
RESUMEN

Las glutatión transferasas (GSTs) son una superfamilia de proteínas multifuncionales que cumplen funciones esenciales en la detoxificación de compuestos tanto endógenos como exógenos. Las GSTs pueden ser clasificadas en cuatro familias, siendo las citosólicas las estudiadas en mayor profundidad. En parásitos helmintos se identificaron varias GSTs citosólicas con roles clave para su supervivencia en el hospedero. Asimismo, no sólo la actividad detoxificante es importante sino que las GSTs, particularmente las de clase Sigma, están implicadas en procesos de inmunomodulación a través de su actividad prostaglandina sintasa. En este sentido, es de nuestro interés caracterizar este grupo de enzimas en el parásito *Echinococcus granulosus*. Particularmente, este trabajo describe la identificación y clasificación de una nueva GST de *E. granulosus* (EgGST2), los avances en la caracterización cinética de EgGST1 tipificada previamente y por último, los estudios de expresión de las tres EgGSTs identificadas al momento.

A partir del transcriptoma de larva de *E. granulosus* publicado se obtuvo la secuencia de EgGST2. En la Sección I se muestra la tipificación de EgGST2. Los estudios de filogenia, identidad de secuencia y conservación de aminoácidos relevantes para su función catalítica ubican a EgGST2 indudablemente como miembro de la clase Sigma. Por otro lado, se presenta el trabajo orientado a la producción de la proteína recombinante enzimáticamente activa y finalmente se muestra que la proteína se expresa en protoescólex de *E. granulosus*.

La enzima EgGST1 fue previamente estudiada por nuestro grupo de trabajo donde se demostró que pertenece a la clase Mu. Por otro lado, se realizaron estudios bioquímicos de la enzima recombinante, donde se analizó el panel de actividades que presenta así como sus parámetros enzimáticos. En la Sección II se presenta la profundización de la caracterización cinética de EgGST1. En este contexto, se realizaron estudios de velocidades iniciales y de inhibición por producto, cuyos resultados muestran que EgGST1 sigue un mecanismo secuencial aleatorio concordante con las GSTs de mamífero de clase Mu descritas. Por otro lado, se determinó la constante de disociación para cada uno de los sustratos por análisis de

unión en equilibrio. Finalmente, experimentos de pH permitieron acceder al pKa del tiolato del GSH en el complejo binario enzima – GSH, siendo este resultado acorde con lo reportado para las GST que presentan una Tyr catalítica.

En último lugar, en la Sección III, se exponen los estudios de expresión de las tres GST identificadas al momento en *E. granulosus*. Primero, se presenta el análisis bioinformático de las regiones 5' flanqueantes de los tres genes donde se identificaron elementos relacionados con la regulación de enzimas detoxificantes. Por otro lado, se observó que las tres isoformas presentan una expresión diferencial a nivel del ARN mensajero cuando los protoescoléx son expuestos a condiciones de estrés oxidativo o xenobióticos *in vitro*. Finalmente, se estudió la expresión de las EgGSTs en el contexto de la infección secundaria murina temprana.

El conjunto de estos resultados pretende contribuir al entendimiento de la interrelación hospedero – parásito a partir del entendimiento del rol biológico de este versátil grupo de enzimas detoxificantes.

unión en equilibrio. Finalmente, experimentos de pH permitieron acceder al pKa del tiolato del GSH en el complejo binario enzima – GSH, siendo este resultado acorde con lo reportado para las GST que presentan una Tyr catalítica.

En último lugar, en la Sección III, se exponen los estudios de expresión de las tres GST identificadas al momento en *E. granulosus*. Primero, se presenta el análisis bioinformático de las regiones 5' flanqueantes de los tres genes donde se identificaron elementos relacionados con la regulación de enzimas detoxificantes. Por otro lado, se observó que las tres isoformas presentan una expresión diferencial a nivel del ARN mensajero cuando los protoescolax son expuestos a condiciones de estrés oxidativo o xenobióticos *in vitro*. Finalmente, se estudió la expresión de las EgGSTs en el contexto de la infección secundaria murina temprana.

El conjunto de estos resultados pretende contribuir al entendimiento de la interrelación hospedero – parásito a partir del entendimiento del rol biológico de este versátil grupo de enzimas detoxificantes.

1.4.1	Consideraciones generales	13
1.4.2	Glutación transferasas en helmintos	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo general	17
2.2	Objetivos específicos	17
SECCIÓN I- IDENTIFICACIÓN DE UNA NUEVA GLUTACIÓN TRANSFERASA DE <i>Echinococcus granulosus</i>		
1	INTRODUCCIÓN	20
1.1	Glutación transferasas de clase Sigma	20
1.2	Glutación transferasas de <i>E. granulosus</i>	23
2	MATERIALES Y MÉTODOS	24
2.1	Materiales	24
2.2	Métodos	24