

05341

1
20j



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA
División de Estudios de Posgrado

PROTEINAS DE CHOQUE TERMICO

T E S I S

Que para obtener el Diploma de
ESPECIALIZACION EN BIOQUIMICA CLINICA

p r e s e n t a

CARMENZA BOTERO BOTERO

1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

RESUMENES	7
INTRODUCCION	8
OBJETIVOS	11
DEFINICION	12
DESCRIPCION GENERAL	13
A. ESTRUCTURA	13
B. CLASIFICACION	16
C. FUNCION	17
1. FAMILIA HSP 110-kDa	17
2. FAMILIA HSP 90-kDa	18
3. FAMILIA HSP 70-kDa	22
4. FAMILIA HSP 60-kDa	27
5. FAMILIA HSP 20-kDa (sHSP)	29
6. FAMILIA HSP 8.5-kDa	32
BIOLOGIA MOLECULAR DE LA RESPUESTA AL ESTRES	35
IMPORTANCIA BIOLOGICA	43
IMPORTANCIA BIOMEDICA	52
ARTRITIS REUMATOIDE	75
COMENTARIOS	104
BIBLIOGRAFIA	112
INDICE	126

RESUMEN

Esta tesis trata sobre las proteínas de choque térmico y está dirigida hacia el estudio de su estructura, función e importancia biológica y clínica. Este último punto resalta la participación de dichas proteínas en la respuesta inmune y en particular, los aspectos importantes relacionados con las infecciones bacterianas y virales, como posibles causas de autoinmunidad. En un capítulo aparte se trata la artritis reumatoide, como una de las enfermedades autoinmunes más investigadas con respecto al papel de las proteínas de choque térmico en la etiología y patogénesis de dicha entidad; también, se describe el defecto de glicosilación de la IgG, como posible mecanismo asociado a la enfermedad. Ambos aspectos, parecen jugar un papel crucial en la patogénesis de la artritis reumatoide. Finalmente se plantea la teoría del homúnculus inmunológico como un principio unificador de dos teorías postuladas en la tolerancia inmunológica.

ABSTRACT

The theses treats the heat shock proteins and is directed to the study of their structure, function and biological and clinical importance. The latter elucidates the participation of the mentioned proteins in the immune response and, particularly, the most important aspects related to bacterial and viral infections which are posibles causes of autoimmunity. In an additional chapter, rheumatoid arthritis is dealt with as, one of the most investigated diseases with regard to the role of the heat shock proteins in etiology and pathology. Also, the glycosylation defect of the IgG is defined as possible mechanism related to the disease. Both aspects seem to play a crucial part in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Finally, the theory of the homunculus immunological as the main unifying principles of the two postulated theories of immunological tolerance is laid down.

I N T R O D U C C I O N

Los trabajos experimentales de Ritosa realizados en 1962 (1) sobre la respuesta al choque térmico en glándulas salivares de Drosóphila busckii y Drosóphila melanogaster, condujeron al descubrimiento de "genes activos" (puffs) o sitios de transcripción activa en el cromosoma, que eran inducidos por el choque térmico, el dinitrofenol y el salicilato de sodio, y cuyas variaciones comprometían bandas involucradas en actividades metabólicas específicas. Dichos genes, fueron denominados "genes de choque térmico" (1,2).

En la década siguiente, la respuesta al choque térmico fue estudiada básicamente a nivel celular, lográndose llegar a importantes observaciones sobre los genes involucrados en dicha respuesta: (i) eran inducidos en pocos minutos por muchos tipos de estrés celular; (ii) su inducción daba lugar a la síntesis de nuevo RNA; (iii) se encontraban en otras especies de Drosóphila y en diferentes tejidos; y (iv) su inducción era precedida por la desaparición de genes activados antes del choque térmico (3-5). Por la misma época, Tissieres y colaboradores (6), estudiaron la respuesta a nivel molecular y reportaron que este fenómeno estaba asociado a la síntesis de un grupo de proteínas que fueron denominadas "proteínas de choque térmico" o HSP (del

inglés heat shock proteins) y a la inhibición de la síntesis normal de proteínas.

La naturaleza universal de esta respuesta fue gradualmente descubierta y en 1985 Craig y colaboradores (7) acuñaron el término de "proteínas de estrés", al demostrar que muchos otros insultos celulares, tales como anoxia, peróxido de hidrógeno metales pesados, drogas, desacopladores de la fosforilación oxidativa, aminoácidos análogos, etc.; pueden inducir la síntesis de las proteínas de choque térmico (7-10); no solamente en Drosophila; sino también en otros organismos como levaduras, células aviares y Tetrahymena. Pocos años después, dicha respuesta fue reportada en una gran variedad de organismos (10).

Investigaciones posteriores condujeron al hallazgo de que las proteínas de choque térmico también estaban involucradas en importantes funciones fisiológicas y que muchas de estas proteínas están presentes y activas en las células normales. Se introdujo entonces el término de "chaperones moleculares" o gobernadores moleculares, para describir un papel más general como proteínas que custodian y protegen la célula, participando en la síntesis y actividad de moléculas biológicamente importantes en la célula, favoreciendo el ensamble de proteínas oligoméricas y previniendo la formación de estructuras anómalas; pero sin formar parte del oligómero final (11-15).

Se llegó a la conclusión, de que la respuesta al estrés es universal; es decir, ha sido observada en todos los tipos de organismos tanto eucariotes como procariotes (10); y que las HSP figuran entre las moléculas más conservadas que se conocen en la filogenia, tanto estructural como funcionalmente y representan por lo tanto, un sistema adaptativo ancestral común en la evolución (9-15).

En los últimos años, ha crecido el interés por las proteínas de choque térmico, por el hallazgo de que estas proteínas son antígenos dominantes de muchas enfermedades infecciosas y autoinmunes en la respuesta inmune (16-17).

O B J E T I V O S

Dado que las proteínas de choque térmico constituyen uno de los temas de actualidad, sobre el que giran numerosas investigaciones de carácter científico, constantemente están apareciendo una gran cantidad de publicaciones. Los avances logrados hasta el presente, ameritan un estudio sobre las proteínas de choque térmico, a manera de revisión bibliográfica exhaustiva, con el fin de dar conocer el papel trascendental que dichas proteínas juegan desde el punto de vista biológico y clínico; y en especial por su participación en los mecanismos de autoinmunidad, como en la artritis reumatoide.

DEFINICION

Las proteínas de choque térmico (HSP) constituyen una superfamilia de proteínas, cuyo nombre deriva de su inducción específica durante el estudio de la respuesta celular al choque térmico en todos los organismos. Sin embargo, muchos de los miembros de esta familia son expresados constitutivamente en ausencia de cualquier tipo de estrés celular y son esenciales para la actividad y el crecimiento celular; además, muchas de estas proteínas, incluyendo aquellas que no responden significativamente al choque térmico, son inducidas por otras condiciones de estrés, cuyo común denominador es quizás la acumulación de proteínas alteradas en su estructura terciaria y cuaternaria o desdobladas en la célula. Su función en muchos casos está relacionada con la hidrólisis del ATP para facilitar los procesos de ensamble y desensamble de complejos proteicos oligoméricos y posiblemente el deterioro de la agregación o del plegamiento incorrecto de polipéptidos nacientes, tanto durante la traducción en el ribosoma como durante la translocación en la membrana de organelas, como la mitocondria y el retículo endoplásmico en la célula.

DESCRIPCION GENERAL

A. ESTRUCTURA

Lo que se conoce hasta el presente acerca de la estructura de las proteínas de choque térmico se basa en las investigaciones de Chappell y colaboradores (18) en torno a la HSP constitutiva bovina de 70kDa (HSPc70).

Dichas investigaciones y otras posteriores, demostraron que las cadenas polipeptídicas de las proteínas de choque térmico consisten de dos segmentos, uno con actividad ATPasa (amino-terminal) y otro con actividad de unión a péptidos (carboxilo-terminal) (19).

El fragmento típico de ATPasa posee un peso molecular de 44kDa y una longitud de 380-390 aminoácidos. El alto grado de homología en la secuencia de aminoácidos entre las HSP de 70 kDa relacionadas con la HSPc bovina, sugiere que el siguiente esquema se extiende a otros miembros de la familia:

La estructura tridimensional del fragmento ATPasa por cristalografía de rayos X (20) presenta dos lóbulos o compartimentos separados por una hendidura. Cada lóbulo está subdividido en dos dominios estructurales. Los dominios inferiores poseen cada uno cinco hojas plegadas beta y tres hélices alfa. El dominio inferior derecho posee en la hendidura dos hojas beta centrales donde se

unen los grupos fosfato. El nucleótido ATP está unido a la base de la hendidura (figura 1).

Sorpresivamente, el fragmento ATPasa por sí mismo, muestra una similitud substancial con la estructura de otras proteínas intactas como la actina y la hexocinasa; pero en especial con la actina. Dicha similitud estructural, podría ser consecuencia de funciones vitales en los organismos; por otra parte, la estrecha similitud de este fragmento con la actina sugiere un ancestro común en la evolución. Las HSP, actinas y hexocinasas son fosfotransferasas que se unen con afinidad al ATP. Muchas de las interacciones específicas con los nucleótidos parecen estar conservadas entre estas tres familias de proteínas; sin embargo, los residuos de aminoácidos propuestos como candidatos para la actividad catalítica no son idénticos, lo cual indica que a pesar de su similitud existen diferencias en los mecanismos de transferencia de fosfatos. La importancia de este fragmento reside en que la hidrólisis del ATP es necesaria para las interacciones de las HSP con sus sustratos polipeptídicos y así poder llevar a cabo su función protectora de organelas como ribosomas, síntesis de otras proteínas de choque térmico, proteólisis celular y como chaperones moleculares acompañando la síntesis o actividad de proteínas constitutivas biológicamente necesarias.

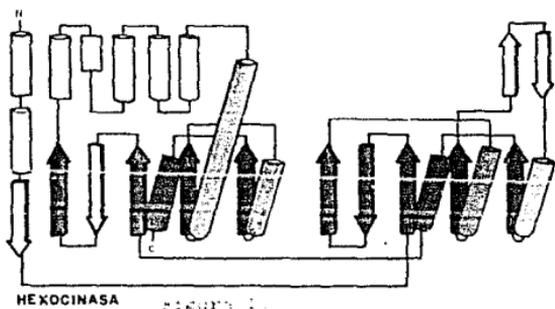
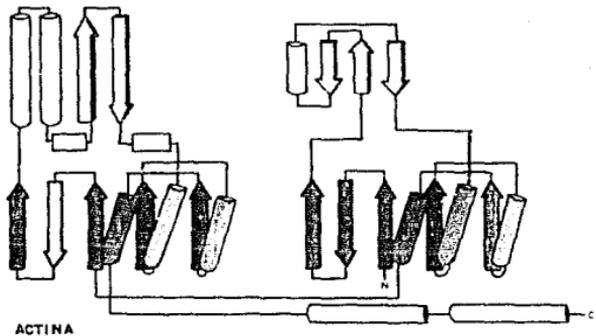
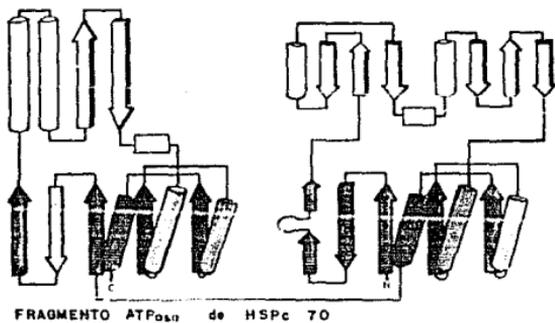


Diagrama que muestra la topología del fragmento ATPase de HSPc 70, actina y Hexocinasa. Los cilindros representan los helices (H) y las líneas representan los bucles (L). Las partes que son idénticas en las tres proteínas aparecen sombreadas.

El otro fragmento carboxilo terminal remanente, con actividad de unión a péptidos, varía más en la secuencia especialmente en los últimos 30-50 aminoácidos y los diferentes grupos de HSP70 relacionados con la HSPc bovina difieren principalmente en esta región. Las HSP70 reconocen una gran variedad de sustratos polipeptídicos; pero pueden discriminar entre diferentes péptidos; lo cual implica, que este fragmento debe reconocer sitios específicos en las proteínas (19-21). Es probable que, bajo condiciones apropiadas, el sustrato que induce la hidrólisis del ATP provoca un cambio conformacional en el dominio ATPasa de una conformación cerrada a una abierta. Dicho cambio es transmitido al dominio para el reconocimiento del sustrato, dando lugar a la liberación de energía libre por hidrólisis del ATP y a un cambio conformacional en el mismo sustrato (20).

B. CLASIFICACION

Las HSP pueden ser agrupadas en familias en base a su peso molecular (22), así:

1. FAMILIA HSP 110-kDa (100-110 kDa)
 - HSP 110-kDa
2. FAMILIA HSP 90-kDa (80-94 kDa)
 - HSP 90-kDa
 - GRP 94-kDa

3. FAMILIA HSP 70-kDa (65-78 kDa)
 - HSP 70-kDa o HSX 70-kDa
 - HSPc 70-kDa o p72
 - HSP 72-kDa o GRP 75-kDa o p70
 - GRP 78-kDa o BiP
4. FAMILIA HSP 60-kDa (56-61 kDa)
 - HSP 58.6-kDa
 - HSP 56-kDa o p56
5. FAMILIA HSP 20-kDa (10-46 kDa) o sHSP
 - HSP-H2B
 - Ubicuitina
 - HSP 28-kDa
 - ORP 32-kDa
 - HSP 47-kDa
6. FAMILIA HSP 8.5-kDa
 - Ubicuitinas

C. FUNCION:

1. FAMILIA HSP 110-kDa

Las HSP (100-110 kDa) de esta familia son producidas por la mayoría de los eucariotes; pero solo se han caracterizado detalladamente en mamíferos, y aún no se aíslan los genes que la codifican (17). Las HSP110 son proteínas constitutivas y predominan en el núcleo celular concentradas en el nucléolo. Durante la respuesta al choque térmico de corta duración, las HSP110 se separan de la fase densa del cuerpo

nucleolar, sin fragmentarlo y se hacen confluentes. Cuando el choque térmico es más prolongado, las HSP110 forman un anillo en torno al nucléolo (23-24). Se postula que las HSP110 se asocian con el ARN o con un complejo de proteínas que se unen al ARN y, dado que la producción celular de ribosomas es muy sensible al calor, se ha sugerido, que las HSP110 confieren protección a dichas organelas ante cambios térmicos (25-26). Bajo condiciones de estrés y en particular cuando disminuyen los niveles de glucosa intracelular, dicha familia y otras proteínas reguladas por los niveles de glucosa, son inducidas conjuntamente, independientemente o recíprocamente (13,23-26).

2. FAMILIA HSP 90-kDa

Esta familia de proteínas ocupa el segundo lugar en tamaño en la familia de las HSP, está presente en todas las células y su síntesis es inducida por el choque térmico y por otras condiciones de estrés celular. Están localizadas en el citoplasma donde se encuentran asociadas con muchas proteínas celulares importantes, tales como la pp60src y otras proteínas oncogénicas codificadas por retrovirus, receptores de hormonas esteroides en su forma no transformada (8S/8S), cinasas, actina y tubulina. Las HSP90 son proteínas ácidas fosforiladas en residuos de serina

que aunque no poseen actividad ATPasa se unen al ATP bajo condiciones cationicas y llevan a cabo su autofosforilación (13,27).

La primera proteína con la cual la HSP90 mostró tener una asociación específica fue la pp60src (proteína transformante del virus del sarcoma de Rous). Esta tirosina cinasa se asocia con HSP90 y a una fosfoproteína de 50kDa inmediatamente después de su síntesis. El complejo citosólico formado, favorece la fosforilación de la pp60src en residuos de serina y no en tirosina. Una vez en la membrana plasmática, la proteína pierde su asociación con la HSP90, es fosforilada en tirosina y es activada como cinasa (28-29). También se ha encontrado que otras proteínas transformantes con actividad tirosina cinasa (yes, fps, fes y fgr), forman complejos estables con HSP90 y con la proteína de 50kDa. Dicha asociación, hace suponer que HSP90 se une a cinasas manteniéndolas solubles e inactivas, mientras son transportadas y ubicadas en la célula ya que las cinasas en estos complejos son incapaces de autofosforilarse (13,30-31).

En contraste con las tirosina cinasas, el grupo de las HSP90 también puede asociarse a otras cinasas como la eIF2-alfa estimulando su actividad y por consiguiente, incrementando la fosforilación como

mecanismo de restauración de los niveles normales de proteínas después del choque térmico (13,31-32).

Otra asociación importante, es la interacción HSP90-receptor de hormonas esteroides. La asociación a dicho receptor, previene su interacción con el ADN nuclear hasta que la hormona esteroide se haya unido. En ausencia de HSP90, los receptores esteroides interactúan con el ADN independientemente de la presencia de hormonas esteroides. Se cree que la interacción HSP90-receptor puede ocurrir debido a la alta negatividad de los dominios amino-terminal de la HSP90, que podrían formar una hélice alfa de tal manera que la distribución de las cargas negativas semejara a los grupos fosfato del ADN y ocupar el receptor hasta que la hormona esteroideal fuese liberada. Se sugiere que de manera similar a las tirosina cinasas, las HSP90 mantienen el receptor inactivo hasta que sea recibida la señal adecuada para su activación (33-35).

En el caso de glucocorticoides, el receptor interactúa con el complejo HSP90-HSP56-59 kDa, con una proteína de 23 kDa y con HSP70. Se ha sugerido que el complejo heteromérico de proteínas HSP90-HSP56-HSP70-p23 puede estar presente en el citoplasma independientemente de la presencia de receptores esteroidales, los cuales interaccionarían con estos

complejos preexistentes. No se conoce la vía por la cual HSP90 interacciona con la HSP56 (37-39).

La síntesis de la HSP90 se incrementa dramática y transitoriamente en células T subsecuentemente a una estimulación por mitógenos. Dicho incremento sugiere un papel en la activación de linfocitos T (40).

La asociación de las HSP90 con tubulina y con filamentos de actina dependiente de calcio y regulada por la calmodulina, podría proveer un mecanismo de transporte de la HSP90 al núcleo celular durante el choque térmico (41).

Se ha reportado además, que existe otro miembro de esta familia con un peso molecular de 94kDa inducido por la exacerbación de glucosa y la anoxia intracelular. Dicha proteína se conoce como GRP94 (del Inglés glucose-regulated protein), y participa en la solubilización de proteínas no glicosiladas en el retículo endoplásmico (8,42). Las GRP o proteínas reguladas por los niveles de glucosa intracelular, no son inducidas normalmente por el choque térmico; pero sí cuando descienden los niveles intracelulares de glucosa u oxígeno. La deprivación de glucosa, provoca la inhibición de la N-glicosilación de las proteínas nacientes en el retículo endoplásmico. Tal inhibición ocasiona el hinchamiento del retículo y la acumulación de proteínas no glicosiladas como agregados insolubles (8,42)

La asociación de la HSP90 con las proteínas mencionadas, se ajusta a la función de chaperones moleculares que acompañan la síntesis o actividad de las moléculas constitutivas y biológicamente necesarias (11,13,15,43).

3. FAMILIA HSP 70-kDa

Esta familia de proteínas (homólogas a DnaK en Escherichia coli), consiste de por lo menos cuatro miembros estrechamente relacionados en su estructura y cuya principal característica es que hidrolizan el ATP con gran afinidad. El primer miembro corresponde a la HSPc70 o p72 que es una proteína de 73kDa expresada constitutivamente en el citoplasma y en el núcleo; el segundo miembro corresponde a la HSP70, una proteína de 72kDa que está presente en el citoplasma, núcleo y nucleolo y cuya forma virtualmente indistinguible de la HSPc70 es altamente inducible en situaciones de estrés; el tercer miembro corresponde a la GRP78, HSP80 o BiP, es una proteína de 78kDa, la cual es expresada constitutivamente en el retículo endoplásmico; el cuarto miembro corresponde a la GRP75, que es una proteína de 75kDa identificada recientemente en la mitocondria (44-45). Los genes que codifican para la HSP70 están localizados en los cromosomas humanos 6, 14 y 21 (13,46).

En condiciones basales, HSP70 y HSPc70 se localizan en el citoplasma y durante el choque térmico se translocan a las membranas celulares y al núcleo donde se unen a ribosomas parcialmente ensamblados, para concentrarse nuevamente en el citoplasma después del choque térmico. Este mecanismo es particularmente importante en la termotolerancia traduccional confiriéndole a la célula protección a traumas ambientales (13,47-48).

La HSPc70, participa también en el desensamble de la clatrina que recubre las vesículas durante el transporte intracelular mediado por receptor. Dicho mecanismo ocurre como consecuencia de cambios conformacionales inducidos por el flujo de iones (Ca^{++} y/o K^{+}) del lumen de las vesículas al citoplasma, lo cual favorece la interacción de regiones específicas de las cadenas ligeras de clatrina con la HSPc70 y estimula la actividad ATPásica de la misma con la consecuente hidrólisis del ATP y el inicio de la reacción de desensamble (18,49-51). Este modelo, puede ser aplicado a otras vías de transporte intracelular mediado por clatrina, tales como el transporte de enzimas lisosomales desde el aparato de Golgi a los lisosomas y el transporte de hormonas desde el aparato de Golgi a los gránulos de secreción (51-53).

Las células transfectadas con el gen que codifica para p53, un oncogen celular, y un oncogen activado ras, son transformadas. En tales células, el oncogen p53 es más abundante y estable que en las células normales y está asociado a la HSP70 y a la HSPc70. Las mutaciones que afectan el gen que codifica para la p53, activándolo en su forma transformante, también resultan en la síntesis de proteínas mutantes asociadas a HSPc70 que muestran un incremento de la vida media. Se ha postulado que el oncogen p53, es estabilizado por las interacciones con la HSPc70. El complejo p53-HSPc70 puede ser disociado *in vitro* con ATP (54).

En *E. coli*, la síntesis del factor de transcripción sigma-70 es inducida por el choque térmico. Dicho factor es una HSP70 que se asocia al núcleo de la ARN-polimerasa, confiriéndole la habilidad de unirse a promotores normales de la célula e iniciar la síntesis del ARN. Se ha sugerido, que el factor sigma-70 (HSP-70) es requerido tanto para "apagar" la transcripción de promotores de choque térmico, así como para restablecer la transcripción de promotores normales de la célula en respuesta al choque térmico (10).

La captación de proteínas anormales e insolubles en el retículo endoplásmico es efectuada por las GRP78, las cuales solubilizan dichos agregados de la misma manera que la HSP70 actúa sobre proteínas nucleares

desnaturalizadas. La abundancia de la GRP78 en las células, sugiere que estas proteínas participan también en el ensamble normal de proteínas de secreción. Esta idea es apoyada por el hallazgo de que GRP78 es idéntica a la proteína BiP o proteína "unidora" de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, localizada en el retículo endoplásmico. Dicha proteína se une a las formas monoméricas de las cadenas pesadas (H) de la IgG, y favorece el ensamble de las mismas con las cadenas ligeras (L), para formar la estructura madura (H2L2) en los linfocitos pre-B (13,42,55).

En base al modelo original de Lewis y Pelham en 1985 (9), los miembros de esta familia, en su función como desdobladoras, podrían tener una acción "detergente" para prevenir la agregación de proteínas recién sintetizadas antes de que ocurra el doblamiento apropiado de las mismas, alterar la estructura cuaternaria de las proteínas, o bien, facilitar el transporte y la translocación celular de péptidos nacientes a través del retículo endoplásmico y la mitocondria (21). Pelham y Lewis, sugieren que las HSP70 se unen con avidéz a superficies hidrofóbicas de proteínas anómalas, facilitando el rompimiento de interacciones hidrofóbicas inapropiadas y posteriormente, al hidrolizarse el ATP, tiene lugar la separación del complejo HSP-proteína. De esta manera, las HSP70 también podrían, en última instancia,

restaurar la conformación nativa de proteínas ligeramente anómalas; así como contribuir a la proteólisis de proteínas muy alteradas después del choque térmico, previniendo su agregación y la consecuente intoxicación celular o facilitando el doblamiento de las proteínas en proceso de síntesis. Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que los segmentos expuestos de la proteína alterada por el estrés también pueden ser hidrofílicos y que las HSP70 interactúan también con secuencias polares de la cadena proteica (43,56).

La función de chaperon de HSP70 es de particular interés en Inmunología, ya que es posible que miembro(s) de esta familia tengan una función análoga en el procesamiento y la reexpresión de péptidos antigénicos en la superficie de las células presentadoras de antígenos en asociación con moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad. Investigaciones recientes han demostrado un incremento del ARNm de HSP70 y cuando células T-dependientes de interleucina-2 (IL-2) son tratadas con dicha interleucina; además, dos genes que codifican las HSP70, fueron mapeados en la región III del complejo mayor de histocompatibilidad. Todos estos hallazgos podrían apoyar la participación de las HSP70 en la presentación de antígenos (46,57-60).

Publicaciones recientes sugieren que la GRP75 interactúa con la HSP58 y facilita el plegamiento y ensamble de proteínas en la mitocondria (44,61).

Por lo tanto, las HSP70 como chaperones moleculares, participan en varios procesos celulares importantes como replicación del ADN y síntesis del ARN (en *E. coli*), transporte de péptidos a través de membranas (figura 2) y su unión con receptores del retículo endoplásmico y desensamble de clatrina. Todas estas funciones, involucran la disrupción inter o intramolecular de las interacciones proteína-proteína (13,43).

4. FAMILIA HSP 60-kDa

Pertenecen a esta familia la HSP58.6 homóloga a GroE1 en *E. coli* y la HSP56 recientemente clasificada como HSP (39). En las células humanas, la HSP58.6 está localizada dentro de las mitocondrias. Tanto en pacientes como en individuos sanos se han identificado células T con especificidad para HSP65, y homólogos de esta proteína han sido encontrados en varios microorganismos como Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium leprae y Mycobacterium bovis que comparten entre sí determinantes antigénicos (epitopes) reconocidos como inmunodominantes; es decir, que evocan respuestas inmunes frecuentes en todos los individuos (17,62,63). Bajo condiciones de

Figura 2. Familia HSP70 como chaperones moleculares

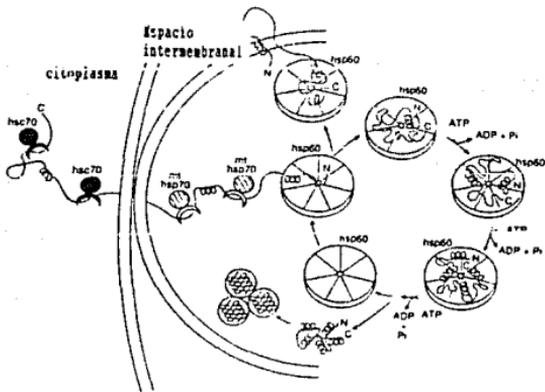
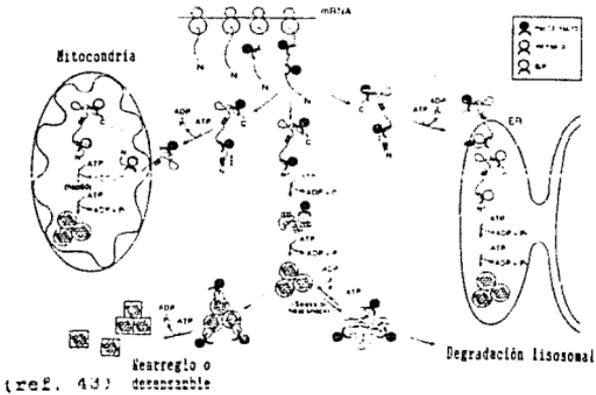


Figura 3. Familia HSP70 y HSP60 como chaperones moleculares

(ref. 43)

estrés, la molécula es procesada y presentada en asociación con moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad. Además, se ha reportado que esta proteína estimula la producción de una fracción grande de células T con receptores gamma-delta de humanos y murinos. Se sugiere que esta molécula podría servir como blanco para la respuesta inmune protectora y autorreactiva (64-65). Se le ha asignado el nombre de chaperonina molecular por su participación en el plegamiento y ensamble correcto de polipéptidos después de su translocación en la mitocondria (figura 3), probablemente para exportarlos a la superficie celular (43-44,66-67).

La HSP66, antes conocida como p56, está presente en el citoplasma formando complejos heteroméricos con otras proteínas de choque térmico (HSP90 y HSP70). Los receptores esteroidales de glucocorticoides interaccionan con estos complejos y permanecen inactivos hasta que sea recibida la señal hormonal (38,39). Se cree que al igual que la HSP90, ésta proteína ejerce además otras funciones vitales dentro de la célula (39).

5. FAMILIA HSP 20-kDa (sHSP)

Esta familia de proteínas tiene un peso molecular entre 10 y 46 kDa (GroE en E. coli). Hasta el presente, se han reportado cinco: Histona-2B (H2B)

encontrada recientemente como autoantígeno en lupus eritematoso sistémico y enfermedades relacionadas (45,68-69); ubiquitina encontrada en fibroblastos de pollo, la cual promueve la organización de los cromosomas a través de interacciones con las histonas nucleosomales H2A y H2E, y participa en la degradación proteolítica de proteínas celulares inestables, de manera dependiente de ATP (70); HSP de bajo peso molecular o 28kDa, la cual consiste de cuatro isoformas, tres de las cuales son proteínas fosforiladas en residuos de serina. Estas proteínas, poseen diversas propiedades incluyendo la capacidad de formar grandes agregados moleculares y la fosforilación rápida de proteínas en las células expuestas a mitógenos y a factores de crecimiento (13,71-72). Estas proteínas forman estructuras poliméricas denominadas "gránulos de choque térmico", que están implicados en la proteólisis celular. Dichos gránulos contienen ARN, que mantiene inactivo al ARNm a nivel postraducciona. Su síntesis se induce en estados de diferenciación en el desarrollo bajo temperaturas normales del organismo; quizá porque promueven la termotolerancia o porque ayudan a regular la diferenciación orgánica (13,71-74). Otra proteína perteneciente a esta familia es la proteína de 22kDa, inducida en algunas células expuestas a la luz ultravioleta, a varios promotores de tumores y

carcinógenos químicos, a metales pesados y a peróxido de hidrogeno; pero no a la hipertermia. Recientemente se ha encontrado que esta proteína es una hemo-oxigenasa, cuya función es convertir el grupo hemo a biliverdina, participa en los mecanismos de defensa contra reacciones oxidativas catalizadas por el hierro y por otros metales pesados. Otra enzima de aproximadamente 32 kDa con características de proteína de estrés es la superóxido dismutasa, la cual cataliza la reacción de superóxido a peróxido de hidrógeno y oxígeno. Esta enzima puede desempeñar la función de protección celular contra el daño oxidativo y es inducida tanto por la hipertermia como por la reoxigenación de los tejidos después de hipoxia. A este tipo de proteínas se les ha acuñado el nombre de proteínas reguladas por los niveles de oxígeno u ORPs o HAPs (del inglés oxygen-regulated proteins o hypoxia-associated proteins respectivamente) (77-78). La inducción de estas proteínas durante la hipoxia aguda y la síntesis continuada durante la hipoxia crónica, sugiere que las HAPs juegan un papel importante en la integridad del endotelio celular en aquellas condiciones donde desciende el oxígeno ambiental (74,77). Por último, la proteína de 47KDa (HSP47) glicoproteína de membrana con características de GRP por su semejanza con la GRP78 y con características de HSP, ya que su síntesis se

incrementa con el choque térmico. En el retículo endoplásmico, la proteína se une a la colágena desnaturalizada y participa en su síntesis (74,79).

6. FAMILIA 8.5-kDa

Las ubiquitinas, constituyen una familia de proteínas inducibles por el calor y constan de aproximadamente 76 aminoácidos (13,17,70). Estas proteínas, están conservadas en todos los eucariotes y se ha observado que la sobrecarga o inactivación del sistema de ubiquitina induce la síntesis de otras HSP lo que sugiere que la señal común de inducción de la respuesta de choque térmico es la desnaturalización proteica. Por tal motivo, se ha pensado que esta familia de proteínas es necesaria para la degradación de proteínas anormales durante el estrés celular o después del choque térmico (13,80-81). En la respuesta inmune, se ha demostrado que las ubiquitinas son elementos integrales del receptor de linfocitos (identificado con el anticuerpo monoclonal MEL-14) involucrado en la interacción de dichas células con el endotelio (82).

En la tabla 1 se resumen las características de estas familias de proteínas:

Tabla 1

FAMILIAS DE LAS PROTEINAS DE CHEQUE TERMICO

<u>Familia</u>	<u>Carácter</u> <u>Localización</u>	<u>Humano</u>	<u>Función</u>
110-kDa	constitutiva -núcleo-	?	Protección nucleolar
90-kDa	inducible -citoplasma-	HSP90	Inactivación y activación de cinasas. Activación de linfocitos T. Interacción con receptores esteroidales.
	inducible -retículo endoplásmico-	GRP94	Solubilización de agregados proteicos no glicosilados. Ensamble y desensamble de complejos pro- teicos.
70-kDa	constitutiva -citoplasma y núcleo-	HSPc70	ATPasa liberadora de clatrina Termotolerancia traduccional. Reparación de prerribosomas.
	inducible -citoplasma, núcleo y nucióolo-	HSP70	Ensamble correc- to y restaura- ción de proteín- as nacientes afectadas por estrés celular. Proteólisis y solubilización de proteínas desnaturalizadas o anómalas. Presentación de antígenos ?.

<u>Familia</u>	<u>Carácter</u> <u>Localización</u>	<u>Humano</u>	<u>Función</u>
	constitutiva -retículo -endoplásmico-	GRP78 (BIP)	Ensamblaje de proteínas. Solubilización de proteínas no glicosiladas y proteólisis de proteínas anor- males.
	constitutiva -mitocondria-	GRP75	Solubilización de proteínas no glicosiladas. Ensamble de proteínas.
60-kDa	inducible -mitocondria-	HSP58.6	Plegamiento y ensamble de pro- teínas. Presentación de antígenos T. Inmunógenos.
	-citoplasma-	HSP56	Interacción con receptores esteroidales.
20-kDa	inducibles -citoplasma-	sHSP	Degradación de proteínas desna- turalizadas. Termotolerancia.
	-citoplasma-	ORP33	Integridad del endotelio celu- lar.
	-retículo endoplásmico-	HSP47	Síntesis de la colágena.
8.5 kDa	inducible -citoplasma-	ubiquitinas	Degradación de proteínas desna- turalizadas. Termotolerancia. Interacción de linfocitos con el endotelio.

BIOLOGIA MOLECULAR DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS

El término "estrés" fue originalmente descrito por Hans Selye (83) para describir la respuesta estereotipada e inespecífica de macroorganismos a una amplia variedad de estímulos externos y se ha aplicado el mismo término a la reacción uniforme de la célula a varios insultos, tales como lesión oxidativa, etanol, infecciones bacteriales y virales, metales pesados, radicales de oxígeno libre, inhibidores del metabolismo energético, hipotermia, cambios de pH, reperfusión después de isquemia, lesión e inflamación (82,83).

La respuesta al estrés es una reprogramación inmediata, compleja y transitoria de las actividades celulares (84).

El mecanismo por el cual el estrés es "registrado" por la célula y las vías involucradas en la transducción de esta señal para la alteración y activación de factores transcripcionales, no está aún muy esclarecido. Se ha propuesto que la acumulación de proteínas anormales, juega un papel importante en la estimulación de la respuesta al estrés (10,13,84). Este modelo es particularmente atractivo en vista del papel funcional de las HSP en el desdoblamiento de péptidos dentro de la célula. Los polipéptidos anormales pueden ser generados por alteración de la actividad ribosomal o "error

ribosomal" bajo condiciones de estrés (25-26). Otros autores, sugieren que la disrupción del balance en la oxidación-reducción y el transporte de electrones en la mitocondria pueden ser el primer blanco de muchos agentes involucrados en la respuesta al estrés. Se cree que tales inductores, poseen la propiedad de forzar la cadena de transporte electrónico en un estado oxidativo; lo cual trae como consecuencia la inducción de genes de choque térmico a través de proteínas que controlan la transcripción de estos genes (10).

En E. coli, la respuesta al choque térmico es regulada a nivel transcripcional por la concentración del factor sigma-32; este factor se une al núcleo de la ARN-polimerasa para que reconozca promotores de genes de choque térmico (85-87). En eucariotes, la regulación transcripcional, también juega un papel importante en la coordinación de la respuesta al estrés (84,88). La correspondiente proteína reguladora del elemento promotor de choque térmico (HSE) equivale al factor de transcripción de choque térmico (HSF). Dicho factor preexiste en concentraciones suficientes en la célula; pero se encuentra en el citoplasma en forma inactiva como monómero. En respuesta al choque térmico, el factor es activado rápidamente a través de fosforilaciones y modificaciones postraduccionales formando un trímero compuesto por tres unidades exactamente iguales (homotrímero) (84).

El aislamiento de los diferentes genes de choque térmico en Drosophila, ha hecho posible la búsqueda del elemento promotor de choque térmico (HSE) y en 1982 Pelham logró definir una secuencia de 14 nucleótidos común para la mayoría de los genes estudiados:

5'- CTAGAA_n nTTCTAG -3'

3'- GATCTT_n nAAGATC -5'

n: cualquier nucleótido.

Un oligonucleótido sintético con esta característica, que se adicione a cualquier gen provoca su inducción frente al choque térmico (84). Este HSE está presente en todos los organismos procariones y eucariones y un análisis detallado de su estructura muestra que: (i) se trata de un palíndromo, es decir, la lectura de las secuencias en ambas direcciones es idéntica (en las hebras complementarias); (ii) está formado de purinas (-AGAA-) y pirimidinas (-TTCT-); (iii) la secuencia en ambos extremos es idéntica (-CTAG-); (iv) cada 10 pares de bases, se repiten secuencias idénticas del elemento de choque térmico en la misma hélice del DNA; así, uno podría agregar -AATTC- al extremo 3' y obtendría un dímero o un multímero que se superpone (10,84). En todos los genes de choque térmico estudiados hasta el presente, se ha visto que guardan en común la secuencia regulatoria de nucleótidos 5'-GAA-3' o 5'-TTC-3' a la cual se unen factores de choque térmico activados por el estrés (figura 4)

MODELO DE UN ELEMENTO PROMOTOR DE CHOQUE
 TERMICO UNIDO A HOMOTRIMEROS DEL FACTOR DE
 TRANSCRIPCION (HTF)

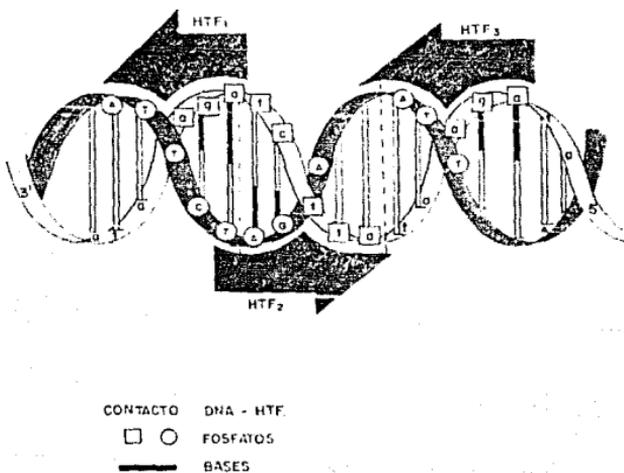


Figura 4.

Mientras, el mensaje es traducido eficientemente, los ARNm preexistentes son reprimidos a nivel traduccional y al mismo tiempo los ARNm de la HSP70, los cuales son extremadamente inestables a temperaturas normales, son estabilizados por el choque térmico (10,88-89).

La característica fundamental de los diversos agentes que inducen la respuesta al estrés, estriba en su capacidad para promover la síntesis rápida de las proteínas de choque térmico. Por otra parte, la represión de la síntesis de sus ARNm como un fenómeno autoregulatorio, compensa el desbalance metabólico como consecuencia de estrés celular, en cuyo caso cesan las condiciones favorables para la inducción de sus genes (89). La represión de proteínas normales, en respuesta al estrés, implica una interacción entre un inductor externo y algunos puntos claves en la maquinaria metabólica de la célula; lo que permite la producción de señales que interactúan con el genoma para iniciar y reprimir la síntesis de ARNs específicos. La respuesta tiene como resultado la traducción efectiva y eficiente de un pequeño número de polipéptidos específicos en diferentes organelas celulares cuya función está relacionada con la supervivencia celular ante el estrés. Una vez que el estímulo ha pasado, la célula recupera su síntesis normal de proteínas y los genes de choque térmico se reprimen (10,13,71,84).

En resumen, podría decirse, que la respuesta al estrés ocurre básicamente en tres etapas: la primera es presumiblemente la interacción entre el inductor externo y algunos puntos de la maquinaria metabólica de la célula; la segunda sería la producción de señales que interactúan con el genoma para iniciar o reprimir la síntesis de ARNs específicos; y la tercera tendría por efecto la traducción de un pequeño número de polipéptidos que tenderían a corregir los defectos del metabolismo celular ocasionados por el estímulo inicial (10,84,90).

Los cambios reversibles que ocurren en la estructura y función de las células como consecuencia del choque térmico se han caracterizado en detalle (84,90):

1. Expresión génica:

- Cambio de programación en la transcripción a favor de los genes de choque térmico.
- Interrupción del procesamiento de los RNA que poseen intrones.
- Disgregación transitoria de polisomas y cambios en la síntesis de proteínas como consecuencia de la traducción prioritaria del hs-ARNm.
- Paro de la síntesis de ribosomas como resultado de la interrupción del procesamiento de prerribosomas en el nucléolo.

2. División celular:

- Trastorno en la síntesis del ADN e incremento de daños en el mismo por deficiencia del mecanismo de reparación.
- Los defectos en la formación del aparato microtubular conllevan a la producción de células poliploides y su consecuente muerte por proliferación bajo condiciones de estrés.
- Bloqueo o retraso del ciclo celular dependiendo de la intensidad del estrés celular (84).

3. Ultraestructura y función:

- Agregación de proteínas de la membrana plasmática y eventual estrangulación de vesículas membranales; lo cual trae como consecuencia trastornos en la transmisión de señales y otras funciones membranales.
- Colapso de los filamentos del citoesqueleto (tubulina, microfilamentos y filamentos intermedarios) y por consiguiente cambios en la microcompartimentalización, edema celular, redistribución de mitocondrias, y alteraciones profundas en las vías metabólicas por cambios en el contacto con los sustratos y movilización de calcio intracelular (84,30,31).
- Agregación de proteínas en el núcleo (no histonas) como proteínas oncogénicas y formación de gránulos cromatinicos (84). Recientes investigaciones sobre el efecto del choque térmico en la expresión de proto-

oncogenes nucleares, en células linfoides humanas, han demostrado que las señales de estrés inducen la expresión del proto-oncogen c-fos y del gen que codifica para la HSP70, indicando que existe una regulación coordinada en respuesta a señales de estrés (82).

- Deformación del nucléolo por acumulación de partículas prerribosomales y sus productos de degradación.
- Colapso del retículo endoplásmico y fragmentación del aparato de Golgi en tejidos con síntesis alta de proteínas de secreción y por lo tanto, bloqueo de sus síntesis.
- Formación de gránulos de choque térmico para protección del ARNm de proteínas normales (84).

IMPORTANCIA BIOLÓGICA

La respuesta universal al estrés, la abundancia de las HSP en la biosfera, la conservación en la estructura y la secuencia de los aminoácidos de las HSP durante la evolución y la similitud e identidad de las mismas en especies tan diversas como bacterias, plantas, insectos y mamíferos traen como consecuencia aspectos importantes, entre en los cuales están algunos relacionados con la interacción huésped-parásito: las HSP son usadas por el huésped y el parásito para protegerse a sí mismos de los efectos destructivos que se originan durante su relación; las HSP son antígenos dominantes de muchos patógenos; las regiones de las HSP que muestran homología entre sí pueden inducir respuestas autoinmunes por asociaciones peligrosas entre las HSP del agente infectante y las proteínas del huésped (83):

Una vez dentro del huésped, los gérmenes patógenos quedan expuestos a varios mecanismos de defensa por parte del huésped, muchos de los cuales semejan los estímulos que inducen la respuesta al estrés. Como consecuencia de ello, los gérmenes patógenos producen una gran cantidad de HSP con el fin de protegerse a sí mismos de la toxicidad y lesión oxidativa. Dicha producción de HSP puede ser considerada como un factor de virulencia común. Por ejemplo, en respuesta a

concentraciones subletales de H₂O₂. Salmonella typhimurium produce una variedad de HSP, muchas de las cuales incluyen superfamilias. Los organismos pre-tratados son más resistentes a concentraciones letales de H₂O₂ y al choque térmico que los organismos no tratados y que las mutantes de Salmonella typhimurium con genes de choque térmico defectuosos, las cuales son más rápidamente destruidas por macrófagos activados in vitro que sus contrapartes normales (93-94). Recientemente se ha reportado, que el componente bacterial responsable de la interacción de S. typhimurium con la mucosa intestinal es la HSP66 expresada no solamente en la superficie de la célula; sino también liberada al medio extracelular. Por tal motivo, se considera la HSP66 como molécula de adhesión que media la salmonelosis (95). Por otra parte, se ha reportado que la HSP65 en Neisseria gonorrhoeae, también está implicada en la interacción de dicha bacteria con las mucosas. Dicha interacción correlaciona con la severidad de ambas enfermedades. Este fenómeno ha sido denominado "Fenómeno de adhesión" (96)

Por otra parte, muchas células del huésped y en particular los fagocitos mononucleares, tienen que protegerse de las influencias destructivas de los parásitos intracelulares y de sus propios mecanismos de defensa. La producción de HSP por parte de macrófagos y linfocitos es inducida por muchos activadores

fisiológicos, por diferentes linfocinas (38) y por la 1,25-dihidroxitamina D3 -un importante activador de macrófagos que incrementa la producción de HSP, de peróxido de hidrógeno (H2O2) y de IL-1 en estas células y protege además la síntesis normal de proteínas por mecanismos transcripcionales y postranscripcionales- (37). En efecto, la fagocitosis de partículas extrañas por sí misma induce instantáneamente la síntesis de HSP; de tal manera que en el foco de la infección y de la inflamación se producen grandes cantidades de HSP no solamente por los agentes infecciosos, sino también por el huésped (38). En humanos, la síntesis de HSP por exposición a H2O2 ocurre solamente en fagocitos. Estas células generan radicales de oxígeno libre en el medio extracelular en respuesta a fagocitosis mediada por receptor o a la activación de la proteína cinasa C (99-100). La síntesis de HSP en la inflamación, le confiere a los fagocitos resistencia al daño oxidativo por medio de un mecanismo antioxidante que inhibe en dichas células la generación de aniones superóxido. En otras palabras, la interferencia de las HSP con los radicales de oxígeno libre y la toxicidad, puede representar un mecanismo usado por el patógeno para protegerse así mismo; pero al mismo tiempo, las HSP protegen las células del huésped de la lesión oxidativa y participan en la eliminación del patógeno del organismo (83,98,100).

En parásitos protozoarios, bacterias y hongos la producción de HSP provoca una respuesta humoral y/o celular, por parte de células B y T, no solamente con TcR alfa-beta; sino también gama-delta (83,101-102). La respuesta es dirigida contra epitopes homólogos comunes entre la diferentes especies y contra epitopes específicos de especie. En el primer caso, la reacción da lugar a una respuesta inmune cruzada que no está confinada a la inmunización contra el agente causal de la enfermedad. Este tipo de reacción inmune cruzada, puede considerarse como la primera línea de defensa del huésped antes de la activación de la inmunidad específica. Tal reacción, es de poco valor diagnóstico. En el segundo caso, la respuesta va dirigida hacia epitopes específicos dominantes. Dicha respuesta inmune especie-específica puede ser de más valor diagnóstico y quizá podría servir como herramienta para el desarrollo de vacunas (83).

Las regiones homólogas de las HSP entre parásitos y huésped, pueden tener como resultado una falta de reconocimiento hacia antígenos de patógenos por parte del huésped; es decir, el sistema inmune no diferenciaría entre lo propio y el microbio mimetizado. Este "mimetismo molecular" (83,103) podría ser usado por el patógeno para "abusar" del huésped; más aún, la respuesta inmune del huésped contra un determinante antigénico específico de un agente infeccioso podría

cruzar con la secuencia del huésped y causar autoinmunidad (83,103-105). De hecho, en ciertas enfermedades autoinmunes se han reportado niveles incrementados de anticuerpos dirigidos contra las HSP (86,103-108). Estudios con péptidos sintéticos de HSP60 demostraron que el repertorio de las células T de individuos normales comprende clones específicos para epítopes homólogos a las HSP micobacterial y humana (62,65).

El hecho de que patógenos y huésped utilicen mecanismos similares para protegerse uno del otro, puede anticipar que el resultado ante un reto repetitivo con un antígeno esencialmente idéntico sería de tolerancia en vez de aumento de su inmunogenicidad (17,83). Por ejemplo, la estrategia de la presentación de la HSP70 por parásitos parece crucial para esquivar la respuesta de anticuerpos dirigida contra las regiones conservadas de la molécula y establecer un estado de tolerancia como sucede en individuos que han padecido infecciones repetidas de malaria (109). Sin embargo, los mecanismos inmunológicos que permiten la resistencia a las enfermedades autoinmunes, involucran inmunidad hacia la HSP65 y parecen no estar asociados con tolerancia o no respuesta a dicha proteína. Por otra parte, la exposición diferencial de las HSP en respuesta a señales ambientales puede llevar a la acumulación local de las HSP propias, de tal forma que se rompa la tolerancia.

La conservación y homología de secuencias plantea también la hipótesis de que el sistema inmune ha adoptado ciertas HSP para sus propios fines. Así, los miembros de la familia de proteínas del estrés HSP70 y HSP90 juegan un papel importante como blancos para la respuesta inmune humoral y celular en muchas infecciones parasitarias; mientras en aquellas infecciones donde los agentes etiológicos son bacterias, la respuesta va dirigida hacia los miembros de la familia HSP60.

Los factores que posiblemente pueden contribuir incluyen: una inducción de su síntesis durante la fagocitosis o bien un fenómeno de diferenciación parasitaria asociado con el proceso de infección, o un acceso preferencial de las HSP a compartimentalizarse durante el procesamiento antigénico como resultado de su capacidad para interactuar con otros polipéptidos dentro de la célula (17,109).

Por tanto, las HSP juegan un papel complejo en las interacciones huésped-parásito. Es obvio, que el resultado de esta interacción depende del tipo de parasitismo, esto es, si es intracelular o extracelular y, si es intracelular, del tipo de célula infectada.

La respuesta al choque térmico puede contribuir al entendimiento de los aspectos moleculares y genéticos, y de la interacción de ciertos microorganismos con el huésped (63,109). En muchos gérmenes patógenos ha sido demostrado que algunas proteínas que juegan un papel

clave en la interacción huésped-parásito son co-reguladas a nivel transcripcional en respuesta a señales ambientales durante el proceso infeccioso (83,110-114). Es probable que las mismas consideraciones puedan aplicarse a otros microorganismos como el bacilo tuberculoso. Se ha sugerido que el choque térmico, representa un "laboratorio modelo" para el estudio de la regulación transcripcional coordinada en Mycobacterium tuberculosis (110).

Como chaperones moleculares las HSP juegan un papel importante en la síntesis de proteínas en general. La estructura terciaria y cuaternaria de una proteína no es dictada únicamente por su secuencia de aminoácidos, como lo estableció Anfinsen hace veinte años (115); es decir, que este proceso era uno de los pocos eventos en la célula que no eran catalizados por enzimas. En realidad, muchas proteínas poseen en sus secuencias una serie de señales de doblamiento dictadas por un patrón de interacciones con la maquinaria celular (chaperones moleculares e isomerasas) como requisito para su doblamiento (definido como la adquisición de la estructura terciaria) y ensamble (definido como la formación de oligómeros) (43,56). Como consecuencia, las HSP como chaperones moleculares participan de manera importante en numerosos procesos fisiológicos. Muchas proteínas son translocadas entre los compartimientos intracelulares en forma desdoblada y, una vez dentro de

la organela, miembros de estas mismas familias facilitan el doblamiento correcto de la proteína y, si es necesario, su posterior ensamble en complejos oligoméricos (21,44,56,116). Por ejemplo, la HSP60 es necesaria para el doblamiento y ensamble de la dihidrofolato reductasa (enzima importante en la biosíntesis de los desoxirribo-nucleótidos después de su translocación en la mitocondria), el ensamble de la subunidad beta de la ATPasa, el procesamiento de la citocromo b2 y su propio ensamble (43,67,116-117). Otras funciones importantes de las HSP como chaperones moleculares y su participación en procesos fisiológicos, han sido previamente descritas (pág.16-33).

En la respuesta inmune, las HSP70 podrían jugar un papel importante en el procesamiento y la presentación de antígenos por varias razones, entre las cuales estarían: su función como chaperones moleculares, la localización de los genes que codifican para las HSP70, adyacente a la región del cromosoma seis humano que contiene los genes para los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase III, así como también la participación de la proteína "unidora" de la cadena pesada (BiP) en células pre-B. (46,55,58-60). La función de chaperones moleculares de las HSP70 es de particular interés, ya que es posible que miembro (s) de esta familia tengan una función análoga en el procesamiento de péptidos antigénicos y en la

reexpresión de los mismos en la superficie de células presentadoras de antígenos (APC) en asociación con moléculas clase II y clase I del complejo mayor de histocompatibilidad.

En la presentación de antígenos unidos a las moléculas de clase I del MHC, se requiere la proteólisis del antígeno en el citoplasma, el transporte de los péptidos derivados a través del lumen del retículo endoplásmico y la unión de dichos péptidos a las moléculas de clase I recién sintetizadas. Los péptidos producidos en el citoplasma, podrían unirse a HSPc70 la cual actuaría como un acarreador de péptidos al retículo endoplásmico. Una vez que los péptidos han llegado al lumen del retículo endoplásmico es de esperarse que se unan a la proteína BiP, la cual pasaría los péptidos antigénicos a una molécula del MHC facilitando el ensamble. La combinación de los sitios de unión específicos de la HSPc70 y BiP actuaría como un sistema seleccionador determinando cuales péptidos serán presentados al complejo mayor de histocompatibilidad y cuales no. Este mecanismo de selección podría tener un efecto significativo en la regulación de la respuesta inmune (46,58-60). El procesamiento de antígenos exógenos presentados en el contexto de moléculas de clase II del MHC, puede ocurrir después que el antígeno ha entrado a la célula, por vía endocitosis o pinocitosis, en endosomas y/o lisosomas y

los péptidos inmunogénicos generados pueden unirse a moléculas de clase II recién sintetizadas o recicladas (58,118). Estas observaciones implican que antígenos endógenos también tienen acceso al compartimiento endosomal/lisosomal, gracias a la participación de las HSPc70 como chaperones moleculares, y que por lo tanto, pueden ser presentados en asociación con moléculas de clase II del MHC; de lo que se puede inferir que la fuente del antígeno (exógena o endógena) no limita la presentación del antígeno unido a moléculas de clase I o II, como inicialmente se había pensado (118-119).

La función especializada de fagocitos mononucleares como APC requiere una maquinaria en el proceso de translocación intracelular de lípidos de membrana, así como de proteínas del citoesqueleto y membranales acompañada de movimientos de retracción y propulsión del macrófago y de fagocitosis (120). Las HSP también pueden ser importantes en la biología del macrófago por muchas razones: (i) en el proceso de presentación de antígenos, están involucradas en una serie de reacciones intracelulares complejas de translocación. Por ejemplo, las HSP son presentadas en asociación con moléculas de clase II del MHC, por el macrófago, como parte de una reacción inmune ó potencialmente autoinmune; (ii) en la actividad fagocítica del macrófago ya sea por inducción de HSP endógenas como sucede durante la eritrofagocitosis, ó la fagocitosis de bacterias infectantes como

respuesta a señales ambientales hostiles ; (iii) en la activación y diferenciación de macrófagos y de células mononucleares; y (iv) las investigaciones han demostrado que existen diferentes patrones en la expresión de genes de las familias HSP70, HSP90 y ubiquitina en el macrófago : durante el choque térmico hay un incremento marcado de HSP70 y HSP90; la expresión de BiP, GRP94 y ubiquitina se incrementa durante la privación de glucosa y durante el choque térmico y; la expresión de HSPc70 y HSP90 se aumenta durante la exposición de macrófagos a lipopolisacáridos (120).

A las HSP se les puede atribuir un papel relevante en el desarrollo de la respuesta inmunológica, lo cual puede explicar la inmunogenicidad de esta clase de antígenos y la existencia de linfocitos T autoreactivos que reconocen epitopes en las HSP. En la respuesta inmune, la función hacia las HSP es probablemente doble. Como primera medida provee la primera línea de defensa antes de que se establezca la inmunidad hacia antígenos específicos de patógenos (121) y como segundo la respuesta hacia epitopes propios de las HSP podría tener la función de eliminar células lesionadas o células autólogas transformadas como resultado de la expresión aumentada de epitopes de HSP propias en su superficie, ya que las células normales no generan una densidad tan alta de estos epitopes en su membrana externa (121-122). De acuerdo con estos estudios, es

factible suponer que las células T con receptores gamma-delta han evolucionado, originalmente, para eliminar células propias estresadas; es decir, las células que expresan las HSP propias, y que posteriormente, hayan diversificado sus funciones hasta llegar al reconocimiento de antígenos extraños (17,62-63,82).

Como ventaja filogenética, las HSP imprimen un carácter de supervivencia en todos los organismos. La respuesta al estrés provee a los organismos de un sistema universal de adaptación contra agresores ambientales, incluido el reconocimiento de antígenos exógenos o toxinas peptídicas (47-48,64,73). La termotolerancia, previene la inducción de anomalías morfológicas en los organismos vivos. Choques térmicos severos en etapas específicas del desarrollo, inducen en muchos organismos anomalías denominadas "fenocopias", las cuales aparecen como consecuencia del bloqueo en el ARN y por consiguiente de la expresión normal de genes en su secuencia (10,48,73). Tratamientos térmicos suaves, administrados antes del choque térmico severo previenen la inducción de dichas anomalías. Se ha sugerido que los transcritos de genes de choque térmico escapan a este bloqueo por carecer de intrones (10,47-48,69). El papel de las HSP, y en particular de las ubicuitinas y sHSP, en la proteólisis de péptidos anormales acumulados en la respuesta al choque térmico; hace pensar que dicha respuesta ha evolucionado como

medida para prevenir la acumulación citoplasmática de productos transcritos anormalmente, y con ello, limitar la síntesis de polipéptidos irrelevantes para el metabolismo celular (10,13,17,81,123).

IMPORTANCIA BIOMEDICA

El sistema inmune a menudo ejerce sus funciones bajo condiciones de estrés. La fiebre es un fenómeno general de las infecciones sistémicas agudas, que forma parte de la respuesta del huésped a infecciones, secundariamente a la estimulación en los centros termoreguladores y que tiene como resultado un aumento activo de la temperatura en el cuerpo por mecanismos fisiológicos y efectores funcionales (123). Los mediadores de la fiebre -los pirógenos endógenos- incluyen la IL-1, la IL-6, el TNF y los interferones. Muchas evidencias sugieren una relación estrecha entre estos mediadores inmunes y la respuesta al choque térmico: la IL-1 induce la producción de IL-2 y la proliferación de linfocitos; la IL-2 y algunos mitógenos como los ésteres de forbol incrementan los niveles de ARNm de HSP70 en linfocitos (40,98). Los interferones alfa y beta potencian la injuria térmica en células de mamíferos. Muchos efectos del factor de necrosis tumoral son mediados por los radicales de oxígeno libre; los cuales proveen un puente de unión entre la respuesta del huésped a la infección y la respuesta al choque térmico. La síntesis de las HSP durante la fiebre y la inflamación (inducida por el calor, los radicales de oxígeno libre o los mediadores inmunes) podría explicar en parte, el valor de

supervivencia de la fiebre (98,125). En la inflamación las HSP juegan un papel importante. La respuesta al choque térmico en las células inflamatorias parece estar regulada específicamente por sus propios productos proinflamatorios (radicales de oxígeno libre, citocinas, proteasas, factores quimiotácticos, etc.) generados durante funciones fisiológicas tales como fagocitosis, diferenciación celular, o en ciertos estados patológicos, donde las HSP podrían representar una clase original de proteínas intracelulares de fase aguda con actividad antioxidante. La relevancia clínica de las HSP en la inflamación crónica es apoyada por el crecimiento del órgano afectado y por la síntesis espontánea de estas moléculas como la HSP70 en condrocitos de pacientes con osteoartritis severa (98,126). Considerando que las quemaduras, las infecciones generalizadas y las respuestas alérgicas pueden representar modelos de activación inmunológica en individuos sometidos a estrés agudo y que la activación de linfocitos T, que depende de la regulación autocrina de interleucina 2, se acompaña de aumento en la síntesis de HSP, no es sorprendente que en varias enfermedades se hayan podido identificar HSP como antígenos inmunodominantes (17,98,125).

Se ha demostrado que las células T CD4 de pacientes con tuberculosis o lepra frecuentemente reconocen la HSP60 y que dicha proteína es un antígeno dominante de

Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis y Mycobacterium leprae. Más aún, se ha observado que células T de donadores sanos, con receptores alfa-beta y gamma-delta reaccionan específicamente con la HSP60.

La Tuberculosis es una infección crónica que afecta principalmente los pulmones. En muchos casos, la infección no se manifiesta como enfermedad clínica, quizás porque las bacterias estén confinadas a lesiones pequeñas y persistan con una actividad metabólica reducida por la respuesta inmune celular. Más tarde, sin embargo, particularmente después de la activación del sistema inmune, la bacteria puede reactivarse y causar la enfermedad clínica. Se ha estimado que aproximadamente del 30%-50% de la población mundial es infectado con M. tuberculosis; pero solo un pequeño porcentaje de este enorme número de personas llega a sufrir tuberculosis activa. Podría ser que una reacción cruzada de la HSP60 de linfocitos T contribuya a la protección parcial contra la enfermedad (62,121). Por otra parte, HSP60 también comparte regiones con otras bacterias y células T CD4 del huésped. Estas regiones, representan un blanco potencial para una respuesta inmune autoreactiva, ya que se ha encontrado que clones de células T que expresan el fenotipo CD4 reconocen péptidos sintéticos de regiones conservadas de HSP60 (62-64). Sin embargo, ya que tales células han sido encontradas también en individuos sanos, podría

concluirse que bajo condiciones normales, estas células no son peligrosas; pero durante la infección, podrían activarse de manera aberrante y contribuir a la patogénesis de la enfermedad (121). Por otra parte, podría predecirse que si algunas HSP del M. tuberculosis, con alto poder inmunogénico, son inducidas durante la infección como un requerimiento para la supervivencia de la bacteria in vivo, lógicamente durante la inmunización experimental con bacilos atenuados o muertos no podrán ser inducidas y por tanto no darán lugar a una buena respuesta inmune (110).

La Lepra es una infección granulomatosa crónica del humano que ataca los tejidos superficiales, especialmente la piel y los nervios periféricos (127). El cuadro clínico característico de la enfermedad tiene una forma polar. Mientras en la lepra tuberculoide se encuentran solamente pocos bacilos confinados principalmente en las lesiones de la piel; en la lepra lepromatosa múltiples bacilos están localizados en lesiones difusas de todo el cuerpo. La respuesta de las células T hacia los antígenos de M. leprae es más fuerte en la lepra tuberculoide que en la lepromatosa. En este último caso, la respuesta es baja o ausente; lo cual correlaciona con la gravedad de la enfermedad lepromatosa. Las investigaciones han reportado que las células infectadas por el bacilo (células de Schwann, de importancia única para la integridad funcional del

sistema nervioso periférico), reaccionan fuertemente con anticuerpos anti-HSP60 y son resistentes a citotoxicidad mediada por anticuerpos. El mecanismo de resistencia a la lisis no ha sido totalmente esclarecido; pero teniendo presente que bacilos viables son capaces de evadir compartimientos endosomales y entrar al citoplasma, las proteínas bacteriales podrían ser captadas por la HSP70 y llevadas a la superficie de la célula. Así parece entonces, que en esta enfermedad, los mecanismos inmunológicos son los responsables de la destrucción de las células de Schwann y no el propio bacilo. El incremento de la síntesis de HSP en respuesta a la infección por M. leprae protege este tipo de célula altamente susceptible y, de este modo, previene, o al menos disminuye la inmunopatogénesis de la enfermedad; ya que la destrucción de dichas células representa el mecanismo más patogénico de la lepra tuberculoide. Sin embargo, en esta etapa de la enfermedad solamente se encuentran pocos organismos; lo cual hace suponer que las células de Schwann expresan su propia HSP60 unidas a moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad y son reconocidas por las células T causando la inmunopatogénesis. Estas observaciones pueden ser de relevancia para el entendimiento de los mecanismos que conllevan a la destrucción de los nervios en el leproso (121,125-127).

En el Tracoma la HSP60 es el antígeno patogénico de las infecciones del tracto ocular y urogenital. La enfermedad es causada por Chlamydia trachomatis patógeno intracelular obligado; el cual entra al organismo en forma de cuerpos elementales metabólicamente inactivos y una vez dentro de la célula, la bacteria es transformada en su forma vegetativa o cuerpos reticulados. Dichos cuerpos se replican dentro de vacuolas y posteriormente se diferencian en cuerpos elementales, los cuales son liberados subsecuentemente de la célula huésped. Las infecciones genitales agudas causadas por C. trachomatis se caracterizan por uretritis y cervicitis y la infección crónica puede causar infertilidad. La infección primaria de los ojos se caracteriza por conjuntivitis, la cual usualmente se resuelve sin mayores consecuencias; pero la inflamación crónica conduce al tracoma con ceguera. La infección experimental en animales con C. psittaci (patógeno de mamíferos inferiores) ha dado evidencias de que la patogénesis del tracoma es debida a una reacción de hipersensibilidad de tipo retardada contra HSP60 y en particular, contra un epítoto que comparten ambos gérmenes. Hasta el presente no está claro si el epítoto causante de la enfermedad es compartido por las HSP60 de mamíferos y, de ser así, la patogénesis de la enfermedad representaría una verdadera respuesta autoinmune; pero

lo más probable, es que la respuesta inmune esté dirigida contra el género *Chlamydia* (121).

El cólera, enfermedad causada por el *Vibrio cholerae*, es caracterizada por diarrea y deshidratación intensa. La virulencia de este microorganismo depende de la producción de enterotoxina y de la habilidad de adherirse y colonizar el intestino delgado del huésped. La enterotoxina es laolil al calor y está compuesta por una subunidad A y cinco subunidades B que son codificadas por el operón *ctxAB*; cuya expresión está bajo control del activador transcripcional codificado por el gen *toxR*. Dicho gen juega un papel central en la regulación coordinada de las propiedades virulentas del *V. cholerae* (112). Recientes investigaciones han demostrado que la elevación de la temperatura a 37°C induce la expresión del gen de choque térmico *htpG*, pero decrece la expresión de *toxR*. Podría especularse que el microorganismo al entrar en la mucosa primero se protege a sí mismo incrementando la síntesis de sus HSP y una vez adaptado a su nuevo ambiente, inicia la producción de toxina (121).

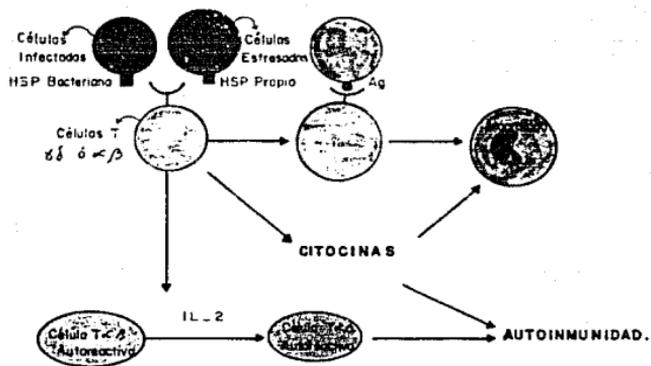
Antes del advenimiento de los antibióticos, la Sífilis (enfermedad venérea causada por *Treponema pallidum*), era tratada con hipertermia. Como caso curioso, el *T. pallidum* es, hasta el presente, el único microorganismo que no exhibe una verdadera respuesta al choque térmico a pesar de poseer las HSP homólogas a DnaK (70KDa) y

GroEL (65kDa). Los resultados concuerdan con la termolabilidad de este microorganismo (128).

En la listeriosis, enfermedad causada por Listeria monocitógena, los mecanismos protectores contra la enfermedad están divididos en dos fases según su tiempo de aparición: la respuesta primaria, que ocurre durante las primeras 48 horas, se atribuye a macrófagos residentes y al flujo de fagocitos derivados de médula ósea en el hígado y en el bazo; y la respuesta tardía que comienza 4 días después y es caracterizada por la proliferación de células T dependientes de antígeno listerial, las cuales incrementan la destrucción de la bacteria. La aparición temprana de células T con receptores gamma-delta puede jugar el papel de protección entre las dos fases (la del sistema fagocítico y la de la respuesta inmune mediada por células T con receptores alfa-beta). Las investigaciones han demostrado que una subclase de células T con receptores gamma-delta provee la primera línea de defensa contra la infección, por reconocimiento de la HSP65 endógena, de las células autólogas infectadas y HSP65 exógena derivada de *Listeria*, y por la producción de citocinas como interferón gamma. Así, la respuesta rápida de células T hacia HSP específicas hacia patógenos antigénicamente diferentes antes de la expansión clonal de células T antígeno-específicas forma un puente de unión entre el sistema fagocítico y el tipo

da respuesta inmune altamente evolucionado. Este modelo (figura 5), ha sido propuesto para explicar el papel de células T HSP65-específicas en la defensa del huésped (129-130). Podría considerarse que los linfocitos T con receptores gamma-delta tienen un papel dual: por un lado, podrían iniciar una respuesta específica contra patógenos, y por otro, su reactividad hacia HSP propias podría iniciar o amplificar la reacción inmune en el sitio de la infección (121,130-131).

La enfermedad de chagas causada por Trypanosoma cruzi es caracterizada por lesiones cardíacas, esofágicas e intestinales que han sido consideradas como el resultado de una agresión autoinmune. No existen datos publicados acerca de la relación entre estas lesiones y las HSP; por el contrario, el suero de pacientes con la enfermedad crónica no contiene anticuerpos que reaccionan con la HSP70 humana (121,132). Sin embargo, es posible, que la cronicidad de la enfermedad al igual que en la malaria, conlleve a un estado de tolerancia por la constante exposición de las secuencias del parásito homólogas al humano (109). En el Paludismo, causado por Plasmodium falciparum las células T con receptores gamma-delta, pueden reconocer proteínas del parásito homólogas a las HSP humanas; lo cual explicaría una parte del reconocimiento de un extracto antigénico

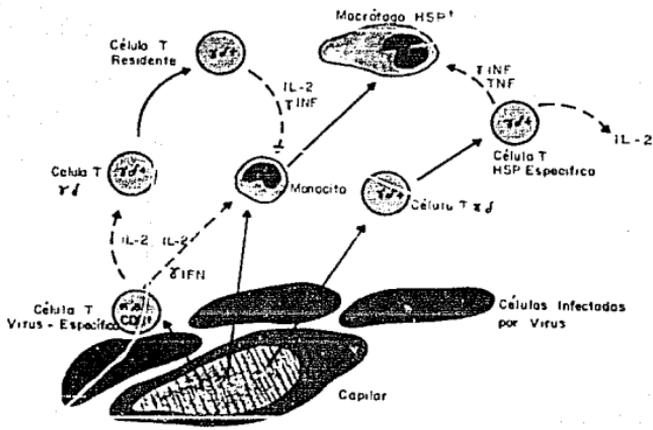


**PAPEL DE LAS CELULAS T_HSP65 ESPECIFICAS EN LA
DEFENSA DEL HUESPED**

Figura 5.

crudo de P. falciparum por donadores expuestos al parásito (109).

Los virus, a diferencia de las bacterias, no portan genes de choque térmico y pueden causar solamente el incremento de las HSP endógenas del huésped. Esto significa que la respuesta del huésped durante una infección viral resulta en niveles elevados de la expresión endógena de HSP. La sobreexpresión de las HSP ejerce un efecto protector sobre los macrófagos contra citocinas como el factor de necrosis tumoral y a su vez estimula una subclase de linfocitos T con receptor gamma-delta. Estos linfocitos activados ejercen un efecto de retroalimentación negativa sobre los linfocitos T con receptor alfa-beta, limitando el potencial autorreactivo de estas células. Las linfocinas/citocinas secretadas por células T con receptor gamma-delta mantienen la activación del macrófago después que el virus ha sido eliminado y las células T con receptor alfa-beta ya no son estimuladas, lo cual serviría como un mecanismo protector inespecífico contra una infección secundaria bacteriana durante el proceso de la reparación tisular. Este "circuito" (figura 6) ha sido propuesto como un modelo hipotético que vincula la acción de células T CD3 alfa-beta, HSP65, macrófagos y células T gamma-delta en el virus de la influenza en particular. Si este modelo es correcto, cualquier respuesta viral específica de



CIRCUITO

Figura 6.

células T alfa-beta podría tener el potencial de exacerbar autorreactividad como consecuencia de interacciones en sitios donde células inflamatorias no puedan ser rápidamente eliminadas por procesos fisiológicos normales (133).

Una línea de particular interés concierne al cambio en la termotolerancia que acompaña la transformación celular. La hipertermia provocada en conjunto con la administración de radiación ionizante ha sido una herramienta importante en la terapia contra el cáncer. La base de este método, es que células transformadas son más susceptibles a los efectos tóxicos del calor que sus contrapartes no transformadas, tanto in vitro como in vivo (10,84). Es sabido que los protooncogenes juegan un papel clave en el crecimiento, la diferenciación y el desarrollo celular y que los protooncogenes como c-myc, localizados en el núcleo, están involucrados en la regulación de la expresión de otros genes: mientras que los productos de c-fos y c-jun actúan como reguladores de la transcripción, participando en la transmisión de señales intracelulares de corto termino a respuestas de larga duración. Se ha sugerido, que el mecanismo de la inducción transcripcional de c-fos y HSP70 durante el choque térmico puede ser la síntesis o la activación de un factor transactivante específico para otras regiones regulatorias del ADN que están involucradas en la regulación de la expresión coordinada de c-fos, c-jun,

c-myc, y HSP70 durante el choque térmico (92). La expresión coordinada de c-fos y c-jun en respuesta a algún estímulo es un fenómeno general que ocurre en diversos tipos de células en respuesta a una variedad de señales de estrés; además, la síntesis de HSP70 y HSP27 se incrementa según el tipo de transformación de células tumorales (76). Diferentes proteínas oncogénicas transmitidas por ARN- o ADN-virus pueden estimular la síntesis de HSP70; la cual podría inducir la transformación e inclusive facilitarla. Podría ser que la hipertermia en vez de potencializar el efecto de las radiaciones o de la quimioterapia, hasta cierto punto cree resistencia al efecto terapéutico. Las implicaciones de estos hallazgos experimentales radican en la importancia de una planificación precisa de la radioterapia y/o de la quimioterapia; ya que la tolerancia al estrés en este caso, podría permitir el crecimiento y proliferación de células de carácter maligno (84).

La cirrosis alcohólica está asociada con la acumulación intracitoplasmática de HSP70. La naturaleza de tal asociación no se ha esclarecido hasta el presente; pero la propiedad de ATPasa de la HSP70 y el descubrimiento de que ubiquitina forma conjugados covalentes dependientes de ATP con proteínas anómalas para la proteólisis rápida de las mismas, sugiere el posible involucramiento de HSP70, así como también un

proceso de "autoaclaramiento" en la célula (134). El blanco para la formación de conjugados con ubiquitina son a menudo las proteínas del citoesqueleto en forma de cuerpos de Mallory, la red de neurofilamentos microtubulares en la enfermedad de Alzheimer, y los cuerpos de Lewy en la enfermedad de Parkinson (134-135). La inmunoreactividad positiva de HSP70 observada en muchos hepatocitos incluyendo células sin cuerpos de Mallory o que muestran degeneración grasa; sugiere también la participación de HSP70 en la patogénesis de la cirrosis alcohólica y, por tanto, la detección inmunocitoquímica de esta proteína podría servir como un marcador más sensible de lesión hepatocelular (136). Ha sido demostrado que los agentes farmacológicos, utilizados en el tratamiento de las enfermedades del parénquima hepático como el Clofibrato y análogos estructurales, se unen a HSPc70 y se ha postulado que dicha interacción está directamente ligada a los eventos que median la inducción de la proliferación de peroxisomas en la patofisiología hepática (137).

Un posible mecanismo para el desarrollo de enfermedades autoinmunes de etiología diversa o desconocida puede plantearse como una potente respuesta inmune anti-proteínas de estrés ante una infección bacteriana o parasitaria (109). Dicha respuesta, incluye la activación de poblaciones de linfocitos capaces de reconocer regiones del antígeno muy conservadas y que

corresponden a proteínas propias. Como consecuencia, y en respuesta a los estímulos estresantes como lo serían la inflamación crónica asociada con la infección original, o una infección viral en un sitio distante; la sobreproducción de proteínas de estrés propias llevará a su procesamiento y reconocimiento por la población de linfocitos con reactividad cruzada (138). La combinación de estas dos circunstancias, puede desencadenar un ciclo de eventos que finalmente conlleven, en forma singular, a la generación de la patología autoinmunitaria (64-65,82-83,104,109,122,138). Durante las últimas décadas se ha podido precisar que las enfermedades reumáticas cuya causa se desconoce, se caracterizan por trastornos de la regulación de células mononucleares. Los estudios en pacientes con patología inflamatoria indican que las HSP determinan si no la especificidad, cuando menos la magnitud de las respuestas de linfocitos T (104,120,138-139). De particular relevancia son las siguientes observaciones: (i) la evidencia de que en el modelo de la artritis adjuvante (un tipo de artritis que puede ser inducida en cepas de ratas hembras Lewis genéticamente susceptible por inmunización con adjuvante de Freund), las células T autorreactivas estimuladas con antígeno micobacterial pueden mediar la artritis persistente o proveer protección contra la misma (140) ; (ii) el reconocimiento de una relación especial entre micobacteria y la autoinmunidad en general (121-122,140-

143); (iii) la propiedad de ciertas HSP de unirse a proteínas nucleares y citoplasmáticas alteradas por estrés intracelular, que podrían ser los ingredientes clave del concepto "partícula inmunogénica" en el origen de los anticuerpos antinucleares y de otros (65,107); y (iv) el reconocimiento de que los antígenos inmunodominantes de micobacteria y de otros microorganismos que producen artritis y posiblemente otras formas de autoinmunidad, son HSP con secuencias de aminoácidos esencialmente idénticas a las homólogas en humanos (45,139,144). Se ha encontrado que la HSP65 puede ser importante en la patogénesis de la artritis reumatoide, ya que ésta es una de las moléculas reconocidas por las células T de la sinovial en estos pacientes (141,144). También, experimentalmente se ha encontrado que en la patogénesis de la diabetes mellitus insulino dependiente en ratones no obesos (IDDM), la insulinitis está asociada a una respuesta inmune de las células T contra la HSP65 propia de células beta de los islotes de Langerhans (122,145-147).

En el lupus eritematoso sistémico se ha encontrado que la respuesta inmune de células T está dirigida hacia el epítipo conservado de la HSP65 micobacterial. La presencia de autoanticuerpos en la enfermedad (anticuerpos IgG contra HSP90 y anticuerpos IgM contra miembros de la familia HSP70; así como el bien conocido autoantígeno H2B, puede ser una consecuencia secundaria

de la expresión en la superficie de las células de complejos de nucleoproteínas desnaturalizadas y HSP; ya que las células estresadas que contienen proteínas anómalas o dobladas incorrectamente ya sea de origen viral ó del propio huésped, pueden responder transportando estas proteínas a su superficie formando complejos con las HSP. Las nucleoproteínas y las ribonucleoproteínas son particularmente susceptibles a la desnaturalización por estrés ambiental y por tanto podrían considerarse como candidatos involucrados en este proceso. Una vez en la superficie de la célula, la respuesta inmune puede ser dirigida hacia las HSP y/o hacia las nucleoproteínas anormales asociadas (45,74,107). Dada la prevalencia de infección micobacteriana en muchas poblaciones, es factible suponer que el desarrollo de una enfermedad autoinmune relacionada con micobacteria podría darse como consecuencia del reconocimiento de estos antígenos por parte del huésped (como reflejo de un balance entre la activación de células efectoras con especificidad para antígenos propios y la activación de células supresoras reguladoras de la respuesta inmune) y de factores que predispongan a la enfermedad. En vista de que las HSP constituyen antígenos inmunodominantes estrechamente relacionados en muchos procariotes, la autoinmunidad producida por un agente infeccioso, podría ser

reactivada por infecciones subsecuentes con diferentes microorganismos (45).

Estos descubrimientos y en particular la participación de la HSP65 y de varios epítopes como en la artritis-adjuvante y en la IDDM, han abierto nuevas miras hacia la fisiología de la regulación inmune, la patofisiología de la enfermedad autoinmune y la inmunoterapia como herramienta en el tratamiento de muchas enfermedades autoinmunes (146,148). Por ejemplo, en la artritis-adjuvante, el epítoto crítico de la HSP65 reside en la secuencia 180-188 y, en caso de estar involucrado en la patofisiología de la artritis reumatoide, un péptido purificado conteniendo esta secuencia podría servir en la terapia para inducir la supresión del proceso infeccioso (45,140-142,146,148). Recientemente ha sido reportado que el Auranofin, así como otros reactivos químicos tiol-derivados, inducen la síntesis de HSP70, HSP90, HSP100, HSP32 y p34 tanto in vitro como in vivo. Es posible que la inducción de las HSP y otras proteínas de estrés pueda ser relevante en la acción terapéutica de este medicamento y quizás también del auroticmalato (74,122).

ARTRITIS REUMATOIDE

La artritis reumatoide es una enfermedad crónica y multisistémica que afecta no solamente las articulaciones; sino también órganos extraarticulares y sistemas orgánicos. La etiología de esta enfermedad sigue siendo un enigma; y aún no está claro si la artritis reumatoide es una enfermedad de múltiples etiologías o un síndrome complejo producido por un único factor (149). La alteración característica de la artritis reumatoide es una sinovitis inflamatoria persistente que afecta habitualmente a las articulaciones periféricas con una distribución simétrica. El signo clave de la enfermedad es el potencial de la inflamación sinovial para producir una destrucción del cartilago, con erosiones óseas y deformidades articulares en las fases posteriores. A pesar de su potencial destructor, la evolución de la artritis reumatoide puede ser muy variable. Algunos pacientes pueden presentar únicamente un proceso oligoarticular de breve duración con lesiones articulares mínimas; mientras que otros presentan una poliartritis progresiva que evoluciona hacia la aparición de deformidades articulares importantes (149-150).

A. MANIFESTACIONES CLINICAS:

1. ARTICULARES:

La enfermedad típicamente comienza de forma insidiosa con fatiga, anorexia, debilidad generalizada y sintomatología musculoesquelética vaga, hasta que se hace evidente la sinovitis. En la artritis reumatoide, la inflamación en las articulaciones comienza con la sinovial. Como resultado del proceso inflamatorio, las células del endotelio proliferan y la sinovial se engrosa y cubre el cartilago, con su eventual destrucción (149). La sintomatología específica aparece habitualmente de forma gradual con una afectación poliarticular, en especial de manos, muñecas, rodillas y pies y por lo general en forma simétrica.

Las articulaciones afectadas son principalmente las interfalángicas proximales y las metacarpofalángicas. La manifestación más frecuente de la artritis reumatoide ya establecida es el dolor, que se agrava con el movimiento en las articulaciones afectadas y que no siempre correlaciona con el grado de inflamación aparente. Es frecuente la rigidez generalizada que habitualmente es mayor tras los periodos de inactividad (150).

Desde el punto de vista clínico, la inflamación sinovial produce tumefacción, aumento de la sensibilidad y limitación de la movilidad. Por lo general, es evidente el calor sobre la articulación en la

exploración física, especialmente cuando se examinan articulaciones de gran tamaño como la rodilla; no obstante, es raro que aparezca eritema. El dolor se origina predominantemente en la cápsula articular que, por estar inervada con fibras dolorosas, es muy sensible a la distensión o al estiramiento. La tumefacción articular se debe al acúmulo de líquido sinovial, a la hipertrofia de la membrana sinovial y al engrosamiento de la cápsula articular. Posteriormente, la fibrosis y la anquilosis (adhesiones y cicatrización del tejido inflamado), o bien las contracturas de las partes blandas originan deformidades de carácter fijo. La sinovitis de las articulaciones de la muñeca es una característica prácticamente constante de la artritis reumatoide y puede causar limitación de la movilidad, deformidad y atrapamiento del nervio mediano (síndrome del túnel carpiano). La sinovitis de la articulación del codo suele ocasionar contracturas por flexión que aparecen en las fases iniciales de la enfermedad. La articulación de la rodilla se afecta con frecuencia y presenta hipertrofia sinovial, derrame crónico y laxitud ligamentosa. La aparición de dolor y tumefacción por detrás de la rodilla puede deberse a la extensión de la inflamación sinovial hacia el espacio poplíteo (quiste de Baker). El compromiso axial suele estar limitado a la columna cervical superior. Ocasionalmente, la inflamación de la sinovial articular y de las bolsas

sinoviales de la columna cervical superior origina una subluxación atloidoaxoidea que produce dolor en el occipucio y en algunas ocasiones, puede ocasionar compresión de la médula espinal (150).

Cuando la inflamación es persistente, aparecen diferentes deformidades características, que pueden atribuirse a diversas alteraciones patológicas, como laxitud de las estructuras de apoyo de las partes blandas, destrucción o debilitamiento de ligamentos, tendones y cápsula articular, destrucción del cartilago, desequilibrio muscular y de las fuerzas físicas en asociación con la utilización de las articulaciones comprometidas (150).

2. EXTRAARTICULARES:

Los nódulos reumatoides aparecen en el 20 a 30% de los pacientes con artritis reumatoide. Habitualmente surgen sobre estructuras periarticulares, superficies extensoras u otras zonas sujetas a presión mecánica, aunque pueden aparecer en cualquier parte como la pleura y las meninges. Casi de forma invariable aparecen en pacientes con factor reumatoide circulante. Desde el punto de vista anatemopatológico, los nódulos reumatoides están formados por una zona central de material necrótico que comprende fibrillas de colágena, lípidos, nucleoproteínas, mucopolisacáridos ácidos, proteínas séricas incluyendo Inmunoglobulinas, restos

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

celulares, y fibrina en ciertos estados de actividad de la enfermedad; una zona media con macrófagos en empalizada que expresan antígenos HLA-DR; y una externa de tejido de granulación (149).

La vasculitis reumatoide que puede afectar a casi cualquier órgano o sistema, se observa en pacientes con artritis reumatoide grave y títulos elevados de factor reumatoide circulante. En su forma más agresiva, la vasculitis reumatoide puede causar polineuropatía o mononeuritis múltiple, ulceración cutánea como necrosis dérmica, gangrena digital e infarto visceral (149-150).

Las manifestaciones pleuropulmonares, consisten en pleuritis, fibrosis intersticial, nódulos pleuropulmonares, neumonitis y arteritis. La fibrosis pulmonar puede producir una alteración de la capacidad de difusión pulmonar. Los nódulos pulmonares pueden aparecer aislados o en acúmulos y en ocasiones se pueden cavitarse y ocasionar neumotórax o fístulas broncopleurales (149-150).

Clínicamente, la cardiopatía sintomática atribuida al proceso reumatoide es rara, aunque en el 50% de los casos se observa una pericarditis asintomática en la autopsia (150).

El proceso reumatoide afecta al ojo en menos del 1% de los pacientes. Desde el punto de vista anatomopatológico, la lesión es similar al nódulo reumatoide y puede causar un adelgazamiento con perforación del globo

ocular (escleromalasia perforante). Aproximadamente un tercio de los casos de pacientes con artritis reumatoide desarrollan el síndrome de Sjogren, con la consiguiente queratoconjuntivitis seca (150).

El síndrome de Felty consiste en artritis reumatoide crónica, esplenomegalia, neutropenia y en ocasiones, anemia y trombocitopenia. Estos pacientes, presentan con frecuencia títulos elevados de factor reumatoide, nódulos subcutáneos y otras manifestaciones de afectación reumatoidea sistémica.

La osteopenia secundaria a la afectación reumatoide es frecuente y se puede agravar por el tratamiento corticoideo y por la inmovilización (149).

La artritis reumatoide, suele respetar el sistema nervioso central de forma directa, aunque la vasculitis puede causar neuropatía periférica. Las manifestaciones neurológicas también pueden deberse a subluxaciones atlaxoideas o de la parte media de la columna cervical. El atrapamiento de nervios secundario a la sinovitis proliferativa o a las deformidades articulares puede dar origen a neuropatías de los nervios mediano, cubital, radial (rama interósea) o tibial anterior (150)

B. ETIOLOGIA

1. INFECCION:

La etiología infecciosa de la artritis reumatoide ha sido una hipótesis mantenida durante mucho tiempo y en

Los últimos años ha sido estudiada con más rigor científico. La sinovitis puede ser el resultado de una infección a través de los siguientes mecanismos: (i) el depósito de complejos inmunes circulantes formados por antígeno viral (parvovirus B19 y Epstein Barr) o bacteriano y anticuerpos del huésped; (ii) mimetismo molecular por reacción cruzada entre antígenos del huésped y microbianos (HSP65 y otras); (iii) depósito de antígeno en el tejido como el polisacárido péptidoglicano de pared celular de *Streptococo* grupo A, el cual induce poliartritis destructiva crónica en ratas; (iv) por toxinas artritogénicas como la enterotoxina del *Estafilococo* (superantígeno), la cual estimula células T en reposo por unión directa a moléculas clase II del MHC. Como candidatos atractivos figuran entre los más recientes la HSP65 micobacterial, el virus Epstein Barr y el parvovirus B19 (151-152).

2. ANORMALIDADES METABOLICAS Y BIOQUIMICAS:

Las articulaciones en la artritis reumatoide presentan cambios en el metabolismo anaeróbico (glicólisis), tales como disminución de la tensión de oxígeno en el fluido sinovial, acumulación de bióxido de carbono, baja de pH e incremento de las concentraciones de ácido láctico. También se ha demostrado el incremento en la síntesis de ácido hialurónico; así como alteraciones en el transporte de glucosamina. Dichas anomalías parecen ser derivadas de las demandas metabólicas de la

articulación inflamada; pues a pesar de que se incrementa el riego sanguíneo en la articulación, este no alcanza a suplir las necesidades metabólicas (149). Se ha sugerido que mucho de estas anormalidades son debidas al incremento en la producción de un "péptido activante del tejido conectivo" (CTAP-1). Sin embargo, estas observaciones podrían bien definir la biología de la inflamación crónica o ser un defecto específico de la enfermedad. De particular interés es la asociación de la artritis reumatoide con cambios en los patrones de glicosilación de la IgG sérica, y específicamente con la presencia la agactosil IgG o de asialil IgG (152-153); posiblemente como consecuencia de un defecto de la galactosil transferasa en linfocitos B de pacientes con artritis reumatoide (154-155), o bien un defecto de la actividad de la sialil transferasa o de una actividad incrementada de la neuraminidasa (153).

3. AUTOINMUNIDAD:

La demostración de anticuerpos hacia IgG, nucleoproteínas y la colágena en el suero y fluido sinovial de pacientes con artritis reumatoide sugiere una alteración en la discriminación entre lo propio y lo no-propio en esta enfermedad (149).

4. FACTORES GENETICOS:

Hasta el presente se sabe que el locus D del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DR4) está asociado con la severidad y la predisposición a la artritis

reumatoide (149), más que con la susceptibilidad a la enfermedad, pues no siempre los individuos DR4-positivo desarrollan la enfermedad (139,151,156). Especulando en el posible papel de micobacterias y microorganismos relacionados en la inducción de la artritis reumatoide, debe pensarse que el MHC recibe un impacto en la regulación de la respuesta inmune después de la exposición a micobacterias. De especial interés es el hecho de que individuos HLA-DR4-positivos exhiben una reacción cutánea marcada en respuesta a la tuberculina (hipersensibilidad de tipo retardado). Estos hallazgos han sido interpretados como evidencia de que HLA-DR4 es el producto de un gen de respuesta inmune con especificidad para el antígeno micobacterial (142). Compatible con estas afirmaciones, ha sido el hallazgo de que individuos DR4-positivos desarrollan una respuesta de células T altamente proliferativa frente a una fracción de M. tuberculosis precipitable con acetona. Dicha fracción es rica en antígenos muy semejantes a los del cartilago y en el fluido sinovial de pacientes con artritis reumatoide, y una gran cantidad de células T responden al estímulo de esta fracción (142,144).

La proporción de asialo-IgG es mayor en pacientes con artritis reumatoide DR4 positivos que en pacientes DR4 negativos. Estos hallazgos sugieren que dicho gen podría ejercer sus efectos en la enfermedad controlando

la síntesis del factor reumatoide, o bien, que el defecto de la actividad de la sialil transferasa sea una de las anomalías genéticas en los individuos DR4 positivos (153).

C. PATOGENESIS:

La patogénesis de la artritis reumatoide, puede ser considerada en tres etapas discretas: (i) la iniciación de la sinovitis, presumiblemente por un factor etiológico llevado a la articulación a través de la circulación; (ii) subsecuentes eventos inmunológicos que perpetúan la reacción inflamatoria primaria en la sinovial; y (iii) la transición de la reacción inflamatoria en la sinovial a la formación de pannus (149).

Hay muchas razones para creer que la inmunidad celular y humoral median la inflamación en la articulación. La detección de un gran número de linfocitos T en el tejido sinovial y la presencia de linfocinas en el fluido sinovial implica el papel que juega la inmunidad mediada por células. La capacidad *in vitro* de la sinovial de pacientes con artritis reumatoide, para producir anticuerpos, la demostración de inmunoglobulinas y complemento en células sinoviales fagocíticas, y la identificación de complejos inmunes asociados a consumo de complemento en el fluido sinovial destaca la importancia de los mecanismos inmunes humorales.

Finalmente, las observaciones clínicas referentes a la eficacia terapéutica de drogas citotóxicas (inmunosupresores), apoyan la patogénesis inmune de esta enfermedad (149,156).

Con respecto a los complejos inmunes, se ha propuesto la siguiente hipótesis: un antígeno (no definido) se establece en la cavidad articular y estimula la producción local de anticuerpos. La interacción antígeno-anticuerpo (y posteriormente de antigama-globulinas) en el tejido y fluido sinovial inicia la activación del complemento, generando productos biológicamente activos. Algunos de estos, incrementan la permeabilidad vascular permitiendo el influjo de proteínas séricas y de elementos celulares sanguíneos en el sitio donde residen los complejos. Los polimorfonucleares son atraídos por factores quimiotácticos derivados del complemento y los complejos inmunes son unidos a la membrana de estas células por medio de receptores para IgG y C3. El siguiente paso es la fagocitosis con la concomitante liberación de grandes cantidades de enzimas lisosomiales hidrolíticas involucradas en mediar gran parte de la inflamación y del daño al tejido tisular. De acuerdo con este esquema, la artritis reumatoide es una "enfermedad extravascular de complejos inmunes", cuyo foco es la sinovial y la cavidad articular (149). Los complejos inmunes no pueden explicar por sí solos todos los cambios que

ocurren en la articulación de pacientes con artritis reumatoide. Muchos investigadores son de la opinión de que la inmunidad celular y el desarrollo del tejido de granulación son responsables de los elementos proliferativos y destructivos en la articulación. Visto desde esta perspectiva, los cambios en el fluido sinovial son solamente un reflejo de los eventos patogénicos primarios (149). Indudablemente, cada uno de estos mecanismos es importante y está interrelacionado.

Con fines didácticos, la patogénesis de la artritis reumatoide puede conceptualizarse en dos compartimientos interdependientes, dados por las peculiaridades de cada uno: la membrana sinovial y el espacio articular de la articulación diartrodial (figura 7):



Figura 7.

Membrana sinovial: en los primeros dos meses de la enfermedad hay infiltración de polimorfonucleares en la superficie de la sinovial y a nivel perivascular. Posteriormente, la sinovitis se hace más aparente con hipertrofia, edema e inflamación. En esta etapa de la enfermedad, hay una intensa infiltración de células mononucleares, linfocitos y células plasmáticas. Dichas

células. se acumulan alrededor de pequeños vasos sanguíneos formando folículos. La célula predominante en estos nódulos es el linfocito T CD4+, CDw29+ y HLA-DR+ y en la periferia células plasmáticas que contienen depósitos de IgG con actividad anti-IgG (factor reumatoide) asociada a C3 y C4 (149). Las células T están en estrecho contacto con extensiones de células dendríticas las cuales son excelentes células presentadoras de antígenos (APC); lo cual sugiere que dichas células son activadas en la sinovial, después del reconocimiento de péptidos presentados por las células dendríticas. Obviamente es de mayor importancia el detectar que tipo de epitopes antigénicos son responsables de la inducción de la activación de células T (122). Ya que la membrana sinovial de pacientes con artritis reumatoide está poblada de linfocitos, células plasmáticas y mononucleares; no es sorprendente que los linfocitos sensibilizados produzcan sustancias biológicamente activas (linfocinas) que permiten la acumulación y estimulación de macrófagos y la diferenciación y proliferación linfocítica (149).

Cavidad articular: Normalmente, en el fluido sinovial no se detectan proteínas plasmáticas de alto peso molecular o de forma asimétrica como el fibrinógeno; sin embargo, la inflamación de la sinovial permite el acceso de proteínas de diferente peso molecular (149).

Se especula que la activación de la vía clásica del complemento, de debe a complejos inmunes por agregación de IgG. También hay activación de la vía alterna. Por cualquiera de las dos vías, el rompimiento de C3 da lugar a la producción de dos sustancias biológicamente activas C3a y C3b. La C3a anafilotoxina y C3b responsable del fenómeno de adherencia inmune y de facilitar la fagocitosis de complejos inmunes. La inactivación de C3b da lugar a la producción de C3c y C3d; los cuales correlacionan de manera significativa con el diagnóstico de la artritis reumatoide, particularmente en pacientes seropositivos. También se ha demostrado la presencia de C5a y depleción de C9 (149).

Además de los complejos IgG-anti-IgG y de la presencia de un factor reumatoide biológicamente activo (RBAF) formando complejos inmunes; en la articulación se han encontrado otro tipo de complejos con potencial patogénico significativo, muchos de los cuales involucran constituyentes del tejido articular o productos de degradación del proceso inflamatorio. Estos incluyen, ácidos nucleicos, colágena, cartilago, fibrinógeno, productos de degradación de la fibrina, e IgG digerida parcialmente. Cualquiera de estos autoantígenos, podría perpetuar la inflamación en la articulación y prevenir la resolución de la enfermedad. En efecto, tanto la fibrina como la colágena (tipo II)

pueden producir artritis inflamatoria crónica en animales de experimentación. La sensibilidad de los pacientes con artritis reumatoide hacia colágeno tipo II y III es específica de esta enfermedad. Los antígenos nucleares, derivados de granulocitos desintegrados, podrían formar complejos con anticuerpos antinucleares, perpetuando el proceso inflamatorio (149).

En el fluido sinovial, también se detectan proteínas que precipitan a 4°C. Dichos crioprecipitados, consisten principalmente de inmunoglobulinas IgG e IgM y fibrinógeno o productos de degradación de fibrina. Los crioprecipitados contienen anticuerpos anti-gamaglobulinas de tipo IgM y poseen actividad antinuclear. En el cartilago hialino articular y en meniscos, hay presencia de inmunoglobulinas y componentes del complemento. Se ha propuesto que dichos complejos inmunes actúan como estimulantes crónicos de la inflamación al ser secuestrados y liberados gradualmente. Esta observación, apoya el hallazgo de que los neutrófilos al encuentro de estos complejos inmunes que no pueden ser removidos por mecanismos fagocíticos normales, descargan sus enzimas lisosomales en las proximidades del cartilago articular (149).

El fluido sinovial, contiene predominantemente neutrófilos los cuales liberan de los lisosomas enzimas hidrolíticas, mediadores potenciales de la inflamación en la articulación y de la destrucción del cartilago.

Entre las más importantes figuran las colagenasas y las catepsinas que atacan las membranas basales, proteasas capaces de hidrolizar proteoglicanos del cartilago, proteínas catiónicas que atacan mastocitos e inducen permeabilidad vascular y pirógenos endógenos y los radicales de oxígeno libre generados durante la fagocitosis (149). Recientemente se han logrado aislar clonas de linfocitos T CD4- CD8- con receptor gamma y delta del líquido sinovial de pacientes con artritis reumatoide (157). Los estudios experimentales usando líneas y clonas de células T probaron la evidencia que tanto la enfermedad como la subsecuente inmunoregulación son determinadas por la actividad regulatoria de células T antigeno específicas (122,142,156). Muchos cuadros histopatológicos de las articulaciones afectadas en artritis reumatoide pueden ser explicados por el efecto directo de las interleucinas (IL). Por ejemplo, IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF-alfa) inducen la degradación y liberación de proteoglicanos e inhiben la síntesis de los mismos por los condrocitos. La interacción entre células T y APC, puede inducir en ambas células la secreción de IL-1; de tal manera que mientras haya activación de células T en la articulación, se liberará IL-1 estimulando el proceso de destrucción del tejido (122). La biosíntesis y secreción de IL-8 por monocitos es inducida por IL-1, TNF-alfa, IFN-gamma y ésteres de forbol. Recientemente se ha

reportado la presencia de dicha interleucina en el fluido sinovial de pacientes con artritis reumatoide sugiriendo su participación en la patofisiología de la enfermedad (158). Es posible que también participen otras interleucinas y en particular la IL-6 en la cual ha sido demostrada su participación en la glicosilación de proteínas de fase aguda en el hígado (159); pero no ha sido demostrada su participación en la glicosilación de la IgG. De estar involucrada, la IL-6 sería relevante en lo referente al defecto de glicosilación de la IgG y formaría parte de la complejidad del proceso inflamatorio mediado por células (159)

1. PAPEL DE LAS PROTEINAS DE CHOQUE TERMICO EN LA ARTRITIS REUMATOIDE

Muchas líneas de investigación, han revelado evidencias de que las HSP juegan un papel importante en la patogénesis de la artritis reumatoide:

a. Las HSP son sintetizadas por condrocitos de pacientes osteoartríticos, por células endoteliales y por sinoviocitos en pacientes con artritis reumatoide. Parece que las señales inflamatorias generadas in vivo son suficientes para inducir la síntesis de las HSP, posiblemente como mecanismo protector de los tejidos del huésped (74,139-148).

b. En pacientes con enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoide y artritis reactiva, se ha encontrado que la respuesta inmune a HSP incluye la inmunidad de células T hacia la región conservada de la HSP65, así como niveles elevados de IgG e IgA anti-65KDa. La presencia de células T anti-HSP propias en la artritis reumatoide, puede ser consecuencia de reactivación de estos clones durante procesos inflamatorios lo suficientemente intensos para inducir la expresión local de HSP en tejidos del huésped (74,83).

c. El calor es uno de los cinco signos cardinales de la inflamación y se sabe que las HSP se secretan también en respuesta a cambios en la concentración de oxígeno tisular, citocinas y reactantes de fase aguda. Es llamativo que todos son elementos prominentes en la fisiopatogenia de la enfermedad reumatoidea. Numerosos radicales oxígeno que se liberan como consecuencia del catabolismo de reperfundición en la sinovial inflamada, son inducibles por las proteínas del estrés debido a su efecto metabólico antioxidante (17).

d. Las investigaciones han reportado que células T policlonales de infiltrados de la sinovial reconocen HSP60 y HSP70 micobacterial y, además, la HSP70 humana obtenida de macrófagos estresados (143). Esta respuesta inmune a determinantes conservados de las HSP, quizás iniciada por infecciones bacterianas (no necesariamente

por micobacterias) puede jugar un papel importante en la patogénesis autoinmune en la artritis reumatoide, así como en la artritis-adjuvante (64). Antígenos de reacción cruzada con la HSP65 presente en algunas micobacterias son compartidos también por más de cincuenta especies bacterianas diferentes, incluyendo *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* y *Campylobacter*, todas sospechadas de estar involucradas en la artritis (139,142,160).

e. Otras investigaciones han enfocado el interés hacia las células T con receptor gamma-delta que reconocen antígenos micobacteriales (82,122). Las células T gamma-delta, proliferan y producen niveles significativos de IL-2 en respuesta a la HSP65 micobacterial; lo cual implica que la anergia de estas células, puede ser revertida por las células T respondedoras a las HSP de microorganismos invasores y/o a células autólogas estresadas (145,148,156,161). La participación de las células T con receptor gamma-delta en la patogénesis de la artritis reumatoide ha sido apoyada por el hallazgo de que éstas células y las células T alfa-beta artritogénicas reconocen las mismas secuencias en las HSP (101,139,144,161).

f. En el suero de enfermos con artritis reumatoide se han identificado anticuerpos contra HSP de 70, 28 y 65 KDa (IgA e IgG). En un estudio reciente, se demuestra la presencia de HSP65 en nódulos subcutáneos y panus

sinovial de pacientes con artritis reumatoide (144). Esta observación indica que las HSP son componentes habituales del proceso inflamatorio que caracteriza a las atropatias crónicas, quizá como amplificadores de los mecanismos inmunológicos que las originan (17,139,142,144).

g. Entre otros procesos, las HSP tienen propensión para unirse a IgG cuando ésta se expresa sobre la membrana de los linfocitos B, tal como se ha observado en la sinovitis reumatoide (17).

h. El epítotope 180-188 de la HSP65 reconocido por clones de células T en la artritis-adyuvante, muestra homología con proteínas de proteoglicanos del cartilago y con otros microorganismos como el virus Epstein Baar y posiblemente con otros epítotos endógenos y microbiales exógenos (137,142-144).

La tabla 2 resume la participación la HSP65 en la artritis reumatoide:

Tabla 2
HSP65 Y LA ARTRITIS REUMATOIDE

Presente en bacterias asociadas a artritis: mycobacteria, Klebsiella, Shiguella, Yersinia, etc.

Mimetismo con moléculas asociadas al cartilago.

Reconocida por linfocitos T en la sinovial de pacientes con artritis.

Reconocida por anticuerpos en el suero de pacientes con artritis.

Presencia de moléculas homologas expresadas por condrocitos y sinovial.

Como consecuencia, muchos modelos pueden ser propuestos en el reconocimiento de antígenos por parte de células T efectoras en las articulaciones afectadas de pacientes con artritis reumatoide (122):

(1) Las células T efectoras en la articulación pueden responder solamente a antígenos endógenos, de modo que los componentes articulares como la colágena y los proteoglicanos pueden ser el blanco relevante para tales células. Los clones de células T y líneas respondedoras a colágeno y/o proteoglicanos han sido encontradas en el tejido articular y en el fluido sinovial de pacientes con artritis reumatoide y en individuos sanos.

Otro posible blanco son los epítopes de HSP autólogas producidas y/o expresadas por las células de los tejidos afectados. A pesar de que las HSP son ubicuas en el organismo, su expresión puede ser incrementada en las células en el sitio de la inflamación por el estrés. La expresión significativa de HSP65 propia fue demostrada únicamente en el panus sinovial en la artritis reumatoide y no en otros procesos inflamatorios. Ciertas citocinas, tales como interferón gamma secretado por células T activadas pueden estimular la expresión de HSP. En este caso, la expresión y el reconocimiento de

las HSP pueden ser secundarios a la activación de células T por otros antígenos y, posteriormente, dichas proteínas podrían servir como perpetuadores del proceso inflamatorio. Este concepto excluye el involucramiento de antígenos (micobacteriales) exógenos.

(ii) Las células T efectoras que responden a moléculas autólogas en la articulación pueden tener reacción cruzada con antígenos exógenos tales como productos de microorganismos infecciosos. Una infección en alguna parte del organismo podría haber disparado previamente las células T inductoras de la enfermedad, que es lo que presumiblemente ocurre en la artritis-adjuvante. Una vez que las células T han sido activadas y pueden, selectiva o específicamente, entrar en la articulación, inducen la artritis después del reconocimiento de proteoglicanos. Por la extrema homología con las HSP endógenas, es tentativo especular que las HSP exógenas son candidatos para inducir una reacción cruzada de células T en la artritis. A este respecto, es poco probable que el epítipo micobacterial 180-188 de la HSP65 identificado en la artritis-adjuvante evoque tal reacción cruzada, ya que este epítipo difiere considerablemente de la secuencia correspondiente en la HSP65 de la rata.

(iii) Las células T efectoras en la articulación pueden ser estimuladas por antígenos exógenos solamente. Este modelo implica la presencia de antígenos exógenos en la articulación. A pesar de que células T específicas para

bacterias implicadas en la artritis reumatoide ya han sido clonadas, los antígenos individuales reconocidos por estas células no han sido definidos. Una clona de células T reconoció la HSP65; pero el papel específico de esta proteína en la artritis reumatoide no ha sido completamente aclarado.

2. ASIALO IgG Y AGACTOSIL IgG EN LA ARTRITIS REUMATOIDE

Recientes investigaciones, han renovado el interés sobre el papel de los asialo-oligosacáridos en la patogenia de la artritis reumatoide (122,153, 159,162). En esta enfermedad, los complejos inmunes presentes consisten exclusivamente de Inmunoglobulinas, implicando que estas son al mismo tiempo el "anticuerpo" (factor reumatoide) y el "antígeno" (IgG). La reactividad autoantigénica de la IgG ha sido localizada en el dominio CH2 (figura 8). En dicho dominio una gran proporción de N-oligosacáridos no poseen ácido siálico y exponer galactosa (asialo IgG); mientras otros no poseen galactosa y exponen residuos de N-acetil glucosamina (agalactosil IgG) (153,164-165).

El estudio de una mezcla resultante de "asialo oligosacáridos" reveló muchos puntos de interés:

- Existen muchas subpoblaciones diferentes de IgG, cada una única con respecto a la secuencia de sus oligosacáridos asociados.

DEFECTO DE GLICOSILACION DE LA IgG

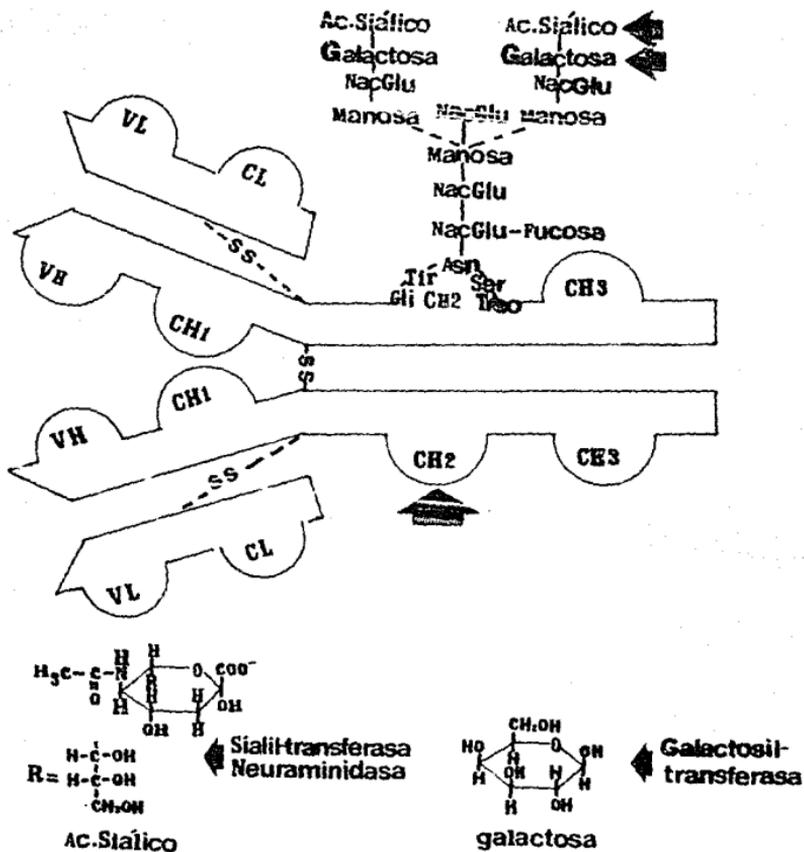


Figura 8.

- La mezcla de asialo-oligosacáridos tiene un patrón característico en pacientes con artritis reumatoide, que difiere de los controles normales y de los pacientes con osteoartritis. Las investigaciones también han demostrado que Las IgGs presentan una ligera disminución en el número de cadenas terminales con uno o dos residuos de ácido N-acetilneuraminico consistente con la disminución en la galactosilación. Particularmente, se demostró que la artritis reumatoide está asociada a cambios marcados a nivel de galactosilación de complejos N-oligosacáridos en el brazo externo de la IgG del suero. Por cristalografía de rayos X, se ha observado que las consecuencias de estos cambios de galactosilación estriban en las interacciones Fc con proteínas de superficie, de tal manera que en los brazos alfa(1-6) el mayor contacto se realiza a través de su segmento Neu5Ac-alfa(2-6)Gal-beta(1-4)GlcNAc, y en el brazo rígido alfa(1-3) uno de sus oligosacáridos no poseen galactosa y por tanto, expone residuos beta (1->2) N-acetilglucosamina del brazo externo interactuando directamente con el segmento Man-beta(1-4)GlcNAc de la cadena opuesta de carbohidratos. El brazo alfa(1-3) del último oligosacárido se extiende entre los dominios sin fuerzas estéricas aparentes en el espacio. La restricción en el apareamiento de oligosacáridos en Fc conduce a una elevación marcada de moléculas Fc que no poseen galactosa, dando lugar a a la

formación y/o persistencia de complejos de inmunoglobulina por cualquier mecanismo que no necesariamente involucre una verdadera respuesta autoinmune. Tales mecanismos podrían ser: (i) las terminaciones N-acetilglucosamina de oligosacáridos podrían exponer determinantes proteicos previamente enmascarados u ocultos, o crear nuevos determinantes proteína-oligosacárido que podrían ser inmunogénicos; (ii) el incremento de los niveles de ciertas subpoblaciones de IgG podría permitir la exposición de ciertos determinantes Fc a concentraciones más altas de lo normal, dando lugar a una nueva respuesta inmune o convertir una respuesta preexistente (subclínica) en una patológica; (iii) los sitios de unión de los oligosacáridos en el dominio CH2, normalmente ocupados por los segmentos Neu5Ac-alfa(2-6)Gal del brazo alfa(1-6), están ahora libres y podrían hacer que la IgG adquiriera una actividad semejante a la de las lectinas; lo cual daría como resultado la formación de complejos o autoagregación. Ninguno de los mecanismos mencionados, requiere que los oligosacáridos por si mismos sean inmunogénicos y todos son consistentes con la falta de oligosacáridos en la IgG de pacientes con artritis reumatoide (162-163).

Si la glicosilación de la IgG está alterada en pacientes con artritis reumatoide, es probable que la glicosilación de otras glicoproteínas de linfocitos B

(por ejemplo, los antígenos de superficie del MHC), y quizás otros compartimientos celulares estén afectados. La correlación entre el decremento de la glicosilación y la ocurrencia de la artritis reumatoide aumenta la probabilidad de que dicha alteración en ciertos productos del MHC, sea una de las maneras por las cuales esta región del genoma influye en la predisposición a la enfermedad (162).

La pared celular del Estreptococo del grupo A posee el polisacárido N-acetilglucosamina unido por enlaces Beta 1-3 a polirramosa, y el peptidoglicano formado por moléculas de N-acetilglucosamina unidas por enlaces Beta 1-4 al ácido N-acetilmurámico (complejo polisacárido/peptidoglicano). Dicho complejo puede ser usado para producir anticuerpos monoclonales que se unen a la agactesil IgG. En pacientes infectados con este microorganismo, se ha encontrado una buena respuesta de anticuerpos anti-N-acetilglucosamina. La relevancia de esta propiedad del estreptococo del grupo A, estriba en: Primero, se demostró que pacientes con artritis reumatoide presentan altos niveles de anticuerpos que se unen al complejo péptidoglicano/polisacárido de este microorganismo; y, segundo, experimentalmente se demostró que cuando los ratones eran inmunizados con factor reumatoide purificado, desarrollaban grandes cantidades de anticuerpos que reaccionaban con productos de la pared celular del estreptococo (162).

Una posible relación entre agactosil IgG y micobacteria fue observada por el hallazgo de que pacientes con tuberculosis y lepra (durante episodios de eritema nudoso), también presentaban niveles elevados de agactosil IgG. El defecto de glicosilación también fue encontrado en pacientes con enfermedad de Crohn (correlacionada con la concentración en el suero de proteína C reactiva), y en artritis-adjuvante (122,162). Por el contrario, en pacientes con fiebre reumática aguda (donde hay una sorprendente respuesta de fase aguda con inflamación, pero sin daño tisular necrotizante mediado por células T), los patrones de glicosilación son normales (122,162-163). La ausencia de agactosil IgG, sugiere que el incremento de esta glicofoma, es un indicador de la presencia de células T mediadoras del daño tisular necrotizante crónico seguido o acompañado por una respuesta de fase aguda (162). Además, la presencia de N-acetilglucosamina terminal o anticuerpos hacia esta molécula es rara en tejidos normales; pero abundante en la región reticular extracelular de las articulaciones en la artritis reumatoide, indicando la deposición en el estroma del tejido conectivo. La N-acetilglucosamina, también se ha encontrado en un patrón granular dentro de macrófagos y en una subclase de macrófagos encontrados tanto en la membrana y en el fluido sinovial (162).

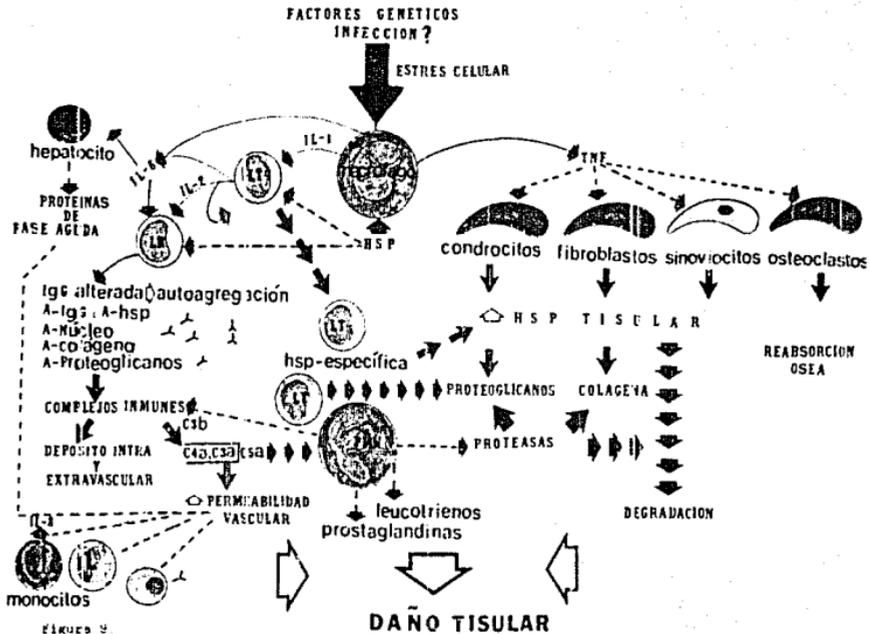
Por otra parte, el contenido de ácido siálico del factor reumatoide aislado de pacientes con artritis reumatoide es más bajo que en las IgG e IgM normales; lo cual sugiere que el metabolismo del ácido siálico está perturbado en esta enfermedad. Estos hallazgos indican que los residuos de carbohidratos influyen en la configuración de la molécula de IgG y sugieren un mecanismo enzimático para la génesis del factor reumatoide (156,162).

Hay dos mecanismos por los cuales los residuos terminales de ácido siálico de la IgG podrían determinar la vida media de la IgG en el plasma (153): uno en el que las asialo IgG exponen residuos de galactosa, los cuales podrían interaccionar con receptores específicos para galactosa en hepatocitos y de esta manera facilitar su remoción de la circulación y; otro en el que las asialo IgG podrían tener cambios configuracionales y con ello ser más susceptibles a la proteólisis. Tales moléculas de IgG podrían contribuir a la autoagregación o servir como inmunógenos en el huésped. A este respecto, cambios configuracionales en la molécula la hacen autoinmunogénica. Los mecanismos responsables de la alteración en el contenido de ácido siálico podrían ser explicados como una posible deficiencia de la actividad de sialil transferasa o un incremento en la actividad de la neuraminidasa en linfocitos B. Este último mecanismo, podría apoyar la hipótesis de la

etiología viral de la enfermedad (165), ya que ciertos virus del grupo de los mixo y paramixovirus contienen neuraminidasa endógena (165-166).

La figura 9 resume de manera esquemática la patogénesis de la artritis reumatoide basada en todo lo expuesto hasta ahora.

PATOGENESIS DE LA ARTRITIS REUMATOIDE



COMENTARIOS

Hasta la fecha, la patogénesis de las enfermedades autoinmunes no ha sido completamente elucidada. La pregunta central es ¿por qué las células del sistema inmune reaccionan contra órganos específicos del individuo ó contra moléculas comunes del organismo? o ¿Cómo células T potencialmente autorreactivas pueden existir sin producir una enfermedad autoinmune?

La delección clonal y la anergia han sido postuladas por muchos inmunólogos como dos mecanismos fundamentales responsables de la tolerancia inmunológica (119). Sin embargo, tales nociones de no reactividad no pueden explicar ciertos aspectos claves del comportamiento inmune: la dominancia inmunológica de antígenos microbiales que semejan los propios, la uniformidad de las enfermedades autoinmunes y la prevalencia de la autoinmunidad natural entre individuos sanos. La teoría del HOMUNCULUS INMUNOLOGICO (167) ha sido recientemente publicada como un principio unificador (figura 10).

Cohen propuso que la dominancia inmunológica de los antígenos propios puede ser explicada por las redes celulares. Esta hipótesis fue concebida después de la observación de que las respuestas inmunodominantes hacia la MBP (proteína básica de la mielina), la HSP65 y la insulina, están asociadas con la interacción de redes

HOMUNCULUS INMUNOLOGICO

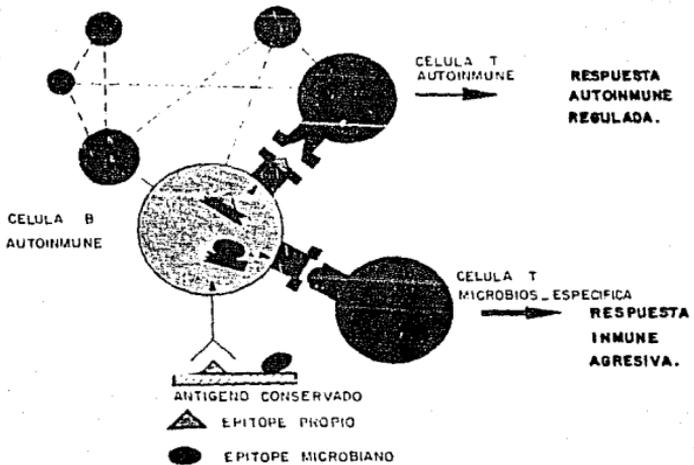


Figura 10:

(ref. 16)

de linfocitos previamente formadas. Las redes preformadas, también parecen estar involucradas en la familia de anticuerpos características del LES, de la miastemia gravis, y de otras respuestas mayores autoinmunes. La idea es que algunos, si no todos los autoantígenos mayores son verdaderamente dominantes porque cada uno de ellos está codificado en la estructura organizada del sistema inmune. Cada antígeno propio dominante es utilizado por una serie interactuante de células B y T que incluye células con receptores para el antígeno (antígeno-específicas) y células con receptores para receptores antígeno-específicos (anti-idiotipos). Algunas de estos linfocitos suprimen y otros estimulan. A causa de las conexiones mutuas en la red de linfocitos interactuantes, algunos linfocitos son activados aún sin el contacto con antígenos específicos en forma inmunogénica. El estado de la actividad autónoma definido por un patrón de linfocitos interconectados constituye una representación funcional de un antígeno propio en particular, alrededor del cual la red está organizada. En otras palabras, el antígeno propio está codificado dentro de un cohorte de linfocitos. El destino limitado de antígenos dominantes propios, cada uno codificado en una red celular, abarca el cuadro del sistema inmune de lo propio. Este cuadro fue denominado

homúnculus inmunológico por su analogía con las redes neurales en el sistema nervioso central. El homúnculus inmunológico, compuesto de redes inmunes centradas alrededor de pocos antígenos propios relativamente seleccionados, codifica la dominancia de estos antígenos; los cuales son dominantes porque la respuesta hacia ellos está ya anticipada por redes de linfocitos formadas previamente.

Independientemente de la ontogenia y especificidad del homúnculus inmunológico, las ventajas en la dominancia inmunológica que este genera, son triples:

1. Inherente al principio y fin del repertorio del sistema inmune, esencialmente es el caos - la capacidad de responder a todo-. Para procesar la información y distinguir señales, el sistema inmune, al igual que el sistema nervioso, hace uso de categorías predeterminadas. Al codificar la dominancia inmunológica, el homúnculus inmunológico permite al sistema inmune intervenir con moléculas propias eficientes y predecibles. Todos los órganos en el cuerpo parecen tener sus antígenos dominantes propios que pueden captar o atraer cualquier respuesta errante autoinmune hacia ellos mismos.

2. La dominancia de los pocos antígenos propios seleccionados, ciega el sistema a muchas otras moléculas propias competidoras y así crea tolerancia propia hacia estos antígenos propios recesivos por pasar

inadvertidos pasiva y automáticamente. El sistema ahorra la necesidad de tolerar activamente el enorme número de posibles epitopes en todos los posibles antígenos propios - un logro inasequible, que si fuese alcanzado, podría dejar al sistema con muy poco repertorio para la defensa contra partículas extrañas.

3. El último beneficio del homúnculus inmunológico es que este conecta la dominancia inmunológica al control inmunológico. Las moléculas propias escogidas, captadas, las respuestas autoinmunes son precisamente aquellas para las cuales las redes reguladoras ya existían. Los elementos regulatorios canalizan la respuesta autoinmune hacia vías controladas que previenen el desarrollo de la enfermedad. Como resultado, la respuesta autoinmune es graduada, custodiada y a menudo transitoria. Por ejemplo, mientras una respuesta agresiva inmune no regulada hacia miosina cardíaca da lugar a una fatal miocarditis autoinmune con infarto de miocardio; en la gran mayoría de los pacientes hay una respuesta autoinmune regulada transitoria e inofensiva hacia miosina.

Según esta teoría, es factible suponer que el reto constante del sistema inmune frente a proteínas codificadas dentro del homunculus inmunológico (en este caso HSP65), podría ser una de las causas para que células pertenecientes a las redes reguladoras del sistema inmune sean hiperactivadas y se rompa la

tolerancia inmunológica dando lugar a la enfermedad autoinmune. Este hecho sumado a la predisposición genética del individuo, a factores hormonales y ambientales podría favorecer la perpetuación del proceso inflamatorio.

Por otra parte, es sabido que los procesos infecciosos pueden causar o exacerbar enfermedades reumáticas por muchas vías; incluyendo reactividad inmune cruzada entre HSP bacteriales y proteínas similares en tejidos humanos normales. Dicha exacerbación podría ser explicada por la presencia de proteínas de microorganismos homólogas al tejido propio que reactivaran procesos autoinmunes. Es posible que la memoria inmunológica para determinantes de reacción cruzada con proteínas conservadas sea generada tempranamente y luego periódicamente reactivada por infecciones subsecuentes. En base a los resultados experimentales, resulta atractivo asumir que el incremento de la expresión de las moléculas en la superficie de las células es responsable de alguna manera de la presencia y aún de la activación de células T reactivas. Si así es, es probable que tales células sean el factor en la perpetuación y aún de la expansión del proceso inflamatorio en la artritis reumatoide. En tal escenario de eventos podría asumirse que la intervención inmunológica específica de células T sería explotada por la naturaleza antígeno específica de las HSP; las cuales servirían como agentes inductores y

moduladores de la enfermedad a través de la infección por microorganismos o como amplificadores del proceso inflamatorio como resultado del incremento en la expresión de HSP propia. La universalidad de la respuesta al estrés y la antigenicidad de las HSP, hacen pensar que la artritis reumatoide es una enfermedad de múltiples etiologías de carácter infeccioso.

Si bien es cierto que los complejos inmunes no pueden explicar por sí solos la patogenicidad de la enfermedad; bien podrían servir de inductores en aquellos casos donde se incremente la producción de las agactosil IgG o de asialo IgG, como consecuencia de procesos infecciosos. Dicha producción daría lugar a la formación de complejos inmunes que a través de la activación de mecanismos como la fagocitosis y la activación del complemento conllevan a la amplificación del proceso inflamatorio por la liberación de enzimas y factores quimiotácticos; así como de autoantígenos producto de la desintegración de células y tejidos. Además, en el caso de que la deficiencia de galactosilación de la IgG y la alteración en la glicosilación de ciertos productos del MHC pudiera ser demostrada, dicho defecto podría explicar la predisposición genética a la enfermedad ligada al MHC (figura 8).

La abundancia de las HSP durante el estrés, la antigenicidad de la HSP65 y la reactivación de linfocitos T por proteínas homólogas al los tejidos del

huésped pueden contribuir a que las HSP sean el blanco de la respuesta inmune en muchas infecciones. Este modelo es particularmente atractivo ya que provee una vía por la cual el sistema inmune "explota" la existencia de epitopes conservados en las HSP con el fin de responder inmediatamente a patógenos antigénicamente diversos y a cambios celulares; así, la defensa inicial podría ser producida sin necesidad de desarrollar inmunidad a antígenos nuevos. En vista de lo anterior, la respuesta inmune hacia las HSP podría proveer una protección a nivel general durante el establecimiento de la flora microbiana en la mucosa y la piel durante los primeros años de vida; lo cual explicaría la observación que de todos los individuos infectados con gérmenes patógenos solo una fracción progresa a la enfermedad clínica (64).

¿ Como puede el sistema inmune iniciar una respuesta sustancial contra tales proteínas altamente conservadas sin el riesgo de autoinmunidad? Definitivamente el riesgo es un hecho; sin embargo, las evidencias sugieren que el beneficio de una respuesta anti-HSP propias puede ser mucho mayor que la propia autoinmunidad. Sobretodo es factible suponer, que los pacientes con infecciones recidivantes no tratadas, presentan un riesgo potencial para las enfermedades autoinmunes.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Ritosa, F. (1962). A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 18:571-573
- 2 Ritosa, F. (1964). Experimental activation of specific loci in polytene chromosomes of *Drosophila*. *Exp. Cell. Res.* 35: 601-607
- 3 Jamrich, H., Greenkaf, A.L., and Bautz, E.K.F. (1977). Localization of RNA polymerase in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74:2079-2083
- 4 Lee Compton, J., McCarthy, B.J. (1978). Induction of the *Drosophila* heat shock response in isolated polytene nuclei. *Cell* 14: 191-201
- 5 Ashburner, M., Ecner, J. (1979). The induction of gene activity in *Drosophila* by heat shock. (Review). *Cell* 17:241-254
- 6 Tissieres, A., Mitchell, H.K., Tracey, U.M. (1974). Protein synthesis in salivary glands of *D. melanogaster*. Relation to chromosome puffs. *J. Mol. Biol.* 84: 389-398
- 7 Craig, E.A. (1985). Crit. The heat shock response. *Crit. Rev Biochem.* 18:239-280
- 8 Sciandra, J.J., Subject, J.R., Hughes, C.S. (1984). Induction of glucosa-regulated proteins during anaerobic exposure and of heat-shock proteins after reoxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 4843-4847
- 9 Lewis, M.J., Pelham, H.R. (1985). Involvement of ATP in the nuclear and nucleolar functions of the 70Kd heat shock protein. *EMBO J.* 4:3137-3145
- 10 Lindquist, S. (1986). The heat-shock response. *Ann. Rev. Biochem.* 55: 1151-1191
- 11 Ellis, R.J. (1987) Proteins as molecular chaperones. *Nature* 328: 378-379
- 12 Pelham, H. (1988) Coming in from the cold. *Nature* 332:776-777

- 13 Lindquist, S., and Craig, E.A. (1988). The heat-shock proteins. *Ann. Rev. Genet.* 22: 631-677
- 14 Hemmingsen, S.M., Woolford, C., Ellis, J.R. et al. (1988). Homologous plant and bacterial proteins chaperone oligomeric protein assembly. *Nature* 333: 330-334
- 15 Ellis R.J., Van der Vies S.M., Hemmingsen S.M. (1989). The molecular chaperones concept. *Biochemical soc. Symp.* 55: 145
- 16 Welch WJ, Mizzen LA, Arrigo AP. (1989). Stress-induced proteins. *Mol. Cell. Biol.* 9: 197-202
- 17 Alvarez O.O., Palacios B.A. (1991) Las proteínas de choque térmico. Su importancia Clínica. *Rev. Invest. Clin.* 43: 195-201
- 18 Chappell, T.G., Konforti, B.B., Schmid S.L., Rothmann, J.E. (1987). The ATPase core of a Clathrin uncoating protein. *J. Biol. Chem.* 262: 746
- 19 McKay, D. b. (1991). Structure of the 70-Kilodalton heat-shock-related proteins. *Springer Semin. in Immunopathol.* 13: 1-9
- 20 Flaherty, K.M., DeLuca-Flaherty C., McKay, D.B. (1990). Three-dimensional structure of the ATPase fragment of a 70-kilodalton heat shock cognate protein. *Nature* 346: 623-628
- 21 Beckmann R.P., Mizzen L.A., Welch W.J. (1990). Interaction of HSP70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. *Science* 248: 850-854
- 22 Lutz N. (1990). Molekulare Zellbiologie der Hitzestressantwort. Teil I. *Naturwissenschaften* 77: 310-316
- 23 Subject J., Shen J., Johnson K. (1983). Association between the mammalian 110,000 dalton heat-shock protein and nucleoli. *J. Cell Biol.* 97: 1389-1395
- 24 Shyy, T.T., Subject, J.R., Heinaman, R., et al. (1986). Effect of growth state and heat-shock on nucleolar localization of the 110,000-Da heat-shock protein in mouse embryo fibroblasts. *Cancer Res.* 46: 4735-4745
- 25 VanEgelen, R.A., Neidhardt, F.C. (1990). Ribosomes as sensors of heat and cold shock in *Escherichia coli*. (1990). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87: 5583-5593

- 26 Nover, L., Munshé, D., Neumann, D., et al. (1988). Control of ribosome biosynthesis in plant cell cultures under heat-shock conditions. *Ribosomal RNA. Eur. J. Biochem.* 160: 297-304
- 27 Csermely, P., Kahn, C.R. (1991) *J. Biol. Chem* 266: 4943-4950
- 28 Shuh, S., Yonemoto, W., Brugget, J., et al. (1985). A 90000-Dalton binding protein common to both steroid receptors and Rous-sarcoma-virus transforming protein pp60 v-src. *J. Biol. Chem.* 260: 14292-14296
- 29 Courtneidge, S.A., Bishop, J.M. (1982). Transit of pp60 v-src to the plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79: 7117-7121
- 30 Abdel-Ghany, M., Gendy, K., Zhang, S., Racker, E. (1990). Control of src Kinase activity by activators, inhibitors, and substrate chaperones. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87: 7061-7065
- 31 Walker, A., Hunt, T., Jackson, R., Anderson, C. (1985). Double stranded DNA induces the phosphorylation of several proteins including the 90000 mol wt heat shock protein in animal cell extracts. *EMBO J.* 4: 139-145
- 32 Rose, D.W., Wettenhall, R.E., Kudlicki, W. (1987). The 90-Kilodalton peptide of the heme-regulated eIF-2 α kinase has sequence similarity with the 90-Kilodalton heat shock protein. *Biochem.* 26: 6593-6597.
- 33 Baulieu, E.E., Binart, N., Cadepond, F., Catelli, M.G. et al. (1990). Are receptor-associated nuclear proteins associated with the earliest effects of steroid hormones?. *Rev. Esp. Fisiol.* 46:17-29
- 34 Baulieu, E.E. (1987). Steroid hormone antagonists at the receptor level: a role for the heat shock protein MV 90.000 (hsp90). *J. Cell. Biol.* 35:161-174
- 35 Bardwell, J.C.A., Craig, E.A. (1987). Eukaryotic Mr 82,000 heat shock protein has a homologue in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84: 5177-5181
- 36 Picard, D., et al. (1990). Reduced levels of hsp90 compromise steroid receptor *in vivo*. *Nature* 348: 160-168
- 37 Groyer, A. et al. (1987). Antiglucocorticosteroid effects suggest why steroid hormone is required for receptors to bind DNA *in vivo* but not *in vitro*. *Nature* 328:624-626

- 38 Sanchez, E.R., Faber, L.E., Henscl, W.J., Pratt, W.B. (1990). The 56-59-Kilodalton protein identified in untransformed steroid receptor complexes is a unique protein that exist in cytosol in a complex with both the 70- and 90-Kilodalton heat shock proteins. *Biochemistry* 29(21): 5145-5152
- 39 Sanchez, E.R. (1990). HSP56: a novel heat shock protein associated with untransformed steroid receptor complexes. *J. Biol. Chem.* 265(36): 22067-22070
- 40 Ferris D.K., Harel B.A., Morimoto R.I., et al. (1988). Mitogen and lymphokine stimulation of heat shock proteins in T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85: 3850-3854
- 41 Nishida, E., Koyasu, S., Sakai, H. et al. (1986). Calmodulin-regulated binding of the 90-KDa heat shock protein to actin filaments. *J. Biol. Chem.* 261: 16033-16036
- 42 Pelham H.R.B. (1986). Speculations on the functions of the major heat shock and glucose-regulated proteins. *Cell* 46: 959-961
- 43 Gething, M.-J., Sambrook, J. (1992). Protein folding in the cell. *Nature* 358: 33-45
- 44 Mizzen, L.A., Kabiling, A.N., Welch, W.J. (1991). The two mammalian mitochondrial stress proteins, grp75 and hsp58, transiently interact with newly synthesized mitochondrial proteins. *Cell. Regul.* 2(2): 165-179
- 45 Winfield JS. (1989) Stress proteins, arthritis, and autoimmunity. *Arthr. and Rheum.* 32: 1497-1504
- 46 Sargent, C.A., Dunham, I., Trowsdale, J., Campbell, R.D. (1989). Human major histocompatibility complex contains genes for the major heat shock protein HSP70. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86: 1068-1072
- 47 Welch, W.J., Feramisco, J.R. (1984). Nuclear and nucleolar localization of the 72,000-Da heat shock in heat shocked mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 259: 4501-4513
- 48 Welch, W.J., Mizzen, L.A. (1988). Characterization of the thermotolerant cell. II Effects on the intracellular distribution of hsp70, intermediate filament, and small nuclear ribonucleoprotein complexes. *J. of Cell Biol.* 106: 1117-1130

- 49 DeLuca Flaherty, C. McKay, D.B., Parham, P., Hill, B.L. (1990). Uncoatin protein (hsc) binds a conformationally labile domain of clathrin light chain LCa to stimulate ATP hidrolysis. *Cell* 62: 875-887
- 50 Brodsky, F.M. (1988). Living with clathrin: its role in intracellular membrane traffic. *Science* 242: 1396-1402
- 51 Nathke, I., Hill, E., Parham, P., and Brodsky, F.M. (1990). The calcium binding site of clathrin light chains. *J. Biol. Chem.* 264: 15210-15215
- 52 Hopkins, C.R., Gibson, A., Shipman, M., Miller, K. (1990). Movement of internalized ligand-receptor complexes along a continuous endosomal reticulum. *Nature* 346: 335-339
- 53 Green D.L.A., Liem, R.K.H. (1989). Beta-Internexin is a Microtubule-associated protein identical to the 76-KDa Heat-shock cognate protein and the Clathrin uncoating ATPase. *J. of Biol. Chem.* 264: 15210-15215.
- 54 Clarke, C.H., Cheng, K., et al. (1988). Purification of complexes of nuclear oncogene p53 with rat and *Escherichia coli* heat shock proteins: in vitro dissociation of hsc70 and DnaK from murine p53 by ATP. *Mol. Cell. Biol.* 8: 1206-1215
- 55 Haas, I.G., Wabel, M. (1983). Immunoglobulin heavy chain binding protein. *Nature* 306: 387
- 56 Rothman, J.E. (1989). Polypeptide chain binding proteins: catalysts of protein folding and related processes in cells. *Cell* 59: 591-601
- 57 Vanbuskirk, A., Crump, B.L., et al. (1989). A peptide binding protein having a role in antigen presentation is a member of the HSP70 heat shock family. *J. Exp. Med.* 170: 1793-1809
- 58 Adorini, L. (1990). Antigen presentation and self-nonsel discrimination. *Clin. Immun. and Immunopat.* 55: 327-336
- 59 Weaver, C.T., Unanue, E.R. (1990). The costimulatory function of antigen-presenting cells. *Immun. Today* 11: 49-51
- 60 Rees, A.D.M., Donat, Y., Lombardi, G., Lamb, J., Pella, B., Lechler, R. (1991). Stress-induced modulation of antigen-presenting cell function. *Immunol.* 74:386-392

- 61 Kang, P.-J., Ostermann, J., et al. (1990). Requirement for hsp70 in the mitochondrial matrix for translocation and folding of precursor proteins. *Nature* 348: 137-143
- 62 Munk, M.E., Shoel, B., Modrow, S. et al. (1989). T Lymphocytes from healthy individuals with specificity to self-epitopes shared by the mycobacterial and human 65KDa heat Shock protein. *J. of Immun.* 143: 2844-2849
- 63 Shinnick, T.M., Vodkin, M.H. and Williams, J.L. (1983). The *Mycobacterium tuberculosis* 65-kilodalton Antigen is a heat shock protein which corresponds to common antigen and to the *Escherichia coli* GroEL protein. *Infect. Immun.* 56: 446-451
- 64 Young, R.A., Ellinoit, T.J. (1989). Stress proteins, Infection and Immune Surveillance. *Cell* 59: 5-8
- 65 Lamb, J.R., Eal, V., Mendes-Samperio, P., et al. (1989). Stress proteins may provide a link between the immune response to infection and autoimmunity. *Int. Immunol.* 1: 191-196
- 66 Deshaies, R.J., Koch, B.D., et al. (1983). A subfamily of stress proteins facilitates translocation of secretory and mitochondrial precursor polypeptides. *Nature* 322: 306-305
- 67 Cheng, M.Y., Ulrich, F. et al. (1990). The mitochondrial chaperonin is required for its own assembly. *Nature* 348: 455-458
- 68 Sanders MM. (1981). Identification of histone H2b as a heat-shock protein in *Drosophila*. *J. Cell. Biol.* 91: 579- 583
- 69 Tan, E.M., Can, E.K., et al. (1988). Antinuclear antibodies (ANAs): diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 47: 121-141
- 70 Bend, U., Schlesinger, M.J. (1985). Ubiquitin is a heat shock protein in chicken embryo fibroblasts. *Mol. Cell. Biol.* 5: 949-956
- 71 Behlke, J., Lutsch, G., Gaestel, M., Bielka, H. (1991). Supramolecular structure of the recombinant murine small heat shock protein hsp25. *FEBS* 288: 119-122
- 72 Gaestel, M., Schoder, W., Benndorf, R. et al. (1991). Identification of the phosphorylation sites of the murine small heat shock protein hsp25. *J. Biol. Chem.* 266(22): 14721-14724

- 73 Walch, W., Minzen, L.A. (1988). Characterization of the termotolerant cell. *J. of Cell Biology* 106: 1117-1130
- 74 Hurst, N.P. (1990). Stress (heat shock) proteins and rheumatic disease. *Rheumatol. Int.* 9: 271-276
- 75 Plesofsky-Vig, N., Brambl, R. (1990) Gene sequence and analysis of hsp30, a small heat shock protein of *Neurospora crassa* which associates with mitochondria. *J. Biol. Chem.* 265: 15432-15440
- 76 Mairesse, N., Delhaye, M., Galand, P. (1990). Enhanced expression of a 27 KD protein during diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 170: 908-914
- 77 Zimmerman, L.H., Levine, R.A., Farber, H.W. ((1991). Hypoxia induces a specific set of stress proteins in cultured endothelial cells. *J. Clin. Invest.* 87(3): 904-914
- 78 Heacock, C.S., Sutherland, R.M. (1990). Enhanced synthesis of stress proteins caused by hypoxia and relation to altered cell grow and metabolism. *J. cancer* 62(2): 217-225
- 79 Nandan, D., Ball, E.H., Sanwal, B.D. (1990). Two stress proteins of the endoplasmic reticulum bind denatured collagen. *Biochem. Cell Biol.* 68(7-8): 1057-1061.
- 80 Mascagnii, P., Tonolo, M., et al. (1991) Chemical synthesis of 10 kDa chaperonin. *FEBS* 296: 201-203
- 81 Finley, D., Crechanover, A., Varshavsky, A. (1984). Thermolability of ubiquitin-activating enzyme from mammalian cell cycle mutant ts85. *Cell* 37: 43-55
- 82 Kaufmann H.E. (1990) Heat shock proteins and the immune response. *Immunology Today* 11: 129-135
- 83 Kaufmann, S.H.E. (1990). Heat-shock proteins: a missing link in the host-parasite relationship?. *Med. Microbiol. Immunol.* 179: 61-68
- 84 Nover, L. (1990). Molekulare Zellbiologie der Hitze stressantwort. Teil II. *Naturwissenschaften* 77: 359-365
- 85 Erickson, J.M., and C.A. Gross. (1989). Identification of the sigma-E subunit of *E.coli* RNA-polymerase: a second alternate sigma factor involved in high-temperature gene expression. *Genes Dev.* 3: 1462-1471

- 86 Grossman, A.D., Erickson, J.W., et al. (1984). The htpK gene of Escherichia coli is a sigma factor for heat shock promoters. *Cell* 28: 282-290
- 87 Landick, R., Vaughn, V., Lau, E.T., et al. (1984). Nucleotide sequence of the heat shock regulatory gene of Escherichia coli suggest its protein product maybe a transcription factor. *Cell* 38: 175-182
- 88 Theodorakis, N.G., Horimoto, R.I. (1987). Posttranscriptional regulation of hsp70 expression in human cells: effects of heat shock, inhibition of protein synthesis, and adenovirus infection on translation and mRNA stability. *Mol. Cell Biol.* 7: 4357-4369
- 89 Yost, H.J., Lindquist, S. (1986). RNA splicing is interrupted by heat shock proteins synthesis. *Cell* 45: 185-193
- 90 Welch, W.J., Suhan, J.P. (1985). Morphological study of the mammalian stress response: characterization of changes occurring in intracellular membranous organelles, cytoskeletal elements, nucleus and nucleoli and appearance of intranuclear actin containing inclusion bodies in rats fibroblasts following heat-shock. *J. Cell. Biol.* 101: 1199-1211
- 91 Welch, W.J., Kang, H.S., Beckmann, R.P., Mizzen, L.A. (1991). Response of mammalian cells to metabolic stress: changes in cell physiology and structure/function of stress proteins. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 167: 31-35
- 92 Martinez, H., Freedman, S.J. et al. (1990). The expression of c-fos, c-jun, and c-myc genes is regulated by heat shock in human lymphoid cells. *J. of Immun.* 144: 4835-4840
- 93 Johnson, K., Dougan, G., Pickard, D. et al. (1991). The role of a stress-response protein in Salmonella typhimurium virulence. *Mol. Microbiol.* 5(2): 401-407
- 94 Fields, P.I., Swanson, R.V., et al. (1986). Mutans of Salmonella typhimurium that cannot survive into the macrophage are virulent. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 5189-5192
- 95 Ensgraber, M., Loos, M. (1992). A 66-Kilodalton heat shock protein of Salmonella typhimurium is responsible for binding of the bacterium to intestinal mucus. *Infect. and Imm.* 3072-3078

- 96 Benkirane, R., Guinet, R., Delaunay, T. (1992). Purification and immunological studies of the cross-reaction between the 65-KDa gonococcal parietal lectin and an antigen common to a wide range of bacteria. *Infect. and Imm.* 3468-3471
- 97 Tsoukas, C.D. (1984). 1,25-Dihydroxyvitamin D3: A Novel Immunoregulatory Hormone. *Science* 224: 1438-1439
- 98 Pella B.S. (1988) A role for heat shock proteins in inflammation? *Immunology Today* 1988, 9: 134-137
- 99 Smith, M.B., Ramsburg, E.A., et al. (1992). Components of the protein kinase C pathway induce Ia expression after infection into macrophages. *J. of Immunol.* 149 (4):1304-1310
- 100 Babior, B.M. (1978). Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *New England J. of Med.* 659-668
- 101 Born, W., Hall, L., Dallas, A., Boymel, J. et al. (1990). Recognition of a peptide antigen by Heat Shock-reactive gamma delta T lymphocytes. *Science* 249: 67-69
- 102 O'Brien, R.L., Happ, M.P., Dallas, A., et al. (1989). Stimulation of a major subset of lymphocytes expressing T cell receptor gamma-delta by an antigen derived from *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell* 57: 667-674
- 103 Oldstone, M.B.A. (1987). Molecular Mimicry and Autoimmune Disease. *Cell* 50: 819-820
- 104 Estrada G.I. (1991). Proteínas de choque térmico y autoinmunidad. *Rev. Mex. de Reumatol.* Vol. 6, supl.1: 22-27
- 105 Shoenfeld Y, Isenberg David. The mosaic of autoimmunity. Ed. Elsevier, Amsterdam, 1989; Vol 12: 374-376
- 106 Lakomek, H.J., Will, M., et al. (1984). A new serologic marker in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 27: 961-967
- 107 Minota, S., Cameron, B., Welch, W.J. (1988). Autoantibodies to the constitutive 73-KDa member of the hsp70 family of heat shock proteins in systemic lupus erythematosus. *J. Exp. Med.* 168:1475-1480
- 108 Smiley, J.D., Hoffman, W.L. (1991). The role of infections in the rheumatic diseases: molecular mimicry between bacterial and human stress proteins?. *Ann. J. Med. Sci.* 301(2): 138-149

- 109 Mazier, D., and Mattei, D. (1991). Parasite heat-shock proteins and host responses: the balance between protection and Immunopathology. Springer Semin Immunopathol. 13: 37-53
- 110 Young, D.B., Garbe, T.R. (1991). Heat shock proteins and antigens of Mycobacterium tuberculosis. Infect. Immun. 59: 3036-3093
- 111 Goff, S.A., Goldberg, A.L. (1985). Production of abnormal proteins in E. coli stimulates transcription of lon and other heat shock genes. Cell 41: 527-595.
- 112 Parsot, C., Mekalanos, J.J. (1990). Expression of ToxR, the transcriptional activator of the virulence factors in Vibrio cholerae, is modulated by the heat shock response. Proc. Natl. Acad. Sci. 87: 9898-9902
- 113 Sorge, P., Lewis, M.J., Pelham, H.R.B. (1987). Heat shock factor is regulated differently in yeast and HeLa cells. Nature 329: 81-84
- 114 Sipos, A., Klocke, M., Frosch, M. (1991). Cloning and sequencing of the genes coding for the 16- and 66-KDa heat shock proteins from Mycobacterium leprae and mapping of a species-specific epitope. Infect. and Immun. 59: 3212-3226
- 115 Anfinsen, C. B. (1973). Principles that govern the folding of protein chains. Science 181: 223-250
- 116 Lehninger, A.L. Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular. Ed. Omega, ed. segunda, Barcelona. 1989, pp.749
- 117 Phillips, G.J., Silhavy, T.J. (1990) Heat-shock proteins DnaK and GroEL facilitate export of LacZ hybrid proteins in E. coli. Nature 344: 382-384
- 118 Michalek, M.T., Benacerraf, B., Rock, K.L. (1992). The class II MHC-restricted presentation of endogenously synthesized ovalbumin displays clonal variation, requires endosomal/lysosomal processing, and is upregulated by heat shock. J. of Immunol. 148: 1016-1024
- 119 Von Boehmer, H., Kisielow, P. (1991). How the Immune System learns about self. Scientific American. October 50-57
- 120 Joslin, G., Hafeez, W., Perlmutter, D.H. (1991). Expression of stress proteins in human mononuclear phagocytes. J. of Immunol. 147: 1614-1620

- 121 Kaufmann, S.H.E. (1991). Heat-shock proteins and pathogenesis of bacterial infections. Springer Semin. Immunopathol. 13: 25-36
- 122 Res, P., Thole, J., de Vries, F. (1991). Heat-shock proteins and autoimmunity in humans. Springer Semin. Immunopathol. 13: 81-99
- 123 Nover, L., Scharf, K-D., et al. (1989). Cytoplasmic heat shock granules are formed from precursor particles and are associated with a specific set of mRNAs. Molecular and Cellular Biology 9(3): 1333-1339
- 124 Harrison. Principios de medicina interna. Ed. Interamericana McGraw Hill, ed. 12. Vol. I: 145-146, 1991
- 125 Ciavarrà, R., Simeone, A. (1990). T Lymphocyte stress response. Cellular Immunol. 129: 363-376
- 126 Kantengwa, S., Donati, Y.R., Clerget, M. et al. (1991). Heat shock proteins: an autoprotective mechanism for inflammatory cells? Semin. Immunol. 3(1): 49-56
- 127 Mistry, Y., Young, D.B., Mukherjee, R. (1992). HSP70 synthesis in Schwann cells in response to heat shock and infection with Mycobacterium leprae. Infect. and Imm. 3105-3119
- 128 Stamm, L.V., Gherardini, F. C., et al. (1991). Heat shock response of Spirochetes. Infect. and Imm. 59: 1572-1575
- 129 Sokolovic, Z., Fuchs, A., Goebel, W. (1990). Synthesis of species-specific stress proteins by virulent strains of Listeria monocytogenes Infect. and Imm. 58(11): 3582-3587
- 130 Nomoto, K., Yoshikai, Y. (1991). Heat-shock proteins and immunopathology: regulatory role of heat-shock protein-specific T cells. Springer semin. Immunopathol. 13: 63-80
- 131 Rajasekar, R., Sim, G-K., Andrei, A. (1990). Self heat shock and gamma delta i-cell reactivity. Proc. Natl. Acad. Sci. 87: 1767-1771
- 132 Engman, D.M., et al. (1989). Comparison of hsp 70 genes from two strains of Trypanosoma cruzi. Mol. Biochem. Parasitol. 37: 285

- 133 Doherty, P., Allan, W., et al. (1991). Heat-shock proteins and the T cell response in virus infections: implications for autoimmunity. Springer Semin. Immunopathol. 13: 11-24
- 134 Masaharu, O., Marceu, H., Perry, G., Manetto, V., Pierluigi, G. et al. (1988). Ubiquitin is present on the cytokeratin intermediate filaments and mallory bodies of hepatocytes. Lab. invest. 59: 843-856
- 135 Bizzi, A., Schaetzle, B., Patton, A., et al. (1991). Axonal transport of two major components of the ubiquitin system: free ubiquitin and ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase PGP 9.5. Brain Res. 543(1-2): 292-299
- 136 Rashi, O., Pappolla, M., et al. (1990). Immunocytochemical detection of the 70 Kd heat shock protein in alcoholic liver disease. Arch. Pathol. Lab. Med. 114: 589-592
- 137 Alvarez, K., Carrillo, A., Yuan P.M., Kawano, H., Morimoto, R.I. et al. (1990). Identification of cytosolic peroxisome binding proteins as a member of the heat shock protein HSP70 family. Proc. Natl. Acad. Sci. 87: 5293-5297
- 138 Lamb, J.R., Young, E.D. (1990). T cell recognition of stress proteins. A link between infectious and autoimmune disease. Mol. Biol. Med. 7(4): 311-321
- 139 Van Eden, W. (1991). Heat-shock proteins as immunogenic bacterial antigens with the potential to induce and regulate autoimmune Arthritis. Immunol. Rev. 121:4-28.
- 140 Van Eden W., J.E.R. Thole, Noordsij, A., van Embden, D.A., Hansen, E.G., Cohen, I.B. (1988). Cloning of the mycobacterial epitope recognized T lymphocytes in adjuvant arthritis. Nature 331:171-175
- 141 Van Eden W., Holoshitz, J., Nevo Z et al. (1985) Arthritis induced by a T-lymphocyte clone that responds to Mycobacterium tuberculosis and the cartilago proteoglycans. Proc Natl Acad Sci (USA); 82: 5117-5120
- 142 Van Eden, W., Hogervorst, E.J.M., Van der Zee, R., et al. (1989). The mycobacterial 65KD heat-shock protein and autoimmune arthritis. Rheumatol. Int. 9: 187-191
- 143 Koga, T., Wand-Wuertenberger, A., DeBruyn, J. et al. (1989). T cells against a bacterial Heat Shock Protein recognize stressed macrophages. Science 245: 1112-1115

- 144 Karlsson-Parra, A., Soederstroem, K. et al. (1990). Presence of Human 65 KD Heat Shock Protein in Inflamed Joints and Subcutaneous Nodules of RA patients. *Scand. J. Immunol.* 31: 293-288.
- 145 Finger, R.W. (1991). Heat-shock proteins, and gamma-delta T cells. *Springer Semin. Immunopathol.* 13: 55-62
- 146 Feige, U., Cohen, I.R. (1991). The 65-KDa heat-shock protein in the pathogenesis, prevention and therapy of autoimmune arthritis and diabetes mellitus in rats and mice. *Springer Semin. Immunopathol.* 13: 99-113
- 147 Bowen-Jones, D. (1992). Diabetes and heat shock protein. *Nature* 355: 119-120.
- 148 Hughes, R.A. (1989). Referent to T-cell vaccines. *Br. J. of rheumatol.* 28(5):439
- 149 McCarty, D.J. *Arthritis and Allied Conditions*. Ed. Lea & Febiger, ed. 9, pp 417-580, 1979
- 150 Harrison, J.D. *Principios de Medicina Internas*. Ed. Interamericana, ed. 12, Vol. II, pp 1664-1671, 1991
- 151 Smiley, J.D., Hoffman, W.L. (1991). The role of infections in the rheumatic diseases: molecular mimicry between bacterial and human stress proteins?. *Am. J. Med. Sci.* 301(2): 138-149
- 152 Inman, R.D. (1991). Infectious etiology of Rheumatoid arthritis. *Pediatric Rheumatol.* 17: 859-870
- 153 Casburn-Budd, R., Youinou, P., Heger, H. et al. (1992). Atrialyated IgG in the serum and sinovial fluid of patients with Rheumatoid Arthritis. *J. of Rheum.* 19(7): 1070-1074
- 154 Axford, J.S., Lydyard, P.M. et al. (1987). Reduced B-cell galactosyltransferase activity in rheumatoid arthritis. *Lancet* 2: 1486-1488
- 155 Mullinax, F., Humes, A.J. (1976). Molecular site and enzymatic origin of IgG galactose deficiency in RA and LES. *Arthr. Rheumat.* (abstrat) 19: 813
- 156 Firestein G., Zvaifler N. (1987). The pathogenesis of rheumatoid arthritis, in immunology of rheumatic diseases, DS Pisetsky et al (eds). *Rheumatic Dis. Clin. North Am.* 13: 447.

- 157 Holoshitz, J., Koninx, P., Celligan, J.E., et al. (1989). Isolation of CD4- CD8- mycobacteria reactive T lymphocytes clones from rheumatoid arthritis sinovial fluid. *Nature* 339: 226
- 158 Zhang G.Y., Hammerberg, C., Beldassare, J.J., et al. (1992). Retinoic acid and phorbol ester synergistically up-regulate IL-8 expression and specifically modulate protein kinase C-epsilon in human skin fibroblasts. *J. of Immunol.* 149(4): 1402-1408
- 159 Kingsley, G. (1989). Glycosylation defects and inflammatory disease. *Br. J. of rheumat.* 28(5):420-432
- 160 Young, D.B., Ivanyi, J., Cox, J.H., et al. (1987). The 56kDa antigen of mycobacteria a common bacterial protein?. *I. Today* 9: 215
- 161 Yuuki, H., Yoshikai, Y. et al. (1990). Clonal anergy in self-reactive alpha/beta T cells is abrogated by heat-shock protein-reactive gamma/delta T cells in aged athymic nude mice. *Europ. J. Immunol.* 20 (7): 1475-1482
- 162 Firekx, R.B., Dwek, R.A., et al. (1985). Association of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis with changes in the glycosylation pattern of total serum IgG. *Nature* 316: 453-457
- 163 Fahr, G.H., Yousof, H.A.M., et al. (1990). Agalactosyl IgG, antibodies to heat shock proteins and acute rheumatic fever. *Ann. Rheum. Disease* 49: 323-386
- 164 Pope, R., Teiler, D., Mannik, M. (1974). The molecular basis of self association of antibodies to IgG (rheumatoid factors) in rheumatoid arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 71 (2): 517-521
- 165 Duc Dodon, M., Quash, G.A. (1981). The antigenicity of asialylated IgG: its relationship to rheumatoid factor. *Immunol.* 42: 401-408
- 166 Vag H. (1979). Rheumatoid arthritis, rheumatoid factor and the Epstein Barr virus. *J. Rheumat.* 6: 381-335
- 167 Cohen, I.R., Young, D.B. (1991). Autoimmunity, microbial immunity and the immunological Homunculus. *I. Today* 12:105-110

INDICE

	página
RESUMENES	6
INTRODUCCION	7
OBJETIVOS	10
DEFINICION	11
DESCRIPCION GENERAL	12
A. ESTRUCTURA	12
B. CLASIFICACION	15
C. FUNCION	16
1. FAMILIA HSP 110-kDa	16
2. FAMILIA HSP 90-kDa	17
3. FAMILIA HSP 70-kDa	21
4. FAMILIA HSP 60-kDa	23
5. FAMILIA HSP 20-kDa (sHSP)	28
6. FAMILIA HSP 8.5-kDa	31
BIOLOGIA MOLECULAR DE LA RESPUESTA AL ESTRES	34
IMPORTANCIA BIOLÓGICA	42
IMPORTANCIA BIOMÉDICA	55
ARTRITIS REUMATOIDE	74
A. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	
1. ARTICULARES	75
2. EXTRAARTICULARES	77
B. ETIOLOGÍA	79
C. PATOGENESIS	83
1. PAPEL DE LAS PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO EN LA ARTRITIS REUMATOIDE.	91
2. ASIALO IGG Y AGALACTOSIL IGG EN LA ARTRITIS REUMATOIDE.	
COMENTARIOS	105
HOMUNCULUS INMUNOLÓGICO	105
BIBLIOGRAFÍA	113