



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE LAS N-GLICOSILACIONES Y O-GLICOSILACIONES DE LA PROTEÍNA INMUNODOMINANTE BPM DE *Entamoeba histolytica*

Adriana Obregón-Cárdenas, Katiushka Arévalo, Luis Galán-Wong, María S. Flores

Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n. San Nicolás de los Garza, N.L., México, C.P. 66451, maria.floresgz@uanl.edu.mx.

Palabras clave: *E. histolytica*, glicosilación, ESI-MS/MS.

Introducción. La amibiasis es una enfermedad causada por *Entamoeba histolytica*. Esta parasitosis se distribuye por todo el mundo y ocupa la segunda causa de mortalidad por protozoarios a nivel mundial, ocasionando 100,000 muertes anuales. En áreas endémicas, la conducta clínica es medicar a todos los pacientes con amibas en heces. Esta conducta terapéutica determina el uso inadecuado de medicamentos antiamebianos en pacientes infectados con *Entamoeba dispar* y *Entamoeba moshkovskii* en donde no se justifica el tratamiento en las cepas no patógenas por los efectos secundarios ocasionados por los medicamentos. El uso indiscriminado de medicamentos contra *E. histolytica* puede inducir cepas resistentes al tratamiento. En nuestro laboratorio se trabaja con proteínas de *E. histolytica*, para ofrecer mejores opciones en el diagnóstico y tratamiento de la amibiasis. Flores (1-3) identificó una proteína inmunodominante de bajo peso molecular denominada como "BPM", la cual es reconocida por el 99% de los sueros de pacientes con amibiasis invasiva, y no es reconocida por sujetos sanos sin antecedentes de esta parasitosis, lo que indica que puede jugar un papel muy importante en la infección. La BPM nativa de *E. histolytica* posee carbohidratos cuya estructura no ha sido definida. Conociendo los carbohidratos se podrá inferir el tipo de enzima glicosiltransferasa que participa en su formación. La enzima podrá servir como blanco de algún medicamento contra la amibiasis, que evite la síntesis de carbohidratos por *E. histolytica*, lo que ocasionaría daño al parásito. El objetivo de este trabajo fue caracterizar parcialmente la estructura de las N- y O- glicosilaciones de BPM.

Metodología. Se obtuvo la fracción IC:MC (insoluble cloroformo:metanol calentado) a partir de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* descrita por Flores (1-3). La proteína BPM se aisló mediante electroforesis por electroelución continua a partir de esta fracción y posteriormente se analizó mediante electroforesis por SDS-PAGE y Western Blot con sueros de pacientes con amibiasis invasiva y suero de sujetos sanos. Las muestras se enviaron a Complex Carbohydrate Research Center para el análisis de las estructuras N- y O- glicosilaciones presentes en la proteína BPM mediante la

técnica de Ionización por electrospray y Espectrometría de masas (ESI-MS/MS).

Resultados. Se identificaron las estructuras de las glicosilaciones tipo N y O de BPM por medio de ESI-MS/MS. En las N-glicosilaciones se demuestra la presencia de estructuras tipo manosa de 2 antenas, que tienen de 5 a 9 residuos del monosacárido. Las N-glicosilaciones son: Man₃GlcNAc₂, Man₄GlcNAc₂, Man₅GlcNAc₂, Man₆GlcNAc₂, y Man₇GlcNAc₂. La estructura con 7 residuos (Man₇GlcNAc₂) se encuentra en mayor cantidad. En los resultados de las glicosilaciones tipos O, se encontraron 4 estructuras: Gal₁GalNAc₁, NeuAc₁Gal₁GalNAc₁, NeuGc₁Gal₁GalNAc₁, NeuAc₂Gal₁GalNAc₁. Estas estructuras tienen de 2 a 4 residuos, con ácido N-acetilneuramínico (NeuAc) y ácido N-glicolilneuramínico (NeuGc) terminal. La estructura O-glicosilación más abundante es la NeuAc₂Hex₁HexNAc₁ con 4 residuos. Es importante mencionar que estas glicosilaciones carecen de fucosa.

Conclusiones. En el presente trabajo se muestran las glicosilaciones de BPM producida por *E. histolytica*. Esta información servirá para diseñar una droga antiamebiana, en donde se evite la síntesis de los carbohidratos, para ocasionar daño celular a las amibas. Los resultados de este trabajo revelan por primera vez las O-glicosilaciones en amibas.

Agradecimiento. CONACYT 25617 y PAICYT.

Bibliografía.

- (1) Flores de Castañeda M. (1999) Preparation of preserved antigens of *E. histolytica* without enzymatic inhibitors and their use of in immunological methods. Patent 5861263.
- (2) Flores de Castañeda M. (2002) Procedimiento para la preservación de moléculas antigénicas, sin el uso de inhibidores enzimáticos y su aplicación en métodos inmunológicos.
- (3) Flores de Castañeda M. (2002) Procedimiento para la preservación de moléculas antigénicas, sin el uso de inhibidores enzimáticos. Patente 209646 IMPO-SECOFI.