

OXIDACION DE LA GLUCOSA EN *TRYPANOSOMA CRUZI*

Adroher, F.J.

RESUMEN

En este artículo se revisa la mayor parte de la bibliografía existente acerca de la oxidación de la glucosa por *Trypanosoma cruzi*, también llamada "fermentación aerobia", y se hace mención de las principales diferencias metabólicas con las células de mamíferos. Dichas diferencias podrían emplearse para el desarrollo de nuevos y más eficaces quimioterápicos.

SUMMARY

The literature about the oxidation of glucose by *Trypanosoma cruzi*, also namely "aerobic fermentation", is reviewed. The most important metabolic differences between mammal and *T. cruzi* cells are mentioned. These differences could be used for the development of new trypanocidal drugs.

INTRODUCCION.-

Trypanosoma cruzi es un protozoo parásito del hombre y otros mamíferos. Es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana y afecta a más de 20 millones de personas en el continente americano.

Este protozoo se presenta en cuatro formas morfológicas diferentes a lo largo de su ciclo de vida: dos en el hospedador invertebrado, epimastigote (fase reproductora y no infectiva) y tripomastigote metacíclico (fase no reproductora pero infectiva) y dos en el hospedador vertebrado, amastigote (fase reproductora e intracelular) y tripomastigote sanguíneo (fase no reproductora pero infectiva). No existe aún una quimioterapia eficaz contra este parásito, por ello se estudian intensamente las características bioquímicas del mismo, con la es-

peranza de hallar posibles puntos de acción de nuevos quimioterápicos diseñados para tal propósito.

En esta breve revisión tratamos de reunir y dar forma a la mayor parte de los datos existentes en la bibliografía acerca del metabolismo glucídico de *T. cruzi*.

OXIDACION DE LA GLUCOSA.-

T. cruzi, tanto en su forma epimastigota de cultivo, tripomastigota sanguínea como amastigota intracelular, es capaz de respirar y retener su motilidad durante largos periodos de tiempo en ausencia de fuentes de energía exógena (1). Esta situación contrasta marcadamente con las formas sanguíneas de los tripanosomas africanos del subgrupo *T. brucei*, de metabolismo menos oxidativo. Este comportamiento implica la existencia de importantes reservas endógenas de energía (aproximadamente 5% del peso seco (2)). El contenido en carbohidratos de su organismo es demasiado bajo (pequeñas cantidades de glucosa y trehalosa, 0,06% y 0,05%, respectivamente (3)) para que sea un polisacárido el sustrato endógeno, habiéndose demostrado la ausencia de macromoléculas del tipo del glucógeno (4). En este sentido, Ryley (1) demostró que *T. cruzi* no almacena polisacáridos y que el metabolismo endógeno se debe, aparentemente, a la utilización de grasas y proteínas. Por su parte, Roitman y Gutteridge (5) indican que el sustrato endógeno lo constituyen, sobre todo, triglicéridos.

Los ácidos grasos pueden constituir una fuente de energía exógena en epimastigotes (6), tripomastigotes metacíclicos (7) y amastigotes intracelulares (4) de *T. cruzi*, aunque detallados análisis cuantitativos demuestran que tanto azúcares como aminoácidos son utilizados preferentemente por las distintas formas celulares de este parásito (4).

Monosacáridos tales como glucosa, fructosa, manosa, galactosa y xilosa y aminoácidos tales como prolina, glutamato, aspartato, leucina y treonina, pueden ser consumidos y/o oxidados por epimastigotes, aunque treonina probablemente actúa como fuente de unidades acetato para la síntesis de ácidos grasos más que como fuente de energía (4, 8, 9). Sin embargo, estas formas no son capaces de utilizar maltosa, manitol, lactosa, sacarosa, trehalosa, arabinosa ni galactosa (8). El consumo de azúcares solubles se realiza, según parece, por mecanismos de transporte activo a bajas concentraciones de sustrato (10); si éstas son elevadas, se realiza por difusión facilitada (11). Similares resultados, en cuanto a consumo, se obtuvieron con formas amastigotas y sanguíneas (4).

T. cruzi es capaz de degradar la glucosa tanto aeróbica como anaeróbicamente. La degradación aerobia no lleva exclusivamente a la formación de CO₂, sino que constituye una mezcla de fermentación y oxidación aerobia, con liberación al medio de cantidades sustanciales de succinato y acetato, lo que se ha dado en llamar "fermentación aerobia". En epimastigotes se obtiene un 31,5% de CO₂, 34% de succinato, 20% de acetato, 3,8% de malato y 1% de piruvato (12). En las formas sanguíneas se obtiene, además de un 55% de CO₂, un 12%

de succinato, 17% de acetato, 6% de lactato y 1% de piruvato (1). La oxidación de carbohidratos por todas las formas del ciclo de vida de este protozoo se realiza, probablemente, a través de la vía glucolítica y un completo ciclo de Krebs.

La degradación anaerobia (en presencia de 5% de CO_2) de la glucosa conduce a la obtención de un 72% de succinato, 8,9% de acetato, 1% de citrato y 9,5% de CO_2 (12).

Von Brand y col. (13) sugirieron que durante el crecimiento en cultivo, *T. cruzi* sufre un cambio desde un metabolismo glucídico al proteico, con la consiguiente excreción de sustancias básicas, quizá amoníaco, que cambiarían la tendencia del pH del medio elevándolo. Esta producción de amoníaco ha sido comprobada en formas epimastigotas (1, 14).

Wood (6) informa que los metacíclicos convierten rápidamente los ácidos palmítico, linoleico, oleico y esteárico en CO_2 . Posteriormente, se hace un estudio donde se observa que mientras los metacíclicos convierten ácido palmítico a CO_2 en elevada proporción, los epimastigotes lo hacen en muy baja. Estos son capaces de incorporar este ácido a lípidos neutros y fosfolípidos mientras que los metacíclicos lo incorporan en baja proporción a lípidos neutros, careciendo, según parece, de la capacidad de incorporarlos a fosfolípidos (7).

Por último, aunque en ningún momento se ha puesto de relieve el posible papel de la gluconeogénesis en *T. cruzi*, sí se ha sugerido la existencia de esta vía metabólica (15) al comprobar la aparición de intermediarios marcados de la glucólisis (fosfatos de hexosas y fosfoglicerato) en epimastigotes incubados en presencia de ($2\text{-}^{14}\text{C}$)-piruvato, ($2\text{-}^{14}\text{C}$)-acetato y ($1\text{-}^{14}\text{C}$)-acetato. Por nuestra parte, hemos detectado actividad fructosa-1,6-bisfosfatasa tanto en epimastigotes como en metacíclicos. Este enzima sigue un comportamiento similar al de otros eucariotas (16).

Glucolisis

La vía glucolítica de Embden-Meyerhof es el principal camino degradativo de la glucosa en este parásito. No hay duda de su funcionalidad. Los intermediarios fosforilados correspondientes a esta vía han sido detectados cromatográficamente (17), así como todos los enzimas que en ella intervienen, al menos en las formas epimastigotas (18).

En un estudio comparativo llevado a cabo por Stohlman y col. (19), la actividad aldolasa es determinada en epimastigotes y en tripomastigotes sanguíneos de cultivo, observándose en los primeros una actividad doble a la de los segundos.

En las formas amastigotas y en las sanguíneas se ha detectado actividad de los tres enzimas clave de la glucólisis: hexokinasa, fosfofructokinasa y piruvato kinasa (4), así como actividad enolasa (20). La actividad hexokinasa fue significativamente inferior en amastigotes, sin que se haya encontrado significación biológica a este hecho.

La degradación aeróbica de la glucosa lleva a la producción de pequeñas

cantidades de lactato por las formas sanguíneas (1), pero en epimastigotes no se detecta. A pesar de ello, se ha demostrado actividad alfa-hidroxiácido deshidrogenasa utilizando lactato como sustrato (21). En este sentido, se ha detectado actividad láctico deshidrogenasa en epimastigotes (4, 22), amastigotes y tripomastigotes sanguíneos (4).

En 1977, Opperdoes y Borst (23), localizaron un orgánulo en *T. brucei*, tipo microsoma, en el que se encuentran los enzimas glucolíticos implicados en la conversión de la glucosa a 3-fosfoglicerato, por lo que lo denominaron "glicosoma". En 1980, Taylor y col. (20) consiguen localizar varios enzimas glucolíticos en el glicosoma de *T. cruzi* en epimastigotes, amastigotes y tripomastigotes sanguíneos y, posteriormente, han demostrado que en los glicosomas de epimastigotes sólo existen 6 enzimas glucolíticos en lugar de 7 como en *T. brucei*, pues falta la fosfoglucoquinasa (18). Recientemente se han purificado parcialmente hexokinasa y fosfofructokinasa y se han estudiado sus propiedades cinéticas, concluyéndose que se trata de enzimas poco regulados y que la localización glicosomal de los mismos puede constituir su más efectiva regulación (24).

Nosotros hemos estudiado la cinética de los tres enzimas clave de la glucólisis en epimastigotes y metacíclicos de este parásito. Hemos observado un comportamiento hiperbólico similar, aunque los enzimas glicosomales mostraron una significativa mayor actividad en las formas epimastigotas, sin que existieran diferencias significativas en cuanto a la actividad piruvato kinasa de ambas formas (25) (Figura 1).

Ciclo de las pentosas

El ciclo de las pentosas existe en *T. cruzi*, según se desprende de los estudios realizados en células enteras de este protozoo sobre consumo de glucosa marcada.

Bowman y col. (12) observaron que la producción de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de glucosa radiactiva fue mucho mayor en aerobiosis que en anaerobiosis, siendo apreciablemente mayor cuando se utilizó glucosa marcada en C-1 que cuando se empleó (6- ^{14}C)-glucosa (28% y 5,2%, respectivamente). En 1964, Mancilla y Náquira (26) completaron este trabajo demostrando, por medio de la formación de glicerol a partir de glucosa uniformemente marcada con ^{14}C o sólo en C-6, que un 41,4% de la glucosa consumida por la cepa Tulahuen y un 27,9% de la utilizada por la cepa Perú, lo son a través del ciclo de las pentosas, al menos en sus condiciones experimentales.

La presencia de actividad glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa en extractos crudos de este parásito fue detectada en todas las formas de su ciclo de vida (4,19,27), no hallándose diferencias significativas entre ellas. Tampoco se ha conseguido demostrar otras actividades enzimáticas de este ciclo.

Funayama y col. (27) estudiaron las propiedades cinéticas de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa de las formas metacíclicas de este protozoo, demostrando

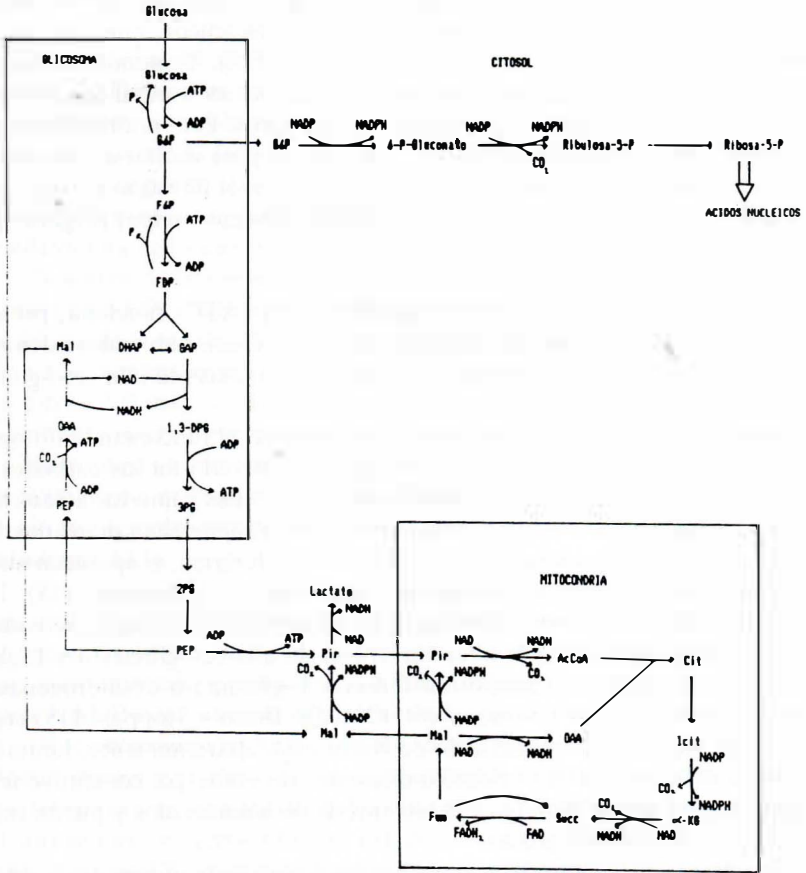


Figura 1.- Metabolismo de la glucosa en *Trypanosoma cruzi* y su compartimentación celular. Abreviaturas: P, fosfato; G6P, glucosa-6-fosfato; F6P, fructosa-6-fosfato; FDP, fructosa-1,6-difosfato; DHAP, dihidroxiacetona fosfato; GAP, gliceraldehido-3-fosfato; 1,3-DPG, 1,3-difosfoglicerato; 3PG, 3-fosfoglicerato; 2PG, 2-fosfoglicerato; PEP, fosfoenolpiruvato; Pir, piruvato; AcCoA, acetilcoenzima A; Cit, citrato; Icit, isocitrato; α-KG, alfa-cetoglutarato; Succ, succinato; Fum, fumarato; Mal, malato; OAA, oxalacetato; NAD, nicotinamida-adenín-dinucleótido oxidado; NADH, nicotinamida-adenín-dinucleótido reducido; NADP, nicotinamida-adenín-dinucleótido fosfato oxidado; NADPH, nicotinamida-adenín-dinucleótido fosfato reducido; FAD, flavín-adenín-dinucleótido oxidado; FADH₂, flavín-adenín-dinucleótido reducido; ADP, adenosín-difosfato; ATP, adenosín-trifosfato.

do su inhibición no competitiva por NADH. Por otra parte, nosotros hemos estudiado la cinética de este enzima en las formas epimastigotas y metacíclicas, observando una cinética hiperbólica, aunque con claras diferencias entre ambas formas. A concentraciones subsaturantes de sustrato, la actividad de las formas epimastigotas fue 10 veces mayor que la de los metacíclicos, mientras que a concentraciones saturantes, fue sólo 2 veces mayor (28). Teniendo en cuenta que los epimastigotes se dividen y los metacíclicos no, es normal que el ciclo de las pentosas actúe a mayor velocidad en los primeros. Esto podría representar un interesante mecanismo regulador y de control para ajustarse a las necesidades metabólicas y a su ecotopo (rico en glucosa en el intestino medio (epimastigotes) y pobre en el recto (metacíclicos) del insecto vector) (Figura 1).

Ciclo de los ácidos tricarboxílicos

El ciclo de Krebs o de los ácidos tricarboxílicos (ATC) funciona, probablemente, en todas las formas del ciclo de vida de *T. cruzi*, habiéndose demostrado la mayoría de los enzimas que en él intervienen, excepto alfa-ceto-glutarato deshidrogenasa.

Diversos estudios con sustratos marcados sugieren el funcionamiento operativo de este ciclo (12). La oxidación de acetato marcado en los carbonos 1 ó 2, lleva a que compuestos intermediarios del ATC, tales como los ácidos tricarboxílicos y los ácidos succínico, fumárico y málico, aparezcan marcados. Si bien no se detectan los ácidos oxalacético y alfa-cetoglutárico, sí aparecen marcados los correspondientes aminoácidos, L-aspartico y L-glutámico (15). La elevada radioactividad de este último refleja, probablemente, la alta actividad de los enzimas implicados en la interconversión de alfa-cetoglutarato y L-glutamato, como son aspartato-aminotransferasa y L-glutamato deshidrogenasa, enzimas caracterizadas por Cazzulo y col. (29). De Boiso y Stoppani (15) consideran que el papel oxidativo del ciclo de Krebs está, aparentemente, limitado por la ausencia de un aparato oxidativo eficiente, sin embargo, constituye una importante fuente de carbono para la biosíntesis de aminoácidos y puede contribuir al proceso gluconeogénico.

Al estudiar la oxidación de acetato por las formas sanguíneas de *T. cruzi* se observa un sustancial incremento de la respiración en su presencia. Esta oxidación se realiza a través del ATC e incluye una vía respiratoria sensible a la antimicina A, en cuya presencia, el consumo de oxígeno y la producción de CO₂ se ven inhibidos, aunque permanece un consumo de oxígeno residual, de un 6-7%, que no es inhibido ni tan siquiera por altas concentraciones de antimicina A (30).

Los enzimas piruvato deshidrogenasa y citrato sintasa de epimastigotes han sido detectados (31) y el segundo caracterizado parcialmente (32). Isocitrato deshidrogenasa fue parcialmente purificada y caracterizada, observándose que su actividad es dependiente de NADP, no encontrándose actividad NAD-dependiente (33). Hasta el momento presente no ha sido posible detectar esta actividad. Agosin y von Brand (34) estudian la localización intracelular y caracterizan el enzima succinato deshidrogenasa.

Todos los enzimas del ciclo de Krebs, excepto alfa-cetoglutarato deshidrogenasa y succinato tiokinasa, han sido igualmente detectados en amastigotes y tripomastigotes sanguíneos, siendo la actividad aconitasa significativamente menor en los primeros, aunque es improbable que esto tenga significado biológico (4).

Stohlman y col. (19) determinan la actividad aldolasa, isocitrato deshidrogenasa NADP-dependiente, málico deshidrogenasa, alanín-aminotransferasa y aspartato-aminotransferasa en epimastigotes y tripomastigotes sanguíneos de cultivo, observando siempre más del doble de actividad en las primeras formas, por lo que sugieren que la diferenciación de epimastigotes a estos tripomastigotes va acompañada por un ajuste en las concentraciones de enzimas, lo que conlleva una reducción de actividad metabólica.

Nosotros hemos investigado la actividad citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa (NADP) y succinato deshidrogenasa en las formas epimastigotas y metacíclicas de *T. cruzi*. Hemos observado una mayor actividad (de 2 a 10 veces) de estos enzimas en los metacíclicos, lo que implica un ciclo ATC más activo en éstos. Además, se ha puesto de manifiesto que el contorno químico de la membrana interna mitocondrial es, probablemente, necesario para la actividad succinato deshidrogenasa, pues su solubilización con tritón X-100 al 0,1% reduce de forma drástica su actividad. Finalmente, intentamos detectar actividad isocitrato deshidrogenasa NAD-dependiente sin éxito en ninguna de las formas estudiadas (35).

La mayoría de los ácidos del ciclo de Krebs pueden ser utilizados, al menos a pH 5, cuando llegan a ser permeables al organismo. Estos datos sugieren la presencia de un ciclo ATC funcional en este protozoo. Cuatro enzimas de este ciclo han sido estudiadas en detalle: citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa NADP-dependiente, málico deshidrogenasa y succinato deshidrogenasa.

Recientemente se ha informado de la existencia de dos formas de málico deshidrogenasa localizadas en compartimentaciones diferentes en el interior del tripanosoma: una glicosomal y otra mitocondrial (36). Se sugiere que como la formación de succinato en el catabolismo de la glucosa requiere fijación de CO₂ a ácidos C3, el enzima responsable de esta fijación sería la fosfoenolpiruvato-carboxikinas ligada a ADP, que se encuentra en el glicosoma (37) convirtiendo fosfoenolpiruvato en oxalacetato y éste, por acción de la málico deshidrogenasa glicosomal, se reduciría a L-malato, para convertirse posteriormente en succinato, por acción de una fumarasa y una fumarato reductasa (38), en la mitocondria.

Finalmente, es interesante resaltar que el complejo multienzimático del ciclo ATC de *T. cruzi* presenta dos importantes diferencias con respecto a otras células eucariotas: la presencia de una isocitrato deshidrogenasa dependiente de NADP y una succinilCoA sintetasa ligada a ATP, en lugar de isocitrato deshidrogenasa NAD-dependiente y succinato tiokinasa ligada a GTP, respectivamente (4, 19, 33, 39) (Figura 1).

Fijación de CO_2

El primer enzima con capacidad carboxilante cuya actividad se detecta en extractos de *T. cruzi* es la enzima málica (40), sugiriéndose que podría ser la responsable de la fijación de CO_2 que tiene lugar durante la oxidación de la glucosa por epimastigotes intactos, rindiendo succinato como producto final, tanto aerobia como anaeróticamente, sobre todo en ambientes con un 5% de CO_2 , pero no formándose en ausencia de glucosa (12). Estos autores demuestran que la existencia de una vía glucolítica y de un ciclo ATC funcionales es esencial para la formación de succinato directamente o por fijación de CO_2 , aunque no descartan la posibilidad de que el acúmulo de succinato se debiera a una baja actividad succinato deshidrogenasa.

Posteriormente, se estudian los posibles enzimas fijadores de CO_2 en *T. cruzi*, investigándose su actividad carboxilante. No se detectó actividad piruvato carboxilasa, fosfoenolpiruvato carboxilasa ni fosfoenolpiruvatocarboxitransferasa. Sólo se observó actividad fosfoenolpiruvato-carboxikinasa ligada a ADP y enzima málica NADP-dependiente, siendo seis veces mayor en el primer caso, a pH 6, ↓ 2 (41).

Al mismo tiempo, Cazzulo y col. (42) estudian las propiedades de la enzima málica, parcialmente purificada, catalizando la descarboxilación de L-malato a piruvato y CO_2 , con la reducción concomitante de NADP a NADPH. La inhibición de la enzima málica por oxalacetato, probablemente por fijación de CO_2 vía fosfoenolpiruvato-carboxikinasa, podía ser incluida en la regulación de este proceso fermentativo, para de esta forma evitar un reciclaje de los ácidos dicarboxílicos C4 a piruvato. Si esto es así, la producción de NADPH para los procesos de biosíntesis podría no ser seriamente perjudicada por la inhibición de la enzima málica, ya que los epimastigotes de este protozoo contienen altas actividades de isocitrato deshidrogenasa (33) y glutamato deshidrogenasa (29), ambas NADP-dependientes.

Esta actividad de la enzima málica ha sido también demostrada en formas amastigotas y sanguíneas de *T. cruzi* (4), observando que en las primeras esta actividad es inferior a la de epimastigotes y sanguíneos, pero, según parece, sin que esto tenga explicación biológica.

Poco después, se ha descrito la existencia de dos formas de la enzima málica con diferentes propiedades reguladoras (43), estudiándose más tarde su distribución intracelular así como la de la fosfoenolpiruvato-carboxikinasa (44) para seguir con un intento de localización subcelular (37), encontrando que la última es particulada, localizándose en la fracción enriquecida de glicosomas, como en el tripanosomátido *Crithidia fasciculata*, mientras que la enzima málica I, también particulada, se encuentra en la misma fracción que citrato sintasa y Mg^{2+} -ATPasa sensible a la oligomicina, sugiriendo su localización mitocondrial. La enzima málica II se encuentra en el citosol, como la única enzima málica de *C. fasciculata*. El hecho de que estos enzimas se encuentren en compartimentos celulares diferentes, es significativo para la prevención de un ciclo fútil entre ácidos dicarboxílicos C4 y ácidos monocarboxílicos C3, el cual po-

dría tener lugar si ambos enzimas funcionaran en el mismo compartimento celular (Figura 1).

Recientemente se ha demostrado que la cinética y las propiedades reguladoras de la fosfoenolpiruvato-carboxikinasa de *T. cruzi* dan a este enzima un importante papel catalítico y regulador del catabolismo de aminoácidos, el cual, probablemente, es fundamental para la obtención de energía en determinadas fases del ciclo de vida de este parásito (45).

Citocromos

Ya en 1956, Ryley (1) detectó pigmentos citocrómicos en formas epimastigotas de *T. cruzi*, encontrando actividad citocromo oxidasa y succínico-oxidasa. Posteriormente, estudios citoquímicos al microscopio óptico han confirmado la existencia de actividad citocromo-oxidasa, NADH-diaforasa y NADPH-diaforasa (46), mientras que al microscopio electrónico se han localizado estas actividades en la membrana interna de las crestas mitocondriales en las formas epimastigotas, amastigotas y tripomastigotas sanguíneas de este parásito (47).

Los citocromos *b*, *c*₅₅₈, *a*+*a*₃, uno del tipo *o* y otro posiblemente del tipo *d* han sido detectados espectrofotométricamente en epimastigotes (48, 49), amastigotes y tripomastigotes sanguíneos de *T. cruzi* (48), aunque en cantidades menores que en la mayoría de las otras células eucariotas.

El consumo de oxígeno es parcialmente inhibido por cianuro y antimicina A, en presencia de glucosa, en células completas (48, 50) y en extractos mitocondriales crudos en presencia de succinato o alfa-glicerofosfato (48), indicando que en las tres formas del parásito estudiadas, los citocromos forman parte de una cadena respiratoria que funciona manteniendo el balance redox de la célula, lo que probablemente también ocurra en los metacíclicos.

La fracción de la utilización de oxígeno no sensible al cianuro ni a la antimicina A, es también insensible al ácido salicilhidroxámico, lo que puede explicarse con la existencia de un citocromo del tipo *o*, que funciona como una oxidasa alternativa (48). Sin embargo, Félix y col. (51), observaron, en estudios realizados en epimastigotes, que durante la fase estacionaria del cultivo, *T. cruzi* tiene una respiración sensible al ácido salicilhidroxámico.

Los datos obtenidos sobre los lugares de fosforilación de la cadena de transporte electrónico de este protozoo son aún escasos. Estudios bioquímicos, realizados en homogenados totales y en fracciones de membrana plasmática, han demostrado la existencia de ATPasa activada por Mg^{2+} (52). Otros autores (53, 54) han encontrado una Mg^{2+} -ATPasa insensible a la oligomicina en la membrana plasmática, aunque posiblemente se trate de la misma enzima. Otra ATPasa activada por Mg^{2+} y sensible a la oligomicina ha sido detectada en la mitocondria de este protozoo (54).

A pesar de los múltiples intentos realizados por varios autores, aun no se ha conseguido detectar actividad Na^+ - K^+ -ATPasa. Se ha sugerido que *T. cruzi* podría mantener una alta proporción intracelular de K^+/Na^+ a través de la propia acción de la Mg^{2+} -ATPasa de la membrana plasmática (54). Otros autores

(53) sugieren que, además, podría intervenir en el control intracelular de iones una vacuola contráctil, similar a la descrita en otros tripanosomátidos como *Leptomonas collosoma* (55).

Recientemente, el estudio de la respiración de epimastigotes de *T. cruzi* con cianuro y azida han conducido a Carneiro y Caldas (56) a postular la existencia de una oxidasa terminal sensible a cianuro y a azida; otra sensible al cianuro e insensible a azida; y una tercera, insensible a ambos inhibidores (Figura 2).

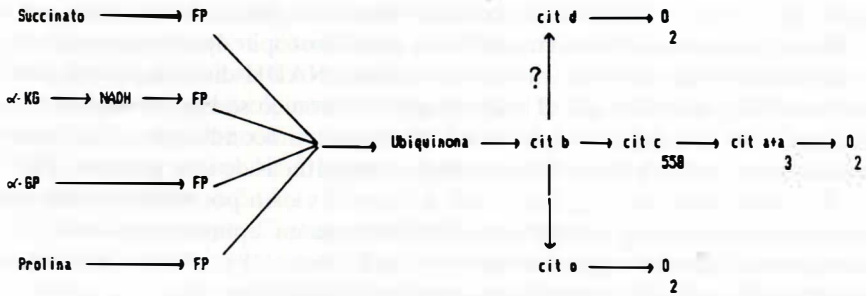


Figura 2.- Posible cadena respiratoria de *Trypanosoma cruzi*. Abreviaturas: α-KG, alfa-cetoglutarato; α-GP, alfa-glicerofosfato; FP, flavoproteínas; NADH, nicotinamida-adenín-dinucleótido reducido; cit, citocromo. (Modificado de Gutteridge (57)).

Conclusión

Todas las formas de *T. cruzi* parecen poseer reservas de energía endógena, una vía glucolítica, un ciclo de las pentosas, un ciclo ATC, una cadena respiratoria conteniendo citocromos y un camino para el catabolismo oxidativo de aminoácidos tales como prolina y leucina o ácidos grasos tales como palmitato.

La naturaleza de las reservas endógenas es desconocida hasta ahora, pero parece que son catabolizadas completamente a CO₂. Azúcares, aminoácidos y ácidos grasos pueden servir como fuentes alternativas o adicionales de energía e, igualmente, son degradados sobre todo a CO₂, aunque también forman succinato, acetato o lactato. Los piridín-nucleótidos reducidos generados son oxidados por la cadena respiratoria, la fumarato reductasa, NADH-oxidasa y lactato deshidrogenasa. ATP es generado por las reacciones de fosforilación a nivel de sustrato y a nivel de cadena respiratoria.

Como vemos, el metabolismo de carbohidratos y la obtención de energía en *T. cruzi* es muy similar a los de las células de mamífero. Pero aún así, diversos autores (57, 58, 59) destacan las siguientes diferencias que pueden ser utilizadas como potenciales puntos de acción de futuros quimioterápicos:

- La reserva endógena primaria no es el glucógeno, como en los mamíferos. Pueden ser lípidos o proteínas, los cuales son reservas secundarias en los mamíferos.
- La glucosa no es necesariamente el mejor o incluso el sustrato exógeno preferido para el metabolismo energético, como ocurre en los mamíferos.
- La localización glicosomal de los enzimas glucolíticos es única en kinetoplastidos.
- El ciclo de las pentosas puede funcionar en algunas cepas como una alternativa a la glucolisis.
- La cadena respiratoria está ramificada, con un citocromo del tipo *o* y otro posiblemente del tipo *d*, inexistentes en mamíferos, además del $a+a_3$. Tienen un citocromo *c* distinto del de mamíferos, y su cadena respiratoria parece ser relativamente ineficiente, necesitando fumarato reductasa (no hallado en mamíferos), NADH-oxidasa y lactato deshidrogenasa.

Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a la Dra. Rocío Benítez Rodríguez por su colaboración y sugerencias. Agradezco al Dr. J.A. Lupiáñez su atención al presente trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Ryley, J.F. (1956) *Biochem. J.* 62, 215-222.
- (2) Gutteridge, W.E. y Rogerson, G.W. (1979) En: *Biology of Kinetoplastida*, vol. 2, pp. 619-652. W.H.R. Lumsden y D.A. Evans (eds). Academic Press. London.
- (3) Fairbairn, D. (1958) *Can. J. Zool.* 36, 787-795.
- (4) Rogerson G.W. y Gutteridge, W.E. (1980) *Int. J. Parasitol.* 10, 131-135.
- (5) Roitman, I. y Gutteridge, W.E. (1978). *Pesquisa Básica em Doença de Chagas*, p. 9. V Reunión Anual, Caxambú, Brasil.
- (6) Wood, D.E. (1975) *Exp. Parasitol.* 37, 60-66.
- (7) Wood, D.E. y Schiller, E.L. (1975) *Exp. Parasitol.* 38, 202-207.
- (8) Lehmann, D.L. (1963) *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 57, 232-234.
- (9) Sylvester, D. y Krassner, S.M. (1976) *Comp. Biochem. Physiol.* 55B, 443-447.
- (10) Warren, L.G. y Patrzek, D. (1963) *J. Parasitol.* 49, 808-813.
- (11) Von Brand, T.; Tobie, E.J. y Higgins, H. (1967) *J. Protozool.* 14, 8-14.
- (12) Bowman, I.B.R.; Tobie, E.J. y von Brand, T. (1963) *Comp. Biochem. Physiol.* 9, 105-114.
- (13) Von Brand, T.; Tobie, E.J.; Kissling, R.E. y Adams, G. (1949) *J. Infect. Dis.* 85, 5-16.
- (14) Adroher, F.J.; Osuna, A. y Lupiáñez, J.A. (1988) *Chemosphere* 17, 609-615.
- (15) De Boiso, J. F. y Stoppani, A.O.M. (1973) *J. Protozool.* 20, 673-678.
- (16) Adroher, F.J.; Osuna, A. y Lupiáñez, J.A. (1987) *J. Parasitol.* 73, 438-441.
- (17) Shaw, J.J.; Voller, A. y Bryant, C. (1964) *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 58, 17-24.
- (18) Taylor, M.B. y Gutteridge, W.E. (1987) *Exp. Parasitol.* 63, 84-97.
- (19) Stohlman, S.A.; Kuwahara, S.S. y Kazan, B.H. (1973) *Arch. Mikrobiol.* 92, 301-311.
- (20) Taylor, M.B.; Berghausen, H.; Heyworth, P.; Messenger, N.; Rees, L. J. y Gutteridge, W.E. (1980) *Int. J. Biochem.* 11, 117-120.
- (21) Geréz de Burgos, N.M.; Burgos, C.; Blanco, A.; Paulone, I. y Segura, E.L. (1976) *Acta Physiol. Lat.-amer.* 26, 10-19.
- (22) Taylor, M.B. y Gutteridge, W.E. (1986) *FEBS Lett.* 199, 237-241.

- (23) Opperdoes, F.R. y Borst, P. (1977) *FEBS Lett.* 143, 60-64.
- (24) Urbina, J.A. y Crespo, A. (1984) *Mol. Biochem. Parasitol.* 11, 225-239.
- (25) Adroher, F.J.; Osuna, A. y Lupiáñez, J.A. (1990) *Mol. Cell. Biochem.* 94, 71-82.
- (26) Mancilla, R. y Náquira, C. (1964) *J. Protozool* 11, 509-513.
- (27) Funayama, S.; Funayama, S.; Ito, I. y Veiga, L.A. (1977) *Exp. Parasitol.* 43, 376-381.
- (28) Lupiáñez, J.A.; Adroher, F.J.; Vargas, A.M. y Osuna, A. (1987) *Int. J. Biochem.* 19, 1085-1089.
- (29) Cazzulo, J.J.; Juan, S.M. y Segura, E.L. (1977) *Comp. Biochem. Physiol.* 56B, 301-303.
- (30) Docampo, R.; Cruz, F.S.; León, W. y Schmuñis, G.A. (1979) *J. Protozool.* 26, 301-303.
- (31) Miller, P.G.G.; Linstead, D.J. y Klein, R.A. (1976) *Parasitology* 73, xvi.
- (32) Juan, S.M.; Cazzulo, J.J. y Segura, E.L. (1977) *J. Parasitol.* 63, 921-922.
- (33) Agosin, M. y Weinbach, E.C. (1956) *Biochem. Biophys. Acta* 21, 117-126.
- (34) Agosin, M. y von Brand, T. (1955) *Exp. Parasitol.* 4, 548-563.
- (35) Adroher, F.J.; Osuna, A. y Lupiáñez, J.A. (1988) *Arch. Biochem. Biophys.* 267, 252-261.
- (36) Cannata, J.J.B. y Cazzulo, J.J. (1984) *Mol. Biochem. Parasitol.* 11, 37-49.
- (37) Cannata, J.J.B.; Valle, E.; Docampo, R. y Cazzulo, J.J. (1982) *Mol. Biochem. Parasitol.* 6, 151-160.
- (38) Baernstein, H.D. (1953) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 56, 982-994.
- (39) Salzman, T.A.; Stella, A.M.; Wider de Xifra, E. A.; Batlle, A.M. del C.; Docampo, R. y Stoppani, A.O.M. (1982) *Comp. Biochem. Physiol.* 72B, 663-667.
- (40) Raw, I. (1959) *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 1, 192-194.
- (41) Cataldi de Flombaum, M.A.; Cannata, J.J.B.; Cazzulo, J.J. y Segura, E.L. (1977) *Comp. Biochem. Physiol.* 58B, 67-69.
- (42) Cazzulo, J.J.; Juan, S.M. y Segura, E.L. (1977) *J. Gen. Microbiol.* 99, 237-241.
- (43) Cannata, J.J.B.; Frasc, A.C.C.; Cataldi de Flombaum, M.A.; Segura, E.L. y Cazzulo, J.J. (1979) *Biochem. J.* 184, 409-419.
- (44) Cazzulo, J.J.; Valle, E.; Docampo, R. y Cannata, J.J.B. (1980) *J. Gen. Microbiol.* 117, 271-274.
- (45) Urbina, J.A. (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 258, 186-195.
- (46) Kalliknova, V.D. (1968) *Acta Protozool.* 5, 395-403.
- (47) De Meirelles, M.N.L. y De Souza, W. (1982) *Exp. Parasitol.* 53, 341-354.
- (48) Rogerson, G.W. y Gutteridge, W.E. (1979) *Int. J. Biochem.* 10, 1019-1023.
- (49) Affranchino, J.L.; Schwarcz de Tarlovsky, M.N. y Stoppani, A.O.M. (1986) *Comp. Biochem. Physiol.* 85B, 381-388.
- (50) Stoppani, A.O.M.; Docampo, R.; De Boiso, J.F. y Frasc, A.C.C. (1980) *Mol. Biochem. Parasitol.* 2, 3-21.
- (51) Félix, C.R.; Caldas, R.A.; Cerón, C.R. y Roitman, I. (1978) *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 72, 89-91.
- (52) Zingales, B.; Carniol, C.; Abrahamsohn, P.A. y Colli, W. (1979) *Biochim. Biophys. Acta* 550, 233-244.
- (53) De Meirelles, M.N.L. y De Souza, W. (1984) *J. Protozool.* 31, 135-140.
- (54) Frasc, A.C.C.; Segura, E.L.; Cazzulo, J.J. y Stoppani, A.O.M. (1978) *Comp. Biochem. Physiol.* 60B, 271-275.
- (55) Linder, J.C. y Staehelin, L.A. (1979) *J. Cell Biol.* 83, 371-382.
- (56) Carneiro, M. y Caldas, R.A. (1982) *Acta Trop.* 30, 41-49.
- (57) Gutteridge, W.E. (1977) *En: Chagas' disease. Sci. Publ. No. 347, pp. 48-58. P.A.H.O., Washington, D.C.*
- (58) Stoppani, A.O.M. (1983) *Interciencia* 8, 396-404.
- (59) Opperdoes, F.R. (1987) *Annu. Rev. Microbiol.* 41, 127-151.