



UNIVERSIDAD DE SEVILLA. FACULTAD DE FARMACIA



Papel del inmunoproteosoma en enfermedades neurodegenerativas y cáncer

Revisión bibliográfica

Clara Laffitte Redondo

Curso 2015/2016



Universidad de Sevilla

Facultad de Farmacia

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Grado en Farmacia

Papel del Inmunoproteosoma en Enfermedades Neurodegenerativas y Cáncer

Clara Laffitte Redondo

Facultad de Farmacia, Septiembre de 2016.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Tutor: Diego Ruano Caballero

Revisión bibliográfica

Resumen:

Los avances científicos y la constante evolución de los métodos de experimentación han permitido conocer la gran importancia que tiene el proteosoma en nuestro organismo. Este complejo intracelular, capaz de degradar proteínas una vez señalizadas, ha demostrado ser un importante actor en diferentes enfermedades, debido a que su mal funcionamiento puede acarrear desequilibrios proteicos, con diferentes e importantes consecuencias. Así, se ha probado que una sobreexpresión del mismo, conduce a una degradación excesiva de ciertas proteínas, sobre todo aquellas de tiempo de vida corto, modificando así el curso normal del ciclo celular. Esto tendría como consecuencias una proliferación descontrolada de células, o una inhibición de la muerte celular. Todas estas modificaciones en las concentraciones plasmáticas de determinadas proteínas, pueden desembocar finalmente en un proceso oncológico. Es así como ha surgido una nueva familia de fármacos anticancerosos, los inhibidores del proteosoma, capaces de frenar dicho proceso patológico.

También se sospecha, que la baja actividad del mismo puede disminuir la degradación de proteínas, y provocar un aumento de concentración de estas, tanto en el interior como en el exterior celular. En ocasiones, estas proteínas estarán mal plegadas o defectuosas, y se formarán agregados proteicos, que puede provocar un mal funcionamiento celular. Este sería el caso de las enfermedades neurodegenerativas. Muchas de estas patologías se caracterizan por la presencia de conjugados proteicos, como los ovillos neurofibrilares en Alzheimer, los cuerpos de Lewys en el tronco cerebral en pacientes con Parkinson, agregados de huntingtina en la enfermedad de Huntington, o cuerpos de bunina en la Esclerosis Lateral Amiotrófica.

Por otro lado, tanto el cáncer como las enfermedades neurodegenerativas se acompañan de procesos inflamatorios, que pueden afectar a la homeostasis proteica, alterando el tipo y la cantidad de proteosomas.

Palabras clave: inmunoproteosoma, neurodegeneración, cáncer, proteína.

Indice:

Resumen:.....	3
Introducción:	5
Objetivos de la revisión:	6
Metodología:	7
Resultados y discusión:	8
1. Sistema Ubiquitina-Proteosoma:	8
2. Proteosoma:	11
3. Patologías derivadas del malfuncionamiento:	14
4. Inmunoproteosoma y enfermedades neurodegenerativas:	16
5. Inmunoproteosoma y cancer:	24
Conclusiones:	33
Bibliografía:	34

Introducción:

Conocer la fisiopatología de las enfermedades, así como las funciones que tienen determinados orgánulos en nuestro organismo es importante. Hoy en día tenemos mucha más información que hace algunos años, pero sigue siendo insuficiente, por lo que es necesario seguir profundizando en ciertos temas para comprender mejor qué ocurre en nuestro organismo, tanto en situaciones fisiológicas como patológicas.

A mayor conocimiento, mejor podremos actuar en determinadas enfermedades, tanto en tratamiento, prevención, calidad de vida o, incluso, esperanza de vida.

En el caso de las enfermedades neurodegenerativas, conocer la fisiopatología exacta de estas, es imprescindible para poder poner fin a este tipo de patologías, de las que conocemos tan poco aún. En esta revisión nos hemos centrado en ciertas de estas enfermedades; Parkinson, Alzheimer, Huntington y Esclerosis Lateral Amiotrófica.

También en el caso del cáncer nos queda mucho por conocer. A pesar de la gran variedad de fármacos anticancerosos que conocemos, sigue habiendo muchas contraindicaciones y efectos adversos importantes, y no siempre podemos contar con una alta eficacia. Hace apenas 13 años salieron los primeros inhibidores del proteosoma con indicación expresa para procesos oncológicos.

Se ha comprobado que el proteosoma tiene gran importancia en numerosos procesos, y es por ello que debemos conocer bien su función y su mecanismo, con el fin de que algún día, estos conocimientos nos ayuden a erradicar ciertas enfermedades, tan comunes en nuestra época.

El proteosoma es un complejo macromolecular compuesto por 28 subunidades proteicas, localizado en el citoplasma y el núcleo de células eucariotas. Tiene forma cilíndrica y mide alrededor de 15 nm de longitud y 12 nm de diámetro, por lo que es visible al microscopio electrónico.

El proteosoma presenta tres actividades catalíticas, y sirve para degradar proteínas de forma selectiva, asociado al complejo de señalización de ubiquitina.

El proteosoma está implicado en multitud de funciones, entre las que podemos destacar:

- Degradación de proteínas malformadas.

- Diferenciación celular.
- Sistema inmunológico (inmunoproteosoma).
- Regulación del ciclo celular.
- Localización intracelular de proteínas.
- Defensa contra toxinas.
- Maquinaria degradativa de proteínas.
- Modificación postraducciona de proteínas (Histonas).

Más del 80% de las proteínas celulares son procesadas por proteosomas.

Los proteosomas actúan sobre proteínas que han sido marcadas como objetivos de degradación mediante la adhesión de otra proteína llamada ubiquitina. Las señales de degradación se encuentran generalmente escondidas en proteínas correctamente plegadas, pero se vuelven accesibles cuando la proteína es plegada incorrectamente o desnaturalizada. Cuando estas señales se encuentran expuestas, otras enzimas agregan una pequeña proteína, la ubiquitina, a la proteína objetivo. La proteína con ubiquitina es reconocida por una proteína receptora en el proteosoma, por lo que es introducida dentro del mismo y luego degradada. Posteriormente, los péptidos generados (de 2 a 30 aminoácidos) son liberados por el proteosoma e hidrolizados hasta aminoácidos libres por peptidasas inespecíficas citosólicas.

Objetivos de la revisión:

El objetivo principal de esta revisión bibliográfica es describir el funcionamiento del proteosoma, y en especial, del inmunoproteosoma, e intentar recopilar toda la información existente hoy en día acerca de su grado de implicación en las enfermedades neurodegenerativas. Con un mejor conocimiento de todo esto, podremos profundizar mejor en la fisiopatología de éstas, y poder abrir así nuevas rutas terapéuticas que puedan acabar finalmente con ellas.

También se describe el importante papel que tiene este complejo en los procesos oncológicos, y los nuevos tratamientos terapéuticos ya existentes, que actúan directamente inhibiendo a dicho complejo.

Metodología:

Esta revisión bibliográfica se ha hecho a partir tanto de trabajos originales como de otras revisiones sobre el tema. También, en contadas ocasiones, se han consultado páginas web oficiales, como la del Centro de Información Online de Medicamentos del AEMPS. Para todo ello, se ha buscado información en bases de datos internacionales. Se ha tratado de elaborar una estrategia de búsqueda amplia de información relacionada con las enfermedades tratadas en el tema.

La búsqueda bibliográfica comenzó a finales de enero de 2016, y finalizó a finales de mayo del mismo año.

La principal fuente de información fue PubMed, en los que se puso como condición que los artículos o revisiones tuviesen menos de 10 años, con el fin de filtrar datos poco relevantes y encontrar la información más actual. Finalmente, se ha aceptado información anterior a 10 años, al considerarla necesaria para realizar esta revisión. Hemos partido, por tanto, de artículos y revisiones actuales, que nos han llevado en ocasiones a informaciones algo más antiguas.

Las palabras clave que se utilizaron para la búsqueda han sido: immunoproteasome, cancer, neurodegenerative diseases, Parkinson, Alzheimer, Huntington, Sclerosis Amyotrophic Lateral, Ubiquitylation, Proteasome, Nervous System, Misfolded Proteins, Proteasome Inhibitors y Therapy. Se ha realizado casi en su totalidad en inglés, por ser en el idioma en el que más información hay sobre este tema.

De todos los resultados obtenidos, se han escogidos aquellos que se encontrasen dentro de unos criterios de inclusión preestablecidos, y se desecharon aquellos que no cumplían estos criterios;

- Publicación realizada hace menos de 10 años.
- Publicación en español, inglés, o francés.
- Información asociada al inmunoproteosoma en especial, más que al proteosoma en sí.
- Artículos con relación directa entre cáncer/neuropatologías con el inmunoproteosoma.

Resultados y discusión:

1. Sistema Ubiquitina-Proteosoma:

1.1 Ubiquitina:

El nombre ubiquitina se debe a su ubicua presencia en casi todos los tipos de células.

La ubiquitina es una proteína pequeña y muy conservada evolutivamente. Consta de 76 aminoácidos y 8,6 kDa, elevada estabilidad, ausencia de enlaces disulfuro, excelente solubilidad y predominio de estructuras secundarias con enlaces de hidrógeno. Está formada por cinco láminas beta y una gran hélice alfa. Esta pequeña proteína se une a las proteínas que van a ser degradadas en un proceso denominado ubiquitinación. La ubiquitina actúa a modo de etiqueta para que la proteína diana pueda ser reconocida por el proteosoma para su degradación.

La proteína que se va a degradar debe unirse a no menos de 4 monómeros de ubiquitina para que el proteosoma pueda llevar a cabo su degradación hasta pequeños péptidos.

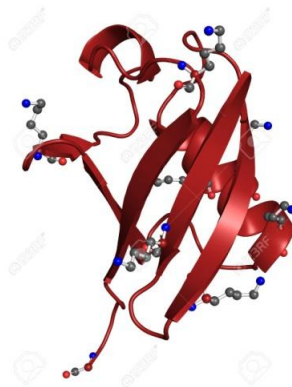


Figura 1: Estructura de la ubiquitina. Cinco láminas beta y una hélice alfa.

Rose, Hershko y Ciechanover recibieron el Premio Nobel de Química en 2004 por el descubrimiento de un sistema mediante el cual las proteínas que serán degradadas son «marcadas» por una pequeña proteína termoestable, la ubiquitina, para luego ser degradadas por el proteosoma. Todas las proteínas se sintetizan y, posteriormente, se degradan principalmente a través de dos sistemas: los lisosomas y el sistema ubiquitina-proteosoma (SUP). El sistema descubierto por Rose, Ciechanover y Hershko requiere gasto de energía, un hecho inusual ya que por definición la hidrólisis de las proteínas es un proceso exergónico, una paradoja si se quiere y que señala la importancia vital de este proceso. El SUP se encarga de

degradar aproximadamente el 90% de las proteínas solubles de vida media-corta. Así degrada proteínas, dañadas, mal plegadas, no necesarias o proteínas cuya concentración ha de cambiar de forma rápida, como las ciclinas, que deben permanecer en concentraciones estables hasta que sean procesadas en un determinado momento del ciclo celular.

(Cascales, 2005).

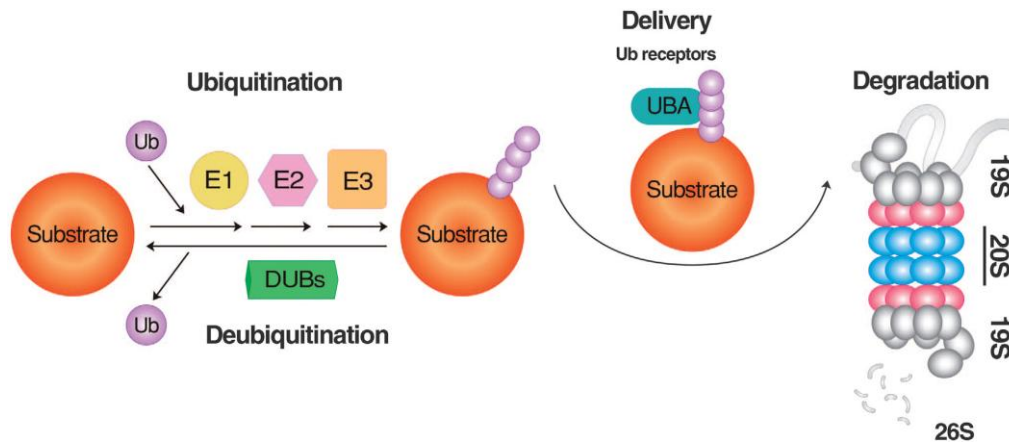


Figura 2: Proceso de degradación por el SUP. (Ciechanover y Tae Kwon, 2015)

1.2 Sistema de Ubiquitinación:

El proceso de conjugación de la ubiquitina, demostrado por Avram Hershko, es reminiscencia de la activación de los aminoácidos y ocurre en tres etapas:

- 1) En una reacción dependiente de ATP, el carboxilo terminal de la ubiquitina se conjuga mediante un enlace tioéster con la enzima activadora de la ubiquitina E1. El enlace covalente entre la ubiquitina y el sustrato proteico requiere la activación del grupo carboxilo terminal de la ubiquitina. En esta reacción, la ubiquitina se une a la enzima activadora de la ubiquitina E1, mediante un enlace tioéster de alta energía, entre el carboxilo terminal del residuo de glicina y el residuo de cisteína del sitio activo de la enzima E1 (E1-S-Ub). En esta reacción la enzima E1 hidroliza el ATP a AMP y P_i, con la intermediaria formación de un E1-ubiquitin adenilato.
- 2) La ubiquitina se transfiere a un grupo SH de la enzima conjugadora, transportadora de ubiquitinas (E2), formando un enlace tioéster similar al formado anteriormente con la enzima E1 (E2-S-Ub).
- 3) La ubiquitina ligasa E3 transfiere la ubiquitina activada desde la enzima E2 al sustrato proteico, al que se une mediante un enlace isopeptídico con el grupo ε de un residuo amino de lisina del sustrato. Esta reacción requiere la intervención de una tercera enzima, la ubiquitina ligasa o E3. E3 se une a la proteína sustrato y también a E2 para formar un complejo E2-E3-

sustrato. La formación y reconocimiento de dicho complejo tiene una alta especificidad de sustrato para la cascada de conjugación.

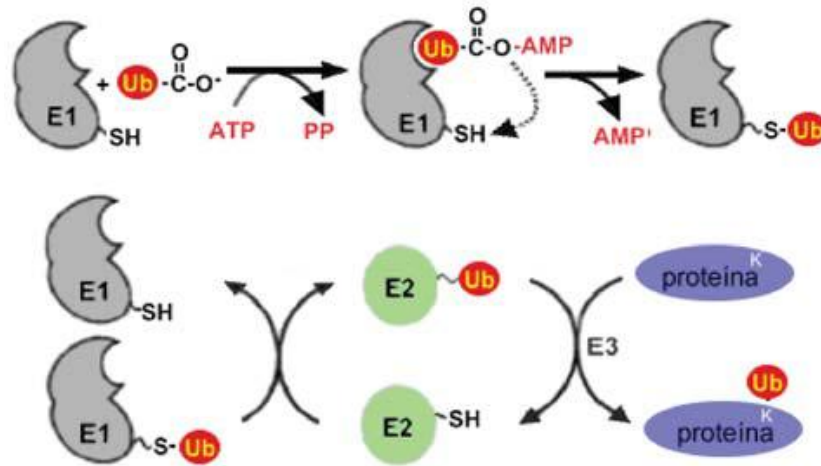


Figura 3: Proceso de Ubiquitinación. (M. Cascales, 2005)

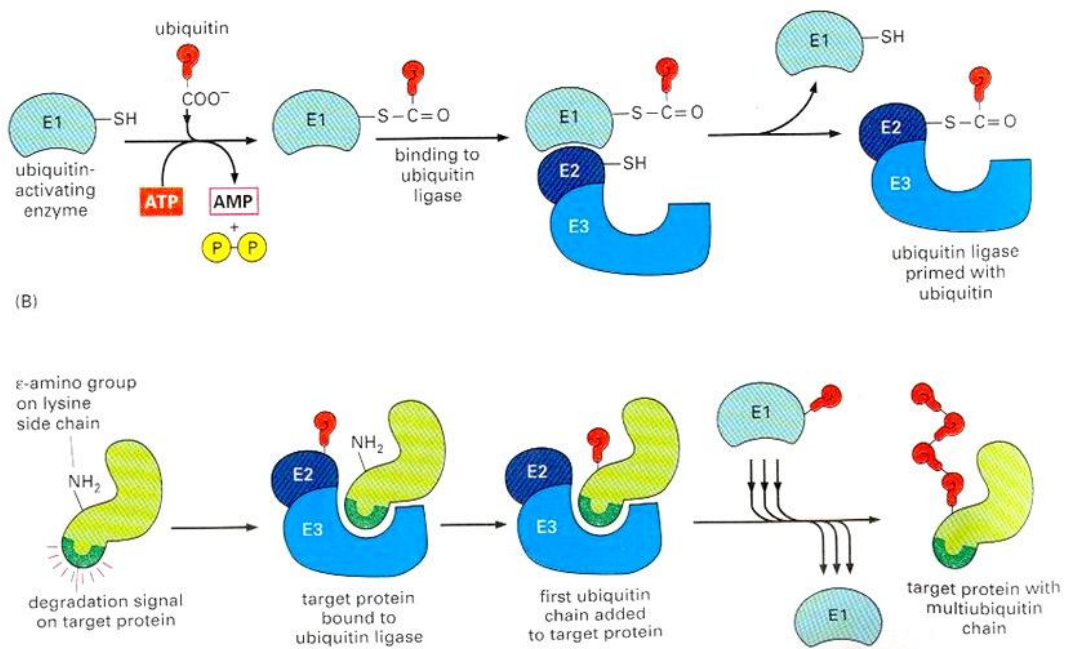


Figura 4: El proceso catalítico de la degradación. (JD. Franco, y cols., 2013)

Una cadena de poliubiquitina se va elaborando sobre la proteína por adiciones de monómeros de la ubiquitina en sucesivas rondas de ubiquitinación. Estas moléculas de ubiquitina van añadiéndose a residuos específicos de lisina de la última ubiquitina de la cadena. Las proteínas unidas a la cadena de poliubiquitina son reconocidas por el proteosoma para su degradación

proteolítica con el concomitante reciclado de monómeros de la ubiquitina por enzimas desubiquinantes.

2. Proteosoma:

2.1 Tipos de proteosoma:

Hay tres tipos de proteasomas funcionales: El proteosoma 20S, el proteosoma 26S, y el inmunoproteosoma. Igualmente existen dos tipos de partículas reguladoras denominadas 19S y 11S. A continuación se describen los diferentes tipos de proteasomas:

-El proteosoma 20S es un complejo de unos 700 kDa aproximadamente, compuesto por cuatro anillos; 2 α y 2 β s, cada uno constituido a su vez por 7 subunidades. Entre los 4 anillos se forman tres espacios o cámaras internas; precámara, cámara de reacción y postcámara. Los dos anillos externos están formados por subunidades α en su mayoría y su rol principal es el de controlar el acceso al compartimento catalítico, e interactuar con los factores de regulación y complejos de proteínas. Los dos anillos interiores están compuestos por subunidades β . En la cámara de reacción, cada subunidad β deja su extremo amino con una Treonina muy reactiva hacia el interior de la cámara, que se comporta como nucleófilo, y primer aceptor de protones en la escisión de la cadena peptídica, por lo que es el primer residuo que lleva a cabo la degradación de proteínas.

La actividad catalítica en células eucariotas está restringida a las subunidades β 1, β 2 y β 5. Estas subunidades tienen distintas actividades péptidasas, que son selectivas para la escisión de las cadenas peptídicas en el lugar carboxílico de los residuos de aminoácidos, ya sean ácido (β 1), básico (β 2), o hidrófobo (β 5). Estas actividades están definidas como actividad caspasa, actividad tripsina, o actividad quimotripsina, ya que mimetizan las actividades de las ya conocidas enzimas proteolíticas, y son realizadas por las subunidades β 1, β 2 y β 5, respectivamente (Coux y cols, 1996, Baumeister y cols, 1998)

-El proteosoma 26S está formado por una partícula central, el proteosoma 20S, que alberga el lugar con actividad catalítica, rodeado en cada extremo por dos partículas reguladoras denominadas complejos 19S. El proteosoma 26S es el encargado de degradar a las proteínas poliubiquitinadas.

La partícula 19S tiene el rol de reconocer las proteínas ubiquitinadas y convertirlas en una

forma apropiada para la degradación por el centro catalítico 20S. Este proceso implica el gasto de ATP y es por ello que en la partícula 19S existen 6 subunidades con actividad ATPasa.

El proteosoma 11S regulador, de unos 280 kDa, está constituido por dos tipos de subunidades, α y β , distribuidos en forma de anillos heptaméricos, en cada extremo del proteosoma 20S. Cada anillo está compuesto por 3 subunidades α y 4 subunidades β . La interacción de las dos partículas no es dependiente de energía. Su rol consiste en aumentar la actividad peptidasa del centro (core), particularmente la actividad quimotripsina (Rechsteiner y cols, 2000).

-El inmunoproteosoma: Compuesto por el proteosoma 20S, pero con las subunidades catalíticas y constitutivas sustituidas por las subunidades β 1, β 2 y β 5 inducibles. Además es frecuente la asociación con la partícula 11S en lugar de 19S como en el caso del proteosoma 26S.

El inmunoproteosoma (20Si) es un tipo de proteosoma localizado mayoritariamente en monocitos y células dendríticas y ausentes en el resto de las células. Una función bien descrita del inmunoproteosoma es la de generar péptidos con un extremo C terminal hidrofóbico, que pueda ser procesado para encajar en la ranura de moléculas del MHC clase I. Esta batería de péptidos en la superficie celular permite la vigilancia por las células CD8 del sistema adaptativo inmune para la presentación de antígenos para células infectadas por diferentes patógenos. Sin embargo, durante un proceso inflamatorio, tanto el IFN- γ como el TNF- α pueden inducir la síntesis del inmunoproteosoma en células que generalmente no lo expresan, favoreciendo por tanto la generación de péptidos más eficientes para su presentación por las proteínas HLA y favorecer así su reconocimiento por los TCRs de los linfocitos CD8 y la eliminación de células potencialmente infectadas por un virus o con antígenos oncogénicos (Kloetzel, 2004).

Los inmunoproteosomas contienen sustitutos para las tres subunidades catalíticas de los proteosomas estándar. En la mayoría de células, el estrés oxidativo y las citoquinas proinflamatorias son estímulos que conducen a la producción elevada de inmunoproteosomas. En las células del sistema inmune, especialmente en las células presentadoras de antígenos, también se expresa un nivel basal superior de inmunoproteosomas.

Las funciones del inmunoproteosoma, diferentes que la generación de péptidos para la presentación de antígenos, están haciendo surgir estudios en ratones inmunoproteosomas-deficientes, y están complementados por recientes enfermedades descritas ligadas a mutaciones en subunidades del inmunoproteosoma.

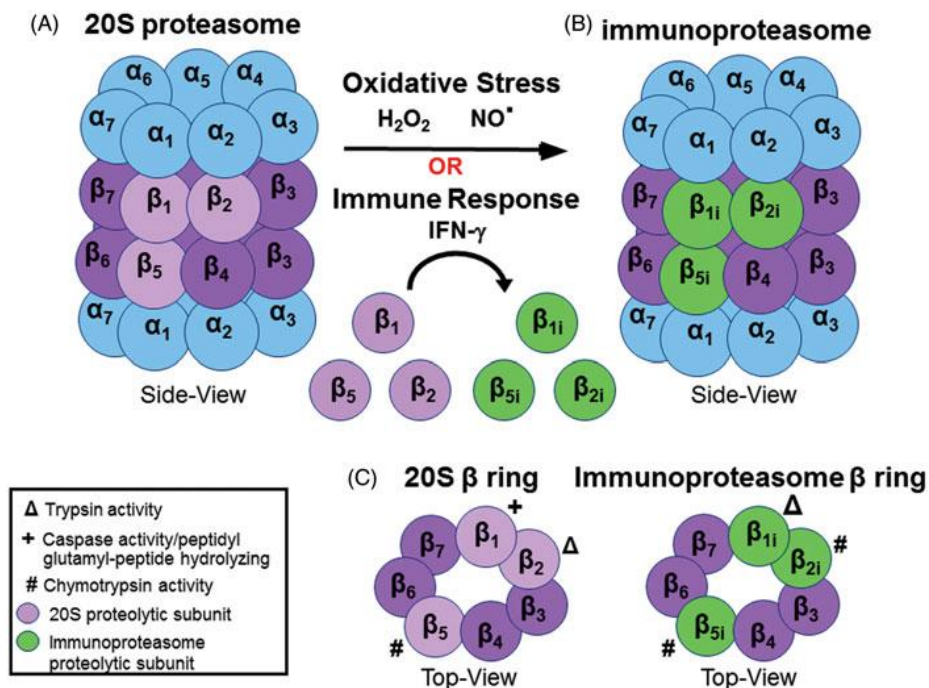


Figura 5: Helen K. Johnston-Carey and cols., 2016.

2.2. ¿Por qué el proteosoma como un potencial objetivo terapéutico?

El inmunoproteosoma, en condiciones normales, está expresado únicamente en ciertas células relacionadas con la función inmune, y sólo en ciertos órganos (Vasuri y cols., 2010).

El inductor de inmunoproteosoma más conocido es el IFN- γ , secretado generalmente por las células en procesos inflamatorios, aunque ciertos estudios sugieren que hay también otros mecanismos inductores, como la activación de TLR-4 (*"Toll-like receptor 4"*) (Stohwasser y cols., 2000; Vezzani y cols., 2011).

En condiciones patológicas, como enfermedades neurodegenerativas, los procesos inflamatorios inducen síntesis de inmunoproteosomas en células donde normalmente están ausentes (por ejemplo, en las neuronas).

Los estudios en modelos animales conducen a pensar que la inhibición o ausencia de inmunoproteosomas podría tanto mejorar como empeorar el curso de ciertas enfermedades (Muchamuel y cols., 2009; Basler y cols., 2010).

Desafortunadamente, la mayoría de investigaciones que hay actualmente en este tema están dirigidas al estudio de inhibidores de inmunoproteosoma. Además, hay que subrayar que estos estudios están limitados por dos factores:

- la especificidad de los inhibidores para ciertas subunidades del inmunoproteosoma,
- y la presencia de ciertos mecanismos compensadores a esta inhibición.

Por todo esto, la relación entre ciertas enfermedades y la expresión del inmunoproteosoma se ha convertido en un marcador potencial de los procesos patológicos, y en un posible objetivo terapéutico.

3. Patologías derivadas del malfuncionamiento:

Un mal funcionamiento del proteosoma puede estar relacionado con patologías como las enfermedades neurodegenerativas y el cáncer. Por ejemplo, una disminución en la capacidad degradativa puede dar lugar a una acumulación de proteínas ubiquitinizadas que pueden formar agregados protéicos difícilmente degradables. Por otro lado, una sobreexpresión del proteosoma puede llevar a procesos oncológicos debido a cambios en la concentración de proteínas responsables del ciclo celular.

3.1 Proteosoma e Inflamación:

La inflamación puede aparecer a consecuencia de una lesión, infección, o enfermedad. Se caracteriza por el daño o estrés provocado en un tejido y se asocia a la vía de señalización de las citoquinas como parte de la respuesta inmunitaria global. Las citoquinas pueden desencadenar un daño mayor entre las células y/o inducir mecanismos para compensar estos daños de manera que son capaces de devolver la célula a su estado de homeostasis (Belardelli, 1995).

Se piensa que el inmunoproteosoma mejora el daño celular inducido por la inflamación, y como se ha mencionado anteriormente, su expresión está regulada por citoquinas secretadas durante la respuesta inflamatoria. La protección de la célula del daño inducido por la inflamación puede darse por degradación de proteínas dañadas, o bien mediante la regulación de la producción de citoquinas.

Para la realización de dichas tareas, el inmunoproteosoma debe ser previamente expresado. Uno de los inductores mejor caracterizados del inmunoproteosoma es el interferón- γ (Aki et al., 1994; Akiyama et al., 1994; Groettrup et al., 1996). Otras citoquinas, tales como el TNF- α pueden también inducir la expresión del inmunoproteosoma, pero el interferón- γ parece ser el más eficaz (Ferrington & Gregerson, 2012; Tanoka & Kasahara, 1998).

Concerniente a la señalización del interferón- γ , las respuestas celulares incluyen la fosforilación del 20S proteosoma, y la iniciación a la transcripción de las subunidades específicas “ β ” del inmunoproteosoma: β 1i (LMP2), β 2i (MECL-1), y β 5i (LMP7) (Aki et al., 1994). Esto se consigue mediante la unión de transductores de señales y activadores de la transcripción-1 (Stat-1) y el factor regulador del interferón-1 (IRF-1) con los elementos reguladores del interferón- γ en las regiones promotoras de estos genes (Foss & Prydz, 1999).

LMP2, LMP7, y MECL-1 cuentan, cada uno, con múltiples elementos de respuesta del interferón- γ , así como el NF- κ B, cAMP, y SP-1 contienen secuencias de respuesta entre sus promotores. (Ferrington & Gregerson, 2012). Además, la señalización del interferón- γ también aumenta la expresión del regulador 11S. Se piensa que el 11S asiste al inmunoproteosoma en la tarea de generar péptidos para la presentación de antígenos ya que éste es más eficiente en la producción de antígenos que el 19S (Gomes, 2013). Tras la maduración, el inmunoproteosoma es capaz de degradar proteínas oxigenadas (Pickering & Davies, 2012b; Pickering et al., 2010; Seifert et al., 2010).

Estudios realizados demuestran que el inmunoproteosoma juega un papel en la producción de las citoquinas en respuesta a la inflamación o infección, y células o animales con subunidades de inmunoproteosoma deficientes tienen una señalización de citoquinas disminuida (Arima et al., 2011; Kitamura et al., 2011; Liu et al., 2012; Muchamuel et al., 2009; Rockwell et al., 2012). Las citoquinas que han mostrado estar reguladas por el inmunoproteosoma incluyen el interferón- γ , IL-2, IL-4, IL-10, e IL-23, y se utilizaron las células del ratón knockout LMP7 $^{-/-}$ MECL1 $^{-/-}$ para mostrar que la falta del inmunoproteosoma también causa una disminución en la expresión de dos factores transcritores de citoquinas, GATA3 y t-bet (Muchamuel et al., 2009; Rockwell et al., 2012). Analizándolos juntos, estos hallazgos sugieren que el inmunoproteosoma no sólo juega un papel en la respuesta a la inflamación, sino que participa también en la activación de citoquinas inflamatorias.

3.2 Inhibidores del inmunoproteosoma en enfermedades autoinmunes inflamatorias:

La inhibición del proteosoma conduce a apoptosis por la interrupción de la degradación de proteínas clave para el ciclo celular. Adicionalmente, los antígenos que se unen a las células presentadoras de antígenos son péptidos, producto de la degradación llevada a cabo por los

proteosomas y, por tanto, de una manera indirecta el proteosoma colabora en el proceso de presentación de antígenos a los LT. Por otra parte, se sabe que el inmunoproteosoma regula la producción de diversas citocinas proinflamatorias, y que la inhibición del proteosoma tiene un efecto especialmente intenso sobre las células plasmáticas, por lo que su utilización clínica hasta ahora se ha centrado en el mieloma.

Sin embargo, de este efecto y de los anteriormente expuestos podrían también derivarse ventajas sobre la síntesis de autoanticuerpos en las enfermedades inflamatorias autoinmunitarias.

En la actualidad, disponemos de al menos 2 inhibidores inespecíficos o duales del proteosoma (inhibidores de ambos tipos de proteosoma) (bortezomib y carfilzomib) y de un inhibidor específico del inmunoproteosoma (ONX 0914).

Carfilzomib y bortezomib (Velcade®). Son inhibidores inespecíficos del proteosoma al que inhiben reversiblemente. Utilizados en el tratamiento del mieloma, su empleo se ve limitado por producir con cierta frecuencia una neuropatía periférica. Tanto estos inhibidores inespecíficos como ONX 0914 se han probado en modelos murinos de lupus, en los que han demostrado que previenen el desarrollo de la enfermedad y disminuyen la síntesis de anticuerpos por un doble mecanismo que incluye la reducción del número de células plasmáticas y la supresión de la producción de IFN- α por las CDP38, efectos ambos que convierten a los inhibidores del proteosoma en moléculas interesantes en el tratamiento del LES.

4. Inmunoproteosoma y enfermedades neurodegenerativas:

Las enfermedades neurodegenerativas se suelen caracterizar por la acumulación de proteínas que, por una mutación espontánea o hereditaria, tienen mayor cantidad de aminoácidos apolares y láminas beta plegadas de lo normal, por lo que son proteínas aberrantes que tienden a unirse entre sí para evitar su contacto con el líquido celular, formando lo que se conoce como pentámeros SAP (Serum Amiloid Fosfate) que tienden a unirse 2 a 2.

La patogénesis de muchas enfermedades neurodegenerativas se asocia con el malfuncionamiento del inmunoproteosoma, y generalmente contribuido por la baja expresión del sistema SUP.

Uno de los mayores factores de riesgo de la reducida actividad del SUP en el cerebro es la edad (Ciechanover y Tae Kwon, 2015). Muchos estudios han mostrado que la actividad proteosomal puede reducirse con la edad, lo que resulta en una disminución de la capacidad de degradar proteínas mal plegadas, contribuyendo a la formación de agregados proteicos patológicos. Otro factor de riesgo es la presencia de agregados de proteínas que inhiben la actividad de los componentes del SUP, incluyendo al proteosoma. Por ejemplo, los agregados β -laminados ricos en PrP bloquean la entrada de la partícula 20S del proteosoma. La proteína Tau ubiquitinada y fosforilada en Alzheimer puede bloquear la entrada del sitio catalítico 19S, uniéndose al sitio de reconocimiento, dando lugar a un colapso en la degradación proteosomal.

Además, recientes estudios han mostrado que los agregados de muchas otras proteínas patogénicas en enfermedades neurodegenerativas pueden inhibir directamente la actividad del proteosoma (Johnston-Carey y cols., 2016).

4.1 Enfermedad de Parkinson:

La enfermedad de Parkinson consiste en un trastorno crónico y degenerativo de una de una zona del cerebro encargada de controlar el sistema motor y que se manifiesta con una pérdida progresiva de la capacidad de coordinar los movimientos. Se produce cuando las células nerviosas de la sustancia negra del mesencéfalo, área cerebral que controla el movimiento, mueren o sufren algún deterioro, lo que trae como consecuencia un déficit de dopamina en sus áreas de proyección.

Estas alteraciones histológicas y neuroquímicas se traducen en la mayoría de los trastornos motores que presentan los pacientes parkinsonianos; temblor de reposo, lentitud en la iniciación de movimientos y rigidez muscular. La enfermedad de Parkinson afecta aproximadamente al 1 por ciento de la población mayor de 65 años y al 0,4 por ciento de la población mayor de 40 años.

Las neuronas dopaminérgicas dañadas producen en exceso unas proteínas anómalas, que interaccionan entre ellas de manera hidrofóbica, formando unos agregados llamados “placas amiloideas”, característicos en los cortes histopatológicos de pacientes con Parkinson.

Una teoría de la posible etiología de la enfermedad explica el origen en las bases citoquímicas: La célula intenta deshacerse de éstas macromoléculas mediante la vía ubiquitina –

proteosoma, o intentando replegar las moléculas mediante las chaperonas (Vilchez y cols., 2014). Pero debido a la avanzada edad de los sujetos y/o a la concentración saturada de proteínas amiloideas y/o a la inhibición de estos complejos enzimáticos; estos dos mecanismos no funcionan bien y no consiguen solucionar el problema. Las neuronas mueren por apoptosis y se genera esta enfermedad.

Un factor importante en la patogénesis de la enfermedad de Parkinson es la α -sinucleína. La α -sinucleína es una proteína nuclear y sináptica que es el principal componente de los cuerpos de Lewy (Leroy y cols., 1998). La agregación de esta proteína se considera que contribuye a la fisiopatología de la enfermedad. Sin embargo, el mecanismo patológico por el cual esta proteína actúa no es completamente conocido, aunque una de sus dianas es el proteosoma 26S, inhibiendo su actividad.

Una disfunción en el manejo de la proteína en la parte compacta de la sustancia negra en pacientes afectados por Enfermedad de Parkinson esporádica da lugar a un incremento en el nivel de proteínas oxidadas y dañadas, un incremento en la agregación de proteínas, y la acumulación de un amplio rango de proteínas mal degradadas en el interior de los cuerpos de Lewis. En estos pacientes, las tres actividades peptidasas del proteosoma 20S están afectadas, en comparación con las actividades normales. Además, en las neuronas dopaminérgicas del SN se ha descrito una pérdida selectiva de la subunidad α del proteosoma, lo que da lugar a una desestabilización de la actividad catalítica del proteosoma (McNaught y Jenner, 2001; McNaught y Olanow, 2003)

Mientras tanto, el inmunoproteosoma no ha sido directamente señalado como alterado o mutado en dicha enfermedad. Como se ha dicho anteriormente, parece ser que son los cambios en el SUP los que están alterados. Como sea, una mayor investigación es necesaria para determinar claramente el rol del inmunoproteosoma en Parkinson.

4.2 Enfermedad de Alzheimer:

El Alzheimer se produce debido a la reducción en la producción cerebral de acetilcolina, lo que provoca a un deterioro en el rendimiento de los circuitos colinérgicos del sistema cerebral.

Clínicamente se caracteriza por el progresivo e irreversible deterioro de la memoria, de las habilidades para realizar hábitos rutinarios, de la orientación en tiempo y espacio, del

lenguaje, del pensamiento abstracto y de la habilidad para aprender y efectuar cálculos matemáticos.

A nivel histopatológico, la EA es un proceso neurodegenerativo que se caracteriza por la selectiva y progresiva muerte de las células neuronales en áreas cerebrales específicas, principalmente de la neocorteza y el hipocampo, lo que se refleja clínicamente por un estado demencial. El cuadro clínico de la demencia tipo Alzheimer se acompaña de la acumulación masiva de filamentos insolubles que tienen la conformación β -plegada las que definen dos tipos principales de lesiones: las placas neuríticas (PNs), en el interior neuronal, y las marañas neurofibrilares (MNFs), en el líquido extracelular. El principal componente proteínico de fibrillas de las PNs es el péptido amiloide β (péptido formado de 39 a 43 aminoácidos, proteínas en forma de hoja plegada) y de las MNFs, la proteína Tau. La Tau se hiperfosforila, y forma dichos agregados en forma de ovillos, conocidos también como PHFs, por su nombre en inglés (“tau-based Paired Helical Filaments”).

Estos dos tipos de lesiones representan los productos de un trastorno del plegamiento de proteínas que se caracterizan por proteólisis y cambios conformacionales. Esta serie de eventos moleculares llevan a la formación de polímeros insolubles de estructura plegada β .

Probablemente hay distintos factores en el desarrollo de la enfermedad, como la presenilina-1 y presenilina-2, implicadas en el proceso de transporte del complejo γ -secretasa proteolítica (Ciechanover y Schwartz, 2004). Esta acumulación ha sido relacionada a disfunciones de la actividad proteolítica del proteosoma (Kellet y cols, 2000, Lopez Salon y cols, 2000). Se ha descrito que β -amiloide interfiere en el paso proteolítico del Sistema Ubiquitina-Proteosoma (SUP), afectando a la actividad proteolítica del proteosoma 26S, debido a una interacción con el centro catalítico, el 20S, particularmente con la subunidad β 5 de éste, dando como resultado una reducción de la actividad proteolítica quimotripsina (Gregori y cols, 1995). Esta situación afecta la zona estriada del hipocampo, aunque también apreciable en otras regiones, y su severidad corrobora con la cantidad de filamentos helicoidales apareados, y la acumulación de proteínas oxidadas (Keck y cols, 2003).

Por último, tanto presenilina-1 como presenilina-2 están altamente controladas por múltiples actividades proteolíticas (Kim y cols, 1997, Steiner y cols, 1998). Por tanto, la acumulación de PS-2 debido al mal funcionamiento del proteosoma en enfermedad de Alzheimer puede ser asociado con la acumulación de β -amiloide, lo que dificultaría la función del proteosoma.

Ha sido demostrado que ambos factores inhiben la actividad del proteosoma y se ha sugerido que esta inhibición induce daño neuronal. Además, el Sistema Ubiquitina-Proteosoma está también involucrado en el control de la maduración fisiológica de la proteína precursora del β -amiloide, por la modulación de la concentración intracelular de presenilinas (Checler y cols, 2000). Se ha comprobado también una inhibición proteosómica en extractos crudos de cerebros afectados por esta patología.

La bajada de actividad observada del proteosoma 20S en tejido cerebral afectado por Alzheimer podría ser debida a la presencia de moléculas inhibitorias más que a un decrecimiento de la funcionalidad del proteosoma 20S por sí misma (Keck y cols, 2003, Keller y cols, 2000, Gillardon y cols, 2007).

Los inmunoproteosomas están distribuidos en diferentes regiones del cerebro en pacientes con Alzheimer con un significativo incremento de LMP2 en el hipocampo (Mishto y cols, 2006), pero sorprendentemente asociado con actividades inalteradas de actividad quimotripsina, en oposición a lo que se pensaba antes, y un significativo descenso de actividad tripsina.

Se ha especulado que su expresión podría ser un intento de abordar la acumulación de proteínas Tau oxidadas y fosforiladas que se producen en la progresión de la enfermedad.

La poca información disponible sobre el papel del inmunoproteosoma en Alzheimer no nos deja estimar si una inhibición de su función conllevaría a una progresión o a una reducción del daño neurológico. Además, los síntomas clínicos de la enfermedad aparecen cuando el daño neurológico es ya considerable, por lo que podríamos especular que una modulación de la función del inmunoproteosoma en las etapas jóvenes de la enfermedad podría tener diferentes efectos (incluso contrarios) que una modulación en las últimas etapas.

4.3 Enfermedad de Huntington:

La enfermedad de Huntington es causada por un defecto genético en el cromosoma 4. El defecto, llamado repetición CAG, hace que esta parte del ADN se replique muchas más veces de las debidas. Normalmente, esta sección del ADN se repite de 10 a 28 veces, pero en una persona con la enfermedad de Huntington, se repite de 36 a 120 veces.

Es, por tanto, un trastorno autosomal dominante neurodegenerativo que afecta a 5-10 individuos de cada 100 000. Los individuos afectados sufren un declive progresivo tanto motor

como cognitivo, asociado también a depresión, demencia y ansiedad. Esta enfermedad progresiva es causada por la agregación de la proteína huntingtina mutante (mHTT). Esta proteína mutada contiene una larga cola de glutamina residual, llamada polyQ, que está codificada por una repetición del codón CAG dentro del exón 1 del gen HTT, que codifica a la huntingtina.

Las inclusiones de polyQ pueden ser una consecuencia de un mecanismo protector para aislar las formas oligoméricas de mHTT, que son altamente citotóxicos para las neuronas. Los agregados extracelulares pueden ser internalizados por las células para iniciar una nueva ronda de agregados de polyQ, lo que sugiere que mHTT puede actuar como un agente infeccioso a través de un mecanismo observado en las enfermedades producidas por priones. A pesar de la importancia de la mHTT en la patogénesis de la Enfermedad de Huntington, es sorprendente lo poco que se conoce el mecanismo por el cual el mHTT citotóxico es sacado de la célula. Esto es quizás porque mHTT es un sustrato pobre para todos los mecanismos proteolíticos conocidos, incluyendo SUP, CMA y macroautofagia.

Además, extensos estudios han mostrado que la mHTT actúa como un inhibidor de la maquinaria proteolítica. Por ejemplo, las inclusiones de mHTT son ricas en componentes del SUP, como ubiquitina o HTT ubiquitinizada. La acumulación de inclusiones de mHTT no es una consecuencia de una inhibición directa del proteosoma, sino de la falta del sistema de control de calidad de proteínas en asociación con la secuestación de chaperonas moleculares.

En el cerebro de pacientes con dicha mutación, podemos encontrar agregados de Ubiquitina y subunidades proteosomales. Que encontremos proteínas ubiquitinadas y restos de proteosoma en estos agregados sugiere que la eficiencia del sistema ubiquitina-proteosoma está perjudicado por la mutación en el codón CAG (Díaz- Hernández y cols, 2003). Inesperadamente, las actividades peptidasas del proteosoma no están disminuidas, e incluso podemos encontrar que las actividades quimotripsina y tripsina están aumentadas.

Aunque los últimos estudios viran hacia el papel del inmunoproteosoma en enfermedad de Huntington, sólo dan información con respecto a la eficiencia del núcleo catalítico del proteosoma, no a la influencia del 19S regulador y a su inestabilidad a degradar proteínas marcadas con Ubiquitina.

La expresión aumentada del inmunoproteosoma podría ser un marcador de los mecanismos subyacentes de la neurodegeneración característica de la enfermedad, teniendo en cuenta el estrés neuroinflamatorio.

4.4 Esclerosis Lateral Amiotrófica:

Es una enfermedad neurodegenerativa fatal de etiología desconocida caracterizada por una progresiva pérdida de médula ósea, neuronas motoras corticales y de parte del bulbo raquídeo.

Normalmente, ALS tiene un origen familiar en el 50% de los casos, y en el 10-20% de los estos casos se debe a mutaciones en el gen que codifica a la enzima Superóxido dismutasa dependiente de Zn/Cu (SOD1). Esta es una enzima citosólica soluble que metaboliza los radicales superoxidados a H₂O₂.

Las mutaciones de SOD1 son normalmente dominantes y causantes de la muerte de las neuronas motoras afectadas, porque tienden a plegarse mal y formar agregados proteasa-resistentes.

También, alrededor de un 5% de las ALS esporádicas son producidas por una mutación en el gen TDP-43.

Una de las características neuropatológicas de la enfermedad son los cuerpos de inclusión que comprenden agregados de proteínas ubiquitinizadas rodeadas por una red de filamentos mal organizados. En estos cuerpos de inclusión podemos encontrar restos de la enzima SOD1.

Los restos mal plegados de las mutaciones de SOD1 y de TDP-43 son inicialmente señalados para la degradación por el SUP, así como por las chaperonas y las Ub ligasas. Debido a su tendencia a agregarse, estas proteínas escapan durante el proceso de transmisión al proteosoma. Los agregados resistentes al SUP y a la autofagia forman inclusiones intracelulares, que contienen Ub y ligasas Ub (Ciechanover y Tae Kwon, 2015).

Estas inclusiones intracelulares, ricas en SOD1 son también detectables en neuronas motoras y astrocitos de un modelo animal de ALS familiar; hecho en ratones transgénicos que tienen sobre-expresado el gen de la SOD1 humana. En la médula espinal de estos ratones, la acumulación de SOD1 no depende del incremento de la transcripción, sino de la mala degradación. Esta anomalía corre paralelamente a la disminución de actividad del proteosoma constitutivo y a los altos niveles del inmunoproteosoma, más evidente cuanto más severa es la enfermedad (Cheroni y cols, 2005). También se han encontrado estas inclusiones en la espina dorsal de pacientes post-mortem.

Finalmente, ha sido demostrado que la actividad reducida del proteosoma promueve la acumulación de los agregados de proteínas. Así, la patogénesis de ALS sería un círculo vicioso

entre las proteínas mal plegadas y los mecanismos proteolíticos, que aceleran la excesiva acumulación de las inclusiones insolubles, llevando a la muerte de las neuronas motoras afectadas.

4.5 Inmunoproteosoma como objetivo terapéutico en las enfermedades neurodegenerativas:

Aunque en el Sistema Nervioso Central de personas jóvenes y sanas, los inmunoproteosomas están casi ausentes, han sido detectados en células de diferentes áreas del SNC de ciertos sujetos afectados por Alzheimer, Huntington (Mishto y cols, 2010, Diaz-Hernandez y cols, 2003), Esclerosis Múltiple, e incluso como se ha descubierto recientemente, en epilepsias del lóbulo temporal (Mishto y cols, 2011).

La neuroinflamación, característica tanto del proceso normal de envejecimiento como de las enfermedades neurodegenerativas podría ser el desencadenante de la expresión del inmunoproteosoma en ambas situaciones. Es importante también señalar que la síntesis del inmunoproteosoma podría estar limitada al SNC o ser el resultado de un fenómeno empezado en la periferia y con consecuencias en el SNC. La regulación en otros órganos también podría tener implicaciones a nivel del SNC, incluyendo la regulación y expresión del inmunoproteosoma. Por ejemplo, una relación entre cerebro e intestino con implicaciones para el Sistema Inmune ha sido propuesta recientemente en estudios experimentales de encefalomiелitis autoinmune (Lee y cols, 2011, Ochoa-Reparaz y cols, 2011).

La alteración de proteosomas que median la degradación de proteínas contribuye a la acumulación de proteínas modificadas o mal formadas en enfermedades neurodegenerativas, como podrían ser los filamentos helicoidales apareados en la enfermedad de Alzheimer, o la agregación de α -sinucleinas en la enfermedad de Parkinson.

Actualmente, los agregados de proteínas son descritos como la razón de diferentes enfermedades y su toxicidad producida en algunas enfermedades podría estar referida como una inhibición de la función del proteosoma.

La inhibición de la actividad del proteosoma determina la muerte neuronal apoptótica en una variedad de cultivos de células neuronales, como se vio en un cultivo de neuronas deficientes en el NGF (Nerve Growth Factor), neuronas del cerebelo expuestas a bajas dosis de potasio y neuronas corticales expuestas a fragmentos β -amiloides.

Un rasgo característico de numerosas enfermedades neurodegenerativas es la acumulación de agregados proteicos consistentes en material ubiquitinado, restos de proteosomas, y proteínas definidas específicas de cada enfermedad.

5. Inmunoproteosoma y cancer:

5.1 Ciclo celular:

El ciclo celular es una secuencia de sucesos que conducen primeramente al crecimiento de la célula y posteriormente a la división en células hijas.

Se inicia en el instante en que aparece una nueva célula, descendiente de otra que se ha dividido, y termina en el momento en que dicha célula, por división subsiguiente, origina dos nuevas células hijas.

La interfase es el período comprendido entre divisiones celulares. Es la fase más larga del ciclo celular, ocupando casi el 95 por ciento del ciclo, transcurre entre dos mitosis y se divide en tres subetapas: G₁, S y G₂.

-El estado G₁, del inglés Growth o Gap₁ (Intervalo 1), es la primera fase del ciclo celular, en la que existe crecimiento celular con síntesis de proteínas y de ARN. Es el período que transcurre entre el fin de una mitosis y el inicio de la síntesis de ADN. Tiene una duración de entre 6 y 12 horas, y durante este tiempo la célula duplica su tamaño y masa debido a la continua síntesis de todos sus componentes, como resultado de la expresión de los genes que codifican las proteínas responsables de su fenotipo particular.

-El estado o etapa S representa la síntesis. Es la segunda fase del ciclo, en la que se produce la replicación o síntesis del ADN, como resultado cada cromosoma se duplica y queda formado por dos cromátidas idénticas. Con la duplicación del ADN, el núcleo contiene el doble de proteínas nucleares y de ADN que al principio. Tiene una duración de unos 6-8 horas.

-El estado o etapa G₂, del inglés Growth o Gap₂ (Intervalo 2), es el tiempo que transcurre entre la fase S y el inicio de la mitosis (la célula se prepara para mitosis). Tiene una duración entre 3 y 4 horas. Termina cuando la cromatina empieza a condensarse al inicio de la mitosis.

El estado o etapa M incluye la mitosis o reparto de material genético nuclear (donde se divide la cromatina duplicada de modo tal que cada célula hija obtenga una copia del material genético y la citocinesis (división del citoplasma).

Si el ciclo completo durara 24 horas, la fase M duraría alrededor de media hora (30 minutos). El final de la mitosis da lugar a un nuevo ciclo en G_1 o puede que la célula entre en fase G_0 que corresponde a un estado de reposo especial característico de algunas células, en el cual puede permanecer desde pocos días hasta incluso años.

Las células que se encuentran en el ciclo celular se denominan proliferantes y las que se encuentran en fase G_0 se llaman células quiescentes.

Hay células que se encuentran permanentemente en el ciclo, como las epiteliales; otras están permanentemente fuera del ciclo, como las neuronas, y otras están fuera del ciclo, pero bajo un estímulo adecuado pueden volver a dividirse, como es el caso de las células hepáticas. Factores ambientales tales como cambios en la temperatura y el pH, disminución de los niveles de nutrientes llevan a la disminución de la velocidad de división celular.

5.2 Regulación del ciclo celular:

Como todo proceso orgánico, el ciclo celular está sujeto a regulación. Ésta es realizada en sitios específicos llamados puntos de control, que pueden frenar o disparar diversos procesos que le permitan a la célula proseguir con su ciclo normal de replicación del material genético, crecimiento y división.

La función de la regulación, básicamente es realizada por proteínas específicas conocidas como quinasas (kdc) y ciclinas (ciclinas A ó B).

Las principales moléculas que participan en el ciclo celular, y cuyo mal funcionamiento pueden conducir a un proceso tumoral son:

-KdC: (kinase dependiente de ciclinas, agrega fosfato a una proteína), junto con ciclinas son las mayores llaves de control para el ciclo celular, causando que la célula se mueva de G_1 a S o G_2 a M.

-FPM: (Factor Promotor de la Maduración) incluye la KdC y ciclinas que desencadenan la progresión del ciclo celular.

-p53: Es una proteína que funciona bloqueando el ciclo celular si el ADN está dañado. Si el daño es severo esta proteína puede causar apoptosis (muerte celular).

Los niveles de p53 están incrementados en células dañadas. Esto otorga tiempo para reparar el ADN por bloqueo del ciclo celular.

Una mutación de la p53 es la mutación más frecuente que conduce al cáncer. Un caso extremo de esto es el *síndrome de Li Fraumeni* donde un defecto genético en la p53 conduce a una alta frecuencia de cáncer en los individuos afectados.

-p27: Es una proteína que se une a ciclinas y KdC bloqueando la entrada en fase S. Investigaciones recientes afirman que la prognosis del cáncer de seno está determinada por los niveles de p27; reducidos niveles de p27 predicen un mal resultado para los pacientes de cáncer de seno.

El cáncer es una patología que afecta directamente a las células, que tienen mutados una serie de genes que afectan a la supervivencia y al ciclo celular de éstas células, haciendo que sean células quiescentes (inmortales). El proteosoma, está sobreexpresado y degrada ciclina en exceso, por lo que la célula nunca para de dividirse, aparte de que esta célula crea sus propias señales de supervivencia (IL-6) gracias a la destrucción del factor de regulación I κ B-NFKB, y gracias a la destrucción constantes de los CDKinhibidores (p21, p27).

Debido a esto, la inhibición del proteosoma podría ser un buen punto de partida para parar la erradicación del cáncer, ya que afectaría al proceso de creación de IL-6 y destruiría las ciclinas, liberaría p21 y p27, con lo que el cáncer se frenaría y la célula, pasaría a estado un apoptótico.

En el ciclo celular en células normales, el proteosoma degrada ciclina en anafase, para poder pasar a telofase. Al final de la interfase se comienza a sintetizar ciclina que une CDK, formando el complejo MPF (factor promotor de mitosis), que permite el paso de metafase, dando lugar a un ciclo celular.

Lo que ocurre en células aberrantes, es que la ciclina se degrada continuamente por sobreexpresión del proteosoma, por alguna mutación o activador que hace que el proteosoma esté descontrolado. Esto permite la destrucción y renovación de ciclina que une a CDK 1, dando lugar a una mitosis continua e invasiva, que produce tumores y metástasis.

No solo existen este tipo de ciclinas, sino que para cada fase del ciclo celular hay una ciclina que une específicamente a un tipo de cdk, por ello, hay otro nivel de regulación que afecta al ciclo celular: los CDK-INHIBIDORES, dentro de los cuales

entronamos el p21 y p27, que actúan cuando hay daño celular o cromosómico, parando el ciclo hasta que se repara el daño, siempre y cuando el proteosoma este inhibido o regulado de forma normal, puesto que en condiciones oncogénicas, el proteosoma esta sobreexpresado y degrada continuamente los CDK inhibidores, impidiendo que este punto de control funcione correctamente.

El tercer nivel de control que da lugar a procesos oncológicos, es la de los señales de regulación de los factores de supervivencia celular: I κ B y NF κ B que originan Interleuquinas 3 y 6, VEGF y VCAM1. Las células cancerosas resisten cualquier radiación o quimioterapia, de hecho, cuando se les irradia, destruyen I κ B que regula al factor de transcripción NF κ B, liberando el NF κ B que va al núcleo y genera factores de supervivencia que llevan a la célula saltarse la apoptosis, de este modo, las células cancerosas nunca mueren. La inhibición del proteosoma a este nivel, también podría provocar que las células cancerosas llegasen a la apoptosis al no haber señales de supervivencia (IL-3, IL-6).

5.3 Relación cáncer-proteosoma:

Los proteosomas controlan la vida media de muchas proteínas regulatorias de corta vida, tales como aquellas involucradas en el ciclo celular. Es por esto que un fallo en el proteosoma puede conducir a una regulación anormal del ciclo celular y a la proliferación descontrolada de células. El ciclo celular es controlado tanto por señales positivas como negativas. Una alteración en las proteínas involucradas en estos controles puede afectar el balance de este proceso y ser un papel clave en el desarrollo y la evolución del cáncer. En una célula normal, los proteosomas degradan a las proteínas que inhiben el ciclo celular, como los inhibidores de quinasa dependientes de ciclina (CKI).

La inhibición de las funciones de los proteosomas provoca un paro en el ciclo celular y por ende la muerte de la célula.

Se ha sugerido que el inmunoproteosoma también juega un rol en la regulación del desarrollo de tumores. Específicamente, la pérdida de la subunidad B1i del inmunoproteosoma en LMP2 es el resultado del desarrollo de un leiomioma uterino en ratones, y estos tumores de pacientes humanos también muestran la falta de la expresión de β 1i (Ferrington y Gregerson, 2012; Hayashi et al., 2011).

Además de la falta de β 1i, estos tejidos también tienen deficiencia de la expresión del Interferon c inducido IRF-1, que es necesario en la regulación del ciclo celular.

Otro estudio muestra que un polimorfismo específico en el gen LMP7 para la subunidad $\beta 5i$ está asociado con un riesgo mayor de cáncer de colon (Fellerhoff y cols., 2011). También ha sido demostrado que la actividad del inmunoproteosoma está sobreexpresada en cierto tipo de leucemias agudas (Khan y cols., 2004).

Es importante subrayar que aunque los polimorfismos de LMP2 y LMP7 pueden ocurrir simultáneamente, por separado producen diferentes consecuencias. Así, el polimorfismo de LMP7 muestra una mayor prevalencia en cánceres gástricos, mientras que los de LMP2 fueron estudiados por jugar un rol en el desarrollo de leucemia mieloide aguda y mielomas múltiples (Yu y cols, 2013).

Tomándolos juntos, estos estudios sugieren que, dependiendo del tipo de cáncer, el inmunoproteosoma puede actuar tanto como factor de desarrollo, o ser sólo una consecuencia de la enfermedad.

5.4 Inmunoproteosoma como objetivo en la terapia del cáncer:

El desarrollo de cáncer es un proceso multifactorial, en el que participan alteraciones genéticas (activación de oncogenes, inactivación de genes supresores de tumores, desregulación del ciclo celular, desregulación de la apoptosis...). Debido al papel crucial de los proteosomas en el control de muchos de estos procesos, así como en la producción de MHC clase I, el inmunoproteosoma se ha convertido en un objetivo crucial en la lucha contra el cáncer (Molineaux SM, 2012, Frankland-Searby y Bhaumik, 2011, Navon y Ciechanover, 2009). Estudios preclínicos muestran que las células tumorales son generalmente más sensibles al bloqueo del proteosoma que las células sanas. La hipótesis que se estudia es que muchas células tumorales proliferan rápidamente y pueden acumular proteínas defectuosas de una manera mucho mayor que las células normales, incrementando así su dependencia al proteosoma (Adams, 2004). En general, las células cancerígenas son más susceptibles a los inhibidores de proteosomas y como consecuencia, estos inhibidores pueden representar un tratamiento efectivo para ciertos tipos de cáncer.

Además, la inhibición del proteosoma causa la inactivación de NF- κ B, que está involucrado en la resistencia a fármacos o a radiación en las células cancerosas. La expresión del *inmunoproteosoma*, de manera preferente al *proteosoma*, se ha observado en mieloma múltiple.

5.5 Inmunoproteosoma en Mieloma Múltiple:

El Mieloma Múltiple es un trastorno en el plasma sanguíneo, caracterizado por una proliferación de células malignas en la médula ósea. Representa el 1% de los procesos oncológicos y el 13% de los cánceres hematológicos. Consiste en una proliferación de células monoclonales del plasma derivadas de células B post-germinales.

Actualmente, la terapéutica antimieloma está basada en la combinación de inmunomoduladores (como Dexametasona, Lenalidomide, Prednisona) e inhibidores del proteosoma, como Bortezomib, conduciendo así a la interrupción de varios mecanismos. Particularmente, la inhibición del proteosoma estimula las señales apoptóticas, incluyendo la inducción de la respuesta al estrés del Retículo Endoplasmático, la disminución de producción de factores de angiogénesis o la adhesión celular. (Palumbo y Anderson, 2011).

Considerando los efectos adversos derivados de la inhibición del proteosoma (toxicidad hematológica y neuropatías periféricas), y la sobreexpresión del inmunoproteosoma en Mieloma Múltiple primario (Singh y cols., 2010), un gran número de inhibidores proteosomales de primera generación han sido probados tanto in vitro como en modelos animales, demostrando una actividad anti-mieloma, mediada por diferentes mecanismos.

La inhibición selectiva de la subunidad $\beta 5i$ bloquea el crecimiento y provoca la apoptosis en las líneas celulares de pacientes con MM, sin afectar a las células mononucleares normales de la sangre periférica.

La actividad antiproliferativa también ha sido probada in vitro por la inhibición de la subunidad $\beta 1i$ en tumores de células linfoides.

5.6 Inmunoproteosoma en tumores sólidos:

En la actualidad, no hay datos disponibles de la aplicación de los inhibidores específicos del inmunoproteosoma en otro tipo de cáncer sanguíneo, como sí los hay en la leucemia mieloide aguda y los tumores sólidos, aunque la inhibición selectiva de la subunidad $\beta 1i$ produce la inhibición de la reproducción en el cáncer de células prostáticas (Lee y Kim, 2011). En estos tumores, una expresión heterogénea de la maquinaria de procesamiento de antígenos (APM por sus siglas en inglés), incluyendo las subunidades del inmunoproteosoma, es observada y

generalmente corresponde a la progresión de la enfermedad y de la respuesta inmune (Seliger, 2011).

De hecho, en las biopsias de médula ósea de pacientes de Leucemia Mieloide Aguda, se han visto distintos defectos en la expresión del APM.

En carcinoma de células renales, los bajos niveles de las subunidades $\beta 1i$ y $\beta 5i$ como de han sido encontrados y son más pronunciados en las lesiones metastásicas que en lesiones primarias. El mismo escenario ha sido observado en el carcinoma de células hepáticas (Matsui, Machida , y cols., 2002) y en las lesiones malignas primarias de melanomas, asociado con una regresión espontánea (Dissemond, Goette y cols., 2003).

Otro dato importante es el hecho de que ratones que carecen de la subunidad $\beta 1i$ desarrollan espontáneamente un leiomiocarcinoma (Hayashi, Horiuchi y cols., 2011).

Una sobre-regulación del inmunoproteosoma y un aumento de la respuesta contra los antígenos tumorales ha sido observada in vitro en líneas celulares con hepatocarcinoma después de la administración de INF- γ , sugiere que en ciertos casos, en lugar de la inhibición del inmunoproteosoma función podría ser efectiva en la respuesta inmune anti tumoral, mediante la producción de ciertos epítomos de MHC.

5.7 Fármacos anticancerosos relacionados con el inmunoproteosoma:

El descubrimiento del SUP ha marcado el inicio de una serie de investigaciones en drogas anticancerosas, ya que el exceso o la disminución de la degradación pueden conducir al cáncer por alterar los niveles tanto de proteínas oncogénicas como de supresoras de tumores, por ejemplo p53.

5.7.1. Bortezomib y Carfilzomib:

El primer inhibidor de proteosomas sometido a pruebas clínicas como tratamiento para el cáncer fue el PS-341 (ahora: MLN-341). El medicamento es producido por Farmacéuticos Milenio. Este medicamento interactúa específicamente con un aminoácido de treonina clave del sitio catalítico del proteosoma. A pesar de que esta interacción bloquea únicamente una de las tres actividades catalíticas del proteosoma, la inhibición resultante parecer ser suficiente para evitar la degradación de proteínas con ubiquitina. En 2003, PS-341, ahora conocido como

bortezomib o *Velcade™*, se convirtió en el primer inhibidor de proteosomas aprobado para uso humano en los Estados Unidos. Ahora es utilizado para tratar el mieloma múltiple. Sin embargo, también inhibe otras proteínas importantes y, por tanto, provoca un gran número de efectos secundarios, más o menos graves.

En España, Bortezomib está indicado para el tratamiento de pacientes adultos con mieloma múltiple en progresión que han recibido previamente al menos un tratamiento y que han sido sometidos o no son candidatos a trasplante de progenitores hematopoyéticos. Su forma de administración puede ser tanto por vía intravenosa o por vía subcutánea.

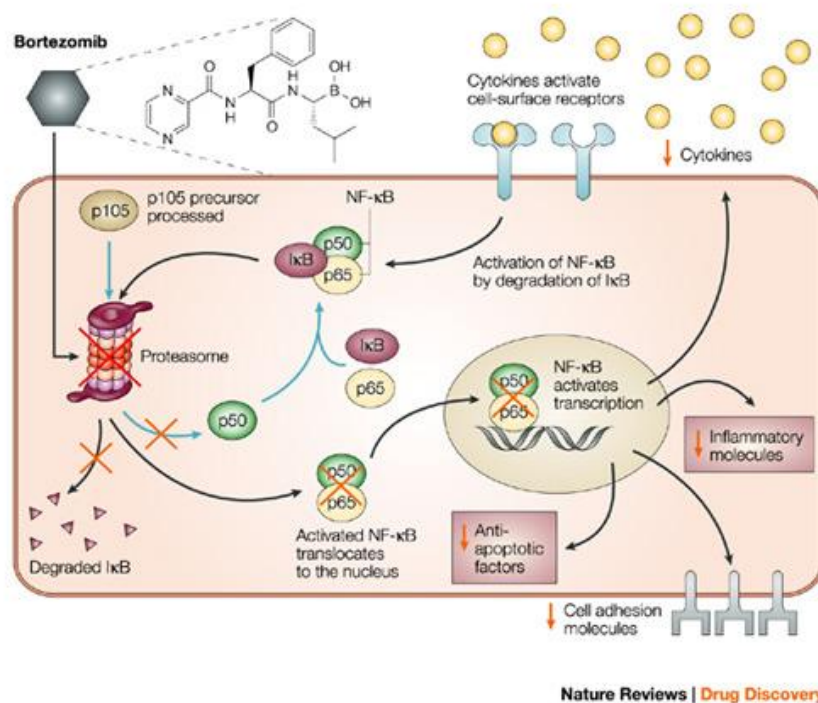


Figura 6: Estructura y mecanismo de Bortezomib. (Paramore y Frantz, 2003)

Igualmente, en 2009 salió a la luz un nuevo compuesto, el *Carfilzomib*, un inhibidor más específico de una de las enzimas ligasas claves en la ubiquitinación, que resulta ser una droga efectiva anticancerosa en estudios *in vitro* e *in vivo* en un modelo en ratones con tumor en pulmón.

Bortezomib y *Carfilzomib* inhiben la actividad *proteosómica* de modo inespecífico, sin discriminar el *immunoproteosoma*.

Carfilzomib es un análogo estructural de *epoxomicina-3*, un subproducto de la actividad microbiana, en la que se observó actividad antitumoral consecuencia de la inhibición sobre la actividad *proteosómica*.

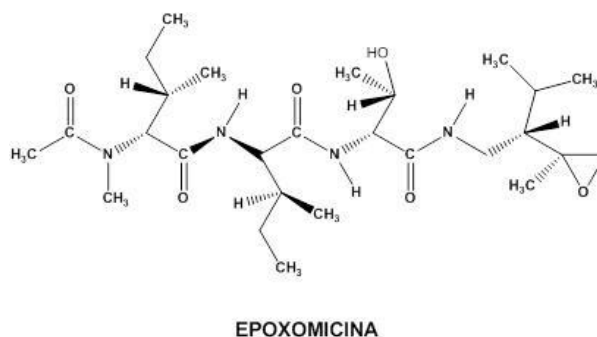


Figura 7: Estructura de la Epoximicina.

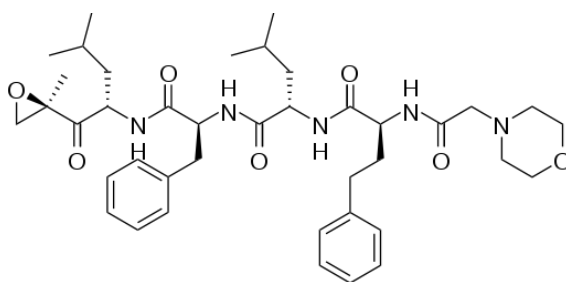


Figura 8: Estructura del Carfilzomib

Carfilzomib inhibe de manera selectiva tanto la actividad de la subunidad $\beta 5$ (del *proteosoma*) como la actividad $\beta 5i$ (o: LMP7) del *inmunoproteosoma*. La inhibición de estas subunidades es irreversible, por lo que la restauración de la actividad *proteosómica* requiere la síntesis de nuevas subunidades proteicas. En esto se diferencia de *Bortezomib*, cuya inhibición de las mismas subunidades del complejo proteosómico es lentamente reversible.

El radical epoxibutano de *Carfilzomib* muestra una elevada especificidad por el aminoácido treonina del extremo amino-terminal de los sitios catalíticos, con muy limitada actividad sobre las serina-proteasas. En cambio, *Bortezomib* reacciona de manera preferente con las serinas de diversas proteasas, tales como la actividad quimotripsina ($\beta 5$); pero también otras como catepsinas A y G, elastasa y quimasa.

A pesar de su rápido aclaramiento plasmático, *Carfilzomib* da lugar a una inhibición prolongada de la subunidad 20S del *proteosoma* en todos los tejidos, excepto en el cerebro.

El Carfilzomib está comercializado en España como Kyprolis[®], y su forma farmacéutica se trata de unos polvos para solución para perfusión. *Carfilzomib* representa un progreso en relación a *Bortezomib* en varios aspectos: especificidad de acción, irreversibilidad de la inhibición del sistema *proteosómico*, menor incidencia, según los estudios iniciales, de neuropatía periférica; y, principalmente, eficacia clínica en pacientes que, bien son refractarios, o han recaído tras un tratamiento con *Bortezomib*. *Carfilzomib* está indicado bien en régimen de monoterapia, o incluido en protocolos de tratamiento más complejos.

5.7.2 Otros:

Un segundo inhibidor de proteosomas es el *salinosporin* o *salinosporamida* (Gulder TAM and Moore BS, 2010).

Este producto natural de procedencia marina es producido por la bacteria *Salinispora tropica* y *Salinispora arenicola*, que se encuentran en los sedimentos oceánicos. Pertenece a una familia de compuestos, conocidos por poseer un núcleo bicíclico γ -lactama- β -lactona funcionalizado. Este farmacóforo es el responsable de la unión irreversible a la subunidad β del proteosoma 20S.

Actualmente este producto se encuentra en fase humana clínica I para el tratamiento del mieloma múltiple

Conclusiones:

Considerando todas las publicaciones recientes sobre la importancia del inmunoproteosoma en el estrés oxidativo, en distintas enfermedades, y en el envejecimiento, se puede plantear la pregunta de si el inmunoproteosoma debería dejar de considerarse tan sólo como un mecanismo de generación de péptidos para la presentación de antígenos.

Es importante destacar que la óptima funcionalidad de tanto el inmunoproteosoma como del proteosoma 20S parece ser crítico para el envejecimiento saludable, y su desregulación puede promover el desarrollo de enfermedades e, incluso, de acelerar el envejecimiento.

A pesar de esta importancia del inmunoproteosoma como un objetivo biológico emergente para tanto cáncer como neuropatologías, no se ha llegado a conocer con exactitud su

estructura exacta. Una posible estrategia para compensar esta falta de conocimiento es la generación de un modelo de inmunoproteosoma *in silico*, que podría ayudar al desarrollo de moduladores selectivos de dicho complejo.

Es, por tanto, de una importancia considerable seguir estudiando este complejo, que parece tener cierto papel importante en enfermedades tan comunes hoy en días y que, desgraciadamente, aún seguimos sin poder ponerles fin.

Bibliografía:

Adams J. 2004. The proteasome: a suitable antineoplastic target. *Nat Rev Cancer*; 4: 349-60.

Akiyama K, Kagawa S, Tamura T, et al. 1994. Replacement of proteasome subunits X and Y by LMP7 and LMP2 induced by interferon-gamma for acquirement of the functional diversity responsible for antigen processing. *FEBS Lett* 343:85–8.

Arima K, Kinoshita A, Mishima H, et al. 2011. Proteasome assembly defect due to a proteasome subunit beta type 8 (PSMB8) mutation causes the autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:14914–19.

Basler M, Dajee M, Moll C, Groettrup M, Kirk CJ. Prevention of experimental colitis by a selective inhibitor of the immunoproteasome. *J Immunol* 2010; 185: 634-41.

Baumeister W, Walz J, Zühl F, Seemüller E. 1998. The proteasome: Paradigm of a self-compartmentalizing protease. *Cell* 92: 367-380.

Belardelli F. 1995. Role of interferons and other cytokines in the regulation of the immune response. *APMIS* 103:161–79.

Bellavista E, Andreoli F, Parenti MD, Martucci M, Santoro A, Salvioli S. 2013. Immunoproteasome in Cancer and Neuropathologies: A New Therapeutic Target?"

Cascales M., 2005 "Vía de la ubiquitina-proteosoma".

Centro de Información Online de Medicamentos del AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios)

Checler F, da Costa CA, Ancolio K, et al. 2000. Role of the proteasome in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*; 1502: 133-8.

Cheroni C, Peviani M, Cascio P, Debiase S, Monti C, et al. 2005. Accumulation of human SOD1 and ubiquitinated deposits in the spinal cord of SOD1G93A mice during

motor neuron disease progression correlates with a decrease of proteasome.

Ciechanover, Tae Kwon. 2015. Degradation of misfolded proteins in neurodegenerative diseases: therapeutic targets and strategies.

Ciechanover A, Schwartz AL. 2004. The ubiquitin system: Pathogenesis of human diseases and drug targeting. *Biochim Biophys Acta* 1695: 3-17.

Coux O, Tanaka K, Goldberg AL. 1996. Structure and functions of the 20 and 26S proteasomes. *Annu Rev Biochem* 65: 801-847.

Diaz Hernandez M, Hernandez F, Martin Aparicio E, Gomez Ramos P, Moran MA, et al. 2003. Neuronal induction of the immunoproteasome in Huntington's disease. *J Neurosci* 23: 11653-11656.

Dissemond J, Goette P, Moers J, et al. Immunoproteasome subunits LMP2 and LMP7 downregulation in primary malignant melanoma lesions: association with lack of spontaneous regression. *MelanomaRes* 2003; 13: 371-7.

Fellerhoff B, Gu S, Laumbacher B, et al. 2011. The LMP7-K allele of the immunoproteasome exhibits reduced transcript stability and predicts high risk of colon cancer. *Cancer Res* 71:7145-54.

Ferrington DA, Gregerson DS. 2012. Immunoproteasomes: structure, function, and antigen presentation. *Prog Mol Biol Transl Sci* 109:75-112.

Franco JD, Fagundo E, Gómez-Antúnez R, Gómez- Domínguez R, 2013 "El Proteosoma".

Foss GS, Prydz H. 1999. Interferon regulatory factor 1 mediates the interferon- γ induction of the human immunoproteasome subunit multicatalytic endopeptidase complex-like 1. *J Biol Chem* 274:35196-202.

Frankland-Searby S, Bhaumik SR. 2011. The 26S proteasome complex: An attractive target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1825: 64-76.

Gillardon F, Kloss A, Berg M, et al. 2007. The 20S proteasome isolated from Alzheimer's disease brain shows post-translational modifications but unchanged proteolytic activity. *J Neurochem*; 101: 1483-90.

Gomes AV. 2013. Genetics of proteasome diseases. *Scientifica* 2013, 30 pages.

Gregori L, Fuchs C, Figueiredo-Pereira ME, Van Nostrand WE, Goldgaber D. 1995. Amyloid β protein inhibits ubiquitin- dependent protein degradation in vitro. *J Biol Chem* 270: 19702-19708.

Gulder TAM, Moore BS. Salinosporamide natural products: Potent 20S proteasome inhibitors as promising cancer chemotherapeutics. *Angew Chem Int Ed.* 2010;49:9346-9367.

Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, et al. 2011. Molecular approach to uterine leiomyosarcoma: LMP2-deficient mice as an animal model of spontaneous uterine leiomyosarcoma. *Sarcoma* 2011, Article ID 476498, 6 pages.

Helen K. Johnston-Carey, Laura C. D. Pomatto & Kelvin J. A. Davies (2016): The Immunoproteasome in oxidative stress, aging, and disease, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, DOI:10.3109/10409238.2016.1172554.

Keck S, Nitsch R, Grune T, Ullrich O. 2003. Proteasome inhibition by paired helical filament tau in brains of patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem* 85: 115-122.

Keller JN, Hanni KB, Markesbery WR. Impaired proteasome function in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2000; 75: 436-9.

Keller JN, Huang FF, Markesbery WR. 2000. Decreased levels of proteasome activity and proteasome expression in aging spinal cord. *Neuroscience* 98: 149-156.

Khan MA, Oubrahim H, Stadtman ER. 2004. Inhibition of apoptosis in acute promyelocytic leukemia cells leads to increases in levels of oxidized protein and LMP2 immunoproteasome. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:11560-5.

Kim TW, Pettingell WH, Hallmark OG, Moir RD, Wasco W, et al. 1997. Endoproteolytic cleavage and proteasomal degradation of presenilin 2 in transfected cells. *J Biol Chem* 272: 11006-11010.

Kitamura A, Maekawa Y, Uehara H, et al. 2011. A mutation in the immunoproteasome subunit PSMB8 causes autoinflammation and lipodystrophy in humans. *J Clin Invest* 121:4150-60.

Kloetzel PM. 2004. The proteasome and MHC class I antigen processing. *Biochim Biophys Acta* 1695: 217-225.

Lee W, Kim KB. The immunoproteasome: an emerging therapeutic target. *Curr Top Med Chem* 2011; 11: 2923-30.

Lee YK, Menezes JS, Umesaki Y, Mazmanian SK. Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 Suppl 1: 4615-22.

Leroy E, Boyer R, Auburger G, et al. 1998. The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 395:451-2.

Liu Y, Ramot Y, Torrelo A, et al. 2012. Mutations in proteasome subunit b type 8 cause chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature with evidence of genetic and phenotypic heterogeneity. *Arthritis Rheum* 64:895-907.

Lopez Salon M, Morelli L, Castano EM, Soto EF, Pasquini JM. 2000. Defective ubiquitination of cerebral proteins in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 62: 302-310.

Matsui M, Machida S, Itani-Yohda T, Akatsuka T. Downregulation of the proteasome subunits, transporter, and antigen presentation in hepatocellular carcinoma, and their restoration by interferon gamma. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 897-907.

McNaught KS, Jenner P. 2001. Proteasomal function is impaired in substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 297: 191-194.

McNaught KS, Olanow CW. 2003. Proteolytic stress: A unifying concept for the etiopathogenesis of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 53: S73-S84.

Mishto M, Bellavista E, Santoro A, *et al.* 2006. Immunoproteasome and LMP2 polymorphism in aged and Alzheimer's disease brains. *Neurobiol Aging*; 27: 54-66.

Mishto M, Ligorio C, Bellavista E, *et al.* Immunoproteasome expression is induced in mesial temporal lobe epilepsy. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 408: 65-70.

Molineaux SM. Targeting Proteasomal Protein Degradation in Cancer. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 15-20.

Muchamuel T, Basler M, Aujay MA, *et al.* 2009. A selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP7 blocks cytokine production and attenuates progression of experimental arthritis. *Nat Med* 15:781-7.

Navon A, Ciechanover A. 2009. The 26 S proteasome: from basic mechanisms to drug targeting. *J Biol Chem* 2009; 284: 33713-8.

Ochoa-Reparaz J, Mielcarz DW, Haque-Begum S, Kasper LH. 2011. Induction of a regulatory B cell population in experimental allergic encephalomyelitis by alteration of the gut commensal microflora. *Gut Microbes* 2011; 1: 103-8.

Palumbo A, Anderson K. 2001. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 364: 1046-60.

Pickering AM, Davies KJA. 2012. Differential roles of proteasome and immunoproteasome regulators Pa28ab, Pa28c and Pa200 in the degradation of oxidized proteins. *Arch Biochem Biophys* 523:181-90.

Pickering A, Koop A, Teoh C, *et al.* 2010. The immunoproteasome, the 20S proteasome and the PA28alpha beta proteasome regulator are oxidative-stress-adaptive proteolytic complexes. *Biochem J* 432:585-94.

Rechsteiner M, Realini C, Ustrell V. 2000. The proteasome activator 11S REG (PA28) and class I antigen presentation. *Biochem J* 345: 1-15.

- Rinaudo M.T., Piccinini M. 2008. Immunoproteasome Activity in the Nervous System.
- Rockwell CE, Monaco JJ, Qureshi N. 2012. A critical role for the inducible proteasomal subunits LMP7 and MECL1 in cytokine production by activated murine splenocytes. *Pharmacology* 89:117–26.
- Seifert U, Bialy LP, Ebstein F, et al. 2010. Immunoproteasomes preserve protein homeostasis upon interferon-induced oxidative stress. *Cell* 142:613–24.
- Seliger B. Novel insights into the molecular mechanisms of HLA class I abnormalities. *Cancer Immunol Immunother* 2011
- Sifuentes Giraldo WA, Garcia Villanueva MJ, Boteanu AL, Lois Iglesias A, Zea Mendoza AC. 2012. New targets in systemic lupus.
- Singh AV, Bandi M, Aujay MA, et al. 2010. PR-924, a selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP-7, blocks multiple myeloma cell growth both *in vitro* and *in vivo*. *Br J Haematol*; 152: 155-63.
- Steiner H, Capell A, Pesold B, Citron M, Kloetzel PM, et al. 1998. Expression of Alzheimer's disease-associated presenilin- 1 is controlled by proteolytic degradation and complex formation. *J Biol Chem* 273: 32322-32331.
- Stohwasser R, Giesebrecht J, Kraft R, et al. Biochemical analysis of proteasomes from mouse microglia: induction of immunoproteasomes by interferon-gamma and lipopolysaccharide. *Glia* 2000; 29: 355-65.
- Tanoka K, Kasahara M. 1998. The MHC class I ligand-generating system: roles of immunoproteasomes and the interferon- γ -inducible proteasome activator PA28. *Immunol Rev* 163:161–76.
- Vilchez D, Saez I, Dillin A. 2014. The role of protein clearance mechanisms in organismal ageing and age-related diseases. *Nat Commun* 5.
- Vasuri F, Capizzi E, Bellavista E, et al. Studies on immunoproteasome in human liver. Part I: absence in fetuses, presence in normal subjects, and increased levels in chronic active hepatitis and cirrhosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 397: 301-6.
- Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol* 2011; 7: 31-40.
- Yu Z, Liu Q, Huang C, et al. 2013. The interleukin 10-819C/T polymorphism and cancer risk: a HuGE review and metaanalysis of 73 studies including 15,942 cases and 22,336 controls. *Omics* 17:200–14.