

Casos Clínicos

Sobreexpresión de la Hsp25, 27 y 70 en tejido intestinal y muscular de rata infectada con *Trichinella spiralis***Basurto Frausto MG¹, Luna Sánchez B², Moreno García A³, Reveles Hernández G⁴, Barbosa Cisneros OY⁵, Sánchez-Rodríguez SH⁶***¹Departamento de Biología Celular. Unidad Académica de Biología Experimental. Universidad Autónoma de Zacatecas.²Departamento de Biología Celular. Unidad Académica de Biología Experimental. Universidad Autónoma de Zacatecas. ³Departamento de Biología Celular y Microbiología. Unidad Académica de Biología Experimental. Universidad Autónoma de Zacatecas. ⁴Departamento de Biología Celular y Microbiología. Unidad Académica de Biología Experimental. Universidad Autónoma de Zacatecas. ⁵Departamento de Biología Celular. Unidad Académica de Biología Experimental. Universidad Autónoma de Zacatecas. ⁶Departamento de Biología Celular. Unidad Académica de Biología Experimental. Universidad Autónoma de Zacatecas.

*Correspondencia: Dr. Sergio Hugo Sánchez-Rodríguez. Fernando Villalpando No. 80, Col. Ramón López Velarde. Guadalupe, Zacatecas, México. C.P. 98600. Tel/Fax (492) 921-13-26. E-MAIL: smdck@hotmail.com

Archivos de Medicina 2008, 4(3):1 doi: 10.3823/002Artículo disponible en: <http://www.archivosdemedicina.com>© 2008 Basurto-Frausto et al; Esta obra está bajo licencia de [Creative Commons](http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

La Triquinelosis es una enfermedad parasitaria causada por el nematodo *Trichinella spiralis*, que infecta el músculo de prácticamente todos los mamíferos generando estrés celular, mismo que puede ser medido a través de la expresión de las proteínas de choque calórico (Hsp) que se sobreexpresan por una gran variedad de agentes estresantes como la infección por *T. spiralis*. En el presente estudio, se determinó el grado de expresión de las Hsp25, 27, 60, 70 y 90 durante la fase intestinal y muscular del ciclo biológico de *T. spiralis* en ratas Long Evans. De las ratas infectadas con *T. spiralis*, se obtuvo suero, intestino delgado, lengua, diafragma, masetero y pierna. Se caracterizó el ciclo biológico de *T. spiralis* por la técnica de compresión y digestión artificial, los determinantes antigénicos y la expresión de las Hsp por PAGE-SDS y Western blot. Resultados: *T. spiralis* se implanta en intestino delgado a partir del sexto día, correlacionado con la detección de los determinantes antigénicos al mismo tiempo, y en músculo se establece entre los días 15 y 16, donde se observa en el mismo periodo, un aumento del reconocimiento antigénico. El tejido intestinal sano en sus tres porciones expresa a las Hsp25, 27 y 70 y en el infectado se incrementa la expresión de la Hsp70. El tejido sano de pierna, masetero, lengua y diafragma, expresa las Hsp25, 60, 70 y 90, y en el infectado se incrementa la expresión de las Hsp25 y 70.

Overexpression of Hsp25, 27 and 70 in rat intestinal and muscular tissue infected with *Trichinella spiralis*

The Trichinellosis is a parasitic disease caused by *Trichinella spiralis*, which infect the muscle of all mammalian causing cellular stress, it is measured through expression of the Heat shock proteins (Hsp), which are overexpressed by many stress agents such as *T. spiralis* infection. In this study we determined the expression of the Hsp25, 27, 60, 70 and 90 during the intestinal and muscular stage of the biological cycle of *T. spiralis* in Long Evans rats. From the infected rats with *T. spiralis*, we obtain serum, thin intestine, tongue, diaphragm, masseter and leg. We characterized the biological cycle of *T. spiralis* by compression and artificial digestion technique, the antigenic determinants and the expression of Hsp by PAGE-SDS and Western blot. Results: We found that *T. spiralis* is implanted in the thin intestine at the sixth day, which is correlated with the detection of antigenic determinants at the same time, and in the muscle tissue is present between the 15 and 16 days, were observed in the same period, an increased of antigen recognition. The healthy intestinal tissue, in his three portions, express the Hsp25, 27 and 70 and in the infected tissue is increased the expression of Hsp70. The healthy tissue of tongue, diaphragm, masseter and leg, express Hsp25, 60, 70 and 90, and the infect tissue increases the expression of Hsp25 and 70.

Introducción

Las Zoonosis son enfermedades transmisibles entre los animales y el hombre [1,2], en particular, la triquinosis es una enfermedad zoonótica descrita por Owen en 1835, [3] y es causada por el nematodo *T. spiralis*. Esta enfermedad se ha reportado en casi todo el mundo, su prevalencia es alta en Europa y Asia, y se asocia con la ingesta de carne infectada, sobre todo de cerdo [4,5,6,7]. El ciclo biológico de *T. spiralis* incluye tres fases: a nivel intestinal, sistémico y muscular, correspondiendo a los estadios de adulto, larva recién nacida (LRN) y larva infectante (LI) [8,9].

El medio ambiente es un factor estresante para todos los organismos, y en particular las infecciones a que son blancos. En el presente proyecto se estudió uno de los mecanismos fisiológicos que utiliza un hospedador para eliminar y/o contrarrestar el estrés impuesto por la infección del nematodo *T. spiralis*. Este estudio enfoca a un grupo de proteínas conocidas como proteínas de choque calórico (Hsp), las cuales se expresan de manera constitutiva y ubicua en las células eucariotas y procariotas y su síntesis se incrementa con diversas formas de estrés [10,11,12,13,14,15]. En condiciones adversas, la función de éstas proteínas es proteger a la célula del daño producido por el estrés, mediante la unión a proteínas parcialmente desnaturadas, disociando agregados de proteínas y regulando el doblez correcto y la traslocación intracelular de proteínas sintetizadas de novo [16]. Así mismo, las Hsp se unen al citoesqueleto y ayudan a su función y estabilización en condiciones normales y de estrés [17].

Una gran variedad de factores son capaces de inducir la síntesis de las proteínas de estrés, entre los que están: hipoglucemia, anoxia, calor, frío, etanol, peróxido de hidrógeno, iones de metales pesados, arsenicales, infecciones con ciertos virus [18,19,20,21,22], enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico [23], privación de agua y alimento [24], radiación ultravioleta, radiación electromagnética de baja frecuencia, campos intensos de radiación gamma [25,26] y rayos gamma de baja intensidad [27,28].

Las familias de las Hsp están altamente conservadas y se han clasificado en seis familias: a).- Las Hsp de 100-110 kDa, b).- Las Hsp de 83-90 kDa. c).- Las Hsp de 66-78 kDa, d).- Las Hsp de 60 kDa, e).- Las Hsp de 40 kDa, f).- Las Hsp pequeñas de 13-25 kDa. Algunas de estas Hsp son necesarias todo el tiempo, por lo que se expresan de manera continua, y sirven básicamente en funciones vitales como moléculas chaperonas [14,15,29,30].

Se ha encontrado que durante la infección por *T. spiralis* en ratas Wistar a nivel hepático, se expresan de manera significativa las Hsp25 y 70, con una expresión normal de la Hsp60 y una disminución de la Hsp90, así mismo, en el tejido muscular estriado se encontró un incremento

en la expresión de las Hsp25 y 60, y no se encontraron cambios en la expresión de las Hsp70 y 90 [31]. En otros estudios realizados en ratas Wistar infectadas con *T. spiralis*, se encontró un incremento en la expresión de Hsp25 y 60 en bazo, y de Hsp70 en cerebro. En cuanto a la expresión de Hsp90 en tejido de bazo fue reducida significativamente durante la infección [32].

En un estudio realizado en ratas con infecciones primaria y secundaria de *T. spiralis*, se detectó un incremento en la expresión de Hsp en intestinos en ambos casos. Mientras que los nódulos linfáticos mesentéricos sólo presentaron incremento en los niveles de Hsp en ratas reinfectadas, y en pulmones a los días 7 ó 14, únicamente [33].

Por lo anterior, en el presente estudio se observó, cuales son las proteínas de choque calórico (Hsp) que expresan las ratas Long Evans en la fase intestinal y muscular por la presencia del nematodo *T. spiralis*.

El Objetivo fue: Determinar el grado de expresión de Hsp25, 27, 60, 70 y 90 en tejido intestinal (delgado) y muscular (pierna, masetero, lengua, diafragma) de ratas Long Evans infectadas con *T. spiralis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales e infección.

Se utilizaron ratas Long Evans hembras con una edad promedio de dos meses y medio, con un peso aproximado de 250 gramos. Cada animal fue infectado con 500 LI de *T. spiralis* por vía oral (trozo de carne infectada; Xenodiagnóstico). Los animales se mantuvieron en condiciones normales de bioferio.

Determinación del ciclo biológico de *T. spiralis* en tejido de rata.

Del lote de ratas infectadas con *T. spiralis*, se sacrificó un animal cada día, desde el primer día hasta el 35 post-infección. Se obtuvo suero, tejido intestinal (duodeno, yeyuno e íleon) y muscular (pierna, masetero, lengua y diafragma). El suero se obtuvo para llevar a cabo la determinación de la respuesta inmune de la rata durante el ciclo biológico de *T. spiralis*. El tejido obtenido se dividió en 3 partes: una parte se utilizó para Western blot (5 mg), otro para compresión en placa (20 mg de tejido entre 2 portaobjetos) y otro para digestión artificial (60 g).

Compresión en placa (Triquinoscopia).

El trozo de carne infectada (20 mg de tejido) se colocó entre dos portaobjetos fuertemente unidos para después observar al microscopio. Si es positivo, se ven los quistes con larvas en su interior o éstos pueden estar calcificados si corresponden a la fase clínica de un estado mayor de 24 meses [8,9,34].

Obtención de LI por la Técnica de Digestión Artificial.

Las LI viables se obtuvieron del músculo de ratas Long Evans infectadas con *T. spiralis*, las cuales al sacrificarlas, se obtuvo el tejido muscular (pierna, masetero, lengua, diafragma) que fue molido. Se pesaron 60 gramos de carne y se colocaron en un costal de tela de tul, el cual se introdujo en un embudo de separación para ser sometida a digestión con jugo gástrico

artificial, preparado con 1 litro de agua destilada conteniendo pepsina a una concentración de 10,000 U, 3% de HCl 0.2 N (pepsina 3.5 grs. más 7 ml de HCl), manteniéndolo en incubación por 24 horas a 37° C. Después se recolectó el paquete larvario, mismo que fue resuspendido en una solución tamponada de fosfatos (PBS; pH de 7.2) (Gibco BRL, Grand Island NY, USA, 21300-058) [35]. Después, se hacen diluciones del paquete larvario y se lleva a cabo un recuento de los nematodos en una cámara de Neubauer. Con esta técnica, al igual que con la de compresión en placa, pudimos detectar la presencia de los nematodos en el tejido de la rata infectada y con ello corroborar el paulatino establecimiento de los nematodos de *T. spiralis* durante los 35 días post-infección, determinando así, el ciclo biológico de *T. spiralis*.

Obtención del antígeno soluble total (AST).

A partir de LI obtenidas por digestión artificial de músculo estriado de rata infectada con *T. spiralis*, el paquete larvario se lavó 3 veces con solución tamponada de fosfatos (PBS; pH de 7.2) (Gibco BRL, Grand Island NY, USA, 21300-058), se le añadió 1ml de solución de lisis que contiene: Triton X-100 al 1%, NaCl 140 mM, EDTA 1 mM, Tris-HCl 10 mM pH 7.6 e inhibidor de proteasas 1 mM, PMSF (Sigma Chemical Co, St Louis MO, USA, P-7626). En frío, las larvas con el buffer de lisis se homogenizaron. El lisado se centrifugó por 10 minutos a 1600 g y el sobrenadante fue recuperado. Este mismo procedimiento fue utilizado para obtener extracto total soluble del tejido de duodeno, yeyuno, ileon, pierna, masetero, lengua y diafragma [36]. A los extractos solubles obtenidos se les determinó la concentración de proteínas mediante la técnica descrita por Bradford (1976) [37]. De cada condición experimental, 30 µg de proteína se caracterizaron por electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE-SDS al 12.5%) de acuerdo a la técnica descrita por Laemmli (1970) [38].

Western Blot y análisis.

Las proteínas en los geles de poliacrilamida-SDS fueron transferidas a papel de nitrocelulosa (Amersham Laboratories, Buckinghamshire, England, RPN303C), como describió Towbin (1979) [39]. Para identificar a las proteínas Hsp, el blot fue tratado con anticuerpos monoclonales específicos contra las Hsp25, 27, 60, 70 y 90 (Sigma Chemical Co, St Louis MO, USA, I-1395, T-6674, H-4149, H-5147) con una dilución 1:1000. Un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado a peroxidasa (Sigma Chemical Co, St Louis MO, USA, A-9044) dilución 1:1500, fue usado como segundo anticuerpo, seguido por un sistema de detección quimioluminiscente (ECL, RPN2106, Amersham, Little Chalfont, Buckinghamshire, England), que fue detectado en una película radiográfica BioMax (Eastman Kodak Co, Rochester, NY, USA, 870-1302) en un tiempo de 1 minuto [40].

Determinación de la cantidad de Hsp:

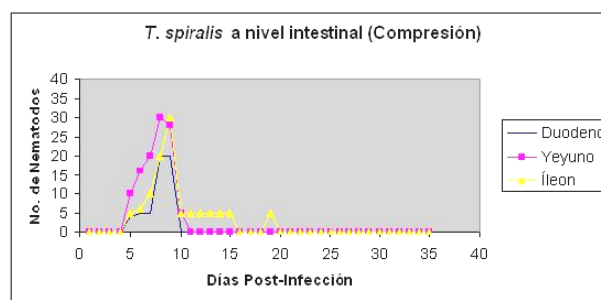
Las autorradiografías obtenidas por el método de ECL se analizaron por densitometría (Eagle Eye, Estratagene Mitsubishi), con el fin de cuantificar la cantidad de proteína tanto de la condición control (tejidos sin infectar), como de los problemas (tejidos infectados).

Análisis estadístico:

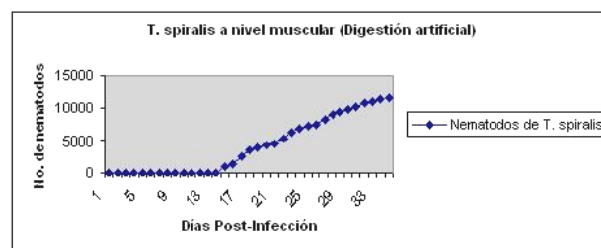
A cada banda de proteína Hsp25, 27, 60, 70 y 90 obtenida bajo las condiciones control (tejido sin infectar) e infectado y analizados por densitometría, los resultados obtenidos de esta, son expresados como media ± s.e.m., donde n es el número de observaciones.

RESULTADOS

Ciclo Biológico de *T. spiralis*. Es conocido que el ciclo biológico de *T. spiralis* incluye tres fases, intestinal, sistémica y muscular. Para corroborar la infección de las ratas con *T. spiralis* tanto en la fase intestinal como la muscular, analizamos el establecimiento de las larvas por medio de compresión en placa y digestión artificial. Se encontró, un establecimiento de las larvas en duodeno, yeyuno e ileon a partir del quinto día (Gráfica 1), y a partir del décimo sexto día, se localizan las larvas en pierna, masetero, lengua y diafragma (Gráfica 2).



Gráfica 1. Conteo por el método de compresión del número de nematodos en fase intestinal de ratas Long Evans infectadas con *T. spiralis*. Esta técnica nos permitió determinar el establecimiento de *T. spiralis* a nivel intestinal en las ratas infectadas.



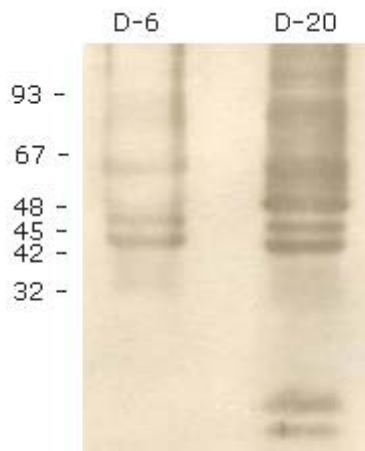


Figura 1. Respuesta inmune a la infección con *T. spiralis* en ratas Long Evans. Se encontró una respuesta a partir del sexto día (67 Kd, correspondiente a cutícula y 48, 45, 42 y 32 Kd, correspondiente a cavidad celómica), con un incremento en el reconocimiento antigénico en el vigésimo día. D=días. Técnica de PAGE-SDS, utilizando AST de *T. spiralis*, y como anticuerpos, el suero de rata infectada por 6 y 20 días pos-infección.

Expresión de Hsp en tejido de rata sana e infectada con *T. spiralis*

La expresión de las proteínas Hsp en tejido intestinal se analizó por Western blot, encontrando que el duodeno de rata sana, expresa de manera constitutiva las Hsp25, 27 y 70, y el yeyuno e íleon, expresan las Hsp25 y 70. En el tejido intestinal infectado con *T. spiralis* analizado en los días 5 y 10 pos-infección, se incrementa la expresión de las Hsp, siendo más evidente para la Hsp70 en las tres porciones de intestino delgado (Figura 2, Gráfica 3). No se encontraron cambios en la expresión de las Hsp60 y 90 en el tejido sano ni en el infectado (datos no presentados).

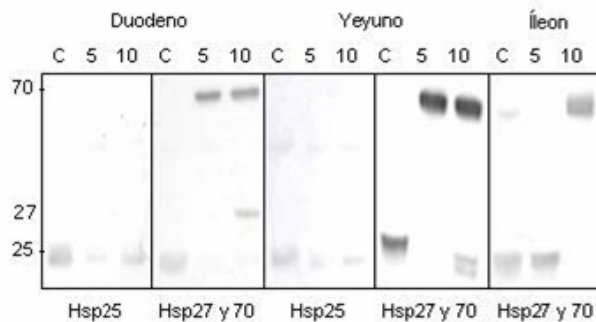
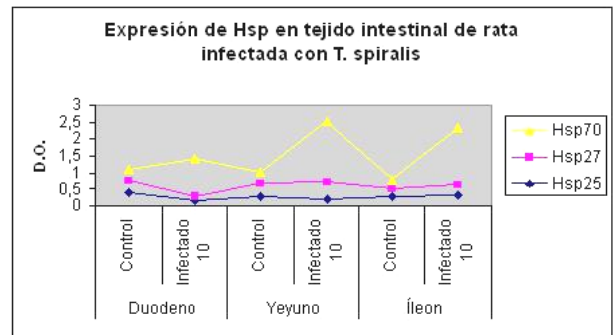


Figura 2. Expresión de las Hsp25, 27 y 70 en tejido intestinal de rata sana e infectada con *T. spiralis*, analizados por Western blot. Inmunodetección de las Hsp25, 27 y 70 en tejido intestinal de rata a los 5 y 10 días post-infección. C= Control.



Gráfica 3. Análisis cuantitativo por densitometría de las Hsp25, 27 y 70 expresadas en el tejido intestinal de rata infectada con *T. spiralis*. A las bandas obtenidas por Western blot-ECL, se les realizó densitometría y su densidad óptica fue graficada.

Al analizar la expresión de las proteínas Hsp en tejido muscular, se encontró que el tejido de rata sana de pierna, masetero, lengua y diafragma, expresan de manera constitutiva las Hsp25, 60, 70 y 90, y en el infectado con *T. spiralis* (25 días post-infección), se incrementa la expresión de las Hsp25 y 70, siendo mayor en lengua para la Hsp25 y en diafragma para la Hsp70 (Figura 3, Gráfica 4). En el presente estudio, el grado de expresión de las proteínas Hsp60 y 90 no cambió por la infección con *T. spiralis* (datos no presentados). Así mismo, no encontramos la expresión de la Hsp27 en el tejido muscular.

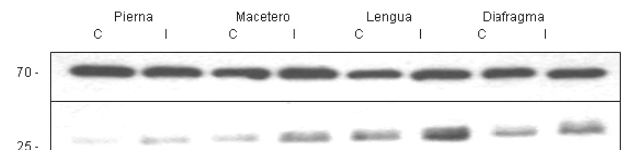
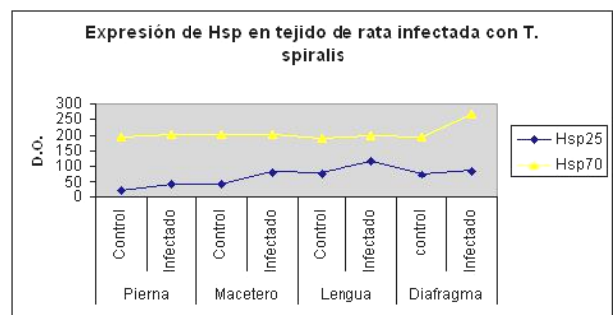


Figura 3. Expresión de Hsp25 y 70 en tejido muscular de ratas Long Evans infectadas con 500 LI de *T. spiralis*. El estudio fue en el día 25 post-infección. C= Control; I= Infectado.



Gráfica 4. Análisis cuantitativo por densitometría de las Hsp25 y 70 expresadas en el tejido muscular de ratas Long Evans infectadas con *T. spiralis*. A las bandas obtenidas por Western blot-ECL, se les realizó densitometría y su densidad óptica fue graficada.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se analizaron las proteínas de choque calórico (Hsp) que expresa el tejido de las ratas Long Evans cuando son infectadas con *T. spiralis*.

El Objetivo fue determinar el grado de expresión de Hsp25, 27, 60, 70 y 90 en tejido intestinal (delgado) y muscular (pierna, masetero, lengua, diafragma) de ratas Long Evans infectadas con *T. spiralis*.

Lo primero que se analizó, fue la infección de las ratas con *T. spiralis* para lo cual, se analizó el ciclo biológico utilizando el conteo de los nematodos a nivel intestinal y muscular por medio de las técnicas de compresión en placa y digestión artificial, así como, la respuesta inmune de las ratas contra el parásito. Se encontró que la infección por *T. spiralis*, desencadena una respuesta del hospedador a partir del sexto día, correlacionado con el establecimiento de las larvas en la pared del intestino delgado. Las larvas de *T. spiralis* se establecen en músculo entre los días 15 y 16, en donde también se observa en el mismo periodo, un aumento del reconocimiento antigénico, datos que coinciden con lo reportado por Despommier, 2004 [9] y Sánchez-Rodríguez et al., 2006 [40].

Una vez que se corroboró que los animales estaban infectados y que existía una respuesta inmune del hospedador contra *T. spiralis*, obtuvimos el tejido intestinal entre los días 5 y 10 que se conoce que se encuentra el nematodo alojado en la pared intestinal, donde se reproduce, y analizamos el grado de estrés que produce la presencia de este nematodo en el tejido epitelial intestinal medido a través de la expresión de las Hsp, encontrando la expresión basal de las Hsp25, 27 y 70 en las tres porciones de intestino delgado sano, con un incremento significativo de la Hsp70 en el tejido infectado. Es importante resaltar la sobreexpresión de la Hsp70, ya que se conoce que participa como un mecanismo de respuesta celular ante agentes estresantes [41,42]. Para el caso particular, se conoce que este nematodo a nivel intestinal, secreta una gran cantidad de agentes estresantes como son productos bioactivos que están relacionados con la falla de las barreras mecánica y humoral del hospedador, ayudando a que el parásito se aloje en el hospedador [43], por lo que el incremento de la Hsp70 se puede deber a la presencia de estos productos bioactivos secretados por *T. spiralis*.

Después, analizamos la expresión de las Hsp en el tejido muscular en el día 25 post-infección, donde tuvimos la certeza de que estaba invadido de nematodos, los cuales empezaron a establecerse entre los días 15 y 16 post-infección. La expresión basal de las Hsp en el tejido muscular sano (pierna, masetero, lengua y diafragma) fue principalmente de las Hsp25, 60, 70 y 90 y en el infectado se incrementa ligeramente la expresión de las Hsp25 y 70, siendo mayor en lengua y diafragma. En el

presente estudio, es importante resaltar que las proteínas Hsp60 y 90 no mostraron cambios en su expresión con respecto al control debido a la infección por *T. spiralis* en el tejido muscular (datos no presentados).

En el presente estudio la sobreexpresión de las Hsp se da por la infección de la *T. spiralis*, y para el caso particular, esta parasitosis produce fiebre en el hospedador, por lo que podemos entender la sobreexpresión de la Hsp70 ya que esta proteína se expresa principalmente por calor y otras formas de estrés [28]. Así mismo, la sobreexpresión de las Hsp se puede deber a la gran cantidad de productos bioactivos como enzimas que produce y secreta el nematodo *T. spiralis* en su entorno durante su ciclo biológico, sobre todo para cruzar del intestino a la linfa y durante su implante en músculo, generando estrés celular [43,44,45,46].

CONCLUSIONES

La infección por *T. spiralis*, desencadena una respuesta del hospedador a partir del sexto día, mismo que se correlaciona con el establecimiento de las larvas en la pared del intestino delgado. Las larvas de *T. spiralis* se establecen en músculo entre los días 15 y 16, en donde se observa en el mismo periodo, un reconocimiento mayor de los determinantes antigénicos (67, 48, 45, 42 y 32 kDa).

El tejido intestinal sano, duodeno, yeyuno e íleon, expresa a las Hsp25, 27 y 70, y en el infectado se incrementa su expresión, siendo más evidente para la Hsp70.

El tejido muscular sano, pierna, masetero, lengua y diafragma, expresa, a las Hsp25, 60, 70 y 90, y en el infectado se incrementa la expresión de la Hsp25 y la Hsp70.

AGRADECIMIENTOS

Apoyo del CONACYT. Dr. Sergio Hugo Sánchez Rodríguez. Contrato: 499100-5-I31456-N.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schwalbe CW. Medicina veterinaria y salud pública. México, DF. Editorial Novaro. 1969.
2. Martínez-Conde J. Guía del inspector veterinario titular. Epizootiología y zoonosis. Barcelona: Biblioteca Veterinaria Aedos. 1975.
3. Owen R. Description of a microscopic entozoan infesting the muscle of the human body. Trans. Zool. Soc. 1835;1:315-324.
4. Krivokapich SJ, Molina V, Bergagna HF, Guarnera EA. Epidemiological survey of Trichinella infection in domestic synanthropic and sylvatic animals from Argentina. J. Helminthol. 2006;80 (3):267.
5. Luna SB, Sánchez-Rodríguez SH. Triquinelosis Humana. Archivos de medicina. 2006;2(4). Sánchez-Rodríguez SH, Luna SB. Triquinelosis: modelo de estudio y técnicas de diagnóstico clínico. Archivos de Medicina. 2006;2(6).

6. Reiterova K, Kincekova J, Snabel V, Marucci G, Pozio E, Dubinsky P. *Trichinella spiralis*-outbreak in the Slovak Republic. *Infection*. 2007;35(2):89-93.
7. Pozio E. World distribution of *Trichinella* ssp. infections in animals and humans. *Vet Parasitol*. 2007;149:3-21.
8. Despommier D, Gwadz WR, Hotez JP. Parasitic disease. Springer Verlag. Third edition. 1994. pp.32 – 40.
9. Despommier D. *Trichinella spiralis*. Apple Trees Productions., New York, 2004.
10. Lindquist S. The heat shock response. *Annual Review of Biochemistry*. 1986;55:1151-1191.
11. Lindquist S, Craig EA. The heat shock proteins. *Annu. Rev Genet*. 1988;22:631-637.
12. Morimoto RI, Milaski KL. In *Estress Proteins in Biology and Medicine*. pp. 1-36. Morimoto, RI, Tissieres A, Georgopoulos C., eds. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York. 1990. pp. 332-359.
13. Welch WJ. *Stress Proteins in Biology and Medicine*, Morimoto RI., et al., (eds). Cold Spring Harbor Lab. Cold Spring Harbor, N.Y. 1990. pp. 223-278.
14. Hendrick JP, Harti FU. Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annual Review of Biochemistry*. 1993;62:349-384.
15. Harti FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*. 1996;381:571-580.
16. Goodman R, Blank M. Magnetic field stress induces expression of Hsp 70. *Cell Stress & Chaperones*. 1998;3(2):79-88.
17. Liang P, MacRae TH. Molecular chaperones and the cytoskeleton. *Journal of Cell Science*. 1997;110:1431-1440.
18. Guerreiro V. Jr, Raynes DA. Synthesis of heat stress proteins in lymphocytes from livestock. *J. Anim. Sci*. 1990;68:2779.
19. Ciocca DR, Oesterreich S, Chamness GC, McGuire WL, Fuqua SAW. Biological and clinical implications of heat shock protein 27000 (Hsp27): a review. *Journal of National Cancer Institute*. 1993;85:1558-1569.
20. Lin H, Li H, Blank M, Head M, Goodman R. Magnetic field activation of protein-DNA Binding. *Journal of Cellular Biochemistry*. 1998;70:279-303.
21. Bañuelos-Valenzuela R, Sánchez-Rodríguez SH. La proteína de estrés calórico hsp70 funciona como un indicador de adaptación de los bovinos a las zonas áridas. *REDVET*. 2005;VI(3).
22. Sánchez-Rodríguez SH, Ramírez-Alvarado ED., Barajas-Vásquez GE., Cardona-Félix CS. El efecto estresante del tabaco, alcohol, sobrepeso y exceso de ejercicio físico, es manifestado a través de la expresión de la hsp70. *Archivos de Medicina*. 2006;2(4).
23. Villalobos-Hurtado R, Sánchez-Rodríguez SH, Avalos-Díaz E, Herrera Esparza R. Possible role of hsp70 in autoantigen shuttling to the dermo-epidermal junction in systemic lupus erythematosus. *Reumatismo*. 2003;55:155-158
24. Barajas-Vásquez GE, Baldwin-Sevilla C, Barbosa-Cisneros OY, Sánchez-Rodríguez SH. Las proteínas de estrés calórico hsp60, 70 y 90 participan en la adaptación de los caprinos a las zonas áridas. *REDVET*. 2005;VI(3).
25. Saran M, Bors W. Radiation chemistry of physiological saline reinvestigated: evidence that chloride-derived intermediates play a key role in cytotoxicity. *Radiation Research*. 1997;147:70-77.
26. Feder EM, Hoffmann EG. Heat-Shock proteins, molecular Chaperones, and the stress response: Evolutionary and Ecological physiology. *Annu Rev. Physiol*. 1999;61:243.282.
27. Vega-Carrillo HR, Bañuelos-Valenzuela R, Manzanares-Acuña E, Sánchez-Rodríguez SH. Response of human lymphocytes to low gamma ray doses. *Alasbimn Journal*. 2001;3(12).
28. Sánchez-Rodríguez SH, Ramírez AED, Barbosa COY. El estrés impuesto por los rayos gamma, peróxido de hidrógeno y calor es amortiguado por cambios en la expresión y localización de la HSP70 en células HeLa. *Archivos de Medicina*.2007;3(3).
29. Hass YG. BiP-A Heat Shock Protein involved in immunoglobulin chain assembly. *Curr. Top. Microbiol. Immunol*. 1991;167:71.
30. Leppä S, Sistonen L. Heat shock response pathophysiological implications. *Annals of Medicine*. 1997;29:73-78.
31. Martínez J, Pérez SJ, Bernadina W, Rodríguez CF. Influence of parasitization by *Trichinella spiralis* on the levels of heat shock proteins in rat liver and muscle. *Parasitology*. 1999a;118:201-209.
32. Martínez J, Pérez-Serrano J, Bernadina WE, Rodríguez-Caabeiro F. Shock response induced rat brain and spleen during primary infection with *Trichinella spiralis* larvae. *Parasitology*. 1999b;118:605-613.
33. Pérez-Serrano J, Martínez J, Regal P, Bernardina WE, Rodríguez-Caabeiro F. Prior immunity to *Trichinella spiralis* prevents (re)occurrence of an explicit stress response in intestines but not in mesenteric lymph nodes, Herat and lungs from reinfected rats. *Parasitology*. 2000;121(5):565-573.
34. De la Rosa JL, Gómez A. “*Trichinella* y triquinosis”. Ed. Mc. Graw Hill, México. 2004.
35. Del Río A, Herrera RM, Herrera R. “Triquinosis experimental I: extracción de antígenos y procedimiento para detectar anticuerpos”, *Arch. Invest. Med*. 1986;17:359-367.
36. Harlow E, Lane D. *Antibodies a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, N.Y. 1988.
37. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical. Biochemistry*. 1976;72:248-254.
38. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)*. 1970;227:680.
39. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of protein from polyacrilamide gels nitrocellulose sheets: procedure and applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979;76:4350-54.
40. Sánchez-Rodríguez SH, Luna SB. Triquinosis: modelo de estudio y técnicas de diagnóstico clínico. *Archivos de Medicina*. 2006;2(6).
41. Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoulos C. *The biology of the heat shock proteins and molecular chaperones*. New York: Cold Spring Harvor Laboratory Press, 1994; pp-610.
42. Terlecky SR. Hsp70s and lysosomal proteolysis. *Experientia*. 1994;50:1021-1025.
43. Moczon T, Wranicz M. *Trichinella spiralis* proteinases in the larvae. *Parasitol. Res*. 1999;85:47-58.
44. Polzer M, Conradt V. Identification and partial characterization of the proteases from different developmental stages of *Schistocephalus solidus* (cestoda: Pseudophyllidea). *Int. J. Parasitol*. 1994;24:967-973.
45. Criado FA, Armas SC de, Jiménez PC, Casado EN, Jiménez GA, Rodríguez CF. Proteolytic enzymes from *Trichinella spiralis* larvae. *Vet. Parasitol*. 1992;45:133-140.
46. Armas SC, Jiménez PC, Jiménez GA, Bernadina WE, Rodríguez CF. Purification and preliminary characterization of a protease from the excretion-secretion products of *Trichinella spiralis* muscle-stage larvae. *Vet. Parasitol*. 1995;59:157-168.