



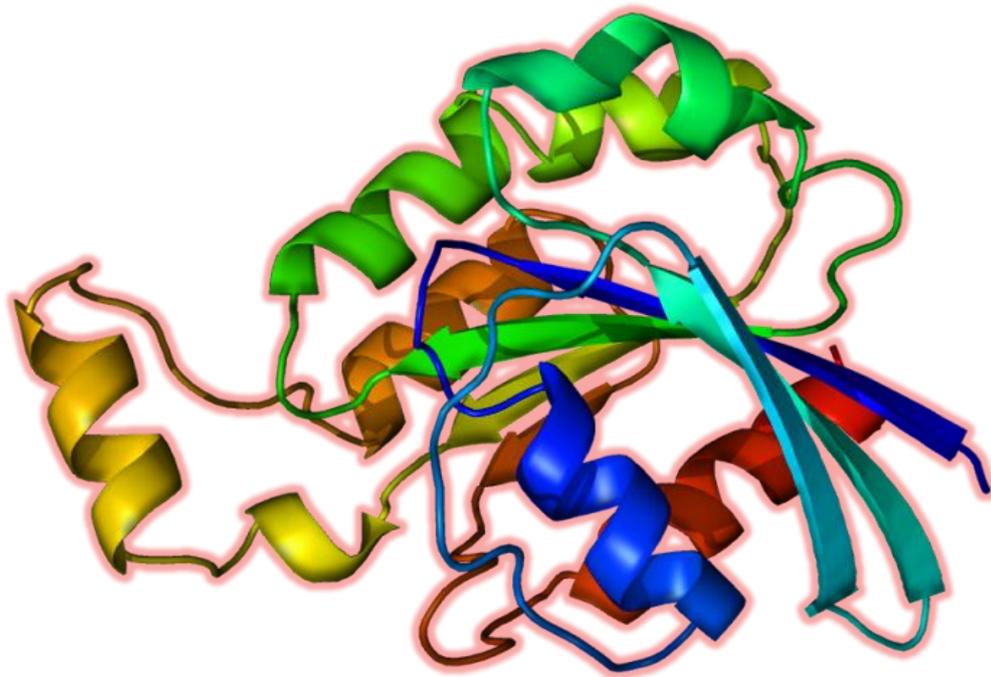
VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

FACULTAD DE BIOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

Trabajo de Fin de Grado:

Fallos en el control de calidad en la síntesis de proteínas: origen de enfermedades raras

(Mistakes in quality control of protein synthesis: the origin of rare diseases)



Pablo Redondo Juárez
4º curso Grado en Biología USAL, 2015-2016

ÍNDICE

RESUMEN.....
ABSTRACT.....
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	2
MARCO TEÓRICO.....	2
• SÍNTESIS.....	2
• PLEGAMIENTO.....	3
• MOLÉCULAS IMPLICADAS.....	4
• ESTRÉS DEL RE Y CONTROL DE CALIDAD.....	5
• ERAD.....	7
1. Reconocimiento.....	8
2. Retrotranslocación.....	9
3. Ubiquitinación.....	10
4. Degradación.....	11
DESARROLLO.....	11
• RESPUESTA A PROTEÍNAS DESPLEGADAS.....	11
○ Cascada de señalización PERK.....	13
○ Cascada de señalización IRE1.....	14
○ Cascada de señalización ATF6.....	14
○ Inducción de la apoptosis por CHOP.....	15
• PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON EL PLEGAMIENTO ANÓMALO DE PROTEÍNAS.....	15
○ ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS.....	16
▪ Enfermedad de Alzheimer.....	17
▪ Enfermedad de Parkinson.....	18
▪ Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA).....	19
▪ Enfermedades por expansión de trinucleotidos.....	19
▪ Encefalopatías espongiiformes transmisibles.....	20
○ DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	21
○ ATEROSCLEROSIS.....	22
○ CÁNCER.....	23

RESUMEN

Las proteínas recién sintetizadas en el retículo endoplasmático (RE) son plegadas correctamente con la ayuda de las chaperonas moleculares. El retículo endoplasmático es un orgánulo multifuncional necesario para la biosíntesis de lípidos, almacenamiento de calcio, y la síntesis y plegamiento de proteínas. Determinadas condiciones fisiológicas y patológicas pueden perturbar su funcionamiento adecuado y, por consiguiente, generar estrés en el RE, lo que perjudica gravemente a los procesos de plegamiento de proteínas. Cuando estas proteínas se encuentran desplegadas o mal plegadas son dirigidas a la vía de degradación asociada al RE (ERAD, de ER-Associated Degradation). En situaciones en las que la cantidad de proteínas desplegadas excede la capacidad de plegamiento del RE, se produce una situación de estrés en este orgánulo que activa un mecanismo de defensa denominado Respuesta a Proteínas Desplegadas (UPR, de Unfolded Protein Response). Este mecanismo se basa en inducir la expresión de chaperonas moleculares y componentes de la ERAD, atenuando simultáneamente la síntesis de proteínas para disminuir su cantidad en el RE. Según algunos autores, existen tres vías de respuesta independientes que regulan por separado la expresión de chaperonas, los componentes de la ERAD, y la atenuación traduccional. El mal funcionamiento de la UPR puede estar provocado por mutaciones genéticas, envejecimiento o factores ambientales, lo que puede dar lugar a numerosas enfermedades como la diabetes, aterosclerosis y algunos trastornos neurodegenerativos (enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, ELA), que son enfermedades relacionadas con el plegamiento anómalo de proteínas. En esta revisión bibliográfica, haré un resumen del proceso de control de calidad de proteínas en el RE, desde su síntesis a su posible degradación, y de las patologías derivadas de los fallos en este proceso.

ABSTRACT

Newly synthesized proteins in the endoplasmic reticulum (ER) are correctly folded with the aid of molecular chaperones. The endoplasmic reticulum is a multifunctional organelle required for lipid biosynthesis, calcium storage, and protein synthesis and folding. Certain physiological and pathological conditions can disrupt their proper functioning therefore generating ER stress, which seriously harms the process of protein folding. When proteins are unfolded or misfolded, they are sent to the Endoplasmic Reticulum Associated Degradation pathway (ERAD). When the amount of unfolded proteins exceeds the ER folding capability, the cell activates a defense mechanism against stress named Unfolded Protein Response (UPR). This mechanism is based on inducing expression of molecular chaperones and ERAD components, simultaneously attenuating protein synthesis to decrease the ER protein load. There are three independent response pathways regulating the expression of chaperones, ERAD components and translational attenuation. The malfunction of the UPR may be caused by genetic mutations, aging or environmental factors, which can lead to many diseases such as diabetes, atherosclerosis and certain neurodegenerative disorders (Alzheimer's disease, Parkinson's disease, ALS), also known as conformational diseases. In this review, I will summarize the ER protein quality control process, from its synthesis to its possible degradation, and the diseases resulting from failures in this process.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son esenciales para todos los procesos biológicos. Para llegar a ser funcionalmente activas, las cadenas polipeptídicas recién sintetizadas han de plegarse adoptando conformaciones tridimensionales únicas, basadas en la información codificada en sus secuencias de aminoácidos. Estas conformaciones, denominadas estado nativo, son aquellas de mayor estabilidad, en las que la energía libre de Gibbs del sistema es lo más baja posible.

Las células poseen una serie de mecanismos de control de calidad de la síntesis de proteínas que vigilan el plegamiento de las proteínas y corrigen los posibles fallos en dicho plegamiento. Para que las proteínas alcancen su estado nativo generalmente se requiere de un grupo de proteínas auxiliares, conocidas como chaperonas moleculares, esenciales para el correcto plegamiento de la cadena polipeptídica en su entorno fisiológico natural. La función principal de estas chaperonas es evitar el mal plegamiento de las proteínas o su agregación, es decir, evitar reacciones fuera de su vía metabólica que de alguna manera puedan reducir el rendimiento del plegamiento en condiciones celulares. Estas chaperonas moleculares se encuentran situadas a lo largo de diversos compartimentos celulares. Interactúan con los polipéptidos nacientes durante su síntesis y transporte hacia diferentes compartimentos celulares. Las chaperonas parecen ser capaces de distinguir entre los estados nativo y no nativo de la proteína en cuestión, uniéndose provisionalmente al estado no nativo. Una vez ha tenido lugar el plegamiento a su estado nativo, el polipéptido maduro ya no es reconocido como sustrato para las diferentes chaperonas. Esta capacidad de diferenciar entre la forma plegada correctamente y la plegada parcialmente o mal plegada de la proteína diana ha llevado a la idea de que las chaperonas moleculares actúan en conjunto como supervisores del control de calidad.

Pueden darse situaciones en las que las proteínas no consiguen alcanzar su estado nativo, ya sea debido a mutaciones puntuales o a errores en el proceso de plegado. En estas circunstancias son reconocidas como proteínas mal plegadas y redirigidas a una vía de degradación. En otros casos, las proteínas mal plegadas pueden sufrir procesos rápidos de agregación, dando lugar a cuerpos de inclusión de naturaleza proteica en el interior de diferentes compartimentos intracelulares. La acumulación de proteínas mal plegadas produce un estrés que dispara una respuesta fisiológica denominada UPR (del inglés Unfolded Protein Response) que pone en marcha una serie de mecanismos para intentar aliviar este estrés. Los fallos en la UPR pueden ser causantes de numerosas enfermedades.

OBJETIVO

La finalidad de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica acerca del proceso de control de calidad durante la síntesis de proteínas, destacando su importancia para la salud de la célula y el organismo. A pesar de que en la célula existen varios sistemas de control de calidad de proteínas, este trabajo se centra en aquel que opera en el retículo endoplasmático (RE), ya que a día de hoy es el más importante y mejor caracterizado. Siguiendo esta línea, se examinan enfermedades raras cuyo origen radica en el fallo de dicho sistema.

MATERIAL Y MÉTODOS

Al ser una revisión bibliográfica, el desarrollo del trabajo se ha basado en la lectura de diversas publicaciones científicas relacionadas con los procesos de síntesis y plegamiento de proteínas, sistemas de control de calidad y patologías derivadas de sus fallos (ver bibliografía). Además de los textos proporcionados por el tutor, se han utilizado motores de búsqueda como orpha.net o NCBI para recoger más información, filtrando los artículos en función de su relevancia y fecha de publicación. Algunos de los términos clave a la hora de buscar esta información han sido: “ER stress”, “quality control”, “ERQC”, “ERAD”, “Unfolded Protein Response”, “protein misfolding”, “alzheimer”, “parkinson”, “ALS”, “prion-related diseases” o “Atherosclerosis”.

MARCO TEÓRICO

SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

El proceso de síntesis de proteínas lo llevan a cabo los ribosomas, complejos macromoleculares formados por dos subunidades de diferente tamaño constituidas por ribonucleoproteínas y rRNA. Las dos subunidades se ensamblan en el codón de inicio AUG en el extremo 5' de los mRNA y se separan en el codón de parada UAG / UGA / UAA en el extremo 3' de los mismos. Durante la traducción los tRNAs presentan anticodones que actúan como donantes de aminoácidos para los polipéptidos nacientes.

Los ribosomas pueden encontrarse en mitocondrias y cloroplastos, libres en el citosol o asociados a la cara citosólica de la membrana del RE. Los ribosomas citosólicos sintetizan polipéptidos citosólicos, nucleares y peroxisomales, así como la mayoría de las proteínas destinadas a

mitocondrias y cloroplastos; mientras que los ribosomas asociados a la membrana del RE sintetizan polipéptidos destinados a compartimentos secretorios o endocíticos (ER, Golgi, endosomas, lisosomas) y a la membrana plasmática.

El proceso de traducción tiene una tasa de error estimada de 1 aminoácido por cada $10^3 - 10^4$.

Estos errores pueden estar causados por varios factores:

- Por desacilación de tRNAs, que hará que se carguen con el aminoácido incorrecto.
- Por selección de tRNAs incorrectos durante el proceso de elongación de la cadena.
- Por cambios en el marco de lectura del mRNA (mutaciones por inserción o delección de nucleótidos).
- Por selección incorrecta del codón de inicio o de parada.

PLEGAMIENTO

Una vez terminado el proceso de traducción, la proteína naciente ha de adquirir una conformación que la haga funcionalmente activa. Para ello es necesaria una interpretación eficiente de la información contenida en la cadena lineal de aminoácidos con el fin de alcanzar el estado nativo de la proteína, es decir, garantizar que esta cumpla las condiciones cinéticas y termodinámicas impuestas por su entorno fisiológico (ΔG de superficie mínima).

La energía libre de superficie del sistema “medio intracelular – proteína” se incrementa en gran medida por la exposición de grupos hidrófobos. Por ese motivo, es necesario encerrar los residuos de aminoácidos no polares en el interior de la molécula para iniciar el proceso de plegamiento, minimizando así las energías libres de superficie. Determinadas interacciones hidrofílicas como puentes salinos y enlaces disulfuro limitan el número de conformaciones alcanzables por los polipéptidos, lo que permite la finalización del proceso de plegamiento en un periodo de tiempo biológicamente aceptable.

Para que el proceso de plegamiento transcurra con éxito es necesaria la intervención de chaperonas moleculares. Se trata de una serie de proteínas que se han conservado a lo largo de la evolución, y se encuentran en todos los orgánulos y compartimentos celulares encargados de la síntesis o modificación post-traduccional de proteínas. No llevan a cabo el proceso de plegamiento como tal ni forman parte de la estructura funcional final de la proteína, sino que actúan como enzimas

acelerando las etapas limitantes de la reacción de plegamiento, es decir, disminuyen la barrera energética entre el estado nativo y no nativo de la proteína.

Están presentes en los tres dominios (Bacteria, Archaea y Eukarya), aunque algunas son exclusivas de alguno de ellos. Generalmente tienen expresión y localización ubicua.

MOLÉCULAS IMPLICADAS

- Proteínas de choque térmico (HSPs = Heat Shock Proteins): se expresan en situaciones de estrés celular.
 - HSP40: ERdj1-5 actúan como cofactores de las HSP70 y estimulan su actividad ATPasa. Se encuentran en el citosol y el lumen del RE.
 - HSP60: también llamadas chaperoninas
 - Grupo 1: GroEL y GroES. Actúan conjuntamente como ATPasas lentas encerrando al polipéptido. Se encuentran en bacterias y orgánulos celulares de eucariotas, pero nunca en el RE (Figura 1).
 - GroEL: formada por dos anillos concéntricos de 7 subunidades cada uno (14 subunidades de ~60 kDa). Forman una cavidad interior capaz de encerrar proteínas de hasta 90 kDa.
 - GroES: formada por un anillo de 7 subunidades de 10 kDa.
 - Grupo 2: TRiC/CCT. Tiene un mecanismo similar al de GroEL-GroES. Se localiza en el citosol de eucariotas.
 - TRiC/CCT: formada por 16 subunidades (2 copias de cada una de las 8 proteínas individuales que la conforman).
 - HSP70: GRP78/BiP (Binding Protein) es la más importante. Está considerada como el regulador maestro del plegamiento de proteínas en el RE.
 - Mantiene la impermeabilidad del RE sellando la cara luminal de translocos inactivos
 - Facilita la translocación de cadenas nascentes desde el lumen del RE actuando como llave molecular

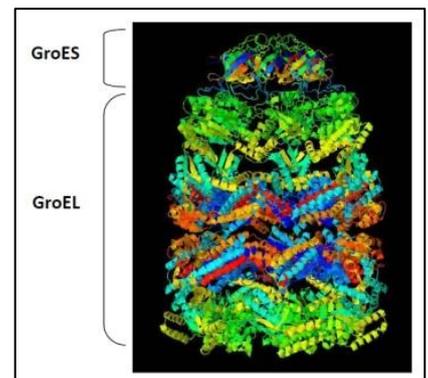
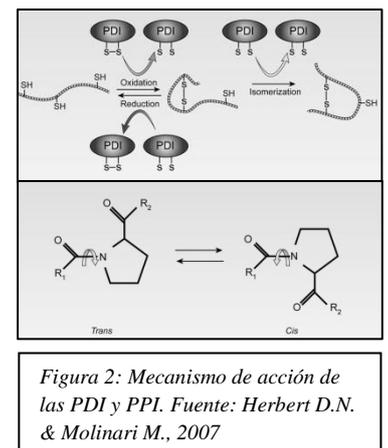


Figura 1: Representación tridimensional de las chaperoninas del Grupo 1. Fuente: RCSB PDB

- Participa en el plegamiento y oligomerización de proteínas. Se une a residuos hidrofóbicos, los estabiliza y evita un plegamiento temprano
 - Regula la agregación de polipéptidos no nativos
 - Contribuye en la homeostasis del Ca^{2+} en el RE
 - Desempeña un papel importante en la preparación de proteínas mal plegadas procedentes del ER para su translocación al citosol y posterior eliminación.
 - Contribuye en la regulación de la respuesta a proteínas desplegadas (UPR), fundamental en células, órganos y tejidos con funciones de diferenciación y mantenimiento.
 - Necesaria para la proliferación celular durante la embriogénesis.
- HSP90: GRP94 la más abundante del RE. Solo se encuentra en vertebrados. Colabora en la maduración de integrinas, TLRs y cadenas pesadas de inmunoglobulinas. A diferencia de la GRP78, esta no tiene actividad ATPasa.
 - Lectinas: se unen a proteínas nacientes glucosiladas actuando conjuntamente con las glucosidasas I y II. Se localizan en el RE. Su nombre se debe a su afinidad por el Ca^{2+} .
 - Calnexina: es una proteína de membrana tipo I. Anclada a la cara luminal del RE.
 - Calreticulina: es el equivalente soluble de la calnexina y actúa en colaboración con ella.
- Otras proteínas implicadas (Figura 2):
 - Disulfuro isomerasas (PDI): son enzimas oxidoreductasas que actúan como aceptor o donante de electrones. También son capaces de isomerizar puentes disulfuro (Cys) de la cadena polipeptídica, ayudando a alcanzar la conformación nativa.
 - Peptidil-prolil cis-trans isomerasas (PPI): catalizan la isomerización cis-trans de enlaces X-Pro.



ESTRÉS DEL RE Y CONTROL DE CALIDAD

Tras la síntesis, las proteínas de secreción entran en el RE, donde se pliegan y ensamblan antes de ser transportadas a otros compartimientos celulares. La célula es capaz de mantener un equilibrio entre síntesis y degradación en función de la demanda proteica. Las variaciones en la síntesis y

secreción de proteínas que tienen lugar durante el desarrollo y la diferenciación celular pueden dar lugar a "estrés del RE", ya que la alteración de este equilibrio puede afectar a la eficiencia de los procesos de plegamiento. Los procesos de plegamiento en el lumen son susceptibles de ser alterados por diversos factores fisiológicos y patológicos. En condiciones fisiológicas normales, el sistema de control de calidad del RE está implicado en el mantenimiento de la homeostasis de proteínas, y desempeña un papel determinante en el desarrollo y el mantenimiento del estado funcional de células especializadas [5]. La exposición de células a condiciones ambientales adversas, como estrés salino [6,7], estrés térmico [8-10] y estrés hídrico [11], perturban los procesos de plegamiento, lo que produce la acumulación de proteínas desplegadas o mal plegadas. Entre dichas perturbaciones se incluyen: modificaciones en las funciones de las chaperonas, cambios en la maduración de las proteínas, disminución de las concentraciones de Ca^{2+} , y los cambios en el entorno redox [12]. De esto se deduce que aquellas condiciones ambientales adversas que perturban la homeostasis de proteínas pueden producir un estrés en el RE y activar el mecanismo de respuesta al mismo (la UPR).

El RE tiene un sistema de control de calidad para eliminar proteínas mal plegadas de la vía secretora. Se trata de un sistema integrado para diferenciar adecuadamente entre proteínas plegadas correcta o incorrectamente y proteínas desplegadas.

Este sistema no solo juega un papel clave en la calidad de la proteína secretora, sino que también otorga al RE la capacidad de adaptarse a condiciones de estrés. Actualmente, el mecanismo mejor descrito para el control de calidad actúa en colaboración con el ciclo de plegamiento mediado por calnexina / calreticulina. En este ciclo las proteínas recién glicosiladas se unen a estas chaperonas y sufren procesos de modificación en la porción glucídica hasta que alcanzan el plegamiento adecuado (Figura 3).

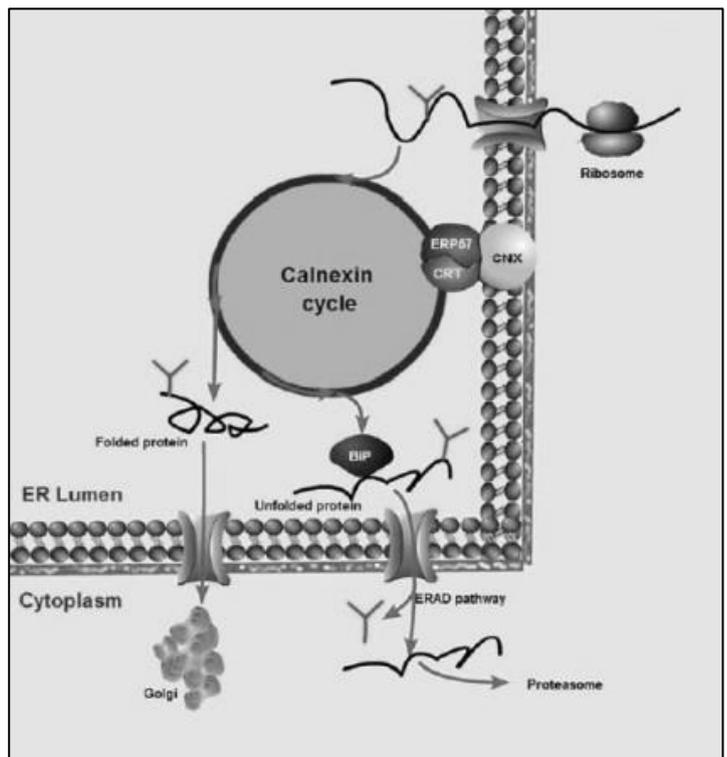


Figura 3: Ciclo de plegamiento por calnexina/calreticulina. Las proteínas nacientes son glicosiladas al entrar en el lumen del RE. El glicano es modificado rápidamente y entran el ciclo de la calnexina/calreticulina. Si tras esto se encuentran mal plegadas, las proteínas son dirigidas por BiP hacia la vía de degradación en el citosol. Fuente: Fu X.L. & Gao D.S., 2014

El sistema de control de calidad asegura que las proteínas estén correctamente plegadas para que sean funcionales, y elimina proteínas mal plegadas mediante la vía de degradación asociada al retículo endoplasmático (ERAD). Existen dos mecanismos distintos dentro del sistema de control de calidad en mamíferos [13,14].

El primero y mejor descrito es la N-glicosilación cotraduccional de residuos de Asn de proteínas nacientes. La subunidad catalítica (STT3) de la oligosacariltransferasa (OST) transfiere un glicano preensamblado (Glc3Man9GlcNAc2) (Figura 4) a N-residuos (Asn) de la secuencia N-X-Ser/Thr (donde X puede ser cualquier aminoácido excepto Pro) de las proteínas aceptoras. El corte y empalme de los residuos de glucosa terminales da

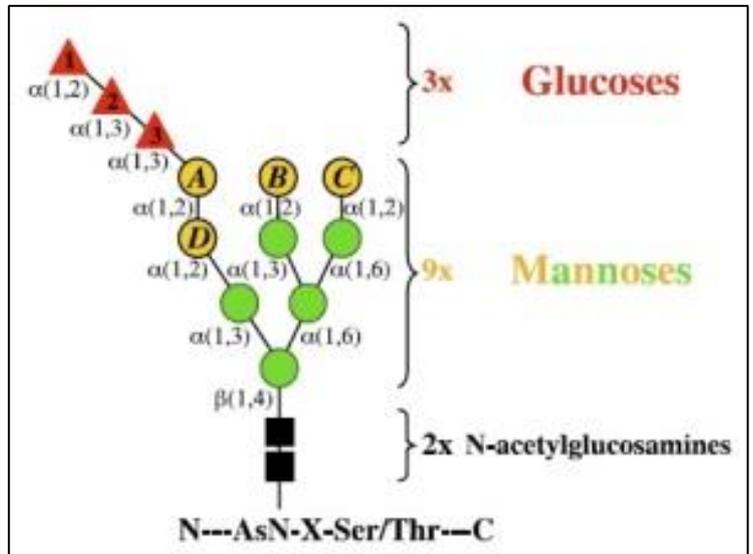


Figura 4: Estructura del glicano preensamblado. Fuente: Herbert D.N. & Molinari M., 2007

lugar a un glicano monoglucosilado (Glc1Man9GlcNAc2) unido a la proteína diana, que favorece el plegamiento catalizado por las chaperonas tipo lectina (calnexina y calreticulina).

El segundo mecanismo consiste en el plegamiento facilitado por GRP78/BiP, en el cual colaboran también enzimas disulfuro isomerasas (PDI) para catalizar la formación de puentes disulfuro.

Por lo tanto, estos mecanismos participan conjuntamente la maduración de la proteína y previenen la salida de proteínas inmaduras del sistema endomembranoso.

ERAD

Cuando las proteínas que están en el RE se encuentran desplegadas o mal plegadas, se activan los mecanismos para restablecer la homeostasis de proteínas en respuesta al estrés del RE [15]. Uno de estos mecanismos es el ERAD, que implica la retrotranslocación de estas proteínas a través de la membrana del RE hacia el citoplasma, para su degradación. Este proceso transcurre en cuatro etapas diferenciadas (Figura 5) [16]:

- Fase de reconocimiento (las proteínas mal plegadas son identificadas por unas manosidasas, entre las que destacan las denominadas EDEM, de ER Degradation-Enhancing α -Mannosidase-like protein)
- Fase de retrotranslocación (las proteínas mal plegadas son translocadas al citosol)
- Fase de ubiquitinación (las proteínas mal plegadas son ubiquitinadas por el E3 ligasas), que ocurre de manera simultánea a la retrotranslocación.
- Fase de degradación (las proteínas ubiquitinadas y translocadas son dirigidas al proteosoma 26S y degradadas).

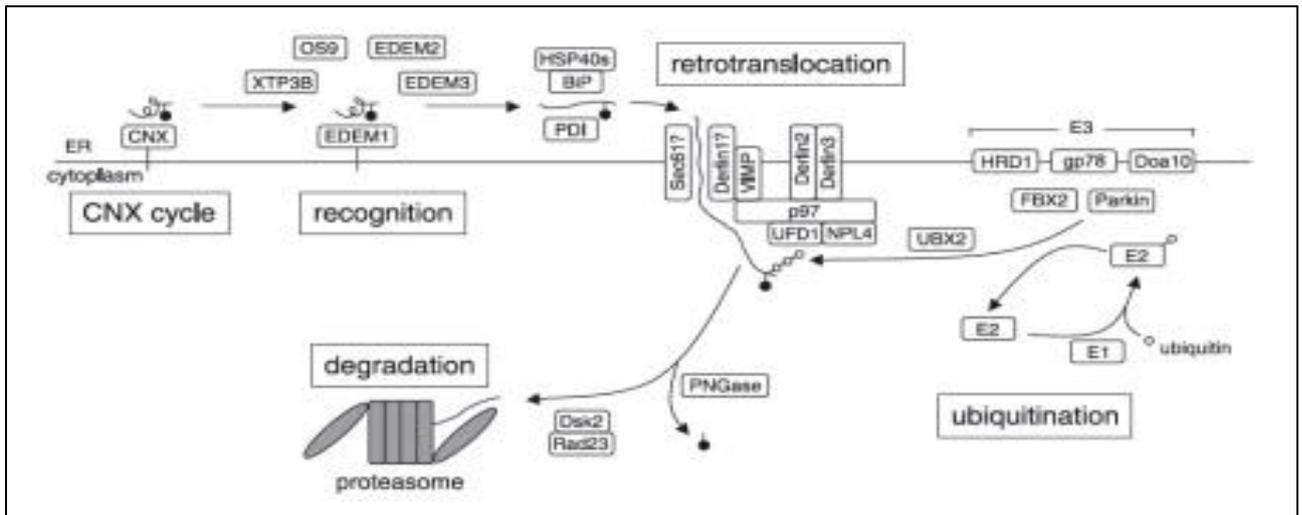


Figura 5: Esquema general de la vía de degradación ERAD. El mecanismo de cada etapa está explicado en el texto a continuación. Fuente: Yoshida H., 2007

Se han descrito tres tipos de vías ERAD en el sistema de control de calidad del RE: ERAD-L (supervisa proteínas luminales solubles mal plegadas), ERAD-M (supervisa proteínas mal plegadas en el interior de la membrana), y ERAD-C (supervisa proteínas de membrana mal plegadas con regiones extendidas hacia el citosol).

1.- Reconocimiento

Mientras tiene lugar del ciclo de la calnexina o calreticulina (CNX / CRT en la figura 6), el glicano unido a los polipéptidos nacientes contiene nueve residuos de manosa. Cuando la α -manosidasa I corta un residuo de manosa, el polipéptido naciente con ocho residuos de manosa se separa de la calnexina o calreticulina y se unen a la proteína EDEM, que distingue entre proteínas sin plegar y proteínas plegadas [17,18].

Existen tres genes para EDEM: EDEM1 es una proteína de membrana del RE, mientras que EDEM2 y EDEM3 son proteínas luminales [19,20]. Todas las EDEM contienen un dominio afín a la manosidasa responsable del reconocimiento de los residuos de manosa del glicano.

Otros componentes de la ERAD responsables del reconocimiento de proteínas desplegadas son el osteosarcoma 9 (OS9) y el gen transactivado XTP3B. Ambos poseen un dominio receptor de manosa-6-fosfato que parece ser clave para el reconocimiento de residuos de manosa. OS9 se une específicamente a glicoproteínas desplegadas que llevan unidos ocho o cinco residuos de manosa, pero también a proteínas desplegadas no glicosiladas, de lo que se deduce que juega un papel fundamental en el reconocimiento de ambos tipos.

2.- Retrotranslocación

Las glicoproteínas nacientes que son reconocidas como mal plegadas por EDEM y OS9 están destinadas a la fase de retrotranslocación [21]. Antes de llevar a cabo este proceso, las proteínas nacientes se asocian con disulfuro isomerasas (PDI) y Bip para romper puentes disulfuro y abrir la estructura parcialmente plegada [22].

Uno de los componentes clave de la retrotranslocación es Derlin-1. Se trata de una proteína que puede formar canales de retrotranslocación en la membrana del RE y se asocia con p97 a través de una proteína adaptadora VIMP1 (Valocin-containing protein (VCP)-Interacting Membrane Protein 1) [23].

P97 (también llamada VCP y cdc48) es una ATPasa citosólica de la familia de proteínas AAA (ATPasas Asociadas a Actividades celulares) que extrae las proteínas desplegadas desde el RE al

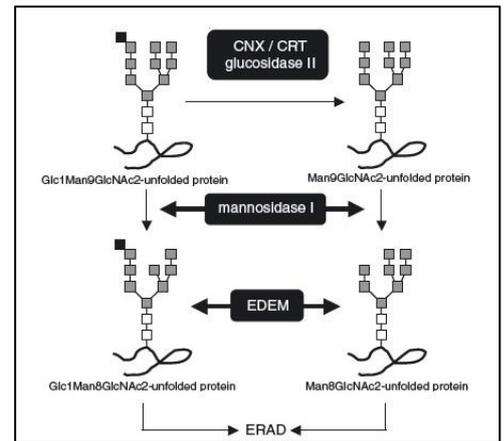


Figura 6: Mecanismo general de reconocimiento de glicoproteínas. Su funcionamiento está explicado a la izquierda de la imagen. Fuente: elaboración propia en base a una imagen de Yoshida H., 2007

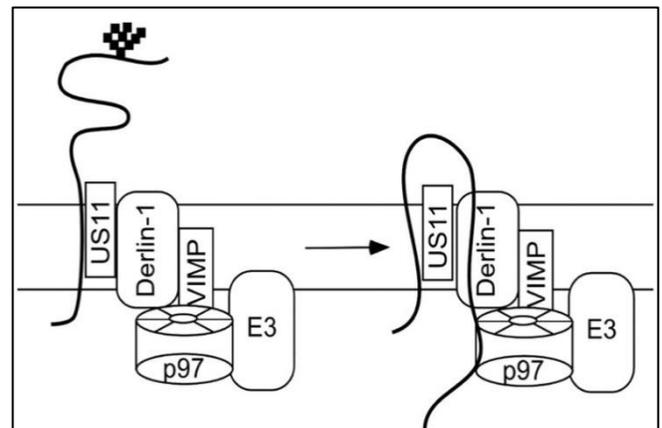


Figura 7: Estructura y componentes principales del complejo de retrotranslocación. Fuente: Yihong Y., 2005

citósol [24]. Para que esto suceda, p97 requiere de otras proteínas como UFD1 (Ubiquitin Fusion Degradation protein 1) y NPL4 (Nuclear Protein Localization 4) que se unen a ella como cofactores y colaboran en la extracción de proteínas desplegadas hacia el citósol.

3.- Ubiquitinación

Las proteínas retrotranslocadas (o en proceso de retrotranslocación) son marcadas para su degradación por la cascada de ubiquitinación E1-E2-E3. La enzima E1 transfiere una molécula de ubiquitina a una enzima E2, la cual a continuación, se acopla junto con el sustrato proteico a E3, que le transfiere la ubiquitina al sustrato. Las enzimas E1, E2 y E3 presentes en la ERAD de mamíferos son las siguientes:

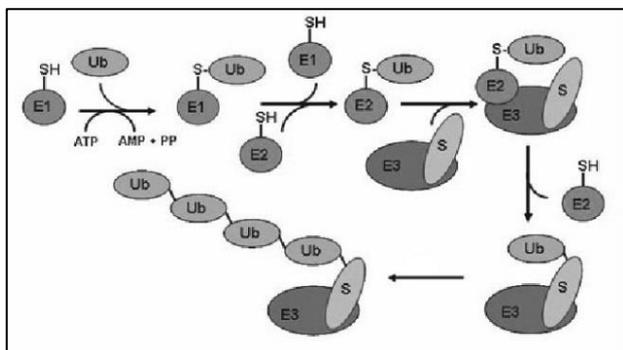


Figura 8: Esquema explicativo del proceso de ubiquitinación. La enzima E1 transfiere una molécula de ubiquitina a una enzima E2, la cual a continuación, se acopla junto con el sustrato proteico a E3, que le transfiere la ubiquitina. Fuente: Hernandez R.A., 2013

- E1: UBE1 (Ubiquitin-activating Enzyme 1). Enzima activadora de ubiquitina presente en todas las células.
- E2: UBC6 (Ubiquitin Conjugase 6) y UBC7 (Ubiquitin Conjugase 7). Transferasas específicas de ubiquitina.
- E3: HRD1 (HMG-CoA Reductase Degradation protein 1), gp78, y Doa10. Ligasas ancladas a la membrana.

HRD1 tiene mayor afinidad por sustratos que presentan regiones luminales mal plegadas, mientras que Doa10 es más afín a proteínas que presentan dominios citosólicos mal plegados. Estas dos enzimas constituyen dos vías de degradación distintivas: ERAD-L (luminal) y ERAD-C (citosólica). Otras proteínas que presentan regiones transmembrana mal plegadas evitan la interacción con OS9 y HRD3 (retrotranslocación), y se asocian directamente con el complejo HRD1, por la vía ERAD-M (membrana) [25].

No obstante, existe una gran cantidad de E3 ligasas diferentes y específicas de otros sustratos que están implicadas en la ERAD. FBX2 (F-Box only protein 2) es una E3 ligasa que reconoce expresamente proteínas N-glicosiladas en el citósol [26], Parkin es otra E3 ligasa implicada en la enfermedad de Parkinson, los complejos CHIP (C-terminus of Hsc70-Interacting Protein) y RMA1 son complejos de E3 ligasas que monitorizan el plegamiento de los reguladores de conductancia transmembrana, como CFTR cuya alteración produce enfermedades como la fibrosis quística, etc...

4.- Degradación

Una vez que las proteínas han sido retrotranslocadas y ubiquitinadas, la N- glicanasa separa el glicano preensamblado del resto de la cadena polipeptídica antes de ser degradada por el proteosoma, ya que el volumen del glicano es demasiado grande en comparación con el poro de entrada del proteosoma. Finalmente, Dsk2 y Rad23 dirigen la cadena polipeptídica hacia el proteosoma para su degradación.

DESARROLLO

RESPUESTA A PROTEÍNAS DESPLEGADAS

Cuando se producen cambios en el entorno fisiológico del RE que perturban la homeostasis de proteínas (i.e. se produce una acumulación excesiva de proteínas nativas, o bien un aumento de proteínas mal plegadas en este orgánulo), se produce un estrés en el RE. Este estrés activa un mecanismo de respuesta a proteínas desplegadas (UPR), que suele implicar la modulación de varios procesos celulares:

1. Atenuación traduccional de la síntesis de novo de proteínas para evitar su acumulación o agregación, y detención del ciclo celular (proceso mediado por la activación de PERK).
2. Inducción transcripcional de genes que codifican chaperonas del RE para incrementar la capacidad de plegamiento (GRP78 mayoritariamente).
3. Inducción transcripcional de genes que codifican componentes de la vía de degradación asociada al RE (ERAD) para incrementar la capacidad de degradación de proteínas aberrantes.
4. Expansión del RE, para que aumente el volumen del lumen. Esto evita que las proteínas formen agregados insolubles, que dificultarían la acción de las chaperonas.

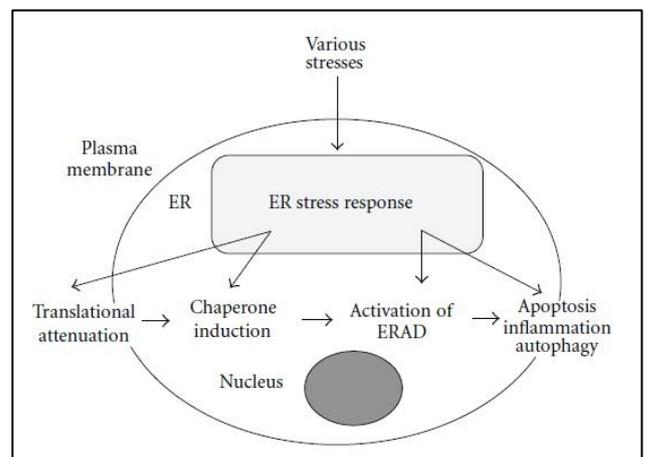


Figura 9: Esquema general de la respuesta a estrés del RE. Para más detalles mirar el texto. Gotoh T., 2011

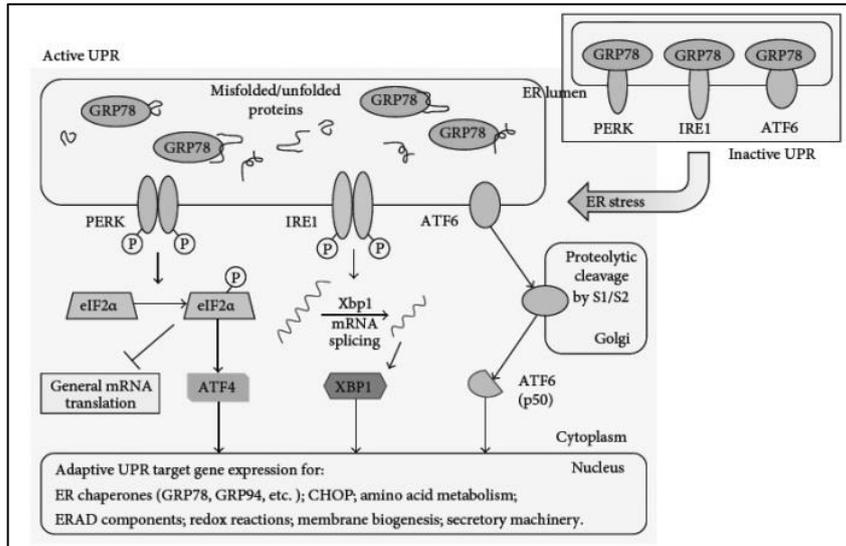


Figura 10: Vista general de las tres cascadas de señalización de la respuesta a proteínas desplegadas. En ausencia de estrés, la GRP78 luminal está asociada a las proteínas transmembrana PERK, IRE1 y ATF6 para reprimir su activación. Cuando hay estrés en el RE, la acumulación de proteínas mal plegadas y desplegadas dentro del RE secuestra GRP78, anulando el bloqueo y permitiendo la activación de Perk, IRE1 y ATF6. Fuente: Schontal A.H., 2012

La modulación de estos procesos por la UPR ocurre para conseguir un objetivo final: que disminuya la carga de proteínas, sobre todo de las mal plegadas, en el RE para que los mecanismos de reparación de fallos de plegamiento puedan funcionar y se resuelva el estrés. En los casos en los que el estrés no se puede solucionar y las células están dañadas irreversiblemente hay una inducción de la apoptosis en esas células, para garantizar la supervivencia del organismo.

Respecto a cómo se produce la activación de la UPR, se sabe que en células no sometidas a estrés, una parte de la GRP78 del lumen del RE se encuentra unida a tres proteínas transmembrana diferentes que actúan como sensores:

- PERK: proteína quinasa del RE activada por ARN de doble cadena (Protein kinase activated by double-stranded RNA (PKR)-like ER Kinase) [27].
- ATF6: factor de transcripción activador 6 (Activating Transcription Factor 6) [28].
- IRE1: proteína quinasa dependiente de inositol (Inositol-Requiring kinase/Endoribonuclease 1) [25].

La unión de la chaperona GRP78 a la región luminal de estas proteínas hace que se impida su actividad, que depende de su dimerización, de manera que normalmente se mantienen en un estado inactivo. En condiciones de estrés, producido por la acumulación de proteínas mal plegadas o desplegadas, GRP78 (que tiene afinidad por las proteínas mal plegadas) se une a éstas, de manera que la chaperona es secuestrada de su unión con los sensores. Esto facilita su dimerización y por lo tanto su activación, desencadenando tres vías distintas de la UPR.

Una de las consecuencias de estas cascadas de señalización es el incremento en la expresión de GRP78, que proporcionará capacidad de plegamiento adicional, así como una nueva fracción para asociarse con PERK, ATF6, e IRE1, inactivándolas de nuevo cuando la homeostasis se haya restablecido.

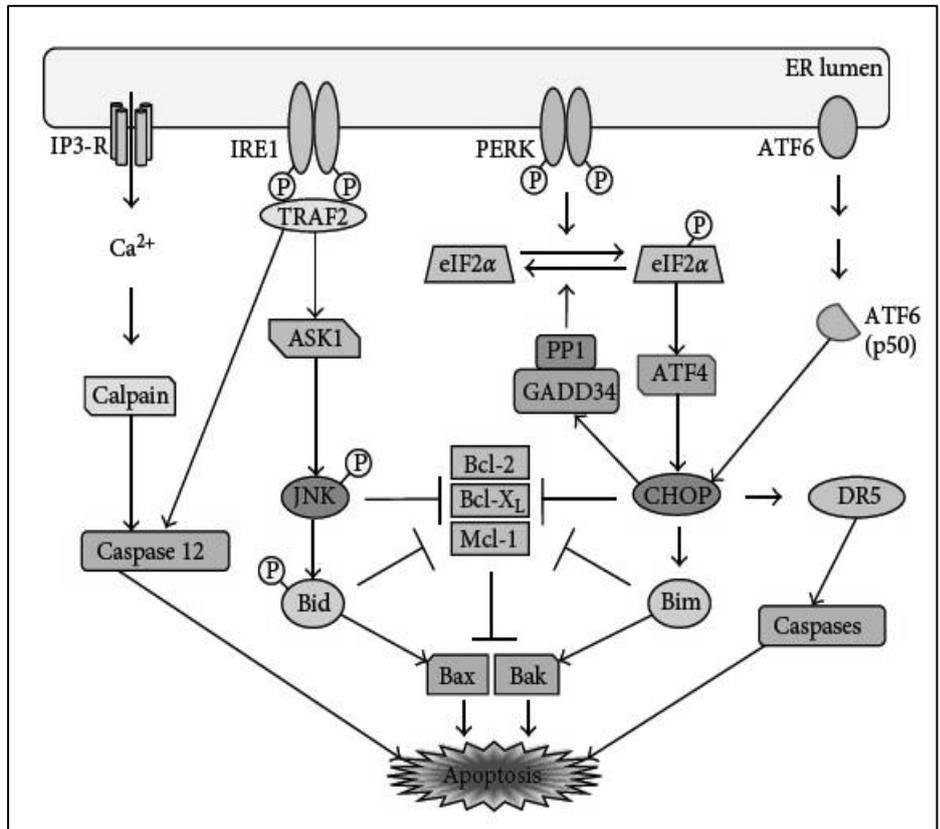


Figura 11: Cascadas de señalización de muerte celular en la UPR. En condiciones de estrés severo y continuado, se desencadenan una serie de eventos proapoptóticos. Los factores de transcripción ATF4 y ATF6 (p50) estimulan la expresión de CHOP. Por una parte, CHOP estimula la expresión de GADD34, que se asocia con PP1, provocando la defosforilación de eIF2α, y reactivando así la síntesis de proteínas. Por otra parte, CHOP inhibe las proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2 y estimula las proapoptóticas de la familia Bim, lo que da lugar a la activación de las proteínas pro-apoptóticas Bax y Bak. CHOP también estimula la expresión de receptores de muerte de superficie celular (DR5), lo que aumenta la susceptibilidad de las células a los estímulos proapoptóticos. JNK se activa de la misma manera, se fosforila y activa por la proteína quinasa ASK1, a su vez activada por la asociación de TRAF2 con IRE1 activado, complementando las propiedades proapoptóticas de CHOP. Fuente: Schontal A.H., 2012

- Cascada de señalización PERK

PERK es una proteína quinasa transmembrana tipo I del RE que suprime la traducción de proteínas en el RE. Al activarse, PERK se dimeriza y transautofosforila, y a continuación fosforila (reacción reversible) a su sustrato principal, el eIF2α (Factor de Iniciación eucariota 2α), que se inactiva y atenúa la traducción, disminuyendo el flujo de proteínas mal plegadas hacia el RE y su consiguiente citotoxicidad. Este freno a la traducción ayuda a disminuir el estrés del RE mediante la reducción de la carga de proteínas mal plegadas [29].

Simultáneamente, la fosforilación de eIF2α cambia la eficacia en el uso de codones de iniciación (AUG), lo que promueve la traducción preferente de un pequeño número de mRNAs (entre ellos el correspondiente al factor de transcripción 4, ATF4), que estimula la transcripción de un conjunto de genes implicados en el apoyo a la reparación celular [27]. Entre estos genes, ATF4 regula al factor

de transcripción CHOP, clave para iniciar el programa de apoptosis si el estrés del RE es excesivo [30].

- Cascada de señalización IRE1

La región citosólica de IRE1 tiene varias funciones. Al activarse se dimeriza y se transautofosforila (al igual que PERK) gracias a su actividad como proteína Ser/Thr – quinasa. Una vez fosforilada actúa como una endoribonucleasa, y mediante esta actividad procesa el mRNA del factor de transcripción XBP1 [31]. En este proceso, IRE1 corta un intrón del mRNA que codifica XBP1 iniciando un cambio del marco de lectura en el mRNA y dando lugar a XBP1s.

XBP1s es un factor de transcripción que regula la expresión de una familia de genes implicados en la entrada y el plegamiento de proteínas en el RE, y en la ERAD (i.e. la respuesta al estrés del RE) [32]. XBP1s también regula procesos de biosíntesis en el RE y aparato de Golgi potenciando la expresión de enzimas implicadas en la biosíntesis de fosfolípidos para las membranas celulares. Los genes diana de XBP1s serán distintos en función de las diferentes condiciones de estrés del RE, de lo que se deduce que XBP1 puede interactuar con otros factores de transcripción [33].

Además del procesamiento de XBP1, otra de las funciones de IRE1 es activar una cascada de señalización implicada en la apoptosis celular. Aquí, IRE1 activa atrae al factor 2 (TRAF2) asociado a receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR-), que da lugar a una activación en cascada de la quinasa de apoptosis regulada por señal 1 (ASK1) y de la quinasa c-Jun N-terminal (JNK) [34]. La actividad ininterrumpida de JNK en situaciones de estrés prolongado inhibe a los miembros anti-apoptóticos de la subfamilia de proteínas Bcl-2. Al mismo tiempo, JNK fosforila y activa a los miembros pro-apoptóticos de la subfamilia de proteínas BH3, tales como Bid y Bim. Estos procesos coordinados conducen a la oligomerización de Bax y Bak (proteínas pro-apoptóticas de la subfamilia Bax), aumentando la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa e iniciando el proceso intrínseco de apoptosis [35].

- Cascada de señalización ATF6

ATF6 es una proteína transmembrana de tipo II involucrada en otra vía de señalización de la UPR. Se trata de un factor de transcripción de tipo cremallera de leucina bZIP ubicado en la cara citosólica del RE [36, 37]. En condiciones de estrés GRP78 se separa de su región luminal, y entonces ATF6 se transporta al aparato de Golgi, donde se procesa por dos proteasas que liberan su

dominio citoplasmático. Éste se dirige al núcleo y funciona como un iniciador de transcripción que estimula la expresión de un gran número de genes asociados a la ERAD y al plegamiento y secreción de proteínas [37,38], estando GRP78, GRP94, PDI, XBP1 y CHOP entre ellos [39-41].

- Inducción de la apoptosis por CHOP

En células no sometidas a estrés, los niveles de expresión de CHOP (C/EBP Homologous Protein) se mantienen muy bajos. Por el contrario, cuando se agudiza el estrés del RE, la expresión de CHOP se intensifica, estimulada a través de las cascadas de señalización IRE1 y PERK, y los factores de transcripción ATF4 y ATF6. Únicamente cuando el estrés del RE no puede ser reducido mediante las vías pro-supervivencia de la UPR y los niveles de proteínas mal plegadas siguen siendo altos, se observan las propiedades pro-apoptóticas de CHOP. En estas circunstancias, CHOP estimula un perfil transcripcional que favorece la iniciación de un programa pro-apoptótico, lo que implica la expresión de Bim (pro-apoptótico) y la represión de Bcl-2 (anti-apoptótico) [42]. Se trata de un mecanismo similar al mencionado anteriormente de JNK. Además de esto, CHOP induce la expresión de DR5 (death receptor 5), que interactúa con las caspasas promoviendo el proceso de apoptosis.

Otro de los genes diana de CHOP es GADD34 (Growth Arrest and DNA Damage inducible protein 34), que es una subunidad reguladora de la proteína fosfatasa tipo 1 (PP1). CHOP induce la expresión de GADD34, lo que da lugar a la activación de PP1 y a la defosforilación de eIF2 α , restituyendo así los procesos de traducción y funcionamiento normales en la célula.

De esta manera, aunque la elevada expresión de CHOP esté desencadenando procesos apoptóticos, su efecto inicial sobre GADD34 puede colaborar en la restauración de la homeostasis. En cualquier caso, la disminución del estrés en el RE implica la reducción obligada de los niveles de CHOP como requisito previo a la restitución de la homeostasis [43].

PATOLOGIAS RELACIONADAS CON EL PLEGAMIENTO ANOMALO DE PROTEINAS

El mantenimiento de la homeostasis proteica [12], es una de las labores fundamentales de la célula para asegurar su viabilidad en condiciones de estrés.

Las enfermedades relacionadas con el plegamiento anómalo de proteínas son un grupo de trastornos causados por perturbaciones en la integridad proteica de la célula, debido a la modificación de la estructura terciaria de una proteína específica hacia otra forma también estable. Estas estructuras mal plegadas pueden ser eliminadas por las vías de degradación celulares o pueden oligomerizarse y formar agregados [13].

Cabe destacar, no obstante, que algunos grandes agregados como los agregosomas y los cuerpos de inclusión tienen propiedades citoprotectoras [44], y que determinadas chaperonas moleculares, como la subfamilia HSP70 y TRiC (TCP1-Ring Complex), pueden anular tanto la formación como la toxicidad de estos agregados [45, 46].

A pesar de ello, aquellas situaciones en las que una proteína correctamente plegada está ausente en la célula, o su forma mal plegada se agrega y se acumula dentro o fuera de esta, pueden ocasionar la pérdida de funciones celulares, ganancia de propiedades tóxicas, o ambas simultáneamente, dando lugar a enfermedades raras [47].

De las numerosísimas patologías relacionadas con el plegamiento anómalo de proteínas estudiaremos las siguientes:

- Enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, ELA, Huntington, enfermedades priónicas)
- Diabetes mellitus tipo 2
- Aterosclerosis
- Cáncer

ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas son trastornos caracterizado por la degeneración progresiva y muerte de neuronas en regiones específicas del cerebro [48]. La mayoría de estas enfermedades presentan una edad de aparición tardía y una extrema vulnerabilidad del organismo frente a la presencia de la proteína mutante o mal plegada en el tejido nervioso. La edad tardía de aparición se ha relacionado con un empeoramiento de la homeostasis de proteínas con la edad, debido al deterioro progresivo del control de calidad y al desequilibrio proteico [49].

La característica común de las enfermedades neurodegenerativas es la acumulación de depósitos de naturaleza proteica, intra o extracelulares, en el sistema nervioso [50, 51]. Las diferencias entre las enfermedades se deben en gran medida a la localización de la lesión cerebral.

Al igual que en otras enfermedades conformacionales, la causa de estas anomalías puede estar provocada por mutaciones genéticas heredadas, o ser consecuencia de una alteración del material genético debida a las condiciones ambientales [50]. Entre estas influencias ambientales se encuentran infecciones por patógenos, como virus, bacterias y priones (partículas proteicas infecciosas)

- Enfermedad de Alzheimer

Es la enfermedad más frecuente entre los trastornos neurológicos relacionados con la edad [48]. El principal síntoma de esta enfermedad es la reducción de las capacidades cognitivas, caracterizado principalmente por pérdida de memoria, cambios de humor y problemas de comportamiento social. Se han observado dos características fisiológicas en la enfermedad de Alzheimer: la presencia extracelular de placas neuríticas de péptido β -amiloide (Figura 12), y la deposición intracelular de ovillos de proteína tau (τ) [52].

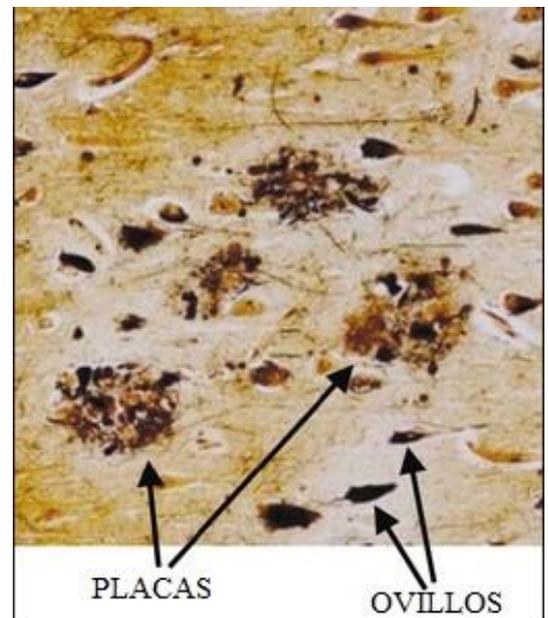


Figura 12: Corte histológico de corteza cerebral que presenta placas y ovillos de proteína β -amiloide. Fuente: Corporación Alzheimer Chile

Se han identificado tres genes cuyas mutaciones son responsables de la enfermedad: APP, PS1 y PS2. APP codifica la proteína precursora amiloidea (una proteína

transmembrana), mientras que PS1 y PS2 codifican la presenilina (un componente esencial de la γ -secretasa). APP se escinde secuencialmente por la γ -secretasa y una β -secretasa llamada BACE (β -site Amyloid β A4 precursor Protein-Cleaving Enzyme 1), lo que da lugar a la acumulación del péptido β -amiloide.

Cabe destacar que las células que expresan PS1 mutantes son más sensibles al estrés del RE y muestran una respuesta reducida [53], ya que se altera la activación de ATF6, IRE1, y PERK [54].

Por otra parte, la agregación de la proteína tau (asociada a microtúbulos) está relacionada con otros trastornos neurológicos conocidos como tauopatías (entre los que se incluye la enfermedad de Alzheimer), que inducen modificaciones postraduccionales y alteraciones en la estructura de chaperonas moleculares [55].

Estas evidencias sugieren una relación entre el estrés del RE y esta patología, de lo que se deduce que el estrés provocado por la acumulación de péptido β -amiloide es la causa principal de la enfermedad de Alzheimer.

- Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común entre los trastornos relacionados con la edad. Se caracteriza por la degeneración progresiva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra del mesencéfalo y otras regiones cerebrales, lo que afecta gravemente a las capacidades motoras de los pacientes.

Se han identificado tres genes cuyas mutaciones son responsables de la enfermedad, los cuales codifican tres proteínas diferentes: α -sinucleína, Parkin, y UCH-L1 (Ubiquitina C-terminal Esterasa L1). La α -sinucleína es una proteína amiloide citoplasmática que forma agregados

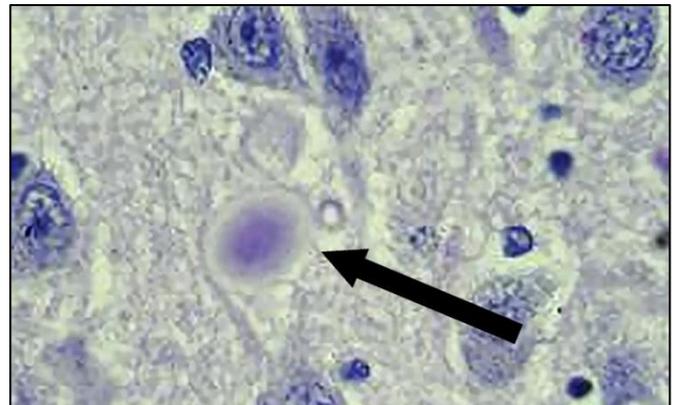


Figura 13: Corte histológica de corteza cerebral que presenta cuerpos de Lewy. Fuente: National Library of Medicine

denominados cuerpos de Lewy (Figura 13), similares a las placas neuríticas de la

enfermedad de Alzheimer. Por otra parte, Parkin es una proteína ubiquitina ligasa (E3) que participa en la ERAD [56], y su expresión viene inducida por situaciones de estrés en el RE [57]. En cuanto a UCH-L1, se trata una hidrolasa muy abundante en las neuronas cuyo cometido es estabilizar los monómeros de ubiquitina [58]. Se ha demostrado que UCH-L1 ubiquitina proteínas desplegadas y que, por lo tanto, también podría estar implicada en la ERAD [59].

Además de estas evidencias, se ha documentado la presencia de enzimas PDI acumuladas en los cuerpos de Lewy, de lo que se deduce la implicación directa del estrés del RE en la enfermedad de Parkinson.

- Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA)

La esclerosis lateral amiotrófica (también llamada abreviadamente ELA) es una enfermedad neuromuscular progresiva cuyos rasgos patológicos característicos son la pérdida de neuronas motoras en la corteza cerebral y la médula espinal. Puede manifestarse de forma esporádica o estar determinada genéticamente (alrededor del 10% de los casos de ELA) [60].

El gen responsable de la ELA familiar es el que codifica la SOD1 (Superóxido Dismutasa-1). Las SOD1 mutantes se asocian formando agregados (con un patrón similar a las otras enfermedades neurodegenerativas, aunque con distinta estructura final) que generan estrés en el RE. Esto induce la expresión de BIP y activa la caspasa-12, lo que da lugar a la muerte neuronal.

Estas evidencias apoyan la idea de que el estrés inducido en el ER por acúmulos de SOD1 es la causa principal de la esclerosis lateral amiotrófica [61, 62].

- Enfermedades por expansión de trinucleótidos

Las enfermedades por expansión de trinucleótidos son trastornos neurodegenerativos causados por la repetición de tripletes CAG en determinados genes. Estos genes se traducen en largas cadenas de poliglutamina debido a la repetición de tripletes CAG, formando agregados proteicos insolubles que son tóxicos para la célula. Todas las proteínas poliglutámicas conocidas que provocan enfermedades neurodegenerativas son citosólicas, pero sin embargo generan estrés en el RE, debido a que suprimen la función del proteasoma, componente esencial de la ERAD [63- 65]. Entre estas patologías se incluyen:

- Enfermedad de Huntington (o Corea de Huntington)
- Enfermedad de Kennedy (o Atrofia muscular progresiva espinobulbar)
- Ataxia espinocerebelosa
- Atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana

Concretamente la enfermedad de Huntington está causada por una mutación dominante en un solo gen, que codifica la huntingtina (HTT). En este gen la secuencia de expansión CAG se encuentra en el exón 1, muy cerca del extremo 5'. Cuando esta secuencia tiene 35 o más repeticiones, aparecen las formas defectuosas de HTT. Estas proteínas mal plegadas tienden a la formación de estructuras oligoméricas en lámina- β y a su agregación en depósitos dentro del núcleo y el citoplasma de las neuronas [66-68].

- Encefalopatías espongiformes transmisibles

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (también llamadas enfermedades priónicas) son un grupo de trastornos neurodegenerativos causados por la conversión de una partícula priónica normal (PrP^{C} = Prion-related Protein, donde C representa la forma celular de la proteína), en su forma patógena (PrP^{Sc} donde Sc representa *scrapie*, nombre en inglés de la tembladera, enfermedad de ovejas y cabras).

Los rasgos clínicos principales de estas patologías son la pérdida de control motor y la demencia. Estas enfermedades se consideran únicas ya que su origen puede ser esporádico, genético o infeccioso.

- Esporádicas: Enfermedad de Creutzfeld-Jacob esporádica (ECJ^{e}) e insomnio familiar fatal (IFF)
- Genéticas: Enfermedad de Creutzfeld-Jacob familiar (ECJ^{f}), insomnio familiar fatal (IFF) y enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)
- Infecciosas: Enfermedad de Creutzfeld-Jacob iatrogénica (ECJ^{i}), nueva variante de la enfermedad de Creutzfeld-Jacob (ECJ^{nv}) y Kuru.

La mayoría de las enfermedades priónicas son esporádicas y suelen presentarse sin ninguna mutación en el gen que codifica la proteína priónica. El único gen responsable de estas enfermedades que se ha identificado hasta el momento es PrP, que

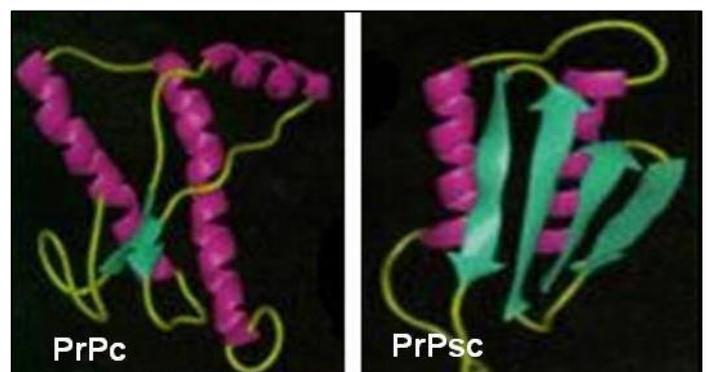


Figura 14: Disposición espacial de la estructura de las dos formas de la proteína priónica, PrP^{C} y PrP^{Sc} . Fuente: Rubio Gonzalez T. (2009)

codifica una proteína anclada a la superficie celular. La secuencia de aminoácidos de PrP^C es exactamente igual a la de su forma patológica, PrP^{Sc}. Sin embargo, la estructura de PrP^C es mayormente de α -hélice mientras que la de PrP^{Sc} es más de lámina- β .

Según la hipótesis de sólo prión (Prusiner S., 1997) el mecanismo de infección se basa en el contacto entre las dos formas de la proteína priónica, PrP^C y PrP^{Sc}. Este contacto induce un cambio conformacional en PrP^C que pasa a adquirir también la forma patógena, dando lugar a fibrillas formadas por PrP^{Sc} que se agregan formando placas amiloides en el tejido nervioso.

En enfermedad de Creutzfeldt -Jakob por ejemplo, se ha observado sobreexpresión de chaperonas moleculares como GRP58 y GRP94 así como de caspasa-12, lo que invita a pensar que la enfermedad está relacionada con el mecanismo de control de estrés en el RE [69].

DIABETES MELLITUS TIPO 2

La diabetes tipo 2 se caracteriza por la alteración de un conjunto de condiciones metabólicas, entre ellas la secreción inadecuada de insulina por las células β de los islotes pancreáticos, la resistencia periférica a la insulina, y la mala regulación de la producción de glucosa en el hígado.

Determinadas causas como la hiperglucemia, los ácidos grasos saturados libres, y la obesidad en general son factores de riesgo en el desarrollo de diabetes tipo 2, ya que son capaces de disparar el estrés del RE, especialmente en órganos como el hígado y el páncreas [70-72].

El desarrollo de la diabetes tipo 2 supone una mayor demanda de células β pancreáticas para la producción de insulina con el fin de compensar la resistencia periférica. El incremento en la síntesis y plegamiento de proinsulina a insulina en el RE, combinado con el aumento de la concentración de glucosa y ácidos grasos libres desencadena un estrés crónico en el RE. Si se mantienen durante periodos prolongados, estas condiciones pueden conducir a la muerte de las células β , entrando así en un círculo vicioso de hiperglucemia exacerbada [73, 74]. En consecuencia, el declive progresivo de las funciones de las células β del páncreas y de la secreción de insulina reduce a su vez la tolerancia a la glucosa, que será mayor cuanto menor sea la cantidad de células β del páncreas.

En cuanto al papel del estrés del RE en el desarrollo de diabetes tipo 2, se ha demostrado que los ácidos grasos libres, concretamente el palmitato, activan la respuesta a estrés del RE en las células

β . En presencia de ácidos grasos libres se produce la activación y fosforilación de PERK y eIF2 α , la inhibición de la síntesis de proteínas, la activación de IRE1 y ATF6, y la sobreexpresión de ATF4 y CHOP [75].

Asimismo, se ha demostrado que los niveles altos de glucosa pueden elevar varios marcadores de estrés en células β [76]. La fosforilación de IRS-1 (Insulin Receptor Substrate-1) por JNK da lugar a la inhibición de la señal de transducción de la insulina, incrementando la resistencia periférica [77]. De la misma manera, algunas deficiencias en el mecanismo de respuesta a estrés del RE, como el deterioro de la cascada de señalización PERK o la actividad excesiva de la cascada de señalización IRE1, pueden poner en peligro la capacidad de síntesis y plegamiento de la insulina dentro del RE, lo cual basta para provocar la pérdida de función y muerte de las células β del páncreas [73, 78]. Por último cabe destacar que en estas situaciones de estrés se produce sobreexpresión de CHOP, lo que contribuye de manera crítica a la apoptosis de las células β [75, 79].

ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis es una enfermedad cardiovascular caracterizada por el depósito e infiltración de sustancias lipídicas en la capa interna de las paredes de las arterias, produciendo una reacción inflamatoria y el estrechamiento de la luz arterial. Está profundamente implicada en enfermedades isquémicas como el infarto de miocardio e infarto cerebral [80-82].

Dentro de los infartos hay que distinguir entre los mecanismos de aterosclerogénesis, y de interrupción del flujo sanguíneo. La aterosclerogénesis es un tipo específico de inflamación crónica de la pared arterial

inducida por altos niveles de colesterol intracelular, ácidos grasos libres, estrés oxidativo, y NO.

El síndrome coronario agudo (SCA), hace referencia al cuadro clínico provocado por infartos de miocardio y angina inestable, y está causado por procesos de trombosis coronaria oclusiva. La

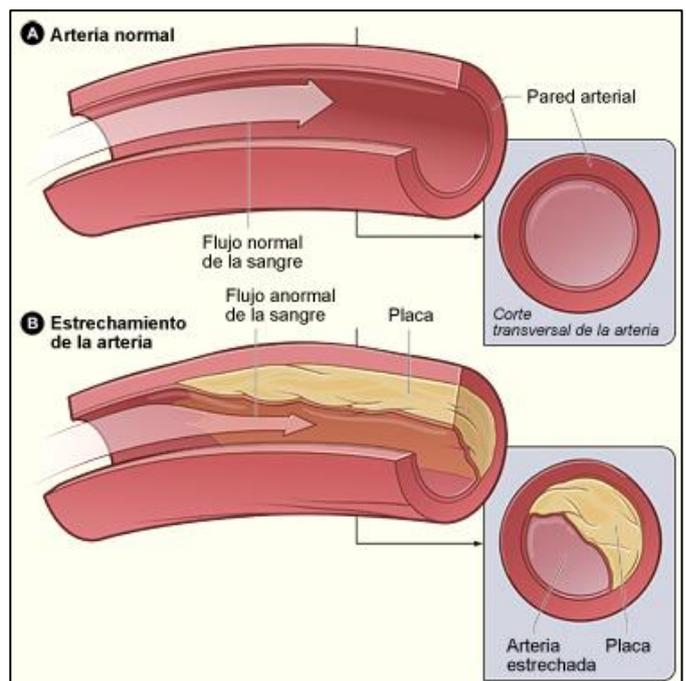


Figura 15: Representación esquemática del proceso de aterosclerogénesis. Fuente: National Heart, Lung, and Blood Institute (2015)

formación de estos trombos suele ser consecuencia de la ruptura de una placa aterosclerótica, seguida de la agregación de plaquetas y la acumulación de fibrina, dando lugar a la interrupción del flujo sanguíneo.

Se cree que las metaloproteasas secretadas por los macrófagos y la apoptosis de células espumosas derivadas de macrófagos, afectan a la estabilidad de las placas. Se ha observado la activación de la respuesta a estrés del RE (principalmente la expresión de CHOP) en todas las etapas de la aterosclerogénesis, especialmente en células derivadas de macrófagos [83]. Esto sugiere que la apoptosis inducida por el estrés del RE en macrófagos juega un papel fundamental en la inestabilidad de las placas ateroscleróticas. También se cree que la acumulación de colesterol libre en la membrana del RE es una de las principales causas de la activación de la respuesta a estrés del RE en lesiones ateroscleróticas [80, 84].

CÁNCER

Las células tumorales suelen encontrarse en entornos fisiológicos con condiciones hostiles, como hipoxia, hipoglucemia, y acidosis. Estas condiciones son típicas de muchos tipos de tumores y son agravantes conocidas del estrés en el RE. Sin embargo, a diferencia de las células hepáticas y las células- β pancreáticas, las células cancerosas tienen un alto índice proliferativo, lo que afecta positivamente a la selección de variantes celulares con mutaciones que permitan la adaptación y supervivencia bajo condiciones de estrés [85, 86].

Entre estos cambios cabe destacar la activación crónica de la rama anti-apoptótica del sistema de respuesta a estrés del RE, como se observa por la presencia de niveles elevados de GRP78 de forma permanente en la mayoría las células tumorales [87]. Desgraciadamente, GRP78 no sólo protege a las células tumorales de los efectos perjudiciales de un entorno fisiológico hostil, sino que a la vez les proporciona quimio-resistencia. [88, 89]. Por otra parte, CHOP no se expresa notablemente en tejidos o líneas celulares tumorales, debido a que en estos predomina la rama anti-apoptótica del sistema de respuesta a estrés del RE y GRP78 actúa para mantener baja la expresión de CHOP [90, 91]. No obstante, si el estrés del RE se agrava de manera aguda, la expresión de CHOP se verá fuertemente estimulada, y su balance con GRP78 determinará la supervivencia o la muerte de la célula [81].

Por un lado, la existencia de estrés crónico en el RE y los niveles permanentemente elevados de GRP78, ofrecen una ventaja significativa para la supervivencia de células tumorales expuestas a condiciones fisiológicas hostiles. Por otro lado, este mismo fenotipo distingue las células cancerosas de la mayoría de células normales. Esta diferencia podría traducirse en una oportunidad para la intervención terapéutica dirigida específicamente al mecanismo de respuesta a estrés del RE.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Schontal, A. H. (2012) *Endoplasmic reticulum stress: its role in disease and novel prospects for therapy*
- [2] Gotoh, T., Endo, M. and Oike, Y. (2011) *Endoplasmic Reticulum Stress-Related Inflammation and Cardiovascular Diseases*
- [3] Yoshida, H. (2006) *ER stress and diseases.*
- [4] Fu, X. L., Gao, D. S. (2014) *Endoplasmic reticulum proteins quality control and the unfolded protein response: The regulative mechanism of organisms against stress injuries*
- [5] Zhang, K. Z. and Kaufman, R. J. (2008) *From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. Nature* 454, 455–462.
- [6] Fujita, M., Mizukado, S., Fujita, Y., Ichikawa, T., Nakazawa, M., et al. (2007). *Identification of stress-tolerance-related transcription-factor genes via mini-scale Full-length cDNA Over-eXpressor (FOX) gene hunting system. Biochem. Biophys. Res. Commun.* 364, 250–257.
- [7] Liu, J. X., Srivastava, R., Che, P., and Howell, S. H. (2007) *Salt stress responses in Arabidopsis utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling. Plant J.* 51, 897–909.
- [8] Deng, Y., Humbert, S., Liu, J. X., Srivastava, R., Rothstein, S. J., et al. (2011) *Heat induces the splicing by IRE1 of a mRNA encoding a transcription factor involved in the unfolded protein response in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 108, 7247–7252.
- [9] Che, P., Bussell, J. D., Zhou, W., Estavillo, G. M., Pogson, B. J., et al. (2010) *Signaling from the endoplasmic reticulum activates brassinosteroid signaling and promotes acclimation to stress in Arabidopsis. Sci. Signal.* 3, ra69.
- [10] Gao, H., Brandizzi, F., Benning, C., and Larkin, R. M. (2008) *A membranetethered transcription factor defines a branch of the heat stress response in Arabidopsis thaliana. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 105, 16398–16403.
- [11] Jia, X. Y., Xu, C. Y., Jing, R. L., Li, R. Z., Mao, X. G., et al. (2008) *Molecular cloning and characterization of wheat calreticulin (CRT) gene involved in drought-stressed responses. J. Exp. Bot.* 59, 739–751.
- [12] Balch, W. E., Morimoto, R. I., Dillin, A., and Kelly, J. W. (2008) *Adapting proteostasis for disease intervention. Science* 319, 916–919.
- [13] Hebert, D. N. and Molinari, M. (2007) *In and out of the ER: protein folding, quality control, degradation, and related human diseases. Physiol. Rev.* 87, 1377–1408.
- [14] Anelli, T. and Sitia, R. (2008) *Protein quality control in the early secretory pathway. EMBO J.* 27, 315–327.
- [15] Howell, S. H. (2013) *Endoplasmic reticulum stress responses in plants. Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 477–499.
- [16] Hirsch, C., Gauss, R., Horn, S. C., Neuber, O., and Sommer, T. (2009) *The ubiquitylation machinery of the endoplasmic reticulum. Nature* 458, 453–460.
- [17] Eriksson KK, Vago R, Calanca V, Galli C, Paganetti P & Molinari M (2004) *EDEM contributes to maintenance of protein folding efficiency and secretory capacity. J Biol Chem* 279, 44600–44605.
- [18] Oda Y, Hosokawa N, Wada I & Nagata K (2003) *EDEM as an acceptor of terminally misfolded glycoproteins released from calnexin. Science* 299, 1394–1397.
- [19] Hirao K, Natsuka Y, Tamura T, Wada I, Morito D, Natsuka S, Romero P, Sleno B, Tremblay LO, Herscovics A, et al. (2006) *EDEM3, a soluble EDEM homolog, enhances glycoprotein endoplasmic reticulum- associated degradation and mannose trimming. J. Biol Chem.* 281, 9650–9658.
- [20] Mast SW, Diekman K, Karaveg K, Davis A, Sifers RN & Moremen KW (2005) *Human EDEM2, a novel homolog of family 47 glycosidases, is involved in ER-associated degradation of glycoproteins. Glycobiology* 15, 421–436.

- [21] Lee RJ, Liu CW, Harty C, McCracken AA, Latterich M, Romisch K, DeMartino GN, Thomas PJ & Brodsky JL (2004) Uncoupling retro-translocation and degradation in the ER-associated degradation of a soluble protein. *EMBO J.* 23, 2206–2215.
- [22] Kabani M, Kelley SS, Morrow MW, Montgomery DL, Sivendran R, Rose MD, Gierasch LM & Brodsky JL (2003) Dependence of endoplasmic reticulum-associated degradation on the peptide binding domain and concentration of BiP. *Mol Biol Cell* 14, 3437–3448.
- [23] Ye Y, Shibata Y, Yun C, Ron D & Rapoport TA (2004) A membrane protein complex mediates retrotranslocation from the ER lumen into the cytosol. *Nature* 429, 841–847.
- [24] Rabinovich E, Kerem A, Frohlich KU, Diamant N & Bar-Nun S (2002) AAA-ATPase p97 / Cdc48p, a cytosolic chaperone required for endoplasmic reticulum-associated protein degradation. *Mol Cell Biol* 22, 626–634.
- [25] Carvalho P, Goder V & Rapoport TA (2006) Distinct ubiquitin-ligase complexes define convergent pathways for the degradation of ER proteins. *Cell* 126, 361–373.
- [26] Yoshida Y, Adachi E, Fukiya K, Iwai K & Tanaka K (2005) Glycoprotein-specific ubiquitin ligases recognize N-glycans in unfolded substrates. *EMBO Rep* 6, 239–244.
- [27] Denic V, Quan EM & Weissman JS (2006) A luminal surveillance complex that selects misfolded glycoproteins for ER-associated degradation. *Cell* 126, 349–359.
- [28] Gauss R, Jarosch E, Sommer T & Hirsch C (2006) A complex of Yos9p and the HRD ligase integrates endoplasmic reticulum quality control into the degradation machinery. *Nat Cell Biol* 8, 849–854.
- [29] Stirling J & O'Hare P (2006) CREB4, a transmembrane bZip transcription factor and potential new substrate for regulation and cleavage by SIP. *Mol Biol Cell* 17, 413–426.
- [30] Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T & Mori K (2001) XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell* 107, 881–891.
- [31] Oyadomari S & Mori M (2004) Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ* 11, 381–389.
- [32] Rao RV, Ellerby HM & Bredesen DE (2004) Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. *Cell Death Differ* 11, 372–380.
- [33] Ma Y, Brewer JW, Diehl JA & Hendershot LM (2002) Two distinct stress signaling pathways converge upon the CHOP promoter during the mammalian unfolded protein response. *J Mol Biol* 318, 1351–1365.
- [34] Katiyar S, Joshi S & Lennarz WJ (2005). The retrotranslocation protein Derlin-1 binds peptide: N-glycanase to the endoplasmic reticulum. *Mol. Biol. Cell.* 16, 4584–4594.
- [35] Harding HP, Zeng H, Zhang Y, Jungries R, Chung P, Plesken H, Sabatini DD & Ron D (2001) Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in *perk-/-* mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. *Mol Cell* 7, 1153–1163.
- [36] Lee AH, Iwakoshi NN & Glimcher LH (2003) XBP-1 regulates a subset of endoplasmic reticulum resident chaperone genes in the unfolded protein response. *Mol. Cell. Biol.* 23, 7448–7459.
- [37] Sriburi R, Jackowski S, Mori K & Brewer JW (2004) XBP1: a link between the unfolded protein response, lipid biosynthesis, and biogenesis of the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol* 167, 35–41.
- [38] Lee AH, Chu GC, Iwakoshi NN & Glimcher LH (2005) XBP-1 is required for biogenesis of cellular secretory machinery of exocrine glands. *EMBO J.* 24, 4368–4380.

- [39] Yoshida Y, Adachi E, Fukiya K, Iwai K & Tanaka K (2005) Glycoprotein-specific ubiquitin ligases recognize N-glycans in unfolded substrates. *EMBO Rep* 6, 239–244.
- [40] Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, Sadri N, Yun C, Popko B, Paules R, et al. (2003) An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell* 11, 619–633.
- [41] Boyce M, Bryant KF, Jousse C, Long K, Harding HP, Scheuner D, Kaufman RJ, Ma D, Coen DM, Ron D, et al. (2005) A selective inhibitor of eIF2 α dephosphorylation protects cells from ER stress. *Science* 307, 935–939.
- [42] Ye J, Rawson RB, Komuro R, Chen X, Dave UP, Prywes R, Brown MS & Goldstein JL (2000) ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Mol Cell* 6, 1355–1364.
- [43] DenBoer LM, Hardy-Smith PW, Hogan MR, Cockram GP, Audas TE & Lu R (2005) Luman is capable of binding and activating transcription from the unfolded protein response element. *Biochem Biophys Res Commun* 331, 113–119.
- [44] Kopito RR (2000) Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation. *Trends Cell Biol* 10, 524–530.
- [45] Schaffar G, Breuer P, Boteva R, Behrends C, Tzvetkov N, Strippel N, Sakahira H, Siegers K, Hayer-Hartl M & Hartl FU (2004) Cellular toxicity of polyglutamine expansion proteins: mechanism of transcription factor deactivation. *Mol Cell* 15, 95–105.
- [46] Behrends C, Langer CA, Boteva R, Bottcher UM, Stemp MJ, Schaffar G, Rao BV, Giese A, Kretzschmar H, Siegers K, et al. (2006) Chaperonin TRiC promotes the assembly of polyQ expansion proteins into nontoxic oligomers. *Mol Cell* 23, 887–897.
- [47] Roth, D.M., et al., (2014). Modulation of the maladaptive stress response to manage diseases of protein folding. *PLoS Biol.* 12, e1001998.
- [48] Taylor, J.P., Hardy, J., Fischbeck, K. H., (2002). Toxic proteins in neurodegenerative disease. *Science* 296, 1991–1995.
- [49] Walther, D. M., et al., (2015). Wide spread Proteome Remodeling and Aggregation in Aging *C. elegans*. *Cell* 161,919–932.
- [50] Ross, C.A., Poirier, M.A., (2004). Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat. Med.* 10, Suppl, S10-7.
- [51] Soto, C., (2003). Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 49–60.
- [52] Hardy, J., (2006). A hundred years of Alzheimer's disease research. *Neuron* 52, 3–13.
- [53] Katayama T, Imaizumi K, Sato N, Miyoshi K, Kudo T, Hitomi J, Morihara T, Yoneda T, Gomi F, Mori Y, et al. (1999) Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat. Cell. Biol.* 1, 479–485.
- [54] Katayama T, Imaizumi K, Honda A, Yoneda T, Kudo T, Takeda M, Mori K, Rozmahel R, Fraser P, George-Hyslop PS, et al. (2001) Disturbed activation of endoplasmic reticulum stress transducers by familial Alzheimer's disease-linked presenilin-1 mutations. *J Biol Chem* 276, 43446–43454.
- [55] Fontaine, S.N., et al., (2015). Cellular factors modulating the mechanism of tau protein aggregation. *Cell. Mol. LifeSci.* 72, 1863–1879.
- [56] Shimura H, Hattori N, Kubo S, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Iwai K, Chiba T, Tanaka K, et al. (2000) Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 25, 302–305.
- [57] Imai Y, Soda M & Takahashi R (2000) Parkin suppresses unfolded protein stress-induced cell death through its E3 ubiquitin-protein ligase activity. *J Biol Chem* 275, 35661–35664.

- [58] Osaka H, Wang YL, Takada K, Takizawa S, Setsuie R, Li H, Sato Y, Nishikawa K, Sun YJ, Sakurai M, et al. (2003) Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 binds to and stabilizes monoubiquitin in neuron. *Hum Mol Genet* 12, 1945–1958.
- [59] Liu Y, Fallon L, Lashuel HA, Liu Z & Lansbury PT Jr (2002) The UCH-L1 gene encodes two opposing enzymatic activities that affect alpha-synuclein degradation and Parkinson's disease susceptibility. *Cell* 111, 209–218.
- [60] Bosco, D.A., et al., (2011). Proteostasis and movement disorders: Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3, a007500.
- [61] Kikuchi H, Almer G, Yamashita S, Guegan C, Nagai M, Xu Z, Sosunov AA, McKhann GM, 2nd & Przedborski S (2006) Spinal cord endoplasmic reticulum stress associated with a microsomal accumulation of mutant superoxide dismutase-1 in an ALS model. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 6025–6030.
- [62] Wootz H, Hansson I, Korhonen L, Napankangas U & Lindholm D (2004) Caspase-12 cleavage and increased oxidative stress during motoneuron degeneration in transgenic mouse model of ALS. *Biochem Biophys Res Commun* 322, 281–286.
- [63] Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, Takeda K, Inoue K, Hori S, Kakizuka A & Ichijo H (2002) ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes Dev* 16, 1345–1355.
- [64] Kouroku Y, Fujita E, Jimbo A, Kikuchi T, Yamagata T, Momoi MY, Kominami E, Kuida K, Sakamaki K, Yonehara S, et al. (2002) Polyglutamine aggregates stimulate ER stress signals and caspase-12 activation. *Hum Mol Genet* 11, 1505–1515.
- [65] Thomas MYuZ, Dadgar N, Varambally SYuJ, Chinnaiyan AM & Lieberman AP (2005) The unfolded protein response modulates toxicity of the expanded glutamine androgen receptor. *J Biol Chem* 280, 21264–21271.
- [66] Finkbeiner, S., (2011). Huntington's disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3.
- [67] Silverman, G. A., Pak, S. C., Perlmutter, D. H., (2013). Disorders of protein misfolding: alpha-1 antitrypsin deficiency as prototype. *J. Pediatr.* 163, 320–326.
- [68] Zheng, Z., Diamond, M. I., (2012). Huntington disease and the huntingtin protein. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 107, 189–214.
- [69] Hetz C, Russelakis-Carneiro M, Maundrell K, Castilla J & Soto C (2003) Caspase-12 and endoplasmic reticulum stress mediate neurotoxicity of pathological prion protein. *EMBO J* 22, 5435–5445.
- [70] L. Dara, C. Ji, and N. Kaplowitz, (2011) The contribution of endoplasmic reticulum stress to liver diseases, *Hepatology*, vol. 53, no. 5, pp. 1752–1763.
- [71] U. Özcan, Q. Cao, E. Yilmaz et al., (2004) Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes, *Science*, vol. 306, no. 5695, pp. 457–461.
- [72] M. Cnop, F. Foufelle, and L. A. Velloso, (2012) Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes, *Trends in Molecular Medicine*, vol. 18, pp. 59–68.
- [73] M. Cnop, J. Vidal, R. L. Hull et al., (2007) Progressive loss of $\beta\beta$ -cell function leads to worsening glucose tolerance in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes, " *Diabetes Care*, vol. 30, no. 3, pp. 677–682.
- [74] C. Weyer, C. Bogardus, D. M. Mott, and R. E. Pratley, (1999) The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus, *Journal of Clinical Investigation*, vol. 104, no. 6, pp. 787–794.

- [75] D. R. Laybutt, A. M. Preston, M. C. Åkerfeldt et al., (2007) Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes, *Diabetologia*, vol. 50, no. 4, pp. 752–763.
- [76] H. Elouil, M. Bensellam, Y. Guiot et al., (2007) Acute nutrient regulation of the unfolded protein response and integrated stress response in cultured rat pancreatic islets, *Diabetologia*, vol. 50, no. 7, pp. 1442–1452.
- [77] V. Aguirre, E. D. Werner, J. Giraud, Y. H. Lee, S. E. Shoelson, and M. F. White, (2002) Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, no. 2, pp. 1531–1537.
- [78] K. L. Lipson, S. G. Fonseca, S. Ishigaki et al., (2006) Regulation of insulin biosynthesis in pancreatic beta cells by an endoplasmic reticulum-resident protein kinase IRE1, *Cell Metabolism*, vol. 4, no. 3, pp. 245–254.
- [79] B. Song, D. Scheuner, D. Ron, S. Pennathur, and R. J. Kaufman, (2008) Chop deletion reduces oxidative stress, improves $\beta\beta$ cell function, and promotes cell survival in multiple mouse models of diabetes, *Journal of Clinical Investigation*, vol. 118, no. 10, pp. 3378–3389.
- [80] I. Tabas, (2010) The role of endoplasmic reticulum stress in the progression of atherosclerosis, *Circulation Research*, vol. 107, no. 7, pp. 839–850.
- [82] P. Libby, Y. Okamoto, V. Z. Rocha, and E. Folco, (2010) Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice, *Circulation Journal*, vol. 74, no. 2, pp. 213–220.
- [83] J. Zhou, S. Lhot'ak, B. A. Hilditch, and R. C. Austin, (2005) Activation of the unfolded protein response occurs at all stages of atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice, *Circulation*, vol. 111, no. 14, pp. 1814–1821.
- [84] H. Tsukano, T. Gotoh, M. Endo et al., (2010) The endoplasmic reticulum stress-C/EBP homologous protein pathway-mediated apoptosis in macrophages contributes to the instability of atherosclerotic plaques, *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology*, vol. 30, no. 10, pp. 1925–1932.
- [85] P. P. Hsu and D. M. Sabatini, (2008) Cancer cell metabolism: warburg and beyond, *Cell*, vol. 134, no. 5, pp. 703–707.
- [86] R. J. Shaw, (2006) Glucose metabolism and cancer, *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 18, pp. 598–608.
- [87] A. S. Lee, (2007) GRP78 induction in cancer: therapeutic and prognostic implications, *Cancer Research*, vol. 67, no. 8, pp. 3496–3499.
- [88] E. Lee, P. Nichols, D. Spicer, S. Groshen, M. C. Yu, and A. S. Lee, (2006) GRP78 as a novel predictor of responsiveness to chemotherapy in breast cancer, *Cancer Research*, vol. 66, no. 16, pp. 7849–7853.
- [89] J. Wang, Y. Yin, H. Hua et al., (2009) Blockade of GRP78 sensitizes breast cancer cells to microtubules-interfering agents that induce the unfolded protein response, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, vol. 13, no. 9 B, pp. 3888–3897.
- [90] M. Boyce and J. Yuan, (2006) Cellular response to endoplasmic reticulum stress: a matter of life or death, *Cell Death and Differentiation*, vol. 13, no. 3, pp. 363–373.
- [91] T. Suzuki, J. Lu, M. Zahed, K. Kita, and N. Suzuki, (2007) Reduction of GRP78 expression with siRNA activates unfolded protein response leading to apoptosis in HeLa cells, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 468, no. 1, pp. 1–14.
- [92] D. T. Rutkowski, S. M. Arnold, C. N. Miller et al., (2006) Adaptation to ER stress is mediated by differential stabilities of pro-survival and pro-apoptotic mRNAs and proteins, *PLoS Biology*, vol. 4, no. 11, article e374.