

BIOLOGIA DE LAS PROTEINAS DEL SHOCK TERMICO

SILVIA CORONATO, WANDA DI GIROLAMO, MARGARITA SALAS, OSVALDO SPINELLI, GRACIELA LAGUENS

Cátedra de Patología B, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata

Resumen Las proteínas del shock térmico (Hsp) constituyen una familia que se encuentra en forma constitutiva en todas las células pro y eucariotas. Cumplen diversas funciones fisiológicas: colaboran en la adquisición de la estructura terciaria de las proteínas en formación, interviniendo en su ensamble, translocación y secreción así como también en la degradación o reparación de proteínas anormales, actuando como *chaperonas* moleculares. Cuando las células son sometidas a distintos estímulos como el estrés del shock calórico, radiaciones, diversas drogas, infecciones virales, etc, las Hsp se sobreexpresan. De esta manera confieren protección a las células, volviéndolas resistentes a la apoptosis. Esta familia de proteínas comprende numerosos miembros que se agrupan según su peso molecular. En los seres humanos, las Hsp se expresan también en tejidos neoplásicos de ovario, endometrio, mama, aparato digestivo, etc. En algunos casos, la sobreexpresión está asociada a mal pronóstico de la enfermedad debido a que podría favorecer el proceso metastásico. Algunos autores las correlacionan tanto con la proliferación como con la diferenciación de los tejidos neoplásicos. Recientes estudios muestran su influencia en el desarrollo de la resistencia a drogas quimioterapéuticas. En enfermedades autoinmunes, como artritis reumatoidea, las Hsp pueden suprimir la respuesta inflamatoria. En otras enfermedades pueden resultar inmunógenas por sí mismas. Por consiguiente su papel en el sistema inmune aún no está bien definido.

Abstract *Biology of heat shock proteins.* Hsp (Heat shock proteins) are a family of constitutive proteins of all pro and eukariotic cells that play different physiological roles: they promote the folding (acquisition of tertiary structure) assembly, translocation and secretion of newly synthesized polypeptides and participate in the removal or repairing of denatured proteins acting as molecular chaperons. This family of proteins is composed by numerous members grouped according to their molecular weight. When cells are subjected to different stresses such as hyperthermic shock, radiation, toxins, viral infections, etc., Hsp are overexpressed. In this way, they exert a cytoprotective effect, making the cells resistant to apoptosis. In humans, Hsp are overexpressed in cancer cells from ovary, endometrium, breast, prostate, digestive tract, etc. In some cases, overexpression is correlated with an unfavorable outcome because these proteins could favour metastatic disease. Some authors associate them not only with proliferation but also with differentiation of the neoplastic tissue. Recent studies show their influence in resistance to chemotherapeutic drugs. In autoimmune diseases like rheumatoid arthritis, Hsp can suppress the inflammatory response. Nevertheless, their role in the immune system has not been well established.

Key words: heat shock protein, chaperons

Las proteínas del shock térmico (Hsp) pertenecen a una familia que se encuentra, en su mayor parte, en forma constitutiva en todas las células pro y eucariotas.

Frente a determinadas agresiones ambientales, los organismos reaccionan con un mecanismo de defensa celular que involucra la sobreexpresión de estas proteínas y la inducción de otras, de la misma familia, que no son constitutivas. Su función es minimizar los daños producidos por el estrés. Las células en cultivo responden de manera similar a cambios en su medio ambiente habitual o situaciones de estrés, iniciándose una respuesta que implica la síntesis de un conjunto de proteínas, conocidas bajo la común denominación de Hsp (*Heat shock*

proteins) o proteínas antiestrés. La denominación proviene del hecho que se detectaron inicialmente producidas por un estrés térmico en *Drosophila*¹. Por ejemplo, un cambio de alrededor de 5 °C superior a la temperatura normal de un cultivo celular desata la rápida síntesis de Hsp.

Su función es citoprotectora y se ejerce a través de mecanismos que analizaremos en esta revisión. Cuando el factor causante del estrés es eliminado del medio ambiente, las células continúan normalmente con su metabolismo. En cambio, si el estrés aumenta, la función protectora de las Hsp se ve sobrepasada deteniéndose su producción y activándose el programa de apoptosis².

Otros factores perjudiciales, como exposición a tóxicos, a metales pesados, a análogos de aminoácidos, hipoxia, etc., desencadenan un proceso similar. También la presencia de infecciones virales, estados febriles o

Recibido: 23-III-1999

Aceptado: 15-VI-1999

Dirección postal: Dra. Graciela Laguens, Cátedra de Patología B, Facultad de Ciencias Médicas, Calle 60 y 120, 1900 La Plata, Argentina
Fax: (54-0221) 425-8989

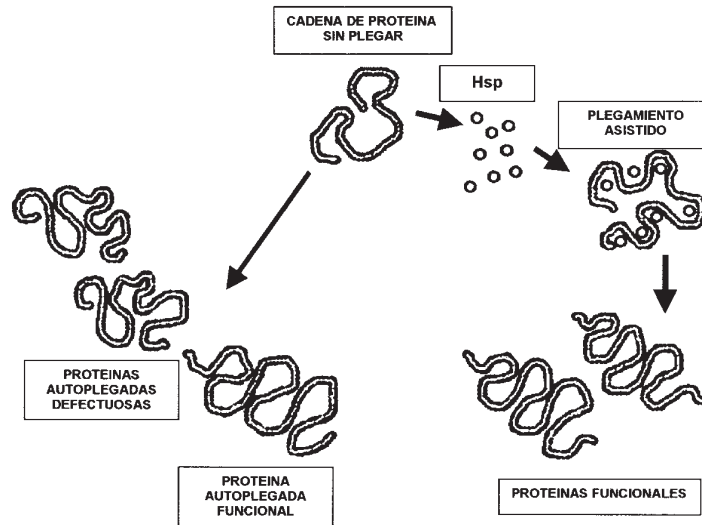


Fig. 1.- Plegamiento proteico asistido por Hsp

inflamatorios y la presencia de neoplasias, activan la producción de estas proteínas.

Las Hsp se encuentran entre las proteínas mejor conservadas filogenéticamente, con respecto a función y a estructura, cumpliendo un papel similar en todos los organismos: bacterias, levaduras, plantas y células animales³. Su ubicuidad, ha hecho que en un primer momento se las agrupara bajo el nombre genérico de ubiquitininas⁴.

Las células normales son capaces de expresar constitutivamente muchas proteínas antiestrés, que intervienen en procesos metabólicos esenciales como la síntesis, plegamiento y ensamblaje de otras proteínas. Los factores que aumentan la producción de las Hsp constitutivas son el proceso de mitosis, la acción de factores de crecimiento y procesos de diferenciación celular^{3, 5-8}.

El plegamiento de una proteína es el proceso por el cual la información lineal contenida en la secuencia de aminoácidos obtiene la conformación tridimensional típica de cada proteína funcional, siendo un proceso dependiente de ATP.

En años recientes se ha comprobado que para determinadas proteínas, este proceso requiere de la preexistencia de otras, denominadas chaperonas, que no formarán parte de la estructura final de la proteína funcional (Fig. 1).

El grupo de Hsp que no son constitutivas de la célula sino que son inducibles por estrés, cumple funciones de protección, que abarcan desde la eliminación de proteínas desnaturalizadas, hasta el aumento de la producción de otras proteínas requeridas por la célula.

La acumulación intracelular de proteínas desnaturalizadas o plegadas defectuosamente por efecto de una

situación de estrés, desencadena una respuesta que consiste en la producción de altos niveles de Hsp, que facilitan el reordenamiento de las proteínas defectuosas.

La rápida inducción de Hsp es debida a la activación del factor de transcripción (HSF1), que incrementa la actividad de los genes que codifican estas proteínas⁹. La mayor estabilidad del ARNm de las Hsp sería una respuesta adaptativa primaria temprana, que pudo haber contribuido a establecer mecanismos de defensa hacia distintos tipos de estrés¹⁰.

Hay múltiples vías que llevan a la restauración de la homeostasis celular en situaciones problemáticas, y la vía de las Hsp es uno de los mecanismos mejor caracterizados.

En células normales la interacción de las Hsp con otras proteínas en proceso de maduración es transitoria, pero en condiciones de estrés las Hsp permanecen unidas a ellas. Se cree que los distintos grupos de Hsp trabajan coordinados, para facilitar la formación de nuevas proteínas con mayor rapidez y precisión. Por eso, en una situación donde se desnaturalizan gran cantidad de proteínas que deben ser reemplazadas, el aumento de las Hsp acelera el ensamblado de las proteínas faltantes y también actúa reparando proteínas desnaturalizadas, o promoviendo su degradación.

Proteínas chaperonas

Se conoce con este nombre a aquellas proteínas que acompañan a otras proteínas estabilizando las formas inestables, actuando por medio de uniones y desunio-

nes controladas, facilitando el ensamblado, la correcta unión de oligómeros, su transporte a otro compartimento celular o la disposición para la degradación. Previenen interacciones incorrectas entre polipéptidos, aumentando el rendimiento de las reacciones de ensamblado aunque no su velocidad¹¹.

Una característica genérica de las proteínas *chaperonas*, es que involucran reacciones dependientes de ATP en los procesos en que actúan. La cooperación entre diferentes *chaperonas* crea una red sinérgica, para el plegamiento de las proteínas celulares que mantiene la homeostasis bajo condiciones no permisivas para los plegamientos espontáneos¹².

Funciones de las proteínas chaperonas

- Unión de las cadenas nascentes de polipéptidos a fin de lograr el retardo transitorio en su plegamiento hasta que la síntesis se complete.
- Establecimiento de la conformación adecuada de dichas cadenas, para su translocación a través de las membranas de las organelas.
- Impedimento de la agregación intermolecular o intramolecular.
- Transporte de metabolitos tóxicos para su degradación por proteosomas¹³.

Consecuencias celulares del estrés térmico y de la isquemia

Sabemos que el citoesqueleto celular está compuesto por una serie de estructuras proteicas poliméricas que forman microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios. Las proteínas implicadas son alfa-beta y gamma tubulinas, actina y centractina¹⁴.

El shock calórico y la isquemia interrumpen numerosos procesos metabólicos y rompen estructuras celulares, pudiendo culminar con la muerte cuando la injuria es intensa o sostenida. Los principales daños se detectan en el citoesqueleto con desorganización de la red, relocalización de las fibras de actina alrededor del núcleo, disrupción de los microtúbulos así como pérdida de mitocondrias y desensamblaje de la fosforilación oxidativa. Diferentes grupos de proteínas en diferentes localizaciones, son dañados sucesivamente hasta que la célula expuesta al estrés entra en necrosis. Sin embargo, sería suficiente la estabilidad de al menos uno de estos grupos de proteínas para evitar la muerte y este papel estabilizador es atribuido a las Hsp¹⁵.

El shock térmico no sólo induce síntesis de nuevas Hsp, sino también la fosforilación de las preexistentes o constitutivas y las formadas *de novo*. El tamaño de los oligómeros de Hsp aumenta, llevando a la formación de

estructuras superagregadas que se distribuyen dentro del núcleo o en localización perinuclear^{6, 13, 16}.

La fosforilación de las Hsp puede tener efectos inhibitorios o estimuladores sobre el crecimiento celular, dependiendo del estímulo empleado. Si se las estimula con calor, estrés oxidativo o factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el efecto de la fosforilación es inhibitorio del crecimiento. En cambio, la presencia de suero o la estimulación con mitógenos sobre cultivos celulares en condiciones de temperatura normal, da como resultado una estimulación. En ambas situaciones se fosforilan los mismos residuos de Hsp, lo que sugiere que actuaría la misma kinasa activada por dos mecanismos diferentes⁶.

Respuesta de las células al estrés

Se ha comprobado que si se somete a una célula a estrés, en pocos minutos del 15 al 25% de las proteínas intracelulares son Hsp. Distintos mecanismos causantes de estrés que conducen a la producción de proteínas anormales convergen en una misma vía, que lleva al aumento de los niveles de proteínas citoprotectoras, tendientes a disminuir o neutralizar los efectos deletéreos. Las células poseen mecanismos de señales muy sensibles. A través de la vía de activación de proteínas kinasas, se activa la transcripción de genes que codifican proteínas con función protectora¹⁰.

Por ejemplo, el estrés oxidativo lleva a la activación de Mapkap-2 (*mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2*) que una vez activada, fosforila a la Hsp27 y esta fosforilación induce modificaciones en su estructura oligomérica. Este paso podría ser la llave que modula la dinámica de los microfilamentos de actina¹⁷. Recientes estudios señalan que la familia de la PKC (*protein Kinase C*) contribuiría en la fosforilación de las Hsp¹⁸.

El estrés oxidativo induce profundas alteraciones en la red de microfilamentos, fundamentalmente iniciando un proceso de fragmentación de la F-actina que tiende a formar agregados alrededor del núcleo celular. El mecanismo de este proceso no está suficientemente aclarado, pero involucraría depleción de ATP, oxidación de grupo-SH de la actina y cruzamientos entre los filamentos¹⁰.

Tampoco está claro el papel protector de la Hsp27. *In vitro*, se comporta como una proteína que polariza a la F-actina y que inhibe su polimerización dependiente de la fosforilación. Se piensa que las modificaciones en la estructura de la Hsp27 producidas por su fosforilación, dan por resultado una menor eficiencia de unión a los segmentos finales de los microfilamentos de actina. La unión de la Hsp a los microfilamentos disminuiría su estabilidad, y por lo tanto la fosforilación daría como resultado una mayor estabilidad del citoesqueleto, al inhibir la polimerización de la actina. La integridad del filamento

de actina es lo que aumenta la supervivencia celular después de la situación de estrés¹⁹.

La Hsp27 también induce protección celular contra la acción del TNF- α , gracias a su capacidad de disminuir el nivel de ROS (especies oxígeno reactivas) e incrementar el nivel de glutatión. El mecanismo citotóxico del TNF involucra daño oxidativo del ADN celular. Solamente los largos agregados de Hsp27 que se forman cuando los residuos de serina son reemplazados por alanina, son capaces de modular esta respuesta protectora contra el TNF- α . Si el reemplazante es otro aminoácido la protección no es tan eficaz^{20, 21}.

Termotolerancia y resistencia a drogas

Se observó que la respuesta celular al tratamiento con calor suave, subletal, de alrededor de 56°C aumenta la capacidad de las células para resistir un posterior estrés letal.

Este fenómeno conocido como termotolerancia, también funciona con respecto a la hipoxia o isquemia. Más aún, un pretratamiento calórico produce tolerancia cruzada hacia otros tipos de estrés, como los producidos por distintos agentes tóxicos. Las células transfectadas con el gen para Hsp, son más resistentes a los diversos estrés que las células normales^{2, 5}.

La sobreexpresión de Hsp también confiere protección contra la acción del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y de oxirradicales generados por drogas anticancerígenas.

Ciocca y colaboradores²², han elaborado la hipótesis que el grado de protección conferido por la Hsp27 contra la injuria térmica u otras injurias, depende de la combinación y/o interacción de distintas variables: el tipo celular involucrado, la relación de las Hsp inducidas y la presencia de otras proteínas citoprotectoras.

Otro fenómeno interesante y con amplias implicancias a nivel terapéutico, es la resistencia que presentan las células neoplásicas que sobreexpresan Hsp27, a drogas antineoplásicas como doxorubicina, colchicina y vincristina^{16, 23-26}.

Familias de Hsp

La superfamilia se compone de varias familias cuyos miembros se agrupan en base a sus pesos moleculares, que varían entre 10 000 y 150 000 y se los puede encontrar en los compartimentos celulares principales (Tabla 1).

Por convención para indicar las proteínas, se utiliza la letra H con mayúscula, seguida de s y p minúsculas (Hsp), mientras que los genes correspondientes se indican con minúscula (hsp). Las proteínas constitutivas de la célula se expresan como Hsc¹³. Sin embargo, no todos los autores se ajustan a esta nomenclatura.

TABLA 1.— Familias de proteínas del shock térmico (Hsp)

Familia	Nombre	Localización	Función
Pequeñas Hsp	p20	citoplasma	vasorelajación
	Hsp22 o α B-crystallin	citoplasma y núcleo	estabilización del citoesqueleto
	Hsp 25 (ratón)	citoplasma/núcleo	<i>chaperona</i> ,
	Hsp 27 (humana)	citoplasma/núcleo	dinámica de la actina
Hsp 40	Hsp 40	citoplasma	<i>chaperona</i>
	Hsp 47	ret. endoplásmico	control en síntesis de colágeno
Hsp 60	Hsp 58	mitocondrias	<i>chaperonas</i>
	Hsp 60		
Hsp 70	Hsc 70 (73)	citoplasma	
	Hsp 70 (72)	citoplasma/núcleo	<i>chaperonas</i>
	Hsp 75	mitocondria	
	Grp 78*	ret. endoplásmico	
Hsp 90	Hsp 90 α (86)	citoplasma	unión a receptores
	Hsp 90 β (84)	citoplasma	de hormonas esteroides
	Grp 94*	ret. endoplásmico	<i>chaperona</i>
Hsp 110	Hsp 105	citoplasma	<i>chaperonas</i> ,
	Hsp 110	nucléolo/citoplasma	citoprotectoras

Los números entre paréntesis corresponden a otras denominaciones de las mismas proteínas.

*GRp: proteínas relacionadas con glucosa, inducidas por anoxia y privación de glucosa.

Familia de las pequeñas Hsp

Las proteínas de este grupo presentan un PM entre 15 y 30 KDa. Las más conspicuas son la Hsp22 conocida como *alfa B crystallin* de ratón y la Hsp27-28 humana, que corresponde a la Hsp25 de ratón con la que tienen secuencias de aminoácidos similares a pesar de corresponder a distintas especies^{6, 23, 27}.

Hsp22 o *alfa B-crystallin*: Es la mayor proteína estructural del cristalino, también está presente en fibras musculares estriadas con alta capacidad oxidativa, como el corazón y músculo esquelético, donde se la ha localizado en las bandas Z. Sin embargo, su localización parece depender de las condiciones fisiológicas. El calor o la isquemia disparan su translocación a la fracción nuclear, su agregación y la interacción específica con las bandas Z del sarcómero²⁸. Estas proteínas pequeñas tienen una gran tendencia a formar largos complejos hetero-oligoméricos, cuya significación fisiológica se ignora.

Hsp25: Se expresa en cantidades variables en todos los tejidos de ratón analizados. La expresión de los genes que codifican para esta proteína está relacionada con la respuesta a hormonas esteroides, siendo regulada por estrógeno. Su fosforilación puede inducir tolerancia al estrés²⁷.

Hsp27: Fue originalmente llamada 24K o 28K y actualmente también se la encuentra con la denominación de *srp-27 (stress response protein 27)*. Se conocen tres isoformas. Se expresa en órganos sensibles al estrógeno como útero, oviducto, vagina y piel³, habiéndose observado cambios significativos en su localización y cuantificación, durante las diferentes fases del ciclo menstrual²⁹. Su presencia en el cordón umbilical y en menor nivel en la placenta, indican su expresión en la circulación materno-fetal humana³⁰.

Se han descrito numerosas funciones para la Hsp27, en termotolerancia, en proliferación celular, resistencia a drogas, polimerización de actina y como *chaperona*³². Estaría involucrada en el transporte del receptor estrogénico desde el citoplasma al núcleo por medio de un mecanismo dependiente de actina²². Estímulos fisiológicos como estrés, citoquinas y factores de crecimiento, aumentan su fosforilación en los residuos de serina 15, serina 78 y serina 83.

Existe otra proteína pequeña, la p20, que no es inducida por calor ni estrés químico, pero que tiene un dominio C-terminal similar a las otras.

Familia Hsp40

Hsp47: Es inducida por calor o alteraciones patológicas (por ejemplo: fibrosis hepática), y está asociada con el aumento en la síntesis de colágeno. Se la detecta en el retículo endoplásmico y se une transitoriamente al colágeno, pudiendo además desnaturalizarlo.

Líneas celulares tumorales derivadas de metástasis de carcinomas y que son metastásicas en animales sintetizan altos niveles de Hsp47, lo que sugeriría la posibilidad de usar esta proteína como marcador de la actividad metastásica de células de tumores humanos³³.

Familia de Hsp60

Las mitocondrias proveen un medio ambiente cerrado donde funciona esta familia, cooperando en el plegado de proteínas, en la translocación de las mismas a través de membranas y en la aceleración del ensamblado³².

Familia de Hsp70

Las Hsp70-72: Es la más conservada en la evolución, siendo constitutiva y participando en los procesos de maduración de otras proteínas celulares, transporte de las mismas, eliminación de proteínas desnaturalizadas y actividad de ATPasa³². Se comprobó que tras un shock térmico, se acumulan Hsp70 en el interior del nucléolo, estructura donde se fabrican los ribosomas. Confiere protección al centrosoma y filamentos intermedios¹⁴.

La Hsp75 no es constitutiva de la célula. Todos los miembros de esta familia son abundantes en células eucariotas, donde actúan como *chaperonas*. En el citoplasma se unen a los polipéptidos en formación, antes que se liberen del ribosoma, en base a su habilidad para unirse a los segmentos hidrofóbicos de los péptidos de manera dependiente de ATP¹¹.

Familia Hsp90

La familia de las Hsp90 se relaciona funcionalmente con los receptores de las hormonas esteroides, regulando su actividad biológica. En ausencia de la hormona correspondiente, el receptor se asocia con varias proteínas celulares, entre ellas las Hsp90 que lo mantienen inactivo. En presencia de la progesterona, la Hsp se libera y el receptor cambia su configuración para poder unirse al ADN y activar la expresión de los genes correspondientes⁵. Son relativamente abundantes a temperatura ambiente y su nivel basal se ve aumentado con el estrés, uniéndose a los microtúbulos³². Dos miembros de esa familia, Hsp90 α y β , constituyen del 1-2% de las proteínas totales del citoplasma.

Familia Hsp110

Tienen funciones de *chaperonas* y citoprotectoras³².

Hsp27 y cáncer

Numerosas neoplasias humanas presentan sobreexpresión de Hsp. Este hallazgo estaría relacionado con la

proliferación de las células tumorales, el establecimiento de metástasis y en algunos casos con resistencia a drogas quimioterápicas. Las células tumorales, al migrar a los ganglios linfáticos encuentran un microambiente hostil, por lo tanto sobreexpresan estas proteínas citoprotectoras que favorecen su supervivencia y su posterior diseminación a todo el organismo³⁴. Por esta causa la mayoría de los autores encuentran correlación entre sobreexpresión de Hsp, crecimiento de células malignas y presencia de ganglios positivos³⁵. Sin embargo, estudiando individualmente los distintos tipos de neoplasias, vemos que la relación no es tan directa y los resultados son contradictorios.

Por otro lado, la mayoría de los estudios relacionados con la posible asociación entre la expresión de Hsp y la sensibilidad a las drogas quimioterapéuticas, están focalizados en una de las Hsp en particular, o bien en un tipo de neoplasia, o una determinada droga. Por lo tanto se debe evitar la generalización de los resultados obtenidos, considerando que existen múltiples causas de quimioresistencia.

Cáncer de mama

En la mama normal la Hsp27 está expresada constitutivamente, siendo esta expresión moderada en las lesiones benignas e importante en las lesiones malignas²³.

Ann Thor y colaboradores³⁶, encuentran correlación entre esta sobreexpresión, la presencia de receptores de estrógeno, ganglios con metástasis e invasión vascular. Estos factores llevan a una disminución de la supervivencia libre de enfermedad. De acuerdo a esto, la proteína podría ser un marcador de agresividad del tumor³⁷.

Ciocca y col.³⁸ en cambio, relacionan la presencia de Hsp27 con una disminución de la proliferación celular e incremento de la diferenciación. Esta circunstancia es avalada por la presencia de receptores de estrógeno, que a su vez inducen la expresión de la proteína, de esta manera la célula que ha proliferado se diferencia.

Otros estudios indican que la sobreexpresión está involucrada en la regulación negativa de la proliferación de líneas celulares provenientes de cáncer de mama³⁹. Por estas razones, la presencia incrementada de esta proteína no puede ser utilizada como único marcador en cáncer de mama³¹.

Cáncer de colon

La presencia de Hsp27 en esta enfermedad, está asociada a resistencia a drogas quimioterápicas como doxorubicina. En varios sistemas *in vitro*, la doxorubicina genera especies reactivas de oxígeno (ROS) que explican su capacidad citotóxica. La Hsp27 confiere protección contra el H₂O₂, lo cual podría estar involucrado en la

activación de sistemas enzimáticos que protegen a las células contra la toxicidad de los radicales libres. Según Garrido, las células de cáncer colorrectal que presentan sobreexpresión de Hsp, muestran incremento de la proliferación celular¹⁶.

Cáncer de ovario

Se ha estudiado la sobreexpresión de Hsp27 para tratar de obtener un factor de pronóstico y supervivencia en pacientes con carcinoma de ovario⁴⁰. Los niveles de la proteína no se relacionan con ninguno de los parámetros estudiados, como histología del tumor, estadio, grado de malignidad, niveles de citoreducción y supervivencia. Sin embargo la expresión de la proteína puede estar relacionada con resistencia a drogas quimioterapéuticas⁴¹. Existen estudios realizados sobre células de cáncer de ovario en las cuales se ha encontrado co-expresión del gen de resistencia a múltiples drogas (MDR1) y niveles elevados de Hsp27⁴².

Otros tumores

En pacientes con astrocitoma la expresión de Hsp27 es independiente del tratamiento que haya recibido el paciente. Se encuentra inmunoreactividad para la proteína en el endotelio vascular y en los vasos sanguíneos neoformados. Los astrocitos normales son negativos para Hsp, mientras que la proteína se encuentra aumentada en los tumores pobremente diferenciados, incluyendo glioblastomas y astrocitomas anaplásicos. Probablemente esta proteína está involucrada en el crecimiento de tumores astrocíticos y en el fenómeno de resistencia a drogas⁴³.

Los tumores de testículo de estirpe germinal que expresan bajos niveles de Hsp27, son sensibles tanto a la quimioterapia y como a la radioterapia¹⁹. La sobreexpresión de la proteína puede incrementar la resistencia a las drogas terapéuticas⁴⁴.

En tumores malignos de hueso, como osteosarcoma, la sobreexpresión de Hsp27 está asociada a mal pronóstico de la enfermedad⁴⁵.

En conclusión: la expresión de Hsp27 está relacionada en numerosas neoplasias con la aparición de resistencia a diversas drogas²⁴. La transfección de genes humanos de Hsp27 a células de ovario de hamster chino, las hace resistentes a la doxorubicina, colchicina y vincristina, pero no a 5-fluorouracilo y nitrosourea¹⁹.

La inducción de Hsp a continuación del estrés, puede resultar en aparición de resistencia a doxorubicina y actinomicina. No se conocen los mecanismos de esta resistencia.

La Hsp27 está involucrada también en el control de la proliferación celular, aunque los resultados de las investigaciones con respecto a este punto son disímiles. Knauf

y col.⁴⁶ encuentran que la sobreexpresión de Hsp27 en las células del tumor de Ehrlich disminuye la proliferación. Sin embargo, el grupo de Oesterreich demuestra una asociación positiva entre la expresión de Hsp27 y el crecimiento *in vitro* de células derivadas de cáncer de mama²³.

Otro factor a ser tenido en cuenta es la relación, observada en ciertas neoplasias, entre la presencia de Hsp27 y la diferenciación celular, ya que altos niveles de la proteína indican una mayor diferenciación, que involucraría una menor agresividad de las células tumorales²⁴.

La modulación de los niveles de expresión de Hsp podría ser, en un futuro cercano, de aplicación clínica a fin de revertir la resistencia a drogas y controlar el crecimiento tumoral⁹.

Hsp y enfermedades autoinmunes

Las Hsp son inmunogénicas como lo demuestra la presencia en el organismo de clones linfocitarios dirigidos contra ellas⁴⁸. Dada la expresión constitutiva de estas proteínas en varios tejidos, cabría esperar la posibilidad de reacción de estos linfocitos contra las Hsp propias y la consecuente producción de fenómenos autoinmunes. Paradójicamente esto no ocurre sino que, por el contrario en gran número de enfermedades autoinmunes experimentales, la inmunización previa con Hsp ha provocado resistencia a desarrollar la enfermedad. En la artritis experimental de rata inducida por adyuvante incompleto de Freund, se ha logrado este efecto mediante la inmunización con Hsp60, 70 y 10 de origen micobacteriano o bacilar (*Escherichia coli*)^{49, 50}. También la encefalomiелitis experimental autoinmune y la diabetes en ratones NOD han sido inhibidas mediante la inmunización previa con Hsp60^{51, 52}.

La exposición a Hsp microbianas en forma continua (pared intestinal), accidental (infección) o experimental (vacunación), llevaría a la expansión y modulación de linfocitos T con autorreactividad cruzada contra Hsp propias. Se ha sugerido que los mecanismos de tolerancia periférica permitirían la persistencia de estos clones de linfocitos en un estado de contención y/o anergia impidiendo los fenómenos autoinmunes⁵³.

El proceso inflamatorio resultante del fenómeno de autoinmunidad, provoca una síntesis elevada de Hsp en el sitio de la inflamación (sinovial articular, islote pancreático, cerebro, etc.). Hasta allí podrían ser atraídos los linfocitos T autorreactivos "tolerantes" desarrollándose una respuesta Th2 anti-inflamatoria. En la artritis reumatoidea juvenil en remisión se ha demostrado la presencia de linfocitos reactivos a Hsp60 que secretan interleuquina 4 (IL-4) y *Transforming grow factor*- β (TGF-

β)^{54, 55}. Este hallazgo no estuvo presente en las formas progresivas de la enfermedad.

De lo dicho anteriormente se desprende que la ausencia de exposición a Hsp microbianas, podría incrementar la susceptibilidad a enfermedades autoinmunes. De hecho, en varios modelos experimentales se ha observado que los animales criados en condiciones libres de gérmenes, son más susceptibles a desarrollar estas enfermedades cuando se los compara a los expuestos al medio ambiente normal.

En seres humanos, los datos epidemiológicos apuntan a avalar esta teoría. En ciertas regiones geográficas donde la tuberculosis y otras enfermedades microbianas son frecuentes, la incidencia de artritis autoinmune es muy baja, mientras que en países con mejores condiciones socioeconómicas, la incidencia de enfermedades crónicas autoinmunes se ha incrementado⁵⁶.

Aunque se necesitan más estudios confirmatorios del mecanismo protector de las Hsp en las enfermedades autoinmunes, su posible uso terapéutico ya está siendo evaluado.

Hsp y patología cardiovascular

La isquemia y reperfusión miocárdicas constituyen situaciones de estrés celular ya que inducen la síntesis de Hsp. Se ha sugerido que estas proteínas disminuirían el daño miocárdico a través de sus funciones de: a) *chaperonas*, facilitando la reconstitución del citoesqueleto alterado por la injuria isquémica, b) inductoras de mecanismos antioxidantes, ya que la producción de radicales libres está involucrada en la generación de lesiones miocárdicas⁵⁷. La inducción de Hsp se acompaña de aumento de la actividad antioxidante de catalasas⁵⁸.

Algunas de las Hsp tienen importancia en la fisiopatología cardiovascular. Por ejemplo:

Hsp70: esta proteína ejercería una función protectora de la pared arterial ante injurias hemodinámicas. Se ha demostrado la inducción de Hsp70 en las fibras musculares lisas de aorta luego de estrés o estimulación con agonistas α -adrenérgicos^{59, 60}. Otros estímulos como vasopresina, cocaína y dopamina han sido también efectivos en provocar la expresión de Hsp70⁶¹. Basados en estos estudios, Xu y Wick postularon la hipótesis de que el estímulo para la inducción de la proteína era el estrés mecánico provocado por la elevación aguda de la presión arterial³². Su función en estas condiciones sería la de facilitar la síntesis correcta de otras proteínas inducidas por el estímulo hemodinámico y favorecer la eliminación de aquellas alteradas por el mismo.

En situaciones experimentales de hipertensión crónica, los niveles de Hsp70 son semejantes a los hallados en animales normotensos⁶². Sin embargo ante el estrés

acompañado de elevación aguda de la presión arterial su expresión se incrementa más que en los controles normotensos sujetos a igual estímulo⁶³.

Hsp60: esta proteína es expresada en el endotelio vascular ante diversas injurias como hipercolesterolemia, endotoxinas bacterianas, H₂O₂, TNF α , isquemia, etc⁶⁴.

En pacientes con aterosclerosis carotídea se ha demostrado un incremento de la presencia de anti-cuerpos anti Hsp 65. *In vitro*, estos anticuerpos son capaces de interactuar con la Hsp65 micobacteriana que les dio origen pero además con la Hsp60 humana expresada en células endoteliales. La interacción mencionada lleva a la lisis de las células del endotelio⁶⁵. Se ha sugerido entonces que un incremento en la expresión de esta proteína y su posterior interacción con anticuerpos líticos, serían elementos involucrados en el mecanismo aterogénico³².

Hsp32: es una de las isoformas de la oxigenasa del grupo hem⁶⁶. Entre los diversos estímulos que la inducen, están el estiramiento de la pared vascular, óxido nítrico, hipoxia, metales pesados, etc^{67, 69}. Interviene en la inhibición de la agregación plaquetaria y vasodilatación mediada por guanilciclase⁷⁰.

Hsp27: está presente en endotelio, células musculares lisas vasculares y miocitos. Es inhibidora de la polimerización de actina⁷¹. El estrés oxidativo entre otros estímulos incrementa su fosforilación por las MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) y ERK (*extracellularly responsive kinase*)⁷². Estas dos enzimas están activadas después de isquemia y reperfusión⁷³. Se ha relacionado esta proteína con angiogénesis y efecto vasoprotector ante fuerzas hemodinámicas o injuria de la pared vascular.

α -B-cristallin o Hsp22: se expresa en cardiomiocitos⁷⁴. Se la encuentra en mayor cantidad en el sistema de conducción cardíaco del corazón adulto⁷⁵. En miocitos no estimulados permanece soluble en el citoplasma. La isquemia induce su rápida translocación a la fracción insoluble núcleo-citoesqueleto⁷⁶.

p20: se expresa abundantemente en corazón y músculo liso. En el músculo liso vascular es sustrato de las proteinquinas dependientes de AMPc y GMPc por lo cual podrían jugar un papel en el mantenimiento del tono vascular o la adaptación a la injuria vascular^{77, 78}.

Bibliografía

- Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 1962; 18: 571-3.
- Samali A, Cotter T. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Exp Cell Res* 1996; 223: 163-70.
- Kindas-Mügge I, Trautinger F. Increased expression of the M_{27,000} heat shock protein (hsp27) in *in vitro* differentiated normal human keratinocytes. *Cell Growth & Differentiation* 1994; 5: 777-81.
- Finley D, Varshavsky A. The ubiquitin system: functions and mechanisms. *Trends in Biochem Sci* 1985; 10: 343-7.
- Welch W. Respuesta de las células al estrés. *Investigación y Ciencia* 1993; 7: 22-9.
- Mehlen P, Arrigo A. The serum-induced phosphorylation of mammalian hsp27 correlates with changes in its intracellular localization and levels of oligomerization. *Eur J Biochem* 1994; 221: 327-34.
- Spector N, Samson W, Ryan C, et al. Growth arrest of human B lymphocytes is accompanied by induction of the low molecular weight mammalian heat shock protein (Hsp28). *J Immunol* 1992; 148: 1668-73.
- Trautinger F, Kindas Mügge I, Dekrout B, Knobler R, Metz D. Expression of the 27-kDa heat shock protein in human epidermis and in epidermal neoplasms: an immuno-histological study. *Br J Dermatol* 1995; 133: 194-202.
- Morimoto R, Tissières A, Georgopoulos C. The stress response, function of the proteins and perspectives. In: RI Morimoto, A. Tissières, C. Georgopoulos (eds) *Stress proteins in biology and medicine*, Cold Spring Harbor, CSH Press, 1990, p 1-36.
- Huot J, Houle F, Spitz D, Landry J. HSP27 Phosphorylation-mediated resistance against actin fragmentation and cell death induced by oxidative stress. *Cancer Res* 1996; 56: 273-9.
- Ulrich Hartl F. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381: 571-80.
- Beissinger M, Buchner J. How chaperones fold proteins. *Biol Chem* 1998; 379: 245-59.
- Benjamin I, McMillan DR. Stress (Heat shock) proteins. Molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* 1998; 83: 117-32.
- Liang P, Mac Rae T. Molecular chaperons and the cytoskeleton. *J Cell Sci* 1997; 110: 1431-40.
- Kampinga H, Brunsting J, Stege G, Burgman P, Konings A. Thermal protein denaturation and protein aggregation in cells made thermotolerant by various chemicals: role of heat shock proteins. *Exp Cell Res* 1995; 219: 536-46.
- Garrido C, Mehlen P, Fromentin A, et al. Inconstant association between 27-kDa heat shock protein (Hsp27) content and doxorubicin resistance in human colon cancer cells. *Eur J Biochem* 1996; 237: 653-9.
- Lavoie J, Lambert H, Hickey E, Weber L, Landry J. Modulation of cellular thermoresistance and actin filament stability accompanies phosphorylation-induced changes in the oligomeric structure of heat shock protein 27. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 505-16.
- Maizels E, Peters C, Kline M, Cutler R, Shanmugam M, Hunzicker-Dunn M. Heat shock protein-25/27 phosphorylation by the delta isoform of protein kinase C. *Biochem J* 1998; 332: 703-12.
- Richards E, Hickey E, Weber L, Masters J. Effect of overexpression of the small heat shock protein HSP27 on the heat and drug sensitivities of human testis tumor cells. *Cancer Res* 1996; 56: 2446-51.
- Mehlen P, Hickey E, Weber L, Arrigo A. Large unphosphorylated aggregates as the active form of hsp27 which controls intracellular reactive oxygen species and glutathione levels and generates a protection against TNF α in NIH-3T3-ras cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 187-92.
- Park Y, Han M, Blackburn R, Lee Y. Overexpression of HSP25 reduces the level of TNF α -induced oxidative DNA damage biomarker, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, in L929 cells. *J Cell Physiol* 1998; 174: 27-34.
- Ciocca D, Oesterreich S, Chamness G, Mc Guire W,

- Fuqua S. Biological and clinical implications of heat shock protein 27000 (Hsp27): a Review. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1558-70.
23. Oesterreich S, Weng Ch, Qiu M, Hilsenbeck S, Osborne C, Fuqua S. The small heat shock protein hsp27 is correlated with growth and drug resistance in human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 1993; 53: 4443-8.
 24. Hettinga J, Lemstra W, Meijer C, et al. Heat-shock protein expression in cisplatin-sensitive and resistant human tumor cells. *Int J Cancer* 1996; 67: 800-7.
 25. Garrido C, Ottavi O, Fromentin A, et al. Hsp27 as a mediator of confluence-dependent resistance to cell death induced by anticancer drugs. *Cancer Res* 1997; 57: 2661-7.
 26. Bonnal C, Calvo F. Resistance to antineoplastic treatments: mechanisms, clinical value. *C. R. Seances Soc Biol Fil* 1996, 190-4: 455-66.
 27. Klemenz R, Andres AC, Fröhli E, Schäfer R, Aoyama A. Expression of the murine small heat shock proteins hsp25 and α B crystallin in the absence of stress. *J Cell Biol* 1993; 120: 639-45.
 28. van de Klundert F, Gijsen M, van del Ijssel P, Snoeckx L, de Jong W. Alpha B-crystallin and hsp25 in neonatal cardiac cells differences in cellular localization under stress conditions. *Eur J Cell Biol* 1998; 75: 38-45.
 29. Ciocca D, Stati A, Fanelli M, Gaestel M. Expression of heat shock protein 25000 in rat uterus during pregnancy and pseudopregnancy. *Biol Reprod* 1996, 54: 1326-35.
 30. Li D, Gordon C, Stagg C, Udelsman R. Heat shock protein expression in human placenta and umbilical cord. *Shock* 1996; 5: 320-3.
 31. Oesterreich S, Hilsenbeck S, Ciocca D, et al. The small heat shock protein HSP27 is not an independent prognostic marker in axillary lymph node-negative breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 1199-206.
 32. Xu Q, Wick G. The role of heat shock proteins in protection and pathophysiology of the arterial wall. *Mol Med Today* 1996; 9: 372-80.
 33. Morimo M, Tsuzuki T, Ishikawa Y, et al. Specific expression of Hsp47 in human tumor cell lines in vitro. *In vivo* 1997; 11: 17-21.
 34. Storm FK, Mahvi DM, Gilchrist K. Heat shock protein 27 overexpression in breast cancer lymph node metastasis. *Ann Surg Oncol* 1996; 3: 570-3.
 35. Nakopoulou L, Lazaris A, Baltas D, Giannopoulou Y, Kavantzias N, Tzonou A. Prognostic evaluation of oestrogen-regulated protein immunoreactivity in ductal invasive (NOS) breast cancer. *Virchows Arch* 1995; 427: 33-40.
 36. Thor A, Benz C, Moore D, et al. Stress response protein (srp-27) determination in primary human breast carcinomas: clinical, histologic and prognostic correlations. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 170-8.
 37. Morimo M, Tsuzuki T, Ishikawa Y, Shirakami T, Yoshimura M, Kiyosuke Y, Matsunaga K, Yoshikumi C and Saijo N. Specific expression of Hsp27 in human tumor cell lines in vitro. *In vivo* 1997; 11: 179-84.
 38. Vargas-Roig L, Fanelli M, López L, Gago F, Tello O, Aznar J and Ciocca DR. Heat shock proteins and cell proliferation in human breast cancer biopsy samples. *Cancer Detect Prev* 1997; 21: 441-51.
 39. Kindas-Mugge I, Micksche M and Trautinger F. Modification of growth in small heat shock (hsp27) gene transfected breast carcinoma. *Anticancer Res* 1998, 18 (1A): 413-7.
 40. Geisler J, Geisler H, Tammela J, Wiemann M, Zhou Z, Miller G and Crabtree W. Heat shock protein 27: an independent prognostic indicator of survival in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 1998; 69: 14-16.
 41. Germain Y, Tetu B, Brisson J, Mondor M and Cherian M. Markers of chemoresistance in ovarian carcinomas: an immunohistochemical study of 86 cases. *Int J Gynecol Pathol* 1996; 15: 54-62.
 42. Schneider J, Jimenez E, Marenbach K, Marx D and Meden H. Co-expression of the MDR1 gene and Hsp27 in human ovarian cancer. *Anticancer Res* 1998; 18: 2967-71.
 43. Assimakopoulou M, Sotiropoulou-Bonikou G, Maraziotis T and Varakis Y. Prognostic significance of Hsp-27 in astrocytic brain tumors: an immunohistochemical study. *Anticancer Res* 1997; 17 (4A): 2677-82.
 44. Richards E, Hickman J and Masters JR. Heat shock protein expression in testis and bladder cancer cell lines exhibiting differential sensitivity to heat. *Br J Cancer* 1995; 72: 620-6.
 45. Uozaki H, Horiuchi H, Ishida T, Iijima T, Imamura T and Machinami R. Overexpression of resistance related proteins (metallothioneins, glutathione-S-transferase pi, heat shock protein 27, and lung resistance related protein) in osteosarcoma. Relationship with poor prognosis. *Cancer* 1997; 79: 2336-44.
 46. Knauf U, Bielka H and Gaestel M. Over-expression of the small heat-shock protein Hsp25 inhibits growth of Ehrlich ascites tumor cells. *FEBS letters* 1992; 309: 297-302.
 47. van Eden W, Avan der Zee R, Paul A, Prakkan BJ, Wendling U, Anderton S and Wauben M. Do heat shock proteins control the balance of T-cell regulation in inflammatory diseases? *Immunol Today* 1998; 19: 303-7.
 48. Birk OS, Douek DC, Elias D, et al. A role of Hsp60 in autoimmune diabetes: analysis in a transgenic model. *Proc Natl Acad Sci USA*; 1996; 93: 1032-7.
 49. Kingston AE, Hicks CA, Colston MJ, Billingham ME. A 71 kD heat shock protein from *Mycobacterium tuberculosis* has modulatory effects on experimental rat arthritis. *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 77-82.
 50. Ragno S, Winrow VR, Mascagni P, et al. A synthetic 10 kD heat shock protein from *Mycobacterium tuberculosis* modulates adjuvant arthritis. *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 384-90.
 51. Birnbaum G, Kotilinek L, Schlievert P, et al. Heat shock proteins and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE): I. Immunization with a peptide of the myelin protein 2' 3' cyclic nucleotide 3' phosphodiesterase that is cross-reactive with a heat shock protein alters the course of EAE. *J Neurosci Res* 1996; 15: 44: 381-96.
 52. Elias D, Cohen IR. Peptide therapy for diabetes in Nod mice. *Lancet* 1994; 19: 343 (8899): 704-6.
 53. van Eden W, van der Zee R, Paul AGA, et al. Do heat shock proteins control the balance of T-cell regulation in inflammatory diseases? *Immunol Today* 1998; 19: 303-7.
 54. Boog CJ, de Graeff Meeder ER, et al. Two monoclonal antibodies generated against human Hsp 60 show reactivity with synovial membrane of patients with juvenile chronic arthritis. *J Exp Med* 1992; 175: 1805-10.
 55. de Graeff Meeder ER, van Eden W, Rijkers GT, et al. Juvenil chronic arthritis: T cell reactivity to human Hsp60 in patients with a favorable course of arthritis. *J Clin Invest* 1995; 95: 934-40.
 56. Silman AJ, Ollier W, Hollogan S, et al. Absence of rheumatoid arthritis in a rural Nigerian population. *J Rheumatol* 1993; 20: 618-22.
 57. Bolli R. Myocardial "stunning" in man. *Circulation* 1992; 86: 1671-91.

58. Karmazyn M, Mailer K, Currie RW. Acquisition and decay of heat-shock-enhanced postischemic ventricular recovery. *Am J Physiol* 1990; 259: H424-H431.
59. Udelsman R, et al. Vascular heat shock protein expression in response to stress. *J Clin Invest* 1993; 91: 465-73.
60. Zhu W, et al. Oxidized LDL induce the expression of heat shock protein 70 in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 2000: 389-94.
61. Blake MJ et al. Dopaminergic regulation of heat shock protein 70 expression in adrenal gland and aorta. *Endocrinology* 1993; 132: 1063-70.
62. Hashimoto T et al. Increased accumulation of hsp 70 mRNA due to enhanced activation of heat shock transcription factor in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1991; 9: S 170-1.
63. Xu Q et al. Acute hypertension induces heat shock protein 70 gene expression in rat aorta. *Circulation* 1995; 92: 1223-9.
64. Seitz CS, et al. Coexpression of intercellular adhesion molecule-1 and heat shock protein 60 is related to increased adherent monocytes and T cells on aortic endothelium of rat in response to endotoxin. *Lab Invest* 1996; 74: 241-52.
65. Schett G, et al. Autoantibodies against heat shock protein 60 mediate endothelial cytotoxicity. *J Clin Invest* 1995; 96: 2569-77.
66. Abraham NG, Pinto A, Levere D, Mullane K. Identification of heme oxygenase and cytochrome P-450 in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1987; 19: 73-81.
67. Wagner CT, Durante W, Christodoulides N, Hellms JD, Schafer AI. Hemodynamic forces induce the expression of heme oxygenase in cultured vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1997; 100: 589-96.
68. Durante W, Kroll MH, Christodoulides N, Peyton KJ, Schafer AI. Nitric oxide induces heme oxygenase-1 gene expression and carbon monoxide production in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1997; 80: 557-64.
69. Lee PJ, Jiang BH, Chin BY, et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates transcriptional activation of the heme oxygenase-1 gene in response to hypoxia. *J Biol Chem* 1997; 272: 5375-81.
70. Christodoulides N, Durante W, Kroll MH, Schafer AI. Vascular smooth muscle cell heme oxygenases generate guanylyl cyclase-stimulatory carbon monoxide. *Circulation* 1995; 91: 2306-9.
71. Miron T, Vancompernelle K, Vandekerckhove J, Wilchek M, Geiger B. A 25-kD inhibitor of actin polymerization is a low molecular mass heat shock protein. *J Cell Biol* 1991; 114: 2551-61.
72. Landry J, Lambert H, Zhou M, et al. Human HSP27 is phosphorylated at serines 78 and 82 by heat shock and mitogen-activated kinases that recognize the same amino acid motif as S6 kinase II. *J Biol Chem* 1992; 267: 794-803.
73. Bogoyevitch MA, Gillespie-Brown J, Ketterman AJ, et al. Stimulation of the stress-activated mitogen-activated protein kinase subfamilies in perfused heart p38/RK mitogen-activated protein kinase and c-Jun N-terminal kinases are activated by ischemia/reperfusion. *Circ Res* 1996; 79: 162-73.
74. Lutsch G, Vetter R, Offhaus U, et al. Abundance and location of the small heat shock proteins HSP25 and alpha B-crystallin in rat and human heart. *Circulation* 1997; 96: 3466-76.
75. Leach IH, Tsang MI, Church RJ, Lowe J. Alpha-B crystallin in the normal human myocardium and cardiac conducting system. *J Pathol* 1994; 173: 255-60.
76. Bennardini F, Wrzosek A, Chiesi M. α B-Crystallin in cardiac tissue: Association with actin and desmin filaments. *Circ Res* 1992; 71: 228-94.
77. Kato K, Goto S, Inaguma Y, Hasegawa K, Morishita K, Asano T. Purification and characterization of a 20-kDa protein that is highly homologous to alpha B-crystallin. *J Biol Chem* 1994; 269: 15302-9.
78. Beall AC, Kato K, Goldenring JR, Rasmussen H, Brophy CM. Cyclic nucleotide-dependent vasorelaxations is associated with the phosphorylation of a small heat shock-related protein. *J Biol Chem* 1997; 272: 11283-7.

L'éthique de la connaissance est également, en un sens, "connaissance de l'éthique", des pulsions, des passions, des exigences et des limites de l'être biologique. Dans l'homme elle sait voir l'animal, non pas absurde mais étrange, précieux par son étrangeté même, l'être qui, appartenant simultanément à deux règnes: la biosphère et le royaume des idées, est à la fois torturé et enrichi par ce dualisme déchirant qui s'exprime dans l'art et la poésie comme dans l'amour humain.

La ética del conocimiento es igualmente, en un sentido, "conocimiento de la ética", de los impulsos, de las pasiones, de las exigencias y de los límites del ser biológico. En el hombre ella sabe ver el animal, no sólo absurdo sino extraño, precioso por su extrañeza misma, el ser que, perteneciendo simultáneamente a dos reinos: la biósfera y el reino de las ideas, está a la vez torturado y enriquecido por este dualismo desgarrador que se expresa tanto en el arte y la poesía como en el ser humano.

Jacques Monod (1910-1976)

Le hasard et la nécessité. Essai sur la philosophie naturelle de la biologie moderne.

Paris: Editions du Seuil, 1970, pp 192-3

(El azar y la necesidad. Ensayo sobre la filosofía natural de la biología moderna.

Barcelona: Barral Editores, 1970, p 191)