

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular B
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Biología
Universidad de Barcelona

**FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN IMPLICADOS
EN EL DESGASTE MUSCULAR ASOCIADO A
LA CAQUEXIA**

RODRIGO ERNESTO MOORE CARRASCO

Barcelona, Noviembre del 2004

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular B
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Biología
Universidad de Barcelona

**FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN IMPLICADOS
EN EL DESGASTE MUSCULAR ASOCIADO A LA
CAQUEXIA**

RODRIGO ERNESTO MOORE CARRASCO

Barcelona, Noviembre del 2004

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PROGRAMA DOCTORAL EN BIOMEDICINA, BIENIO 2000-2002
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
FACULTAD DE BIOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Presentada por

RODRIGO ERNESTO MOORE CARRASCO

Aceptación de los directores

Dr. Josep M^a Argilés Huguet Dr. Francisco J. López Soriano Dra. Sílvia Busquets Rius
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Biología,
Universidad de Barcelona.

El interesado

Rodrigo Ernesto Moore Carrasco

A Gisel y mis hijos Michelle, Jaume y Montserrat

En este momento, y al mirar hacia atrás, recuerdo a tanta gente a la que debo dar las gracias, y también mucha gente a la que pedir disculpas.

Primero quiero comenzar con la persona que me ha acompañado durante ya más de cinco años, que me ha dado la fuerza y la motivación de seguir adelante; Gisel, mi *amore*, mi esposa, mi amiga, mi psicólogo, mi todo. Ella, con su amor y paciencia, ha sabido sacar lo mejor de mí y no dejar espacio a lo malo. Podría decir de ella muchas cosas, pero sobre todo quiero dar las gracias por ayudarme a cumplir mis sueños.

A mis hijos, que ya son tres, la Michelle, el Jaume y la Montserrat, por darme toda la ilusión y su vida, porque cuando llegaba a casa mal, ellos me alegraban el día. Por querer ser mejor, por sólo ser mis hijos.

Luego quiero agradecer a mis directores de tesis, que cada uno y en su justa medida han contribuido a que esta tesis esté ahora plasmada en el papel.

Josep, un señor muy poco común. Gracias, porque a pesar de estar siempre muy ocupado, te dabas el tiempo de hablar de ciencia o ayudarme con ella. Por aquellas conversaciones que no eran de ciencia y que la mayor parte de las veces eran mucho más divertidas. Por aceptarme en tu grupo. En fin, gracias por confiar en mí y ayudarme.

Francesc, la calma, el orden y el control. Gracias por escuchar todas las cosas que te llegué a contar al despacho, también los experimentos y discutirlos conmigo, pues a pesar de no ser mi director al principio, cuando fue necesario no dudaste en apoyarme en la progresión de mi tesis y por tu gran ayuda en la culminación de ésta.

Silvia, seriedad y compañera. Gracias por escucharme cuando lo necesité, por ser mi crítica y con todo, por darme tu ayuda en cosas que eran tu trabajo. Gracias por alegrarte conmigo por un buen resultado, y gracias por ayudarme a poder tener la tesis en mis manos.

A mis compañeras de laboratorio, Maite, Vanessa, Gemma, Elisabet. Gracias por su ayuda y apoyo cuando lo necesité y disculpas por esos días de mal humor.

A la Raquel, las Secres y el Toni, porque sin ellos el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular no sería el mismo.

A la Elaine y la Julieta, por su gran ayuda y amistad.

A nuestro amigo Andres y su familia, por su gran ayuda y por compartir añoranzas sobre nuestro Chile.

Al Dr. Albert Boronat, por su apoyo en la obtención de la beca, a la gente de su grupo en el año 1999 cuando estuve con ellos. Gracias por todo lo que aprendí.

Al Dr. Pedro Marrero y la Dra. Marta Giralt, por toda la ayuda que me prestaron cuando llegué con mi familia desde Chile.

A la Dra. Ana María Gómez Foix, por aceptarme en su grupo para hacer una de mis rotaciones.

Al Dr. Antonio Felipe, por ser más que un jefe, esos tres meses que estuve en su laboratorio.

A toda la gente del Departamento que me conoce, por compartir un saludo durante ya cuatro años, en especial al Rubén, del grupo MP y al José, del grupo INS, dos amigos.

A la gente de Torino (Italia), que me hicieron la estancia en tierras Italianas más soportable, en especial a la Dra. Paola Costelli con quien siempre es grato hablar de ciencia, a la Dra. Bonelli, que es una señora muy simpática, al Fabio y a la Patricia por toda su ayuda.

A la Dra. Celia García por toda su ayuda con esos malos bichos de los adenovirus. Gracias por todo lo que pude aprender.

A mi madre y mi familia en Chile, por su apoyo, su amor y ayuda, que en la distancia me ayudó a tener fuerzas. Gracias mamá, por esos años de esfuerzo, para que yo fuera alguien.

A la tía Sonia y a Fabio por compartir penas y alegrías, por ser nuestra familia. Preocupada por nosotros como sólo lo haría una madre, estando a nuestro lado en los momentos más difíciles que hemos vivido durante estos años, y por ser los padrinos de nuestro segundo hijo.

A mis amigos en Chile por no olvidarnos.

A toda la gente que conocimos durante este tiempo, cerca de donde vivimos, especialmente a la Mari Carmen, el Manolo y la Jaquelin.

En fin, a toda la gente que he conocido y que ha formado parte de mi vida y de la de mi familia durante estos cuatro años, gracias por hacernos sentir menos extraños en esta tierra.

Pido disculpas a todas las personas que me he olvidado de nombrar en este papel.

A esta ciudad en la que hemos pasado cuatro años de nuestras vidas y por ver nacer a dos de mis hijos.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1. CAQUEXIA.....	3
1.1. MALNUTRICIÓN	3
1.2. ALTERACIONES METABÓLICAS	8
1.3. MEDIADORES DE LA CAQUEXIA	14
1.4. FACTOR DE NECROSIS TUMORAL- α (TNF- α).....	20
1.4.1. Efectos fisiológicos del TNF- α	20
1.4.2. Estados patológicos	25
2. MECANISMOS IMPLICADOS EN LA CAQUEXIA.....	30
2.1. SISTEMAS PROTEOLÍTICOS.....	30
2.1.1. Sistema lisosomal	30
2.1.2. Sistema dependiente de calcio: calpaínas.....	31
2.1.3. Sistema dependiente de ATP y ubiquitina.....	32
2.3. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN Y CAQUEXIA	39
2.2.1. Familia de receptores nucleares PPAR's.....	41
2.2.2. AP-1 (<i>activator protein-1</i>)	42
2.2.3. NF- κ B (<i>nuclear factor kappa B</i>)	45
3. MIOGÉNESIS	49
3.1. Los IGF's y la diferenciación muscular.....	51
3.2. Regeneración del músculo adulto: células satélite.....	52
4. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS CONTRA LA CAQUEXIA.....	54
4.1. Contrarrestar la anorexia.....	54
4.2. Neutralizar los cambios metabólicos.....	55
II. MATERIALES Y MÉTODOS	61
1. CITOQUINAS Y COMPUESTOS.....	63
2. ESTUDIOS <i>IN VIVO</i>	63
3. ESTUDIOS <i>IN VITRO</i>	70
4. MANIPULACIÓN Y DETECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS.....	74
5. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN PROTEICA MEDIANTE LA TÉCNICA DE WESTERN BLOT.....	80
6. ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN.....	84
7. MÉTODOS Y ESTRATEGIAS PARA LA OBTENCIÓN DE ADENOVIRUS RECOMBINANTES.....	89
8. ESTADÍSTICA.....	95
APÉNDICE 1: SOLUCIONES GENERALES.....	95
APÉNDICE 2: MATERIAL FUNGIBLE UTILIZADO EN CULTIVOS CELULARES.....	96

III. RESULTADOS	97
Capitulo I: ESTUDIO DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN MODELOS EXPERIMENTALES DE CAQUEXIA.....	99
Capitulo II: ESTRATEGIAS PARA REDUCIR EL DESGASTE MUSCULAR ASOCIADO A LA CAQUEXIA BASADAS EN FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN...	129
Capitulo III: APROXIMACIONES A UNA TERAPIA CONTRA LA CAQUEXIA MEDIANTE UN ADENOVIRUS PARA LA TRANSFERENCIA GÉNICA DE UN DOMINANTE NEGATIVO DE AP-1.....	155
IV. CONCLUSIONES	173
V. BIBLIOGRAFÍA	177