



# Desarrollo de una escala numérica para clasificar grados de caquexia en cáncer

Angélica Maritza Betancourt Suárez

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.





FACULTAD DE BIOLOGIA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

PROGRAMA DE DOCTORADO EEES EN BIOMEDICINA

**DESARROLLO DE UNA ESCALA NUMÉRICA PARA CLASIFICAR GRADOS DE CAQUEXIA EN  
CANCER**

ANGELICA MARITZA BETANCOURT SUAREZ

2015



DESARROLLO DE UNA ESCALA NUMÉRICA PARA CLASIFICAR GRADOS DE  
CAQUEXIA EN CÁNCER

FACULTAD DE BIOLOGIA

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Memoria presentada por la licenciada en Bacteriología Angelica Maritza Betancourt Suárez, para optar al grado de Doctora por la Universitat de Barcelona, por el programa de Doctorado EEES en Biomedicina.

La presente tesis doctoral se realizó en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular en la facultad de Biología (UB) bajo la dirección del Dr. Francisco J. López-Soriano y la Dra. Sílvia Busquets Rius.

**Dr. Francisco J. López-Soriano**

Prof. Titular Bioquímica y Biología Molecular

**Dra. Sílvia Busquets Rius**

Prof. Lectora Bioquímica y Biología Molecular

La doctoranda

Angelica Maritza Betancourt Suárez



## **AGRADECIMIENTOS**

Mi más sincera gratitud a todas la personas que me han acompañado en este caminar.

Al Dr. Josep Argilés por permitirme la oportunidad de conocer el mundo de la caquexia abriendo las puertas del grupo, gracias por los conocimientos compartidos por la forma en que los compartes con nosotros, por la pasión que nos trasmites por la investigación, los consejos y enseñanzas en todos estos años.

Al Dr. Francesc López-Soriano por su dedicación cada vez que me sentía un poco perdida, por siempre estar disponible para explicar y aclarar cualquier duda, por tantos conocimientos compartidos y por la seguridad que trasmites en los momentos que más se necesitan.

A la Dra. Silvia Busquets por su acompañamiento y ayuda en todo este proceso, por su entrega al laboratorio, por sus enseñanzas, por tantos momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio, por su comprensión, por ser más que una jefa y enseñarme cosas que quedaran para siempre.

A mis padres y hermanos que a pesar de la distancia han estado presentes en todos y cada uno de los momentos vividos en este camino, por su ayuda incondicional, por siempre estar ahí, por la horas enteras frente al Skype hablando y escuchando mis historias, por darme siempre ánimos, por las risas y por hacerme sentir que no importa donde estés si el amor es fuerte la distancia se acorta. A mis sobrinos por la alegría que han dado a mi vida. A mi cuñada Julieth y mi cuñado Norlan por hacer parte de mi familia y estar presentes en momentos importantes.

A mis tías, primos y primas por el cariño y la fortaleza que me han dado. A Mario que más que un tío es un amigo, un hermano, gracias por ser incondicional en mi vida. A mi abuelita Alicia, por su amor, por la fortaleza que trasmites en cada palabra.

Al Taita Orlando por ser un guía en mi vida, por tantas enseñanzas y por la inmensa confianza depositada en mí.

A mis compañeros del laboratorio Miriam y Fabio, por los momentos vividos, por compartir cosas bonitas, por sus enseñanzas. A Enri por su amistad, por sus risas, por la alegría que transmites, por acompañarme en este proceso.

A los estudiantes que estuvieron conmigo Marta, Alexandra, Guillem, Melani, Marck, Victoria, Jesica.

Al grupo LPL, por su disposición cuando necesitaba utilizar su equipo, por las conversaciones y ayuda.

A Roberto Serpe por su disposición por su ayuda en el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Joan Guardia por su disposición para enseñarme estadística entre conversaciones y risas, por transmitirme una energía positiva en cada momento en que sentía que no llegaba el final, por estar siempre dispuesto a colaborarme, por la confianza y por hacerme sentir parte del grupo y compartir momentos bonitos. A Maribel gracias por la disposición, por la confianza, por hacer parte de todo este proceso, por integrarme como una más de ustedes por la amistad depositada y por muchos momentos compartidos. A Laia, Nuria y María, por sus conocimientos, risas, conversaciones, ánimos cuando no entendía la estadística y por tantos momentos compartidos que me hicieron sentir parte de ustedes.

A mis amiguita Eva y Ángela que siempre ha estado presente.

A mis amigas de Colombia Elaine, Diana, Pilar que a pesar de la distancia compartimos uno a uno nuestros momentos vividos.

A todas las personas que en estos años han estado en mi vida y hemos compartido momentos de vida juntos.



A mis amigos Rocio y Juan por llegar a mi vida en el momento oportuno y dar alegría y momentos inolvidables.

Al amor de mi vida, Diego, por llegar en el momento preciso, transformando todo y dándole un sentido nuevo lleno de ilusiones, por acompañarme en esta recta final y hacer que todo sea más fácil.

A todas y cada una de las personas que han estado presentes física y espiritualmente todos estos años!

GRACIAS



## ABREVIATURAS

AFI	Actividad física
C26	Adenocarcinoma de colon C26
TBW	Agua corporal total
ASA	Amiloide sérico A
PA	Ángulo de fase
A-CASCO	Animal CAchexia SCORe
ANO	Anorexia
CASCO	CAchexia SCORe
CDV	Calidad de vida
LLC	Carcinoma pulmonar de Lewis
CC	Composición corporal
CNAQ	Cuestionario de apetito del consejo de nutrición
SNAQ	Cuestionario simplificado nutricional de apetito
PFM	Escala de funcionabilidad física relacionada con la movilidad
FTS	Escala de identificación de fragilidad
mGOP	Escala de pronóstico Glasgow modificada
ROS	Especies reactivas de oxígeno
NSR-2002	Evaluación de riesgo nutricional 2002
PG/SGA	Evaluación global subjetiva generada por el paciente
EDL	Extensor digitorum longus
GDF-8	Factor de crecimiento y diferenciación 8
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral-alfa
GDF-15	Factor de Diferenciación de Crecimiento 15
AIF	Factor de Inducción de la Anemia
PIF	Factor de Inducción de la Proteólisis

G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
GM-CSF	Factor estimulante de colonia de granulocitos y monocitos
LMF	Factor de Movilización de los Lípidos
NF-kB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
DEXA	Índice apendicular de músculo esquelético determinado por absorsiometría energética dual de rayos x
PEG-3	Gen expresado paternalmente 3
MST	Herramienta de evaluación de mal nutrición
MUST	Herramienta universal de malnutrición
PTHrP	Hormona paratiroidea
IK	Índice de Karnofsky
NPI	Índice de pronóstico nutricional
IAM	Inflamación y alteraciones metabólicas
IAI	Inflamación / Alteraciones metabólicas / Inmunosupresión
IFN- $\gamma$	Interferón gamma
IL-1 $\alpha$	Interleuquina 1-alfa
IL-1 $\beta$	Interleuquina 1-beta
IL-6	Interleuquina 6
IL-10	Interleuquina 10
IL-15	Interleuquina 15
KMO	Kaiser-Meyer-Olkin
LSH	Lipasa Sensible a las Hormonas
LPL	Lipoproteína Lipasa
MDA	Malondialdehido
LBM	Masa corporal magra
MG	Masa grasa

MM	Masa muscular
MCASCO	Mini CASCO
MNA	Mini evaluación nutricional
GSN	Músculo Gastrocnemius
NPY	Neuropéptido Y
IR	Paradigma intruso-residente
PP	Pérdida de Peso
PPDG	Pérdida de peso corporal y disminución de la masa del músculo Gastrocnemius
PPC	Pérdida de peso y composición corporal
GPS	Pronóstico Glasgow
POMC	Proopiomelanocotina
P3NP	Propéptido N-terminal
CRP	Proteína C Reactiva
PFA	Proteínas de fase aguda
IL-1ra	Receptor antagonista de IL-1
RMI	Resonancia Magnética
SM	Signos de Malestar
ESAS	Sistema de evaluación de síntomas de Edmonton
TM	Tejido muscular
NF	Test de natación forzada
CT	Tomografía Computarizada
UPS	Vía proteasas de ubiquitina específicas



# ÍNDICE

## ÍNDICE

I.	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.	<b>SÍNDROME DE CAQUEXIA ASOCIADO AL CÁNCER</b> .....	3
1.1.	Definición y aspectos generales.....	3
1.2.	Características asociadas a la caquexia cancerosa.....	4
1.2.1.	Astenia.....	5
1.2.2.	Fatiga.....	5
1.2.3.	Anorexia.....	6
1.2.4.	Anemia.....	7
1.2.5.	Inflamación y citoquinas.....	8
1.2.5.1.	Factores humorales.....	10
1.2.5.2.	Interacción tumor – hospedero.....	11
1.2.5.3.	Miostatina.....	11
1.2.6.	Alteraciones metabólicas en cáncer relacionadas con la caquexia.....	12
1.2.6.1.	Reciclaje glucosa – lactato.....	12
1.2.6.2.	Lipólisis del tejido adiposo.....	13
1.2.6.3.	Degradación de proteínas musculares.....	14
1.2.6.4.	Proteínas de fase aguda.....	17
2.	<b>DIÁGNOSTICO Y CLASIFICACIÓN DEL PACIENTE CAQUECTICO</b> .....	18
2.1.	Diagnóstico del paciente caquético.....	18
2.2.	Clasificación del paciente caquético.....	20
2.2.1.	Sarcopenia.....	21
2.2.2.	Escalas propuestas para la clasificación de la caquexia....	24
2.2.2.1.	18ropuesta de clasificación de la caquexia cancerosa según el grupo ESCRINIO.....	24
2.2.2.2.	Propuesta de clasificación de la caquexia según Gabison y colaboradores.....	24
2.2.2.3.	Propuesta de clasificación de la caquexia según Blum y colaboradores.....	25
2.2.2.4.	Propuesta de diagnóstico en la clasificación de la caquexia según Jhons y colaboradores.....	26



<b>3. BIOMARCADORES Y TÉCNICAS INDICATIVAS DE CAQUEXIA.....</b>	<b>26</b>
3.1. Biomarcadores.....	28
3.1.1. Excreción de creatinina en 24 horas.....	29
3.1.2. 3-Metilhistidina.....	29
3.1.3. Factor de diferenciación de crecimiento 15.....	30
3.1.4. Propeptido N-terminal del procolágeno de tipo III (P3NP)....	30
3.1.5. Fragmento de agrina C-terminal (CAF).....	30
3.1.6. Valoración de óxido de deuterio (D <sub>2</sub> O).....	31
3.1.7. Dilución de D3-creatina.....	32
3.1.8. Estrés oxidativo.....	32
3.1.9. Agua intracelular.....	33
3.1.10. Albúmina.....	33
3.1.11. Pre-albúmina.....	34
3.1.12. Recuento de linfocitos.....	34
3.1.13. Biomarcadores genéticos.....	35
3.1.14. Citoquinas: Biomarcadores en el proceso de la caquexia...35	
3.1.14.1. TNF- $\alpha$ .....	36
3.1.14.2. IL-6.....	37
3.1.14.3. IL-1.....	39
3.1.14.4. IFN- $\gamma$ .....	39
3.1.15. Proteína C Reactiva.....	40
3.2. Técnicas indicativas de caquexia.....	41
3.2.1. Área muscular de la parte circular del brazo por antropometría.....	41
3.2.2. Índice apendicular de músculo esquelético determinado por absorsiometría energética dual de rayos X (DEXA).....	41
3.2.3. Índice de masa corporal total determinado por impedancia bioeléctrica.....	42
3.2.4. Identificación de desgaste muscular a través de tomografía computarizada (CT) y resonancia magnética (RMI).....	43
3.2.5. Dinamometría manual.....	43
3.2.6. Test de la marcha de 6 minutos.....	44
3.2.7. Valoración de la actividad física.....	45
3.2.7.1. Escala de funcionalidad física relacionada con la movilidad (PFM).....	46
3.2.8. Valoración de la calidad de vida del paciente.....	46

3.2.8.1.	ESCALA ECOG.....	47
3.2.8.2.	Escala EORTC- QLQ-C30.....	47
3.2.9.	Sistema de evaluación de síntomas de EDMONTON.....	47
3.2.10.	Escala de identificación de fragilidad.....	48
3.2.11.	Escala de pronóstico GLASGOW.....	48
3.2.12.	Escala de pronóstico GLASGOW modificada.....	49
3.2.13.	Índice de Karnofski (IK).....	49
3.2.14.	Evaluación global subjetiva generada por paciente.....	50
3.2.15.	Herramientas de evaluación de mal nutrición.....	50
3.2.15.1.	aPS-SGA.....	51
3.2.15.2.	Cuestionario simplificado nutricional de apetito (SNAQ).....	51
3.2.15.3.	Mini evaluación nutricional (MNA).....	51
3.2.15.4.	Evaluación de mal nutrición (MST).....	52
3.2.15.5.	Herramienta universal de evaluación de mal nutrición (MUST).....	52
3.2.15.6.	Evaluación de riesgo nutricional 2002 (NSR-2002)..	52
II.	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>55</b>
III.	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>58</b>
1.	<b>MEDICIONES Y CUESTIONARIOS PARA LA VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA CANCEROSA EN HUMANOS MEDIANTE EL USO DE CAchexia SCOrE (CASCO).....</b>	<b>60</b>
1.1.	Pérdida de peso y composición corporal.....	61
1.1.1.	Medición de peso corporal.....	61
1.1.2.	Medición de la composición corporal.....	61
1.1.2.1.	Bioimpedancia eléctrica.....	61
1.1.2.2.	Tomo grafía computarizada y resonancia magnética.....	62
1.1.2.3.	Absorciometría de energía dual de rayos X (DEXA)...	62
1.2.	Inflamación , alteraciones metabólicas e inmunosupresión.....	63
1.2.1.	Inflamación.....	63
1.2.1.1.	Determinación de IL-6.....	63
1.2.1.2.	Determinación de la proteína C reactiva.....	63

1.2.2.	Alteraciones metabólicas.....	64
1.2.2.1.	Determinación bioquímicas: Albúmina, pre-albúmina, lactato, urea, triglicéridos y glucosa.....	64
1.2.2.2.	Medición de la concentración de hemoglobina.....	65
1.2.3.	Inmunosupresión.....	65
1.3.	Actividad física.....	65
1.4.	Anorexia.....	65
1.5.	Calidad de vida.....	65
1.6.	Sujetos de estudio.....	65
1.6.1.	Criterios de inclusión / exclusión.....	66
1.6.1.1.	Criterios de inclusión sujetos control.....	66
1.6.1.2.	Criterios de inclusión y exclusión sujetos pacientes.....	66
1.7.	Procedimiento de recogida de datos.....	66
1.8.	Análisis estadísticos.....	67

## **2. MEDICIONES PARA LA VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA CANCEROSA EN MODELOS EXPERIMENTALES MEDIANTE EL USO DE Animal CAchexia SCORE.....**

2.1.	Animales y condiciones de experimentación.....	69
2.2.	Modelos experiemntales.....	69
2.2.1.	Hepatoma Ascitico Yoshida AH-130.....	69
2.2.2.	Carcinoma pulmonar de Lewis.....	70
2.2.2.1.	Determinación de las metástasis pulmonares.....	71
2.2.3.	Adenocarcinoma de colon C26.....	72
2.3.	Diseño de los experimentos.....	73
2.3.1.	Yoshida AH-130.....	73
2.3.2.	Carcinoma pulmonar de Lewis.....	74
2.3.3.	Adenocarcinoma de colon C26.....	74
2.4.	Anestesia y sacrificio.....	75
2.5.	Extracción de tejidos y sangre.....	75
2.6.	Pruebas para la aplicación de A-CASCO.....	75
2.6.1.	Pérdida de peso y disminución del peso del músculo <i>Gastrocnemius</i> .....	76
2.6.1.1.	Peso corporal.....	76

2.6.1.2.	Disminución del peso del músculo Gastrocnemius.....	76
2.6.2.	Inflamación y alteraciones metabólicas.....	76
2.6.2.1.	Inflamación.....	76
2.6.2.2.	Alteraciones metabólicas.....	77
2.6.2.2.1.	Medición de los parámetros bioquímicos: albúmina, lactato, triglicéridos y urea.....	77
2.6.2.2.2.	Hematocrito en rata.....	77
2.6.2.2.3.	Hematocrito en ratón.....	77
2.6.3.	Actividad física.....	77
2.6.3.1.	Medida de la actividad física total.....	77
2.6.3.2.	Medida de la fuerza de tracción.....	78
2.6.4.	Anorexia.....	79
2.6.5.	Calidad de vida.....	79
2.6.5.1.	Signos de malestar.....	79
2.6.5.2.	Paradigma intruso – residente.....	80
2.6.5.3.	Test de natación forzada.....	81
2.7.	Análisis estadístico.....	82
2.7.1.	Imputación de datos faltantes.....	82
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>84</b>
<b>1.</b>	<b>CACHEXIA SCORE (CASCO).....</b>	<b>86</b>
1.1.	Pérdida de peso y composición corporal.....	87
1.2.	Inflamación y alteraciones metabólicas.....	88
1.2.1.	Inflamación.....	89
1.2.2.	Alteraciones metabólicas.....	90
1.2.3.	Inmunosupresión.....	91
1.3.	Actividad física.....	91
1.3.1.	Cuestionario subjetivo sobre la actividad física.....	91
1.3.2.	Monitorización objetiva de la calidad de vida.....	93
1.4.	Anorexia.....	94
1.5.	Calidad de vida.....	95
1.6.	Cuestionario CASCO.....	99
1.7.	Clasificación de los sujetos de estudio.....	105
1.8.	Análisis biométrico de la escala CASCO.....	106
1.8.1.	Análisis de fiabilidad de CASCO.....	106

1.8.2.	Análisis de la validez de constructo.....	106
1.9.	Estudio de validez concurrente.....	111
1.10.	Análisis de conglomerados para la escala CASCO.....	112
1.11.	Escala CASCO.....	115
1.12.	MiniCASCO (MCASCO).....	116
2.	ESCALA PARA CLASIFICAR LA CAQUEXIA CANCEROSA EN ANIMALES EXPERIMENTALES: <i>Animal CAchexia SCORe (A-CASCO)</i> .....	126
2.1.	Componentes CASCO.....	127
2.1.1.	Pérdida de peso y disminución de la masa del músculo GSN.....	127
2.1.2.	Inflamación y alteraciones metabólicas.....	128
2.1.3.	Actividad física.....	128
2.1.4.	Anorexia.....	129
2.1.5.	Calidad de vida.....	129
2.2.	Protocolo de aplicación de A-CASO.....	129
2.2.1.	Pérdida de peso y disminución de la masa del músculo GSN.....	130
2.2.1.1.	Pérdida de peso.....	130
2.2.1.2.	Disminución del peso del músculo GSN.....	132
2.2.2.	Inflamación y alteraciones metabólicas (IAM).....	133
2.2.3.	Actividad física.....	135
2.2.3.1.	Actividad total (AT).....	135
2.2.3.2.	Fuerza de tracción (FT).....	135
2.2.4.	Anorexia (ANO).....	136
2.2.5.	Calidad de vida (CDV).....	137
2.3.	Resultados para A-CASCO en los modelos experimentales de caquexia cancerosa.....	139
2.3.1.	Modelo experimental Hepatoma ascítico Yoshida AH-130.....	140
2.3.1.1.	Pérdida de peso y disminución músculo GSN.....	140
2.3.1.1.1.	Pérdida de peso.....	140
2.3.1.1.2.	Músculo GSN.....	141
2.3.1.2.	Inflamación y alteraciones metabólicas.....	145
2.3.1.2.1.	Inflamación.....	142

2.3.1.2.2.	Alteraciones metabólicas.....	145
2.3.1.3.	Actividad física.....	151
2.3.1.3.1.	Actividad total.....	151
2.3.1.3.2.	Fuerza de tracción.....	153
2.3.1.4.	Anorexia.....	155
2.3.1.5.	Calidad de vida.....	156
2.3.1.5.1.	Signos de malestar.....	156
2.3.1.5.2.	Paradigma intruso – residente.....	157
2.3.1.5.3.	Test de natación forzada.....	158
2.3.2.	Modelo experimental Carcinoma pulmonar de Lewis (LLC).....	160
2.3.2.1.	Pérdida de peso y disminución del peso del músculo GSN en el modelo tumoral LLC.....	160
2.3.2.1.1.	Peso corporal.....	160
2.3.2.1.2.	Músculo GSN.....	162
2.3.2.2.	Inflamación y alteraciones metabólicas.....	163
2.3.2.2.1.	Inflamación.....	163
2.3.2.2.2.	Alteraciones metabólicas.....	165
2.3.2.3.	Actividad física.....	172
2.3.2.3.1.	Actividad total.....	172
2.3.2.3.2.	Fuerza de tracción.....	173
2.3.2.4.	Anorexia.....	175
2.3.2.5.	Calidad de vida.....	176
2.3.2.5.1.	Signos de malestar.....	176
2.3.2.5.2.	Paradigma intruso – residente.....	177
2.3.2.5.3.	Test de natación forzada.....	178
2.3.3.	Modelo experimental Adenocarcinoma de colon C26...180	
2.3.3.1.	Pérdida de peso y disminución del peso del músculo GSN en el modelo tumoral C26.....	180
2.3.3.1.1.	Pérdida de peso.....	180
2.3.3.1.2.	Músculo GSN.....	182
2.3.3.2.	Inflamación y alteraciones metabólicas.....	183
2.3.3.2.1.	Inflamación.....	183
2.3.3.2.2.	Alteraciones metabólicas.....	186
2.3.3.3.	Actividad física.....	192
2.3.3.3.1.	Actividad total.....	192
2.3.3.3.2.	Fuerza de tracción.....	194

2.3.3.4.	Anorexia.....	195
2.3.3.5.	Calidad de vida.....	197
2.3.3.5.1.	Signos de malestar.....	197
2.3.3.5.2.	Paradigma intruso – residente.....	197
2.3.3.5.3.	Test de natación forzada.....	198
2.3.4.	Análisis de resultados del componente de inflamación alteraciones metabólicas para los tres modelos experimentales.....	200
2.4.	Análisis de conglomerados para A-CASCO.....	201
2.4.1.	Análisis de conglomerados para el modelos tumoral hepatoma ascítico Yoshida AH-130.....	204
2.4.1.1.	A-CASCO para el modelo experimental Yoshida AH-130.....	206
2.4.2.	Análisis de conglomerados para el modelo tumoral Carcinoma pulmonar de Lewis.....	206
2.4.2.1.	A-CASCO para el modelo experimental Carcinoma pulmonar de Lewis.....	208
2.4.3.	Análisis de conglomerados para el modelo experimental Adenocarcinoma de colon C26.....	209
2.4.3.1.	A-CASCO para el modelo experimental Adenocarcinoma de colon C26.....	212
V.	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>214</b>
1.	<b>VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA EN HUMANOS MEDIANTE EL USO DE <i>CACHEXIA SCORE</i> (<i>CASCO</i>).....</b>	<b>216</b>
2.	<b>VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA CANCEROSA EN MODELOS EXPERIMENTALES MEDIANTE EL USO DE: <i>Animal CAchexia SCOr</i>e.....</b>	<b>226</b>
VI.	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>236</b>
VII.	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>240</b>

<b>ANEXO 1</b> .....	266
<b>ANEXO 2</b> .....	274
<b>ANEXO 3</b> .....	279
<b>ANEXO 4</b> .....	283
<b>ANEXO 5</b> .....	287







# I. INTRODUCCIÓN



## 1. SÍNDROME DE CAQUEXIA ASOCIADA AL CÁNCER

### 1.1. DEFINICIÓN Y ASPECTOS GENERALES

La palabra Caquexia proviene del griego *Kakos Hexis* que significa **mala condición**. Es quizás la manifestación más común de enfermedades graves tales como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), insuficiencia cardíaca crónica (ICC) y el cáncer (Argilés *et al.*, 2013). Representa un aspecto crítico para los tratamientos y los criterios de inclusión y exclusión en los ensayos clínicos (Argilés *et al.*, 2011).

La definición de caquexia cancerosa ha evolucionado con el tiempo, actualizándose sobre una nueva comprensión de los mecanismos y conceptos clínicos (Blum *et al.*, 2011). Las primeras descripciones de caquexia en la literatura la presentaban como una condición o síndrome multidimensional, que abarca una constelación de factores (pérdida de peso, anorexia, distorsión quimiosensorial, inflamación, hipermetabolismo) que contribuyen a desencadenar unos efectos como astenia, disnea, anemia, angustia psicosocial, toxicidad al tratamiento y muerte. Todos estos términos captan el concepto pero no constituyen una definición (Baracos 2011). Es por esto que los expertos han trabajado en los últimos años para desarrollar una definición consensuada de caquexia asociada al cáncer (Evans *et al.*, 2008; Fearon *et al.*, 2011) en la que se describe la caquexia como: **“Un síndrome metabólico complejo, asociado a enfermedad subyacente y caracterizado por la pérdida de masa muscular con o sin pérdida de masa grasa (Evans *et al.*, 2008), que no puede ser revertida por el soporte nutricional convencional, lo que conduce a un deterioro funcional progresivo”** (Figura 1) (Fearon *et al.*, 2011).



Figura 1. Principal característica clínica de la caquexia.

En un paciente con cáncer la pérdida de peso es un factor de pronóstico importante: cuanta más pérdida de peso, menor es el tiempo de supervivencia (DeWys 1986). Dicho deterioro se debe a la pérdida tanto del tejido adiposo como de la masa muscular esquelética (Tisdale 2009). Una caída marcada de la masa del músculo esquelético explica por qué los pacientes con caquexia tienen una movilidad reducida y, por ende, una baja calidad de vida, y una menor esperanza de supervivencia (Tisdale 2009). De igual manera, este síndrome se asocia a un aumento en la toxicidad a la terapia anticancerosa. Así pues, la pérdida de peso es un pronóstico desfavorable para la severidad de los efectos tóxicos relacionados con los tratamientos e indica una reducción de la supervivencia. Un incremento en la prevalencia de estos efectos negativos sobre el paciente, puede requerir disminución de la dosis, retraso en el tratamiento o incluso cancelación definitiva del mismo, lo que conlleva a que los pacientes que pierden peso no puedan tener un beneficio completo de su terapia anticancerosa (Vigano *et al.*, 2014, Fearon *et al.*, 2013).

La caquexia asociada al cáncer predomina particularmente en los tumores sólidos del tracto gastrointestinal superior y pulmón, y tiene una menor incidencia en tumores de mama (Tabla 1) (DeWys *et al.*, 1980; Donohoe *et al.*, 2011).

### **1.2. CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A LA CAQUEXIA CANCEROSA**

La caquexia es un síndrome multifactorial y, aunque la pérdida de peso es el síntoma asociado más común, hay otras características presentes en el paciente caquético como astenia, fatiga, anorexia, inflamación, anomalías metabólicas, resistencia a la insulina y edema, entre otras (Stewart *et al.*, 2006 Evans *et al.*, 2008, Muscaritoli *et al.*, 2010 y Fearon *et al.*, 2011).

**Tabla 1.** Tipos de cáncer más comunes en los cuales la caquexia se desarrolla como parte del proceso clínico.

Tipo de Cáncer	Pacientes con caquexia (%)
Cáncer gástrico	85
Cáncer pancreático	83
Cáncer de pulmón no microcítico	61
Cáncer de pulmón microcítico	57
Cáncer de Próstata	56
Cáncer de Colon	54
Linfoma no-Hodgkin desfavorable	48
Sarcoma	40
Leucemia aguda no-linfocítica	39
Cáncer de mama	36
Linfoma no-Hodgkin favorable	31

### 1.2.1. ASTENIA

La palabra *astenia* proviene del griego *asthénia* que significa falta de fuerza. Hace referencia a la sensación intensa de falta generalizada de fuerza o, dicho de otra forma, disminución de la vitalidad. Es probablemente el síntoma más prevalente en pacientes con cáncer avanzado, y el que está directamente relacionado con la pérdida de masa muscular observada en estados caquéticos (Preed y Peters 2002).

### 1.2.2. FATIGA

La *fatiga* es una condición muy frecuente ya que entre un 70 y un 100% de los pacientes con cáncer la padecen. Puede describirse como una reducción en la capacidad de funcionamiento, debida a la imposibilidad para mantener la fuerza de respuesta necesaria durante un determinado periodo de tiempo. Es un

fenómeno multifactorial, donde factores fisiopatológicos como la anemia, la masa tumoral y las citoquinas relacionadas, la depresión y ansiedad, la dificultad para dormir y el bajo grado de funcionamiento físico, contribuyen a su desarrollo (Ahlberg *et al.*, 2003; Stewart *et al.*, 2006).

### 1.2.3. ANOREXIA

La *anorexia* se define como la pérdida del apetito, con una sensación de saciedad precoz, la cual hace que tenga lugar una hipofagia a causa de la disminución del número de comidas o de la cantidad de alimento ingerido. Es común en pacientes con cáncer y juega un papel relevante en la explicación de la malnutrición. Está constantemente asociada con la caquexia cancerosa, aunque por si sola puede no ser directamente responsable de la pérdida de masa corporal, especialmente en músculo esquelético (Morrison 1984; Tisdale 2009; Argilés *et al.*, 2005). La anorexia puede ser inducida por diversos motivos: invasión por el tumor del tracto gastrointestinal (lo cual dificulta el paso de la comida); producción de anomalías en la mucosa gastrointestinal a causa del tumor (lo cual resulta en malabsorción); depresión psicológica; efectos secundarios de los tratamientos anticancerosos (quimioterapia, radioterapia o inmunoterapia) que producen náuseas y vómitos o bien una reducción de la ingesta a causa de alteraciones en la percepción del sabor y olor de la comida; producción de moléculas por parte del tumor o del sistema inmunitario del hospedero. Varias citoquinas como la interleuquina 1-alfa (IL-1 $\alpha$ ), interleuquina 1-beta (IL-1 $\beta$ ), interleuquina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), atraviesan la barrera hematoencefálica donde interactúan con la superficie luminal de las células endoteliales del cerebro para liberar sustancias que afectan el apetito (Banks 2001). Por otro lado, la anorexia cancerosa también puede ser el resultado de un desequilibrio entre las señales orexigénicas (tales como el neuropéptido Y (NPY)), y señales anorexigénicas (tales como la proopiomelanocotina (POMC)) (Davis *et al.*, 2004). De igual manera,



la leptina juega un papel importante en el control de las reservas de grasa corporal inhibiendo la ingesta de alimentos e incrementando el gasto de energía a través de un circuito de retroalimentación que involucra al hipotálamo. Al tiempo que los niveles de grasa disminuyen en la caquexia, los niveles de leptina caen y están inversamente relacionados con la intensidad de la respuesta inflamatoria (Balducci y Hardy 1985; Tisdale 2009).

### **1.2.4. ANEMIA**

La anemia consiste en una disminución de la concentración de hemoglobina en sangre periférica, que se acompaña siempre por un descenso del hematocrito y, generalmente, por una bajada del número de eritrocitos. Se considera que hay anemia cuando los valores de la concentración de hemoglobina en sangre son inferiores a 11g/100mL en bebés de 6 meses a niños de 6 años; inferiores a 12g/100mL en niños de 6 a 14 años y mujeres adultas, o inferiores a 13g/100mL en varones adultos (Benjamin *et al.*, 2002). La anemia asociada a enfermedades crónicas es la anemia secundaria a la activación, aguda o crónica, del sistema inmune debida a procesos infecciosos, inflamatorios o neoplásicos. Su principal característica analítica es la hiposideremia junto con el aumento de los depósitos medulares de hierro, por lo que recibe también el nombre de anemia por bloqueo. Es la anemia más frecuente después de la anemia ferropénica. La anemia se debe a la respuesta inflamatoria del organismo así que, como resultado de la estimulación de los macrófagos y linfocitos T, se liberan a la circulación IL-1, IFN- $\alpha$ , Interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y TNF- $\alpha$ , cuyas acciones sobre la medula ósea difieren: el TNF- $\alpha$  inhibe la producción de precursores eritroides inmaduros, mientras que la IL-1 produce el mismo efecto sobre los precursores de la serie roja, y al mismo tiempo estimula los precursores granulomonocíticos a través de la producción del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y del factor estimulante de

colonia de granulocitos y monocitos (GM-CSF); el IFN- $\alpha$  inhibe los precursores eritroides, pero su acción principal parece ser la potenciación del TNF- $\alpha$  y la IL-1. El efecto resultante es la disminución de la producción eritroide, pero con conservación de la maduración granulomonocítica y plaquetaria. Además se observa un discreto acortamiento de la vida media de los hematíes, probablemente por hiperplasia del sistema mononuclear fagocítico. La estimulación de la síntesis de hepcidina por la IL-6 a las pocas horas del proceso inflamatorio, tiene como resultado el bloqueo del hierro en los macrófagos y la disminución en su absorción intestinal (Coccia *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2002; Spivak 2002; Theurl *et al.*, 2006; Weiss y Goodnough 2005).

#### **1.2.5. INFLAMACIÓN Y CITOQUINAS**

La idea que el cáncer y la inflamación están ligados, está presente desde la hipótesis de Virchow en el siglo XIX (Balkwill y Mantovani, 2001). La consecuencia de esta “batalla” entre la progresión del tumor y el hospedero tiene un papel principal en el desarrollo de la caquexia. Las citoquinas, que son liberadas tanto por el tumor como por el sistema inmunológico, podrían estar implicadas en las bajas tasas de síntesis de proteínas y en la menor ingesta de aminoácidos (Argilés y López Soriano 1999; Durham *et al.*, 2009).

El balance entre las citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias es clave en el desarrollo de la caquexia. La alta producción de citoquinas pro-inflamatorias o “procaquéticas” (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6), y la baja producción de citoquinas anti-inflamatorias o “anticaquéticas” (Interleukina 15 (IL-15) e Interleukina 10 (IL-10)), son determinantes para el desarrollo de la caquexia (Argilés y López Soriano 1999; Pajak *et al.*, 2008). Las citoquinas anti-inflamatorias se producen como un mecanismo para inhibir la liberación de citoquinas pro-inflamatorias y bloquear sus

efectos, estimulando las moléculas antagonistas de citoquinas tales como la IL-1ra (receptor antagonista de IL-1), IL-10 o IL-15 (Argilés y López–Soriano 1999).

Las citoquinas como el TNF- $\alpha$  y la IL-6 están involucradas en los procesos que regulan la pérdida de masa muscular, como la limitada síntesis de proteína, asociada con un incremento en la hidrólisis de las proteínas y un descenso en la capacidad regenerativa (Durham *et al.*, 2009). El TNF- $\alpha$  puede activar la transcripción del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB), el cual inhibe la síntesis del factor de transcripción específico del músculo MyoD y activa la Ciclina D1. El resultado es una inhibición de la diferenciación, y como consecuencia, la inhibición de la síntesis de la cadena pesada de miosina (MHC), un elemento fundamental de la función muscular (Guttridge *et al.*, 2000; Acharyya *et al.*, 2004). Coletti y colaboradores en 2002 describieron que el TNF- $\alpha$  inhibe la diferenciación muscular a través de la expresión del gen expresado paternalmente 3 (PEG-3), el cual es un factor apoptótico que activa la caspasa 3, una proteasa involucrada en los eventos “pre-proteasomales” en caquexia en el músculo esquelético (Hasselgren *et al.*, 2002, Argilés *et al.*, 2008).

Algunos estudios relacionan la IL-6 con la respuesta inflamatoria y la síntesis de proteínas de fase aguda, como contribuyentes en el desarrollo de sarcopenia en la vejez y la caquexia (Barber *et al.*, 1999; Schaab *et al.*, 2006; Baltglavis *et al.*, 2009, Tisdale 2009). Un estudio demostró que una infusión de dosis bajas de IL-6 en humanos sanos incrementa el recambio total de proteína corporal, reduciendo las concentraciones de aminoácidos circulantes, pero disminuyendo a la mitad el recambio de proteína muscular esquelética, reduciendo la síntesis de proteína en este tejido. (Banhall *et al.*, 2008).

En conjunto, la respuesta sistémica inflamatoria genera muchas alteraciones que afectan el metabolismo del paciente, activando entre otras la rotura de la proteína

muscular y, por consiguiente, se produce el desgaste en este tejido (Argilés *et al.*, 2007).

#### **1.2.5.1. Factores tumorales**

Las células tumorales producen factores proinflamatorios y procaquéticos, los cuales estimulan una respuesta inflamatoria en el hospedero. Los factores procaquéticos producidos por el tumor incluyen factores inductores de la proteólisis y movilizadores de los lípidos (Donohoe 2011).

Se ha demostrado que factores tales como el Factor de Inducción de la Proteólisis (PIF) y el Factor de Inducción de la Anemia (AIF), ambos liberados por el tumor, están involucrados en la caquexia (Ishiko *et al.*, 1999; Beck y Tisdale 1987). La AIF es una proteína de aproximadamente 50kD que deprime los eritrocitos y las funciones de células inmunocompetentes; también disminuye la ingesta alimentaria, el peso corporal y la grasa corporal en el conejo (Ishiko *et al.*, 1999). El PIF es una glicoproteína de aproximadamente de 24kD, caracterizada por inducir la degradación de proteínas intracelulares en el músculo esquelético de ratones y caquexia en roedores (Beck y Tisdale 1987, Tisdale 2009). El mecanismo de acción del PIF se relaciona con el incremento del catabolismo proteico en el músculo esquelético, a través de la activación del sistema proteolítico dependiente de Ubiquitina y Proteasoma (Lorite *et al.*, 2001; Gomes-Marcondes *et al.*, 2002). PIF se ha identificado en la orina de pacientes que pierden peso con cánceres pancreáticos, de colon, pulmón, ovario, mama y de hígado (Porter *et al.*, 2003). En animales experimentales, PIF señala a través de las vías NFκB y STAT3, la estimulación de estas vías induce la proteólisis en músculos a través de la vía Ubiquitina-Proteasoma, y en los hepatocitos da como resultado la producción de IL-6, IL-8 y Proteína C Reactiva (CRP) (Porter *et al.*, 2003).

Otro factor circulante derivado del tumor es el péptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP), que se asocia con niveles más altos del receptor del TNF-α

altamente soluble y con niveles más bajos de albúmina y transferrina (Deans *et al.*, 2005).

#### **1.2.5.2. Interacción tumor – hospedero**

La producción de citoquinas inflamatorias por el microambiente del tumor en respuesta a las células tumorales puede estar implicada en el proceso de caquexia. Modelos de tumores en animales experimentales muestran un incremento en la producción de citoquinas sistémicas inflamatorias, lo cual se correlaciona con un aumento de pérdida de peso (Gelin *et al.*, 1991; Strassmann *et al.*, 1992). El modelo murino de caquexia cancerosa asociado con la inflamación sistémica sugiere que hay una interacción entre la IL-1 y la IL-6 en el microambiente del tumor, lo cual conduce a la amplificación de la respuesta inflamatoria (Yasumoto *et al.*, 1995).

#### **1.2.5.3. Miostatina**

La miostatina, también conocida como Factor de crecimiento y diferenciación 8 (GDF-8), es un miembro de la superfamilia TGF- $\beta$  de factores de crecimiento secretados (Lee y McPherron 1999; Sharma *et al.*, 2001; Tsushida 2008). Se ha descrito recientemente como un nuevo factor tumoral relacionado con el desarrollo de caquexia cancerosa, en estudios realizados en animales portadores del adenocarcinoma de colon C26 (Lokireddy *et al.*, 2012).

Es una citoquina extracelular, que se expresa mayoritariamente en músculo esquelético y que juega un papel crucial en la regulación negativa de la masa muscular (Elkina *et al.*, 2011). La miostatina circulante se encuentra en una forma latente como un precursor que, al romperse, da lugar a un propéptido amino-terminal y una región madura carboxi-terminal, siendo ésta última la forma activa de la molécula. Una vez activada, la miostatina presenta una alta afinidad por el receptor Activina IIB (también conocido como ActRIIB o Acvr2b) y una afinidad

débil para Activina IIA (también conocido como ActRII o Acvr2a), los cuales, al igual que otros receptores para los miembros de la familia TGF- $\beta$ , unen múltiples ligandos (de Caestecker 2004; Guo *et al.*, 2009). Al enlazarse al receptor ActRIIB, la miostatina puede iniciar diferentes cascadas de señalización, dando como resultado un descenso en el crecimiento y la diferenciación muscular. El tamaño del músculo se regula a través de una compleja interacción de la señalización de miostatina vía IGF-1/PI3K/Akt, la cual es la responsable de la síntesis de proteína en el músculo (Elkina *et al.*, 2011).

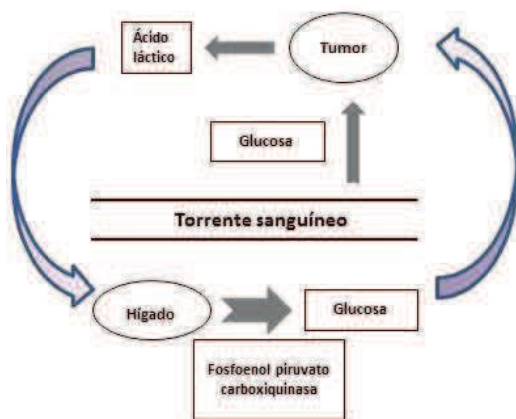
### **1.2.6. ALTERACIONES METABÓLICAS EN CÁNCER RELACIONADAS CON LA CAQUEXIA**

Las alteraciones metabólicas ocasionadas por un tumor son muchas, de las cuales destacamos las siguientes: 1) Reciclaje glucosa – lactato; 2) Lipólisis en el tejido adiposo; 3) Degradación de proteínas musculares; 4) Proteínas de Fase Aguda.

#### **1.2.6.1. Reciclaje glucosa – lactato**

El concepto más importante a tener en cuenta en las células tumorales, es que necesitan grandes cantidades de glucosa (opuestas a las necesidades de oxígeno) para crecer: entre 4 y 5 veces la cantidad de glucosa que necesitan las células sanas (Mathupala *et al.*, 1995). Los tumores malignos obtienen el 50% de su energía de la glicólisis, manteniendo de esta manera al paciente en un estado constante de gluconeogénesis (Mathupala *et al.*, 1995). Dado que el oxígeno no se utiliza tanto como la glucosa en las células tumorales, cuando éstas toman glucosa la convierten en ácido láctico. Este ácido láctico estimula al hígado para producir glucosa a través de la gluconeogénesis. Después de recibir la glucosa recién sintetizada del hígado, el tumor produce ácido láctico, el cual activa el hígado para producir más glucosa (Figura 2) (Albrecht 1996; Teh y Shuster 1999; McDevitt *et al.*, 1995; De Blaauw *et al.*, 1997; Tijerina 2004). Este proceso se conoce como el

ciclo de Cori, también referenciado como el ciclo de gasto de energía, dado que la conversión de dos moles de lactato a glucosa requiere 6 moles de ATP, mientras que se recuperan únicamente dos moles de ATP en la conversión de glucosa de nuevo a lactato. Se ha propuesto la hipótesis de que el ciclo de Cori es el mecanismo por el cual cualquier forma de energía se agota en pacientes con cáncer debido al metabolismo alterado de los carbohidratos, ya que la actividad del ciclo esta incrementada en un 50% en pacientes con cáncer y representa el 60% del lactato producido (Albrecht 1996; Teh y Shuster 1999; McDevitt *et al.*, 1995; De Blaauw *et al.*, 1997; Tijerina 2004; Tisdale 1997a; Tisdale 1997 b).



**Figura 2. Fisiopatología del metabolismo de carbohidratos en la caquexia cancerosa a través el ciclo de Cori.** La glucosa en el torrente sanguíneo es utilizada por las células tumorales, las cuales a cambio convierten la glucosa en ácido láctico. Este ácido láctico es convertido en glucosa en el hígado a través de la gluconeogénesis. La glucosa producida regresa a la célula tumoral. Extraída de Tijerina et al., 2004.

### 1.2.6.2. Lipólisis del tejido adiposo

El aumento en el metabolismo de los lípidos es otra característica notable en cáncer. Una gran proporción de la pérdida de peso en pacientes oncológicos es atribuida a la pérdida de grasa, debido principalmente a un aumento de la lipólisis. Al comparar sujetos sanos o pacientes con cáncer pero sin pérdida de peso, con pacientes con caquexia cancerosa, se observa un aumento en el reciclaje del glicerol y de los ácidos grasos libres. Hay dos mecanismos propuestos para la pérdida de grasa en pacientes con caquexia cancerosa. El primero hace referencia a la inhibición de la Lipoproteína Lipasa (LPL) por el TNF- $\alpha$ , impidiendo que los adipocitos extraigan ácidos grasos de las lipoproteínas plasmáticas para el almacenamiento, e incrementando la utilización del Factor de Movilización de los

Lípidos (LMF). El LMF estimula a los adipocitos para liberar glicerol, lo cual se cree que inicia directamente la lipólisis a través de la vía cAMP (adenosin monofosfato cíclico). El segundo mecanismo consiste en la estimulación de la hidrólisis de triglicéridos en los adipocitos por la activación de la Lipasa Sensible a las Hormonas (LSH), iniciando la hidrólisis de estas grasas. Estos mecanismos pueden explicar el incremento en las concentraciones de glicerol y la utilización de ácidos grasos en pacientes con caquexia cancerosa (McDevitt *et al.*, 1995; De Blaauw *et al.*, 1997; Janeway y Travers 1997; Gambardella *et al.*, 1997; Laviano *et al.*, 1996; Picton 1998; Fearon *et al.*, 1999; Tijerina 2004).

De igual manera, diversas investigaciones confirman que la liberación de glicerol por los adipocitos ocurre por la activación de la LSH. En ausencia de glucosa, los niveles de cAMP se elevan, causando la lipólisis directa en el tejido adiposo (McDevitt *et al.*, 1995). La síntesis de colesterol, (o vía del mevalonato, también es un aspecto importante en la biosíntesis de lípidos. El colesterol es vital para la activación de la señalización de la vía RAS-RAF asociada a la proliferación celular (Konstantinopoulos *et al.*, 2007). La desregulación de la síntesis de colesterol se correlaciona con transformación tumorigénica (Clendening *et al.*, 2010).

### **1.2.6.3. Degradación de proteínas musculares**

La proteína muscular representa aproximadamente el 50% de la proteína de todo el cuerpo, y como ya se ha indicado previamente, se encuentra gravemente afectada en el síndrome de la caquexia (Figura 3).

Los músculos en situación normal pueden mantener su masa y función gracias al balance entre síntesis y degradación proteica, asociadas a la tasa equivalente de procesos anabólicos y catabólicos respectivamente. Los músculos crecen (hipertrofia) cuando la síntesis proteica excede a la degradación y, por otra parte, los músculos merman (atrofia) cuando predomina la degradación (Dworzak *et al.* 1998).



Hay tres rutas proteolíticas principales responsables de la degradación de proteínas en músculo esquelético:

1. El sistema lisosomal, que incluye entre otras la proteasa catepsina B/L, así como la catepsina D; ésta es principalmente responsable de la degradación de proteínas extracelulares y receptores celulares.

2. El sistema activado por calcio, que incluye las calpaínas 1 y 2, las cuales están principalmente involucradas en lesión de tejido, necrosis y autolisis.

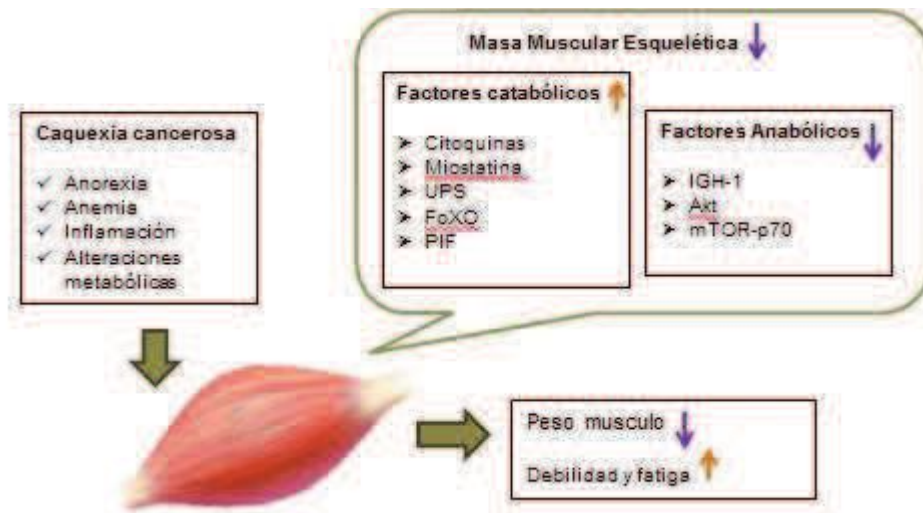
3. La vía de la Ubiquitina-Proteasoma, la cual requiere ATP y trabaja en armonía con el sistema de las calpaínas para desarmar y degradar los miofilamentos musculares. Estudios en modelos animales de caquexia cancerosa, así como en pacientes con cáncer, sugieren que la ruta Ubiquitina-Proteasoma juega el papel predominante en la degradación de proteínas miofibrilares, particularmente en pacientes con una pérdida de peso superior al 10% (Hasselgren *et al.*, 2002; Llovera *et al.*, 1994).

Estudios recientes sugieren que el factor de transcripción FoxO3 controla tanto la vía Ubiquitina-Proteasoma como la lisosomal en músculo, pero a través de un mecanismo diferente. Para pacientes con una pérdida de peso baja (2,9%) las biopsias de músculo no muestran cambios en los componentes de la vía Ubiquitina-Proteasoma, sino una expresión incrementada del mRNA para la catepsina B; sin embargo, no está claro si los pacientes con una pérdida de peso tan baja muestran atrofia y si la expresión incrementada de catepsina B es la responsable de la degradación muscular, ya que, al menos en modelos experimentales, el sistema lisosomal no parece estar involucrado en la degradación de proteínas miofibrilares. Un estudio previo mostró un incremento en la actividad lisosomal, medido por la catepsina D y fosfatasa ácida, en músculo esquelético de pacientes con cáncer, lo cual en 5 sujetos parecía correlacionarse con la pérdida de peso. Cerca de la mitad de la proteína total muscular es proteína miofibrilar, la cual se pierde a una velocidad mucho más rápida que otras proteínas

durante la atrofia. La cadena pesada de miosina es selectivamente elegida como blanco por la vía Ubiquitina-Proteasoma en el estado caquético, mientras que otras proteínas miofibrilares, centrales o esenciales, incluyendo la troponina T, tropomiosina (formas alfa y B) y la actina- $\alpha$  sarcomérica, permanecen sin cambios (Tisdale 1997; Tijerina 2004, Tisdale 2009).

Un aspecto interesante respecto al desgaste muscular es que, por razones desconocidas, en la caquexia asociada a enfermedades neoplásicas, el músculo blanco de contracción rápida (glucolítico) tiende a agotarse más rápido que el músculo tónico o rojo de contracción lenta (oxidativo) (De Blaauw *et al.*, 1997; Tijerina 2004, Tisdale 2009).

En la Figura 3 se muestra un diagrama con las características principales que sufren cambios en el músculo esquelético durante la caquexia cancerosa. En los adultos, la masa muscular se mantiene constante en ausencia de estímulos (por ejemplo ejercicio), y por lo tanto la síntesis y degradación de proteínas generalmente se mantiene en equilibrio. Sin embargo, en la situación caquética, el equilibrio se desplaza hacia la degradación de proteínas, lo que contribuye a una pérdida de peso, debilidad y fatiga que caracterizan a la caquexia por cáncer (Suzuki *et al.* 2013). En el desgaste muscular por caquexia los factores catabólicos se encuentran sobrerregulados, mientras que los factores anabólicos están infraregulados (Suzuki *et al.*, 2013).



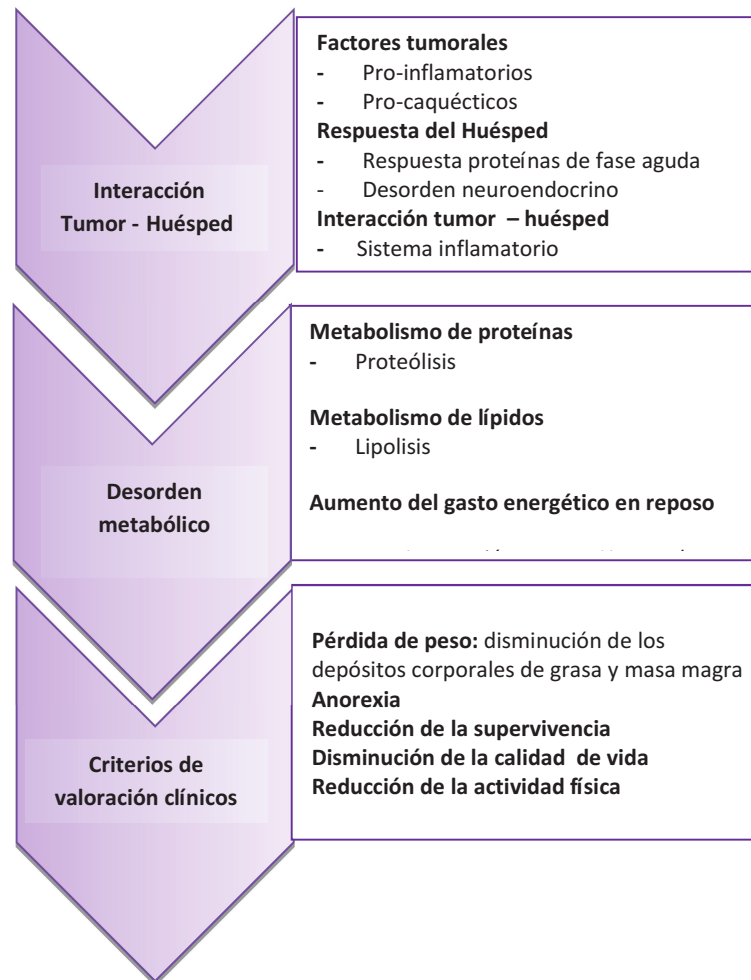
**Figura 3.** Músculo esquelético en caquexia cancerosa. Diferentes factores involucrados en el desgaste muscular. Adaptada de Suzuki *et al.*, 2013.

#### 1.2.6.4. Proteínas de Fase Aguda

La respuesta de fase aguda es una reacción sistémica a lesiones tisulares, típicamente observada durante la infección, inflamación, estrés, neoplasia o trauma. Se caracteriza, por un lado, por el aumento de la producción de una serie de proteínas plasmáticas derivadas de hepatocitos, conocidas como proteínas de fase aguda (PFA), que incluyen la Proteína C Reactiva (CRP), el Amiloide Sérico A (ASA), la  $\alpha$ 1-antitripsina, el fibrinógeno, y los factores del complemento B y C3; y por otro lado, el descenso en las concentraciones circulantes de albúmina y transferrina (Argilés *et al.* 2007, Cray *et al.* 2009).

Los mecanismos exactos que unen la caquexia, la respuesta de fase aguda y los resultados negativos sobre el paciente no se conoce exactamente. Puede ser que esta alteración sistémica en el metabolismo de la proteína dirija la proteólisis de músculo esquelético para alimentar la producción de las proteínas de fase aguda. Las PFA necesitan grandes cantidades de aminoácidos esenciales para ser sintetizadas: 2,6 g de proteína muscular deben catabolizarse para producir un gramo de fibrinógeno (Donohoe *et al.*, 2011 Argilés *et al.*, 2007).

En conclusión a lo comentado en los apartados anteriores la figura 4, resume los cambios fisiopatológicos y las consecuencias clínicas de la caquexia cancerosa (Donohoe *et al.*, 2011).



**Figura 4.** Cambios fisiopatológicos y consecuencias clínicas de la caquexia cancerosa. La interacción entre el tumor y el huésped desencadena una serie de acontecimientos que favorecen el desorden metabólico, manifestándose en diversas alteraciones clínicas. Extraída de Donohe *et al.*, 2011.

## 2. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DEL PACIENTE CAQUÉTICO

### 2.1. DIAGNÓSTICO DEL PACIENTE CAQUÉTICO

Durante mucho tiempo la caquexia ha sido reconocida como un punto clave en varios tipos de cáncer. Ya desde los tiempos de Hipócrates se hablaba de este síndrome como un efecto adverso de los pacientes oncológicos (Donohoe *et al.*,

2011 y Fearon *et al.*, 2013). Sin embargo, la caquexia cancerosa raramente es identificada, diagnosticada, y tratada (Evans *et al.*, 2008). Uno de los inconvenientes para identificar y diagnosticar la caquexia es la dificultad para separarla de los efectos y complicaciones ocasionados después de un tratamiento anticanceroso (Fearon *et al.*, 2013).

Los criterios diagnósticos para la caquexia (Evans *et al.*, 2008; Fearon *et al.*, 2011) son:

- Pérdida de peso superior al 5% en los últimos seis meses en presencia de enfermedad subyacente; o índice de masa corporal inferior al 20 y pérdida de peso superior al 2%; o índice de músculo esquelético apendicular consistente con sarcopenia (hombres inferior a 7,26 kg /m<sup>2</sup>; mujeres inferior a 5,45 kg/ m<sup>2</sup>) y cualquier grado de pérdida de peso superior al 2%.

Y la presencia de al menos, tres de los siguientes criterios:

- Fatiga
- Anorexia
- Bajo índice de masa grasa
- Alteraciones bioquímicas:
  - a) Incremento de la proteína C reactiva (superior a 5.0 mg/L)
  - b) Interleuquina 6 (superior a 4.0 pg/mL)
  - c) Anemia
  - d) Bajos niveles de albúmina en suero (inferior a 3.2 g/dL).

Los criterios diagnósticos se centran en la compleja interacción entre la reducción de la ingesta de alimentos y el metabolismo anormal, identificando la pérdida del músculo esquelético como clave en el deterioro funcional de los pacientes (Fearon *et al.*, 2011). El diagnóstico de la caquexia es importante ya que es un síndrome complejo, cuya importancia radica en su prevalencia y el efecto adverso en la calidad de vida y la supervivencia del paciente que la padece (Moses *et al.*, 2004; Bachmann *et al.*, 2008).

## 2.2. CLASIFICACIÓN DEL PACIENTE CAQUÉCTICO

Un paciente caquético es análogo a un coche acelerado sin gasolina (Stewart *et al.*, 2006). La característica clínica más destacada de la caquexia en adultos es la pérdida de peso, corregida por la retención de líquidos; y en los niños es la falta o retraso en el crecimiento, excluyendo los desórdenes endocrinos (Evans *et al.*, 2008). Sin embargo, para hacer una clasificación del paciente caquético hay que diferenciar la caquexia de la inanición, la pérdida de masa muscular relacionada con la edad, la depresión central, la mala absorción y el hipertiroidismo (Evans 2008).

Actualmente la caquexia asociada al cáncer se clasifica en tres fases de importancia clínica: 1. **Pre-caquexia**, 2. **Caquexia** y 3. **Caquexia refractaria** (Figura 5) (Feraron *et al.*, 2011).

La *pre-caquexia* se entiende como una etapa temprana de la caquexia, caracterizada por inflamación sistémica moderada y alteraciones metabólicas, y mínima pérdida de peso (Van der Meij *et al.* 2013). Muscaritoli *et al.*, (2010) la define con base en la presencia de cuatro criterios:

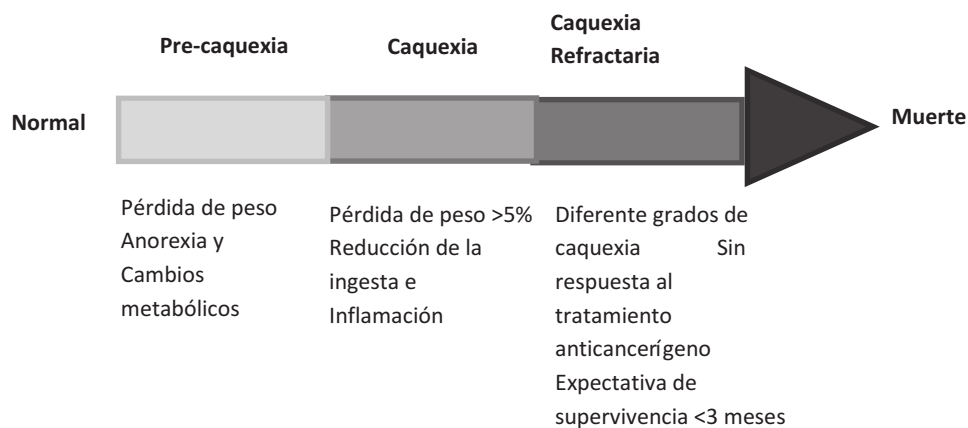
- Enfermedad crónica subyacente
- Pérdida de peso involuntaria menor o igual al 5% del peso corporal durante los últimos 6 meses
- Respuesta inflamatoria crónica o recurrente
- Anorexia o síntomas relacionados con la anorexia.

Un paciente se clasifica como **pre-caquético** cuando presenta síntomas clínicos y metabólicos precoces, como por ejemplo anorexia e intolerancia a la glucosa y una pérdida involuntaria de peso inferior al 5%.

Cuando hay una pérdida mayor al 5% en los últimos 6 meses, o un índice de masa corporal menor que 20 Kg/m<sup>2</sup> y se está experimentando una pérdida de peso de más del 2%, o una pérdida de peso del 2% pero que aún no ha entrado en la etapa refractaria, se clasifica como paciente **caquético**.

Por último un paciente padece **caquexia refractaria** en un estado de cáncer muy avanzado, en etapa pre-terminal, o que progresa rápidamente y que no responde a la terapia anticancerosa. Esta etapa se asocia con un catabolismo activo o a la presencia de factores que hacen que la intervención para la mejora de la pérdida de peso sea inapropiada. Esta última etapa se caracteriza por una condición física muy débil y una esperanza de vida de menos de tres meses.

No todos los pacientes pasan por las tres etapas. La progresión de una fase a otra, o clasificarse en una fase avanzada (caquexia o caquexia refractaria) sin haber pasado por una fase temprana (pre-caquexia), depende de factores tales como el grado de desarrollo de la enfermedad oncológica, la presencia de inflamación sistémica, una baja ingesta alimentaria y falta de respuesta a la terapia anticancerosa (Fearon *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Etapas de la caquexia. Extraída de Fearon *et al.*, 2011.

### 2.2.1. SARCOPENIA

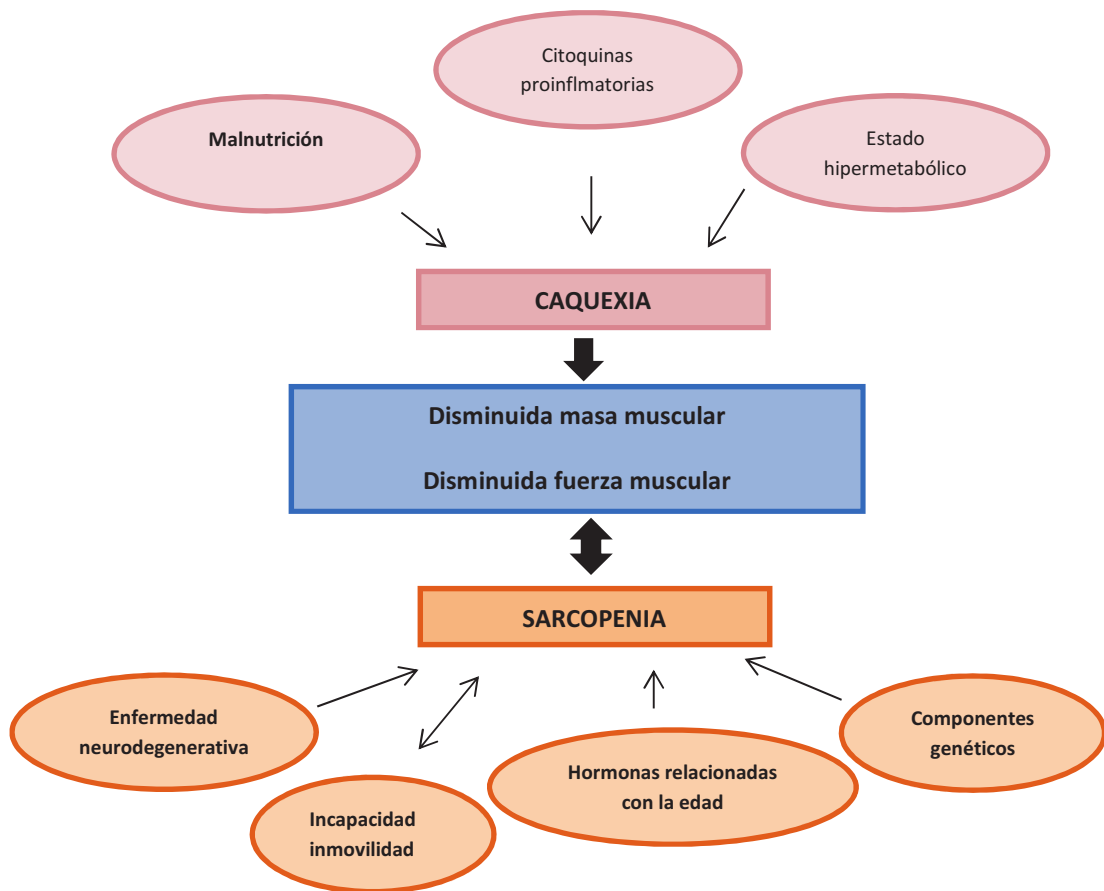
Al hablar de caquexia no podemos dejar de lado una condición que comparte características fisiopatológicas y clínicas, y que es de gran importancia en el momento de identificar y clasificar al paciente caquético en edades avanzadas: la **Sarcopenia**.

La **sarcopenia** es una condición que se padece principalmente en la vejez, que se caracteriza por pérdida de masa y fuerza muscular, aunque su desarrollo puede

estar asociado con condiciones que no se ven exclusivamente en personas de la tercera edad (Muscaritoli *et al.*, 2010). Algunos de los factores causantes de la sarcopenia incluyen cambios relacionados con la edad en la secreción de los tejidos o la sensibilidad a los factores hormonales, cambios en la ingesta de alimentos y el metabolismo proteico y la atrofia por desuso (Evans 1993, Baumgartner *et al.*, 1998, Muscaritoli *et al.*, 2010). A pesar de que la sarcopenia es un determinante principal del debilitamiento muscular en la vejez, la pérdida de fuerza y potencia del músculo es mayor que la de tamaño y volumen y, como consecuencia, hay un declive en la fuerza por unidad de área transversal muscular y en el pico de fuerza por unidad de volumen (Narici 2010).

No siempre es fácil diferenciar la caquexia de una condición sarcopénica. La pérdida de masa muscular es una característica de la caquexia, mientras que la mayoría de sujetos sarcopénicos no son caquéticos (Muscaritoli *et al.*, 2010). Los factores involucrados en la etiología de la sarcopenia son muy distintos a los observados en la caquexia cancerosa. Así, mientras en la primera juegan un papel muy relevante los cambios hormonales acompañados de alteraciones neurodegenerativas, así como la inactividad que acompaña el envejecimiento, en la caquexia tienen un papel más relevante las citoquinas pro-inflamatorias, el estado hipermetabólico y la malnutrición (Figura 6) (Argilés *et al.*, 2006).





**Figura 6.** Factores diferenciales entre sarcopenia y caquexia.

En este contexto, también cabe mencionar a los pacientes con **obesidad sarcopénica**. Normalmente la obesidad está asociada a una mayor supervivencia en pacientes oncológicos, lo que se debe a una reserva de energía superior, lo que lleva a la idea en oncología que los pacientes con sobrepeso y/o obesos están en un riesgo nutricional más bajo que los pacientes con peso normal; gracias al resultado en la diferencia entre sobrenutrición y desnutrición (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2007; McAuley y Blair 2011). Sin embargo, en el momento del diagnóstico del cáncer estos pacientes padecen un agotamiento muscular sustancial (Fearon *et al.*, 2013).

## **2.2.2. ESCALAS PROPUESTAS PARA LA CLASIFICACIÓN DE LA CAQUEXIA**

En los últimos tiempos, la comunidad científica y médica ha intentado desarrollar métodos de clasificación de la caquexia cancerosa. Y aunque en la actualidad existe la clasificación presentada en el apartado anterior, continua la búsqueda de marcadores idóneos y parámetros que ayuden a medir el grado de severidad de este síndrome. A continuación se presentan algunas propuestas para clasificar la caquexia cancerosa.

### **2.2.2.1. Propuesta de clasificación de la caquexia cancerosa según el grupo SCRINIO**

Bozzetti y Mariani en el año 2008 propusieron una definición diagnóstica de caquexia con un puntaje de severidad y se enfoca más en las características clínicas observables que sobre biomarcadores inflamatorios como factores patogénicos potenciales. Es una clasificación que se basa más en los síntomas clínicos. La escala divide a los pacientes en 4 etapas de caquexia basadas en las combinaciones de pérdida de peso corporal (<10%, pre-caquexia;  $\geq 10\%$ , caquexia) y la presencia o ausencia de al menos un síntoma de anorexia, fatiga o saciedad temprana (Bozzetti y Mariani 2008). Aunque el enfoque es pragmático y por tanto de fácil aplicación, los autores dejan de lado la evaluación de factores que han demostrado ser críticos para el diagnóstico de caquexia cancerosa (alteraciones bioquímicas, actividad física y calidad de vida) y por tanto su correcta clasificación.

### **2.2.2.2. Propuesta de clasificación de la caquexia cancerosa según Gabison y colaboradores**

En 2010 Gabison y colaboradores llevaron a cabo un estudio para desarrollar una herramienta que permitiera identificar pacientes con cáncer que sufren caquexia a

lo largo de todas las etapas de la enfermedad. Los parámetros que se tienen en cuenta son: porcentaje de pérdida de peso, *estatus* funcional, índice de masa corporal, presencia de estomatitis, edema y ascitis, niveles de albúmina, hemoglobina y creatinina, disfagia, pérdida del apetito, diarrea, náuseas y vómitos. El estudio tuvo algunas limitaciones como el número de pacientes incluidos (n=90) y los pocos tipos de cáncer. En este punto cabe destacar que el mayor porcentaje de pacientes (36%) padecían cáncer de mama, que, como se mencionó anteriormente, es una de las neoplasias donde la caquexia tiene una incidencia baja. Como resultado del estudio se observó que la escala propuesta era capaz de discriminar los síntomas que causan caquexia sin dar una clasificación cualitativa de la misma (Gabinson *et al.*, 2010).

#### **2.2.2.3. Propuesta de clasificación de la caquexia cancerosa según Blum y colaboradores**

Recientemente Blum y colaboradores (2014) han realizado un intento de validación de los criterios diagnósticos acordados en el *consensus* internacional y examinar un sistema de clasificación de 4 grupos, que contempla los dominios de evaluación específicos que se han propuesto: reservas, ingesta, catabolismo y función, así como la supervivencia. Sus resultados mostraron que los criterios de diagnóstico basados en la pérdida de peso y en el índice de masa corporal sirven para distinguir los pacientes caquéticos y no caquéticos y están asociados con la supervivencia. También se concluyó que para desarrollar los tratamientos caquéticos, un modelo de clasificación de 4 grupos necesita áreas adicionales para discriminar entre las distintas etapas de la caquexia (Blum *et al.*, 2014).

#### **2.2.2.4. Propuesta de diagnóstico en la clasificación de la caquexia según Jonhs y colaboradores**

Jonhs y colaboradores (2014) han presentado un trabajo en el que investigan los cambios morfológicos y de composición de las fibras musculares para estudiar las alteraciones en diversas vías que pueden explicar los cambios en las fibras; con el objetivo que estos cambios sean utilizados como criterio diagnóstico en la clasificación de la caquexia. La metodología utilizada fue, el cálculo de la pérdida de peso (clasificando los pacientes en 4 grupos), biopsias del recto abdominal, imágenes por tomografía axial computarizada, comparación de los niveles de RNA, DNA y proteínas entre los pacientes que fueron clasificados al inicio según su pérdida de peso y valoración de los niveles de CRP. Aunque la propuesta tiene un gran impacto, desde un punto de vista metodológico es muy difícil de implementar como técnica diagnóstica de rutina, dada la complejidad en la recogida de las muestras y técnicas utilizadas.

A pesar de las cuatro propuestas cualitativas descritas hasta el momento para clasificar la caquexia, en la actualidad no se cuenta con una escala que pueda identificar, diagnosticar y clasificar cuantitativamente la caquexia en pacientes con cáncer.

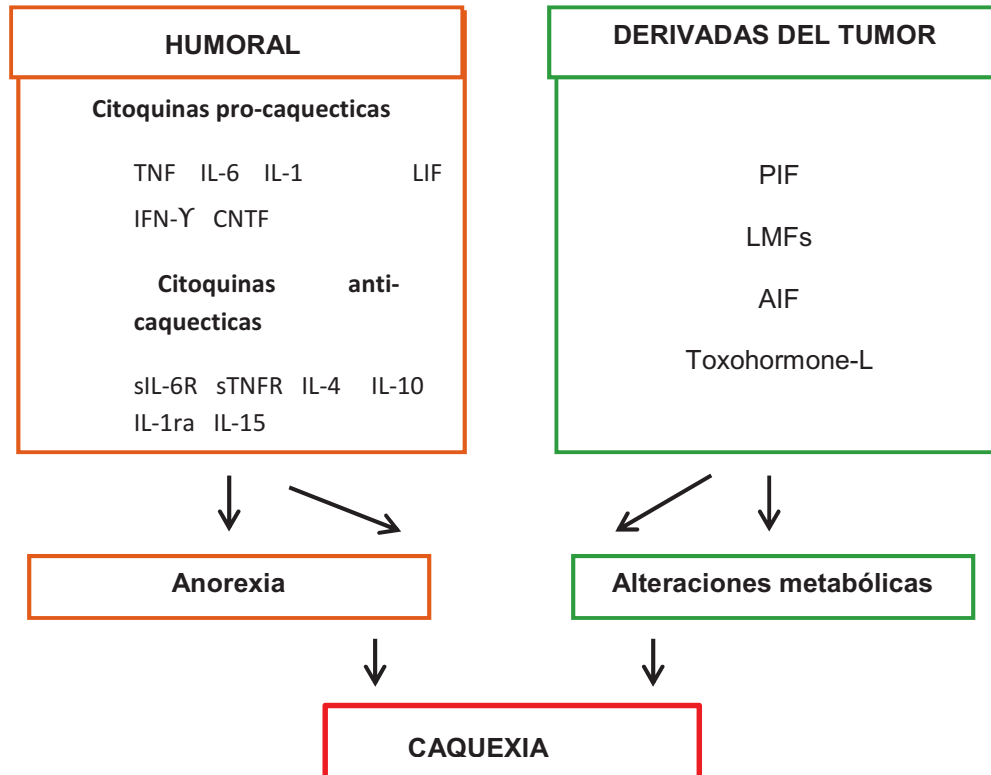
### **3. BIOMARCADORES Y TÉCNICAS INDICATIVAS DE CAQUEXIA**

Para tratar efectivamente los pacientes con caquexia, es importante entender los mecanismos que conducen al desgaste tisular progresivo. Varias rutas están involucradas y son muchos los factores que se encuentran asociados a este síndrome. Sin embargo, a pesar de las investigaciones en los últimos años, hay rutas que aún permanecen desconocidas (Tisdale 2009; Ebner *et al.*, 2014).

Desde la década de los 40, los investigadores han intentado aislar sustancias de los tejidos neoplásicos que podrían estar implicados en el proceso de la caquexia. El primer trabajo lo llevó a cabo un grupo de investigación japonés, que aisló una fracción química derivada de 14 tipos diferentes de tumores humanos gástricos y colorectales, la cual disminuyó la actividad de la catalasa hepática en ratones, mientras que esta misma fracción obtenida de tejidos normales no alteró la función de la enzima (Nakahara y Fukuoka, 1950). En estudios posteriores se demostró que la bautizada como “toxohormona” estaba constituida por pequeños polipéptidos, y también fue aislada por otros grupos de investigación (Nakahara y Fukuoka, 1952; Yunoki y Griffin 1961). Otra fracción de la “toxohormona” obtenida del carcinoma Walker 256 en rata, inhibió la incorporación de aminoácido en la fracción miofibrilar de la proteína muscular (Goodlad y Raymond 1973). Sin embargo, no fue hasta 1985 que una citoquina particular se asoció a la caquexia y se denominó “caquectina”. Esta citoquina fue capaz de suprimir la actividad de la LPL en cultivos de pre-adipocitos, que representa una de las principales alteraciones bioquímicas asociada con la caquexia (Beutler *et al.*, 1985). Posteriormente, se observó que la caquectina era idéntica al TNF que causaba necrosis hemorrágica de tumores en animales tratados con la endotoxina (Beutler y Cerami, 1986).

Después de muchos años de investigación, hoy por hoy se sabe que la interacción entre el huésped y el tumor es la clave para desarrollar la caquexia a través de las sustancias producidas tanto por las células del huésped como por las células cancerígenas, tal como se muestra en la Figura 7 (Argilés *et al.*, 2003). La citoquinas y los factores como el LMF, AIS y PIF están involucrados en el proceso caquético (Tisdale 2002; Argilés *et al.*, 2005). Además, recientemente se ha postulado que otros factores tales como la edad, los niveles de actividad física y

los mecanismos específicos de metabolismo proteico en los pacientes de cáncer pueden también tener un impacto significativo (Skipworth *et al.*, 2007).



**Figura 7.** Mediadores en cáncer: Factores derivados tanto del tumor como del hospedero están involucrados en la mediación de la anorexia y cambios metabólicos que son característicos del estado caquético. Extraída de Argilés *et al.*, 2003

### 3.1. BIOMARCADORES

El síndrome de caquexia cancerosa resulta de una interacción compleja de mecanismos que implican: el inicio de una respuesta inflamatoria por parte del huésped mediada por citoquinas proinflamatorias derivadas del tumor, inducción de la respuesta de fase aguda, alteraciones en el metabolismo de las proteínas y las grasas y activación de las vías neuroendocrinas que pueden conducir a un hipermetabolismo y un aumento del catabolismo (Tan *et al.*, 2008). En los pacientes con caquexia cancerosa los factores de riesgo nutricionales han sido

asociados con un grado alto de mortalidad, estos factores incluyen la pérdida de peso, los niveles de albúmina y la anorexia (Vigano *et al.*, 2004). Recientemente las citoquinas proinflamatorias han sido postuladas como biomarcadores ya que cumplen un papel importante en el desarrollo de la caquexia (Laviano *et al.*, 2000; Jatoi *et al.*, 2001; Vigano *et al.*, 2000; Garcia *et al.*, 2005).

A continuación se describen diferentes moléculas que han sido relacionadas con la caquexia cancerosa y podrían llegar a ser utilizadas como biomarcadores.

### 3.1.1. EXCRECIÓN DE CREATININA EN 24 HORAS

El contenido de creatinina en orina recogida durante 24 horas podría ser un buen biomarcador indicador del grado de degradación muscular ya que se trata de un método no invasivo y que el contenido de creatinina en orina es proporcional al contenido de creatina en el músculo (Heymsfield *et al.*, 1983). La creatina se encuentra casi en su totalidad en el músculo (esquelético y liso) y la conversión de creatina a creatinina es irreversible y con una tasa diaria constante. Además en una dieta libre de creatina, la creatina total y la concentración de creatina por kg de músculo permanece constante y la excreción renal de la creatinina ocurre a una velocidad constante (Heymsfield *et al.*, 1983). A pesar de estas características que indican que puede ser un buen biomarcador, esta medición tiene inconvenientes como presentar una alta variación, ser sensible a la dieta (ingesta de carne) y que la obtención de un muestreo de 24 horas de orina puede ser logísticamente difícil (Wang *et al.*, 1996; Hansen *et al.*, 2009).

### 3.1.2. 3-METILHISTIDINA

Otro biomarcador de la degradación de proteína muscular que se ha usado es la **3-metilhistidina** en plasma u orina. La miosina, y posiblemente, la actina, está 3-metilada en el músculo y el aminoácido resultante (3-metilhistidina) no se recicla en

el metabolismo intermediario o en la síntesis proteica, lo cual lo hace, en principio, un biomarcador ideal, ya que representa la degradación de la proteína total basada en su biología. Sin embargo, su validez se ha cuestionado recientemente ya que se ha visto que no responde a las intervenciones conocidas por otras medidas para incrementar la degradación proteica (Hansen *et al.*, 2009).

### **3.1.3. FACTOR DE DIFERENCIACIÓN DE CRECIMIENTO 15**

Estudios recientes mostraron que el Factor de Diferenciación de Crecimiento 15 (GDF-15), perteneciente a la súperfamilia del TGF- $\beta$ , juega un papel importante en la regulación de las vías inflamatorias y apoptóticas durante el proceso de caquexia. Induce pérdida de peso muscular y grasa, lo que lo convierte en una diana prometedora para futuras intervenciones terapéuticas (Lerner *et al.*, 2013).

### **3.1.4. PROPÉPTIDO N-TERMINAL DEL PROCOLÁGENO DE TIPO III (P3NP)**

El colágeno de tipo 3 es un subtipo de colágeno utilizado en músculo esquelético; se sintetiza a partir de la molécula de procolágeno III a través de la rotura de las porciones N- y C- terminales. Durante su síntesis, el propéptido N-terminal (P3NP) se rompe y se libera a la circulación en proporción directa a la síntesis de colágeno de tipo III. El P3NP resultante de la rotura proteolítica en la síntesis de músculo esquelético puede medirse en sangre, y dado que es un producto de rutas sintéticas, el P3NP refleja el remodelamiento del tejido. Los cambios en los niveles de P3NP en suero se han identificado como predictores de cambios en la masa corporal magra y en la fuerza (Fragala *et al.*, 2013).

### **3.1.5. FRAGMENTO DE AGRINA C-TERMINAL (CAF)**

En el músculo sano las uniones neuromusculares son mantenidas por la proteína derivada del nervio agrina. Durante el remodelamiento muscular, dicha proteína se



rompe por la enzima neurotripsina para crear un fragmento de agrina C-terminal de 22KD (CAF). Al romper e inactivar la agrina, la neurotripsina regula la fuerza de la comunicación entre el nervio y las células musculares. Recientes descubrimientos han mostrado que la excesiva rotura de agrina por la neurotripsina para producir CAF conduce a una desintegración funcional en la unión neuromuscular y puede, como consecuencia, causar sarcopenia. Durante la rotura de la agrina, la CAF se libera a la sangre en niveles proporcionales a la actividad incrementada de la Neurotripsina y a la fuerza reducida de la unión neuromuscular. Los efectos que causa son proporcionales a los niveles observados en sangre, los niveles pueden ser detectados en el suero humano y se pueden cuantificar por ELISA. Estas concentraciones están inversamente relacionadas con la masa magra apendicular en hombre, donde menos masa apendicular se asocia con un nivel alto de CAF (Fragala *et al.*, 2013).

### 3.1.6. VALORACIÓN DE ÓXIDO DE DEUTERIO (D<sub>2</sub>O)

La valoración de D<sub>2</sub>O por cromatografía de gases o espectrometría de masas, se utiliza para medir el anabolismo muscular. Fue presentado por Wilkinson y colaboradores (2013) en un estudio realizado con biopsias de músculo *vastus lateralis* procedentes de hombres jóvenes, que practicaban un ejercicio de resistencia con un extensor de rodilla en una pierna. En la pierna en reposo (sin ejercicio), se evidenció una tasa disminuida de síntesis de proteína miofibrilar sarcoplasmica y de colágeno, en comparación con la pierna que estaba ejercitada. La medición de D<sub>2</sub>O es un enfoque válido para cuantificar el anabolismo muscular, antes de que cualquier cambio en la masa muscular sea detectado, pero es un método invasivo (Wilkinson *et al.*, 2013; Walker *et al.*, 2013).

### 3.1.7. DILUCIÓN DE D3-CREATINA

La dilución de creatina se utiliza para la determinación del tamaño de la reserva total de creatina en el cuerpo y la masa muscular esquelética. El método consiste en la administración oral de un isótopo (no radioactivo) de creatina (30mg/D3-creatina). Ésta entra a la circulación, es transportada al músculo esquelético y allí es diluida en la reserva de creatina. La creatina se convierte en creatinina y es excretada en la orina. De esta manera, la masa muscular puede determinarse a partir del enriquecimiento de D3-creatina en una sola muestra de orina (Stimpson *et al.*, 2013).

### 3.1.8. ESTRÉS OXIDATIVO

Hay una gran evidencia que sugiere que el estrés oxidativo está asociado con enfermedades crónicas. Se ha postulado que un incremento en especies reactivas de oxígeno (ROS), conduce a las células musculares a un estado catabólico, que a su vez induce al desgaste muscular (Lenk *et al.*, 2010; Buck y Chojkier 1996; Laviano *et al.*, 2007). En caquexia, las ROS están consideradas como elementos cruciales para el catabolismo de la proteína muscular a través de la estimulación de la vía proteasas de ubiquitina específicas (UPS). Los productos de reacción se miden como marcadores indirectos del estrés oxidativo, así, durante la caquexia el malondialdehído (MDA) se considera uno de estos marcadores indirectos (Lenk *et al.*, 2010).

Además, la caquexia cancerosa parece estar mediada por un estrés secundario nitrosativo incrementado, que da como resultado la formación incrementada de óxido nítrico. De hecho, la nitración de los residuos de tirosina está marcadamente aumentada en músculos de ratas portadoras de tumores con caquexia avanzada debido a los bajos niveles de enzimas antioxidantes (Barreiro *et al.*, 2005; Mantovani *et al.*, 2001).

### 3.1.9. AGUA INTRACELULAR

Se ha postulado que la medida de agua intracelular puede usarse de manera similar a la medida de la fuerza muscular (fuerza de la mano). En un estudio con ancianos se encontró que únicamente el agua intracelular disminuyó con la edad (comparado con el componente extracelular); esta valoración se realizó por espectroscopía de impedancia bioeléctrica segmental (Yamada y Kimura 2014).

### 3.1.10. ALBÚMINA

La albúmina es uno de los parámetros de laboratorio usado con mayor frecuencia en la práctica clínica. Posee una vida media de aproximadamente 21 días siendo rangos inferiores a 35 g/dL considerados como hipoalbuminemia. El descenso de los niveles de esta proteína frecuentemente ha sido utilizado para estimar desnutrición (Delmore 1997), y en estudios relacionados con caquexia (Mantovani *et al.*, 2010; Solheim *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2012; Fujiwara *et al.*, 2014) pero presenta el inconveniente que su concentración plasmática se ve afectada por otras condiciones subyacentes (Delmore 1997). En estados inflamatorios sistémicos, la respuesta inflamatoria de fase aguda produce una baja la concentración sérica de albúmina (Ellegar y Bosaeus 2008), no reflejando un estado de malnutrición *per se*, sino más bien una respuesta fisiológica al daño (Fuhrman *et al.*, 2004). En pacientes con cáncer que se encuentran en un estado de inflamación sistémica, los niveles plasmáticos de albúmina son más bajos que en pacientes sin inflamación, por lo que se estima que esta proteína sería más un biomarcador de inflamación que de desnutrición (Ellegar y Bosaeus 2008). De igual manera estudios en pacientes con cáncer gastroesofágico han demostrado que la hipoalbuminemia es un factor predictivo de la baja respuesta al tratamiento anticanceroso (Di Fiore *et al.*, 2008; Onate-Ocana *et al.*, 2007a; Onate-Ocana *et al.*, 2007b; Leclaire *et al.*, 2006; Sanz *et al.*, 2006);

### 3.1.11. PRE-ALBÚMINA

La pre-albúmina al igual que la albúmina es una proteína que se utiliza para evaluar el mal estado nutricional en pacientes (Blacburn *et al.*, 1997; Valandingham *et al.*, 1982). En etapas avanzadas del cáncer el mal estado nutricional está asociado con caquexia y ascitis por desnutrición (Asher *et al.*, 2012). La pre-albúmina a diferencia de la albúmina, presenta una vida media más corta, (aproximadamente 2 días), lo cual lo hace un buen indicador de desnutrición, ya que refleja cambios diarios en el estado del paciente (Pacelli *et al.*, 2008), pero también puede ser afectada por factores no nutricionales, ya que su síntesis se ve disminuida a nivel hepático en estados de inflamación sistémica (Ellegar y Bosaeus 2008). El papel de esta proteína en la evaluación nutricional también ha sido estudiado en el contexto del desarrollo de complicaciones postquirúrgicas en cáncer de ovario, donde se ha visto que los pacientes que presentan niveles bajos de pre-albúmina preoperatorios desarrollan, después de la cirugía, más complicaciones, principalmente infecciosas (Read *et al.*, 2006). En estudios realizados por Takafumi y colaboradores en 2014 se demostró que los niveles de pre-albumina en pacientes con cáncer de ovario en estadio IV disminuían significativamente.

### 3.1.12. RECUENTO DE LINFOCITOS

El recuento de linfocitos también ha sido usado como medida de evaluación, dado que su disminución, entre otras causas, está asociado a pérdida de peso y malnutrición (Delmore 1997), pero en el caso de pacientes oncológicos la cantidad total de linfocitos puede verse afectada, entre otras causas, por la patología de base y el uso de fármacos anticancerosos (Valenzuela-Landaeta *et al.*, 2012).

### **3.1.13. BIOMARCADORES GENÉTICOS**

La aparición impredecible de la caquexia es la base de la teoría de que puede haber una predisposición genética a desarrollar este síndrome (Solheim *et al.*, 2011).

Recientes estudios con tecnología transgénica y genes polimórficos sugieren que los mediadores inflamatorios, y los polimorfismos de genes de citoquinas pueden jugar un papel importante en el desarrollo de la caquexia (Dianliang 2009; Tan y Fearon 2010). Tan y colaboradores en 2011 sugieren que la variación genética conocida en los genes que regulan la respuesta inflamatoria y las alteraciones en el metabolismo de las proteínas y grasas, sugiere que estos genes pueden tener un potencial como biomarcadores de predicción del desarrollo de caquexia. Realizaron un estudio para encontrar polimorfismos genéticos con función o significado clínico relacionado con el desarrollo de la caquexia cancerosa y así intentar identificar un polimorfismo que pueda ser un marcador potencial. Identificaron 42 polimorfismos de los cuales 13 han demostrado tener más de un efecto en las características clínicas asociadas a la caquexia cancerosa (inflamación, cambios en la masa magra y grasa y supervivencia global). Dentro de estos 13 cabe destacar los polimorfismos en los genes de TNF, IL-1B, IL-6 y la lipoproteína lipasa (LPL). El polimorfismo en el gen de IL-1B había sido estudiado en 2007 por Zhang y colaboradores en pacientes con cáncer gástrico, en los que la presencia del alelo IL-1B+3954 se asoció con una alta incidencia en caquexia (Zhang *et al.*, 2007).

### **3.1.14. CITOQUINAS: BIOMARCADORES EN EL PROCESO DE LA CAQUEXIA CANCEROSA**

A lo largo de esta introducción se han ido mencionando diferentes funciones y procesos en los cuales las citoquinas están involucradas en el síndrome

caquéctico. En este apartado incluyo las citoquinas como biomarcadores y hago mención a algunas funciones no nombradas en los apartados anteriores.

Como se mencionó anteriormente (ver apartado 1.2.5), la producción de citoquinas pro-inflamatorias puede dirigir el proceso de caquexia. El conocimiento del efecto del incremento en los niveles de las citoquinas pro-inflamatorias en caquexia, proviene de estudios en animales y con justificación en trabajos con seres humanos (Subahs *et al.*, 2011). Modelos tumorales en roedores muestran un incremento en la producción de citoquinas sistémicas inflamatorias, lo cual se correlaciona con el aumento de la pérdida de peso (Matthys *et al.*, 1991; Dohone 2011).

Las citoquinas pro-inflamatorias de interés como biomarcadores incluyen el TNF- $\alpha$ , IL-6 y IL-1 principalmente y en segunda medida IFN- $\gamma$ .

#### **3.1.14.1. TNF- $\alpha$**

También denominado caquéctina, es producido por macrófagos y células natural killer (*T Herper cell*) (Janeway y Travers 1997). En caquexia, en algunas ocasiones las concentraciones de esta citoquina aumentan, y se ha demostrado que este incremento hace disminuir la ingesta alimentaria y el peso corporal e incrementa la temperatura corporal. Además, las síntesis de glucógeno, lípidos y proteínas disminuyen, mientras que la glucogénesis, la proteólisis y la lipólisis aumentan a medida que ocurre la degradación, los carbohidratos, los lípidos y las proteínas son sintetizadas a una menor velocidad. Además el TNF- $\alpha$  puede inducir la producción de IL-1 (Janeway y Travers 1997; McDevitt *et al.*, 1995; De Blaauw *et al.*, 1997; Gambardella *et al.*, 1997). En un estudio con ratas portadoras del hepatoma Yoshida AH-130, se observó una mayor degradación de proteínas en el músculo *Gastrocnemius*, el corazón y el hígado. Cuando a estos animales se les administró anti-TNF- $\alpha$ , se observó una disminución en la degradación de

proteínas, lo que sugiere la participación del TNF-  $\alpha$  en el proceso de degradación (Costelli *et al.*, 1993). Otro estudio realizado en ratones portadores del carcinoma pulmonar de Lewis demostró la relación que tiene el TNF-  $\alpha$  en la caquexia cancerosa. En este caso se utilizaron ratones deficientes para el receptor tipo I del TNF-  $\alpha$  y ratones salvajes para el receptor. Al comparar la pérdida de músculo y grasa entre los dos grupos, se observó que los ratones de tipo salvaje la pérdida era mayor. En los ratones de tipo salvaje también se observó un aumento en la tasa de degradación de proteínas, acompañada por la activación de la vía ubiquitina-proteasoma (Llovera *et al.*, 1998). En otro estudio con otro modelo experimental en ratones de caquexia, el adenocarcinoma de colon C26, se observó que los ratones portadores del tumor desarrollaron caquexia a los nueve días después de la inoculación de las células tumorales que se asoció a un aumento significativo en los niveles de TNF-  $\alpha$  (Chen y Qui 2011). Los estudios realizados con humanos también muestran un aumento en los valores del TNF-  $\alpha$  en pacientes con cáncer. En un estudio en donde se valoró la pérdida de masa muscular debida al cáncer, se observó que el músculo esquelético de pacientes caquéticos exhibía un aumento en la expresión y actividad de la señalización del TNF-  $\alpha$ , en los niveles de mRNA del TNF- $\alpha$ -, la activación del receptor TNF (TNFR) 1 y los niveles de TNF-  $\alpha$  asociado a TNFR1 (Ramamoorthy *et al.*, 2009). En otro estudio realizado en el año 2007 con pacientes con cáncer de pulmón, se observó un aumento significativo en los niveles de TNF-  $\alpha$  en suero de pacientes caquéticos en comparación con los niveles de los pacientes no caquéticos (Fortunati *et al.*, 2009).

#### **3.1.14.2. IL-6**

Por otro lado, la **IL-6** participa en diversas funciones en los mecanismos de defensa, a través de la regulación de la respuesta inmune (Yanagawa *et al.*, 1995). Al igual que el TNF- $\alpha$  y la IL-1, los niveles de IL-6 incrementan en pacientes con

caquexia cancerosa (Yeh y Schuster 1999). La IL-6 incrementa la síntesis de proteína hepática, induciendo la producción de proteínas de fase aguda, la lipólisis y síntesis de ácidos grasos. De igual manera, la IL-6 incrementa la degradación de la proteína muscular al activar las vías proteolíticas no lisosomal (proteasoma) y lisosomal (catepsinas) (Yee y Schuster 1999; McDevitt *et al.*, 1995; De Blaauw *et al.*, 1997; Janeway 1997; Gambardella *et al.*, 1997; Laviano *et al.*, 1996; Yanagawa *et al.*, 1995). En modelos experimentales de caquexia, como en el caso del adenocarcinoma de colon C26, se observó que el desarrollo de la caquexia va unido al aumento de la IL-6 ((Chen y Qui 2011). En un estudio realizado con muestras de pacientes caquéticos y no caquéticos con adenocarcinoma ductal pancreático, se observó en pacientes caquéticos sobreexpresión de los niveles de IL-6 en las muestras de páncreas y en suero (Martignoni *et al.*, 2005). De igual manera, la IL-6 es una de las citoquinas más ampliamente estudiadas por su potencial de inducir fatiga en los pacientes con cáncer. En un estudio realizado en 2008 por Inagaki y colaboradores en pacientes con cáncer, se observó un aumento de los niveles de IL-6 en los pacientes que presentaban fatiga clínica en comparación de aquellos que no la presentaban. En estudios realizados en pacientes con cáncer colorectal metastásico también se observó la relación de los niveles altos de IL-6 con la fatiga y la pérdida de apetito (Kurzrock 2001; Rich *et al.*, 2005).

Yataka y colaboradores en 2014 estudiaron el comportamiento de algunos biomarcadores de caquexia en pacientes con cáncer pancreático. Los resultados mostraron un aumento del doble en los niveles de IL-6 y TNF-  $\alpha$  en los pacientes con caquexia (IL-6: Pacientes con caquexia: 13.8 pg/ml, pacientes sin caquexia: 6.8 pg/ml,  $p=0.35$ ; TNF-  $\alpha$ : Pacientes con caquexia: 7.1 pg/ml, pacientes sin caquexia: 3.3 pg/ml,  $p=0.27$ ) (Yataka *et al.* 2014). Otro estudio realizado por Kim y colaboradores 2012 en pacientes con cáncer de pulmón, demostró que los pacientes que experimentaban pérdida de peso mostraron un aumento de los



niveles de IL-6 (Kim *et al.* 2012). Estos resultados confirman una vez más la influencia de estas citoquinas pro-inflamatorias en el síndrome caquético.

#### **3.1.14.3. IL-1**

Por su parte, la IL-1 es una citoquina producida por los leucocitos, y que estimula la producción de IL-6 (Janeway 1997). Las concentraciones de IL-1 incrementan en el estado caquético y causan efectos similares a los observados con el TNF- $\alpha$ . Diversos estudios han demostrado que la IL-1 induce la anorexia, causando por tanto pérdida de peso, ya que la IL-1 incrementa las concentraciones de triptófano en el plasma, lo que se asocia con la inducción de la anorexia; eventualmente las concentraciones de triptófano también se encuentran aumentadas en líquido cefalorraquídeo, lo que resulta en un incremento en la producción de serotonina, lo cual induce anorexia (Laviano *et al.*, 1996; Picton 1998). En un estudio realizado por Scheede-Bergdahl y colaboradores con pacientes afectados por un cáncer avanzado, demostró la asociación de la IL-1 $\beta$  con la pérdida de peso, la sarcopenia, astenia y pérdida de apetito, concluyéndose así que la IL-1 $\beta$  es una citoquina que refleja las características más destacadas de la caquexia cancerosa (Scheede-Bergdahl *et al.*, 2012). De igual manera se demostró la asociación de los niveles altos de IL-1 $\beta$  y TNF-  $\alpha$  con la hospitalización.

#### **3.1.14.4. IFN- $\gamma$**

El IFN- $\gamma$  es producido por células T y *Natural Killer* activadas y tiene actividades biológicas que se solapan con las del TNF- $\alpha$ . Se ha sugerido que el IFN- $\gamma$  juega un papel en la caquexia cancerosa a partir de estudios mediante su neutralización con anticuerpos para atenuar la pérdida de peso en modelos experimentales tumorales (Tisdale 2009). Matthys y colaboradores en 1991, consiguieron revertir en ratones

el síndrome de desgaste asociado al crecimiento del carcinoma pulmonar de Lewis, usando un anticuerpo monoclonal contra el IFN- $\gamma$ , indicando así que la producción endógena de IFN- $\gamma$  tiene lugar en ratones portadores del tumor y está implicada en algunos de los cambios metabólicos característicos de la caquexia cancerosa (Matthys *et al.*, 1991). Otros estudios han demostrado que niveles altos en suero de IL-6 y bajos de IFN- $\gamma$  se relacionan con una supervivencia más corta en pacientes con cáncer de pulmón (Martin *et al.*, 1999). Un estudio realizado por Cannon y colaboradores con modelos animales de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello usando líneas celulares procedentes de tumores humanos, demostró que los niveles de IFN- $\gamma$ , IL-1  $\alpha$  e IL-1 $\beta$  en los animales portadores del tumor JHU022 de cabeza y cuello que desarrollaron caquexia fue superior al de los animales sin caquexia (Cannon *et al.*, 2007).

### **3.1.15. PROTEINA C REACTIVA (CRP)**

La determinación de los niveles plasmáticos de la CRP es el método más predominante para evaluar la magnitud de la respuesta inflamatoria sistémica (Gabay y Kushner 1999). Las concentraciones elevadas de CRP en el momento de admisión al hospital son indicadores de un incrementado riesgo de mortalidad: hay un incremento de 22,8 veces la mortalidad en pacientes con niveles de CRP muy elevados (superior a 80mg/L) (Marsik *et al.*, 2008). Diversos estudios han demostrado que un nivel elevado de CRP en el momento del diagnóstico es un mal pronóstico en pacientes con tumores pancreáticos, de pulmón, melanomas, mieloma múltiple, linfoma, de ovario, renal y gastrointestinal (Scott *et al.*, 2003; Deans *et al.*, 2009). Un estudio realizado por Kemik y colaboradores con pacientes de cáncer de colon demostró la asociación de los niveles altos de CRP con caquexia cancerosa (Kemik *et al.*, 2010). Estos estudios avalan la utilización de la

CRP como un predictor en el estudio de la respuesta inflamatoria (Gockel *et al.*, 2006; Nozoe *et al.*, 2001) y su relación con la pérdida de peso (Krzystek-Korpacka *et al.*, 2007)

### **3.2. TÉCNICAS INDICATIVAS DE CAQUEXIA**

Existen diversidad de técnicas utilizadas en la práctica clínica permiten caracterizar el desgaste del músculo esquelético. Algunas de ellas, como es el caso de la tomografía computarizada, también permiten observar si hay distribución alterada de la grasa corporal, acumulación de tejido adiposo visceral y acumulación patológica de lípidos en los tejidos (Nedergaard 2013). Las técnicas más utilizadas en la clínica son:

#### **3.2.1. ÁREA MUSCULAR DE LA PARTE CIRCULAR DEL BRAZO POR ANTROPOMETRÍA**

Las medidas antropométricas hacen referencia a la medición mecánica de las proporciones corporales. Aunque esta medición es fácil de realizar no está bien validada en poblaciones enfermas y requiere habilidad manual. El valor de referencia para el área muscular de la parte circular del brazo para determinar la existencia de caquexia (es en hombres menor a 32 cm<sup>2</sup> y en mujeres menor a 18 cm<sup>2</sup> (Nedergaard *et al.*, 2013; Fearon *et al.*, 2011; Fearon *et al.*, 2013).

#### **3.2.2. ÍNDICE APENDICULAR DE MÚSCULO ESQUELÉTICO DETERMINADO POR ABSORSIOMETRÍA ENERGÉTICA DUAL DE RAYOS X (DEXA)**

En la técnica de DEXA la masa muscular es medida indirectamente a través de la absorción de rayos X. Es una técnica fácil de utilizar, aunque presenta inconvenientes en sujetos con edema. La técnica se basa en medir la transmisión de un haz de fotones de rayos X con dos picos de energía a través del cuerpo del

paciente (Larkin *et al.*, 2008). Los valores de referencia son: hombre inferior a 7,26 kg/m<sup>2</sup> mujeres inferior a 5,45 kg/m<sup>2</sup> (Nedergaard *et al.*, 2013; Fearon *et al.*, 2011; Fearon *et al.*, 2013). Los valores obtenidos por fuera de los rangos de referencia pueden ser indicativos de una situación patológica.

### **3.2.3. ÍNDICE DE MASA CORPORAL TOTAL DETERMINADO POR IMPEDANCIA BIOELÉCTRICA**

El índice de masa corporal total libre de grasa sin hueso es una medida indirecta del músculo a través de la impedancia eléctrica. Es fácil de utilizar, pero de la misma manera que el DEXA, puede presentar problemas en pacientes con edema y su utilización está pobremente validada en poblaciones frágiles (Nedergaard *et al.*, 2013). Esta técnica se fundamenta en la oposición de las células, los tejidos o líquidos corporales al paso de una corriente eléctrica (Ellis 2000). La masa libre de grasa contiene la mayoría de fluidos y electrolitos corporales, siendo un buen conductor eléctrico (baja impedancia u oposición), mientras que la masa magra actúa como un aislante (alta impedancia). El valor de la impedancia (medida en ohm) proporciona una estimación directa del agua corporal total y permite estimar indirectamente la masa libre de grasa y la masa magra (Quang *et al.*, 2007; Kuriyan *et al.*, 2008). Los valores de referencia para el índice de masa corporal son: hombres menor a 14,6Kg/m<sup>2</sup>; mujeres 11,4kg/m<sup>2</sup> (Nedergaard *et al.*, 2013; Fearon *et al.*, 2011; Fearon *et al.*, 2013). De igual manera que el apartado anterior, los valores obtenidos por fuera de los rangos de referencia pueden ser indicativos de una situación patológica.

### 3.2.4. IDENTIFICACIÓN DE DESGASTE MUSCULAR A TRAVÉS DE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA (CT) Y RESONANCIA MAGNÉTICA (RMI)

La CT y RMI miden el volumen muscular con rayos X o escáner RMI 3D. Son el máximo estándar para la medición de desgaste muscular, con una fiabilidad alta. Las diferencias entre CT y RMI se observan en la Tabla 2. Las desventajas de estas técnicas reside en que son operacionalmente complejas y costosas (Nedergaard *et al.*, 2013; Fearon *et al.*, 2011; Fearon *et al.*, 2013). El análisis de imágenes obtenidas por CT y MRI revela desgaste muscular en pacientes de quienes clínicamente no se sospecharía que tuvieran ningún déficit en la masa o composición corporal. También son de gran utilidad en condiciones donde la pérdida de peso, y masas muscular y grasa se encuentran enmascaradas, como en el caso de pacientes con obesidad sarcopénica y aquellos en que la ganancia de peso es en forma de ascitis o edema periférico (Fearon *et al.*, 2013). Los valores de referencia para el índice de músculo esquelético lumbar determinado por escáner de imagen oncológica (CT y MR) son: hombre inferior a  $55 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ , mujeres inferior a  $39 \text{ cm}^2/\text{m}^2$  (Nedergaard *et al.*, 2013; Fearon *et al.*, 2011; Fearon *et al.*, 2013). Al igual que en los dos apartados anteriores los valores por fuera del rango de referencia pueden ser indicativos de una situación patológica.

### 3.2.5. DINAMOMETRÍA MANUAL

La dinamometría manual (medición de la fuerza de la mano) es un método validado para la evaluación nutricional; es útil, barato, simple y rápido, y permite identificar a aquellos pacientes que están en mayor riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas con la malnutrición o inanición. La dinamometría tiene mayor sensibilidad, especificidad y valores predictivos que el índice de pronóstico nutricional (NPI) para la detección de complicaciones y mortalidad entre pacientes sometidos a cirugías mayores debido a tumores abdominales (Luna-Heredia *et al.*,

2005). La medida de la fuerza de la mano es un buen sustituto de la fuerza muscular generalizada, ya que se correlaciona con la fuerza de las extremidades inferiores en la población de pacientes adultos y sanos (Rantanen *et al.*, 1994).

**Tabla 2.** Diferencias entre Tomografía computarizada (CT) y Resonancia Magnética (RMI).

CT	RMI
Utiliza Rayos X	No utiliza radiación, se basa en campos magnéticos y ondas de radio
Es más rápida de realizar	Es más lenta de realizar: requiere entre 30 minutos y 1 hora
Los equipos para realizarla son más económicos	Los equipos para realizarla son caros
El paciente puede llevar marcapasos u objetos metálicos	El paciente no se puede llevar objetos metálicos
Tiene menor resolución espacial	Tiene mayor resolución espacial
Tiene buena sensibilidad para detectar calcificaciones, tumores meníngeos y hemorragias agudas, parenquimatosas o subaracnoideas	Tiene mejor sensibilidad para distinguir entre materia gris y blanca. Técnica mejor para el estudio del cerebelo, la fosa posterior, los lóbulos temporales, la médula espinal y el tronco cerebral.

### 3.2.6. TEST DE LA MARCHA DE 6 MINUTOS

Las pruebas de caminar son simples, económicas y seguras. Se relacionan más cercanamente a las tareas o actividades diarias, que las pruebas de ejercicio. De igual manera, son más sencillas si se comparan con la cinta de correr (*treadmill*), la cual puede ser intimidatoria para pacientes frágiles, mayores o que estén muy incapacitados, en los cuales la velocidad del ejercicio no está bajo el control del paciente. Las evidencias hasta el momento sugieren que los resultados de la prueba de caminar son altamente reproducibles y muestran una correlación entre moderada y fuerte con otras mediciones de la capacidad de ejercicio y con las medidas de estatus funcional reportadas por el paciente. La prueba de caminar durante 6 minutos es igual de eficiente a la de 12 minutos y tiene la ventaja de ser menos estresante para el paciente y, por consiguiente, más relacionado a las actividades del día a día de pacientes moderada o severamente limitados (Guyatt *et al.*, 1985).

Las técnicas cualitativas descritas en el apartado anterior han sido ampliamente utilizadas en estudios con pacientes con cáncer asociados a pérdida de peso, desgaste muscular y estudios propiamente relacionados con caquexia cancerosa (Lundholm *et al.*, 1994; Jiang *et al.*, 2013; Scheede-Bergdahl *et al.*, 2012; Mantovani *et al.*, 2010; Vigano *et al.*, 2013).

### **3.2.7. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD FÍSICA**

La actividad física de un paciente con caquexia cancerosa se correlaciona objetivamente con la etapa de la enfermedad, el estado funcional y la calidad de vida. La funcionalidad física disminuye a medida que la muerte se acerca y es un marcador de pronóstico para supervivencia en pacientes paliativos. Además, la funcionalidad física es una variable clave para tomar decisiones clínicas, que incluyen opciones de tratamiento, planificación de cuidados, necesidad de asistencia domiciliaria y para determinar metas realistas de rehabilitación. Por lo tanto, su monitorización da como resultado estimaciones objetivas de la función del paciente en respuesta al cáncer. Los pacientes con cáncer que pierden peso, reducen la magnitud de su déficit energético a través de reducciones en la actividad física. En ocasiones esta reducción puede ser significativa. La pérdida de la función física da como resultado: empeoramiento del estado general, disminución en la capacidad para desarrollar actividades de la vida diaria, una disminución en las relaciones sociales, y un deterioro en la imagen corporal. Todo lo cual se manifiesta como una calidad de vida reducida (Dahele *et al.*, 2007; Ferriolli *et al.*, 2012; Helbostad *et al.*, 2011).

### **3.2.7.1. Escala de funcionalidad física relacionada con la movilidad (PFM)**

Es una herramienta desarrollada por Helbostad y colaboradores en el año 2011, en base a un estudio con 664 respuestas de pacientes paliativos de cáncer y 186 de pacientes con dolor crónico. PFM es un instrumento para medir la actividad física basado en cuestionarios existentes y validados. Para ello se identificaron aspectos del funcionamiento físico utilizados previamente para la evaluación en poblaciones frágiles en general y pacientes paliativos en particular. Los ítems se clasificaron de acuerdo con las dimensiones del dominio de actividad de las guías internacionales de clasificación de funcionamiento y salud (ICF, por sus siglas en inglés). El cuestionario fue desarrollado para ser utilizado en medios electrónicos, que tienen la ventaja de poder contener un mayor número de ítems que los cuestionarios tradicionales de papel. El cuestionario final se construyó con 21 ítems previamente reportados en la literatura, que van desde el “*sentarse sin ayuda*” hasta “*correr*”. La escala PFM se construyó con la intención de ser unidimensional y cubrir un amplio rango de funcionamiento, lo cual se confirmó a través del estudio en el que se aplicó (Helbostad *et al.*, 2011).

### **3.2.8. VALORACIÓN DE LA CALIDAD DE VIDA DEL PACIENTE**

La calidad de vida (CDV) representa la diferencia entre el estado ideal de la persona y su estado actual. La intención de la medida de la calidad de vida es intentar minimizar esta diferencia. El propósito de cualquier terapia anticaquéctica es el de mejorar la supervivencia y la calidad de vida. Las principales razones para estimar la calidad de vida son: 1. escoger las mejores opciones de tratamiento cuando se conoce que la toxicidad es alta, 2. cuando el cáncer es avanzado y el tratamiento paliativo es el objetivo final, 3. evaluar el impacto económico de la salud, 4. predicción de pronosis. A continuación se describen algunas de las



escalas más utilizadas para la valoración de la calidad de vida de pacientes afectados por una enfermedad.

#### **3.2.8.1. Escala ECOG**

Es una herramienta usada para medir el impacto que tiene la enfermedad de un paciente sobre las actividades de su vida diaria y la calidad de vida. Se utiliza con el fin de determinar pronósticos y tratamientos apropiados. Las puntuaciones varían desde cero (sin discapacidad), hasta 5 (muerte). Fue desarrollado por el grupo oriental cooperativo de Oncología (Eastern Cooperative Oncology Group) con el objetivo de facilitar y estandarizar los ensayos clínicos en todo el mundo (Oken *et al.*, 1982; Vigano *et al.*, 2014).

#### **3.2.8.2. Escala EORTC-QLQ-C30**

La escala EORTC QLQ-C30 (EORTC Quality of Life Group) es una herramienta estándar europea para la evaluación de la calidad de vida. Aporta información sobre la función (funcionalidad física), síntomas individuales (como por ejemplo fatiga) y estado de salud global / calidad de vida. La escala evalúa los síntomas sobre los 7 días previos a la administración del cuestionario (Aarson *et al.*, 1993).

#### **3.2.9. SISTEMA DE EVALUACIÓN DE SÍNTOMAS DE EDMONTON**

El sistema de evaluación de síntomas de Edmonton (ESAS por sus siglas en inglés) es un cuestionario compuesto de 9 preguntas que evalúa la severidad de los síntomas sobre una escala de cero (sin síntomas) a 10 (máximos síntomas). Los síntomas evaluados por ESAS son: dolor, presencia de náuseas, cansancio, somnolencia y desgana, pérdida del apetito, dificultad respiratoria, depresión, ansiedad y bienestar (Bruera *et al.*, 199; Vigano *et al.*, 2014).

### **3.2.10. ESCALA DE IDENTIFICACIÓN DE FRAGILIDAD (FTS)**

El FTS permite una monitorización y evaluación precisa de los individuos. Se estableció dentro del Estudio Toledo de Envejecimiento Saludable (ETES), orientado al estudio de los diferentes modelos de fragilidad y envejecimiento. Se desarrolló sobre un total de 1972 mujeres y hombres de 65 años de edad o más. La escala mide 7 dimensiones de fragilidad (balance de energía, nutrición, sistema nervioso, sistema vascular, fuerza, resistencia, velocidad al caminar). La escala está compuesta por 12 ítems, cada uno de los cuales se ponderó con base en los quintales de su distribución en el estudio de población. La validez se evaluó probando su asociación con factores relacionados con la fragilidad y su valor predictivo de eventos adversos. El FTS se asocia con muchos de los factores ligados con la fragilidad, y se relaciona con la incidencia de hospitalización y mortalidad (García-García *et al.*, 2014).

### **3.2.11. ESCALA DE PRONÓSTICO GLASGOW**

La escala de pronóstico Glasgow (GPS, por sus siglas en inglés) es una puntuación que muestra un valor pronóstico significativo en varios tipos de tumores, tales como cáncer de pulmón, colorrectal, renal y gastroesofágico (Li *et al.*, 2013). Se basa en la inflamación, e incluye la determinación de los niveles de la CRP y la albúmina. Como se mencionó anteriormente, la CRP es un reactante de fase aguda sintetizado por los hepatocitos como un marcador esencial de inflamación sistémica. La albúmina representa un marcador de estatus nutricional, así como una proteína negativa de fase aguda. La concentración de albúmina disminuye al tiempo que la CRP aumenta. Los pacientes con un nivel elevado de CRP (superior a 10mg/L) e hipoalbuminemia (inferior a 35g/L) obtienen una puntuación de 2. Los pacientes en quienes solamente una de estas dos anomalías bioquímicas está presente, obtienen una puntuación de 1, y los

pacientes en los cuales ninguna de estas dos anormalidades se encuentra presente obtienen una puntuación de 0 (Li *et al.*, 2013).

### **3.2.12. ESCALA DE PRONÓSTICO GLASGOW MODIFICADA**

La escala de pronóstico Glasgow modificada (mGOP, por sus siglas en inglés) combina las concentraciones de CRP y albúmina para crear un sistema simple de puntuación, el cual es un factor de pronóstico independiente de la etapa de la enfermedad y tratamiento. De igual manera, predice supervivencia, de tal modo que los pacientes con niveles de CRP  $\leq 10\text{mg/L}$  y niveles de albúmina  $\geq 35\text{ g/L}$  obtienen una puntuación de 0; los pacientes con un nivel de CRP superior  $10\text{mg/L}$  obtienen una puntuación de 1; y por último un nivel de CRP superior  $10\text{mg/L}$  y albúmina inferior a  $35\text{g/L}$  equivale a un 2 en el mGPS (Donohoe *et al.*, 2011; Proctor *et al.*, 2013).

### **3.2.13. ÍNDICE DE KARNOFSKY (IK)**

El IK es una escala funcional desarrollada en oncología y ampliamente utilizada. Es útil para predecir la evolución en pacientes oncológicos y geriátricos. El IK se utilizó por primera vez en 1948 para valorar el estado funcional de pacientes oncológicos tratados con quimioterapia. Desde entonces ha sido ampliamente utilizado en estudios clínicos, mostrando buena correlación con otras medidas funcionales y de bienestar. Entre sus aplicaciones podemos citar: 1) establecer criterios de conveniencia para llevar a cabo distintos tratamientos en pacientes en pacientes con cáncer; 2) medir de forma global el estado funcional en pacientes oncológicos; 3) predecir la evolución y la supervivencia en dichos pacientes; 4) valorar el pronóstico y riesgo en pacientes geriátricos; y 5) como indicador de calidad de vida en pacientes con accidente cerebro-vascular, cáncer o nutrición parenteral domiciliaria. IK es una escala descendiente, que va desde la normalidad (puntuación=100) hasta la muerte (puntuación =0). De esta manera, los pacientes

con un valor igual o superior a 60 son capaces de satisfacer la mayoría de sus necesidades, mientras que un valor inferior a 50 está fuertemente asociado a un desenlace fatal en menos de seis meses (Puiggròs *et al.*, 2009).

#### **3.2.14. EVALUACIÓN GLOBAL SUBJETIVA GENERADA POR EL PACIENTE**

La evaluación global subjetiva generada por el paciente (PG/SGA, por sus siglas en inglés) es utilizada en pacientes con cáncer. Contiene dos secciones: una de autoinforme que incluye elementos relacionados con la historia clínica, cambios en el peso y la ingesta alimentaria, diversos síntomas gastrointestinales y la habilidad funcional; la segunda sección hace referencia a la exploración física que completa un profesional de la salud (Gabison *et al.*, 2010; Viganò *et al.*, 2014).

#### **3.2.15. HERRAMIENTAS DE EVALUACIÓN DE MALNUTRICIÓN**

La malnutrición se define como la condición que se desarrolla cuando el cuerpo humano no recibe la correcta cantidad de nutrientes (energía, proteínas, minerales y vitaminas), y que puede ocurrir también en individuos sanos. La malnutrición se caracteriza por pérdida de peso, basada en pérdida de masa grasa en primera instancia. Por definición, puede ser revertida con terapia nutricional. Un instrumento para evaluar la caquexia debería ser una herramienta que pueda evaluar un grupo de variables principales para clasificar y fenotipar la caquexia cancerosa y actuar como un instrumento de guía de las decisiones clínicas, adecuado para mejorar los resultados. Hoy por hoy no existen herramientas de evaluación común o medidas validadas para todos estos dominios. Debido a la ausencia de una herramienta específica de evaluación de caquexia, las herramientas para la valoración de la malnutrición son usadas en la práctica clínica (Blum y Strasser 2011). A continuación se citan las herramientas utilizadas para la valoración de la malnutrición.

**3.2.15.1. aPG-SGA:**

Es una forma condensada del PG-SGA, que contiene únicamente el componente de autoevaluación relacionado con los síntomas de la caquexia cancerosa. Se puede completar de manera rutinaria y rápida. Reporta problemas nutricionales sintomáticos y funcionales que son medidos en 4 secciones. La sección 1 se enfoca en el peso y los cambios de peso; la puntuación máxima es 5. La sección 2 está enfocada sobre la ingesta alimentaria, con una puntuación máxima de 4. La sección 3 mide el perfil sintomático, y tiene una puntuación máxima de 24. Finalmente, la sección 4 evalúa el estatus funcional, con una puntuación máxima de 3. Los puntos se totalizan para obtener la puntuación global que varían entre cero (sin problemas) y 36 (problemas graves) (Stoyanoff *et al.*, 2009; Viganò *et al.*, 2014).

**3.2.15.2. Cuestionario simplificado nutricional de apetito (SNAQ)**

El SNAQ es un cuestionario sencillo de 4 ítems, derivado de un cuestionario más amplio de 8 ítems: el Cuestionario de Apetito del Consejo de Nutrición (CNAQ). SNAQ evalúa los factores que afectan la ingesta alimentaria, basado en apetito, sensación de saciedad, sabor y frecuencia de alimentación, que corresponden a las preguntas 1, 2, 4 y 6 del CNAQ. Una puntuación menor o igual que 14 indica un riesgo significativo de una pérdida de peso de, por lo menos, un 5% en 6 meses (Wilson *et al.*, 2005).

**3.2.15.3. Mini evaluación nutricional (MNA)**

La MNA incluye el índice de masa corporal, pérdida de peso, y el contorno de la pantorrilla como medida antropométrica. La ingesta alimentaria es medida pero no los síntomas de impacto nutricional. No hay una sección para medir la enfermedad subyacente que implique catabolismo, pero hay preguntas sobre el impacto físico y

psicológico. El MNA no incluye valores de laboratorio. Es rápido y eficiente de utilizar (Gioubasanis *et al.*, 2011).

#### **3.2.15.4. Herramienta de evaluación de malnutrición (MST)**

El MST es una herramienta de evaluación fácil de usar, y de exploración de nutrición aceptable; combina preguntas sobre pérdida de peso no intencionado reciente y apetito. No hay preguntas acerca de la enfermedad subyacente o el impacto de la malnutrición. Está validado en oncología en pacientes hospitalizados y ambulatorios (Neelemaat *et al.*, 2011).

#### **3.2.15.5. Herramienta universal de evaluación de malnutrición (MUST)**

El MUST es una herramienta de evaluación del Grupo Asesor de Malnutrición de la Asociación Británica para Nutrición Parenteral y Enteral. Se usan tres criterios para determinar el riesgo general de malnutrición: 1) La condición clínica: presencia de enfermedad; 2) Las medidas antropométricas: evalúa los cambios en el peso calculando el índice de masa corporal; 3) Ingesta: la frecuencia y los componentes de la ingesta. Cada parámetro puede ser puntuado y se calcula el riesgo total de malnutrición. Los tres criterios son predictores del resultado clínico, y juntos son mejores predictores que cada uno por separado. Debido a que es fácil de usar, el MUST es una herramienta de evaluación frecuentemente usada para pacientes en la práctica general a pesar de no ser específico para cáncer (Boleo-Tome *et al.*, 2011).

#### **3.2.15.6. Evaluación de riesgo nutricional 2002 (NSR-2002)**

Es una herramienta de evaluación para malnutrición desarrollada por Kondrup y colaboradores (2002) y ampliamente usada en hospitales en Europa. El NRS-2002 se elaboró sobre los resultados del MUST, y añade una escala para la severidad de la enfermedad. En esta herramienta la edad contribuye a la

puntuación si el paciente tiene al menos 70 años, y clasifica el estado nutricional del paciente en 4 categorías si se necesita dieta artificial (Velasco *et al.*, 2011).





## II. OBJETIVOS



La caquexia es un síndrome asociado a enfermedad subyacente (cáncer, enfermedad pulmonar obstructiva, sepsis, insuficiencia cardíaca crónica o SIDA, entre otras), su característica más importante es la pérdida de masa muscular, con o sin pérdida de masa magra y se presenta con diversos grados de severidad en cerca de la mitad de pacientes afectados por este síndrome. La caquexia está asociada con un mal estado físico, mala calidad de vida, alta mortalidad y morbilidad, función física disminuida, reducción de la tolerancia a la terapia anticancerígena y disminución de la supervivencia (Evans *et al.*, 2008; Haehling 2010; Van de Meij 2013).

La gravedad de la caquexia en pacientes con cáncer varía desde trastornos inflamatorios no sintomáticos y mínima pérdida de peso y masa muscular en las primeras etapas, hasta una atrofia muscular severa y un bajo estado funcional en pacientes que no responden al tratamiento contra el cáncer. En pacientes caquéticos, una pérdida del 25% del peso corporal representa aproximadamente un 75% de reducción en las proteínas del músculo esquelético, y la muerte normalmente ocurre cuando la disminución del peso es alrededor del 30% (Fearon, 2008; Durhan *et al.*, 2009).

A pesar de que cada vez están mejor documentadas las causas, los síntomas y la progresión de la caquexia cancerosa, todavía no hay una herramienta de evaluación clínicamente útil que rápidamente identifique los pacientes con caquexia cancerosa y permita una intervención médica y nutricional más temprana (Vigano *et al.*, 2014). En los últimos años el síndrome de caquexia ha tomado una relevancia creciente y la comunidad científica y médica ha aumentado su interés por diagnosticar, clasificar y combatir adecuadamente este síndrome. Es por esto que existe la necesidad de detectar marcadores caquéticos estandarizados que

puedan ser medidos dentro de una escala capaz de clasificar el grado de severidad de este síndrome.

Por estas razones, junto con las comentadas a lo largo de esta introducción, nos propusimos **desarrollar un método que permita evaluar de manera cuantitativa el grado de caquexia en pacientes afectados por distintos tipos de cáncer.**

Por esta razón, los **objetivos concretos** de esta tesis doctoral han sido:

1. El **desarrollo de una escala cuantitativa que permita clasificar en diferentes grados de severidad los pacientes afectados de caquexia cancerosa.** Esta escala la definimos a lo largo de esta tesis como CASCO (de las siglas en inglés CAchexia SCOré).
2. Una vez definidos los parámetros que configuran esta escala, se procedió a su **validación** mediante la aplicación de esta herramienta a pacientes afectados por distintos tipos de tumor los cuales presentaban distintos grados de caquexia y su posterior análisis estadístico.
3. Al igual que en los pacientes afectados por el cáncer, no existe ninguna herramienta de clasificación de la caquexia cancerosa en modelos tumorales experimentales, de manera que el tercer objetivo de esta tesis doctoral ha sido el **desarrollo de un sistema de clasificación de la caquexia cancerosa para tres modelos experimentales:** Hepatoma ascítico Yoshida AH-130, carcinoma pulmonar de Lewis y Adenocarcinoma de colon C26.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**



## **1. MEDICIONES Y CUESTIONARIOS DE PARA LA VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA CANCEROSA EN HUMANOS MEDIANTE EL USO DE *Cachexia SCORe* (CASCO)**

Para desarrollar y validar CASCO, se contó con la colaboración de 2 hospitales nacionales e internacionales que nos aportaron datos de los pacientes cancerosos y de los sujetos control (sujetos sanos o pacientes sin enfermedad oncológica). El Hospital Policlínico de Cagliari (Italia) nos apartó datos de pacientes y de sujetos control, mientras que el Banco de Sangre y Tejidos de Barcelona nos cedió muestras de sujetos control y nos permitió realizar los cuestionarios a los donantes en el mismo momento de la extracción de sangre.

Tal y como se definirá en el apartado 1. de Resultados, CASCO tiene en cuenta cinco componentes para clasificar el grado de severidad de la caquexia cancerosa: 1) pérdida de peso y composición corporal; 2) inflamación, alteraciones metabólicas e inmunosupresión; 3) anorexia; 4) actividad física; y 5) calidad de vida. A continuación se detallan los materiales y métodos para determinar los parámetros comprendidos en los cinco componentes descritos. Según el parámetro analizado, se describen algunas metodologías diferentes entre los sujetos reclutados en Italia y en Barcelona, tal y como se detalla en cada componente estudiado.

El modelo utilizado de CASCO para la obtención de la clasificación de los pacientes y sujetos controles se puede consultar en el Anexo 1.

## 1.1. PÉRDIDA DE PESO Y COMPOSICIÓN CORPORAL

### 1.1.1. MEDICIÓN DEL PESO CORPORAL

#### **Italia**

La medición del peso de los sujetos de estudio se realizó en la balanza Healt (o meter modelo 592KLS, Bridgeview, IL, USA).

#### **Barcelona**

La medición del peso de los sujetos control se realizó en la balanza Tanita (Monitoring your Health, modelo BC 545N, Japón).

### 1.1.1. MEDICIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL

#### **Italia**

La medición de la composición corporal se realizó por cuatro métodos diferentes (Bioimpedancia eléctrica, Imágenes de Tomografía computarizada, Resonancia Magnética y DEXA (Absorciometría Energía Dual de rayos X), dependiendo de la idoneidad del paciente y de la disponibilidad de las exploraciones médicas.

#### **Barcelona**

La medición de la composición corporal se realizó mediante la bioimpedancia eléctrica, utilizando el monitor Tanita (Monitoring your health, Segmental Body Composition monitor, modelo BC 545N, Japón).

#### 1.1.1.1. Bioimpedancia eléctrica

El análisis de la impedancia eléctrica que se llevó a cabo en Italia, se llevó a cabo con un analizador de impedancia bioeléctrica Akern STA/BIA serie 101 (Akern, Florencia, Italia), utilizando el estándar de colocación de 4 electrodos y la inducción de una corriente eléctrica de 800 mA a una frecuencia de 50 kHz. Los datos de la



composición corporal se obtuvieron a partir de la correlación entre la resistencia y la reactancia. Durante la medición con el bioimpedenciometro, el paciente se encontraba tumbado de espalda, con los brazos y las piernas ligeramente alejados del tronco del cuerpo. Los electrodos de medición se colocaron entre las manos y los pies. Los datos obtenidos en las mediciones fueron procesados por el software Akern BodyGram 3.1 (Akern, Florencia, Italia), para obtener los porcentajes de los diferentes compartimentos del cuerpo, que se definen como el porcentaje de la masa corporal magra (masa corporal magra, LBM), masa muscular (MM), masa grasa (FM), agua corporal total (TBW) y ángulo de fase (PA); este último parámetro es una medida importante de la proporción adecuada entre los diferentes compartimentos del cuerpo.

### **1.1.1.2. Tomografía Computarizada y Resonancia magnética**

Este método consiste en colocar los componentes en relación dimensional de grasa visceral y subcutánea y de masa magra del cuerpo en la misma región, representada principalmente por los músculos para-espinales. La técnica de análisis se basa en la adquisición de imágenes mediante tomografía computerizada o resonancia magnética (MRI) de la región abdominal a nivel de las vértebras L2-L3. La discriminación entre los tejidos se basa principalmente en las características de la calidad de los píxeles que componen la imagen, en virtud del hecho de que diferentes tejidos tienen rangos muy específicos de intensidad de luz. Las imágenes se obtuvieron en el Servicio de Radiología del Hospital de la Universidad de Cagliari a través del software Tomovision Slice Omatic (Montreal, Canadá). El análisis se realizó en modo semiautomático, y con la técnica de "segmentación" se seleccionaron las áreas del tejido adiposo visceral, la grasa subcutánea y el tejido muscular. El tejido muscular (TM) se calculó con imágenes de TC a nivel de L-3 divididas por el cuadrado de la altura.

### **1.1.1.3. Absorciometría de Energía Dual de rayos X (DEXA)**

Se utilizó el DEXA para evaluar las diferencias en la densidad de los diferentes tejidos. Se extrapoló en particular la masa corporal magra y la masa grasa. El instrumento utilizado fue el escáner Lunar Hologic (USA).

## **1.2. INFLAMACIÓN, ALTERACIONES METABÓLICAS E INMUNOSUPRESIÓN**

### **1.2.1. INFLAMACIÓN**

#### **1.2.1.1. Determinación de IL-6**

##### **Italia y Barcelona**

La IL-6 se determinó por ELISA “sándwich”, que se basa en el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítomos específicos de las moléculas (Immunotech, Marsella, Francia). Las pruebas se llevaron a cabo a temperatura ambiente con un aparato DiaSorin Etilab (Guidonia, Italia), de forma rápida, semiautomática y de acuerdo con las especificaciones de la casa comercial, para reducir al mínimo el riesgo de errores analíticos. La absorbancia se midió mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 450nm. Los resultados se expresaron en pg/mL. Los coeficientes de variación para estos métodos, de acuerdo con los procedimientos de control de calidad, fueron menores al 5%.

#### **1.2.1.2. Determinación de la Proteína C Reactiva**

##### **Italia**

Los niveles séricos de PCR se determinaron por nefelometría, prueba de HsCRP (proteína de alta sensibilidad C reactiva) a través del analizador AU640 centralizado automático (Olympus, Alemania). Los resultados se expresaron en

mg/L. Los coeficientes de variación para estos métodos, de acuerdo con los procedimientos de control de calidad, eran siempre inferiores al 5%.

### **Barcelona**

Los niveles séricos de PCR se determinaron por nefelometría, a través del analizador METROLAB 2300 (RAL, Técnicas de laboratorio, Barcelona).

### **1.2.2. ALTERACIONES METABÓLICAS**

#### **1.2.2.1. Determinaciones bioquímicas: Albúmina, pre-albúmina, lactato, urea, triglicéridos y glucosa**

### **Italia**

Los niveles circulantes de estos metabolitos se obtuvieron en una muestra de sangre venosa periférica en tubos de suero (BD Vacutainer, California, USA). Se analizaron por el método colorimétrico enzimático de rutina y nefelométrico (Olympus, Alemania). El coeficiente de variación para este método, en conformidad con los procedimientos de control de calidad, fue siempre menor al 5%.

### **Barcelona**

La determinación de los niveles circulantes de estos marcadores se realizó a través de una muestra de sangre venosa periférica extraída en tubos de suero (BD Vacutainer, California, USA), cedidas por el Banco de Sangre y Tejidos de Barcelona. Se analizaron por el método colorimétrico enzimático en el equipo METROLAB 2300 (RAL, Técnicas de laboratorio, Barcelona). El coeficiente de variación para este método, en conformidad con los procedimientos de control de calidad, fue siempre menor al 5%.

### **1.2.2.2. Medición de la concentración de Hemoglobina**

Los valores de Hemoglobina fueron medidos en el equipo Culter, Beckman Coulter IL Tops IL instrumentation Laboratory, (Lexington, USA).

### **1.2.3. INMUNOSUPRESIÓN**

El conteo de linfocitos absolutos se midió en un equipo Culter, Beckman Coulter IL Tops IL (instrumentation Laboratory), Lexington, USA.

### **1.3. ACTIVIDAD FÍSICA**

Para valorar la Actividad Física se utilizó el cuestionario de Actividad Física (ver descripción en apartado de resultados CASCO 1.3).

### **1.4. ANOREXIA**

La Anorexia se valoró utilizando el Cuestionario Simplificado de Evaluación Nutricional (SNAQ) (ver descripción en apartado de resultados CASCO 1.4).

### **1.5. CALIDAD DE VIDA**

Para valorar la Calidad de Vida, se utilizó una parte (25 preguntas) del cuestionario EORTC QLQ-C30 con permiso de EORTC Quality of Life Group (ver descripción en apartado de resultados CASCO 1.5).

### **1.6. SUJETOS DE ESTUDIO**

Se evaluaron 269 sujetos adultos. Esta muestra fue dividida en dos grupos:

- 1) Sujetos Control: sujetos sanos o pacientes sin enfermedad oncológica;
- 2) Sujetos Pacientes: pacientes con enfermedad oncológica.

Una vez analizados los datos, la muestra objeto de estudio estuvo configurada por un total de n=264 sujetos entre pacientes y controles. El número total de pacientes fue n= 169 y de controles n= 95.

En la tabla 8 del apartado de Resultados de CASCO se detallan los tipos de cáncer que padecían los pacientes. Para la selección de la muestra se aplicaron los criterios de inclusión/exclusión que se detallan en el apartado 1.6.1.

### **1.6.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN**

En este caso sólo se describen los criterios de inclusión, puesto que los criterios de exclusión son el supuesto de no cumplir el criterio de inclusión.

#### **1.6.1.1. Criterios de inclusión sujetos Control**

Como criterio de inclusión se tuvo en cuenta ser mayor de edad y no padecer enfermedad oncológica.

#### **1.6.1.2. Criterios de inclusión y exclusión de sujetos Pacientes**

Como criterio de inclusión para los sujetos pacientes, fue el diagnóstico para la enfermedad neoplásica y ser mayor de edad. Se excluyeron los pacientes con enfermedad mental diagnosticada o deterioro cognitivo grave. Los pacientes afectados por alteraciones nutricionales o estados inflamatorios que conducen a pérdida de peso corporal fueron excluidos del estudio.

### **1.7. PROCEDIMIENTO DE RECOGIDA DE DATOS**

#### **Italia**

La recogida de los datos, toma de muestras y análisis de las mismas fue dirigida por la Dra. Clelia Maddedu de la Universidad degli Studi di Cagliari (Italia). La ejecución estuvo a cargo de personal cualificado, destacando en especial al Dr. Roberto Serpe, el cual realizaba la parte de los cuestionarios a los pacientes con cáncer, evaluación del peso corporal y composición corporal. Los procedimientos necesarios para la recogida de los datos y muestras de sangre fueron aprobados por el comité ético de la Universidad degli Studi di Cagliari.

#### **Barcelona**

Tras la preparación del instrumento necesario para la ejecución clínica del proyecto, se prepararon los documentos oficiales para gestionar la autorización

oportuna del Comité Ético de la Universidad de Barcelona y el Banco de Sangre y Tejidos de Barcelona, siendo valorado favorablemente (Anexo 2). Asimismo se preparó la documentación necesaria para dar información a los sujetos participantes y solicitar su consentimiento para participar en el estudio (Anexo 3). A los sujetos participantes (donantes de sangre del Hospital Vall de Hebrón), tras informarles del estudio y solicitarles que firmaran el consentimiento informado, se les pesó y realizó la medición de la composición corporal. Una vez realizado este procedimiento, los pacientes pasaban a la donación de sangre, y en este momento se les pedía que respondieran a la parte de cuestionarios del instrumento que configura la investigación: CASCO. La aplicación del cuestionario fue realizada por la doctoranda.

### 1.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para validar la escala CASCO se analizaron las propiedades métricas de la escala. En concreto, se realizó un **análisis de consistencia interna** mediante el coeficiente  $\alpha$  de Cronbach. Sus valores están comprendidos entre 0 y 1.

**La validez de constructo** se estimó utilizando una técnica para reducir la dimensionalidad de tres de los componentes de CASCO, Actividad Física, Anorexia y Calidad de Vida. La técnica utilizada fue el Análisis de Componentes Principales. También se realizó un análisis para la adecuación muestral mediante la medida de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) y la prueba de esfericidad de Barlett.

**El estadístico KMO** contrasta si las correlaciones parciales entre las variables son suficientemente pequeñas; permite comparar los coeficientes de correlación observados con los coeficientes de correlación parcial. Varía entre 0 y 1, los valores pequeños indican que el análisis factorial puede no ser una buena idea,

dado que las correlaciones entre los pares de variables no pueden ser explicadas por otras variables (Pérez 2004)

**La prueba de esfericidad de Barlett**, por su parte, contrasta la hipótesis nula de que la matriz de correlaciones es una matriz de identidad, en cuyo caso no existirían correlaciones significativas entre las variables y el modelo factorial no sería pertinente (Pérez 2004)

La **validez concurrente** se realizó mediante el análisis de correlaciones de la puntuación de caquexia (hace referencia a la puntuación obtenida en el cuestionario CASCO), la escala ECOG y la clasificación del paciente según el diagnóstico subjetivo de caquexia por un oncólogo especializado (ver resultados CASCO apartado 3.3). Para este análisis se calculó el coeficiente de correlación de Spearman ( $\rho$ ).

Finalmente se realizó un **análisis de conglomerados** de K medias para diferencias los estadios en los que la escala CASCO puede clasificar a los pacientes.

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS para Windows (IBM SPSS Statistics 20).

## 2. MEDICIONES PARA LA VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA CANCEROSA EN MODELOS EXPERIMENTALES MEDIANTE EL USO DE *Animal CAchexia SCOr* (A-CASCO)

### 2.1. ANIMALES Y CONDICIONES DE EXPERIMENTACIÓN

Los experimentos presentados se realizaron con ratas machos de la cepa Wistar (Harlan Interfauna Ibérica), ratones machos de la cepa C57BL/6J (Harlan Interfauna Ibérica) y ratones machos de la cepa Balb/c (Harlan Interfauna Ibérica). Los animales se mantuvieron estabulados en condiciones ambientales estándar ( $22 \pm 2$  °C de temperatura, humedad relativa del 70 – 80%, ciclo de iluminación de 12 horas diarias de luz), con libre acceso al pienso y al agua. Todos los protocolos utilizados fueron previamente autorizados por el Comité Ético de la Universidad de Barcelona, y la manipulación siguió la normativa de la Comunidad Europea.

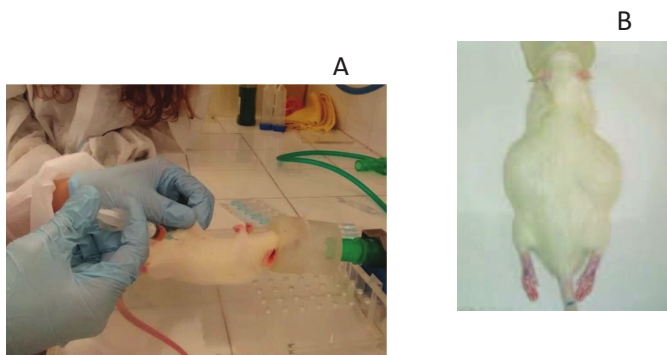
### 2.2. MODELOS EXPERIMENTALES

#### 2.2.1. HEPATOMA ASCÍTICO YOSHIDA -130

El hepatoma ascítico Yoshida AH-130 es un tumor de rápido crecimiento (tiempo de duplicación de 24 horas) que contiene células poco diferenciadas y que causa, en las ratas portadoras, una rápida pérdida de peso corporal y del contenido proteico del músculo esquelético, así como otras importantes alteraciones metabólicas (Baccino *et al.*, 1984). Las células tumorales se recogieron con una jeringa estéril directamente de la cavidad peritoneal de una rata con un tumor en una fase exponencial (7 días después de la inoculación), se diluyeron en PBS estéril (tampón fosfato salino, Lonza grupo, Suiza) a una concentración de  $10^4$  células/mL, y se inocularon mediante una inyección intra peritoneal de 2 mL ( $10^8$  células) a cada una de las ratas del grupo de portadores de tumor (Figura 8). Al final del periodo experimental se recogió el tumor de la cavidad peritoneal y se



midió su volumen en una probeta graduada. En un tubo Eppendorf se mezclaron 875  $\mu\text{L}$  de PBS, 100  $\mu\text{L}$  de azul de tripano y 25  $\mu\text{L}$  de la suspensión de células tumorales, se agitó suavemente, y se colocaron 20  $\mu\text{L}$  en el hematocitómetro. Se contaron las células de 6 cuadrantes de cada uno de los cuadrantes (X) y se calculó la media de los 16 cuadrillos que componen un cuadrante; teniendo en cuenta que la suma de los 16 representa un volumen de  $0.1 \text{ mm}^3$ , el número de células se calcula de la siguiente forma:  $X * 16 * F$  (factor de dilución)  $* 10^4 =$  número de células /mL.



**Figura 8.** A. Inoculación células tumorales Yoshida AH-130. B. Crecimiento del tumor siete días después de su inoculación.

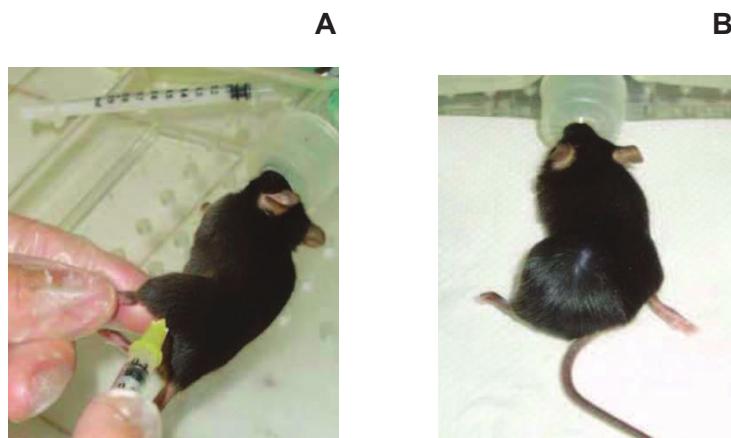
### **2.2.2. CARCINOMA PULMONAR DE LEWIS (LLC)**

El LLC constituye un modelo experimental de caquexia caracterizado por el crecimiento de un tumor primario sólido, en este caso en una de las patas posteriores, y por la aparición de metástasis pulmonares. También es de crecimiento rápido y provoca un elevado grado de caquexia.

Para proceder a su inoculación, en un tubo Eppendorf se mezclaron 400  $\mu\text{L}$  de PBS, 50  $\mu\text{L}$  de azul de tripano y 50  $\mu\text{L}$  de la suspensión de células tumorales, se agitó suavemente, y se colocaron 20  $\mu\text{L}$  en el hematocitómetro. Se contaron las células de 6 cuadrantes de cada uno de los cuadrantes (X) y se calculó la media de los 16 cuadrillos que componen un cuadrante; teniendo en cuenta que la suma

de los 16 representa un volumen de  $0.1 \text{ mm}^3$ , el número de células se calcula de la siguiente forma:  $X * 16 * F$  (factor de dilución)  $* 10^4 =$  número de células /mL.

Se inyectaron intramuscularmente  $200 \mu\text{L}$  de una suspensión que contenía  $5 \times 10^5$  células tumorales (Figura 9). Las células se obtuvieron de tumores en fase exponencial de crecimiento de ratones a los que se les había inyectado la misma cantidad de células 15 días antes. El conteo de las células se llevó a cabo de la misma manera que el modelo anterior pero, al tratarse de un tumor sólido, previamente se disgregaron las células y se resuspendieron en PBS estéril. Ya que lo describes en AH130 podrías poner lo que se hace en LLC:



**Figura 9.** A. Inoculación células tumorales LLC. B. Crecimiento del tumor catorce días después de su inoculación.

### 2.2.2.1. Determinación de las metástasis pulmonares

Una vez lavado el pulmón se separaron los 5 lóbulos pulmonares y se pesaron (peso total del pulmón). El número de metástasis se estimó visualmente en función de su superficie:  $1\text{mm}^2$ ,  $4\text{mm}^2$ ,  $9\text{mm}^2$ ,  $16\text{mm}^2$ , y  $25\text{mm}^2$ , y se clasificaron en los tipos 1, 2, 3, 4 y 5 respectivamente. Se calculó el peso de las metástasis mediante la fórmula  $\frac{4}{3}\pi r^3$ . Se consideró que cada metástasis se aproxima a una geometría esférica, donde “r” es su radio.

### 2.2.3. ADENOCARCINOMA DE COLON C26

El adenocarcinoma de Colon C26 es un tumor ectópico implantado en ratones de la cepa Balb/c que se caracteriza por inducir la pérdida severa de peso en el huésped, la cual es causada en gran medida por la pérdida de masa muscular. También presenta pérdida del tejido adiposo y alteraciones metabólicas, lo que representa un buen modelo experimental para el estudio de la caquexia cancerosa (Aulino *et al.*, 2010).

Las células de adenocarcinoma de colon C26 se mantuvieron *in vitro* en Medio Dulbeccos's Modified Eagle's Medium (DMEM, Invitrogen) suplementado con 10% de suero fetal bovino, 100U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomina, 100 µg/mL de piruvato sódico, 2 mM de L-glutamina, a 37°C en una atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> en aire. El día de la inoculación del tumor, las células fueron tripsinizadas y resuspendidas en solución salina estéril. Para su inoculación se inyectó 100µL de la solución salina estéril con una concentración de  $5 \times 10^5$  células tumorales en el dorso (Figura 10). El conteo de las células se llevó a cabo de la misma manera que los modelos anteriores.

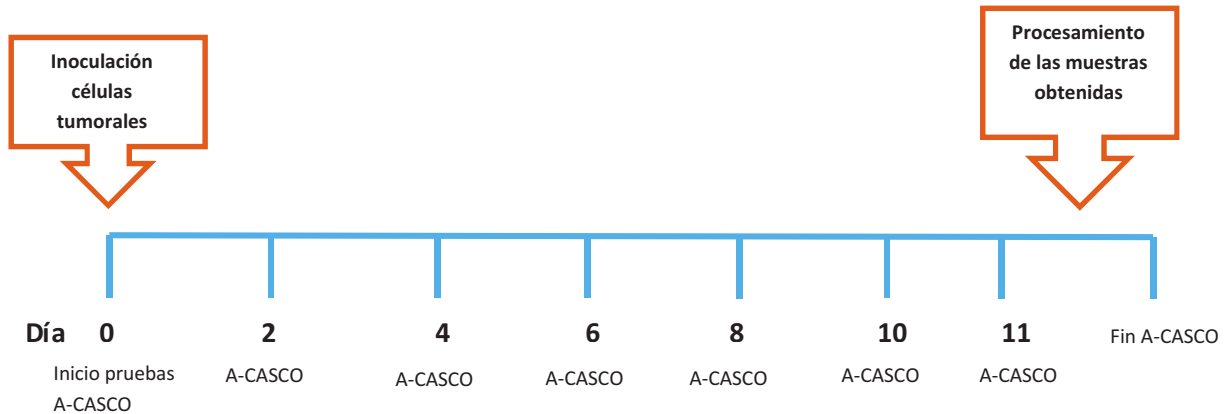


**Figura 10.** Inoculación de las células C26.

### 2.3. DISEÑO DE LOS EXPERIMENTOS

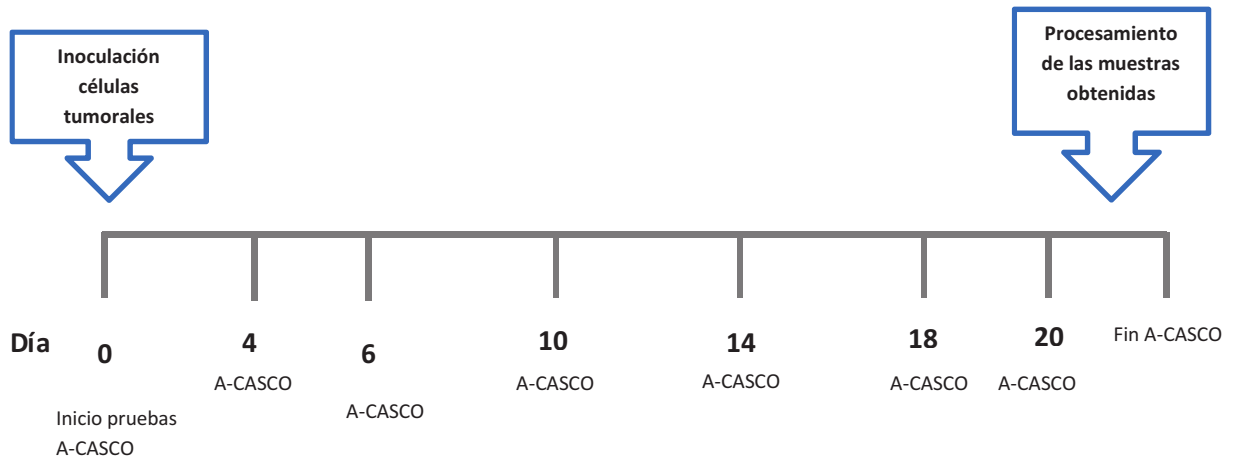
Las Figuras 11, 12 y 13 muestran los diseños de los experimentos para cada modelo tumoral.

#### 2.3.1. YOSHIDA AH – 130



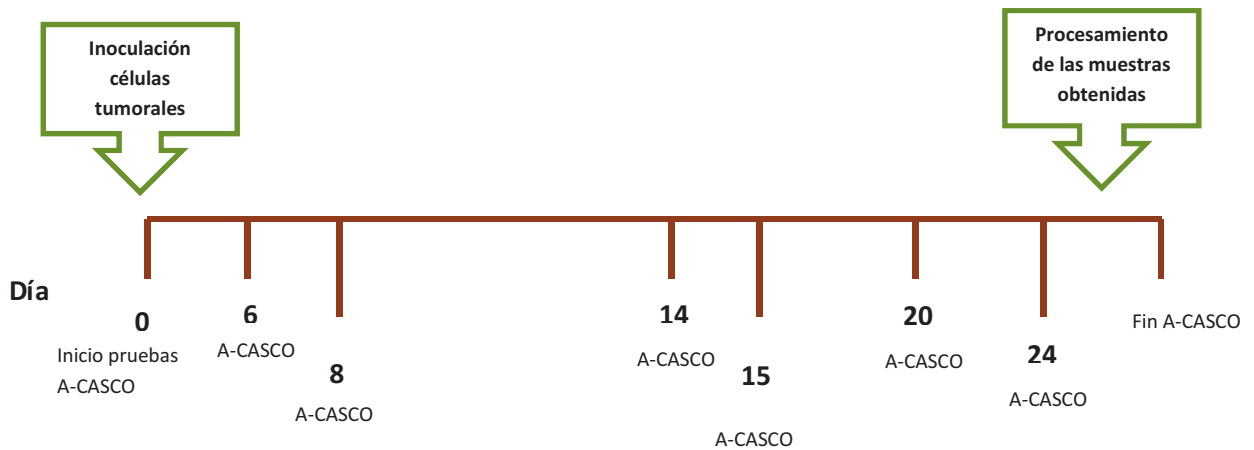
**Figura 11.** Planteamiento del experimento para valorar el desarrollo de la Caquexia a lo largo del crecimiento tumoral. Las ratas Wistar fueron inoculadas con el hepatoma ascítico Yoshida AH-130 (n=36). A día 2, 4, 6, 8, 10 y 11 después de la inoculación del tumor se realizó el sacrificio y obtención de muestras de sangre y tejidos (n por día= 11 animales 5 controles y 6 portadores de tumor). De igual manera durante el tiempo de experimento se realizaron las mediciones contempladas en A-CASCO.

2.3.2. CARCINOMA PULMONAR DE LEWIS



**Figura 12.** Planteamiento del experimento para valorar el desarrollo de la Caquexia a lo largo del crecimiento tumoral. Los ratones C57BL6 fueron inoculados con el Carcinoma Pulmonar de Lewis (n=36). A día 4, 6, 10, 14, 18 y 20 después de la inoculación del tumor se realizó el sacrificio y obtención de muestras de sangre y tejidos (n por día= 11 animales: 5 controles y 6 portadores de tumor). De igual manera, durante el tiempo de experimento se realizaron las mediciones contempladas en A-CASCO.

2.3.3. ADENOCARCINOMA DE COLON C26



**Figura 13.** Planteamiento del experimento. Para valorar el desarrollo de la caquexia a lo largo del crecimiento tumoral. Los ratones Balb/c fueron inoculados con el adenocarcinoma de colon C26 (n=56). A día 6, 8, 14, 15, 20 y 24 después de la inoculación del tumor se realizó el sacrificio y obtención de muestras de sangre y tejido (n por día = 12 animales: 5 animales control y 7 portadores de tumor). De igual manera, durante el tiempo de experimento se realizaron las mediciones contempladas en ACASCO.



#### 2.4. ANESTESIA Y SACRIFICIO

Al finalizar los experimentos, los animales fueron pesados y anestesiados intraperitonealmente con 2mL/Kg de una mezcla (3:1) de ketamina (Imalgene<sup>®</sup>, Merial, Francia) y xilacina (Rompum<sup>®</sup>, Bayer, Alemania). En las ratas y ratones, la muerte se provocó por la exanguinación (aorta en rata y corazón en ratón) después de la abertura de la cavidad peritoneal y asegurada mediante la ruptura del diafragma.

#### 2.5. EXTRACCIÓN DE TEJIDOS Y SANGRE

En ratas se abrió la cavidad abdominal, se extrajo el tumor y una vez visualizada la aorta se procedió a la extracción de la muestra de sangre con una jeringa heparinizada de 5 mL; esta sangre se depositó en un tubo que se mantuvo frío en hielo. En los ratones la sangre se obtuvo mediante punción directa al corazón con una jeringa heparinizada de 1 mL; la sangre obtenida se depositó en un Eppendorf y se mantuvo en fría en hielo. En las dos especies, una vez obtenidas las muestras de sangre se procedió a extraer los tejidos, que inmediatamente se congelaron en nitrógeno líquido por *freeze-clamping* y pesado, y se congelaron a -80°C.

#### 2.6. PRUEBAS PARA LA APLICACIÓN DE A-CASCO

Al igual que en **CASCO**, **A-CASCO** también tiene en cuenta cinco componentes para clasificar el grado de severidad de la caquexia cancerosa en los animales experimentales: 1) pérdida de peso corporal y disminución del peso del músculo *Gastrocnemius*; 2) inflamación y alteraciones metabólicas; 3) anorexia; 4) actividad física; y 5) calidad de vida. A continuación se detallan los materiales y métodos para determinar los parámetros comprendidos en los cinco componentes descritos.

## **2.6.1. PÉRDIDA DE PESO Y DISMINUCIÓN DEL PESO DEL MÚSCULO *GASTROCNEMIUS***

### **2.6.1.1. Peso corporal**

En los tres modelos experimentales (Yoshida AH-130, LLC y C26) el control del peso del animal se realizó el primer día del inicio del experimento (día cero) y los días de sacrificio (Ver apartado 3.3 Diseño de los Experimentos).

### **2.6.1.2. Disminución del peso del músculo *Gastrocnemius***

Como se describió en la introducción, el síndrome de la caquexia afecta al músculo esquelético en general. En A-CASCO se cuantifica la disminución del peso del músculo *gastrocnemius*, ya que en experimentos anteriores realizados en el grupo se demostró la equivalencia que tiene la pérdida de peso de este músculo con respecto a los demás, y acorde también con la pérdida de masa muscular (para mayor información, ver el apartado de Resultados 5.1.1 referentes a A-CASCO). Sin embargo, en los experimentos descritos en esta tesis también se realizaron, además, las mediciones de los músculos *soleus*, *extensor digitorum longus* (EDL) y *tibialis*, aunque los resultados de dichas mediciones no estén incluidas dentro de la escala A-CASCO.

## **2.6.2. INFLAMACIÓN Y ALTERACIONES METABÓLICAS**

### **2.6.2.1. Inflamación**

La inflamación se determinó mediante los niveles de IL-6 y una proteína de fase aguda, como es el Amiloide Sérico A (SAA) en plasma de animales control y portadores de tumor.

Los niveles plasmáticos de las dos proteínas se analizaron por ELISA (*Enzyme Linked Immuno – Sorbey Assay*). Concretamente, para la IL-6 se utilizó un kit de la

casa comercial Biovondor (España), en el caso de las ratas y en el caso de los ratones un kit de la casa comercial Diaclone (Francia) y para el SAA un kit de ELISA de la casa comercial Cusabio Biotech (China) para las dos especies.

### **2.6.2.2. Alteraciones metabólicas**

#### **2.6.2.2.1. Medición de los parámetros bioquímicos: albúmina, lactato, triglicéridos, glucosa y urea.**

La medición de la los parámetros bioquímicos se realizó mediante análisis de reacciones colorimétricas en el equipo METROLAB 2300 de la empresa RAL Técnicas de Laboratorio, (Barcelona).

#### **2.6.2.2.2. Hematocrito en Rata**

La sangre total se extrajo de las ratas siguiendo el protocolo que se explica en el apartado 2.5 de Materiales y Métodos. El hematocrito fue medido en el analizador Coulter, de la empresa Beckman Coulter International S.A (Suiza).

#### **2.6.2.2.3. Hematocrito en Ratón**

La sangre total se extrajo siguiendo el protocolo que se explica en el apartado 2.5 de Materiales y Métodos. Una gota de la sangre extraída se colocó en tubos capilares de hematocrito Fi II, los cuales fueron centrifugados en una centrífuga de hematocrito durante 5 minutos a 800g. El hematocrito se calculó como porcentaje de hematocrito de la sangre total.

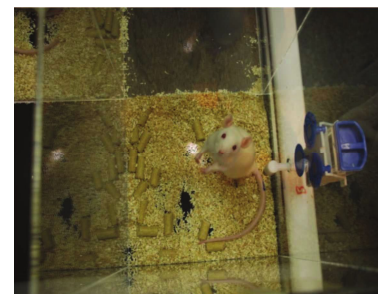
### **2.6.3. ACTIVIDAD FÍSICA**

#### **2.6.3.1. Medida de la actividad física total**

La actividad física total se determinó durante las 24 horas antes del sacrificio de los animales mediante el sistema IR ACTIMER System y el *software* ACTITRACK (Panlab Harvard Apparatus, Spain). El IR Actimer permite el estudio de la actividad



locomotora espontánea en roedores. El aparato utiliza un sistema de sensores de actividad que traducen los cambios de posición y frecuencia que se dan sobre un patrón de infrarrojos –a causa de los movimientos de los animales-, en unidades arbitrarias de actividad. Proporciona una medida de la actividad total de los animales de experimentación, así como otros parámetros relacionados (movimientos locomotores y estereotipados, velocidad y distancia recorrida, entre otros). Durante la medición, cada animal se encuentra de manera independiente en una jaula, con acceso libre al pienso y al agua (Figura 14).



**Figura 14.** Actividad física total (IR Actimeter System and Actitrack software from Panlab,

### 2.6.3.2. Medida de la fuerza de tracción

La fuerza muscular se cuantificó mediante un dinamómetro, concretamente el aparato *Grip-strength* (Panlab, Barcelona), formado por una barra conectada a un transductor de fuerza. Para la medición, el animal se sujeta por la base de la cola y se baja en dirección a la barra, dejando que se agarren a ésta con la patas delanteras y posteriormente se tira para atrás en el plano horizontal (Figura 15) La fuerza aplicada a la barra justo antes de perder la sujeción se mide como un pico de tensión, y posteriormente se transforma en valores numéricos, los cuales serán expresados como g/g de peso inicial. Se obtuvieron al menos tres medidas por animal, Y se hizo la media para su análisis posterior.



**Figura 15.** Medición de la fuerza de tracción (medida con el dispositivo grip-strength Panlab-Harvard Apparatus, España.

#### 2.6.4. ANOREXIA

En A-CASCO, la anorexia es valorada con el control de la ingesta del animal a lo largo del experimento; este control se hace mediante el peso de la comida ingerida a diferentes días:

- En el modelo tumoral **Yoshida AH-130**, la comida fue pesada los días 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 11 de crecimiento tumoral.
- En el modelo tumoral **Carcinoma Pulmonar de Lewis**, la comida fue pesada los días 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 de crecimiento tumoral.
- En el modelo tumoral **Adenocarcinoma de colon C26**, la comida fue pesada durante todos los días que duró el experimento (de día cero a día 24), con el objetivo de determinar en qué momento se inició la anorexia.

A pesar de todas estas medidas, en A- CASCO sólo se tiene en cuenta el peso de la comida a día de sacrificio.

#### 2.6.5. CALIDAD DE VIDA

Para determinar la calidad de vida de los animales experimentales se procedió a evaluar tres parámetros: signos de malestar físicos, valoración del estado emocional del animal mediante el test intruso-residente, y el test de natación forzada, tal y como se detallan a continuación.

##### 2.6.5.1. Signos de malestar

Los signos de malestar que se valoraron en A-CASCO son: ojos cerrados, piloerección, dacriorrea (secreción de porfirina por la glándula de Harder, localizada en los ojos; es un signo típico de situaciones de estrés en roedores), inmovilización, consistencia de las heces para determinar si hay diarrea o estreñimiento, y temblores. Para verificar qué signos presentaba el animal, éste fue

observado durante unos minutos antes de realizar las pruebas de intruso-residente y nado forzado, tanto a día cero (para comprobar que el animal no presentaba ningún signo de enfermedad) como el día de sacrificio.

#### 2.6.5.2. Paradigma intruso-residente

Este paradigma se basa en un comportamiento natural que tienen algunos roedores, que consiste en el establecimiento de un territorio por un macho residente y su defensa contra los machos intrusos con los que el residente no está familiarizado (Martínez *et al.*, 1998). En A-CASCO, el paradigma intruso-residente mide el porcentaje de tiempo durante el cual el roedor residente se interesa por el roedor intruso, durante un tiempo total de dos minutos.

En el caso de las ratas se utiliza una reja para poner dentro al animal intruso, la cual se coloca dentro de la jaula en el momento de hacer la medición (Figura 16).

En el caso de los ratones se diseñaron rejillas especiales (Figura 17), las cuales fueron colocadas dentro de las jaulas del animal desde el día de inicio del experimento, ya que los ratones necesitan un tiempo mayor para acostumbrarse a los objetos extraños.



**Figura 16.**Paradigma intruso residente en rata.



**Figura 17.** Modelo de reja utilizada en la valoración del Paradigma intruso residente en ratón

### 2.6.5.3. Test de natación forzada

El test de natación forzada consiste en la cuantificación del porcentaje del tiempo durante el cual el roedor (rata o ratón) presenta una actitud activa para salir del agua, durante un tiempo total de un minuto y medio. Para realizar el test se utilizó un recipiente lleno de agua tibia (24-26°C), hasta 30 cm. Después de realizar el test de paradigma intruso-residente, el animal fue colocado con suavidad dentro del recipiente con agua y observado para cuantificar los intentos de salida del agua durante el tiempo establecido (Figura 18). Después de la prueba, el animal se secó y se devolvió a su jaula. Con esta prueba se valoró la disminución de la calidad de vida del animal, así como su estado físico valorando los intentos activos de huida (Hebert *et al.*, 1998).



**Figura 18.** Test de natación forzada.

## **2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis de los datos se realizó mediante la comparación de medias por el test de la t-Student. Los resultados están corregidos por el método de Bonferroni y la probabilidad de error utilizada es de tipo I (0.005).

### **2.7.1. IMPUTACIÓN DE DATOS FALTANTES**

La imputación de datos perdidos se realizó con la media del grupo en cuestión con el programa IBM SPSS Statistic 20.



## **IV. RESULTADOS**

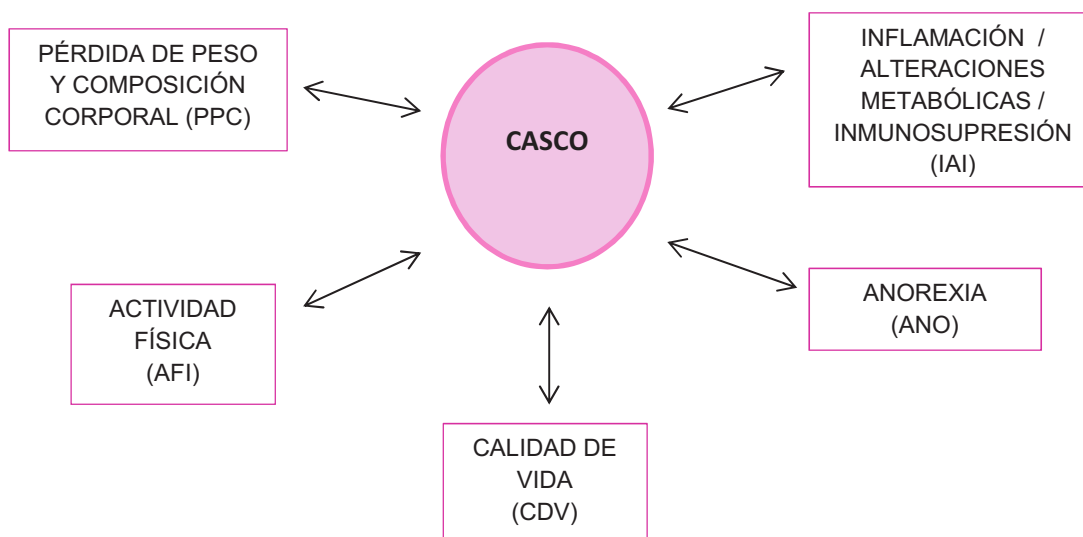




## 1. CAQUEXIA SCORE (CASCO)

Como consecuencia de la reflexión sobre los conceptos relacionados con caquexia, y de la importancia que tiene poder identificar y clasificar dicho síndrome correctamente, nos propusimos desarrollar una herramienta para dicha finalidad: "CASCO" (**CA**quexia **SCO**re)

**CASCO** es una escala cuantitativa diseñada para clasificar el grado de caquexia en pacientes con cáncer. El planteamiento teórico de CASCO (Argilés et al 2011), clasifica la caquexia en cuatro categorías: leve, moderada, severa y fase terminal. Para obtener esta clasificación, la escala evalúa cinco condiciones, que son los componentes de CASCO (Figura 19).



**Figura 19.** Componentes de CASCO

Los componentes de CASCO se eligieron teniendo en cuenta la implicación de cada uno de ellos dentro del desarrollo y curso del síndrome caquético asociado al cáncer. Una vez elegidos, se analizó la importancia y relevancia que cada uno de ellos representa en la caquexia cancerosa para distribuir de la manera más objetiva posible el peso de cada componente en la puntuación final de CASCO.

### 1.1. PÉRDIDA DE PESO Y COMPOSICIÓN CORPORAL

La pérdida de peso y composición corporal es un componente esencial de la definición de caquexia (Evans *et al.*, 2008 y Fearon *et al.*, 2011). Es el requisito más importante, además de la presencia de una enfermedad subyacente (distintos tipos de cánceres en este caso). Tanto la pérdida de músculo como la de tejido graso coexisten en el paciente caquético, pero es importante destacar que son los cambios que puedan producirse en relación con la masa corporal magra las que tienen más importancia a nivel funcional. Desde este punto de vista, una disminución de la masa corporal magra en el paciente caquético representa un deterioro en el rendimiento físico y, por tanto, en la calidad de vida. (Argilés *et al.*, 2011).

El peso de la componente “Pérdida de Peso y Composición Corporal (PCC)” ha sido establecido en un 40% de la puntuación total de CASCO (Tabla 9). Para obtener la puntuación de PCC se realizan dos mediciones: por un lado, la **Pérdida de Peso** (PP), que representa un 32% de la puntuación final y se clasifica en 5 categorías. La Tabla 3 muestra la clasificación correspondiente a la pérdida de peso y como se traduce en los puntos que se sumarán para obtener la puntuación final de CASCO.

**Tabla 3.** Clasificación y puntuación para la componente Pérdida de Peso.

Clasificación PP	Puntos
< 5 %	0
≥ 5 %	8
≥ 10 %	16
≥ 15 %	24
≥ 20 %	32

Por otro lado, la segunda medición es la **Composición Corporal (CC)** y representa el 8% de la puntuación final de PCC. Los cambios en la composición corporal se dividen en 2: 1) sin cambios en la composición corporal o 2) cambios superiores al 10%. La Tabla 4 muestra la clasificación y los puntos obtenidos.

**Tabla 4.** Clasificación y puntuación en la componente de Composición Corporal.

Clasificación	Puntos
<b>Sin cambios en la composición corporal</b>	Puntos obtenidos en pérdida de peso x 1
<b>Cambios &gt; 10%</b>	Puntos obtenidos en pérdida de peso x 1.25

Como se observa en la tabla anterior, para obtener la puntuación final de la Composición Corporal es necesario multiplicar los puntos de la Pérdida de Peso por 1 o por 1.25, según sea el caso, de tal manera que un paciente con cambios en la composición corporal superiores al 10% y una pérdida de peso mayor al 15%, que equivale a 24 puntos, obtiene una puntuación en composición corporal de: 24 puntos PP \* 1,25 = 30 puntos. Estos 30 puntos son los que se suman a la puntuación final de la escala CASCO.

## 1.2. INFLAMACIÓN / ALTERACIONES METABÓLICAS / INMUNOSUPRESIÓN (IAI)

El segundo componente de CASCO son las Alteraciones Metabólicas, Inflamación e Inmunosupresión. A este componente se le ha asignado un peso de un **20%** dentro de la escala CASCO (Tabla 9). La puntuación se obtiene sumando los puntos obtenidos en la medición de los parámetros alterados en alteraciones metabólicas inflamación e inmunosupresión, tal y como se detallan a continuación.

### 1.2.1. INFLAMACIÓN

La inflamación es un componente muy importante de la respuesta caquéctica. Esta valoración se hace midiendo tanto los niveles de Proteína C Reactiva (CRP) como los de la interleuquina-6 (IL-6). Éstas han sido incluidas en CASCO teniendo en cuenta que la CRP es el método más habitual para evaluar la magnitud de la respuesta inflamatoria sistémica (Gabay y Kushner 1999), y que la IL-6 se ha escogido ya que estimula la producción de proteínas de fase aguda e incrementa la degradación de proteína muscular (característica común en la caquexia) al activar las vías proteolíticas no lisosomal (proteasoma) y lisosomal (catepsinas) (Yee y Schuster 1999; McDevitt *et al.*, 1995; De Blaauw *et al.*, 1997; Janeway 1997; Gambardella *et al.*, 1997; Laviano *et al.*, 1996; Yanagawa *et al.*, 1995). Estudios en pacientes con cáncer pancreático demuestran claramente que éstos presentan una respuesta inflamatoria, caracterizada por niveles incrementados de proteínas de fase aguda, tales como la CRP y citoquinas como por ejemplo la IL-6 (para mayor información respecto a la CRP e IL-6, ver introducción apartados 1.2.5, 1.6.14 y 1.6.16). El componente inflamatorio constituye un **40% del IAI** en CASCO. La Tabla 5 muestra los valores y la puntuación correspondiente para la PCR y IL-6.

**Tabla 5.** Parámetros, valores y puntuación de los componentes de la Inflamación.

Parámetro	Valores	Puntos
CRP	5 mg/L ≤ CRP ≤ 10 mg/L	2
	10 mg/L < CRP ≤ 20 mg/L	3
	CRP > 20mg/L	4
	Valor normal ó no analizado	0
IL-6	4 pg/mL ≤ IL-6 ≤ 10 pg/mL	2
	10 pg/mL < IL-6 ≤ 30 pg/mL	3
	IL > 30 pg/mL	4
	Valor normal ó no analizado	0

### 1.2.2. ALTERACIONES METABÓLICAS

El segundo aspecto valorado son las Alteraciones Metabólicas que se encuentran en la mayoría de los pacientes caquéticos. En este aspecto, hemos incluido proteínas y otras moléculas que tienen un papel importante en el síndrome caquético, como son la albúmina, pre-albúmina, lactato, triglicéridos, hemoglobina (en CASCO nos referimos a anemia), urea, niveles de especies reactivas del oxígeno (ROS) y el test de tolerancia a la glucosa / índice HOMA alterado. Las alteraciones metabólicas representan un **40% del IAI** en CASCO.

Los valores de cada medición y los puntos correspondientes se indican en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Parámetros, valores y puntos correspondientes a la componente de las Alteraciones Metabólicas.

Parámetro	Valores	Puntos
Albumina	< 3,2 g/dL	1
Pre-albumina	< 1,6 mg/dL	1
Lactato	> 2,2 mM	1
Triglicéridos	> 200 mg/dL	1
Anemia	Hb < 12 g/dL	1
Urea	> 50 mg/dL	1
Niveles en suero de ROS	> 300 FORTU	1
Test de tolerancia a la glucosa /índice HOMA alterado		1

En estas valoraciones, se otorga la puntuación de 1 cuando el resultado del análisis es inferior o superior a los niveles de una persona sana según el parámetro analizado.

### 1.2.3. INMUNOSUPRESIÓN

Finalmente, la Inmunosupresión puede ser un marcador temprano de caquexia, ya que puede aparecer antes de que se produzca cualquier pérdida de peso (Faber *et al.*, 2009). Por tanto, se considera que la medición de la respuesta inmune podría ser también un buen indicador para un sistema de clasificación de caquexia. Para valorar la inmunosupresión, se miden los valores absolutos de los linfocitos obteniendo una puntuación de 4 en CASCO los valores inferiores a 1200/ $\mu$ L. El peso de la Inmunosupresión se ha establecido en un **20% de IAI** en CASCO.

### 1.3. ACTIVIDAD FÍSICA

El tercer componente se relaciona con la actividad física. Fue incluido en CASCO puesto que una disminución relativamente pequeña en la masa muscular debido al síndrome caquético, puede hacer que se produzca un descenso significativo en las actividades físicas que están relacionadas con la funcionalidad muscular (Maddocks *et al.*, 2010; Fouladium *et al.*, 2007). Por lo tanto, consideramos que la medición de la actividad física es un componente esencial de cualquier sistema de clasificación de caquexia.

El peso establecido para la Actividad Física es de un **15%** de la escala de caquexia (Tabla 9). Para valorar este componente se utiliza, o bien 1) un cuestionario subjetivo sobre la Actividad Física, o bien 2) una monitorización objetiva de la Actividad Física.

#### 1.3.1. CUESTIONARIO SUBJETIVO SOBRE LA ACTIVIDAD FÍSICA.

El cuestionario consta de 5 preguntas que valoran la actividad física durante los 7 días antes (semana anterior) de la medición; las preguntas son las siguientes:

1. *¿Ha notado alguna disminución en particular en las actividades físicas (p.e., en el trabajo, en casa, en el ocio, etc) que normalmente lleva a cabo durante el día?*
2. *¿Tiene alguna dificultad para realizar actividades que requieren un esfuerzo importante, como llevar una bolsa de compra pesada o una maleta?*
3. *¿Ha notado alguna pérdida de la fuerza en la mano?*
4. *¿Le cuesta más trabajo subir escaleras?*
5. *¿Se ha sentido cansado(a) después de caminar aproximadamente medio kilómetro?*

Las preguntas 1, 3, 4 y 5 fueron diseñadas en base a las pruebas de monitorización ya que si éstas no son posibles, las preguntas pueden suplir estas valoraciones. La pregunta 2 fue extraída del 1995 EORTC Quality of life Group. QLQ-C30 y es usada con permiso de la European Organisation for Research and Treatment of Cancer.

Las opciones de respuesta para este cuestionario son 4, y se muestran en la Tabla 7 junto con la puntuación correspondiente.

**Tabla 7.** Opciones de respuesta y puntuación del componente Actividad Física según el cuestionario subjetivo.

Preguntas	Opción de respuesta			
	En absoluto	Un poco	Bastante	Mucho
Puntos (Preguntas 1 y 2)	0	1,5	3	4,5
Preguntas 3, 4 y 5 Puntos (Preguntas 3-5)	0	1	1,5	2

### 1.3.2. MONITORIZACIÓN OBJETIVA DE LA ACTIVIDAD FÍSICA

Por su parte, la monitorización objetiva de la Actividad Física se realiza mediante la medición de:

1. la reducción de la actividad total,
2. la reducción de la fuerza de la mano,
3. la reducción de la subida de escaleras,
4. la reducción de la distancia caminada en 6 minutos.

Al tratarse de reducciones en cada uno de los parámetros medidos, es indispensable que exista una medida inicial tomada el día en que se aplica el cuestionario CASCO, y una segunda medida tomada en la segunda visita del paciente al hospital u oncólogo. El resultado de estas mediciones es expresado en forma de porcentaje de reducción.

La puntuación para la monitorización de la Actividad Física según la monitorización objetiva corresponde a:

- Reducción de la Actividad Total: Un porcentaje inferior a 25 equivale a 0 puntos; un porcentaje de 25 a 50 equivale a 3 puntos; un porcentaje de 51 a 75 equivale a 6 puntos y un porcentaje de 76 a 100 equivale a 9 puntos.
- La puntuación para la reducción de la fuerza de la mano, reducción al subir escaleras, y la reducción de la distancia caminada en 6 minutos, corresponde a la siguiente clasificación: un porcentaje menor a 25 equivale a 0 puntos; un porcentaje de 25 a 50 es equivalente a 1 punto; un porcentaje de 51 a 75 equivale a 1,5 puntos y una puntuación de 76 a 100 es equivalente a 2 puntos.

Cuando la valoración de la monitorización objetiva es posible sólo cuenta la puntuación de ésta; de no ser posible obtener estos resultados en la puntuación final de CASCO, sólo se tiene en cuenta el cuestionario subjetivo de Actividad



Física, que como se indicó anteriormente, presenta una relación de las mediciones hechas en la monitorización de la Actividad Física.

#### 1.4. ANOREXIA

La anorexia es el cuarto componente de CASCO. La anorexia es una característica común en pacientes que padecen caquexia cancerosa (Laviano *et al.*, 2005). El peso que se aplicó al componente de Anorexia fue un **15%** de la escala CASCO (Tabla 9).

Para evaluar si un paciente presenta anorexia utilizamos el cuestionario SNAQ, que es una forma sencilla y rápida de valorar la anorexia (para mayor información, ver introducción apartado 3.2.15.2). Este cuestionario consta de 4 preguntas con 5 opciones de respuesta, que valoran las ganas de comer, la sensación de saciedad, el sabor y la cantidad de la comida ingerida.

Las preguntas y opciones de respuesta son:

1. Mi apetito es: a. *Muy pobre;* b. *Pobre;* c. *Normal;* d. *Bueno;* e. *Muy bueno.*
2. Cuando como: a. *Me siento saciado después de comer sólo unos pocos bocados;* b. *Me siento saciado después de comer un tercio de una comida;* c. *Me siento saciado después de comer media comida;* d. *Me siento saciado después de comer la mayor parte de la comida;* e. *Difícilmente me siento saciado.*
3. La comida me sabe: a. *Sin sabor;* b. *Mal;* c. *Normal;* d. *Bien;* e. *Muy bien.*
4. Normalmente como: a. *Menos de una comida al día;* b. *Una comida al día;* c. *Dos comidas al día;* d. *Tres comidas al día;* e. *Más de tres comidas al día.*

Los puntos correspondientes a cada respuesta dada por el sujeto, se asignan de la siguiente manera: a=1, b=2, c=3, d=4, e=5. La suma de la puntuación individual de los ítems constituye la puntuación del cuestionario. Para que la puntuación obtenida pueda ser sumada a CASCO, se asignó la siguiente equivalencia:

- Un sujeto que obtenga 20 puntos en el cuestionario SNAQ, representa que no tiene anorexia; por tanto obtiene cero puntos en Anorexia en la escala CASCO;
- una puntuación entre 13 a 19 en el SNAQ es equivalente a 3 puntos en Anorexia en CASCO;
- una puntuación entre 11 a 12 puntos en el SNAQ equivalen a 6 puntos en Anorexia en CASCO;
- una puntuación entre 8 a 10 puntos en el SNAQ representan 9 puntos en Anorexia en CASCO;
- una puntuación entre 6 a 7 puntos en el SNAQ equivalen a 12 puntos en Anorexia en CASCO;
- una puntuación entre 1 a 5 puntos en el SNAQ representan 15 puntos en Anorexia en CASCO.

### 1.5. CALIDAD DE VIDA

Finalmente el último componente de CASCO es la calidad de vida. Los cambios en el peso corporal, la disminución de la actividad física y las alteraciones metabólicas, se ven reflejadas en la calidad de vida. Por tanto, es esencial considerarla (Fouladium *et al.*, 2007; Granda-Cameron *et al.*, 2010). Para valorar la calidad de vida utilizamos el cuestionario de calidad de vida, que es un cuestionario de 25 preguntas, que corresponde a una adaptación del cuestionario QLQ-C3 y son usada con permiso de la European Organisation for Research and Treatment of Cancer. De la misma manera que el cuestionario de Actividad Física,

el cuestionario de Calidad de Vida hace la valoración de la calidad de vida durante la semana anterior a la medición. Las preguntas del cuestionario son:

1. *¿Tiene que permanecer en la cama o sentado en una silla durante el día?*
2. *¿Necesita ayuda para comer, vestirse, asearse o ir al servicio?*
3. *¿Ha tenido algún impedimento para hacer su trabajo u otras actividades cotidianas?*
4. *¿Ha tenido algún impedimento para realizar sus aficiones u otras actividades de ocio?*
5. *¿Tuvo sensación de falta de aire o dificultad para respirar?*
6. *¿Ha tenido dolor?*
7. *¿Necesitó parar para descansar?*
8. *¿Ha tenido dificultades para dormir?*
9. *¿Se ha sentido débil?*
10. *¿Ha tenido náuseas?*
11. *¿Ha vomitado?*
12. *¿Ha estado estreñado/a?*
13. *¿Ha tenido diarrea?*
14. *¿Interfirió algún dolor en sus actividades diarias?*
15. *¿Ha tenido dificultades en concentrarse en cosas como leer el periódico o ver la televisión?*
16. *¿Se sintió nervioso/a?*
17. *¿Se sintió preocupado/a?*
18. *¿Se sintió irritable?*
19. *¿Se sintió deprimido/a?*
20. *¿Ha tenido dificultades para recordar cosas?*
21. *¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en su vida familiar?*

22. *¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en sus actividades sociales?*

23. *¿Le han causado problemas económicos su estado físico o el tratamiento médico?*

24. *¿Cómo valoraría su salud general durante la semana pasada?*

25. *¿Cómo valoraría su calidad de vida en general durante la semana pasada?*

Las opciones de respuesta en este caso son 4, la misma categoría para las preguntas 1 a la 23 y diferente categoría para las preguntas 24 y 25. En la Tabla 8 se muestran las categorías y puntuaciones correspondientes.

**Tabla 8.** Opciones de respuesta y puntuación del componente Calidad de Vida.

Preguntas	Opciones de respuesta			
<b>Preguntas 1 a 23</b>	En lo absoluto	Un poco	Bastante	Mucho
<b>Puntos</b>	1	2	3	4
<b>Preguntas 24 y 25</b>	Excelente	Bueno	Malo	Muy malo
<b>Puntos</b>	1	2	3	4

La puntuación final corresponde a la suma de los puntos que se clasifica de la siguiente manera:

- Una puntuación final menor o igual a 25 equivale a cero en la escala CASCO;
- una puntuación mayor que 25 y menor o igual que 50 equivale a 3 puntos,
- una puntuación mayor que 50 y menor o igual que 75 equivale a 5 puntos
- una puntuación mayor que 75 equivale a 10 puntos en CASCO.

A la Calidad de Vida se le ha otorgado un peso de un **10%** de la escala CASCO (Tabla 9).

**Tabla 9.** Tabla resumen de los componentes de CASCO, las medidas realizadas y los porcentajes correspondientes.

Síntoma	%	Medida	Parámetro
PÉRDIDA DE PESO Y COMPOSICIÓN CORPORAL (BWC)	40	Pérdida de peso	
		Composición corporal	
INFLAMACIÓN / ALTERACIONES METABÓLICAS / INMUNOSUPRESIÓN (IAI)	20	Inflamación	CRP en suero
			IL-6 en suero
		Alteraciones metabólicas	Albúmina en suero
			Pre-albúmina en suero
			Lactato en suero
			Triglicéridos en suero
			Urea en suero
			Anemia
			Nivel plasmático de ROS
			Test de tolerancia a la glucosa
		Índice HOMA alterado	
Inmunosupresión	Número Absoluto de linfocitos		
ACTIVIDAD FÍSICA (AFI)	15		Cuestionario de 5 preguntas relacionadas con la actividad física.  Pregunta 2 traducida literalmente del 1995 EORTC grupo de calidad de vida. Extraída del QLQ-C30 y usada con permiso
ANOREXIA (ANO)	15		Cuestionario de 4 preguntas extraídas del cuestionario SNAQ de St. Louis VA Medical Center. Usado con permiso
CALIDAD DE VIDA (CDV)	10		Cuestionario de 25 preguntas traducidas literalmente del 1995 EORTC Grupo de Calidad de Vida. Usadas con permiso

## 1.6. CUESTIONARIO CASCO

El cuestionario CASCO es la herramienta diseñada para la recogida de los datos. Refleja los cinco componentes, los parámetros analizados, los puntos correspondientes a cada medición, y los cálculos necesarios para dar la puntuación final y la correspondiente clasificación. Fue diseñado por nuestro grupo de investigación en colaboración con el Dr. Serpe, integrante del grupo de la Dra. Maddedu de la Università degli Studi di Cagliari (Italia). El diseño informático fue elaborado en colaboración con el grupo de trabajo encabezado por Lourdes Jordi y realizado por Salvador Mena, responsable del Área de Investigación por contrato de la Fundació Bosch i Gimpera (UB).

El cuestionario consta de 8 partes y se detalla en el Anexo 1:

- La primera parte (Figura 20) corresponde a los datos personales del sujeto, enfermedad que padece, tipo de tratamiento que recibe, y el diagnóstico subjetivo de caquexia por un oncólogo especializado, que forma parte del cuestionario durante el proceso de validación (la información respecto a la pregunta al oncólogo especializado se explica con mayor detalle en el apartado 1.9. de resultados).

**CACHEXIA SCORE**  
**CUESTIONARIO CASCO**  
 (Edición sometida a validación)

País  Código del paciente Select . 0 . .

Número de referencia

Iniciales del paciente

Fecha de nacimiento

Fecha

Enfermedad subyacente

**Tratamiento**  
 (fármacos, nutrición, otros)

Antes de aplicar CASCO, cual es su percepción de gravedad de la caquexia del paciente valorado en la escala siguiente:(normal, ausencia del cuadro caquético) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (terminal, caquexia evidente)

Grado de caquexia

**Figura 20.** Primera sección del cuestionario CASCO.

- En la segunda parte (Figura 21) se encuentran los valores calculados para cada uno de los componentes de CASCO, la puntuación final de CASCO y la correspondiente clasificación.

Valores calculados

PCC	IAI	AFI	ANO	CDV
0	0	0	0	0

NIVEL DE CAQUEXIA 0 Clasificado como

Figura 21. Segunda parte del cuestionario CASCO.

- La tercera parte (Figura 22) hace referencia al primer componente de CASCO: **Pérdida de peso y Composición Corporal**. Aparte de la clasificación de la Pérdida de Peso y la Masa Corporal Magra, el cuestionario cuenta con una casilla destinada para escribir el tipo de metodología utilizada para hacer la medición de la masa magra y tres casillas correspondientes al cálculo de la pérdida de peso en el sujeto. Esta parte es de gran importancia y ayuda al médico, puesto que se tiene un registro previo de la pérdida o ganancia de peso que puede ser comparada de manera más exacta en una segunda valoración.

**PÉRDIDA DE PESO Y COMPOSICIÓN CORPORAL (PCC)**

**Pérdida de peso corporal**

- < 5%
- > ó igual al 5%, leve
- > ó igual al 10%, moderada
- > ó igual al 15%, severa
- > ó igual al 20%, terminal

**Masa Corporal Magra (MCM)**

- Sin cambios en MCM
- Pérdida de MCM > 10 %

Metodología

Peso inicial

Peso final

% Pérdida de peso

Figura 22. Tercera parte del cuestionario CASCO

- En la cuarta parte (Figura 23) del cuestionario se encuentra el segundo componente de CASCO: **Inflamación / Alteraciones Metabólicas / Inmunosupresión**. A su vez, se encuentra dividida en 3 apartados que

corresponden a los resultados de las valoraciones de la 1) Inflamación (CRP e IL-6), 2) Alteraciones Metabólicas (Albúmina, Pre-Albúmina, Lactato, Triglicéridos, Anemia (nivel de hemoglobina), Urea, Niveles en plasma de ROS y Test de tolerancia a la glucosa / Índice HOMA (*H*OMeostasis *M*odel *A*ssessment) alterado), y 3) la última parte correspondiente a la Inmunosupresión (valores absolutos de linfocitos).

**INFLAMACIÓN / ALTERACIONES METABÓLICAS / INMUNOSUPRESIÓN (IAI)**

<b>INFLAMACIÓN</b>	<b>CRP en suero</b>	<b>IL6 en suero</b>	
	<input type="checkbox"/> 5 mg/l ≤ CRP ≤ 10 mg/l	<input type="checkbox"/> 4 pg/ml ≤ IL6 ≤ 10 pg/ml	
	<input type="checkbox"/> 10 mg/l < CRP ≤ 20 mg/l	<input type="checkbox"/> 10 pg/ml < IL6 ≤ 30 pg/ml	
	<input type="checkbox"/> CRP > 20 mg/l	<input type="checkbox"/> IL6 > 30 pg/ml	
	<input type="checkbox"/> Valor normal ó no analizado	<input type="checkbox"/> Valor normal ó no analizado	
<b>ALTERACIONES METABÓLICAS*</b>	<input type="checkbox"/> Albúmina en suero < 3.2 g/dL	<input type="checkbox"/> Anemia: Hb < 12 g/dL	
	<input type="checkbox"/> Pre-Albúmina en suero < 1.6 mg/dL	<input type="checkbox"/> Urea en suero > 50 mg/dL	
	<input type="checkbox"/> Lactato en suero > 2.2 mM	<input type="checkbox"/> Niveles en suero de ROS > 300 FORT U	
	<input type="checkbox"/> Triglicéridos en suero > 200 mg/dL	<input type="checkbox"/> Test de tolerancia a la glucosa/Índice HOMA alterado	
	* Los parámetros no analizados deben dejarse en blanco		
	Glucosa <input type="text"/>	Insulina <input type="text"/>	I. HOMA <input type="text"/>
<b>INMUNOSUPRESIÓN*</b>	<input type="checkbox"/> Valores absolutos de linfocitos		
* Los parámetros no analizados deben dejarse en blanco			

Copyright © 2011 Universitat de Barcelona  
 Autores: Josep M. Argilés, Francisco J. López-Soriano y Sílvia Busquets

Pag 2 de 5

Figura 23 Cuarta sección del cuestionario CASCO.

- La quinta parte (Figura 24) hace referencia a la Actividad Física, en particular al cuestionario subjetivo de la Actividad Física.



Estamos interesados en recoger información sobre su estado de salud. Por favor, responda a todas las preguntas. No hay respuestas correctas o incorrectas. La información suministrada se conservará en la más estricta confidencialidad.

**ACTIVIDAD FÍSICA (AFI)**

Durante la semana pasada:

	En absoluto	Un poco	Bastante	Mucho
1. ¿Ha notado alguna disminución en particular en las actividades físicas (p.e., en el trabajo, en casa, en el ocio, etc) que normalmente lleva a cabo durante el día?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2. ¿Tiene alguna dificultad para realizar actividades que requieren un esfuerzo importante, como llevar una bolsa de compra pesada o una maleta? [1]	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3. ¿Ha notado alguna pérdida de la fuerza en la mano?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4. ¿Le cuesta más trabajo subir escaleras?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5. ¿Se ha sentido cansado(a) después de caminar aproximadamente medio kilómetro?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

[1] La pregunta 2 ha sido extraída del 1995 EORTC Quality of Life Group. QLQ-C30. Usada con permiso

Figura 24. Quinta parte del cuestionario CASCO.

- En el sexto apartado (Figura 25) se encuentra el cuestionario para valorar la Anorexia (*Simplified Nutrition Assessment Questionnaire* o SNAQ).

**ANOREXIA (ANO) [2]**

<p><b>1. Mi apetito es:</b></p> <p><input type="radio"/> Muy pobre</p> <p><input type="radio"/> Pobre</p> <p><input type="radio"/> Regular</p> <p><input type="radio"/> Bueno</p> <p><input type="radio"/> Muy bueno</p>	<p><b>2. Cuando como:</b></p> <p><input type="radio"/> Me siento saciado después de comer sólo unos pocos bocados</p> <p><input type="radio"/> Me siento saciado después de comer un tercio de una comida</p> <p><input type="radio"/> Me siento saciado después de comer media comida</p> <p><input type="radio"/> Me siento saciado después de comer la mayor parte de la comida</p> <p><input type="radio"/> Difícilmente me siento saciado</p>
<p><b>3. La comida me sabe:</b></p> <p><input type="radio"/> Muy mal</p> <p><input type="radio"/> Mal</p> <p><input type="radio"/> Regular</p> <p><input type="radio"/> Bien</p> <p><input type="radio"/> Muy bien</p>	<p><b>4. Normalmente como:</b></p> <p><input type="radio"/> Menos de una comida al día</p> <p><input type="radio"/> Una comida al día</p> <p><input type="radio"/> Dos comidas al día</p> <p><input type="radio"/> Tres comidas al día</p> <p><input type="radio"/> Más de tres comidas al día</p>

[2] Las preguntas 1-4 han sido extraídas del SNAQ del programa GRECC de St Louis del ST Louis VA Center. Usado con permiso

Figura 25. Sexta parte del cuestionario CASCO.

- La séptima parte (Figura 26) corresponde al cuestionario de Calidad de Vida (adaptación del QLQ-C30 y utilizado con permiso de EORTC Quality of Life Group).

**CALIDAD DE VIDA (CDV)**

Durante la semana pasada:	En absoluto	Un poco	Bastante	Mucho
1. ¿Tiene que permanecer en la cama o sentado en una silla durante el día?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2. ¿Necesita ayuda para comer, vestirse, asearse o ir al servicio?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3. ¿Ha tenido algún impedimento para hacer su trabajo u otras actividades cotidianas?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4. ¿Ha tenido algún impedimento para realizar sus aficiones u otras actividades de ocio?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5. ¿Tuvo sensación de falta de aire o dificultad para respirar?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
6. ¿Ha tenido dolor?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
7. ¿Necesitó parar para descansar?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
8. ¿Ha tenido dificultades para dormir?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
9. ¿Se ha sentido débil?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10. ¿Ha tenido náuseas?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
11. ¿Ha vomitado?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
12. ¿Ha estado estreñido?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
13. ¿Ha tenido diarrea?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
14. ¿Interfirió algún dolor en sus actividades diarias?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
15. ¿Ha tenido dificultades en concentrarse en cosas como leer el periódico o ver la televisión?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
16. ¿Se sintió nervioso/a?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
17. ¿Se sintió preocupado/a?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
18. ¿Se sintió irritable?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
19. ¿Se sintió deprimido/a?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
20. ¿Ha tenido dificultades para recordar cosas?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
21. ¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en su vida familiar?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
22. ¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en sus actividades sociales?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
23. ¿Le han causado problemas económicos su estado físico o el tratamiento médico?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Excelente	Bueno	Malo	Muy malo
24. ¿Cómo valoraría su salud general durante la semana pasada?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
25. ¿Cómo valoraría su calidad de vida en general durante la semana pasada?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Las preguntas 1-25 tienen copyright de 1995 EORTC QLQ. Extraídas del QLQ-C30 y utilizadas con permiso

**Figura 26.** Séptima sección del cuestionario CASCO.

- Y finalmente la octava parte (Figura 27) corresponde a la monitorización objetiva de la Actividad Física (Actividad total, fuerza de la mano, subida de escaleras, distancia caminada en 6 minutos).

**ACTIVIDAD FISICA (AFI) (Cont.)**

**Monitorización**

La monitorización tendrá lugar al tiempo que se llena el cuestionario, normalmente en el momento del diagnóstico. Si no está disponible la monitorización, se usará siempre el cuestionario. El primer cálculo del nivel de caquexia utilizará los valores del cuestionario. Los cálculos posteriores usarán los valores monitorizados de acuerdo con la siguiente escala:

**1. Actividad Total:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>Actividad Total</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

**2. Fuerza de la mano:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>Fuerza de la mano</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

**3. Subida de escaleras:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>Subida de escaleras</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

**4. Distancia caminada en 6 minutos:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>distancia caminada en 6 minutos</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

**Figura 27.** Octava parte del cuestionario CASCO.

El cuestionario CASCO fue traducido al idioma inglés, español, italiano y portugués, ya que hemos trabajado en su validación con grupos de Italia y Brasil, y además porque esperamos que CASCO sea una herramienta utilizada en diferentes centros médicos y hospitales.

**1.7. CLASIFICACIÓN DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO**

Teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión descritos en el apartado de Materiales y Métodos 1.6.1, los sujetos del estudio se clasificaron de la siguiente manera (Tabla 10).

**Tabla 10.** Clasificación sujetos del estudio (total pacientes y controles n =281).

Sujetos del estudio	Clasificación	Enfermedad	
<b>Controles</b>	Sujetos sanos		n= 95
	Pacientes sin enfermedad oncológica	Enfermedad de Parkinson, enfermedades autoinmunes, gastritis, asma, hipertensión, rinitis alérgica, dolores musculares, niveles elevados de colesterol	
<b>Pacientes oncológicos</b>	Carcinoma	Tracto digestivo, pulmón, ginecológicos, cabeza y cuello, próstata, neuroendocrino y urinario	n= 186
	Otros	Mesotelioma, linfoma y sarcoma	

## 1.8. ANÁLISIS BIOMÉTRICO DE LA ESCALA CASCO

### 1.8.1. ANÁLISIS DE FIABILIDAD DE CASCO

Se realizó un estudio de fiabilidad para estimar la consistencia interna de tres de los componentes de CASCO (Actividad Física, Anorexia y Calidad de Vida). Se calculó el estadístico  $\alpha$  de Cronbach (el indicador más utilizado para estimar la consistencia interna), con el que se estudió la concordancia entre las puntuaciones de los sujetos entre los ítems y el total de la escala (Abad *et al.*, 2011).

En los componentes **Actividad Física** y **Calidad de Vida** se obtuvo un  $\alpha$  de Cronbach con valores de 0,928, y 0,945 respectivamente, los cuales corresponden a un nivel excelente de fiabilidad. En el componente **Anorexia** el  $\alpha$  de Cronbach alcanzó un valor de 0,793, lo que corresponde a un nivel bueno (Muñiz 2005). Estos resultados aportan una evidencia que indica que los tres factores estudiados son consistentes y estables en sus mediciones.

### 1.8.2. ANÁLISIS DE LA VALIDEZ DE CONSTRUCTO

Los estudios de validez aportan significado a las puntuaciones que estamos obteniendo, permitiéndonos conocer si el uso que pretendemos hacer de ellas es o no adecuado.

Una vez estimada la fiabilidad de los tres componentes de CASCO nombrados en el apartado anterior, se aplicó una técnica para reducir la dimensionalidad de cada uno de los componentes de CASCO, con el objetivo de agrupar las variables correlacionadas entre sí en dimensiones más generales. Con esto se espera que los factores extraídos expliquen una importante proporción de la varianza, de forma que puedan ser utilizadas para representar a esas variables (Abat *et al.*, 2011). En los tres casos (Actividad Física, Anorexia y Calidad de Vida) la técnica para reducir la dimensionalidad fue el Análisis de Componentes Principales.

Previamente se analizaron diferentes medidas de adecuación para saber si se daban las condiciones para reducir la dimensionalidad en los tres componentes. Para ello se utilizó la medida de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO), que evalúa la dependencia de las variables, y la prueba de esfericidad de Barlett, obteniéndose para el componente de **Actividad Física** un valor de KMO de 0,887 y para la prueba de esfericidad de Barlett un valor de  $\chi^2$  de 1028,274 con 10 grados de libertad y un grado de significación estadística  $p < 0,001$ . Para el componente de **Anorexia** se obtuvo un valor de KMO de 0,775 y para la prueba de esfericidad de Barlett un valor de  $\chi^2$  de 369,735 con 6 grados de libertad y un grado de significación estadística  $p < 0,001$ . Finalmente, para el componente de **Calidad de Vida** el valor de KMO fue de 0,929 y para la prueba de esfericidad de Barlett el valor de  $\chi^2$  fue 4038,972 con 300 grados de libertad y un grado de significación estadística de  $p < 0,001$ .

Los resultados muestran que en los tres componentes de CASCO analizados tiene sentido reducir la dimensionalidad, puesto que en cada uno de ellos el modelo no se ajusta a esfericidad y, por tanto, las variables presentan correlación entre ellas.

Posterior a la estimación de la adecuación muestral se procedió a utilizar la técnica de Análisis de Componentes Principales, con el objetivo básico de reducir, simplificar y estructurar la información inicial del número de variables introducidas en los tres componentes de CASCO. En función de los resultados, se tomaron como nuevas variables los factores hallados, estableciendo puntos de corte para los autovalores y pesos, de modo tal que la pérdida de la varianza total fuera la mínima. A continuación se presentan los resultados de este análisis.

- En el componente de **Actividad Física** se explica el 77,82% de la varianza con un factor, mostrando que es una escala unidimensional. La Tabla 11 muestra las cargas factoriales para los ítems en Actividad Física. La menor

carga factorial obtenida fue 0,816 (en la siguiente pregunta: *¿Ha notado alguna pérdida de fuerza en la mano?*) y la mayor fue de 0,913 (*¿Le cuesta más trabajo subir escaleras?*).

**Tabla 11.** Matriz de componentes de las variables de Actividad Física con sus cargas factoriales en un factor.

Ítems	1 Factor
¿Ha notado alguna disminución en particular en las actividades físicas (p.e., en el trabajo, en casa, en el ocio, etc) que normalmente lleva a cabo durante el día?	0,885
¿Tiene alguna dificultad para realizar actividades que requieren un esfuerzo importante, como llevar una bolsa de compra pesada o una maleta?	0,893
¿Ha notado alguna pérdida de fuerza en la mano?	0,816
¿Le cuesta más trabajo subir escaleras?	0,913
¿Se ha sentido cansado(a) después de caminar aproximadamente medio kilómetro?	0,9
<b>% Varianza explicada</b>	<b>77,82</b>

Todas significativas a un nivel  $p < 0,01$

- Para el componente de **Anorexia** se explica el 63,44% de la varianza con un factor. De igual manera que en la Actividad Física, el componente de anorexia es unidimensional. En este caso, la menor carga factorial fue 0,605 (*“Normalmente como”...*) y la mayor fue de 0,867 (*“Cuando como”...*) (Tabla 12).

**Tabla 12.** Cargas factoriales de las variables de Anorexia en un factor.

Items	1 Factor
Mi apetito es :	0,862
Cuando como:	0,867
la comida me sabe:	0,822
Normalmente como:	0,605
<b>% Varianza explicada</b>	<b>63,44</b>

Todas significativas a un nivel  $p < 0,01$

- En el caso del componente de **Calidad de Vida** se explica el 44,22% de la varianza con un factor, mostrando ser una escala unidimensional. La Tabla 13 muestra las cargas factoriales para los ítems en calidad de vida. Los valores obtenidos van de 0,395 (“¿Ha tenido diarrea?”) a 0,82 (“¿Necesitó parar para descansar?”).

**Tabla 13.** Cargas factoriales de las variables de Calidad de Vida en un factor.

Ítems	1 Factor
¿Tiene que permanecer en la cama o sentado en una silla durante el día?	0,78
¿Ha tenido algún impedimento para hacer su trabajo u otras actividades cotidianas?	0,796
¿Necesita ayuda para comer, vestirse, asearse o ir al servicio?	0,444
¿Ha tenido algún impedimento para realizar sus aficiones u otras actividades de ocio?	0,742
¿Tuvo sensación de falta de aire o dificultad para respirar?	0,627
¿Ha tenido dolor?	0,707
¿Necesitó para para descansar?	0,82
¿Ha tenido dificultades para dormir?	0,709
¿Se ha sentido débil?	0,709



Ítems	1 Factor
¿Ha tenido náuseas?	0,609
¿Ha vomitado?	0,493
¿Ha estado estreñado?	0,455
¿Ha tenido diarrea?	0,395
¿Interfirió algún dolor en sus actividades diarias?	0,716
¿Ha tenido dificultades en concentrarse en cosas como leer el periódico o ver la televisión?	0,661
¿Se sintió nervioso/a?	0,56
¿Se sintió preocupado/a?	0,623
¿Se sintió irritable?	0,472
¿Se sintió deprimido/a?	0,657
¿Ha tenido dificultades para recordar cosas?	0,531
¿Ha interferido si estado físico o el tratamiento médico en su vida familiar?	0,767
¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en sus actividades sociales?	0,717
¿Le han causado problemas económicos su estado físico o el tratamiento médico?	0,622
¿Cómo valoraría su salud general durante la semana pasada?	0,772
¿Cómo valoraría su calidad de vida en general durante la semana pasada?	0,784
<b>% varianza explicada</b>	<b>44,22</b>

Todas significativas a un nivel  $p < 0,01$

### 1.9. ESTUDIO DE VALIDEZ CONCURRENTENTE

La validez concurrente es el grado hasta el cual el instrumento mide lo mismo que miden otros instrumentos ya existentes, considerados como medidas adecuadas del mismo rasgo; es decir, se da cuando el instrumento evaluado se correlaciona con algún criterio existente que mida lo mismo.

Para estimar la validez concurrente de la escala CASCO se incluyó en el formulario la clasificación del paciente según el diagnóstico subjetivo de caquexia por un oncólogo especializado. Esta clasificación se realiza mediante la siguiente pregunta: *“Antes de aplicar CASCO, ¿cuál es su percepción de gravedad de la caquexia del paciente valorado en una escala de 0 a 10, indicando el 0 ausencia del cuadro caquético y el 10 caquexia evidente en una fase terminal?”*. La respuesta es dada por el médico que valora al paciente, el cual debe ser un experto en el tema y tener conocimiento de la evolución o mejora de la enfermedad en cada sujeto.

De igual manera, se estudió la correlación entre los resultados de la escala CASCO con los resultados de la escala ECOG, una herramienta usada para medir el impacto que tiene la enfermedad de un paciente sobre las actividades de su vida diaria y la calidad de vida (para mayor información acerca de la escala ECOG, ver introducción apartado 3.2.8.1).

Las correlaciones se obtuvieron mediante Rho de Spearman, un coeficiente de correlación que determina si existe una relación estadísticamente significativa entre dos variables con escala ordinal (Tabla 14). La puntuación de caquexia es el valor obtenido de las mediciones en el cuestionario CASCO.

Se obtuvo una correlación excelente (Muñiz 2005) entre la puntuación de caquexia (CASCO) y la clasificación del médico ( $r=0,673$ ;  $p<0,001$ ), teniendo en cuenta para el análisis tanto sujetos pacientes como controles ( $n=264$ ). De igual manera, se

hizo un análisis sólo con los sujetos pacientes (n=169) y se obtuvo una correlación buena (Muñiz 2005) entre la puntuación de caquexia y la clasificación del médico (r=0,412; p<0.001). Estos resultados muestran que CASCO es un instrumento válido que puede ser utilizado para identificar y clasificar la caquexia.

**Tabla 14.** Validación concurrente escala CASCO. Correlaciones con criterios convergentes.

		Diagnóstico subjetivo de caquexia por un oncólogo especializado		Escala ECOG
		Pacientes y Controles	Pacientes	Pacientes
<b>CASCO</b>	<b>r=</b>	0,673 **	0,412**	0,290 **

\*\*p< 0.01.

Por otro lado, se obtuvo una correlación suficiente (Muñiz 2005) entre la puntuación de caquexia y la escala ECOG (Tabla 14 r=0.290; p<0.001), resultado esperable puesto que la escala ECOG valora el estado de salud general y las actividades diarias que un paciente puede llevar a cabo. La significación estadística existente puede atribuirse a que dentro de la escala ECOG hay medidas que pueden ser similares a mediciones realizadas en CASCO, pero que en este caso no valoran la caquexia. Un ejemplo de esto es la valoración que hace el ECOG respecto a los síntomas que impiden realizar trabajos: el enfoque que tiene la medición hace referencia a un estado general con restricción o no de la actividad física, pero no directamente a un estado caquético.

### 1.10. ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS PARA LA ESCALA CASCO

En el planteamiento teórico de la escala CASCO se postuló que la caquexia puede ser clasificada en 4 estadios: leve, moderada, severa y fase terminal, dependiendo

los síntomas que tenga el paciente y la severidad de éstos. Para establecer si estos 4 estadios se encontraban presentes en la muestra de pacientes estudiada (n=186) se realizó un análisis de conglomerados, para clasificar grupos de sujetos con datos similares (Kaufman y Rousseuw 2005). Se utilizó el análisis de conglomerados de K medias calculado con la distancia Euclidiana.

El primer grupo tuvo una media de 13,21 (n=56; SD=3,786; IC 95%= 12,19 – 14,22); el segundo grupo una media de 27,37 (n=58; SD=4,154; IC 95%= 26,28 – 28,46); el tercero presentó un valor medio de 44,94 (n=42; SD=4,38; IC 95%= 43,57 – 46,31); y el cuarto grupo una media de 61,27 (n=30; SD=5,76; IC 95%= 59,12 – 63,42). La Figura 28 muestra un diagrama de cajas con la distribución de los grupos de clasificación según la puntuación de caquexia. El grupo 4 presenta una mayor dispersión en comparación a los grupos 1, 2 y 3, observando que la mayoría de los sujetos de este grupo presentan puntuaciones de caquexia por encima de la mediana.

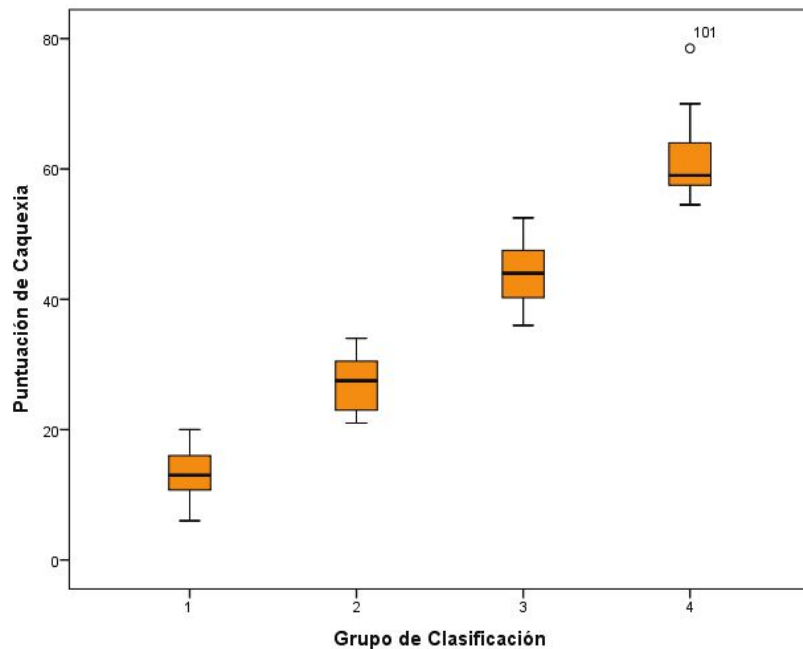


Figura 28. Diagrama de cajas para los grupos de clasificación.

Posteriormente se determinó si las varianzas en los grupos eran iguales. Para esto se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas, utilizando la prueba de Levene como método de análisis. El resultado obtenido fue de 2,346 con 3 grados de libertad (gl) para las diferencias inter-grupos y 165 grados de libertad para las diferencias intra-grupos, con un valor de  $p > 0,05$ . Se cumplió la condición de homogeneidad de varianzas o homoscedasticidad; por lo tanto, tiene sentido hacer un análisis de la varianza y establecer si los grupos son diferentes entre ellos.

Se observó que existía diferencia entre los grupos, con un valor de  $F=810,645$ ;  $gl=3$ ;  $p < 0,01$ . De igual manera se realizó el test de Bonferroni para estudiar la existencia de diferencias entre los pares de grupos. Los resultados de este análisis se observan en la Tabla 15. No se encontró similitud en los grupos, ya que todas las comparaciones presentaban diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ). Se destaca la existencia de una progresión en la diferencia de medias del grupo 1 al grupo 4, siendo la mayor diferencia entre el grupo 1 y 4. Estos resultados aportan una evidencia empírica a favor de la gravedad de los pacientes del grupo 4 en relación al resto. Los sujetos del grupo 1 no tienen caquexia; a medida que aumenta la numeración del grupo también se observa un incremento en los niveles de caquexia; lo que explica que las diferencias entre los grupos extremos, {grupo 1 (sin caquexia) y grupo 4 (nivel más alto de caquexia)} sea mayor.

**Tabla 15.** Comparaciones entre los grupos de clasificación de caquexia. La letra I y J hace referencia al grupo de clasificación.

(I)	(J)	
Grupo de Clasificación	Grupo de Clasificación	Diferencia de medias (I-J)
1	2	-13,882 *
	3	-30,92 *
	4	-48,202 *
2	1	13,882 *
	3	-17,038 *
	4	-34,32 *
3	1	30,92 *
	2	17,038 *
	4	-17,283 *
4	1	48,202 *
	2	34,32 *
	3	17,283 *

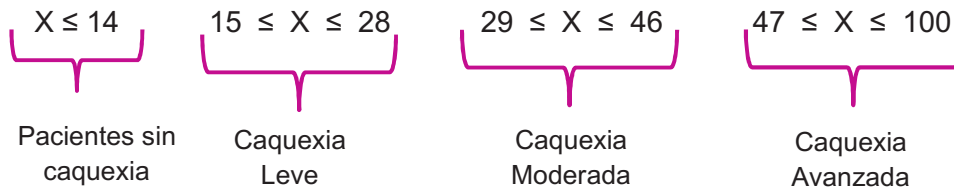
\* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05

### 1.11. ESCALA CASCO

El planteamiento teórico publicado en 2011 dividía la escala en leve, moderada, severa y fase terminal (Argilés et al, 2011). Con el análisis de conglomerados se confirmó que la escala presenta 4 grupos, pero con una clasificación del nivel de caquexia diferente al descrito en el planteamiento teórico. La división de los grupos sería la siguiente:

- Un primer grupo que representa los pacientes sin caquexia.
- El segundo grupo hace referencia a los pacientes con caquexia leve.
- El tercer grupo refiere a los pacientes con caquexia moderada
- Finalmente, el cuarto grupo representa la caquexia en estado avanzado. Esta categoría agrupa los valores de caquexia severa y fase terminal del modelo teórico.

Los puntos de corte para cada grupo se muestran en la figura 29.



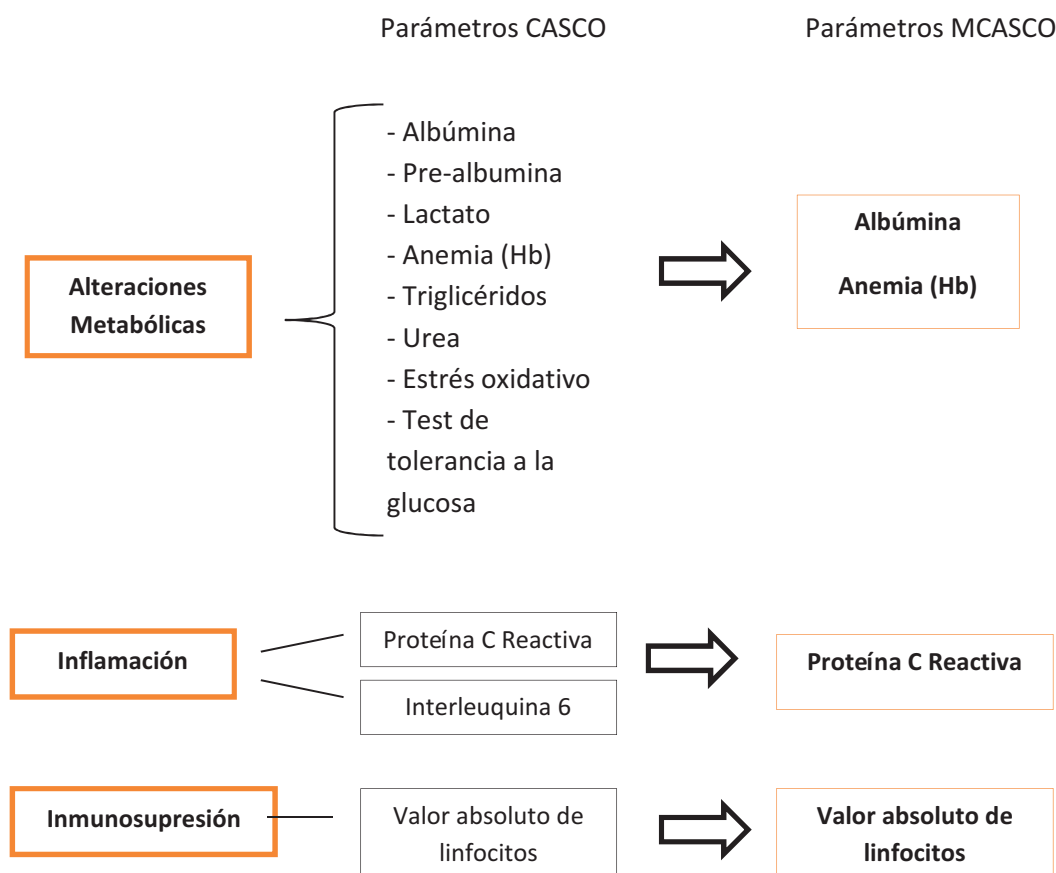
**Figura 29.** Puntos de corte de los 4 grupos clasificados en CASCO

### 1.12. MiniCASCO (MCASCO)

Tras el estudio estadístico de CASCO, se desarrolló un nuevo enfoque para la clasificación del grado de caquexia con una escala simplificada que mantiene los 5 componentes descritos en CASCO: Pérdida de Peso y Composición Corporal, Alteraciones Metabólicas, Inflamación e Inmunosupresión, Actividad Física, Anorexia y Calidad de Vida, pero utilizando los parámetros más relevantes de cada componente. Esta escala recibe el nombre de MiniCASCO (MCASCO) y la reducción de los parámetros a analizar se realizó de la siguiente manera:

- El componente de **Pérdida de Peso y Composición Corporal** se mantiene con las mismas condiciones que en CASCO.
- El componente de **Inflamación, Alteraciones metabólicas e inmunosupresión** se redujo teniendo en cuenta la importancia de cada uno de los parámetros utilizados en la definición del síndrome caquético y su medición en la práctica clínica. De esta manera, este componente quedó reducido a 4 parámetros en vez de 11 (Figura 30).
- Para simplificar los componentes de **Actividad Física y Anorexia** se realizó un Análisis de Consistencia Interna (fiabilidad si se elimina el elemento) y un Análisis Factorial de Componentes Principales (carga factorial). Para ello se calculó en cada componente los valores del  $\alpha$  de

Cronbach, primero con todos los ítems (Tabla 16) y posteriormente excluyendo cada ítem dentro del componente correspondiente (Tablas 17 y 18). En el análisis de Componentes Principales se estimó la carga factorial que representa cada ítem dentro del componente correspondiente (Tablas 19 y 20). Para elegir los ítems a excluir, se tuvieron en cuenta los valores de  $\alpha$  de Cronbach que aumentaron al eliminar el ítem (Tablas 16 y 17), y los ítems con las cargas factoriales más bajas (Tablas 19 y 20). Para eliminar las preguntas menos relevantes, se comparó el valor de  $\alpha$  de Cronbach obtenido con todos los ítems (Actividad física: 5 ítems; Anorexia: 4 ítems; Tabla 16), con los valores de  $\alpha$  de Cronbach obtenidos en cada ítem por separado (Tablas 17 y 18), los ítems con las puntuaciones más bajas fueron eliminados.



**Figura 30.** Reducción parámetros medidos en el componente de Alteraciones Metabólicas, Inflamación e inmunosupresión.



**Tabla 16.** Valor de  $\alpha$  de Cronbach para el componente de Actividad Física y Anorexia.

Componente	$\alpha$ de Cronbach	N de ítems
Actividad Física	0.885	5
Anorexia	0.804	4

**Tabla 17.** Valor de  $\alpha$  de Cronbach al eliminar ítems en el componente de Actividad Física. Los valores con un círculo rojo representan los ítems que cuando son eliminados la consistencia interna aumenta.

Ítems componente Actividad Física	$\alpha$ de Cronbach si se elimina el elemento
¿Ha notado alguna disminución en particular en las actividades física (p.e., en el trabajo, en casa, en el ocio, etc) que normalmente lleva a cabo durante el día?	0.85
¿Tiene alguna dificultad para realizar actividades que requieren un esfuerzo importante, como llevar una bolsa de compra pesada o una maleta?	0.861
¿Ha notado alguna pérdida de la fuerza en la mano?	0.878
¿Le cuesta más trabajo subir escaleras?	0.855
¿Se ha sentido cansado(a) después de caminar aproximadamente medio kilómetro?	0.856

**Tabla 18. Valor de  $\alpha$  de Cronbach al eliminar los ítems en el componente de Anorexia.**

Los valores con un círculo rojo, representan los ítems que cuando son eliminados la consistencia interna aumenta.

Ítems componente Anorexia	$\alpha$ de Cronbach si se elimina el elemento
Mi apetito es:	0.704
Cuando Como:	0.7
La comida me sabe:	0.732
Normalmente como:	0.838

**Tabla 19. Cargas factoriales para el componente de Actividad Física.** Los valores con círculo azul representan los ítems con menor carga factorial.

Ítems Componente Actividad Física	Carga factorial
¿Ha notado alguna disminución en particular en las actividades física (p.e., en el trabajo, en casa, en el ocio, etc) que normalmente lleva a cabo durante el día?	0.885
¿Tiene alguna dificultad para realizar actividades que requieren un esfuerzo importante, como llevar una bolsa de compra pesada o una maleta?	0.893
¿Ha notado alguna pérdida de la fuerza en la mano?	0.816
¿Le cuesta más trabajo subir escaleras?	0.913
¿Se ha sentido cansado(a) después de caminar aproximadamente medio kilómetro?	0.9

Tabla 20. Cargas factoriales para el componente de Anorexia. Los valores con círculo azul representan los ítems con menor carga factorial.

Ítems componente Anorexia	Carga factorial
Mi apetito es:	0.862
Cuando como:	0.867
La comida me sabe:	0.822
Normalmente como:	0.605

De esta manera el componente de **Anorexia** quedo reducido a dos ítems en vez de cuatro (Figura 31), y el componente de **Actividad física** a dos en vez de cinco (Figura 32).

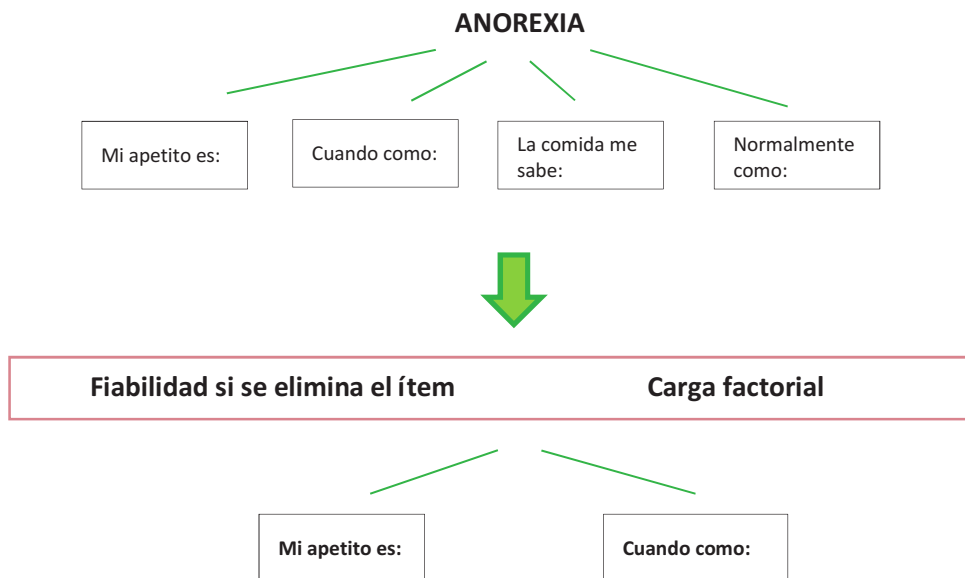
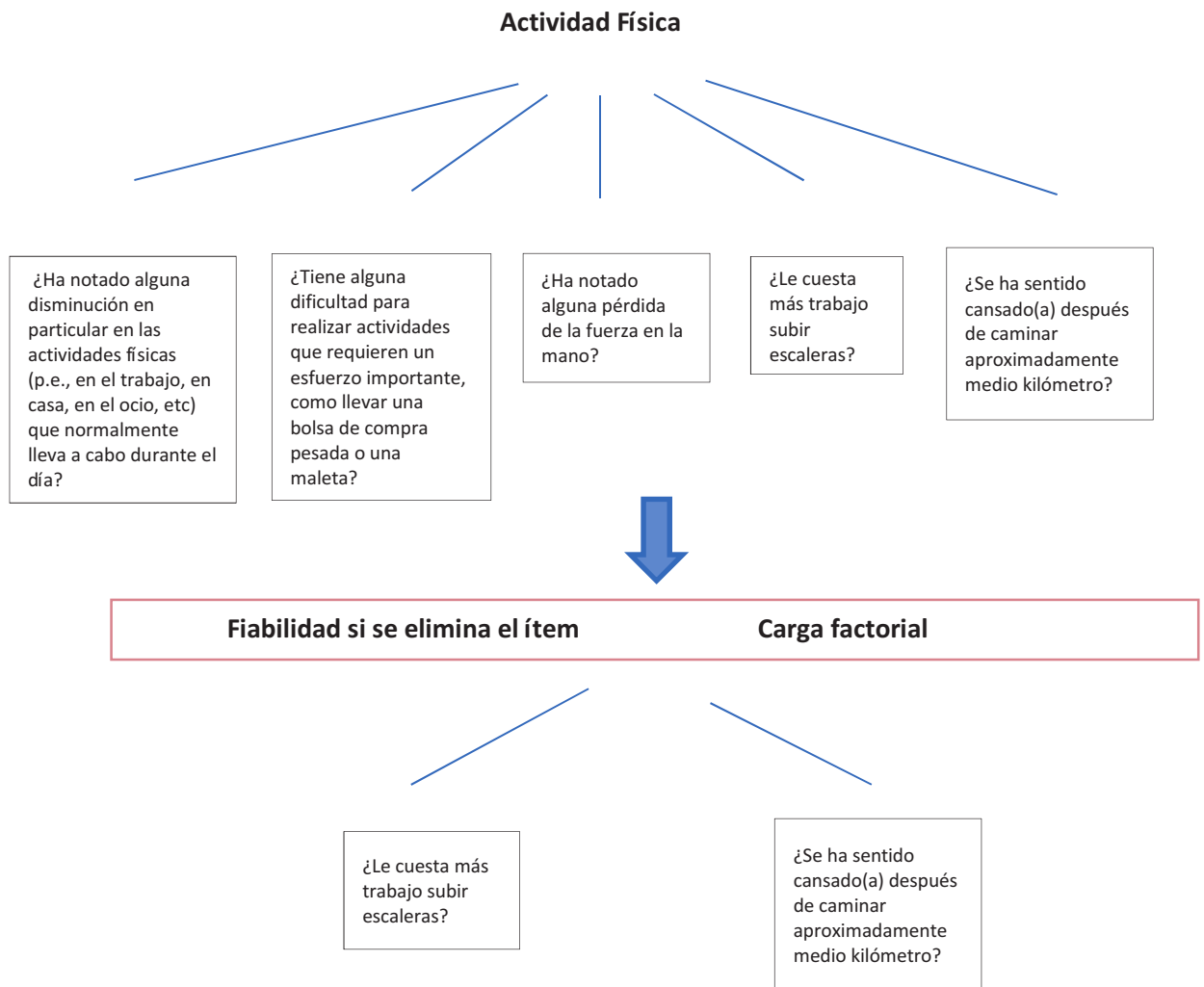


Figura 31. Reducción de ítems del componente de Anorexia.



**Figura 32.** Reducción de ítems del componente de Actividad Física.

- Para reducir el componente de **Calidad de Vida** (25 ítems) se realizó un Análisis de Ítems. De los resultados obtenidos se tuvo en cuenta la ponderación de los pesos de las variables y se utilizó el coeficiente de discriminación, que es un coeficiente de correlación entre las puntuaciones en el ítem y la puntuación global en el cuestionario, como punto de referencia para la eliminación de los ítems. El valor utilizado del coeficiente de discriminación fue 0.3, puesto que es el valor utilizado con mayor frecuencia (Muñiz, 2005). Los ítems con un coeficiente de discriminación inferior a 0.3 fueron eliminados. Los resultados para estos análisis se presentan en la Tabla 21.

**Tabla 21.** Valor del coeficiente de discriminación para los ítems de Calidad de Vida. CDV hace referencia a cada una de las 25 preguntas que configuran el cuestionario de Calidad de Vida. Los valores marcados con un círculo rojo corresponden al ítem a eliminar.

Ítem	Coeficiente de discriminación
CDV 1	0.447
CDV 2	0.190
CDV 3	0.456
CDV 4	0.342
CDV 5	0.217
CDV 6	0.304
CDV 7	0.537
CDV 8	0.266
CDV 9	0.646
CDV 10	0.222
CDV 11	0.209
CDV 12	0.114
CDV 13	0.132
CDV 14	0.310
CDV 15	0.316
CDV 16	0.162
CDV 17	0.188
CDV 18	0.116
CDV 19	0.209
CDV 20	0.187
CDV 21	0.358
CDV 22	0.286
CDV 23	0.206
CDV 24	0.487
CDV 25	0.474

El componente de **Calidad de Vida** quedó reducido a 11 ítems en vez de 25 (Figura 33).

CASCO		MINI CASCO		
N	Ítems	N. CASCO	Ítems	N. MCASCO
1	¿Tiene que permanecer en la cama o sentado en una silla durante el día?	1	¿Tiene que permanecer en la cama o sentado en una silla durante el día?	1
2	¿Ha tenido algún impedimento para hacer su trabajo u otras actividades cotidianas?			
3	¿Necesita ayuda para comer, vestirse, asearse o ir al servicio?	3	¿Necesita ayuda para comer, vestirse, asearse o ir al servicio?	2
4	¿Ha tenido algún impedimento para realizar sus aficiones u otras actividades de ocio?	4	¿Ha tenido algún impedimento para realizar sus aficiones u otras actividades de ocio?	3
5	¿Tuvo sensación de falta de aire o dificultad para respirar?			
6	¿Ha tenido dolor?	6	¿Ha tenido dolor?	4
7	¿Necesitó para para descansar?	7	¿Necesitó para para descansar?	5
8	¿Ha tenido dificultad para dormir?			
9	¿Se ha sentido débil?	9	¿Se ha sentido débil?	6
10	¿Ha tenido náuseas?			
11	¿Ha vomitado?			
12	¿Ha estado estreñido?			
13	¿Ha tenido diarrea?			



CASCO		MINI CASCO		
N	Ítems	N. CASCO	Ítems	N. MCASCO
14	¿Interfirió algún dolor en sus actividades diarias?	14	¿Interfirió algún dolor en sus actividades diarias?	7
15	¿Ha tenido dificultades en concentrarse en cosas como leer el periódico o ver la televisión?	15	¿Ha tenido dificultades en concentrarse en cosas como leer el periódico o ver la televisión?	8
16	¿Se sintió nervioso/a?			
17	¿Se sintió preocupado/a?			
18	¿Se sintió irritable?			
19	¿Se sintió deprimido?			
20	¿Ha tenido dificultad para recordar cosas?			
21	¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en su vida familiar?	21	¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en su vida familiar?	9
22	¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en sus actividades de sociales?			
23	¿Le han causado problemas económicos su estado físico o el tratamiento médico?			
24	¿Cómo valoraría su salud general durante la semana pasada?	24	¿Cómo valoraría su salud general durante la semana pasada?	10
25	¿Cómo valoraría su calidad de vida en general durante la semana pasada?	25	¿Cómo valoraría su calidad de vida en general durante la semana pasada?	11

**Figura 33.** Reducción de ítems del componente de Calidad de Vida.

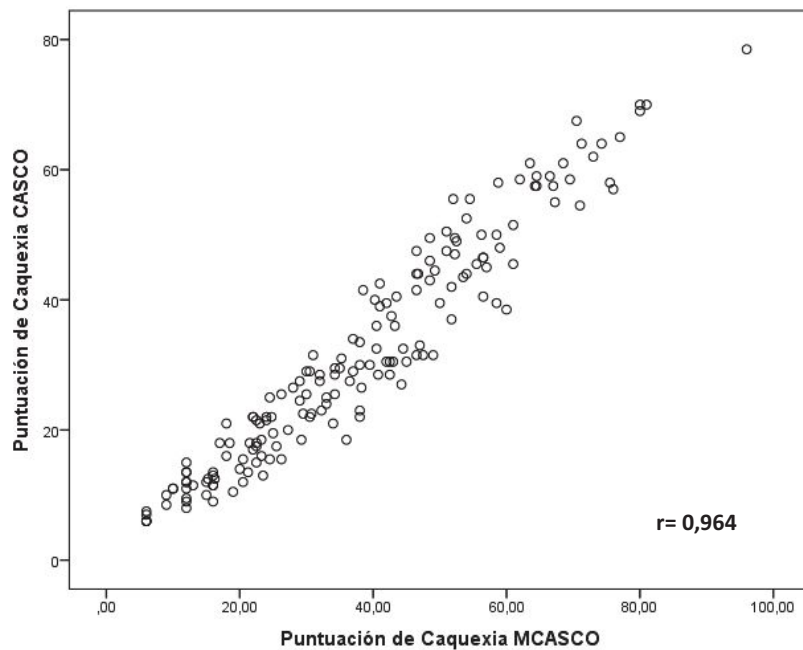
La Tabla 22 muestra la escala MCASCO con los parámetros, los valores y la puntuación correspondiente a cada medición.

**Tabla 22. Escala MCASCO.** En el componente de Calidad de Vida, las opciones de respuesta de la pregunta 10 y 11 es Excelente, buena, mala y muy mala. La conversión de este componente en **MCASCO** se mantiene de la misma manera que para CASCO (ver apartado de 1.5 de resultados CASCO).

Síntoma	%	Medida	Puntos totales	Parámetros	Valores	Puntos
Pérdida de Peso y Composición Corporal	40	Pérdida de Peso	32		< 5 %	0
					≥ 5 %	8
					≥ 10 %	16
					≥ 15 %	24
					≥ 20 %	32
		Composición corporal	8		Sin cambios en la composición corporal	Puntos x 1
				Cambios > 20%	Puntos x 1,5	
Inflamación/ Alteraciones metabólicas/ Inmunosupresión	20	Inflamación		Niveles de Proteína C Reactiva en suero	5 mg/l ≤ CRP ≤ 10 mg/l	4
					10 mg/l < CRP ≤ 20 mg/l	6
					CRP > 20 mg/l	8
					Valor normal o no analizado	0
		Alteraciones metabólicas		Albúmina en suero	< 3.2 g/dL	4
		Anemia	Hb < 12 g/dL	4		
		Inmunosupresión		Niveles de linfocitos absolutos	<1200/uL	4
Actividad Física	15		15	Cuestionario Actividad Física	Le cuesta más trabajo subir escaleras Se ha sentido cansado después de caminar aproximadamente medio kilómetro	En absoluto: 0 Poco: 3 Bastante: 5,25 Mucho: 7,5
Anorexia	15		15	Cuestionario Anorexia	Mi apetito es	a: 2 b: 4 c: 6 d: 8 e: 10
					Cuando como	
Calidad de Vida	10		10	Cuestionario Calidad de vida	1	En absoluto/Excelente: 2,27 Un poco/bueno: 4,54 Bastante/malo: 6,81 Mucho/muy malo: 9,09
					2	
					3	
					4	
					5	
					6	
					7	
					8	
					9	
					10	
					11	



Una vez obtenido MCASCO, se realizó un estudio de correlación con CASCO para observar la concordancia entre las dos escalas. Para este análisis se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson, observándose una correlación excelente ( $r=0,964$ ) entre las dos escalas. Los resultados de este análisis se observan en la Figura 34.



**Figura 34. Correlación entre MCASCO y CASCO.**

Con los resultados presentados en este apartado MCASCO demuestra ser una herramienta útil para el diagnóstico y clasificación de la caquexia cancerosa, siendo una versión simplificada de CASCO y por lo tanto más rápida y sencilla de aplicar a los pacientes.



## 2. ESCALA PARA CLASIFICAR LA CAQUEXIA CANCEROSA EN ANIMALES EXPERIMENTALES: *Animal CAchexia SCOr* (A-CASCO)

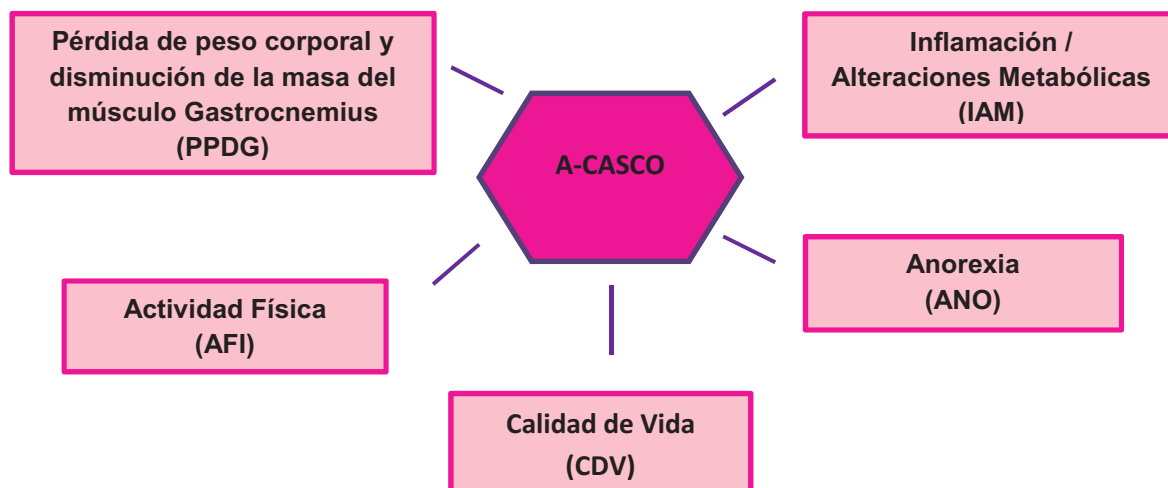
La escala A-CASCO es la adaptación de la escala CASCO a modelos experimentales de caquexia cancerosa (en modelos de rata y ratón). Mantiene el formato ya mencionado de CASCO con los cinco componentes principales:

- 1) Pérdida del peso corporal y disminución de la masa del músculo *gastrocnemius* o GSN (PPDG)
- 2) Inflamación y Alteraciones Metabólicas (IAM)
- 3) Actividad Física (AFI)
- 4) Anorexia (ANO) y
- 5) Calidad de Vida (CDV)

Los componentes medidos en la escala, se obtuvieron mediante revisión bibliográfica combinada con la experiencia de nuestro grupo de investigación. De la misma manera que en CASCO, en el diseño de la escala el porcentaje, los valores, los puntos y la puntuación total se distribuyeron dependiendo la importancia que tiene cada uno de los componentes en el desarrollo de la caquexia cancerosa y según un criterio subjetivo basado en la amplia experiencia de los investigadores del grupo Bioquímica y Biología Molecular del Cáncer en los modelos experimentales que se analizan.

## 2.1. COMPONENTES DE A-CASCO

Los componentes de A-CASCO se observan en la figura 35.



**Figura 35.** Componentes A-CASCO

A-CASCO se diferencia de CASCO ya que se incluyen modificaciones de algunos parámetros que difieren entre humanos y animales de experimentación y corresponden a los parámetros y mediciones realizados dentro de la escala, puesto que al trabajar con modelos experimentales no es posible aplicar los mismos protocolos de medición que en seres humanos. Por ello, la escala ha sido adaptada con mediciones y pruebas que permiten valorar las mismas condiciones que en los humanos:

### 2.1.1. PÉRDIDA DEL PESO CORPORAL Y DISMINUCIÓN DEL PESO DEL MÚSCULO GSN

Como se comentó en el apartado de resultados CASCO 1.1, éste es un componente esencial en toda definición de caquexia. En A-CASCO se analiza, por un lado la pérdida de peso corporal que sufre el animal portador de tumor, en este caso la determinación se realiza con el peso al inicio del experimento y el peso del animal después de extraer el tumor el día del sacrificio.

Por otro lado, y ya que la determinación de la disminución de la masa muscular mediante las técnicas de composición corporal no pudo ser realizada ni por bioimpedancia electroscópica (por su baja reproducibilidad con los aparatos disponibles actualmente en el mercado), ni por la determinación analítica de cantidad proteica (ya que en este caso se utilizaría la totalidad del animal para realizar tal determinación) se utilizó el porcentaje de pérdida de masa muscular de un músculo representativo: el músculo *Gastrocnemius* (GSN). El GSN es el músculo esquelético más grande de la extremidad inferior de ratas y ratones y lo podemos considerar representativo de la masa muscular magra. Hemos incluido el músculo GSN ya que es uno de los más utilizados en estudios genéticos y bioquímicos en el campo de la caquexia tanto en estudios propios del grupo como en el de otros grupos y se considera fiable para valorar la pérdida del tejido magro en los animales afectados por este síndrome (Penna et al. 2011; Springer et al. 2014; Gallot et al 2014; Busquets et al. 2012).

### **2.1.2. INFLAMACIÓN Y ALTERACIONES METABÓLICAS**

La inflamación se valora mediante la medición de los niveles plasmáticos del Amiloide Sérico A (ASA) y de la Interleuquina 6. El ASA y la IL-6 se incluyeron teniendo en cuenta el papel fisiológico en condiciones catabólicas de esta proteína y citoquina en los modelos experimentales (Cray et al., 2009; Sultan et al., 2011; Li y Liao 1991; Tsoli et al., 2014). Para las Alteraciones Metabólicas se miden los niveles plasmáticos de albúmina, triglicéridos, urea, lactato, glucosa y hematocrito (Anemia) Estos parámetros han sido incluidos teniendo en cuenta la importancia que representan en el síndrome caquético.

### **2.1.3. ACTIVIDAD FÍSICA**

Se valora la medida de la fuerza de tracción del animal y la medida de la actividad física total durante las 24 horas previas al sacrificio Materiales y Métodos apartado

2.6.3); estas mediciones pretenden ser equivalentes a las mediciones subjetivas y objetivas realizadas para determinar el grado de actividad física realizada en CASCO, debida a la imposibilidad de aplicar un cuestionario en estos casos.

#### **2.1.4. ANOREXIA**

Para determinarla se tiene en cuenta la disminución o aumento de la ingesta de comida del animal en los diferentes días del experimento (ver Materiales y Métodos apartado 2.6.4).

#### **2.1.5. CALIDAD DE VIDA**

Se valora mediante:

- los signos de malestar presentados por el animal en el momento del sacrificio (ojos cerrados, piloerección, dacriorrea, inmovilización, temblor, variaciones en el aspecto de las heces),
- el paradigma intruso – residente (ver Materiales y Métodos apartado 2.6.5.2),
- el test de nado forzado (ver Materiales y Métodos apartado 2.6.5.3).

Estas pruebas son indicativas de la calidad de vida del animal a causa de la enfermedad. Estas pruebas y signos de malestar se incluyeron puesto que en modelos experimentales no es posible realizar la valoración de la calidad de vida con cuestionarios utilizados en humanos.

## **2.2. PROTOCOLO DE APLICACIÓN DE A-CASCO**

El siguiente protocolo se desarrolló con el objetivo de poder aplicar la escala, ya que para obtener la puntuación final y la clasificación es necesario hacer una serie de cálculos que permitan obtener un valor cuantificable. Para utilizar la escala A-

CASCO es necesario que exista un grupo control (animales sanos) que puedan ser comparados con el grupo experimental, dado que los cálculos y las puntuaciones se basan en la comparación entre ambos grupos.

**2.2.1. PÉRDIDA DE PESO CORPORAL Y DISMINUCIÓN DEL PESO DEL MÚSCULO GASTROCNEMIUS (PPDG)**

En el apartado 1.1 se comentó que la componente PPC en CASCO representa un 40% del valor total de la escala. En A-CASCO, el peso de la Pérdida de Peso Corporal y Disminución del peso del músculo *Gastrocnemius* (PPDG) también se valora en un 40%. Este valor se obtiene de la siguiente manera:

**2.2.1.1. Pérdida de Peso**

La pérdida de peso corporal representa 32 puntos de la puntuación final de PPDG y clasifica la pérdida de peso en 5 categorías teniendo en cuenta la especie a la cual se aplica. La clasificación, valores y puntuación pueden verse en las tablas 23 y 24.

**Tabla 23.** Clasificación pérdida de peso corporal en el modelo experimental de caquexia cancerosa en ratas (Hepatoma Ascítico Yoshida AH-130). Los valores indican el porcentaje de pérdida de peso. Los puntos son los que se tendrán en cuenta en la suma total de puntos en el resultado global de A-CASCO.

Medida	Puntos totales	Valores	Puntos
Pérdida de Peso rata	32	< 5 %	0
		≥ 5 %	8
		≥ 15 %	16
		≥ 30 %	24
		≥ 50 %	32

**Tabla 24.** Clasificación pérdida de peso en los modelos de caquexia cancerosa en ratones (LLC i C26). Los valores indican el porcentaje de pérdida de peso. Los puntos son los que se tendrán en cuenta en la suma total de puntos en el resultado global de A-CASCO.

Medida	Puntos totales	Valores	Puntos
Pérdida de Peso ratón	32	< 2 %	0
		≥ 2 %	8
		≥ 12 %	16
		≥ 15 %	24
		≥ 25 %	32

Esta clasificación se utiliza para los animales portadores de tumor, puesto que en los animales control el peso aumenta. Este aumento se calcula con el valor del peso inicial y el peso final, obteniéndose un porcentaje de crecimiento en el control que es utilizado para el cálculo de la disminución de peso en los animales portadores de tumor. El porcentaje de crecimiento se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Incremento de peso} = (\text{peso inicial} - \text{peso final}) / \text{peso inicial}$$

De la misma manera que en el los animales control, en los animales portadores de tumor se tiene en cuenta el peso inicial y el peso final (al cual se le resta el peso del tumor). Además, en estos animales se tiene en cuenta el efecto del tumor sobre el crecimiento del animal, ya que el hecho de padecer el tumor provoca una inhibición del crecimiento. Así, la diferencia entre peso inicial y peso final (sin el tumor) corregida con el crecimiento de los controles (los cuales son de la misma



edad y peso, hecho que nos permite conocer el crecimiento que tendría lugar en estos animales si no hubieran sido inoculados con el tumor) nos da la información de cuánto ha dejado de crecer el animal y, por tanto, cuánto ha disminuido su peso. El cálculo se realiza de la siguiente manera:

$$\% \text{ Disminución de peso} = \left( \frac{(\text{Peso teórico} - \text{Peso Real})}{\text{Peso teórico}} \right) \times 100$$

El peso real se refiere al peso del animal a día de sacrificio sin el tumor.

En la fórmula anterior se tiene en cuenta el peso teórico que hace referencia a cuánto debería pesar el animal si no hubiera tenido el tumor, el cual se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Peso teórico} = (\text{Peso inicial} \times \% \text{ de crecimiento de grupo control}) + \text{Peso inicial}$$

### 2.2.1.2. Disminución de peso del músculo Gastrocnemius (GSN)

Como se comentó anteriormente, el peso del músculo esquelético GSN es uno de los valores de referencia para medir la caquexia en los animales portadores de tumor. Para hacer esta medición, primero se halla el incremento del peso del músculo en los animales control y posteriormente se estima el porcentaje de disminución del peso del músculo en los animales portadores de tumor. Para ello se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Disminución GSN} = \left( \frac{\text{Peso GSN a día de sacrificio}}{\text{Media del peso GSN grupo control a día de sacrificio}} \right) \times 100 - 100$$

El porcentaje hallado es el que se utiliza para obtener la puntuación final. La escala describe la disminución de peso del músculo GSN como: “cambios en el peso del GSN” y los clasifica en tres valores según aparecen en la Tabla 23:

Para calcular los puntos totales del componente PPDG, se debe multiplicar los puntos obtenidos en pérdida de peso por 0, por 1 o por 1,25 según corresponda (Tabla 25).

**Tabla 25.** Clasificación de la disminución del peso del músculo GNS.

Clasificación	Puntos
Sin cambios en la disminución de peso del músculo GNS cambios < 10%	Puntos obtenidos en pérdida de peso x 0
Cambios > 10%	Puntos obtenidos en pérdida de peso x 1
Cambios > 20%	Puntos obtenidos en pérdida de peso x 1.25

Así, en caso de tener un animal que ha obtenido 16 puntos en la pérdida de peso y que en la composición corporal ha sufrido cambios menores al 10%, tendría una puntuación final de 16. Por otro lado, si un animal ha obtenido 32 puntos en la pérdida de peso y en la composición corporal ha sufrido cambios mayores al 20%, tendría una puntuación final de 40.

### 2.2.2. INFLAMACIÓN Y ALTERACIONES METABÓLICAS (IAM)

Este componente representa un **30%** de la escala A-CASCO (al igual que su componente análoga en CASCO). Este valor resulta de la suma de la inflamación, que representa un **16%**, y de las alteraciones metabólicas, que representan un **14%**.

La inflamación y las alteraciones metabólicas hacen referencia a la comparación entre el grupo portador de tumor y el grupo control, ya que de esta manera se minimizan los cambios de los valores según edad o cepa utilizada.

La puntuación correspondiente a la inflamación y alteraciones metabólicas se obtiene cuando el valor del animal portador de tumor es diferente a la media de los

animales control; si el valor es igual a la media de animales control, los puntos obtenidos son 0 (Tabla 26)

El cálculo que se utiliza para hallar la disminución/aumento en la inflamación y alteraciones metabólicas para que los valores puedan ser comparados entre grupos es el siguiente:

*% disminución ó aumento IAM*

$$= \left( \frac{\text{Medición B día de sacrificio}}{\text{Media de medición C grupo control a día de sacrificio}} \right) \times 100 - 100$$

La medición B hace referencia al valor obtenido en cada uno de los parámetros medidos en este apartado (SAA, IL-6, Albúmina, etc.) y la medición C hace referencia a la media de los valores obtenidos en el grupo control en estas mediciones.

**Tabla 26.** Puntuación a aplicar según las variaciones respecto los valores control de los parámetros considerados en la componente de inflamación y alteraciones metabólicas.

Síntoma	%	Medida	Puntos totales	Parámetros	puntúa si existe:	Puntos
IAM	30	Inflamación	16	SAA en plasma	Diferencia con el control	8
				IL-6 en plasma	Diferencia con el control	8
		Alteraciones metabólicas	14	Albúmina en plasma	Diferencia con el control	2,33
				Lactato en plasma	Diferencia con el control	2,33
				Triglicéridos en plasma	Diferencia con el control	2,33
				Urea en plasma	Diferencia con el control	2,33
				Glucosa en plasma	Diferencia con el control	2,33
				Hemoglobina en sangre total	Diferencia con el control	2,33

### 2.2.3. ACTIVIDAD FÍSICA (AFI)

La actividad física representa un **10 %** de la escala A-CASCO y se obtiene de la suma de la valoración de Actividad Total (AT) y Fuerza de Tracción (FT).

#### 2.2.3.1. Actividad Total (AT)

Este parámetro tiene un peso en la puntuación final del **6%**. Con los valores obtenidos en la medición de la Actividad Total (ver Materiales y Métodos apartado 4.1), se calcula la disminución del movimiento de los animales portadores de tumor comparados con el los movimientos de los animales control.

Para hallar la disminución / aumento en la Actividad Total se realiza el siguiente cálculo:

$$\% \text{ disminución ó aumento AT} = \left( \frac{\text{AT a día de sacrificio}}{\text{media de AT grupo control a día de sacrificio}} \right) \times 100 - 100$$

En A-CASCO la Actividad Total se divide en tres grados dependiendo la disminución que presente el animal (Tabla 27) a los cuales se les otorga una puntuación de 0, 3 o 6 dependiendo del grado de disminución respecto los animales controles.

#### 2.2.3.2. Fuerza de tracción (FT)

La fuerza de tracción representa un **4%** de la puntuación final del componente de Rendimiento Físico. Al igual que en los parámetros anteriores, con los valores obtenidos en la medición de la fuerza de tracción (ver Materiales y Métodos apartado 2.6.3.2), se halla el porcentaje de aumento o disminución, utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ disminución ó aumento FT} = \left( \frac{\text{FT a día de sacrificio}}{\text{media de FT grupo control a día de sacrificio}} \right) \times 100 - 100$$

Una vez obtenidos los porcentajes de aumento o disminución, se comparan el grupo control y el portador de tumor.

En A-CASCO la disminución en la fuerza de tracción se clasifica en 4 grados (Tabla 27) a los cuales se les otorga una puntuación de 0, 1, 2 o 4 dependiendo del grado de disminución respecto los animales controles.

**Tabla 27.** Clasificación y puntuación componente Actividad Física. En la tabla se observa los parámetros que componen el componente de Actividad Física, el intervalo de los porcentajes de disminución y los puntos correspondientes a cada intervalo.

Componente	%	Puntos totales	Parámetros	Disminución	Puntos
Actividad Física	10	10	Actividad total	de 0 a 9,99%	0
				de 10% a 20,99%	3
				> de 21%	6
			Fuerza de Tracción	de 0 - 4,99%	0
				de 5% - 20,99%	1
				de 21% - 30%	2
				> de 31%	4

#### 2.2.4. ANOrexia (ANO)

La anorexia representa un **14%** de la escala A-CASCO. Se calcula mediante la medición de la ingesta del animal (ver Materiales y Métodos apartado 2.6.4). De la misma manera que en los componentes anteriores, en la anorexia se utilizan los porcentajes de disminución o aumento. Para calcular este porcentaje se utiliza la siguiente fórmula:

% disminución ó aumento Ingesta

$$= \left( \frac{\text{Ingesta a día de sacrificio}}{\text{media de la Ingesta grupo control a día de sacrificio}} \right) \times 100 - 100$$

Esta disminución se clasifica en cuatro grados dependiendo del porcentaje de disminución de la ingesta comparado con los controles (Tabla 26) a los cuales se les otorga una puntuación de 0, 5, 7 o 10 dependiendo del grado de disminución respecto los animales controles.

**Tabla 28.** Clasificación y puntuación componente Anorexia. En la tabla se observa los intervalos de los porcentajes de disminución para el parámetro de Anorexia y los puntos correspondientes a cada intervalo.

Componente	%	Puntos totales	Parámetros	Valores	Puntos
Anorexia	10	10	Ingesta	de 0 - 4,99%	0
				de 5% a 19,99%	5
				de 20% a 29,99%	7
				≥ 30%	10

### 2.2.5. CALIDAD DE VIDA (CV)

El componente de Calidad de Vida representa un **10%** de A-CASCO. Los parámetros medidos en este componente son: Signos de Malestar (SM), Paradigma intruso-residente (IR) y Test de nado forzado (NF) (ver Materiales y Métodos apartado 2.6.5).

Al igual que en los componentes anteriores, para dar la puntuación final se tiene en cuenta el porcentaje de disminución según corresponda, con la diferencia de que en este componente no se compara el grupo portador de tumor con el grupo control. La disminución se calcula comparando el día cero (día en que el animal se encontraba sano) con el día de sacrificio, puesto que lo que se valora es el deterioro de la calidad de vida de cada animal a causa de la progresión del tumor y

el síndrome caquéctico asociado. Para calcular la disminución o aumento tanto en el paradigma intruso-residente como en el test de nado forzado, se utiliza la siguiente fórmula:

*% disminución calidad de vida*

$$= \left( \frac{\text{Medición B día 0}}{\text{Medición C día de sacrificio}} \right) \times 100 - 100$$

Donde la medición B y medición C hacen referencia al valor obtenido en la valoración del animal en el intruso residente y nado forzado según corresponda.

Los **signos de malestar** representan el 1% y se clasifican según el número de estos signos presentes en el mismo animal en 3 grados (Tabla 29) a los cuales se les otorga una puntuación de 0, 0,5 y 1.

Para calcular la disminución de interacción de un animal portador de tumor (**paradigma intruso-residente**), se realiza una medición inicial a día 0, y una final el día de sacrificio del animal. La disminución de interacción se clasifica en cuatro grados según el intervalo de disminución donde se encuentre el valor (Tabla 29). Este parámetro representa un 4% de la puntuación del componente.

La disminución de los intentos de salida del agua (**test de nado forzado**) se clasifica en tres grados según el intervalo de disminución del tiempo donde se encuentre el valor (Tabla 29).

**Tabla 29.** Clasificación y puntuación del componente Calidad de Vida. En la tabla se observa los parámetros que componen el componente de Calidad de vida, el intervalo de los porcentajes de disminución y los puntos correspondientes a cada intervalo.

Componente	%	Puntos totales	Parámetros	Valores	Puntos
Calidad de vida	10	10	Signos de malestar	de 0 - 2	0
				3 de 6	0,5
				4 o 6 de 6	1
			Paradigma intruso-residente	de 0 - 9,99%	0
				de 10% - 30%	1
				de 31% - 60%	2
				de 61% - 100%	4
			Test de nado forzado	de 0 - 9,99%	0
				de 10% a 30%	2
				de 31% -60%	3
				de 61% - 100%	5

### 2.3. RESULTADOS PARA A-CASCO EN LOS MODELOS EXPERIMENTALES DE CAQUEXIA CANCEROSA

A continuación se presentan los resultados experimentales y estadísticos de los tres modelos tumorales utilizados para el desarrollo de ACASCO. La presentación de los todos los resultados sigue el mismo formato en los tres casos:

- 1) La presentación de los datos crudos de cada experimento (figuras 33 a 70);
- 2) en las Tablas 30 a 70 se muestran los porcentajes de variación (disminución o incremento según el parámetro) entre valores del grupo control y valores del grupo tumor. En estas tablas se refleja ya la imputación de datos faltantes (que se realizó según se indica en el apartado 2.7.1 de Materiales y Métodos) para completar los datos perdidos a causa de problemas con las técnicas de análisis, por fallos experimentales o problemas propios del animal.



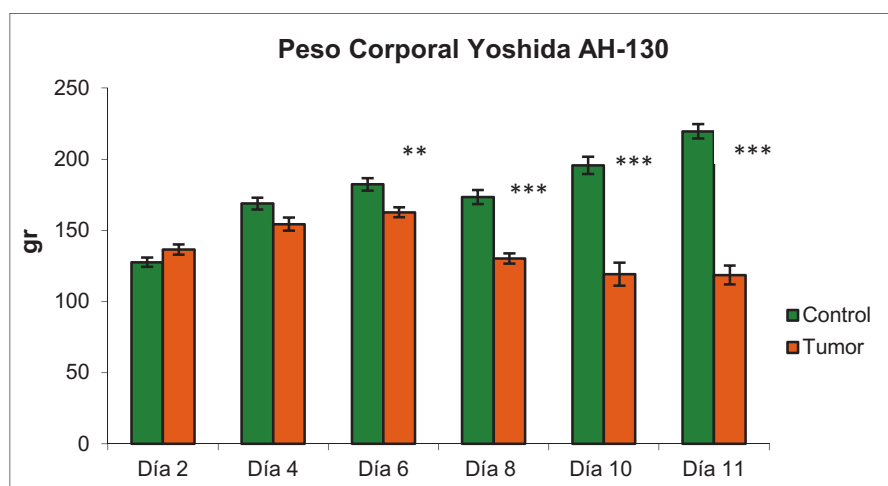
3) el análisis estadístico se realizó sobre estos porcentajes de variación que se obtuvieron a partir de las fórmulas descritas en el protocolo de aplicación de A-CASCO (ver apartado 2.2 de resultados A-CASCO).

### 2.3.1. MODELO EXPERIMENTAL HEPATOMA ASCÍTICO YOSHIDA AH-130.

#### 2.3.1.1 Pérdida de peso corporal y disminución del peso del músculo GSN en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

##### 2.3.1.1.1. Peso corporal

En la siguiente figura se observa el cambio del peso corporal de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta que, a partir del día 6 de crecimiento tumoral, el peso corporal de los animales portadores de tumor disminuye significativamente respecto los animales control (Figura 36).



**Figura 36. Comparación de peso corporal entre animales control y portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6, 8 y 10) y 4 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 11), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en gramos. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

En el caso del peso corporal, hay que tener en cuenta la inhibición en el crecimiento corporal a causa del tumor. Por este motivo la disminución del peso se corrige por el peso teórico que el animal debería haber tenido en caso de no haber experimentado el crecimiento tumoral (Apartado 2.2.1 de Resultados ACASCO).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del peso de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 6 ( $p < 0.001$ ), y a los días 8 ( $p < 0.001$ ), 10 ( $p < 0.001$ ) y 11 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 30).

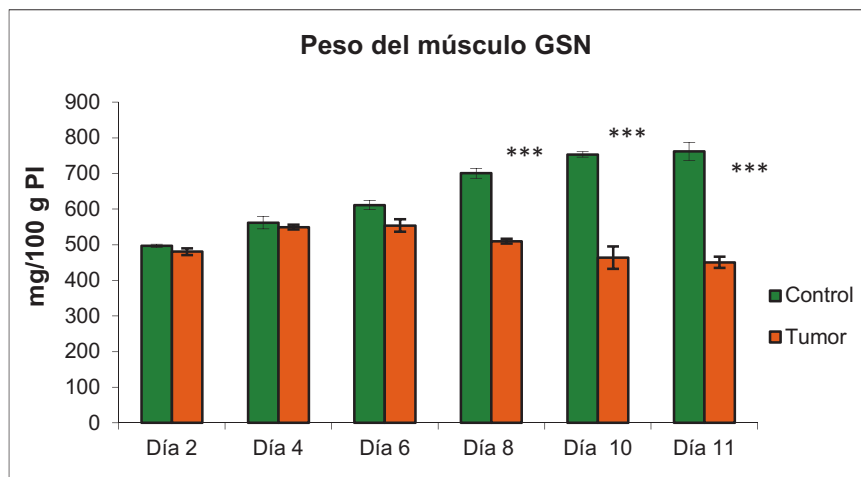
**Tabla 30.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la pérdida de peso en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
PÉRDIDA DE PESO CORPORAL	2	-2,07 ± 3,29 (5)	0 ± 3,17 (6)	1,37	0,0933	0,43	-7,93	1,79
	4	-2,19 ± 2,51 (5)	1,33 ± 4,71 (6)	1,49	0,0845	0,44	-8,86	1,8
	6	-1,93 ± 3,26 (5)	15,66 ± 2,25 (6)	10,58	0,000	0,96	-21,36	-13,83
	8	0 ± 6,31 (5)	30,16 ± 3,97 (6)	9,67	0,000	0,95	-37,21	-23,11
	10	-4,95 ± 1,25 (5)	41,33 ± 10,78 (6)	9,45	0,000	0,95	-57,35	-35,21
	11	-0,93 ± 5,45 (4)	44,2 ± 7,59 (5)	9,95	0,000	0,96	-55,86	-34,41

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.1.1.2. Músculo GSN

En la siguiente figura se observa el cambio del peso del músculo GSN control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta que, a partir del día 8 de crecimiento tumoral, el peso del músculo GSN los animales portadores de tumor disminuye significativamente respecto los animales control (Figura 37).



**Figura 37. Comparación del peso del músculo GSN entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6, 8 y 10) y 4 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 11), y 5 animales control en cada día. El peso del músculo esta corregido por el peso inicial del animal (PI) (mg/g PI). Los resultados se expresan en mg/100g PIA. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del peso del músculo GSN de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 6 ( $p=0.0148$ ), y a los días 8 ( $p < 0.001$ ), 10 ( $p=0.0001$ ) y 11 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 31).

### 2.3.1.2. Inflamación y Alteraciones Metabólicas

#### 2.3.1.2.1. Inflamación

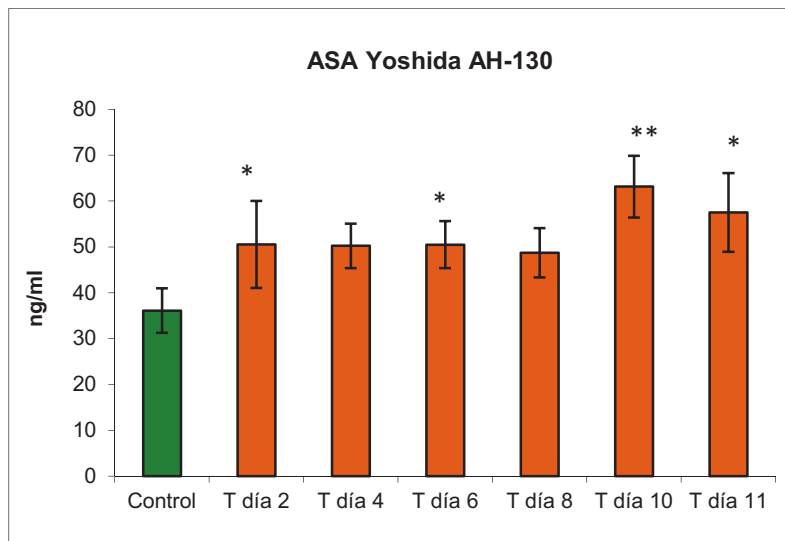
En la siguiente figura se observa el cambio del nivel los niveles plasmáticos del ASA de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los

niveles de ASA en los animales portadores del tumor a día 2, 6, 10 y 11. (Figura 38).

**Tabla 31.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución del peso del músculo GSN modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN DEL PESO DEL MÚSCULO GSN	2	0 ± 1,9 (5)	3,16 ± 4,44 (6)	1,47	0,0873	0,44	-8,02 1,69
	4	0 ± 7,02 (5)	2,33 ± 2,94 (6)	0,74	0,238	0,24	-9,41 4,75
	6	0 ± 4,87 (5)	9,5 ± 6,89 (6)	2,58	<b>0,0148</b>	0,65	-17,82 -1,17
	8	0 ± 4,39 (5)	28,33 ± 2,58 (6)	13,35	<b>0,000</b>	0,97	-33,13 -23,53
	10	0 ± 34,16 (5)	34,16 ± 13,04 (6)	5,736	<b>0,0001</b>	0,88	-47,64 -20,69
	11	-5,44 ± 2,6 (4)	36,8 ± 10,1 (5)	8,044	<b>0,000</b>	0,95	-54,66 -29,82

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



**Figura 38.** Comparación de los niveles plasmáticos de Amiloide Sérico A entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130. Los resultados son la media ± S.E.M. por 4 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 6 y 10), 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 4 y 8), y 3 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 11); y 5 animales control. Los resultados se expresan en ng/ml. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \* p<0.05, \*\* p <0,01.

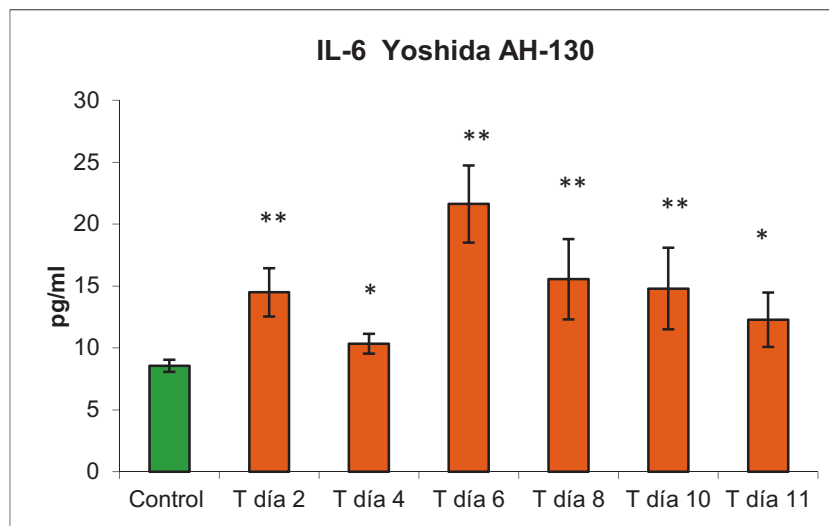
Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del nivel de ASA de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio día 2 ( $p=0.0147$ ); día 4 ( $p<0.001$ ); día 6 ( $p<0.001$ ); día 8 ( $p=0.025$ ); día 10 ( $p=0.001$ ); y a día 11 ( $p=0.005$ ) (Tabla 32).

**Tabla 32.** Resultados del análisis estadístico para la disminución de los niveles plasmáticos del ASA en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
AMILOIDE SERICO A	2	3,43 ± 0 (5)	-50,8 ± 46,49 (6)	2,58	0,0147	0,65	6,76 101,7
	4	3,43 ± 0 (5)	-50,28 ± 15,16 (6)	7,84	0,000	0,93	38,23 69,2
	6	3,43 ± 0 (5)	-39,83 ± 22,03 (6)	4,35	0,0009	0,82	20,76 65,76
	8	3,64 ± 26,32 (5)	-34,95 ± 29,68 (6)	2,25	0,0252	0,6	-0,08 77,28
	10	3,43 ± 0 (5)	-76,81 ± 29,02 (6)	6,12	0,0001	0,89	50,61 109,88
	11	7,45 ± 28,66 (4)	-59,4 ± 29,12 (5)	3,44	0,0054	0,79	20,95 112,74

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la IL-6 de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta que, a partir del día 2 de crecimiento tumoral, el nivel de la IL-6 de los animales portadores de tumor aumentó significativamente respecto a los animales control (Figura 39).



**Figura 39. Comparación de los niveles plasmáticos de IL-6 entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2), 3 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 4, 6, 8,10) y 1 animal portador del tumor Yoshida AH-130 (día 11); y 6 animales control. Los resultados se expresan en pg/mL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t-Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0,01$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del nivel de IL-6 de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio día 2 ( $p < 0.001$ ); día 4 ( $p < 0.001$ ); día 6 ( $p < 0.001$ ); día 8 ( $p = 0.001$ ); y a día 10 ( $p = 0.007$ ) (Tabla 33).

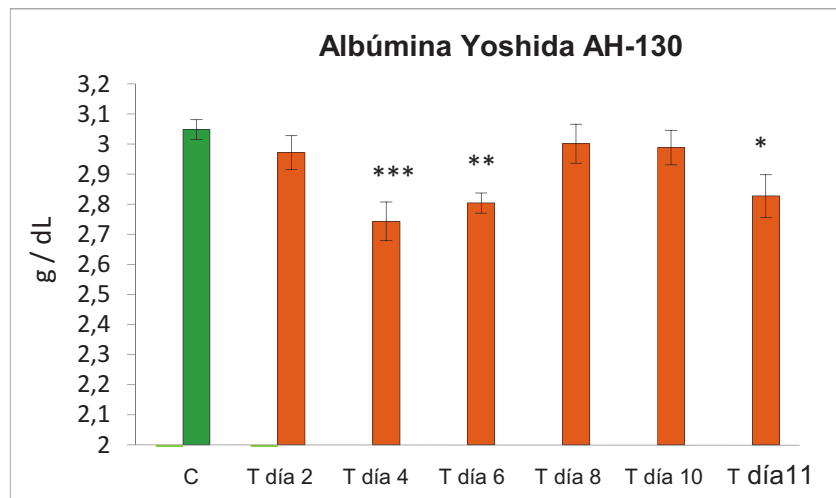
#### 2.3.1.2.2. Alteraciones Metabólicas

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la Albúmina de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en los niveles de Albumina en los animales portadores del tumor a día 4, 6 y 11. (Figura 40).

**Tabla 33.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de los niveles plasmáticos de la IL- 6 en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
IL-6	2	0 ± 0 (5)	-541,08 ± 160,62 (6)	7,46	0,000	0,92	377,09 705,08
	4	0 ± 0 (5)	-182,17 ± 41,06 (6)	9,82	0,000	0,95	140,25 224,09
	6	0 ± 0 (5)	-799,33 ± 172,89 (6)	10,24	0,000	0,96	622,81 975,85
	8	-5,88 ± 13,14 (5)	-472,6 ± 261,68 (6)	3,94	0,0017	0,79	199,28 734,16
	10	0 ± 0 (5)	-132,66 ± 97,81 (6)	3	0,0074	0,7	32,79 232,53

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



**Figura 40.** Comparación de los niveles plasmáticos de Albúmina entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.

Los resultados son la media ± S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6, 8, 10) y 3 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 11); y 30 animales control. Los resultados se expresan en g/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t-Student se indican mediante \* p<0.05, \*\* p <0,01 y \*\*\*p<0,001.

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje

de disminución de los niveles plasmáticos de la Albúmina de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 4 ( $p=0.0126$ ), día 6 ( $p=0.0045$ ) y día 11 ( $p=0.0057$ ) (Tabla 34).

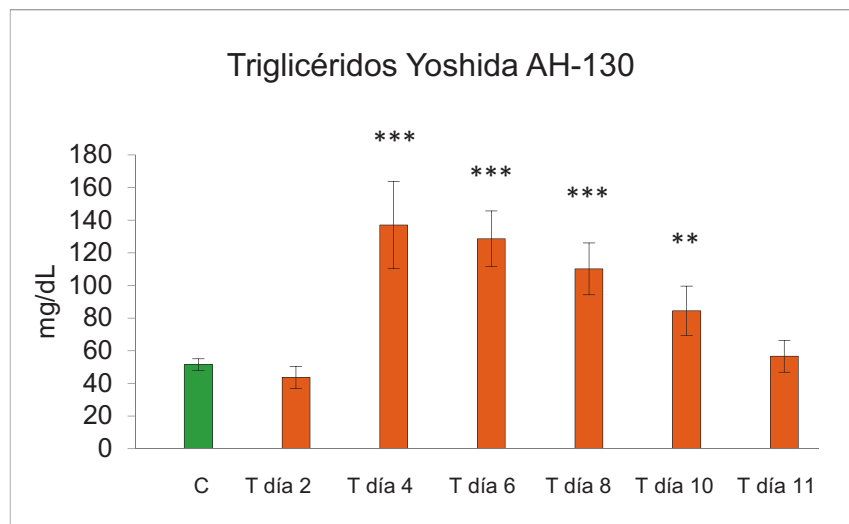
**Tabla 34.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de los niveles plasmáticos de la Albúmina en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
ALBÚMINA	2	2,35 ± 2,43 (5)	6,46 ± 9,84 (6)	0,9	0,1949	0,28	-14,4 6,18
	4	-6,96 ± 7,16 (5)	2,53 ± 4,52 (6)	2,68	<b>0,0126</b>	0,66	-17,49 -1,48
	6	-1,67 ± 6,6 (5)	8,01 ± 2,67 (6)	3,31	<b>0,0045</b>	0,74	-16,31 -3,07
	8	1,46 ± 3,89 (5)	1,54 ± 5,19 (6)	0,02	0,4887	0,01	-6,46 6,3
	10	4,99 ± 4,66 (5)	1,96 ± 4,58 (6)	1,08	0,1531	0,34	-3,29 9,36
	11	-0,35 ± 3,88 (4)	7,24 ± 2,84 (5)	3,4	<b>0,0057</b>	0,79	-12,87 -2,31

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de los Triglicéridos de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de los triglicéridos en los animales portadores del tumor a día 4, 6, 8 y 10. (Figura 41).





**Figura 41. Comparación de los niveles plasmáticos de los triglicéridos entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 6, 8, 10), 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 4) y 3 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 11); y 30 animales control. Los resultados se expresan en mg/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t-Student se indican mediante \*\*  $p < 0,01$  y \*\*\* $p < 0,001$ .

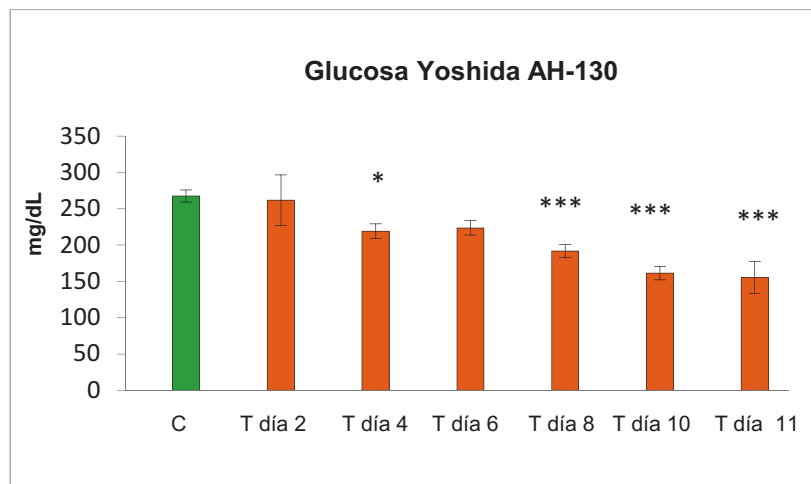
Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de Triglicéridos de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 2 ( $p=0.0122$ ), día 4 ( $p=0.0038$ ), día 6 ( $p=0.0012$ ), día 8 ( $p=0.0101$ ), día 10 ( $p=0.127$ ) (Tabla 35).

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la glucosa de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en los niveles de glucosa en los animales portadores del tumor a día 4, 8, 10 y 11. (Figura 42).

**Tabla 35.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de los Triglicéridos en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
TRIGLICÉRIDOS	2	-33,58 ± 26,81 (5)	15,14 ± 32,04 (6)	2,69	0,0122	0,66	-89,6	-7,86
	4	-2,26 ± 23,7 (5)	-166,28 ± 103,88 (6)	3,42	0,0038	0,75	55,76	272,28
	6	4,62 ± 13,36 (5)	-149,98 ± 81,27 (6)	4,17	0,0012	0,81	70,74	238,48
	8	-15,88 ± 18,76 (5)	-114,13 ± 75,54 (6)	2,81	0,0101	0,68	19,24	177,25
	10	39,52 ± 52,15 (5)	-64,13 ± 72,03 (6)	2,67	0,0127	0,66	16,03	191,28
	11	15,12 ± 49,42 (4)	-9,94 ± 23,08 (5)	1,01	0,1716	0,35	-33,24	83,38

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



**Figura 42.** Comparación de los niveles plasmáticos de la glucosa entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130. Los resultados son la media ± S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 6, 8, 10), 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 4) y 3 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 11); y 30 animales control. Los resultados se expresan en mg/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t-Student se indican mediante \* p<0.05, y \*\*\*p<0,001.

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje

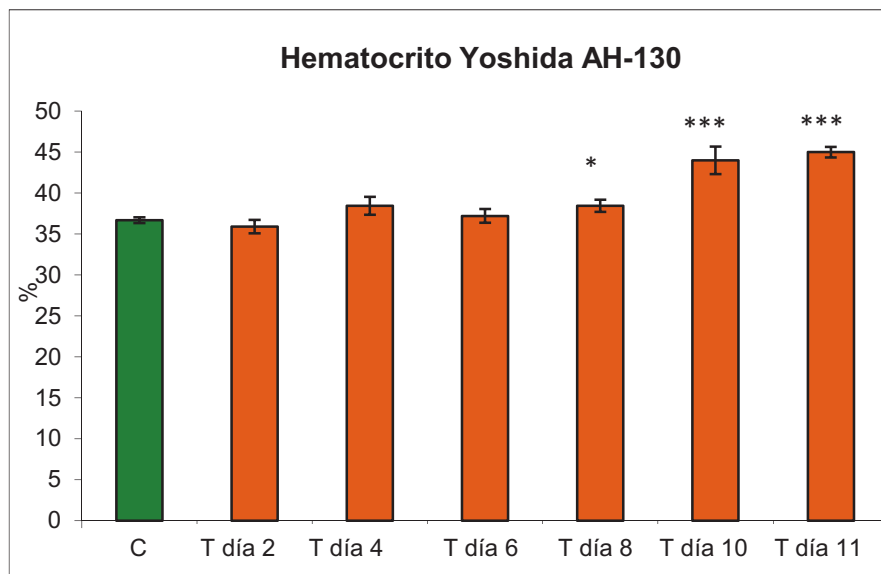
de disminución del nivel de la glucosa de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 4 ( $p=0.0001$ ), día 6 ( $p=0.0182$ ), día 8 ( $p<0.001$ ); día 10 ( $p=0.0054$ ); día 11 ( $p<0.001$ ) (Tabla 36).

**Tabla 36.** Resultados del análisis estadístico para la disminución de los niveles plasmáticos de glucosa en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del Efecto	IC
GLUCOSA	2	12,45 ± 13,34 (5)	2,15 ± 31,85 (6)	0,67	0,2596	0,21	-24,42 45,02
	4	-20,63 ± 12,52 (5)	12,52 ± 9,21 (6)	5,92	<b>0,0001</b>	<b>0,89</b>	-53,59 -23,97
	6	-2,8 ± 16,64 (5)	16,45 ± 9,08 (6)	2,44	<b>0,0185</b>	<b>0,63</b>	-37,06 -1,45
	8	-0,44 ± 8,23 (5)	28,29 ± 8,15 (6)	5,79	<b>0,0001</b>	<b>0,88</b>	-39,94 -17,52
	10	8,44 ± 22,32 (5)	39,71 ± 8,41 (6)	3,19	<b>0,0054</b>	<b>0,72</b>	-53,38 -9,14
	11	0,98 ± 12,42 (4)	41,98 ± 10,12 (5)	5,47	<b>0,0005</b>	<b>0,9</b>	-58,71 -23,28

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio del porcentaje de hematocrito de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en el porcentaje del hematocrito en los animales portadores del tumor a día 8, 10 y 11. (Figura 43).



**Figura 43. Comparación del porcentaje de hematocrito entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6, 8 y 10) y 3 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 11), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en porcentaje. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del hematocrito de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 2 ( $p=0.0108$ ); día 4 ( $p=0.021$ ); día 8 ( $p=0.0168$ ); día 10 ( $p=0.002$ ), y día 11 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 37).

### 2.3.1.3. Actividad Física

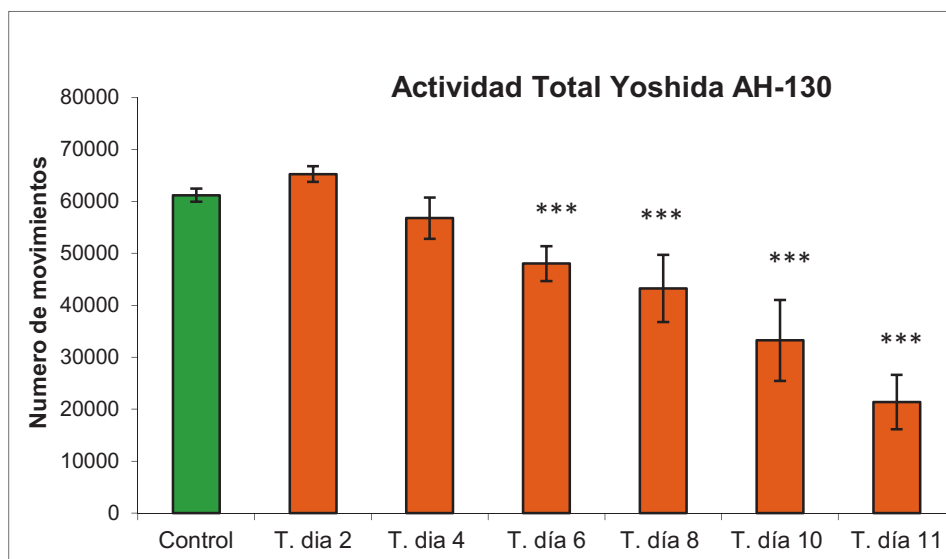
#### 2.3.1.3.1. Actividad total

En la siguiente figura se observa el cambio en la actividad total de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en la actividad total en los animales portadores del tumor a día 6, 8 10 y 11. (Figura 44).

**Tabla 37.** Resultados del análisis estadístico para la disminución del porcentaje del hematocrito en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
HEMATOCRITO	2	-3,86 ± 4,71 (5)	3,33 ± 3,88 (6)	2,77	0,0108	0,67	-13,05	-1,33
	4	3,5 ± 2,7 (5)	-4,75 ± 7,41 (6)	2,34	0,0217	0,61	0,3	16,21
	6	-0,72 ± 2,81 (5)	-1,39 ± 5,58 (6)	0,24	0,4078	0,08	-5,58	6,91
	8	1,23 ± 3,01 (5)	-5,24 ± 5,06 (6)	2,5	0,0168	0,64	0,62	12,34
	10	0,46 ± 2,2 (5)	-18,77 ± 11,12 (6)	3,77	0,0022	0,78	7,7	30,77
	11	0,51 ± 4,73 (4)	-21,59 ± 2,12 (5)	9,43	0,000	0,96	16,56	27,64

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



**Figura 44.** Comparación de la actividad total entre los animales control y los animales portadores del tumor Yoshida AH-130. Los resultados son la media ± S.E.M. por 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4) y animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 8, 10 y 11), y 17 animales control. Los resultados se expresan en número de movimientos. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\*p<0.001.

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la

disminución de la actividad total de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio día 2 ( $p=0.031$ ), día 4 ( $p=0.020$ ); día 6 ( $p=0.009$ ); día 8 ( $p=0.003$ ); día 10 ( $p<0.001$ ); y a día 11 ( $p<0.001$ ) (Tabla 38).

**Tabla 38.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución la Actividad total en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

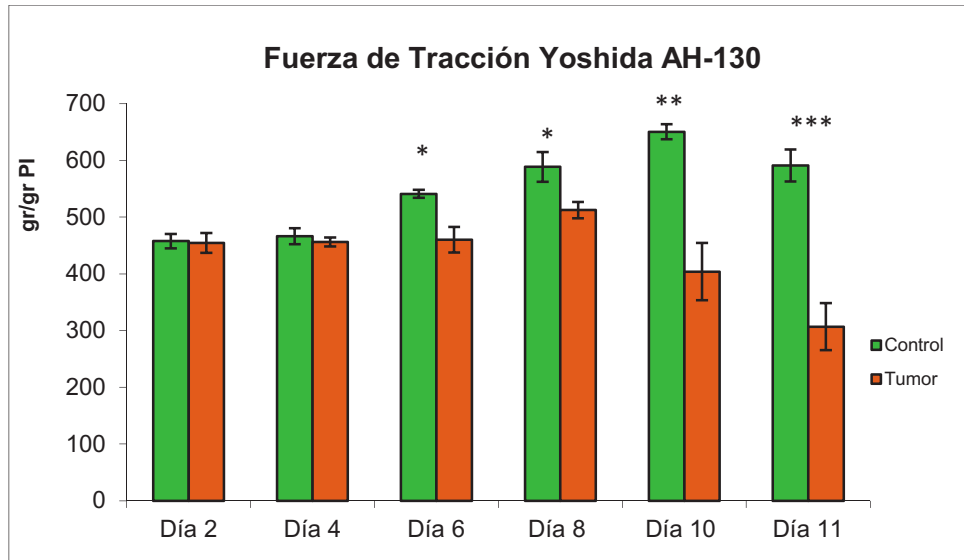
Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCION ACTIVIDAD TOTAL	2	-1,33 ± 3,18 (5)	-6,83 ± 4,99 (6)	2,11	0,0316	0,57	-0,37	11,37
	4	2,6 ± 10,23 (5)	14 ± 5,25 (6)	2,39	0,0202	0,62	-22,17	-0,62
	6	-5,98 ± 7,27 (5)	12 ± 12,16 (6)	2,89	0,009	0,69	-32,07	-3,9
	8	2 ± 6,36 (5)	29,5 ± 16,32 (6)	3,52	0,0032	0,76	-45,15	-9,84
	10	0 ± 7,1 (5)	60,66 ± 21,65 (6)	5,95	0,0001	0,89	-83,71	-37,62
	11	-0,43 ± 0 (4)	64,75 ± 14,92 (5)	8,61	0,000	0,95	-83,07	-47,28

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.1.3.2. Fuerza de Tracción

En la siguiente figura se observa el cambio de la Fuerza de tracción de los animales portadores de tumor respecto a los controles en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución de la fuerza de tracción en los animales portadores del tumor a partir de día 6 (Figura 45).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la Fuerza de tracción de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio día 6 ( $p=0.005$ ); día 8 ( $p=0.004$ ); día 10 ( $p=0.009$ ); y a día 11 ( $p<0.001$ ) (Tabla 39).



**Figura 45. Comparación de la Fuerza de tracción entre los animales control y los animales portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6 y 10) y 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 8 y 11), y 5 animales control. Los resultados se expresan en g / g Peso inicial. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

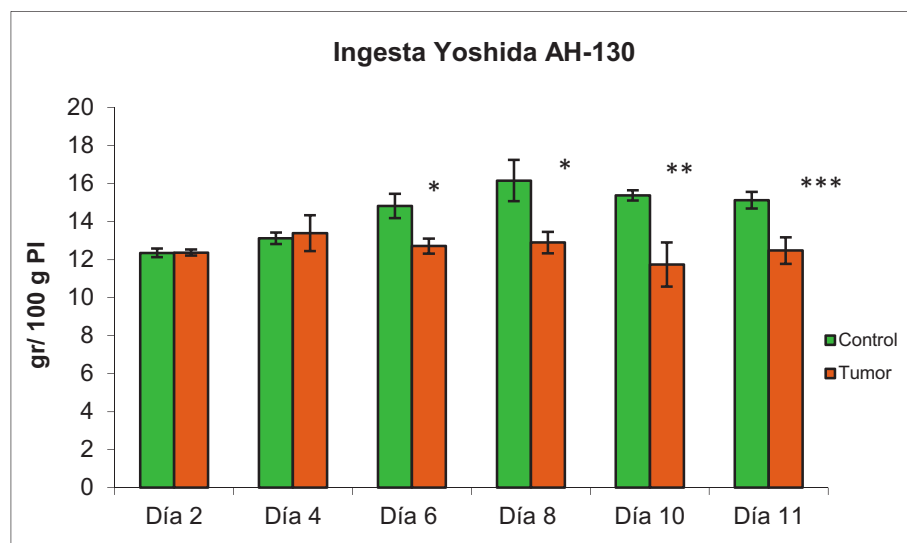
**Tabla 39. Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de la Fuerza de tracción en el modelo tumoral Yoshida AH-130.**

Parámetro	Día Sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCIÓN FUERZA DE TRACCIÓN	2	0 $\pm$ 6,26 (5)	0,5 $\pm$ 9,16 (6)	0,1	0,4602	0,03	-11,45	10,463
	4	0 $\pm$ 6,78 (5)	17,83 $\pm$ 39,97 (6)	0,97	0,177	0,3	-59,11	23,445
	6	0 $\pm$ 2,28 (5)	14,83 $\pm$ 10,22 (6)	3,15	<b>0,0059</b>	0,72	-25,47	-4,185
	8	0 $\pm$ 7,7 (5)	12,75 $\pm$ 4,83 (6)	3,35	<b>0,0042</b>	0,74	-21,34	-4,15
	10	0 $\pm$ 4,49 (5)	35,41 $\pm$ 26,94 (6)	2,88	<b>0,0091</b>	0,69	-63,22	-7,6
	11	-0,15 $\pm$ 12,33 (4)	48,2 $\pm$ 15,7 (5)	5,02	<b>0,0008</b>	0,88	-71,13	-25,58

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.1.4. Anorexia

En la siguiente figura se observa el cambio en la ingesta de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en la ingesta en los animales portadores del tumor a partir de día 6 (Figura 46).



**Figura 46. Comparación de la ingesta entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6 y 10) y 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 8 y 11), y 5 animales control. Los resultados se expresan en gramos corregidos por el peso inicial del animal. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la ingesta de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 6 ( $p=0.007$ ); día 8 ( $p=0.002$ ); día 10 ( $p=0.010$ ); y a día 11 ( $p=0.001$ ) (Tabla 40).



**Tabla 40.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de la Ingesta en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN INGESTA	2	0 ± 4,18 (5)	0 ± 7,64 (6)	0	0,5	0	-8,68 8,68
	4	0 ± 5,14 (5)	-2 ± 17,41 (6)	0,24	0,4059	0,08	-16,44 20,44
	6	0 ± 9,43 (5)	14,33 ± 6,31 (6)	3,01	<b>0,0073</b>	0,7	-25,09 -3,57
	8	-1,8 ± 12,4 (5)	20,4 ± 6,88 (6)	3,76	<b>0,0022</b>	0,78	-35,52 -8,87
	10	-0,2 ± 3,7 (5)	23,66 ± 18,56 (6)	2,8	<b>0,0103</b>	0,68	-43,12 -4,61
	11	0,25 ± 7,71 (4)	23 ± 8,15 (5)	4,25	<b>0,0019</b>	0,84	-35,39 -10,1

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.1.5. Calidad de Vida

#### 2.3.1.5.1. Signos de Malestar

En este parámetro no fue necesaria la imputación de datos perdidos. Solo se muestran los resultados estadísticos.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas a día 4 ( $p < 0.001$ ); día 6 ( $p < 0.001$ ); día 8 ( $p < 0.001$ ); día 10 ( $p < 0.001$ ); y día 11 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 41).

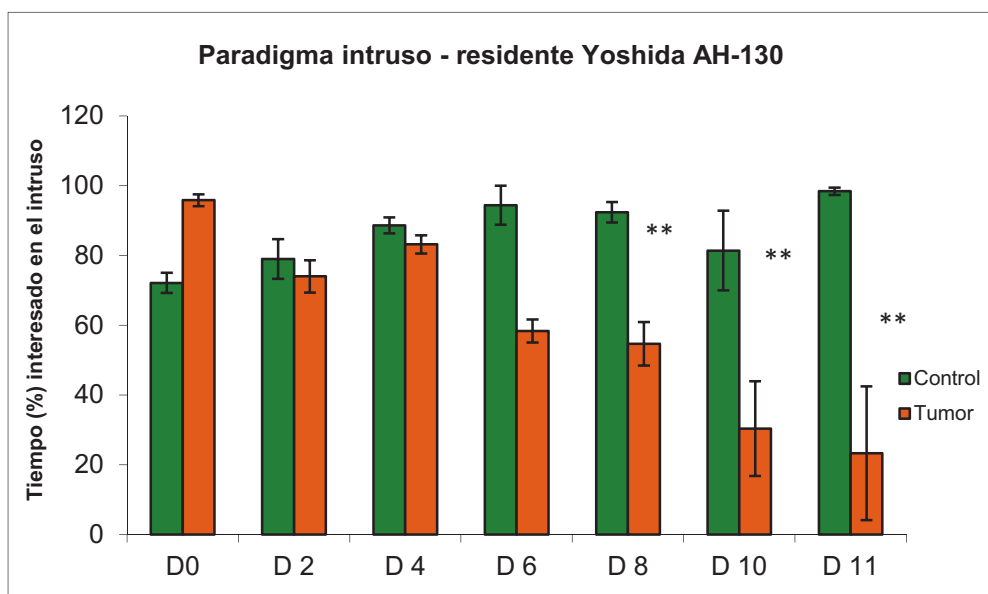
**Tabla 41.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los Signos de Malestar en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
SIGNOS DE MALESTAR	4	0 ± 0 (5)	0,83 ± 0,64 (6)	4,5	<b>0,0007</b>	0,83	-1,25 -0,41
	6	0 ± 0 (5)	2,16 ± 0,4 (6)	11,78	<b>0,000</b>	0,96	-2,58 -1,75
	8	0 ± 0 (5)	1,83 ± 0,75 (6)	5,38	<b>0,0002</b>	0,87	-2,6 -1,06
	10	0 ± 0 (5)	3 ± 0,63 (6)	10,51	<b>0,000</b>	0,96	-3,64 -2,35
	11	0 ± 0 (4)	4,2 ± 0,44 (5)	18,52	<b>0,000</b>	0,99	-4,73 -3,66

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.1.5.2. Paradigma Intruso – Residente

En la siguiente figura se observa el cambio en la interacción entre el animal residente y el intruso de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en la ingesta en los animales portadores del tumor a partir de día 8 (Figura 47).



**Figura 47. Comparación del paradigma intruso residente entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.**

Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6 y 10) y 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 8 y 11), y 5 animales control. Los resultados se expresan en tiempo (%) interesado en el intruso. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución en el Paradigma Intruso - Residente de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas en la interacción entre el animal residente con el intruso a día 2 ( $p=0.046$ ); día 4 ( $p < 0.001$ ); día 6 ( $p < 0.001$ ); día 8 ( $p < 0.001$ ); día 10 ( $p=0.002$ ); y día 11 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 42).

**Tabla 42.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución en el Paradigma Intruso – Residente en el modelo tumoral Yoshida AH-130.

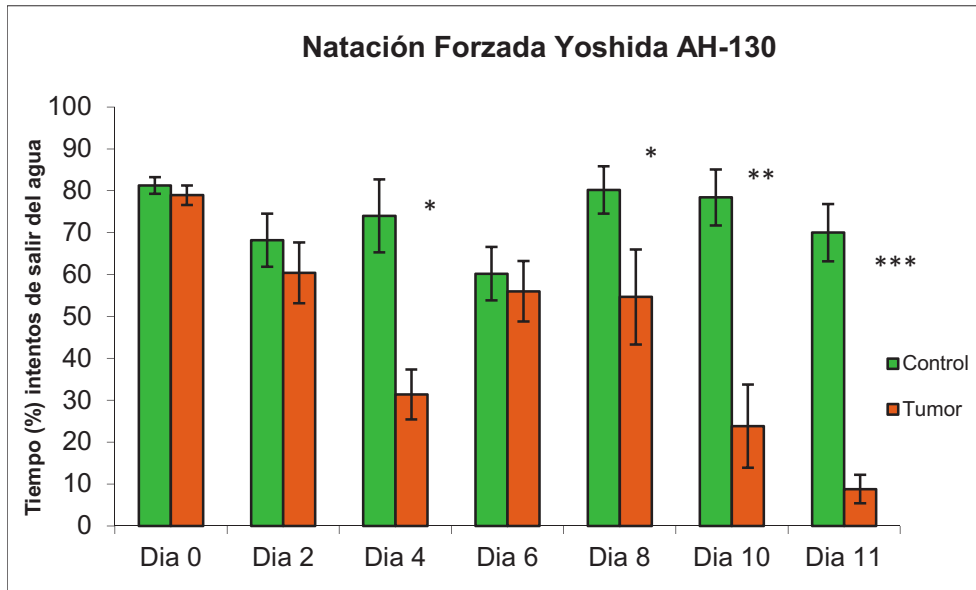
Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCIÓN INTRUSO RESIDENTE	2	-10,2 ± 33,1 (5)	18 ± 15,1 (6)	1,88	0,0464	0,53	-62,13	5,73
	4	-38,8 ± 25,52 (5)	12,83 ± 10,51 (6)	4,55	0,0007	0,83	-77,29	-25,96
	6	-53,6 ± 32,2 (5)	26,33 ± 24,27 (6)	4,7	0,0006	0,84	-118,4	-41,47
	8	-8,2 ± 22,46 (5)	43 ± 16,01 (6)	4,41	0,0008	0,82	-77,43	-24,96
	10	-18,8 ± 34,12 (5)	66,33 ± 36,99 (6)	3,93	0,0017	0,79	-134,1	-36,16
	11	-39,25 ± 26,63 (4)	73 ± 39,1 (5)	4,87	0,0009	0,87	-166,7	-57,81

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.1.5.3. Test de Natación Forzada

En la siguiente figura se observa el cambio en los intentos de salida del agua de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en el test de natación forzada en los animales portadores del tumor a día 4, 8, 10 y 11 (Figura 48).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución del Test de natación forzado de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 2 ( $p=0.037$ ); día 4 ( $p=0.002$ ); día 8 ( $p=0.012$ ); día 10 ( $p<0.001$ ); y día 11 ( $p<0.001$ ) (Tabla 43).



**Figura 48. Comparación del test de Natación Forzada entre animales control y animales portadores del tumor Yoshida AH-130.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 2, 4, 6 y 10) y 5 animales portadores del tumor Yoshida AH-130 (día 8 y 11), y 5 animales control. Los resultados se expresan en tiempo (%) de intentos de salir del agua. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

**Tabla 43. Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución en el Test de natación forzada en el modelo tumoral Yoshida AH-130.**

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN NADO FORZADO	2	11,4 $\pm$ 19,91 (5)	34,83 $\pm$ 18,65 (6)	2,01	<b>0,0375</b>	0,55	-49,76 2,9
	4	15,5 $\pm$ 13,35 (5)	55,6 $\pm$ 20,11 (6)	3,79	<b>0,0021</b>	0,78	-63,98 -16,21
	6	24 $\pm$ 12,22 (5)	8 $\pm$ 17,53 (6)	1,71	0,0602	0,49	-5,1 37,1
	8	1,75 $\pm$ 29,64 (5)	50,75 $\pm$ 30,29 (6)	2,69	<b>0,0123</b>	0,66	-90,1 -7,89
	10	0,6 $\pm$ 27,25 (5)	85,66 $\pm$ 17,01 (6)	6,34	<b>0,0001</b>	0,9	-115,4 -54,71
	11	15,66 $\pm$ 10,65 (4)	87,6 $\pm$ 10,96 (5)	9,89	<b>0,000</b>	0,96	-89,12 -54,74

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

## **2.3.2. MODELO EXPERIMENTAL CARCINOMA PULMONAR DE LEWIS (LLC)**

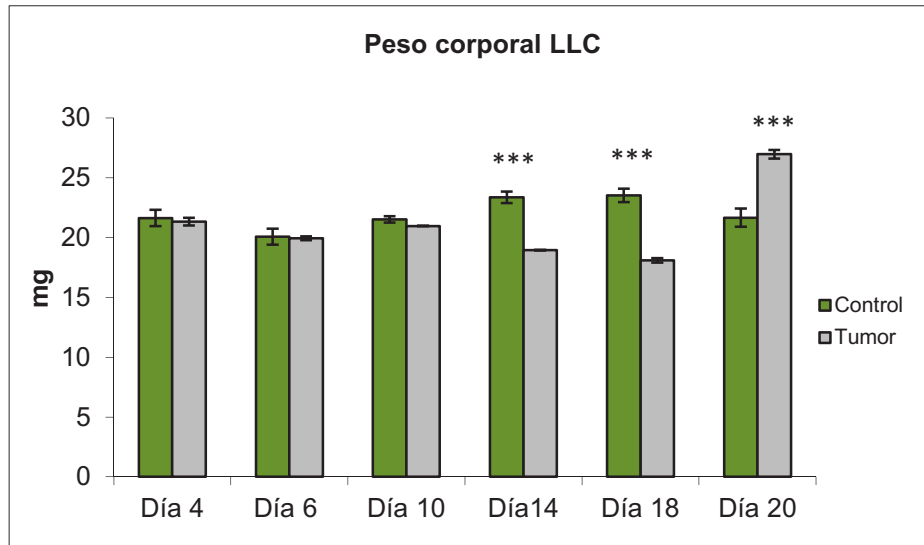
### **2.3.2.1. Pérdida de peso corporal y disminución del peso del músculo GSN en el modelo tumoral LLC.**

#### **2.3.2.1.1. Peso corporal**

En la siguiente figura se observa el cambio del peso corporal de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta que, a partir del día 14 de crecimiento tumoral, el peso corporal de los animales portadores de tumor disminuye significativamente respecto los animales control (Figura 49).

En el caso del peso corporal, hay que tener en cuenta la inhibición en el crecimiento corporal a causa del tumor. Por este motivo la disminución del peso se corrige por el peso teórico que el animal debería haber tenido en caso de no haber experimentado el crecimiento tumoral (Apartado 2.2.1 de Resultados A-CASCO).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del peso de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 10 ( $p<0.001$ ); día 14 ( $p<0.001$ ); día 18 ( $p<0.001$ ); y a día 20 ( $p<0.001$ ) (Tabla 44).



**Figura 49. Comparación del peso entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor LLC (día 4, 6, 10 y 14 y 18) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en mg. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante  $***p < 0.001$ .

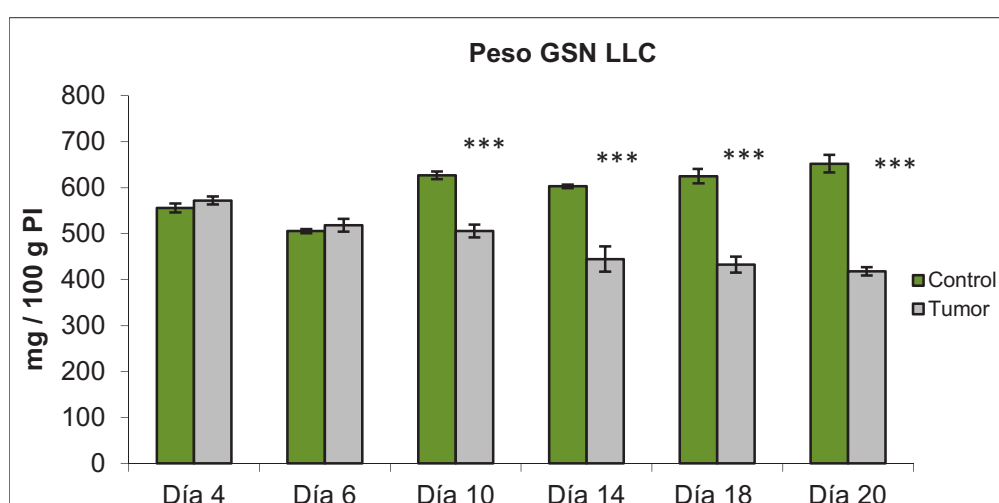
**Tabla 44. Resultados del análisis estadístico para la pérdida de peso en el modelo tumoral LLC.**

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
PÉRDIDA DE PESO CORPORAL	4	0 $\pm$ 0 (5)	0,5 $\pm$ 6,15 (6)	0,18	0,4306	0,06	-6,78 5,78
	6	0 $\pm$ 0 (5)	-0,5 $\pm$ 2,73 (6)	0,4	0,3476	0,13	-2,29 3,29
	10	0 $\pm$ 0 (5)	8,83 $\pm$ 2,85 (6)	6,84	<b>0,000</b>	0,91	-11,75 -5,91
	14	0 $\pm$ 0 (5)	17,5 $\pm$ 5,08 (6)	7,61	<b>0,000</b>	0,93	-22,69 -12,3
	18	0 $\pm$ 0 (5)	22 $\pm$ 5,65 (6)	8,61	<b>0,000</b>	0,94	-27,77 -16,22
	20	0 $\pm$ 0 (5)	30,85 $\pm$ 3,13 (7)	21,72	<b>0,000</b>	0,99	-34,02 -27,69

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.2.1.2. Músculo GSN

En la siguiente figura se observa el cambio del peso del músculo GSN control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta que, a partir del día 10 de crecimiento tumoral, el peso del músculo GSN los animales portadores de tumor disminuye significativamente respecto los animales control (Figura 50).



**Figura 50. Comparación del peso del músculo GSN entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor LLC (día 4, 6, 10 y 14 y 18) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 5 animales control en cada día. El peso del músculo está corregido por el peso inicial del animal. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del peso del músculo GSN de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 10 ( $p < 0.001$ ); día 14 ( $p < 0.001$ ); día 18 ( $p < 0.001$ ); y a día 20 ( $p < 0.001$ ). (Tabla 45).

**Tabla 45.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución del peso del músculo GSN en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCIÓN PESO MÚSCULO GSN	4	-26,2 ± 4,81 (5)	-30,16 ± 4,79 (6)	1,36	0,1029	0,41	-2,61	10,54
	6	0,2 ± 2,5 (5)	-2,5 ± 6,65 (6)	0,87	0,2034	0,27	-4,31	9,71
	10	0 ± 3,08 (5)	16,66 ± 6,08 (6)	5,52	<b>0,0002</b>	0,87	-23,49	-9,84
	14	-0,2 ± 1,48 (5)	26,33 ± 11,27 (6)	5,17	<b>0,0003</b>	0,86	-38,12	-14,94
	18	0 ± 5,52 (5)	30,83 ± 6,88 (6)	8,06	<b>0,000</b>	0,93	-39,48	-22,18
	20	5 ± 3,74 (5)	35,93 ± 5,19 (7)	11,32	<b>0,000</b>	0,96	-37,02	-24,85

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

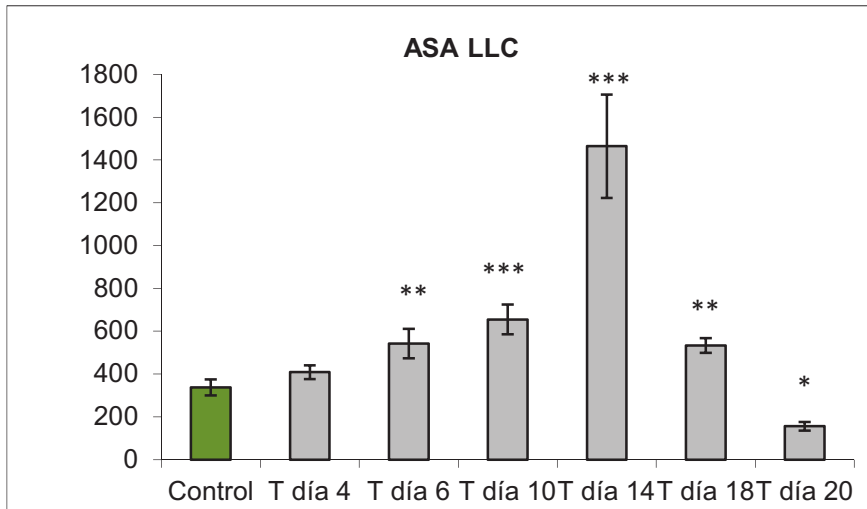
### 2.3.2.2. Inflamación y Alteraciones metabólicas

#### 2.3.2.2.1. Inflamación

En la siguiente figura se observa el cambio del nivel los niveles plasmáticos del ASA de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de ASA en los animales portadores del tumor a partir de día 6. (Figura 51).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del nivel de ASA de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 4 (p=0.012); día 6 (p=0.020); día 10 (p<0.001); día 14 (p<0.001); día 18 (p<0.001); y día 20 ( p<0.001) (Tabla 46).





**Figura 51. Comparación de los niveles plasmáticos del ASA entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor LLC (día 4, 6, 10 y 18), y 4 animales portadores del tumor LLC (día 14 y 20), y 12 animales control. Los resultados se expresan en ng/mL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  y  $***p < 0.001$ .

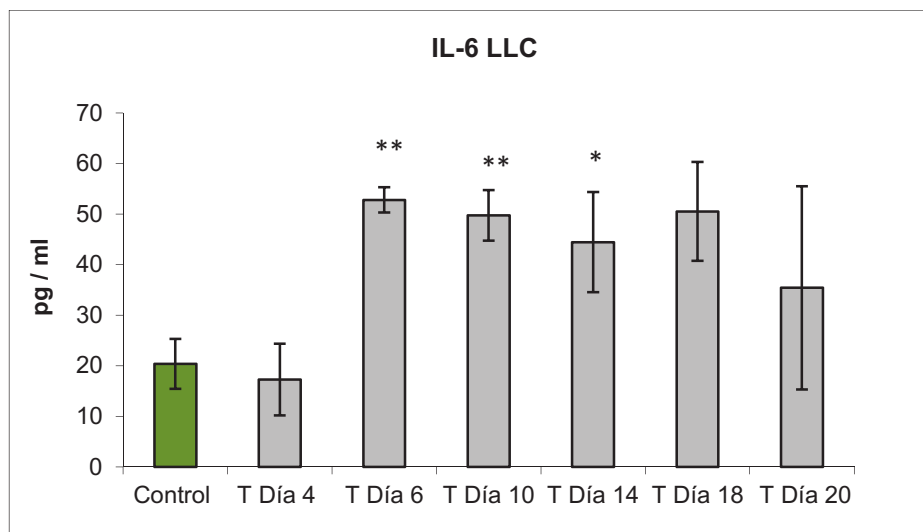
**Tabla 46.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución en los niveles plasmáticos del ASA en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
AMILOIDE SERICO A	4	16,1 $\pm$ 22,05 (5)	-21,09 $\pm$ 23,16 (6)	2,7	<b>0,012</b>	0,67	6,13 68,26
	6	-0,84 $\pm$ 27,37 (5)	-60,9 $\pm$ 49,91 (6)	2,49	<b>0,0201</b>	0,63	3,3 116,82
	10	2,68 $\pm$ 11,02 (5)	-91,33 $\pm$ 41,84 (6)	4,84	<b>0,0005</b>	0,85	50,13 137,91
	14	-2,48 $\pm$ 7,46 (5)	-322,39 $\pm$ 112,32 (6)	6,29	<b>0,0001</b>	0,9	205,02 434,8
	18	11,1 $\pm$ 22,18 (5)	-58,19 $\pm$ 20,37 (6)	5,39	<b>0,0002</b>	0,87	40,26 98,33
	20	-26,57 $\pm$ 36,47 (5)	56,15 $\pm$ 9,07 (7)	5,85	<b>0,0001</b>	0,88	-114,2 -51,26

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la IL-6 de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los

animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de IL-6 en los animales portadores del tumor a día 6, 10 y 14. (Figura 52).



**Figura 52. Comparación de los niveles plasmáticos de la IL-6 entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 4 animales portadores del tumor LLC (día 4, 14 y 18), 3 animales portadores del tumor LLC (día 6 y día 20), y 5 portadores del tumor LLC (día 10) y 12 animales control. Los resultados se expresan en pg/mL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \* $p < 0.05$  y \*\* $p < 0.01$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del nivel de IL-6 de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 6 ( $p < 0.001$ ); día 10 ( $p < 0.001$ ); y día 14 ( $p < 0.002$ ) (Tabla 47).

### 2.3.2.2.2. Alteraciones metabólicas

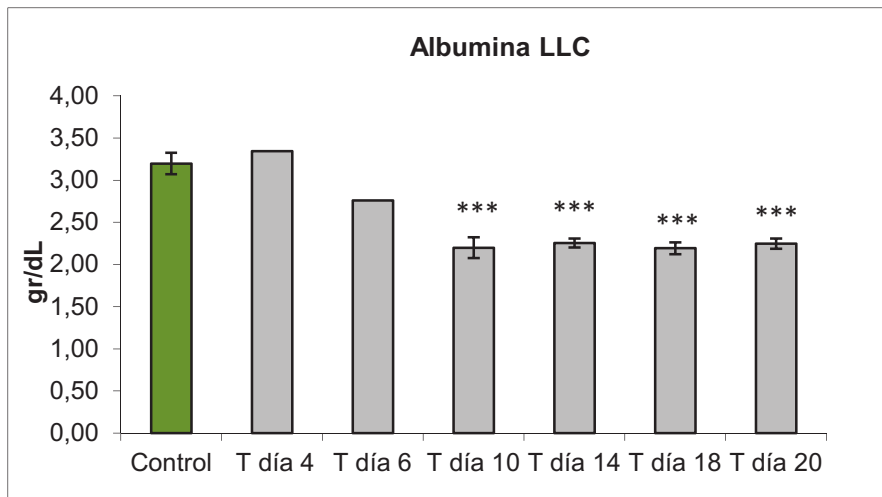
En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la Albúmina de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los

niveles de Albúmina en los animales portadores del tumor a partir día 10. (Figura 53).

**Tabla 47.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de la IL- 6 en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
IL-6	4	-0,38 ± 29,44 (5)	15,33 ± 53,93 (6)	0,58	0,288	0,19	-77 45,56
	6	-8,81 ± 19,71 (5)	-158,98 ± 13,44 (6)	15	0,000	0,98	127,52 172,8
	10	50,87 ± 69,89 (5)	-145,4 ± 49,3 (6)	5,46	0,0002	0,87	114,98 277,57
	14	0 ± 0 (5)	-123,01 ± 75,69 (6)	3,6	0,0029	0,76	45,73 200,3
	18	19,34 ± 43,23 (5)	-54,32 ± 92,54 (6)	1,62	0,0691	0,47	-28,73 176,07
	20	-61,01 ± 35,63 (5)	-17,45 ± 111,76 (7)	0,83	0,2125	0,25	-160,3 73,15

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



**Figura 53.** Comparación de los niveles plasmáticos de la Albúmina entre animales control y animales portadores del tumor LLC. Los resultados son la media ± S.E.M. por 1 animal portador del tumor LLC (día 4 y 6), 6 animales portadores del tumor LLC (día 10 y 18), 4 animales portadores del tumor LLC (día 18) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 17 animales control. Los resultados se expresan en gr/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\*p<0.001.

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre los niveles plasmáticos de la Albúmina de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 10 ( $p < 0.001$ ); día 14 ( $p < 0.001$ ); día 18 ( $p < 0.001$ ); y a día 20 ( $p = 0.012$ ) (Tabla 48).

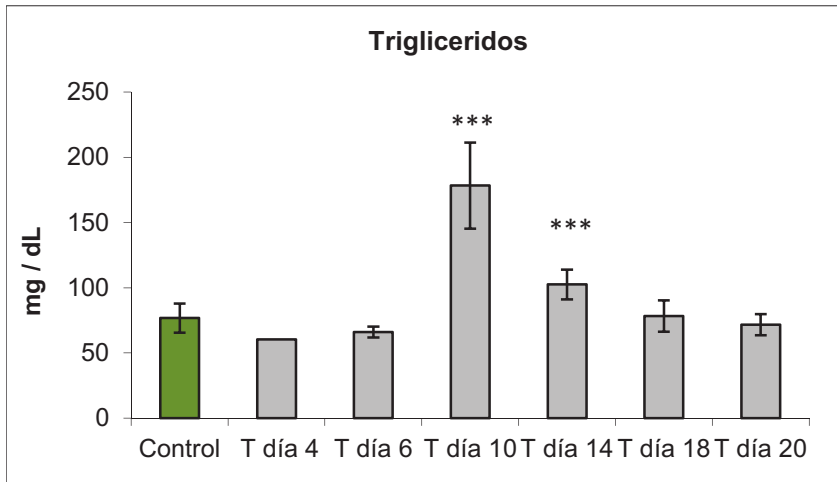
**Tabla 48.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de la Albúmina en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
ALBÚMINA	10	-7,87 ± 6,57 (5)	31,222 ± 9,38 (6)	7,82	0,000	0,934	-50,4 -27,783
	14	-5,649 ± 8,59 (5)	29,47 ± 4,05 (6)	8,952	0,000	0,948	-43,99 -26,244
	18	-1,27 ± 9,87 (5)	31,383 ± 5,38 (6)	6,996	0,000	0,919	-43,21 -22,094
	20	8,389 ± 20,75 (5)	29,727 ± 5,15 (7)	2,656	0,012	0,643	-39,24 -3,437

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de los Triglicéridos de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de los triglicéridos en los animales portadores del tumor a día 10 y 14 (Figura 54).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del nivel de Triglicéridos de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día de 10 ( $p = 0.008$ ); día 14 ( $p < 0.001$ ); y día 20 ( $p = 0.028$ ) (Tabla 49).



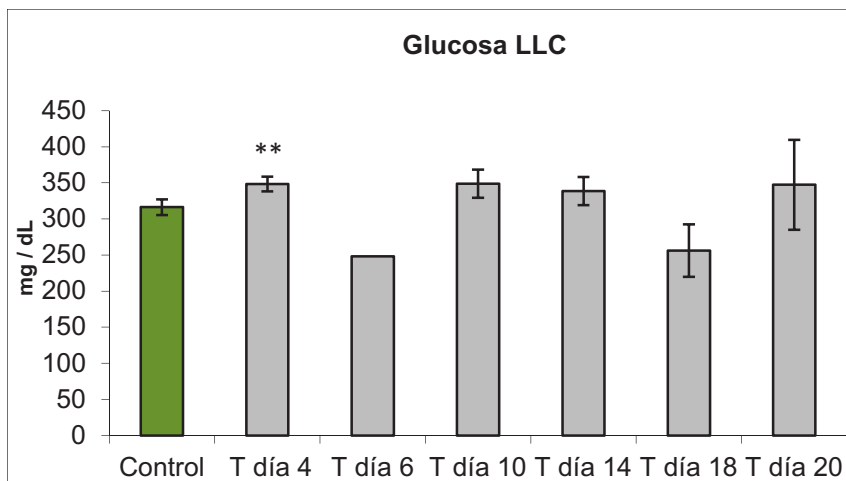
**Figura 54. Comparación de los niveles plasmáticos de los triglicéridos entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 1 animales portadores del tumor LLC (día 4), 3 animales portadores del tumor LLC (día 6), 6 animales portadores del tumor LLC(día 10, 14 y 18) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 10 animales control. Los resultados se expresan en mg/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante  $***p < 0.001$ .

**Tabla 49. Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de los Triglicéridos en el modelo tumoral LLC.**

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
TRIGLICÉRIDOS	10	8,40 $\pm$ 46,26 (5)	-149,26 $\pm$ 112,76 (6)	2,908	<b>0,0087</b>	0,696	35,028 280,303
	14	10,70 $\pm$ 2,60 (5)	-58,66 $\pm$ 21,73 (6)	7,031	<b>0,000</b>	0,92	47,049 91,687
	18	-15,24 $\pm$ 26,66 (5)	-9,57 $\pm$ 41,02 (6)	0,265	0,3986	0,088	-54,12 42,78
	20	51,39 $\pm$ 53,26 (5)	-0,18 $\pm$ 29,84 (7)	2,156	<b>0,0282</b>	0,563	-1,715 104,885

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la glucosa de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de glucosa en los animales portadores del tumor a día 4 (Figura 55).



**Figura 55. Comparación de los niveles plasmáticos de la Glucosa entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 3 animales portadores del tumor LLC (día 4), 1 animal portador del tumor (día 6), 6 animales portadores del tumor LLC (día 10, 14 y 18) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 13 animales control en cada día. Los resultados se expresan en mg/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*  $p < 0,01$ ,

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del nivel de la glucosa de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día 4 de sacrificio ( $p=0.013$ ) (Tabla 50).

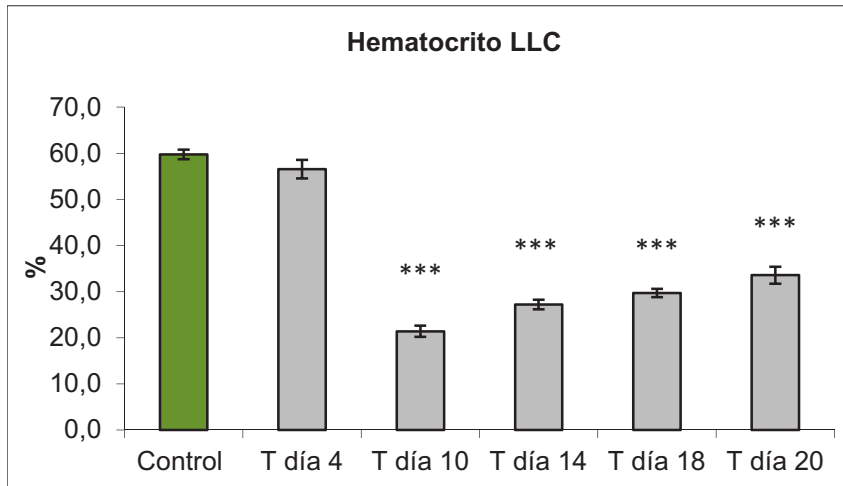
**Tabla 50.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución en los niveles plasmáticos de la Glucosa en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
GLUCOSA	4	5,91 ± 14,46 (5)	-10,09 ± 3,5 (6)	2,647	<b>0,0133</b>	0,662	2,329	29,69
	10	4,40 ± 13,44 (5)	-10,26 ± 15,17 (6)	1,678	0,0638	0,488	-5,103	34,428
	14	-1,32 ± 7,89 (5)	-7,05 ± 12,28 (6)	0,895	0,1971	0,286	-8,744	20,188
	18	-0,02 ± 6,74 (5)	19,01 ± 28,17 (6)	1,465	0,0885	0,439	-48,46	10,366
	20	2,02 ± 10,25 (5)	-9,79 ± 51,99 (7)	0,495	0,3157	0,155	-41,4	65,048

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio del porcentaje de Hematocrito de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en el porcentaje del hematocrito en los animales portadores del tumor a día de sacrificio 10, 14, 18 y 20. (Figura 56).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del Hematocrito de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día de sacrificio 10 ( $p < 0.001$ ); día 14 ( $p < 0.001$ ); día 18 ( $p < 0.001$ ); y día 20 ( $p < 0.001$ ).



**Figura 56. Comparación del porcentaje de Hematocrito entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 4 animales portadores del tumor LLC (día 4 y 18), 6 animales portadores del tumor LLC (día 14) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 16 animales control. Por problemas de obtención de muestra a día 6 no fue posible realizar el análisis del hematocrito. Los resultados se expresan en %. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\* $p < 0.001$ .

**Tabla 51.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución del Hematocrito en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
HEMATOCRITO	4	3,58 $\pm$ 12,50 (5)	5,35 $\pm$ 8,79 (6)	0,276	0,3945	0,092	-16,29 12,753
	10	-0,86 $\pm$ 5,03 (5)	65,53 $\pm$ 4,22 (6)	23,836	<b>0,000</b>	0,992	-72,7 -60,096
	14	-1,69 $\pm$ 3,68 (4)	54,56 $\pm$ 7,70 (6)	14,882	<b>0,000</b>	0,98	-64,82 -47,711
	18	0 $\pm$ 0 (5)	50,4 $\pm$ 2,34 (6)	47,661	<b>0,000</b>	0,998	-52,79 -48,007
	20	0 $\pm$ 0 (5)	45,17 $\pm$ 8,04 (7)	12,385	<b>0,000</b>	0,969	-53,3 -37,045

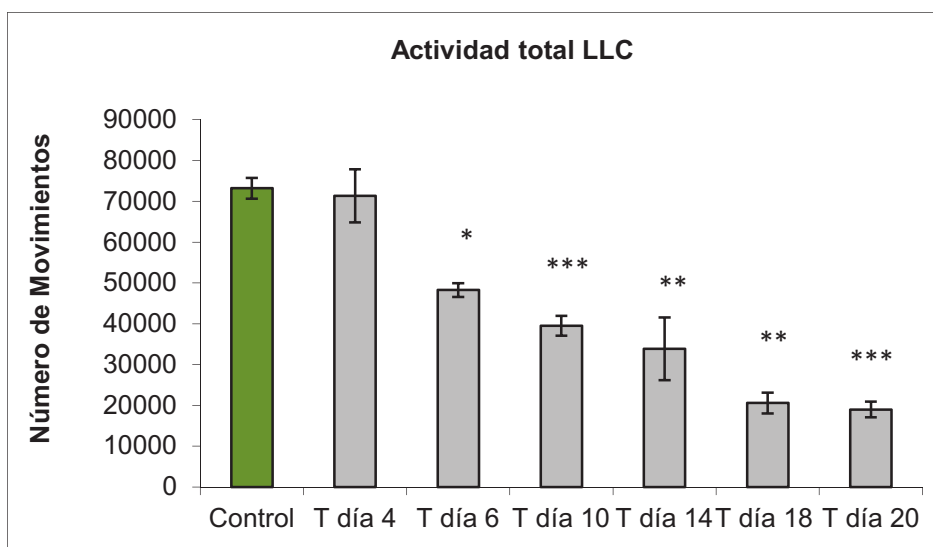
En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



### 2.3.2.3. Actividad Física

#### 2.3.2.3.1. Actividad total

En la siguiente figura se observa el cambio en la Actividad total de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en la Actividad total en los animales portadores del tumor a partir de día 6 (Figura 57).



**Figura 57. Comparación de la Actividad total ente animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 5 animales portadores del tumor LLC (día 4, 14 y 18), 6 animales con tumor (día 6 y 10) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en número de movimientos. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la Actividad total de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir a día de sacrificio 6 ( $p=0.006$ ); día 10 ( $p < 0.001$ ); día 14 ( $p < 0.001$ ); día 18 ( $p=0.003$ ); y día 20 ( $p < 0.001$ ). (Tabla 52).

**Tabla 52.** Resultados del análisis estadístico para la disminución de la Actividad total en el modelo tumoral LLC.

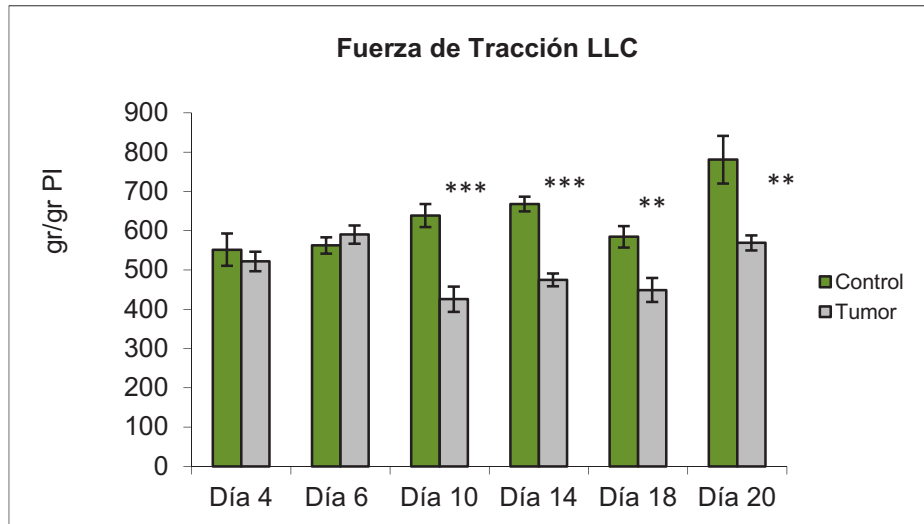
Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCION ACTIVIDAD TOTAL	4	-0,96 ± 11,74 (5)	-5,8 ± 19,37 (6)	0,48	0,3191	0,16	-17,66 27,34
	6	-0,25 ± 10,3 (5)	16,16 ± 7,38 (6)	3,08	<b>0,0066</b>	0,71	-28,47 -4,35
	10	0 ± 3,24 (5)	43,83 ± 8,54 (6)	10,76	<b>0,000</b>	0,96	-53,04 -34,62
	14	0 ± 17,69 (5)	55,61 ± 21,64 (6)	4,59	<b>0,0006</b>	0,83	-82,98 -28,23
	18	0 ± 5,7 (5)	58,5 ± 37,57 (6)	3,41	<b>0,0038</b>	0,75	-97,21 -19,79
	20	0,2 ± 22,28 (5)	78 ± 6,05 (7)	8,94	<b>0,000</b>	0,94	-97,18 -58,41

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.2.3.2. Fuerza de Tracción

En la siguiente figura se observa el cambio de la Fuerza de tracción de los animales portadores de tumor respecto a los controles en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución de la fuerza de tracción en los animales portadores del tumor a partir de día (Figura 58).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la Fuerza de tracción de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio día 10 ( $p < 0.001$ ); día 14 ( $p < 0.001$ ); día 18 ( $p = 0.003$ ); y día 20 ( $p = 0.002$ ) (Tabla 53).



**Figura 58. Comparación del nivel de la Fuerza de tracción entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor LLC (día 4, 6, 10 y 14), 5 animales con tumor (día 18) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en gr/gr peso inicial del animal (PI). Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

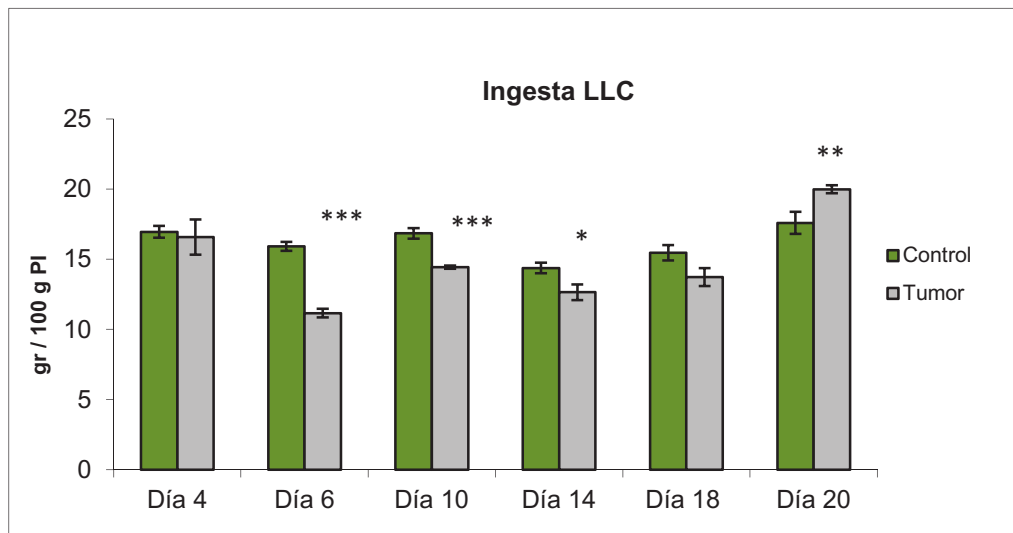
**Tabla 53.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de la Fuerza de tracción en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN FUERZA DE TRACCIÓN	4	0 $\pm$ 16,61 (5)	5,5 $\pm$ 10,96 (6)	0,66	0,2629	0,21	-24,35 13,35
	6	0,2 $\pm$ 8,1 (5)	-5 $\pm$ 10,04 (6)	0,93	0,1882	0,29	-7,44 17,84
	10	0 $\pm$ 10,44 (5)	33,5 $\pm$ 10,4 (6)	4,78	<b>0,0005</b>	0,84	-49,35 -17,64
	14	-0,2 $\pm$ 6,22 (5)	29 $\pm$ 5,96 (6)	7,93	<b>0,000</b>	0,93	-37,53 -20,87
	18	0 $\pm$ 10,27 (5)	27,83 $\pm$ 15,23 (6)	3,46	<b>0,0035</b>	0,75	-45,99 -9,66
	20	1,6 $\pm$ 20,42 (5)	29,14 $\pm$ 4,29 (7)	3,52	<b>0,0027</b>	0,74	-44,95 -10,13

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.2.4. Anorexia

En la siguiente figura se observa el cambio en la ingesta de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en la ingesta en los animales portadores del tumor a día 6, 10, 14 y 20 (Figura 59).



**Figura 59. Comparación de la ingesta entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 5 animales portadores del tumor LLC (día 4, 14 y 18), 6 animales con tumor (día 6 y 10) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados de la ingesta están corregidos por el peso inicial del animal. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la ingesta de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a día de sacrificio 6 ( $p=0.040$ ); día 10 ( $p < 0.001$ ); día 14 ( $p=0.018$ ); día 18 ( $p=0.012$ ); y día 20 ( $p=0.004$ ) (Tabla 54).

**Tabla 54.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de la Ingesta en el modelo tumoral LLC.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN INGESTA	4	-2,6 ± 5,72 (5)	0,33 ± 18,8 (6)	0,33	0,3732	0,11	-22,82 16,96
	6	-0,2 ± 10,49 (5)	-10,5 ± 6,83 (6)	1,96	<b>0,0405</b>	0,54	-1,55 22,15
	10	-16,6 ± 6,76 (5)	-0,25 ± 1,6 (6)	5,78	<b>0,0001</b>	0,88	-22,74 -9,95
	14	-13,4 ± 6,58 (5)	0 ± 10,6 (6)	2,44	<b>0,0184</b>	0,63	-25,78 -1,01
	18	-12,8 ± 8,75 (5)	0 ± 7,21 (6)	2,66	<b>0,0129</b>	0,66	-23,67 -1,92
	20	0 ± 8,8 (5)	12 ± 3,83 (7)	3,24	<b>0,0044</b>	0,71	-20,23 -3,76

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

**2.3.2.5. Calidad de Vida**

**2.3.2.5.1. Signos de Malestar**

En este parámetro no fue necesaria la imputación de datos perdidos. Solo se muestran los resultados con diferencias estadísticamente significativas.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas a día 10 ( $p < 0.001$ ); y día 20 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 55).

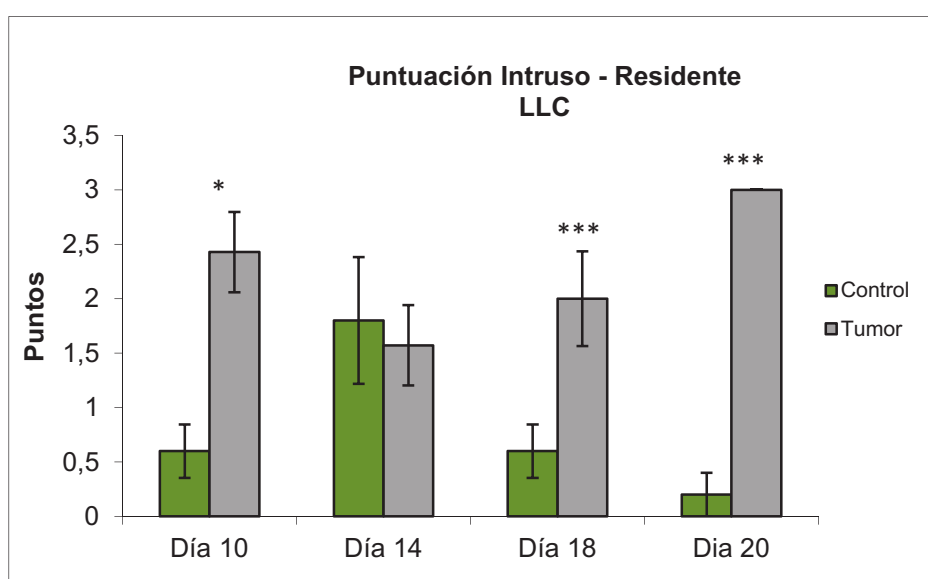
**Tabla 55.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los Signos de Malestar en el modelo tumoral LLC

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
SIGNOS DE MALESTAR	10	0 ± 0 (5)	2,83 ± 0,40 (6)	15,368	<b>0,000</b>	0,981	-3,25 -2,417
	20	0 ± 0 (5)	3,71 ± 0,48 (7)	16,762	<b>0,000</b>	0,983	-4,207 -3,221

.En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.2.5.2. Paradigma Intruso – Residente

En la siguiente figura se observa la puntuación del Paradigma Intruso – Residente de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Los resultados se muestran a partir de día 10 ya que en esta cepa en concreto los ratones responden al test a partir de este día. Se manifiesta una disminución en la interacción del animal residente con el intruso en los animales portadores del tumor a día 10, 18 y 20 (Figura 60).



**Figura 60. Comparación del Paradigma Intruso – Residente entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor LLC (día 10, 14 y 18), y 7 animales con tumor (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en puntos. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución en el Paradigma Intruso - Residente de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas en

la interacción entre el animal residente con el intruso a día 10 ( $p=0.004$ ); día 18 ( $p=0.0015$ ); y día 20 ( $p<0.001$ ) (Tabla 56).

**Tabla 56.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución en el Paradigma Intruso – Residente en el modelo tumoral LLC.

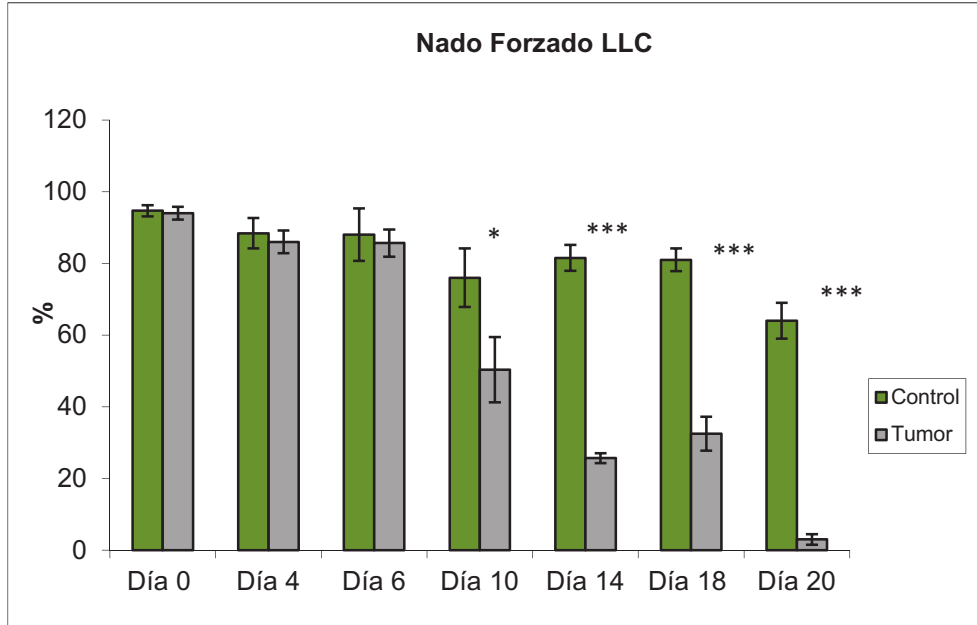
Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
INTRUSO RESIDENTE	10	0,6 ± 0,54 (5)	2,33 ± 1,03 (6)	3,352	<b>0,0042</b>	0,745	-2,9	-0,566
	14	1,8 ± 1,3 (5)	1,66 ± 1,03 (6)	0,18	0,4269	0,06	-1,45	1,72
	18	0,6 ± 0,54 (5)	2,33 ± 0,81 (6)	4,02	<b>0,0015</b>	0,8	-2,7	-0,76
	20	0,2 ± 0,44 (5)	3 ± 0 (7)	16,91	<b>0,000</b>	0,98	-3,16	-2,43

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.2.5.3. Test de Natación Forzada

En la siguiente figura se observa el cambio en los intentos de salida del agua de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en la ingesta en los animales portadores del tumor a partir de día 8 (Figura 61).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución del nado forzado de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 10 ( $p=0.01$ ); día 14 ( $p<0.001$ ); día 18 ( $p<0.001$ ); y día 20 ( $p<0.001$ ). (Tabla 57).



**Figura 58. Comparación del test de Natación Forzada entre animales control y animales portadores del tumor LLC.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor LLC (día 4, 6, 10, 14 y 18) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en tiempo (%) de intentos de salir del agua. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*  $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

**Tabla 57. Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución en el Test de natación forzada en el modelo tumoral LLC.**

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCIÓN NADO FORZADO	4	7,2 $\pm$ 7,36 (5)	12,8 $\pm$ 5,45 (6)	1,45	0,0904	0,43	-14,33	3,13
	6	13,8 $\pm$ 15,49 (5)	12,16 $\pm$ 6,79 (6)	0,23	0,41	0,07	-14,12	17,39
	10	15 $\pm$ 15,58 (5)	47,33 $\pm$ 21,7 (6)	2,77	<b>0,0108</b>	0,67	-58,67	-5,99
	14	20 $\pm$ 11,46 (5)	74,33 $\pm$ 3,32 (6)	11,16	<b>0,000</b>	0,96	-65,34	-43,32
	18	12,25 $\pm$ 5,44 (5)	66,83 $\pm$ 11,89 (6)	9,41	<b>0,000</b>	0,95	-67,7	-41,46
	20	21,4 $\pm$ 16,05 (5)	96,14 $\pm$ 5,78 (7)	11,5	<b>0,000</b>	0,96	-89,22	-60,26

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



### **2.3.3. MODELO EXPERIMENTAL ADENOCARCINOMA DE COLON C26**

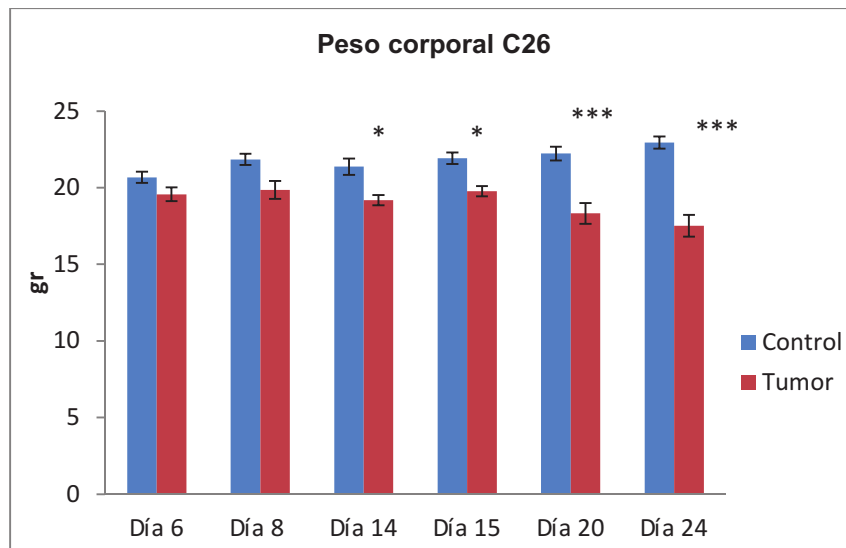
#### **2.3.3.1. Pérdida de peso corporal y disminución del peso del músculo GSN en el modelo tumoral C26.**

##### **2.3.3.1.1. Peso corporal**

En la siguiente figura se observa el cambio del peso corporal de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta que, a partir de día 14 de crecimiento tumoral, el peso corporal de los animales portadores de tumor disminuye significativamente respecto a los animales control (Figura 62).

En el caso del peso corporal, hay que tener en cuenta la inhibición en el crecimiento corporal a causa del tumor. Por este motivo la disminución del peso se corrige por el peso teórico que el animal debería haber tenido en caso de no haber experimentado el crecimiento tumoral (Apartado 2.2.1 de Resultados A-CASCO).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del peso de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 6 ( $p=0.004$ ); día 8 ( $p=0.014$ ); día 14 ( $p=0.021$ ); día 15 ( $p=0.017$ ); día 20 ( $p<0.001$ ); y día 24 ( $p<0.001$ ) (Tabla 58).



**Figura 62. Comparación del peso entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8, 14, 15, 20 y 24), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en gramos. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \* $p < 0.05$  \*\*\* $p < 0.001$ .

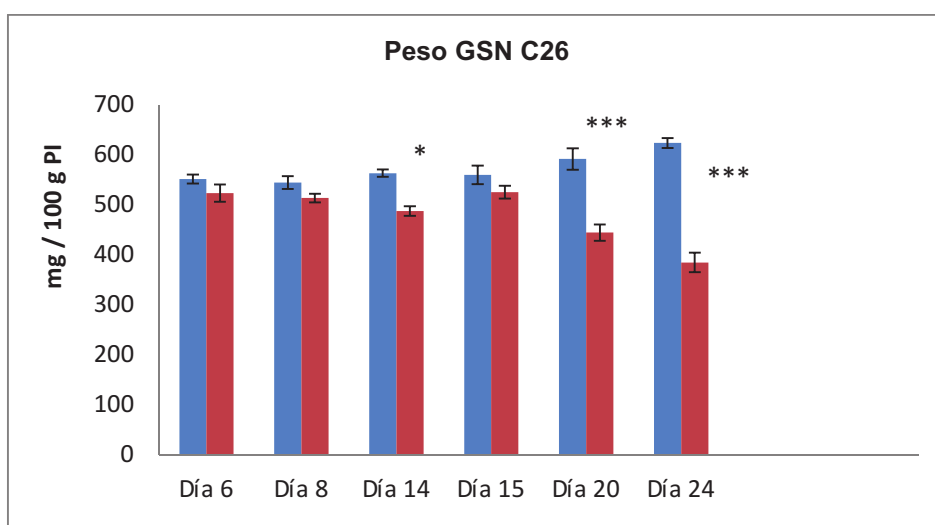
**Tabla 58.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de la pérdida de peso en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
PÉRDIDA DE PESO CORPORAL	6	0 $\pm$ 0 (5)	8,61 $\pm$ 4,84 (7)	3,92	0,0014	0,77	-13,51 -3,71
	8	0 $\pm$ 0 (5)	7,02 $\pm$ 5,30 (7)	2,92	0,0076	0,67	-12,38 -1,66
	14	0 $\pm$ 0 (5)	8,94 $\pm$ 7,45 (7)	2,68	0,0139	0,68	-16,63 -1,26
	15	0 $\pm$ 0 (5)	9,98 $\pm$ 7,88 (7)	2,83	0,0111	0,70	-18,12 -1,85
	20	0 $\pm$ 0 (5)	17,32 $\pm$ 3,93 (7)	9,76	0,000	0,95	-21,34 -13,31
	24	0 $\pm$ 0 (5)	18,59 $\pm$ 3,91 (7)	10,47	0,000	0,95	-22,55 -14,64

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.3.1.2. Músculo GSN

En la siguiente figura se observa el cambio del peso del músculo GSN control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta que, a día 14, 20 y 24 de crecimiento tumoral, el peso del músculo GSN los animales portadores de tumor disminuye significativamente respecto los animales control (Figura 63).



**Figura 63. Comparación del peso del músculo GSN entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8, 14, 15 y 24), 6 animales portadores del tumor C26 (20), y 5 animales control en cada día. El peso del músculo GSN está corregido por el peso inicial (PI) del animal. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del peso del músculo GSN de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día 8 ( $p=0.03$ ); día 14 ( $p=0.016$ ); día 15 ( $p=0.02$ ); día 20 ( $p < 0.001$ ); y día 24 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 59).

**Tabla 59.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución del peso del músculo GSN en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN PESO GSN	6	0 ± 5,5 (5)	3,11 ± 8,51 (7)	0,71	0,2462	0,22	-12,84 6,62
	8	0 ± 5,37 (5)	5,67 ± 4,21 (7)	2,05	<b>0,0334</b>	0,54	-11,83 0,472
	14	0 ± 19,85 (5)	23,55 ± 5,36 (7)	2,56	<b>0,0168</b>	0,67	-44,77 -2,346
	15	0 ± 4,02 (5)	9,83 ± 8,06 (7)	2,43	<b>0,0203</b>	0,65	-19,13 -0,533
	20	0 ± 3,18 (5)	24,88 ± 4,44 (7)	10,45	<b>0,000</b>	0,96	-30,27 -19,497
	24	0 ± 7,59 (5)	40,15 ± 6,05 (7)	10,21	<b>0,000</b>	0,95	-48,91 -31,39

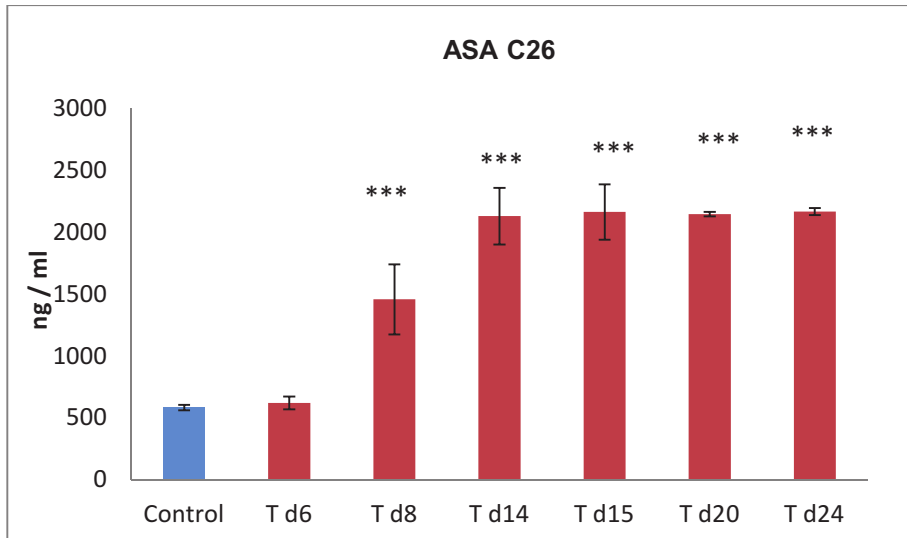
En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.3.2. Inflamación y Alteraciones metabólicas

#### 2.3.3.2.1. Inflamación

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de ASA de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de ASA en los animales portadores del tumor a partir de día (Figura 64).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos del ASA de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a partir de día 8 (p=0.002); día 14 (p<0.001); día 15 (p<0.001); día 20 (p<0.001); y día 24 (p<0.001) (Tabla 60).



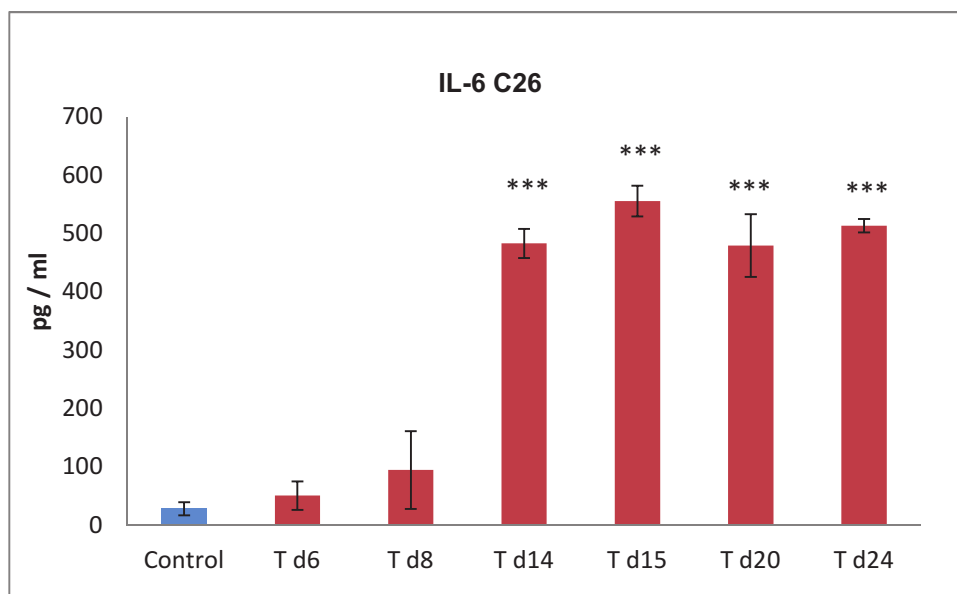
**Figura 64. Comparación de los niveles plasmáticos de ASA entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8 y 24) y 6 animales portadores del tumor C26 (día 20), y 5 animales portadores del tumor C26 (día 14 y 15), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en ng/mL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\* $p < 0.001$ .

**Tabla 60.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de ASA en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
AMILOIDE SERICO A	6	7,36 $\pm$ 10,14 (5)	-6,51 $\pm$ 23,22 (7)	1,24	0,1215	0,36	-11,04 38,79
	8	1,68 $\pm$ 20,92 (5)	-172,02 $\pm$ 104,60 (7)	3,61	<b>0,0024</b>	0,75	66,59 280,82
	14	-6,03 $\pm$ 11,02 (5)	-263,13 $\pm$ 7,75 (7)	42,66	<b>0,000</b>	0,99	243,2 270,99
	15	-5,91 $\pm$ 10,73 (5)	-277,71 $\pm$ 12,23 (7)	37,33	<b>0,000</b>	0,99	255,01 288,58
	20	1,69 $\pm$ 2,32 (5)	-264,81 $\pm$ 10,44 (7)	55,45	<b>0,000</b>	0,99	255,64 277,38
	24	-8,96 $\pm$ 18,25 (5)	-272,03 $\pm$ 17,79 (7)	24,98	<b>0,000</b>	0,99	239,61 286,53

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la IL-6 de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de IL-6 en los animales portadores del tumor a día 14, 15, 20 y 24. (Figura 65).



**Figura 65. Comparación de los niveles plasmáticos de la IL-6 entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8, y 24) y 7 animales portadores del tumor LLC (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en pg/mL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante  $***p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de IL-6 de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día de sacrificio 14 ( $p < 0.001$ ); día 15 ( $p < 0.001$ ); día 20 ( $p < 0.001$ ); y día 24 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 61).

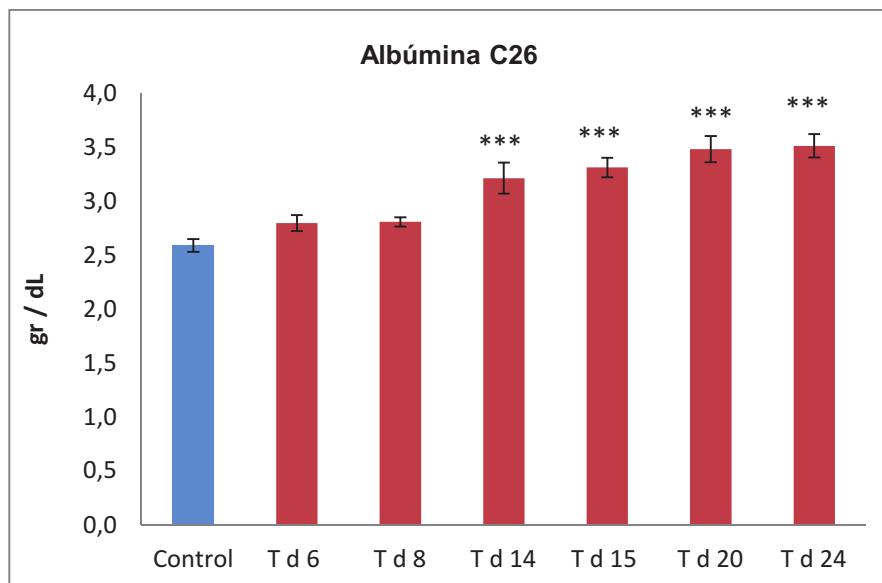
**Tabla 61.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de la IL- 6 en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
IL-6	6	-119,84 ± 85,10 (5)	-199,62 ± 94,60 (7)	1,49	0,0825	0,42	-38,85 198,39
	8	-89,88 ± 115,53 (5)	-172,02 ± 104,60 (7)	0,74	0,2279	0,22	-389,8 806,12
	14	116,17 ± 159,13 (5)	-1879,3 ± 43,95 (7)	27,02	<b>0,000</b>	0,99	1825,2 2165,73
	15	40,19 ± 102,06 (5)	-1908,7 ± 42,22 (7)	39,45	<b>0,000</b>	0,99	1835 2062,81
	20	19,53 ± 26,75 (5)	-1621,53 ± 395,55 (6)	9,17	<b>0,000</b>	0,95	1236,5 2045,66
	24	0 ± 0 (5)	-1720,19 ± 372,30 (7)	10,18	<b>0,000</b>	0,95	1343,9 2096,44

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.3.2.2. Alteraciones metabólicas

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la Albúmina de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de Albúmina en los animales portadores del tumor a partir de día 14. (Figura 66).



**Figura 66. Comparación de los niveles plasmáticos de la Albúmina entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8 y 24), 6 animales portadores del tumor C26 (día 20), y 5 animales portadores del tumor C26 (día 14 y 15), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en gr/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre los niveles plasmáticos de la Albúmina de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día de sacrificio 6 ( $p=0.004$ ); día 8 ( $p=0.004$ ); día 14 ( $p=0.002$ ); día 15 ( $p=0.003$ ); día 20 ( $p < 0.001$ ); y día 24 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 62).

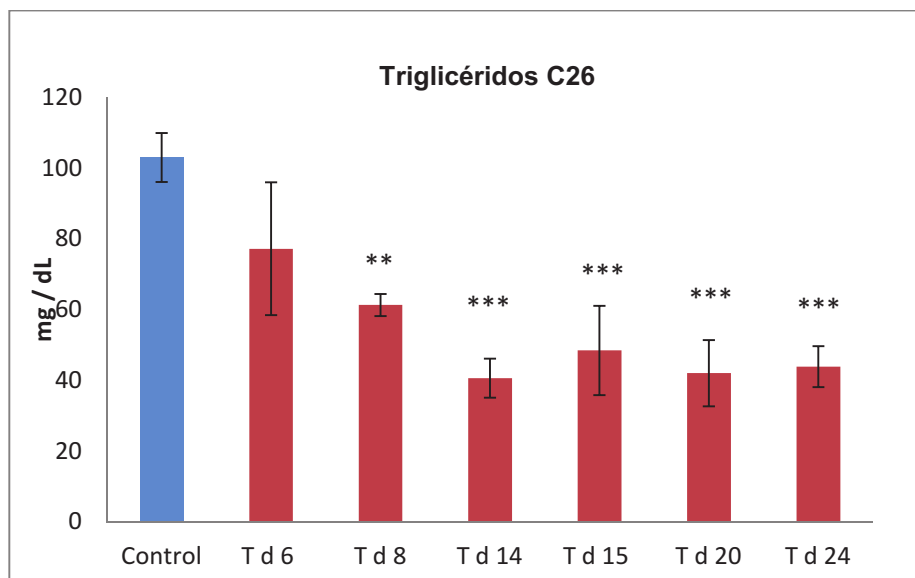
En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de los Triglicéridos de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en los niveles de los triglicéridos en los animales portadores del tumor a partir de día 8 (Figura 67).



**Tabla 62.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de disminución en los niveles plasmáticos de la Albúmina en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
ALBÚMINA	6	0,97 ± 0,05 (5)	-8,29 ± 6,33 (7)	3,22	0,0045	0,71	2,86	15,67
	8	21,25 ± 23,86 (5)	-8,44 ± 4,41 (7)	3,27	0,0042	0,72	9,51	49,89
	14	-5,43 ± 10,82 (5)	-30,09 ± 8,60 (7)	3,98	0,002	0,81	10,39	38,92
	15	-6,89 ± 5,98 (5)	-23,3 ± 7,85 (7)	3,71	0,003	0,79	6,22	26,58
	20	2,06 ± 2,27 (5)	-34,43 ± 8,97 (7)	8,79	0,000	0,94	27,11	45,89
	24	12,37 ± 17,91 (5)	-35,63 ± 20,83 (7)	4,15	0,001	0,79	22,28	73,73

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



**Figura 67.** Comparación de los niveles plasmáticos de los Triglicéridos entre animales control y animales portadores del tumor C26. Los resultados son la media ± S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8 y 24), 6 animales portadores del tumor (20) y 5 animales portadores del tumor C26 (día 14 y 15), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en mg/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*p<0.01 y \*\*\*p<0.001.

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de Triglicéridos de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día 8 ( $p=0.03$ ); día 14 ( $p<0.001$ ); día 20 ( $p<0.001$ ); y día 24 ( $p=0.008$ ) (Tabla 63).

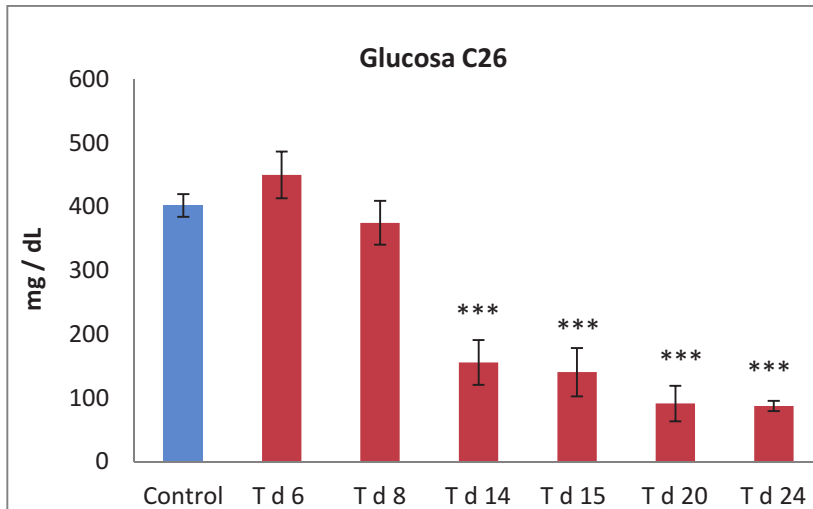
**Tabla 63.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de los niveles plasmáticos de los Triglicéridos en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
TRIGLICÉRIDOS	6	2,91 ± 23,63 (5)	28,89 ± 41,97 (7)	1,24	0,1216	0,36	-72,66 20,70
	8	5,71 ± 44,92 (5)	40,46 ± 7,87 (7)	2,04	<b>0,0342</b>	0,54	-72,66 3,16
	14	2,36 ± 21 (5)	66,09 ± 13,85 (5)	5,69	<b>0,0002</b>	0,89	-89,68 -37,77
	15	21,43 ± 52,42 (5)	59,68 ± 10,19 (5)	1,60	0,074	0,49	-93,32 16,82
	20	-19,43 ± 21,60 (5)	59,16 ± 12,58 (6)	7,55	<b>0,000</b>	0,92	-102,1 -55,04
	24	3,04 ± 47,46 (5)	57,39 ± 15,73 (7)	2,86	<b>0,0084</b>	0,67	-96,62 -12,07

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio de los niveles plasmáticos de la Glucosa de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta un aumento significativo en los niveles de glucosa en los animales portadores del tumor a día (Figura 68).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución de los niveles plasmáticos de la glucosa de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día de sacrificio 14 ( $p<0.001$ ); día 15 ( $p<0.001$ ); día 20 ( $p<0.001$ ); y día 24 ( $p<0.001$ ) (Tabla 64).



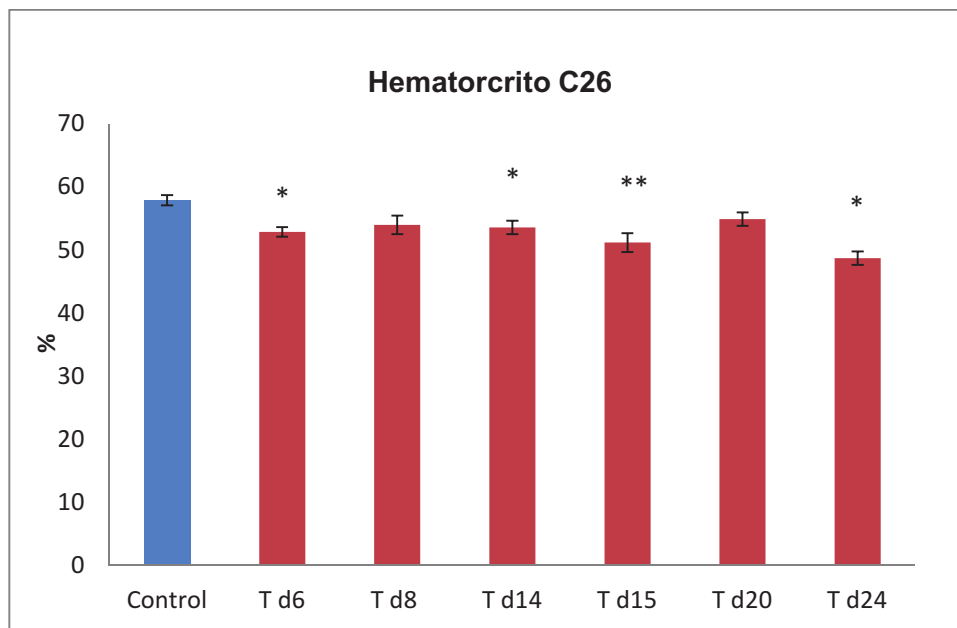
**Figura 68. Comparación de los niveles plasmáticos de la Glucosa entre animales control y animales portadores del tumor C26.** . Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8 y 24), 6 animales portadores del tumor (día 20) y 5 animales portadores del tumor C26 (día 14 y 15), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en mg/dL. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ .

**Tabla 64. Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de los niveles plasmáticos de la Glucosa en el modelo tumoral C26.**

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
GLUCOSA	6	2,99 $\pm$ 18,15 (5)	-10,71 $\pm$ 20,74 (7)	1,18	0,1317	0,35	-12,06 39,47
	8	-3,14 $\pm$ 21,89 (5)	6,80 $\pm$ 21,08 (7)	0,79	0,2229	0,24	-37,88 17,98
	14	13,46 $\pm$ 19,91 (5)	63,026 $\pm$ 13,57 (7)	4,76	<b>0,0007</b>	0,86	-73,57 -25,56
	15	8,24 $\pm$ 14,44 (5)	64,64 $\pm$ 5,88 (7)	8,08	<b>0,000</b>	0,944	-72,49 -40,32
	20	-17,68 $\pm$ 24,81 (5)	77,31 $\pm$ 12,30 (7)	8,29	<b>0,000</b>	0,94	-120,9 -69,08
	24	-22,82 $\pm$ 14,12 (5)	78,26 $\pm$ 8,34 (7)	15,65	<b>0,000</b>	0,98	-115,5 -86,69

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

En la siguiente figura se observa el cambio del porcentaje de hematocrito de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en el porcentaje del hematocrito en los animales portadores del tumor a día de sacrificio 6, 14, 15 y 20 (Figura 69).



**Figura 69. Comparación del porcentaje de Hematocrito entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 5 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8, 14, 15 y 24) y 6 animales portadores del tumor C26 (día 20), y 38 animales control en cada día. Los resultados se expresan en %. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre el porcentaje de disminución del Hematocrito de los animales portadores de tumor con el grupo control, y se observaron diferencias significativas a día de sacrificio día 6 ( $p=0.007$ ); día 8 ( $p=0.021$ ); día 14 ( $p=0.006$ ); día 15 ( $p=0.002$ ); y día 20 ( $p=0.029$ ) (Tabla 65).

**Tabla 65.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución del Hematocrito en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
HEMATOCRITO	6	2,48 ± 5,25 (5)	9,03 ± 2,48 (7)	2,91	0,0078	0,67	-11,56	-1,53
	8	-4,83 ± 9,32 (5)	4,24 ± 4,15 (7)	2,31	0,0217	0,59	-17,84	-0,32
	14	-6,78 ± 8,37 (5)	6,83 ± 4,76 (7)	3,16	0,0067	0,74	-23,56	-3,69
	15	1,10 ± 5,50 (5)	12,55 ± 3,96 (7)	3,77	0,0027	0,8	-18,44	-4,45
	20	-0,19 ± 4,90 (5)	4,74 ± 2,56 (7)	2,15	0,0299	0,58	-10,12	0,25
	24	8,97 ± 6,01 (5)	16,22 ± 10,46 (7)	1,382	0,0985	0,401	-18,92	4,435

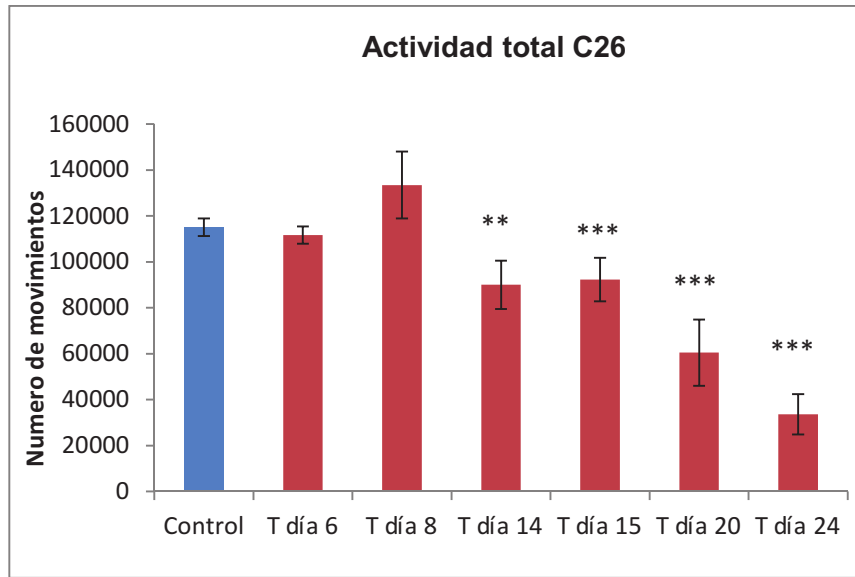
En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.3.3. Actividad Física

#### 2.3.3.3.1. Actividad total

En la siguiente figura se observa el cambio en la Actividad total de los animales portadores del tumor en los distintos días de sacrificio respecto a los animales control. Se manifiesta una disminución significativa en la actividad total en los animales portadores del tumor a partir de día 14 (Figura 70).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la Actividad total de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio día 6 ( $p=0.033$ ); día 14 ( $p=0.008$ ); día 15 ( $p=0.027$ ); día 20 ( $p<0.001$ ); y día 24 ( $p<0.001$ ) (Tabla 66).



**Figura 70. Comparación del nivel de la Actividad total entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8, 15 y 20), 5 animales portadores del tumor C26 (14) y 7 animales portadores del tumor C26 (día 24), y 35 animales control en cada día. Los resultados se expresan en número de movimientos. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ .

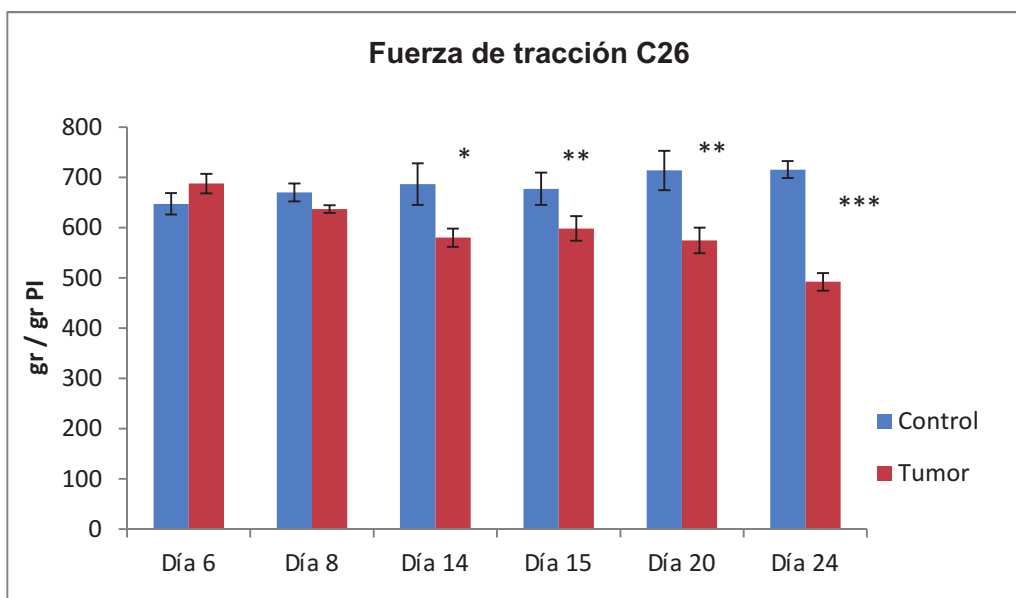
**Tabla 66.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de la Actividad total en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN ACTIVIDAD TOTAL	6	0 $\pm$ 18,44 (5)	15,18 $\pm$ 6,3 (7)	2,05	<b>0,0337</b>	0,54	-31,68 1,31
	8	0 $\pm$ 18,17 (5)	-14,10 $\pm$ 28,17 (7)	0,97	0,1758	0,29	-18,07 46,28
	14	0 $\pm$ 7,66 (5)	36,98 $\pm$ 26,36 (5)	3,01	<b>0,0084</b>	0,72	-65,3 -8,66
	15	0 $\pm$ 17,99 (5)	27,98 $\pm$ 21,31 (5)	2,24	<b>0,0276</b>	0,62	-56,74 0,78
	20	0 $\pm$ 5,65 (5)	49,88 $\pm$ 11,44 (6)	8,83	<b>0,000</b>	0,94	-62,66 -37,1
	24	0 $\pm$ 17,47 (5)	71,81 $\pm$ 8,96 (7)	9,94	<b>0,000</b>	0,95	-87,9 -55,72

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

### 2.3.3.3.2. Fuerza de tracción

En la siguiente figura se observa el cambio de la Fuerza de tracción de los animales portadores de tumor respecto a los controles en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución de la fuerza de tracción en los animales portadores del tumor a partir de día 14 (Figura 71).



**Figura 71. Comparación de la Fuerza de tracción entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8 y 24), 6 animales portadores del tumor C26 (día 20), y 5 animales portadores del tumor C26 (día 14 y 15), y 5 control en cada día. Los resultados se expresan en gr corregidos por el peso inicial del animal (PI) Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la Fuerza de tracción de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 8 ( $p=0.041$ ); día 14 ( $p=0.005$ ); día 15 ( $p=0.005$ ); día 20 ( $p=0.002$ ); y día 24 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 67).

**Tabla 67.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de la Fuerza de tracción en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCIÓN FUERZA DE TRACCIÓN	6	0 ± 7,30 (5)	-6,2 ± 7,87 (7)	1,38	0,0982	0,40	-3,78	16,18
	8	0 ± 5,90 (5)	4,95 ± 3,01 (7)	1,92	<b>0,0418</b>	0,51	-10,69	0,79
	14	0 ± 12,69 (5)	20,28 ± 4,99 (7)	3,32	<b>0,0052</b>	0,76	-34,35	-6,21
	15	0 ± 5,55 (5)	11,64 ± 5,73 (5)	3,26	<b>0,0058</b>	0,75	-19,88	-3,40
	20	0 ± 7,99 (5)	19,51 ± 8,76 (6)	3,82	<b>0,002</b>	0,78	-31,06	-7,96
	24	0 ± 12,59 (5)	31,23 ± 11,01 (7)	4,57	<b>0,0005</b>	0,82	-46,47	-16,00

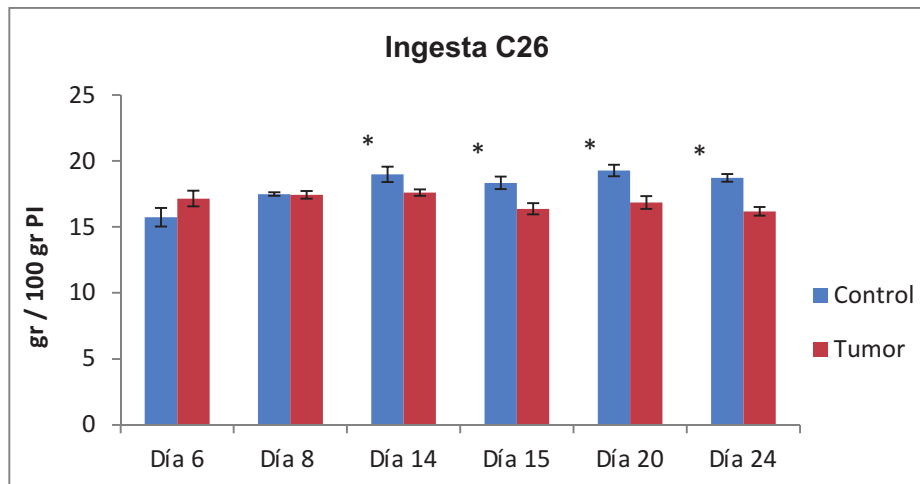
En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

#### 2.3.3.4. Anorexia

En la siguiente figura se observa el cambio en la ingesta de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en la ingesta en los animales portadores del tumor a partir de día 14 (Figura 72).

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución de la ingesta de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a día de sacrificio 14 (p=0.002); día 15 (p=0.015); día 20 (p=0.035); y día 24 (p=0.006) (Tabla 68).





**Figura 72. Comparación de la ingesta entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8 y 24), 6 animales portadores del tumor C26 (día 10, 12 y 20), y 5 portadores del tumor (día 14 y 15) y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en gr corregidos por el peso inicial del animal (PI). Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \* $p < 0.05$ .

**Tabla 68.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de la Ingesta en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC
DISMINUCIÓN INGESTA	6	0 $\pm$ 10,07 (5)	-8,96 $\pm$ 9,92 (7)	1,53	0,0781	0,43	-4,06 21,99
	8	0 $\pm$ 0,86 (5)	0,79 $\pm$ 3,90 (7)	0,44	0,3334	0,13	-4,81 3,21
	14	0 $\pm$ 5,19 (5)	10,83 $\pm$ 3,33 (7)	3,92	<b>0,0022</b>	0,81	-17,21 -4,46
	15	3,45 $\pm$ 11,82 (5)	11,82 $\pm$ 5,30 (7)	4,17	<b>0,0015</b>	0,82	-18,35 -5,29
	20	0 $\pm$ 8,16 (5)	13,03 $\pm$ 12 (7)	2,05	<b>0,035</b>	0,56	-27,38 1,31
	24	0 $\pm$ 5,07 (5)	13,58 $\pm$ 8,96 (7)	3,03	<b>0,0063</b>	0,69	-23,56 -3,60

En la tabla se muestra la media  $\pm$  desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

**2.3.3.5. Calidad de vida**

**2.3.3.5.1. Signos de malestar**

En este parámetro no fue necesaria la imputación de datos perdidos. Solo se muestran los resultados estadísticos.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas a día 14 ( $p < 0.001$ ); día 15 ( $p < 0.001$ ); día 20 ( $p = 0.004$ ); y día 24 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 69).

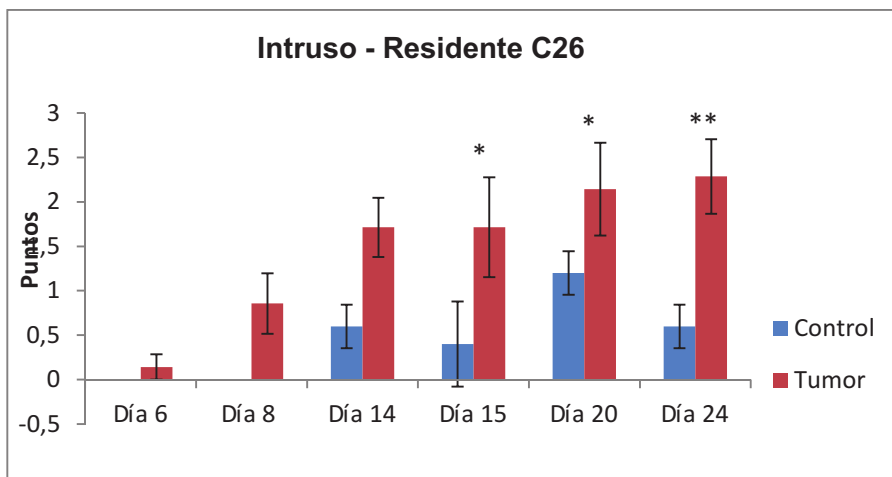
**Tabla 69.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución de los Signos de Malestar en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
SIGNOS DE MALESTAR	8	0 ± 0 (5)	0,14 ± 0,37 (7)	0,81	0,2121	0,25	-0,52	0,23
	14	0 ± 0 (5)	2,8 ± 1,3 (5)	4,80	<b>0,0007</b>	0,86	-4,14	-1,45
	15	0 ± 0 (5)	1,8 ± 0,44 (5)	9,00	<b>0,000</b>	0,95	-2,26	-1,33
	20	0 ± 0 (5)	2,16 ± 1,47 (6)	3,26	<b>0,0049</b>	0,73	-2,39	-0,00
	24	0 ± 0 (5)	2,71 ± 1,11 (7)	5,36	<b>0,0002</b>	0,86	-3,83	-1,5

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

**2.3.3.5.2. Paradigma Intruso – Residente**

En la siguiente figura se observa la puntuación del Paradigma Intruso – Residente de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en la interacción del animal residente con el intruso en los animales portadores del tumor a partir de día 15 (Figura 73).



**Figura 73. Comparación del Paradigma Intruso Residente entre animales control y animales portadores del tumor C26.** Los resultados son la media  $\pm$  S.E.M. por 6 animales portadores del tumor C26 (día 4, 6, 14 y 18) y 7 animales portadores del tumor C26 (día 20), y 5 animales control en cada día. Los resultados se expresan en puntos. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*\* $p < 0.001$ .

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la disminución en el Paradigma Intruso - Residente de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas en la interacción entre el animal residente con el intruso a día 8 ( $p=0.031$ ); día 15 ( $p=0.023$ ); día 20 ( $p=0.024$ ); y día 24 ( $p=0.007$ ) (Tabla 70).

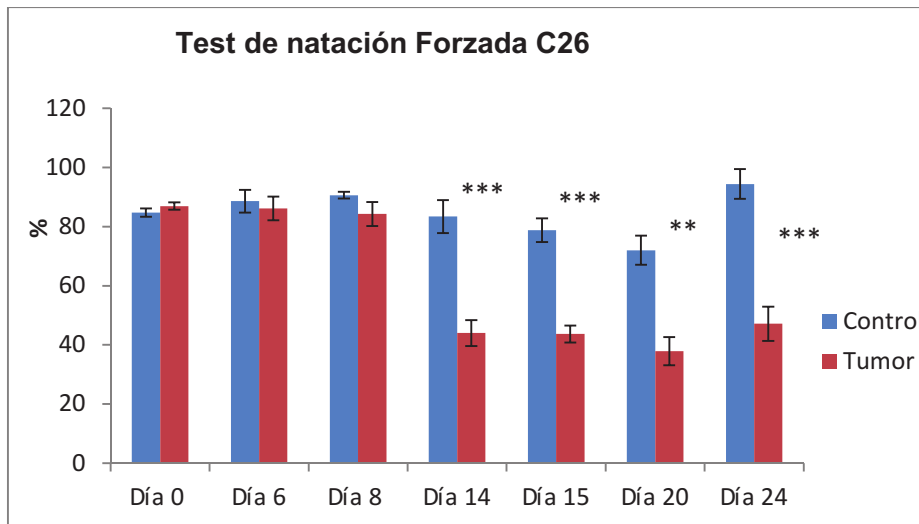
### 2.3.2.3.1. Test de Natación forzada

En la siguiente figura se observa el cambio en los intentos de salida del agua de los animales control respecto a los animales portadores de tumor en los distintos días de sacrificio. Se manifiesta una disminución en la ingesta en los animales portadores del tumor a partir de día 14 (Figura 74).

**Tabla 70.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución en el Paradigma Intruso – Residente en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCIÓN INTRUSO RESIDENTE	6	0 ± 0 (5)	0,14 ± 0,37 (7)	0,81	0,2121	0,25	-0,52	0,23
	8	0 ± 0 (5)	0,85 ± 0,9 (7)	2,10	<b>0,031</b>	0,55	-1,76	0,05
	14	0,6 ± 0,54 (5)	1,2 ± 1,30 (7)	0,94	<b>0,1853</b>	0,31	-2,05	0,85
	15	0,4 ± 0,54 (5)	2 ± 1,41 (7)	2,35	<b>0,023</b>	0,64	-3,16	-0,03
	20	0,8 ± 0,83 (5)	2 ± 0,89 (7)	2,2	<b>0,0243</b>	0,60	-2,39	-0,00
	24	0,6 ± 0,54 (5)	2,14 ± 1,06 (7)	2,9	<b>0,0075</b>	0,68	-2,71	-0,37

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.



**Figura 74.** Comparación del test de natación forzada entre animales control y animales portadores del tumor C26. Los resultados son la media ± S.E.M. por 7 animales portadores del tumor C26 (día 6, 8 y 24), 6 animales portadores del tumor C26 (día 20), y 5 animales portadores del tumor C26 (día 14 y 15) y 5 control en cada día. Los resultados se expresan en % de tiempo. Los valores que son significativamente diferentes en la prueba t de Student se indican mediante \*\*p< 0.01 y \*\*\*p<0.001.

Con los resultados obtenidos se realizó la imputación de los datos perdidos y se aplicó el análisis estadístico teniendo en cuenta la comparación entre la

disminución del nado forzado de los animales portadores de tumor respecto a los animales control, y se observaron diferencias significativas a partir de día de sacrificio 8 ( $p=0.017$ ); día 14 ( $p<0.001$ ); día 15 ( $p<0.001$ ); día 20 ( $p=0.009$ ); y día 24 ( $p<0.001$ ) (Tabla 71).

**Tabla 71.** Resultados del análisis estadístico para el porcentaje de la disminución en el Test de natación forzada en el modelo tumoral C26.

Parámetro	Día sacrificio	CONTROL	TUMOR	t	P. valor Unilateral	Tamaño del efecto	IC	
DISMINUCION NADO FORZADO	6	-9,62 ± 23,26 (5)	5,97 ± 7,33 (7)	1,68	0,0611	0,47	-36,17	4,98
	8	-9,17 ± 17,51 (5)	8,24 ± 6,65 (7)	2,43	<b>0,0176</b>	0,61	-33,36	-1,47
	14	2,41 ± 13,86 (5)	46,89 ± 14,60 (7)	4,94	<b>0,0006</b>	0,86	-65,24	-23,71
	15	3,87 ± 17,75 (5)	53,29 ± 14,83 (7)	4,77	<b>0,0007</b>	0,86	-73,29	-25,56
	20	17,40 ± 24,74 (5)	53,18 ± 16,46 (7)	2,87	<b>0,0092</b>	0,69	-63,96	-7,61
	24	-8,97 ± 4,51 (5)	42,45 ± 14,87 (7)	7,34	<b>0,000</b>	0,91	-67,02	-35,83

En la tabla se muestra la media ± desviación típica y tamaño de la muestra entre paréntesis, al igual que el valor de la t-Student (t), el valor de p, el tamaño del efecto y el intervalo de confianza (IC) para cada día de sacrificio.

#### 2.3.4. ANÁLISIS DE RESULTADOS DEL COMPONENTE DE INFLAMACIÓN Y ALTERACIONES METABÓLICAS PARA LOS TRES MODELOS EXPERIMENTALES

Una vez analizados los resultados de los experimentos realizados se decidió eliminar de la escala la medición de los niveles de lactato y urea puesto que sus mediciones no son estables en los tres modelos tumorales. Los puntos de estos dos parámetros se repartieron entre los otros cuatro parámetros; la puntuación final se observa en la Tabla 71.

**Tabla 71.** Componente Inflamación y alteraciones metabólicas en A-CASCO.

Síntoma	%	Medida	Puntos totales	Parámetros	puntúa si existe:	Puntos
IAM	30	Inflamación	16	SAA en plasma	Diferencia con el control	8
				IL-6 en plasma	Diferencia con el control	8
		Alteraciones metabólicas	14	Albúmina en plasma	Diferencia con el control	3,5
				Triglicéridos en plasma	Diferencia con el control	3,5
				Glucosa en plasma	Diferencia con el control	3,5
				Hemoglobina en sangre total	Diferencia con el Control	3,5

Las tablas 72 y 73 muestran A-CASCO en rata y ratón respectivamente.

#### 2.4. ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS PARA A-CASCO

De igual manera que en la escala CASCO, en el planteamiento teórico de la escala A-CASCO se postuló como hipótesis inicial que la caquexia podría ser clasificada en 4 estadios: sin caquexia, leve, moderada y estado terminal. Para establecer si estos cuatro estadios se encontraban presentes en los modelos tumorales, se realizó un análisis de conglomerados para clasificar grupos de sujetos con datos similares (Kaufman y Rousseuw 2005). Se utilizó el análisis de conglomerados de K medias calculado con la distancia Euclidiana.

Como trabajamos en dos especies y tres modelos experimentales diferentes, el análisis de conglomerados y su posterior análisis se realizó de forma independiente para cada modelo experimental.

Tabla 72. A-CASCO en rata.

Síntoma	%	Medida	Puntos totales	Parámetros	Valores	Puntos	
Pérdida de peso y composición corporal	40	Pérdida de Peso	32		< 5 %	0	
					≥ 5 %	8	
					≥ 15 %	16	
					≥ 30 %	24	
					≥ 50 %	32	
		Composición corporal	8		Sin cambios en la composición corporal ó cambio < 10%	Puntos x 0	
			Cambios > 10%	Puntos x 1			
				Cambios > 20%	Puntos x 1,25		
Inflamación/ Alteraciones metabólicas	30	Inflamación	16		SAA en plasma	Diferencia con el control	8
					IL-6 en plasma	Diferencia con el control	8
		Alteraciones metabólicas	14		Albúmina en plasma	Diferencia con el control	3,5
					Triglicéridos en plasma	Diferencia con el control	3,5
					Glucosa	Diferencia con el control	3,5
			Hematocrito	Diferencia con el control	3,5		
Actividad física	10		10	Actividad total	de 10 a 20	3	
					> de 21	6	
				Fuerza de Tracción	de 5 - 20	1	
					de 21 - 30	2	
				30	4		
Anorexia	10		10	Ingesta	≥ 5	5	
					≥ 20	7	
					≥ 30	10	
Calidad de vida	10		10	Signos de malestar	de 0 - 2	0	
					3 de 6	0,5	
					4 ó 6 de 6	1	
				Paradigma intruso-residente	de 0 - 9,99	0	
					de 10 - 30	1	
					de 31 - 60	2	
					de 61 - 100	4	
				Test de nado forzado	de 0 - 9,99	0	
					de 10 a 30	2	
de 31 -60	3						
de 61 - 100	5						

Tabla 73. A-CASCO en ratón.

Síntoma	%	Medida	Puntos totales	Parámetros	Valores	Puntos		
Pérdida de peso y composición corporal	40	Pérdida de Peso	32		< 2 %	0		
					≥ 2 %	8		
					≥ 12 %	16		
					≥ 15 %	24		
					≥ 25 %	32		
		Composición corporal	8			Sin cambios en la composición corporal ó cambio < 10%	Puntos x 0	
Cambios > 10%	Puntos x 1							
Cambios > 20%	Puntos x 1,25							
Inflamación/ Alteraciones metabólicas	30	Inflamación	16		SAA en plasma	Diferencia con el control	8	
					IL-6 en plasma	Diferencia con el control	8	
		Alteraciones metabólicas	14			Albúmina en plasma	Diferencia con el control	3,5
						Triglicéridos en plasma	Diferencia con el control	3,5
						Glucosa	Diferencia con el control	3,5
						Hematocrito	Diferencia con el control	3,5
Actividad física	10		10	Actividad total	de 10 a 20	3		
					> de 21	6		
				Fuerza de Tracción	de 5 - 20	1		
					de 21 - 30	2		
					30	4		
Anorexia	10		10	Ingesta	≥ 5	5		
					≥ 20	7		
					≥ 30	10		
Calidad de vida	10		10	Signos de malestar	de 0 - 2	0		
					3 de 6	0,5		
					4 ó 6 de 6	1		
				Paradigma intruso residente en ratón	Muy interesado	0		
					Interesado	1		
					Poco interes	2		
					Cero interes	4		
				Test de natación forzado	de 0 - 9,99	0		
					de 10 a 30.99	2		
					de 31 -60.99	3		
de 61 - 100	5							



#### 2.4.1. ANÁLISIS DE CONGLOMERADO PARA EL MODELO TUMORAL HEPATOMA ASCITICO YOSHIDA AH-130

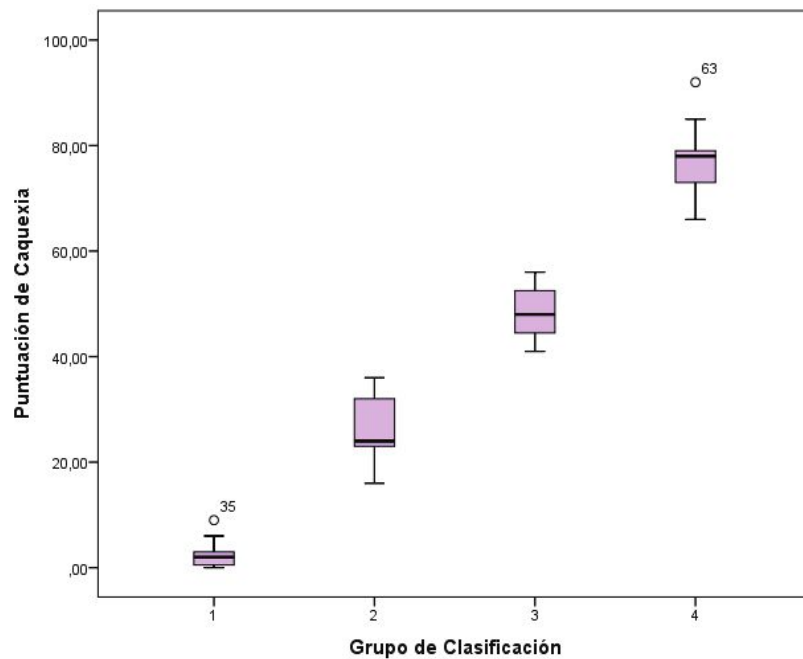
Del análisis de conglomerados realizado para este modelo tumoral, se obtuvieron cuatro grupos para clasificar la caquexia.

El primer grupo tuvo una media del valor A-CASCO de 4,8 (n=5; SD=2,86; IC=1,24 – 8,35); el segundo grupo una media de 26 (n=9; SD=6,18; IC=21,24 – 30,75), el tercero presentó un valor medio de 48,25 (n=12; SD=4,90; IC=45,13 – 51,36) y el cuarto grupo una media de 77,66 (n=9; SD=7,58; IC=71,83 – 83,49). La figura 75 muestra un diagrama de cajas con la distribución de los grupos de clasificación según la puntuación de caquexia. Los grupos 2 y 4 presentan una mayor dispersión en comparación a los grupos 1 y 3, observando que en el grupo 2 la mayoría de animales presentan puntuaciones de caquexia por encima de la mediana, a diferencia del grupo 4 que las puntuaciones de caquexia se encuentran por debajo de la mediana. Observándose que los cuatro grupos son diferentes entre ellos.

Posteriormente se determinó si las varianzas en los grupos son iguales. Para esto se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas, utilizando la prueba de Levene como método de análisis. El resultado obtenido fue de 1,301 con 3 grados de libertad para las diferencias inter-grupos y 31 grados de libertad para las diferencias intra-grupos, con un valor de  $p > 0.05$ . Se cumplió la condición de homogeneidad de varianzas o homoscedasticidad, por lo tanto tiene sentido hacer un análisis de la varianza y establecer si los grupos son diferentes entre ellos.

Se observó que existe diferencia entre los grupos con un valor de  $F=204,290$ ;  $gl=3$ ;  $p < 0,01$ . De igual manera se realizó el test de Bonferroni para estudiar la existencia de diferencias entre los pares de grupos. Los resultados de este análisis se observan en la tabla 86. No se encontró similitud en los grupos, todas las

comparaciones presentan diferencias estadísticamente significativas  $p < 0,001$  (Tabla 74). Al igual que en la escala CASCO, se destaca la existencia de una progresión en la diferencia de medias del grupo 1 al grupo 4, siendo la mayor diferencia entre los grupos 1 y 4. Estos resultados aportan evidencia empírica a favor de la gravedad de los animales del grupo 4 en relación al resto. Los animales del grupo 1 no tienen caquexia; a medida que aumenta la numeración del grupo también se observa un incremento en los niveles de caquexia, lo que explica que las diferencias entre los grupos extremos, grupo 1 (sin caquexia) y grupo 4 (nivel más alto de caquexia) sea mayor.



**Figura 75.** Diagrama de cajas para los grupos de clasificación en el modelo experimental Yoshida AH-130.

**Tabla 74.** Comparaciones entre los grupos de clasificación de caquexia en el modelo Yoshida AH-130. La letra I y J hace referencia al grupo de clasificación.

(I)	(J)	
Grupo de Clasificación	Grupo de Clasificación	Diferencias de medias (I-J)
1	2	-21,2 *
	3	-43,45 *
	4	-72,86 *
2	1	21,2 *
	3	-22,25 *
	4	-51,66 *
3	1	43,45 *
	2	22,25 *
	4	-29,41 *
4	1	72,86 *
	2	51,66 *
	3	29,41 *

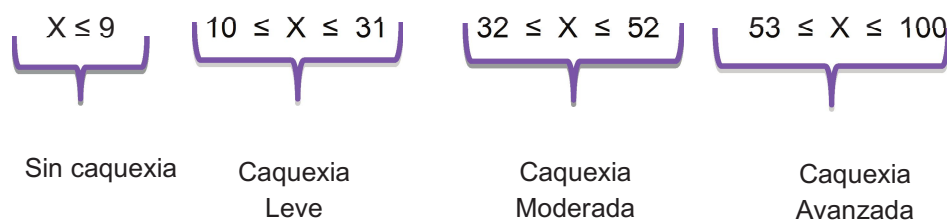
\* La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

**2.4.1.1. A-CASCO para el modelo experimental Yoshida AH-130**

Con el análisis de conglomerados se confirmó que la escala presenta 4 grupos, pero con una clasificación del nivel de caquexia diferente al descrito en el planteamiento teórico. La división de los grupos es la siguiente:

- Un primer grupo que representa los animales sin caquexia.
- El segundo grupo hace referencia a los animales con caquexia leve.
- El tercer grupo refiere a los animales con caquexia moderada
- Finalmente el cuarto grupo representa la caquexia en estado avanzado.

Los puntos de corte para cada grupo se muestran en la figura 76



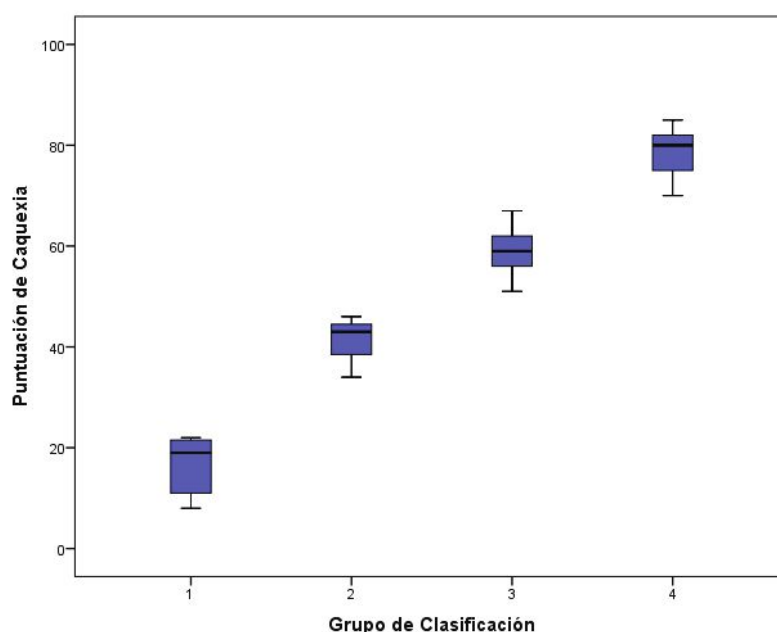
**Figura 76.** Puntos de corte para A-CASCO en el modelo experimental Yoshida AH-130.

#### 2.4.2. ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS PARA EL MODELO EXPERIMENTAL CARCINOMA PULMONAR DE LEWIS

De igual manera que en el hepatoma ascítico Yoshida AH-130, del análisis de conglomerados se obtuvieron 4 grupos para clasificar la caquexia.

El primer grupo tuvo una media del valor A-CASCO de 16,92 ( $n=12$ ;  $SD=5,51$ ;  $IC=13,41 - 20,42$ ); el segundo grupo una media de 41,50 ( $n=4$ ;  $SD=4,19$ ;  $IC=33,23 - 49,77$ ), el tercero presento un valor medio de 58,60 ( $n=10$ ;  $SD=4,90$ ;  $IC=55,09 - 62,11$ ) y el cuarto grupo una media de 78,45 ( $n=11$ ;  $SD=4,92$ ;  $IC=75,14 - 81,76$ ).

La figura 77 muestra un diagrama de cajas con la distribución de los grupos de clasificación según la puntuación de caquexia. En los grupos 1, 2 y 4 la mayoría de los animales presentan puntuaciones de caquexia por debajo de la mediana. No se observan valores extremos en ninguno de los grupos.



**Figura 77.** Diagrama de cajas para los grupos de clasificación en el modelo experimental Carcinoma Pulmonar de Lewis.

De igual manera que el modelo anterior, se determinó si las varianzas en los grupos son iguales. Para esto se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas, utilizando la prueba de Levene como método de análisis. El resultado obtenido fue

de 0,337 con 3 grados de libertad para las diferencias inter-grupos y 33 grados de libertad para las diferencias intra-grupos, con un valor de  $p > 0.05$ . Se cumplió la condición de homogeneidad de varianzas, por lo tanto tenía sentido hacer un análisis de la varianza y establecer si los grupos son diferentes entre ellos.

Se observó que existía diferencia entre los grupos con un valor de  $F=289,647$ ;  $gl=3$ ;  $p < 0,01$ . De igual manera se estudió la diferencia entre los grupos mediante el test de Bonferroni. Los resultados de este análisis se observan en la Tabla 75. No se encontró similitud en los grupos, todas las comparaciones presentan diferencias estadísticamente significativas  $p < 0,001$ . Al igual que en el modelo anterior se destaca la existencia de una progresión en la diferencia de medias del grupo 1 al grupo 4, aportando evidencia a favor de la gravedad de los animales del grupo 4 en relación al resto. De la misma manera que el modelo Yoshida AH-130, los animales del grupo 1 no tienen caquexia; a medida que aumenta la numeración del grupo también se observa un incremento en los niveles de caquexia, lo que explica que las diferencias entre los grupos extremos, grupo 1 (sin caquexia) y grupo 4 (nivel más alto de caquexia) sea mayor.

#### **2.4.2.1. A-CASCO para el modelo experimental Carcinoma Pulmonar de Lewis**

El análisis de conglomerados confirmó que la escala presenta 4 grupos, pero con una clasificación del nivel de caquexia diferente al descrito en el planteamiento teórico. La división de los grupos es la siguiente:

- Un primer grupo que representa los animales sin caquexia.
- El segundo grupo hace referencia a los animales con caquexia leve.
- El tercer grupo refiere a los animales con caquexia moderada
- Finalmente el cuarto grupo representa la caquexia en estado avanzado.

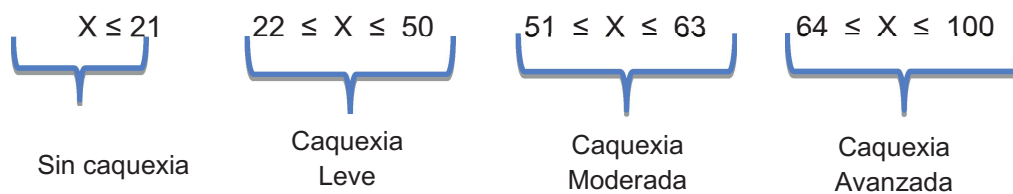
Los puntos de corte para cada grupo se muestran en la figura 78.

**Tabla 75.** Comparaciones entre los grupos de clasificación de caquexia en el modelo LLC.

La letra I y J hace referencia al grupo de clasificación.

(I)	(J)	
Grupo de Clasificación	Grupo de Clasificación	Diferencias de medias (I-J)
1	2	-24,58 *
	3	-41,68 *
	4	-61,53 *
2	1	24,58 *
	3	-17,1 *
	4	-36,95 *
3	1	41,68 *
	2	17,1 *
	4	-19,85 *
4	1	61,53 *
	2	36,95 *
	3	19,85 *

\* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05

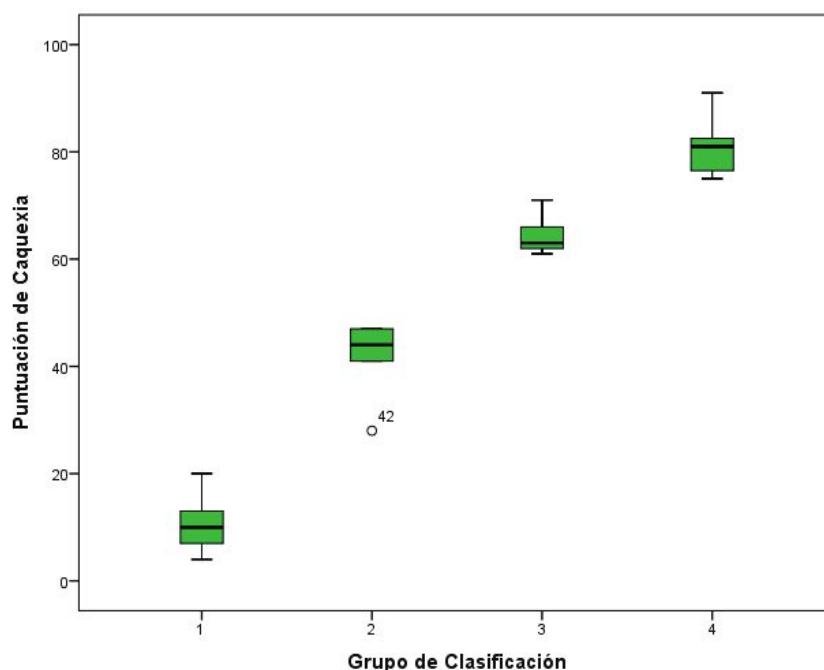


**Figura 78.** Puntos de corte para A-CASCO en el modelo tumoral LLC.

### 2.4.3. ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS PARA EL MODELO EXPERIMENTAL ADENOCARCINOMA DE COLON C26

Al igual que los dos modelos descritos anteriormente, del análisis de conglomerados se obtuvieron 4 grupos para clasificar la caquexia.

El primer grupo tuvo una media de 10,3 (n=13; SD=4,71; IC=7,46 – 13,16); el segundo grupo una media de 41,40 (n=5; SD=7,89; IC=31,60 – 51,20), el tercero presentó un valor medio de 64,43 (n=7; SD=3,69; IC=61,02 – 67,84) y el cuarto grupo una media de 80,33 (n=12; SD=4,61; IC=77,40 – 83,27). La figura 79 muestra un diagrama de cajas con la distribución de los grupos de clasificación según la puntuación de caquexia. El grupo 4 presenta una mayor dispersión en comparación al grupo 1, 2 y 3. Las puntuaciones de caquexia de los animales del grupo 4 se encuentran por debajo de la mediana, mientras que las del grupo 3 se encuentran por encima de la mediana. El único valor extremo se encuentra en el grupo 2.



**Figura 79.** Diagrama de cajas para los grupos de clasificación en el modelo experimental Adenocarcinoma de Colon.

Al igual que en los modelos anteriores, se determinó si las varianzas en los grupos eran iguales. Para esto se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas, utilizando la prueba de Levene como método de análisis. El resultado obtenido fue

de 0,853 con 3 grados de libertad para las diferencias inter-grupos y 33 grados de libertad para las diferencias intra-grupos, con un valor de  $p > 0.05$ . Se cumplió la condición de homogeneidad de varianzas, por lo tanto tenía sentido hacer un análisis de la varianza y establecer si los grupos son diferentes entre ellos.

Se observó que existe diferencia entre los grupos con un valor de  $F=437,57$ ;  $gl=3$ ;  $p < 0,01$ . De igual manera se estudió la diferencia entre los grupos mediante el test de Bonferroni. Los resultados de este análisis se observan en la Tabla 76. No se encontró similitud en los grupos, todas las comparaciones presentan diferencias estadísticamente significativas  $p < 0,001$ . Al igual que en los dos modelos anteriores se destaca la existencia de una progresión en la diferencia de medias del grupo 1 al grupo 4, aportando evidencia a favor de la gravedad de los animales del grupo 4 en relación al resto. Los animales del grupo 1 no tienen caquexia; a medida que aumenta la numeración del grupo también se observa un incremento en los niveles de caquexia, lo que explica que las diferencias entre los grupos extremos, grupo 1 (sin caquexia) y grupo 4 (nivel más alto de caquexia) sea mayor.

**Tabla 76.** Comparaciones entre los grupos de clasificación de caquexia en el modelo C26.

La letra I y J hace referencia al grupo de clasificación.

(I)	(J)	Diferencias de medias (I-J)
Grupo de Clasificación	Grupo de Clasificación	
1	2	-31,09 *
	3	-54,12 *
	4	-70,02 *
2	1	31,09 *
	3	-23,02 *
	4	-38,93 *
3	1	54,12 *
	2	23,02 *
	4	-15,9 *
4	1	70,02 *
	2	38,93 *
	3	15,9 *

\* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05

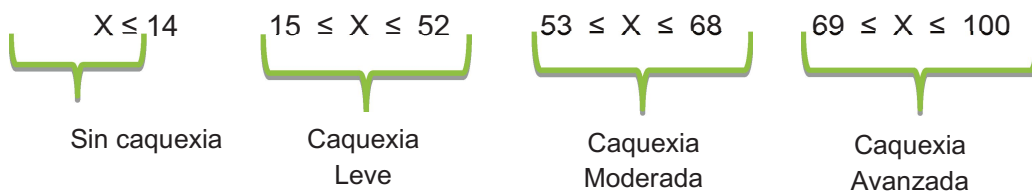


### 2.4.3.1. A-CASCO para el modelo experimental Adenocarcinoma de Colon C26

El análisis de conglomerados confirmó que la escala presenta 4 grupos, pero con una clasificación del nivel de caquexia diferente al descrito en el planteamiento teórico. La división de los grupos es la siguiente:

- Un primer grupo que representa los animales sin caquexia.
- El segundo grupo hace referencia a los animales con caquexia leve.
- El tercer grupo refiere a los animales con caquexia moderada
- Finalmente el cuarto grupo representa la caquexia en estado avanzado.

Los puntos de corte para cada grupo se muestran en la figura 80.



**Figura 80.** Puntos de corte para la Escala A-CASCO en el modelo tumoral C-26



## V. DISCUSIÓN



## 1. VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA CANCEROSA EN HUMANOS MEDIANTE EL USO DE *CAchexia SCOr*e (CASCO)

Para facilitar el orden de la discusión hemos organizado la misma en función de los objetivos específicos de nuestro trabajo de investigación. Así pues, en este primer punto se discuten los resultados obtenidos en relación a los dos primeros objetivos:

1. *Desarrollo de una escala cuantitativa que permita clasificar en diferentes grados de severidad los pacientes afectados de caquexia cancerosa.*
2. Validación mediante la aplicación de esta herramienta a pacientes afectados por distintos tipos de tumor los cuales presentaban distintos grados de caquexia y su posterior análisis estadístico.

En los últimos años el interés por el síndrome de la caquexia ha adquirido una relevancia creciente. Diversos investigadores coinciden en la necesidad de encontrar un método que permita a la comunidad médica identificar y clasificar los pacientes alterados por el síndrome caquético (Bozzetti y Mariani, 2008; Gabinson *et al.*, 2010; Baracos 2011; Blum *et al.*, 2014), ya que la identificación precoz, en particular durante las primeras etapas de la enfermedad, es un aspecto muy importante para su tratamiento, para que mejore la calidad de vida de estos pacientes e incluso para incrementar su supervivencia (Gabinson *et al.*, 2010). La falta de una herramienta específica para diagnosticar la caquexia hace que en la práctica diaria se utilicen, con este fin, herramientas no concretas para el diagnóstico de la caquexia como por ejemplo cuestionarios de malnutrición (Blum y Strasser 2011).

Debido a esta necesidad de dar respuesta a la brecha existente entre la identificación y clasificación del paciente caquético, nació CASCO. Tal y como

hemos ido señalando a lo largo de este trabajo, CASCO es un proyecto novedoso, completo y que consideramos cumple con los requisitos necesarios para ser una herramienta útil para la identificación y clasificación la caquexia cancerosa.

La gravedad de la caquexia en pacientes con cáncer varía entre la existencia de trastornos inflamatorios sintomáticos y mínima pérdida de peso y masa muscular en una etapa temprana, hasta una atrofia muscular severa en pacientes con estado avanzado que ya no responden al tratamiento antitumoral (Van der Meij *et al.*, 2013). Además de los trastornos inflamatorios y la pérdida de peso y masa muscular, en pacientes afectados por la caquexia también se observa una reducción en la ingesta y un metabolismo anormal, como se describió en la introducción de esta memoria.

Los componentes de CASCO, descritos en apartados anteriores, son capaces de identificar este trastorno y clasificarlo según su gravedad. Como se comentó anteriormente, cada uno de ellos ha sido incluido teniendo en cuenta la importancia que tiene cada componente dentro de la caquexia cancerosa.

Para incluir el primer componente, **Pérdida de Peso y Composición Corporal**, dentro de la escala, la primera consideración que se debe tener en cuenta es la importancia que tiene este componente dentro de la definición de caquexia. La pérdida de peso y composición corporal son determinantes para un diagnóstico, e importantes para la clasificación de la gravedad del síndrome caquético (Evans *et al.*, 2008). En esta línea, también es importante conocer que un adulto sano no pierde peso; por lo tanto, la aparición de una pérdida de peso involuntaria es anormal, siendo la medición y monitorización en el tiempo un elemento importante para una evaluación clínica (Fearon 2013). Esta idea avala aún más la importancia de este componente dentro de la escala CASCO.

El segundo componente de CASCO: **Alteraciones Metabólicas, Inflamación e Inmunosupresión**, resultó quizás uno de los retos más importantes dentro de este trabajo, ya que quisimos incluir biomarcadores relacionados con la caquexia cancerosa, y como se comentó anteriormente en la actualidad no existen biomarcadores específicos y establecidos para diagnóstico de la caquexia cancerosa. Es por esto que la inclusión de diversas moléculas y mediciones dentro de la escala CASCO supuso un desafío, y a su vez un progreso en la caracterización del síndrome caquético.

La caquexia está frecuentemente asociada con inflamación sistémica, que se evidencia por un aumento en la concentración plasmática de **Proteína C Reactiva** y un descenso en los niveles de **albúmina** (Richards *et al.*, 2012). **La IL-6**, junto con la IL-1 y TNF-  $\alpha$ , son considerados como los principales mediadores de la inducción de fase aguda en el hígado (Moshage 1997). Las alteraciones metabólicas que presenta el paciente con caquexia cancerosa, como un aumento de la ineficiencia energética, resistencia a la insulina, metabolismo anormal de carbohidratos, hipertrigliceridemia y desgaste muscular, son producidas en gran parte por la presencia del tumor y tienen un papel definitivo en el desarrollo de caquexia (Argilés *et al.*, 1997; Argilés *et al.*, 2006)

En este punto incluimos los siguientes parámetros para ser evaluados: la **albúmina**, ya que se encuentra relacionada con la severidad y pronóstico de diferentes estados caquéticos (Araujo *et al.*, 2009); la **pre-albúmina**, que es un buen indicador de estatus nutricional (Araujo *et al.*, 2009); los **triglicéridos**, que aumentan sus niveles circulantes, debido a un incremento en la lipólisis; y por otro lado tiene lugar una disminución de la actividad lipoproteína lipasa (LPL) del tejido adiposo blanco (TAB) (Argilés *et al.*, 2006). En el caso del **lactato**, la elevación en este biomarcador es muy frecuente en pacientes con cáncer, pero también es indicativo de la acidosis presente en otros tipos de estados catabólicos (Argilés *et*

*al.*, 1997). Respecto a la medición de hemoglobina, a menudo la **anemia** es una condición asociada con la caquexia, particularmente en cáncer (Fouladiun *et al.*, 2007); de igual manera, la anemia es uno de los criterios diagnósticos incluidos en la definición de caquexia descrita por Evans y colaboradores en el año 2008. Los niveles de **urea** en plasma, en cierta medida, reflejan el catabolismo del nitrógeno (Pister y Pearlstone 1993). Dado que CASCO fue creado para facilitar el diagnóstico y la clasificación de la caquexia, por este motivo el test de tolerancia a la glucosa (como primera aproximación ideada en CASCO) no pudo ser incluido pues es una técnica que requiere de bastante tiempo para ser realizada; sin embargo, este test puede ser sustituido por la Evaluación del Modelo de Homeostasis (**Índice HOMA**) (Matthews *et al.*, 1985). Finalmente, las **especies reactivas de oxígeno (ROS)**, han sido a menudo asociadas a carcinogénesis (Valko *et al.*, 2006; Engel y Evens 2006; Klauning y Kamendulis 2004); se cree que las ROS están involucradas en la condición de inflamación crónica, que se presenta en pacientes con cáncer avanzado y que contribuyen a la regulación de la producción de citoquinas cruciales para la inducción de la caquexia relacionada con el cáncer (Argilés *et al.*, 2005).

La **Actividad Física** (tercer componente de CASCO), representa otro punto importante en caquexia cancerosa, puesto que a medida que ésta avanza, la actividad física se ve afectada por la pérdida de tejido muscular; por consiguiente, la concentración y el estado de alerta del paciente disminuyen a causa de la fatiga (Stewart *et al.*, 2006). Este hecho no sólo influye en la parte física, ya que el deterioro conlleva a que el estado de ánimo esté dominado por el letargo y el aumento de la indiferencia (Waanabe y Bruera 1996). Por lo tanto, la disminución de la actividad física también se relaciona con la disminución en la calidad de vida, ya que la pérdida de función física hace que haya una disminución en el estado



funcional, en la capacidad para realizar actividades de la vida diaria, disminuye las interacciones sociales, y puede contribuir a que se presenten alteraciones en la imagen corporal (Fouladiun *et al.*, 2007).

Respecto al cuarto componente de CASCO, la **Anorexia**, cabe destacar que representa un factor muy importante en el desarrollo de la caquexia, puesto que la reducción de la ingesta de alimentos contribuye significativamente al deterioro nutricional presente en la caquexia, y en muchos casos el uso de nutrición parenteral total no detiene la pérdida de peso corporal (Lowry 1991; Laviano *et al.*, 2003). La evaluación cualitativa identifica a los pacientes en mayor riesgo de complicaciones (Hiesmayr *et al.*, 2009; Kalantar-Zadeh *et al.*, 2004). En este sentido, se incluyó el cuestionario SNAQ en CASCO, ya que es un instrumento válido y reproducible para detectar a los pacientes desnutridos sin la necesidad de calcular el porcentaje de pérdida de peso o el índice de masa corporal (Kruizenga *et al.*, 2005).

Finalmente, el quinto componente de CASCO, **Calidad de Vida**, es importante puesto que la caquexia puede tener enormes efectos negativos sobre el bienestar del paciente (Stewart *et al.*, 2006), lo que contribuye sustancialmente a la morbilidad (Ravasco *et al.*, 2004). De igual manera, los síntomas asociados a la caquexia, como fatiga, debilidad o falta de rendimiento físico, conducen al paciente a una autopercepción de la calidad de vida inferior (Ravasco *et al.*, 2004), lo que conlleva a que los pacientes puedan ser aislados debido a la reducción de la actividad física, mental y emocional (Reid *et al.*, 2009). Estos efectos negativos sobre el bienestar son vividos duramente por los pacientes y por los miembros que les prestan su apoyo (Stewart *et al.* 2006). Por estos motivos, la calidad de vida es un componente muy importante en el diagnóstico y clasificación de caquexia.

Otro punto de gran importancia en este trabajo fue la creación de CASCO como la herramienta diseñada para la recogida de los datos. Es novedosa, útil y fácil de manejar; fue diseñada con el objetivo de permitir al médico realizar la valoración y clasificación del paciente de forma rápida y completa. Por este motivo se incluyeron en él todos los cálculos necesarios para obtener un valor y una categoría para cada paciente. La información recogida puede ser guardada y comparada con la obtenida en una nueva valoración del paciente para comprobar si el grado de caquexia ha disminuido o aumentado, y así poder realizar una intervención más precisa.

Actualmente el grupo de trabajo de la Dra. Clelia Maddedu de la Universidad degli Studi di Cagliari (Italia), se encuentra en proceso de seguimiento de pacientes valorados con el cuestionario CASCO y tratados según la clasificación obtenida. Los datos obtenidos de este seguimiento serán utilizados en futuras investigaciones en nuestro grupo de trabajo.

Dentro de este mismo marco cabe destacar que el cuestionario CASCO está disponible en diferentes idiomas: inglés, español, italiano y portugués. Las traducciones de los cuestionarios de Actividad Física y Anorexia han sido realizadas por expertos en el idioma, y para el cuestionario de Calidad de Vida se utilizaron las versiones traducidas directamente del grupo de estudio de Calidad de Vida EORTC. Así garantizamos que la información que se recoge en los diferentes sitios puede ser comparada y tratada como una sola.

El análisis estadístico efectuado a través de las pruebas de análisis de consistencia interna, y validez de constructo, ha confirmado la validación de la

escala CASCO para determinar el grado de severidad de la caquexia. En el proceso de validación de CASCO se incluyó una población heterogénea de pacientes con cáncer. El carcinoma más abundante fue de mama, mientras que los carcinomas con menos pacientes fueron los de cuello uterino y vejiga entre otros. CASCO fue capaz de identificar y clasificar la caquexia en todos los pacientes que participaron en el estudio. De igual manera, CASCO diferenció los sujetos control (puntuación de caquexia por debajo de 14 puntos), de los pacientes en los cuales según su grado de caquexia se obtuvo un valor determinado de CASCO. Con los datos obtenidos de la clasificación de los pacientes y sujetos control se realizó el estudio de validación en donde se comprobó la validez de CASCO como herramienta para la clasificación del síndrome caquético.

Al comparar los resultados obtenidos en el proceso de validación de CASCO con las 3 escalas propuestas y descritas en la introducción (Bozzetti y Mariani (2008), por Gabison y colaboradores (2010), y la más reciente propuesta por Blum y colaboradores (2014) todas ellas con la finalidad de identificar la caquexia y descritas en el apartado de la Introducción, podemos destacar que:

- CASCO es la escala más completa de las tres, puesto que sus 5 componentes (Pérdida de Peso y Composición Corporal; Inflamación, Alteraciones Metabólicas e Inmunosupresión; Actividad Física; Anorexia y Calidad de Vida) abarcan la mayoría de aspectos y características presentes en un paciente caquético. La escala propuesta por Bozzetti y Mariani es una escala que se basa en síntomas clínicos y deja de lado aspectos importantes como las alteraciones bioquímicas como consecuencia del síndrome caquético (Fearon *et al.*, 2011). Por otro lado, la escala presentada por Gabison y colaboradores no evalúa la calidad de vida del paciente, obviando la importancia que representa dentro del síndrome caquético (Baracos 2011). Finalmente la

escala presentada por Fearon y colaboradores, al igual que la escala de Bozzeti, no incluye mediciones bioquímicas.

- CASCO es la única escala que permite dar una clasificación cualitativa y cuantitativa del síndrome caquético.

Comparando los resultados biométricos de la escala CASCO con la escala presentada por Gabison y colaboradores (la escala de Bozzetti y Mariani y de Fearon y colaboradores no presentan los resultados biométricos) podemos destacar que:

- En relación a la consistencia interna, la escala CASCO alcanzó valores de  $\alpha$  de Cronbach para el componente de Actividad Física y Calidad de Vida 0.928, y 0.944 respectivamente, los cuales corresponden a un nivel excelente de fiabilidad; y para el componente de Anorexia un valor de 0,801, que corresponde a un nivel bueno; mientras que la escala de Gabison y colaboradores obtuvo un  $\alpha$  de Cronbach de 0.85.
- En relación a la validez concurrente, la escala CASCO utilizó por un lado la correlación entre la puntuación de caquexia (CASCO) y la clasificación del paciente según criterio subjetivo de su médico, y por otro lado la correlación entre la puntuación de caquexia (CASCO) y la escala ECOG. Los resultados obtenidos avalan la utilización de CASCO como herramienta para identificar y clasificar la caquexia, pues se obtuvo una correlación excelente entre la puntuación de caquexia y la clasificación del médico ( $r=0.673$ ;  $p<0.001$ ); y una correlación suficiente entre la puntuación de caquexia y la escala ECOG ( $r=0,282$ ;  $p<0,001$ ), resultado que confirma que CASCO mide directamente el estado caquético. En el caso de la escala presentada por Gabison y colaboradores, la validez concurrente se realizó mediante la correlación de la puntuación obtenida en la escala con la evaluación global subjetiva generada por el paciente (PG/SGA), encontraron una correlación excelente (Muñiz 2005)

( $r=0.58$ ;  $p=0.04$ ), resultado que demuestra que la escala presentada por Gabison y colaboradores no presenta una alta especificidad, puesto que la PG/SGA no es una escala diseñada para caquexia, y en este caso se esperaría una correlación menor entre las dos.

En una búsqueda realizada en la base de datos *Web of Science* (enero de 2015) los artículos donde se describen las escalas propuestas para clasificar la caquexia cancerosa (Bozzetti y Mariani 2008; Gabison *et al.*, 2010; Fearon *et al.*, 2014;) no han sido citados en estudios clínicos.

Para finalizar este apartado, me gustaría hacer un comentario respecto a la versión reducida de CASCO, **MCASCO**.

Como se ha sido descrito a lo largo de este trabajo, CASCO es una herramienta completa para el diagnóstico y clasificación de la caquexia; incluye dentro de sus mediciones biomarcadores y pruebas capaces de dar un diagnóstico acertado de caquexia y una clasificación que sirve como herramienta para tratamiento y seguimiento del paciente caquético. MCASCO mantiene los cinco componentes pero con los parámetros más relevantes de cada uno de ellos, excepto en el primer componente (Pérdida de peso y composición corporal) que se mantiene de la misma manera que en CASCO debido a su importancia para el síndrome caquético. Como se comentó en el apartado de resultados 1.12 MCASCO, el segundo componente (Inflamación, alteraciones metabólicas e inmunosupresión) se redujo dependiendo la importancia que representa cada uno de los parámetros medidos dentro del síndrome caquético, para esto se tuvo en cuenta lo descrito en la definición de caquexia (Evans *et al.*, 2008) y el último *consensus* de la definición de caquexia (Fearon *et al.* 2011); también se tuvo en cuenta las pruebas

realizadas en la práctica clínica, pues no todas las mediciones de este componente incluidas en CASCO son de rutina, motivo que dificulta la obtención de datos.

En el caso del tercer, cuarto y quinto componente (Actividad física, Anorexia y Calidad de vida) se utilizó tres pruebas estadísticas como métodos de reducción; para la fiabilidad si se elimina el ítem ( $\alpha$  Cronbach) y el peso de la carga factorial de cada ítem para la Actividad física y Anorexia, y un análisis de ítems, donde se tiene en cuenta el coeficiente de discriminación de los ítems para la Calidad de vida. Estos análisis garantizaron la fiabilidad y validez de MCASCO fuera alta. La concordancia entre CASCO y MCASCO fue excelente ( $r=0.964$ ), lo que confirma que MCASCO es un instrumento que puede ser utilizado en la identificación y clasificación de la caquexia cancerosa.

Esta versión reducida de CASCO es capaz de identificar y clasificar el síndrome caquético de igual manera que la versión completa de CASCO, y hace que proporcionemos a la comunidad clínica una herramienta útil, pues mantenemos los componentes establecidos en CASCO para no variar las características medidas, pero resulta más simplificada y fácil de utilizar, puesto que al disminuir las mediciones, disminuimos el tiempo de aplicación, lo que es más cómodo tanto para el paciente como para el personal que administra el cuestionario.

## 2. VALORACIÓN DEL GRADO DE CAQUEXIA CANCEROSA EN MODELOS EXPERIMENTALES MEDIANTE EL USO DE *Animal CAchexia SCOr* (CASCO)

En este segundo apartado en la discusión, se valoran los resultados obtenidos en relación al tercer objetivo:

**Desarrollo de un sistema de clasificación de la caquexia cancerosa para tres modelos experimentales:** Hepatoma ascítico Yoshida AH-130, carcinoma pulmonar de Lewis y Adenocarcinoma de colon C26.

La prevención y tratamiento de la caquexia cancerosa deben ser reconocidos como parte integral de la terapia anticancerígena. Puesto que con un correcto tratamiento anti-caquético se puede llegar a detener o revertir el impacto del síndrome sobre el paciente y así contrarrestar la disfunción de los diferentes sistemas involucrados con el fin de obtener una mejora en el resultado clínico y en la calidad de vida del paciente (Van Bokhorst 2005; Nitenberg y Raynard 2000).

Por motivos como el anterior hemos desarrollado un sistema de clasificación para modelos experimentales de caquexia cancerosa (Yoshida AH-130, Carcinoma Pulmonar de Lewis, Adenocarcinoma de colon C26) con el objetivo de escalar diferentes grados de caquexia, y que esta clasificación pueda ser utilizada en la investigación de tratamientos anti-caquéticos y de esta manera poder monitorizar objetivamente si estos tratamientos disminuyen el grado de caquexia cancerosa en estos modelos experimentales.

Cabe destacar que el sistema de clasificación **A-CASCO** (**A**nimal **CA**quexia **SCOr**) está basado en el CASCO. Mantiene los 5 componentes descritos en CASCO, pero con variaciones en las mediciones debido al hecho que se trabaja

con animales de experimentación y algunas de las mediciones no pueden ser realizadas de la misma manera que en los humanos.

1. En el caso de la Pérdida de Peso corporal y disminución del peso del músculo GSN, se hizo la variación sobre la medición de la composición corporal que se aplica a los humanos en CASCO, puesto que como se describió en los resultados (apartado resultados A-CASCO 1.1 Componentes A-CASCO), los métodos utilizados para determinar la composición corporal en animales implican utilizar la totalidad del cuerpo del animal, motivo por el cual fue reemplazo por la disminución del peso del músculo **Gastrocnemius**, ya que por estudios previos se puede considerar representativo de la pérdida de la masa muscular en roedores en estas situaciones.

2. En segundo componente en A-CASCO está compuesto por la valoración de la Inflamación y las Alteraciones Metabólicas. Así, la Inflamación presenta variación respecto a CASCO, ya que en A-CASCO se valoran los niveles de Amiloide Sérico A y en CASCO los niveles de Proteína C Reactiva. Sin embargo la valoración de la Interleuquina – 6 se mantiene en los dos. Por lo que respecta a las Alteraciones Metabólicas son comunes en las dos escalas la medición de la albúmina y los triglicéridos, y difieren en la medición de la glucosa en A-CASCO y de la pre-albúmina y lactato en CASCO. Respecto a la valoración de la anemia tanto CASCO como ha A-CASCO contemplan esta medición, en CASCO se valora con el nivel de hemoglobina y en A-CASCO se valora con el hematocrito.

3. El tercer componente Actividad Física, integra mediciones que se corresponden a las valoraciones realizadas en humanos, tanto de fuerza (medición de la fuerza de tracción), como de cantidad de movimientos (medición de la actividad total 24 horas antes de sacrificio). Estas dos mediciones se corresponden al cuestionario realizado en los humanos.



4. En el caso de cuarto componente, la Anorexia, se realiza una medición objetiva de la ingesta puesto que se valora midiendo la cantidad de comida ingerida por el animal y calculando la disminución de esta en comparación a los animales control. De esta forma se puede comparar con la medición de la ingesta realizada en CASCO, la cual se realiza mediante preguntas directas al paciente sobre su percepción del apetito.

5. El quinto componente, Calidad de Vida, ha sido un reto en A-CASCO, puesto que valorar la calidad de vida de una animal no es fácil. Hay que conocer muy bien la cepa para reconocer el comportamiento normal de animal y posteriormente buscar las pruebas idóneas para valorar la disminución de la calidad de vida. En nuestro caso hemos incluido los signos de malestar, el paradigma intruso-residente y el test de natación forzada. Los signos de malestar fueron incluidos con el propósito de valorar signos y síntomas presentes en un roedor enfermo. Por otra parte, el paradigma intruso-residente pretende valorar la reacción del animal ante un estímulo externo. Y finalmente el test de natación forzada valora la disminución de la calidad de vida del animal y su estado físico midiendo los intentos de salida del agua.

También cabe destacar que por los análisis realizados, no se puede aplicar una sola escala para clasificar la severidad de caquexia en distintos modelos experimentales en diferentes cepas (Yoshida AH-130 (cepa Wistar), LLC (cepa C57BL/6) y C26 (cepa BALB/c)), por ese motivo se presentan dos escalas que difieren en: 1) La clasificación de la pérdida de peso, ya que se tiene en cuenta las diferencias de tamaño entre especie (rata y ratón), y 2) la valoración del Paradigma intruso residente ya que los ratones responden de una manera diferente a las ratas ante un estímulo extraño.

A continuación presentamos el análisis del comportamiento de los tres modelos experimentales utilizados en el desarrollo de la escala.

**En el modelo Yoshida AH-130**, se observaron signos de crecimiento tumoral a partir de día 2 de la inoculación de las células tumorales a nivel: bioquímico, actividad física y calidad de vida. La mayoría de cambios tenían una severidad baja ( $p < 0.05$ ), siendo las diferencias en IL-6 las únicas con un grado de severidad alto ( $p < 0.005$ ). No se observan cambios en el peso corporal y en el músculo GNS, lo que permitió concluir que el síndrome caquético no se había desarrollado.

A día 4 de la inoculación del tumor, se observan los mismos síntomas que a día 2, aumentando de severidad en el caso del Amiloide Sérico A y los triglicéridos. También se presentan nuevos síntomas como cambios en la concentración de glucosa y signos de malestar a un nivel de severidad alto ( $p < 0.005$ ). No se observan cambios en el peso corporal y el GSN, por lo que se concluyó que el síndrome caquético no se había desarrollado. Sin embargo la presencia del tumor afectó la calidad de vida del animal, observándose un deterioro con un grado de severidad alto ( $p < 0.005$ ).

A día 6 de la inoculación del tumor se observaron cambios en el peso corporal con una severidad alta ( $p < 0.005$ ) y disminución del peso del GNS con una severidad baja ( $p < 0.05$ ). De la misma forma, se evidenciaron cambios en la disminución de la fuerza de tracción y anorexia con un grado de severidad medio ( $p < 0.009 - 0.005$ ), que hasta este momento no estaban presentes, mientras que las diferencias en los demás parámetros se mantuvieron. En el caso del hematocrito y el test de nado forzado, no se observan diferencias significativas a causa de problemas en la medición. Con estos resultados se concluyó que el tumor había progresado y que el síndrome caquético ya se había desarrollado en un nivel de severidad medio.

A día 8 de la inoculación del tumor continuó la progresión del tumor y el desarrollo del síndrome caquético, evidenciándose un deterioro general en el animal. Se encontraron diferencias significativas en todos los parámetros excepto en la albúmina. Se observó un aumento en la severidad en las diferencias, como en el caso de la anorexia ( $p < 0.005$ ). Sin embargo, se destacó el incremento en la disminución del peso del músculo GNS ( $p < 0.005$ ), valor que se correlaciona con el aumento en la severidad de la disminución de la Actividad total y Fuerza de tracción, condiciones que se ven afectadas con la disminución de la masa muscular.

A día 10 de crecimiento tumoral, el deterioro del animal aumentó y se mantuvieron las diferencias significativas en todos los parámetros analizados, excepto en la albúmina.

A día 11 las diferencias significativas aumentaron y el Amiloide sérico A y la albúmina alcanzaron una severidad media ( $p < 0.009 - 0.005$ ). Los triglicéridos no presentaron diferencias significativas y la IL-6 no pudo ser analizada a causa de inconvenientes con las muestras. El deterioro del animal a causa del crecimiento tumoral y síndrome caquético aumentó, observándose caquexia en fase terminal.

En el caso del **Carcinoma Pulmonar de Lewis (LLC)**, en este caso a día 4 de crecimiento tumoral, solo se observaron cambios en la niveles de Amiloide sérico A y glucosa con un grado de severidad bajo ( $p < 0.05$ ).

A día 6 aumentan las diferencias significativas en tres parámetros, Interleucina 6 (severidad alta  $p < 0.005$ ), disminución de actividad total (severidad media  $p < 0.009 - 0.005$ ) y disminución en la ingesta (severidad baja  $p < 0.05$ ). El amiloide sérico A no presentó variación en el grado de severidad. Por problemas con las muestras de plasma no fue posible realizar la valoración de las alteraciones metabólicas. En

este punto del crecimiento tumoral podemos decir que el síndrome caquético no se había desarrollado.

A día 10 de crecimiento tumoral, todos los parámetros alcanzaron diferencias significativas con un nivel de severidad alto  $p < 0.005$ , excepto el nivel de triglicéridos (severidad media  $p < 0.009 - 0.005$ ) y la disminución en el test de nado forzado (severidad bajo  $p < 0.05$ ). No se observaron diferencias significativas en el nivel de glucosa.

A día 14 de crecimiento tumoral, las diferencias significativas continuaron de igual manera que a día 10, aumentando de severidad las diferencias en los niveles de los triglicéridos ( $p < 0.005$ ) y disminución de nado forzado, mientras que la severidad en la disminución de la ingesta ( $p < 0.05$ ) se redujo. No se presentaron diferencias significativas en la glucosa y en el Paradigma intruso – residente.

A día 18 de crecimiento tumoral, continuaron las diferencias significativas con el mismo grado de severidad que a día 14, excepto en los niveles de IL-6, triglicéridos y glucosa, en donde no se observaron diferencias significativas.

A día 20 de crecimiento tumoral, se observó una disminución en las diferencias en los niveles de albúmina ( $p < 0.05$ ) mientras que no se presentaron diferencias en los niveles de IL-6, glucosa, hematocrito y paradigma intruso residente. Nuevamente se observó diferencias en grado de severidad baja en los niveles de los triglicéridos ( $p < 0.05$ ). Los demás parámetros medidos continuaron con las diferencias significativas en un grado de severidad alto ( $p < 0.005$ ).

Con base en estos resultados se evidenció que la velocidad de crecimiento del tumor LLC es más lento que en Yoshida. Sin embargo el desarrollo del síndrome caquético es más agresivo, puesto que el nivel de severidad presentado por los

signos más representativos (pérdida de peso y disminución músculo GNS) fue alto ( $p < 0.005$ ), al igual que la mayoría de parámetros medidos.

En el **modelo tumoral C26**, se observaron diferencias significativas con un grado de severidad alto ( $p < 0.005$ ) en la disminución de peso y en los niveles de albúmina; diferencias significativas a un nivel medio en el hematocrito ( $p < 0.009 - 0.005$ ) y a un nivel bajo ( $p < 0.05$ ) en la disminución de la actividad total. Aunque se presentaron cambios en la pérdida de peso, no se registraron cambios en la composición corporal, por lo que no se podría hablar de desarrollo del síndrome caquético, pero sí de un inicio de deterioro del animal.

A día 8 de crecimiento tumoral aumentaron los síntomas del síndrome caquético, se observaron diferencias significativas a un grado de severidad bajo ( $p < 0.05$ ) en la pérdida de peso, disminución del músculo GNS, triglicéridos, hematocrito, fuerza de tracción, paradigma intruso – residente y test de nado forzado, y diferencias significativas en un grado de severidad alto ( $p < 0.005$ ) en los niveles de amiloide sérico A y albúmina.

A día 14 y día 15 de crecimiento tumoral, el síndrome caquético aumentó. A día 14 se observaron diferencias significativas en todos los parámetros excepto en el paradigma intruso residente. Se observaron diferencias significativas con un grado de severidad bajo ( $p < 0.05$ ) en la pérdida de peso y disminución músculo GNS. Las diferencias significativas con un grado de severidad medio se observaron en el hematocrito, la actividad total y la fuerza de tracción; y las diferencias con un grado de severidad alto se observaron en los niveles de amiloide sérico A, IL-6, albúmina, triglicéridos, glucosa, ingesta, signos de malestar y test de nado forzado. A día 15 aumentó la severidad en las diferencias significativas en la actividad total y no se observaron diferencias en los niveles de triglicéridos. En los demás parámetros las diferencias se mantuvieron con el mismo grado de severidad que

en el día 14. Por tanto se consideró que a partir de día 14 el nivel de caquexia observado es severo.

A días 20 y 24 se observó un nivel de caquexia en fase terminal, la condición física y calidad de vida del animal se habían deteriorado por completo a causa del crecimiento del tumor y la presencia del síndrome caquético. A día 20 se observaron diferencias significativas con un grado de severidad bajo ( $p < 0.05$ ) en el hematocrito, la ingesta y el paradigma intruso – residente. El test de nado forzado presentó diferencias significativas con un grado de severidad medio ( $p < 0.009 - 0.005$ ) y los demás parámetros presentaron un grado de severidad alto ( $p < 0.005$ ). A día 24 el comportamiento del tumor y el síndrome caquético fue similar al día 20, con la diferencia que no se observaron diferencias significativas en el hematocrito. El nivel de triglicéridos, la ingesta y el paradigma intruso residente presentaron un grado de severidad medio ( $p < 0.009 - 0.005$ ). Los demás parámetros presentaron un grado de severidad alto ( $p < 0.005$ ).

En comparación con los dos modelos tumorales descritos anteriormente, C26 es un modelo en el cual el crecimiento del tumor es más lento y por consiguiente la severidad del síndrome caquético tarda en aparecer.

En los párrafos anteriores se describen tres modelos experimentales de caquexia cancerosa en los que se analiza la evolución del tumor y desarrollo del síndrome caquético a través del tiempo. El análisis de estos resultados permitió desarrollar un sistema de clasificación útil para identificar la caquexia desde el momento en que inicia, y cómo aumenta su severidad a medida que el tumor progresa.

Este sistema de clasificación es completo ya que aparte de identificar el síndrome caquético, permite conocer y hacer el seguimiento de las alteraciones que se presentan en el animal. Una de las características que hace que el sistema

desarrollado sea de gran utilidad en investigación, en su capacidad para evidenciar los primeros síntomas y signos, tanto producidos por el tumor como característicos del síndrome caquético. Esto permitiría la investigación de tratamientos anticaquéticos en una fase temprana del síndrome evitando que llegue a un estadio avanzado.

A pesar de las ventajas que presenta el sistema de clasificación diseñado somos conscientes de las limitaciones de nuestro trabajo, están radican principalmente en que la escala ha sido diseñada en tres modelos experimentales diferentes, lo que podría limitar la utilización de la escala en otros modelos experimentales de caquexia.

Para finalizar este trabajo quisiera comentar que el síndrome de la caquexia es complejo y requiere esfuerzos conjuntos tanto en el ámbito preclínico como clínico. En este aspecto presentamos dos escalas de diagnóstico y clasificación de la caquexia: **A-CASCO** para animales de experimentación con el objetivo que sea utilizada en el estudio de tratamientos anti-caquéticos; y **CASCO** para diagnóstico y clasificación de la caquexia cancerosa en humanos, contribuyendo a la correcta elección del tratamiento anti-caquético por parte del oncólogo.





## VII. CONCLUSIONES



1. CAchexia SCORe (CASCO) es la herramienta cuantitativa propuesta en esta tesis doctoral que permite clasificar a los pacientes con cáncer en función del grado de severidad de la caquexia.
  - Sus cinco componentes son: (a) pérdida de peso y composición corporal, (b) inflamación, alteraciones metabólicas e inmunosupresión, (c) actividad física, (d) anorexia, y (e) calidad de vida, que reflejan el deterioro funcional y nutricional sufridos por el paciente caquético, así como los efectos negativos sobre su bienestar inducidos por la enfermedad.
  - El análisis estadístico efectuado a través de las pruebas de análisis de consistencia interna, y validez de constructo, ha confirmado la validación de la escala CASCO para determinar el grado de severidad de la caquexia.
  - CASCO clasifica cuatro niveles de severidad de la caquexia cancerosa: pacientes sin caquexia, y con caquexia leve, moderada y avanzada, en base a la prueba estadística de análisis de conglomerados.
  - Los valores obtenidos con la escala CASCO presentan una elevada correlación (determinada por el análisis de validez concurrente) con la valoración subjetiva realizada por el equipo de Oncología, confirmando su utilidad como herramienta de determinación de la gravedad del síndrome caquético.
2. MCASCO es una versión simplificada de CASCO que mantiene los cinco componentes, utilizando los parámetros más relevantes de cada uno de ellos identificados mediante el análisis de consistencia interna y el análisis factorial de componentes principales. De esta manera, MCASCO podría ser una herramienta útil de aplicación más rápida y sencilla que CASCO para obtener la clasificación del síndrome caquético de los pacientes cancerosos.

3. A-CASCO es una adaptación de la escala CASCO que mantiene los cinco componentes de esta escala pero diseñada para su aplicación en modelos experimentales de caquexia, concretamente el hepatoma ascítico Yoshida AH-130 (en rata), y el carcinoma pulmonar de Lewis y el adenocarcinoma de colon C26 (ambos en ratón). El análisis estadístico de los resultados demuestra que A-CASCO es una herramienta útil para clasificar el grado de caquexia, que incluye las mismas categorías contempladas en CASCO pero con diferentes puntuaciones adaptadas a cada modelo experimental en particular.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



**A**

Aarason NK, Ahmedzai S, Bergman B, et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of life instrument for use in international clinical trials in oncology. *J Nat Cancer Inst.* 1993; 85: 365-376.

Abad F, Olea J, Ponsoda V, García C. *Medición en ciencias sociales y de la salud.* Madrid. Editorial Sintesis S.A. 2011.

Ahlberg K, Ekman T, Gaston-Johansson F, Mock V. Assessment and management of cancer-related fatigue in adults. Review. *Lancet.* 2003; 362: 640-650.

Albrecht JT, Canada TW. Cachexia and anorexia in malignancy. *Hemal Oncol Clin N Amer.* 1996; 10: 791-800.

Araujo JP, Lourenco P, Rocha-Goncalves F, Ferreira A, Bettencourt P. Nutritional markers and prognosis in cardiac cachexia. *Int J Cardiol.* 2009; 146: 359-363.

Argilés JM, Alvarez B, López-Soriano FJ. The metabolic basis of cancer cachexia. *Med. Res. Rev.* 1997; 17: 477-498.

Argilés JM, Busquets S, García-Martínez C, López-Soriano FJ. Mediators involved in the cancer anorexia-cachexia syndrome: past, present and future. *Nutrition.* 2005b; 21: 977-985.

Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. The pivotal role of cytokines in muscle wasting during cancer. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2005a; 37: 1609-1619.

Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ, Figueras M. Fisiopatología de la Caquexia Neoplásica. 2006; 21: 4-9.

Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. Sarcopenia y Caquexia neoplásica: Diferencias y similitudes. *Nutrición Hospitalaria.* 2006; 21: 38-45.

Argilés JM, Busquets S, Moore-Carrasco R, Figueras M, Almendro V, López-Soriano FJ. Targets in clinical oncology: the metabolic environment of the patient. *Frontiers in Bioscience*. 2007; 12: 3024-3051.

Argilés JM, López-Soriano FJ, Busquets S. Apoptosis signalling is essential and precedes protein degradation in wasting skeletal muscle during catabolic conditions. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008; 40: 1674-1678.

Argilés JM, Lopez-Soriano FJ, Busquets S. Mechanisms and treatment of cancer cachexia. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2013; 23: S19-S24.

Argilés JM, López-Soriano FJ, Toledo M, Betancourt A, Serpe R, Busquets S. The cachexia score (CASCO): a new tool for staging cachectic cancer patients. *Journal Cachexia and Sarcopenia Muscle*. 2011; 2: 87-93.

Argilés JM, Moore-Carrasco R, Busquets S, López-Soriano FJ. Catabolic mediators as targets for cancer cachexia. *Drug Discov Today*. 2003a; 18: 838-844.

## B

Balducci L, Hardy C. Cancer and malnutrition a critical interaction: a review. *Am J Hematol*. 1985; 18: 91-103

Banks W. Anorectic effects of circulating cytokines role of the vascular blood-brain barrier. *Nutrition*. 2001; 17: 434-437.

Baracos V. Pitfalls in defining and quantifying cachexia. *Journal Cachexia and Sarcopenia Muscle*. 2011; 2: 71-73.

Barreiro E, de La Puente B, Busquets S, López-Soriano FJ, Gea J, Argilés JM. Both oxidative and nitrosative stress are associated with muscle wasting in tumour-bearing rats. *FEBS Lett*. 2005; 579: 1646-1652.

Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in new Mexico. *American Journal of Epidemiology*. 1998; 147: 755-763.



Beck SA, Tisdale MJ. Production of lipolytic and proteolytic factors by a murine tumor-producing cachexia in the host. *Cancer Res.* 1989; 47: 5919-5923.

Beutler B, Cerami A. Cachectin and tumour Necrosis Factor as two sides of the same biological coin. *Nature.* 1986; 320: 584-588.

Beutler B, Mahoney J, Le Tran N, Pekata P, Cerami A. Purification of Cachectin, a lipoprotein lipase - suppressing hormone secreted by endotoxin - induced RAW 264.7 cells. *Exp Med.* 1985, 161: 964-995.

Blum D, Stene G, Solheim T, Fayers P, Hjermstad M, Baracos V, Fearon K, Strasser F, Kaasa S. Validation of the Consensus - Definition for Cancer Cachexia and evaluation of a classification model - A study based on data from an international multicenter project (EPCRC-CSA). *Annals of Oncology.* 2014; 25: 1645-1652.

Blum D, Strasser F. Cachexia assessment tools. *Curr Opin Support Palliat Care.* 2011; 5: 350-355.

Boleo-Tome C, Chaves M, Monteiro-Grillo I, et al. Teaching nutrition integration: MUST screening in cancer. *Oncologist.* 2011; 16: 239-245.

Bozzati F, Mariani L. Defining and Classifying Cancer Cachexia: A proposal by the SCRININO working Group. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 2008; DOI 10.1177/0148607108325076.

Bruera E, Kuehn N, Miller MJ, Selmsler P, Macmillan K. The Edmonton Symptom Assessment System (ESAS): A simple method for the assessment of palliative care patients. *J Palliat Care.* 1997; 7: 6-9.

Buck M, Chojkier M. Muscle wasting and dedifferentiation induced by oxidative stress in a murine model of cachexia is prevented by inhibitors of nitric oxide synthesis and antioxidants. *EMBO J.* 1996; 15: 1753-1765.

Busquets S, Toledo M, Marmonti E, Orpí M, Capdevila E, Betancourt A, López-Soriano FJ, Argilés J. Formoterol treatment downregulates the myostatin system in skeletal muscle of cachectic tumour-bearing rats. *Oncology Letters.* 2012; 3: 185-189.

**C**

Cannon T, Couch M, Yin X, Guttridge D, Lai V, Shores C. Comparison of Animal Models for Head and Neck Cancer Cachexia Laryngoscope. 2007; 117: 2152-2158.

Chen SZ, Qiu ZG. Combined treatment with growth hormone, insulin and indomethacin alleviates cancer cachexia in a mouse model. J Endocrinol. 2011; 208: 131-136.

Clendening JW, Pandyra A, Boutros P, El Ghamrasni S, Khosravi F, Tretin GA, et al. Dysregulation of the mevalonate pathway promotes transformation. Proc Nat Acad Sci U S A. 2010; 107: 15051-15056.

Coccia MA, Cooke K, Stoney G, Pistillo J, Del Castillo J, Duryea D, et al. Novel erythropoiesis stimulating protein (darbepoetin alfa) alleviates anemia associated with chronic inflammatory disease in a rodent model. Exp. Hematol. 2002; 29: 1201-1209.

Costelli P, Carbo N, Tessitore L, Bagby GJ, López-Soriano FJ, Argilés JM, Baccino FM. Tumor necrosis factor-alpha mediates changes in tissue protein turnover in a rat cancer cachexia model. J Clin Invest. 1993; 92: 2783-2789.

Cray C, Zaias J, Altman N. Acute phase Response in Animal: A Review. Comparative Medicine. 2009; 59: 517-526.

**D**

Dahele M, Skipworth R, Wall L, Voss A, Preston T, Fearon K. Objective Physical Activity and Self-Reported Quality of life in patients receiving palliative chemotherapy. Journal of pain and Symptom Management. 2007; 33: 676-685.

Davis M, Dreicer R, Walsh D, Lagman R, LeGrand S. Appetite and cancer-associated anorexia: a new review. J Clin Oncol. 2004; 22: 1510-1517.

De Blaauw I, Deutz NEP, Von Meyenfeldt MF. Metabolic changes in cancer cachexia-first of two parts. Clin Nutr. 1997; 16: 169-176.

De Caestecker M. The transforming growth factor-beta superfamily of receptor. *Cytokines Growth Factor Rev.* 2004; 15: 1-11.

Deans C, Rose-Zerilli, Wigmore S, Ross J, Howell M, Jackson A, Grimble R, Fearon K. Host cytokine genotype is related to adverse prognosis and systemic inflammation in gastro-oesophageal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14: 329-339.

Deans C, Tan B, Wigmore S, Ross J, De Beaux A, Paterson-Brown S, et al. The influence of systemic inflammation, dietary intake and stage of disease on rate of weight loss in patients with gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer.* 2009; 100: 63-69.

Deans C, Wigmore S, Paterson-Brown S, Black J, Ross J, Fearon K. Serum parathyroid hormone-related peptide is associated with systemic inflammation and adverse prognosis in gastroesophageal carcinoma. *Cancer.* 2005; 103: 1810-1818.

Delmore G. Assessment of nutritional status in cancer patients: widely neglected? *Support Care Cancer* 1997; 5: 376-380.

DeWys W. Weight loss and nutritional abnormalities in cancer patients: incidence, severity and significance. *Clinics in Oncology*, edited by Calman KC and Fearon KCH. London: Saunders. 1986; 5: 251-261.

DeWys W, Begg C, Lavin PT, Band PR. et al. Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Med.* 1980; 69: 491-497.

Di Fiore F, Leclaire S, Pop D, Rigal O, Hamidou H, Paillo B, et al. Baseline nutritional status is predictive of response to treatment and survival in patients treated by definitive chemoradiotherapy for a locally advanced esophageal cancer. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102: 2557-2563.

Dialiang Z. Probing cancer cachexia-anorexia: recent results with knockout, transgene and polymorphisms. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2009; 12: 227-231.

Donohoe C, Ryan A, Reynolds J, Cancer Cachexia: mechanisms and Clinical Implications. *Gastroenterology Research and Practice*. 2011, IDE 601434.

Dworzak F, Ferrari P, Gavazzi C, Maiorana C, Bozzetti F. Effects of cachexia due to cancer on whole body and skeletal muscle protein turnover. *Cancer*. 1998; 82: 42-48.

## E

Ebner N, Steinbeck L, Doehner W, Anker S, Haehling S. Highlights from 7<sup>th</sup> Cachexia Conference: muscle wasting atrophysiological detection and novel treatment strategies 2014. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. Doi 10.1007/s13539-014-0136-z.

Elkina Y, Haehling S, Anker SD, Springer J. the role of myostatin in muscle wasting: an overview. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2011; 2: 143-151.

Ellegard LH, Bosaeus IG. Biochemical indices to evaluate nutritional support for malignant disease. *Clin Chim Acta*. 2008, 39 23-27.

Engel RH and Evens AM. Oxidative stress and apoptosis: a new treatment paradigm in cancer. *Front Biosci*. 2006; 11: 300-312.

Evans WJ, Campbell WW. Sarcopenia and age-related changes in body composition and functional capacity. *J Nutr*. 1993; 123: 465-468.

Evans WJ, Morley J, Argilés JM, Bales C, Baracos V, Guttridge D, Jatoi A, Kalantar-Zadeh K, Lonhs H, Mantovani G, Marks D, Mitch W, Muscaritoli M, Najand A, Ponikowski O, Fanelli F, Schambelan M, Schols A, Shuster M, Thomas D, Wolfe R, Anker s. Cachexia: a new definition. *Clinical Nutrition*. 2008; 27: 793-799.

## F

Faber J, Vos AP, Keglér D, et al: Impaired immune function: An early marker for cancer cachexia. *Oncol Rep*. 2009; 22: 1403-1406.

Fearon K, Arends J, Baracos V. Understanding the mechanisms and treatment options in cancer cachexia. *Clinical Oncology*. 2013; 10: 90-99.

Fearon K, Barber MD, Falconer JS, et al. Pancreatic cancer as a model: Inflammatory mediators, acute-phase response, and cancer cachexia. *World J Surg*. 1999; 23: 584-588.

Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, Jatoi A, Loprinzi C, MacDonald N, Mantovani G, Davis M, Muscaritoli M, Ottery F, Radbruch L, Ravasco P, Walsh D, Wilcock A, Kaasa S, Baracos V. Definition and classification of cancer cachexia an international consensus. *Lancet oncology*. 2011; 12: 489-495.

Ferriolli E, Skipworth R, Hendry P, Scott A, Strnsteth J, Dahele M, Wall L, Greig C, Fallon M, Strasser F, Preston T, Fearon K. Physical Activity Monitoring: A Responsive and Meaningful patient-Centered Outcome for Surgery, Chemotherapy, or Radiotherapy?. *Journal of Pain and Symptom Management*. 2012; 43: 1025-1035.

Fortunati N, Manti R, Birocco N, Pugliese M, Brignardello E, Ciuffreda L, Catalano MG, Aragno M, Boccuzzi G. Pro-inflammatory cytokines and oxidative stress/antioxidant parameters characterize the bio-humoral profile of early cachexia in lung cancer patients. *Oncol Rep*. 2007; 18: 1521-1527.

Fouladiun M, Korner U, Gunnebo L, Sict-Ammilon P, Bosaeus I, Lundholm K. Daily physical-rest activities in relation to nutritional state, metabolism, and quality of life in cancer patients with progressive cachexia. *Clin Cancer res*. 2007; 13: 6379-6385.

Fragala M, Jajtner A, Beyer K, Townsend J, Emerson N, Scanlon T, Oliveira L, Hoffman J, Stout J. Biomarkers of muscle quality: N-terminal propeptide of type III procollagen and C-terminal agrin fragment responses to resistance exercise training in older adults. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2013; DOI 10.1007/s13539-013-0120-z.

Fuhrman MP, Charney P, Mueller CM. Hepatic protein and nutrition assessment. *J Am Diet Assoc*. 2004; 104: 1258-1264.

Fujiwara Y, Kobayashi T, Chayahara N, Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Mukohara T, Nishiumi S, Azuma T, Yoshida T, Minami H. Metabolomics Evaluation of Serum

Markers for Cachexia and Their Intra-Day Variation in Patients with Advanced Pancreatic Cancer. PLoS One. 2014, 9: e113259

Fukuoka F, Nakahara W. Toxohormone and thymus involution in tumor bearing animals. Gann. 1952; 43: 97-98.

## G

Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. N Engl J Med. 1999; 340: 448-454.

Gabinson R, Gibbs M, Uziely B, Dekeyser F. The Cachexia Assessment Scale: Development and Psychometric Properties. Oncology Nursing Forum 37: 635-640.

Gallot Y, Durieux A, Castell J, Maud M, Vernus B, Plantureux L, Rémond D, Jahnke V, Lefai E, Dardever D, Nemoz G, Schaeffer L, Bonnieu A, Freyssenet D. Myostatin gene inactivation prevents skeletal muscle wasting cancer. Current Issue. 2014, DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-0057.

Gambardella A, Tortoriello R, Tagliamonte MR, et al. Metabolic changes in elderly cancer patients after glucose ingestion: The role of tumor necrosis factor- $\alpha$ . Cancer. 1997; 79: 177-184.

Garcia JM, Garcia-Touza M, Hijazi RA, Taffet G, Epner D, Mann D, et al. Active ghrelin levels and active to total ghrelin ratio in cancer-induced cachexia. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90: 2920-2926.

Garcia-Espinosa B, Rubio-Campal F, Carrasco-Carrasco M. HEMATOLOGIA I, Citología, fisiología y patología de hematíes y leucocitos. Tercera edición 2002. International Thomson Editores Sapin, Paraninfo S.A.

García-García FJ, Carcaillon L, Fernandez-Tresguerres J, Alfaro A, Larriion JL, Castillo C, Rodrigues-Mañas L. A new operational definition of frailty: the frailty trait scale. Journal of the American Medical Directors Association. 2014; 15: 371.e7-371.e13.

Gelin J, Moldawer L, Lonroth C, Sherry B, Chizzonite R, Lundholm K. Role of endogenous tumor necrosis factor  $\alpha$  and interleukin 1 for experimental tumor growth and the development of cancer cachexia. *Cancer Research*. 1991; 51: 415-421.

Gioulbasanis I, Georgoulas O, Vlachostergios PJ, et al. Mini nutritional assessment (MNS) and biochemical markers of cachexia in metastatic lung cancer patients: interrelations and associations with prognosis. *Lung Cancer*. 2011; 74: 516-520.

Gockel I, Dirksen K, Messow CM, Junginger T: Significance of preoperative C-reactive protein as a parameter of the perioperative course and longterm prognosis in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus. *World J Gastroenterol*. 2006; 12: 46-50.

Gomez-Marcondes MCC, Smith HJ, Cooper JC, Tisdale MJ. Development of an in vitro model system to investigate the mechanism of muscle protein induced by Proteolysis-Inducing Factor. *Br J Cancer*. 2002; 86: 1628-1633.

Goodlad GAJ, Raymond Mj. The action of Walker 256 carcinoma and toxohormone on amino acid incorporation into diaphragm protein. *Eur J Cancer*. 1973; 9: 139-145.

Gou T, Jou W, Chanturiya T, Portas J, Gavrilova O, McPherron AC. Myostatin inhibition in muscle, but not adipose tissue, decreases fat mass and improves insulin sensitivity. *PLoS One*. 2009; 4: e4937.

Granda-Cameron C, DeMille D, Lynch MP, Huntzinger C, Alcorn T, Levicoff J, et al. An interdisciplinary approach to manage cancer cachexia. *Clin J Oncol Nurs*. 2010; 14: 72-80.

Gupta SC, Kim JH, Kannappan R, Reuter S, Dougherty PM, Aggarwal BB. Role of nuclear factor- $\kappa$ B-mediated inflammatory pathways in cancer-related symptoms and their regulation by nutritional agents. *Exp Biol Med*. 2011; 236: 658-671.

Guyatt G, Sullivan M, Thompson P, Fallen E, Pugsley S, Taylor D, Berman L. The 6-minute walk a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Can Med Associ J*. 1985; 132: 919-923.

**H**

Hansen M, Trappe T, Crameri RM. et al. Myofibrillar proteolysis in response to voluntary or electrically stimulated muscles contraction in humans. *ScandJ MedSciSports*. 2009; 19: 75-82.

Hasselgren PO, Wray C, Mammen J. Molecular regulation of muscle cachexia: it may be more than the proteasome. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 290: 1-10.

Helbostad J, Oldervoll L, Fayers P, Jordhoy M, Fearon K, Strasser F, Kaasa S. Development of a computer-administered mobility questionnaire. *Support Care Cancer*. 2011; 19: 745-755.

Heymsfield S, Arteaga C, McManus C, Smith J, Moffitt S. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1983; 37: 478-494.

Hiesmayr M, Schindler K, Pernicka E, Schuh C, Schoeniger-Hekele A, Bauer P, et al. Decreased food intake is a risk factor for mortality in hospitalized patients: The Nutrition day Survey 2006. *Clin Nutr*. 2009; 28: 484-491.

Hyun Jung Kim, Han Jo Kim, Jina Yun, Kyoung Ha Kim, Se Hyung Kim, Sang-Cheol Lee, Sang Byung Bae, Chan Kyu Kim, Nam Su Lee, Kyu Taek Lee, Seong Kyu Park, Jong Ho Won, Hee Sook Park, and Dae Sik Hong. Pathophysiological Role of Hormones and Cytokines in Cancer Cachexia. *J Korean Med Sci*. 2012; 27: 128-134.

**I**

Ishiko O, Yasui T, Hirai K, Honda K, Sumi T, Nishimuna S, Ogita S. Lipolytic activity of anemia-inducing substance from tumor-bearing rabbits. *Nutri. Cancer*. 1999; 33: 201-205.

**J**

Janeway CA, Travers P. *Immunobiology: The immune System in Health and disease*, 3<sup>rd</sup>. New York: Current biology Ltd/Garland Publishing Inc. 1997, 91-50.



Jatoi A, Daly BD, Hughes VA, Dallal GE, Kehayias J, Roubenoff R. Do patients with nonmetastatic non-small cell lung cancer demonstrate altered resting energy expenditure? *Ann Thorac Surg.* 2001; 72: 348-351.

Johns N, Hatakeyama S, Stephens NA, Degen M, Frieauff W, Lambert C, Ross JA, Roubenorr R, Glass DJ, Jacobi C, Fearon KC. Clinical Classification of Cancer Cachexia: Phenotypi Correlates in Human Skeletal Muscle. 2014; 9: e83618.

## K

Kalantar-Zadeh K, Block G, McAllister CJ, Humphreys MH, Kopple JD. Appetite and inflammation, nutrition, anemia, and clinical outcome in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80: 299-307.

Kalantar-Zadeh K, Horwich TB, Oreopoulos A, Kovesdy CP, Younessi H, Anker SD, Morley JE. Risk factor paradox in wasting diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007; 10: 433-442.

Kaufan L, Rousseeuw P. Finding Groups in data an introduction to cluster analysis. John wiley & sons. New Jersey. 2005.

Kemik O, Sumer A, Sarbay Kemik A, Hasirci I, Purisa S, Cumhuri Dulger A, Demiriz B, Tuzun S. The relationship among acute-phase response proteins, cytokines and hormones in cachectic patients with colon cancer. *World Journal of Surgical Oncology.* 2010; 8: 85.

Klaunig JE, Kamendulis LM. the role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004; 44: 239-267.

Konstantinopoulos PA, Karamouzis MV, Papavassiliou AG. Post-translational modifications and regulation of the RAS superfamily of GTPases as anticancer targets. *Nat Rev Drug Discov.* 2007; 6: 541-555.

Krondup J, Allison SP, Elia M, et al. ESPEN guidelines for nutritional screening 2002. *Clin Nutri.* 2003; 22: 415-274.

Kruizenga HM, Seidell JC, De Vet HCW, Wierdsma NJ, Van Bokhorst-de van der Schueren MA. Development and validation of a hospital screening tool for malnutrition: the short nutritional assessment questionnaire (SNAQ). *Clinical Nutrition*. 2005; 24: 75-82.

Krzystek-Korpaczka M, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Blachut K, Kustrzeba-Wojcicka I, Banas T: Impact of weight loss on circulating IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , VEGF-A, VEGF-C and midkine in gastroesophageal cancer patients. *Clin Biochem*. 2007; 40: 1353-1360.

Kurzrock R. The role of cytokines in cancer-related fatigue. *Cancer*. 2001; 92: 1684-1688.

## L

Laviano A, Gleason JR, Meguid MM, Yang ZJ, Cangiano C, Rossi Fanelli F. Effects of intra-VMN mianserin and IL-1ra on meal number in anorectic tumor-bearing rats. *J Investig Med*. 2000; 48: 40-48.

Laviano A, Meguid MM, Inui A, Muscaritoli M, Rossi-Fanelli F. Therapy insight: cancer anorexia-cachexia syndrome when all you can eat is yourself. *Nat Clin Pract Oncol*. 2005; 2: 158-165.

Laviano A, Meguid MM, Preziosa I, Fanelli FR. Oxidative stress and wasting in cancer. *Curr Opin Clin Nutr metab care*. 2007; 10: 449-456.

Laviano A, Meguid MM, Rossi Fanelli F. Cancer anorexia: Clinical implications, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Lancet Oncol*. 2003; 4: 686-694.

Laviano A, Meguid MM, Yang Z-J, et al. Cracking the riddle of cancer anorexia. *Nutr*. 1996; 12: 706-710.

Lecleire S, Di Fiore F, Antonietti M, Soussan EB, Hellot M-F, Grigioni S, et al. Undernutrition is predictive of early mortality after palliative self-expanding metal

stent insertion in patients with inoperable or recurrent esophageal cancer. *Gastrointest Endosc.* 2006; 64: 479-484.

Lee EJ, Oh EJ, Park YJ, Lee HK, Kim BK. Soluble transferrin receptor (STfR), ferritin and STfR/logferritin index in anemic patients with non-hematologic malignancy and chronic inflammation. *Chem.* 2002; 48: 1118-1121.

Lee SJ, McPherron AC. Myostatin and the control of skeletal muscle mass. *Curr Opin Genet Dev.* 1999; 9: 604-607.

Lenk K, Schuler G, Adams V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. *J Cachex Sarcopenia Muscle.* 2010; 1: 9-21.

Lerner L, Guillory B, Chen J, Winston W, Weiler S, Gyuris J, et al. Growth differentiating factor-15 (GDF-15) induces anorexia and cachexia in mice: a novel pathway for cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2013; 4: 295-343.

Li Y, Jiang W, Huang J, Xia Z, Huang H, Li Z. The Glasgow Prognostic Score (GPS) as a novel and significant predictor of extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. *American Journal of Hematology.* 2013; DOI: 10.1002/ajh.23422.

Li X, Liao W. Expression of Rat Serum Amyloid A1 Gene Involves Both C/EBP/like and NFkB/like Transcription factors. *The Journal of Biological Chemistry.* 1991; 266: 15192-15201.

Llovera M, García-Martínez C, Agell N, Marzábal M, López-Soriano FJ, Argilés JM. Ubiquitin gene expression is increased in skeletal muscle of tumour-bearing rats. *FEBS Lett.* 1994; 338: 311-318.

Llovera M, Garcia-Martinez C, López-Soriano FJ, Carbo N, Agell N, López-Soriano FJ, Argilés JM. Role of TNF receptor 1 in protein turnover during cancer cachexia using gene knockout mice. *Mol Cell Endocrinol.* 1998; 142: 183-189.

Lokireddy S, Wijerupage I, Bonala S, Wei M, Sze S, McFarlane C, Kambadur R, Sharma M. Myostatin is a novel tumoral factor induces cancer cachexia. *Biochem.* 2012; 446: 23-36. Doi:10,1042/BJ20112024.

LoriteMJ, Smith HJ, Arnold JA, Morris A, Thompson MG, Tisdale MJ. Activation of ATP-ubiquitin-dependent proteolysis in skeletal muscle in vivo and murine myoblasts in vitro by proteolysis –inducing factor (PIF). *Br J Cancer.* 2001; 85: 297-302.

Lowry SF. Nutritional support and cancer cachexia. Evolving concepts of mechanisms and adjunctive therapies. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 1991; 5: 161-184.

Luna-Heredia E, Martín-Peña G, Ruiz-Galiana J. Handgrip dynamometry in healthy adults. *Clinical Nutrition.* 2005; 24: 250-258.

Lundholm K<sup>1</sup>, Gelin J, Hyltander A, Lönnroth C, Sandström R, Svaninger G, Körner U, Gülich M, Kärrefors I, Norli B, et al. Anti-inflammatory Treatment May Prolong Survival in Undernourished Patients with Metastatic Solid Tumors. *Cancer Res.* 1994, 54: 5602-5606.

## M

Maddocks M, Byrne A, Johnson CD, Wilson RH, Fearon KC, Wilcock A. Physical activity levels as an outcome measure for use in cancer cachexia trials: a feasibility study. *Support Care Cancer.* 2010; 18: 1539-1544.

Mantovani G, Macciò A, Madeddu C, Mura L, Gramignano G, Lusso MR, et al. Antioxidant agents are effective in inducing lymphocyte progression through cell cycle in advanced cancer patients: assessment of the most important laboratory indexes of cachexia and oxidatice stress. *J Mol Med.* 2003; 81: 664-673.

Mantovani G, Macciò A, Madeddu C, Serpe R, Antoni G, Massa E, Dessì M, Panzone F. *J Mol Med.* 2010; 88: 85-92

Marsik C, Kazemi-Shirazi L, Schickbauer T, Winkler S, Jou-Khadar C, Warner OF, et al. C-reactive protein and all-cause mortality in a large hospital-based cohort. *Clin Chem*. 2008; 54: 343-349.

Martignoni ME, Kunze P, Hildebrandt W, Kunzli B, Berberat P, Giese T, Kloters O, Hammer J, Buchler MW, Giese NA, Friess H. Role of mononuclear cells and inflammatory cytokines in pancreatic cancer-related cachexia. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 5802-5808.

Martin F, Santolaria F, Batista N, Milena A, Gonzales-Reimers E, Brito MJ, Oramas J. Cytokine Levels (IL-6 and IFN- $\gamma$ ), acute phase response and nutritional status as prognostic factors in lung cancer. *Cytokine*. 1999; 11: 80-86.

Martínez M, Calvo-Torrent A, Pico-Alfonso M.A. Social Defeat and Subordination as Models of Social Stress in laboratory rodents: a review. *Aggressive behavior*. 1998; 24: 241-256.

Mathupala SP, Rempel A, Pederson PL. Glucose metabolism in cancer cell. *JBiol Chem*. 1995; 270: 16918-16925.

Matthews DR, Hosker J, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*. 1985; 28: 412-419.

Matthys P, Heremans H., Opdenakker G, Billiau A. anti-interferon- $\gamma$  antibody treatment, growth of Lewis lung tumors in mice and tumor-associated cachexia. *European Journal of Cancer*. 1991; 27: 182-187.

Mc-Devitt TM, Todorov PT, Beck SA, et al. Purification and characterization of a lipid-mobilizing factor associated with cachexia-inducing tumors in mice and humans. *Cancer Research*. 1995; 55: 1458-1463.

McAuley P, Blair S. Obesity paradoxes. *J. Sports Sci*. 2011; 29: 773-782.

Morrison SD. Contribution of reduced hunger and premature satiety to cancerous hypophagia in rats. *Cancer Res.* 1984; 44: 1041-1043.

Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. *J. Pathol.* 1997; 181: 257-266.

Muñis J. Utilización de los tests. En Muñiz J, Fidalgo AM, García-Cueto E, Martínez R y Moreno R (Eds.). *Análisis de los ítems*, pp. 133-172. Madrid: La Muralla, S.A.

Murphy KT, Chee A, Trieu J, Naim T, Lynch Gs. Importance of functional and metabolic impairments in the characterization of the C-26 murine model of cancer cachexia. *Dis Model Mech.* 2012, 5: 533-545.

Muscaritoli M, Anker SD, Argilés JM, Aversa Z, Bauder JM, Biolo F, Boirie Y, Bosaeus I, Cederholm T, Costelli P, Fearon KC, Laviano A, Maggio M, Rossi Fanelli F, Schneider S, Schols A, Sieber C. Consensus definition of sarcopenia, cachexia and pre-cachexia: Joint document elaborated by Special Interest Group (SIG) "cachexia-anorexia in chronic wasting diseases" and "nutrition in geriatrics". *Clinical Nutrition.* 2010; 29: 154-159.

## N

Nakahara W, Fukuoka F. Purification of toxohormone, a characteristic toxic substance of cancer tissue. *Gann.* 1950; 41: 107.

Narici M, Maffulli N. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. *British Medical Bulletin.* 2010; 95: 139-159.

Nedergaard A, Karsdal M, Sun S, Henriksen K. Serological muscle loss biomarkers: an overview of current concepts and future possibilities. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2013; 4: 1-17.

Nitenberg G, Raynard B. Nutritional support of the cancer patient: issues and dilemmas. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2000; 34: 137-168.

Nozoe T, Saeki H, Sugimachi K. Significance of preoperative elevation of serum C-reactive protein as an indicator of prognosis in esophageal carcinoma. *Am J Surg.* 2001; 182: 197-201.

## O

Oken M, Crech R, Tormey D, et al. Toxicity and response criteria of The Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982; 5: 649-655.

Ocate-Ocana LF, Aiello-Crocifoglio V, Gallardo-Rincon D, Herrera-Goepfert R, Brom-Valladares R, Carillo JF, et al. Serum albumin as a significant prognostic factor for patients with gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14: 381-389.

Ocate-Ocana LF, Milan-Revollo G, Aiello-Crocifoglio V, Carillo JF, Gallardo-Rincon D, Brom-Valladares R, et al. Treatment for adenocarcinoma of the gastroesophageal junction at a single institution in Mexico. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14: 1439-1448.

## P

Pacelli F, Bossola M, Rosa F, Tortorelli AP, Papa V, Doglietto GB. Is malnutrition still a risk factor of postoperative complications in gastric cancer surgery? *Clin Nutr.* 2008; 27: 398-407.

Penna F, Busquets S, Pin F, Toledo M, Baccino F, López-Soriano FJ, Costelli P, Argilés JM. Combined approach to counteract experimental cancer cachexia: eicosapentaenoic acid and training exercise and training exercise. *Journal Cachexia and Sarcopenia.* 2011; 2: 95-104.

Pérez C. *Técnicas de Análisis Multivariante de Datos Aplicaciones con SPSS®.* Madrid. Pearson Educación, S.A. 2004.

Pham L, Yeung S, Lee M. Cancer metabolic reprogramming: importance, main features, and potentials for precise targeted anti-cancer therapies. *Cancer Biol Med.* 2014; 11: 1-19.

Picton SV. Aspects of altered metabolism in children with cancer. *Int J Cancer*. 1998, 11: 62-64.

Pister PW, Pearlstone DB. Protein and amino acid metabolism in cancer cachexia: investigative techniques and therapeutic interventions. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1993; 30: 223-272.

Porter D, Weremowicz S, Chin K, Seth P, Keshaviah A, Lahti-Domenici J, Bae YK, Monitto CL, Merlo-Suarez A, Chan J, Hulete CM, Richardson A, Morton CC, Marks J, Duyao M, Hruban R, Grabielson E, Gelman R, Polyak K. A neuronal survival factors is a candidate oncogene in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 10931-10936.

Preedy V, Peters T. *Skeletal muscle pathology, diagnosis and management of disease*. 2002 MPG Books Ltd. Bodmin Cornwall. ISBN 1841100293.

Proctor M, Horgan P, Talwar D, Fletcher C, Morrison D, McMillan D. Optimization of the Systemic Inflammation-Based Glasgow Prognostic Score. *Cancer*. 2013; 119(12): 2325-2332.

Puiggròs C, Lecha M, Rodríguez T, Perez-Portabella C, Planas M. El índice de Karnofsky como predictor de mortalidad en pacientes con nutrición enteral domiciliaria. *Nutr. Hosp*. 2009; 24: 156-160.

## R

Ramamoorthy S, Donohue M, Buck M. Decreased Jun-D and myogenin expression in muscle wasting of human cachexia. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009; 297: 392-401.

Rantanen T, Era P, Kauppinen M, Heikkinen E. Maximal isometric muscle strength and socio-economic status, health, and physical activity in 75-year-old persons. *J Aging Phys Act*. 1994; 2: 206-220.



Ravasco P, Monteiro-Grillo I, Marquez Vidal P, Camilo ME. Cancer: disease and nutrition are key determinants of patients' quality of life. *Supportive Care in Cancer*. 2004; 12: 246-252.

Read JA, Choy ST, Beale PJ, Clarke SJ. Evaluation of Nutritional and Inflammatory Status of Advanced Colorectal Cancer Patients and its Correlation with Survival. *Nutr Cancer*. 2006; 55: 78-85.

Reid J, McKenna H, Fitzsimons D, McCance T. Fighting over food: patient and family understanding of cancer cachexia. *Oncol. Nurs. Forum*. 2009; 36: 439-445.

Ricchards CH, Roxburgh CS, MacMillan MT, Isswiasi S, Robertson EG, et al. The relationships between body composition and the systemic inflammatory response in patients with primary operable colorectal cancer. *PLoS One*. 2012; 7: e41883.

Rich T, Innominato PF, Boerner J, Mormont MC, Iacobelli S, Baron B, Jasmin C, Levi F. Elevated serum cytokines correlated with altered behavior, serum cortisol rhythm, and dampened 24-hour rest-activity patterns in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 1757-1764.

## S

Sanz L, Ovejero VJ, Gonzalez JJ, Laso CA, Azcano E, Navarette F, et al. Mortality risk scales in esophagoctomy for cancer: their usefulness in preoperative patient selection. *Hepatogastroenterology*. 2006; 53: 869-873.

Scheede-Bergdahl C, Watt HL, Trutschnigg B, Kilgour RD, Haggarty A, Lucar E, Vigano A. Is the best proinflammatory biomarker of clinical outcomes of cancer cachexia. *Clin Nutr*. 2012, 31: 85-88.

Scott HR, Mcmillan DC, Brown DJF, Forrest LM, McArdle CS, Milroy R. A prospective study of the impact of weight loss and the systemic inflammatory response on quality of life in patients with inoperable non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2003; 40: 295-299.

Sharma M, Langley B, Bass J, Kambadur R. Myostatin in muscle growth and repair. *Exerc Sport Sci Rev.* 2001; 29: 155-158.

Skipworth RJ, Stewart GD, Dejong CH, Preston T, Fearon CH. Pathophysiology of cancer cachexia: much more than host-tumour interaction? *Clin Nutr.* 2007; 26: 667-676.

Solheim TS, Fayers PM, Fladvad T, Tan B, Skorpen F, Fearon K, Baracos VE, Klepstad P, Strasser F, Kaasa S. Is there a genetic cause for cancer cachexia? - a clinical validation study in 1797 patients. *Br J Cancer.* 2011; 105: 1244-1251.

SpivaK JL. Iron and the anemic of chronic disease. *Oncology.* 2002; 6: 25-33.

Springer J, Schust S, Peske K, Tschirner A, Rex A, Engel O, Scherbakov N, Meisel A, Von Haehling S, Boschmann M, Anker S, Ulrich D, Doehner W. Catabolic signaling and muscle wasting after acute ischemic stroke in mice: indication for a stroke-specific sarcopenia. *Stroke.* 2014; 45: 3675-83.

Stewart GD, Skipworth RJ, Fearon KC. Cancer cachexia and Fatigue. *Clin. Med.* 2006; 6: 140-143.

Stimpson SA, Leonard MS, Clifton LG, Poole JC, Turner SM, Shearer TW, et al. Longitudinal changes in total body creatine pool size and skeletal muscle mass using the D3-creatinine dilution method. *J Cachexia Sarcopenia muscle.* 2013; 3: 217-223.

Stoyanoff L, Leung E, Robinson J, et al. Validation of the abridged Patient-Generated Subjective Global Assessment as a screening tool for malnutrition in an outpatient oncology setting. *J Am Diet Assoc.* 2009; 109: A11.

Strassmann G, Fong M, Kenney S, Jacob C. Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. *Journal of Clinical Investigation.* 1992; 89: 1681-1684.

Sultan A, Pascucci M, Ahmad A, Malik A, Bianchi A, Ramadori P, Ahmad G, Ramadori G. Lipocalin/2 is a major acute/phase protein in a rat and mouse model of sterile abscess. *SHOCK*. 2012; 37: 191-196.

## T

Tan BH, Deans DA, Skipworth RJ, Ross J, Fearon K. Biomarkers for cancer cachexia: is there also a genetic component to cachexia? *Support Care Cancer*. 2008; 16: 229–234.

Tan BH, Fearon K. Cytokine gene polymorphisms and susceptibility to cachexia. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2010; 4: 243-248.

Tan BH, Ross J, Kaasa S, Skorpen F, Fearon K and European Palliative Care Research Collaborative. Identification of possible genetic polymorphisms involved in cancer cachexia: a systematic review *Journal of Genetics*. 2011, 90: 165-167.

Theurl I, Mattle V, Seifert M, Mariani M, Marth C, Weiss G. Dysregulated monocyte iron homeostasis and erythropoietin formation in patients with anemia of chronic disease, *Blood*. 2006; 107: 4142-4148.

Tijerina A. The Biochemical Basis of metabolism in Cancer Cachexia. *Dimensions of Critical Care Nursing*. 2004; 23: 237-243.

Tisdale MJ. Biology of cachexia. *J Natl Cancer Inst*. 1997; 89: 1763-1773.

Tisdale MJ. Cachexia in cancer patients. *Nature Rev Cancer*. 2002; 2: 862-871.

Tisdale MJ. Cancer Cachexia: Metabolic Alterations and Clinical Manifestations. *The international Journal of applied and basic nutritional sciences*. 1997; 13: 1-7.

Tisdale MJ. Mechanisms of Cancer Cachexia. *Physiol Rev*. 2009; 89: 381-410.

Todorov P, Cariuk P, McDevitt T, et al. Characterization of a cancer cachectic factor. *Nature*. 1996; 379: 739-742.

Tsoli M, Schwiger M, Vanniasinghe A, Pinter A, Zechner R, Clarke S, Robertson G. Depletion of white adipose Tissue in Cancer Cachexia Syndrome is Associated with Inflammatory Signaling and Disrupted Circadian Regulation. *Plos one*. 2014; 9: e92966.

Tsuchida K. Targeting myostatin for therapies against muscle-wasting disorders. *Curr Opin Drug Discov Devel*. 2008; 11: 487-494.

## V

Valenzuela-landaeta K, Rojas P, Basfi-fer K. Evaluación nutricional del paciente con cáncer. *Nutrición Hospitalaria*. 2012; 27: 516-523.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Freeradicals metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem boil Interact*. 2006; 160: 1-40.

Van Bokhorst-de van der Schueren MA. Nutritional support strategies for malnourished cancer patients. *Eur J Oncol Nurs* 9: 74-83.

Var Der Meij B, Schoonbeek C, Smit E, Muscaritoli M, Van Leeuwen P, Langius J. Per-cachexia and cachexia at diagnosis of stage III non-small cell lung carcinoma: an exploratory study comparing two consensus-based frameworks. *British Journal of Nutrition*. 2013; 109: 2231-2239.

Velasco C, Garcia E, Rodriguez V, et al. Comparison of four nutritional screening tolos to detect nutritional risk in hospitalized patients: a multicentre study. *Eur J Clin Nutri*. 2011; 65: 269-274.

Vigano A, Bruera E, Jhangri GS, Newman SC, Fields AL, Suarez-Almazor ME. Clinical survival predictors in patients with advanced cancer. *Arch Intern Med*. 2000; 160: 861-868.

Vigano A, Donaldson N, Higginson IJ, Bruera E, Mahmud S, Suarez-Almazor ME. Quality of life and survival prediction interminal cancer patients: a multicenter study. *Cancer*. 2004; 101: 1090-1098.

Vigano A, Tomasso J, Kilgour R, Trutschngg B, Lucar E, Morais J, Borod M. The Abridged Patient-Generated Subjective Global Assessment Is a Useful Tool for Early Detection and Charecterization of Cancer Cachexia. *Journal of Academy of Nutrition and Dietetics*. 2014; 114: 2212-2672.

## W

Walker DK, Thaden JJ, Deutz NEP. Fat-free and fast mass can be measured with D<sub>2</sub>O dilution and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Cachexia and Sarcopenia Muscle*. 2013; 4: 295-343.

Wang ZM, Gallagher D, Nelson ME. et al. Total body skeletal muscle mass: evaluation of 24-h urinary creatinine excretion by computerized axial tomography. 1996; 63: 863-869.

Watanabe S, Bruera E. Anorexia and cachexia, asthenia, and lethargy. *Hematol. Oncol. Clin. North Am*. 1996; 10: 189-206.

Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N. Engl J Med*. 2005; 352: 1011-1023.

Wilkinson DJ, Franchi MV, Brook MS, Narici MV, Mitchell WK, Atherton PJ, et al. The deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) stable isotope tracer is a powerful tool for monitoring short-term changes in skeletal muscle protein synthesis at res in response to exercise. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2011; 4: 295-343.

Wilson M, Thomas D, Rubenstein L, Chibnall J, Andreson S, Baixa A, Diebold M, Morley J. Appetite assessment: simple appetite questionnaire predicts weight loss in community-dwelling adults and nursing home residents. *Am J Clin Nutr*. 2005; 82: 1074-1081.

Wu J, Huang C, Xiao H, Tang Q, Cai W. Weight loss and resting energy expenditure in male patients with newly diagnosed esophageal cancer *Nutrition*. 2013, 29: 1310-1314.

## Y

Yamada Y, Kimura M. The application of segmental bioelectrical impedance spectroscopy in assessment of sarcopenia in elderly. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2014; 115: 812-818.

Yanagawa H, Sone S, Takahashi Y, et al. Serum levels of interleukin 6 in patients with lung cancer. *Br J Cancer*. 1995; 5: 1095-1098.

Yasumoto K, Mukaida N, Harada A et al. Molecular analysis of the cytokine network involved in cachexia in colon 26 adenocarcinoma-bearing mice. *Cancer Research*. 1995; 55: 921-927.

Yeh S, Schuster MW. Geriatric cachexia: The role of cytokines. *Am J Clin Nutr*. 1999; 70: 183-197.

Yunoki K, Griffin AC. Composition and properties of a highly purified toxormone preparation. *Cancer Res*. 1961; 21: 537-544.

## Z

Zhang D, Zheng H, Zhou Y, Tang X, Yu B, Li J. Association of IL-1beta gene polymorphism with cachexia from locally advanced gastric cancer. *BMC cancer*. 2007; 7: doi: 10.1186/1471-2407-7-45.

**ANEXO 1**

**CUESTIONARIO CASCO UTILIZADO PARA LA RECOGIDA DE DATOS**





# Cuestionario© CASCO

## Todos los derechos reservados

Ninguna parte de este documento cubierto por derechos de autor puede ser reproducida o transmitida en ninguna forma o por ningún medio sin previa autorización del titular de los derechos.

Las solicitudes de autorización para el uso del cuestionario CASCO y sus módulos, o para reproducir o citar los materiales contenidos en este documento, deben dirigirse a:

Fundació Bosch i Gimpera  
Àrea de Valorització i Llicències.  
Baldri i Reixac, 4-6, Torre D, 3ª Planta  
08028 Barcelona  
SPAIN

Tel: +34 93 403 9970  
Fax: +34 93 403 9767  
Email: [idea@fbg.ub.es](mailto:idea@fbg.ub.es)

Specimen

## ATENCIÓN

**El cuestionario CASCO es una herramienta actualmente bajo proceso de validación. No se ofrece ninguna garantía formal sobre el contenido y los cálculos incluidos.**

**Sólo se permite su uso para investigación**

**El uso clínico del cuestionario CASCO no está permitido**

Copyright © 2011. Universitat de Barcelona.  
Edición bajo validación, 2011

# CACHEXIA SCORE

## CUESTIONARIO CASCO

(Edición sometida a validación)

Imprimir

Enviar por email

Borrar

País

Select

Código del paciente Select . 0 . .

Número de referencia

0

Iniciales del paciente

Fecha de nacimiento

Fecha

Enfermedad subyacente

### Tratamiento

(fármacos, nutrición, otros)

Antes de aplicar CASCO, cual es su percepción de gravedad de la caquexia del paciente valorado en la escala siguiente:(normal, ausencia del cuadro caquético) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (terminal, caquexia evidente)

Grado de caquexia

### Valores calculados

PCC

0

IAI

AFI

0

ANO

0

CDV

0

NIVEL DE CAQUEXIA

0

Clasificado como

### PÉRDIDA DE PESO Y COMPOSICIÓN CORPORAL (PCC)

#### Pérdida de peso corporal

- < 5%  
 > ó igual al 5%, leve  
 > ó igual al 10%, moderada  
 > ó igual al 15%, severa  
 > ó igual al 20%, terminal

#### Masa Corporal Magra (MCM)

- Sin cambios en MCM  
 Pérdida de MCM > 10 %

Peso inicial

Peso final

Metodología

% Perdida de peso

0

### INFLAMACIÓN / ALTERACIONES METABÓLICAS / INMUNOSUPRESIÓN (IAI)

#### INFLAMACIÓN

##### CRP en suero

- 5 mg/l ≤ CRP ≤ 10 mg/l  
 10 mg/l < CRP ≤ 20 mg/l  
 CRP > 20 mg/l  
 Valor normal ó no analizado

##### IL6 en suero

- 4 pg/ml ≤ IL6 ≤ 10 pg/ml  
 10 pg/ml < IL6 ≤ 30 pg/ml  
 IL6 > 30 pg/ml  
 Valor normal ó no analizado

#### ALTERACIONES METABÓLICAS\*

- Albúmina en suero < 3.2 g/dL  
 Pre-Albúmina en suero < 1.6 mg/dL  
 Lactato en suero > 2.2 mM  
 Triglicéridos en suero > 200 mg/dL  
 Anemia: Hb < 12 g/dL  
 Urea en suero > 50 mg/dL  
 Niveles en suero de ROS > 300 FORT U  
 Test de tolerancia a la glucosa/Índice HOMA alterado

\* Los parámetros no analizados deben dejarse en blanco

Glucosa

Insulina

I. HOMA

#### INMUNOSUPRESIÓN\*

- Valores absolutos de linfocitos

\* Los parámetros no analizados deben dejarse en blanco

# CACHEXIA SCORE

## CUESTIONARIO CASCO

(Edición sometida a validación)

Iniciales del paciente

Fecha de nacimiento

Fecha

Estamos interesados en recoger información sobre su estado de salud. Por favor, responda a todas las preguntas. No hay respuestas correctas o incorrectas. La información suministrada se conservará en la más estricta confidencialidad.

### ACTIVIDAD FÍSICA (AFI)

Durante la semana pasada:

- |  | En absoluto           | Un poco               | Bastante              | Mucho                 |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. ¿Ha notado alguna disminución en particular en las actividades físicas (p.e., en el trabajo, en casa, en el ocio, etc) que normalmente lleva a cabo durante el día? | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| 2. ¿Tiene alguna dificultad para realizar actividades que requieren un esfuerzo importante, como llevar una bolsa de compra pesada o una maleta? [1]                   | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| 3. ¿Ha notado alguna pérdida de la fuerza en la mano?  | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| 4. ¿Le cuesta más trabajo subir escaleras?   | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| 5. ¿Se ha sentido cansado(a) después de caminar aproximadamente medio kilómetro?   | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

[1] La pregunta 2 ha sido extraída del 1995 EORTC Quality of Life Group. QLQ-C30. Usada con permiso

**Por favor, vaya a la última página del cuestionario para hacer la prueba de monitorización de la actividad física**

### ANOREXIA (ANO) [2]

#### 1. Mi apetito es:

- Muy pobre
- Pobre
- Normal
- Bueno
- Muy bueno

#### 2. Cuando como:

- Me siento saciado después de comer sólo unos pocos bocados
- Me siento saciado después de comer un tercio de una comida
- Me siento saciado después de comer media comida
- Me siento saciado después de comer la mayor parte de la comida
- Difícilmente me siento saciado

#### 3. La comida me sabe:

- Sin sabor
- Mal
- Normal
- Bien
- Muy bien

#### 4. Normalmente como:

- Menos de una comida al día
- Una comida al día
- Dos comidas al día
- Tres comidas al día
- Más de tres comidas al día

[2] Las preguntas 1-4 han sido extraídas del SNAQ del programa GRECC de St Louis del ST Louis VA Center. Usado con permiso

# CACHEXIA SCORE

## CUESTIONARIO CASCO

(Edición sometida a validación)

Iniciales del paciente

Fecha de nacimiento

Fecha

### CALIDAD DE VIDA (CDV)

#### Durante la semana pasada:

En absoluto    Un poco    Bastante    Mucho

1. ¿Tiene que permanecer en la cama o sentado en una silla durante el día?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
2. ¿Necesita ayuda para comer, vestirse, asearse o ir al servicio?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
3. ¿Ha tenido algún impedimento para hacer su trabajo u otras actividades cotidianas?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
4. ¿Ha tenido algún impedimento para realizar sus aficiones u otras actividades de ocio?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
5. ¿Tuvo sensación de falta de aire o dificultad para respirar?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
6. ¿Ha tenido dolor?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
7. ¿Necesitó parar para descansar?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
8. ¿Ha tenido dificultades para dormir?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
9. ¿Se ha sentido débil?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
10. ¿Ha tenido náuseas?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
11. ¿Ha vomitado?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
12. ¿Ha estado estreñido?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
13. ¿Ha tenido diarrea?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
14. ¿Interfirió algún dolor en sus actividades diarias?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
15. ¿Ha tenido dificultades en concentrarse en cosas como leer el periódico o ver la televisión?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
16. ¿Se sintió nervioso/a?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
17. ¿Se sintió preocupado/a?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
18. ¿Se sintió irritable?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
19. ¿Se sintió deprimido/a?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
20. ¿Ha tenido dificultades para recordar cosas?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
21. ¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en su vida familiar?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
22. ¿Ha interferido su estado físico o el tratamiento médico en sus actividades sociales?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho
23. ¿Le han causado problemas económicos su estado físico o el tratamiento médico?  En absoluto  Un poco  Bastante  Mucho

Excelente    Bueno    Malo    Muy malo

24. ¿Cómo valoraría su salud general durante la semana pasada?  Excelente  Bueno  Malo  Muy malo
25. ¿Cómo valoraría su calidad de vida en general durante la semana pasada?  Excelente  Bueno  Malo  Muy malo

**ACTIVIDAD FISICA (AFI) (Cont.)****Monitorización**

La monitorización tendrá lugar al tiempo que se llena el cuestionario, normalmente en el momento del diagnóstico. Si no está disponible la monitorización, se usará siempre el cuestionario. El primer cálculo del nivel de caquexia utilizará los valores del cuestionario. Los cálculos posteriores usarán los valores monitorizados de acuerdo con la siguiente escala:

**1. Actividad Total:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>Actividad Total</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

**2. Fuerza de la mano:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>Fuerza de la mano</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

**3. Subida de escaleras:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>Subida de escaleras</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

**4. Distancia caminada en 6 minutos:**

<b>Test Previo</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>	Reducción de la <b>distancia caminada</b> <b>en 6 minutos</b> a partir de la medida previa en %	0
<b>Test Actual</b>	Fecha	<input type="text"/>	Valor	<input type="text"/>		

This is a specimen version. Full access to the document is available at

[http://www.fbg.ub.edu/index.php?option=com\\_content&task=view&id=251&Itemid=](http://www.fbg.ub.edu/index.php?option=com_content&task=view&id=251&Itemid=)



**ANEXO 2**

**AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ ETICO DE LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA**







UNIVERSITAT DE BARCELONA



Gestió de la Recerca

Pavelló Rosa (recinte Maternitat)  
primer pis  
Travessera de les Corts, 131-159  
08028 Barcelona  
Tel. 93 403 53 95 - 93 403 53 97  
Fax (34) 93 403 54 00  
g.recerca@ub.edu  
www.ub.es/ogrc/ogrc.htm

Comisión de Bioética  
de la Universitat de Barcelona

---

Certificado de aprobación  
Sobre experimentación en humanos o en muestras de origen humano

---

Don Albert Royes Qui, Secretario de la Comisión de Bioética de la Universitat de Barcelona.

**CERTIFICA:**

Que el Dr. Josep M<sup>a</sup> Argilés Huguet presentó el proyecto titulado "Terapia combinada como estrategia para el tratamiento de la caqueixa cancerosa".

Que de acuerdo a lo que se establece en la convocatoria, la Comisión de Bioética de la Universitat de Barcelona analizó toda la documentación presentada por Josep M<sup>a</sup> Argilés Huguet y, por acuerdo de fecha 16 de octubre de 2012 aprobó informar favorablemente desde el punto de vista bioético el proyecto de investigación de referencia.

Y para que conste y a los efectos que corresponda, firmo la presente con el visto bueno del presidente de la Comisión en Barcelona a 16 de octubre de 2012.



UNIVERSITAT DE BARCELONA  
Oficina de Gestió  
de la Recerca

Vº Bº El presidente de la Comisión de  
Bioética de la Universitat de Barcelona

Jordi Alberch Viè



UNIVERSITAT DE BARCELONA  
Oficina de Gestió  
de la Recerca

Institutional Review Board (IRB00003099)



**ANEXO 3**

**AUTORIZACIÓN DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE Y RECOGIDA DE  
DATOS DE SUJETOS POR PARTE DEL BANCO DE SANGRE Y TEJIDOS DE  
BARCELONA**



**NOTA D' ENCÀRREC PER A LA CESSIÓ DE MOSTRES BIOLÒGIQUES  
PER A LA INVESTIGACIÓ BIOMÈDICA, CIENTÍFICA I TÈCNICA.**

Conveni marc amb: Universitat de Barcelona  
Data del conveni: 6 de setembre de 2010  
Addenda conveni: 5 de setembre de 2012

Barcelona, 6 de novembre de 2012

Banc de Sang i Teixits i la Universitat de Barcelona varen subscriure, en data 6 de setembre de 2010 (addenda 5 de setembre de 2012), un conveni marc per a la cessió de mostres biològiques per a la investigació biomèdica, científica i tècnica que continua en vigor.

D'acord amb el conveni marc esmentat, el Sr. Josep M. Argilés, investigador del Grup de Recerca de Bioquímica i Biologia Molecular del Càncer de la Universitat de Barcelona i responsable del projecte (120034) "Escala para determinar el grado de caquexia cancerosa", fa l'encàrrec a la direcció científica del Biobanc del Banc de Sang i Teixits, d'aproximadament 50 mostres de sang suplementàries a la donació (sense tub, amb consentiment i qüestionari específic), durant 1 setmana, com a font de plasma, per al projecte esmentat, que ha estat aprovat per la Comissió de Bioètica de la Universitat de Barcelona, amb data 16 d'octubre de 2012.

Segons les tarifes vigents aprovades pel Departament de Salut, la Universitat de Barcelona abonarà al BST :

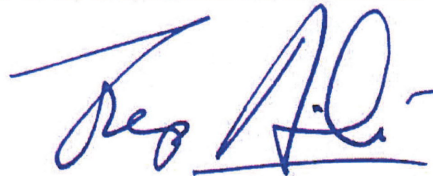
1. Mostra de sang suplementària a la donació (sense tub, amb consentiment i qüestionari específic): 6€

Per BST



Gemma Valeta Juan  
NIF 36523978R  
Direcció Científica Biobanc

Per la Universitat de Barcelona



Josep M. Argilés  
NIF 40857482Y  
Responsable del Projecte

## **CONDICIONS GENERALS DEL CONVENI MARC ENTRE BANC DE SANG I TEIXITS (BST) I la UNIVERSITAT DE BARCELONA**

### **1. COMPROMISOS DE LES PARTS**

Banc de Sang i Teixits es compromet a :

- Preparar i lliurar les mostres que demani EL CENTRE, en les dates que s'acordin.
- Sol·licitar el consentiment específic i per escrit al donant, en cas de ser necessari l'extracció d'una mostra addicional a les que s'extreuen habitualment, precisar per a l'encàrrec específic dades clíniques, epidemiològiques i demogràfiques. Aquest consentiment es mantindran en custòdia, en el BST, per un temps no inferior a 30 anys.
- Recavar dels donants les dades clíniques, epidemiològiques i/o demogràfiques de les mostres lliurades a EL CENTRE, en cas que es precisin.
- Realitzar les analítiques, perceptives per la normativa legal vigent, per a la detecció d'infecció pel virus de la Hepatitis B, C, virus de la Immunodeficiència Humana I-II i sífilis. Aquest procés, i la seva validació, comporta un mínim de 36 hores des de l'extracció de la sang. En cas de subministrament de les mostres, abans de la validació esmentada, els resultats no es comunicaran amb posterioritat, degut a que l'anonimització impossibilita la seva identificació.
- Anonimitzar, fent dissociació irreversible, les dades per garantir la no identificació del donant de la mostra.

EL CENTRE es compromet a :

- Facilitar la informació necessària per redactar el consentiment informat, que inclourà la naturalesa, importància, implicacions i riscos de les determinacions a realitzar, cas de haver de sol·licitar-se al donant.
- Proporcionar els recipients per a la recollida i el transport, cas de que les mostres precisin ser recollides i/o transportades en recipients no normalitzats del Banc de Sang i Teixits.
- Posar els mitjans per a la recollida i transport de les mostres des del Banc de Sang i Teixits.
- Sol·licitar amb 10 dies d'antelació (sempre que sigui possible) les col·laboracions diferents a la de tramesa mostres.

### **2. US AUTORITZAT DE LES MOSTRES**

EL CENTRE es compromet a utilitzar les mostres de sang o biològiques proporcionades per BST única i exclusivament per a la realització del projecte de recerca, validació, projecte docent o assaig clínic que sigui causa del encàrrec específic de subministrament. Queda expressament prohibida la utilització del material biològic subministrat per altres usos o finalitats diferents.

### **3. PROHIBICIÓ DE CESSIÓ A TERCERS**

Les mostres biològiques subministrades per BST no podran ser cedides a tercers. A la finalització de cada projecte de recerca o a la resolució anticipada d'algun dels encàrrecs específics subscrits per qualsevol causa, EL CENTRE haurà de tornar o destruir, a opció de BST, la part de les mostres no utilitzades.

### **4. AVALUACIÓ PER PART DEL COMITÈ ÈTIC D'INVESTIGACIÓ CLÍNICA**

EL CENTRE obtindrà dictamen favorable del comitè d'ètica d'investigació clínica (CEIC) corresponent i les autoritzacions administratives preceptives per dur a terme el projecte o assaig.

L'incompliment d'aquesta obligació serà motiu de rescissió automàtica del encàrrec específic subscrit pel projecte o assaig concret.

### **5. CLAUSULA DE CONFIDENCIALITAT**

Les dades de caràcter personal dels donants relacionades amb la seva salut, així com els resultats i la traçabilitat de les seves donacions tindran caràcter confidencial. Per tal de garantir-ho les dades facilitades pel Banc de Sang i Teixits, estaran irreversiblement dissociades (anonimitzades).

A més a més les parts guardaran sigil sobre les dades de caràcter confidencial de l'altra part o, en el seu cas, dels projectes o assajos clínics als que van destinades les mostres subministrades per BST que puguin arribar a conèixer amb motiu de l'execució del present conveni marc o dels encàrrecs específics que el desenvolupin.



**ANEXO 4**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO ENTREGADO A LOS SUJETOS CONTROL**





Barcelona, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_, hora \_\_\_\_\_ No. \_\_\_\_\_

Iniciales del nombre \_\_\_\_\_, edad \_\_\_\_\_ años, sexo \_\_\_\_\_

Facultad \_\_\_\_\_

Doy mi consentimiento para ceder 8 ml de sangre que me extraigan en el Banco de sangre, para que el grupo de investigación de Cáncer del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona lleve a cabo un estudio para clasificar la caquexia en diferentes grados, para la clasificación de la caquexia en personal del Campus universitario de \_\_\_\_\_

Padeces algún tipo de enfermedad? \_\_\_\_\_ Puedes indicar cuál? \_\_\_\_\_

Nota: Los datos especificados únicamente se utilizaran con fines estadísticos. Muchas gracias por tu colaboración.

Firma



**ANEXO 5**

**DOCUMENTO DE COMPROMISO DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN ENTREGADO  
A LOS SUJETOS PARTICIPANTES**



Barcelona,.....de.....de 2013

El equipo de investigación del grupo Cáncer del departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona declara que:

- Los datos personales de los sujetos participantes no serán conocidos por los investigadores del proyecto.
- Los datos obtenidos solo se utilizaran con fines científicos y serán confidenciales.
- Dado el caso que algún dato obtenido se considere de interés para el participante se informará al médico responsable ó al afectado.
- Nos comprometemos a no utilizar las muestras en otros estudios diferentes a los de este proyecto y de no traspasar las muestras a otros posibles proyectos o equipos de investigación.
- En caso de que los participantes lo deseen, serán informados de los objetivos y de los resultados de la investigación, una vez hay finalizado.