



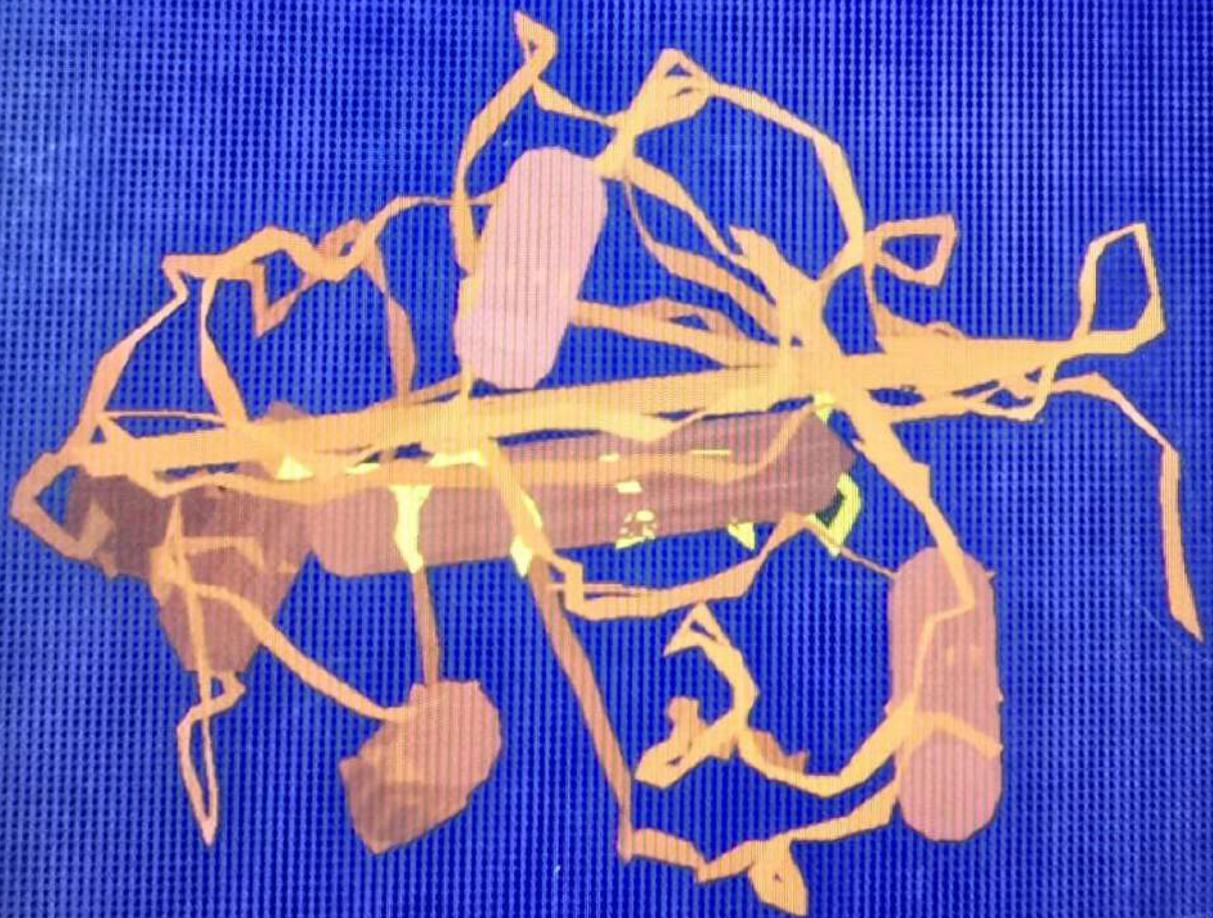
Buscar en Google Libros

Búsqueda avanzada

**NUEVAS
TENDENCIAS**

PARASITOLOGIA MOLECULAR

Coordinadores: Luis Rivas López, Manuel Carlos López López



Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Proteínas inducibles por choque térmico en parásitos

López, M.C.¹; Requena, J.M.^a.²; Vegara, R.¹; Martín, F.¹; Alonso, C.².

¹ Instituto de Parasitología y Biomedicina «López Neyra», CSIC. Granada

² Centro de Biología Molecular, «Severo Ochoa», CSIC. Madrid

Introducción

La respuesta fisiológica y genética al choque térmico fue descrita inicialmente por Ritossa en 1962 (Ritossa, 1962) al observar la aparición de una nueva serie de abultamientos («puff») sobre los cromosomas politénicos de la mosca de la fruta, *Drosophila busckii*. Estos abultamientos o puffs eran inducidos tanto por calor como dinitrofenol o salicilato sódico. Sin embargo, aun debió pasar una década antes de que los productos génicos –las proteínas de choque térmico (hsp's)– fueran puestas de manifiesto por Tissières y col., (1974). A partir de este momento la respuesta celular al choque térmico ha sido tomada como sistema modelo para investigar la estructura y regulación génica en *Drosophila*. Sin embargo, no fue hasta los años 1978-79 que varios investigadores descubrieron que también en otros organismos la respuesta al calor y otros tipos de «stress» podían inducir la síntesis de un grupo de proteínas similares a las observadas en *Drosophila* (ver Lindquist, 1986). En pocos años, se ha descrito que el aumento de temperatura puede inducir una respuesta fisiológica y genética en una extraordinaria variedad de organismos tanto eucariotas como procariotas. El hecho de que la respuesta genética indujera la síntesis de proteínas homólogas y que estas existieran tanto en organismos eucariotas como procariotas sugirió que éstas deberían desempeñar un papel funcional importante, lo que aumentó el interés por las mismas. También se puso de manifiesto que además del incremento de temperatura, otras condiciones de «stress» promovían la síntesis de las mismas proteínas de choque térmico. Aunque no fue así en los orígenes de los estudios de la respuesta al choque térmico, se ha descrito recientemente que algunas de las proteínas inducibles por el cambio drástico de temperatura (hsp's) se expresan constitutivamente a las temperaturas normales de desarrollo y crecimiento y que desarrollan un papel vital en el metabolismo celular (Lindquist y Craig, 1988).

Proteínas inducibles por choque térmico

Las proteínas de choque térmico se definen por su peso molecular aparente tras separación electroforética en geles desnaturalizantes de poliacrilamida. Esta aproximación ha llevado a agrupar a las hsp's en familias de diferente tamaño. Así, las hsp's pueden ser divididas en cuatro familias principales definidas por miembros de masa molecular en torno a 90 kDa, 70 kDa, 60 kDa y 10-30 kDa.

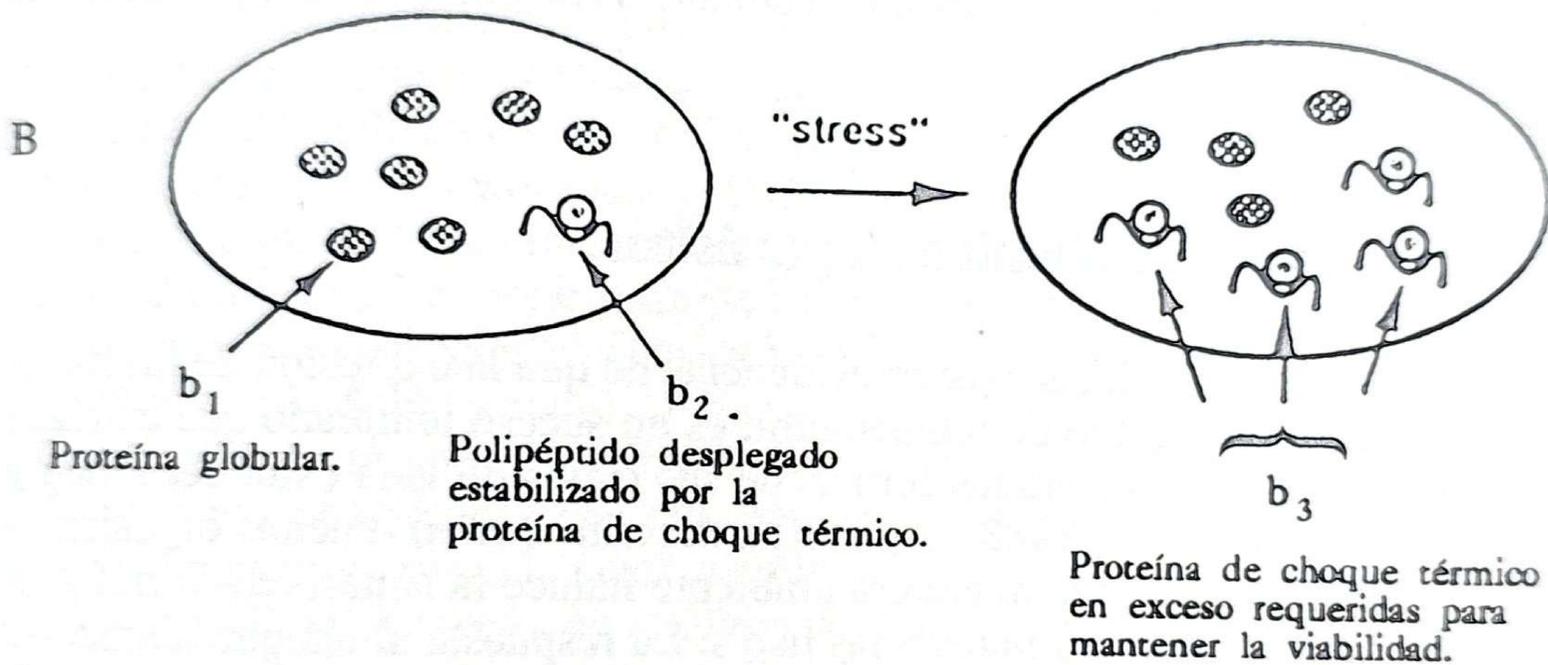
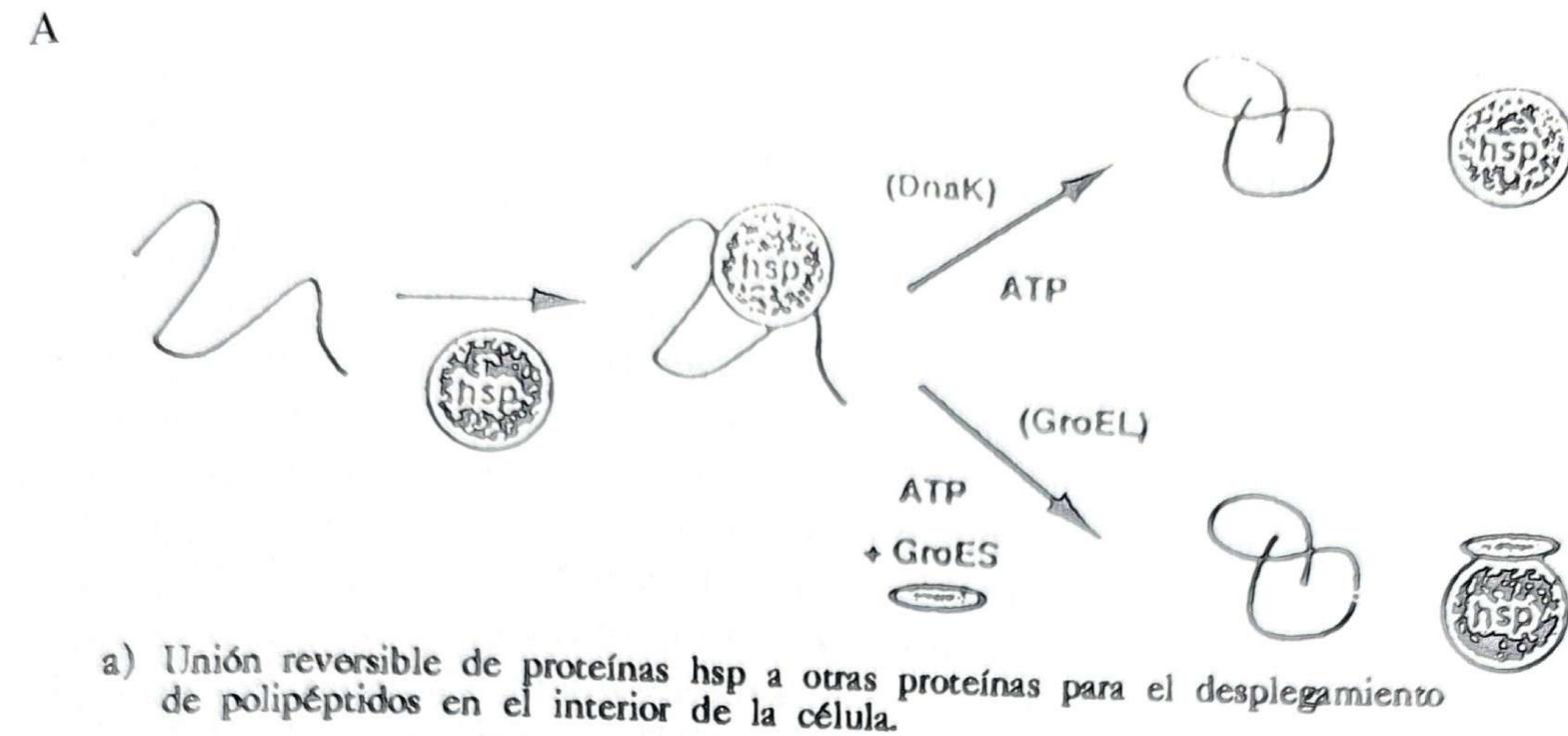


Figura 1. Mecanismo de actuación de las proteínas de choque térmico como chaperonas. A.- Modelo propuesto para las proteínas de choque térmico DnaK y Gro E1 (Rothman 1989; Ellis, 1990). B.- Modelo en situación de choque térmico donde se muestra el requerimiento de nuevas moléculas de proteínas de choque térmico, con el fin de mantener los procesos de desdoblamiento y desnaturalización de proteínas en la célula (Lathigra y col., 1991).

Hsp's de bajo peso molecular. La mayoría de los organismos producen una o más hsp's de bajo peso molecular, cuyo tamaño varía de 14 a 30 kD (Lindquist, 1986; Lindquist y Craig, 1988). En *Drosophila*, esta familia está constituida por cuatro miembros: hsp22, hsp23, hsp26 y hsp28. En levaduras, en cambio, sólo se ha descrito la proteína hsp26. Estas proteínas presentan homología de secuencia con las α -cristalininas, compartiendo también la característica de formar agregados con otras proteínas y RNA. Una característica típica de estas proteínas es su unión reversible al citoesqueleto nuclear durante el período de choque térmico (Loowis y Wheeler, 1982; Silver y col. 1983). Sin embargo, la función de estas proteínas es desconocida.

Proteínas de choque térmico en parásitos

Un sistema modelo interesante para analizar la respuesta al choque térmico lo constituyen los patógenos dimórficos que poseen un ciclo en el que pasan de temperaturas relativamente frías en una fase de su ciclo de vida a las temperaturas más cálidas de sus hospedadores mamíferos. Así, mientras que para muchos organismos, el choque térmico representa una situación inusual de «stress», para los parásitos, que son transmitidos de un vector invertebrado a un hospedador mamífero, representa una etapa más de su ciclo de vida. Este cambio de temperatura va acompañado de la fuerte inducción de las proteínas de choque térmico (hsp's) tanto en patógenos procariotas como eucariotas. Las hsp's de los parásitos parecen desempeñar papeles importantes en la adaptación al hospedador mamífero, tanto en la diferenciación del parásito como en su infectividad. Asimismo juegan un papel como prominentes proteínas antigénicas (Polla, 1991). En los apartados siguientes trataremos de dilucidar las implicaciones funcionales de las proteínas de choque térmico en parásitos.

Respuesta al choque térmico en parásitos

En los parásitos eucariotas existen evidencias de que la expresión de las hsp's, como respuesta a un cambio de temperatura, es un suceso temprano que conduce a la diferenciación de las distintas formas de sus ciclos de vida (Van der Ploeg y col., 1985; Newport y col., 1988). Así, se ha descrito que en muchos organismos parásitos un aumento en la temperatura ambiente induce la síntesis de varias proteínas, con características similares a las hsp's. La respuesta al choque térmico se ha puesto de manifiesto en promastigotes de *Leishmania* (Lawrence y col., 1985; Van der Ploeg y col., 1985), trofozoítos de *Giardia* (Lindley y col., 1988), larva L3 de *Brugia* (Selkirk y col., 1987), metacíclicos de *Trypanosoma* (Glass y col., 1986), fases virulentas de *Histoplasma capsulatum* (Lambowitz y col., 1983), trofozoítos de *Naegleria gruberi* (Walsh, 1980) y esquistosómula de *Schistosoma* (Yuckemberg y col., 1987; Hedstrom y col., 1988). En *Leishmania braziliensis* se ha correlacionado el aumento de la síntesis de hsp's con un aumento de infectividad al tiempo que se observa la transición de la forma promastigote a la amastigote (Smejkal y col., 1988). Cultivos «in vitro» de promastigotes de *L. mexicana* sintetizan dos series de proteínas que difieren en su cinética de inducción por un aumento de temperatura desde 25 a 37°C (Alcina y Fresno, 1988). Así, dos horas después del cambio de temperatura se inducen cuatro proteínas de choque térmico de 69, 70, 83 y 90 kDa cuya síntesis posteriormente decae, al tiempo que, tras 24 horas de incubación, otra serie de 10 proteínas específicas de la fase amastigote son inducidas, observándose paralelamente la transformación morfológica de promastigote a amastigote. Estos resultados sugieren que las hsp's pueden operar en un momento definido de la transformación del parásito. «in vivo», una respuesta similar a la ocasionada por el choque térmico puede ser desencadenada en respuesta a la falta de nutrientes que se produce en el intestino del insecto vector justo antes de la ingesta de sangre. Así, se ha observado que las formas promastigote de *L. tropica* son más infectivas cuando proceden de cultivos en fase estacionaria

o de mosquitos 7 a 10 días después de la picadura, que cuando se toman de cultivos que están en crecimiento logarítmico o de mosquitos 3 días después de la picadura (Sacks y Perkins, 1984). Este proceso está acompañado por cambios en los niveles de hsp83 y otras proteínas hs (Shapira y col., 1988). La disminución de nutrientes del medio de cultivo y el incremento de la densidad de los parásitos en fase de crecimiento estacionario podría inducir la respuesta de choque térmico que desencadenaría una transformación del parásito, preparándolo para la infección del huésped vertebrado. De este modo las hsp's podrían ser consideradas como factores generales de virulencia o pre-adaptación del parásito al permitirle sobrevivir a las altas temperaturas que encontrará en la célula hospedadora.

Un modelo similar de pre-adaptación mediante la expresión de las hsp's anterior a la infección del hospedador mamífero se ha observado en *T. cruzi* (Alcina y col., 1987). Sin embargo, este hecho no debe interpretarse como una respuesta general para la preadaptación del parásito, ya que esporozoítos de *Plasmodium falciparum* no expresan hsp70 aún cuando todas las formas sanguíneas del parásito lo hagan (Bianco y col., 1986). Por otro lado, resulta llamativa la correlación existente entre la respuesta al choque térmico y la respuesta al «stress» celular en la fase estacionaria de crecimiento. Por ejemplo, y como se indica anteriormente, la infectividad de *Leishmania* aumenta de manera similar tanto por el crecimiento del parásito en fase estacionaria como por aumento de la temperatura del cultivo (choque térmico). La incubación de cultivos de promastigotes de *Leishmania* a 35°C da como resultado el aumento de 2 a 4 veces del nivel de las proteínas hsp70 y hsp83 (Shapira y col., 1988) y una disminución de unas dos veces de la síntesis de las tubulinas. Esta inducción y represión parece estar relacionada con los cambios morfológicos que el tratamiento térmico produce y con el hecho de que la síntesis de tubulinas esté disminuida en las formas amastigotes (Fong y col., 1984). Paralelamente, en cultivos de promastigotes de *L. major* en fase estacionaria, se observa un aumento de los niveles de mRNA de la hsp70 en relación con los existentes en promastigotes en fase logarítmica de crecimiento (Searle y col., 1989). Además, cuando el aumento de temperatura se realiza sobre cultivos en fase estacionaria no se produce un aumento de estas proteínas de choque térmico. Es posible que este hecho manifieste su estado de pre-inducción por «stress» celular.

Genes inducibles por choque térmico en parásitos

En los últimos años muchos genes de choque térmico de parásitos han sido clonados y secuenciados (Maresca y Carratú, 1992). Sin embargo, todavía es muy limitado el conocimiento que se tiene de los mecanismos de regulación de éstos genes en parásitos. Dentro de la familia hsp90, Dragon y col. (1987) han aislado y caracterizado el gen de *T. cruzi*. Este gen presenta más de un 60% de identidad de secuencia de aminoácidos con la hsp83 de *Drosophila* y la hsp90 de levaduras. Para la codificación de estas proteínas, existen de 6-10 genes organizados en tándem que son expresados constitutivamente tanto en tripomastigotes como en epimastigotes. Dragon y col. (1987) fueron los primeros que sugirieron que la respuesta inmune frente a regiones conservadas de las hsp's pudiera desempeñar un

papel importante en el curso de las consecuencias autoinmunes observadas en la enfermedad de Chagas. En *Plasmodium falciparum*, Jendoubi y Bonnefoy aislaron en 1988 un cDNA con una fase de lectura abierta codificante de 150 aminoácidos con 50-56% de identidad de secuencia con miembros de la familia hsp90.

En un corto período de tiempo, en varios parásitos, se han caracterizado y aislado los genes de la familia de las hsp70. Varios autores han descrito el aislamiento, total o parcial, de los genes hsp70 de *P. falciparum* codificantes para cuatro miembros diferentes de la familia hsp70 (Bianco y col., 1986; Ardeshir y col., 1987; Kumar y col., 1988; Mattei y col., 1988; Peterson y col., 1988; Kun y Muller-Hill, 1989). Las proteínas codificadas muestran un 50-70% de identidad de secuencia entre sí y con otras hsp70 de otros organismos. En *T. brucei* (Glass y col., 1986) y en *T. cruzi* (Requena y col., 1988; 1989) existen múltiples copias del gen de la hsp70 agrupadas en un único lugar del genoma y organizadas en tándem cabeza-cola. Asimismo, se ha clonado el miembro mitocondrial de la familia hsp70 de *T. cruzi* (Engman y col., 1989).

En *L. major* se ha descrito la existencia de cuatro genes codificantes de las proteínas hsp70 agrupados en tándem, cuya expresión aumenta cuando los parásitos son incubados a 37°C. Estos genes están separados de un quinto miembro de la familia cuya expresión no está afectada por el cambio de temperatura (Lee y col., 1988). En nuestro laboratorio recientemente se ha caracterizado el miembro mitocondrial de la familia hsp70 en *L. mexicana* (Vergara y col.; manuscrito en preparación). Hasta el momento no se ha identificado la existencia de ningún gen de parásitos pertenecientes a la familia hsp60, aunque esta proteína ha sido descrita como un antígeno inmunodominante en muchas enfermedades infecciosas causadas por bacterias. En cuanto a las proteínas de bajo peso molecular, sólo en *S. mansoni* se ha descrito un gen con homología a la hsp22 de *Drosophila* (De Jong y col., 1988).

Expresión de los genes inducibles por choque térmico

En eucariotas, la activación de los genes hsp producida por temperatura está mediada por un elemento en «cis», conocido como elemento de choque térmico (HSE), localizado 80-150 nucleótidos por encima del sitio de inicio de la transcripción de los genes inducibles por calor (Lindquist, 1986). Este elemento presenta una elevada conservación de secuencia en varios organismos (Tabla I). El elemento HSE es específico en la unión a una proteína llamada factor de transcripción de choque térmico (HSF). HSFs han sido identificados en *Drosophila*, células HeLa, *Saccharomyces cerevisiae* y otros organismos (Sorger y Pelham, 1987; Wu y col., 1987). En parásitos, donde recientemente se ha progresado considerablemente en el conocimiento de los genes hsp's, se desconocen muchos de los aspectos y elementos implicados en su regulación. Por análisis comparativo de los genes de choque térmico en tripanosomas se ha comprobado que existen secuencias que presentan similitud con los HSE (tabla I), pero aún está por demostrar su implicación en la regulación génica de estos genes. Se postula, sin embargo, que los mecanismos de activación de los genes de choque térmico en parásitos no son los mismos que los de los organismos eucariotas. De hecho, se observa la presencia de niveles altos de la hsp70 en muchos de estos patógenos, quizás como

una consecuencia de su complejo ciclo. En *T. cruzi*, donde el estudio de la expresión de los genes hsp70 ha sido realizado a nivel tanto de RNA como proteínas (Requena y col., 1992), se ha encontrado que se producen altos niveles de expresión en formas cultivadas a temperaturas normales de crecimiento (28°C). Se observan inducciones de 4-6 veces en el nivel de transcritos de la hsp70 tras el aumento de temperatura (37°C). Una inducción similar se observa también cuando los cultivos del parásito alcanzan la fase estacionaria de crecimiento. Por otro lado, estos estudios evidenciaron la existencia de dos tipos de efectos del choque térmico en función de la temperatura empleada: choque térmico permisivo (37°C; probablemente correlacionado con el hecho de ser la temperatura de su hospedador mamífero) y choque térmico restrictivo (42°C). Aunque en ambos tratamientos se observa una inducción de los mRNAs de la hsp70, ésta es claramente mayor a 37°C. Además, durante el choque térmico permisivo, si bien se observa cierto cambio en la expresión general de proteínas, no se produce una represión drástica de la transcripción global como ocurre en eucariotas superiores (Lindquist, 1986). En cambio, a 42°C la síntesis de proteínas es nula (Alcina y col., 1987; Requena y col., 1992), probablemente como consecuencia de una inhibición generalizada de la transcripción, al tiempo que se produce probablemente una traducción selectiva de los mensajeros de las hsp's (de Carvalho y col., 1990; Requena y col., 1992). Otro aspecto destacable de estos estudios es la demostración de una elevada complejidad de isoformas de la familia hsp70 en *T. cruzi*, lo que puede estar reflejando la importancia que esta proteína debe tener en el ciclo de vida de este parásito. (Martín y col., en prensa)

TABLA I. Secuencias postuladas como elementos HSE en los genes de choque térmico de parásitos.

HSE eucariotas: CNNGAANNTTCNNG (Pelham, 1985; Barret, 1986).

HSE hsp70 *T. brucei*: ATGCAACTGCAGCC (Glass y col., 1986).

HSE hsp70 *T. cruzi*: CGGCACTTTTCGTG (Requena y col., 1989).

HSE hsp83 *T. brucei*: CTGAAACTGATTCA (Zwierynski y col., 1989).

HSE hsp83 *T. cruzi*: CCGCAACTGTGCGC (Dragon y col., 1987).

HSE ubiquitina *T. cruzi*: CTGCATTCATGCAG (Swindle y col., 1988).

HSE hsp70 *L. major*: CCTAAACACCCACT (Gwo-Shu y col., 1988).

Otra característica de la respuesta al choque térmico observada en la mayoría de los organismos eucariotas es la interrupción del procesamiento («splicing») de los precursores de mRNA (Yost y Lindquist, 1986). Este bloqueo está ligado al deterioro observado de las partículas de ribonucleoproteínas nucleares (RNPn) que constituyen el aparato (espliceosoma) encargado del procesamiento de los transcritos. Sin embargo, la actividad del espliceosoma permanece funcional si se alcanza

el estado de célula termotolerante (Yost y Lindquist, 1986). Esto implicaría un papel funcional de las hsp's en la maquinaria de procesamiento de transcritos.

En tripanosomas, en los que muchos genes son transcritos como unidades policitrónicas y la maduración de los mRNAs implica un proceso de maduración en *trans* («trans-splicing»), por el que un mini-exón se une al extremo 5' del exón codificante, la maquinaria responsable de la maduración es interrumpida por el choque térmico (Muhich y Boothroyd, 1988). Sin embargo, dado que los mRNAs de la hsp70 y la hsp83 no son sensibles al choque térmico, se ha propuesto que *T. brucei* ha adquirido un mecanismo por el que la maduración en *trans* de los genes de choque térmico está protegida (ver Maresca y Carratú, 1992). No obstante, se requieren más estudios sobre la maduración de los mRNAs en otros parásitos para poder dilucidar las diferencias, si es que existen, con el resto de organismos eucariotas. En este sentido, cuando se analiza la distribución de la proteína hsp70 en relación con el tratamiento térmico, se observa que la proteína sufre una migración núcleo-citoplasmática (Martín y col.; en prensa) que podría estar implicada en mantener el procesamiento de mRNAs observada en *T. cruzi* durante el choque térmico permisivo (Requena y col., 1992). Durante el crecimiento en fase logarítmica a 28°C, la hsp70 se localiza en el citoplasma, mientras que tras incubación a 37°C se promueve el transporte de la misma al núcleo alcanzándose niveles significativos tras 2 horas de tratamiento. La proteína nuclear procede tanto de la preexistente en el citoplasma como la de nueva síntesis inducida a 37°C. Es destacable la observación de que los cultivos de *T. cruzi* en fase estacionaria contienen hsp 70 en el núcleo de forma constitutiva. En *Drosophila* donde también se ha descrito el transporte de la hsp70 al núcleo durante el choque térmico se ha implicado a esta proteína en la protección de la cromatina y del RNA nuclear (Velázquez y col., 1980).

Inmunopatología de las proteínas de choque térmico

La primera evidencia de la inmunorreactividad de las hsp's se describe en los trabajos de Bianco y col. (1986). Estos autores señalaron que la secuencia de aminoácidos de un antígeno mayoritario de *P. falciparum* tenía un 70% de identidad de secuencia con la hsp70 de *Drosophila*. El interés por la antigenicidad de las hsp's creció posteriormente con el descubrimiento de que una proteína altamente inmunorreactiva de micobacterias tenía homología con la hsp60 (GroEL) de *E. coli* (Shinnick y col., 1988). En la actualidad es incuestionable que las hsp's juegan un papel muy importante en la respuesta inmune durante la infección por patógenos bacterianos y parásitos (tabla II). Se han encontrado tanto anticuerpos circulantes contra las principales proteínas de choque térmico de organismos tan diversos como *Mycobacterium leprae* (agente causante de la lepra), *M. tuberculosis* (tuberculosis), *Plasmodium falciparum* (malaria), *Schistosoma mansoni* (esquistosomiasis), *Brugia malayii* (filariasis), *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas) y *Leishmania major* (leishmaniasis) (ver Shinnick, 1991) como linfocitos T activados de forma específica por estas proteínas.

TABLA II. Proteínas de choque térmico descritas como antígenos.
(Kaufmann, 1990; Young y col, 1990; Young, 1990).

Familia de genes	Organismo	Enfermedad
hsp70	Protozoos	Malaria Tripanosomiasis Leishmaniasis
	Helmintos	Schistosomiasis Filariasis
	Bacterias	Lepra Tuberculosis Tracoma clamid.
hsp60	Bacterias	Lepra Tuberculosis Fiebre Q Tracoma clamid. Legionelosis Rickettsia Sifilis
hsp90	Protozoos	Malaria Tripanosomiasis
	Helmintos	Schistosomiasis
hsp de bajo peso molecular	Helmintos	Schistosomiasis
	Bacterias	Lepra
GroES	Bacterias	Tuberculosis Lepra

Proteínas de choque térmico como antígenos parasitarios

Dentro de la familia hsp90, se han descrito como antígenos la hsp85 de *T. cruzi* (Dragon y col., 1987), la hsp86 de *S. mansoni* (Johnson y col., 1989), que parece localizarse en membrana (Taylor y col., 1984), y la hsp90 de *P. falciparum* (Jendoubi y Bonnefoy, 1988). Pertenecientes a la familia hsp70 se han descrito proteínas antigénicas en prácticamente todos los patógenos analizados. En monos, la presencia de anticuerpos frente a las hsp70's de *P. falciparum* se correlaciona con protección inmune (Dubois y col., 1984). Una de las hsp70 de este parásito presenta en su extremo carboxi-terminal una serie de repeticiones constituidas por el tetrapéptido GMPG que fue postulado como un epítipo dominante (Ardeshir y col., 1987; Richman y Rich, 1988). Estas secuencias repetidas también han sido descritas en la hsp70 de *T. brucei* (Glass y col., 1986) y de *T. cruzi* (Requena y col., 1988) mientras que están ausentes en las proteínas homólogas en el resto de organismos analizados. Sin embargo, a diferencia de otros antígenos de *Plasmo-*

dium, estas regiones repetidas de la hsp70 no parecen ser inmunogénicas en humanos (Peterson y col., 1988).

Prácticamente todos los sueros de humanos infectados con *S. mansoni* muestran reactividad con un antígeno de 70-kD que muestra una homología del 80% con la hsp70 humana (Hedstrom y col., 1987; 1988). A pesar de esta alta conservación de secuencia, la respuesta inmune frente a este antígeno parece estar dirigida principalmente hacia las zonas menos conservadas de la molécula (Scallon y col., 1987; Hedstrom y col., 1988). También, la mayoría de los individuos infectados con *Brugia malayi* (agente causante de filariasis) producen anticuerpos frente a un antígeno de 70-kD (Selkirk y col., 1989). A pesar de que este antígeno también presenta una alta conservación de secuencia (85% de identidad) con la hsc70 de rata, la mayor parte de los anticuerpos producidos durante la infección parecen ir dirigidos frente a epítomos exclusivos del antígeno del parásito. En *T. cruzi*, alrededor del 10% de los clones seleccionados por sueros de Chagas corresponden a proteínas de choque térmico (Engman y col., 1989b). Sólo en el caso de *P. falciparum* la hsp70 ha sido descrita en la superficie celular, aunque este hecho sigue siendo motivo de discusión (Bianco y col., 1986; Ardeshir y col., 1987).

Hasta el momento no se ha descrito, en infecciones provocadas por parásitos, la presencia de anticuerpos dirigidos frente a otros antígenos pertenecientes a las familias hsp60 y de bajo peso molecular. No obstante, considerando las implicaciones inmunológicas que tiene la hsp60 de bacterias en procesos infectivos resulta fácil aventurar que miembros de esta familia serán también determinantes antigénicos en enfermedades parasitarias.

Inmunorreactividad de las proteínas de choque térmico

El hecho de que diferentes hsp's, no aparentemente localizadas en la superficie celular y siendo proteínas extremadamente conservadas a lo largo de la evolución, sean antígenos inmunodominantes, ha levantado un interesante interrogante sobre el funcionamiento del sistema inmunitario. Entre las razones que se han dado para explicar la causa de que las hsp's sean un blanco de la respuesta inmune en un amplio espectro de infecciones se encuentran las tres siguientes. Primera, la abundancia de estas proteínas bajo condiciones de «stress», a las que es sometido el organismo patógeno durante el proceso de infección (ambiente hostil del hospedador). Segundo, que algunas hsp's pueden ser intrínsecamente antigénicas, pudiendo ser procesadas y presentadas al sistema inmune por las células presentadoras de antígeno. Tercero, es posible que la memoria inmunológica frente a determinantes conservados de estas proteínas esté generada de forma temprana en las primeras etapas de la vida y periódicamente re-estimulada por infecciones subsecuentes. Por tanto, es probable que todos los epítomos de las hsp's tengan su contestas posibilidades van a ser discutidas a continuación, es necesario hacer notar que todas estas hipótesis son especulativas y que actualmente existe poco soporte experimental en favor de ellas. En cuanto a su abundancia se estima que, por ejemplo, en micobacterias la hsp60 puede llegar a representar hasta el 9% del total de proteínas (De Bruyn y col., 1987) y en esquistosomas adultos la hsp70 puede ser el 1% de las proteínas totales e incluso más en las larvas transformadas

(Newport y col., 1988). Así, una explicación probable de su antigenicidad es que al ser proteínas extremadamente abundantes sean, por tanto, procesadas por los macrófagos como los principales antígenos extraños para su presentación a linfocitos (Polla y col., 1989). Por otro lado, dado que las hsp's están altamente conservadas pudiera ocurrir que la infección por un patógeno pueda preparar la respuesta inmune frente a estas proteínas para el momento de la infección por un segundo patógeno. Esto sugeriría que la respuesta inmune debería estar dirigida principalmente contra epítomos conservados. Otro factor a tener en cuenta es que dos de las funciones postuladas para las hsp's puedan facilitar su procesamiento y presentación. Algunos miembros de la familia hsp70 han sido implicados en la unión a proteínas intracelulares dirigidas a la degradación lisosomal (Chiang y col., 1989). De hecho, miembros de la familia hsp70 se encuentran involucrados en los mecanismos de presentación de antígenos (fig. 2) sobre la superficie de los macrófagos (Van Buskirk y col., 1989). Recientemente se ha observado que varios sitios de unión a la hsp70 de *Mycobacterium tuberculosis* coinciden con regiones inmunodominantes de antígenos implicados en el reconocimiento por linfocitos T humanos y murinos, restringido a haplotipos de clase II. Ello es un nuevo indicio del probable papel de chaperona que jugaría la hsp70 en el procesamiento y presentación de antígenos (Roman y col., manuscrito en preparación).

Aunque inicialmente se pensó que la respuesta inmune humoral frente a las hsp's estaba dirigida predominantemente frente a los epítomos no conservados (Newport y col., 1988) en la actualidad, al poder designar con más precisión los epítomos antigénicos de estas moléculas, la conclusión no es tan clara. Ha quedado patente, más bien, que las hsp's de microorganismos patógenos promueven respuestas inmunes celulares y humorales frente a epítomos compartidos con las proteínas homólogas de sus hospedadores. Por ejemplo, Mattei y col. (1989) han encontrado que sueros de humanos infectados con *P. falciparum* también reconocen a la hsp70 humana. Además, anticuerpos monoclonales generados frente a la proteína del parásito reconocen epítomos de la molécula altamente conservados (87.5%), indicando, por tanto, que los autoanticuerpos dirigidos frente a la hsp70 del hospedador pueden ser inducidos por la proteína homóloga del parásito.

Por otro lado, además del hecho de que las hsp's de los patógenos promuevan respuestas inmunes con reactividad cruzada frente a proteínas propias, se ha demostrado la existencia de linfocitos T reactivos frente a las hsp's propias incluso en individuos sin evidencia de procesos autoinmunes (Munk y col., 1989). Recientemente se ha mostrado la existencia de anticuerpos específicos frente a la hsp70 humana en individuos sanos (Wakui y col., 1991). Es de destacar, además, que una variedad de tipos diferentes de linfocitos T, aislados de individuos sanos, reconocen determinantes de las hsp's altamente conservados (Young y Elliott, 1989; Res y col., 1991). En este sentido, no deja de ser llamativo el hecho observado de que los linfocitos gamma-delta son estimulados por poblaciones celulares heterogéneas que habían sido previamente sometidas a un choque térmico (Rajasekar y col., 1990). La razón de la existencia de linfocitos T con potencialidad autorreactiva, sin producir enfermedad autoinmune, no está clara y es actualmente objeto de un profundo análisis.

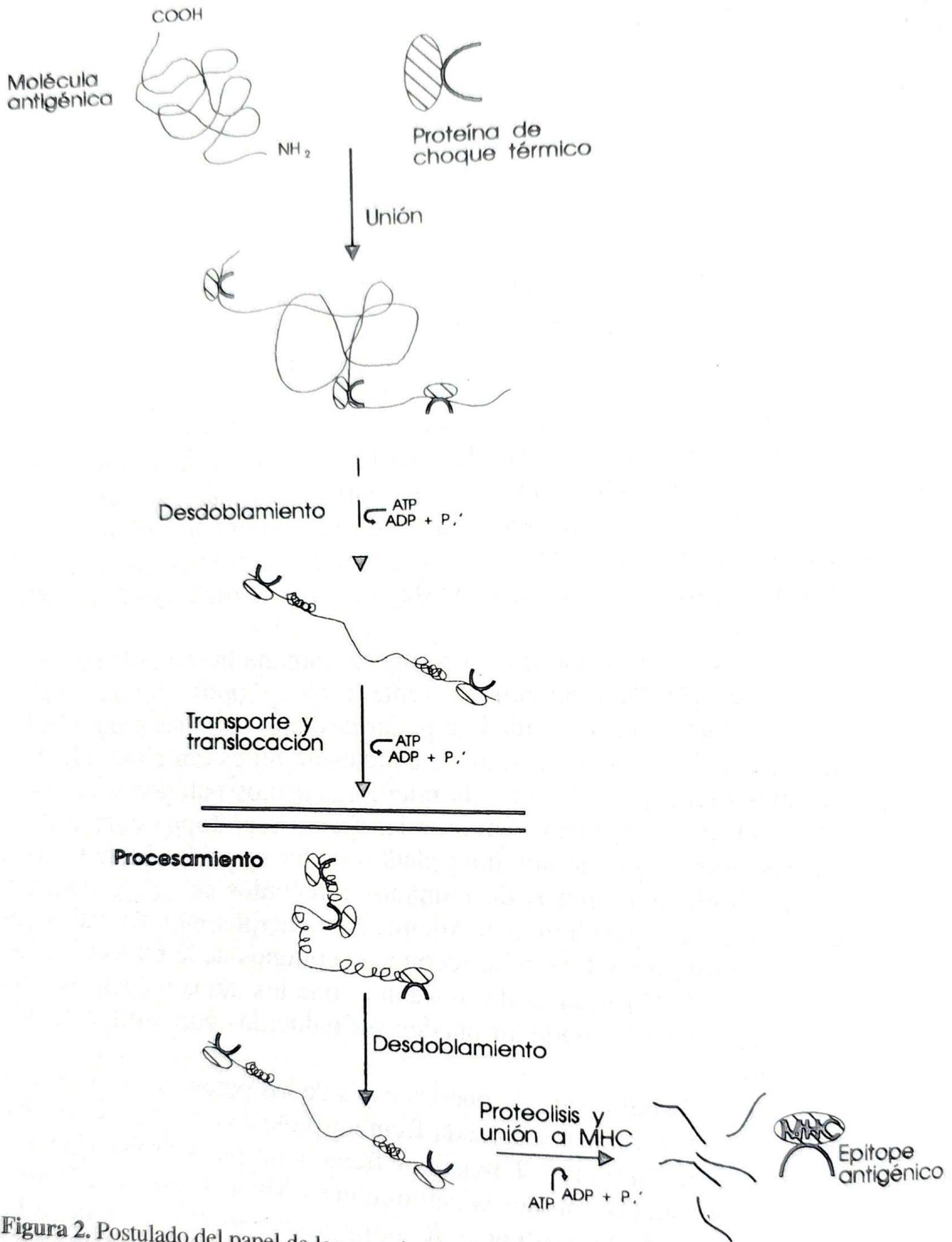


Figura 2. Postulado del papel de las proteínas de choque térmico en el procesamiento de antígenos.

Hipótesis sobre el papel de la respuesta inmune frente a las proteínas de choque térmico

Teniendo en cuenta las observaciones referidas en el apartado anterior resulta obvio cuestionarse si la respuesta inmune frente a las hsp's podría desempeñar algún papel fisiológico en la protección frente a la infección. Dado que la infección por un determinado patógeno generalmente no protege a un individuo frente a la

infección por otro, parece que la inmunoreactividad contra las proteínas del choque térmico no guardaría ninguna relación con la protección. Sin embargo, según un punto de vista alternativo, no existen datos experimentales que permitan descartar que las respuestas inmunes frente a determinantes conservados de las hsp's se desarrollen de forma temprana, probablemente durante el establecimiento de la flora microbiana natural sobre la piel y en el intestino, y que por esta razón puedan proveer un nivel general de protección frente a la infección en etapas posteriores; esto puede ayudar a explicar la observación de que sólo en una fracción de individuos infectados por patógenos la enfermedad clínica progrese (Young y Elliot, 1989). La distribución ubicua de las hsp's y su alta conservación de secuencia es un interesante reto al sistema inmune. Así, la omnipresencia de los epítomos compartidos por todos los patógenos puede servir al sistema inmune como una señal universal de infección (Kaufmann, 1990).

Un segundo aspecto de las respuestas inmunes frente a las hsp's implica la tolerancia del huésped, lo cual puede ser una auténtica paradoja. Si las hsp's están implicadas en enfermedades autoinmunes, ¿cómo es que la inmunidad natural frente a estos antígenos está presente en individuos sanos?, ¿cómo puede el sistema inmune montar una respuesta sustancial frente a proteínas altamente conservadas sin un riesgo de autoinmunidad? Esto parece ser un verdadero riesgo para el individuo aunque se ha sugerido que los beneficios de una respuesta inmune frente a las hsp's propias pueden ser mayores que los riesgos de enfermedad autoinmune. Cohen y Young (1991) han propuesto que las hsp's pueden ser inmunodominantes dado que pertenecen a una serie limitada de proteínas conservadas para las que la respuesta inmune está previamente codificada mediante redes de células reguladoras. Sugieren estos autores que los anticuerpos específicos frente a epítomos conservados de las hsp's facilitan la captura y presentación en las células B de hsp's propias y también de epítomos no propios a los linfocitos T. Se ha de destacar que ratones inmunizados con péptidos u oligosacáridos conjugados a la hsp70 producen altos títulos de anticuerpos en la ausencia de adyuvante (Barrios y col., 1992). Estos datos sugieren el uso de las hsp como «carrier» para la inducción de anticuerpos. Por esta razón estas proteínas podrían resultar de gran valor en el diseño de nuevas vacunas de uso en humanos. Las investigaciones sobre las implicaciones inmunológicas de las hsp's en las infecciones ocasionadas por microorganismos patógenos están actualmente en aumento con lo que es previsible que, en poco tiempo, muchos de los aspectos enunciados en la presente revisión puedan ser respondidos de forma satisfactoria.

Referencias

- Alcina, A. y Fresno, M. (1988) Early y late heat-induced proteins during *Leishmania mexicana* transformation. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 156, 1360-1367.
- Alcina, A., Urzainqui, A. y Carrasco, L. (1987) The heat-shock response in *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Biochem.* 172, 121-127.
- Ardeshir, F., Flint, J.E., Richman, S.J., y Reese, R.T. (1987) A 75 kd merozoite surface protein of *Plasmodium falciparum* which is related to the 70 kd heat-shock proteins. *EMBO J.* 6, 493-499.
- Bardwell, J.C.A. y Craig, E.A. (1984). Major heat shock gene of *Drosophila* y the *Escherichia coli* heat inducible dnaK gene are homologous. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 848-852.

- Barret, J. (1986) *Proc. VI Int. Congr. Parasitol. (Howell, M.J., ed.)*, pp. 105-109. Australian Academy of Sciences.
- Barrios, C., Lussow, A.R., Van Embden, J., Van der Zee, R., Rappuoli, R., Costantino, P., Louis, J.A., Lambert, P.-H. y Del Giudice, G. (1992) Mycobacterial heat-shock proteins as carrier molecules. II: the use of the 70-kDa mycobacterial heat-shock protein as carrier for conjugated vaccines can circumvent the need for adjuvants and Bacillus Calmette Guérin priming. *Eur. J. Immunol.* 22, 1365-1372.
- Bianco, A.E., Favalaro, J.M., Burkot, T.R., Culvenor, P.E., Brown, G.V., Anders, R.F., Coppel, R.L. y Kemp, D.J. (1986) A repetitive antigen of *Plasmodium falciparum* that is homologous to heat shock protein 70 of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 8713-8717.
- Chiang, H.L., Terlecky, S.R., Plant, C.P. y Dice, J.F. (1989). A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science*. 246, 382-385.
- Cohen, I.R. y Young, D.B. (1991) Autoimmunity, microbial immunity and the immunological homunculus. *Immunol. Today* 12, 105-110.
- De Bruyn, J., Bosmans, R., Turneer, M., Weckx, M., Myabenda, J., Van Vooren, J.P., Falmagne, P., Wiker, H.G., y Harbe, M. (1987). Purification, partial characterization, and identification of a skin reactive protein antigen of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect. Immun.* 55, 245-252.
- De Carvalho, E.F., de Castro, F.T., Rondinelli, E., Soares, C.M.A. y Carvalho, J.F. (1990). Hsp70 gene expression in *Trypanosoma cruzi* is regulated at different levels. *J. Cell. Physiol.* 143, 439-444.
- De Jong, W.W., Leunissen, J.A.M., Leenen, P.J.M., Zweers, A. y Versteeg, M. (1988). Dogfish Ó-crystallin sequences. Comparison with small heat shock proteins and *Schistosoma* egg antigen. *J. Biol. Chem* 263, 5141-5149.
- Dragon, E.A., Sias, S.R., Kato, E.A. y Gabe, J.A. (1987) The genome of *Trypanosoma cruzi* contains a constitutively expressed, tandemly arranged multicopy gene homologous to a major heat shock protein. *Mol. Cell. Biol.* 7, 1271-1275.
- Dubois, P., Dedet, J.P., Fandeur, T., Roussillon, C., Jendoubi, M., Panillac, S., Mercereau-Puijalón, O. y Pereira de Silva, L. (1984). Protective immunization of the squirrel monkey against asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* by use of parasite protein fractions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 81, 229-233.
- Ellis., R.J. (1990). The molecular chaperone concept. *Semin. Cell Biol.* 1, 1-9.
- Engman, D.M., Sias, S.R., Gabe, J.D., Donelson, J.E y Dragon, E.A. (1989a) Comparison of hsp70 genes from two strains of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 37, 285-288.
- Engman, D.M., Kirchhoff, L.V. y Donelson, J.E. (1989b). Molecular cloning of mtp70, a mitochondrial member of the hsp70 family. *Mol. Cell. Biol.* 9, 5163-5168.
- Fong, D., Wallach, M., Keithly, J., Melera, P.W. y Chang, K.-P (1984) Differential expression of mRNAs for alpha- and beta-tubulin during differentiation of the parasitic protozoan *Leishmania mexicana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 5782-5786.
- Glass, D.J. Polvere, R. y Van der Ploeg, L.H.T. (1986) Conserved sequences and transcription of the hsp70 gene family in *Trypanosoma brucei*. *Mol. Cell. Biol.* 6, 4657-4666.
- Gwo-Shu Lee, M., Atkinson, B.L., Giannini, S.H. y Van der Ploeg, L.H.T. (1988) Structure and expression of the hsp70 gene family of *Leishmania major*. *Nucl. Acids Res.* 20, 9567-9585.
- Hedstrom, R., Culpepper, J., Agabian, N. y Newport, G. (1988) Schistosome heat-shock proteins are immunologically distinct host-life antigens. *Mol. Biochem. Parasitol.* 29, 275-282.
- Hedstrom, R., Culpepper, J., Harrison, R.A., Agabian, N. y Newport, G. (1987) A major immunogen in *Schistosoma mansoni* infections is homologous to the heat shock protein Hsp70. *J. Exp. Med.* 165, 1430-1435.
- Hemmingsen, S.M., Woolford, C., Van der Vies, S.M., Tilly, R., Dennis, D.T., Georgopoulos, C.P., Hendrix, R.V. y Ellis, R.J. (1988) Homologous plant and bacterial proteins chaperone oligomeric protein assembly. *Nature* 333, 330-334.
- Jendoubi, M. y Bonnefoy, S. (1988). Identification of a heat-shock like antigen in *P. falciparum*, related to the heat shock protein 90 family. *Nucleic Acids Res.* 16, 10928.

- Jindal, S., Dudani, A.K., Singh, B. Harley, C.B. y Gupta, R.S. (1989). Primary structure of a human mitochondrial protein homologous to the bacterial and plant chaperonins and to the 65-Kilodalton mitochondrial antigen. *Mol. Cell. Biol.* 9, 2279-2283.
- Johnson, K.S., Wells, K., Bock, J.V., Nene, V., Taylor, D.W. y Cordingley, J.S. (1989) The 86-kilodalton antigen from *Schistosoma mansoni* is a heat-shock protein homologous to yeast hsp90. *Mol. Biochem. Parasitol.* 36, 19-28.
- Kaufmann, S.H.E. (1990) Heat shock proteins and the immune response. *Immunol. Today* 11, 129-136.
- Kumar, N., Syin, C., Carter, R., Quakyi, I. y Miller, L.H. (1988) *Plasmodium falciparum* gene encoding a protein similar to the 78-kDa rat glucose-regulated stress protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 6277-6281.
- Kun, J. y Muller-Hill, B. (1989). The sequence of a third member of the heat shock protein family in *Plasmodium falciparum*. *Nucleic Acids Res.* 17, 5384.
- Lambowitz, A.M., Kobayaski, G.S., Painter, A. y Medoff, G. (1983) Possible relationship of morphogenesis in pathogenic fungus, *Histoplasma capsulatum*, to heat shock response. *Nature* 303, 806-808.
- Langer, T y Neupert, W. (1991). Heat shock proteins hsp60 and hsp70: Their roles in folding, assembly, and membrane translocation of proteins. *Current Topics Microbiol. Immunol.* 167, 3-30.
- Lathigra, R.B., Butcher, P.D., Garbe, T.R. y Young, D.B. (1991). Heat shock protein as virulence factors of pathogens. *Current Topics Microbiol. Immunol.* 167, 125-144.
- Lawrence, F. y Robert-Géro, M. (1985) Induction of heat shock and stress proteins in promastigotes of three *Leishmania* species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 4414-4417.
- Lee, M.G.-S., Atkinson, B.L., Giannini, S.H. y Van der Ploeg, L.H.T. (1988). Structure and expression of the hsp70 gene family of *Leishmania major*. *Nucleic Acids Res.* 16, 9567-9585.
- Lindley, T.A., Chakraborty, P.R. y Edlind, T.D. (1988) Heat shock and stress response in *Giardia lamblia*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 28, 135-144.
- Lindquist, S. (1986) The heat-shock response. *Ann. Rev. Biochem.* 55, 1151-1191.
- Lindquist, S. y Craig, E.A. (1988) The heat-shock proteins. *Ann. Rev. Genet.* 22, 631-677.
- Loomis, W.F., Wheeler, S. y Schmidt, J.A. (1982) Phosphorylation of the major heat shock protein of *Dictyostelium discoideum*. *Mol. Cell. Biol.* 2, 484-489.
- Maresca, B. y Carratù, L. (1992) The biology of the heat shock response in parasites. *Parasitol. Today* 8, 260-266.
- Martín, F.; Requena S. M.; Martín J.; Alonso, C.; López, M. C. Cytoplasmic-nuclear translocation of the HSP70 protein during environmental stress in *Trypanosoma cruzi*. BBRC, en prensa.
- Mattei, D., Ozaki, L.S. y Pereira da Silva, L. (1988) A *Plasmodium falciparum* gene encoding a heat shock-like antigen related to the rat 78 kD glucose-regulated protein. *Nucl. Acids Res.* 16, 5204.
- Mattei, D., Scherf, A., Bensaude, O. y da Silva, L.P. (1989) A heat shock-like protein from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* induces autoantibodies. *Eur. J. Immunol.* 19, 1823-1828.
- Mizzen, L.A., Chang, C., Garrels, J.I., y Welch, W.J. (1989). Identification, characterization, and purification of two mammalian stress proteins present in mitochondria, grp75, a member of the hsp70 family and hsp58, a homologue of the bacterial GroEl protein. *J. Biol. Chem.* 264, 20664-20675.
- Muhich, M.L. y Boothroyd, J.C. (1988) Polycistronic transcripts in trypanosomes and their accumulation during heat shock: evidence for a precursor role in mRNA synthesis. *Mol. Cell. Biol.* 8, 3837-3846.
- Munk, M.E., Schoel, B., Modrow, S., Karr, R.W., Young, R.A. y Kaufmann, S.H.E. (1989) T lymphocytes from healthy individuals with specificity to self-epitopes shared by the mycobacterial and human 65-kilodalton heat shock protein. *J. Immunol.* 143, 2844-2849.
- Newport, G., Culpepper, J. y Agabian, N. (1988) Parasite heat-shock proteins. *Today* 4, 306-312.
- Pelham, H.R.B (1985) Activation of heat-shock genes in eukaryotes. *Trends Genet.* 1, 31-35.
- Pelham, H. (1988) Heat shock proteins, coming in from the cold. *Nature* 332, 776-777.

- Pelham, H. (1989) Heat shock and the sorting of luminal ER proteins. *EMBO J.* 8, 3171-3176.
- Peterson, M.G., Crewther, P.E., Thonson, J.K., Corcan, L.M., Coppel, R.L., Brown, G.V., Anderson, R.F. y Kemp, D.J. (1988) A second antigenic heat shock protein of *Plasmodium falciparum*. *DNA* 7, 71-78.
- Polla, B.S. y Young, D. (1989) Heat shock proteins and immunity. *Immunol. Today* 10, 393-394.
- Polla, B.S. (1991) Heat shock proteins in host-parasite interactions. *Immunol. Today* 12, A38-A41.
- Rajasekar, R., Sim, G.-K. y Augustin, A. (1990) Self heat shock and gammadelta T-cell reactivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 1767-1771.
- Requena, J.M., López, M.C., Jiménez-Ruiz, A., de la Torre, J.C. y Alonso, C. (1988) A head-to-tail tandem organization of hsp70 genes in *Trypanosoma cruzi*. *Nucl. Acids Res.* 16, 1393-1406.
- Requena, J.M., López, M.C., Jiménez-Ruiz, A., Morales, G. y Alonso, C. (1989) Complete nucleotide sequence of the hsp70 gene of *Trypanosoma cruzi*. *Nucl. Acids Res.* 17, 797.
- Requena, J.M., Jimenez-Ruiz, A., Soto, M., Assiego, R., Santarén, J.F., Lopez, M.C., Patarroyo, M.E. y Alonso, C. (1992) Regulation of hsp70 expression in *Trypanosoma cruzi* by temperature and growth phase. *Mol. Biochem. Parasitol.* 53, 201-212.
- Res, P.C.M., Thole, J.E.R. y de Vries, R.R.P. (1991) Heat shock proteins in immunopathology. *Current Opinion Immunol.* 3, 924-929.
- Richman, S.J., Verdick, T.S. y Reese, R.T. (1989). Peptide mapping of conformational epitopes in a human malarial parasite heat shock protein. *J. Immunol.* 143, 285-292.
- Ritossa, F. (1962) A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 18, 571-573.
- Rothman, J.E. (1989) Polypeptide chain binding proteins: Catalysts of protein folding and related processes in cells. *Cell* 59, 591-601.
- Sacks, D.L. y Perkins, P.V. (1984) Identification of an infective stage of leishmania promastigotes. *Science* 223, 1417-1419.
- Scallon, B.J., Bogitsh, B.J. y Caster, C.E. (1987) Cloning of a *Schistosoma japonicum* gene encoding a major immunogen recognized by hyperinfected rabbits. *Mol. Biochem. Parasitol.* 24, 237-245.
- Searle, S., Campos, A., Coulson, R., Spithill, T.W. y Smith, D.F. (1989) A family of heat shock protein 70-related genes are expressed in the promastigotes of *Leishmania major*. *Nucl. Acids Res.* 17, 5081-5095.
- Selkir, M.E., Rutherford, P.J., Denham, D.A., Partono, F. y Maizels, R.M. (1987) Cloned antigen genes of *Brugia* filarial parasites. *Biochem. Soc. Symp.* 53, 91-102.
- Selkir, M.E., Dnham, D.A., Partono, F. y Maizels, R.M. (1989) Heat shock cognate 70 is a prominent immunogen in brugian filariasis. *J. Immunol.* 143, 299-308.
- Shapira, M., McEwen, J.G. y Jaffe, C.L. (1988) Temperature effects on molecular processes which lead to stage differentiation in *Leishmania*. *EMBO J.* 7, 2895-2901.
- Shinnick, T.K., Vodkin, M.H. y Williams, J.C. (1988). The *Mycobacterium tuberculosis* 65-Kilodalton antigen is a heat-shock protein which corresponds to common antigen and to the *Escherichia coli* GroEl protein. *Infect. Immun.* 56, 446-451.
- Shinnick, T.M. (1991). Heat shocks proteins as antigens of bacterial and parasitic pathogens. *Current Topics Microbiol. Immunol.* 167, 125-144.
- Silver, J.C., Andrews, D.R. y Pekkala, D. (1983) Effect of heat shock on synthesis and phosphorylation of nuclear and cytoplasmic proteins in the fungus *Achlya*. *Can. J. Biochem. Cell Biol.* 61, 447-455.
- Sorger, P.K. y Pelham, H.R.B. (1987). Cloning and expression of a gene encoding hsp73. The major hsp70-like protein in unstressed rat cells. *EMBO J.* 6, 993-998.
- Smejkal, R.M., Wolff, R. y Olenick, J.G. (1988). *Leishmania braziliensis panamensis*: increased infectivity resulting from heat shock. *Exp. Parasitol.* 65, 1-9.
- Swindle, J., Ajoya, J., Eisen, H., Sandwal, B., Jacquemot, C., Browler, Z. y Buck, G. (1988) The genomic organization and transcription of the ubiquitin genes of *Trypanosoma cruzi*. *EMBO J.* 7, 1121-1127.

- Taylor, D.W., Corclingley, J.S. y Butterworth, A.E. (1984). Immunoprecipitation of surface antigen precursor from *Schistosoma mansoni* messenger RNA in vitro translation products. *Mol. Biochem. Parasitol.* 10, 305-318.
- Tissi eres, A., Mitchell, H.K., y Tracy, U.M. (1974). Protein synthesis in salivary glands of *D. melanogaster*. Relation to chromosome puffs. *J. Mol. Biol.*, 84, 389-398.
- Van Buskirk, A. Crump, B.L., Margoliasch, E. y Pierce, S.K. (1989). A peptide binding protein having a role in antigen presentation is a member of the hsp70 heat shock family. *J. Exp. Med.* 170, 1799-1809.
- Van der Ploeg, L.H.T., Giannini, S.H. y Cantor, C.R. (1985) Heat shock genes: Regulatory role for differentiation in parasitic protozoa. *Science* 228, 1443-1446.
- Vel azquez, J.M., DiDomenico, B.J. y Lindquist, S. (1980) Intracellular localization of heat shock proteins in *Drosophila*. *Cell* 20, 679-689.
- Wakui, H., Itoh, H., Tashima, Y., Kobayashi, R., Nakamoto, Y. y Miura, A.B. (1991) Specific antibodies against the stress-inducible 72-kDa protein, a member of the heat-shock protein hsp70, in healthy human subjects. *Int. J. Biochem.* 23, 975-978.
- Walsh, C. (1980) Appearance of heat shock proteins during the induction of multiple flagella in *Naegleria gruberi*. *J. Biol. Chem.* 255, 2829-2632.
- Welch, W.J., Mizzen, L.A. y Amigo, A.P. (1989). Structure and function of mammalian stress proteins. In: Pardue M.L., Feramisco, J.R., Lindquist, S. (eds.) Stress-induced proteins. *UCLA-ICN symposio on molecular and cellular biology, vol. 76*. Alan R. Liss. New York, pp. 187-202.
- Werner-Washburne, M., Stone, D.E, y Craig, E.A. (1987) Complex interactions among members of an essential subfamily of hsp70 genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 7, 2568-2577.
- Wu, C., Wilson, S., Walker, B., Dawid, I., Paisley, T., Zimarino, V. y Ueda, H. (1987) Purification and properties of *Drosophila* heat shock activator protein. *Science* 238, 1247-1252.
- Yost, H.J. y Lindquist, S. (1986) RNA splicing is interrupted by heat shock and is rescued by heat shock protein synthesis. *Cell* 45, 185-193.
- Young, R.A. (1990) Stress proteins and immunology. *Ann. Rev. Immunol.* 8, 401.
- Young, R.A. y Elliot, T.J. (1989) Stress proteins, infection, and immune surveillance. *Cell* 59, 5-8.
- Yuckenberg, P.D., Poupin, F. y Mansour, T.E. (1987) *Schistosoma mansoni*: Protein composition and synthesis during early development, evidence of early synthesis of heat shock proteins. *Exp. Parasitol.* 63, 301-311.
- Zwierzynski, T.A., Widmer, G. y Buck, G.A. (1989) In vitro 3' end processing and poly(A) tailing of RNA in *Trypanosoma cruzi*. *Nucl. Acids Res.* 17, 4647-4660.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Francisco Mingorance la realizaci n de las gr ficas por ordenador..