

Proteínas de shock térmico (HSPs) en el Sistema Nervioso Central

Implicación en procesos neurodegenerativos.

J.J. RODRÍGUEZ *-*^{***}, L. RIVAS **, M.A. CARRILLO **, M.A. OROZA ** y A. TOLEDANO ***.

* INSERM U-259. Psychobiologie des comportements adaptatifs. Université de Bordeaux II. Bordeaux. Francia. ** Hospital Ramón y Cajal. Servicio de Oftalmología. Laboratorio. Madrid. España. *** Instituto Ramón y Cajal (C.S.I.C.). Madrid. España.

SUMMARY

Heat shock proteins (HSPs) in the central nervous system: involvement in neurodegenerative process.

The aim of this review is to briefly summarize the current knowledge on the regulation of the heat shock response and their products, HSPs, in the central nervous system and to notice their important role as early marker of cellular injury in order to contribute to recognize vulnerable areas and/or populations in different neurodegenerative diseases. The synthesis and function of heat shock proteins, as response to cellular stress, appear modified in several CNS pathologies and neurodegenerative process playing a very important active role.

Key words: Heat shock proteins. Heat shock response. Neurodegeneration. Cellular pathology. CNS.

CONCEPTO Y TIPO DE PROTEINAS DE SHOCK TERMICO.

A principios de los años 60, el Dr. F. Ritossa describió un nuevo tipo de "puffing" (hinchamiento de los cromosomas) inducido por elevadas temperaturas así como por DNP (1). Encontró que en las regiones 2L, 14 y 15 del cromosoma gigante de las glándulas salivales de la larva *Drosophila bucksi* aparecían, cuando la temperatura aumentaba de 25° a 30° C durante 30 minutos, unos genes muy activados mientras que otros restaban en estado prácticamente basal; esto fue definido como respuesta al shock térmico (heat shock response). Esta respuesta celular frente a condiciones fisiológicas y ambientales adversas induce la síntesis de las denominadas proteínas del estrés (Heat Shock Proteins-HSPs) que fueron purificadas por primera vez

por Tissières y colaboradores (2,3) en *Drosophila* en 1974.

Esta respuesta a condiciones de estrés aparece en todos los organismos, tanto en arqueobacterias como en plantas y animales, siendo uno de los sistemas de respuesta celular mejor conservados a lo largo de la evolución. En este sentido y a modo de indicación se puede señalar que, por ejemplo, el porcentaje de homología entre la HSP-70 humana y la dnaK de *E coli* es del 50% mientras que el porcentaje de homología con otras proteínas afines a ésta, tales como la GRP-78/BiP y p72/HSC-70 es del 75-80%.

La respuesta al estrés "stress response" constituye el mecanismo fundamental por el cual los organismos modifican y/o alteran la expresión génica y por tanto la función celular dependiendo de las circunstancias ambientales (4). La fase intracelular de comunicación implica la activación de distintas vías intracelulares de segundos mensajeros que producen una cascada de activación/inactivación de distintos mecanismos que pueden llegar a activar o modificar la función nuclear (5). En la respuesta al estrés, bien por este mecanismo des-

Correspondencia: José Julio Rodríguez-Arellano. INSERM U-259. Psychobiologie des comportements adaptatifs. Université de Bordeaux II. Domaine de Carrière. Rue Camille Saint Saens. 33077 Bordeaux Cedex. Francia.

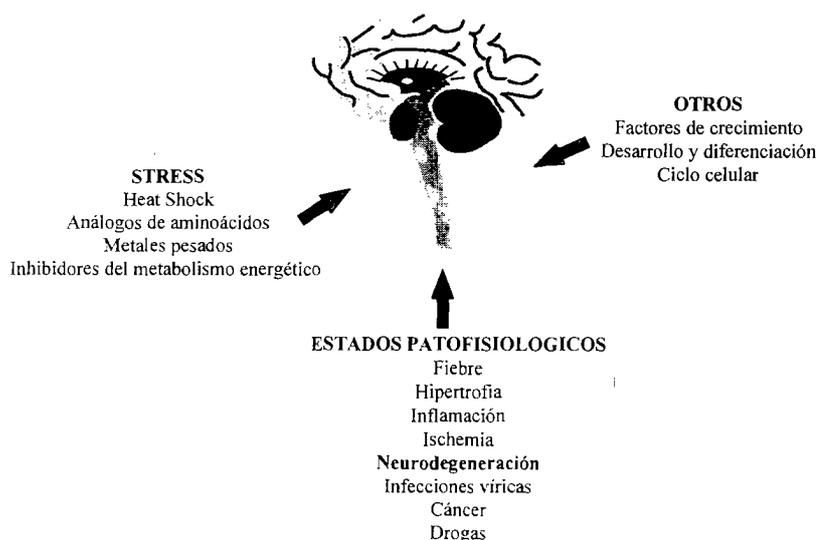


Figura 1: Fenómenos intracelulares de respuesta al estrés.

encadenado por estimulación de receptores o por alteraciones en las vías intracelulares mediados por cambios en el medio externo o interno o por agentes agresivos como ciertas drogas, se induciría la formación y activación de un factor de transcripción "heat shock" trimérico - HSF - (6-8), que posee la capacidad de unirse al elemento "heat shock" - HSE - y que se encuentra en las secuencias reguladoras 5' de los genes "heat shock" (9). Esta regulación llevada a cabo por el HSF implica diferentes efectos a nivel de la unión con el ADN y de la activación transcripcional (10-11). Esta activación del HSF parece requerir la presencia de niveles elevados de Ca^{2+} así como una fosforilización tirosina dependiente (10,12) (fig. 1).

Este tipo de proteínas, a parte de su supuesto papel de potenciador de la termorresistencia, pueden tener otros papeles y efectos sobre otros fenómenos celulares tales como la protección frente al estrés ambiental, la inmunidad celular, la función endocrina, la autoinmunidad, el proceso de cancerización, la resistencia a drogas y las alteraciones neuropatológicas entre otros (13-15) (fig. 2).

Hay diferentes familias principales de HSPs dependiendo de su peso molecular: HSP-100, HSP-90, HSP-70, HSP-60, HSP-47, HSP-20, y ubiquitina proteína de 8,5 Kda, dentro de las cuales, y fundamentalmente en la familia de las HSP-70, habría que diferenciar los miembros constitutivos - HSC-70 - de los inducibles - HSP-72/HSC-70 - (14-16). Tanto las distintas familias como los miembros de cada una de ellas presentan distintos papeles funcionales en cada uno de los casos. Los ejemplos más conocidos que se pueden considerar son:

- HSP-100: factor de termotolerancia, fundamentalmente a nivel del nucléolo.
- HSP-90: componente de los receptores para esteroides y elemento de unión a proteincinasas, así

como a actina y tubulina para su activación.

- HSP-70: factor que facilita el plegamiento de proteínas (chaperona) y su traslocación intracelular, elemento que se une a oncogenes y antioncogenes así como posible autoantígeno.

- HSP-60: facilita el plegamiento, ensamblaje (chaperona) y transporte de proteínas mitocondriales, autoantígeno.

- HSP-47: elemento que sirve de ensamblaje para formar fibras de colágeno.

- HSP-20: termotolerancia, señal de transducción para TNF.

- Ubiquitina: degradación de proteínas reguladoras de vida corta (p53, MATa2) y como de proteínas anómalas.

LAS PROTEINAS DE SHOCK TERMICO EN EL SNC

La inducción de HSPs en el Sistema Nervioso, al igual que en otros sistemas, ha sido descrita tras producirse daños tisulares, o situaciones de hipertermia o isquemia. El objetivo de la investigación neurobiológica con respecto a este grupo de proteínas se ha fijado en intentar comprender y explotar su papel neuroprotector frente a la involución y/o muerte neuronal y glial. Barber y col 1988 (17) y posteriormente Tytell y col 1989 (18) describieron los efectos neuroprotectores de las HSPs después del incremento del estrés térmico en la retina, protegiéndose así los fotorreceptores frente a la luz (19). Así mismo, ciertos estudios han demostrado que una breve exposición a incrementos de temperatura confiere una protección al tejido frente a subsecuentes fenómenos traumáticos. Si se somete un animal a un shock térmico no teratogénico (42°C) previo a un shock de temperatura inducido por defecto, el tejido adquiere una completa protección frente a los efectos teratogénicos.

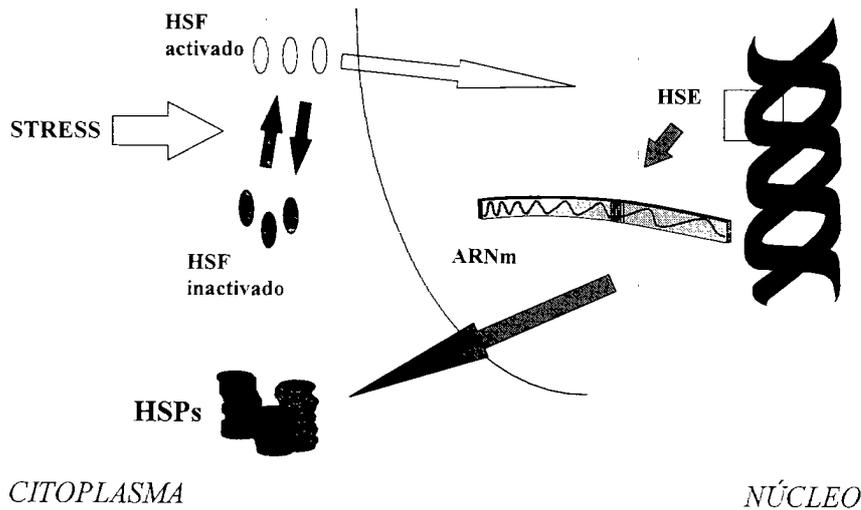


Figura 2: Esquema de las diversas causas que inducen la síntesis de HSPs.

(20-21). De igual manera se ha podido observar que después de someter células U937 y Wehi-s, in vitro, a un shock térmico, éstas presentan mayor resistencia a agentes inductores de apoptosis, tales como actinomicina D y la camptotecina (22). En modelos animales de apoplejía y epilepsia se ha observado que la inducción de HSP precede a la muerte celular y acompaña a los niveles potencialmente destructivos de aminoácidos excitatorios (23-24).

Son numerosos los estudios que hasta el momento se han realizado para determinar bajo qué circunstancias, patológicas o no patológicas, in vitro o in vivo, se induce la presencia de HSPs y de esta manera, intentar esclarecer el papel funcional de estas proteínas en el sistema nervioso central de los mamíferos.

Distintos grupos han estudiado los fenómenos que inducen la síntesis de HSPs. Se ha demostrado que temperaturas febriles inducidas por drogas psicotrópicas, tales como el LSD, provocan la rápida síntesis de HSP-70 tanto en cerebro adulto como fetal de conejos (25-28); al igual que después de la administración de neurotoxinas, tales como ácido kaínico, en el cerebro de ratas, donde se ha podido constatar un aumento local de la expresión del elemento inducible de la familia HSP-70, fundamentalmente en el sistema límbico (20). También ha sido observada la inducción de HSP-90 como consecuencia de una inhibición transitoria de la síntesis de proteínas originada por una lesión en cerebros adultos en las etapas tempranas de la traducción (30-32).

La hipertermia generalizada y la hipertermia inducida por psicoestimulantes, como la anfetamina, inducen, en roedores, la síntesis de HSP-70 (33-34). Otros estudios han señalado la presencia de HSP-70 en estados de isquemia en el cerebro de ratas (35-38). Así mismo se ha demostrado, tanto in vivo como in vitro, la inducción de HSP-70 y HSP-90 en la retina de conejos

después de un shock térmico (39-40). Esta inducción de HSP-70 a nivel de la retina ha sido también constatada en presencia de agentes que afectan a la estabilidad de los microtúbulos (41); en este sentido, se ha podido comprobar que el tratamiento con agentes que estabilizan los microtúbulos, como el taxol, reducen los niveles de HSP-70 (42). Sin embargo, la colchicina, que es un potente desestabilizador de microtúbulos, sólo induce la síntesis si a su vez existe un shock térmico (40). También en presencia de tumores cerebrales se ha observado un incremento de HSP-72, así como la inducción de otras proteínas asociadas, tales como la vimentina (43).

Por todo lo descrito hasta ahora, se puede constatar que dentro de las distintas familias de proteínas de shock térmico la más estudiada en el sistema nervioso es la familia de las HSP-70, debido, fundamentalmente, a que los componentes inducibles (HSP-72) de esta familia aparecen en gran número siempre que se dan condiciones de estrés celular (44). En contraposición, la proteína constitutiva de esta familia (la denominada HSC-70) tiene un alto nivel de expresión en el tejido nervioso en condiciones normales, estando directamente relacionada con los procesos de reciclaje de la clatrina de las vesículas de endocitosis (45-46). La proteína HSC-70 se une al ATP y a la calmodulina (CM) dependiendo de la concentración de Ca^{2+} (Ca^{2+} CM) de tal forma que inhibe la activación de las enzimas calmodulina dependientes, implicadas, entre otros procesos, en el fenómeno de exocitosis (47) tan importante en la fisiología neuronal. Así mismo, se ha demostrado que ambos elementos, constitutivo e inducible, interaccionan con los microtúbulos contribuyendo al transporte axónico (próximo distal) lento (48). En este sentido, trabajos recientes han demostrado que ciertos elementos constitutivos de la familia HSP-70, HSP-73, junto con otros antígenos centrosómicos tales como la chaperona TCP-

1 y la pericentrina, contribuyen a la reparación activa del centrosoma restableciendo el crecimiento de los microtúbulos alterados después de un shock térmico (49).

Los elementos inducibles de la familia de las HSP-70 pueden ser altamente susceptibles de fosforilización cuando aparecen altos niveles de Ca^{2+} intracelulares (50), aunque el papel funcional de dicha fosforilación no está muy bien determinado; sin embargo, se ha demostrado que un gran número de proteínas celulares se asocian a estos elementos fosforilados, formando complejos (51). Entre estos complejos enzimáticos se han descrito asociaciones con fosfolipasas, proteasas y cinasas (44) que contribuyen a disminuir los efectos celulares tóxicos producidos por agentes nocivos.

Los distintos elementos de la familia HSP-60 parecen intervenir de manera conjunta con los elementos de la familia HSP-70 con el fin de eliminar proteínas anómalas o bien catalizar su buen plegamiento. También es posible detectar la presencia de HSC-70 y HSP-60 en ciertos orgánulos celulares tales como mitocondrias (52-53). La HSP-70 mitocondrial está implicada en la traslocación a la membrana mitocondrial de los precursores protéicos codificados en el núcleo, así como en el ensamblaje y plegamiento de las proteínas importadas a la matriz mitocondrial. También están relacionadas con la eliminación de proteínas críticas que pudieran afectar el metabolismo energético.

La HSP-90 se encuentra asociada a GRP-94, elemento perteneciente a otra familia de proteínas del estrés denominadas proteínas reguladas por glucosa ("glucose-regulated proteins"), presentes en el retículo endoplásmico y en la membrana plasmática que responden, por ejemplo, a privaciones de glucosa, insulina o tunicamicina (44).

La Ubiquitina que se haya asociada a un gran número de alteraciones citológicas presentes tanto en el envejecimiento como en distintas enfermedades neurodegenerativas (ovillos neurofibrilares, cuerpos de Lewy, cuerpos granulovacuolares, fibras de Roshenthal...) (54), ha sido identificada gracias a técnicas de microscopía electrónica (immunogold labelling) en los lisosomas (55). Estudios recientes han hecho cobrar fuerza a la asociación que se establece entre la ubiquitina y los compartimentos celulares. Parece ser que la presencia de ubiquitina se hace esencial para la degradación lisosomal de proteínas (56). Asimismo, parece jugar un papel muy importante en la transferencia de enzimas vesiculares a endosomas multivesiculares (57).

Las enfermedades mentales surgen como alteraciones de la estructura cerebral y/o disfunciones neuronales que pueden tener su origen durante el desarrollo, tras una lesión del SNC o bien a consecuencia de padecer un proceso degenerativo progresivo, que es lo que se ha definido como neurodegeneración.

Durante los últimos años y debido fundamentalmente a la importancia social y económica que han cobrado algunos procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer (en su variante juvenil y senil), la enfermedad de Parkinson, y la enfermedad de Pick, entre otros, se ha producido una avalancha de trabajos con el fin de esclarecer sus mecanismos de acción, en muchos casos oscuros y de poner a punto tratamientos específicos así como nuevas técnicas de diagnóstico que puedan ayudar fundamentalmente a detectar los estadios tempranos de estas patologías. Hay que tener en cuenta que el número de pacientes afectados es elevado ya que dentro de las personas que padecen enfermedades psiquiátricas en el mundo occidental e internadas en instituciones oficiales, más de la mitad de ellas padecen algún tipo de demencia, y dentro de ellas el 90% de los casos son personas con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer (58).

El cerebro es un órgano complejo compuesto por numerosos tipos celulares, que tienen cada uno de ellos una respuesta diferente al estrés celular que, incluso puede ser variable en cada tipo. En consecuencia, la respuesta global del SNC será variable dependiendo del tipo de neurodegeneración que se produzca.

Recientemente ha sido descrito que en los cerebros de personas dementes se produce un incremento de la expresión de los genes que codifican la síntesis de las HSPs (59). En este sentido, se ha descrito la presencia de las llamadas HSPs pequeñas (familia de las HSP-20) en el citoplasma de neuronas hinchadas ("balloned neurons") pertenecientes a distintos procesos neurodegenerativos (60), en los denominados cuerpos amiláceos (CA) que aparecen en personas de avanzada edad, así como en pacientes con la enfermedad de Alzheimer (61). Dentro de estos CA, que también aparecen en otros tipos de enfermedades neurodegenerativas como en la enfermedad de Lafora (61-62) y en la parálisis supranuclear progresiva (63), también, se ha podido observar la presencia del componente inducible HSP-70 y de ubiquitina, lo que sugiere la presencia y/o acumulación de proteínas anómalas.

También, ha sido descrita la presencia de la proteína αB cristalina, proteína asociada estructuralmente y funcionalmente, a las HSPs pequeñas (64-65) en astrocitos reactivos de personas que padecen la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (66), con ubiquitina en las fibras de Rosenthal que aparecen en los astrocitos reactivos durante la enfermedad de Alexander (67) y también en algunos astrocitos reactivos y en la mayor parte de células microgliales de personas con la enfermedad de Alzheimer (68).

Como ha sido descrito en múltiples y numerosos trabajos, la astrogliá reactiva forma parte importante del cuadro patomorfológico de varias enfermedades neurológicas, entre las que hay que incluir distintos procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer (69-70). Los astrocitos reactivos juegan un

papel general dentro de la patogenia que acontece en la enfermedad de Alzheimer, ya que ésta gliosis pudiera representar una reacción protectora frente al daño celular (71-72), considerándola reguladora de determinadas moléculas como: proteasas, citocinas y factores neurotróficos entre otros (70).

Como bien se sabe, en muchos de los procesos neurodegenerativos se producen cúmulos anormales de diferentes proteínas. En este sentido, en los últimos tiempos está cobrando gran importancia el hecho de que esta acumulación se deba fundamentalmente al mal plegamiento y/o a la formación anómala de proteínas (73), como ocurre, por ejemplo, en la enfermedad de Alzheimer, en la enfermedad de Creutzfeld-Jakob o en la polineuropatía amiloide familiar. En todos estos procesos neurodegenerativos se producen cúmulos de sustancia amiloide o de los denominados depósitos similares al amiloide "amyloid-like", que surgen como consecuencia de una conformación tridimensional diferente de la forma funcional y soluble normal. Como se ha mencionado anteriormente las chaperonas y entre ellas las proteínas de shock térmico intervendrían de dos maneras: catalizando el replegamiento de las proteínas defectuosas, para volver a su estructura normal o bien contribuyendo a su degradación y posterior eliminación, como hacen la ubiquitina y la HSP-72 (74). Con el fin de corroborar estos hechos habría que mencionar que, ya en 1986, Pelham y col (75) propusieron la unión preferencial de la HSP-72 a las regiones hidrofóbicas de las proteínas intracitoplasmáticas desnaturalizadas y/o malformadas mediando una hidrólisis de ATP.

Con el fin de concretar y determinar el papel funcional exacto de las HSPs en los procesos de neurodegeneración, se están realizando diversos estudios "in vitro" para aclarar la asociación de la HSPs pequeñas (HSP-27 y sus diferentes isoformas HSP-27b y HSP-27c) con la proteína α B cristalina, tanto en neuronas como en glía (76), y poder así establecer sus distintos patrones de expresión. También se están llevando a cabo estudios "in vivo" con ratones transgénicos, deficientes en Apolipoproteína E, con el fin de estudiar la asociación de ésta con diferentes proteínas del citoesqueleto (a,b-tubulina, cinesina), observándose que, en los animales homocigóticos se dan, desde el cuarto mes de vida, vacuolización dendrítica y grandes alteraciones del sistema de endomembranas y del citoesqueleto. Esto da mayor peso al posible papel que juega la Apolipoproteína E en la estabilidad del aparato sinapto-dendrítico (77). Esto estaría directamente relacionado con las alteraciones sinápticas y del citoesqueleto presentes en los enfermos de Alzheimer, en las que a su vez y tal y como han indicado diversos autores, podrían estar implicados elementos de las HSPs, como la Ubiquitina (78-80).

Por último, habría que indicar que el mayor conocimiento de las proteínas de shock térmico y la utili-

zación de técnicas, tales como la amplificación por PCR, ELISA e inmunocitoquímica entre otras, han permitido aumentar la comprensión de múltiples procesos neurodegenerativos y los distintos fenómenos presentes en el envejecimiento fisiológico, modificando de manera importante tanto el diagnóstico histopatológico como el diagnóstico clínico. En este sentido, deberíamos mencionar la importancia de la ubiquitina, que es una de las proteínas de shock térmico que más asociada se halla a alteraciones estructurales tales como los ovillos neurofibrilares en la enfermedad de Alzheimer, los cuerpos de Pick en la enfermedad de Pick, los cuerpos de Lewy en la enfermedad de Lewy o de Parkinson, así como en la distrofia neuroaxonal presente durante el envejecimiento, entre otras (79), permitiendo en muchos casos establecer el diagnóstico exacto, algunas veces complejo, entre envejecimiento y enfermedad neurodegenerativa. En el primer caso, las estructuras inmunorreactivas a ubiquitina no se hallan asociadas a elementos del citoesqueleto, mientras que en el segundo caso, aparecen grandes modificaciones y/o alteraciones del citoesqueleto. De igual manera, la presencia de unos u otros elementos pertenecientes a las proteínas de shock térmico han dado lugar a patrones diferenciadores de ciertos tumores cerebrales (81-82). Ultimamente, ciertos grupos de trabajo analizan la presencia de distintas proteínas de shock térmico en el líquido cefalorraquídeo (83) de pacientes con esclerosis múltiple, con el fin de intentar mejorar y perfeccionar las técnicas de diagnóstico, basándose, fundamentalmente, en su potencial inmunogénico y en su expresión preferencial en oligodendroglía, comparándolo con otras neuropatías y enfermedades neurológicas.

CONCLUSION

Las distintas investigaciones que se han llevado a cabo hasta ahora sobre la respuesta al estrés celular, sugieren un papel extremadamente importante y activo de las proteínas de shock térmico. Así mismo, la producción y función de estas proteínas se ha visto que están modificadas en diversas patologías del SNC y procesos neurodegenerativos.

Fenomenológicamente, el estudio de la localización de las distintas familias de HSPs puede proporcionar el indicador que marque la repercusión y su intensidad ante el estrés celular y, consecuentemente, explicar las secuelas del tejido afectado. Asimismo, el esclarecimiento de los papeles funcionales concretos de este grupo de proteínas pudiera permitir comprender mejor los mecanismos endógenos de defensa celular, y aportar significativos beneficios a nivel clínico con el fin de establecer posibles tratamientos neuroprotectores, mimetizando y amplificando la respuesta al estrés mediante la administración de sustancias farmacológicas similares a las proteínas de shock térmico.

RESUMEN

El objetivo de esta revisión es plasmar el conocimiento actual sobre la regulación de la respuesta al estrés y de su producto, las HSPs, en el sistema nervioso central y remarcar su importancia como marcador del daño celular identificando áreas y/o poblaciones celulares vulnerables en distintos procesos neurodegenerativos. La producción y función de las "Heat shock proteins", como respuesta al estrés celular aparecen modificadas en ciertas patologías del SNC y procesos neurodegenerativos, jugando un papel activo muy importante.

Palabras clave: "Heat shock proteins", proteínas del estrés. "Heat shock response", degeneración. Patología celular. SNC.

BIBLIOGRAFIA

1. Rittosa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 1962; 18: 571-573.
2. Tissieres A, Mitchell HK, Tracy U. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*. Relation to chromosome puffs. *J Molec Biol* 1974; 84: 389-398.
3. Pauli D, Arrigo AP, Tissieres A. A heat shock response in *Drosophila*. *Experientia* 1992; 48: 623-628.
4. Nowak TS, Jacewicz M. The heat shock/stress response in focal cerebral ischemia. *Brain Pathology* 1994; 4: 67-76.
5. Toledano A, Díaz MG, Alvarez MI. Nuevos conceptos sobre la comunicación neuronal en el Sistema Nervioso Central. *An Real Acad Farm* 1996; En prensa.
6. Wu C, Wilson S, Walker B et al. Purification and properties of *Drosophila* heat shock activator protein. *Science* 1987; 238: 1247-1253.
7. Rabindran SK, Haroun RI, Clos J, Wisniewski J, Wu C. Regulation of heat shock factor trimer formation: role of a conserved leucine zipper. *Science* 1993; 259: 230-234.
8. Lee BS, Chen J, Angelidis C, Jurivich DA, Morimoto RI. Pharmacological modulation of heat shock factor 1 by antiinflammatory drugs results in protection against stress-induced cellular damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7207-7211.
9. Paerisic O, Xiao H, Lis JT. Stable binding of *Drosophila* heat shock factor to head-to-head and tail-to-tail repeats of a conserved 5 bp recognition unit. *Cell* 1989; 59: 797-806.
10. Price BD, Calderwood SK. Ca²⁺ is essential for multi-step activation of the heat shock factor in permeabilized cells. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 3365-3368.
11. Jurivich DA, Sistonen L, Kroes RA, Morimoto RI. Effect of sodium salicylate on the human heat shock response. *Science* 1992; 255: 1243-1245.
12. Larson JS, Schuetz TJ, Kingston RE. Activation in vitro of sequence-specific DNA binding by a human regulatory factor. *Nature* 1988; 335: 372-375.
13. Morimoto RI. Heat shock: The role of transient inducible responses in cell damage, transformation and differentiation. *Cancer Cells* 1991; 3: 295-301.
14. Jäättelä M, Wissing D. Emerging role of heat shock proteins in *Biology and Medicine*. *Ann Medicine* 1992; 24: 249-258.
15. Ciocca DR, Luque LH. Immunological evidence for the identity between the HSP-27 estrogen-regulated heat shock protein and the p29 estrogen receptor associated protein in breast and endometrial cancer. *Breast Cancer Res. Treat* 1991; 20: 33-42.
16. Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 1988; 22: 631-677.
17. Barbe MF, Tytell M, Gower DJ, Welch WJ. Hyperthermia protects against light damage in the rat retina. *Science* 1988; 214: 1817-1820.
18. Tytell M, Barbe MF, Gower DJ. Photoreceptor protection from light damage by hyperthermia. En La Vail MM, Anderson RE, Hollyfield JG eds. *Inherited and environmentally induced retinal degeneration*. Nueva York. Alan R. Liss Inc 1989; 523-538.
19. Tytell M, Barbe MF, Brown IR. Induction of heat shock (stress) protein 70 and its mRNA in the normal and light-damaged rat retina after whole body hyperthermia. *J Neurosci Res* 1994; 38: 19-31.
20. Walsh DA, Klein NW, Hightower LE, Edwards MJ. Heat shock and thermotolerance during early rat embryo development. *Teratology* 1987; 36: 181-191.
21. Walsh DA, Speirs J, Crowther CE, Edwards MJ. Regulation of the inducible heat-shock 71 genes in early neural development of cultured rat embryos. *Teratology* 1989; 40: 321-334.
22. Samali A, Cotter TG. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Exp Cell Res* 1996; 223: 163-170.
23. Simon RP, Cho H, Gwinn R, Lowenstein DH. The temporal profile of 72-kDa heat-shock protein expression following global ischemia. *J Neurosci* 1991; 11: 432-439.
24. Sloviter RS, Lowenstein DH. Heat shock protein expression in vulnerable cells of the rat hippocampus as an indicator of excitation induced neuronal stress. *J Neurosci* 1992; 12: 3004-3009.
25. Fredman MS, Clark BD, Cruz TF, Gurd JW, Brown IR. Selective effects of LSD and hyperthermia and the synthesis of synaptic protein and glycoproteins. *Brain Res* 1981; 207: 129-145.
26. Brown IR. Hyperthermia induces the synthesis of a heat shock protein by polysomes isolated from the fetal and neonatal mammalian brain. *J Neurochem* 1983; 40: 1490-1493.
27. Cosgrove JW, Brown IR. Heat shock protein in the mammalian brain and other organs following a physiological relevant increase in body temperature induced by LSD. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 569-573.
28. Brown IR. Effect of hyperthermia and LSD on gene expression in the mammalian brain and other organs. En Atkinson BG, Walden CB eds. *Changes in eukaryotic gene expression in response to environmental stress*. Nueva York. Academic Press Inc 1985; 211-225.

29. Planas AM, Soriano MA, Ferrer Y, Rodríguez Farre E. Kainic acid-induced heat shock protein-70, mRNA and protein expression is inhibited by MK-801 in certain rat brain regions. *Eur J Neurosci* 1995; 7: 293-304.
30. Cosgrove JW, Clark BD, Brown IR. Effect of intravenous administration of d-lysergic acid diethylamide on subsequent protein synthesis in a cell-free system derived from brain. *J Neurochem* 1981; 36: 1037-1045.
31. Cosgrove JW, Brown IR. Effect of intravenous administration of d-lysergic acid diethylamide on initiation of protein synthesis in a cell-free system derived from brain. *J Neurochem* 1984; 42: 1420-1426.
32. Brown IR, Heikkilä JJ, Cosgrove JW. Analysis of protein synthesis in the mammalian brain using LSD and hyperthermia as experimental probes. En Brown IR ed. *Molecular approaches to neurobiology*. Nueva York. Academic Press Inc 1982; 221-253.
33. Currie RW, White FP. Trauma induced protein in rat tissues: A physiological role for a heat shock protein. *Science* 1981; 214: 72-73.
34. Nowak TS. Effects of amphetamine on protein synthesis and energy metabolism in mouse brain: role of drug induced hyperthermia. *J Neurochem* 1988; 50: 285-294.
35. Jacewicz MJ, Kiessling M, Pulsinelli WA. Selective gene expression in focal cerebral ischemia. *J Cereb. Blood Flow Metab* 1986; 6: 263-272.
36. Dienal GA, Kiessling M, Jacewicz M, Pulsinelli WA. Synthesis of heat shock proteins in rat brain cortex after transient ischemia. *J Cereb. Blood Flow Metab* 1986; 6: 505-510.
37. Kiessling M, Dienal GA, Jacewicz M, Pulsinelli WA. Protein synthesis in postischemic rat brain: a two dimensional electrophoretic analysis. *J Cereb. Blood Flow Metab* 1986; 6: 642-649.
38. Dwyer BE, Nishimura RN, Brown RN. Synthesis of the major heat shock protein in rat hippocampus after neonatal hypoxia ischemia. *Exp. Neurol* 1989; 104: 28-31.
39. Clark BD, Brown IR. Protein synthesis in the mammalian retina following the intravenous administration of LSD. *Brain Res* 1982; 247: 97-104.
40. Clark BD, Brown IR. Induction of a heat shock protein in the isolated mammalian retina. *Neurochem Res* 1986; 11: 269-279.
41. Clark BD, Brown IR. Altered expression of a heat shock protein in the mammalian nervous system in the presence of agents that affect microtubule stability. *Neurochem Res* 1987; 12: 819-823.
42. Brown IR. Induction of heat shock (stress) genes in the mammalian brain by hyperthermia and other traumatic events: a current perspective. *J Neurosci Res* 1990; 27: 247-255.
43. Chuen Lee W, Chien Lee Y, Der Perng M, Ming Chen C, Kay Lai Y. Induction of vimentin modification and vimentin-HSP 72 association with angulatin A in 9L rat brain tumor cells. *J Cell Biochem* 1993; 53: 253-265.
44. Koroshetz WJ, Bonventre JV. Heat shock response in the central nervous system. *Experientia* 1994; 50: 1085-1091.
45. Black MM, Chestnut MH, Pleasure IT, Keen JH. Stable clathrin: uncoating protein (hsc 70) complexes in intact neurons and their axonal transport. *J Neurosci* 1991; 11: 2263-2272.
46. DeLuca-Flaherty C, McKay DB, Parham P, Hill B. Uncoating protein (hsc 70) binds a conformationally labile domain of clathrin light chain LCa to stimulate ATP hydrolysis. *Cell* 1990; 62: 875-887.
47. Dawson VL, Dawson TL, London ED, Bredt BS, Snyder SH. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6368-6371.
48. Whatley SA, Leung T, Hall C, Lin L. The brain 68-Kilodalton microtubule associated protein is a cognated form of the 70-Kilodalton mammalian heat shock protein and is present as a specific isoform in synaptosomal membranes. *J Neurochem* 1986; 47: 1576-1583.
49. Brown CR, Hong-Brown LQ, Doxsey SJ, Welch WJ. Molecular chaperones and the centrosome. A role for HSP 73 in centrosomal repair following heat shock treatment. *J Biol Chem* 1996; 271: 833-840.
50. Leustek T, Amir-Shaphira D, Toledo H, Brot N, Weissbach H. Autophosphorylation of 70KDa heat shock proteins. *Cell Mol Biol* 1992; 38: 1-10.
51. Sherman MYU, Goldberg AL. Involvement of the chaperoning dnaK in the rapid degradation of a mutant protein in *Escherichia coli*. *EMBO J* 1992; 11: 71-77.
52. Miller E, Rease JD, Morrison Bogorad M. Expression of heat shock protein 70 and heat shock cognate messenger RNAs in rat cortex and cerebellum after heat shock or amphetamine treatment. *J Neurochem* 1991; 56: 2060-2071.
53. Kang PJ, Ostermann J, Shilling J, Neupert W, Craig EA, Phanner N. Requirement for HSP-70 in the mitochondrial matrix for translocation and folding of precursor proteins. *Nature* 1990; 348: 137-142.
54. Mayer RJ, Arnold J, Laszlo L, Landon M, Lowe J. Ubiquitin in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1991; 1089: 141-157.
55. Schwartz AL, Ciechanover A, Brandt RA, Geuze HJ. Immunoelectron microscopic localization of ubiquitin in hepatoma cells. *EMBO J* 1988; 7: 2961-2966.
56. Gropper R, Brandt RA, Elias S, Bearer CF, Mayer A, Schwartz A, Ciechanover A. The ubiquitin-activating enzyme. E1, is required for stress-induced lysosomal degradation of cellular proteins. *J Biol Chem* 1991; 266: 3602-3610.
57. Low P, Doherty FJ, Sass M, Kovacs J, Mayer RJ, Laszlo L. Immunogold localization of ubiquitin-proteins conjugates in Sf9 insect cells: implications for the biogenesis of lysosome-related organelles. *FEBS Lett* 1993; 316: 152-156.
58. Beyreuther K, Masters CL. Neurodegeneration and dementia: Alzheimer's disease as a model. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1995; 45: 347-350.
59. Harrison PJ, Procter AW, Exworthy T et al. Heat shock proteins (hsc 70) mRNA expression in human brain: effects of neurodegenerative disease and agonal state. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1993; 19: 10-21.

60. Kato S, Hirano A, Umahara T, Kato M, Herz F, Ohama E. Comparative immunohistochemical study on the expression of α B - crystallin, ubiquitin and stress-response protein 27 in ballooned neurons in various disorders. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1992; 18: 335-340.
61. Cissé s, Perry G, Lacoste-Royall G, Cabana T, Gauvreau D. Immunohistochemical identification of ubiquitin and heat-shock proteins in corpora amylacea from normal aged and Alzheimer's disease brains. *Acta Neuropathol* 1993; 85: 233-240.
62. Robitaille Y, Carpenter S, Karpati G, Di Mauro S. A distinct form of adult polyglucosan body disease with massive involvement of central and peripheral neuronal processes and astrocytes. *Brain* 1980; 103: 315-336.
63. Behrman S, Carroll JD, Janota I, Matthews WB. Progressive supranuclear palsy. Clinico-pathological study of four cases. *Brain* 1969; 92: 663-678.
64. Klemenz R, Andres AC, Fröhli E, Schäfer R, Aoyama A. Expression of the murine small heat-shock proteins HSP 25 and α B - cristallin protein in the absense of stress. *J Cel Biol* 1993; 120: 639-645.
65. Merck KB, Groenen PJTA, Voorter CEM et al. Structural and functional similarities of bovine α B-crystalline and mouse small heat-shock protein. A family of chaperones. *J Biol Chem* 1993; 268: 1046-1052.
66. Renkawek K, Bosman GJCGM, Gaestel M. Increased expression of heat-shock protein 27-kDa in Alzheimer disease: a preliminary study. *Neuroreport* 1993; 5: 14-16.
67. Goldman JE, Corbin E. Rosenthal fibres contain ubiquitinated α B-crystallin. *Am J Pathol* 1991; 139: 933-938.
68. Renkawek K, Voorter CEM, Bosman GJCGM, van Workum FPA, de Jong WW. Expression of α B-crystallin in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1994; 87: 155-160.
69. Delacourte A. General and dramatic glial reaction in Alzheimer brains. *Neurology* 1990; 40: 33-37.
70. Eddleston M, Mucke Y. Molecular profile of reactive astrocytes: implications for their role in neurological disease. *Neuroscience* 1993; 54: 15-36.
71. Frederickson RCA. Astroglia in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 1992; 13: 239-253.
72. Giulian D, Vaca K, Corpuz M. Brain glia release factors with opposing actions upon neuronal survival. *J Neurosci* 1993; 13: 29-37.
73. Tubes G. Misfolding the way to disease. *Science* 1996; 271: 1493-1495.
74. Papadopoulos MC, Sun XY, Jianmin C, Mivechi NF, Giffard RG. Over-expression of HSP-70 protects astrocytes from combined oxygen-glucose deprivation. *Neuroreport* 1996; 7: 429-432.
75. Pelham H. Speculations on the functions of the major heat shock and glucose-regulated proteins. *Cell* 1986; 46: 959-961.
76. Satoh JI, Kim SU. Differential expression of heat shock protein HSP-27 in human neurons and glial cells in culture. *J Neurosci Res* 1995; 41: 805-818.
77. Masliah E, Mallory M, Ge N, Alford M, Veinbergs I, Roses AD. Neurodegeneration in the central nervous system of apoE-deficient mice. *Exp Neurol* 1995; 136: 107-122.
78. Wilkinson KD. Cellular roles of ubiquitin. En Mayer J, Brown Y eds. San Diego. Academic Press Inc 1994; 191-234.
79. Dickson DW, Yen S-H C. Ubiquitin, the cytoskeleton and neurodegenerative diseases. En Mayer J, Brown Y eds. San Diego. Academic Press Inc 1994; 235-262.
80. Landon M, Lowe J, Mayer RJ. Ubiquitin, endosomes-lysosomes and neurodegenerative diseases. En Mayer J, Brown Y eds. San Diego. Academic Press Inc 1994; 263-288.
81. Kato S, Morita T, Takenaka T, Kato M, Hirano A, Herz F, Ohama E. Stress-response (heat shock) protein 90 expression in tumors of the central nervous system: an immunohistochemical study. *Acta Neuropathol* 1995; 184-188.
82. Hitotsumatsu T, Iwaki T, Fukui M, Tateishi J. Distinctive immunohistochemical profiles of small heat shock proteins (heat shock protein 27 and alpha B-crystallin) in human brain tumors. *Cancer* 1996; 77: 352-361.
83. Prabhakar S, Kurien E, Gupta RS, Zielinski S, Freedman MS. Heat shock protein immunoreactivity in CSF: correlation with oligoclonal banding and demyelinating disease. *Neurology* 1994 1994; 44: 1644-1648..