

# REGULACION DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS POR LA INMUNOFILINA FKBP51

Palabras clave: chaperona molecular; Inmunofilina; HSF; FKBP51; Glucocorticoides.  
Key words: Molecular chaperones; Immunophilins; HSF; FKBP51; Glucocorticoids.

Podemos definir al estrés como la respuesta defensiva del organismo ante una situación amenazante o desbordante que podría poner en riesgo la salud física o mental del individuo. La respuesta al estrés es un mecanismo fisiológico normal de adaptación a la situación adversa que, si bien es cierto podría generar con el tiempo ciertos trastornos derivados de mantenerse la constancia de ese estado de alerta, de ninguna manera es una patología en sí misma. La llave maestra que activa las respuestas al estrés es una proteína llamada HSF (del inglés, Heat-Shock Factor) que se activa casi instantáneamente frente a una situación de estrés de cualquier tipo. Ello conduce a su transporte al núcleo de las células en donde regula la expresión de una familia de proteínas llamadas chaperonas moleculares. Las mismas tienen a su cargo la protección de otras proteínas cuyas funciones son esenciales para el normal funcionamiento de la célula previniendo así su alteración ante una situación adversa (p.ej.: calor, tóxicos, radiación, metales, oxidantes, etc.). La reacción general del organismo se caracteriza por modificaciones neuroendocrinas que involucran principalmente al eje conformado por el hipotálamo (una especie de centro cerebral que organiza las conductas y emociones), la glándula hipófisis que responde río abajo a los estímulos hipotalámicos y las glándulas suprarrenales, una especie de centro de reactividad a los estímulos generados en la hipófisis que producen las hormonas esteroides que son críticas para la modulación de la respuesta adaptativa al estrés, los glucocorticoides. En las células-blancas, los glucocorticoides ejercen sus efectos al ser reconocidos por su receptor específico, GR (del inglés, Glucocorticoid Receptor), cuya actividad es a su vez modulada por aquellas chaperonas moleculares que son inducidas por la proteína HSF. Entre estas chaperonas, hay una de ellas llamada FKBP51 (del inglés, FK506-Binding Protein 51) que le confiere a GR (y por ende a la respuesta al estrés) propiedades particulares, habiéndose observado que la existencia de determinadas variantes de expresión (o isoformas) de FKBP51 muestran una estrecha relación con cuadros psiquiátricos como el síndrome de estrés post-traumático, depresiones severas o el trastorno bipolar. En este artículo se analizará la raíz biológica de estos síndromes y sus eventuales consecuencias en la salud psicofísica del individuo.

## Mario D. Galigniana

Laboratorio de Receptores Nucleares del Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET). Laboratorio de Biología Molecular y Celular del Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

[mgaligniana@conicet.gov.ar](mailto:maligniana@conicet.gov.ar)

Stress could be defined as the defensive response of an organism against threatening or aggressive situations that could affect the physical or mental condition of an individual. The stress response is a normal physiological adaptation mechanism, which could become dangerous in the long term generating health disorders as a consequence of the constant persistence of alert conditions, but such response is not itself a pathology. The key factor that initiates this defensive biological response is the activation of the Heat-Shock Factor (HSF), a protein that turns on very rapidly upon the onset of any stressing situation. Primarily located in the cytoplasm of the cell, HSF translocates to the nucleus and stimulates the expression of a set of proteins specialized in protecting the cell against stress, the so called molecular chaperones. They are able to protect other proteins from degradation or aggregation when various types of harmful stimuli threaten the cell (such as heat, toxics, radiation, metals, oxidants, etc.). The overall reaction of the organism is characterized by the neuroendocrine responses that involve the hypothalamus (a sort of brain center able to organize our behavior and emotions), the pituitary gland, which is under the command of the hypothalamus and the adrenal glands, a center that responds to those stimuli sent by the pituitary gland producing a class of steroid hormones that are critical for the adaptive biological response to stress, i.e.: the glucocorticoid hormones. In the target cells, glucocorticoids are recognized by a specific receptor, the glucocorticoid receptor (GR). In turn, the biological activity of GR is regulated by the same type of molecular chaperones induced by HSF. Among them, the FK506-Binding Protein 51 (FKBP51) affects GR function and, consequently, the stress response. There are expression variants of FKBP51 (named isoforms) that have been related to psychiatric disorders such as the post-traumatic stress disorder, severe depression syndrome or bipolar disorder. In this article, the biological reasons for this syndrome will be analyzed, as well as the consequences on the psychophysical condition of the individual.

“El miedo tiene una gran sombra, pero una estatura muy pequeña” (Ruth Gendler)

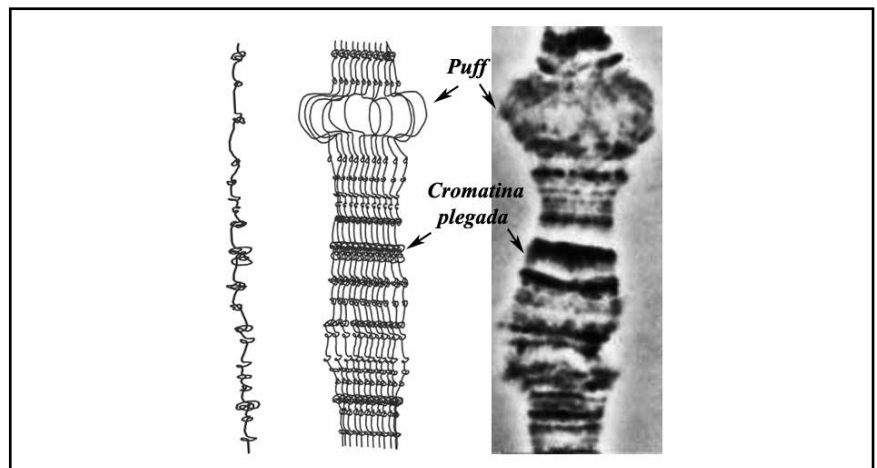
## ■ LAS PRIMERAS EVIDENCIAS FISIOLÓGICAS Y MOLECULARES

Se asigna el primer uso del término estrés al fisiólogo Walter Canon en 1911 [1]. En sus trabajos, Canon usaba esta palabra para referirse a la reacción fisiológica generada por la percepción de una situación adversa o amenazante. Accidentalmente descubrió la influencia de factores emocionales en la secreción de adrenalina y desarrolló en los siguientes 20 años el concepto de la *reacción de lucha o de huida* como respuesta básica del organismo a toda situación peligrosa, en la que desempeña un cometido esencial la liberación de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) por la médula suprarrenal y las terminaciones nerviosas simpáticas. En 1936, el endocrinólogo Hans Selye postuló su modelo de síndrome general de adaptación al estrés o GAS (*General Adaptation Syndrome*), popularizando así el concepto relacionado a la respuesta fisiológica inapropiada ante cualquier contingencia adversa generada por un agente dado, al que llamó “estresor”. Como ya se mencionó en el resumen, las situaciones de estrés que afectan a un individuo durante su vida pueden ser de naturaleza muy variada, pero Selye postuló que todas ellas generan una respuesta similar que involucra una reacción aguda de alarma preventiva [2], la secreción de cortisol además de la de catecolaminas, con lo cual provee un entorno de suficiente disponibilidad de energía para el organismo. Sin embargo, si este proceso se repitiera y esa energía no fuera utilizada en actividad física, podría tener efectos dañinos. En una segunda etapa, cuando el pro-

blema primario ya fue resuelto, todo parece volver a la normalidad, pero las defensas del organismo pueden quedar exhaustas y, de repetirse un estímulo, hay cierto grado de resistencia a responder como antes. Finalmente desemboca en el paso de la extenuación del organismo a la aparición de patologías de variada índole. La exposición constante a elevados niveles hormonales genera deterioro orgánico, especialmente de naturaleza cardiovascular, el individuo se inmunodeprime, le resulta más difícil sobrellevar otras patologías preexistentes o adquiridas, muestra trastornos psicosomáticos y, a nivel psicológico, los trastornos pueden ser tan extremos que las personas se tornan incapaces de actuar en absoluto.

Desde el punto de vista molecular, las primeras evidencias de los mecanismos elementales en una célula para responder al estrés fueron

descriptas en células de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) sometidas a cambios térmicos [3]. Debe aclararse que no es sólo la temperatura la que activa esta respuesta sino una gran variedad de situaciones. Hay estímulos de naturaleza química, como la exposición a compuestos tóxicos orgánicos o inorgánicos, metales, condiciones de extrema acidez o alcalinidad, etc. Pueden ser fenómenos físicos como el exceso de exposición al sol, calor, frío, ruidos, luz ultravioleta, contusiones mecánicas, etc. También pueden ser estímulos conductuales o la resultante de nuestra relación con el entorno social y comunitario, los que afectan a nuestra psiquis tal como es el caso de tensión nerviosa extrema y/o constante, acoso psicológico, experiencias traumáticas de vida (guerras, violaciones, robos, abusos, angustias), etc. En todos los casos, el organismo responderá tratando de minimizar los riesgos que



**Figura.1. Apariencia de los “puffs” de los cromosomas al ser generados por choque térmico.** La cromatina está formada por ADN (portador del código genético) y proteínas asociadas, muchas de ellas son chaperonas. Se pliega sobre sí y forma fibras (imagen de la izquierda), las que en el cromosoma se organizan en fascículos que dan lugar a las cromátidas o brazos (esquema central). Notar que como todas las fibras individuales se pliegan igual y se superponen, toman la apariencia de nodos o bandas transversales en la cromátida. La fotografía de la derecha representa una cromosoma real con la parte expandida señalada como “puff”, la que se sabe es transcripcionalmente activa (se transcribe el código del gen a ARN).

acompañan a esas situaciones no deseadas previniendo o atenuando los efectos nocivos de las mismas sobre las funciones celulares básicas de cualquier tejido del organismo, con lo que se protege a su vez al organismo como un todo.

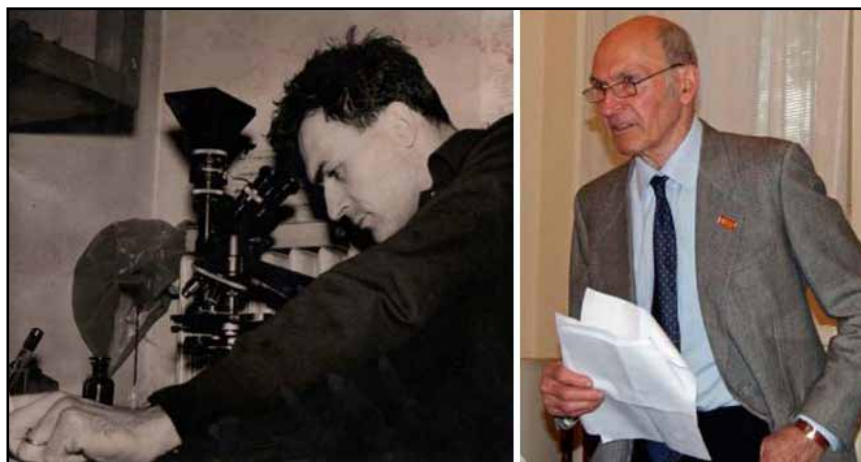
Como ocurre con frecuencia, estos mecanismos biológicos defensivos fueron descubiertos con la ayuda del azar, aunque también gracias a la curiosidad del investigador quien siempre debe ayudar a su buena suerte. A fines de los años '50, el científico italiano Ferruccio Ritossa se encontraba estudiando la síntesis de ácidos nucleicos en células de glándula salival de *Drosophila* las que, a diferencia de las células de mamíferos que crecen a 37°C, lo hacen mejor a una temperatura óptima de 24°-26°C. Estas células de insecto son altamente especializadas y se caracterizan por sufrir ciclos repetidos de replicación de su ADN, sin que ello se acompañe de división celular, con lo que logran aumentar su volumen celular grandemente al contar con múltiples copias de genes que les permiten tener un alto nivel de expresión génica de una variedad dada de proteínas. Sus cromosomas son gigantes (politénicos) y resultan de varias rondas de replicación de las cromátidas (o "brazos" del cromosoma), las que permanecen siempre unidas. Un colega del Dr. Ritossa, por descuido, incrementó la temperatura de la estufa a 37°C al poner sus cultivos. Aún fastidiado, el Dr. Ritossa decidió no descartar sus células y notó que sus cromosomas politénicos presentaban ahora ensanchamientos frecuentes y pronunciados, conocidos en la jerga como "puffs" (ver Figura 1). Estos puffs son típicos de zonas de activa transcripción de genes (es decir, el pasaje de la información codificada en el ADN a moléculas de ARN, las que luego salen del núcleo y son traducidas a proteínas en los ribosomas

citoplasmáticos). Esta observación contradecía el dogma que decía que durante el estrés la síntesis de proteínas estaba arrestada. Hoy sabemos que hay un grupo de genes que no sólo se sigue expresando sino que lo hace de manera exacerbada, tal que genera grandes cantidades de ARN en los primeros 2-3 minutos que siguen al estímulo estresante. Son los genes que codifican para las proteínas que luego se llamaron proteínas de choque térmico (*Heat-Shock Proteins*, o *Hsp*) y que tienen como función actuar como chaperonas de otras proteínas protegiéndolas de la inactivación, agregación o degradación.

Pero, ¿qué es una chaperona? Desde una perspectiva social, el término chaperona se refiere a una persona, usualmente una matrona, quien tenía la responsabilidad de supervisar el comportamiento apropiado y decoroso de jóvenes, especialmente señoritas, cuando se encontraban en un entorno social en el que no estaban presentes sus padres. Esta práctica fue frecuente hasta la primera mitad del s.XX, especialmente en la sociedad aristocrática anglo-sajona. Por extrapolación, se

llamaron chaperonas moleculares a aquellas proteínas inducidas en situaciones de estrés y cuya función es preservar las propiedades de sus "proteínas-cliente". En situaciones normales, las chaperonas son responsables del plegamiento correcto de las proteínas celulares y de la estabilidad con que lo mantienen en situaciones adversas. Notar que todas las proteínas de choque térmico son chaperonas, pero no todas las chaperonas son necesariamente proteínas de choque térmico ya que no se inducen por calor.

Como ocurre usualmente, la importancia de la observación fortuita de Ferruccio Ritossa no fue enteramente valorada en su momento. Fue así que la primera y más clara demostración hasta hoy de que cambios en el entorno de un organismo afectan la expresión de genes, fuera sistemáticamente rechazada en sus primeros intentos de publicación (principios de 1960). Los editores de las más prestigiosas revistas científicas no dudaron en rechazar el trabajo aduciendo siempre el mismo argumento: si bien es una observación interesante, carece de significación biológica. Paradójicamente, el estu-



**Figura 2. Dr. Ferruccio Ritossa, hombre de ciencia y escultor.** La fotografía de la izquierda data de la época de su descubrimiento; la de la derecha corresponde a cuando la cell Stress Society International le otorgó el *Medallion for Career Achievement* en 2010.

dio de las chaperonas moleculares se convirtió al presente en uno de los campos más prolíficos de la Biología Molecular y Celular al punto que no hay rama de estudio que no involucre a estas proteínas. El Dr. Ritossa (Figura 2), luego de su observación "carente de valor biológico", se retiró a fines de los '80 para dedicarse a su otra pasión, la escultura, mientras las mismas revistas que habían rechazado sus trabajos publicaban centenares de artículos al año relacionados a las proteínas de choque térmico y surgieron revistas que están exclusivamente dedicadas a investigaciones en este campo. En 2010, el Dr. Ritossa recibió el *Medallion for Career Achievement* de parte de la Cell Stress Society International, de la cual el autor de este artículo tiene el honor de ser miembro fundacional. Pocos años después, en enero de 2014, el científico y escultor Don Ferruccio, nos dejó, pero habiéndonos legado una de las observaciones más trascendentes de la Biología y siendo reconocido por todo el mundo científico.

## ■ BASES MOLECULARES DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS

Desde el punto de vista molecular, el evento primario a cualquier situación de estrés es la activación de un factor de transcripción llamado HSF (por *Heat-Shock Factor*) [4]. Existen cuatro clases de HSF [5]. HSF-1 y HSF-2 se expresan en todos los vertebrados, HSF-3 es exclusivo de aves y HSF-4 de mamíferos. HSF-1 es el factor mejor caracterizado, el más abundante y el primero en ser identificado como mediador de la respuesta a estrés, por lo que se lo considera como el prototipo de la familia. Comparte dominios estructurales con los receptores de esteroides, incluyendo el dominio de unión al ligando, el que en los receptores de esteroides es ocupado por la hormona esteroide. Sin embargo,

al presente no se conoce si existe algún ligando endógeno capaz de activar a HSF. Los ratones HSF-1 K.O. (es decir, aquéllos a los que se le anuló por manipulación genética la expresión del gen que codifica para HSF-1) muestran problemas de insuficiencia placentaria, retardo de crecimiento, falla de respuesta de linfocitos T y muy baja tasa de fertilidad, pero no tienen problemas de supervivencia a menos que se los someta a condiciones de estrés, en cuyo caso el índice de letalidad es muy grande aún frente a estímulos menores [6,7].

En su estado inactivo, HSF-1 existe como una proteína soluble en el citoplasma de todas las células. HSF-1 forma complejos con otras proteínas de la familia de las chaperonas moleculares, en particular con la *Heat-Shock Protein* de 90-kDa, Hsp90. La cantidad de Hsp90 asociada a HSF-1 disminuye cuando este último se activa, por lo que se piensa que Hsp90 es un regulador negativo de HSF-1 manteniéndolo inactivo [8]. En línea con esta hipótesis, la inhibición farmacológica de la funcionalidad de Hsp90 ejerce un efecto similar.

A pesar de la variada naturaleza de estímulos, se piensa que todos ellos convergen en la acumulación de proteínas en estado intermediario o inestable, lo que es una señal para que se active HSF-1 y se generen más chaperonas capaces de contrarrestar ese efecto. Es así que la microinyección de proteínas desnaturalizadas en el citoplasma de las células (y no la de proteínas nativas) activa a HSF-1 [9]. La molécula de HSF-1 sufre una primera modificación cuando se activa, se fosforila y las formas fosforiladas del HSF-1 se homotrimerizan y se localizan en el núcleo, no ya asociadas a Hsp90, la que parece retener a HSF-1 en el citoplasma, sino asociados a otra *Heat-Shock Protein*,

Hsp70, la que está presente durante la actividad transcripcional de HSF-1 [4]. HSF-1 también regula y es regulado por procesos metabólicos tanto en células normales como en tumorales. La activación de las señales dependientes de insulina ejerce efectos inhibitorios sobre HSF-1, lo cual es concordante con dos efectos que parecen ser complementarios sobre el envejecimiento y la supervivencia del individuo, una dieta con restricción calórica (baja señal de insulina y por ende menor inhibición de HSF-1) y la falta de HSF-1 es un factor negativo al punto que la falla en su expresión lleva a la muerte por situaciones no traumáticas de estrés.

Como las hormonas glucocorticoides participan en la respuesta fisiológica al estrés (ver luego), se estudió la correlación que podría haber entre la activación del HSF-1 y el receptor de glucocorticoides (GR), a través del cual estas hormonas transmiten la señal al interior de las células, siendo también el mismo un factor de transcripción primariamente citoplasmático, asociado a chaperonas moleculares, que transloca al núcleo al activarse con la hormona esteroide (ver luego Figura 4). Se vio que ambos factores de transcripción, HSF-1 y GR, actúan de manera coordinada potenciando su acción. Es así que frente a situaciones de estrés en las que HSF-1 está activado, las respuestas generadas por GR superan largamente la respuesta máxima que se logra por estimulación hormonal en condiciones normales [10,11].

## ■ EL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISO-ADRENAL (HHA)

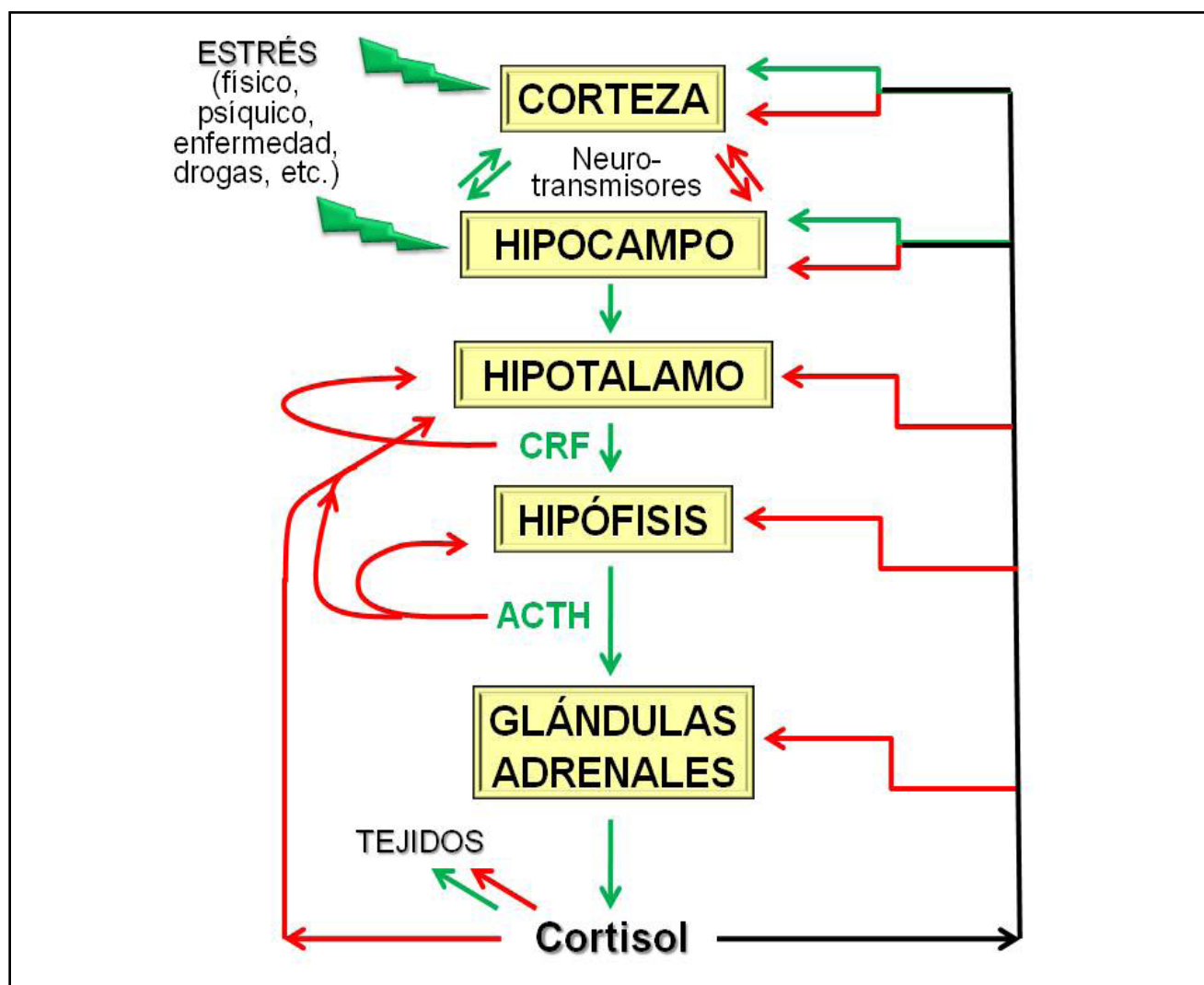
Desde el punto de vista fisiológico, cuando un individuo se ve agredido por situaciones adversas del entorno o bien orgánicas responde de manera autónoma e inmediata

involucrando un conjunto de respuestas que actúan de manera coordinada con el mismo fin: proteger al organismo de tal agresión. No obstante, si esa respuesta al estrés no se encuentra apropiadamente regulada puede causar daño ya que, una vez lograda la adaptación momentánea, los mediadores fisiológicos deberían cesar o atenuar sus funciones en tiempo y forma. Este mecanismo de control es llamado resiliencia y cuando esta respuesta falla y no es suficiente para protegernos hablamos de vulnerabilidad. La respuesta exagerada, no regulada y por ende

patológica, es conocida como respuesta alostática [12]. Los actores que permiten la resiliencia pertenecen al sistema neuroendócrino, al sistema inmune y al sistema nervioso autónomo, siendo sus mediadores las hormonas glucocorticoides producidas en la corteza adrenal, las citoquinas y la adrenalina [13].

En la Figura 3 se esquematiza la regulación de la respuesta al estrés mediada por el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (o eje HHA) [14]. En el núcleo paraventricular del hipotálamo adyacente al 3er ventrículo

cerebral (de ahí deriva su nombre) existe un grupo de neuronas que responden rápidamente ante estímulos estresantes vía HSF-1 y GR, produciendo un neuropéptido relativamente pequeño de 191 aminoácidos que actúa como preprohormona. Frente al estímulo, el mismo es procesado por enzimas proteolíticas que lo cortan en secuencias específicas y es liberado a la circulación como un péptido de 41 aminoácidos: el CRF (*Corticotropin-Releasing Factor*), o factor liberador de corticotrofina. El CRF es transportado hacia el lóbulo anterior de la hipófisis



**Figura 3. El Eje Hipotálamo-Hipófiso-Adrenal.** Los estímulos estresantes convergen en la liberación de CRF hipotalámico, el que estimula la secreción de ACTH en la hipófisis y ésta, a su vez, la secreción de cortisol en las glándulas adrenales. Los circuitos estimulantes se grafican con líneas verdes, en tanto que los circuitos de retroalimentación negativa o inhibitorios se muestran con líneas rojas.

en donde existen, entre otras, células adenocorticotropas productoras de la hormona peptídica ACTH (*Adenocorticotropic Hormone*). CRF es reconocido por los receptores CRH-1 asociados a la membrana de las células corticotropas y promueve el procesamiento y secreción de ACTH, un oligopéptido de tan sólo 39 aminoácidos. Al igual que el CRF, la ACTH también es producida como preprohormona, la preopiomelanocortina (POMC), la que durante su procesamiento proteolítico también origina a opiáceos endógenos como las endorfinas y encefalinas, la lipotrofina o LPH (estimula la lipólisis y la esteroideogénesis) y la melanotrofina o MSH (asociada a la pigmentación de la piel). Una vez en circulación, la ACTH alcanza su órgano-blanco por excelencia: las glándulas suprarrenales, cuyas células tienen receptores específicos de membrana los que, vía la activación de la enzima adenilato ciclasa acoplada a ellos, produce como segundo mensajero al AMP cíclico. Como resultado final de la cascada de eventos intracelulares gatillados por la unión de ACTH a su receptor, se induce la secreción de hormonas esteroideas presintetizadas y almacenadas en vesículas lipídicas en el citoplasma de las células que se localizan en la fracción más externa de la glándula, la corteza, en particular el cortisol (principal glucocorticoide) y en menor medida, aldosterona (la que cuenta además otros circuitos para su secreción), así como la lipoproteína LDL que transporta colesterol y lo deposita en los tejidos. Como respuesta mediata a la ACTH, se activa e induce la síntesis de citocromos involucrados en la biosíntesis de esteroideas así como la de la enzima hidroximetilglutaril-CoA-sintetasa que es la limitante en la biosíntesis endógena de colesterol (fuente de los esteroideas), así como también se induce la proteína transportadora de colesterol a la mito-

condria, StAR (*Steroidogenic Acute Regulator*). La vida media plasmática de la ACTH es muy corta (~10 min), su secreción es pulsátil y sigue un ritmo circadiano, alcanzando su máximo a la mañana aproximadamente una hora antes del despertar para luego decaer paulatinamente hasta niveles mínimos durante las horas nocturnas de sueño. El desfase de este ciclo circadiano es el principal responsable del malestar físico y psíquico que tiene lugar al alterarse el sueño, en particular cuando se cambia de husos horarios en los viajes [15].

Hay dos tipos de receptores con capacidad de unir glucocorticoides, el ya mencionado GR, al que podemos considerar específico para cortisol, y el receptor de mineralocorticoides (MR), el que une aldosterona y puede unir según el contexto celular a los glucocorticoides [12]. Evolutivamente, MR apareció de manera más tardía que GR (del cuál se supone que deriva y por ende, guarda alta homología con él). De manera paralela también, en la evolución aparece el complejo enzimático responsable de la síntesis del ligando natural de MR, la aldosterona [16]. Dado el alto parentesco entre GR y MR, los glucocorticoides conservaron la capacidad de unirse con afinidad equivalente a ambos tipos de receptores. La especificidad de acción viene dada por la existencia de una enzima llamada  $11\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa que metaboliza al cortisol a cortisona sacándolo de competencia por MR, el que queda entonces disponible para unir a su hormona esteroide específica, la aldosterona. En los tejidos de origen mesodérmico como el renal o la mayoría de las glándulas y en los núcleos paraventriculares y en áreas circumventriculares, esta actividad enzimática evita que los altos niveles de cortisol circulantes (que pueden ser entre

100 y 1000 veces mayores que los de aldosterona) activen permanentemente a MR, el que es regulado específicamente por aldosterona y tiene como efecto la regulación del equilibrio hidrosalino. Sin embargo, en el hipocampo coexisten ambos receptores, GR y MR, y dicha actividad enzimática es casi nula, por lo que en condiciones normales es el cortisol el que regula la actividad de MR, el que actuaría entonces como una primera línea de defensa basal del hipocampo en la prevención de disturbios homeostáticos. GR recién se ocuparía a niveles de cortisol más elevados, promoviendo la recuperación de funciones cuando la homeostasis ya fue alterada. La primera fase de la respuesta al estrés involucra respuestas rápidas del orden de los segundos que aumentan la secreción de catecolaminas por el sistema nervioso simpático, la secreción de CRF en el hipotálamo, hormona que gracias al sistema porta hipotálamo-hipofisario, llega a la hipófisis con la subsecuente secreción rápida (en muy pocos segundos) de ACTH por parte de las células corticotropas.

Los efectos biológicos del cortisol son pleiotrópicos y dependen del tipo de órgano o tejido en cuestión, pudiendo en algunos casos hasta ser opuestos. En general, el cortisol regula el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, incrementando la glucemia por degradación del glucógeno extrahepático y por generación de glucosa (gluconeogénesis) a partir de la degradación de lípidos. En el hígado, por el contrario favorece la deposición de glucógeno (glucogenogénesis). Producen neutrofilia aguda (aumento de glóbulos blancos polimorfonucleares a expensas de las reservas extravasculares), pero en el largo plazo generan leucopenia. Tiene efectos inmunosupresores, acción anti-inflamatoria inhibiendo la producción y liberación de citoquinas, y favorece

la apoptosis de linfocitos circulantes y la falta de maduración de aquéllos que se encuentran en los órganos linfoides. No obstante ello, en paralelo es también un factor trófico para otras células como por ejemplo, los fibroblastos uterinos.

Una característica importante de circuitos como el del eje HHA esquematizado en la Figura 3 es que se retroalimenta regulándose a sí mismo. Es así que CRF, ACTH y cortisol tienen efectos inhibitorios sobre su propia secreción (retroalimentación corta) o bien sobre el factor que estimula su secreción (retroalimentación larga). Este mecanismo de autorregulación es esencial para mantener la homeostasis de este sistema esencial, siendo los receptores de hormonas esteroides quienes cargan con la mayor responsabilidad de la misma.

## ■ AFECCIONES PSIQUIÁTRICAS

La primera evidencia escrita acerca de las reacciones humanas frente a la vivencia de situaciones estresantes o traumáticas la encontramos en La Ilíada de Homero (s. VIII a.C.: *“Menelao estaba poseído de terror y no conseguía que el sueño se posara en sus párpados temiendo que les ocurriese algún percance a los aqueos que por él habían llegado a Troya atravesando el vasto mar y promovido por tan audaz guerra.”*

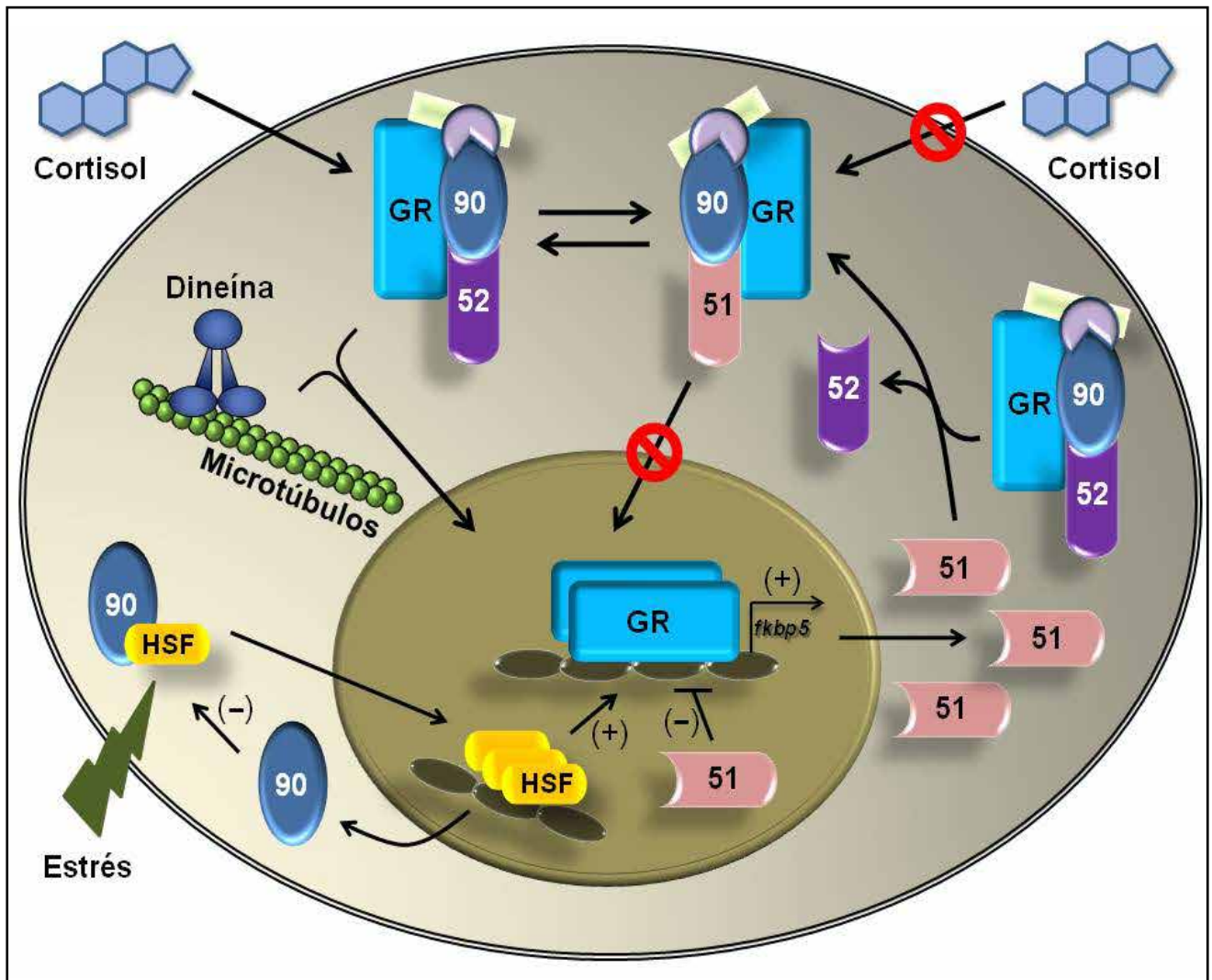
La retroalimentación negativa del eje HHA parece jugar un rol crítico en el balance total de la respuesta al estrés ya que existen evidencias que la persistencia excesiva de los procesos de activación antes mencionados conduce a patologías. En la mayoría de los casos la vía de “resistencia parcial” a los glucocorticoides por constante represión de la respuesta a GR y MR se relacionan con desórdenes de ansiedad y de comportamiento [17,18]. Como

consecuencia de los mecanismos de retroalimentación mostrados en la Figura 3, se puede predecir que la administración exógena de un glucocorticoide sintético (p.ej., dexametasona) debería reducir la capacidad de la glándula adrenal de producir cortisol endógeno así como la del hipotálamo de producir ACTH. Éste no es el caso en pacientes que sufren depresión crónica, indicando que sus altos niveles de cortisol plasmático son el resultado de una falla en el mecanismo regulatorio. Observaciones similares tanto para los parámetros bioquímicos como para el caso del comportamiento se hicieron con ratones K.O. a los que se les inhibió la capacidad de sintetizar GR [19].

Los receptores esteroidales como GR y MR existen como heterocomplejos con chaperonas moleculares (Hsp90, Hsp70, Hsp40, p23, etc.), las que regulan su funcionalidad [20,21]. Muy especialmente, la presencia de Hsp90 es esencial para que estos receptores tengan muy alta afinidad por el esteroide. En los años '90 se descubrieron unas proteínas llamadas inmunofilinas que son integrantes de tal heterocomplejo [22]. El término inmunofilina hace referencia a que estas proteínas (las que también tienen propiedades de chaperonas) tienen la capacidad de unir drogas inmunosupresoras, por lo que en un primer momento se pensó erróneamente que podían mediar los efectos inmunosupresores de los glucocorticoides gracias a su asociación con GR. Hoy sabemos que no es así, las drogas inmunosupresoras ejercen sus efectos por activación de otras proteínas no relacionadas con los receptores esteroidales y los efectos inmunosupresores de los glucocorticoides no guardan relación con tales inmunofilinas del complejo [22]. En el mecanismo molecular de acción normal de los receptores (Figura 4),

la inmunofilina llamada FKBP51 (del inglés, *FK506-Binding Protein of 51-kDa*) está presente en los heterocomplejos del receptor vacío (sin hormona). Al unirse el esteroide, FKBP51 se disocia del complejo y se reemplaza por otra inmunofilina que presenta muy alta homología con ella, FKBP52 [20]. La presencia de FKBP52 recluta a su vez a una proteína motora llamada dineína, la cual es responsable de transportar su carga (en este caso, el heterocomplejo del receptor esteroide) hacia el núcleo con gasto de energía (ATP) y utilizando la red de microtubulos como “vías” [23,24]. FKBP51 carece de la capacidad de interaccionar con el complejo motor de dineína, así como le hace perder afinidad al receptor por su hormona y además, actúa como un inhibidor transcripcional del receptor cuando éste está en el núcleo [25,26]. Acorde con estas observaciones, se observó que la sobreexpresión endógena (genéticamente determinada) de FKBP51 genera hipercortisolemia en monos ardilla (*Saimiri boliviensis*) que viven en las zonas altas de la selva boliviana y peruana. La falta de respuesta apropiada a los glucocorticoides también puede ser reproducida en el laboratorio por sobreexpresión exógena al transfectar células con el gen que codifica para FKBP51, produciéndose la inhibición de la respuesta a GR [25] y MR [26] de manera concentración-dependiente.

Tomadas en su conjunto, estas observaciones explican la razón biológica por la que la inmunofilina FKBP51 debe disociarse del receptor cuando la célula necesita una respuesta hormonal dada. FKBP51 se muestra como impedimento a todo nivel. Recordemos además que GR ve potenciada su acción por la activación de HSF-1. Para cerrar el circuito, debemos hacer notar que uno de los blancos de la respuesta a GR es precisamente el gen que codifica



**Figura 4. Mecanismo Celular de Activación de HSF-1 y GR.** La forma citoplasmática de GR está asociada a varias chaperonas, entre ellas Hsp90 y FKBP51 y FKBP52. Al unirse el esteroide (cortisol), casi toda la población celular de GR vira su equilibrio hacia las formas unidas a FKBP52, la que al asociarse con la proteína motora dineína transloca a GR al núcleo. GR se disocia de las chaperonas y se une como dímero a secuencias específicas del ADN. Entre sus genes-blancos, se cuenta a *fkbp5*, el que codifica para FKBP51. Una vez inducida esta inmunofilina, reemplaza a FKBP52 dificultando la activación y transporte de GR. El HSF-1 también es citoplasmático y se asocia a Hsp90. Estímulos de estrés lo activan por fosforilación disociando a Hsp90, lo que favorece su localización nuclear. Allí se une a secuencias específicas de ADN como un homotrímero, favoreciéndose la inducción de Hsp90 que cierra el circuito. Los símbolos (+) y (-) indican activación o inhibición, respectivamente.

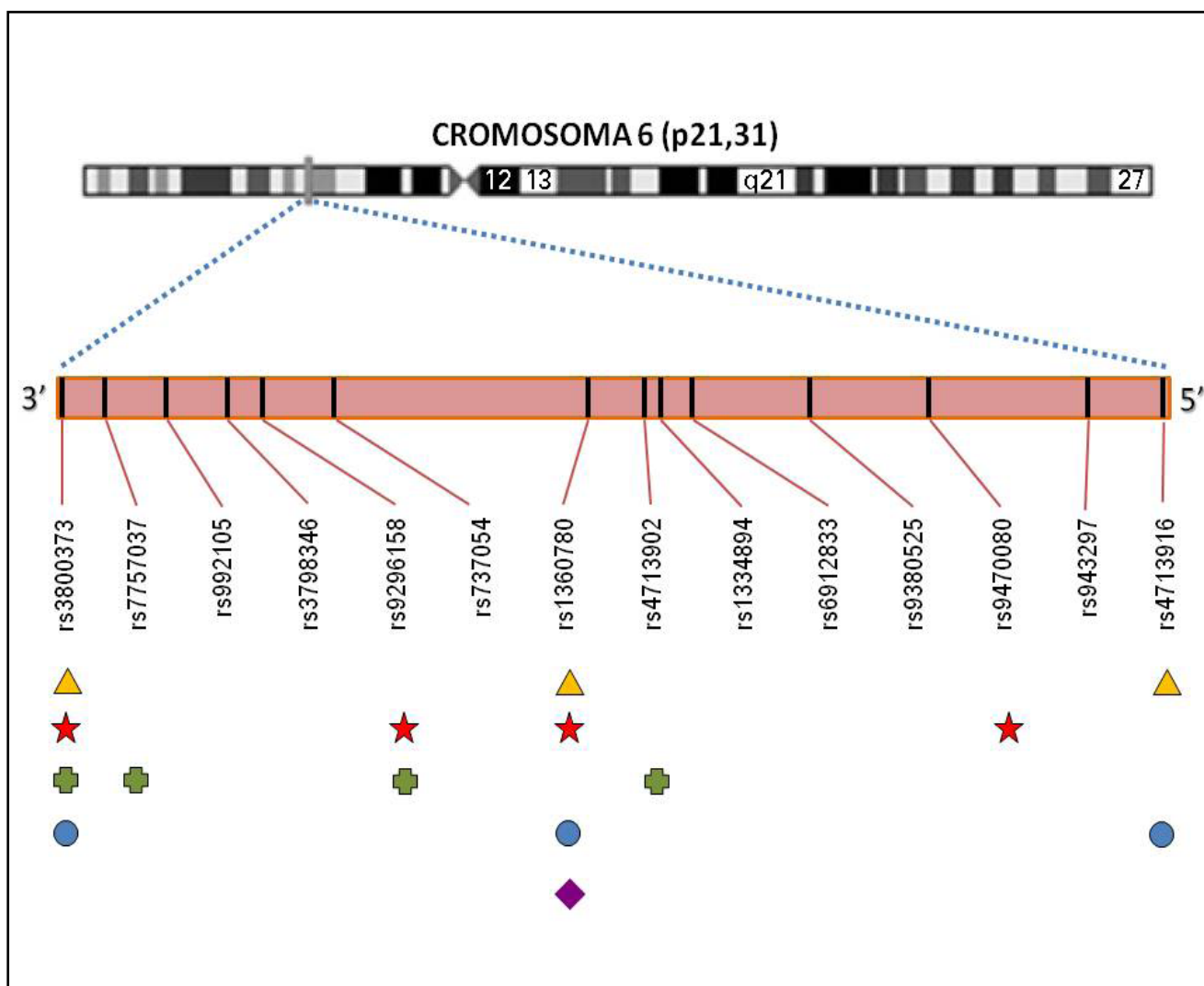
para FKBP51, por lo que esta inmunofilina ve incrementada su expresión en la célula luego del estímulo hormonal, autolimitando entonces la respuesta biológica del receptor activado por el esteroide [27].

#### ■ VARIANTES POLIMÓRFICAS DE FKBP51 SE RELACIONAN CON TRASTORNOS PSIQUIÁTRICOS

Se denomina polimorfismo genético a las variaciones dentro de los individuos de una población de la secuencia del ADN que codifica para un gen. Puede ocurrir que la secuencia afectada genere cambios

importantes en la estructura de la proteína o en su mecanismo de regulación de la expresión, lo cual se traduce en diferentes fenotipos (por ejemplo, el color del cabello o de los ojos). Otras son silentes. La modificación puede consistir en la sustitución de una única base nitrogenada en la secuencia del gen o bien puede ser más complejo





**Figura 5. Esquema de las variaciones únicas de nucleótidos en el gen que codifica para FKBP51.** El esquema superior representa al cromosoma 6. Notar la constricción (centrómero) que separa al brazo corto izquierdo del largo a la derecha. En el brazo corto, se localiza el gen llamado *fkbp5*, el cual codifica para la inmunofilina FKBP51. El mapa de este gen se muestra expandido debajo del cromosoma indicándose las posiciones en las que se han demostrado polimorfismos en un único nucleótido, las que guardan relación con los siguientes cuadros psiquiátricos: (  $\Delta$  ) asociados con la respuesta a antidepresivos; (  $\star$  ) síndrome de estrés post-traumático precedido por episodios traumáticos previos, (  $\oplus$  ) asociados con el trastorno bipolar; (  $\bullet$  ) respuestas exageradas en los ensayos bioquímicos del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal para la evaluación del estrés social (o Ensayo de Trier) (  $\blacklozenge$  ) asociados a cuadros de depresión mayor.

(por ejemplo, la repetición variable en diferentes individuos de una secuencia de ADN). Se encontró que el gen que codifica para FKBP51 presenta polimorfismos individuales (de una sola base) los que fueron directamente relacionados con ciertas patologías relacionadas a trastornos post-traumáticos [28]. Una pregunta que todos nos hacemos es por qué

individuos que han sufrido un episodio traumático pueden seguir con una vida normal ante la repetición de esos problemas y otros no. Una posible explicación parcial es la existencia de estos polimorfismos de FKBP51 que regulan la respuesta a GR y MR de manera diferente y semejan situaciones en las que el organismo queda desprotegido fren-

te a situaciones reiteradas de estrés.

La pre-exposición a un evento traumático es un requisito para que un desorden mental dado sea clasificado como síndrome de estrés post-traumático. Los trastornos psiquiátricos se observan en individuos que fueron expuestos a situaciones de estrés extremas como es el caso

de veteranos de guerra, residentes en áreas de violencia política, social y militar, abusados sexualmente, sobrevivientes de catástrofes traumáticas, etc. Es el eje HHA el que se encuentra desregulado ante un nuevo evento traumático, el que incluso puede ser de mucha menor magnitud o importancia que el original, pero que es suficiente para desencadenar algún tipo de trastorno psiquiátrico como este síndrome. En el mismo se ve grandemente afectada la respuesta mediada por GR [29,30], siendo tal susceptibilidad dependiente de las isoformas del gen que codifican para FKBP51 y que predisponen para la aparición de esta patología. La Figura 5 muestra de manera esquemática las variaciones más frecuentes asociadas a diferentes patologías neurológicas. El grado de sobreexpresión del ARN mensajero para FKBP51 en células sanguíneas mononucleares a las pocas horas de haber expuesto al individuo a una situación traumática se correlacionó muy bien con el desarrollo del síndrome de estrés post-traumático cuatro meses más tarde [31]. Notar que en la Figura 5 se notan dos genotipos (rs3800373 and rs1360780) que se encuentran alterados en casi todas las patologías psiquiátricas, al punto que se los considera como factores de predicción bastante certeros en cuanto a predecir la ocurrencia de alguno de estos fenómenos. Estos pacientes muestran resistencia a los ensayos en los que se inyecta el glucocorticoide sintético dexametasona y se evalúa la respuesta del eje HHA, implicando resistencia del mecanismo regulatorio mediado por GR.

Un caso similar de sensibilidad diferencial se observa en casos de depresión, en los que hay extrema sensibilidad en las respuestas de GR al rol regulatorio de FKBP51, mientras que existe resistencia a la acción de GR en los individuos saludables

[32,33]. En pacientes homocigotas para la expresión de los alelos (formas alternativas de un mismo gen que se diferencian en su secuencia) altamente inducibles de FKBP51, muestran una respuesta a ACTH por CRF y dexametasona muy atenuada y en individuos enfermos de SIDA que presentan cuadros depresivos, la expresión de FKBP51 está muy incrementada, pero no por la infección con el virus HIV (grupo control) per se, sino por el cuadro depresivo, particularmente cuando se analizó el lóbulo frontal del cerebro en estudios realizados post-mortem [34].

Varios estudios se han focalizado también en la relación entre el grado de expresión de FKBP51 y la terapia con antidepresivos. Individuos homocigotas para los alelos de alta expresión de FKBP51 respondieron a antidepresivos de manera más rápida y eficiente que los otros genotipos, un efecto que se muestra independiente del tipo de droga empleada [28].

#### ■ CONSIDERACIONES FINALES

La sobreexpresión de la inmunofilina FKBP51 que resulta de estímulos de cortisol en situaciones de estrés puede llevar a que se inhiba la respuesta de retroalimentación que regula la respuesta y de esta manera elevar de manera más permanente los niveles de cortisol. Ello puede llevar a que los individuos sufran enfermedades psiquiátricas, estados depresivos, cuadros de estrés post-traumático y trastornos bipolares. Dado que FKBP51 regula la respuesta vía GR, modificaciones genéticas o epigenéticas que alteren la respuesta del eje HHA se relacionan con estos cuadros patológicos. El desarrollo de drogas que usen a FKBP51 como blanco y que sean capaces de modular su actividad biológica de manera selectiva está en el buen camino. En un trabajo muy re-

ciente [35] se describe un compuesto llamado SAFit capaz de reconocer específicamente a FKBP51. Debe ensayarse aún su capacidad para modular las respuestas psiquiátricas relacionadas a episodios traumáticos por afectación de la función de GR, pero es el primer caso que permitiría analizar los efectos de otros compuestos (p.ej. antidepresivos) en asociación con agentes terapéuticos que tengan como blanco exclusivo a esta inmunofilina.

#### ■ REFERENCIAS

1. Gonzalez de Rivera JL (1994) Estrés, homeostasis y enfermedad; A.Seva, editor. A. Seva Ed.; Zaragoza, vol. XLV p.1-17.
2. Selye H, Fortier C (1949) Adaptive reactions to stress. Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis 29: 3-18.
3. Ritossa F (1962) A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in Drosophila. Experientia 18: 571-573.
4. Anckar J, Sistonen L (2011) Regulation of HSF1 function in the heat stress response: implications in aging and disease. Annu Rev Biochem 80: 1089-1115.
5. Voellmy R (2004) On mechanisms that control heat shock transcription factor activity in metazoan cells. Cell Stress Chaperones 9: 122-133.
6. Christians ES, Zhou Q, Renard J, Benjamin IJ (2003) Heat shock proteins in mammalian development. Semin Cell Dev Biol 14: 283-290.
7. Christians ES, Benjamin IJ (2006) Heat shock response: lessons from mouse knockouts. Handb Exp Pharmacol: 139-152.

8. Zou J, Guo Y, Guettouche T, Smith DF, Voellmy R (1998) Repression of heat shock transcription factor HSF1 activation by HSP90 (HSP90 complex) that forms a stress-sensitive complex with HSF1. *Cell* 94: 471-480.
9. Morimoto RI (1998) Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes Dev* 12: 3788-3796.
10. Li DP, Li Calzi S, Sanchez ER (1999) Inhibition of heat shock factor activity prevents heat shock potentiation of glucocorticoid receptor-mediated gene expression. *Cell Stress Chaperones* 4: 223-234.
11. Li DP, Periyasamy S, Jones TJ, Sanchez ER (2000) Heat and chemical shock potentiation of glucocorticoid receptor transactivation requires heat shock factor (HSF) activity. Modulation of HSF by vanadate and wortmannin. *J Biol Chem* 275: 26058-26065.
12. de Kloet ER (2014) From receptor balance to rational glucocorticoid therapy. *Endocrinology* 155: 2754-2769.
13. Franklin TB, Saab BJ, Mansuy IM (2012) Neural mechanisms of stress resilience and vulnerability. *Neuron* 75: 747-761.
14. Engelmann M, Landgraf R, Wotjak CT (2004) The hypothalamic-neurohypophysial system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited. *Front Neuroendocrinol* 25: 132-149.
15. Wingenfeld K, Wolf OT (2011) HPA axis alterations in mental disorders: impact on memory and its relevance for therapeutic interventions. *CNS Neurosci Ther* 17: 714-722.
16. Baker ME, Funder JW, Kattoula SR (2013) Evolution of hormone selectivity in glucocorticoid and mineralocorticoid receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 137: 57-70.
17. Pariante CM, Miller AH (2001) Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry* 49: 391-404.
18. Binder EB (2009) The role of FKBP5, a co-chaperone of the glucocorticoid receptor in the pathogenesis and therapy of affective and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology* 34 Suppl 1: S186-195.
19. Barden N, Stec IS, Montkowski A, Holsboer F, Reul JM (1997) Endocrine profile and neuroendocrine challenge tests in transgenic mice expressing antisense RNA against the glucocorticoid receptor. *Neuroendocrinology* 66: 212-220.
20. Galigniana MD, Echeverria PC, Erlejman AG, Piwien-Pilipuk G (2010) Role of molecular chaperones and TPR-domain proteins in the cytoplasmic transport of steroid receptors and their passage through the nuclear pore. *Nucleus* 1: 299-308.
21. Pratt WB, Galigniana MD, Harrell JM, DeFranco DB (2004) Role of hsp90 and the hsp90-binding immunophilins in signalling protein movement. *Cell Signal* 16: 857-872.
22. Erlejman AG, Lagadari M, Galigniana MD (2013) Hsp90-binding immunophilins as a potential new platform for drug treatment. *Future Med Chem* 5: 591-607.
23. Galigniana MD, Radanyi C, Renoir JM, Housley PR, Pratt WB (2001) Evidence that the peptidylprolyl isomerase domain of the hsp90-binding immunophilin FKBP52 is involved in both dynein interaction and glucocorticoid receptor movement to the nucleus. *J Biol Chem* 276: 14884-14889.
24. Galigniana MD, Erlejman AG, Monte M, Gomez-Sanchez C, Piwien-Pilipuk G (2010) The hsp90-FKBP52 complex links the mineralocorticoid receptor to motor proteins and persists bound to the receptor in early nuclear events. *Mol Cell Biol* 30: 1285-1298.
25. Wochnik GM, Ruegg J, Abel GA, Schmidt U, Holsboer F, et al. (2005) FK506-binding proteins 51 and 52 differentially regulate dynein interaction and nuclear translocation of the glucocorticoid receptor in mammalian cells. *J Biol Chem* 280: 4609-4616.
26. Gallo LI, Ghini AA, Piwien-Pilipuk G, Galigniana MD (2007) Differential recruitment of tetratricopeptide repeat domain immunophilins to the mineralocorticoid receptor influences both heat-shock protein 90-dependent retrotransport and hormone-dependent transcriptional activity. *Biochemistry* 46: 14044-14057.
27. Galigniana MD (2012) Steroid receptor coupling becomes nuclear. *Chem Biol* 19: 662-663.
28. Binder EB, Salyakina D, Lichtner P, Wochnik GM, Ising M, et al.

- (2004) Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nat Genet* 36: 1319-1325.
29. Schmidt U, Holsboer F, Rein T (2011) Epigenetic aspects of posttraumatic stress disorder. *Dis Markers* 30: 77-87.
30. Yehuda R, Schmeidler J, Labinsky E, Bell A, Morris A, et al. (2009) Ten-year follow-up study of PTSD diagnosis, symptom severity and psychosocial indices in aging holocaust survivors. *Acta Psychiatr Scand* 119: 25-34.
31. Segman RH, Shefi N, Goltser-Dubner T, Friedman N, Kaminski N, et al. (2005) Peripheral blood mononuclear cell gene expression profiles identify emergent post-traumatic stress disorder among trauma survivors. *Mol Psychiatry* 10: 500-513.
32. Binder EB, Bradley RG, Liu W, Epstein MP, Deveau TC, et al. (2008) Association of FKBP5 polymorphisms and childhood abuse with risk of posttraumatic stress disorder symptoms in adults. *JAMA* 299: 1291-1305.
33. Ising M, Depping AM, Siebertz A, Lucae S, Unschuld PG, et al. (2008) Polymorphisms in the FKBP5 gene region modulate recovery from psychosocial stress in healthy controls. *Eur J Neurosci* 28: 389-398.
34. Tatro ET, Everall IP, Masliah E, Hult BJ, Lucero G, et al. (2009) Differential expression of immunophilins FKBP51 and FKBP52 in the frontal cortex of HIV-infected patients with major depressive disorder. *J Neuroimmune Pharmacol* 4: 218-226.
35. Gaali S, Kirschner A, Cuboni S, Hartmann J, Kozany C, et al. (2015) Selective inhibitors of the FK506-binding protein 51 by induced fit. *Nat Chem Biol* 11: 33-37.