

## MECANISMES MOLECULARS ASSOCIATS A LA CAQUÈXIA CANCEROSA

JOSEP M. ARGILÉS, NEUS CARBÓ I FRANCISCO J. LÓPEZ-SORIANO

*Departament de Bioquímica i Biologia Molecular. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona*

Adreça per a la correspondència: Josep M. Argilés. Unitat de Bioquímica i Biologia Molecular B. Departament de Bioquímica i Biologia Molecular. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Diagonal 645. 08071-Barcelona. Telèfon: 34-3-4021002. Telefax: 34-3-4021559. Adreça electrònica: [argiles@porthos.bio.ub.es](mailto:argiles@porthos.bio.ub.es).

*Paraules clau: Caquèxia cancerosa / Desgast muscular / Canvis metabòlics / Citocines*

### INTRODUCCIÓ

La caquèxia cancerosa és una síndrome complexa que es presenta a més del 65 % dels pacients que moren de càncer avançat i, segons Warren (1932), és responsable de la mort del 22 % dels pacients afectats per tumors. En aquest sentit, el grau de caquèxia és inversament proporcional a la supervivència del pacient i, a més, implica sempre una prognosi molt desfavorable (Harvey *et al.*, 1979; De Wys, 1985). Etimològicament, el terme caquèxia deriva del grec *kakos* i *hexis*, amb el significat de *dolenta* i *condició* respectivament. Efectivament, la síndrome caquèctica es caracteritza per una marcada pèrdua de pes, anorèxia, astènia i anèmia. Potser una de les característiques més comunes de la caquèxia és l'astènia, paraula procedent també del grec (*a* i *stenos*, significat *sense* i *força* respectivament), i que reflecteix

molt bé un dels factors més interessants involucrats a la caquèxia cancerosa: la pèrdua de massa muscular (veure Argilés *et al.*, 1992, per a revisió del tema). Certament, l'astènia es caracteritza per una debilitat generalitzada, així com per una fatiga mental i física (Adams i Victor, 1981). En aquest sentit, la pèrdua de massa corporal magra és una de les característiques principals de la caquèxia, i implica alteracions no només a la massa muscular esquelètica, sinó que també afecta la massa cardíaca i, per tant, el funcionament del cor. Houten i Reilley (1980), després d'examinar més de 4.000 informes d'autòpsies, arribaren a la conclusió que els problemes cardíacs poden ésser responsables de més del 20 % de la mortalitat associada al càncer. A més, McBride *et al.* (1990) han descrit que més del 50 % dels pa-

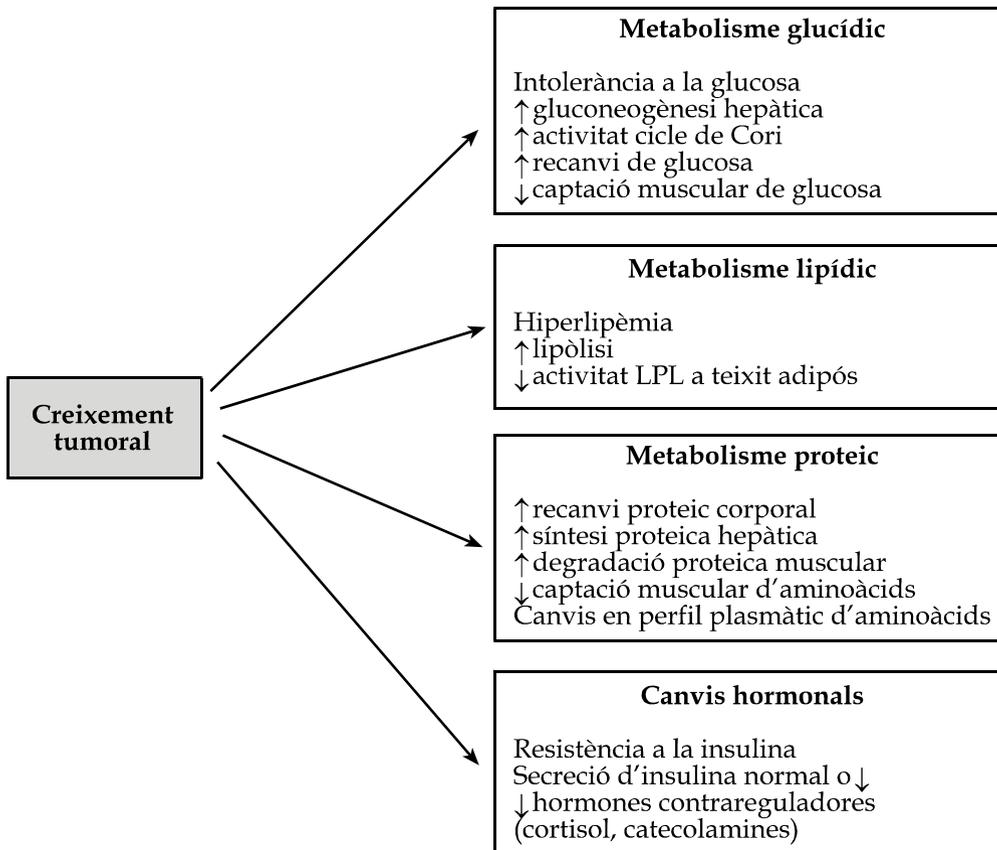


FIGURA 1. Principals canvis metabòlics associats al creixement tumoral

cients afectats per mieloma múltiple experimenten problemes cardíacs. Per tal de donar raó del fenomen cardíac, hom troba diferents explicacions. La presència del tumor està invariablement associada a malnutrició deguda a la inducció d'anorèxia i, per tant, a una disminució de la ingesta. A més, la competició pels nutrients que s'estableix entre el tumor i l'hoste genera un estat de dejuni «accelerat» (Argilés i Azcón-Bieto, 1988) que promou importants canvis metabòlics en aquest (figura 1). La presència de factors tumorals i humorals (principalment citocines) s'associa tant a la depleció de reserves lipídiques com de massa muscular. El present ca-

pítol discutirà els principals factors implicats en l'aparició i el manteniment de l'estat caquètic i com el tumor influencia la maquinària metabòlica del pacient portador.

## ANORÈXIA

L'anorèxia o disminució de la ingesta podria ésser més aviat un efecte que la causa principal de la massiva pèrdua de pes associada als estats cancerosos. Aquesta suposició recolza en sòlides bases experimentals. En aquest sentit, la nutrició parenteral total (la qual implica un alt cost clínic) ha portat a

resultats molt controvertits, en alguns casos beneficiosos (Copeland *et al.*, 1976), mentre que en d'altres no ha dut a cap millora en el temps de supervivència dels pacients (Heber *et al.*, 1988). A més, fins i tot en aquells casos on ha portat a una millora del pes corporal, aquesta no ha estat necessàriament associada a canvis en la massa corporal magra sinó més aviat a la retenció hídrica i s'ha manifestat amb edema perifèric i disminució de l'hematòcrit (Evans *et al.*, 1985). En segon lloc, en diferents models experimentals els animals sotmesos a la mateixa restricció calòrica que afecta els portadors de tumors no experimenten la mateixa pèrdua de pes o canvis metabòlics que els animals portadors de tumor. De fet, la presència del tumor induïx canvis que s'assemblen més als que es troben en situacions d'infecció que als característics dels estats de restricció calòrica (Lowry, 1991). En tercer lloc, de vegades la presència del tumor afecta el tracte gastrointestinal, la qual cosa pot provocar una disminució de la ingesta com a conseqüència de l'obstrucció mecànica o del dolor (Balducci i Hardy, 1985). A més, el tractament antitumoral (quimioteràpia, radioteràpia) pot induir nàusees i vòmits i, conseqüentment, anorèxia. També es produeixen alteracions a la percepció de les característiques organolèptiques dels aliments (gust i olor), com també problemes psicològics (depressió), factors que contribueixen definitivament a la disminució de la ingesta (Balducci i Hardy, 1985).

En relació al possible mecanisme molecular responsable de l'estat anorèctic, cal tenir en compte que la ingestió d'aliments és una funció complexa, resultant de la integració de senyals perifèrics i centrals en l'àmbit de l'hipotàlem ventral (Davis i Levina, 1977; De Wys, 1979). En aquest sentit, l'estimulació del nucli hipotalàmic medial inhibeix la ingesta, mentre que l'estimulació del nucli lateral la potencia. L'estimula-

ció mitjançant olors agradables afavoreix la ingesta, mentre que la distensió gastrointestinal la inhibeix. D'altra banda, s'han trobat diferents factors que poden actuar generant impulsos inhibitoris que es transmeten a l'hipotàlem per estimulació de fibres serotoninèrgiques i catecolaminèrgiques. A més, alts nivells circulants de lactat (Argilés i López-Soriano, 1991) o canvis a les concentracions circulants d'aminoàcids (Rivera *et al.*, 1987; Argilés i López-Soriano, 1990a) podrien participar en la resposta anorèctica enfront del càncer. Una altra molècula que hi podria estar involucrada és la interleucina-1 (IL-1), produïda com a resposta a la secreció de factor necròtic tumoral- $\alpha$  (TNF) durant la invasió tumoral. En aquest sentit, s'ha vist que la IL-1 és capaç d'induir anorèxia en diferents models experimentals (Mrosovsky *et al.*, 1989).

Per concloure, l'anorèxia sembla ésser més l'efecte que la causa de la pèrdua de pes lligada al càncer. D'aquesta manera, l'estat caquètic es perpetua i s'agreuja mitjançant un mecanisme que involucra l'anorèxia en una espècie de sistema de retroacció positiu, que en molts casos porta a la mort del pacient.

## EFICIÈNCIA ENERGÈTICA

El manteniment del pes corporal requereix que la ingesta i la despesa calòriques siguin equivalents. De fet, aquestes dues variables estan sovint interconnectades, ja que quan augmenta la ingesta també s'incrementa la despesa i a l'inrevés. Per exemple, en situacions de dejuni hi ha una important disminució del consum d'oxigen (Felig, 1979), mentre que la sobreingesta de carbohidrats s'associa amb un augment de la termogènesi (Stock i Rothwell, 1986). Aquesta relació entre ingesta i despesa constitueix un mecanisme encaminat a es-

talviar calories quan l'ingesta és baixa, i a prevenir l'obesitat quan es consumeix un excés de calories. A l'estat caquètic, però, la disminució de la ingesta no s'acompanya d'una reducció en la despesa. De fet, Hyltander *et al.* (1991) han demostrat que molts pacients afectats per càncer presenten una més alta despesa energètica basal que individus sans. Existeixen diferents mecanismes que podrien estar involucrats en l'augment de la despesa energètica. Així, la termogènesi no tremolosa té lloc al teixit adipós marró (TAM), gràcies al fet que les cèl·lules d'aquest teixit disposen d'una proteïna de 32 kDa anomenada termogenina o

proteïna desacobladora (UCP) (Nicholls, 1983), la qual desacobla la fosforilació oxidativa i el transport electrònic mitocondrial. Conseqüentment, l'energia associada a l'oxidació de substrats no s'utilitza per a la síntesi d'ATP, sinó que s'allibera en forma de calor. S'ha vist que la injecció perifèrica o intracerebral de baixes dosis de TNF provoca un ràpid increment en la taxa metabòlica associat a un augment de l'activitat desacobladora del TAM (Rothwell, 1993). Tanmateix, en situacions de caquèxia s'han trobat augments a la termogènesi en el TAM tant en humans (Bianchi *et al.*, 1989) com en models experimentals (Oudart *et al.*,

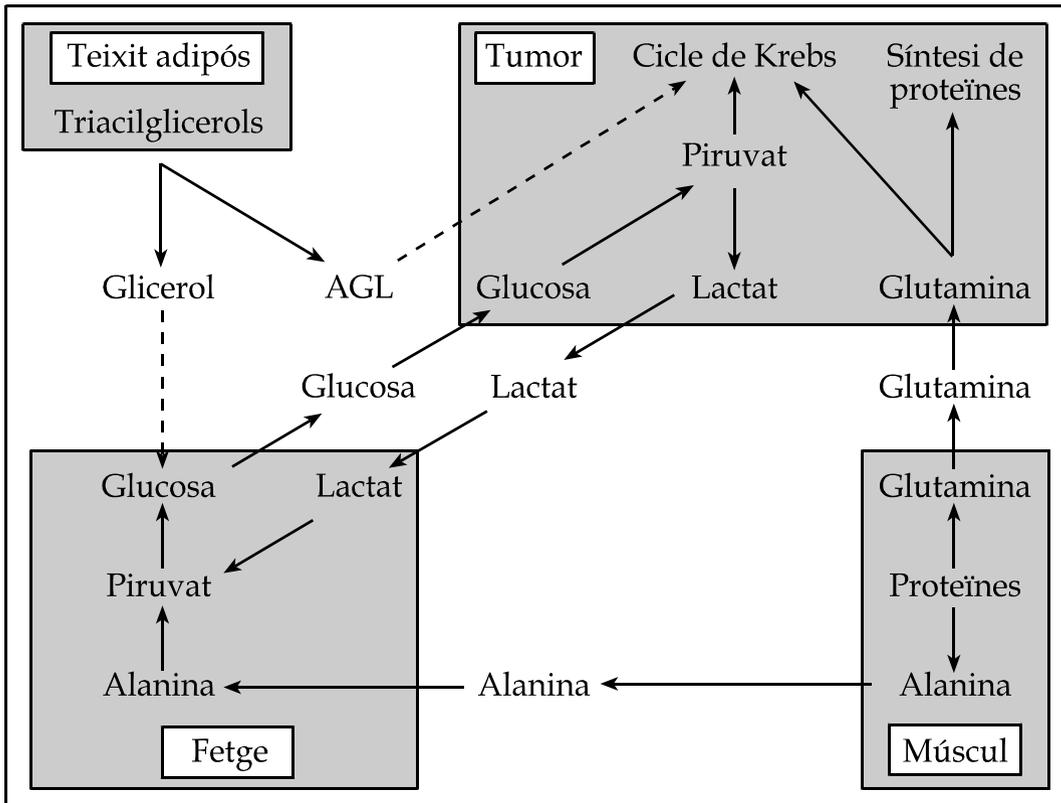


FIGURA 2. Interaccions metabòliques entre el tumor i l'hoste.

Les alteracions més importants associades a la caquèxia cancerosa són: 1) el reciclatge de lactat associat amb un augment de la gluconeogènesi hepàtica i activitat de cicle de Cori; 2) la mobilització lipídica, fruit de l'augment lipolític i de la inhibició de la LPL, i 3) la pèrdua de massa muscular com a resultat de l'augment de degradació proteica associada a un fort alliberament d'aminoàcids per part del múscul.

1995). D'altres mecanismes que podrien contribuir a l'augment de la taxa metabòlica en situacions canceroses es basen en l'activitat dels anomenats cicles fútils, com el cicle de Cori (glucosa-lactat-glucosa) o reciclatge de lactat que té lloc entre el tumor i l'hoste (figura 2). Efectivament, la utilització gluconeogènica del lactat procedent del tumor és un procés metabòlicament molt ineficient, que consumeix sis molècules d'ATP per volta però que és essencial per tal de compensar l'acidosi tumoral. Un altre exemple de cicle fútil és el que involucra un funcionament anòmal de la Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPasa, complex multienzimàtic que funciona bombejant ATP cap a l'exterior de la cèl·lula amb un cost energètic considerable, ja que es tracta d'un transport actiu. Alteracions en l'estequiometria del procés (més ATP per Na<sup>+</sup> translocat) han estat observades en cèl·lules del tumor ascític d'Ehrlich (Racker, 1976).

Per concloure, el pacient afectat per càncer té un comportament metabòlic amb un grau més elevat d'ineficiència metabòlica, la qual cosa, unida a la disminució de la ingesta, té un paper fonamental en l'aparició de la síndrome caquètica.

## CANVIS ASSOCIATS AL METABOLISME LIPÍDIC

La pèrdua de teixit adipós associada a la presència del tumor és deguda a tres processos metabòlics diferents. En primer lloc, hi ha un important augment en l'activitat lipolítica al teixit adipós (Thompson *et al.*, 1981), amb un massiu alliberament de glicerol i àcids grassos lliures (figura 2). El glicerol és captat principalment pel fetge, on actua com a substrat gluconeogènic, mentre que els àcids grassos lliures són utilitzats per altres teixits com a substrats alternatius a la glucosa. És interessant destacar que l'o-

xidació dels àcids grassos no s'inhibeix per glucosa (Shaw i Wolfe, 1987), tal i com s'observa durant el dejuni. Malgrat que els àcids grassos no semblen un important substrat per a les cèl·lules tumorals molt desdiferenciades (les més agressives), alguns estudis han demostrat que els àcids poliinsaturats (linoleic i araquidònic) són capaços d'estimular el creixement tumoral en activar la mitosi (Imagawa *et al.*, 1989). En segon lloc, es produeix una important disminució de l'activitat lipoproteïna lipasa (LPL) (l'enzim responsable del trencament hidrolític dels triacilglicerols de les lipoproteïnes) al teixit adipós (Thompson *et al.*, 1981; Lanza-Jacoby *et al.*, 1984; Noguchi *et al.*, 1991), la qual cosa porta a una important disminució de l'entrada de lípids al teixit. En tercer lloc, es produeix una important disminució de la lipogènesi *de novo* en el teixit adipós en situacions tumorals (Thomson *et al.*, 1981), la qual cosa es tradueix en una menor esterificació i, per tant, deposició de triacilglicerols.

Un altre aspecte interessant que afecta el metabolisme lipídic en pacients portadors de diferents tipus de tumors és la clara hiperlipèmia, manifestada especialment com una elevació dels nivells circulants de triacilglicerols, encara que el colesterol sovint es troba també augmentat. Aquesta hipertrigliceridèmia és, en part, conseqüència de la disminuïda activitat LPL, fet que provoca una reducció de l'aclariment de les lipoproteïnes amb alt contingut de triacilglicerols, fonamentalment els quilomicrons i les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL). Muscaritoli *et al.* (1990) han demostrat clarament aquest fet després de l'administració intragàstrica d'una càrrega oral de triacilglicerols a pacients cancerosos. En animals portadors de tumors experimentals inductors de caquèxia també s'ha trobat una important associació entre la disminució de l'activitat LPL i la hipertrigliceridè-

mia (Evans i Williamson, 1988a; López-Soriano *et al.*, 1996). Un últim factor que també podria contribuir a l'elevació dels triacilglicèrols circulants és l'augment de la lipogènesi hepàtica (Mulligan i Tisdale, 1991).

Com hem assenyalat anteriorment, tant en humans com en animals experimentals afectats per tumors s'observa un cert grau d'hipercolesterolèmia (Dessi *et al.*, 1991, 1992). Les perturbacions que afecten el metabolisme del colesterol en estats cancerosos inclouen canvis en els patrons lipoproteics, en particular una important disminució de la quantitat de colesterol transportat en la fracció de lipoproteïnes d'alta densitat (HDL) (Dessi *et al.*, 1991). Les HDL tenen un paper molt important en el transport del colesterol excendentari dels teixits extrahepàtics cap al fetge, on serà reutilitzat o excretat per via biliar. Aquests baixos nivells de colesterol presents en la fracció de HDL podrien estar parcialment relacionats amb una més gran utilització i/o acumulació per part del teixit hiperproliferatiu, en aquest cas el tumor. De totes maneres, posat que es pensa que les partícules precursors de HDL deriven de la hidròlisi de les lipoproteïnes riques en triacilglicèrols (quilomicrons i VLDL) (Eisenberg, 1984), i donada la correlació positiva trobada entre les HDL plasmàtiques i l'activitat LPL (Eisenberg, 1984), s'ha de considerar la possibilitat que els baixos nivells de colesterol presents a les HDL en estadis tumorals siguin secundaris a la disminució de l'aclariment dels triacilglicèrols de les lipoproteïnes plasmàtiques, com a resultat de la citada inhibició de l'activitat LPL.

Conseqüentment, l'elevació dels nivells circulants de lípids sembla una de les característiques més generals dels estats tumorals i, de fet, alguns autors han suggerit que els nivells circulants d'aquests compostos podrien ésser utilitzats com a marcador tumoral (Fanelli *et al.*, 1995).

## DESGAST MUSCULAR

La musculatura esquelètica, que gairebé representa la meitat de la massa proteica corporal, es veu greument afectada en estats caquètics (Lawson *et al.*, 1982; Tisdale, 1992), en part com a conseqüència dels canvis a les taxes de recanvi proteic (Kien i Camitta, 1987; Tessitore *et al.*, 1987; Melville *et al.*, 1990). Com que aquesta pèrdua de massa muscular es produeix en estadis avançats del procés tumoral, la seva prevenció és d'un gran interès clínic. El balanç nitrogenat negatiu en l'àmbit muscular es pot explicar com a conseqüència d'un augment en la taxa de degradació o d'una disminució en la taxa de síntesis proteiques, o bé de les dues coses alhora (Tessitore *et al.*, 1987; Emery *et al.*, 1982; Pain *et al.*, 1984). Rennie *et al.* (1983) defensen que durant la caquèxia cancerosa són els processos de síntesi els que queden afectats, mentre que els canvis en la taxa de degradació foren secundaris. Contràriament, altres autors suggereixen que l'augment en la degradació proteica és fonamental (Lundholm *et al.*, 1982). El nostre grup de recerca, utilitzant diversos models experimentals, ha demostrat clarament que mentre que la síntesi proteica està molt poc alterada, hi ha un important augment de la degradació tant *in vivo* (Costelli *et al.*, 1993) com *in vitro* (García-Martínez *et al.*, 1995). A més, hem identificat el mecanisme proteolític responsable dels canvis musculars associats a la caquèxia cancerosa: es tracta d'un mecanisme no lisosomal i dependent d'ATP i d'ubiquitina (Llovera *et al.*, 1994, 1995; Argilés i López-Soriano, 1996).

El resultat de l'augmentada proteòlisi és un fort alliberament d'aminoàcids per part de la massa muscular, fonamentalment en forma d'alanina i glutamina (figura 2). L'alliberament d'aquests aminoàcids es veu potenciat per una inhibició de la captació d'aquests compostos (García-Martínez *et al.*,

1995). L'alanina es dirigeix principalment al fetge, on és utilitzada sobretot per al manteniment de la gluconeogènesi i de la síntesi proteica. És interessant destacar que la taxa fraccional de síntesi proteica hepàtica es troba augmentada en els animals portadors de tumor, la qual cosa es relaciona amb la síntesi de les anomenades proteïnes de fase aguda, mentre que es presenta una disminució de la síntesi d'altres proteïnes com l'albumina, que dona lloc a hipoalbuminèmia (Kern i Norton, 1988). D'altra banda, la glutamina és utilitzada bàsicament pel tumor com a font d'energia i de nitrogen (Medina *et al.*, 1992) (figura 2).

Resulta particularment interessant destacar el que succeeix amb un altre grup d'aminoàcids: els anomenats aminoàcids de cadena ramificada (valina, leucina i isoleucina). Les concentracions d'aquests compostos són elevades en situacions de creixement tumoral, i el seu recanvi es troba fortament alterat més per causa de la demanda tumoral que de la pròpia oxidació muscular (Argilés i López-Soriano, 1990b). De fet, aquests aminoàcids són dels pocs que poden ésser degradats en l'àmbit muscular, i sembla que podrien actuar estimulant la síntesi de proteïnes i inhibint-ne la

degradació tant *in vitro* (Buse i Reid, 1975; Tischler *et al.*, 1982; Mitch i Clark, 1984) com *in vivo* (Blomstrand *et al.*, 1991; Smith *et al.*, 1992). Especulant es podria dir, doncs, que durant la caquèxia cancerosa la resposta del múscul al control per part d'aquests aminoàcids es troba alterada. És interessant destacar també que els agonistes adrenèrgics de tipus  $\beta 2$  (clenbuterol, salbutamol), els quals són capaços de revertir l'activació del sistema proteolític dependent d'ubiquitina durant el creixement tumoral (Costelli *et al.*, 1995a), inhibeixen també l'augment de l'oxidació muscular dels aminoàcids de cadena ramificada que s'observa en estats tumorals (Costelli *et al.*, 1995b).

## MEDIADORS DE LA CAQUÈXIA

Encara que la recerca del(s) factor(s) inductor(s) de la caquèxia va començar fa ja bastants anys, i malgrat que s'hi hagin destinat molts esforços tant científics com econòmics, encara som força lluny de conèixer totalment la veritat. S'ha avançat molt, però, i els possibles mediadors reponsables de la pèrdua tant de massa adiposa com muscular es poden dividir en dues categories: els d'origen tumoral (produïts i alliberats pel neoplasma) i els humorals (principalment citocines) (figura 3).

### Factor necròtic tumoral- $\alpha$

Ja el segle passat Coley (1893) introduí la idea que en determinats casos es podia aconseguir una regressió tumoral si els pacients eren exposats a l'acció de toxines bacterianes. Molt més tard, Old (1985) identificà una proteïna al serum d'animals tractats amb endotoxina bacteriana que era la responsable de la necrosi hemorràgica dels tumors: s'anomenà factor necròtic tumoral

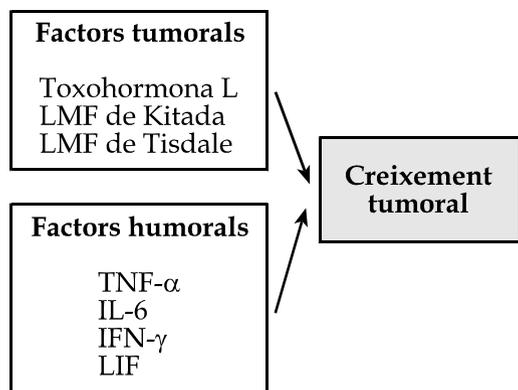


FIGURA 3. Possibles mediadors de l'estat caquèctic.

(TNF). De manera més o menys coincident Kawakami i Cerami (1981) identificaren una molècula responsable de la síndrome caquètica associada a la infecció crònica i l'anomenaren caquectina. Més tard es va demostrar que el TNF i la caquectina eren la mateixa molècula (Beutler *et al.*, 1985a).

El TNF és sintetitzat principalment pels macròfags en resposta a estímuls invasius, en forma d'una proteïna precursora de 26 kDa lligada a membrana, i que és transformada per proteòlisi en una forma madura de 17 kDa (Jue *et al.*, 1990). El pèptid és bioactiu com un trímer de 51 kDa, que pot ésser reconegut per dos tipus diferents de receptors, el TNFR1 o p55 (55 kDa) i el TNFR2 o p75 (75 kDa). El TNF és un factor pleotròpic que exerceix tota una variada sèrie d'efectes com, per exemple, estimulació o inhibició del creixement, angiogènesi, citotoxicitat, inflamació i immunomodulació (Aggarwal i Natarajan, 1996).

Encara que l'administració episòdica de TNF no és capaç d'induir caquèxia (Socher *et al.*, 1988a; Mullen *et al.*, 1990) per causa de fenòmens de taquifilàxia (Tracey *et al.*, 1988), la implantació de cèl·lules CHO que expressen constitutivament el gen del TNF humà (incorporat per transfecció) a ratolins immunodeprimits comporta una massiva pèrdua de pes (Oliff *et al.*, 1987). D'altra banda, s'han trobat concentracions augmentades de TNF en aproximadament la meitat dels pacients amb infeccions parasítiques (Scuderi *et al.*, 1986; Grau *et al.*, 1987) i en pacients amb septicèmia (Waage *et al.*, 1986), situacions en què es troba un fort estat caquètic. L'augment de la concentració de TNF en aquesta darrera situació patològica es deu als elevats nivells d'endotoxina bacteriana, compost que estimula la producció de TNF (Beutler *et al.*, 1985b; Tracey *et al.*, 1987; Michie *et al.*, 1988). Malgrat això, les concentracions circulants de TNF en pacients cancerosos són més variables. Així,

mentre que Balkwill *et al.* (1987) trobaren alts nivells de TNF en el 50 % dels 226 pacients analitzats, i mentre que també s'han observat altes concentracions de TNF en nens afectats per leucèmia linfoblàstica aguda (Saarinen *et al.*, 1990), altres autors no han trobat cap tipus d'augment (Waage *et al.*, 1986; Socher *et al.*, 1988b). De manera semblant, mentre que en certs casos no s'ha trobat en alguns tumors experimentals (Moldawer *et al.*, 1988), en d'altres les concentracions circulants de TNF són molt altes (Costelli *et al.*, 1993; Stovroff *et al.*, 1988). Aquests resultats contradictoris poden ésser conseqüència, entre altres coses, de les diferents sensitivitats dels assaigs utilitzats, de l'estabilitat del TNF durant la conservació de les mostres, de la vida mitjana relativament curta del TNF *in vivo* o, fins i tot, de la producció paracrina d'aquesta citocina.

En l'àmbit del metabolisme del teixit adipós, s'ha vist que el TNF és capaç de disminuir l'activitat (Price *et al.*, 1986) i els nivells de mRNA (Cornelius *et al.*, 1988) de la LPL en cèl·lules 3T3-L1 cells. Fried i Zechner (1989) han demostrat que el TNF produeix una important supressió de la LPL en teixit adipós humà en cultiu. Tanmateix, l'administració de TNF provoca una disminució de l'activitat LPL del teixit adipós en diferents tipus d'animals experimentals (Semb *et al.*, 1987; Cornelius *et al.*, 1988; Fried i Zechner, 1989). La disminució de l'activitat LPL es relaciona amb una davallada en la captació de lípids exògens per part del teixit adipós blanc, lligada a un augment de la concentració circulants de triacilglicerols (Evans i Williamson, 1988b). Aquesta hipertrigliceridèmia pot, en part, ésser el resultat d'una augmentada producció hepàtica de VLDL (Feingold i Grunfeld, 1987; Kraus *et al.*, 1990). De manera oposada a aquestes observacions, la citocina no influeix ni l'activitat ni els nivells de la LPL en cultius primaris d'adipòcits humans (Kern, 1988). Per

altra banda, l'addició de TNF a cèl·lules 3T3-L1 provoca un augment de la lipòlisi (Kawakami *et al.*, 1987), fet que ha estat confirmat per altres autors utilitzant adipòcits completament diferenciats (Feingold *et al.*, 1992). Tant el TNF com la IL-1 inhibeixen el transport de glucosa en adipòcits (Hauner *et al.*, 1995) i disminueixen conseqüentment la disponibilitat de substrats lipogènics. De manera oposada, no s'ha trobat cap efecte

del TNF sobre la lipogènesi *de novo* en teixit adipós de rates dejunades (Feingold i Grunfeld, 1987). Malgrat això, el TNF disminueix l'activitat d'un dels enzims clau en el procés lipogènic, l'acetil-CoA carboxilasa, durant la diferenciació preadipocitària mitjançant canvis en el seu mRNA, encara que aquest fet no s'observa en adipòcits completament diferenciats (Pape i Kim, 1988).

Hi ha un gran nombre d'evidències expe-

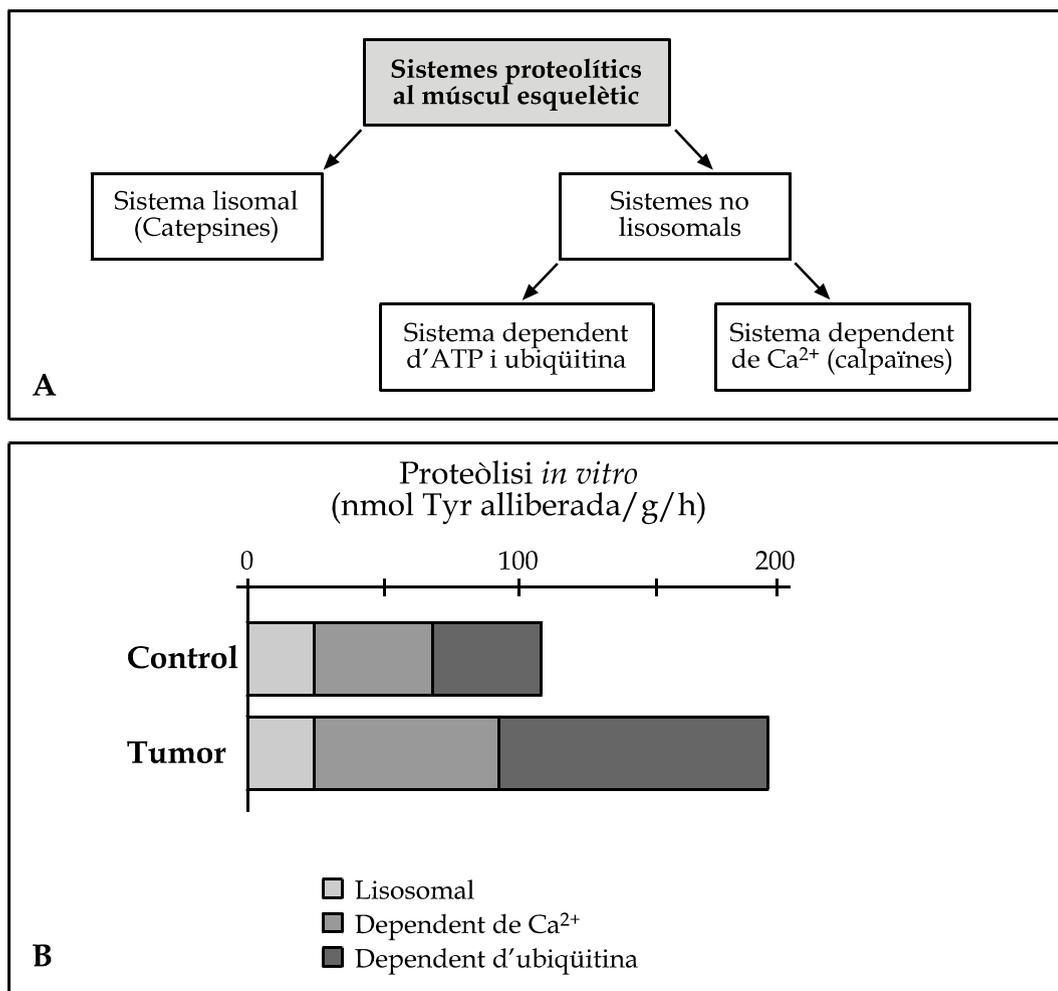


FIGURA 4. Activació de la proteòlisi dependent d'ubiquitina en múscul esquelètic. A) Sistemes proteolítics presents al múscul esquelètic. B) L'augment de la degradació proteica muscular s'associa amb una activació del sistema proteolític dependent d'ATP i ubiquitina (adaptat de Llovera *et al.*, 1995).

rimentals a favor d'un paper del TNF en la pèrdua de proteïna muscular associada a l'estat caquètic. En aquest sentit, el tractament crònic d'animals amb TNF dona lloc a una depleció de proteïnes corporals que afecta principalment el múscul esquelètic (Fong *et al.*, 1989). Tanmateix, l'administració de TNF a pacients amb càncer disseminat provocà un augment de la mobilització de nitrogen muscular (Warren *et al.*, 1987; Flores *et al.*, 1989, mitjançant la infusió de leucina-<sup>14</sup>C a rates, han demostrat que el tractament crònic amb TNF augmenta la taxa de degradació proteica muscular. Resultats similars han estat trobats amb músculs aïllats incubats amb presència de TNF (Goodman, 1991). Estudis realitzats al nostre laboratori han permès concloure que el tractament crònic amb TNF provoca una pèrdua de massa muscular associada a un fort augment de la taxa fraccional de degradació proteica muscular (Llovera *et al.*, 1993). A més, l'activació del sistema proteolític dependent d'ubiquitina que s'observa en situacions de caquèxia tumoral (Llovera *et al.*, 1994, 1995) (figura 4) sembla mitjançat pel TNF (García-Martínez *et al.*, 1993a, 1993b, 1994a). En aquest tipus de proteòlisi, les proteïnes s'uneixen a diverses molècules d'ubiquitina (un pèptid de 8,6 kDa) i són posteriorment reconegudes i degradades pel sistema proteasòmic dependent d'ATP (Hershko *et al.*, 1980; Ciechanover *et al.*, 1984; Finley i Chan, 1991; Peters, 1994). Tanmateix, el nostre grup de recerca ha pogut demostrar que l'administració de TNF a animals experimentals provoca un fort augment tant de la ubiquitinització de proteïnes com de l'expressió dels diferents gens d'ubiquitina (García-Martínez *et al.*, 1993b, 1994a). L'acció del TNF sobre aquest sistema proteolític no sembla mitjançada ni per glucocorticoides (Llovera *et al.*, 1996) ni per IL-1 (Costelli *et al.*, 1995c), sinó que és directa (Llovera *et al.*, 1997), donada la presència de receptors pel TNF en l'àmbit muscular

(Tartaglia i Goeddel, 1992). Podem concloure, doncs, que el TNF, sol o en combinació amb altres citocines, és el responsable de la major part dels canvis observats en el metabolisme nitrogenat del múscul esquelètic.

### Altres citocines

Strassman *et al.*, utilitzant un adenocarcinoma de còlon murí, han vist que el tractament amb un anticòs anti-IL-6 és satisfactori per tal de revertir els paràmetres associats a l'estat caquètic que presenten els animals (Strassmann *et al.*, 1993). Malauradament, altres estudis no han pogut corroborar aquests resultats (Soda *et al.*, 1994). A més, estudis *in vitro* utilitzant múscul esquelètic de rata han demostrat que la IL-6 no té un efecte directe sobre la proteòlisi (García-Martínez *et al.*, 1994b).

Una altra citocina a considerar és l'interferó- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). En aquest sentit, s'ha pogut veure que, de la mateixa manera que en el cas del TNF, l'IFN- $\gamma$  pot inhibir tant l'activitat LPL a cèl·lules 3T3L1 com la taxa lipogènica en adipòcits (Patton *et al.*, 1986). A més, Matthys *et al.* (1991a), utilitzant un anticòs monoclonal anti-IFN- $\gamma$ , han pogut demostrar una important reversió de l'estat caquètic en el model experimental del carcinoma pulmonar de Lewis en ratolí. El mateix grup d'investigadors ha descrit que la implantació a ratolins *nude* de cèl·lules CHO que produeixen constitutivament IFN- $\gamma$  (com a conseqüència de la transfecció del gen corresponent) provoca un fort estat caquètic (Matthys *et al.*, 1991b).

Altres citocines, com el factor inhibidor de leucèmia (LIF) (Mori *et al.*, 1991) o el factor de creixement transformant (TGF- $\beta$ ) (Zugmaier *et al.*, 1991) o la IL-1 (Moldawer *et al.*, 1987) també han estat proposades com a molècules mediadores de la caquèxia. En relació a aquesta darrera citocina, i malgrat que els

seus efectes anorèctics (Mrosofsky *et al.*, 1989) i pirogènics (Hashimoto, 1991) són molt coneguts, l'administració de l'antagonista del receptor (IL-1ra) no va resultar en cap millora de l'estat caquètic en rates portadores de tumor Yoshida AH-130 (Costelli *et al.*, 1995c), la qual cosa suggereix que el seu paper en estats caquètics (si realment el té) pot ésser secundari en l'acció d'altres mediadors.

Tenint en compte tota aquesta informació, es pot concloure que encara que el TNF sembla que té un paper molt important en l'aparició de l'estat caquètic, els canvis metabòlics associats amb aquest estat patològic poden també estar influenciats per l'acció d'altres citocines, o fins i tot per canvis en l'ambient hormonal, com a conseqüència de l'activació del sistema immunitari en resposta a la invasió tumoral.

### Altres factors

No es vol pas donar la idea que les citocines són les úniques molècules involucrades en l'aparició de la caquèxia. Hi ha diferents estudis que suggereixen la participació d'altres

molècules mediadores. En aquest sentit, el descobriment d'una de les primeres derivà dels estudis fets amb cèl·lules del carcinoma Krebs-2 de ratolí: extractes inactius d'aquestes cèl·lules eren capaços d'induir caquèxia en ésser injectats a animals no portadors de tumors (Costa i Holland, 1966). De manera semblant, l'anomenada toxohormona L, aïllada a partir del fluid ascític de pacients amb hepatoma i també de ratolins portadors de sarcomes (Masuno *et al.*, 1981), induïx mobilització lipídica com també immunosupressió i involució tímica (Kitada *et al.*, 1980, 1981, 1982).

Una menció especial mereixen els estudis de Todorov *et al.* (1996), els quals, utilitzant un adenocarcinoma de còlon murí fortament caquètic, han pogut purificar un proteoglicà de 24 kDa (també present a l'orina de pacients cancerosos caquètics) que sembla responsable de la mobilització tant lipídica com proteica.

### ESTRATÈGIES TERAPÈUTIQUES

Com ja s'ha comentat anteriorment, les estratègies nutricionals (alimentació oral,

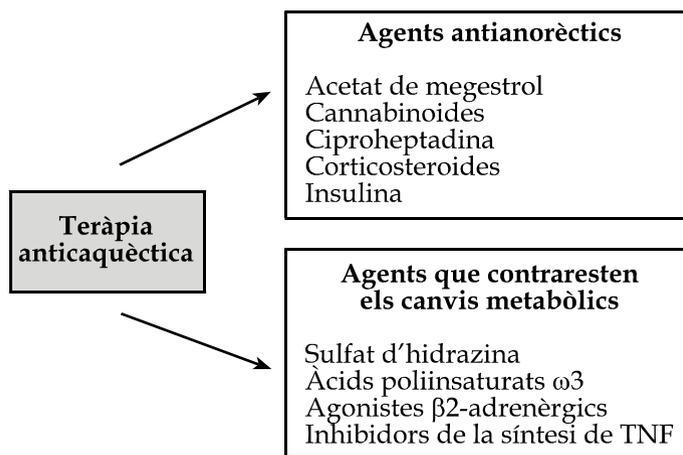


FIGURA 5. Estratègies terapèutiques utilitzades contra la caquèxia.

enteral o parenteral) no han donat bons resultats en el tractament de la caquèxia. És potser per això que les principals estratègies tenen una vessant farmacològica i es poden dividir en dos tipus: les destinades a estimular la gana i les que actuen revertint les anomalies metabòliques relacionades amb el creixement tumoral (figura 5).

Entre les drogues utilitzades per tal de contrarestar l'anorèxia trobem compostos progestacionals com l'acetat de megestrol, compost que estimula la gana i, per tant, millora l'estat nutricional del pacient amb càncer; malgrat això, els estudis duts a terme amb animals de laboratori han demostrat que l'augment de pes s'associa amb un important augment de la massa tumoral (Beck i Tisdale, 1990). A més, sembla que l'augment de pes es deu més a un augment d'aigua corporal que de massa magra corporal, almenys en animals experimentals. Els corticosteroides també s'han utilitzat per augmentar la ingesta dels pacients amb càncer i, com han demostrat diferents estudis, sembla que el seu ús pot mitigar lleugerament l'anorèxia i l'astènia que pateixen aquests pacients. Malgrat que el seu efecte es basa tant en el fet de produir un cert grau d'eufòria com en la inhibició del metabolisme de les prostaglandines, la seva utilització clínica no aconsegueix reduir la mortalitat associada a diverses patologies tumorals (Vigano *et al.*, 1994). Tanmateix, la ciproheptadina és un antagonista de la serotonina amb propietats antihistamíniques i que és utilitzat en el tractament de les al·lèrgies. Malgrat que certes dades clíniques indiquen que el seu ús podria donar lloc a un augment de la ingesta i de la massa corporal, no resulta efectiva en pacients amb estadis avançats de la malaltia (Kardinal *et al.*, 1990). Per altra banda, Plasse *et al.* han dut a terme un estudi clínic amb cannabinoides (marihuana i derivats) i han comprovat que l'augment de la gana i de l'estat emocional provocava, almenys

parcialment, una reducció de la pèrdua de pes. De totes maneres, calen més proves clíniques per treure conclusions definitives (Plasse *et al.*, 1991).

Entre els compostos utilitzats per contrarestar els canvis metabòlics trobem el sulfat d'hidrazina, un inhibidor de la gluconeogènesi. Aquest compost va ésser introduït per Gold com un agent que, en bloquejar el reciclatge de lactat, podria contrarestar parcialment la ineficiència metabòlica del pacient cancerós (Gold, 1975). De fet, els estudis duts a terme amb pacients afectats per carcinoma pulmonar han aconseguit demostrar que la droga perllonga la supervivència (Chlebowski *et al.*, 1990). Encara que sembla que l'administració d'insulina pot contrarestar parcialment l'estat caquètic, almenys en models experimentals, aquesta millora va acompanyada d'un increment en el creixement tumoral (Beck i Tisdale, 1989).

Els àcids grassos poliinsaturats de la sèrie  $\omega 3$ , presents en grans quantitats en l'oli de peix, han demostrat ésser molt eficients a l'hora d'atenuar algunes de les alteracions metabòliques relacionades amb l'estat caquètic, particularment en l'àmbit del teixit adipós (Tisdale, 1993). De fet, en aquelles poblacions del món on el consum de peix és molt alt, la incidència de càncer és relativament baixa. El grup de M. Tisdale ha demostrat que l'administració d'àcid icosanpentaenoic (EPA) a ratolins portadors d'un tumor fortament caquètic resultava en una reversió de l'estat caquètic sense canvis importants a la ingesta (Beck *et al.*, 1991). Malauradament, estudis duts a terme al nostre laboratori amb altres models tumorals no han aconseguit demostrar els efectes beneficiosos de l'EPA sobre el desenvolupament de l'estat caquètic (Costelli *et al.*, 1995d).

Els agonistes adrenèrgics de tipus  $\beta 2$  (per exemple, clenbuterol) són drogues molt interessants per al futur tractament de la caquèxia, atesos els seus efectes en el meta-

bolisme proteic muscular. En aquest sentit, el nostre grup de recerca ha descrit que aquests compostos són capaços d'impedir l'activació del sistema proteolític muscular responsable de la pèrdua de musculatura esquelètica (Costelli *et al.*, 1995a). Finalment, i basant-nos en la importància que el TNF sembla tenir com a mediador de la caquèxia, la utilització d'inhibidors de la seva síntesi (pentoxifilina, rolipram) podria resultar una molt bona estratègia terapèutica.

## AGRAÏMENTS

Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FIS) (97/2059), DGICYT (PB94-0938) i Fundació Pi i Sunyer (E00667).

## BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, R.; M. VICTOR (1981). «Asthenia». A: Adams, R.; Victor, M. *Principles of Neurology*, New York: McGraw-Hill. pàg. 341-345.
- AGGARWAL, B. B.; K. NATARAJAN (1996). «Tumor necrosis factors: developments during last decade». *Eur. Cytokine Netw.*, núm. 7, pàg. 93-124.
- ARGILÉS, J. M.; J. AZCÓN-BIETO (1988). «The metabolic environment of cancer». *Mol. Cell. Biochem.*, núm. 81, pàg. 3-17.
- ARGILÉS, J. M.; F. J. LÓPEZ-SORIANO (1990a). «The effects of tumor necrosis factor- $\alpha$  (cachectin) and tumor growth on hepatic amino acid utilization in the rat». *Biochem. J.*, núm. 266, pàg. 123-126.
- ARGILÉS, J. M.; F. J. LÓPEZ-SORIANO (1990b). «The oxidation of leucine in tumor-bearing rats». *Biochem. J.*, núm. 268, pàg. 241-244.
- ARGILÉS, J. M.; F. J. LÓPEZ-SORIANO (1991). «The energy state of tumor-bearing rats». *J. Biol. Chem.*, núm. 266, pàg. 2978-2982.
- ARGILÉS, J. M.; C. GARCÍA-MARTÍNEZ; M. LLOVERA; F. J. LÓPEZ-SORIANO (1992). «The role of cytokines in muscle wasting: its relation with cancer cachexia». *Med. Res. Rev.*, núm. 12, pàg. 637-652.
- ARGILÉS, J. M.; F. J. LÓPEZ-SORIANO (1996). «The ubiquitin-dependent proteolytic pathway in skeletal muscle: its role in pathological states». *Trends Pharmacol. Sci.*, núm. 17, pàg. 223-226.
- BALDUCCI, L.; C. HARDY (1985). «Cancer and malnutrition: a critical interaction. A review». *Am. J. Hematol.*, núm. 18, pàg. 91-103.
- BALKWILL, F.; F. BURKE; D. TALBOT; J. TAVERNIER; R. OSBORNE; S. NAYLOR; H. DURBIN; W. FIERS (1987). «Evidence for tumor necrosis factor/cachectin production in cancer». *Lancet*, núm. 2, pàg. 1229-1232.
- BECK, S. A.; M. J. TISDALE (1989). «Effect of insulin on weight loss and tumor growth in a cachexia model». *Br. J. Cancer*, núm. 59, pàg. 677-681.
- BECK, S. A.; M. J. TISDALE (1990). «Effect of megestrol acetate on weight loss induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  and a cachexia-inducing tumor (MAC-16) in NMRI mice». *Br. J. Cancer*, núm. 62, pàg. 420-424.
- BECK, S. A.; K. L. SMITH; M. J. TISDALE (1991). «Anticachectic and antitumor effect of eicosapentaenoic acid and its effect on protein turnover». *Cancer Res.*, núm. 51, pàg. 6089-6093.
- BEUTLER, B.; D. GREENWALD; J. D. HULMES; M. CHANG; Y. C. PAN; J. MATHISON; R. ULEVITCH; A. CERAMI (1985a). «Identity of tumor necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin». *Nature*, núm. 316, pàg. 552-554.
- BEUTLER, B.; I. V. MILSARK; A. CERAMI (1985b). «Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin». *Science*, núm. 229, pàg. 869-871.
- BIANCHI, A.; J. BRUCE; A. L. COOPER; C. CHILDS; M. KOHLI; I. D. MORRIS; P. MORRIS-JONES; N. J. ROTHWELL (1989). «Increased brown adipose tissue activity in children with malignant disease». *Horm. Metab. Res.*, núm. 21, pàg. 640-641.
- BLOMSTRAND, E.; P. HASSMEN; B. EKBLOM; E. A. NEWSHOLME (1991). «Administration of branched-chain amino acids during sustained exercise: effects on performance and on plasma concentration of some amino acids». *Eur. J. Appl. Physiol.*, núm. 63, pàg. 83-88.
- BUSE, M. G.; S. S. REID (1975). «Leucine: a possible regulator of protein turnover in muscle». *J. Clin. Invest.*, núm. 56, pàg. 1250-1261.
- CHLEBOWSKI, R. T.; L. BULCAVAGE; M. GROSVENOR; E. OKTAY; J. B. BLOCK; J. S. CHLEBOWSKI; I. ALI; R. ELASHOFF (1990). «Hydrazine sulphate influence of nutritional status and survival in non-small cell lung cancer». *J. Clin. Oncol.*, núm. 8, pàg. 9-15.
- CIECHANOVER, A.; D. FINLEY; A. VARSHAVSKI (1984). «The ubiquitin-dependent pathway and mechanisms of energy-dependent intracellular protein degradation». *J. Cell. Biochem.*, núm. 24, pàg. 27-53.
- COLEY, W. B. (1893). «The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas; with a report of ten original cases». *Am. J. Med. Sci.*, núm. 105, pàg. 487-511.
- COPELAND, E. M.; B. V. MACFAYDER; S. J. DUDRICK (1976). «Effect of hyperalimentation in established dela-

- yed hypersensitivity in the cancer patient». *Ann. Surg.*, núm. 184, pàg. 60-64.
- CORNELIUS, P.; S. ENERBACK; G. BJURSELL; T. OLIVECRO-  
NA; P. H. PEKALA (1988). «Regulation of lipopro-  
tein lipase mRNA content in 3T3-L1 cells by tu-  
mour necrosis factor». *Biochem. J.*, núm. 249, pàg.  
765-769.
- COSTA, G.; J. F. HOLLAND (1966). «Effects of Krebs-2 car-  
cinoma on the lipid metabolism of male Swiss  
mice». *Cancer Res.*, núm. 22, pàg. 1081-1083.
- COSTELLI, P.; N. CARBÓ; L. TESSITORE; G. J. BAGBY;  
F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS; F. M. BACCINO  
(1993). «Tumour necrosis factor- $\alpha$  mediates chan-  
ges in muscle protein turnover in a cachectic rat  
tumour model». *J. Clin. Invest.*, núm. 92, pàg. 2783-  
2789.
- COSTELLI, P.; C. GARCÍA-MARTÍNEZ; M. LLOVERA; N. CARBO;  
F. J. LÓPEZ-SORIANO; N. AGELL; L. TESSITORE; F. M.  
BACCINO; J. M. ARGILÉS (1995a). «Muscle protein  
waste in tumor-bearing rats is effectively antagonized  
by a  $\beta$ 2-adrenergic agonist (clenbuterol)». *J.  
Clin. Invest.*, núm. 95, pàg. 2367-2372.
- COSTELLI, P.; M. LLOVERA; N. CARBO; C. GARCÍA-MARTÍNEZ;  
F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1995b). «Enhan-  
ced leucine oxidation in rats bearing an ascites hepa-  
toma (Yoshida AH-130) and its reversal by clen-  
buterol». *Cancer Lett.*, núm. 91, pàg. 73-78.
- COSTELLI, P.; M. LLOVERA; N. CARBO; C. GARCÍA-MARTÍNEZ;  
F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1995c). «Interleu-  
kin-1 receptor antagonist (IL-1ra) is unable to re-  
verse cachexia in rats bearing an ascites hepatoma  
(Yoshida AH-130)». *Cancer Lett.*, núm. 95, pàg. 33-  
38.
- COSTELLI, P.; M. LLOVERA; J. LÓPEZ-SORIANO; N. CARBO; L.  
TESSITORE; F. J. LÓPEZ-SORIANO; F. M. BACCINO; J. M.  
ARGILÉS (1995d). «Lack of effect of eicosapentaenoic  
acid in preventing cancer cachexia and inhibiting  
tumour growth». *Cancer Lett.*, núm. 97, pàg. 25-32.
- DAVIS, J. D.; M. W. LEVINE (1977). «A model for the con-  
trol of ingestion». *Psychol. Rev.*, núm. 84, pàg. 379-  
412.
- DESSI, S.; B. BATETTA; D. PULISCI; P. ACCOGLI; P. PANI; G.  
BROCCIA (1991). «Total and HDL cholesterol in hu-  
man and hematologic neoplasms». *Int. J. Hematol.*,  
núm. 54, pàg. 483-486.
- DESSI, S.; B. BATETTA; C. ANCHISI; P. PANI; P. COSTELLI; L.  
TESSITORE; F. M. BACCINO (1992). «Cholesterol me-  
tabolism during the growth of a rat ascites hepatoma  
(Yoshida AH-130)». *Br. J. Cancer*, núm. 66, pàg. 787-  
793.
- DE WYS, W. D. (1979). «Anorexia as a general effect of  
cancer». *Cancer*, núm. 43, pàg. 2013-2019.
- DE WYS, W. D. (1985). «Management of cancer cache-  
xia». *Semin. Oncol.*, núm. 12, pàg. 452-460.
- EISENBERG, S. (1984). «High density lipoprotein metabo-  
lism». *J. Lipid Res.*, núm. 25, pàg. 1017-1058.
- EMERY, P. W.; A. M. NEVILLE; R. H. T. EDWARDS; M. J. REN-  
NIE (1982). «Increased myofibrillar degradation  
and decreased protein synthesis in tumor-bearing  
mice». *Eur. J. Clin. Invest.*, núm. 12, pàg. 10.
- EVANS, R. D.; D. H. WILLIAMSON (1988a). «Tissue-specific  
effects of rapid tumour growth on lipid metabo-  
lism in the rat during lactation and on litter remo-  
val». *Biochem. J.*, núm. 252, pàg. 65-72.
- EVANS, R. D.; D. H. WILLIAMSON (1988b). «Tumour necro-  
sis factor- $\alpha$  (cachectin) mimics some of the effects  
of tumour growth on the disposal of a [ $^{14}$ C]lipid  
load in virgin, lactating and litter-removed rats». *Biochem. J.*, núm. 256, pàg. 1055-1058.
- EVANS, W. K.; R. MAKUCH; G. H. CLAMON; R. FELD; R. S.  
WEINER; E. MORAN; R. BLUM; F. A. SHEPHERD; K. N. JE-  
EJEBHOY; W. D. DE WYS (1985). «Limited impact of  
total parenteral nutrition on nutritional status dur-  
ing treatment for small cell lung cancer». *Cancer  
Res.*, núm. 45, pàg. 3347-3353.
- FANELLI, F. R.; C. CANGIANO; M. MUSCARITOLI; L. CONVER-  
SANO; G. F. TORELLI; A. CASCINO (1995). «Tumor-in-  
duced changes in host metabolism: a possible mar-  
ker of neoplastic disease». *Nutrition*, núm. 11, pàg.  
595-600.
- FEINGOLD, K. R.; C. GRUNFELD (1987). «Tumor necrosis  
factor- $\alpha$  stimulates hepatic lipogenesis in the rat in  
vivo». *J. Clin. Invest.*, núm. 80, pàg. 1384-1389.
- FEINGOLD, K. R.; W. DOERRLER; C. A. DINARELLO; W. FIERS;  
C. GRUNFELD (1992). «Stimulation of lipolysis in cul-  
tured fat cells by tumor necrosis factor, interleukin-  
1, and interferons is blocked by inhibition of pros-  
taglandins synthesis». *Endocrinology*, núm. 130,  
pàg. 10-16.
- FELIG, P. (1979). «Starvation». A: *Endocrinology*. New  
York: Grune & Stratton. Vol. 3, pàg. 1927-1940.
- FINLEY, D.; V. CHAN (1991). «Ubiquitination». *Annu. Rev.  
Cell. Biol.*, núm. 7, pàg. 25-69.
- FLORES, E. A.; B. R. BISTRAN; J. J. POMPOSELLI; C. A. DINA-  
RELLO; G. L. BLACKBURN; N. W. ISTFAN (1989). «Infu-  
sion of tumor necrosis factor/cachectin promotes  
muscle catabolism in the rat. A synergistic effect  
with interleukin-1». *J. Clin. Invest.*, núm. 83, pàg.  
1614-1622.
- FONG, Y.; L. L. MOLDAWER; M. MORANO; H. WEI; A. BAR-  
BER; K. MANOGUE; K. J. TRACEY; G. KUO; D. A. FISCH-  
MAN; A. CERAMI; S. F. LOWRY (1989). «Ca-  
chectin/TNF or IL-1 $\alpha$  induces cachexia with redis-  
tribution of body proteins». *Am. J. Physiol.*, núm.  
256, pàg. R659-R665.
- FRIED, S. K.; R. ZECHNER (1989). «Cachectin/tumor ne-  
crosis factor decreases human adipose tissue lipo-  
protein lipase mRNA levels, synthesis, and acti-  
vity». *J. Lipid Res.*, núm. 30, pàg. 1917-1923.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; N. AGELL; M. LLOVERA; F. J. LÓPEZ-  
SORIANO; J. M. ARGILÉS (1993a). «Tumour necrosis  
factor- $\alpha$  increases the ubiquitination of rat skele-

- tal muscle proteins». *FEBS Lett.*, núm. 323, pàg. 211-214.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1993b). «Acute treatment with tumour necrosis factor- $\alpha$  induces changes in protein metabolism in rat skeletal muscle». *Mol. Cell. Biochem.*, núm. 125, pàg. 11-18.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; M. LLOVERA; N. AGELL; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1994a). «Ubiquitin gene expression in skeletal muscle is increased by tumour necrosis factor- $\alpha$ ». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, núm. 201, pàg. 682-686.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1994b). «Interleukin-6 does not activate protein breakdown in rat skeletal muscle». *Cancer Lett.*, núm. 76, pàg. 1-4.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1995). «Amino acid uptake in skeletal muscle of rats bearing the Yoshida AH-130 ascites hepatoma». *Mol. Cell. Biochem.*, núm. 148, pàg. 17-23.
- GOLD, J. (1975). «Use of hydrazine sulphate in terminal and pre-terminal cancer patients: results of investigation of new drug (IND) study in 84 evaluable patients». *Oncology*, núm. 32, pàg. 1-10.
- GOODMAN, M. N. (1991). «Tumor necrosis factor induces skeletal muscle protein breakdown in rats». *Am. J. Physiol.*, núm. 260, pàg. E727-E730.
- GRAU, G. E.; L. F. FAJARDO; P. F. PIGUET; B. ALLET; P. H. LAMBERT; P. VASSALLI (1987). «Tumor necrosis factor (cachectin) as an essential mediator in murine cerebral malaria». *Science*, núm. 237, pàg. 1210-1212.
- HAUNER, H.; T. PETRUSCHKE; M. RUSS; K. ROHRIG; J. ECKEL (1995). «Effects of tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture». *Diabetologia*, núm. 38, pàg. 764-771.
- HARVEY, K. B.; A. BOTHE; G. L. BLACKBURN (1979). «Nutritional assessment and patient outcome during oncological therapy». *Cancer*, núm. 43, pàg. 2065-2069.
- HASHIMOTO, M. (1991). «Characterization and mechanism of fever induction by interleukin-1-beta». *Pflügers Arch.*, núm. 419, pàg. 616-621.
- HEBER, D.; L. O. BYERLEY; J. CHI; M. GROSVENOR; R. N. BERGMAN; N. COLEMAN; R. T. CHLEBOWSKI (1988). «Pathophysiology of malnutrition in the adult cancer patient». *Cancer*, núm. 58, pàg. 1867-1873.
- HERSHKO, A.; A. CIECHANOVER; H. HELLER; A. L. HASS; I. A. ROSE (1980). «Proposed role of ATP in protein breakdown: conjugation of proteins with multiple chains of polypeptide of ATP-dependent proteolysis». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 77, pàg. 1783-1786.
- HOUTEN, L.; A. A. REILLEY (1980). «An investigation of the cause of death from cancer». *J. Surg. Oncol.*, núm. 13, pàg. 111-116.
- HYLTANDER, A.; C. DROTT; V. KORNER (1991). «Elevated energy expenditure in cancer patients with solid tumors». *Eur. J. Cancer*, núm. 27, pàg. 9-15.
- IMAGAWA, W.; G. BANDYOPADHYAY; D. WALLACE; S. NADI (1989). «Phospholipids containing polyunsaturated acyl groups are mitogenic for normal mouse mammary epithelial cells in serum free primary cell culture». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 86, pàg. 4122-4126.
- JUE, D. M.; B. SHERRY; C. LUEDKE; K. R. MANOGUE; A. CERAMI (1990). «Processing of newly synthesized cachectin/tumor necrosis factor in endotoxin-stimulated macrophages». *Biochemistry*, núm. 29, pàg. 8371-8377.
- KARDINAL, C. G.; C. L. LOPRINZI; D. J. SCHAID; A. C. HASS; A. M. DOSE; L. M. ATHMANN; J. A. MAILLIARD; G. W. MCCORMACK; J. B. GERSTNER; M. F. SCHRAY (1990). «A controlled trial of cyproheptadine in cancer patients with anorexia». *Cancer*, núm. 65, pàg. 2657-2662.
- KAWAKAMI, M.; A. CERAMI (1981). «Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein lipase activity». *J. Exp. Med.*, núm. 154, pàg. 631-637.
- KAWAKAMI, M.; T. MURASE; H. OGAWA; S. ISHIBASHI; N. MORI; F. TAKAKU; S. SHIBATA (1987). «Human recombinant TNF suppresses lipoprotein lipase activity and stimulates lipolysis in 3T3-L1 cells». *J. Biochem.*, núm. 101, pàg. 331-338.
- KERN, P. A. (1988). «Recombinant human tumor necrosis factor does not inhibit lipoprotein lipase in primary cultures of isolated human adipocytes». *J. Lipid Res.*, núm. 29, pàg. 909-914.
- KERN, K. A.; J. A. NORTON (1988). «Cancer cachexia». *J. Parent. Enteral Nutr.*, núm. 12, pàg. 286-298.
- KIEN, C. L.; B. M. CAMITTA (1987). «Close association of accelerated rates of whole body protein turnover (synthesis and breakdown) and energy expenditure in children with newly diagnosed acute lymphocytic leukaemia». *J. Parent. Enteral Nutr.*, núm. 11, pàg. 129-134.
- KITADA, S.; E. F. HAYS; J. F. MEAD (1980). «A lipid mobilizing factor in serum of tumor-bearing mice». *Lipids*, núm. 15, pàg. 168-174.
- KITADA, S.; E. F. HAYS; J. F. MEAD (1981). «Characterization of a lipid mobilizing factor from tumors». *Prog. Lipid Res.*, núm. 20, pàg. 823-826.
- KITADA, S.; E. F. HAYS; J. F. MEAD (1982). «Lipolysis induction in adipocytes by a protein from tumour cells». *J. Cell. Biochem.*, núm. 20, pàg. 409-416.
- KRAUSS, R. M.; C. GRUNFELD; W. T. DOERRLER; K. R. FEINGOLD (1990). «Tumor necrosis factor acutely increases plasma levels of very low density lipoproteins of normal size and composition». *Endocrinology*, núm. 127, pàg. 1016-1021.
- LANZA-JACOBY, S.; S. C. LANSLEY; E. E. MILLER; M. P. CLEARY (1984). «Sequential changes in the activities of lipo-

- protein lipase and lipogenic enzymes during tumor growth in rats». *Cancer Res.*, núm. 44, pàg. 5062-5067.
- LAWSON, D. H.; A. RICHMOND; D. W. NIXON; D. RUDMAN (1982). «Metabolic approaches to cancer cachexia». *Annu. Rev. Nutr.*, núm. 2, pàg. 277-301.
- LLOVERA, M.; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1993). «Effects of tumour necrosis factor- $\alpha$  on muscle protein turnover in vivo in female rats». *J. Natl. Cancer Inst.*, núm. 85, pàg. 1334-1339.
- LLOVERA, M.; C. GARCÍA-MARTÍNEZ; N. AGELL; M. MARZABAL; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1994). «Ubiquitin gene expression is increased in skeletal muscle of tumour-bearing rats». *FEBS Lett.*, núm. 338, pàg. 311-318.
- LLOVERA, M.; C. GARCÍA-MARTÍNEZ; N. AGELL; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1995). «Muscle wasting associated with cancer cachexia is linked to an important activation of the ATP-dependent ubiquitin-mediated proteolysis». *Int J. Cancer*, núm. 61, pàg. 138-141.
- LLOVERA, M.; C. GARCÍA-MARTÍNEZ; P. COSTELLI; N. AGELL; N. CARBÓ; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1996). «Muscle hypercatabolism during cancer cachexia is not reversed by the glucocorticoid receptor antagonist RU 38486». *Cancer Lett.*, núm. 99, pàg. 7-14.
- LLOVERA, M.; C. GARCÍA-MARTÍNEZ; N. AGELL; F. J. LÓPEZ-SORIANO; J. M. ARGILÉS (1997). «TNF can directly induce the expression of ubiquitin-dependent proteolytic system in rat soleus muscles». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, núm. 230, pàg. 238-241.
- LÓPEZ-SORIANO, J.; J. M. ARGILÉS; F. J. LÓPEZ-SORIANO (1996). «Lipid metabolism in rats bearing the Yoshida AH-130 ascites hepatoma». *Mol. Cell. Biochem.*, núm. 165, pàg. 17-23.
- LOWRY, S. F. (1991). «Cancer cachexia revisited: old problems and new perspectives». *Eur. J. Cancer*, núm. 27, pàg. 1-3.
- LUNDHOLM, K.; K. BENNEGARD; E. EDEN; G. SVANINGER; P. W. EMERY; M. J. RENNIE (1982). «Efflux of 3-methylhistidine from the leg in cancer patients who experience weight loss». *Cancer Res.*, núm. 42, pàg. 4807-4811.
- MASUNO, H.; N. YAMASAKI; H. OKUDA (1981). «Purification and characterization of a lipolytic factor (toxo-hormone L) from cell free fluid of ascites sarcoma 180». *Cancer Res.*, núm. 41, pàg. 284-288.
- MATTHYS, P.; H. HEREMANS; G. OPDENAKKER; A. BILLIAU (1991a). «Anti-interferon- $\gamma$  antibody treatment, growth of Lewis lung tumours in mice and tumour-associated cachexia». *Eur. J. Cancer*, núm. 27, pàg. 182-187.
- MATTHYS, P.; R. DUKMANS; P. PROOST; J. VAN DAMME; H. HEREMANS; H. SOBIS; A. BILLIAU (1991b). «Severe cachexia in mice inoculated with interferon- $\gamma$ -producing tumor cells». *Int. J. Cancer*, núm. 49, pàg. 77-82.
- MCBRIDE, W.; J. D. JACKMAN; P. A. GRAYBURN (1990). «Prevalence and clinical characteristics of a high cardiac output state in patients with multiple myeloma». *Am. J. Med.*, núm. 89, pàg. 21-242.
- MEDINA, M. A.; F. SÁNCHEZ-JIMÉNEZ; J. MARQUEZ; A. RODRÍGUEZ-QUESADA; I. NÚÑEZ DE CASTRO (1992). «Relevance of glutamine metabolism to tumor cell growth». *Mol. Cell. Biochem.*, núm. 113, pàg. 1-15.
- MELVILLE, S.; M. A. MCNURLAN; A. GRAHAM CALDER; P. J. GARLICK (1990). «Increased protein turnover despite normal energy metabolism and responses to feeding in patients with lung cancer». *Cancer Res.*, núm. 50, pàg. 1125-1131.
- MICHIE, H. R.; K. R. MANOGUE; D. R. SPRIGGS; A. REVHAUG; S. O'DWYER; C. A. DINARELLO; A. CERAMI; S. M. WOLFF; D. W. WILMORE (1988). «Detection Of Circulating Tumor Necrosis Factor after endotoxin administration». *N. Engl. J. Med.*, núm. 318, pàg. 1481-1486.
- MITCH, W. E.; A. S. CLARK (1984). «Specificity of the effects of leucine and its metabolites on protein degradation in skeletal muscle». *Biochem. J.*, núm. 222, pàg. 579-586.
- MOLDAWER, L. L.; M. GEORGIEFF; K. LUNDHOLM (1987). «Interleukin-1, tumour necrosis factor- $\alpha$ /cachectin and the pathogenesis of cancer cachexia». *Clin. Physiol.*, núm. 7, pàg. 263-274.
- MOLDAWER, L. L.; C. DROTT; K. LUNDHOLM (1988). «Monocytic production and plasma bioactivities of interleukin-1 and tumour necrosis factor in human cancer». *Eur. J. Clin. Invest.*, núm. 18, pàg. 486-492.
- MORI, M.; K. YAMAGUCHI; S. HONDA; K. NAGASAKI; M. UEDA; O. ABE; K. ABE (1991). «Cancer cachexia syndrome developed in nude mice bearing melanoma cells producing leukemia-inhibitor factor». *Cancer Res.*, núm. 51, pàg. 6656-6659.
- MROSOVSKY, N.; L. A. MOLONY; C. A. CONN; M. J. KLUGER (1989). «Anorexic effects of interleukin 1 in the rat». *Am. J. Physiol.*, núm. 257, pàg. R1315-R1321.
- MULLEN, B. J.; R. B. S. HARRIS; J. S. PATTON; R. J. MARTIN (1990). «Recombinant tumor necrosis factor- $\alpha$  chronically administered in rats: lack of cachectic effect». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, núm. 193, pàg. 318-325.
- MULLIGAN, H. D.; M. J. TISDALE (1991). «Lipogenesis in tumour and host tissues in mice bearing colonic adenocarcinomas». *Br. J. Cancer*, núm. 63, pàg. 719-722.
- MUSCARITOLI, M.; C. CANGIANO; A. CASCINO; F. CECI; L. GIACOMELLI; P. CARDELLICANGIANO; M. MULIERI; F. ROSSIFANELLI (1990). «Plasma clearance of exogenous lipids in patients with malignant disease». *Nutrition*, núm. 6, pàg. 147-151.
- NICHOLLS, D. G. (1983). «The thermogenic mechanism of brown adipose tissue». *Biosci. Rep.*, núm. 3, pàg. 431-441.

- NOGUCHI, Y.; N. A. VYDELINGUM; R. N. YOUNES; S. K. FRIED; M. F. BRENNAN (1991). «Tumor-induced alterations in tissue lipoprotein lipase activity and mRNA levels». *Cancer Res.*, núm. 51, pàg. 863-869.
- OLD, L. J. (1985). «Tumor necrosis factor (TNF)». *Science*, núm. 230, pàg. 630-632.
- OLIFF, A.; D. DEFEQO-JONES; M. BOYER; D. MARTÍNEZ; D. KIEFER; G. VUOCOLO; A. WOLFE; S. H. SOCHER (1987). «Tumors secreting human TNF/cachectin induce cachexia in mice». *Cell*, núm. 50, pàg. 555-563.
- OUDART, H.; C. CALGARI; M. ANDRIAMAMPANDRY; Y. LEMAHO; A. MALAN (1995). «Stimulation of brown adipose tissue activity in tumor-bearing rats». *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, núm. 73, pàg. 1625-1631.
- PAIN, V. M.; D. P. RANDALL; P. J. GARLICK (1984). «Protein synthesis in liver and skeletal muscle of mice bearing an ascites tumor». *Cancer Res.*, núm. 44, pàg. 1054-1057.
- PAPE, M. E.; K. H. KIM (1988). «Effect of tumor necrosis factor on acetyl-coenzyme A carboxylase gene expression and pre-adipocyte differentiation». *Mol. Endocrinol.*, núm. 2, pàg. 395-403.
- PATTON, J. S.; H. M. SHEPARD; H. WILKING; G. LEWIS; B. B. AGGARWAL; T. E. EESSALU; L. A. GAVIN; C. GRUNFELD (1986). «Interferons and tumor necrosis factor have similar catabolic effects on 3T3L1 cells». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 83, pàg. 8313-8318.
- PETERS, J. M. (1994). «Proteasomes: protein degradation machines of the cell». *Trends Biochem. Sci.*, núm. 19, pàg. 377-382.
- PLASSE, T. F.; R. W. GORTER; S. H. KRASNOW; M. LANE; K. Y. SHEPHARD; R. G. WADLEIGH (1991). «Recent clinical experience with dronabinol». *Pharmacol. Biochem. Behav.*, núm. 40, pàg. 695-700.
- PRICE, S. R.; T. OLIVECRONA; P. H. PEKALA (1986). «Regulation of lipoprotein lipase synthesis by recombinant tumor necrosis factor: the primary regulatory role of the hormone in 3T3-L1 adipocytes». *Arch. Biochem. Biophys.*, núm. 251, pàg. 738-746.
- RACKER, E. (1976). «Why do tumor cells have a high aerobic glycolysis?». *J. Cell. Physiol.*, núm. 89, pàg. 697-700.
- RENNIE, M. J.; R. H. T. EDWARDS; P. W. EMERY; D. HALLIDAY; K. LUNDHOLM; D. J. MILLWARD (1983). «Depressed protein synthesis is the dominant characteristic of wasting and cachexia». *Clin. Physiol.*, núm. 3, pàg. 387-398.
- RIVERA, S.; F. J.: LÓPEZ-SORIANO; J. AZCÓN-BIETO; J. M. ARGILÉS (1987). «Blood amino acid compartmentation in mice bearing Lewis lung carcinoma». *Cancer Res.*, núm. 47, pàg. 5644-5646.
- ROTHWELL, N. J. (1993). «Cytokines and thermogenesis». *Int. J. Obesity*, núm. 17, pàg. S98-S101.
- SAARINEN, U. M.; E. K. KOSFELQ; A. M. TEPPQ; M. A. SIMES (1990). «Tumor necrosis factor in children with malignancies». *Cancer Res.*, núm. 50, pàg. 592-595.
- SCUDERI, P.; K. S. LAM; K. J. RYAN; E. PETERSEN; K. E. STERLING; P. R. FINLEY; C. G. RAY; D. J. SLYMEN; S. E. SALMON (1986). «Raised serum levels of tumour necrosis factor in parasitic infections». *Lancet*, núm. 2, pàg. 1364-1365.
- SEMB, H.; J. PETERSON; J. TAVERNIER; T. OLIVECRONA (1987). «Multiple effects of tumor necrosis factor on lipoprotein lipase in vivo». *J. Biol. Chem.*, núm. 262, pàg. 8390-8394.
- SHAW, J. H. F.; R. R. WOLFE (1987). «Fatty acid and glycerol kinetics in septic patients and in patients with gastrointestinal cancer. The response to glucose infusion and parenteral feeding». *Ann. Surg.*, núm. 205, pàg. 368-376.
- SMITH, K.; J. M. BARUA; P. W. WATT; C. M. SCRIMGEOUR; M. J. RENNIE (1992). «Flooding with L-[1-13C]leucine stimulates human muscle protein incorporation of continuously infused [1-13C]valine». *Am. J. Physiol.*, núm. 262, pàg. E372-E376.
- SOCHER, S. H.; A. FRIEDMAN; D. MARTÍNEZ (1988a). «Recombinant human tumor necrosis factor induces acute reductions in food intake and body weight in mice». *J. Exp. Med.*, núm. 167, pàg. 1211-1227.
- SOCHER, S. H.; D. MARTÍNEZ; J. B. CRAIG; J. G. KUHN; A. OLIFF (1988b). «Tumour necrosis factor nondetectable in patients with cancer cachexia». *J. Natl. Cancer Inst.*, núm. 80, pàg. 595-598.
- SODA, K.; M. KAWAKAMI; A. KASHII; M. MIYATA (1994). «Characterization of mice bearing subclones of colon 26 adenocarcinoma disqualifies interleukin-6 as the sole inducer of cachexia». *Jpn. J. Cancer Res.*, núm. 85, pàg. 1124-1130.
- STOCK, M. J.; N. J. ROTHWELL (1986). «Brown adipose tissue and the response to overfeeding». *Biochem. Soc. Trans.*, núm. 14, pàg. 239-240.
- STOVROFF, M. C.; D. L. FRAKER; J. A. NORTON (1988). «Cachectin activity in the serum of cachectic, tumor-bearing rats». *Arch. Surg.*, núm. 124, pàg. 94-99.
- STRASSMANN, G.; M. FONG; C. E. FRETER; S. WINDOSR; F. D'ALESSANDRO; R. P. NORDAN (1993). «Suramin interferes with interleukin-6 receptor binding in vitro and inhibits colon-26-mediated experimental cancer cachexia in vivo». *J. Clin. Invest.*, núm. 92, pàg. 2152-2159.
- TARTAGLIA, L. A.; D. V. GOEDDEL (1992). «Two TNF receptors». *Immunol. Today*, núm. 13, pàg. 151-153.
- TESSITORE, L.; G. BONELLI; F. M. BACCINO (1987). «Early development of protein metabolic perturbations in the liver and skeletal muscle of tumour-bearing rats». *Biochem. J.*, núm. 241, pàg. 153-159.
- THOMPSON, M. P.; J. E. KOONS; E. T. H. TAN; M. R. GRIGOR (1981). «Modified lipoprotein lipase activities, rates of lipogenesis, and lipolysis as factors leading to lipid depletion in C57BL mice bearing the preputial gland tumor, ESR-586». *Cancer Res.*, núm. 41, pàg. 3228-3232.

- TISCHLER, M. E.; M. DESAUTELS; A. L. GOLDBERG (1982). «Does leucine, leucyl-tRNA, or some metabolite of leucine regulate protein synthesis and degradation in skeletal and cardiac muscle?». *J. Biol. Chem.*, núm. 257, pàg. 1613-1621.
- TISDALE, M. J. (1992). «Cancer cachexia». *Br. J. Cancer*, núm. 63, pàg. 337-342.
- TISDALE, M. J. (1993). «Mechanism of lipid mobilization associated with cancer cachexia: interaction between the polyunsaturated fatty acid, eicosapentaenoic acid, and inhibitory guanine nucleotide-regulatory protein». *Prostagl. Leukotr. Essen. Fatty Acids*, núm. 48, pàg. 105-109.
- TODOROV, P.; P. CARIUK; T. MCDEVITT; B. COLES; K. FEARON; M. J. TISDALE (1996). «Characterization of a cancer cachectic factor». *Nature*, núm. 22, pàg. 739-742.
- TRACEY, K. J.; Y. FONG; D. G. HESSE; K. R. MANOGUE; A. T. LEE; G. C. KUO; S. F. LOWRY; A. CERAMI (1987). «Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia». *Nature*, núm. 330, pàg. 662-664.
- TRACEY, K. L.; H. WEI; K. R. MANOGUE; Y. FONG; D. G. HESSE; H. T. NGUYEN; G. C. KUO; B. BEUTLER; R. S. COTRAN; A. CERAMI; S. F. LOWRY (1988). «Cachectin/tumor necrosis factor induces cachexia, anemia and inflammation». *J. Exp. Med.*, núm. 167, pàg. 1211-1227.
- VIGANO, A.; S. WATANABE; E. BRUERA (1994). «Anorexia and cachexia in advanced cancer patients». *Cancer Surv.*, núm. 21, pàg. 99-115.
- WAAGE, A.; T. ESPEVIK; J. LAMVIK (1986). «Detection of tumor necrosis factor-like cytotoxicity in serum from patients with septicaemia but not from untreated cancer patients». *Scand. J. Immunol.*, núm. 24, pàg. 739-743.
- WARREN, S. (1932). «The immediate cause of death in cancer». *Am. J. Med. Sci.*, núm. 184, pàg. 610-613.
- WARREN, R. S.; H. F. STARNES JR.; J. L. GABRILOVE; H. F. OETTGEN; M. F. BRENNAN (1987). «The acute metabolic effects of tumor necrosis factor administration in humans». *Arch. Surg.*, núm. 122, pàg. 1396-1400.
- ZUGMAIER, G.; S. PAIK; G. WILDING; K. KNABBE; M. BANO; R. LUPU; B. DESCHAUER; S. SIMPSON; R. B. DICKSON; M. LIPPMAN (1991). «Transforming growth factor  $\beta$ 1 induces cachexia and systemic fibrosis without an antitumor effect in nude mice». *Cancer Res.*, núm. 51, pàg. 3590-3594.