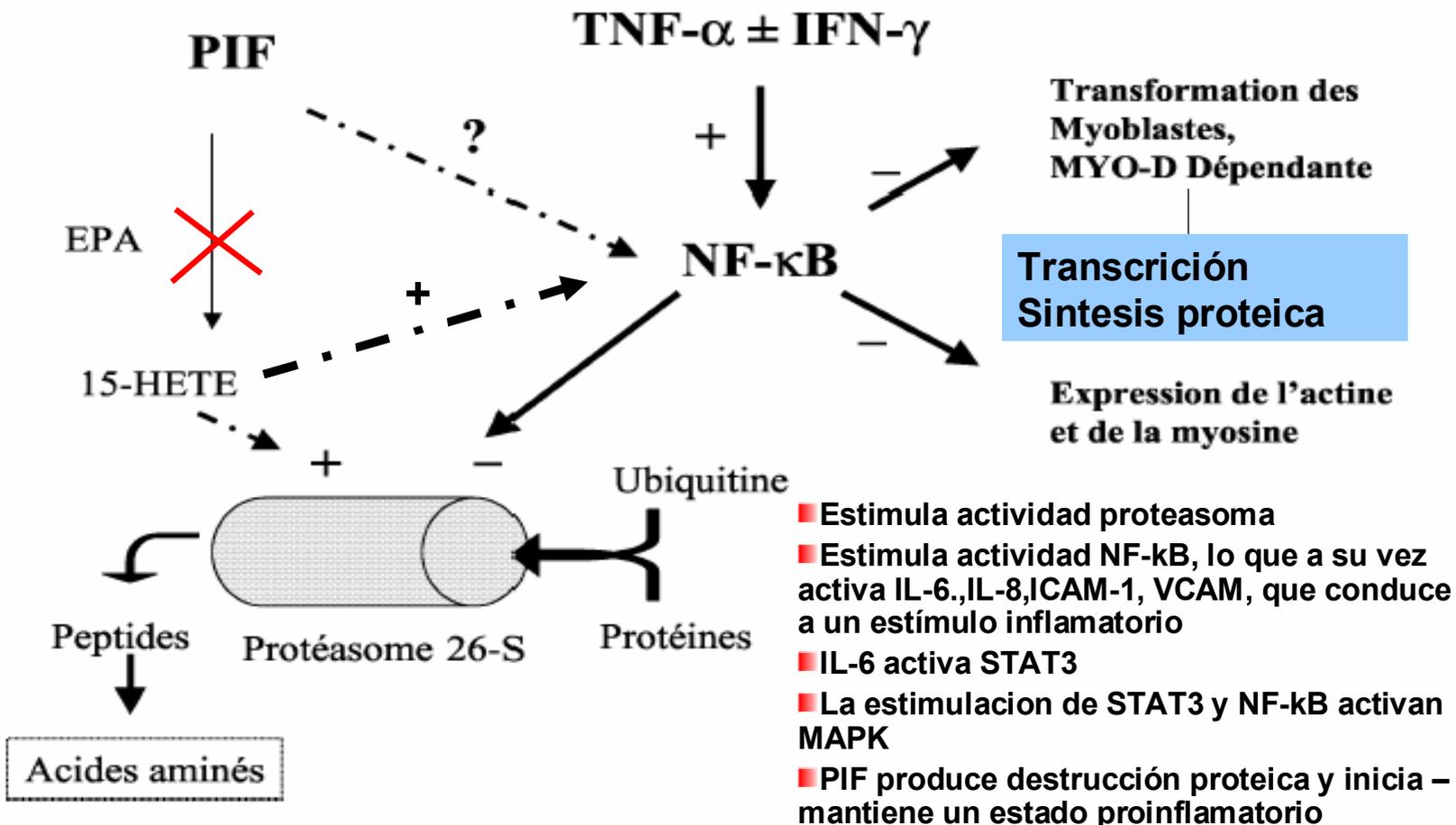
ENDOTELIO
HÍGADO

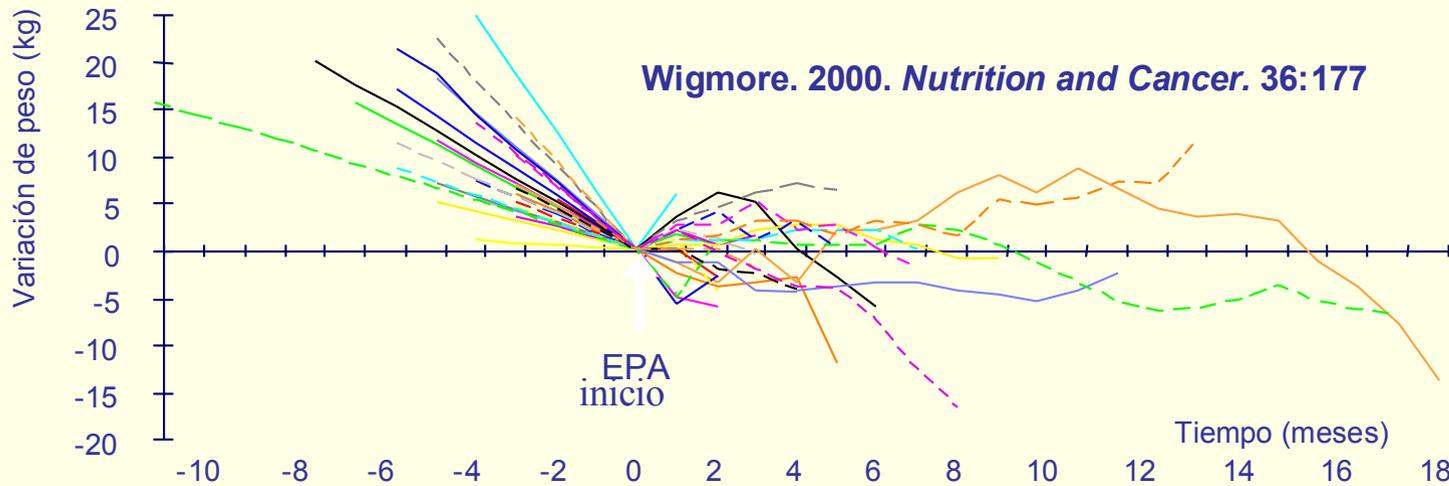


IL-6, IL-8, VCAM-1

INFLAMACIÓN
CRÓNICA

LA CAQUEXIA TUMORAL ES UNA FORMA DE INFLAMACIÓN CRÓNICA





- Disminuye respuesta inflamatoria, por disminución de citoquinas (IL-1, IL-6, TNF a través del bloqueo de COX y de lipooxigenasa) Estimula Apoptosis

- Anticaquectico:**

 - Inhibe el catabolismo proteico y la lipolisis sin modificar la ingesta.(Cancer Research 61:3604, 2001)Inhibe **PIF** y **LMF**. Disminuye el paso de **NFκB** del citoplasma al núcleo

- Atenúa la pérdida de peso inducida por el tumor (Ca Pancreas, Nutr Cancer 2000,BJC 1999)

- En la clínica NO mejora apetito, estado nutricional. Bruera JCO 21: 129-134, 2003,Jatoi JCO 2004,22:2469- 2476

EPA y pérdida de peso tumoral



BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA CAQUEXIA ASOCIADA AL CÁNCER Complejo Ubiquitina - Proteasoma



Sistemas Proteolíticos en el Músculo



Las Catepsinas

Lisosómico
Proteolisis extracelular
No implicado en el
catabolismo proteico
neoplásico



No Lisosómico

Citosólico: Las Calpainas

Ca ++ dependiente

Daño tisular

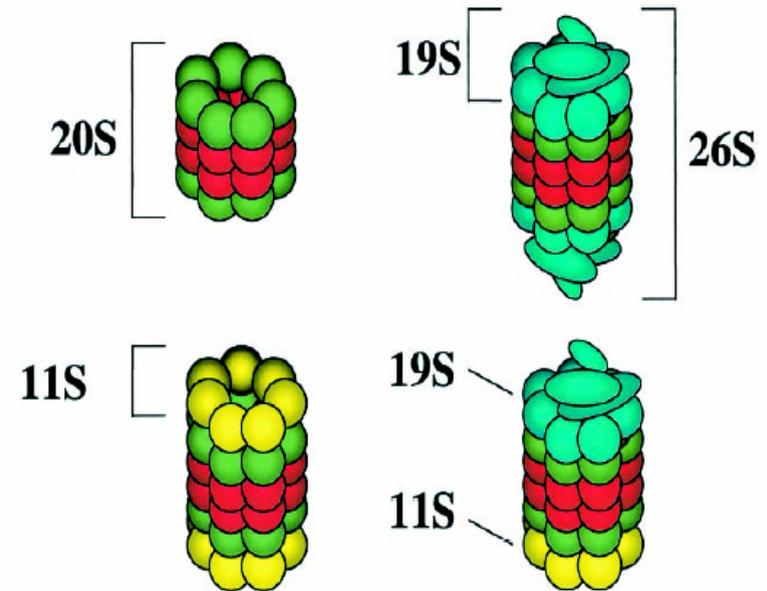
Proteasoma: La Ubiquitina

ATP dependiente

Proteínas musculares

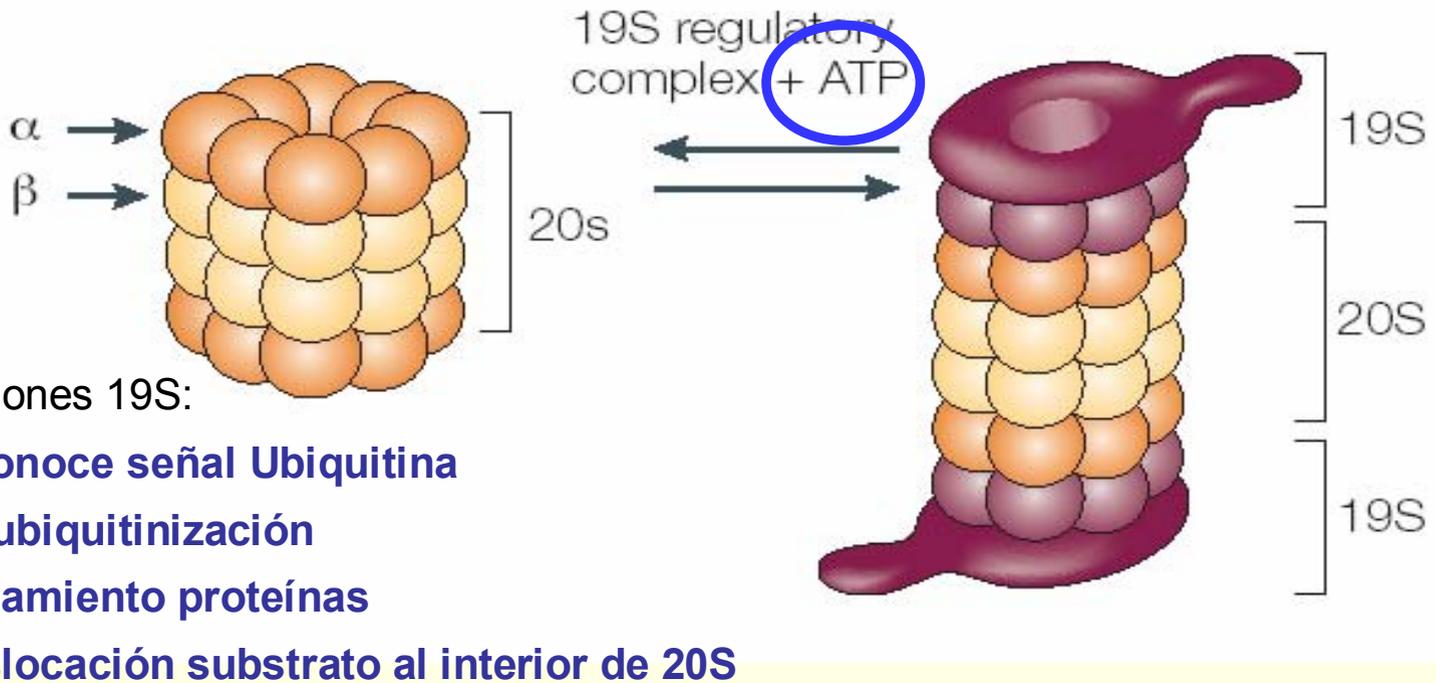


- **Complejo multicatalítico (1984)**
- **Nucleo y citoplasma**
- **Responsable > 80% degradación proteínas intracelulares, implicadas en la regulación ciclo celular y apoptosis, como ciclinas, caspasas, Bcl-2, NF-kB**
- **Proteolisis ATP dependiente**
- **Estructura compleja: múltiples subunidades**



11S en citoplasma y se induce por IFN gamma

Estructura Proteasoma



Estructura del proteasoma: 26 S



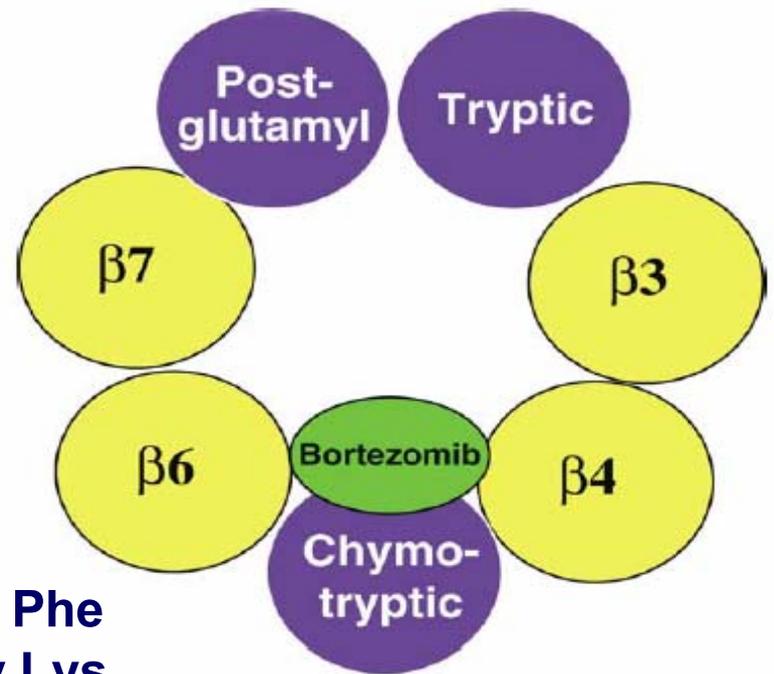
Estructura Catalítica Proteasoma: anillos β

Capacidad catalítica
Thr en N-ter

3 subunidades β catalíticas
4 subunidades β estructurales

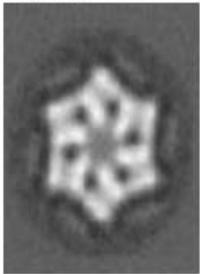
Tres actividades:
Hidrofobica- Quimotripsina
Básica- Tripsina
Acida- Postglutamil

Tyr y Phe
Arg y Lys
Asp y Glu

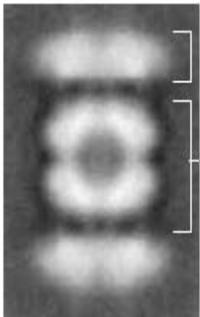




a *E. coli*



ClpX



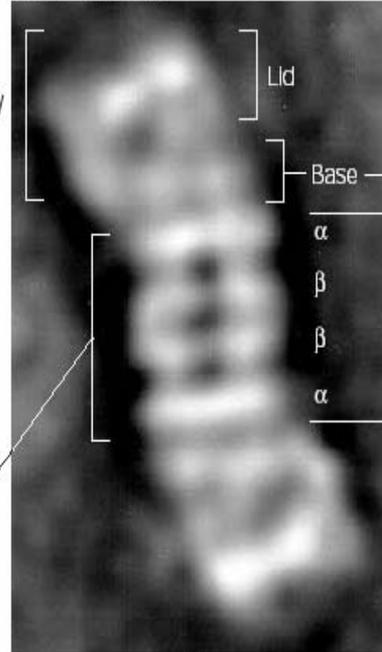
ClpXP

Regulatory complex

Regulatory complex

Protease complex

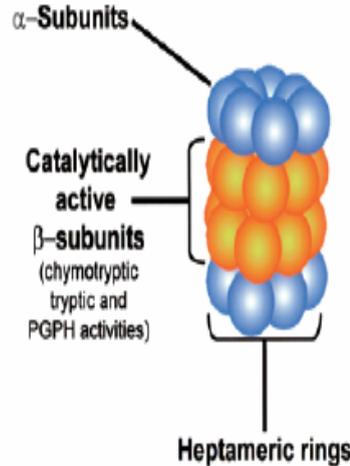
b *S. cerevisiae*



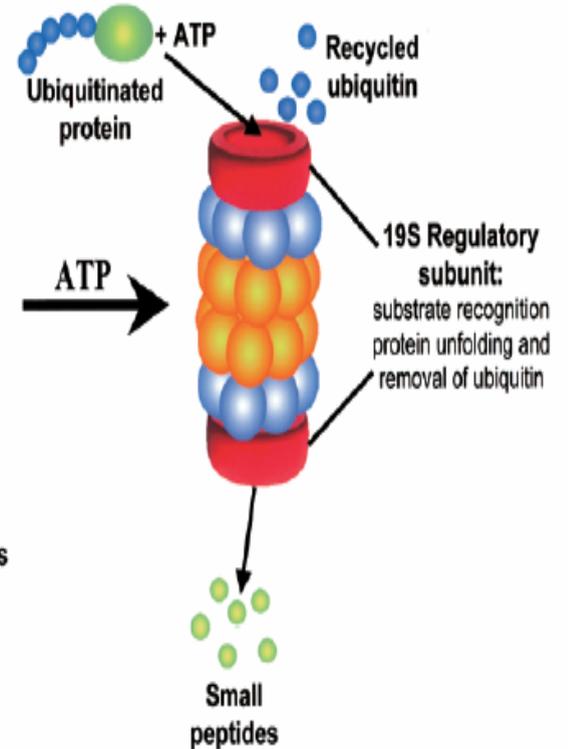
26S

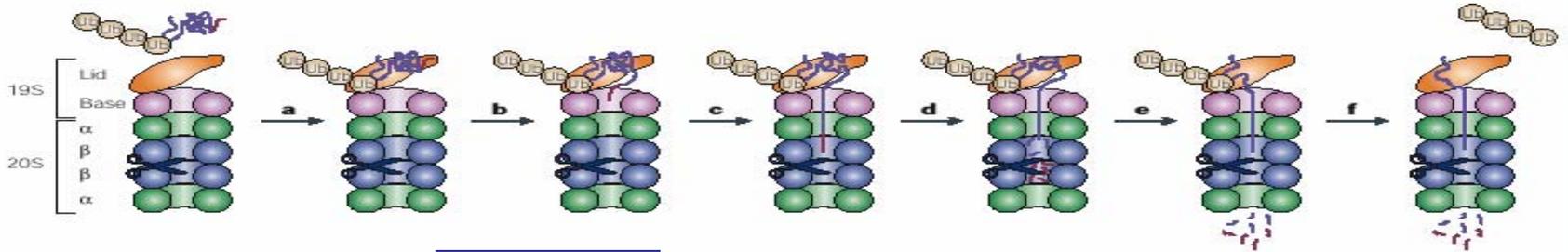
Lid
Base
 α
 β
 β
 α

20S Proteasome



26S Proteasome





Activación

ATP

Enzima activador
E1

Enzima de
conjugación
E2

Enzima Ligasa E3

Ubiquitina

PROTEOLISIS

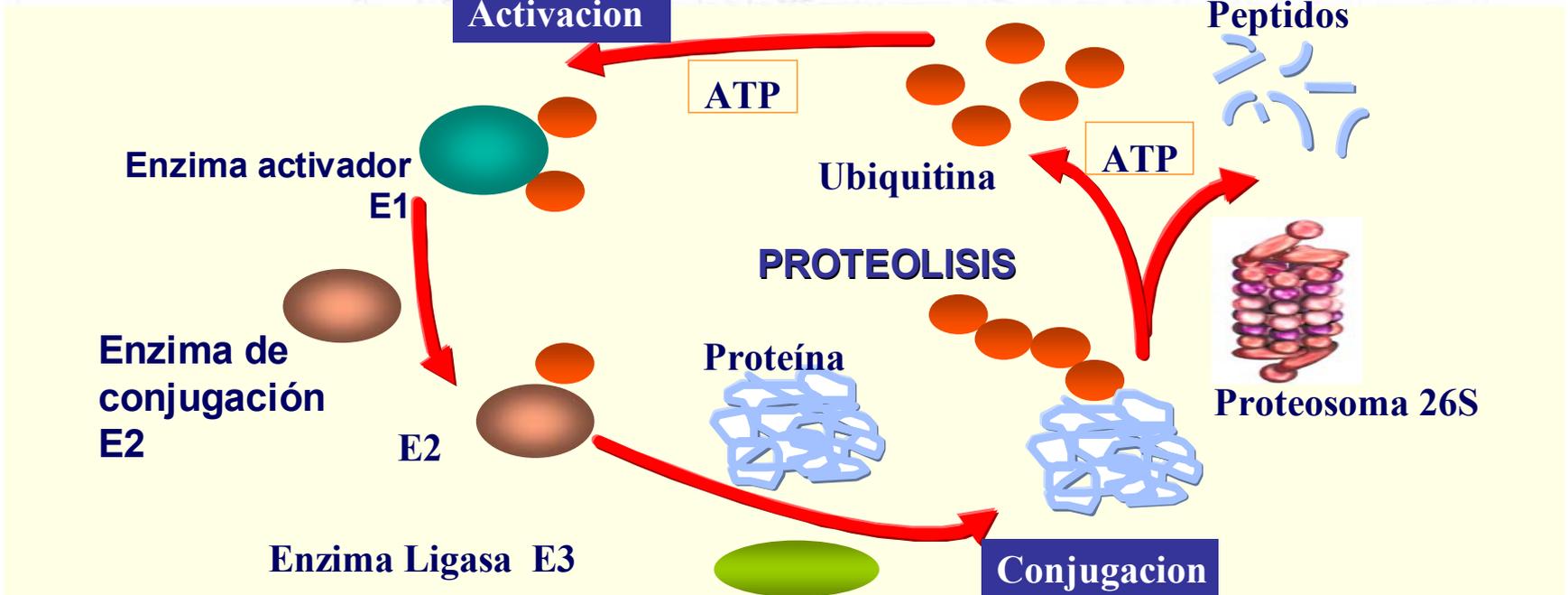
Proteína

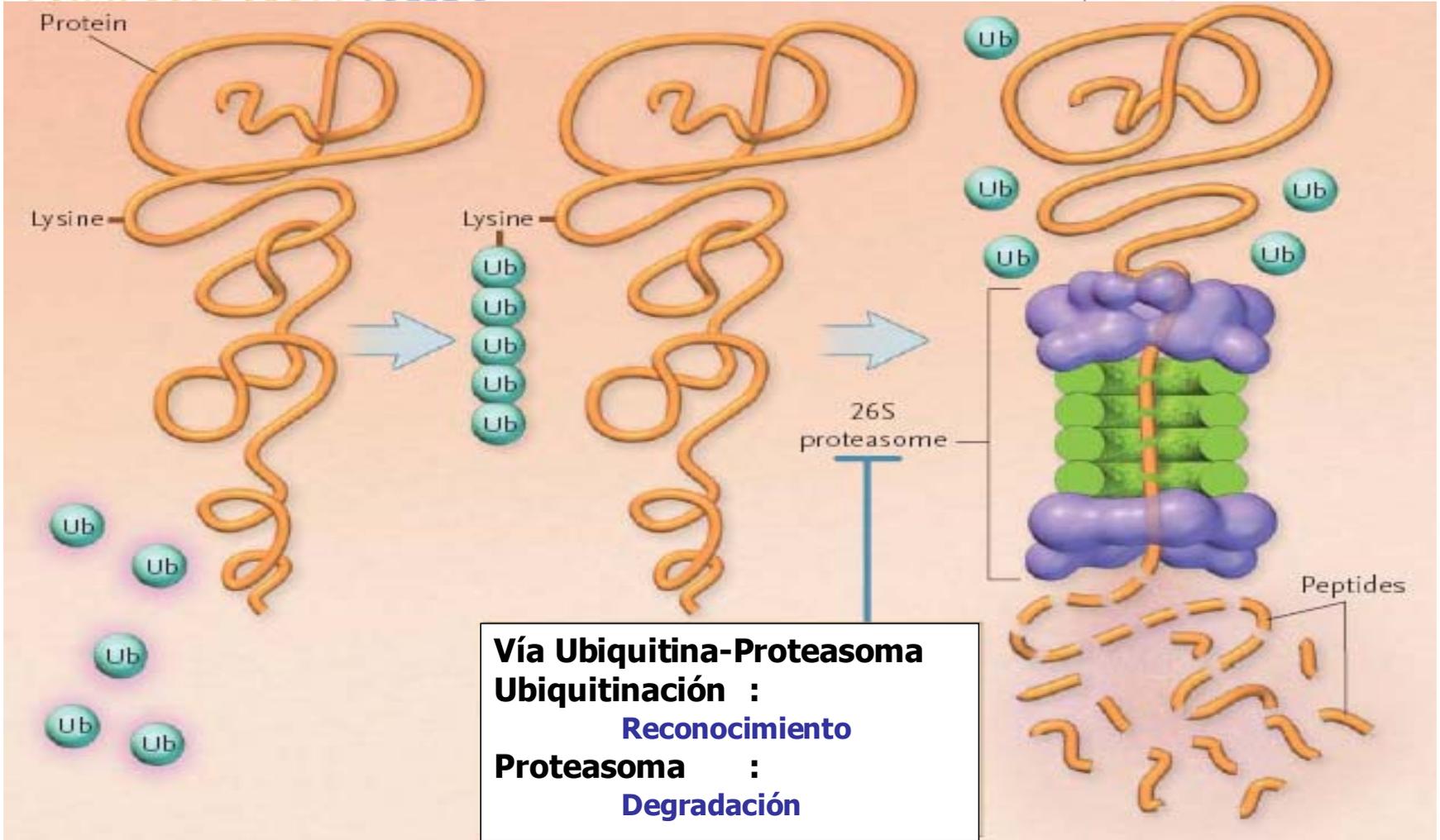
Conjugacion

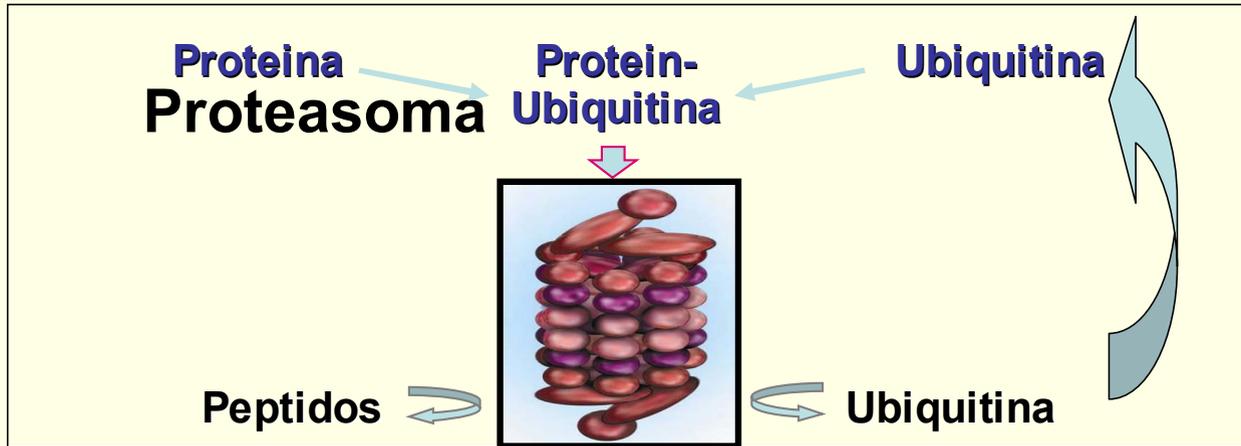
Peptidos

ATP

Proteosoma 26S







Oncogenes

- c-fos/c-jun
- c-myc, n-myc, HIF

Reguladores ciclo celular

- Ciclinas A, B, D, and E
- Ciclina-dependiente kinasas
- CDK inhibidores

Genes Supresores

- p53, p21, p27

Proteinas Inhibitorias

- I κ B (↓ bcl-2 mediante NF κ B)
- Id

Factores Apoptosis

- cIAP, XIAP

Via Ubiquitina-Proteasoma



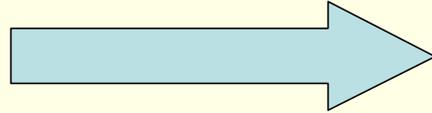
- **vigilancia inmunológica**
- **procesos inflamatorios**
- **procesamiento de antígenos**
- **control intracelular de proteínas reguladoras**
- **acumulación de proteínas mutantes o mal plegadas**
- **progresión en el ciclo celular**
- **oncogénesis y cáncer**
- **transcripción y transducción de señales**
- **flujo de sustratos a través de rutas metabólicas**

**Actividades que dependen del
proteasoma**



■ TNF

■ PIF

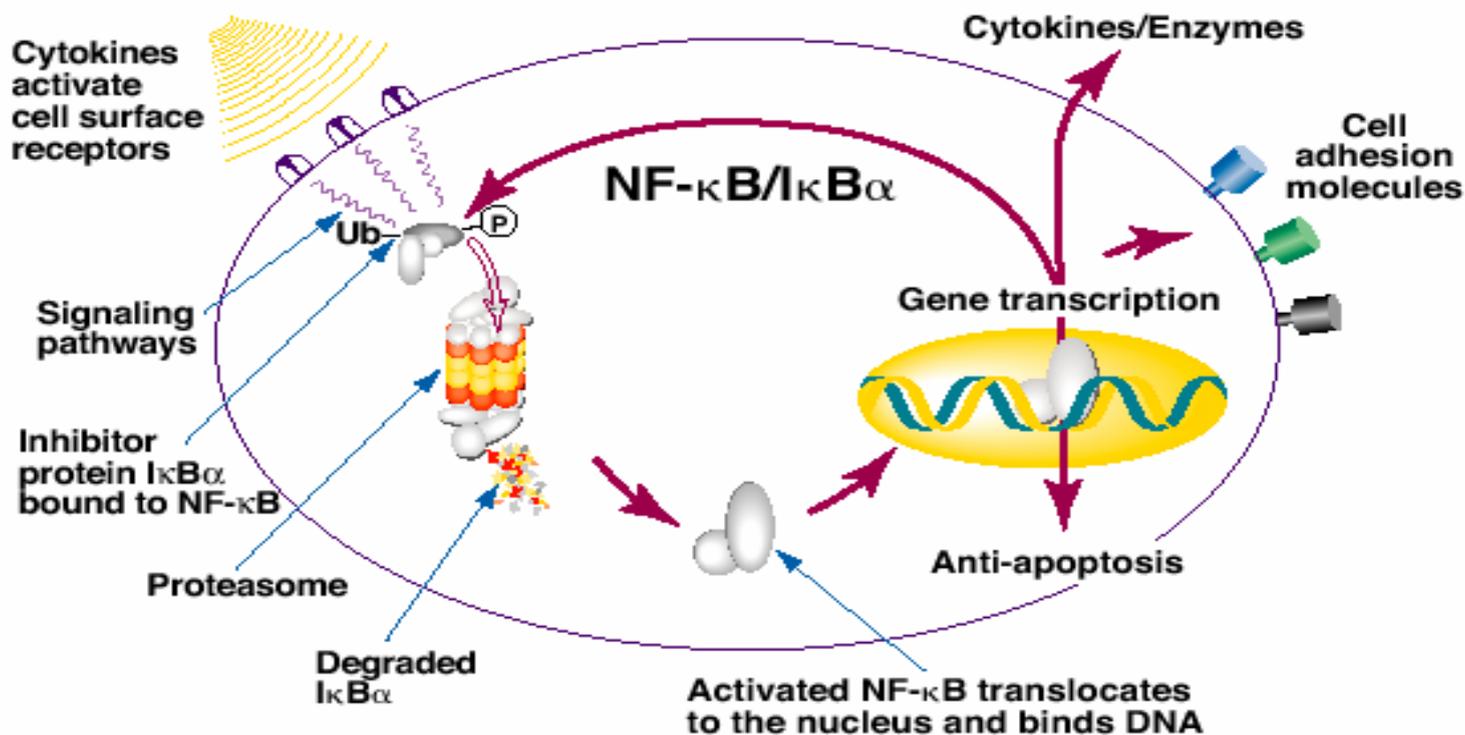


■ NF-kB

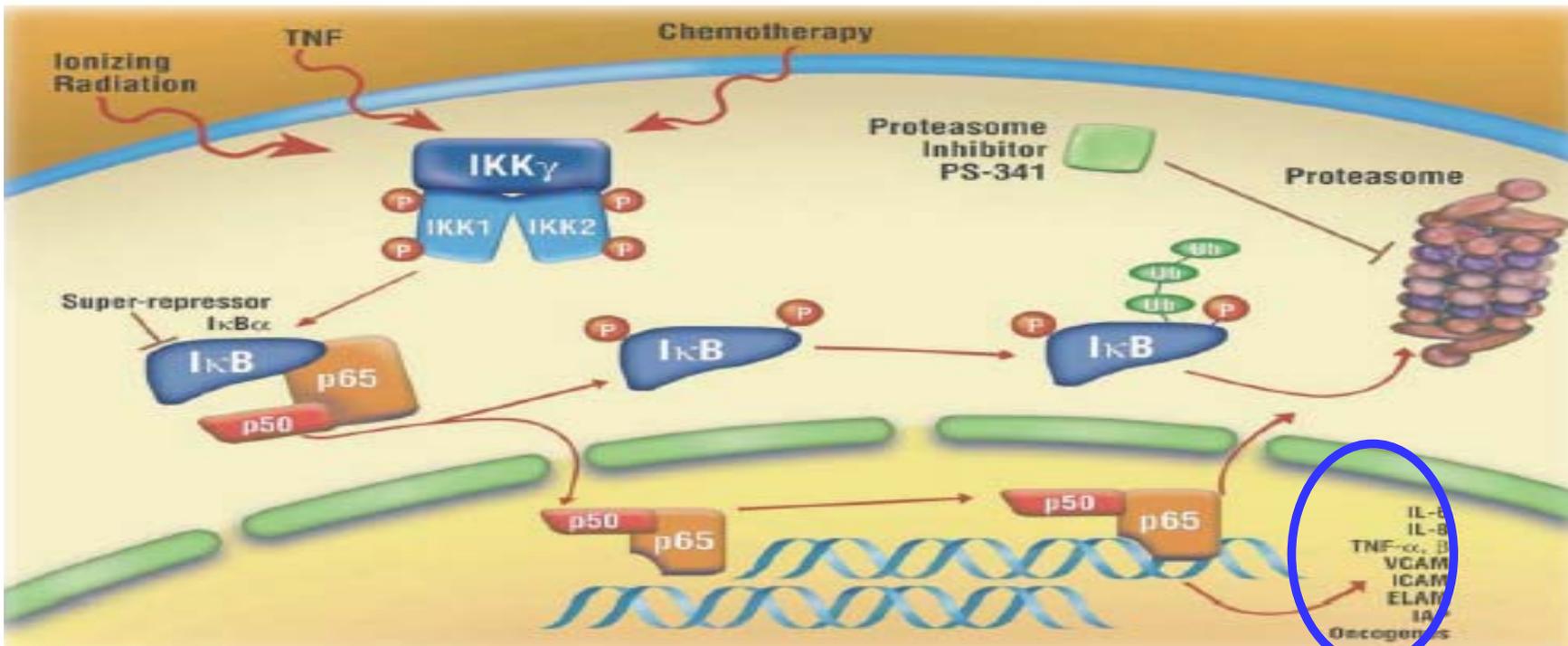
■ IFN-gamma

■ IL-6

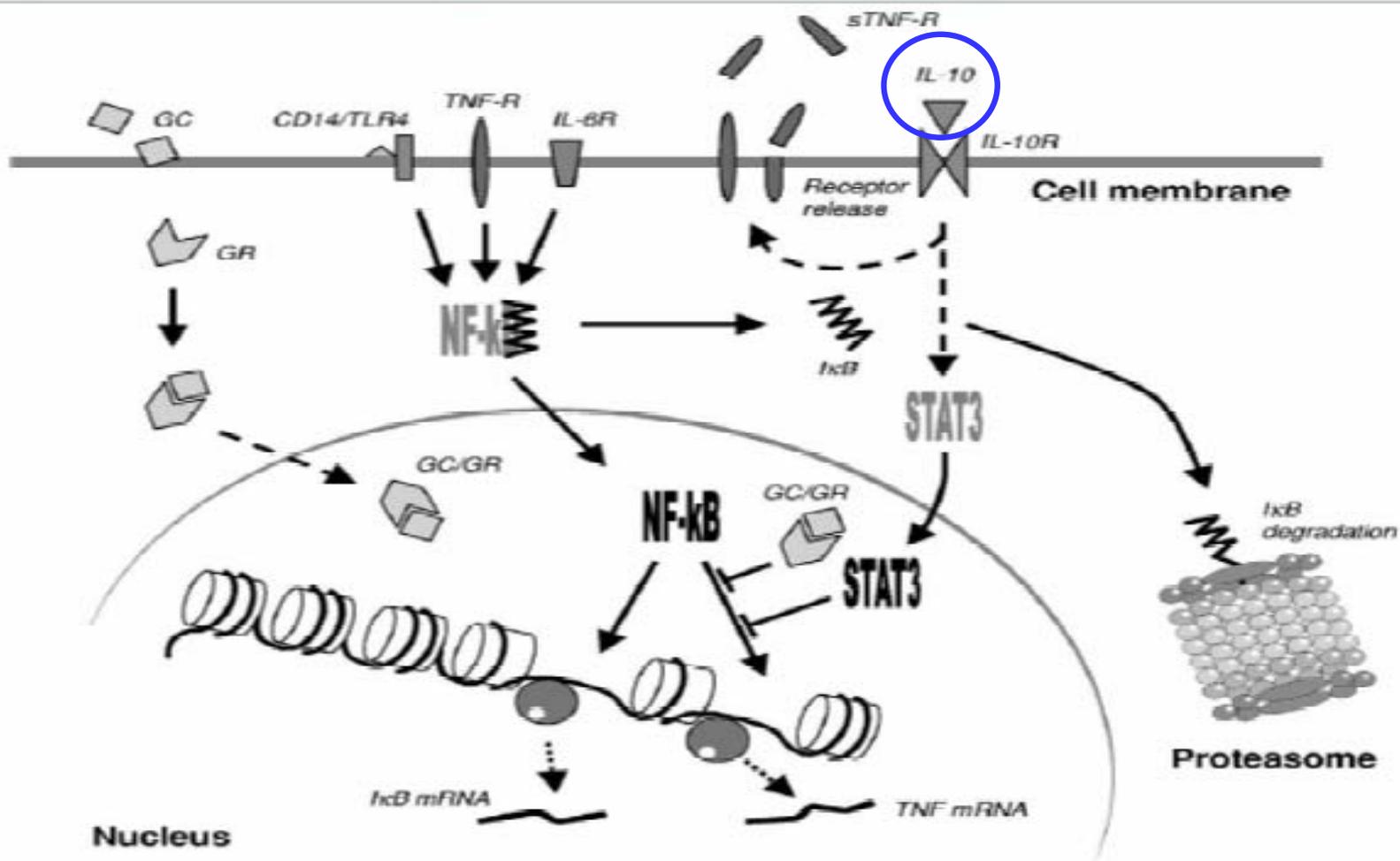
Mecanismos reguladores



Mecanismos Reguladores del Proteasoma

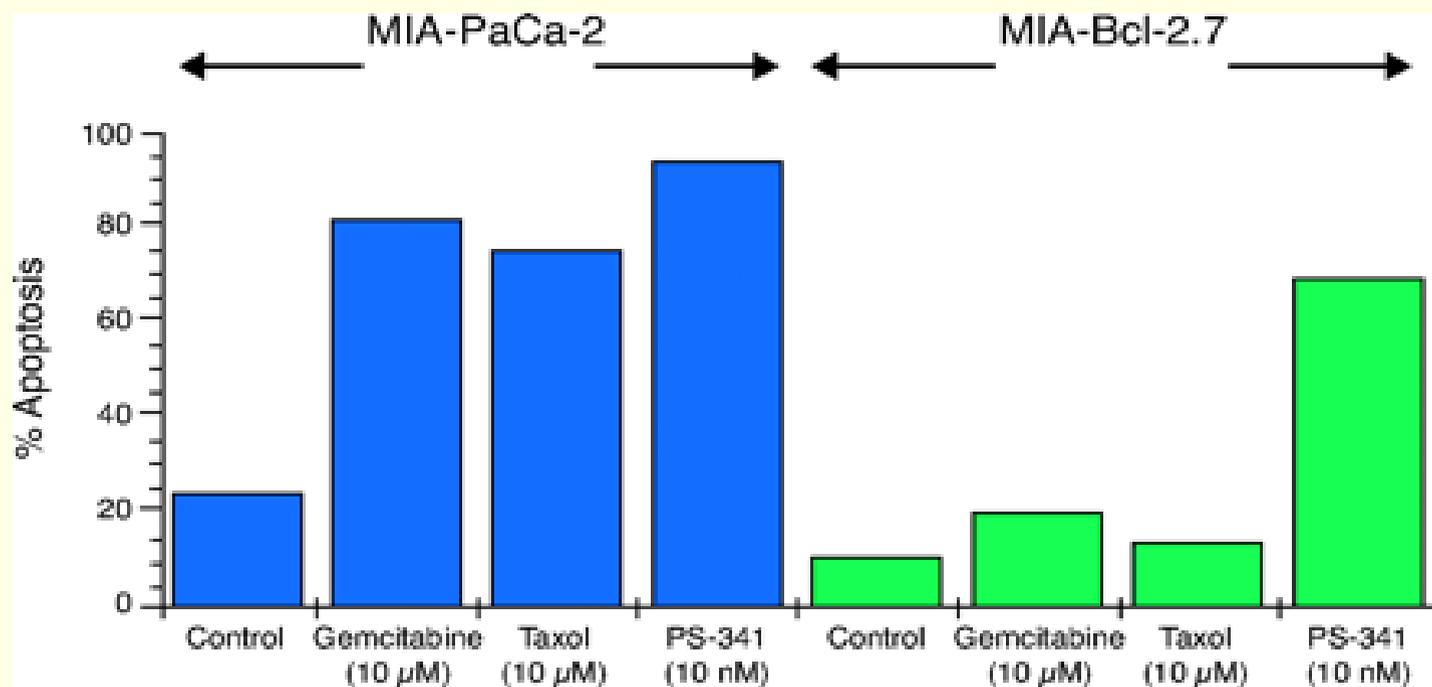


La forma activa de NF-κB, es un heterodímero de p65 y p50. Se mantiene inactiva al tener unido un inhibidor el IκB. La activación de NF-κB requiere del proteasoma. TNF induce su activación al fosforilar a IκB. Este proceso se puede bloquear, impidiendo la translocación de NF-κB al núcleo y la transcripción génica.





PS-341 Aumenta la Apoptosis en células pancreáticas transfectadas con Bcl-2

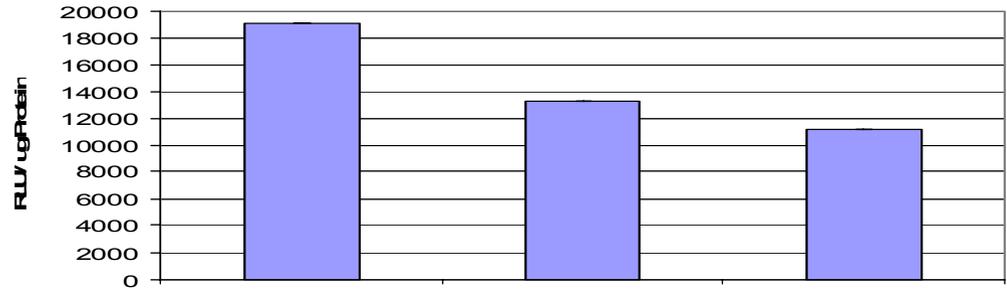


R. Bold, UC Davis

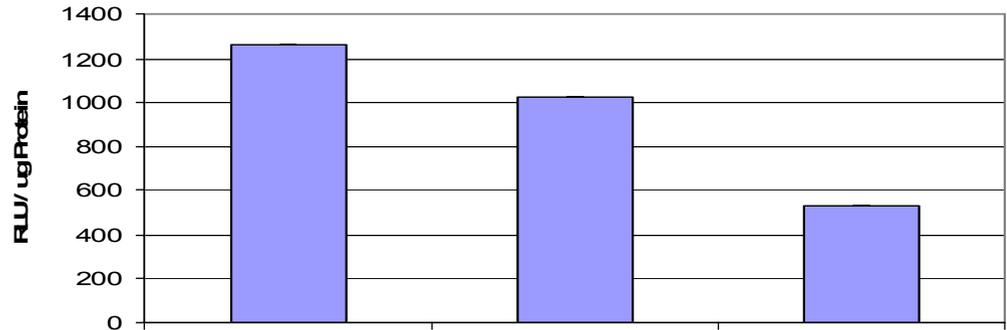


Efecto de PS-341 en NF- κ B Transcripcion Lineas de cancer pancreatico

MIA-PaCa-2



MIA-Bcl-2.7



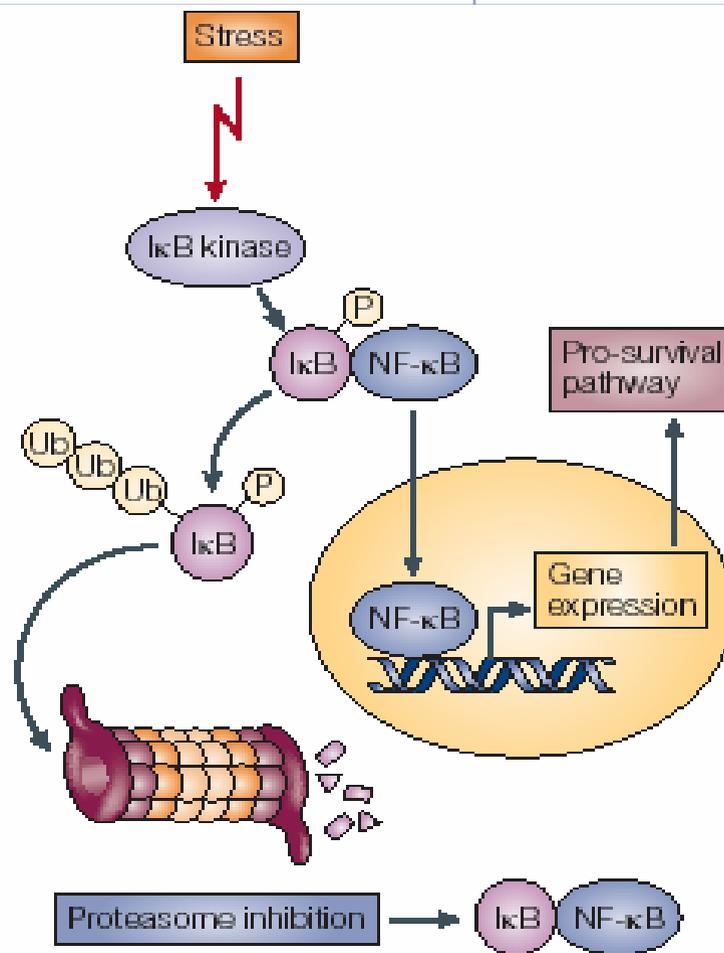
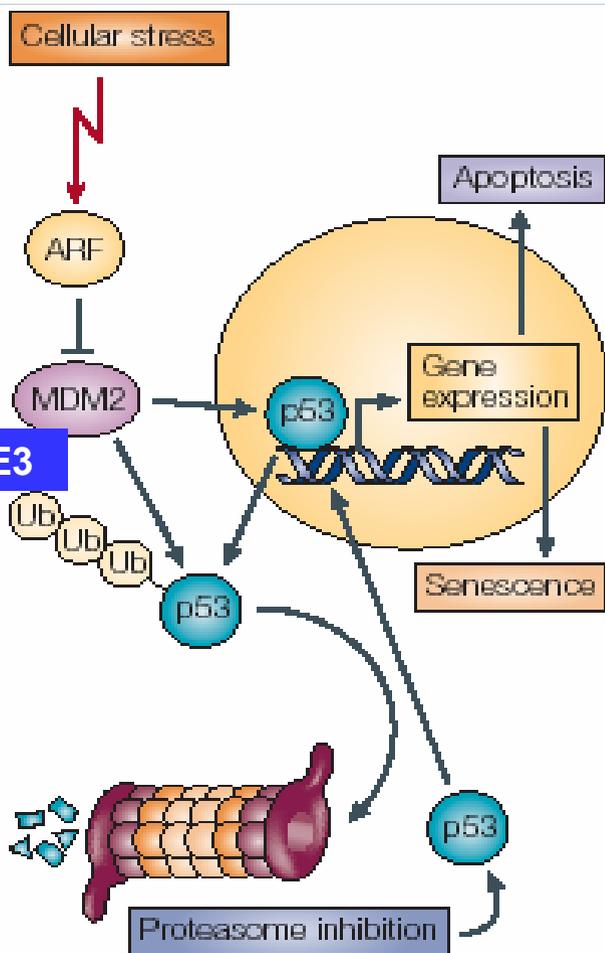
Control

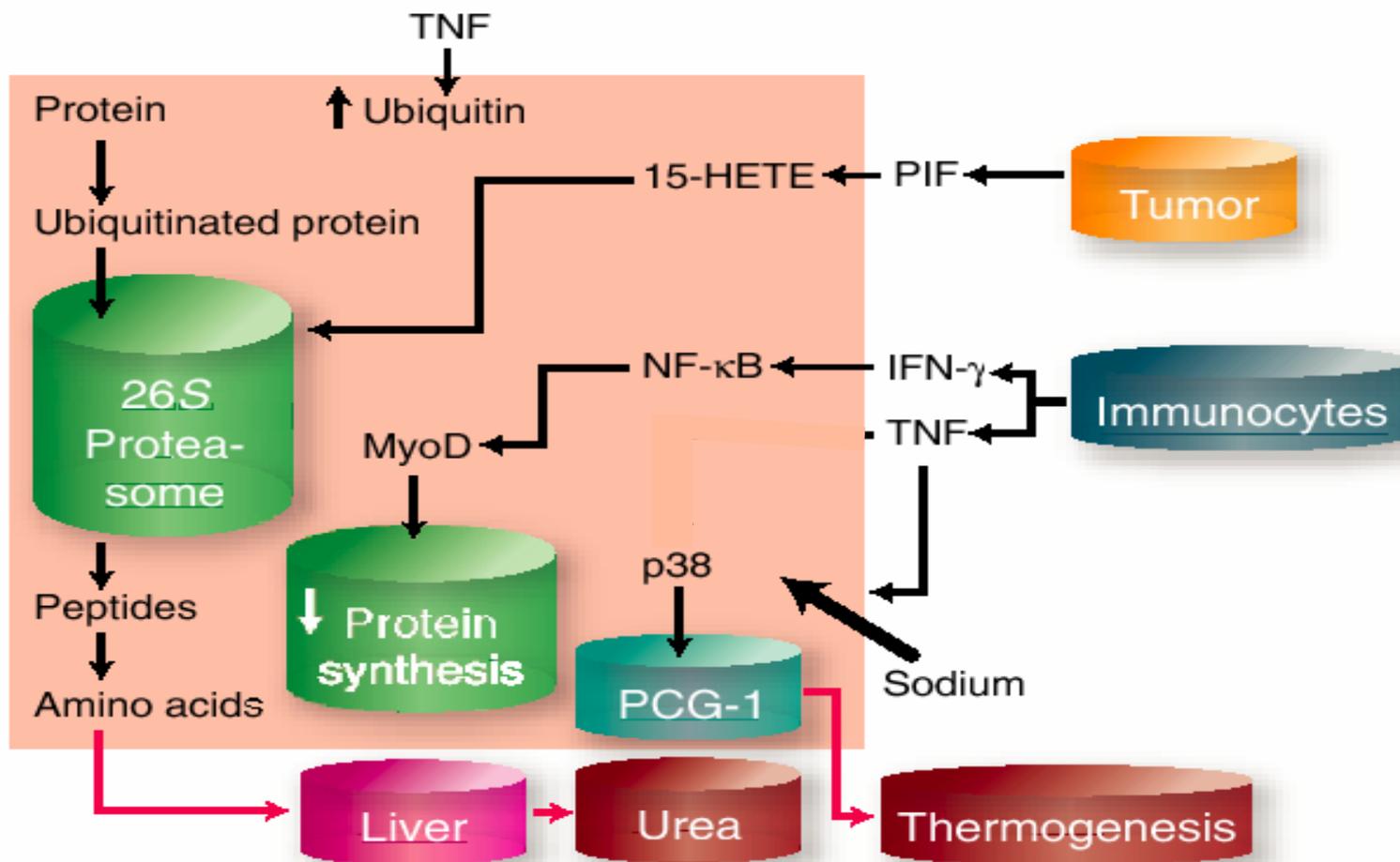
100

1000

PS-341 (nM)

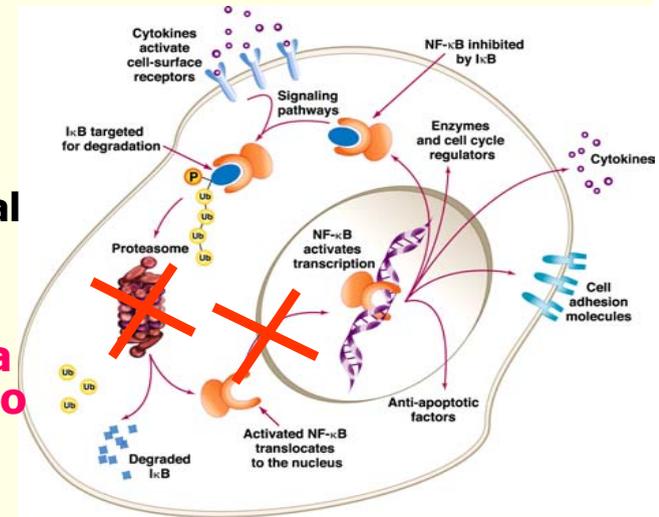
Bold: UC David NF- κ B promoter







- **Aldehídos peptídicos- MG 132, MG-115, PSI**
 - Inhiben reversiblemente actividad quimiotriptica.No afecta actividad ATPasa.Lentos y no selectivos al inhibir proteasas lisosomales y la calpaina
- **Lactacistina (PS-519) y beta-lactasa**
 - Peptido actinomiceto.Tb inhibe catepsina A
- **Peptidos con grupos sulfo-vinilicos(NLVS)**
 - Inhibidores irreversibles. Modifican zona catalitica
- **Epoxicetonas (eponemicina,epoximicina)**
 - Inhiben actividad quimiotriptica.Solo inhiben al proteasoma
- **Acidos Borónicos peptídicos**
 - **PS-341-Bortezomib Muy potente.Se une a area quimiotriptica de forma reversible. No a otras proteasas**



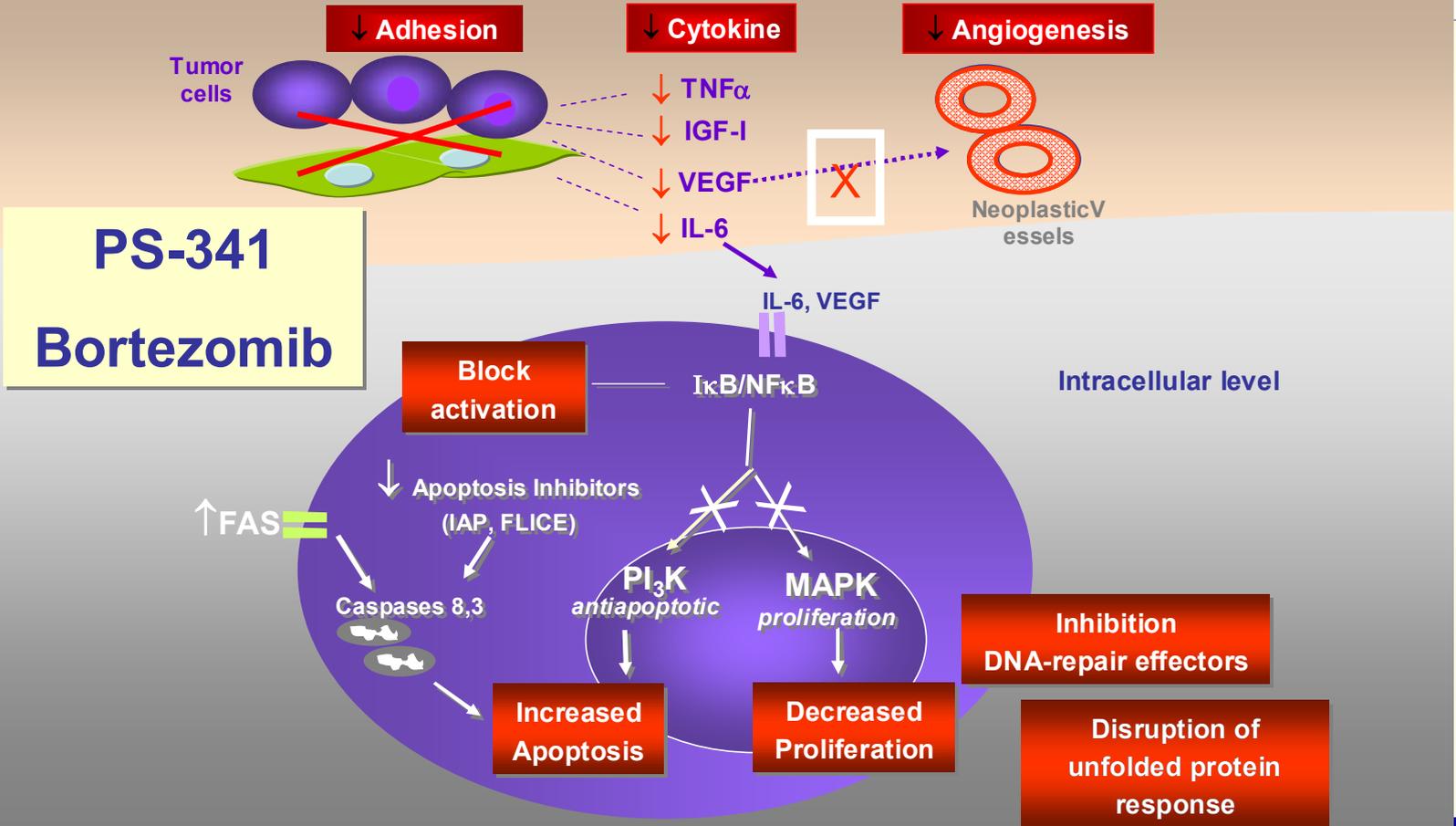
Inhibidores del Proteasoma



Inhibidor potente y selectivo

- **Administración iv (90%plasma) < tox**
- **Vida media 24 h (acción 2-3 días tras admon)**
- **No activo: SNC; testiculos, ojos**
- **Efecto:**
 - **Induce apoptosis**
 - **Disminuye expresión de moléculas de adhesión**
 - **Disminuye transcripción y secreción de citokinas**
 - **Inhibe crecimiento de las células tumorales**
 - **¿disminuye la caquexia tumoral?**

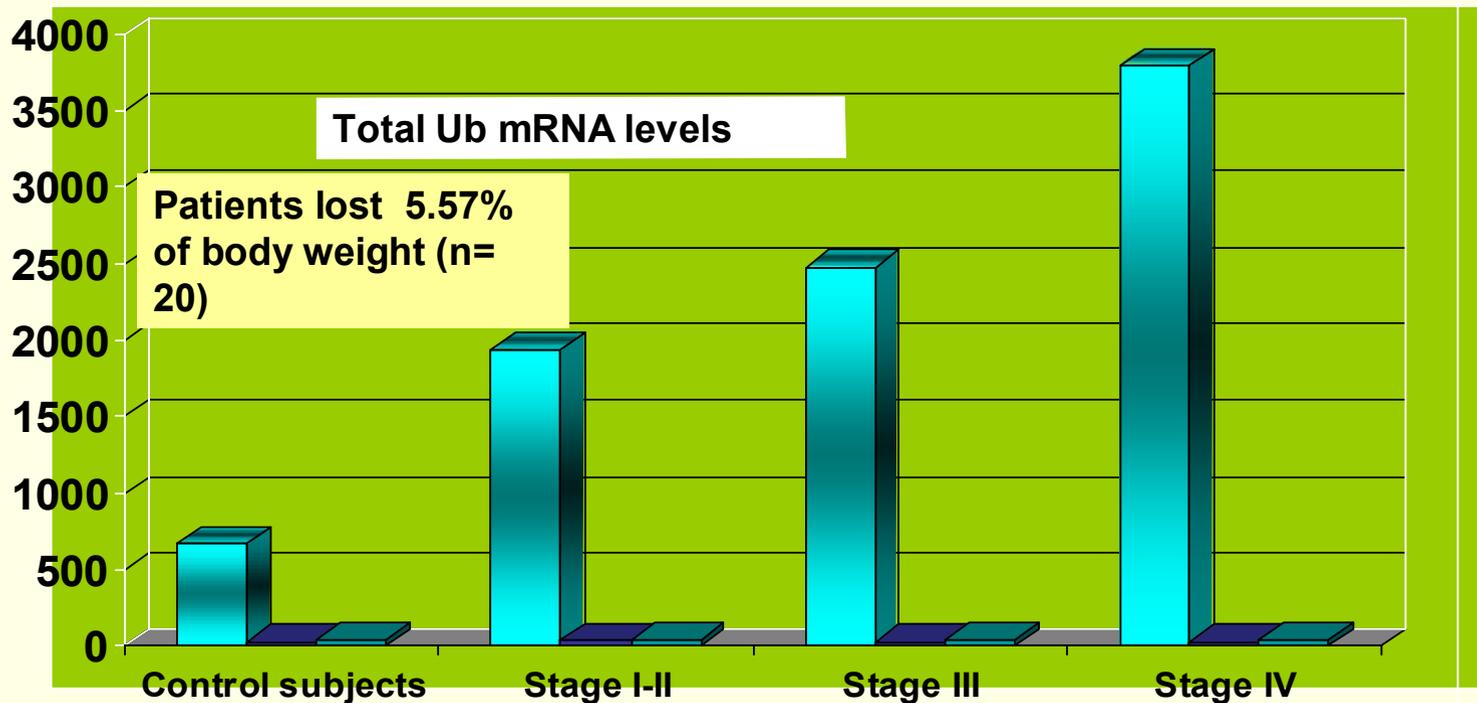
Bortezomib datos clínicos



Inhibición por PS 341



Bossola et al. American Journal of Physiology 2001, 280: 1518-1523



Williams A, Surgery 1999, 126:744-750. Estudio de 6 casos

Niveles de m RNA Ubiquitina en cáncer gástrico



- **La caquexia del cáncer es una variante de la inflamación crónica, mediada por dos citocinas (TNF-PIF), con grave impacto sobre el enfermo**
- **NF-kB es una de las llaves de la caquexia**
- **La vía Ubiquitina Proteasoma, es el mecanismo más importante en la proteólisis muscular. Se activa por PIF o NF-kB inducido por TNF**
- **Origina aumento de la destrucción proteica y disminución reparación mediada por MyoD**
- **En cada enfermo la implicación de ambas vías puede ser diferente**
- **Inhibidores del proteasoma, de E2- E3, así como la dinámica molecular de la caquexia deben ser investigados detenidamente**
- **El tratamiento en el futuro será con multiagentes.
Farmacogenómica**

DESNUTRICIÓN: Resumen y cuestiones pendientes