

LA TRANS-SIALIDASA DEL TRYPANOSOMA CRUZI

Msc. Victoria Eljach P. *

RESUMEN

El Trypanosoma cruzi es el protozoo parásito que causa la tripanosomiasis americana, o enfermedad de Chagas. Las personas infectadas con T. cruzi presentan la parasitemia toda su vida, aunque la mayoría de los individuos no desarrollan los síntomas de una enfermedad de Chagas crónica, sin conocer que están infectados.

El ciclo natural de transmisión del T. cruzi involucra los insectos reduvidos y animales salvajes y domésticos infectados. Los insectos vectores se encuentran en los huecos de los árboles, en palmas y otros lugares donde los mamíferos buscan refugio. La transmisión de la infección del T. cruzi también puede ocurrir por transfusión de sangre o donación de órganos, por el paso de la madre al feto y como resultado de accidentes de laboratorio.

Los ácidos siálicos están ampliamente distribuidos en los animales, desde el equinodermo hasta el hombre y se presenta también en unas pocas bacterias, protozoos y especies de virus. Ellos son un componente de los oligosacáridos y de los polisacáridos, glicoproteínas y gangliósidos.

Los tripanosomas no pueden sintetizar ácidos siálicos. Las etapas infecciosas del ciclo biológico del T. cruzi expresa una trans-sialidasa anclada a un glicolípido de la superficie celular, la cual puede transferir ácido siálico entre glicoconjugados. El ácido siálico es transferido desde la superficie celular y de las sialiglicoproteínas del suero del huésped a los glicoconjugados de la superficie celular del tripanosoma.

El papel biológico de la trans-sialidasa en el T. cruzi aún no está comprendido, pero la evidencia sugiere que este puede ser importante para la adhesión, la invasión, virulencia o la patogénesis.

En este artículo, se presenta una revisión de las investigaciones sobre la trans-sialidasa del Trypanosoma cruzi, su estructura, las propiedades bioquímicas y las discusiones sobre las funciones posibles de la gran familia multigénica que codifica un arreglo de glicoproteínas de trans-sialidasa de superficie.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi, enfermedad de Chagas, trans-sialidasa, ácido siálico, Rodnius prolixus.*

* Docente Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad del Cauca.

INTRODUCCIÓN

El género *Trypanosoma* lo constituyen aproximadamente veinte especies de protozoarios. (1) *Trypanosoma cruzi* es el agente etiológico de la tripanosomiasis americana o Enfermedad de Chagas, la cual está restringida a las poblaciones de Centro y Sur América atacadas por la pobreza. En Colombia un estudio reciente sobre la morbilidad de la enfermedad en individuos que habitan regiones endémicas, mostró que cerca del 20% de los pacientes diagnosticados, con serología positiva para *Trypanosoma cruzi* presentaron también la patología, principalmente relacionada con afección cardíaca. También estos estudios estiman que alrededor del 7% de la población colombiana está infectada y que cerca del 23% está en alto riesgo de adquirir la infección. (2)

La enfermedad de Chagas presenta diferentes formas clínicas. En la fase aguda se producen algunas manifestaciones clínicas características como el signo de Romaña. Sin embargo, los síntomas pueden ser leves y atípicos. Ocho o diez semanas después de la fase aguda se presenta una fase indeterminada, que puede durar varios años o indefinidamente. Esta se caracteriza por la ausencia de síntomas; el enfermo puede desarrollar sus actividades físicas y sus electrocardiogramas (ECG) son normales. Se estima que entre el 15-30% de las personas que sufren la infección en la forma indeterminada, sufrirán un daño cardíaco, digestivo o neurológico entre diez y veinte años después de haber contraído la enfermedad. (2)

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

En Colombia existe transmisión natural (vectorial) de *Trypanosoma cruzi* principalmente en los departamentos de Arauca, Boyacá, Casanare, Cundinamarca y en los Santanderes, y en menor intensidad en los departamentos de Antioquia, Guajira, Magdalena, Sucre y Meta. (2)

T. cruzi es transmitido por varias especies de triatomíneos; estos vectores se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza, donde el parásito es transmitido entre muchas especies de animales que constituyen el reservorio natural. En Colombia, *Rhodnius prolixus* es el insecto vector de la mayor distribución, debido a sus hábitos antropofílicos y domiciliarios. (Figura 1)

Los factores de riesgo involucrados en la transmisión de la tripanosomiasis americana son de tipo geo-ecológico (cli-

ma); biológicos (susceptibilidad a la infección, resistencia a los insecticidas, disponibilidad de huéspedes reservorios) y factores sociales de riesgo (tipo de vivienda y condiciones domiciliarias, migraciones, presencia de animales domésticos infectados). (2)

CICLO BIOLÓGICO DEL TRYPANOSOMA CRUZI

Trypanosoma cruzi es transmitido a los mamíferos (hombres y animales) por insectos hematófagos como *Rhodnius prolixus*, vector de mayor distribución en Colombia. Este insecto es conocido por la población como pito o chupasangre. La figura 2 presenta un esquema del ciclo biológico del *Trypanosoma cruzi*. (3)

En condiciones naturales un triatomíneo infectado se alimenta de sangre y defeca simultáneamente, depositando con las heces formas infectantes (tripomastigotes) del parásito (1a,1b). Las heces contaminadas pueden ser llevadas a la conjuntiva (2) ocasionando la principal manifestación de puerta de entrada, el signo de Romaña (3b). Las formas infectantes también pueden entrar al torrente circulatorio por otras vías como las heridas de la piel o por vía oral. (4a) El parásito presenta un especial tropismo por el tejido miocárdico, penetrando dentro de sus células para formar los típicos nidos de amastigotes, que carecen de flagelo (4b, 4c). Cuando los amastigotes intracelulares se liberan, se convierten en tripomastigotes infectantes (4a) que circulan en la sangre y pueden ser ingeridos por un insecto vector (5) y en el tracto digestivo (6) se diferencian en epimastigotes, las formas no infectivas, y se multiplican

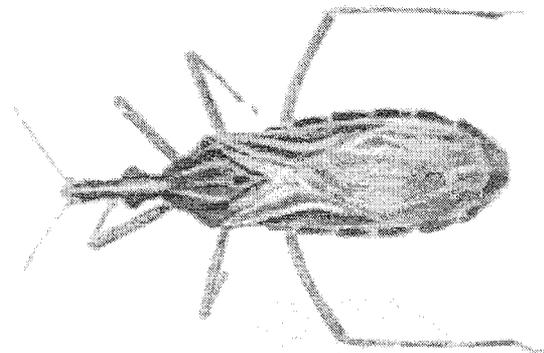


Figura 1. Ejemplar adulto de *Rhodnius prolixus*

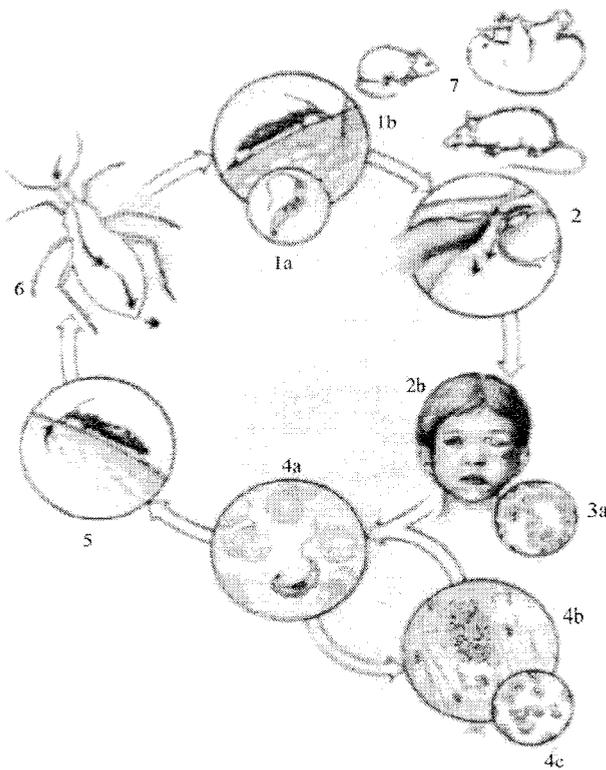


Figura 2. Ciclo biológico del *Trypanosoma cruzi*

hasta dar origen a los tripomastigotes metacíclicos, completando así el ciclo.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

La enfermedad de Chagas en fase aguda se diagnóstica detectando el *Trypanosoma cruzi* por observación directa en la sangre. Esta detección no siempre es posible debido a la baja presencia del agente infeccioso o a la falta de sensibilidad en los métodos utilizados. La enfermedad crónica es usualmente diagnosticada por la detección de anticuerpos tipo IgG.

Existen algunos métodos serológicos convencionales para el diagnóstico de la infección: la inmunofluorescencia indirecta (IFI), fijación del complemento (FC), hemaglutinación indirecta (HAI) y las pruebas enzimáticas. (4) La existencia de falsos positivos es un problema común con estas pruebas serológicas, esto ocurre con pacientes con leishmaniasis, sífilis, malaria, enfermedades del colágeno y otras enfermedades no parasitarias.

En respuesta a la necesidad de mejorar el diagnóstico tanto en la infección aguda como la infección crónica, se han

realizados grandes esfuerzos para desarrollar nuevas pruebas. La tecnología de DNA recombinante ha sido utilizada para obtener algunas proteínas del *Trypanosoma cruzi*. (5y6) La posibilidad de usar PCR (reacción en cadena de la polimerasa) ha sido estudiada por Persing (7) y Ávila. (8)

ÁCIDOS SIÁLICOS

Los ácidos siálicos están ampliamente distribuidos en los animales, desde los equinodermos hasta el hombre, y se presenta también en unas pocas bacterias, protozoos y especies de virus. Ellos son un componente de los oligosacáridos, polisacáridos, glicoproteínas y gangliosidos, donde usualmente ocupan la posición terminal de las cadenas de carbohidratos. Estos complejos de carbohidratos sializados se presentan en membranas celulares, especialmente en la membrana plasmática. De este modo, el ácido siálico es el compuesto clave en la superficie celular de los mamíferos, en sistemas de membranas transcelulares especializadas, tales como la estructura sináptica del sistema nervioso central, en hormonas circulantes y en enzimas y matrices extracelulares. De esto resulta evidente que un desarreglo en el metabolismo de los ácidos siálicos, bien sea por efecto genético o influencia exógena, puede conducir a enfermedad.

El término "ácido siálico" aparece en la literatura en 1952 y describe un inusual azúcar amino ácido presente en gangliosidos. (9) Otros nombres han sido empleados en el transcurso de los años, ácido lactamínico, ácido hematamínico, ácido ginamínico, pero la nomenclatura propuesta por Blix en 1957 fue adoptada por consenso; esta nomenclatura designa al "ácido neuramínico" como la estructura base sin sustituciones.

El término "ácido siálico" denota un miembro de una familia que comprende más de veinte derivados naturales del ácido neuramínico, un azúcar amino ácido en forma de piranosa con nueve átomos de carbono (figura 3). Este ácido se encuentra sustituido en la naturaleza, el grupo amino del ácido neuramínico es sustituido ya sea por un residuo acetil o glicolil (R5 en la figura 3), y el grupo hidróxilo puede ser metilado o esterificado con grupos acetil, lactil, sulfatos o fosfatos (R4,7,8,9 en la figura 3).

(10) Los ácidos siálicos son los únicos azúcares naturales que muestran esta gran variedad.

Los derivados del ácido neuramínico han sido encontrados en la mayoría de los animales desde los equinodermos has-

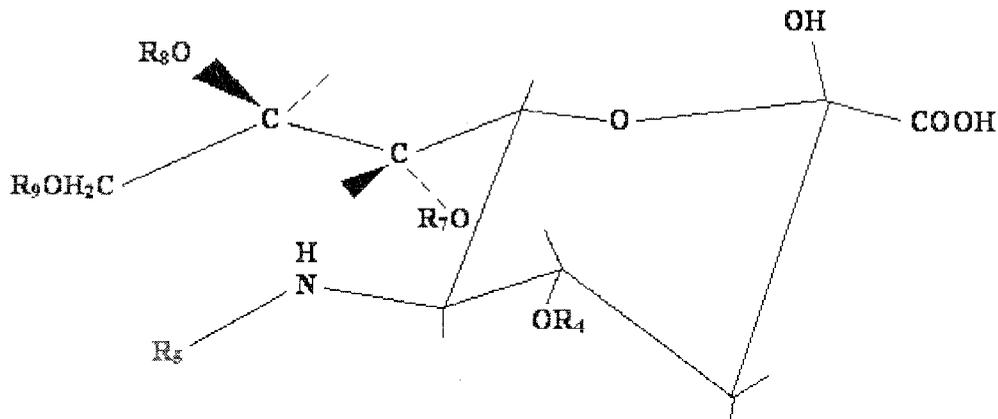


Figura 3. Estructura de los ácidos siálicos

ta el hombre. (10) Mientras algunos tipos celulares o animales tienen solamente un ácido siálico, usualmente el ácido N-acetil neuramínico, otros presentan diferentes tipos. El órgano con mayor cantidad de ácido siálico detectado es la glándula submaxilar de los bovinos, en la que se han detectado más de catorce ácidos siálicos diferentes.

Los ácidos siálicos prefieren localizarse en la cara externa de la membrana plasmática donde estos azúcares algunas veces se encuentran en altas concentraciones y son componentes de glicoproteínas, gangliósidos o polisacáridos. La carga electrónica negativa del eritrocito humano, por ejemplo, se debe principalmente a una cubierta muy densa de alrededor de veinte millones de moléculas de ácido siálico. (10) Estos azúcares ácidos también son secretados en grandes cantidades unidos a glicoproteínas o a oligosacáridos de la orina y la leche.

El mecanismo de la biosíntesis del ácido siálico fue elucidado en los Estados Unidos por los grupos de Roseman y Warren. (10) La biosíntesis de ácido siálico comienza con la D-glucosa el precursor común de todos los monosacáridos en el complejo metabolismo de los carbohidratos. A partir de ella y tras la acción secuencial de una serie de enzimas se obtiene N-acetil glucosamina-6-Fosfato (GlcNAc-6-P), que realmente es el intermediario en la síntesis de los ácidos siálicos, y el siguiente paso específico en la formación del ácido N-acetil neuramínico consiste en la epimerización del GlcNAc-6-P a N-acetil-D-manosamina-6-Fosfato (ManNAc-6-P) por la enzima N-acetil-D-glucosamina-6-Fosfato epimerasa. Esta forma fosforilada, a continuación, se desfosforila dando N-acetil-manosamina (ManNAc) que será el sustrato para la N-acetil-neuraminato liasa que condensan este glúcido con piruvato o fosfoenolpiruvato respectivamente para dar el ácido neuramínico.

La epimerasa regula la utilización de la N-acetil-D-manosamina como fuente de carbono o como precursor de los ácidos siálicos, mientras que la liasa parece estar encargada de controlar la concentración intracelular del ácido neuramínico. Seguidamente la enzima citidil-neuraminato sintetasa es la encargada de activar el ácido neuramínico a su forma activa: el CMP-ácido neuramínico para que posteriormente se incorpore a las estructuras glicosiladas de la célula. Antes de ser incorporados a sus moléculas aceptoras, algunos ácidos siálicos sufren modificaciones mediante acción enzimática. Es aquí en donde tiene lugar la conversión del grupo N-acetil- en N-glicolil y la O-acilación en las posiciones 4, 7 y 8 del resto del ácido neuramínico generándose, como consecuencia, una gran variedad de ácidos siálicos.

Finalmente, la forma activa del ácido neuramínico (CMP-Neu5Ac) se incorpora al aceptor. Esta etapa está catalizada por la enzima sialil transferasa que transfiere ácidos siálicos desde CMP-Neu5Ac a otros residuos glucídicos.

En el catabolismo de los ácidos siálicos, un grupo de enzimas designadas como N-acetilneuraminosil-glicohidrolasas, también denominadas sialidasas o neuraminidasas hidrolizan los ácidos siálicos.

EL DESCUBRIMIENTO DE LA ACTIVIDAD DE LA SIALIDASA Y DE LA TRANS-SIALIDASA DEL TRIpanosOMA CRUZI

Los tripanosomas no pueden sintetizar ácidos siálicos. En las etapas infecciosas del ciclo celular, el *T. cruzi* expresa

una trans-sialidasa anclada a un glicolípido de la superficie celular, la cual puede transferir ácido siálico entre glicoconjugados. El ácido siálico es transferido desde las sialoglicoproteínas del suero y de la superficie celular del huésped a los glicoconjugados de la superficie celular del parásito.

La actividad de la sialidasa fue reconocida por Pereira en 1983. (11) Él detectó residuos de galactosa después de incubar eritrocitos con tripanosomas vivos. Estudios posteriores mostraron que la actividad es desarrollada y regulada por una familia polimórfica de moléculas que presentan un peso molecular entre 160.000 y 220.000 kDa. (12 y 13)

Los amastigotes no presentan actividad de sialidasa, pero en el huésped mamífero la trans-sialidasa inicia su expresión después de que los amastigotes diferencian a tripomastigotes y paran de proliferar en la célula infectada. (14 y 15) La enzima es secretada por los parásitos y se acumula en el citoplasma de las células del huésped.

Zingales y colaboradores (16) fueron los primeros en demostrar la existencia de actividad de trans-glicosilasa en tripomastigotes. Al incubar tripomastigotes con Fetuina marcada con tritio, la radioactividad fue transferida a los sialoglicolípidos. Esta actividad fue diez veces más alta que la encontrada en epimastigotes.

En vista de los resultados sobre la distribución y de las actividades específicas y de las reacciones de transferencia e hidrólisis, estos autores sugieren la posibilidad de que las actividades de sialidasa (sialil hidrolasa) y la trans-sialidasa (sialil trans-glicosilasa) sean asignada a la misma enzima.

DONADORES Y ACEPTORES

La trans-sialidasa de *T. cruzi* es más eficiente en transferir ácido siálico que en hidrolizarlo. (17 y 18) La reacción de transferencia es específica para donadores con terminal a (2→3), encadenado al ácido siálico, y el terminal b (1→4) encadenado a la galactosa es el aceptor preferido.

Los residuos sialil terminales en uniones a (2→8), a (2→6), y a (2→9) no son donadores. Esta especificidad de unión tan estricta contrasta con las sialidasas de algunas bacterias y virus, las cuales hidrolizan tanto uniones a (2→3) y a (2→6).

Buenos donadores de unidades de ácidos siálicos para la reacción de la trans-sialidasa son la a (2→3) sialilactosa, fetuina, gangliosidos y glicoproteínas. (18)

Los disacáridos y oligosacáridos que contienen el terminal b (1→4) encadenado a galactosa son los aceptores preferidos. Sin aceptores, la trans-sialidasa cataliza la hidrólisis de los enlaces de ácido siálico como una típica neuraminidasa.

LA EXPRESIÓN DE LA TRANS-SIALIDASA ES ESTADO-ESPECÍFICO

En los tripanosomas la expresión de la trans-sialidasa está regulada. En cultivos axénicos de *T. cruzi* los parásitos crecen en forma flagelada llamada epimastigotes, los cuales corresponden a las formas encontradas en el intestino medio del insecto vector. En estos cultivos la actividad de la trans-sialidasa es baja. (19) La actividad de la enzima se incrementa cuando los parásitos entran en la fase de crecimiento estacionario y los epimastigotes diferencian a tripomastigotes metacíclicos, la forma infectiva en el vector. Las formas metacíclicas, las cuales presentan actividad de trans-sialidasa, pueden entrar a la célula formando un fagolisosoma en la célula del huésped. Rápidamente después de la invasión rompen su membrana, entran al citoplasma y se transforman en amastigotes que carecen de la trans-sialidasa. (15) La actividad enzimática reaparece cuando los amastigotes paran su crecimiento y se transforman en tripomastigotes.

ESTRUCTURA DE LA TRANS-SIALIDASA ESTRUCTURA DE LA PROTEÍNA

La trans-sialidasa de los tripomastigotes ha sido purificada utilizando anticuerpos monoclonales y policlonales. (18 y 20) La enzima nativa y purificada forma agregados multiméricos de una masa con peso molecular mayor de 400kDa, después de la desnaturalización migran como múltiples bandas con un peso molecular entre 100 a 220 kDa en electroforesis en geles de policrilamida. Las bandas varían en número y en peso molecular dependiendo de la cepa del parásito.

Al digerir la trans-sialidasa de tripomastigotes con papaína se produce un fragmento monomérico y activo de 70kDa con un PI de 6.5. (18) El fragmento carece de la mayoría de las porciones carboxi terminales de la cadena polipeptídica y contiene doce aminoácidos. Este resultado muestra que la trans-sialidasa nativa está formada por dos dominios, un segmento conservado en el N-terminal conteniendo el sitio catalítico y un segmento heterogéneo en el C-terminal requerido para la agregación enzimática. En las formas metacíclicas del *Trypanosoma cruzi* no se ha caracterizado totalmente la trans-sialidasa, sin embargo es antigénicamente similar a la enzima del tripomastigote. (19)

La enzima en las formas de epimastigotes difiere substancialmente de la de los tripomastigotes: es monomérica (figura 4) y no es liberada por el parásito aún después de la adición de fosfolipasa. (14) Presenta reacción cruzada con anticuerpos preparados contra el fragmento de papaína de la enzima del tripomastigote, pero no con anticuerpos que reconocen el extremo carboxiterminal, indicando que ambas enzimas tienen dominios catalíticos relacionados estructuralmente.

La trans-sialidasa está unida a la superficie externa de la membrana del parásito por un enlace covalente al glicolípido glicosil fosfatidil inositol (GPI) (21); La figura 5 representa el esquema de la GPI. Todos los GPI que han sido caracterizados a la fecha contienen una estructura idéntica compuesta por etanolamina-fosfato-Manosa a1-2Man a-6Man a1-4GlcN a-6-mio-inositol, sugiriendo que esta secuencia se conserva en todas las GPI.

Pereira y colaboradores (22) aislaron y determinaron la secuencia completa de la trans-sialidasa del *T. cruzi* (TCNA). Importantes características fueron la presencia de una secuencia común con la neuraminidasa bacteriana, los dominios Ser-X-Asp-X-Gli-X-tre-Trp, y el carboxi terminal. Comparando la secuencia de la TCNA con la secuencia de la SAPA de Pollevick y colaboradores (23) mostraron un 84% de identidad. SAPA significa Antígeno de cubierta de Fase Aguda, es un antígeno de superficie del parásito que genera una respuesta temprana de anticuerpos en las infecciones congénitas y agudas.

La característica única de la trans-sialidasa de promover tanto la remoción como la adquisición de ácido siálico de los tejidos del huésped y el hecho de que los tripanosomas sean incapaces de sintetizar ácido siálico, sugiere que esta enzima y los aceptores del ácido son importantes para la supervivencia del parásito en el huésped.

La trans-sialidasa es esencial en la habilidad del parásito para invadir, desarrollarse y madurar en las células infectadas, remodela los glicoconjugados de las células huésped, quizá para prepararlas como receptores para los tripanosomas o para facilitar alguna redistribución de receptores durante la invasión. Otra función de la trans-sialidasa podría ser la de protección de la lisis por la vía alterna del complemento mientras el parásito está circulando en la fase aguda de la infección.

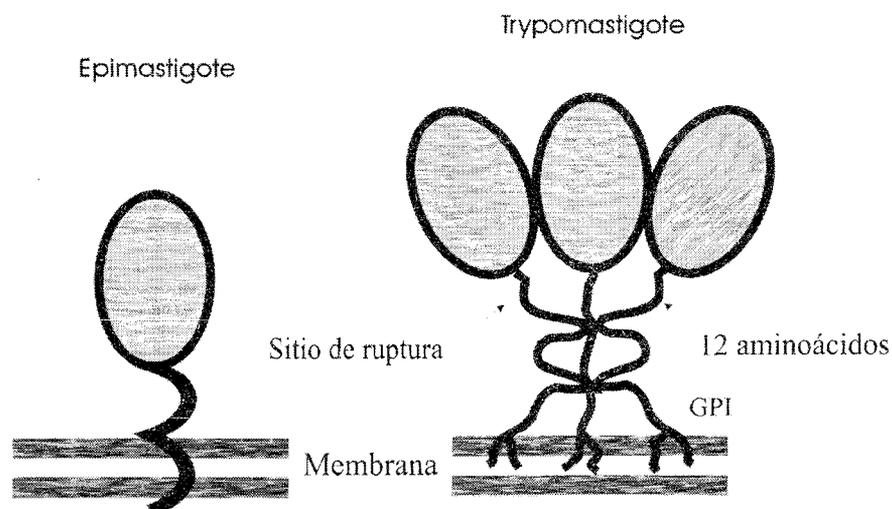


Figura 4. Modelos de la *trans*-sialidasa de las formas epimastigote y tripomastigote del *T. cruzi*

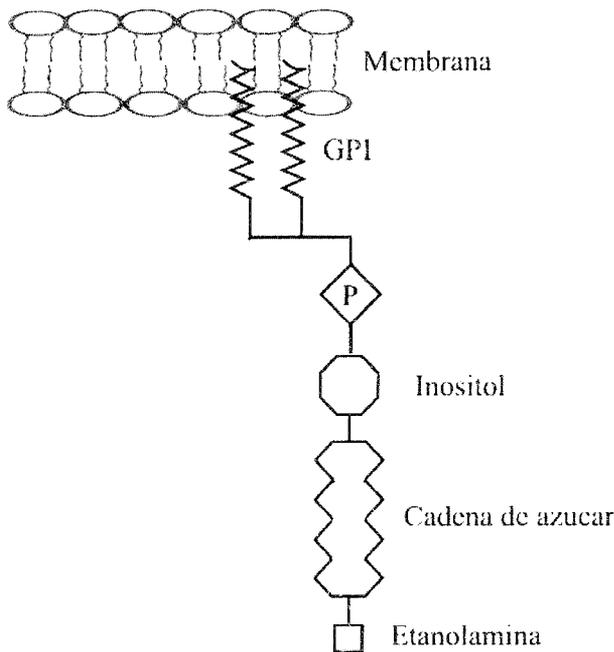


Figura 5. Características estructurales de proteínas unidas a GPI

BIBLIOGRAFÍA

1. LEVINE, N.D., CORLISS, J.O., COX, F.E.G. A Newly Revised Classification of Protozoa. *J. Protozool* 294:37-58, 1980
2. JUL, F Y NICHOLLS, S. Manual de Procedimientos para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Universidad de los Andes, Organización Mundial de la Salud. Bogotá. 2001
3. DESPOMMIER AND KARAPELOU. *Trypanosoma cruzi*. En: *Parasite Life Cycles*. Springer-Verlag Inc. New York USA, 1987.
4. BURNS, J.M. JR., SHEREFFLER, W.G., ROSMAN, D.E., SLEATH, P.R., MARCH, C.J., REED, S.G. Identification and synthesis of a major conserved antigenic epitope of *Trypanosoma cruzi*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 89:1239-1242; 1992
5. COTRIM, P.C., et al *J. Clin. Microbiol.* 28:519; 1990
6. REYES, M.B., LORCA, M. MUÑOZ, P. FRASCH, A.C.C. Fetal IgG specificities against *Trypanosoma cruzi* neuraminidase in intra- and extracellular trypomastigotes. *Infection and Immunity* 59:464-466; 1991
7. PERSING, D.H. Polymerase chain reaction: Trenches to benches. *J. Clin. Microbiol* 29:1281-1285; 1991
8. AVILA, H.A., SIGMAN, D.S., COHEN, L.M., MILLIKAN, R.C. & SIMPSON, L. Polymerase Chain Reaction Amplification of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast minicircle DNA isolated from whole blood lysates: diagnose of chronic Chagas disease. *Molec. Biochem. Parasitol* 48:211-222; 1991
9. SCHAUER, R. Sialic acids. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 40:131-234; 1982
10. SCHAUER, R. Sialic acids and their role as biological masks. *TIBS* 9:357-360; 1985
11. PEREIRA, M.E.A. A developmentally regulated neuraminidase activity in *Trypanosoma cruzi*. *Science* 219:1444-1446; 1983
12. PRIOLI, R.P., ROSENBERG, I., SHIVAKUNAR, S., PEREIRA, M.E.A. Specific binding of human plasma high density lipoprotein (cruzin) to *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol* 28:257-263; 1988
13. PRIOLI, R.P., MEJÍA, J.S., PEREIRA, M.E.A. Monoclonal antibodies against *Trypanosoma cruzi* neuraminidase reveal enzyme polymorphism, recognize a subset of trypomastigotes, and enhance infection in vitro. *J. Immunol* 144:4384-4391; 1990
14. ROSENBERG, I.A., PRIOLI, R.P., MEJÍA, J.S., PEREIRA, M.E.A. Differential expression of *Trypanosoma cruzi* neuraminidase in intra- and extracellular trypomastigotes. *Infec. Immun.* 59: 464-466; 1991
15. FREVERT, V., SCHENKMAN, S., NUSSENZWEIG, V. Stage-specific expression and intracellular shedding of the cell surface *trans*-sialidase of *Trypanosoma cruzi*. *Infec. Immun* 60:2349-2360; 1992
16. ZINGALES, B., CARNIOL, C., LENDERKREMER, R.M., COLLI, W. Direct sialic acid transfer from a protein donor to glycolipids of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 26: 135-144; 1987
17. Parodi, A. J., Pollevick, G. D., Mauntner, M., Buschiazzo, A., Sanchez, D.O., Frasch, A.C.C. Identification of the gene (s) coding for the *trans*-sialidase of *Trypanosoma cruzi*. *EMBO J.* 11:1705-1910; 1987
18. Schenman, S., Pontes de Carvalho, L., Nuzzenzweig, V., *Trypanosoma cruzi* *trans*-sialidase and neuraminidase activities can be mediated by the same enzymes. *J. Exp. Med.* 175:567-575; 1992
19. CHAVES, L.B., BRIONES, M.R.S., SCHENKMAN, S. *Trans*-sialidase from *Trypanosoma cruzi* epimastigotes is expressed at the stationary phase and is different from the enzyme expressed in trypomastigotes. *Mol. And Biochem. Parasitol.* 61:97-106; 1993
20. SCUDDER, P., DOOM, J.P., CHUEENKOVA, M., MANGER, I.D., PEREIRA, M.E.A. Enzymatic characteriza-

- tion of β -D-galactoside α 2,3-trans-sialidase from *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.* 268:9886-9891;1993
21. **MCCONVILLE, J.M., FERGUSON, A.J.** The structure, biosynthesis and function of glycosylated phosphatidylinositols in the parasitic protozoa and higher eukaryotes. *Biochem. J.* 294:305-324;1993
 22. **SCHENKMAN, S., CHAVES, L.B., PONTES DE CARVALHO, L. EICHINGER, D.A.** A proteolytic fragment of *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase lacking the carboxyl-terminal domain is active, monomeric, and generates antibodies that inhibit enzymatic activity. *J. Biol. Chem.* 269:7970-7975;1994
 23. **POLEVICK, G.D., SANCHEZ, D.O., CAMPETELLA, O., TROMBETTA, S., SOUZA, M., HENRIKSSON, J., HELLMAN, U., PETTERSSON, U., CAZZULLO, J.J., AND FRASCH, A.C.C.** Members of the SAPA/trans-sialidase protein family have identical N-terminal sequences and a putative signal peptide. *Mol. Biochem. Parasitol.* 59:171-174; 1999

Correspondencia:

Victoria Eljach P.

Departamento de Ciencias Fisiológicas,
Facultad Ciencias de la Salud,
Universidad del Cauca.
veljach@unicauca.edu.co