

# LAS PROTEÍNAS DEL ESTRÉS. SU RELACIÓN CON LOS TUMORES, EL ENVEJECIMIENTO Y EL EJERCICIO (I)

## THE STRESS PROTEINS. THEIR RELATIONSHIP WITH TUMORS, AGING AND EXERCISE (I)

### INTRODUCCIÓN

Con el fin de atenuar los problemas que acompañan a muchos de los acontecimientos que habitualmente sufren los seres vivos, como la exposición a las temperaturas elevadas, la hibernación, el preconditionamiento isquémico etc, los cuales influyen poderosamente sobre el funcionamiento de sus organismos, existen una serie de mecanismos protectores. De entre ellos, las proteínas del shock térmico poseen una gran importancia, por lo que deben ser consideradas como modelos básicos de autoprotección y generadores de la salud<sup>(91)</sup>.

El potencial homeostático de una célula y por tanto, su habilidad para enfrentarse con los estresores puede ser alterada aumentando o disminuyendo la respuesta al shock térmico<sup>(25)</sup>.

Mientras que una primera exposición al shock térmico es capaz de proteger a las células contra el estrés inflamatorio in vitro o in vivo, su repetición en las células afectadas por la inflamación puede precipitarlas a la apoptosis. A esto se le conoce como la paradoja del shock térmico. De Meester y sus asociados<sup>(8)</sup> aseguran que, la paradoja del shock térmico tiene alguna relación con la actividad del factor kapa B (un factor nuclear de la fase aguda de la transcripción).

### CARACTERÍSTICAS Y CLASIFICACIÓN

A nivel celular, las proteínas incluidas en su estructura desempeñan una función muy importante en el mantenimiento de la homeostasis. Cuando ésta se ve alterada por un agente estresor se produce una respuesta inmediata por parte de la célula, consistente

en sintetizar una serie de proteínas a las que se conoce como “proteínas del estrés” (SPs).

La primera proteína del estrés de la que se tuvo noticia fue la sintetizada por las células salivares de la *Drosophila busckii*, al ser sometida a temperaturas elevadas, por lo que se la denominó “proteína del shock térmico” o “heat shock protein” (HSP) de la literatura angloparlante. A las SPs se las ha dividido en dos grupos: proteínas del shock térmico (HSPs) y proteínas reguladas por la glucosa (GRPs). En el primero se incluyen casi todas las proteínas del estrés, y en el segundo las originadas por el agotamiento de la glucosa y otras causas, pero que no tienen nexo de unión con el estrés térmico<sup>(81)</sup>.

Se denominan “chaperones moleculares” a una serie de proteínas cuya misión consiste en facilitar el correcto acoplamiento de los polipéptidos, o el ensamblado de las estructuras oligoméricas que no se hallan integradas en el complejo<sup>(11)</sup>.

Los chaperones ayudan a otras proteínas celulares a la adquisición de su estado original (mantener la conformación funcional), a alcanzar su destino final (el retículo endoplásmico o la mitocondria), a resistir la desnaturalización producida por los estresores, y a reestablecer su estado primitivo tras la desnaturalización parcial. Debido a ello, los chaperones ocupan un lugar privilegiado en la protección de las células frente a los estresores locales o sistémicos<sup>(62)</sup>.

La gran mayoría de las HPS y de GRP deben ser consideradas como chaperones moleculares<sup>(11)</sup>.

Las proteínas del estrés tienen como misión luchar contra las alteraciones y los defectos de la síntesis de las proteínas celulares, con el objeto de proteger a las

Dr. J. F. Marcos Becerro\*

Dr. Javier González Gallego\*\*

\* Presidente del Instituto Español de Longevidad y Salud. Vicepresidente de la Federación Española de Medicina Deportiva  
\*\* Catedrático de Fisiología. Director del Departamento de Fisiología de la Universidad de León

CORRESPONDENCIA:

Dr. J.F. Marcos Becerro. C/ Arturo Soria, 262. 28033 Madrid.

Aceptado:  
15.03.02

células de los daños que puedan sufrir<sup>(85)</sup>. Cualquier tipo de estrés, entendiéndose por tal, la alteración de la homeostasis, es capaz de inducir su producción, pero en especial, las temperaturas elevadas, el estrés oxidativo, las modificaciones del pH y de la concentración del Ca, la isquemia, la disminución de la glucosa, y otros varios, entre los que se encuentra el ejercicio.

El ejercicio, y especialmente el intenso y el prolongado aumentan la síntesis de este tipo de proteínas en órganos tan importantes como el corazón y el músculo esquelético<sup>(58)</sup>.

Las proteínas del shock térmico se expresan tanto en las células procariotas como en las eucariotas o nucleadas. Según Knowlton.<sup>(41)</sup> se las clasifica de acuerdo con su peso molecular en varios grupos 1°.- 8-32 kDa. 2°.- 40-60 kDa. 3°.- 70 kDa. 4°.- 90 kDa. Y 5ª.- 100-110 kDa. En este trabajo se estudian solamente las proteínas del shock térmico.

#### **Proteínas del shock térmico pequeñas entre 8 y 32 kDa.**

De este grupo de HSPs se conocen 5 tipos: ubiquitina, HSP20, HSP27,  $\alpha$ B-cristalina y HSP32. La ubiquitina se une a las proteínas desnaturalizadas de las células dañadas, para después degradadas a través de la vía proteolítica ubiquitin-proteasoma. La HSP20 se expresa en el músculo esquelético de la rata y en el de los humanos<sup>(51)</sup>, pero la información sobre sus funciones biológicas es muy parca.

La  $\alpha$ B-cristalina es una HSP de 22 kDa, se expresa en los tejidos con mitocondrias abundantes como el corazón, y en los tipos I y II de las fibras del músculo esquelético, donde previene la aglutinación de las proteínas desnaturalizadas y facilita su acoplamiento una vez finalizado el estrés<sup>(51)</sup>.

La HSP 27, también conocida como HSP25 y HSP28, de forma similar a la  $\alpha$ B-cristalina se produce en abundancia en el tejido cardíaco en respuesta a los estímulos que afluyen a las células, y también en el músculo<sup>(51)</sup> donde parece desempeñar una función importante en la regulación de la contracción muscular<sup>(32)</sup>. Su forma fosforilada impide la fragmentación de la actina<sup>(32)</sup>.

Una característica que la diferencia del resto de las HSPs es que, su acumulación es más lenta y tarda más tiempo en ser sintetizada tras la acción del estrés<sup>(46)</sup>.

El aumento del contenido en las células de la HSP27 las hace resistentes al calor, posiblemente por aumentar la estabilidad de la red de filamentos<sup>(45)</sup>.

La HSP32 es una isoenzima del sistema hemo-oxigenasa. De ella se conocen 2 formas la hemo oxigenasa 1 (HO-1) y la hemo oxigenasa 2 (HO-2), ambas intervienen en la formación del CO en las células de los mamíferos. El gen que codifica la HSP32 se ve inducido por los radicales libres de oxígeno<sup>(69)</sup>.

#### **Proteínas del shock térmico de 40-60 kDa.**

La familia de la HSP40 se halla compuesta por 20 proteínas distintas y funcionan como chaperones moleculares y como reguladores de la actividad de la ATPasa HSP70. La HSP40 incrementa la capacidad de la HSP70 para suprimir la aglutinación de las proteínas y facilitar el acoplamiento de las mismas<sup>(60)</sup>.

Se conoce como chaperones moleculares a los miembros de la familia de las HSP50 y de 60 kDa, y su función consiste en facilitar el acoplamiento correcto de los péptidos sintetizados en el citosol de las células<sup>(12)</sup>.

La forma precursora de la HSP60 se sintetiza en el citoplasma; y después de convertida en la forma madura ejerce su acción en la mitocondria. Su función más interesante es la de facilitar el acoplamiento y el ensamblado de las proteínas después de que éstas penetren en la mitocondria<sup>(64)</sup>. La HSP60, al igual que sucede con la GRP75, aumenta su expresión en el músculo tras la estimulación eléctrica crónica<sup>(80)</sup>.

#### **Proteínas del shock térmico de 70 kDa.**

Este grupo de proteínas es uno de los más abundantes en las células, ya que aproximadamente constituye entre el 1 y el 2% de las existentes<sup>(39)</sup>.

Es muy posible que las secuencias de las proteínas mitocondriales HSP60 Y HSP70 codificadas por el núcleo provengan de un protobacteria-alfa<sup>(35)</sup>.

Los dos miembros más importantes de toda la familia son la HSP72 y la HSP73, las cuales se hallan ubicadas en el citoplasma y en el núcleo. Contribuyen a la prevención de la aglutinación de las proteínas, intervienen en el reacoplamiento y en la retirada de las dañadas, facilitan la formación de los nuevos péptidos en los ribosomas, y actúan en la protección celular contra múltiples agentes estresantes<sup>(7)(58)(73)</sup>.

Las HSP70 contienen dos dominios principales (Figura 1): el dominio ATPasa (N-terminal) y un segundo dominio (C-terminal) de unión a péptidos. Ambas regiones están unidas mediante una zona sensible a proteasas.

La figura 2 muestra el mecanismo de acción de estas moléculas. El péptido no plegado reacciona directamente con la HSP70, aunque la presencia de la HSP40 facilita considerablemente el proceso de fijación. En el siguiente paso la HSP40 se une al complejo péptido-HSP70, estimulando la actividad ATPásica y el complejo adopta un estado poco estable. El ciclo finaliza con la disociación lenta del ADP y separación del péptido plegado de la molécula de HSP70. Todos los miembros de la familia HSP70 se halla dotados de la capacidad para unirse al ATP y a los polipéptidos<sup>(44)</sup>.

Una isoforma conocida como proteína similar al shock térmico (HSC73) puede ser sintetizada por la mayoría de las células, pero es poco inducible por el estrés. Otra isoforma, la HSP72 tiene gran relación con la HSC73 y se la conoce como la isoforma inducible de la familia HSP70. Otras dos isoformas del HSP70 son el GRP78 y GRP75. La primera está ubicada en el retículo sarcoplásmico/endoplásmico y la segunda en la mitocondria<sup>(81)</sup>. La forma de expresión de las HSP70 en el cerebro de las ratas expuestas al estrés térmico es diferente según la fuente de emisión de calor (microondas de alta potencia, ejercicio y calor ambiental)<sup>(103)</sup>.

La isoforma similar HSC73 y la inducible HSP72 se hallan involucradas en numerosas funciones relacionadas con las proteínas que van, desde la síntesis, hasta la restauración de las que han sido dañadas por el estrés, pasando por la degradación y la desnaturalización<sup>(44)(4)(106)</sup>.

Hasta la fecha desconocemos la forma en que la HSP72 y la HSC73 realizan la labor de reparar las

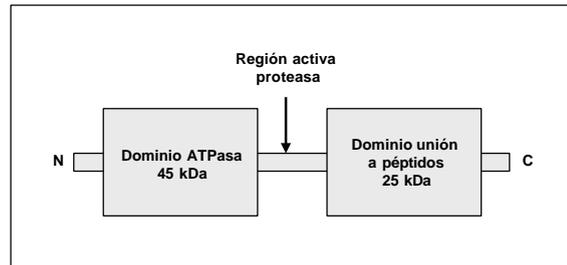


FIGURA 1.- Diagrama esquemático de la molécula de HSP70.

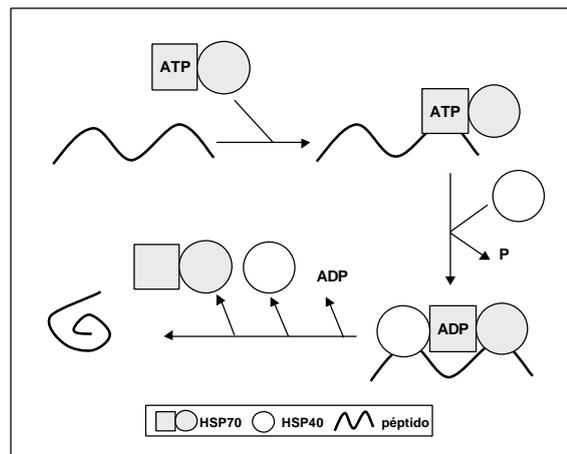


FIGURA 2.- Ciclo de la familia de chaperonas HSP70.

proteínas, o la de protegerlas contra el daño producido por el estrés. Otras proteínas de este grupo son la GRP75 y la GRP78. Ninguna de ellas se ve inducida por el estrés térmico y no se desplazan de su ubicación después de la acción del estrés. La primera está albergada en la mitocondria y la segunda en el retículo sarcoplásmico de las miocélulas.

### Proteínas del shock térmico de 90 kDa.

La familia de las HSP90 se compone de tres proteínas: la HSP90 alfa, la HSP90 beta y la GRP94. Las dos primeras se ubican en el citoplasma y la tercera en el retículo endoplásmico<sup>(34)</sup>.

La característica más notable de la HSP90 es la de unirse a los receptores vacíos de la hormona esteroidea. Los linfocitos, los esplenocitos y el músculo sóleo de las ratas que carecen de entrenamiento, responden al ejercicio con un aumento de la síntesis de la HSP90. En algunos casos este hecho se produce a los 20 minutos de iniciarse el esfuerzo y antes de que se produzca la síntesis de otras SPs<sup>(53)</sup>.

Las HSP90 se unen a un gran grupo de proteínas entre las que se encuentran las proteínas quinasas, la

actina, la tubulina, la calmodulina, otras HSP, y las de los receptores de las hormonas esteroideas<sup>(33)</sup>.

La unión de la HSP90 a la actina y a la tubulina adquiere gran importancia en la configuración de la forma y la motilidad de las células.

### Proteínas del shock térmico de 100 kDa.

En este grupo se incluyen las HSP que van desde 104 a 110 kDa. Algunas de ellas poseen actividad ATPásica e intervienen en la degradación de las proteínas dañadas<sup>(33)</sup>.

La HSP110 se halla en el núcleo de las células de los mamíferos, ejerce protección contra el calor y es estimulada por el shock térmico<sup>(98)</sup>.

## HSPS Y ENVEJECIMIENTO

Parece ser que las células adultas y las envejecidas no sometidas al estrés se hallan dotadas de niveles similares de HSPs (Locke.1996.A)(Nitta.1994), pero las últimas, cuando se ven afectadas por algún tipo de estrés, la respuesta al mismo se encuentra disminuida, tanto en los animales ( ratas )<sup>(56)(78)</sup> como en los humanos<sup>(5)</sup>.

Los fibroblastos de los donadores viejos responden a la hipertermia con una menor producción de HSP70 y del factor de transcripción del shock térmico (HSF-1)<sup>(24)</sup>.

A los fibroblastos humanos presenescentes, el estrés osmótico les hace más sensibles a la apoptosis que a los senescentes, a pesar de la destacada activación de la inducción del HSF1<sup>(61)</sup>.

El estrés y la muerte celular se hallan estrechamente relacionados. Las HSPs segregadas en respuesta a los agentes estresantes actúan en los puntos clave que regulan el control de la apoptosis. Las HSPs incluyen en sus estructuras una serie de proteínas que pueden funcionar favoreciendo o impidiendo la apoptosis, al unirse a una gran variedad de proteínas celulares<sup>(20)</sup>.

Como en otras células del cuerpo humano, en las de la piel<sup>(75)</sup>, en las del pulmón<sup>(52)</sup>, en las de la retina<sup>(1)</sup>, y en las del hígado<sup>(27)</sup>, el envejecimiento se halla

asociado a la disfunción de las HSP72<sup>(75)</sup>. Las ratas viejas sometidas al estrés térmico, aparte de ver afectada negativamente la termotolerancia, sufren importantes lesiones específicas del hígado, lo que puede ser debido a la disminución de las HSP70<sup>(26)</sup>

Parece pues que, el envejecimiento disminuye la habilidad de las células para trasladar las señales originadas por el estrés a los mecanismos biológicos encargados de producir la respuesta, lo que las incapacita para sintetizar las HSPs en las cantidades necesarias<sup>(42)(56)(78)</sup>.

A medida que aumenta la edad de las personas disminuye la capacidad del organismo para expresar HSP60 y HSP70, sin que en ello intervengan los anticuerpos de dichas proteínas<sup>(87)</sup>.

No obstante, los músculos esqueléticos de los animales envejecidos son capaces de inducir la respuesta al shock térmico y al ejercicio, y acumular HSP72<sup>(59)</sup>

En respuesta al ejercicio, el músculo envejecido también puede acumular las HSP72, lo que hace de forma distinta según las características de las fibras que le componen. Así, mientras que en los músculos con gran capacidad oxidativa, el almacenamiento de las HSP72 producido por el ejercicio es similar en las ratas viejas y en las jóvenes, en los constituidos por fibras rápidas, como el plantar y la porción blanca del gastrocnemio, la expresión de las HSP se halla muy disminuida en las viejas<sup>(77)</sup>.

Un hecho muy interesante es que, en las ratas, el envejecimiento disminuye la elevación de las HSP72 en respuesta al estrés térmico. Sin embargo, cuando a estos mismos animales se les somete a la acción del ejercicio en un ambiente caluroso, producen gran cantidad de estas proteínas<sup>(43)</sup>.

En lo referente al aumento de la síntesis basal de las HSP70, puede que existan mecanismos distintos en los organismos de los animales con diferentes edades. Así, mientras que en los jóvenes, el incremento puede ser debido al predominio de la actividad metabólica, en los viejos, es la acumulación postraslacional de las proteínas modificadas la encargada de realizarlo<sup>(63)</sup>.

En cualquier organismo vivo, la disminución de la capacidad para enfrentarse al estrés mediante la

respuesta aguda en la expresión de las HSPs, puede contribuir a la intolerancia del estrés en la edad avanzada <sup>(26)</sup>, dado que, en esta época de la vida es característica la disminución progresiva de la capacidad de adaptación a los desafíos del medio ambiente.

Parece pues que, la inhabilidad o la habilidad parcial de las células y los organismos envejecidos para activar el HSF-1 y producir HSPs en respuesta al estrés, podría contribuir al aumento de la morbilidad y mortalidad de las personas mayores <sup>(47)</sup>.

En los primates, durante el envejecimiento normal disminuyen los niveles del mRNA de la HSC70 en la retina. Como quiera que, esta familia de proteínas puede desempeñar una función muy importante en el desarrollo ocular, y en la protección del ojo contra la acción de diversos agentes estresantes (biológicos y ambientales), la disminución de los niveles de la HSC70 en la retina, a medida que transcurren los años es capaz de contribuir a la aparición de enfermedades en esta localización <sup>(1)</sup>.

La acumulación de proteínas alteradas en las células envejecidas puede ser debida a la acción de los radicales libres, a la ausencia o disminución del dinamismo de las HSPs, a la pérdida de actividad de proteasoma <sup>(17)</sup> o a la combinación de ellas. El proteasoma es un complejo multienzimático proteolítico encargado de la limpieza celular, y desempeña una función clave en la degradación de las proteínas dañadas.

La protección de las células que las HSPs, y en especial, la HSP72 ejercen contra el estrés, ha sido atribuida a su capacidad para prevenir la agregación de las proteínas dañadas y para reconstruirlas después. La supervivencia de las células gravemente afectadas se debe, en gran parte, a su acción, ya que de no ser por las HSPs se verían abocadas a sufrir la muerte por necrosis. Sin embargo, la función reparadora de las proteínas adscrita a las HSP72 no es capaz de explicar su acción protectora contra los agentes estresantes que no producen daños en las proteínas, pero que causan la muerte celular por apoptosis. En este caso, la intervención de las HSP72 consiste en inactivar el mecanismo que interviene en la muerte celular programada, probablemente por interferir con la acción de la JNK, una proteína quinasa activada por el estrés, que participa en la inducción de la apoptosis <sup>(18)</sup>.

La actividad de la HSP72 puede ser inducida en las células de los animales jóvenes o viejos por un factor extracelular no tóxico, el AHIF, dotado de un mecanismo de acción totalmente distinto al involucrado en la respuesta al shock térmico. Este factor se encuentra en el líquido ascítico de las ratas y en el de los humanos <sup>(101)</sup>.

Como resumen de lo expuesto se podría decir que, los organismos envejecidos tienen disminuida la capacidad para expresar las HSPs en respuesta a los diferentes tipos de estrés, por lo que de algún modo, este hecho se halla relacionado con la progresión del proceso involutivo y con la aparición de las comorbilidades ligadas a él. ¿Quiere esto decir que, si fuésemos capaces de resolver este problema, aumentaría la longevidad?

Las primeras publicaciones en las que se demostró que la duración total de la vida se podía aumentar en el laboratorio a través de manipulaciones ideadas por los científicos, se obtuvieron en un gusano: el *Caenorhabditis elegans*, en una mosca: la *Drosophila* y en los ratones. En los dos primeros casos el aumento de la longevidad se consiguió mediante la modificación de los sistemas antioxidantes endógenos, en el último fue la restricción calórica <sup>(66)</sup>.

Los estudios más recientes han confirmado estos hechos y han añadido nuevos datos para la mejor comprensión del envejecimiento. Hace algunos años se tuvo la evidencia de que, la restricción calórica retrasaba o revertía en las ratas el declive de la inducción de las HSPs asociado al envejecimiento <sup>(29)</sup>.

Hoy sabemos que el cerebro de las ratas viejas sometidas a una dieta hipocalórica no pierde la capacidad para acumular HSP70, en respuesta al estrés térmico <sup>(104)</sup>.

En los monos, la restricción calórica aumenta la expresión de los genes implicados en la codificación de las proteínas del citoesqueleto, en tanto que disminuye la de los involucrados en la bioenergética de las mitocondrias <sup>(37)</sup>. Desconocemos si en estos primates, la dieta ejerce algún efecto sobre las HSPs.

El último trabajo publicado sobre esta cuestión asegura que, los factores neurotróficos y las proteínas del estrés inducidas por la restricción calórica pueden proteger a las neuronas, al suprimir la producción de

oxirradicales, estabilizar la homeostasis celular del Ca, e inhibir la apoptosis. También es posible que este tipo de dieta sea capaz de estimular la degradación de las proteínas celulares alteradas por los radicales libres<sup>(71)</sup>, e incrementar la capacidad plástica de las neuronas, facilitando de este modo su autorreparación<sup>(68)</sup>, lo que significa luchar contra el envejecimiento de las células nerviosas.

En los gusanos caenorhabditis hermafroditas adultos, la mutación del gen *age-1* que codifica la subunidad catalítica fosfatidilinositol 3-quinasa, aumenta la duración total de la vida, a la vez que mejora la tolerancia intrínseca al calor, hechos relacionados con el aumento de la síntesis y la acumulación de la HSP16<sup>(102)</sup>.

Hoy sabemos que la presencia y el gran nivel de la HSP22 en la matriz de las mitocondrias de la *Drosophila* ejercen una acción protectora contra el estrés oxidativo, y también que el aumento de la expresión de los genes que codifican la HSP70 aumentan la duración de la vida de dicha mosca

La presencia y el gran nivel de expresión de la HSP22 en la matriz de las mitocondrias de la *Drosophila*, probablemente tiene que ver con la acción protectora que la misma ejerce contra el estrés oxidativo.

Por último, el reciente descubrimiento realizado en las levaduras consistente en que, las proteínas HPS82 y HSC82 codificadas por un chaperon molecular de la familia HSP90 son capaces de regular la telomerasa, nos abre un camino a la esperanza de que en un futuro no muy lejano, este hecho se descubra en los humanos.

Lo expuesto en los párrafos precedentes hablan a favor de la intervención de las HSPs en la longevidad y confirman lo expuesto por Murakami<sup>(74)</sup>, para quien el aumento de la resistencia al estrés medioambiental de los organismos animales se vincula positivamente con la prolongación de la vida.

Dado que la repetición de un ataque de estrés térmico ligero es capaz de prevenir la aparición de las alteraciones del envejecimiento celular *in vitro*, cualquier tratamiento capaz de aumentar la expresión de las HSP debería reducir la acumulación de proteínas anormales en las células, y por tanto, influir positivamente sobre el envejecimiento.